エンバク第一節間切片の伸長におよぼす植物矮化剤のジベレリン A₃ (GA₃) ならびにインドール酢酸 (IAA) との相互作用, 特に Phosfon D と GA₃ の相助作用について

原 田 宏*

Hiroshi HARADA*: Interactions between Plant Growth Retardants and Gibberellic Acid (GA₃) or Indoleacetic Acid (IAA) as they Affect the Elongation of *Avena* First Internode Sections: Especially, the Synergistic Effect of Phosfon D and GA₃

昭和 41 年 1 月 18 日受付

1949 年に, 最初に Mitchell ら¹⁾が 2,4-dichlorobenzylnicotinium chloride らのダイズ類の生長におよぼす作用を発表して以来, 一般に植物矮化剤, あるいは Plant Growth Retardant と称されるものが次々に発表され, 種々の植物におよぼすそれらの作用についても数多くの報告がなされてきた²⁻⁶⁾. 実験報告としては, 植物体全体の生育におよぼす影響が観察された場合が多いが, 例えばエンバクの葉切片⁷⁾, *Raphanus* の葉切片⁸⁾, ニンジンの癒傷組織⁹⁾, など植物体の一部を供試材料とした場合もある. また, ジベレリンやオーキシンなどの植物生長物質との相互作用を追求し, 植物矮化剤の作用機構の解明を試みた報告も少なくない^{7,9-13)}. しかし, それぞれの矮化剤はいくつかの化学的には全く異ったグループに属し, 実験植物の方も種や品種によって非常に異った反応を示すので, 矮化剤の植物体内での作用機構の解明も多方面からおこなわれねばならない. 茎の伸長だけを例にとってみても, 矮化剤によってかえって伸長の促進がみられた報告もある^{14,15)}. 筆者は植物生長物質と矮化剤の相互作用について実験をすすめているが, それらが相助作用を示す場合のあることを認めたので報告する.

実験材料および方法

植物材料にはエンバク第一節間切片を用い, その伸長におよぼす植物矮化剤自体の抑制効果, ならびに生長物質との相互作用について実験をおこなった. 矮化剤としては, 化学的に異なるグループに属する下記の 4 種類を選び, 生長物質としてはジベレリン A₃ とインドール酢酸を使用した.

AMO-1618 (2-isopropyl-4-dimethylamino-5-methylphenyl-1-piperidinecarboxylate methyl chloride)

B-995 (N-dimethylsuccinamic acid)

CCC (2-chloroethyl trimethylammonium chloride)

Phosfon D (tributyl-2,4-dichlorobenzylphosphonium chloride)

実験方法はおおむね Nitsch and Nitsch¹⁶⁾ のエンバク第一節間テストの方法によった.

すなわち, 供試品種には “Brighton” を選び, その種子を, まず, 適当に水分を与えたバーミキュライト上に播き, 25° の暗所において発芽, 生育させた. 播種後約 64 時間経過した時に, 実生の長さが 2.5 cm から 3 cm までの個体を選び, 子葉鞘とその下 2 mm を切捨て, その下の 4 mm の切片を必要数だけ用意した. これらの切片を, テスト溶液が 1 cc ずつ入っている試験管 (14 mm×140 mm) に通

* Laboratoire du Phytotron, Centre National de la Recherche Scientifique. Gif-sur-Yvette (Essonne), France

