原形質分離, 原形質流動および種子の 発芽におよぼすアルコールの毒性の研究

高 見 亘*

Wataru TAKAMI*: Studies on Toxicity of Alcohols upon the
Plasmolysis, Plasma Streaming and Seed Germination

1961 年 7 月 10 日受付

前報¹⁾で花粉の発芽および原形質流動におよぼすアルコールの影響について述べた。植物に対するアルコールの毒性の程度を調べたものは、酵母以外の材料についてはないようである²⁻⁴⁾、ここには、アルコールの炭素の数によってどのような毒性のちがいがあるかを明らかにするため、タマネギの鱗茎とユキノシタの葉の表皮細胞の原形質分離時、原形質流動の速さ、および種子の発芽率について調べた結果を報告する。

実験の方法と結果

使用したアルコールは前報¹⁾と同じく、(1) メチル、(2) エチル、(3) *n*-プロピル、(4) イソプロピル、(5) *n*-ブチル、(6) *sec*-ブチル、(7) *t*-ブチル、(8) イソブチル、(9) アミル、(10) イソアミルアルコールと、(11) シクロヘキサノールで、タマネギ鱗茎表皮による予備実験の結果 (1)~(8)は、5~7%、(9)~(11)は 1~2% のものを主として使った。原形質分離時は同一部分の表皮の小片をこれらのアルコールおよび水に、十分影響がみられるように 30 分間浸したのち、ろ紙でふきとり、0.75モルのしょ糖液に移し、適当な時間後にスライド上の同濃度のしょ糖液に移して、原形質分離が凸形になるまでの時間、すなわち、原形質分離時を測った。材料としては市販のタマネギの鱗茎のうち、対照の原形質分離時が 7~8 分程度の新鮮なものと、ユキノシタとを用いた。

また、種子の発芽率はろ紙をしいた 6 または 9 cm の直径のシャーレに 50~100 個ずつまき、2~4 ml ずつの水またはアルコールを加えて恒温器中で発芽させ、これを 2 回以上繰り返して求めた。使用したコムギの種子は同じ時期に収穫した農林 26 号で、他の種子は主としてタキイ種苗株式会社から求めたものである。

(1) タマネギの鱗茎表皮におよぼす影響: この場合の原形質分離時は、新鮮な材料の場合は、鱗茎の直径 9~10 cm の大形のもので 7~8 分、7~8 cm の小形のもので 9~10 分程度である。7%と 2%の一価アルコールとシクロヘキサノールで上述のように処理した原形質分離時の変化を表に示す。

表からわかるように、メタノール、エタノール処理は対照とほとんど変わらないが、*n*-プロピル、イソプロピル処理は弱い害作用を示し、7%の *n*-ブチル、*sec*-ブチル、イソブチルアルコールと 2%のアミル、イソアミルアルコール、シクロヘキサノール処理は死を招き、7% *t*-ブチルアルコール処理もほとんど死を招く。

表 2 は希釈して 5%と 1%とした場合の結果で、毒性の順位は表 1 と同じく、メタノールのほうがエタノールよりやや毒性が強く、5%の *sec*-ブチル、*tert*-ブチルアルコールでは死なずに原形質分離時は 10~20 分となり、1%のアミル、イソアミルアルコールの毒性は同程度で、1%シクロヘキサノールのはそれらよりやや強い。

(2) ユキノシタの葉の表皮におよぼす影響: 表 3 は 7%と 1%のアルコールとシクロヘキサノール

* 早稲田大学生物学教室 Biological Institute,
Waseda University, Tokyo, Japan.

Table 1. Plasmolysis time of epidermis cells of the bulb of *Allium cepa* at 15°, after immersing for 30 minutes either in water, or in 2 or 7% alcohols.

