Race の異なるいもち病菌に対する
イネ品種の細胞反応の差異

大 畑 貫 一*・後 藤 和 夫**・高 坂 淖 爾*

Kan-ichi ŌHATA, Kazuo Goto and Takuji Kōzaka : Observations on the reaction
of rice cells to the infection of different races of *Piricularia oryzae*.

1. 緒 言

病原菌の侵入初期における寄主細胞の生死を明らかにすることは抵抗機作の解明、病原菌の分泌する毒素の役割等の解明に重要な足場を与える。さて、いもち病菌の侵入にさいして抵抗性品種では細胞の急激な変性壊死がみられることはすでに鑄方ら⁵⁾、河村ら⁷⁾をはじめ多くの研究者によつて詳しく報告されているが、罹病的な場合の被侵入細胞の生死については、伊藤・坂本⁹⁾、鑑谷¹⁾の観察があるに過ぎない。伊藤らは罹病性品種(初紫)に葉鞘接種し、被侵入細胞および隣接細胞の原形質分離能を調査した結果、接種後24~48時間では被侵入細胞は原形質分離能をもっていること、また隣接細胞は菌の直接の侵入をうけるに先だつて生きてはいるが、何らかの原因で害作用を受けていることを観察し、「組織内の菌糸のまん延には侵害を受けた寄主細胞の生活状態、したがつてまた侵入しきたれる菌糸に対する寄主細胞原形質の反応によつて条件づけられるごとく考えられる」との卓見を述べたが、その後これに関した報告をみない。最近鑑谷¹⁾は被侵入細胞の原形質分離能等を多数の品種について観察し、寄主細胞が少しでも長く生きていることが抵抗性の発現に重要な条件であろうと報じた。著者ら³⁾はさきに抵抗性の異なる品種に病原力の異なる菌株を相互接種すると抵抗反応を示さない組み合わせでは被侵入細胞は菌の侵入後相当長時間原形質分離能をもち、生きていると考えられることを略報したが、本報はそれにさらにその後実施された成績を加えたものである。

本研究を実施するにあたり、種々有益な助言をいただいた鈴木直治技官、貴重な文献を貸与いただいた高橋喜夫教授ならびに顕微鏡写真の撮影について御指導いただいた梶原技官に深甚な謝意を表する。

2. いもち病菌の侵入程度と寄主細胞の生死

葉鞘接種して所定時間ごとに裏面表皮のストリップを作り、原形質分離の有無で寄主細胞の生死を判定した。

供試菌としてP 2菌株を用いイネ品種はこの菌株に対して抵抗性を示す荔支江と、罹病性を示す愛知旭を

第1表 菌の侵入程度と寄主細胞の生死

接種後経過時間	品種	侵入菌糸の伸展度	調査細胞数	変質細胞数	原形質分離能消失率(%)	
					被侵入細胞	隣接細胞
12時間	荔支江	0.5 1	6 1	0 0	0 0	0 0
	愛知旭	0.5 1	15 2	0 0	0 0	0 0
18時間	荔支江	0.5 1	30 15	16 11	73 100	0 0
	愛知旭	0.5 1 2	27 12 1	5 1 0	11 8 0	0 0 0
24時間	荔支江	0.5 1 2	37 25 4	22 16 0	90 95 80	8 9 0
	愛知旭	0.5 1 2 3	19 17 8 15	5 4 0 1	53 23 12 33	2 6 0 2
44時間	荔支江	0.5 1 2	22 14 2	18 8 2	100 100 100	8 6 0
	愛知旭	0.5 1 2 3 4 5 6 7	10 11 4 8 7 2 1 1	9 9 4 5 5 1 1 1	90 73 100 100 100 100 100 100	2 0 0 19 27 62 63 55

* 農林省農業技術研究所

** 農林省農林水産技術会議

用いた。温室内で栽培したイネの頂葉展開度のそろった主稈を選び、その第3葉鞘(上から)にイースト培地上で形成された胞子の浮遊液を接種した。接種法は高橋¹²⁾に準じ、胞子濃度は150倍1視野当たり1~2コとした。接種後26°Cの定温器内において12, 18, 24, 44時間目に取り出し、葉鞘裏面表皮をかみそりではぎとり、0.8 M KNO₃によつて原形質分離をおこさせ、侵入菌糸の伸展度(高橋基準)、被侵入細胞ならびにその隣接細胞の原形質分離の有無を調べた。1回の観察には3葉鞘を用いたが、各回の調査個所数は一定しなかつた。

