水稻とイネ白葉枯病菌との相互反応によつて 生成される phytoalexin について

植 原 一 雄

Kazuo UEHARA: On the phytoalexin produced by the results of the
interaction between rice plant and the leaf-blight
bacteria (*Xanthomonas oryzae*).

I. 緒 言

いくつかの植物とその寄生菌について、両者の相互反応により phytoalexin (以下 PA と略記) が生成されること^{3,6,8,9,10)}、また PA はこれら寄生菌分生胞子の発芽を抑制し、その作用が強い場合には殺菌の効果をも有すること⁶⁾が認められている。これらの報告から、さらに他の多くの植物と寄生菌との間においても PA が生成され、その抗菌的な作用が植物の病害抵抗現象に関与しているものと思われる。しかしこれら従来¹⁾の知見はすべて糸状菌において得られたものであり、細菌においても同様な事実が存在するか否かは、いまだ明らかにされていない。

本報告は、植物とその寄生細菌との相互反応によつて PA が生成されるか否かを明らかにするために、水稻とイネ白葉枯病菌を用いて行なつた実験である。

本実験を行なうに当り絶えずご指導いただいた九州大学吉井甫教授、野中福次氏および脇本哲氏に深謝の意を表する。

II. 実 験 材 料

供試植物には、5月23日に播種した水稻(品種農林32号)を用い8月2日から8月23日までの間にその第1および第2展開葉を切り取つて使用した。供試菌には *Xanthomonas oryzae* no. 60 および *Piricularia oryzae* を、またバクテリオフェージには *X. oryzae* no. 60 に親和性のある OP₁ フェージを用いた。これらの菌はいずれも九州大学植物病理学教室保存のものである。

X. oryzae は馬鈴薯半合成培地の斜面に2~3日間培養したものを遠心洗滌し、殺菌蒸溜水あるいは農技研合成培地²⁾に再浮遊させたものを用いた。また *P. oryzae* は酵母エキス培地の斜面に10~15日間培養した菌叢より胞子を得て供試した。

本実験に使用した培養基の組成は次のごとくである。

1) 馬鈴薯半合成培地¹³⁾ potato 300 g., Ca(NO₃)₂ 0.5 g., Na₂HPO₄·12H₂O 2 g., sucrose 15 g., peptone 5 g., agar 20g., H₂O 1000 cc.

2) 農技研合成培地⁵⁾ Na-glutamic acid 2g., KH₂PO₄ 2g., MgCl₂·6H₂O 1g., FeSO₄·7H₂O trace, glucose 20g., H₂O 1000 cc.

3) CaVfCh 培地¹³⁾ vitamine free casein hydrolysate (10%) 2cc., CaCl₂ 0.5g., H₂O 1000 cc.

4) 酵母エキス培地¹⁾ yeast extract (powder) 2g., soluble starch 10g., agar 15g., H₂O 1000 cc.

III. 細菌における PA の検定法

従来 PA の作用は糸状菌の分生胞子に対する発芽抑制作用面において把握されているが、細菌に対しても PA の作用が存在するとすれば、それは細菌の増殖抑制作用面において把握されなければならない。

本実験では、PAを含んでいると思われる液およびその対照区の液に一定量の細菌を添加し、一定時間經過後に各液中の細菌数の多少を比較し、それらの液中における細菌の増殖の度合をしらべることによつて PA の検定を行なつた。細菌数の比較は、脇本¹⁴⁾のバクテリオフェージによる簡易細菌数比較法によつた。本法の原理は、寄主細菌を含む試料にフェージを添加し、一定時間適温下で適当な培養液を加えて培養すると、フェージの細菌への吸着から細菌によるフェージの放出の経路を経てフェージの増殖が起こり、試料中の細菌数が多ければ当然フェージの増殖も大となることから、フェージの増殖の度合によつて試料中に存在する生細菌数の多少を比較判定し得ることである。

実験方法の詳細は次のとおりである。PA 滲出液および対照区の液を内径約 1 cm の試験管に 1 cc 取り、*X. oryzae* の 10⁵~10⁶/cc 程度の浮遊液を 0.1 cc 加

