水稻黄化萎縮病罹病葉における Chlorophyll 含量の変化*

赤井重恭・福富雅夫**

Shigeyasu AKAI and Masao FUKUTOMI: Change of chlorophyll content in diseased leaves of rice plants affected by downy mildew.

1. 緒 言

水稻黄化萎縮病は多数の禾本科植物に発生し、水稻では罹病葉は帯黄白色の円形又は楕円形の小区色斑を散生又は連生する。一般に新葉程かかる病徴が顕著であるが、禾本科雑草ではかかる黄斑を生ずることなく、却つて濃緑色を呈している場合も少なくない。かかる病徴は寄主植物により、又同一植物の葉位によつて、更に外的条件の変化によつても変化するのである。本報告は葉中の Chlorophyll 含量に就いて検討した結果であるが、なお継続中のものである。

田杉⁵⁾は組織内に侵入した菌糸が分岐して細胞を包囲し、包囲せられた細胞では、葉緑粒が全く崩壊するので葉に黄白色小斑を生ずるものと考えた。しかし、筆者等が行つた観察結果では、本病原菌菌糸は生長点の附近にも既に存在しているから、寄主葉細胞は細胞分裂の当初から病原菌の影響を蒙つていると考えるのが妥当のようである。一般に葉緑体は既存の葉緑体又は色素体原体 (Proplastid body) を母体としてのみ生成せられ、細胞内におけるその数の増加は既存の葉緑体の分裂によつてのみ行われる^{1,4)}。従つて菌糸によつて包囲された細胞に於いて、葉緑体のない細胞が認められるからといつて、葉緑体が破壊せられたという証拠にはならない。筆者等はこのような点の解決のために別途解剖学的観察をすすめているので、他日その結果を報告する予定である。

2. 実験材料並びに方法

葉緑素の定量には Beckman's Spectrophotometer*** を用いた。供試品種は山陰 46 号、旭 4 号、曲玉であつて、山陰 46 号 (島根県産) では同一株中の

* 水稻黄化萎縮病に関する研究 第 1 報
京都大学農学部植物病理学研究室業績 第 103 号
本研究を行うに当り、御援助を賜つた農林省振興局植物防疫課長堀正侃氏、同課飯塚慶久氏に深甚なる謝意を表す。又京都農業試験場大津太郎、沢田高材両氏の援助を得ることも多かつた。記して謝意を表す。

** 京都大学農学部

*** 測定に当り、種々便宜を与えられた京大農学部土壌学研究室に謝意を表す。

健全茎並びに罹病茎の内、抽葉程度のほぼ等しいものを選び、旭 4 号 (京都府大江町産) では、健全、罹病苗の各々を径 5 寸のポットに 1 本植として育成したものから選んだ。9 月上旬、完全展開最上位葉の次の抽出葉が 1~2 cm 程度に及んだ茎から採葉を行つた。

各区 2 葉宛をとり、適宜に切つて秤量瓶に納め、直ちに蓋をして生葉重を秤り、後 20 ml の acetone 中に出来るだけ細かく切つて入れ、有機酸を中和する為に CaCO_3 を少量加えて乳鉢に移し、精洗細砂少量と共に磨砕した。次に 20 ml の ether で抽出を行い、acetone 及び ether の抽出を交互に 4 回行つた。この ether-acetone 混合抽出液を濾過して、分液漏斗に移し、50 ml の蒸留水を加えて注意しながら 4 回 ether を洗い、完全に acetone を洗除した。このようにして得た ether 抽出液に ether を加えて恒量 (625 ml) とし、1 時間冷蔵庫中に保つた後、測定を行つた。なお資料は実験操作中以外は常に冷蔵庫内に保つた。

斯くして得た抽出液について、Beckman's Spectrophotometer により、波長 624, 644, 663 m μ に於ける吸光度を求め、次式によつて Protochlorophyll, Chlorophyll a, 及び b の生葉 gr 当りの量 (μg) を算出した^{2,3)}。

$$\text{Protochlorophyll} = V (-3.023 D_{663} - 4.058 D_{644} + 25.206 D_{624}) / w l$$

$$\text{Chlorophyll a} = V (10.685 D_{663} - 0.943 D_{644} - 0.039 D_{624}) / w l$$

$$\text{Chlorophyll b} = V (-2.800 D_{663} + 17.730 D_{644} - 0.523 D_{624}) / w l$$

