水稻ごま葉枯病々斑周縁組織の澱粉蓄積機構

3. 種々の化合物による人工病斑の形成ならびに澱粉分解作用の抑制*

田 中 寛 康・赤 井 重 恭**

Hiroyasu TANAKA and Shigeyasu AKAI: On the mechanism of starch accumulation in tissues surrounding spots in leaves of rice plants due to the attack of *Cochliobolus miyabeanus*.

3. The formation of artificial spots and the inhibition of starch decomposition in rice leaves by various chemical compounds.

水稻ごま葉枯病々斑周縁組織では、多量の澱粉が蓄積し、かつその部分で β -amylase の活性が低下することはすでに報告した^{1,5)}。この澱粉蓄積の原因を澱粉の分解作用抑制という問題に焦点を合わせて考えた場合、 β -amylase 活性の低下原因の追及が必要となる。その原因の一つとして筆者らは病原菌から、あるいは侵入によつて生理異常を起こした水稻細胞から β -amylase を直接あるいは間接に阻害する物質が生産されるのではないかと考えた。本実験ではこのような考えから出発して、種々の化合物溶液による水稻葉上での人工病斑の形成ならびに澱粉流転作用が阻止される状態を観察し、これらの現象と水稻葉の β -amylase

に対する前記化合物の直接あるいは間接的な阻害作用との関係を調査して、病斑周縁組織の澱粉異常蓄積の原因と考えられる β -amylase 活性の低下現象を解明しようとした。

実験材料および実験方法

供試水稻品種旭 4 号を既報¹⁾ のとおりに育成して、草丈約 50 cm になったところ、上位から第 2 葉を適宜実験に供した。

人工病斑の形成ならびに澱粉流転作用の阻止 まず水稻葉を第 1 図のように切り離さずに台上に水平に固定した。その葉面の適当な位置に、細い毛筆でリノー 100 倍液を小斑点（直径約 2~3 mm, 人工病斑を作ろうと思う大きさ）状に塗り、直ちに沅紙で吸取つて、乾燥しないうちに供試化合物の溶液をさきの細いスポイドで滴下した。24 時間後葉を切り取つて人工病斑の形成状態を肉眼的に観察し、さらに既報¹⁾ の方法にしたがつてアルコールで脱色した後、I-KI 溶液で染色して澱粉の残留状態を観察したが、これを澱粉流転作用の阻止力とした。

水稻葉の β -amylase に対する供試化合物の阻害力 化合物の直接的な阻害作用を知るために、水稻葉の中央部を 2 g 秤取して、直ちに長さ約 1 mm に細切し、乳鉢中で珪砂と少量の純水とを加えて、0°C に冷却しながら十分磨砕した。それに純水を加え、ガーゼで沅過して 50 ml としたものをも水稻葉 β -amylase の粗酵素液とした。

この粗酵素液 5.0 ml, 0.4 M 酢酸緩衝液 (pH 6.0) 2.0 ml, 5% 可溶性澱粉溶液 1.0 ml および供試化合物の溶液 2.0 ml を試験管に入れて十分混合し、37°C

第 1 図 水稻葉上への溶液の滴下法

Fig 1. Method of placing a drop of solution on rice leaves.

* 京都大学農学部植物病理学研究室業績, 第130号
水稻疾病の病態生理学的研究, 第6報

** 京都大学農学部植物病理学研究室

の水槽中で5時間反応させ、この反応液 2 ml 中に生成した還元糖をデニトロサリチル酸法⁴⁾にしたがつて定量し、その値を β -amylase の活性とした。化合物の間接的な阻害作用を知るためには浸漬実験を行なった。水稻葉の中央部を 2 g 秤取し、約 1 cm の長さに切つて、200 ml 三角フラスコ中で 100 ml のリノー100 倍液に暫時浸漬し、十分水洗した後、供試化合物溶液 100 ml 中に浸漬して、室温に放置した。このとき水稻葉は完全に溶液中に沈む。一定時間経過後、浸漬した水稻葉片を取出して十分水洗し、前項と同じ方法で粗酵素液を調製した。 β -amylase の活性の測定は、供試化合物溶液のかわりに純水 2 ml を添加した以外はすべて前項と同じ条件で行なつた。本実験では常に対照区として同一時間純水に浸漬したものをを用いた。