Treatment	Plasmolysis time (min)					
	No. 1* ¹⁾	2	3	4 ²⁾	5	6
Water	6	8	8	8	8	9
Methanol (7%)	7	8	9	8-9	9	11
Ethanol (7%)	6	8	8	8	8	9
<i>n</i> -Propyl (7%)	8	8	11	13	10	12
<i>iso</i> -Propyl (7%)	8	8	11	13	10	12
<i>n</i> -Butyl (7%)	*	*	*	*	*	*
<i>sec</i> -Butyl (7%)	11 or *	12 or *	*	*	*	*
<i>tert</i> -Butyl (7%)	10, *	10	11 or *	14 or *	12	12 or *
<i>iso</i> -Butyl (7%)	*	*	*	*	*	*
Amyl (2%)	*	*	*	*	*	*
<i>iso</i> -Amyl (2%)	*	*	*	*	*	*
Cyclohexanol (2%)	*	*	*	*	*	*

* death of cells

1) with the bulb diameter of 9.5 cm. 2) with the diameter of 8 cm.

Table 2. Plasmolysis time of epidermis cells of the bulb of *Allium cepa* at 15°, after immersing for 30 minutes either in water, or 1 or 5% alcohols.

Treatment	Plasmolysis time (min)					
	No. 1	2	3	4	5	6
Water	7	7	8	8	9	10
Methanol (5%)	7	7	8	8	10	11
Ethanol (5%)	7	7	8	8	9	10
<i>n</i> -Propyl (5%)	8	10	8	10	9	11
<i>iso</i> -Propyl (5%)	8	10	8	10	11	11
<i>n</i> -Butyl (5%)	*	*	*	*	*	*
<i>sec</i> -Butyl (5%)	10	10	12	12	12	12
<i>tert</i> -Butyl (5%)	10	10	8	12	12	12
<i>iso</i> -Butyl (5%)	*	*	12 or *	12 or *	*	*
Amyl (1%)	9	9	12	12	12	13
<i>iso</i> -Amyl (1%)	9	9	12	12	12	13
Cyclohexanol (1%)	9	9	13	13	14	14

Table 3. Plasmolysis time of epidermis cells of *Saxifraga stolonifera* at 15°, after immersing for 30 minutes either in water, or 1 or 7% alcohols.

Treatment	Plasmolysis time (min)	Treatment	Plasmolysis time (min)
Water	7	<i>sec</i> -Butyl (7%)	10
Methanol (7%)	7	<i>tert</i> -Butyl (7%)	10
Ethanol (7%)	7	<i>iso</i> -Butyl (7%)	10
<i>n</i> -Propyl (7%)	10	Amyl (1%)	10
<i>iso</i> -Propyl (7%)	10	<i>iso</i> -Amyl (1%)	10
<i>n</i> -Butyl (7%)	*	Cyclohexanol (1%)	12

で同様に処理した場合の結果で、傾向は表 1, 2 のタマネギの場合と同じである。

(3) 原形質分離した細胞に対する影響: 5%メタノール, sec-ブタノールに 30 分浸したのちの原形質分離時がそれぞれ 12 分のタマネギの鱗茎表皮をあらかじめ 0.75 モルシュ糖液で原形質分離させたのち, 5%メタノール, sec-ブタノールに 30 分浸して原形質復帰をたしかめて、ふたたび 0.75 モルシュ糖液で原形質分離時を測るとメタノールでは 2 分多くなって 10 分となり, sec-ブタノールではほとんど死んでしまった。これによって、原形質分離をした細胞はアルコールに対する抵抗が弱まっていることがわかる。

(4) 限界致死濃度および時間: 30分浸した場合の限界致死濃度を求めたら、メタノール, エタノール, ブタノール, アミルアルコール, シクロヘキサノールについて表 4 の結果がえられた。メタノール, エタノールでは 15%が、n-ブタノールは 4%が、その他のブタノールでは 5%が、アミルアルコールとシクロヘキサノールでは 1.5%が限界致死濃度であるといえよう。

つぎに、この限界致死濃度にはほぼ等しい濃度のメタノールとエタノールを用いて、これに浸す時間を変えて原形質分離時を調べると表 5 のような結果がえられた。これによって、メタノールとエタノールでは細胞が死ぬ直前までは原形質分離時はほとんど変化せず、急に死に、15%では 15~20 分で、17%では 10 分くらいで死ぬことがわかる。

