

イネの葉位と葉いもち罹病度

II 葉の Age と細胞膜成分および 2, 3 の生理活性との関係¹⁾

大畑 貫 一
(四国農業試験場)

緒 言

前報(後藤ら, 1961)で葉位と発病との関係をこまかく検討し, 一般に上位葉ほど噴霧接種では病斑が多くなり, かつ進行性病斑の割合が高くなることを明らかにした。この傾向は品種を異にしても変化しなかったから, 各葉身の抵抗力はその age が進むにつれて増大し, これは age に関連したイネの形態的, 生理的变化に対応するものであろうと推定される。本報では葉身の細胞膜構成成分および若干の生理的性質の葉位間差異を調べ, いもち病に対する抵抗力の葉位間差異との関係について検討を加えた。

本研究は農業技術研究所において後藤和夫博士および高坂渾爾博士のご指導のもとに実施したものであり, また分析については河野博士(現北陸農試)から種々ご指導を受けた。ここに深甚な謝意を表する。

細胞膜構成成分の葉位間差異

東山38号を戸外で普通栽培し, 最高分けつ期に最上葉が 0.3~0.7 程度展開した主稈および一次分けつ茎の上位3葉を葉位別に採取し, 60℃以下で通風乾燥し, 粉碎して分析に供した。分析はつぎの方法によった。

ペクチン物質: Mc Colloch の方法(江上編, 多糖類化学, 1956)にしたがい蓚酸塩可溶と塩酸可溶の2部に分けた。蓚酸塩可溶ペクチン物質は 0.05N 塩酸の 95% エタノールと水の混液(2:1)で洗った試料を 0.2% 蓚酸アンモニウムを用い, 30℃で2時間ずつ2回抽出した。塩酸可溶性ペクチン物質は蓚酸塩抽出の終わった試料を 0.05N 塩酸を用い, 80~90℃で2時間ずつ2回抽出した。各抽出液は Carre et al.(1922)の方法でペクチン酸カルシウムとして沈澱させ, 濾過, 洗滌したのち 100℃で乾燥し, 秤量した。秤量値に理論値 0.905 を乗じて, 無水ウロン酸として表示した。

ホロセルローズ: アルコール, ベンゼン混液で浸出した不溶区分を川村の方法(1954)で冷水抽出し, 非可溶区分を 0.4% Na₂SO₄ で3回抽出して可溶性炭水化物と蛋白を除去した。非可溶部は 0.5% 蓚酸アンモニウムを用い, 90~100℃で3回抽出してペクチン物質を除き, さらに Wise らの方法(Jermyn, 1955)で氷酢酸および亜塩素酸ソーダを加えて75℃で4時間処理し, リグニンを除去し, ホロセルローズをえた。

ヘミセルローズ: Wise らの方法によって, ホロセルローズを 0.5% KOH で, 20℃, 2時間処理し, その可溶部を氷酢酸で酸性とし, 無水アルコールを加えて沈澱させ, 洗滌乾燥して秤量した。

β-γ-セルローズ: Wise らの方法によりホロセルローズからヘミセルローズを分離した残部に 20% KOH を加え, 20℃で2時間処理し, その可溶部をヘミセルローズと同様処理して秤量した。

α-セルローズ: Wise らの方法でホロセルローズを 5% および 20% KOH 処理した不溶区分を α-セルローズとした。

リグニン: 千手ら(1955)の方法に準じ, N-HCl, 0.25% Na₂CO₃ および N-H₂SO₄ で前処理したのち, 塩素および亜硫酸により, リグニンを可溶性とし, ポリビニール硫酸エステルカリとグリコールキ

1) Susceptibility of leaf of rice to blast in reference to leaf age and position.
II. Relation of leaf age to cell wall constituents and several physiological activities of the leaves. By Kan-ichi Ohata. Proc. Assoc. Pl. Prot. Sikoku, No. 3: 17-20 (1968).