結果は第1表に、また代表的事例をPlate I に示した。接種後12時間目には両品種とも侵入菌糸の伸展度は約0.5位で被侵入細胞、その隣接細胞にも変質は見られず、すべて原形質分離能をもつていた。18時間目には侵入菌糸の伸展度は荔支江では0.5~1.0、愛知旭では0.5~2で両品種とも被侵入細胞のあるものでは黄変果粒化が現われ始めたが、その割合は荔支江で著しく高かつた。また荔支江では被侵入細胞の約70%以上が原形質分離能を失つていたが愛知旭ではこれが10%前後にすぎなかつた。この時期まではなお両品種とも隣接細胞の原形質分離能は失われていなかった。24時間目には荔支江での侵入菌糸の伸展度はほとんど前回と変わらず、まれに伸展度2のものがみられた。いずれの伸展度のものでも被侵入細胞の大部分が原形質分離能を失い、また伸展度の小さい被侵入細胞の隣接細胞は約10%が原形質分離能を失つていた。愛知旭では侵入菌糸の伸展度が3に達するものも多かったが、いずれの伸展度の被侵入細胞でも原形質分離能消失率はほぼ50%以下で隣接細胞のそれも荔支江よりも低かつた。44時間目には荔支江では菌糸はすでに生長を停止し、被侵入細胞のすべてが変質して原形質分離能もなかつた。愛知旭では引き続いて菌糸が伸長し、伸展度7に達したものがあり、被侵入細胞のほとんどすべてが原形質分離能を失つていた。隣接細胞の原形質分離能消失率もこの時期には愛知旭が荔支江よりも高く、24時間目までの結果とは逆になつていた。これは愛知旭では侵入菌糸はすでに数細胞を侵すほど伸長して隣接細胞への影響がさらに強くなつているのに反し、荔支江では24時間目以降侵入菌糸はほとんど伸長せず、菌と寄主細胞との闘争はすでに終わり、その後の周辺細胞への影響がなくなつたためである。

以上を要約すると荔支江の被侵入細胞の死は侵入早期にみられ侵入菌糸の伸長も早期に停止するが、愛知

旭では第1次被侵入細胞(附着器から直接侵入を受けた細胞)は比較的遅くまで生きており、菌糸は引き続いて伸長し隣接細胞に侵入する。隣接細胞の死も抵抗性品種では早く起きるが小範囲に限られるのに反し、罹病性品種では遅く現われる。後期には2次被侵入細胞数の増加につれて死細胞数は多くなる。

被侵入細胞の変質過程をみると、原形質流動の激化→ブラウン運動の出現→原形質のゲル化の過程が観察された。原形質流動の激化は侵入のごく初期にみられたが、出現細胞数が少なく、その品種間差異を明らかにすることができなかつた。原形質内のブラウン運動は接種後18時間目頃から一部の被侵入細胞で観察され、荔支江でいくぶん出現率が高いようであつた。また接種後24時間目には荔支江では被侵入細胞のブラウン運動はすでに停止し、隣接細胞にこれがみられたが、愛知旭では被侵入細胞にみられる例が割合に多かつた。接種後44時間目にはすでに両品種ともゲル化が進み、ブラウン運動のみられる細胞はきわめて少なくなつた。一方隣接細胞の死は被侵入細胞が軽い変質を起こし、しかも菌糸がある程度伸びているような場合に多くみられた。

3. 被侵入細胞の変質と菌の生死

被侵入細胞内の菌糸の生死と寄主細胞の死との時間的な関係を知るため次のような実験を行なつた。

葉鞘接種して26°Cに24時間おいた後、常法により葉鞘裏面表皮のストリップを作り、被侵入細胞の状態を撮影し、再びこれを湿室に入れて26°Cで20時間おいたのち、前回と同じ個所を原形質分離処理を行なつて撮影し、細胞の変性、菌糸の伸長の状況を比較して菌および細胞の生死を判断した。