(5) タマネギ鱗茎表皮の原形質流動におよぼす影響: もっとも影響の少ないエタノールと影響の

多いtert-ブタノール, イソアミルアルコールとについて原形質流動におよぼす影響を調べた結果は表 6 に示すとおりである。水と 5%エタノール, tert-ブタノール, 1%イソアミルアルコールを一定時間浸したのち, 320 倍で検鏡して原形質流動の速さを測った (12 月 27 日, 28 日に測定)。これによって、予想されたように 5%エタノールで処理したものは水の場合と同じであるが、5% t-ブタノールでは速さは減少し、1%イソアミルアルコールではさらに減少する。

(6) 種子の発芽におよぼす影響: コムギ, コマツナ, コカブ, ハツカダイコンの種子を、水を対照

Table 4. Plasmolysis time of epidermis cells of the bulb of *Allium cepa* at 15°, after immersing for 30 minutes in alcohol of nearly death concentration.

Treatment		Plasmolysis time (min)	
		No. 1	2
Methanol	(15%)	14 or *	14 or *
Ethanol	(15%)	14 or *	14 or *
Methanol	(20%)	*	*
Ethanol	(20%)	*	*
n-Butyl	(4%)	14 or *	*
sec-Butyl	(4%)	9	10
tert-Butyl	(4%)	9	10
iso-Butyl	(4%)	10	10
Amyl	(1.5%)	10	12 or *
iso-Amyl	(1.5%)	10	12 or *
Cyclohexanol	(1.5%)	12	*

Table 5. Plasmolysis time of epidermis cells of the bulb of *Allium cepa* at 20°, after immersing in methanol and ethanol of different concentrations for various periods.

Immersing time (min)	Methanol (15%)		Ethanol (15%)		Methanol(17%)		Ethanol (17%)			Ethanol (20%)
	No. 1	No. 2	No. 1 ¹⁾	No. 2 ²⁾	No. 1 ¹⁾	No. 2 ²⁾	No. 1 ¹⁾	No. 2 ²⁾	No. 3	
5	8	8	8	8	6	6	6	6	6	9
10	8	8	8	8	6	*	6	6	*	15 or *
15	8	*	8	*	6 or *	*	6 or *	7 or *	*	
20	8 or *	*	8 or *	*						
25	10 or *	*	10 or *	*						
30	*	*	*	*						

1) with the bulb diameter of 10 cm. 2) with the diameter of 8 cm.

として、各種のアルコールでしめしたろ紙にまいて発芽率を測定した結果を表7に、同じくケイトウ、ニチニチソウ、ナデシコの場合を表8に示した。15°のとき、コムギとコマツナでは0.1%のエタノール、*n*-プロピル、イソプロピルアルコールの場合には、対照にくらべて発芽率がよい。コムギではアルコールの濃度が0.2%になっても、その傾向は変わらないが、コマツナでは0.2%になるとアルコールの毒性が一般にいちじるしく現われる。しかし、コカブとハツカダイコンを25°で発芽させてみると、0.4%でも毒性があまりみられない。アルコールよりも温度の影響のほうが大きいことがわかる。

Table 6. Velocity of the plasma streaming in the epidermis cells of the bulb of *Allium cepa*, after immersing for 20–25 minutes in water, 50% ethanol, *tert*-butanol and 1% *iso*-amyl alcohol.