トザンによるコロイド滴定で定量した。

珪酸：重量法により粗珪酸として定量した。

分析結果は第1表に示した。

すなわち、0.05N-HCl可溶ペクチン、ヘミセルローズおよび α -セルローズの含有率は上位葉ほど高く、 β 、 γ -セルローズ、リグニンおよび珪酸含有率は下位葉ほど高かった。0.2%尿酸可溶ペクチンは微量で葉位間の差異は明らかでなかった。

第1表 葉身の細胞膜構成成分の葉位間差異¹⁾

葉位	乾物歩合(%)	ペクチン		セルローズ			リグニン	珪酸
		0.2%尿酸アンモニウム可溶	0.05N-塩酸可溶	ヘミ	β 、 γ	α -		
1	24.55	痕跡	0.86	21.34	4.45	22.01	2.97	5.08
2	28.00	"	0.32	20.23	4.74	20.95	3.69	7.35
3	29.62	"	0.19	17.41	4.89	19.35	4.39	11.01

注 1) 単位：乾物当り %。

モノヨード酢酸による呼吸阻害度の葉位間差異

東山38号を温室内で ϕ 5000ポットに栽培し、最高分けつ期に最上葉が0.7程度展開した主稈の上位3葉を供試し、モノヨード酢酸による葉身の呼吸阻害を、ワールブルグ検圧計により酸素吸収量から求めた。葉身の中央部を15mmの横断切片とし、その40枚にモノヨード酢酸を減圧透入したのち、あらかじめ所定濃度のモノヨード酢酸液を入れたゲフェス主室に入れ、30℃で酸素吸収量を測定した。減圧透入およびゲフェス主室に用いたモノヨード酢酸は終末濃度が 2×10^{-3} MとなるようにpH6.8のM/20りん酸緩衝液にとかし、対照にはpH6.8のM/20りん酸緩衝液のみを用いた。なお減圧透入の条件、葉身切片の大きさは厳密にそろえるよう留意した。

実験結果は第2表に示した。対照区では上位葉ほどO₂吸収量は大きく、またモノヨード酢酸処理区では下位葉ほどO₂吸収量が大きかった。

すなわち、モノヨード酢酸による呼吸阻害率は上位葉ほど高い傾向がみられた。

第2表 葉身の呼吸におよぼすモノヨード酢酸阻害の葉位間差異

項目	第1葉		第2葉		第3葉	
	標準	処理 ¹⁾	標準	処理	標準	処理
Q ₀₂ μ l/mg/hr.	280	135	231	165	228	178
阻害率(%)	517		285		219	

注 1) モノヨード酢酸処理。

パーオキシダーゼ活性の葉位間差異

前項と同様のイネを用い、最上葉が0.3~0.4程度展開した主稈の上位3葉を供試した。生葉1gに蒸留水20mlを加えて磨砕し、3000rpmで15分間遠沈し、その上清を酵素液とし、測定にあたっては10倍に希釈して用いた。酵素活性は近藤・森田(1951)の方法によって測定した。

実験結果は第3表に示した。すなわち、葉身のパーオキシダーゼ活性は下位葉ほど高かった。

第3表 葉身の Peroxydase 活性の葉位間差異

葉位	活性 ¹⁾
第1葉	3.84
第2葉	4.37
第3葉	7.31

注 1) Guaiacol Unit.

考 察

いもち病菌はペクチン物質をよく利用し(吉井, 1936), またセルローズをも分解利用する(吉井, 1936; 井上, 1939)。いもち病菌のリグニン分解については不明であるが、鈴木(1957)はリグニンと結合したペクチン質は病原菌のプロトペクチナーゼ活力に抵抗することを報告し、浅田・松本(1967)はリグニン様物質は病原菌の攻撃に対して安定であって、抵抗の最終過程においては、バリエードとして働いていると推定している。イネの珪酸といもち病抵抗性との関係については枚挙にいとまがないが、最近吉田(1965)は珪酸が葉身のクチクラ層の下にゲル状に沈積してセルローズミセル間隙

を埋め、緻密なシリカセルローズ膜を形成していることを明らかにし、珪酸の病害抵抗性、とくに病原菌の侵入阻止効果への役を一層明確にした。

すでに示したように、いもち病菌に分解利用されやすいペクチンおよびセルローズ成分が上位葉に多く、また病原菌の侵入に対し防壁作用の強いリグニンおよび珪酸が下位葉に多いことは、接種試験において上位葉ほど病斑数の多いこととよく符合し、細胞膜構成成分の葉位間差異がいもち病に対する葉身の侵入抵抗の葉位間差異と密接な関係があることを示している。