えて室温で 24 時間静置した後、6000 rpm で 10 分間遠心洗滌し、2 cc の CaVfCh 培地を加えて細菌を再浮遊させ、OP₁ ファージ液を加えて約 25~29°C で 3 時間振盪培養し、ファージを増殖させた。この際加えたファージの量は一つの試験においては試験区、対照区のいずれも同一量であることはもちろんであるが、全実験期間を通じては必ずしも一定ではなく、 5×10^4 /cc ないし 10^5 /cc の濃度のものを 0.1 ないし 0.01 cc 添加した。振盪培養後 6000 rpm, 10 分間の遠心沈澱を行なつて細菌を除去し、その上澄*を 0.01 cc 取り、その中に存在するファージを溶菌斑計数法により測定した。ファージの計数は指示菌として *X. oryzae* no. 60 を、また plating 用の培地には馬鈴薯半合成培地を用い、plating の後約 8 時間目に行なつた。

IV. 水稻葉上に置いた *X. oryzae* の蒸留水浮遊液が本菌の増殖に及ぼす影響

本実験は、水稻と *X. oryzae* との相互反応によつて PA が生成されるか否かを明らかにするために、既報⁹⁾ の水稻といもち病菌についての実験に準拠して行なつた。

A. 実験方法 水稻葉を先端から約 1~2 cm のところで切り、それより下部を約 2.5 cm ごとに切断して 1 枚の葉から 3~5 枚ずつの葉片を得た。この葉片にガラス毛细管で 4 カ所穿孔し、その 10 枚を 2 枚のス

ライドグラスではさんで、湿室としたシャーレ中に置き、その穿孔部に *X. oryzae* の蒸留水浮遊液を毛细管ピペットで 1 滴ずつ置いた。方法の詳細は既報⁹⁾ とほぼ同様である。なおここに用いた細菌浮遊液の濃度は実験の度に異なっているが、だいたい $10^4 \sim 10^5$ /cc 程度のものである。対照区には同様処理した葉片傷痕部に単に蒸留水のみを置いた区および前記と同じ細菌浮遊液を試験管中に保存した区の 2 区を設けた。

これらの葉片および試験管を室温で 24 時間あるいは 48 時間保つた後、毛细管ピペットでその水滴を集め、6000 rpm で 10 分間遠心沈澱して細菌その他の夾雑物を除去した。このようにして得られた 3 種の上澄について、前項で述べた方法にしたがい *X. oryzae* の増殖試験を行なつた。すなわちこれらの上澄を小試験管にとり、*X. oryzae* を加えて 24 時間増殖させ、その増殖の度合をバクテリオファージ法によつて比較し、上澄が *X. oryzae* の増殖に及ぼす影響をしらべた。なお増殖試験はできるだけ無菌的な条件下で行なつた。

B. 結果 結果は第 1 表に示すとおりである。本表の結果は各反覆とも、葉上の浮遊液区は葉上の蒸留水区よりもファージ数が少ない。また葉上浮遊液区と試験管中の浮遊液区については、各反覆の結果が必ずしも一致しないが、だいたい同程度かあるいは後者のほうがやや少ない傾向が認められる。ここで注意すべきことは、ファージの増殖度は種々の環境条件などによ

第 1 表 水稻葉小傷口上に 24~48 時間置いた *X. oryzae* の蒸留水浮遊液水滴の遠心上澄 (PA 滲出液) が本菌の増殖に及ぼす影響

Table 1. Inhibition of the multiplication of *X. oryzae* in the centrifuged solution collected from the drops, distilled water suspension of *X. oryzae*, placed for 24 and 48 hours on the needle pricks of rice leaves. Multiplication was measured by the phage technique¹⁴⁾.

drops kept for treatment replication	24 hrs.			48 hrs.		
	bact. suspension on leaf	distilled water on leaf	bact. suspension in tube	bact. suspension on leaf	distilled water on leaf	bact. suspension in tube
1	349*	790	560	189	286	101
2	158	229	83	665	1070	395
3	537	808	270	58	1180	285
4	195	305	203	118	167	—
5	138	310	59	—	—	—
6	155	291	195	—	—	—

* OP₁ phage by *X. oryzae*

* ファージの濃度が高く溶菌斑の計数が困難な時は、上澄の 100 倍稀釈液を 0.01 cc 取つた。従つて同一実験においても各反覆の使用上澄濃度は必ずしも一定ではない。

