

ジャガイモ疫病病斑形成に及ぼすエチレンの影響

山本 昌木[※]・野津 建一[※]・杉本 義則[※]・野津 幹雄[※]

Masaki YAMAMOTO, Kenichi NOTSU, Yoshinori SUGIMOTO and Mikio Nozu

Effect of Ethylene on the Lesion Formation of Potato Late Blight

はじめに

ジャガイモの疫病に対する抵抗性機作に関する研究は、山本¹⁰⁾・富山⁸⁾⁹⁾らにより行なわれ、過敏感現象の発現に伴う酵素活性としてはパーオキシダーゼやポリフェノールオキシダーゼが注目されているが、この引き金 (trigger) 要因についてはよくわからない。

最近ガスクロマトグラフィーの進歩により、微量のエチレン定量が可能となり、ほとんどすべての植物組織にエチレン生成が明らかとなり、エチレンが種々の酵素活性を高めることも明らかにされた。Stahmann⁷⁾らや今関⁴⁾⁵⁾らはサツマイモの黒斑病抵抗性とエチレンの関係をしらべている。

筆者らは、エチレン発生剤エスレルの疫病病斑形成に及ぼす影響を検討し、パーオキシダーゼとの関連性を考察したので報告する。供試エスレルを頂いた日産化学工業株式会社、2・4D協議会、疫病菌各種系統を頂いた名大富山宏平教授にそれぞれ感謝する。

実験材料と方法

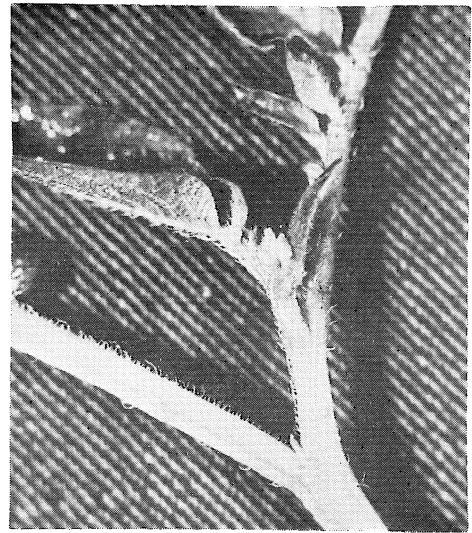
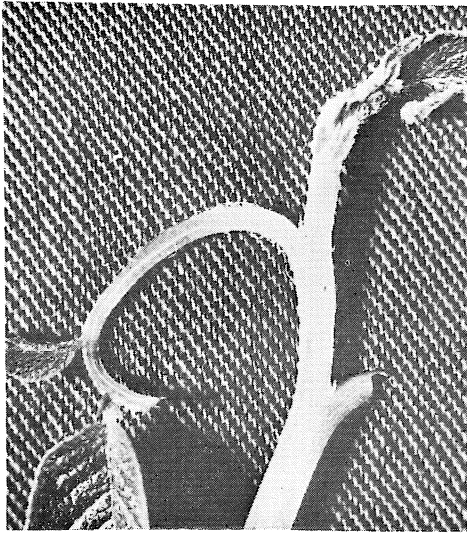
ジャガイモ品種は農林1号(因子r)、レッド・ワーバ(r)、種間雑種96-56(R₁)、1506-(b)9(R₁R₄)、SH-469(R₄)であり、疫病菌はRace 0, Race 1, Race 4である。供試エスレルは、ACP-68-250(有効成分2-chloro-ethyphosphonic acid 48%)で、5, 10, 25, 100ppmをジャガイモ茎葉全体に小型噴霧器で葉表面にエスレルが滴下するまで散布、または、6葉位のジャガイモ葉をエスレル0.5, 1, 2.5, 5ppm 12時間吸収させ24, 72時間後の葉柄の上偏生長を観察した。また散布24時間後疫病菌Race 0の遊走子懸濁液を20°Cで接種、72時間後うすく剥ぎ取った中肋表皮を50%エタノールで固定、×150光学顕微鏡で観察した。ここで大型病斑というのは細胞5個以上褐変したものである。

疫病菌孢子発芽試験の供試菌はRace 0である。スライドガラスを0.5%コロジオンで被覆し24時間放置後5, 25, 50, 100ppm エスレルを1滴ずつ滴下、インゲン培地20°Cで2週間培養した胞子を20°Cの温室で24時間保ち直接発芽させその状態を光学顕微鏡×150, ×600で観察した。