上式に於いて、

V溶液の総容量 (ml)

D_{λ}指定された波長 (λ) に於ける吸光度 (Optical density)

w生葉の重量 (gr)

l使用した Beckmann cell の内径 (cm) (1 cm)

3. 実験結果

(1) 水稻健病両葉に於ける Chlorophyll の

第1表 水稻, 山陰 46 号及び旭 4 号の健病両葉に於ける Chlorophyll 含量*

Chlorophyll content in diseased and healthy leaves of rice plants, San-In No. 46 and Asahi No. 4.

品 種	葉の状態	葉位 (上位 より)	Protochlo- rophyll (p)	Chloro- phyll a (a)	Chloro- phyll b (b)	計	a : b	a : p	b : p
山陰 46 号	健全	I	0.000	2.122	1.076	3.198	1.97	—	—
		II	0.000	2.386	1.420	3.806	1.68	—	—
		III	0.000	2.077	1.310	3.387	1.59	—	—
	病態	I	0.000	1.001	0.566	1.567	1.77	—	—
		II	0.000	1.510	0.911	2.421	1.66	—	—
		III	0.000	1.864	1.169	3.033	1.60	—	—
旭 4 号	健全	I	0.170	1.902	1.261	3.333	1.51	11.19	7.42
		III	0.090	1.684	1.068	2.842	1.58	18.71	11.87
	病態	I	0.080	1.034	0.665	1.779	1.56	12.93	8.31

* 生葉 gr 当り mg

** 採葉は 1954 年 9 月 7 日午後 1 時 (晴) 及び

*** 9 月 9 日午前 10 時 (曇) に行つた。

第1図 罹病葉 (D) 並びに健全葉 (H) (山陰 46 号) に於ける Chlorophyll 含量の葉位による変化

Change in chlorophyll content due to the leaf-arrangement in diseased (D) and healthy (H) leaves of rice plants, San-In No. 46.

にあつては第2葉の, 罹病葉では第3葉の含量が最も高かつた。

筆者等は更に 1955 年, 品種曲玉に接種して Chlorophyll の定量を行つた。止葉抽出期の観察では, 止葉の著しい褪色は認められず黄斑点を散生していた。第2表に使用した罹病第1葉は肉眼的に可成り緑色を呈していたが, Chlorophyll の含量は健全葉よりも少なく, 下位葉に至るに従つてその含量が上昇することは前表の通りである。

量的変化 上記の方法に従つて得た結果は次表及び第1図の通りである。

上表によつて明らかな如く, 健病両葉間の Chlorophyll 含量の差は新葉程著しく, 下位葉に至るに従つて少なくなる (第1図)。しかし Chlorophyll 各成分の比は健病両葉に於いてはほぼ同一である。なお測定葉中第1葉は健病両葉共に Chlorophyll 含量が少なく, 健全葉

第2表 水稻品種曲玉の健病両葉の Chlorophyll 含量*

Chlorophyll content in diseased and healthy leaves of rice plants, Magatama.

(1955 年 9 月 6 日, 午前 8, 30 採葉)

葉の状態	葉位 (上葉 より)	Protochlo- rophyll	Chloro- phyll a	Chloro- phyll b	計
健 全	I	0.000	2.090	0.790	2.880
	II	0.000	1.991	0.703	2.694
	IV	—	—	—	—
病 態	I	0.000	0.999	0.378	1.377
	II	0.000	0.950	0.299	1.249
	IV	0.000	1.685	0.670	2.355

* 生葉 gr 当り mg

第2図 水稻品種山陰 46 号 (上位第1葉) の Chlorophyll-ether 抽出液の波長吸収曲線

Wave length absorption curves of chlorophyll ether extract of diseased and healthy leaves (first leaf in upper level), variety San-In No. 46.

