ムギの雪腐病に關する研究 (第1報)

積雪下コムギ葉鞘表皮細胞の細胞液滲透壓並に原形質透過性の變化

越水幸男・平井篤造

Yukio KOSHIMIZU and Tokuzo HIRAI: Studies on the snow-blight diseases of winter cereals. I. Changes in osmotic pressure and protoplasmic permeability in wheat cells under snow.

1. 緒 言

ムギの雪腐病は北海道・東北・北陸地方に廣く分布し、概ね3~4の病原菌が關與する。著者らはこの研究をはじめに當つて、まず積雪下コムギの生理的衰弱を細胞病理的に取扱ふこととした。雪害機構の第1相は含糖量の消耗によることは實驗的に證明され(1, 4), その第2相はその後に起る蛋白質の分解と、その結果生ずる可溶性窒素化合物による原形質の障害と推論された(8)。一方耐凍性の細胞生理的研究はカナダの SCARTH を中心に精細な研究が進められ、硬化(hardening)した細胞は硬化しないものより、細胞液の滲透壓が増加し、且つ原形質の透過性が增大してその粘性が低下することが明らかにされた(5, 6, 7, 10)。わが國でも長尾及び中村(9)は、北支でコムギの耐寒性強い品種は弱い品種に比して原形質分離復歸に要する時間が早いことを認めた。

然し滲透壓及び透過性の積雪下の變化並にそれと積雪下生理的衰弱との關連は未知である。原形質分離法による透過性の測定は HÖGLER の後、SCARTH(11)によつてその絶対値の公式が提出されたので、それによつて積雪下の變化を追究することが望まれた。

稿を起すに當つて、この試験に御援助を賜つた、農林省農事試験場明日山技官・同盛岡試験地八柳技官並に本文の御校閲を賜つた東北支場徳永技官に對しそれぞれ厚く謝意を表する。

2. 實驗材料及び方法

實驗は1946~47年の冬盛岡で行つた。供試コムギは農林24號・コムギ新1號・新田早生の3品種で、9月26日播種、12月3日45cm平方のセメント製ポットに移植、ポットには坪當り堆肥2貫・硫酸150g・過磷酸石灰300g・硫酸加里60gを施し、移植前にウ

スブルン1000倍液で土壤消毒した。

實驗にはその1株を早朝(7時)積雪下から掘取り、主稈の第6~7葉の葉鞘を取り、細胞間隙の空氣を除く爲、水道水に浸漬し、吸引ポンプで0.5mmに減壓30分後、葉鞘の内側表皮をはぎとり、中性赤17ppm溶液に30分染色した。

細胞液の滲透壓測定は、第1回測定では0.5及び0.6モル CaCl_2 を分離劑とし、原形質容積測定法により次の公式*によつた。

$$O = G \times C, \quad G = \frac{l - \frac{1}{3}d}{h}$$

但し O : 滲透價 G : 分離度 C : 分離液の濃度(モル數) l : 原形質の長さ h : 細胞内壁の長さ d : 細胞内壁の巾

第2回測定以後は限界原形質分離法により、0.02モル宛異なる各段階の CaCl_2 溶液に15分浸漬し、約50%の細胞が僅に原形質分離した分離液の濃度を以てその切片の滲透價(モル數)とした。

次に同一切片を直ちに $2 \times i$ モル CaCl_2 溶液(i =その切片の滲透價)に15分浸漬し、前記原形質容積測定法により分離度 G を求め、 G の値が $\frac{1}{2} = 0.50$ よりあまり偏位しないか否かによつて、細胞液中の滲透的に作用しない部分(x)の有無を確めた。この際原形質の長さ細胞内壁の巾との比即ち $\frac{l}{d}$ を求め、それが4以上であるか否かを注意した。しかる後 (a) 水透過度の測定は $\frac{4}{5}i$ モル CaCl_2 溶液に移して、約50%の細胞が原形質分離復歸に要する時間(t 秒)を求め

$$P = \frac{15d}{32tO} **$$

但し O : 滲透價 d : 細胞内壁の巾(單位は接眼

* 坂村 徹(昭9): 植物細胞滲透生理 p.78.