実験結果

I. 種々の化合物による人工病斑の形成ならびに澱粉流転作用の阻止

1. HgCl_2 上述したように、本病々斑周縁組織で β -amylase の活性が低下する原因の一つとして、筆者らはその部分に β -amylase 活性を阻害する物質の存在を考えた。もし存在するものとすれば、そのような物質を人工的に水稻葉に与えた場合、その部分に β -amylase の活性低下がおこり、澱粉の蓄積を起すであろう。筆者らはまず β -amylase に対して特に強い阻害作用を有する HgCl_2 を滴下して葉上に人工病斑を作り、人工病斑内およびその周縁における澱粉の異常分布を観察した。ただし HgCl_2 は β -amylase 以外の多くの酵素をも阻害するものと考えられるので、必ずしも最良の阻害物質ではないが、 β -amylase のみを特異的に阻害する物質が見当らないのでやむを得ず使用した。

前述の方法にしたがい、午後5時ごろに温室内の水稻の葉上に3種類の濃度^{*)}の HgCl_2 溶液を滴下した。翌朝9時ごろには滴下部は浸潤状態を呈しているにすぎないが、その後次第に細胞の壊死が進んで、24時間後(午後5時ごろ)には周囲は黒褐色、中央部は灰色の人工病斑となり、周縁部はやや黄化して中毒症状を呈した(第2図, A)。しかして人工病斑には HgCl_2 溶液の濃度による質的な差は認められないが、病斑を形成するまでの時間に多少の差が認められる。

*) HgCl_2 は *in vitro* では 10^{-2} M で完全に β -amylase を阻害するが、葉面から吸収させた場合の細胞内での稀釈等を考慮して、滴下には 10^{-2} , 5×10^{-2} , 10^{-1} M の3種類の濃度の溶液を用いた。

第2図 HgCl_2 溶液 (10^{-2} M) 滴下により形成された人工病斑およびヨード澱粉反応を示す模式図

Fig. 2. Schematic figures of the artificial spot and the starch distribution in rice leaves which were produced by dropping HgCl_2 solution (10^{-2} M).

以上のような人工病斑ならびにその周縁部における澱粉の分布を観察するため、葉をアルコールに浸漬して脱色後暗所に保つて I-KI 溶液に 24 時間以上浸漬した。ヨード澱粉反応は前述の病斑周縁の黄化部を除いたすべての部分でみられたが、病斑以外の健全部は藍色であるにもかかわらず、病斑部は藍紫色であつて、両者の色調は明瞭に区別することができた(第2図, B)。人工病斑部では細胞は壊死状態にあるから、光合成作用すなわち澱粉合成作用は完全に抑えられているものと考えられるが、もし澱粉分解作用も完全に抑えられているならば、その部分は健全部と同様に藍色を呈するはずである。一方澱粉分解作用にぜんぜん異常がなければ、葉を 24 時間暗処理することによって澱粉が完全に消失する⁵⁾のであるから、この部分は完全に退色するはずである。したがって人工病斑部においてヨード澱粉反応が藍紫色を呈したことは、この部分において澱粉分解作用がかなり抑えられていることを示すものである。

一方人工病斑周縁の黄色部においてヨード澱粉反応がみられないのは、澱粉合成作用のみ抑えられて、分解作用は抑制されていないことを意味する。この人工病斑をごま葉枯病々斑と対比して、壊死部一壊死部、周縁黄化部一中毒部と考えるならば、澱粉の分布異常という点においては両者はかなり異なっている。しかしこのことについては別の面から異なつたモデル実験を行なつて補助するとして、ここでは β -amylase 阻害剤を葉上に滴下して、その部分の澱粉分解作用を抑制

第1表 呼吸系酵素阻害剤による水稻葉上の人工病斑の形成ならびに

その部分における澱粉流転作用の阻止

Tab. 1 The formation of artificial spots and the inhibition of starch translocation therein by various respiratory inhibitors on rice leaves.