つて左右されるので、本表の数字の比率がそのまま生細菌実在数の根拠となるものではなく、ただその多少を比較判定しうるにすぎないことである。

本実験の結果から、水稻葉の小傷口上に 24 時間あるいは 48 時間置いた *X. oryzae* の蒸溜水浮遊液の遠心上澄中では、同様処理した蒸溜水の上澄中におけるよりも本菌の増殖が悪いことが認められる。また葉上の浮遊液の遠心上澄中と試験管に同時時間保つた浮遊液の上澄中の増殖度は大差ないかあるいは後者のほうが小さい傾向が認められる。

C. 考察 葉上の *X. oryzae* 浮遊液区と第 1 の対照区すなわち葉上の蒸溜水区との結果からのみ考察すれば、前者において *X. oryzae* の増殖が悪い原因が、水稻葉にすでに存在していた物質などに起因するものではなく、それは *X. oryzae* の存在することによつて生じたものであり、おそらくは糸状菌の場合と同様に、水稻と *X. oryzae* との相互反応によつて生成された PA によるものと思われる。しかし第 2 の対照区すなわち試験管中の *X. oryzae* 浮遊液区においても本菌の増殖が悪いために、さらに 2, 3 の点を考慮しなければならない。この対照区の増殖不良の原因はおそらく栄養物質の欠乏によるものと思われるが、本対照区は主として *X. oryzae* 自体の生産する物質による抑制作用が、その増殖に影響するか否かを知るために設けたものであり、したがつて前記の葉上浮遊液の示す増殖抑制作用に、本菌の自家抑制作用が関与していないとは断定できない。また葉上の浮遊液および蒸溜水中には同程度の栄養物質が葉中から滲出すると思われるが、前者ではこれらの物質が最初に接種した *X. oryzae* によつて消費されたために増殖試験時の養分濃度が後者より低下し、それが前者の増殖不良の一因になつているかも知れない。したがつて本実験の結果からは、水稻と *X. oryzae* との相互反応によつて PA が生成されることは推察されるが、しかしこれを確認することはできない。

V. 水稻葉上に置いた *X. oryzae* の合成培地浮遊液が本菌の増殖に及ぼす影響

前実験で、葉上に置いた *X. oryzae* 浮遊液の遠心上澄が示した本菌増殖抑制作用が、細菌自体の自家抑制作用あるいは供試液中の栄養物質の欠乏などに起因するものでないことが示されれば、その作用の本質は PA と考えてよいであろう。本実験ではあらかじめ栄養物質を添加することによつて、各試験区の *X. oryzae*

増殖阻害原因の排除をはかり、これらの疑点を明らかにしようとした。

A. 実験方法 本実験では、前実験における蒸溜水のかわりにすべて合成培養液を用いた。すなわち水稻葉の小傷口上に合成培養液を用いて作つた *X. oryzae* の浮遊液を置き、対照区には同浮遊液を試験管中に保つた区および葉上小傷口上に単に合成培養液のみを置いた区を設けた。その他の実験法は前実験と同様である。なおここに用いた合成培養液は農技研合成培地である。

B. 結果および考察 結果は第 2 表に示す。水稻葉小傷口上に 24 時間置いた *X. oryzae* の合成培地浮遊液の遠心上澄は、2 つの対照区すなわち葉上同部位に同時時間置いた合成培地および試験管中に同時時間置いた前記と同一の細菌浮遊液の遠心上澄に比べて本菌の増殖を抑制するが、2 つの対照区はほとんど同程度の良好な増殖を示している。この試験区と対照区との増殖の差は、肉眼的観察においても容易に認めうるほどであつた。

本実験では試験管中の浮遊液区で細菌が良好な増殖を示し、また培養液の添加により各試験区には十分な養分が存在すると思われるので、葉上の浮遊液区の示す *X. oryzae* 増殖抑制作用は、細菌自体の自家抑制あるいは供試液の養分欠乏などによるものではなく、水稻と *X. oryzae* との相互反応によつて生成された PA によるものと考えてよいであろう。