** SCARTH, G. W. (1939): Plant Physiol. p. 135~137 の公式を改變。

第1図 試験間気温・積雪量
(盛岡, 1946.12月~1947.4月, 半旬毎平均)

第2図 積雪下コムギ葉鞘表皮細胞の細胞液
浸透圧及び原形質透過性の變化

第1表 原形質容積測定法によるコムギ葉鞘表皮細胞の細胞液浸透壓 (12月下旬)

品 種	分 別	0.5モル CaCl ₂		0.6モル CaCl ₂	
		分離度 (G)	浸透價 (O)	分離度 (G)	浸透價 (O)
農 林 24 號	I	0.72	0.36モル	0.60	0.36モル
	II	0.76	0.38	0.54	0.32
	III	0.71	0.35	0.59	0.36
	IV	0.74	0.37	0.66	0.40
	平 均	—	0.37	—	0.36
コムギ新1號	I	0.71	0.35	0.64	0.38
	II	0.85	0.43	0.50	0.30
	III	0.71	0.36	0.62	0.37
	IV	0.68	0.34	0.60	0.36
	平 均	—	0.37	—	0.35
新 田 早 生	I	0.55	0.27	0.51	0.31
	II	0.60	0.30	0.34	0.20
	III	0.45	0.23	0.43	0.26
	IV	0.42	0.21	0.43	0.26
	平 均	—	0.25	—	0.26

備考: 分離液浸漬1時間, 切片数1~2箇, 1切片に付10箇の細胞の平均, 試験間水温11.0~14.0°C

* SCARTH, G.W. (1939): Ibid. p.139.

ミクロメーターの目盛数, 1目盛=56.7μ, 使用レンズ Zeiss K8×C)

から水透過度 (P) を計算した。(b) 尿素透過度の測定は, 同一操作をした異なる切片を2iモル尿素溶液に入れて, 約50%の細胞が原形質分離復帰に要する時間 (t' 秒) を求め

$$P_s = \frac{d'}{4t'}$$

但し d': 細胞内壁の巾 (単位前述)

により尿素透過度 (P_s) を求めた。以上の実験は各測定時期毎に各品種共3回 (3株) 繰りかえした。

測定は根雪になつてから始め, 第1回 (12月25~26日) は浸透圧のみを, 第2回 (1月18~20日)・第3回 (2月18~20日)・第4回 (3月11~13日) 及び融雪後の第5回 (4月2~5日) は浸透圧と水及び尿素に対する透過性を同時にそれぞれ測定した。試験間の気温・積雪量を示せば第1図の通りである。

3. 実験結果

各測定時期毎の結果を表示すれば第1~5表の通りで, その関係は第2図に示す通りである。

第2表 積雪下コムギ葉鞘表皮細胞の細胞液滲透壓及び原形質透過性 (1月中旬)

品 種	實 驗 別	滲透價 (i)	2iモルCaCl ₂ 液中の分離度 (G)	水 透 過 性		尿 素 透 過 性	
				復歸時間 (t)	絶對透過度 (P)	復歸時間 (t')	絶對透過度 (P _s)
農 林 24 號	I	0.36モル	0.58	107秒	0.121	128秒	0.019
	II	0.36	0.52	221	0.051	176	0.012
	III	0.37	0.52	176	0.057	142	0.012
	平 均	0.36	0.54	—	0.076	—	0.014
コムギ新1號	I	0.33	0.60	116	0.087	107	0.015
	II	0.36	0.53	210	0.040	174	0.009
	III	0.33	0.54	182	0.054	182	0.011
	平 均	0.34	0.56	—	0.060	—	0.012
新 田 早 生	I	0.29	0.45	145	0.077	135	0.012
	II	0.32	0.55	121	0.101	146	0.015
	III	0.32	0.49	214	0.057	253	0.009
	平 均	0.31	0.50	—	0.078	—	0.012

備考： 原形質の長さ細胞内壁の巾との比 (l/d)、農林24號=4.8~6.6、コムギ新1號=5.1~5.9、新田早生=4.2~5.4、試験間水温 (°C) I=11.5~13.5, II=13.0~15.3, III=11.2~15.0、透過度測定切片數 6~14 箇、平均 10 箇

