

# 馬鈴薯疫病菌に対する感受体の過敏現象と ATP アーゼ活性について

山 本 昌 木\*

Masaki YAMAMOTO

On the ATPase Activity of Potatoes to the Invasion of  
*Phytophthora infestans* in Relation to Hypersensitivity

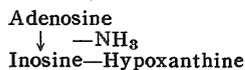
馬鈴薯疫病菌に対し親和性を有しない *Solanum demissum* × *S. tuberosum* 種間雑種は、病原体の侵入を受けると、すみやかな褐変と死を招き病原体を閉じ込めてしまう。筆者の従来の研究から、このような強抵抗性感受体へ非親和性病原体の侵入する際に起る過敏現象には、侵入部位の原形質のミセル構造の変動があり、これは代謝活性の高揚と関連することが想像された<sup>(12)</sup>。収縮性 ATP アーゼは、動物においてくわしくしらべられ、原形質流動、細胞分裂その他細胞内運動や精子の運動にも Actinomycin と同様の収縮性蛋白質と ATP との相互作用の結果起ることが明らかとなって来た<sup>(1)(4)(6)(8)</sup>。また、植物の気孔の開閉運動にエネルギー代謝が関するといわれ<sup>(2)(3)</sup>、オジキソウの興奮伝導にも ATP アーゼが関するといわれる<sup>(10)(11)</sup>。今回は馬鈴薯疫病における過敏現象と ATP アーゼとの関係について予備的な試験を行なったので報告する。

非親和性の疫病菌 (Race 0) 遊走子を *S. demissum* × *S. tuberosum* 種間雑種 41089-8, Kennebec, 罹病性の普通品種農林 1 号に接種して中肋表皮を剥ぎ取り、冷アセトンで固定、0.1 M 硝酸鉛溶液、0.05 M ATP Na 塩溶液で 37°C で 2 時間処理後、0.5% 硫化アンモン溶液により生ずる黒褐色顆粒により、ATP アーゼの存在を確かめたが、抵抗性の種間雑種において強い反応を認めた。しかし、ATP を加えなかったものおよび 10<sup>-2</sup>

M NaF で処理したものでは、この反応を認めなかった。過敏現象には ATP アーゼが関与するものと考えられた (第 1 表)。

つぎに、種間雑種 Kennebec に非親和性の Race 0 と親和性の Race 1 とを接種し、一定時間後 0.04 M Mg Cl<sub>2</sub> および 0.02 M KCl を含む 0.02 M Tris かんしょう液とともに磨砕し、10<sup>-3</sup> M ATP を加えたものと加えないものとの無機 P の定量を行ない、ATP アーゼの活性を比較し、さらに磨砕後 4000 rpm 5 分間遠心分離したものに ATP, ADP, Adenosine および Inosine を添加し、1 時間後 Paperchromatography を行なった。蛋白態 N の定量は Stutzer 氏法によった。ATP 分解産物の測定は Paperchromatography によったが、展開溶媒としては 1 M ギ酸アンモン: 95% エタノール 30:70, pH 10.0 アンモニヤ水、86% ブタノールの 3 種を用いた。対照区としては、ATP, ADP, AMP, Adenosine, Adenine, Inosine および Hypoxanthine (東京化成, 和光純薬) を展開して用いた。展開したものは紫外線下で Spot を確認し、対照区と比較しながら RF により物質の検索を行なった。その結果、ATP, ADP とも Race 0 侵入の際は Race 1 侵入の際に比べて分解されることが早いようであった。Kennebec 体内では親和性のない Race 0 が侵入する場合の方が、親和性のある Race 1 よりも ATP アーゼが強く働いているように想像された。

なお、Race 1 を Kennebec に接種して 0.1 M りん酸ナトリウムかんしょう液 (pH 6.8) で磨砕し、M/15 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> + M/15 NaHPO<sub>4</sub> と n-propanol で展開し、Inosine (Rf 5.0) と Hypoxanthine (3.5) の Spot を認めたので、あるいは Page & Clark<sup>(7)</sup> のいうように ATP—ADP—AMP—Adenosine—Adenine となり、罹病葉では、



第 1 表 馬鈴薯疫病菌 (Race 0) 接種 24 時間後の  
感受体細胞の ATP アーゼ活性

品 種	+ATP	ATP + Na F	-ATP
41089-8	卅	—	—
Kennebec	卅	—	—
農林 1 号	±	—	—

\* 植物病理学研究室

第2表 疫病菌の侵入を受けた馬鈴薯葉中の無機りん

品		種	-ATP	+ATP
Kennebec	健全葉		0.08	0.16
	Race 1 に感染		0.10	0.08
	Race 0 に感染		0.16	1.28
男爵薯	健全葉		0.09	0.20
	Race 0 に感染		0.12	0.21