本実験の結果から推察して、前実験の葉上細菌浮遊液上澄が示した本菌増殖抑制作用にも PA が大きく関与したものと思われ、したがつて PA の生成には必ず

第 2 表 水稻葉小傷口上に 24 時間置いた *X. oryzae* の合成培地浮遊液水滴の遠心上澄が本菌の増殖に及ぼす影響

Table 2. Inhibition of the multiplication of *X. oryzae* in the centrifuged solution collected from the drops, synthetic medium suspension of *X. oryzae* placed for 24 hours on the needle pricks of rice leaves. Multiplication was measured by the phage technique⁽¹⁴⁾.

treatment replication	bact. suspension on leaf	medium on leaf	bact. suspension in tube
1	76*	855	855
2	283	1045	1000
3	245	1110	1135

* OP₁ phage produced by *X. oryzae*

しも合成培地の存在を必要とするものではなく、自然の条件下においてもその生成が行なわれるものと思われる。

PA 生成反応が糸状菌と寄主間のみならず細菌と寄主間においても存在することは、PA と病害抵抗性との結びつきがさらに広範囲のものであることを示していると思われる。

VI. 水稻と *X. oryzae* および水稻と *Piricularia oryzae* との相互反応によつて生成された PA 滲出液が両菌の増殖および胞子の発芽に及ぼす影響

水稻と *X. oryzae* とによつて生成された PA と、従来の糸状菌において認められた PA との間に、その抗菌的作用に差異が存在するか否かをしらべるために本実験を行なつた。

A. 実験方法 水稻と *X. oryzae* および水稻と *Piricularia oryzae* を用いて 2 種の PA 滲出液を得た。すなわち *X. oryzae* の場合は IV. の実験と同様な方法で葉上に本菌の蒸溜水浮遊液をおくことにより、また *P. oryzae* の場合は既報⁹⁾の実験と同様、酵母エキス培地より得た分生胞子の蒸溜水浮遊液を *X. oryzae* の場合と同じ葉片小傷口上におくことによつて得た。対照区もそれぞれ従前の実験と同様、葉上に単に蒸溜水を置いた区および試験管中に細菌あるいは胞子の浮遊液を保つた区を設けた。これら 2 種の PA 滲出液およびその対照区の液の遠心上澄それぞれについて、*X. oryzae* および *P. oryzae* 両者に対する増殖

または発芽抑制作用の有無をしらべた。すなわち *X. oryzae* に対する作用は IV. の実験の方法にしたがつてその増殖抑制作用で、また *P. oryzae* に対する作用は既報⁹⁾の実験にしたがつてその胞子の発芽抑制作用でしらべた。

B. 結果および考察 結果は第 3 表および第 4 表に示す。両表とも、*X. oryzae* 区において、それぞれ第 2 の対照区である試験管中の細菌区あるいは胞子の浮遊液区で細菌数の少ないことを示しているが、これは IV. の実験の場合と同様に供試液の養分欠乏によるものと思われ、また *P. oryzae* 区は 2 つの対照区とも良好な発芽率を示していることから、両表各試験区の葉上浮遊液区が示す抑制作用はいずれも PA の作用によるものと思われる。したがつて水稻と *X. oryzae* および水稻と *P. oryzae* によつて生成される 2 種の PA 滲出液はそれぞれ、前者は *X. oryzae* に対し、後者は *P. oryzae* に対してもその増殖あるいは胞子の発芽を抑制するといえよう。PA は、糸状菌においては、その作用範囲がひじょうに広いものと思われる^{6,12)}が、本実験の結果、その作用がさらに細菌にも及ぶことが認められた。

VII. 健全水稻葉およびエーテル麻醉水稻葉上の水滴中における *X. oryzae* の増殖の比較

前述の実験結果から、水稻と *X. oryzae* の場合における PA の生成速度は糸状菌の場合と同様かなり早いものと思われ、したがつて水稻葉上の *X. oryzae* は感染初期においてその増殖を阻害されるものと思われ

第 3 表 水稻と *X. oryzae* との相互反応によつて生成された PA 滲出液が *Piricularia oryzae* の分生胞子の発芽に及ぼす影響

Table 3. Inhibitory action of the PA-solution produced by the interaction between rice plant and *X. oryzae* against the germination of the conidia of *Piricularia oryzae*.