第3表 積雪下コムギ葉鞘表皮細胞の細胞液滲透壓及び原形質透過性 (2月中旬)

品 種	實 驗 別	滲透價 (i)	2iモルCaCl ₂ 液中の分離度 (G)	水 透 過 性		尿 素 透 過 性	
				復歸時間 (t)	絶對透過度 (P)	復歸時間 (t')	絶對透過度 (P _s)
農 林 24 號	I	0.37モル	0.40	183秒	0.054	118秒	0.016
	II	0.34	0.48	204	0.045	149	0.012
	III	0.32	0.47	248	0.050	332	0.006
	平 均	0.34	0.45	—	0.050	—	0.011
コムギ新1號	I	0.31	0.57	178	0.059	234	0.008
	II	0.31	0.57	106	0.093	173	0.008
	III	0.30	0.54	130	0.069	156	0.009
	平 均	0.31	0.56	—	0.074	—	0.003
新 田 早 生	I	0.25	0.50	214	0.071	184	0.009
	II	0.23	0.51	209	0.074	198	0.009
	III	0.21	0.50	282	0.057	263	0.008
	平 均	0.23	0.50	—	0.067	—	0.009

備考： 試験間水温 (°C) I=12.0~15.0, II=13.0~16.5, III=13.2~15.0、透過度測定切片數 5~13 箇、平均 10 箇

第4表 積雪下コムギ葉鞘表皮細胞の細胞液滲透壓及び原形質透過性 (3月中旬)

品 種	實 驗 別	滲透價 (i)	2iモルCaCl ₂ 液中の分離度 (G)	水 透 過 性		尿 素 透 過 性	
				復歸時間 (t)	絶對透過度 (P)	復歸時間 (t')	絶對透過度 (P _s)
農 林 24 號	I	0.38モル	0.48	182秒	0.040	226秒	0.006
	II	0.33	0.47	214	0.046	236	0.008
	III	0.35	0.54	147	0.058	153	0.010
	平 均	0.35	0.50	—	0.048	—	0.008
コムギ新1號	I	0.28	0.47	341	0.036	310	0.007
	II	0.31	0.49	285	0.042	392	0.005
	III	0.29	0.52	196	0.045	185	0.008
	平 均	0.29	0.49	—	0.041	—	0.007
新 田 早 生	I	0.21	0.50	351	0.040	254	0.006
	II	0.25	0.47	270	0.054	388	0.006
	III	0.23	0.48	310	0.057	346	0.007
	平 均	0.23	0.48	—	0.050	—	0.006

備考： 試験間水温 (°C) I=12.0~15.0, II=13.0~15.0, III=13.0~16.0、透過度測定切片數 6~11 箇、平均 8 箇

第5表 積雪下コムギ葉鞘表皮細胞の細胞液滲透壓及び原形質透過性 (融雪後)

品 種	實 驗 別	滲透價 (i)	水 透 過 性		尿 素 透 過 性	
			復歸時間 (t)	絶對透過度 (P)	復歸時間 (t')	絶對透過度 (P _s)
農 林 24 號	I	0.33モル	166秒	0.066	165秒	0.010
	II	0.30	296	0.040	126	0.011
	III	0.34	106	0.062	90	0.013
	平 均	0.32	—	0.056	—	0.011

品 種	實 験 別	滲 透 壓 (i)	水 透 過 性		尿 素 透 過 性	
			復 歸 時 間 (t)	絶 對 透 過 度 (P)	復 歸 時 間 (t')	絶 對 透 過 度 (P_s)
コムギ新1號	I	0.28モル	181秒	0.056	140秒	0.011
	II	0.30	186	0.046	119	0.014
	III	0.27	149	0.061	109	0.011
	平 均	0.28	—	0.054	—	0.012
新 田 早 生	I	0.25	129	0.081	119	0.011
	II	0.31	168	0.062	93	0.018
	III	0.31	142	0.059	113	0.013
	平 均	0.29	—	0.067	—	0.014

