

桑葉の加里含量とその呼吸及びカタラーゼ作用との関係について

阿久根 了・古賀 克也

Studies on the Relation between the Potassium Content and Respiration and Catalase Action in the Mulberry Leaves

Satoru AKUNE and Katsuya KOGA
(Laboratory of Sericultural Chemistry)

I 緒 言

植物のウイルス病発現には種々の原因，要素が考えられるが筆者等は植物体内で諸種の新陳代謝に対し接触作用を有すると考えられる加里をとり上げてすでに若干の報告をしてきた。煙草，桑樹，家蚕の健病両者の新鮮物中の加里含量は病者においていずれも歴然と劣りかつその際には呼吸及びカタラーゼ作用の相対的な変調がみられる⁽¹⁾。従つて加里含量がウイルス病発現に密接な関係を有するのではなからうかとの示唆を与えてきた。しかし従来行つた研究⁽²⁾はすでにウイルス病状を示しているものあるいはウイルス罹病体汁液を人工接種したものについてである。本研究では桑樹を次記施肥条件で栽培管理をなし生長に応じて一定の時期毎に加里含量，呼吸及びカタラーゼ作用の推移を調べ，得られた結果から些さか今迄より推察を發展させることができるので茲に報告する。

II 実験材料及び方法

栽培場所；鹿児島県蚕業試験場桑園

(A) 加里施用量を異にしての栽培

品種；改良鼠返，沖繩，収穫一，魯桑，国桑 21号，栽植年月は 1953 年 3 月，栽植距離は畦間 5 尺株間 1 尺で施肥処理区毎に各品種 30 株宛を植えた。仕立法は拳式根刈仕立である。土性は洪積層に属する台地にして地下水低くその土壤は概ね褐色の砂壤土である。試験区の種類並びに施肥量は Table 1 に示している通りである。なお，無加里区は原土中の加里の除去は行つていないので実際は加里少量区である。

(A) Cultivation by supplying of different quantities of potassium

Table 1. Experimental series and weight of supplied manure.

Treatment	Manure & fertilizer	Kan per tan	Manuring at each season			
			Winter	Spring	Summer	Autumn
Standard	Compost	300	300	300		
	Green manure {	Lupine	300			
		Soybean	100		100	
	NH ₄ —sulphate	13.381		5.381	5	3
	Ca—superphosphate	10		4	6	
	Potassium sulphate	2.383		1	1.383	
	Calcium	30		20	10	

Table 1 つゞき

Treatment	Manure & fertilizer	Kan per tan	Manuring at each season			
			Winter	Spring	Summer	Autumn
K—large	Compost	300	300			
	Green manure { Lupine Soybean	300		300		
		100			100	
	NH ₄ —sulphate	13.381		5.381	5	3
	Ca—superphosphate	10		4	6	
	Potassium sulphate	9.883		3.883	6	
	Calcium	30		20	10	
K—none (K—small)	NH ₄ —sulphate	28.571		11.571	12	5
	Ca—superphosphate	18.570		7.750	11	
	Calcium	30		20	10	

Total potash content in K—large treatment is about 2 times as that in standard treatment.

(B) Cultivation by supplying of different manures

Table 2. Experimental series and manuring weight.

Treatment	Manure & fertilizer	Kan per tan
Standard	Compost	300
	Green manure	400
	*Marusan No. 2	47.96
Manure	Compost	1240
	Green manure	400
Fertilizer	NH ₄ —sulphate	38.59
	Ca—superphosphate	23.975
	Potassium chloride	11.173
None	—	—

*Mixed manure. Being planted the mulberry tree "Tomie" in Mar. 1948, it was afterward cultivated by standard manuring to 1954 and the cultivation by above condition was begun from winter-manuring (Feb.) in 1955. N, P₂O₅, K₂O content in each treatment were manured to be equal each other.

栽培 (A) の桑葉については Table 4, 5 記載の如く水分, 灰分, 加里含量, 呼吸及びカタラーゼ作用の測定を 1954 年 7 月, 10 月, 1955 年 7 月と 3 回行い, (B) の桑葉については 1955 年 7 月に行つたものである. 材料は個体差を可及的少なくする目的で生長状態の齊一な桑樹から一定葉位を採取した. 水分, 加里含量測定には最大光葉を, 呼吸及びカタラーゼ作用測定には最大光葉の下 5 葉目を用いた.

