水稻幼植物の低温障害に関する研究

第1報 *Japonica* × *Indica* 品種“統一”の低温による苗の生育、 葉色および葉緑体構造の変化*

佐 藤 庚・朴 慶 培

(東北大学農学部)

昭和55年7月31日受理

現在韓国で栽培が普及している日・印交雑の水稻苗は苗代期に低温にあうと葉身が容易に変色する特色がある。圃場で観察すると、低温の程度によっては完全に退色することもあるが、苗の生育に著しい支障がない程度の低温の範囲内では葉身にいろいろの変色が起る。変色の種類は赤褐色、褐色、黄褐色、黄色、淡緑色などである¹⁾。葉身の変色は(1)低温による葉緑素の分解¹²⁾、(2)低温による葉緑素の形成阻害²⁰⁾によって起ると考えることができる。(1)の原因による変色はおもに赤褐色、褐色、黄褐色を呈し、(2)の原因による変色は黄色、黄白色、淡緑色を呈する。このように葉身の変色は葉緑素の形成あるいは分解の過程に起因するが、その変色過程について生理的および形態的に研究した成績はほとんどない。そこで本報では人工的に各種の低温区を設け、低温の程度と日数が苗の生育、変色および葉緑体構造におよぼす影響を検討した。

実験材料および方法

実験Ⅰでは自然光下のファイトトロンを用いて各種の低温に対する品種“統一”の苗の葉身の反応性をしらべた。5(幅)×15(長さ)×10(高さ)cmの小型ポット当たり水田土壌600gと3要素0.2gずつを混合した培地に播種後、昼/夜24°/19°C(以下常温と呼ぶ)で15日間生育させ、苗齢4.0に達したとき、実験Ⅰでは第1表に示したような各種の低温に9日間ずつ処理した後、常温にもどし、そこでさらに15日間生育させ、生長、変色過程、葉緑素含量を測定した。実験Ⅱでは苗齢4.0時に低温(17°/12°C)処理日数を0, 3, 6, 9, 14日として、処理後常温にもどし、処理期間をも含めて全生育期間を30日とした。葉色は標準色票^{注1)}を基準として調査した。葉緑素含量は80%アセトンで抽出し、663nmと645nmで吸

光度を測定してchl. a と chl. b を計算した⁹⁾。葉緑体構造をしらべる材料は4%グルタルアルデハイド、1%オスミウム酸で2重固定してスパー樹脂で包埋、光学顕微鏡観察用は1%トルイジンブルー、電子顕微鏡観察用は酢酸ウラニールと鉛で染色した¹⁰⁾。葉緑体とでんぷん粒の面積は横断面の部位別に15,000倍に拡大した電子顕微鏡写真によって測定した。この測定に用いた葉緑体数はそれぞれ約20個である。

実験結果および考察

実験Ⅰによれば、苗齢は15°/10°Cでは全くすすまないが、17°/12°C以上では処理温度の上昇につれて増加し、既報の成績^{7,19)}と一致した(第1図B)。葉身長と葉鞘長は第2図に示したように一般に低温ほど短くなる傾向が認められ、中山¹¹⁾の結果と同様であった。17°/12°Cより20°/12°Cの方が短い場合もあった。20°/12°Cでは昼・夜温の温度較差が大きすぎるものが影響したのかもしれない。低温処理の開始時に急伸長中であった第5, 6葉身と第5葉鞘の長さがとくに著しく短縮したが、20°/15°Cの方が17°/12°Cより常温にもどしてからの生長回復が早い傾向がみられた。

つぎに実験Ⅱの低温日数が苗の伸長におよぼす影響をみると、第3図に示したように、3日処理では各葉位ともわずかに長さが短いだけであるが、6日以上処理では著しく短縮し、ことに第6葉身長の短縮が著しく、葉鞘長は第5葉鞘長の短縮程度が大きかった。葉の伸長は5~6日周期でおこるため⁹⁾低温処理開始当時ほぼ伸長を終っている第5葉身では低温の影響が小さいが、処理中に急伸長する第5葉鞘と第6葉身に低温の影響が大きかったと考えられる。

日・印交雑の水稻苗は低温の程度によってさまざまな変色を起す(第1表)。常温では健全な濃緑色を呈するのに対して、葉身の頂部から赤褐色に変色するもの、次第に葉身全体の葉色が淡くなって淡緑色、黄色

* 第169回講演会(昭和55年4月)において発表
注1) 標準色票:財団法人日本規格協会発行(1969)

Table 1. Discoloration of leaf blades in rice seedlings caused by different temperatures treated for 9 days (Exp. I.)