常 10 箇所入れ、試験管を 25° の暗所で 20 時間回転 (2 RPM) させながら保ち、その直後に、双眼顕微鏡下で各切片の長さの測定をおこなった。

各テスト溶液は、ショ糖 1.6% と “Tween 20” 0.08 % を含むように調整した。各テスト溶液 (処理区) 毎に 3 乃至 5 の反復を設けた。

実験結果

各処理区共実験を少なくとも 3 回繰返しておこない、その結果をまとめたものが第 1 表および第 2 表である。第 1 表の、対照区を 100 とした場合の各処理区の指数 (b 欄) から明らかなように、GA₃ 並びに IAA の単用では濃度が高まると共に第一節間切片の伸長も増大しているが、矮化剤単用の場合は一部を除いてほとんど影響がみられない。ただ、AMO-1618 と Phosfon D の高濃度では抑制効果が現われている。また、Phosfon D の 10⁻⁷ M ~ 10⁻⁵ M の間では、極く僅かであるが伸長促進効果がみられる。この第 1 表に示されたものは、本実験の主眼である、生長物質と矮化剤の相互作用をみる以下の実験の対照区ともなるものである。

生長物質としては、前記の如く GA₃ と IAA を使用し、濃度には両者共に 10⁻⁷ M を選んだ。これは、10⁻⁸ M では切片の伸長度が少ないので、矮化剤の抑制効果をみるのには適当でなく、10⁻⁶ M では切片の伸長が極限に達するので相助効果が観察しにくいと考えたからである。生長物質の方は全処理区を通じて単一濃度としたが、矮化剤の方は、それぞれ 10⁻⁶ M, 10⁻⁵ M, 10⁻⁴ M と 3 種の濃度を用いた。第 2 表の b 欄は、GA₃ 10⁻⁷ M または IAA 10⁻⁷ M のみによる伸長を 100 とした場合の各処理区の指数で、GA₃ または IAA による伸長におよぼす矮化剤の影響を見やすくしたものである。全体の傾向として、GA₃ の効果はほとんど変らないのに反して、IAA の効果は僅かながら減じている。ただ、Phosfon D が 10⁻⁴ M の濃度において、GA₃ および IAA による伸長を相当に抑制している。それに反して、同じ Phosfon D でも 10⁻⁵ M と 10⁻⁶ M の濃度では促進効果がみられるのは注目に価する。

Phosfon D は単用の場合においても、10⁻⁷ M ~ 10⁻⁵ M 間の濃度では僅かながら切片の伸長を促進しているので、GA₃ と混用した場合の伸長促進が

Table 1. Effects of gibberellic acid, indoleacetic acid and four growth retardants on the elongation of *Avena* first internode sections.

Substances	Concentration Mol.	(a) Average final length (mm)	(b) Index number Cont. = 100
Control		4.86 ± 0.18	100
GA ₃	10 ⁻⁹	5.18 ± 0.18	107
"	10 ⁻⁸	5.78 ± 0.24	119
"	10 ⁻⁷	6.44 ± 0.33	133
IAA	10 ⁻⁹	4.94 ± 0.18	102
"	10 ⁻⁸	5.31 ± 0.21	109
"	10 ⁻⁷	6.67 ± 0.40	137
AMO-1618	10 ⁻⁸	4.75 ± 0.16	98
"	10 ⁻⁷	4.68 ± 0.15	96
"	10 ⁻⁶	4.92 ± 0.18	101
"	10 ⁻⁵	4.90 ± 0.18	101
"	10 ⁻⁴	4.85 ± 0.17	100
"	10 ⁻³	4.41 ± 0.10	91
B-995	10 ⁻⁸	4.86 ± 0.18	100
"	10 ⁻⁷	4.78 ± 0.16	98
"	10 ⁻⁶	4.80 ± 0.17	99
"	10 ⁻⁵	4.75 ± 0.16	98
"	10 ⁻⁴	4.78 ± 0.17	98
"	10 ⁻³	4.93 ± 0.18	101
CCC	10 ⁻⁸	4.85 ± 0.17	100
"	10 ⁻⁷	4.70 ± 0.15	97
"	10 ⁻⁶	4.79 ± 0.16	99
"	10 ⁻⁵	4.83 ± 0.17	99
"	10 ⁻⁴	4.92 ± 0.18	101
"	10 ⁻³	5.00 ± 0.18	103
Phosfon D	10 ⁻⁸	4.83 ± 0.17	99
"	10 ⁻⁷	5.06 ± 0.18	104
"	10 ⁻⁶	5.09 ± 0.18	105
"	10 ⁻⁵	5.09 ± 0.18	105
"	10 ⁻⁴	4.59 ± 0.13	94
"	10 ⁻³	4.05 ± 0.09	83