アイソザイムパターンの観察の場合、供試葉柄を5cm長に切断、縦割りし、切断面を流水で洗い暗所19-20°Cで15-20時間放置後疫病菌遊走子を切断面に接種、19-20°Cに保った。これら葉柄に冷却水を加え、2000rpm 5分間4°Cでホモジェネートし、15000G 40分2°Cで冷却遠心分離し、上澄を凍結乾燥、pH 8.9, 0.1M Tris EDTA 緩衝液を加え、濃度5%の試料とした。ポリアクリルアミドゲルを支持体とし、4.8%のゲル濃度、ゲル層1.2mm厚さで泳動した(1.67 mA/cm, 10°C, 50分)。パーオキシダーゼの検出は、0-dianisidineを基質とする山本・桃谷¹¹⁾の方法を参照した。デンストメーターの測定波長は440nm。1, 10, 100ppm各エスレル溶液100mlに供試葉基部を浸漬し、蛍光灯400Wの光条件で24時間溶液を吸収させた。また、直径21mm、厚さ5mmの切断塊茎を作り、1, 10, 100ppm濃度の各エスレル100mlに30分間浸漬し、その後、20°C、24時間、暗所に放置した。粗酵素液は上位葉の葉柄約1gに5ml、切断塊茎の場合は約2gに10mlの冷却水を加え、2000rpm 5分間4°Cでホモジェネートし、15000G 40分2°Cで冷却遠心分離し、その上清を粗酵素液とした。葉柄では0.5ml、塊茎では1mlを供試粗酵素液とした。パーオキシダーゼ活性の測定には近藤・森田のグッヤコール法を用い、生成されたテトラグッヤコールを波長450nmで比色定量し、乾物重mg当りのテトラグッヤコール生成量を得た。

ここで抵抗性病斑(過敏型)というのは明りような壞

※植物病理学研究室



第1図 エスレル散布によるジャガイモ葉柄の上偏生長

左 エスレル散布区
右 対照無散布区

死・および中央黒褐色部の周辺に淡褐色帯を示すもので、罹病型病斑は接種部位を中心とし、壊死が拡大した大型病斑である。

実験結果

エスレルの葉害

葉の黄変・落葉と上偏生長とが葉害の症状である。第1図はエスレルによる葉柄の上偏生長 (epinasty) を起したものである。エスレル散布24時間後、10, 25ppm 散布区で上偏生長が認められた。葉位4~5でこの生長は大で25ppm では茎部の湾曲が認められ、下部葉末端から黄変する。100ppm では72時間後、下部葉に黄変が見られ16時間後下部葉から落葉枯死する。

エスレル処理後の時間と疫病病斑形成

第1表に示すように、1ppm 散布12時間後に接種した場合に比べて24, 48時間後に接種した場合には大型病斑の形成率は少なくなった。

エスレル溶液中におけるジャガイモ疫病菌の発芽

第2表に示すように、5, 25ppm 区では、対照区と変わらないが、5ppm 区ではかなり発芽をおさえられ、100ppm 区ではほとんど発芽しない。通例、ジャガイモ疫病菌の直接発芽は孢子の乳頭突起より起るが、25ppm 区になると、発芽管を2本出すものも多く、太い発芽管が分岐するものも見られた(第2図)。50ppm 区では発芽管短かく、発芽率は低下した。100ppm 区では発芽をほとんど認めず、原形質分離を起すものもあった。

第1表 エスレル散布後接種までの時間と疫病病斑型との関係

時間	病斑数	大型病斑率	小型病斑率
12	46	24.2	75.8
24	69	10.1	89.9
48	73	12.9	87.1

N. B. ジャガイモ 種間雑種 SH-469 疫病菌 Race 0

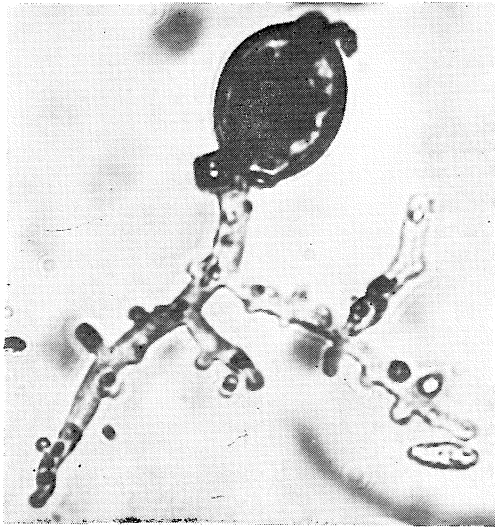
第2表 エスレル溶液中におけるジャガイモ疫病菌孢子発芽率

エスレル濃度	観察孢子数	発芽孢子数	発芽率
0	1031	719	69.7
5	1007	697	69.2
25	902	602	66.7
50	1696	362	21.3
100	634	28	4.4