test organism treatment replication	<i>P. oryzae</i>									<i>X. oryzae</i>		
	bact. suspension on leaf			distilled water on leaf			bact. suspension in tube			bact. suspension on leaf	distilled water on leaf	bact. suspension in tube
	T	G	P	T	G	P	T	G	P			
1	232	78	33.6	183	134	73.2	189	133	70.4	12*	16	11
2	111	53	47.7	158	124	78.5	194	153	78.9	349	790	560
3	557	169	30.3	515	365	70.9	477	364	76.3	299	822	211
4	697	257	31.1	589	550	93.4	641	511	79.7	155	291	195
Average	35.7			79.0			77.2			—	—	—

T: total number of conidia measured G: germinated conidia P: per cent of germination

* OP₁ phage produced by *X. oryzae*

第4表 水稻と *Piricularia oryzae* との相互反応によつて生成された PA 滲出液が *X. oryzae* の増殖に及ぼす影響Table 4. Inhibitory action of the PA-solution produced by the interaction between rice plant and *Piricularia oryzae* against the multiplication of *X. oryzae*.

test organism	<i>X. oryzae</i>			<i>P. oryzae</i>								
	conidia suspension on leaf	distilled water on leaf	conidia suspension in tube	conidia suspension on leaf			distilled water on leaf			conidia suspension in tube		
				T	G	P	T	G	P	T	G	P
replication												
1	190*	1140	225	229	37	23.6	296	273	92.2	—	—	—
2	33	290	47	436	85	19.5	383	298	77.8	406	343	84.5
3	14	155	63	361	25	6.9	486	441	90.7	367	320	87.2
4	25	290	29	622	86	13.8	580	379	65.3	—	—	—
Average	—	—	—	16.0			81.5			85.9		

T: total number of conidia measured G: germinated conidia P: per cent of germination

* OP₁ phage produced by *X. oryzae*

る。

本実験では PA 生成能力を有する健全水稻葉およびこの水稻葉をエーテル麻酔した場合について、その表面上での *X. oryzae* の増殖を比較した。

A. 実験方法 水稻葉のエーテル麻酔処理²⁾は、切り取つた水稻葉の下端を水中に浸し、4.5 cc のエーテルを自然蒸散させた 17 l 容のガラス鉢内に 24 時間放置することによつて行なつた。処理を終つた葉は、IV. の実験と同様に約 2.5 cm に切断、4 カ所穿孔し、その穿孔部に 10⁴/cc 程度の *X. oryzae* 蒸溜水浮遊液を置き、湿室に 24 時間保つた後、その接種水滴を集めた。なおエーテルを除く他は全く同様に処理した区および同一浮遊液を試験管中に同時間保つた区を設けた。これら麻酔処理、無処理両葉上から集めた 2 種の浮遊液および試験管中の浮遊液の細菌数を直ちにバクテリオフェージ法で比較し、麻酔、無処理両葉上での *X. oryzae* の増殖を比較した。すなわちこれら 3 種の浮遊液を 0.4 cc ずつ取り、そのおのおのに 2 cc の CaVfCh 培地を加え、10⁵/cc の OP₁ フェージ浮遊液を 0.01 cc 加えて 3 時間振盪培養し、その遠心上澄中のフェージ数を前述の方法で測定した。

なお接種水滴を集めた後の葉片を用いて、麻酔・無処理両葉の組織に残存する *X. oryzae* の量を比較した。すなわち葉片 10 枚を乳鉢でよくすりつぶし、殺菌蒸溜水を加えて 6000 rpm で 10 分間遠心洗滌し、5 cc の CaVfCh 培地中に再浮遊させ、その 2 cc について前述と同様に細菌数を比較した。

B. 結果および考察 結果は第 5 表および第 6 表に示す。第 5 表の結果から、無処理区の細菌数は麻酔葉

第5表 水稻健全葉およびエーテル麻酔葉の小傷口上水滴中における *X. oryzae* の増殖の比較Table 5. Comparison of the multiplication of *X. oryzae* in the drops placed on the needle pricks of the narcotized rice leaf-blades treated with ether and not treated ones (incubated for 24 hours).

treatment	bact. suspension on narcotized leaf	bact. suspension on not treated leaf	bact. suspension in tube
replication			
1	232*	25	33
2	220	73	96
3	233	12	24
4	Numerous	1445	Numerous
5	362	142	165

* OP₁ phage produced by *X. oryzae*.