カタラーゼ作用測定には 1 枚の葉の中央葉脈を対称軸として直径 2 cm, 正円形 2 ケを截りとり一定量 (凡そ 30 枚) を材料葉とした.

上記生葉 2 gm を秤量, 乳鉢中で磨碎, pH=6.8 の buffer solution 20 cc で抽出, 遠心分離 (10 分間, 3,000 r.p.m.) 後上澄液 0.3 cc を 0.3% H₂O₂ 10 cc に加え 30°C で 10 分間反応させ残余 H₂O₂ を N/50 KMnO₄ で滴定し H₂O₂ 分解容量を指数表示してカタラーゼ作用を表わした.

これと平行して生葉 15 gm を呼吸量測定装置に入れ CO₂ free の空気を 10 分間送り N/50 Baryta に呼出 CO₂ を捕獲し N/50 H₂SO₄ で滴定, 呼出量を求め指数表示した. 加里定量は Hexyl-reagent を用いる micro 法⁽³⁾ によつた.

III 実験結果及び考察

Table 3 より葉位別呼吸量は老葉より若葉が大きいことが判る。故に呼吸量測定には一定葉位を用いる必要がある。

Table 4 より5品種の脱苞時期は殆んど同一期日でありかつ硬軟係数(H-S coefficient)も類似の値を示していることが判る。

これは各品種の桑樹の生育並びに葉の熟度がほぼ齊一であることを意味しており同一観点より結果を考察して差支えない

Table 3. Respiration of mulberry leaves at each position CO₂ mg per 10gm fresh matter, 10 mins.

	一の瀬 14 th. Ichinose June	魯桑 27 th. Rosō June
2nd leaf upper Sa*	0.77	1.04
Saidaihikariba	0.76	0.99
2nd leaf under Sa*	0.66	0.98
5 th "	0.50	0.74
10th "	0.33	0.49

* Sa : Saidaihikariba i, e. the most lustrous leaf.
The time measured : A.M.10

Table 4. Moisture, H—S coefficient and potash content of the mulberry leaves (in cultivation A)

Form	Treatment	July, 1954					Oct, 1954			July, 1955	
		Moisture in F.M.(%)	Moisture Index	H—S coefficient	K ₂ O in F.M. (%)	Index	D.M K ₂ O	K ₂ O in F.M. (%)	K ₂ O Index	Moisture in F.M.(%)	Moisture Index
Kairyonezumi -Kaeshi 改良風返 29 th. March*	Standard	77.97	100	2.61	0.65	100	33.9	0.81	100	78.77	100
	K—large	79.27	101.7	2.59	0.67	102.5	31.1	0.73	90.1	76.46	97.1
	K—small	76.58	98.2	2.62	0.64	97.5	36.9	0.60	74.1	75.42	95.7
Okinawa 沖繩	Standard	77.04	100	2.26	0.52	100	44.1	0.60	100	73.50	100
	K—large	77.26	102.9	2.28	0.51	98.3	44.4	0.61	101.7	73.60	100.1
	K—small	76.54	99.4	2.57	0.49	95.8	47.0	0.53	88.3	72.79	99.0
Rosō 魯桑 27th. March*	Standard	80.05	100	2.17	0.64	100	31.1	0.82	100	77.87	100
	K—large	80.35	100.4	2.30	0.66	102.5	29.9	0.83	101.2	76.45	98.2
	K—small	77.72	97.1	2.10	0.53	82.2	42.2	0.61	74.4	76.05	97.6
Syūkakuichi 収獲一 28 th. March*	Standard	79.42	100	2.10	0.67	100	30.5	0.89	100	77.40	100
	K—large	79.59	100.2	2.43	0.68	101.5	29.8	0.83	93.3	77.40	100
	K—small	76.00	95.7	2.41	0.52	76.9	46.3	0.67	75.3	76.03	98.2
Kokusō 21 国桑21号 30 th. March*	Standard	78.44	100	2.12	0.56	100	38.6	0.79	100	74.63	100
	K—large	78.40	100	2.28	0.62	110.4	35.1	0.80	101.3	77.65	104.0
	K—small	76.23	97.2	2.15	0.54	96.1	44.2	0.65	82.3	73.16	98.0