結果は第2表に、代表的事例をPlate II に示した。

荔支江では変質細胞内の菌糸の多くは接種後24時間目ですでに形態的にも異常を呈し、その後伸長がみられなかつた。しかし接種後24時間目に比較的軽い変質を起こしていた細胞、あるいはブラウン運動をしていた細胞内の菌糸は44時間目までにさらに伸長した例が数例あつた。もちろんこの時期には被侵入細胞は死滅していた。愛知旭でも24時間目にひどく変質していた細胞内の菌糸はその後伸長しないが、原形質分離がみられた細胞内の菌糸は明らかにその後伸長していた。菌糸の伸長の有無から菌の生死を判断することは必ずしも正確な方法ではないが、同一菌糸の形態的变化をも合わせて観察すると、荔支江では変質細胞内の菌糸が接種後24時間目までに大部分死んでいると考

第2表 被侵入細胞の変質と菌の生死

品 種	接種後 24 時間目			接種後 44 時間目				
	侵入菌糸の伸展度	調 査 細胞数	変 質 細胞数	菌糸の伸展した細胞数 元変質 ^a 元無変 ^b 計	原形質分離消失率 (%)		被侵入細胞	隣接細胞 ^c
荔 支 江	0.5	15	15	2	0	2	100	22
	1	6	6	1	0	1	100	46
愛 知 旭	0.5	3	3	0	0	0	100	8
	1	2	1	1	1	2	100	8
	2	3	1	0	3	3	100	25
	3	2	0	0	1	1	100	33
	5	1	0	0	1	1	100	0

^a 接種後 24 時間目に変質していた細胞^b 接種後 24 時間目に変質していなかった細胞^c 菌糸がまん延し隣りの附着器から伸びた菌糸と錯綜して調査し得ない細胞は除外した

第3表 被侵入細胞ならびに隣接細胞の原形質分離

接種後経過時間	品 種	菌 株	調 査 細胞数	侵入菌糸の伸展度	変質率 (%)	原形質分離能消失率 (%)	
						被侵入細胞	隣 接 細胞
24 時 間	荔支江	P 2 53-33	39 39	1.06 2.14	7 18	85 52	6 12
	愛知旭	P 2 53-33	40 39	1.63 2.26	48 13	67 22	7 0
40 時 間	荔支江	P 2 53-33	120 106	0.92 2.75	87 50	88 81	16 36
	愛知旭	P 2 53-33	106 109	2.31 3.22	41 24	82 76	21 13

えられる。しかしこの時期までに変質の軽い場合、あるいはブラウン運動をしていた細胞内では菌糸がその後伸長した場合が観察されたことから、おそらく荔支江の被侵入細胞内における菌糸の死は寄主細胞の死よりも遅れるように推察される。愛知旭の場合は侵入初期にひどく細胞変質がみられた場合を除いてはすべて菌糸の伸長が引き続いてみられたから、細胞の死が起こつても明らかに菌糸は生きていて考えられる。

4. 病原力の異なつた菌株を用いたときの寄主細胞反応の変化

いもち病菌には race の存在が明らかとなつたので⁴⁾異なる race に属する菌株を接種して寄主細胞の生死ならびに 2, 3 の生理的反應を組織化学的に調べた。

(a) 菌の侵入と寄主細胞の生死

供試品種は 2 と同じである。供試菌は P 2 菌（後藤ら⁴⁾の分類では N race 群に属し、日本稲のみに病原性がある）および 53-33 菌（C race 群に属し、支那稲、日本稲に病原性がある⁴⁾）である。両菌株を噴霧接種した場合の供試品種の反応は次のようである。イ

菌株	品 種 の 反 応	
	荔 支 江	愛知旭
P 2	R (まれに少数個体に M)	S
53-33	S ~ M	S

R : Resistant
S : Susceptible
M : Moderate

ネは戸外で慣行法によつて栽培し、穂孕期に生育のそろつた 1 次茎の止葉葉鞘を供試した。供試胞子はあらかじめ旭 1 号苗に噴霧接種し、その病斑上に形成されたものである。接種方法並びに寄主細胞の生死の判定は 2 に準じた。1 区の供試葉鞘は 4 本で、調査は接種後 24 時間目と 40 時間目の 2 回行なつた。