備考：試験間水温(°C) I=17.0~18.5, II=16.0~18.3, III=15.0~17.0, 透過度測定切片数 6~12 箇, 平均 9 箇

以上のように細胞液の滲透價はコムギの品種によりかなり明らかな差があり、各測定時期を通じて、概ね耐雪性強の農林24號は高く、弱の新田早生は低く、コムギ新1號はその中間に位した。積雪下滲透價の變化は、2月中旬に各品種共やや低下した以外一定の傾向を見出せなかつた。

積雪下原形質水透過度の變化は、2月中旬にコムギ新1號が激増したのを除くと、各品種共積雪下に漸減し、4月上旬の融雪後増加した。尿素透過度の變化では更にこの傾向が明瞭に現われた。耐雪性異なる各品種間に於ける、積雪下原形質水及び尿素透過度の差異はこの實驗では認め得なかつた。

4. 論議及び結語

上記結果による細胞液の滲透價は耐雪性強き品種ほど高い。これは柿崎(4)が氷點降下法を用いコムギの雪腐抵抗性異なる品種の葉片汁液で證明し、又 SCARTH ら(5,10)が限界原形質分離法によつて、多くの草木及び木本植物の硬化又は硬化しない細胞で測定した結果と一致する。次に積雪下滲透價の變化は2月中旬に各品種共やや低下した外、大きな差はない。SCARTH ら(5)も木本植物の滲透價の増加が實際の硬化の時期と一致しない點から、耐凍性と滲透壓の關係はさほど密接でないとしている。柿崎(4)も葉片汁液の滲透壓が雪腐抵抗性と關係密接度がやや低いことを述べている。著者らの結果も細胞液の滲透壓の變化のみでは積雪下の生理的衰弱を説明し得ないようである。

SCARTH (11)の提出した原形質透過性の絶對値の公式を簡単に適用するには、まず細胞液中の滲透的に作用しない部分(non-solvent space) α の有無と、原形質の長さ l と細胞内壁の巾 d との比 l/d が考慮されねばならぬ。この實驗では2モル CaCl_2 溶液中の分離度 G は約 $1/2$ 即ち $0.45\sim0.56$ の間で、 α はほぼ考慮の外に置けるようである。又 l/d も常に4以上であつ

たから SCARTH の簡略化された前記各公式が適用された。

水透過度の積雪下の變化は2月中旬にコムギ新1號が激増している。然しこの例外を除くと、水及び尿素的透過度は各品種共積雪下に漸減した。SCARTH ら(6,10)は硬化した細胞での原形質透過性の増大を報じているが、それを考えあわせると、根雪前寒さによつて増加した原形質透過性が、積雪下に次第に減少すると想像される。次に融雪後の原形質兩透過度の増加は、4月の實驗間水温が以前より高い爲、どの程度までこれが温度の影響か不明であるが、他の材料に於ける原形質透過性の温度係數* からみて、少なくとも耐雪性弱品種では透過度の増加の傾向が認められると思うが、この原因は不明であつた。伊藤及び坂本(3)は稀薄アムモニア液による稻葉葉鞘細胞原形質の水透過性の増大をみている。原形質透過度の測定では切片により、又同一切片でも細胞によつて、變異がかなり認められるが、この實驗の範圍では耐雪性異なる品種間に積雪下原形質兩透過度の差はみられなかつた。SCARTH ら(6,10)及び長尾ら(9)は耐寒性の強弱と原形質透過性の間に相關をみているが、これと上記積雪下の結果とは今にわかに比較できぬと思う。

以上を通覽すると積雪下コムギの生理的衰弱は、細胞病理的にみればその一つの因子として原形質透過性の減少があげられるようである。然しこれは積雪下生理的衰弱の品種間差異の説明とはならぬ。又積雪下後期の透過性の減少及び融雪後にみられる増大と、雪腐病菌侵害との關係はどう説明すべきか。

THATCHER (12)は病原菌に侵された組織で原形質透過性の高まるを見、更に最近(13)原形質透過性高きものが寄生菌に侵害され易いと報じている。又伊藤及び坂本(2,3)も稀薄硫酸アムモニア溶液・稀薄アムモニア水及びアムモニア瓦斯處理を行い、原形質水透過性の増大した稻葉葉鞘細胞内に於て、稻熱病菌の蔓

* 山羽儀兵(1934): 透過性と生體染色 p.96.