Respiratory inhibitors	Conc. (M)	Formation of artificial spots				Inhibition of starch translocation				
		Degree of formation	Color of spots			Degree of inhibition	Iodo-starch reaction			Color reaction
			C*	P	S		C	P	S	
No dark-treatment	—	—				—				Bl
“Rino”***	1 %	—				—				Bl
Phloridzin	〃	—				—				
NaF	〃	—				—				
NaN ₃	〃	—				—				
α, α' -dipyridyl	〃	—				—				
o-phenanthrolin	〃	+	(Br)**			—				
8-hydroxy-quinolin	〃	—				—				
K-ethylxanthate	〃	+		(Br)		—				
Salicylaloxime	〃	—				—				
Na-diethyldithio-carbamate	〃	+		(Br)	Y	—				
Monochloro-acetic acid	〃	+		(Br)	(Y)	+	+			Bl·V
Monoiodo-acetic acid	〃	+++	(G)	Br	Y	++	++			Bl·V
Monobromo-acetic acid	〃	++		(Br)	(Y)	++	++		++	Bl·V
KCN	〃	—				—				
2,4-dinitrophenol	〃	+		(Br)		—				

* C: central part, P: periphery, S: surrounding part.

** Bl: blue, Br: brown, G: grey, V: violet, Y: yellow; (): slightly discolor.

*** From Nippon Noyaku Co.

することができることのみを強調したい。なお午後5時ごろに暗処理を開始した水稻葉上に前述と同様人工病斑を形成させた場合には、病斑の肉眼的徴候にはあまり差異がなかつたが、ヨード澱粉反応は、光合成作用が行なわれないので、健全部には認められず、病斑部のみ無暗処理の場合と同様に藍紫色を呈した（第2図，C）。このことから人工病斑部において澱粉の酵素的分解がかなり阻止されているものと思われる。

2. その他の化合物 HgCl₂ によつて水稻葉中の澱粉流転作用がかなり阻止されたので、呼吸系酵素阻害剤³⁾、金属塩類ならびにフェノール類などについても同様な観察を行なつた（第1, 2 および 3表）。この実験に供試した水稻はすべて処理時間（24 時間）中暗所に保つた。

呼吸系酵素阻害剤の中には人工病斑を形成しないも

のも多数あつたが、供試したすべての重金属塩類ならびに phloroglucine を除いたフェノール類は人工病斑を形成した。しかし、これらの化合物によつて形成された人工病斑には、変色部分の範囲やその程度にかなりの差異があつたが、滴下物質の諸性質との間には明瞭な関係を見出し得なかつた。なお形成された人工病斑の中には、病斑部においてヨード澱粉反応を呈するものと呈しないものとが存在する。第2表において、Ag⁺, Fe⁺⁺⁺ 病斑の中央部ならびに周囲, Cu⁺⁺, Hg⁺⁺ 病斑の周囲でヨード澱粉反応が±であるのは、それらの部分が黒褐色に変色しているため、その判定が困難であつたからである。Cu⁺⁺, Fe⁺⁺⁺ 病斑の周縁部ではヨード澱粉反応はみられたが、人工病斑の周囲と周縁部との間には細い環状の退色部（ヨード澱粉反応を呈

第2表 重金属塩類 (10^{-2} M) による水稻葉上の人工病斑の形成ならびに

その部分における澱粉流転作用の阻止

Tab. 2. The formation of artificial spots and the inhibition of starch translocation therein by heavy metal solutions (10^{-2} M) on rice leaves.