N. B. ジャガイモ疫病菌 Race 0

エスレル処理によるジャガイモパーオキシダーゼアイソザイムの変化と疫病病斑

型種間雑種 SH-469 と疫病菌 Race 0, 種間雑種 1506(b)9 と疫病菌 Race 0, Race 1, 4 などの非親和性の組合せでは、感染後6-10時間後からすべてのパーオキシダーゼアイソザイムの量的増加がみられた(第



第2図 エスレル 25ppm 溶液中におけるジャガイモ疫病菌胞子の直接発芽

第3表 エスレル処理ジャガイモ葉柄におけるパーオキシダーゼ活性の変化

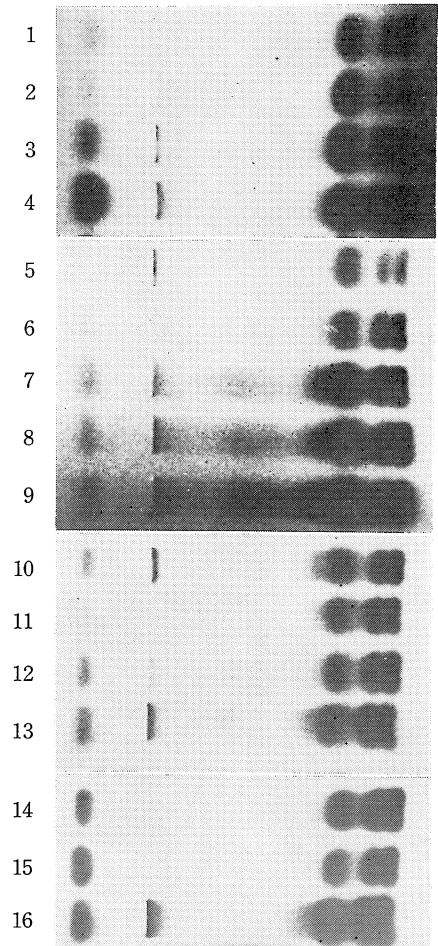
品 種 名	エスレル濃度	テトラゲァヤコール生成量* mg	指数**
農 林 1 号	0	0.232	100
	10	0.210	91
	100	0.161	69
種 間 雑 種 96-56	0	0.066	100
	10	0.146	221
	100	0.217	329
レッドワーバ	0	0.247	100
	10	0.396	160
	100	0.213	86
種 間 雑 種 1506-(b)9	0	0.259	100
	10	0.488	188
	100	0.697	269
種 間 雑 種 SH-469	0	0.067	100
	10	0.137	204
	100	0.134	200

N. B. * 乾物重 mg 当生成量

** 対照区 0ppm を100とする指数

3図).

農林1号と疫病菌 Race 0, Race 1, 種間雑種 96-56と疫病菌 Race 1, 種間雑種 SH-469 と疫病菌 Race 4などの親和性組合せでは、パーオキシダーゼアイソザイムは感染後6-10時間後や減少の傾向を示したが、24時間後には増加した。これら両者のいずれの場合にお



第3図 エスレル処理 ジャガイモ品種のパーオキシダーゼアイソザイモグラム

1.	種間雑種 SH-469	0ppm処理区
2.	"	1ppm "
3.	"	10ppm "
4.	"	100ppm "
5.	種間雑種 96-56	0ppm "
6.	"	1ppm "
7.	"	10ppm "
8.	"	100ppm "
9.	"	100ppm "
10.	農 林 1 号	0ppm "
11.	"	1ppm "
12.	"	10ppm "
13.	"	100ppm "
14.	種間雑種1506-(b)9	0ppm "
15.	"	1ppm "
16.	"	10ppm "

いても、パーオキシダーゼアイソザイムの質的変動は認められなかった。

第3表と第4表に示すように、エスレル処理により種間雑種 1506-(b)9, SH-469, 96-56 では葉柄、塊茎でのパーオキシダーゼ活性は増加し、10, 100ppm 塊茎

第4表 エスレル処理ジャガイモ塊茎のパーオキシダーゼ活性

品 種 名	処 理 濃 度	テトラグァヤ* コール生成量	指 数**
農 林 1 号	0	0.094mg	100
	1	0.059	62
	10	0.056	60
	100	0.067	71
レッドワーバ	0	0.049	100
	1	0.030	61
	10	0.030	61
	100	0.022	45
種 間 雑 種 96-56	0	0.023	100
	1	0.047	204
	10	0.047	204
	100	0.036	157
種 間 雑 種 1506-(b)9	0	0.046	100
	1	0.055	122
	10	0.097	213
	100	0.096	211
種 間 雑 種 S H-469	0	0.029	100
	1	0.036	124
	10	0.089	303
	100	0.092	314