単に相加的 (additive) なものであるか、あるいは両者の相助作用 (Synergism) によるものであるかをみるために、第 2 表の c. d. e 欄に示されたような計算を試みた。まず第 1 表の b 欄の数から 100 を引いた数値を、GA₃ あるいは IAA 単用の場合の対照区に対する伸長指数、すなわち 1.33 または 137 に加えて c 欄とした。これは、矮化剤と生長物質の間に単純な加減の相互作用があると仮定した場合の伸長指数である。d 欄は両者 (生長物質と矮化剤) での同時処理によって得られた、切片の実際の伸長の、対照区の伸長に対する指数である。e 欄は d-c の数値である。今、e の値が大きいほど強い相助作用があると考え、GA₃ 10⁻⁷ M と Phosfon

Table 2. Effects of interactions between the growth retardants and gibberellic acid or indoleacetic acid on the elongation of *Avena* first internode sections

Treatments	(a) Average final length (mm)	(b) Index number for final length	(c) Index for hypothetical additive growth*	(d) Index for real growth	(e) d-c
Control	4.86 ± 0.18	GA ₃ 10 ⁻⁷ M = 100 75		100	
GA ₃ 10 ⁻⁷ M	6.44 ± 0.33	100		133	
" + AMO-1618 10 ⁻⁶ M	6.35 ± 0.24	99	134	131	- 3
" + " 10 ⁻⁵ M	6.63 ± 0.30	103	134	136	+ 2
" + " 10 ⁻⁴ M	6.77 ± 0.33	105	133	139	+ 6
" + B-995 10 ⁻⁶ M	6.75 ± 0.32	105	132	139	+ 7
" + " 10 ⁻⁵ M	6.70 ± 0.31	104	131	138	+ 7
" + " 10 ⁻⁴ M	6.53 ± 0.28	101	131	134	+ 3
" + CCC 10 ⁻⁶ M	6.13 ± 0.34	95	132	126	- 6
" + " 10 ⁻⁵ M	6.13 ± 0.33	95	132	126	- 6
" + " 10 ⁻⁴ M	6.60 ± 0.29	102	134	136	+ 2
" + Phosfon D 10 ⁻⁶ M	7.60 ± 0.35	118	138	156	+18
" + " 10 ⁻⁵ M	7.70 ± 0.36	120	138	158	+20
" + " 10 ⁻⁴ M	5.08 ± 0.17	79	127	105	-22
IAA 10 ⁻⁷ M	6.67 ± 0.40	IAA 10 ⁻⁷ M = 100 100		137	
" + AMO-1618 10 ⁻⁶ M	6.07 ± 0.43	91	138	125	-13
" + " 10 ⁻⁵ M	6.57 ± 0.36	99	138	135	- 3
" + " 10 ⁻⁴ M	6.33 ± 0.34	95	137	130	- 7
" + B-995 10 ⁻⁶ M	6.27 ± 0.33	94	136	129	- 7
" + " 10 ⁻⁵ M	6.20 ± 0.33	93	135	128	- 7
" + " 10 ⁻⁴ M	6.50 ± 0.36	97	135	134	- 1
" + CCC 10 ⁻⁶ M	6.20 ± 0.34	93	136	128	- 8
" + " 10 ⁻⁵ M	6.07 ± 0.42	91	136	125	-11
" + " 10 ⁻⁴ M	6.10 ± 0.41	91	138	126	-12
" + Phosfon D 10 ⁻⁶ M	6.83 ± 0.39	102	142	141	- 1
" + " 10 ⁻⁵ M	7.07 ± 0.40	106	142	145	+ 3
" + " 10 ⁻⁴ M	5.33 ± 0.21	80	131	110	-21