区のそれより少なく、試験管区とはほぼ同程度であることが認められる。この麻酔処理、無処理両区の細菌数の差が、細菌の寄主組織への侵入量あるいは付着量の差によるものでないことは第 6 表の結果から明らかである。したがつて *X. oryzae* は無処理葉上ではエーテル麻酔葉上よりその増殖が悪く、試験管中のそれと大差ないといふことができる。

麻酔葉区と無処理葉区の結果から考えて、麻酔処理が一般に植物の病害抵抗性を低下せしめることから、両者の差は水稻葉の有する抵抗性が麻酔処理によつて低下したためと思われる。ただこの場合、麻酔葉に存在する増殖促進因子、たとえば麻酔処理による寄主細胞成分の遊離滲出などが影響を及ぼすことが考えられ

第6表 水稻健全葉およびエーテル麻醉葉の小傷口上に24時間置いた *X. oryzae* 浮遊液を除去した後の両葉に存在する本細菌数の比較

Table 6. Comparison of *X. oryzae* populations remained in the needle pricks of the narcotized leaf-blades treated with ether and not treated ones, after the drops of *X. oryzae* suspension mounted for 24 hours on the needle pricks were removed.

treatment replication	narcotized leaf	not treated leaf
1	348*	63
2	254	32
3	780	705
4	1425	485
5	264	188

* OP₁ phage produced by *X. oryzae*.

るので、すべてを抵抗性の低下に帰せしめることはできない。

また無処理葉区と試験管区の結果から考えれば、本実験に用いた細菌浮遊液は蒸留水で作つたものであり、したがつて試験管中の *X. oryzae* は養分欠乏状態にあつたと思われるのに対し、無処理葉区では葉から滲出する栄養物質のためにはるかに増殖の条件が有利であつたと思われるが、この両者の増殖に差が認められないのは、無処理葉上に増殖抑制作用が存在したためと思われる。

以上のことから、健全水稻葉には *X. oryzae* の増殖を抑制する作用が存在することは確かであると思われる。この作用の一因として PA が関与していることは、前述の *in vitro* における PA の増殖抑制および麻醉処理による PA 生成能力の減退などから推察される。また葉上に置いた細菌浮遊液は球形に近く、その一部で葉面に接していることおよび水滴は採取時においてもその全体が細菌のために濁っていることから考えて、細菌の大部分は寄主組織に接することなく水滴中に浮遊しているものと思われ、したがつて本実験で認められた細菌の増殖抑制作用の主因は水滴中に存在するものと思われる。既述の *in vitro* の実験は、この水滴を集めた遠心上澄について試験したものであり、したがつてこの点からも本抑制作用の主因は PA であると推察される。

本実験の結果から、水稻葉上における *X. oryzae* の増殖抑制に PA が関与していることはほぼ間違いない

いと思われる。イネ白葉枯病の発生にはある程度以上の *X. oryzae* の量の存在が必要である^{4,7)} ことからみて、PA の本菌増殖抑制作用が、その発病に何らかの影響を及ぼしていることは推察される。

VIII. 摘 要

1. 水稻と *Xanthomonas oryzae* との相互反応によつて phytoalexin (PA) が生成されるか否かを検するにあたり、バクテリオファージによる簡易細菌数比較法を利用した。

2. 水稻葉の小傷口上に24時間置いた *X. oryzae* 浮遊液の遠心上澄中には、本菌の増殖を阻害する作用が存在することが認められた。本作用は水稻と *X. oryzae* との相互反応によつて生成された PA によるものと思われる。

3. 水稻と *X. oryzae* および水稻と *Piricularia oryzae* との相互反応によつて得られた2種の PA 滲出液はいずれも、*X. oryzae* の増殖および *P. oryzae* の分生胞子の発芽の両者に対して阻害作用を示した。

4. 水稻と *X. oryzae* との相互反応によつて生成される PA 量は水稻をエーテル麻醉することにより減少する。
(1960年5月16日受理)