N. B. * 乾物量 mg 当りのテトラグァヤコール生成量

** 対照区 0ppm を100とする指数

処理区ではやゝ減少の傾向を示した。葉柄ではほとんど差がないが、100ppm 処理区ではやゝ増加の傾向を示した。農林1号、レッドワーバではエスレル処理によるパーオキシダーゼ酵素活性の増加はみられなかった。

エスレル処理によるジャガイモの疫病抵抗性の変動

種間雑種 96-56 の疫病菌 Race 1 に対する抵抗反応は、エスレル処理により増強した。すなわち、第5表に示すように病斑面積は急激な減少を示し、肉眼的抵抗反応を示した。種間雑種 S H-469 と疫病菌 Race 4 との組合せにおいて、病斑面積は対照区のエスレル無処理区に比べて、10ppm 区では有意差が無かったが、100ppm 区では対照区と比べて高い有意差を認めた。種間雑種 1506-(b)9 と疫病菌 Race 1 との組合せでは、対照区 0ppm 10, 100ppm 処理区とも抵抗性病斑を示し、各処理区の病斑面積に有意差を認めなかった。農林1号と疫病菌 Race 1 との組合せでは、対照区エスレル無処理区、10ppm 区共に罹病性病斑を示し、疫病病斑とに有意差を認めなかった。

第5表 エスレル処理とジャガイモ疫病病斑

感受体と病原体との組合わせ	処理濃度 (ppm)	病斑面積** (mm ²)	n
種間雑種 96-56 / 疫病菌 Race 1	0	87.1	n = 19*
	10	59.5	n = 13
	100	36.0	n = 10
種間雑種 1506-(b)9 / 疫病菌 Race 1	0	16.1	n = 12
	10	16.0	n = 12
	100	11.8	n = 12
農林1号 / 疫病菌 Race 1	0	41.4	n = 15
	10	43.9	n = 15
	100	—	—
種間雑種 S H-469 / 疫病菌 Race 4	0	59.0	n = 10
	10	57.0	n = 7
	100	54.1	n = 9

N. B. * nは測定個数を示す

** 病斑面積の平均

考 察

エチレンは、植物の発育生長に影響を及ぼす。エチレン発生剤エスレル⁶⁾をエンドウの茎切片・オリーブ葉・ワタ植物体に散布すると、植物体から著しくエチレンを発生する¹⁾。

エスレルをジャガイモ茎葉に散布すると、24時間後上偏生長が認められ⁴⁾⁵⁾、エスレルを吸収させたものでは12時間後に上偏生長を認めた。このことから、12時間以内にはエスレルは感受体内に生理的变化をもたらすものと考えられた。Croker²⁾によると、トマトの上偏生長は、エチレンを除くと48時間後に葉鞘の屈曲が回復したと述べているが、筆者らの実験においてもエスレル 10ppm 散布区で上偏生長の可逆性が認められた。

Stahmann⁷⁾らは、黒斑病感染サツマイモ塊茎では、エチレンが発生し、その発生量は抵抗性品種に多く、健全塊茎のエチレン処理によりパーオキシダーゼ、ポリフェノールオキシダーゼ酵素活性が増加し、罹病性品種では抵抗性が増強されるとした。

Imaseki³⁾らは、オーキシシン、ジベレリン、カイネチンとエチレンをサツマイモ塊茎に処理した場合、エチレン処理により O₂ 吸収、パーオキシダーゼ、フェニルアラニンアンモニリアーゼ、クロロゲン酸含量の増加を認めたが、他の植物ホルモンではこのような働きはなかった。また、パーオキシダーゼは量的変動のみであり、質的変動はみられないとした。筆者らの実験においても、エチレン発生剤エスレル処理による抵抗性品種でのパーオキシダーゼ活性の増加およびパーオキシダーゼアイソザイムの量的増加を認めたが、罹病性品種では認

められなかった。また親和性関係にある感受体—病原体組合わせをもち、しかも感受体がR因子を有する場合に、抵抗反応を高めるように思われた。

摘 要

1. ジャガイモ品種農林1号にエスレルを散布すると、24時間後に上偏生長が認められた。100ppm 散布区においては72時間後に下部葉に黄変が認められた。エスレルをジャガイモに12時間吸収させると、12時間後に上偏生長が認められた。