筆者等は品種山陰 46 号の Chlorophyll ether 抽出液を用いて, 波長 360~700 mμ の間に於ける吸光度を, 波長 5~10 mμ おきに測定した。結果は第2及び3図の通りであるが, 波長 360~700 mμ 間に於ける波長吸収の位置は各葉位とも健・病両葉間に殆んど差を認めず, 従つてこの両葉間には

第3図 水稲品種山陰46号健病両葉の Chlorophyll-ether 抽出液に於ける比較吸光度曲線

Relative extinction curve of chlorophyll-ether extract of diseased and healthy leaves of rice plants, San-In No. 46.

第3表 異なる恒温下に生育せしめた水稲新旭種の健病両葉に於ける Chlorophyll 含量*

Chlorophyll content in diseased and healthy leaves of rice plants, Shin-Asahi, raised at 20°C and 30°C respectively.

温度 °C	葉の 状態	葉序 (上位 より)	Proto- chloro- phyll	Chloro- phyll a	Chloro- phyll b	計
20	健全	I	0.000	1.519	0.542	2.061
		IV	0.000	1.559	0.567	2.126
	病態	I	0.000	0.594	0.213	0.807
		IV	0.000	1.008	0.449	1.457
30	健全	I	0.000	1.962	0.611	2.573
		IV	0.000	1.441	0.597	2.038
	病態	I	0.000	0.659	0.172	0.831
		IV	0.000	1.232	0.497	1.729

* 生葉 gr 当り mg

Chlorophyll の質的差異は認め難い。

(2) 気温と Chlorophyll 含量 1955 年6月上旬、京都府乙訓郡長岡町に於て採集した水稲新旭種の罹病苗を径5寸のポットに植えつけ、20°C 及び 30°C の制御温室内で育成した。ポット当り堆肥 200 匁を基肥として与え、追肥の代用として木村氏処方の水耕液を数回施した。出穂期の9月8日、午前8時30分、採葉して実験に供した(第3表)。

本実験は1回行つたのみであるので、なお結論は難しいが、実験の範囲内に於ては、健全株下位葉の Chlorophyll 量減少の傾向は 30°C 下に於て著しい。しかして罹病株下位葉の Chlorophyll 増加の傾向は既述の場合と同様であつて、実験温度の範囲内では生育温度の如何には影響されないようである。

(3) メヒシバ葉に於ける Chlorophyll 含量の変化 上述はすべて水稲に就いてであるが、メヒシバ(*Digitaria adscendens*)に於いては病徴がやや異なるので、それに就いても実験を行つた。Concrete 框内で自然感染したメヒシバの蘗子を使用し、1955年10月4日、午前8時(曇)採葉した(第4表)。

本実験結果では罹病葉の Protochlorophyll が健全葉のそれに比して多く、Chlorophyll a、及び b は水稲と同様減少している。しかし健全病両葉ともに、Protochlorophyll は下葉に於て減少し、Chlorophyll a、b は逆に増加の傾向を示している。

4. 考 察

以上筆者等は黄化萎縮病葉に於ける Chlorophyll の含量に就いて調査したが、その実験範囲内に於いては

第4表 メヒシバの健病葉の Chlorophyll 含量* (2回平均結果)

Chlorophyll content in diseased and healthy leaves of *Digitaria adscendens* (average results of 2 replications).

葉の状態	葉序 (上位 より)	Protochloro- phyll	Chloro- phyll a	Chloro- phyll b	計
健 全	I	0.483	0.581	0.283	1.347
	II	0.514	0.680	0.338	1.532
	III	0.164	1.241	0.572	1.977
病 態	I	0.919	0.225	0.106	1.250
	II	0.601	0.279	0.208	1.088
	III	0.210	0.686	0.358	1.254

* 生葉 gr 当り mg

罹病葉の Chlorophyll 含量は健全葉のそれとやや異なり、下位葉程高く、また健全葉では上位葉がやや高い傾向にあるようである。しかしこの葉位との関係はそれ自身に意義があるのでなく、寧ろ抽葉後の日数の経過に従つて Chlorophyll 量の増減がおこるものと思われる。

水稻に於て本病特有の病徴（褪色部の発現）が最も顕著に現われるのは抽出してしまつた葉よりも、抽出しつつある葉に於いてである。しかして筆者等が最も若い葉として完全展開最上葉を選んだのは、次の理由による。即ち健全葉では抽出葉の葉身が殆んど全部抽出するまで、捲いたままの状態にあるが、罹病葉では抽出中の葉の先端から逐次展開する。従つて完全に葉が展開するまでは健病両葉に於て外的条件が著しく異なることになるので、比較するに適當でないと考えたからである。