引 用 文 献

- 1) 見里朝正・原薫 (1957): 農及園, 32: 797~798.
- 2) 水上武幸 (1950): 九大農学部学芸雑誌, 12: 1~4.
- 3) ——— (1953): 日植病報, 17: 57~60.
- 4) ———. 関正男 (1956): 九州病害虫研究会報, 2: 110~111.
- 5) 向秀夫・渡辺実 (1958): 日植病報, 23: 9.
- 6) Müller, K. O. (1954): Phytopath. Ztschr., 27: 237~254.
- 7) 関谷直正・久原重松 (1958): 日植病報, 23: 9.
- 8) 植原一雄 (1958): 日植病報, 23: 127~130.
- 9) ——— (1958): 日植病報, 23: 225~229.
- 10) ——— (1958): 日植病報, 23: 230~234.
- 11) ——— (1960): 日植病報, 25: 85~91.
- 12) ———: 未発表
- 13) 脇本哲 (1955): 九大農学部学芸雑誌, 15: 151~160.
- 14) ——— (1957): 日植病報, 22: 159~163.

Summary

The present paper reports the results of the experiments on the production of phytoalexin (PA) by the host-parasite interaction using rice plant as the host and *Xanthomonas oryzae*, the causal organism of rice leaf-blight, as the parasite. The experimental methods and the results were as follows.

1) Leaf-blade pieces of rice plant were stuck with capillary glass tube and mounted with drops of distilled water suspension of *X. oryzae* on the injured parts, and kept in moist chamber for 24~48 hours. For the control, distilled water were mounted on the pricks of the leaf pieces (control 1) and the bacterial suspension were kept in test tube (control 2). Drops were collected after above noted hour and centrifuged for 10 minutes by 6000 rpm. The supernatants were then added with the new suspension of *X. oryzae*, and after 24 hours, bacterial population of these solutions were compared by the method for the comparison of bacterial populations by phage technique¹⁴⁾.

The supernatant of *X. oryzae* suspension on leaf inhibited the multiplication of *X. oryzae* (Table 1). The inhibitory action seems to be due to PA, but can not be said exactly, because *X. oryzae* showed no multiplication in the control 2, the supernatant of the suspension in test tube.

It is presumed that the inhibition of the multiplication shown in the control 2 may be due to the deficiency of some nutrients in the solution. The second experiment, therefore, was carried out with the synthetic medium instead of distilled water: the bacterial suspension made with the synthetic medium was mounted on the leaf pricks. For the control, the same suspension was kept in test tube (control 2) and the medium only was mounted on the leaf pricks (control 1). In the present experiment, *X. oryzae* showed a good multiplication in the controls, and therefore the inhibition of the multiplication of *X. oryzae* shown by the supernatant of the bacterial suspension on the needle pricks was considered to be caused by PA (Table 2).

The results mentioned above show that PA is produced by the results of the interaction between host plant and the bacterial pathogen as well as in the case of host and fungus⁹⁾.

2) The antibiotic action of the PA-solution mentioned above was compared with the one produced by the interaction of rice plant and *Piricularia oryzae*, the causal fungus of rice-blast. The technique adopted in the case of *P. oryzae* was similar to the previous paper⁹⁾. The results given in Table 3 and 4 show that each of these PA-solutions inhibited both the multiplication of *X. oryzae* and the germination of conidia of *P. oryzae*. It seems therefore that each of these two PA-solutions have no specificity on its antibiotic action.

3) Experiments were carried out to compare the multiplications of *X. oryzae* in the drops placed on the needle pricks of healthy leaves with that of ether-narcotized ones. The bacterial suspensions were mounted on the pricks. The suspension was collected after 24 hours and the bacterial populations with in unit volumes of these drops were compared by means of the bacteriophage technique. The results show that the multiplication of *X. oryzae* was inhibited in the case of the healthy leaves (Table 5). From the results, it is presumed that the main inhibiting factor may be due to PA, because the factor seems to exist in the drops from healthy leaves and no PA action seems to be present in the case of the narcotized leaves.

(Laboratory of Plant Pathology, Hiroshima Agricultural College, Saijo, Hiroshima Prefecture)