2. エスレル散布12時間後のものに比べて24, 48時間後のジャガイモに疫病菌を接種したものでは大型病斑が減少した。

3. 疫病菌胞子の発芽率は、エスレル 50ppm 区においておさえられ、25ppm 区においては異常発芽を示した。

4. 種間雑種 SH-469 と疫病菌 Race 0, 種間雑種 96-56 と疫病菌 Race 0, 種間雑種 1506-(b)9 と疫病菌 Race 0, Race 1, Race 4, 非親和性組合わせでは感染後 6—10時間から、すべてのパーオキシダーゼアイソザイムの量的増加がみられ、そのうち二つのアイソザイムは著しく増加した。

5. 農林1号と疫病菌 Race 0, Race 1, 種間雑種 96-56 と疫病菌 Race 1, 種間雑種 SH-469 と疫病菌 Race 4 との組合わせでは、パーオキシダーゼアイソザイムは感染後 6—10時間後や減少の傾向を示したが、24時間後には増加した。

6. 4, 5のいずれの場合にも、パーオキシダーゼの質的変動は認められなかった。

7. エスレル処理種間雑種 SH-469, 種間雑種

96-56, 種間雑種 1506-(b)9 などではパーオキシダーゼアイソザイムの量的変動を示したが、質的変動はなかった。

8. エスレル処理種間雑種 SH-469 の疫病菌 Race 4, 種間雑種 96-56 の疫病菌 Race 1 に対する抵抗反応は強まった。

引用文献

1. COOKE, A. R. and RANDALL, D. I.: Nature **218** (8): 974—975, 1968.
2. CROKER, W., ZIMMERMAN, P. W. and HITCHCOCK, A. E.: Contr. Boyce Thompson Inst. **4**: 177, 1969.
3. IMASEKI, H., ASAHI, T. and URITANI, I.: Biochemical Regulation of Diseased Plants or Injury: Phytopath. Soc. Japan Tokyo 335—342, 1968.
4. 今関英雄・勝見允行・増田芳雄: 植物ホルモン 朝倉書店東京300—303, 1971.
5. 今関英雄: 生物科学 **20**(2): 50—53, 1968.
6. 岩堀修一: 植物の化学調節 **4**(1): 40—50, 1969.
7. STAHMANN, M. A., CIARE, B. G. and WOODBURY, W.: Plant Physiol. **41**: 1505—1512, 1966.
8. 富山宏平: 北海道農試報 **67**: 28—38, 1954.
9. TOMIYAMA, K.: Phytopath. Z. **58**: 367—374, 1967.
10. YAMAMOTO, M.: Tagungsberichte Nr. **74**: 175—199, Biochemische Probleme der kranken Pflanze, 1964.
11. 山本多聞・桃谷好英: 植物の化学調節 **6**(2): 187—189, 1971.

Summary

This paper deals with the results of investigations on the application of Ethrel (2-halo-ethanephosphonic acid) in relation to the resistance of the susceptible against the invasion of *Phytophthora infestans*. Peroxidase activities in potatoes treated with ethrel by means of polyacrylamide gel electrophoresis were also investigated.

1. The epinasty of leaf midrib was recognized after spraying the Ethrel on potatoes (Cultivar Norin No. 1). Lower leaves turned yellow 72 hrs. after spraying 100 ppm solution of the Ethrel.

2. Fifty ppm solution of the Ethrel inhibited the conidial germination of *Phytophthora infestans*. Abnormal germination of conidia of *Phytophthora infestans* was found in 25 ppm solution of the Ethrel.

3. Activities of all isozymes of peroxidase were significantly enhanced in the hypersensitive reaction (Interspecific hybrid 96-56—Race 0, Interspecific hybrid SH-469—Race 0, Interspecific hybrid 1506-(b)9—Race 0, Race 1, Race 4).

4. Activities of isoenzymes tended to degrade in the susceptible reaction (Interspecific hybrid—Race 4, Norin No. 1—Race 0, Race 1) at 6 or 10 hours after inoculation, but enhanced at 24 hours after an inoculation. In any case, all isozymes did not change qualitatively.

5. Activities of all isozymes enhanced in interspecific hybrids treated with Ethrel.

6. Activities of peroxidase enhanced 2 or 3 times in petioles and tubers of interspecific hybrids treated with Ethrel, as compared with the control. Hypersensitive reactions of Interspecific hybrid SH-469 to the infection of compatible Race 4 and Interspecific hybrid 96-56—Race 1 tended to be intensified by the Ethrel treatment.