No.	Temp.* (D/N) °C	Leaf number	Discoloration	Color chart
1	9/9	3	wilting	7.5 GY 5/6
		4	//	2.5 GY 6/4
2	15/10	3	wilting with brown spot	7.5 GY 4/4
		4	//	// 5/8
3	17/12	3	brown spot	5 GY 5/6
		4	brown spread	10 YR 8/10
4	20/15	3	yellow	// 7/12
		4	yellowish brown	// 8/10
5	24/19	3	dark green	10 GY 3/3
		4	//	// 4/4
6	20/12	3	brown spot	5 YR 7/8
		4	brown spread	// 7/10
7	20/10	3	//	10 YR 6/10
		4	//	// 8/10
8	25/10	3	brown spot	5 YR 7/12
		4	brownish yellow	// 7/10

* D (day)—6 am to 6 pm N (night)—6 pm to 6 am

になるものがある。20°/15°C 処理では淡緑色ないし黄色を呈し、それ以下の低温では褐色が発生しはじめ、15°/10°C では褐色が葉身全体に広がった。9°/9°C では変色が出る前に萎凋した。20°/12°C 以下の低温では第3葉身はすべて褐変し、それより幾分高温では第3および第4葉身は褐色、黄色および淡緑色などを呈した。CHOI ら¹⁾は変色には品種間差があり、15°/10°C では日本型は生育が一時中止するが、変色は10日後でも起らないのに、インド型は苗全体がはげしく黄化すると報告したが、本実験でも葉身の頂部から黄色あるいは赤褐色に変色し、インド型の反応とほぼ一致した。低温による葉緑素含量の変化は、第1図Aに示したように、24°/19°C では徐々に増加するのに対し、20°/15°C、17°/12°C では低温処理3日目から減少しはじめ、9日目では前者で38%、後者では44%程度減少した。雨宮^{注2)}はインド型は低温下の葉緑素含量の減少が大きいことを報告したが、日・印交雑品種も同様に減少程度が大きい。低温下で葉緑素含量が減少することについては多くの研究があり^{5,12)}、おそらく葉緑素の分解速度が合成速度を上まわるからであろう。

光学顕微鏡で第4葉の葉緑体構造を観察した結果は第4図のとおりである。葉肉細胞の葉緑体数は維管束

Fig. 1. The change of chlorophyll content of leaf blades (A) and of leaf number (B) during the low temperature treatments (Exp. I.).

● : 24°/19°C × : 20°/15°C
▲ : 17°/12°C ■ : 15°/10°C

鞘と機動細胞の間の部分の細胞に多い傾向があった。常温 (24°/19°C) に比べて低温 (20°/15°C) では葉緑体内に多量、かつ大きいでんぷん粒が蓄積した。佐藤¹⁴⁻¹⁶⁾は同化でんぷん粒は低温ほど増加し、葉緑体

注2) 雨宮 昭. イネの低温抵抗性に関する二、三の生理的側面 (昭和49年度総括検討会議資料) 農技研・生理1科 (1975)

Fig. 2. Recovering in the length of leaf blades (A) and sheaths (B) at 24°/19°C after being moved from different low temperature treatments for 9 days (arrow indicates the respective leaf stage when the plants were moved to 24°/19°C) (Exp. I.).

● : 24°/19°C × : 20°/12°C ▲ : 17°/12°C

Fig. 3. Length of each leaf blade (A) and sheath (B) of the plant treated for different periods at 17°/12°C and moved to 24°/19°C (measured at the 30th day after the start of treatments) (Exp. II.).

○, ●, ■, ▲, × : 0, 3, 6, 9 and 14 days low temperature treatments, respectively.