Treatment	Velocity (μ /sec)	
	14°	17°
Water (25 min)	7.8	5.6
5% Ethanol (25 min)	7.8	5.6
5% <i>tert</i> -Butyl (25 min)	6.5	4.9
1% <i>iso</i> -Amyl (20 min)	5.6	3.9

なお、この両者のアルコールにおける発芽率は同様である。

結論および論議

上の実験の結果によれば、タマネギの鱗茎およびユキノシタの葉の表皮細胞の原形質に対していちばん毒性の少ないアルコールは、メタノールとエタノールである。タマネギでは7%液に30分、15%液に10分浸しても原形質はいちじるしい影響をうけないと考えられる。反対に、毒性のもっとも強いものはアミル、イソアミルアルコール、シクロヘキサノールで、これらの2%溶液に30分浸すと死んでしまうが、1%液では死なない。しかし、1%の場合の結果からみて、シクロヘキサノールの毒性が最大である。ユキノシタはタマネギの場合ほど観察しやすくないので、7%液の場合だけを観察したにすぎないが、その結果から他の濃度においても、タマネギと同様な影響をうけるだろうと考えられる。

つぎに、タマネギの表皮を30分浸した場合に対する限界致死濃度は、メタノール、エタノールでは15%、ブタノールでは4%、アミルアルコールとシクロヘキサノールでは1.5%である。また、アルコールの毒性があまり強くない間は、原形質分離時

Table 7. Germination percentage of seeds in water and alcohols.

Conc. %	<i>Triticum aestivum</i> (15°)				<i>Brassica campestris</i> ssp. <i>napus</i> (15°)			<i>Brassica rapa</i> (25°)		<i>Raphanus sativus</i> (25°)			
	0.1	5	4.5	4.5	0.1	0.2*	0.4*	0.2	0.4	0.2	0.2	0.4	0.4
Treatment period (days)	5	5	4.5	4.5	4	4	4	2	2	1	2	1	2
Water	64	80	66	66	95	72	60	73	71	70	98	72	98
Methanol	76	76	64	56	93	56	60	65	64	64	96	68	96
Ethanol	80	78	68	60	100	36	17	63	59	60	96	64	94
<i>n</i> -Propyl	82	76	72	56	100	8	0	59	55	62	94	60	98
<i>iso</i> -Propyl	84	60	86	78	95	64	60	63	59	64	98	62	92
<i>n</i> -Butyl	51	56	76	64	83	7	0	69	62	68	98	64	96
<i>sec</i> -Butyl	74	48	48	72	92	52	32	73	56	72	98	60	94
<i>tert</i> -Butyl	44	40	48	52	88	48	28	69	51	70	96	54	90
<i>iso</i> -Butyl	70	68	62	36	76	36	6	73	29	68	94	32	84
Amyl	18	26	22	8	0	0	0	71	30	70	90	34	80
<i>iso</i> -Amyl	6	0	8	0	0	0	0	65	15	64	96	16	76
Cyclohexanol	0	0	0	0	0	0	0	61	9	58	80	5	72

* Two months after the first experiment shown the left neighbouring column.

Table 8. Germination percentage of seeds in water and alcohols.

Conc. %	<i>Celosia cristata</i> (25°)				<i>Lochnera rosea</i> (25°)		<i>Dianthus superbus</i> (25°)			
	0.2	0.2*	0.4	0.4*	0.2	0.2	0.2	0.2	0.4	0.4
Treatment period (days)	4	3	4	3	3	3	3	4	3	4
Water	100	70	100	72	76	76	76	86	72	84
Methanol	98	50	92	46	52	50	68	84	64	80
Ethanol	92	32	88	28	34	32	62	80	60	80
<i>n</i> -Propyl	90	44	90	40	45	44	60	78	56	77
<i>iso</i> -Propyl	93	72	84	60	72	64	64	82	62	80
<i>n</i> -Butyl	84	38	86	32	41	36	68	76	64	72
<i>sec</i> -Butyl	86	60	72	52	64	56	76	92	60	68
<i>tert</i> -Butyl	88	72	68	66	73	70	72	88	52	50
<i>iso</i> -Bntyl	84	68	64	62	71	68	74	90	34	42
Amyl	82	48	60	40	50	44	70	86	30	40
<i>iso</i> -Amyl	80	22	58	20	25	20	68	84	16	22
Cyclohexanol	60	16	42	10	16	10	64	82	4	10

* six months after the corresponding experiments shown in the left neighbouring columns.