Metal ions	Metal salts	Formation of artificial spots				Inhibition of starch translocation				
		Degree of formation	Color of spots			Degree of Inhibition	Iodo-starch reaction			Color reaction
			C*	P	S		C	P	S	
	No dark-treatment	—				—				Bl
	"Rino" ***	—				—				Bl
Ag ⁺	AgNO ₃	+++	B. V**	B. V	(Y)	±	±	±		
Cd ⁺⁺	CdSO ₄ · $\frac{8}{3}$ H ₂ O	+		(Br)	(Y)	—				
Co ⁺⁺	CoSO ₄ ·7H ₂ O	±~+	(Br)			—				
Cr ⁺⁺⁺	Cr(NO ₃) ₃ ·9H ₂ O	±~+	(Br)			—				
Cu ⁺⁺	CuSO ₄ ·5H ₂ O	++	(G)	Br	Y	+	+	±	+	Bl. V
Fe ⁺⁺	FeSO ₄ ·7H ₂ O	++	G. Br	G. Br		+	+	+		Bl. V
Fe ⁺⁺⁺	Fe(SO ₄) ₃	+++	B. Br	B. Br		+	±	±	+	Bl. V
Hg ⁺⁺	HgCl ₂	+++	(G)	B. Br	Y	++	++	±		Bl. V
Mo ⁺⁺	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	+	(Br)		(Y)	—				
Pb ⁺⁺	Pb(CH ₃ COO) ₂ ·3H ₂ O	+	(Br)			—				
Zn ⁺⁺	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	+		(Br)		—				
Mg ⁺⁺	MgSO ₄ ·7H ₂ O	—				—				
Mn ⁺⁺	MnSO ₄ ·7H ₂ O	—				—				

* C: central part, P: periphery, S: surrounding part.

** B: black, Bl: blue, Br: brown, G: grey, V: violet, Y: yellow; (): slightly discolor.

*** From Nippon Noyaku Co.

第3表 フェノール類 (10^{-2} M) による水稻葉上の人工病斑の形成ならびに

その部分における澱粉流転作用の阻止

Tab. 3. The formation of artificial spots and the inhibition of starch translocation therein by various phenol solutions on rice leaves.

Phenols	Formation of artificial spots				Inhibition of starch translocation
	Degree of formation	Color of spots			
		C *	P	S	
No dark-treatment	—				—
“Rino” ****	—				—
Catechol	++	B **	B	(Y)	—
Resorcine	++	Y. Br	Y. Br		—
Hydroquinon	+	Br	Br		—
Pyrogallol	+	B. V	B. V		—
Phloroglucine	—				—
β-Naphthol	± ~ +	***			—

* C: central part, P: periphery, S: surrounding part.

** B: black, Br: brown, V: violet, Y: yellow; (): slightly discolor.

*** water-soaked.

**** From Nippon Noyaku Co.

第4表 水稻葉上の人工病斑の形成ならびに澱粉流転作用の阻止力
による種々の化合物の分類

Tab. 4. Grouping of various chemicals (10^{-2} M) according to their ability
to form artificial spots on rice leaves and to inhibit the starch
translocation therein.

Groups	Formation of artificial spots	Iodo-starch reaction	Respiratory inhibitors	Metal ions	Phenols
I	+	+	Monochloroacetic acid* Monoiodoacetic acid* Monobromoacetic acid*	Ag ⁺ Cu ⁺⁺ Fe ⁺⁺ Fe ⁺⁺⁺ Hg ⁺⁺	
II	+	—	o-phenanthroline	Ca ⁺⁺	Catechol
	+	—	K-ethylxanthate Na-diethyldithiocarbamate 2,4-dinitrophenol**	Mo ⁺⁺ Pb ⁺⁺ Zn ⁺⁺	Resorcine Hydroquinon Pyrogallol
	±~+	—		Co ⁺⁺ Cr ⁺⁺⁺	β-Naphthol
III	—	—	Phloridzin NaF NaN ₃ α, α'-dipyridyl 8-Hydroxyquinoline Salicylaldoxime KCN***	Mg ⁺⁺ Mn ⁺⁺	Phloroglucine

* 5×10^{-3} M.