に多量に蓄積することを報告し、低温下では光合成の抑制にくらべて生長抑制、したがって同化産物の消費抑制がより大きいために、余った同化産物がでんぷんとして葉緑体中に蓄積すると考察している。葉緑体内のでんぷん粒の蓄積状況は葉身横断面の部位によって異なり、常温下では表裏の表皮に近い細胞の葉緑体にはほとんど蓄積がなく、内部の細胞には明らかに蓄積がみられる。一方、低温下の葉では、表面（向軸面）に近い部位では蓄積が少なく、内部ほど多く、裏面（背軸面）表皮の近くにも多かった。電子顕微鏡による葉緑体の微細構造は第5図のとおりである。光学顕

微鏡で観察したように、常温に比べて低温区では著しく大きなでんぷん粒が蓄積し、また好オスミウム性物質（脂質）も多い傾向があり、この点長南ら²⁾の報告と一致した。PARK ら¹³⁾もほぼ同様の観察をしたが、葉身内の位置が明らかにされていないので厳密な比較はできない。チラコイドの配列状態は常温では整然としているが、低温では波状ないし湾曲して配列する上に、チラコイド膜間が広がった。葉緑体中におけるグラナは他部分より脂質と葉緑素を多量に含んでいる⁴⁾から、低温による葉緑素含量の減少に伴い、チラコイド膜が分離してその配列に乱れが生じると同時に、脂

Table 2. The mean sectional areas of chloroplast and starch grains contained in it under different temperatures ($\pm$ SD)

Part	24°/19° C			20°/15° C		
	Chloroplast A (μm^2)	Starch B (μm^2)	Ratio (B/A) %	Chloroplast A (μm^2)	Starch B (μm^2)	Ratio (B/A) %
Mesophyll cell ¹⁾	8.3 $\pm$ 0.8a	0.13	1.6	8.5 $\pm$ 0.6a	2.6 $\pm$ 0.4	30.6
Bundle sheath cell	3.5 $\pm$ 0.3b	0.02	0.6	5.1 $\pm$ 0.6c	1.5 $\pm$ 0.5	29.4

1) Central portion of mesophyll.

Different letters mean the significant differences at the 5 % level.

Table 3. The mean sectional areas of chloroplast and starch grains contained in it at different positions of mesophyll under a lower temperature (20°/15° C) ($\pm$ SD)

Position ¹⁾	Chloroplast A (μm^2)	Starch B (μm^2)	Ratio (B/A) %	Difference (A—B)
Adaxial	6.6 $\pm$ 0.6a	0.5 $\pm$ 0.1c	7.6	6.1
Central portion	8.8 $\pm$ 0.7b	3.1 $\pm$ 0.5d	35.2	5.7
Abaxial	8.9 $\pm$ 0.8b	3.4 $\pm$ 0.7d	38.2	5.5

1) Adaxial, abaxial indicates the mesophyll layers adjacent to adaxial and abaxial epidermis, respectively.

Different letters mean the significant differences at the 5 % level.

質体が増加するのであろう。葉緑体の微細構造は葉肉細胞の位置によって異なる。表面表皮に近い葉肉細胞の葉緑体には小型、少量のでんぷん粒が蓄積し、チラコイド配列は正常であったが、内部および裏面表皮に近い葉肉細胞の葉緑体には大型、多量のでんぷん粒が蓄積し、脂質も多く、チラコイド配列は乱れがはげしかった。

第2, 3表は葉緑体とでんぷん粒の横断面積および両者の比を示している。葉緑体の横断面積は細胞によって異なり、常温の葉肉細胞では、平均横断面積が8.3 μm^2 であるのに対して、維管束鞘細胞では3.5 μm^2 で、前者は後者の約2.4倍もある。低温では、葉身細胞の葉緑体の大きさは常温とほとんど変わらないのに、維管束鞘細胞の葉緑体の大きさは増加したので、前者は後者の約1.7倍となった。これは維管束鞘細胞の葉緑体が大量のでんぷん粒を蓄積したことと関係があると思われる^{8,9)}。でんぷん粒が葉緑体中に占める面積割合は、常温では葉肉細胞1.6%, 維管束鞘細胞0.6%であるのに対して、低温ではそれぞれ30.6%, 29.4

