水 稻 の 病 態 生 理 学 的 研 究 (第4報)

アミノ酸加用水耕液で栽培した水稻の稻胡麻葉枯病に対する罹病性について*

赤井重恭・獅山慈孝・江川 宏**

Shigeyasu AKAI, Jiko SHISHIYAMA and Hiroshi EGAWA : Studies on pathological physiology of rice plants IV. On the susceptibility of rice plants cultured with nutrient solution containing amino acid to the Helminthosporium blight caused by *Cochliobolus miyabeanus*.

1. 緒 言

植物が無機イオン以外の物質を根或は葉面から吸収することについては植物生理学上なお種々の問題がある。しかし最近特に農業用薬剤または植物疾病の化学療法などの立場から、2,4-D^{5,7)}, streptomycin, griseofulvin などの抗生物質^{10,11)}, 有機水銀剤⁸⁾, alkylenethiourea²⁾ 或は dithane¹⁵⁾ などを植物に適用した場合、これらの薬剤が根或は葉面から吸収されることを報じたものが多い。同様にアミノ酸の吸収についても、Shreiner¹⁴⁾は小麦に purine, アミノ酸などが、また Brigham⁴⁾はトウモロコシにアスパラギン酸、その他のアミノ酸がそれぞれ吸収利用されることを報告している。この他、郡場⁶⁾, Bonner²⁾ らもグルタミン酸、アスパラギン酸などのアמידが高等植物の窒素源として利用されることを述べている。アミノ酸が直接水稻に利用されるか否かの問題については未だ確証はないが、たとえ水耕液中に存在する微生物の酵素或は水稻の根から分泌される酵素によつてアミノ酸が分解されるとしても、生体内では無機塩類よりも遙にアミノ酸を合成し易い形態で吸収されるものであろう。一方本実験に用いたアミノ酸は250以下の低分子量のものであつて、水溶液中に於いては多少イオン化するので、細胞膜の物理化学的性質から考えて当然多少のアミノ酸は直接吸収され得るものと考えられる。

筆者らは前報¹⁾に於いて、水稻葉中に検出される遊離アミノ酸は抵抗性或は罹病性品種によつて、また生育期別によつて量的にも質量的にも多少の相違あることを報告した。しかし、それらに稻胡麻葉枯病菌を接

種した場合には、罹病性品種では抵抗性のそれに比べて遊離アミノ酸の減少が著しい。従つて本報に於いては水稻葉中の遊離アミノ酸の量的増減が稻胡麻葉枯病の発生と如何なる関係を持つていのかを検討するとともに、水稻をアミノ酸加用水耕液で栽培してその罹病性の変化を論じ、特に稻胡麻葉枯病罹病葉に於ける病斑の拡大変化を観察した。

2. 実験材料及び方法

供試水稻品種は曲玉*であつて、水耕法は木村、秋元、馬場¹³⁾の方法に従つた。水耕液は5日毎に更新し容量1.2lのポットに稲苗10本宛を育成した。水稻は6月2日播種、6月20日から水耕を開始し、8月3日迄はアミノ酸を加えず常法通り水耕し、8月4日から10日間アミノ酸加用水耕液で栽培して、8月14日に接種した。供試菌は研究室保存第13号菌であつて、接種方法は前報¹⁾と同様に行つた。接種後再び水耕し、分析用及び病斑測定用の試料は何れも8月20日に採取した。遊離アミノ酸の検出は、前報と同様半定量的に行つたり。即ち水稻を刈取つて直ちに水洗し、細片後、生葉中の酵素を破壊するため100°C、30分間乾燥した。その後再び100~105°Cで24時間乾燥し、乾燥後ミキサー(日立製)で粉碎して、更にデンケーター中で真空乾燥した後保存した。分析には粉末試料を正確に1.2g取り、Soxhlet extractorを用いて80%エタノールで12時間抽出し、抽出液は第1表の如く調製して、正確に5mlの溶液とした後 paper chromatography 用とした。Paper chromatography は試料の0.1mlをメスペットで濾紙上に滴下したほかは全く前報と同様に行つた。

アミノ酸加用水耕液は原水耕液中の $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, KNO_3 , 及び $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ を除いて、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 24.1

* 京都大学農学部植物病理学研究室業績 第105号, 本論文の内容は昭和31年日本植物病理学会関西西部会(於香川大学)(31. 10. 28)に於いて発表した。

** 日本曹達株式会社研究部(高岡工場)

* 島根県農業試験場より分譲をうけた。記して謝意を表する。

第1表 水稻葉中の遊離アミノ酸の調製法
Table 1. The preparation of free amino acid from rice plant leaves for paper chromatography.