* Calculations were made as follows:

Index number of the corresponding growth retardant in the Table 1, column b + Index number of GA₃ 10⁻⁷ M or IAA 10⁻⁷ M in the Table 1, column b - 100

D の 10⁻⁶ M または 10⁻⁵ M の間では, additive な作用があるとして得た計算値よりも, 実際値の方がそれぞれ 13 % 以上大きく, 少なくともこの条件においては, 両者間に 相助作用 が存在するといえる。

考察および結論

植物矮化剤については, その単独での作用, ある

いはジベレリン, オーキシニンなどの生長物質との相互作用についても多く論じられているので, ここで広範囲にわたって討論することはさける。ただ, 本実験に使用した植物組織, すなわち, エンバクの第一節間切片の特異性を考慮に入れながら, それに関する範囲で若干考察を試みる。本実験のような場合にまず考慮されねばならないのは, 体内 (Endogenous) 生長物質 による影響と, 体外的 (Exogenous) に与

えられた生長物質による影響とを分けて考察しなければならないことである。高等植物を実験材料に使用すると、例えその組織の一部だけを対照としても、多くの場合、体内ジベレリンかオーキシンか、あるいはその両者が存在していて、体外的に与えた生長物質の影響のみを観察することが困難になる。体内ジベレリンの関与がなく、体外的に与えられたジベレリンのみに対する矮化剤の作用をみた例としては、Paley ら¹⁷⁾のオオムギの内胚乳を使用しての実験があるが、この場合には、本実験に使用した4種の矮化剤のいずれも拮抗的阻害 (competitive inhibition) を示していない。さて、暗所で育てられたエンバクの第一節間切片には、IAA およびトリプトファンは存在するが、GA₃ は検出されていない¹⁸⁾。そこで、AMO-1618 と Phosfon D の高濃度による伸長抑制は、それらが体内オーキシンレベルに変化をもたらした結果と考えることもできる。Kuraishi ら¹¹⁾は、Alaska pea の実生を CCC で処理した場合、生長点での diffusible auxin の生産が抑制されることを認めている。また Halevy⁹⁾ は、キュウリの実生を、本実験に使用した4種の矮化剤で処理した場合、下子葉部と子葉において IAA 酸化酵素の働きが増大することを報告している。さらに、Cleland⁷⁾ はエンバクの葉切片を用いて、矮化剤がオーキシンの代謝作用に拮抗的に働くことを示した。

矮化剤が、GA₃ または IAA 処理による伸長に対して、はっきりと抑制効果を示しているのは、Phosfon D が 10^{-4} M の濃度で用いられた時のみである。この場合も、GA₃ や IAA の効果は完全には打消されず、抑制効果はむしろ非拮抗的 (non-competitive) なものと思われる。なぜならば、 10^{-5} M 以下の濃度では少しも抑制効果がみられ

ず、かえって促進効果すら示しているからである。矮化剤と GA₃ または IAA との間の非拮抗的抑制作用については、今までにも多くの報告がある。例え、ば GA₃ との間では、暗所で生育したキュウリの下葉部の生長¹⁹⁾、エンバクの子葉鞘^{11,20)} および葉⁷⁾ の切片の伸長、レタス種子の発芽²⁰⁾ などにおいて実証され、この中、エンバクの子葉鞘および葉の切片については、IAA との間においても同様の作用が観察されている。

矮化剤処理によって、かえって茎の伸長促進がみられた例は最初に述べたが、GA₃ との相助作用についての報告は、現在までの所著者は見聞していない。CCC 処理で金魚草の茎の生長促進を観察した Halevy ら¹⁵⁾ も、また、Phosfon D 処理でヒャクニチソウ (*Zinnia elegans*) や *Fatschedera lizei* の生長促進を報告した Cathey ら¹⁴⁾ も、矮化剤のこの場合の作用機構については、不明としているか (Halevy ら)、あるいは全然解釈を下していない (Cathey ら)。この点については、本実験もなんら解答を与えていないが、彼らの得た促進効果は、体内生長物質との相助作用の結果であるという可能性を示唆している。