** 10^{-4} M.

*** 5×10^{-2} M.

第5表 水稻葉の β-amylase 活性に対する第1群化合物の直接的な阻害作用

Tab. 5. The direct inhibition of various chemicals in Group I to
the activity of β-amylase in rice leaves.

Chemicals	Final conc. (M)	Activity of β-amylase		Inhibition (%)
		Abs. *	Relative	
Control (DW)	—	0.385	100	—
Monochloroacetic acid	2×10^{-3}	0.260	68	32
Monoiodoacetic acid	〃	0.140	38	62
Monobromoacetic acid	〃	0.450	116	—16
Ag ⁺	〃	0.155	40	60
Cu ⁺⁺	〃	0.000	0	100
Fe ⁺⁺	〃	0.490	127	—27
Fe ⁺⁺⁺	〃	0.000	0	100
Hg ⁺⁺	〃	0.000	0	100

* The activity was expressed by mg of reducing sugar formed in 5 hr. per 40 mg of fresh tissue at 37°C, pH 6.0.

第6表 水稻葉の β -amylase 活性に対する第2群化合物の直接的な阻害作用Tab. 6. The direct inhibition of various chemicals in Group II to the activity of β -amylase in rice leaves.

Chemicals	Final conc. (M)	Activity of β -amylase		Inhibition (%)
		Abs. *	Relative	
Control (DW)	—	0.385	100	—
2,4-dinitrophenol	2×10^{-5}	0.770	200	-100
Zn ⁺⁺	2×10^{-3}	0.200	52	48
Control (DW)	—	0.240	100	—
K-ethylxanthate	2×10^{-3}	0.265	110	-10
Na-diethyldithiocarbamate	〃	0.170	71	29
Cd ⁺⁺	〃	0.095	40	60
Pb ⁺⁺	〃	0.085	35	65
Catechol	〃	0.340	142	-42
Pyrogallol	〃	0.325	135	-35

* See Tab. 5.

第7表 水稻葉の β -amylase 活性に対する HgCl₂ 溶液 (0.01 M) の間接的な阻害作用Tab. 7. The indirect inhibition of HgCl₂ solution (10^{-2} M) to the activity of β -amylase in rice leaves.

No. of experiment	Hours in dipping	Activity of β -amylase*		Relative value
		Control (DW)	HgCl ₂	
I	0	0.505	0.505	100
	1	0.340	4.730	1399
	3	2.125	0.060	3
	5	0.470	0.000	0
II	0	0.365	0.365	100
	2	0.920	2.535	275
	4	0.455	0.000	0
	6	0.380	0.000	0

* See Tab. 5.

しない) がみられた。一方人工病斑を形成しないものはすべてヨード澱粉反応を呈しないので、澱粉流転作用を阻止しないものと考えられる。以上の観察結果から、これらの数多くの物質を(1)人工病斑を形成しかつ澱粉流転作用を阻止するもの(第1群)、(2)人工病斑を形成するが澱粉流転作用を阻止しないもの、(第2群)および(3)人工病斑を形成せず、したがって澱粉流転作用を阻止しないもの(第3群)の3群に分けることができる(第4表)。

II. 種々の化合物による澱粉分解作用の抑制

1. 水稻葉の β -amylase 活性に対する種々の化合物の直接的な阻害作用 以上の実験結果からある種の物質を水稻葉上に滴下すると、その部分において澱粉

流転作用が阻止されることが明らかになったが、この原因がこれらの物質による水稻葉の β -amylase に対する直接的な阻害作用によるのか否かを調べるため、前記の第1および2群に属する数種の物質を添加して β -amylase の阻害実験を行なった(第5および6表)。ただし第3群に属するものは澱粉流転作用を阻止しないので以後の実験には供試しなかつた。第1群に属するもののうち monobromoacetic acid および Fe⁺⁺ の添加では β -amylase の活性は阻害されなかつたが monochloroacetic acid, monooidoacetic acid および Ag⁺ ではかなりの阻害を、Cu⁺⁺, Fe⁺⁺ および Hg⁺⁺ などでは完全に阻害された。一方第2群に属するものでは、Cd⁺⁺, Pb⁺⁺ および Zn⁺⁺ 添加がかなりの阻害

第8表 水稻葉の β -amylase 活性に対する第1群化合物 (10^{-2} M) の間接的な阻害作用Tab. 8. The indirect inhibition of various chemicals in Group I (10^{-2} M) to the activity of β -amylase in rice leaves.