結果は第 3 表に示す。接種後 24 時間目では荔支江に 53-33 菌（病原力強）を接種した場合、被侵入細胞の原形質分離能の消失率は P 2 菌（病原力弱）を接種した場合に比べて著しく低かつた。愛知旭でも同様の傾向が明らかにみられた。隣接細胞の原形質分離能消失率は荔支江では P 2 菌接種区が 53-33 菌接種区より低い、愛知旭では逆に P 2 菌接種区が高かつた。接種後 40 時間目になると原形質分離能の消失率は高

くなるが、全般的にみて 24 時間目の傾向と一致していた。

すなわち、一般には抵抗性とされている品種でも病原力の強い菌株を接種すると侵入菌糸の伸展度は増大し、被侵入細胞はより遅くまで生きており、抵抗性の弱い品種と類似した反応を示す。また抵抗性の弱い愛知旭は病原力の強い菌株を接種することによつて前項に記述した抵抗性を示さない場合の反応が一層顕著となる。

隣接細胞の死は荔支江では P2 接種区すなわち抵抗的な場合に少なく、愛知旭では 53-33 接種区すなわち罹病的な場合に少なかった。この結果は一見相反している。しかし最も抵抗的な場合(荔支江に P2 菌接種)には菌の侵入による細胞の死は被侵入細胞に限られるし、最も罹病的な場合(愛知旭に 53-33 菌接種)には隣接細胞はもちろん被侵入細胞も生きていること、また一方、隣接細胞の死は既述のように被侵入細胞がゆるやかな抵抗反応(軽い変質がみられる)をしなから菌糸がある程度伸びている場合に観察されることを合わせ考えると、接種後40時間位までは強抵抗、強罹病性の場合に隣接細胞の死はかえつてすくなくとみられるので上記の結果は当然のことであろう。

(b) 菌の侵入と寄主細胞の 2, 3 の生理的変化

病原力の異なる菌株を接種した場合の各品種の TTC 還元作用、nadi 試薬および phloroglucine-HCl による呈色反応の変化を調べた。調査方法は次のようである。

TTC 還元作用：常法によつて接種し 48 時間定温に保つた葉鞘を 2 cm に切り、ツンベルグ管内で 0.5% glucose 1.5 ml, 10^{-2} M TTC (triphenyltetrazolium chloride) 1.5 ml を加えて 30°C で 2.5 時間真空状態で反応させた後鏡検した。

nadi 試薬による呈色反応：試薬の調製は Lison⁸⁾の方法に準じた。接種後 48 時間目の葉鞘裏面表皮を pH 8.4 で 20 分間反応させて鏡検した。なお nadi 試薬による呈色物質の推定は鈴木¹¹⁾の方法によつた。

phloroglucine-HCl による呈色反応：接種後 48 時間目に葉鞘の裏面表皮切片を相見⁹⁾の方法によつて調べた。結果は次のようである。

TTC 還元作用：荔支江に P2 菌接種区では、すでに変質していた被侵入細胞に反応が認められることはまれで、その隣接細胞に反応が強く現われている例が多かつた。53-33 菌接種区では被侵入細胞に微弱な反応が残っていることがあつたが、一般には反応は認められなかつた。隣接細胞ではわずかに強く現われるこ

とがあつた。愛知旭に P2 菌接種区の侵入初期では変質のない細胞あるいは隣接細胞で比較的強い反応が認められた。愛知旭に 53-33 菌接種区では被侵入細胞には反応はなく、その隣接細胞でも反応は微弱であつた。以上を前項の結果と総合すると、抵抗反応によつてすでに変質した細胞には脱水素酵素の反応はないが、その隣接細胞で比較的強い反応が現われる傾向がある。また抵抗反応が弱く、変質がみられない被侵入細胞に弱い反応があるが、菌糸がまん延した細胞ではこれが消失する。このような細胞の隣接細胞では反応がわずかに強くなる場合がある。

nadi 試薬による呈色反応：荔支江に P2 菌接種区では変質被侵入細胞のみに鮮明な反応が現われた。53-33 菌接種区では変質被侵入細胞には反応があつたが、菌糸がまん延し、変質のみられない細胞には反応はみられなかつた。愛知旭でも同様に被侵入細胞あるいはその隣接細胞が変質している場合のみ反応が現われた。以上要するに nadi 試薬による呈色反応は抵抗反応によつて寄主細胞が変質している場合にのみ陽性で、菌糸がまん延しても変質のみられない場合には陰性である。本試薬に呈色する物質は KCN 処理あるいは熱処理しても脱色しないので、鈴木¹¹⁾が指摘するようにポリフェノールあるいはキノン性の物質であろう。