延が著しく速かであると報じている。これらの点については今後更に試験繼續の豫定である。

5. 摘 要

(1) 原形質容積測定法又は限界原形質分離法によつて、コムギ葉鞘表皮細胞の細胞液滲透壓の積雪下の變化を追究し、且つSCARTH (1939) の原形質分離法による原形質透過性測定の公式によつて、上記細胞の積雪下水及び尿素に對する原形質透過性の變化を調べた。

(2) 積雪下細胞液滲透壓は耐雪性異なる品種により差があり、強品種は高く弱品種は低い。滲透壓の積雪下の變化は、2月中旬に各品種共やや低下した以外、大きな變化は認められなかつた。

(3) 各品種共水及び尿素に對する透過度が積雪下に次第に減少し、融雪後増加する傾向が認められた。然し積雪下原形質兩透過度の品種による差異は認め得なかつた。

(4) 根雪前寒さによつて高められた原形質透過性が、積雪下の状態で漸減し、この減少で表わされる原形質の病的變化が、積雪下コムギの生理的衰弱の一つの因子であろうと推論された。(東北農業試験場盛岡試験地)

引用文献

1) 福島縣農試(1934): 大麥雪害に關する試験成績。

2) 伊藤誠哉・坂本正幸 (1941): 稻熱病に關する研究。昭和15年度報告。

3) ——— (1942): 同上。昭和16年度報告。

4) 柿崎洋一 (1936): 小麥の雪腐抵抗性と莖葉の乾物率及び含糖率並に葉汁液の性質。農業及び園藝 11: 1309~1318.

5) LEVITT, J. & SCARTH, G. W. (1936): Frost-hardening studies with living cells. I. Osmotic and bound water changes in relation to frost resistance and the seasonal cycle. Canadian Jour. Res. (C) 14: 267~284.

6) ——— & ——— (1936): Frost-hardening studies with living cells. II. Permeability in relation to frost resistance and the seasonal cycle. Ibid. 14: 285~305.

7) LEVITT, J. & SIMONOVITCH, D. (1940): The relation between frost resistance and physical state of protoplasm. Ibid. 18: 550~561.

8) 松尾孝嶺・野村正・岩切嶺 (1944): 農作物の雪害防除に關する試験成績。農商省農務局。

9) 長尾昌之・中村孝文 (1946): 細胞の透過性による小麥の耐寒性檢定(豫報)。農業及び園藝 21: 565~566.

10) SCARTH, G. W. & LEVITT, J. (1937): The frost-hardening mechanism of plant cells. Plant Physiol., 12: 51~78.

11) ——— (1939): Estimation of protoplasmic permeability from plasmolytic tests. Ibid. 14: 129~143.

12) THATCHER, F. S. (1939): Osmotic and permeability relations in the nutrition of fungus parasites. Amer. Jour. Bot. 26: 449~458.

13) ——— (1943): Cellular changes in relation to rust resistance. Canadian Jour. Res. (C) 21: 151~172.

Resume

The snow-blight diseases of winter cereals caused by three or four fungi (*Typhula*, *Fusarium*, *Pythium* and *Sclerotinia*) are widely distributed in Hokkaido, the Tohoku and Hokuriku districts in Japan. The present paper deals with the pathological changes in leaf-sheath cells of wheats in the course of snow-cover.

Osmotic pressure of the epidermal cells in leaf-sheath under snow was periodically estimated by plasmolytic method, and the cell permeability (both to water and urea) was also estimated by the end-plasmolytic method (SCARTH, 1939).

Osmotic value was always higher in the hardy varieties than in the less hardy, but its seasonal

changes under snow were not recognized. Both water and urea permeability were tend to decrease gradually under snow and they increased after snow-melt. As to the cell permeability and wheat varieties having different snow-resistance, the authors could not find any correlation between them.

The authors consider the decreased permeability to be a factor of physiological weakness of wheat under snow. At present the experiments are in progress on the changes of protoplasmic viscosity under snow in relation to the infection of snow-blight fungi.