%と著しく増加した。葉肉細胞の葉緑体面積とでんぷん粒面積の差、すなわち光合成を営む部分の面積は、低温では常温に比べて著しく減少した(第2表)。このことは、チラコイド配列の攪乱、でんぷん粒による透光の妨害、葉緑素含量の減少などとともに低温下の光合成を減少する一因となるであろう。葉身横断面では、表皮細胞に近いほど葉緑体のでんぷん粒が少なく、内部ほど多くなることは佐藤^{17,19)}が報告しているが、本実験でも常温下ではそのとおりであった(第4図1A, 1B)。しかし、低温下では裏面表皮に近い細胞にも内部と同様に多量に蓄積した(第4図2A, 2B)。透入光を最初に利用できる表皮直下の細胞は内部の細胞より光合成速度が高いことが推察され、また内部ほどでんぷん粒蓄積が多いことから内部ほど貯蔵性が高まると考えられるが、低温下ではさらに裏面表皮直下まで蓄積が進んだと思われる。なお、光合成速度の大きさは表面表皮附近>裏面表皮附近>内部の順になると思われるが、この点についてはさらに検討が必要である。

Fig. 4. Light micrographs of transverse sections on the fourth leaf blade of the plants grown for 7 days at a normal temperature (24°/19° C) (1 A, B) and a lower temperature (20°/15° C) (2 A, B) ($\times$ 514).Fig. 5. Fine structure of chloroplasts of mesophyll (A: $\times$ 33,000) and bundle sheath (B: $\times$ 21,000) cells on the fourth leaf blade of the plants grown for 7 days at a normal temperature (3 A, B) and a lower temperature (4A, B).

s : starch grains og : osmiophillic globules m : mitochondria

摘 要

日・印交雑品種“統一”における低温下の葉身変色を実験的に確かめるため、各種低温が苗の生育、葉身の葉緑素含量、葉緑体構造におよぼす影響を検討した。

1. 苗の苗齢は $15^{\circ}/10^{\circ}\text{C}$ ではほとんど進まないが、 $17^{\circ}/12^{\circ}\text{C}$ 以上では温度の上昇につれて増加した(第1図B)。葉身長および葉鞘長は低温ほど短いが、とくに低温処理期間急伸長中であった葉の長さが著しく短縮した(第2図A, B)。低温処理日数が6日以上続くと生育の抑制が大きかった(第3図A, B)。

2. 変色は $20^{\circ}/15^{\circ}\text{C}$ で淡緑色ないし黄色を呈し、それ以下の低温では褐色が発生しはじめ、 $15^{\circ}/10^{\circ}\text{C}$ では褐色が葉身全体に広がった(表1)。

3. 葉身の葉緑素含量は低温処理3日目から減少しはじめ、9日目では著しく減少した(第1図A)。

4. 葉緑体構造は低温処理によって変化し、大粒のでんぷん粒が蓄積し、脂質も多くなり、チラコイド配列が乱れるようであった(第4図, 第5図)。

5. 常温($24^{\circ}/19^{\circ}\text{C}$)では葉肉細胞中の葉緑体横断面積は維管束鞘細胞のその約2.4倍であったが、低温($20^{\circ}/15^{\circ}\text{C}$)下では後者がでんぷん粒の蓄積に伴い著しく肥大したために、約1.7倍となった(第2表)。

6. 葉肉細胞の位置によって葉緑体中のでんぷん粒蓄積の程度が異なる。常温では表・裏表皮に近い部位、維管束鞘にはほとんどでんぷんの蓄積がなく、葉肉内部に多く蓄積したが、低温では葉肉、維管束鞘全体に蓄積が増加し、でんぷん粒の占める割合は表面表皮側の葉肉細胞で小さく、内部と裏面表皮側で大きかった(第3表, 第4図)。