罹病水稻の幼若葉組織では細胞質に富んだ菌糸並びにその菌糸の膨大した結節部が多数存在する。しかしてそれ等が存在する間は Chlorophyll が少なく、それ等が消失してしまうと漸次 Chlorophyll の量を増加するものようである。しかし、メヒシバに於ては抽葉後数拾日を経過した比較的下位葉に至るまで細胞質に富んだ菌糸及び結節部が多数存在しているが、Chlorophyll の量は水稻に於ける場合と同様増加する傾向にある（第4表）。従つて組織内に於ける菌糸の状態の変化が Chlorophyll 量の増加を来す原因とは考え難い。換言すれば、罹病茎上位葉に於て Chlorophyll 含量の少ない事は組織内の病原菌の代謝物による Chlorophyll の直接或は間接の分解によるのでないことを示すものでなからうか。事実、筆者等が別に行つた Chlorophyll の分解実験に於ても、罹病葉に於て特に分解し易いということはないようである。

以上のように上位葉に於て Chlorophyll 含量の少ないことが Chlorophyll の分解でないとするれば、当然 Chloroplast の分裂遅延などが考えられる。

Bonner³⁾ は、緑藻 *Chlorella* に於ける Chlorophyll 生成が未知の先駆物質、Protoporphyrin-9, Protochlorophyll 等を経て Chlorophyll に至る事を論じて

いる。筆者等の実験に於いて、Protochlorophyll 並びに Chlorophyll a 及び b の比が健病両葉に於て大差がないのであるから、若し Chlorophyll 生成に影響があるとすれば、Protochlorophyll 生成以前に対する影響を考えねばならない。筆者等はなお Chloroplast に関して精細な観察を行つていないので、ここでは結論を避け度いと思う。

5. 摘 要

本報告は主として黄化萎縮病罹病水稻に於ける Chlorophyll 定量の結果である。

1. 健病両葉ともに、Protochlorophyll, Chlorophyll a 及び b を調査したが、それ等は健全葉に於いて葉位とともに低下する傾向を示したが、罹病葉では下位葉に至るに従つて増加した。しかして健病両葉間のそれ等の差は新葉に於ける程著しく、下葉程減少する。なお調査した Chlorophyll 3 成分の比は健病両葉とも同様である。

2. Chlorophyll の ether 抽出液に於て、波長 360~700 m μ の間にあらわれる波長吸収の位置は健病両葉並びに葉位によつて変化することがない。

3. 水稻に於いては、抽葉後は葉中の細胞質に富んだ菌糸並びに結節部は殆んど蔵卵器に変じているが、メヒシバに於ては抽葉後数拾日を経過した下位葉に於てもなお上記のような菌糸及び結節部を認めることができる。更にこのような下位葉に於ても Chlorophyll は増加の傾向を示している。従つて上位葉に於いて Chlorophyll 含量の少ないのは病原菌菌糸からの代謝物質による分解ではないようである。（1958 年 5 月 21 日受理）

引用文献

- 1) Bonner, J.: Plant Biochemistry. (1950).
- 2) Koski, V. M.: Arch. Bioch. Bioph., 29: 339~343. (1950).
- 3) Koski, V. M., C. S. French, and J. H. C. Smith: Arch. Bioch. Bioph., 31: 1~17. (1951).
- 4) Randolph, L. F.: Bot. Gaz., 73 (5): 337~375. (1922).
- 5) 田杉平司: 農技研報, C. 2: 1~48. (1953).

Summary

In the present paper the writers reported the results of investigations conducted on the change of chlorophyll content in the leaves of rice plants affected by downy mildew.

The contents of protochlorophyll, chlorophyll a and chlorophyll b were measured from the diseas-

ed and healthy leaf samples. In the healthy leaves they decreased with the descending order of the leaf arrangement, and in the diseased leaves they increased. The difference in chlorophyll content between the healthy and diseased leaves was detected more markedly in the newly deve-

loped leaves, but was rather obscure in the lower leaves. The ratio of three components of chlorophyll was nearly alike in both the healthy leaves and diseased leaves.