phloroglucine-HCl による呈色反応：荔支江に P2 菌接種区では変質細胞の細胞膜が淡紅色～紅色に染まり、53-33 菌接種区でも変質細胞にのみ同様の呈色がみられた。愛知旭に P2 菌接種区でも変質細胞では細胞膜がわずかに呈色したが、53-33 菌接種区では呈色する例はまれであつた。すなわち抵抗反応によつて細胞が変質している場合にのみ反応は陽性である。

5. 論 議

以上の結果を総合すると、一般にきわめて罹病的な場合には被侵入細胞の死は細胞内に菌糸が相当發育したのちに起こり、活物寄生的性格をもち褐変果粒化などもみられないが、抵抗性を示すほど被侵入細胞の死は早まる。また菌糸の死は寄主細胞の死の後に起きるように推察される。これを模式的に示すと Fig. 1 のようになる。

抵抗性品種における被侵入細胞の急激な死は既往の観察結果^{5,7)}と一致する。また罹病性品種における被侵入細胞の死の遅延は伊藤・坂本⁹⁾の結果とよく一致する。鑑谷¹⁾はいずれの品種でも菌糸の伸長した細胞は原形質分離能を失い、また罹病性品種では細胞に外

観的变化がなくて原形質分離能を失い、抵抗性品種では褐変果粒化等の変化のある時にこれを失っていることを報じている。この点著者らの結果と相違する。しかし同氏の観察はおもに接種後 48 時間以降を対象としており、著者らの観察とは時間的に違っていること、また著者らの観察でも接種後 44 時間目位の第 2 次被侵入細胞では銚谷の観察と一致するから、両者の結果は本質的に異なるものではないようにも思われる。最近富樫¹⁶⁾はピリクラリン処理葉鞘において罹病的な葉鞘細胞は菌の侵入初期に原形質分離能を保持していることが多く、抵抗性を示すときに原形質分離能を失っていると報じているが、これは著者らの観察とよく一致している。

抵抗反応が現われる時の寄主細胞の死と細胞内菌糸の死との時間的關係については既往の報告がなく、著者らの観察数も少数すぎるから更に検討が必要であろうが、細胞変質がややゆるやかな場合では細胞は死んでもその中の菌糸はなおしばらくの間伸長した例からみると、寄主細胞の死が菌糸の死よりも先行するように考えられる。もしこの考え方が普遍的にいち病について成立するとすれば、既述のように抵抗反応が侵入のきわめて初期に現われることからして、被侵入細胞では過敏感死、ひいては病菌の死という過敏抵抗が成立するとみられないこともない。このうち過敏感死などで生ずる細胞内褐変物質生成については鈴木¹⁰⁾、玉利¹⁴⁾らが詳しく報告しているが、こののちにおける菌の死については細胞変質の過程においてもいち病菌に特異的なある種の抗菌性物質の生成などの仮定を考慮しなければならないであろう。この意味では植原¹⁵⁾の報じた phytoalexin などが注目される。

罹病性品種の被侵入細胞では特に目立つた変質が起らない原因については、直接的な証明は見当たらない。高橋¹³⁾は葉鞘裏面表皮にガラス針で傷をつけると菌が侵入した場合と類似した変質を起こすが、附傷と同時に感受性病斑の汁液を与えると変質が抑えられることから、感受性の感染場において変質を抑制する物質が生産されることを推察した。富山¹⁷⁾は 2.4 DNP 処理したジャガイモの中肋表皮では疫病菌侵入による細胞の褐変が遅れることを報告している。おそらく罹病的な場合では玉利¹⁵⁾の報じたように菌侵入の刺激ないしは菌の分泌する物質によつて細胞内に呼吸の高まりと連関した代謝の高まりがおこらないことが変質、褐変を伴わない原因と考えられるが、これらの点は race を異にする菌株を用いて改めて検討したい。