* Date is which mulberry tree scaled off. F. M ; fresh matter. D.M ; dry matter
H—S coefficient is the coefficient of the hardness and softness. (Ash/moisture×100)

と考えられる。収葉量成績は植付1年目では各施肥区殆んど大差なく2年度では沖繩桑以外の初晩秋蚕期合計収葉量は総て加里少量区が稍々劣つていた。

i) 水分; 5品種共に加里多量区桑葉が最大で加里少量区は最小である。さきに煙草で行つた場合も健全葉では常に同様であつた。

ii) 加里含量; 5品種共に加里多量区が最大で加里少量区は最少の傾向をえた。1954年10月に行つた分析結果は同年7月のものに比べると5品種共に僅少なから加里含量の増加がみられるのみで区間の相互関係は同様である。

沖繩桑では他品種より各区共に加里含量は少ない

ことが7月並びに10月の結果においてみられ、かつ1955年7月に測定した水分率も最も少ない。沖繩桑が特に桑樹萎縮病に罹り易いことと考へ合わせると興味深いことである。これらの数多くの結果から加里含量は水分率と比例的な増減関係をもつことが窺い得る。表示以外に水分率は富榮桑の春刈区のものでは79.73%, 立通区では78.57%, 加里含量は前者0.64%, 後者0.59%でこの場合も上述の関係の通りであつた。加里含量を新鮮物中で表示することの妥当性は既報⁽²⁾で述べた。加里少量区桑葉の加里含量が最小であるのは10月も7月と同様だが10月には他の2区との差がさらに懸隔している。筆者等が桑について行つた実験の範囲内では一品種間では水分の多寡を以つて加里の多寡が窺い得る。異品種間でもかかる傾向がみられることもあるがこの場合は水分の多寡から加里含量の多寡を窺うことは危険である。加里はイオン化傾向の最も大きい元素で植物体では90%以上は水溶性形態をなしており滲透圧に対しては殊に大きな役割をもつている。加里と水分が上述の如き関係をもつことは加里が water economy に密接に結びつき、また生理作用の circle の中に関与して有用な役割を演じていることが肯定できる。かかる面に関しては山下⁽⁴⁾の生体舞台学の立場より論じた詳細な報告がある。ともかく体内活動においては当然ある濃度以下のイオン濃度が必要である訳だし生理的活動の適応濃度調整のため両者の相伴つた増減も起るものと考えられる。かつ山下は加里負荷率(加里1gm当りの植物乾燥物質質量)を以つて乾燥物質生産、蓄

Table 5. Respiration and Catalase action index (cultivation A)

Form	Treatment	Respirat. Catalase		Respirat. Catalase	
Kairyonezumi-kaeshi	Standard	100	100	100	100
	K—large	75	86	110	90
	K—small	80	88	146	102
Okinawa	Standard	100	100	100	100
	K—large	95	109	130	129
	K—small	100	100	160	124
Rosō	Standard	100	100	100	100
	K—large	106	110	88	108
	K—small	134	127	120	117
Syukaku ichi	Standard	100	100	100	100
	K—large	92	105	120	107
	K—small	93	120	130	112
Kokusō 21	Standard	100	100	100	100
	K—large	84	104	81	117
	K—small	86	107	105	115

The results obtained in Oct. 1954 were analogous the results in July, 1954.

積に対する加里の生理的関与の大小を示し得るものとしているがそれに従えば負荷率は新鮮物表示の場合も加里少量区が5品種共に最大値を示しており加里自身の生理的機能は加里少量の場合旺盛なることを示している。加里負荷率が大となればこれに応じて新鮮物中の加里含有度は逆に小となるのはけだし当然であろう。

iii) 呼吸及びカタラーゼ作用；各区間の相対比較を調べることを目的としたため指数表示した。1954年10月の結果は同年7月と相似していたので省略した。7月の結果では各区間の両作用の増減は略々相伴つて現れているが区別の特徴は認め難い。1955年7月になると加里少量区がそれぞれ標準区、加里多量区よりも呼吸量は大きくなつておりカタラーゼ作用も少し大きくなつているが相対的には呼吸作用の増加が優勢である。試みに呼吸作用とカタラーゼ作用の比をとつても加里少量区のものがいずれも大でありこのことからわかる。1955年7月は水分率のみを表示しているが加里含量も勿論加里少量区桑葉が最小である。