Chemicals	Hours in dipping					
	3.5		7.0		24.0	
	Activity* of β -amylase	Relative value	Activity* of β -amylase	Relative value	Activity* of β -amylase	Relative value
Control (DW)	0.220	100	0.230	100	0.315	100
Monochloroacetic acid	0.085	39	0.060	26	0.065	21
Monoiodoacetic acid	1.590	723	0.835	363	0.045	14
Monobromoacetic acid	0.690	314	0.000	0	0.045	14
Control (DW)	—	—	—	—	0.235	100
Ag ⁺	—	—	—	—	0.000	0
Cu ⁺⁺	—	—	—	—	0.020	9
Fe ⁺⁺	—	—	—	—	0.145	62
Fe ⁺⁺⁺	—	—	—	—	0.100	43

* See Tab. 5.

第9表 水稻葉の β -amylase 活性に対する第2群化合物の間接的な阻害作用Tab. 9. The indirect inhibition of various chemicals in Group II to the activity of β -amylase in rice leaves.

Chemicals	Conc. (M)	24 hours in dipping	
		Activity* of β -amylase	Relative value
Control (DW)	—	0.315	100
2, 4-dinitrophenol	10^{-4}	0.225	71
Control (DW)	—	0.305	100
K-ethylxanthate	10^{-2}	0.400	131
Na-diethyldithiocarbamate	〃	0.585	192
Cd ⁺⁺	〃	0.770	253
Pb ⁺⁺	〃	0.215	71
Catechol	〃	0.390	128
Control (DW)	—	0.235	100
Zn ⁺⁺	10^{-2}	0.325	128

* See Tab. 5.

作用を示したが、2, 4-dinitrophenol, catechol および pyrogallol のようにフェノール系の物質の添加では逆に活性はかなり大となるようである。以上の結果から、第1群に属するものの多くは水稻葉の β -amylase を直接阻害したが、第2群に属するものには阻害するものとしめないものがあり、 β -amylase を直接的に阻害する能力のあるものが必ず澱粉流転作用を阻止するとは限らないようである。

2. 水稻葉の β -amylase の活性に対する HgCl_2 溶液の間接的な阻害作用 以上の結果から化合物滴下

による水稻葉の澱粉流転作用阻止は β -amylase の直接的な阻害のほか、他の酵素を阻害した結果間接的に起こる β -amylase の活性低下も考えられる。このことは化合物の溶液に一定時間浸漬した水稻葉片から調製した粗酵素液について β -amylase の活性を測定することによってある程度調べることができる。まず初めにこれらの物質の水稻葉内への浸透と浸漬時間との関係を知るため水稻葉片を HgCl_2 溶液に種々の時間浸漬して、 β -amylase の活性を測定した(第7表)。 10^{-2} M HgCl_2 溶液に浸漬した場合には2時間以内まででは β -amylase の活性はむしろ大であつたが、3時間以上の浸漬ではほとんど0に等しくなり、完全に阻害されたと考えられた。

3. 水稻葉の β -amylase の活性に対する種々の化合物の間接的な阻害作用 前記第1および2群に属する物質の溶液に、

HgCl_2 の場合と同様、水稻葉を浸漬し、一定時間後に取出して調製した粗酵素液について β -amylase の活性を測定した(第8および9表)。24時間浸漬した場合の結果から、第1群に属する物質では、すべてがかなり強く β -amylase の活性を阻害したが、第2群に属するものでは大部分が阻害作用をもたず、かえつてかなり活性を高めるものも認められた。