引 用 文 献

1. CHOI, H. O., S. B. AHN, H. HEU, Y. J. OH and S. I. HAM 1975. Occurrence, diagnosis of leaf discoloration of Tongil rice variety. Res. Rep. (ORD) **15**(c): 99—108.
2. 長南信雄・川原治之助・松田智明 1977. 水稻葉身の老化に伴う葉緑体の微細構造変化. 日作紀 **46**: 379—386.
3. ——— 1978. イネ科作物の葉の構造と機能. 遺伝 **32**: 51—56.
4. GIESE, A. C. 1973. Cell Physiology. W. B. Saunders Co., Philadelphia. 110—113.
5. 貝守 昇・高橋成人 1978. イネの低温クロロシスに関する品種生態学的研究. 第2報 低温クロロシス発現機構とくに温度および光条件について. 日作東北支部報 **20**: 48—50.
6. 星川清親 1975. イネの生長. 農文協, 東京. 112—113.
7. 星野孝文・松島省三・富田豊雄・菊池年夫 1969. 水稻収量の成立原理とその応用に関する作物学的研究. 第88報 苗代期の気温, 水温の各種の組み合わせ処理が同一葉令の水稻苗の諸形質に及ぼす影響. 日作紀 **38**: 273—278.
8. MCKINNEY, G. 1941. Absorption of light by chlorophyll solutions. J. Biol. Chem. **140**: 315—322.
9. MIYAKE, H. and E. MAEDA 1976. Development of bundle sheath chloroplast in rice seedlings. Can. J. Bot. **54**: 556—565.
10. 永野俊雄 1975. 電子顕微鏡生物試料作製法. 固定, 包埋法. 日本電子顕微鏡学会関東支部編. 丸善, 東京. 17—32.
11. 中山治彦 1964. 水稻, 小麦, そばおよび二三のまめ科作物の生育に及ぼす昼夜の変温の影響. 農技研報 **D12**: 77—124.
12. PARK, K. B., T. TANAKA and J. HARADA 1978. Studies on the leaf discoloration of rice caused by low temperature—change of soluble protein components by temperature. J. Korean So. Crop Sci. **23**: 1—4.
13. PARK, I. K. and S. TSUNODA 1979. Effect of low temperature on chloroplast structure in cultivars of rice. Plant and Cell Physiol. **20**: 1449—1453.
14. 佐藤 庚 1970. 水稻の光合成におよぼす環境の影響. 日作紀 **39**: 370—375.
15. ——— 1972. 環境に対する水稻の生育反応. 第1報 栄養生長期の生育に及ぼす気温の影響. 日作紀 **41**: 388—393.
16. ——— 1972. 環境に対する水稻の生育反応. 第2報 温度が体内成分に及ぼす影響. 日作紀 **41**: 394—401.
17. ——— 1977. 佐藤ら. 食用作物学. 文永堂, 東京. 26.
18. ——— 1979. 日長, 温度に対する大豆の生育反応. 第3報 光合成器官の発達と構造に及ぼす日長, 温度の影響. 日作紀 **48**: 66—74.
19. 角田公正 1964. 水温と稲の生育, 収量との関係に関する実験的研究. 農技研報 **A11**: 75—174.
20. 延 圭復・太田保夫 1973. 水稻葉の老化と根の活力との関係. 日作紀 **42**: 13—17.

On the Low Temperature Damage in Rice Seedling

I. Effects of low temperature on the seedling growth, discoloration and chloroplast structure of leaf blades in *japonica* × *indica* rice variety “Tongil”

Kanoe SATO and Kyeong Bae PARK

(Faculty of Agriculture, Tohoku University, Sendai 980)

Summary

A *japonica* × *indica* rice variety “Tongil” was treated with various low temperatures in phytotrons under natural light to investigate the discoloration processes of leaves experimentally. The results obtained are summarized as follows:

1. Leaf number did not increase at 15°/10°C (day/night), but increased gradually with increase of temperature (Fig. 1B), while, the length of leaf blades and sheaths which were at grand growth period was markedly shortened under low temperature (Fig. 2A, B). The increase in plant height of seedling was inhibited under low temperature over 6 days (Fig. 3A, B).

2. Leaf color changed to light green, yellow or brown when treated below 20°/15°C, and brown color spread over whole leaf blade at 15°/10°C (Table 1).

3. Chlorophyll content of leaf blades began to decrease at the 3rd day under low temperature (17°/12°C), and markedly decreased at the 9th day (Fig. 1A).

4. Chloroplasts treated by low temperatures contained larger starch grains in size and amount and more lipid globules, and also thylakoid membranes were somewhat distended and disordered (Fig. 4, 5).

5. Under normal temperatures the mean sectional areas of chloroplasts in mesophyll cells were about 2.4 times greater than in bundle sheath cells, but under lower temperatures they decreased to 1.7 times mostly due to a great expanding of the chloroplasts in bundle sheath, resulting from a much deposition of starch grains (Table 2).

6. Under normal temperatures the chloroplasts of the mesophyll cells close to both the adaxial and abaxial epidermis contained less starch grains compared to those at the central portion, but under lower temperatures the chloroplasts at the abaxial side contained more starch grains than those of the adaxial side (Table 3, Fig. 4).