栽培(B)の場合無肥区は他の3区に比し生長は甚しく劣つており他の3区は生長状態は同一で収葉量枝条量共にそれぞれ同様であつた。Table 6 に示されている如く金肥区桑葉は堆肥、標準施肥区桑葉に比し水分、加里含量は共に少なく呼吸作用は最大である。カタラーゼ作用は標準区より小である。

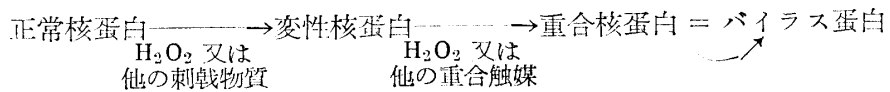
無肥区桑葉の呼吸及びカタラーゼ作用が小さいのは生長状態の劣悪に起因するものと考えられる。

Table 6. Cultivation by supplying of different manures

Treatment	Moisture (%)	Index	K ₂ O (%) in F.M.	Index	Respiration	Catalase
Standard	75.38	100	0.62	100	100	100
Manure	76.67	102	0.70	112.9	96.3	85.3
Fertilizer	73.80	97.9	0.45	72.6	113	92.0
None	72.60	96.3	0.26	42.0	92.1	75.8

野口等⁽⁵⁾は水稻の肥培試験を行い加里欠乏区の呼吸量は完全区、加里倍量区よりも大でありカタラーゼ活力は完全区のものが強力で加里多用区、無加里区これに次ぎ無肥区では著しくその作用力が減少したと報告している。AMBERGER⁽⁶⁾はハウレン草、甜菜、牧草の葉の呼吸量がN, P₂O₅のみを施肥した場合より加里を与えたものがいずれも低下することを見出し、加里欠乏の際は呼吸酵素の働きが旺盛で加量を増してやると酵素の働きを阻害するというを確認している。しかし極端な加里施肥は加里欠乏と類似の状態を生ずるとも云つている。SCHECK⁽⁷⁾は甜菜、馬鈴薯、大麦を使つて研究し加里イオンは植物の酵素作用系にコロイド活性として影響し加里欠乏乃至加里供給量少量の場合はCarbohydrase activityは増加しreducing sugarも増加すると報告している。これら先達の報告は吾々の実験結果の証左となつている。桑樹萎縮病の病原体は目下の所不明だが従来の一考え方としては過度の摘葉、伐採による生理栄養障害だと広義の原因が指示されていたが河合⁽⁸⁾の病理学的研究によりウイルス病であると信じられており筆者等もかかる想定のもとに研究を行つている。山藤⁽⁹⁾のウイルス生成発現機作説に基づき桑樹萎縮病に対する加里の関係を推察しよう。氏の説によれば呼吸作用とカタラーゼ作用の変調により蓄積されるH₂O₂の接触的害作用によりウイルス蛋白の発現及び増殖がなされる。

その型式は次の通りである。



筆者等も既報⁽¹⁾の如くウイルス罹病体においては明らかに両作用の変調を確認しており、山藤説を支持しているのかかる観点より考察を続けたい。生長旺盛なる時期には葉における加里の役割は大きく葉に集積している。

かかる時期に過度の摘葉、伐採が行われると樹体の貯蔵養分は勿論、加里含量は急速に減少することになる。この場合土壤中に補うべき加里が不足する時は新生葉の呼吸作用とカタラーゼ作用間の変調が起り、従つて核蛋白の変性、重合が惹起されることが考えられる。夏刈桑園に桑樹萎縮病が多い事実もこの点から肯定できる。大正5年の桑樹萎縮病に関する農林統計によれば九州地区罹病率平均は24.18%で全国平均の12.13%に比し甚しく高いことがわかる。