考 察

水稻ごま葉枯病々斑周縁組織では β -amylase の活性が低下することから、澱粉分解作用の抑制がその部分における多量の澱粉の蓄積される原因の一部であろうと考えてきたが、さらに澱粉分解作用が抑制される原因として、これに関与する酵素（直接的には phosphorylase や amylase 群であるが、間接的には解糖系や酸化系などの呼吸に関与する酵素群をも含める）が阻害されているのではないかと考えた。もしそうであれば、この阻害物質はもちろん侵入した病原菌自身の、あるいは異常を起こした水稻葉の代謝産物として本病々斑周縁組織で生産されるものと推定されるのであるが、これらの物質を同定することはひじょうに困難である。そこで既知の澱粉分解に関与する酵素の阻害剤を人工的に水稻葉組織に与えることによつて、その場で澱粉の蓄積を起こさせようならば、ある程度病原菌あるいは寄主組織によつて生産される代謝産物のうち、澱粉の異常蓄積を引き起こすと思われる物質を想像することできるであろう。本実験はこのような立場に立つて、澱粉分解作用を抑制する物質を傍証の意味において推定するために種々の化合物を水稻葉上に滴下して人工病斑を形成させ、澱粉分解作用を抑制しうるか否かを調べたものである。

まず初めにこれらの化合物の澱粉の分解と移行という二つの面を考慮に入れた澱粉流転作用に対する影響

を調べた結果は、第4表に示したように、ある種の化合物は明らかに澱粉流転作用を阻止することを認めた。しかしこのようにして形成させた人工病斑では、これらの化合物の滴下部は大部分褐色壊死を起こしたので、おそらくその部分の細胞は死んでいるものと思われる。しかし澱粉分解作用は細胞の死とは一応別個に考慮してよいと思われる（細胞が死んでいても澱粉分解作用が抑制されない場合がある——第2群に属する化合物を滴下した場合）ので、ここでは切り離して考えたい。したがつてこれらの化合物の澱粉流転作用の阻止力と分解作用としての水稻葉の β -amylase に対する直接的あるいは間接的な阻害力との関係を調べたが、それらをわかりやすく図示すれば第3図のようである。この図からわかるように、澱粉流転作用を阻止する物質の大部分が直接 β -amylase を阻害し、少なくとも間接的にはすべての物質が程度の差はあるが一応阻害する。特に moniodoacetic acid, Ag^+ , Cu^{++} , Fe^{+++} および Hg^{++} などは直接的にも間接的にもかなり強く阻害する。これらの物質はすべて SH-阻害剤であつて、 β -amylase が SH-酵素であることから考えて、このことは当然である。これに対して澱粉流転作用を阻害しない物質のなかにも β -amylase を直接的に阻害するものがあるが、間接的に阻害するものは比較的少なく、たとえ阻害する場合でもその程度は小であり、むしろ逆にかなり活性を高めるものがある。この第2群に属する物質の中には、SH-阻害剤は例外

第3図 水稻葉の β -amylase 活性に対する種々の化合物の阻害作用

Fig. 3 The inhibition of various chemicals to the activity of β -amylase in rice leaves.

的に存在する程度で、大部分は SH-阻害剤ではない。

以上の実験結果から、本病々斑周縁組織における澱粉分解作用の抑制には、SH-阻害剤のような物質の存在が深い関係をもつものと考えられるが、このような物質が水稻あるいは病原菌によつて生産されるとしても、寄主と寄生菌の共存の場合においてはたしてそのどちらに由来して生ずるか、現在までのところ報告されたものがない。水稻に本病々原菌を接種し、20~24時間後に観察すると、病斑はごく小さい点状の初期の段階を示し、その周縁部では澱粉はかえつて消失する。したがつたとえ阻害物質が水稻自身に由来すると仮定しても、感染以前にすでに阻害に十分な濃度に存在するとは考え難く、むしろ病原菌の侵入に伴なつておこる異常代謝の結果生成されたものと考えるのが妥当である。一方ごま葉枯病菌の培養液が β -amylase の活性を阻害することは後藤²⁾が認めており、筆者らも予備実験的に認めている。したがつて SH-阻害剤のような物質が本菌の代謝産物として培養液中に生産されることも考えられる。この点については現在実験を進めている。