第2表 アミノ酸加用水耕液で育成した健全及び罹病水稻の草丈比較 (20 株平均)

Table 2. Average height of healthy and diseased rice plants cultured with nutrient solution containing amino acid.

Amino acid added	Height (cm.)	
	Healthy	Diseased
Aspartic acid	63.25	63.25
Cystine	64.00	60.40
Glycine	62.80	64.10
Glutamic acid	60.20	63.10
(NH ₄) ₂ SO ₄	58.80	60.45

mg/l の代りに分子量中の窒素含量に相当するだけの NH₂-N, 即ち aspartic acid (A. A) 48.4 mg/l, glycine (GLY.) 27.6 mg/l, cystine (CYST.) 44.2 mg/l, glutamic acid (G. A) 53.7 mg/l 宛を添加した。なお Ca(NO₃)₂ のみは CaCl₂ で置き替えた。しかし病斑の測定は接種後 6 日目に行い, 侵入抵抗並びに拡大抵抗の判定には葉長 1cm 当りの病斑数及び拡大

率¹⁷⁾ (大病斑数/総病斑数 × 100) を採用した。なお大病斑とは中毒部の形成せられているものであり, 小病斑とは中毒部の形成を認めないものであつて, 壊死部の大きさは万能拡大投影機で 20 倍に拡大して測定した (第4表)。

3. 実験結果

(i) アミノ酸加用区に於ける水稻草丈の比較 接種翌日の供試水稻の草丈は第2表の通りであるが, 健全罹病共にアミノ酸加用区的水稻はやや生育良好のようである。

(ii) アミノ酸加用区水稻葉中の遊離アミノ酸の消長 第1表の方法で資料を調製したのち, 前報と同様に2次元 paper chromatography で展開した結果は第3表の如くである。

第3表 アミノ酸又は硫酸を施用した水稻の健全葉及び罹病葉中の遊離アミノ酸

Table 3. Free amino acids in the healthy and diseased leaves of rice plants supplied with amino acid or (NH₄)₂SO₄ respectively. (Magatama was used)

Amino acids found	Amino acid supplied								Control (NH ₄) ₂ SO ₄	
	A. A		CYST.		GLY.		G. A			
	* H	** D	H	D	H	D	H	D	H	D
Asp. acid	##	+	+	+	+	+	+	+	+	±
Alanine	+	±	+	+	+	±	+	±	±	±
Arginine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cysteine	+	±	+	+	+	±	+	±	±	±
Cystine	±	±	±	±	±	±	±	±	±	+
Glut. acid	##	+	+	+	+	+	##	+	+	±
Glycine	+	+	±	+	+	+	+	±	+	+
Leucine	±	+	±	-	+	-	+	-	±	±
Methionine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Serine	+	+	±	+	+	+	+	-	+	+
Threonine	+	-	±	±	±	±	+	-	±	±
Tryptophan	+	+	-	-	±	±	±	±	±	±
Valine	+	##	+	+	+	+	+	+	##	+

*...healthy leaf, **...diseased leaf

(+) positive, (++) about 2-fold amounts of (+), (##) about 3-fold, (±) indistinct and (-) negative.

第3表の結果から明らかなように, アミノ酸を加用して水耕した場合には, (NH₄)₂SO₄ を与えた場合よりも相対的に多量の遊離アミノ酸が葉中に検出される。特に aspartic acid 加用区では aspartic acid, alanine, arginine, cysteine, glutamic acid, glycine,

serine, tryptophan 等が多く、それらは接種によって著しく減少する。また glutamic acid を加用した場合には、前者の場合よりも検出されたアミノ酸量は少ないが、接種によるアミノ酸の減少は著しく、検出不能となるものも少くない。しかしこの両者に共通に言えることは酸性アミノ酸即ち aspartic acid, 及び glutamic acid の減少が著しいことである。以上2区のアミノ酸加用区に比べ、glycine 及び cystine 加用区では、control 区より量的に多少多くのアミノ酸を検出したが、接種によるアミノ酸の減少率は glycine よりも cystine 区の方が多少少ないようである。しかしこの場合に於いても酸性アミノ酸の減少率が著しい。

接種によってアミノ酸が著しく減少した区を順に示せば次の如くである。

aspartic acid > glutamic acid > glycine > cystine
 $\cong (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