一般に抵抗性とされている品種でも病原力の強い菌

株を接種すれば単に侵入菌糸の伸展度が増大するだけでなく、被侵入細胞あるいはその隣接細胞の生死並びに TTC 還元作用、nadi 試薬および phloroglucine-HCl による呈色反応等の諸反応が一般に罹病性とされている品種の示すそれらの反応ときわめて類似する。この事実は用いた品種、菌株の範囲内においては抵抗反応あるいは罹病反応は品種に固定的なものではなく、寄主の抵抗性と菌株の病原力との相対的な関係によつて決定され、かつそこに現われる諸反応はすくなくとも現象的には全く共通的なものであることを示す。これらについては更に品種抵抗反応の逆転を伴うような菌型を供試して追試してみたい。

6. 摘 要

荔支江（抵抗性）および愛知旭（罹病性）にいち病菌（P2 菌）を葉鞘接種し、寄主細胞並びに侵入菌糸の生死を経時的に観察した。また上記品種に病原力の異なる菌株（P2 菌および 53-33 菌）を接種した場合の寄主細胞の生死、寄主組織の TTC 還元作用、nadi 試薬による呈色反応、phloroglucine-HCl による呈色反応の変動を調べた。

荔支江でも愛知旭でも接種後 12 時間目には侵入がみられたが、この時期までは両品種とも被侵入細胞は生きていた。接種後 18 時間目以降荔支江では被侵入細胞はほとんど死んだが、愛知旭では菌糸がある程度伸長しても細胞は生きており、被侵入細胞の死は遅延した。隣接細胞の死は接種後 24 時間目までは荔支江に多かつたが、44 時間目には愛知旭で多かつた。

荔支江では被侵入細胞内での菌糸の死は寄主細胞の死よりやや遅れるようにみられた。

荔支江でも病原力の強い 53-33 菌を接種すると寄主細胞の死は遅延し、寄主組織の TTC 還元作用、nadi 試薬および phloroglucine-HCl による呈色反応は罹病性品種におけるそれらの反応と類似した。また愛知旭に同菌を接種した場合、被侵入細胞の死、隣接細胞の死は P2 菌を接種した場合よりも更に遅延した。

(1962. 5. 29 受理)

引用文献

1. 銚谷大節 (1959). 東北農試研報 17 : 1-101.
2. 相見靈三 (1953). 細胞生理実験法. 東京, pp. 296.
3. 後藤和夫・大畑貫一 (1957). 日植病報 22 (1) : 12.
4. 後藤和夫・山中 達 (1961). 病害虫発生予察特別報告 5 : 5-22.

5. 鋤方末彦・松浦 義・田口重良 (1931). 農事改良資料 20 : 1-140.
6. 伊藤誠哉・坂本正幸 (1941). 農林省委託 稻熱病に関する研究. 昭和 15 年度報告, 1-30.
7. 河村栄吉・小野小三郎 (1948). 農試彙報 4 (1) : 13-22.
8. Lison, L. (今泉正訳, 1954). 組織化学および細胞化学. 東京. pp. 532.
9. 坂本正幸 (1949). 東北大農研彙報 1 (3) : 120-129.
10. 鈴木直治・土居養二・豊田 栄 (1953). 日植病報 17 (2) : 97-101.
11. 鈴木直治 (1957). 農研報告 C 8 : 69-132.
12. 高橋喜夫 (1951). 北海道立農試報 3 : 1-61.
13. 高橋喜夫 (1955). 枋内・福士選暦記念論文集, 245-248.
14. 玉利勤治郎 (1959). 新潟大農学術報告 11 : 121-140.
15. 玉利勤治郎 (1960). 蛋白核酸酵素 5 (12) : 664-676.
16. 富樫邦彦・小笠原長宏・玉利勤治郎 (1960). 日植病報 25 (3) : 142-147.
17. 富山宏平 (1957). 日植病報 22 (2) : 75-78.
18. 植原一雄 (1958). 日植病報 23 (3) : 127-130.

Summary

This paper deals with the host-parasite interaction in the rice blast disease, using the following four combinations of two races and two rice varieties:

isolate P2 (race N) × Reishiko.....resistant	isolate 53-33 (race C) × Reishiko...susceptible
〃 〃 × Aichiasahi.....susceptible	〃 〃 × Aichiasahi...susceptible

Inner surface of detached leaf-sheath was inoculated with dilute spore suspension and the reaction of invaded cells was examined under microscope, after 12 to 44 hour-incubation at 26°C. The infected tissue was soaked in 0.8 M KNO₃ solution prior to the examination in order to test for the plasmolytic activity of the invaded and the neighbouring cells.