N. B. mg/g. f. w.

となるのかもしれない。しかし、Race 0 と Race 1 との感受体侵入に対する反応は今のところまだ明らかでない。したがって、Page & Clark のいうように、Race 61-86では脱アミノ作用を持っているが Race K71-A<sup>2</sup>ではこの作用がないから上式があてはまるという説明は今回の実験に取り入れることができない。今後検討すべき点である。

つぎに、ATP  $5 \times 10^{-4}$ , 0.05 M KCl, 0.04 M MgCl<sub>2</sub> に Tris HCl かんしょう液 0.25 M を加え、pH 7.65 としたものを 18°C に 30 分間保ち、Allen 法により無機りんの定量を行なった。基準りん酸量は KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 4.3894g =P 1mg とし光電比色計により 760 mμ の吸収極大を測定した。μgP/mg 蛋白/30 分で ATP アーゼの強さを比較した (第2表)。

この結果を見ると、罹病性の男爵薯においては Race 0 に感染することにより無機りんの放出量はさほど多くなるとはいえないが、抵抗性の Kennebec においてはいちじるしく多くなる。このことから過敏現象を起す場合 ATP アーゼ活性が高まるとい得るのであるまいか。

富山ら<sup>(10)</sup> は馬鈴薯葉中の ATP が過敏感死を招くと想像し、いろいろの濃度の ATP 溶液中に馬鈴薯細胞を浸し、その生死を検討した。同氏によると、細胞内にミトコンドリア中に  $4 \times 10^{-4}$  モルの ATP が存在し、 $3 \times 10^{-2}$  モルで細胞を殺すという。興味深い説ではあるが、筆者はまだ感受体中の ATP 量の測定を行っていないので現在この点について言及することはできない。

なお、Savulescu ら<sup>(8)</sup> も馬鈴薯中のアピラーゼやフォスファターゼ活性についてしらべているが、抵抗性とくに過敏現象との関連については今後検討すべきことが多いと思われる。

## 摘 要

馬鈴薯疫病菌が親和性を有しない感受体に侵入すると、過敏現象が起り、被侵入細胞の褐変と死とが起り、疫病菌は閉じこめられて死ぬ。この際過敏現象に ATP アーゼが関与するか否かについて実験を行なった。抵抗性の強い種間雑種 41089-8、ケネベックと罹病性の農林一号に疫病菌普通系統を接種し、組織化学的に過敏現象を起す場合 ATP アーゼ活性が高まることを認めた。種間雑種ケネベックに親和性および非親和性の疫病菌を接種して無機りんの定量により ATP アーゼ活性をしらべ、非親和性菌の感染を受けた場合活性の高まるのを見た。また疫病菌の侵入に際し、罹病性の男爵薯よりも抵抗性のケネベックにおいて無機りんが多く検出された。このことから過敏現象と ATP アーゼ活性との関連性が肯定される。

## 引用文献

1. CHORIN-KIRSH, I. and MAYER, A. M.: *Plant and Cell Physiol.* 5(4): 441~445, 1964
2. 藤野正義: *科学* 31: 599, 1961
3. 藤野正義: *科学* 32: 434, 1962
4. KAMIYA, N., NAKAJIMA, H. and ABE, S.: *Protoplasma* 48: 94~112, 1957
5. 宮崎英策・永井寅男: *細胞化学シンポジウム* 8: 79~91, 1958
6. 村上哲英: *細胞化学シンポジウム* 8: 71~77, 1958
7. PAGE, O. T. and CLARK, M. C.: *Phytopathology* 54(10): 1181~1186, 1964
8. SAVULESCU, A., ESANU, V., CALIN, N., NEGULESCU, F., GROSU, N. and HURGHISU, I.: *Tagungsberichte* 74: 241~251, 1965
9. 玉置三男: *細胞化学シンポジウム* 8: 61~69, 1958
10. 富山宏平・酒井隆太郎: *日植病報* 31 (記念号2): 341~347, 1965
11. TORIYAMA, H.: *Bot. Mag. (Tokyo)* 76: 79~80, 1963
12. 渡辺 仁・柴岡孝雄: *日本植物生理学会シンポジウム* 1965
13. 山本昌木: *島根農大植病研特報* 1: 1~151, 1961
14. 山本昌木: *日植病報* 31 (記念号): 213~220, 1965
15. YAMAMOTO, M.: *Tagungsberichte* 74: 175~199, 1965

### Summary

This paper deals with the preliminary experiments on the relation between the ATPase activity of potatoes and hypersensitivity of potatoes to the invasion of *Phytophthora infestans*.

Zoospores of *Phytophthora infestans* (Race 0) were inoculated on the leaves of resistant interspecific hybrid 41089-8 and Kennebec and susceptible Norin No. 1. ATPase activity was examined by the histochemical procedure and by the quantitative analyses of the inorganic P in potatoes inoculated with both compatible and incompatible races of *Phytophthora infestans*. The raising of ATPase activity was recognized in potatoes of interspecific hybrid which have non-affinity to the invasion of definite race of *Phytophthora infestans*.

From these results, the hypersensitivity seems to have some connection with the ATPase activity in the suscept.