モノヨード酢酸は糖代謝における Embden Meyerhof—Parnas 系 (EMP) のトリオース 3 リン酸デヒドロゲナーゼを阻害する。したがって、モノヨード酢酸による呼吸阻害率が小さいことは、糖代謝が EMP 以外の系、すなわち五単糖りん酸回路 (HMP) によって営まれている割合が高いことを推定させる (赤沢, 1960)。第 2 表にみられるように、下位葉ほどモノヨード酢酸による呼吸阻害率が小さいことは、下位葉ほど HMP の関与割合の高いことを推察させる。フェノール成分の合成は HMP を経ておこなわれるとされているが、HMP の関与割合が下位葉ほど高いことは、フェノール成分含量が下位葉ほど多いことの既往の結果 (脇本・吉井, 1958 ; 大畑ら, 1966) とよく符合する。いもち病斑周辺組織で増加集積したフェノール成分は寄主のパーオキシダーゼによって酸化される (Toyoda and Suzuki ; 1960)。フェノール成分の酸化物 (Schaal and Johnson, 1955) あるいは酸化重合体 (瓜谷, 1963) が寄主組織内での菌の生育を抑制する事例がいくつか報告されている。上記のように下位葉ほど HMP の関与割合が高く、糖代謝がフェノール合成方向に傾いており、かつパーオキシダーゼ活性が強く、フェノール成分が酸化されやすい状態にあることは、組織内に侵入した菌糸の生育阻害傾向を強め、病斑の形成およびその拡大阻止の方向に働いているように推察させる。

摘 要

1. 葉身のペクチン物質、ヘミセルローズ、 α -セルローズ含量は上位葉ほど高く、 β 、 γ -セルローズ、リグニンおよび珪酸含量は下位葉ほど高い。
2. モノヨード酢酸による呼吸阻害度は下位葉ほど小さい。
3. パーオキシダーゼ活性は下位葉ほど高い。

これらの事実は従来から知られている古い葉ほどいもち病に抵抗的であるとの証明に適合するようにはみられる。

引 用 文 献

- 赤 沢 堯 (1960) : 蛋核酵, 5 : 653~663.
赤井重恭 (1939) : 日植病報, 9 : 223~235.
浅田泰次・松本勲 (1967) : 同上, 33 : 75.
Carre, M. H. and D. Haynes (1922) : Biochem. J. 16 : 60.
江上不二夫編 (1956) : 多糖類化学, 東京, 共立出版, 253 pp.
後藤和夫・平野喜代人・大畑貫一 (1961) : 岡山農試臨時報告, 第58号 : 77~88.
井上義孝 (1939) : 日植病報, 9 : 33~40.
Jermyn, M. A. (1955) : Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, (herausgegeben von K. Paech und M. V. Tracey). Bd II. Berlin, Springer-Verlag, ss. 197~225.
川村信一郎・中村博 (1954) : 農化, 28 : 854~858.
川島緑郎 (1927) : 土肥誌, 1 : 86~91.
近藤金助・森田雄平 (1951) : 京大食研報告, 第4号 : 12~23.
大畑貫一・後藤和夫, 高坂棹爾 (1966) : 農技研報告, C20 : 1~65.
Schaal, L. A. and Gestur Johnson (1955) : Phytopath. 45 : 626~628.
千手諒一・中村公則・江原薫 (1955) : 九州作物談話会報, 9 : 51~56.

- Suzuki, H. (1939): Jour. Coll. Agr. Tokyo. Imp. Univ. 14 : 181~263.
- 鈴木直治 (1957): 農技研報告, C 8 : 69~130.
- Toyoda, S. and N. Suzuki (1960): Ann. Phytopath. Soc. Japan. 25 : 172~177.
- 瓜谷郁三 (1963): 植物病理の生化学, 後編 (平井篤造・鈴木直治共編), 東京, 農業技術協会, pp1~79.
- Volk, R. J., R. P. Kahn, and R. L. Weintraub (1958): Phytopath. 48 : 179~184.
- 脇本哲・吉井甫 (1958): 日植病報, 23 : 79~84.
- 吉田昌一 (1965): 農技研報告, B 15 : 1~58.
- 吉井甫 (1936): 日植病報, 6 : 199~204.

(1967年11月15日 受 領)