の変化は、浸す時間に対して不連続で急に増加する。表5の実験は主として12月に行なったが、6月に室温23°のとき、原形質分離時が8分の、直径9cmのタマネギ鱗茎の表皮を、5% *sec*-ブタノールに浸して5分おきに原形質分離を測ってみると、25分後までは8分で、30分後で10分になった。このタマネギは、6% *sec*-ブタノールの場合には5分後にすでに死んだが、原形質分離時が6分の、直径10cmの鱗茎では、10分後までは原形質分離時が6分、15分後ではじめて14分または死亡となり、15分間浸すといちじるしい影響が現われた。

原形質分離した細胞は正常のものではないので、そのような細胞では5%メタノールに30分浸しても原形質分離時は大きくなり、害作用がみられる。また、原形質流動の速さは原形質分離時の大きい細胞のものほど小さくなるので、原形質分離時で細胞の健否の程度を測定してよいことがわかる。

つぎに、アルコールが種子の発芽におよぼす影響について、タマネギ、ユキノシタの表皮の場合といちじるしく異なることは、一般に、ブタノール、アミルアルコール、シクロヘキサノールの毒性が少ないことである。15°では、アミルアルコール、シク

ロヘキサノールはコムギ、コマツナの種子に対して強い毒性を示すが、25°では、コカブ、ハツカダイコンに対し、0.2%では、それらの毒性は弱く、コカブに対し0.4%でやっと弱い毒性がみられるが、ハツカダイコンでは0.4%でもまだ弱い。また多くの種子に対し、ブタノールの毒性は弱く、イソブタノールが最強の毒性を示している。ナデシコ、ケイトウの種子はアミルアルコールに対して強い抵抗をもっていることも注意される。一般に、種子の発芽に対するアルコールの毒性は、温度によってかなりの変化がみられるが、0.4%程度の濃さになると毒性が現われるといえよう。

コマツナやコムギでは、15°でエタノールやイソプロパノールが発芽を促進させると考えられたので、15°で数種の種子について調べると、二、三の場合にその影響がみられた。一例をあげると、コマツナで、水、0.5%エタノール、0.5%イソプロパノールにおける1日後の発芽率を求めたら、それぞれ32、96、96%であった。10ppm以上で示すクマリンの発芽に対する毒性も0.1ppmでは反対に促進作用に変わることが報告されているが⁵⁾エタノールやイソプロパノールも適当の濃度では発芽を促進する場合があるといえる。

文 献

- 1) Takami, W., Bot. Mag. Tokyo **72**: 108 (1959). 2) Gray, W. D., and Sova, C., Jour. Bact. **72**: 349 (1956). 3) Ranganathan, B., and Bhat, J. V., Jour. Indian Inst. Sci. **40**: 105 (1958). 4) Sawada, S., Ecol. Rev. **15**: 23 (1959). 5) Ishikawa, S., Kumamoto Jour. Sci. Ser. B. **2**: 97 (1955).

Summary

1. There is no difference between the epidermis of *Allium cepa* bulb and that of *Saxifraga stolonifera* leaf in the plasmolysis time when observed immersing them for 30 minutes either in 7% methanol or in 7% ethanol.
2. Toxicity of 7% *n*-propanol is higher than that of 7% methanol and 7% ethanol, but is lower than that of the other alcohols of 7%.
3. Limit concentrations of alcohols and cyclohexanol for death of the epidermis cell of the bulb of *Allium cepa* in immersion for 30 minutes at 15°, were determined. The relation between the immersion time and limit concentrations in cases of methanol and of ethanol were also studied.
4. Cells of *Allium cepa* in plasmolysed condition had lower resisting power against alcohols than those in normal condition.
5. The toxicity of alcohols upon seed germination is different from that upon the epidermis of *Allium cepa* bulb and of *Saxifraga stolonifera* leaf. It is noteworthy that butanol is generally not harmful to seed germination, and that *Dianthus superbis* seed is resistant to amyl alcohol. Dilute ethanol and *iso*-propanol (0.1—0.5%) stimulate seed germination.