かつ九州地区でも鹿児島⁽¹¹⁾の36.15%、宮崎⁽¹²⁾の33.24%の如く火山性土地帯で土壤養分含有量の少ない南九州において甚しい。なお降雨量も多く土壤中の加里の流亡が甚しいのみならず小林⁽¹⁰⁾、頼瀬⁽¹¹⁾等の如く葉面からの加里の逸脱も考えられる。細田⁽¹²⁾によれば鹿児島⁽¹¹⁾の土壤中の置換性加里は非常に少なく、また鹿児島県農業試験場報告⁽¹³⁾によれば県下の土壤は加里欠乏に陥つてることが知り得る。

これらの事柄と筆者等の実験結果と結びつけて考えると南九州に桑樹萎縮病の多いことも肯定できる。同じようなことが砂土、砂礫土においても考えられるがこれらの桑園にも桑樹萎縮病は多い。養分流亡の点から考えると速効肥料たる金肥は堆肥に比べて大きいのは予想され得ることでありTable 6においても明白にわかる。すなわち、加里含量は既述の如く水分率と比例的増減関係を示すことから判るが、無肥区桑葉が最低で金肥区、標準区、堆肥区の順に大きくなり堆肥区のもの最大である。無肥区は生長量等からみて別として呼吸作用は加里含量の少ない金肥区桑葉が最大でありカタラーゼ作用は標準区のものより小さい。これはTable 5の加里少量区の場合(1955年7月)に類似の傾向である。実際経験される範囲でも金肥施用の場合桑樹萎縮病の罹病が多く筆者等の既述の想定裏書きとなる。潮田⁽¹⁴⁾は葉に非蛋白窒素含量が多く、樹体の貯蔵養分欠乏の際には多量の窒素が補給されて葉の新生が促されるというような条件を与えて、罹病葉の汁液を注射することにより萎縮病を発現させている。すなわち無加里、窒素多用区の桑葉において注射接種により発病せしめ得たと報告している。井上⁽¹⁵⁾は菜種のウイルス病について加里少量区硫酸多用区においてはウイルスを誘発し1%水準にて差がみられたと述べている。加里欠乏のために非蛋白態窒素が増加することは一般に認められている処でありこれらの非蛋白態窒素からhydroxylamineの如きウイルス生成を誘導する物質の生成も考えられるが、このことについては今後の研究に俟たねばならない。呼吸作用及び同化作用の旺盛なる部分例えば葉尖端の新生葉等に萎縮病が多発することは加里の生理的な主要活動舞臺が葉殊に若葉にあることと、縷述してきた如く呼吸作用とカタラーゼ作用の相対的変調が加里含量の少ない場合に若干起つている実験結果とから肯定できる。しかしながら呼吸、カタラーゼ作用間の変調が惹起された場合、桑樹萎縮病の発現が起るのではなくこれには他の微妙な生理的あるいは外圍的な附帯条件が必要であろうと考えられる。ウイルス罹病植物においては隠蔽現象(Masking)があるがこれは外圍条件が適當になると再現するのでありこのことから推して、たとえH₂O₂の蓄積が起り巨大蛋白を形成してもあるいは仮りにそれがウイルス性を帯びたとしても萎縮病の発現は起らないこともわかる。

ウイルスの増殖は宿主細胞の新陳代謝と関係あることは当然で同じ植物体でも煙草、トマト等は罹病伝染が容易で桑樹萎縮病が任意に発現できないのもかかる点からも考え得る。桑樹ウイルスは

未だ物理化学的に究明されていないので両作用の変調でどの程度迄核蛋白の変性及び重合がなされるかは推定できない。山藤のウイルス生成説と筆者等の実験結果及び実際の発病状況とを考慮合わせると加里欠乏(相対的窒素過剰)が桑樹萎縮病発現に密接な積極的關係をもつことが推察できる。

以上種々縷述したが加里少量区桑葉においてウイルス罹病体におけると類似の生理的変調を認めることができるので従来考えてきた桑樹萎縮病発現に対する加里の關係がより一層密接になったものといえる。

IV 要 約

加里施用量を異にした桑樹(改良鼠返, 沖繩, 收穫一, 魯桑, 国桑21号)と三要素量同一の異種施肥栽培をした富榮桑とについて水分率, 硬軟係数, 加里含量, 加里負荷率, 呼吸及びカタラーゼ作用を調べ次の結果を得た。