(iii) アミノ酸加用水耕液で育成した稲稈病葉の病斑の大きさ 病斑数（侵入抵抗）並びに病斑の拡大率は各処理区別及び葉位別ともに明らかな差を示さなかったが、しかし例えば aspartic acid 区の第3葉では control 区の約 1.5 倍の病斑数が認められ、明らかに侵入抵抗が減退しているようである。なお肉眼的に病斑を観察した場合に、アミノ酸加用区の病斑が control 区に比較して大きいので、万能拡大投影機（20 倍拡大）を用い病斑壊死部のみを測定比較した（第4表）。

第4表 胡麻葉枯病菌を接種した稲葉上の病斑長の分布

Table 4. The distribution of length of necrotic spots on the rice plant leaves inoculated with *Cochliobolus miyabeanus* (Magatama was used)

Length of necrotic spot 1/20 mm.	Amino acid supplied				Control (NH_4) ₂ - SO ₄
	A. A	CYST.	GLY.	G. A	
0~5	7.8	16.1	18.0	14.5	24.6
6~10	24.5	23.5	22.0	27.5	41.1
11~15	24.5	33.3	16.0	17.4	26.0
16~20	16.7	13.6	24.0	17.4	5.5
21~25	9.8	7.4	10.0	8.7	2.7
26~30	6.9	2.5	6.0	2.9	0.0
31~35	2.0	3.7	2.0	5.8	0.0
36~40	3.9	0.0	2.0	5.8	0.0
41~45	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0
46~50	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0
51~55	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Mean length	mm 16.53	mm 12.78	mm 14.01	mm 14.86	mm 9.04

上表の結果から明らかな如く、アミノ酸加用区では

control 区に比べて病斑壊死部（長さ）が大きく、その順序は次のようである。

aspartic acid > glutamic acid > glycine > cystine
 > (NH_4)₂SO₄

従つてアミノ酸加用区の水稲では、侵入抵抗には明らかな差が認められなかつたが、拡大抵抗には差が認められるといふことができる。

4. 考察並びに結果

アミノ酸が根から吸収されることについては既に述べた通りであつて、それらが窒素源として利用され得ないという報告はないようである。Bonner⁹⁾によると植物組織内に於いて glutamic acid と種々の NH_3 -acceptor との間には transamination が起つて、種々のアミノ酸を合成する。Aspartic acid についても同様なことが Virtanen¹⁰⁾ によつて報告されている。従つて筆者らは、もしアミノ酸が吸収されるとすれば水稻体内で transamination が起つて種々のアミノ酸を早く合成するであろうと考え、この実験を計画した。前報¹⁾に於ても報告したように、アミノ酸を比較的多量に含んでいた罹病性品種曲玉では、接種によつてアミノ酸が著しく減少した。従つて本実験に於いては水稻葉のアミノ酸含量と感受性との相関関係を持つか否かを検討した。実験結果によつても明かなように、glutamic acid 及び aspartic acid を水耕液に添加して栽培した水稻は control (NH_4)₂SO₄ 加用区よりも葉中のアミノ酸含量が多い。この事実は glutamic acid 及び aspartic acid が根より吸収され水稻体内に於いてそれらの transamination が早く行われたものと考えられる。

山仲・河合¹⁶⁾は稲黄化萎縮病葉中に多量の遊離アミノ酸が蓄積されることを述べ、それらの葉はイモチ病、胡麻葉枯病に極めて罹り易いことを報告している。一方奈須田・竹田⁹⁾によると水銀剤又は銅剤を撒布した水稻中では遊離アミノ酸が減少し、発病率が少ないことを報告している。この発病率の減少は勿論薬剤の殺菌効果によるものと考えねばならないが、一方撒布による薬剤の浸透が2次的に transamination を抑え、遊離アミノ酸の減少を来し、それが病原菌の伸展を抑えて病斑の拡大を抑制したものとも考えられる。しかし、アミノ酸加用水耕液で栽培した水稻葉に胡麻葉枯病菌を接種するとアミノ酸が減少することは前報の結果と同様であつて、特に減少の著しいものは glutamic acid 及び aspartic acid である。また病斑数（侵入率）及び病斑の拡大率を調べた結果では、

前者では余り差が認められなかつたが、後者は明らかにアミノ酸添加区に於いて大きく、その順序は aspartic acid > glutamic acid > glycine > cystine の順序である。以上の結果及び山仲・河合の結果から考察すると、遊離アミノ酸特に glutamic acid 及び aspartic acid が葉中に多く含まれている程疾病に罹り易く、且つ病斑の拡大も大きいようである。なお上述の二塩基性アミノ酸が水稻の生理作用に如何なる役割を演じ、また疾病の発生及び拡大に如何に関与するかなどについては今後定量的に検討を加えてゆきたいと考へる。