1. Hyphae of P2 penetrate the cell wall of both varieties within 12 hours after inoculation. All the invaded cells are alive until this time (Plate I). After 18 hours, however, most of the primarily invaded cells of the resistant variety (Reishiko) appear to have died, whereas, most of those of the susceptible variety (Aichiasahi) remain alive. A similar tendency was traced during the later period, from 24 to 44 hours after inoculation (Plate I). In the resistant variety, the hyphae enclosed in most of the invaded cells die within 24 hours after inoculation, whereas, in the susceptible variety, they remain alive in most of the invaded cells for much longer period (Plate II). Cells adjoining the primarily invaded cell appear to have died more abundantly in the resistant variety than in the susceptible variety within 24 hours after inoculation, but the number of dead cells around the invaded cell tend to increase rapidly in the susceptible variety during the later period until about 44 hours.

2. When the variety Reishiko is inoculated with the isolate 53-33, which is highly virulent to both varieties, the death of primarily invaded cells is markedly delayed. This result is quite similar to that with Aichiasahi inoculated with P2. Similarities are also observed between Reishiko-53-33 and Aichiasahi-P2 combinations in color reactions of the invaded tissues to triphenyltetrazolium chloride, nadi-reagent, and phloroglucine-HCl.

3. From these results it is concluded that, although *Piricularia oryzae* is not an obligate, there must be a symbiotic phase in the early stage of infection, in case the host is susceptible, or that the hypersensitive reaction of the host is a main cause of resistance.

(National Institute of Agricultural Sciences, Nishigahara, Tokyo, Japan)

Explanation of Plates

Plate I. Photomicrograph showing varietal difference in plasmolysis of the primarily invaded

cells and their neighbours of inner epidermis of rice leaf sheath at early stages of blast infection.

A 1. and R1, 12 hrs after inoculation; No degeneration of cytoplasm.

A 2. and R2, 18 hrs after inoculation; The primarily invaded cell of A2 shows plasmolysis, while R2 shows only granulation of plasm.

A 3. and R3, 24 hrs after inoculation; The primarily invaded cell of A3 shows hyphal branches and plasmolysis, while R3 shows only disorganization of plasm.

A 4. and R4, 44 hrs after inoculation; The primarily invaded cell of A4 shows vigorous growth of hyphae but it does not show already an ability to plasmolyse, while R4 is almost unchanged as compared to R3.

A, Aichiasahi (susceptible variety); R, Reishiko (resistant variety).

Plate II. Two successive pictures showing the growth of hyphae in the primarily invaded cells in two rice varieties Reishiko and Aichiasahi.

Left were pictured at 24 hrs after inoculation without treatment for plasmolysis, and right at 44 hrs after inoculation, with treatment for plasmolysis.

1. Resistant host: No further growth of the intracellular hypha from the left picture to the right, but there is a rapid browning and granulation immediately after penetration.
2. Do: An extending hypha can be detected in a neighbour cell from the primarily invaded cell, which shows slight degeneration already at 24 hrs after inoculation.
3. Susceptible variety: Any sign of degeneration has not been shown until 24 hrs after inoculation (left), and a vigorous mycelial growth in the invaded cell in 44 hrs (right).
4. Do: Any sign of degeneration has not been shown up to 24 hrs after inoculation (left), and a vigorous mycelial growth in neighbour cells from the primarily invaded cell.
5. Do: Plasmolysis of an invaded cell in 24 hrs after inoculation (left) as well as in 44 hrs after inoculation (right). This indicates evidently that the invaded cell of susceptible varieties is still alive until a certain period (24 hrs in this experiment) after the invasion.

Fig. 1. Diagrammatic illustrations, showing varietal difference in plasmolysis of the primarily invaded cells and their neighbours of inner epidermis of rice leaf-sheath at early stages of blast infection. Reishiko, resistant to P2; Aichiasahi, susceptible to P2; a, appressoria; b, intracellular hyphae; c, degenerated cells; and d, plasmolysed cells with dwinged cytoplasm.

Plate I

Plate II