The distribution of the wave-length absorption of the ether-extract of chlorophyll did not change with the incidence of the disease nor with the order of leaf arrangement.

By the time the diseased rice leaves have developed to maturity, the hyphal vesicle of the causal fungus, which is rich in plasma, is changed into oogonium. In *Digitaria adscendens*, how-

ever, the diseased leaves may have considerable hyphae and hyphal vesicles even after forty or fifty days after the maturity of the leaves. In such leaves, the chlorophyll content also increased as in the case of lower leaves of rice plants. The lower content of chlorophyll in the upper leaves seems not to be attributable to decomposition as caused by the metabolites secreted by the hyphae of the causal fungus.

(Laboratory of Phytopathology, College of Agriculture, Kyoto University, Kyoto)

文 献 紹 介

方中達・任欣正・陳泰英・朱有紅・范杯忠・伍尚忠：水稻白葉枯病の病原細菌と稻及び季氏禾の条斑病原細菌との比較研究（水稻白葉枯病及条斑病和李氏禾条斑病原細菌の比較研究，植物病理学報（中共），Vol. 3, (2)：99~124. (1957)。

中国に於いて水稻の細菌病として白葉枯病は華東、華中に広く蔓延しているが、広東省、珠江の三角洲にはさらに1種の細菌性疾患が見られている。病状は白葉枯病にやや似た点もあるが、主として条斑となる。本論文はこれら水稻疾病の病原細菌及び雑草、季氏禾 (*Leersia hexandra*) に発生する条斑病原細菌の比較を行つたものである（註. *L. hexandra* は牧野氏によるとアシカキ *L. japonica* と同一種として取扱われている）。

著者等の観察によると、上記3菌の形態はよく似ているが、培地上の諸性質、生理、生化学的性質、血清学的性質及び病原性が異つているので、各々を異るものとして取扱つている。

白葉枯病々斑から分離した細菌は石山氏の記載とよく一致し、かつ稻に接種試験を行うと典型的な白葉枯病の病徴を呈するので、*Xanthomonas oryzae* と同定している。

一方稻葉に条斑を形成する細菌は、その病原性、さらに細菌学的性質に於いても上述の *X. oryzae* と異なるものとして著者等は *Xanthomonas oryzicola* なる新学名を与えている。細菌の大きさ $1.2 \times 0.3 \sim 0.5 \mu$ 、芽胞及び包囊をつくらず、1本の極毛を有し、Gram 陰性である。好氣的であつて、 28°C

でよく発育する。コロニーは黄色、円形、gelatinを液化し、牛乳を凝固しない。リトマス還元し、また SH_2 及びアンモニアを形成する。indol 反応は陰性、dextrose, sucrose, xylose 及び mannose から酸を生ずるが、gas を生じない。澱粉を加水分解しない。稻葉に接種すると、水浸状の条斑を生じ、やがでそれが黄褐色となつて多量の細菌を漏出する。本細菌は *Leersia hexandra* には弱い病原性を示し、葉に小紫斑又は条斑をつくるのみである。マコモには病原性がない。

Leersia hexandra から分離した細菌は稻の上記の2菌とまた異つている。この病原細菌は稻を殆んど侵さない。この細菌の生理的性質は稻条斑病原細菌とやや似ているが、病原性、培地上の性質、血清及反応などから異なる種類と考えて、*Xanthomonas leersiae* なる学名を与えている。本細菌の大きさは $1.2 \sim 1.4 \times 0.4 \mu$ であり、芽胞、包囊をつくらず、極毛を有すること、Gram 陰性、好氣的に 28°C でよく発育し、コロニーは黄色 (waxy yellow) であることなど、*X. oryzicola* とよく似ている。

この細菌は雑草、*Leersia hexandra* に強い病原性を示し、葉に水浸状の条斑をつくり、多量の細菌を漏出する。稻に対しては病原性弱く、マコモには病原性がない。

著者等は *L. hexandra* が野外で白葉枯病の寄主であるかどうかを、また稻条斑病菌と *Leersia* 条斑病菌との関係をなお明らかにしていない。

(赤井重恭)