5. 摘 要

1) 水稻品種曲玉を用いてアミノ酸加用水耕液で栽培し、葉中の遊離アミノ酸の変化を2次元 paper chromatography で半定量的に調べた。その結果アミノ酸加用区の水稲には control 区より多くの遊離アミノ酸を検出したが、その順序は aspartic acid 区 > glutamic acid 区 > glycine 区 > cystine 区 $\geq$ control 区である。

2) 各区に生育した水稻に稻胡麻葉枯病菌(京大第13号菌)を接種した結果では、接種後6日目に於ける葉中の遊離アミノ酸は前報と同様に減少した。就中二塩基性アミノ酸の減少が著しい。

3) アミノ酸加用区水稻の総病斑数には、処理区別及び葉位別に見て、余り差が認められない。しかし病斑壊死部の長さを万能拡大鏡(20倍拡大)で測定し、その平均値を比較した場合には、aspartic acid 区 > glutamic acid 区 > glycine 区 > cystine 区 > control の順に大きさは低下する。

Summary

In the present paper, the writers reported the change of free amino acid content in rice plants which were cultured in nutrient solution containing following sources of nitrogen: aspartic acid, cystine, glutamic acid, glycine, and $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ as a control. As shown in Table 3, the content of free amino acid in the rice plants cultured with amino acid surpassed that of the control, and the greatest amount of free amino acid was found in the plants cultured with aspartic acid. Thus the plants may be arranged in the following decreasing order of amino acid content: plants cultured with aspartic acid > glutamic acid > glycine > cystine > $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (control).

Similar to the results reported in the previous paper, the infection of the causal fungus to the rice plants resulted the decreased of the free amino acid content in leaves, especially of the

従つて本実験の範囲内では、遊離アミノ酸特に二塩基性アミノ酸を多量に含む水稻病斑の拡大率が大きく、それら二塩基性アミノ酸の水稲葉中に於ける含量と感受性とは相関関係にあるようである。(1958年8月15日受理)

引用文献

- 1) 赤井重恭・獅山慈孝・江川宏: 植物病害研究, 6(1): 7~10. (1956).
- 2) Bonner, J. and A. W. Galston: Principles of Plant Physiology (1952). p. 254.
- 3) ———: Ibid. p. 258~259.
- 4) Brigham, R. O.: Soil Sci., 3: 155. (1917).
- 5) Kelly, S.: Am. J. Bot., 38: 1~5. (1951).
- 6) 郡場寛: 植物生理生態, (1957). p. 172.
- 7) Mitchell, J. E. and P. J. Linder: Sci., 112: 54~55. (1950).
- 8) 中沢雅典: 日植病報, 23: 53. (1958).
関西部会講演論文集: 105~107. (1957).
- 9) 奈須田和彦・竹内祥晃: 日植病報, 22(1): 33. (1957).
- 10) Pramer, D.: Ann. Appl. Biol., 40: 617~622. (1953).
- 11) ———: J. Exp. Bot., 6: 371. (1955).
- 12) Ross, R. G. and R. A. Ludwig: Can. J. Bot., 35: 65~95. (1957).
- 13) 斎藤清: 作物水耕の理論と実際, (1949). p. 66~68.
- 14) Schreiner, O. and J. J. Skinner: U. S. Bur. Soils Bull. (1912). p. 87.
- 15) Stoddard, E. M.: Phytopath., 41: 858. (1949).
- 16) 山仲巖・河合利雄: 稻黄化萎縮病に関する試験成績(滋賀農試). (1958). p. 16~21.
- 17) 吉井啓・松本益美: 愛媛大学農学部学術報告, 6: 23~60. (1951).
- 18) Virtanen, A. I. and J. Tarnanen: Biochem. Zeit., 250: 193~211. (1932).

dibasic amino acid when measured 6 days after the inoculation.

There was no significant difference between the plants cultured with amino acid and the control with respect to the number of spots that appeared after inoculation. However, a correlation was found between the amino acid content in leaves and the length of spots which was measured under a magnifying glass ($\times 20$). The mean length of spots became shorter with the same descending order as the amino acid content of the leaves does. Accordingly, within the limits of our observations, it may be concluded that the more the content of dibasic amino acids is provided to the plants, the more the spotted area is apt to elongate, and that there exists some correlation between the susceptibility of rice plants to *Helminthosporium* blight and their amino acid content. (Laboratory of Phytopathology, College of Agriculture, Kyoto University, Kyoto, Japan)