Cleland⁷⁾ は植物矮化剤の作用機構として、可能な経路が4通りあるとして論じているが、本実験の結果の一部は、その中の二つ、すなわち、矮化剤がオーキシンの代謝に何らかの抑制効果を与えることと、GA₃ や IAA とは非拮抗的に働くということに結びつけられると思う。筆者は本実験の結果から、矮化剤が生長物質と相助的に働く場合があるということを新たに加えたいと思う。

Mademoiselle J. Ledû の実験協力に対して深謝する。

文 献

- 1) Mitchell, J. W., Wirwille, J. W., and Weil, L., *Science* **110**: 252 (1949).
- 2) Cathey, H. M., *Ann. Rev. Plant Physiol.* **15**: 271 (1964).
- 3) Wirwille, J. W., and Mitchelle, J. W., *Bot. Gaz.*, **111**: 491 (1950).
- 4) Tolbert, N. E., *J. Biol. Chem.* **235**: 475 (1960).
- 5) Preston, W. H., and Link, C. B., *Plant Physiol.* **33**: xlix (1958).
- 6) Ridell, J. A., Hageman, H. A., J'Anthony, C. M., and Hubbard, W. L., *Science* **136**: 391 (1962).
- 7) Cleland, R., *Plant and Cell Physiol.* **6**: 7 (1965).
- 8) Sachs, R. M., and Wohlers, M. A., *Am. J. Bot.* **51**: 44 (1964).
- 9) Halevy, A. H., *Plant Physiol.* **38**: 731 (1963).
- 10) Kende, H., Ninemann, H., and Lang, A., *Naturwiss.*, **50**: 599 (1963).
- 11) Kuraishi, S., and Muir, R. M., *Plant Physiol.* **35**: 871 (1963).
- 12) Harada, H., and Lang, A., *Plant Physiol.* **40**: 176 (1965).
- 13) Baldev, B., Lang, A., and Agatep, A. O., *Science* **147**: 155 (1965).
- 14)

Cathey, H. M., and Stuart, N. W., Bot. Gaz. **123**: 51 (1961). 15) Halevy, A. H., and Wittwer, S. H., Naturwiss. **52**: 310 (1965). 16) Nitsch, J. P., and Nitsch, C., Plant Physiol. **31**: 94 (1956). 17) Paleg, L. G., Kende, H., Ninnemann, H., and Lang, A., Plant Physiol. **40**: 165 (1965). 18) Sandmeier, S., Personal Communication. 19) Halevy, A. H., Bull. Res. Council Israel **11** D: 83 (1962). 20) Wittwer, S. H., and Tolbert, N. E., Plant Physiol. **35**: 871 (1960).

Summary

The ability of four growth retardants to inhibit the endogenous growth of *Avena* first internode sections, as well as the effects of interactions between the retardants and GA₃ or IAA on the elongation of the sections have been investigated. The results obtained are summarized in Tables 1 and 2.

The normal elongation of the sections is not significantly inhibited by treatments with any of the growth retardants employed, except with high concentrations of AMO-1618 or Phosfon D.

The simultaneous treatment of a high concentration of Phosfon D (10^{-4} M) with GA₃ or IAA partially reduces the expected elongation, whereas AMO-1618, B-995 and CCC when applied in a analogous treatment have little effect.

Phosfon D at a concentration of 10^{-5} M or 10^{-6} M and exogenously applied GA₃ have a synergistic effect on the elongation of *Avena* first internode sections.

The significance of these results for the understanding of the mode of action of growth retardants is discussed.