- (1) 桑葉の加里含有量は加里供給量と比例して増減する。
- (2) 桑葉の加里含有量は水分率と比例的な増減關係を示し少くとも一品種においては水分率を測定することにより加里含有量の大小がわかる。
- (3) 加里負荷率は加里少量区において最大値を示す。
- (4) 生長状態の悪い無肥区を別とすれば, 金肥区桑葉は堆厩肥, 標準施肥桑葉に比し加里含量は少なく, 呼吸作用は大である。カタラーゼ作用は標準区より小である。
- (5) 栽植3年度の夏刈後における加里少量区においては5品種共にそれぞれ加里多量区, 標準区に比し呼吸作用は大きくカタラーゼ作用も稍大であるがその大きさ度合は呼吸作用の方が優つている。

(4) 及び (5) の結果は筆者等がすでに得たウイルス罹病体における呼吸及びカタラーゼ作用間の変調に類似している。この結果と実際の桑樹萎縮病罹病状態とから加里欠乏が萎縮病に密接な關係をもつことが推測できる。

最後に本研究に対し種々御協力を仰いでいる鹿児島県蚕業試験場場長岡村貢氏及び久里山技師に深謝する。

文 献

- 1) 阿久根 了: 九大農・学芸雑誌, **13**, 149 (1951).
- 2) 阿久根 了・古賀 克也: 鹿大農・學術報告, No. **1**, 4 (1952).
- 3) KOLTHOFF & BENDIX: Ind. Eng. Chem., Anal. Ed, **11**, 94 (1939).
- 4) 山下 知治: 植物学誌, **57**, 42 (1943).
- 5) 野口 彌吉・菅原 友太: 東大農・栽培学研究室報告, No. **1**, (1952).
- 6) A. AMBERGER: Biochem. Z, **323**, 437 (1953).
- 7) H. SCHECK: Z. Pflanzenernähr., Düng., Bodenk. **60**, 209 (1953).
- 8) 河合 一郎: 日・植病報, **9**, 16 (1939).
- 9) 山藤 一雄: 農学, **3**, 694 (1949).
- " 農化, **19**, 225 (1943).
- 10) 小林 嵩: 日・土・肥誌, **11**, 570 (1937).
- 11) 榎嶺・塩見・有賀: 九大農・学芸雑誌, **9**, 308 (1941).
- 12) 細田 克己: 鳥取高農・學術報告, **6**, (1) 5 (1938).
- 13) 鹿児島県農業試験場調査部報告, (1952), (1954).
- 14) 潮田 常三: 農学, **3**, 131 (1949).
- 15) 井上・千蔵・坂田: 福岡農試研究時報, **8**, 31 (1954).

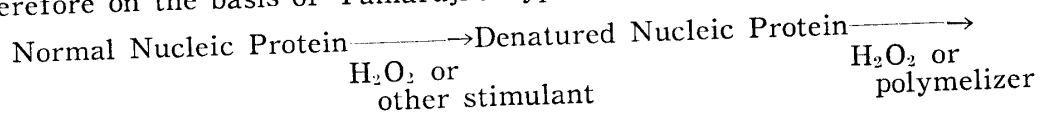
R é s u m é

On the mulberry leaves of the five forms which had been cultivated by different supplies of potassium (cultivation A) and on one form by different manures and fertilizers (cultivation B), the moisture, potassium content, respiration and catalase action were determined. Between the amount of supplied potassium and the moisture, potassium content in the fresh matter, there were significant direct proportional relations, for example, the moisture, potassium content in K-small treatment are the smallest as compared with the other treatments and that in K-large treatment is the largest. Therefore, as far as the mulberry leaf of the same form, the larger or smaller content of potassium at least is able to be known by measuring the moisture content. According to the results obtained at the third year after being planted the mulberry trees, under conditions of K-small treatment the respiration action was larger than standard and K-large treatment, catalase action was slight larger or analogous to the other both high potassium supplies.

Except none-treatment that was bad in growth, the potassium content in the mulberry leaves by the treatment of fertilizer as compared with the other treatment was smaller, the respiration was larger, and catalase action was not so.

These facts were analogous to the results which were already given in the virus diseased plants by us.

Therefore on the basis of Yamafuji's hypothesis;



Polymerised Protein \rightleftharpoons Virus Protein

it may be inferred that the potassium deficiency (relative nitrogen excess) is close connection with the dwarf disease of the mulberry tree.