また澱粉が蓄積するごま葉枯病々斑周縁組織では、細胞は生きていて外観上何ら異常が認められないが、本実験で形成させた人工病斑では壊死部に澱粉が残留する。この点が前述したように両病斑における澱粉異常分布の最も大きな違いである。第1表にも示したように、monobromoacetic acid 滴下による人工病斑の周縁部は黄変の程度は小であつて、おそらく生きているものと思われ、この部分には澱粉が残留している。このような状態を人工的に作りだすことに成功すれば、自然病斑と対比して考えるのに最も好都合である。この点に関して上記第1群の化合物やさらに本実験には使用しなかつた化合物についても、より低濃度で供試してモデル実験を繰返して行きたいと考えている。

Summary

The writers have previously reported a decrease of β -amylase activity in rice leaf tissues surrounding the spots which occurred after the inoculation with conidia of *Cochliobolus miyabeanus*. To clarify the cause of this phenomenon, we have investigated the formation of artificial spots by placing a drop of each solution of such chemicals as respiratory inhibitors, metal salts and phenols, on leaves of rice plants placed in the dark, and the influence of such chemicals on the decomposition of starch present in artificial spots and their surrounding tissues. In view of our experimental results, these chemicals were divided into three groups as follows: (1) chemicals which form artificial spots and inhibit the starch translocation in rice leaves (Group I), (2) those which form artificial spots, but not inhibit the starch translocation (Group II) and (3) those which have ability neither to form artificial spots nor to inhibit the starch translocation (Group III). We have also investigated the direct or indirect inhibition, by the above-mentioned chemicals, of the activity of β -amylase prepared from rice leaves. All the chemicals belonging to Group I strongly inhibited the activity of this enzyme, whereas most of the chemicals belonging to Group II did not inhibit it. From the results of these experiments, it seems that a substance or substances which inhibit the activity of β -amylase may be produced by the tissues surrounding the spots on rice leaves or by the causal fungus itself. (Laboratory of Phytopathology, Faculty of Agriculture, Kyoto University).

摘 要

水稻ごま葉枯病々斑周縁組織では β -amylase の活性が低下するが、この原因を追及するために、呼吸系酵素阻害剤、金属塩類およびフェノール類などの溶液を暗処理中の水稻葉上に滴下して、人工病斑の形成ならびに澱粉流転作用の阻止力などを調べた。その結果これらの物質を、(1) 人工病斑を形成し、かつ澱粉流転作用を阻止するもの(第1群)、(2) 人工病斑を形成するが澱粉流転作用を阻止しないもの(第2群)および(3) 人工病斑を形成せず、したがつて澱粉流転作用を阻止しないもの(第3群)に分けた。

一方水稻葉から調製した粗酵素液にこれらの物質を添加して、あるいはこれらの物質に水稻葉を浸漬した後調製した粗酵素液について β -amylase の活性を測定し、これらの物質の β -amylase に対する直接あるいは間接的な阻害力を調べた。第1群に属する物質はすべて阻害作用を示したが、第2群に属する物質は示さないものが多かつた。これらのことから、本病々斑周縁組織では β -amylase を阻害する物質が、水稻自身あるいは侵入した病原菌によつて生産されているものと考えた。(1960年5月23日受理)

引 用 文 献

- 1) 赤井重恭, 田中寛康, 野口喜久子 (1958): 日植病報, 23 (3): 111~116.
- 2) 後藤岩三郎 (1958): 山形大学紀要 (農学), 2 (4): 1~152.
- 3) James, W. O. (1953): Plant Respiration. Oxford pp. 218~219.
- 4) 京大農芸化学教室編 (1957): 農芸化学実験書, 東京, p. 619.
- 5) 田中寛康, 赤井重恭 (1960): 日植病報, 25 (2): 80~84.