イネいもち病病斑周辺部褐変組織の役割について

黒 崎 良 男*

Yoshio KUROSAKI : Role of Brown-Discolored Tissues
around Blast Lesions in the Defence Reaction of
Rice Plants against *Pyricularia oryzae* Cav.

Abstract

To investigate the water permeability of the brown-discolored marginal zone, artificial lesions were prepared by means of inoculation at heat-injured spots. These lesions formed sharp brown-discolored zone which seemed to barricade the parasite. Water content of these lesions decreased rapidly even under sufficient water supply, suggesting that the brown-discolored tissue inhibits the supply of water and water soluble nutrients to the fungus enclosed in the lesion.

いもち病の病斑は周辺部に褐変組織ができると、それ以後病斑は拡大しない¹⁾。またこの褐変組織の解剖学的観察によると²⁾、抵抗性品種では壊死細胞が収縮せず、むしろ膨張することによって細胞間隙の少ない組織を形成しているという。したがって褐変組織は物理的あるいは化学的な防壁となって菌の伸長を阻止している可能性をうかがわせる。これについて鈴木³⁾は病斑の組織化学的観察の結果、褐変はポリフェノールの増加とその酸化によるものであるが、それだけでは抗菌性をじゅうぶんに説明できず、褐変はたんに代謝変調の表現にすぎないとした。また高橋⁴⁾も葉鞘接種法により感染初期の段階について多面的な観察・実験を行ない、褐変を含む細胞の変質は菌の伸展が阻止された後起るものとし、イネの抵抗性にとって第一義的な役割を認めていない。この問題に関して近年イネーいもち病菌以外の系で活発な研究が続けられており、Sato ら⁵⁾はジャガイモ疫病でファイトアレキシンの一種であるリシチンが褐変部に局在して菌糸抑制に積極的な役割を演じていることを認めている。また Shiraishi⁶⁾らはエンドウのうどんこ病で、褐変は親和

性・非親和性の区別なく同様に起り、ファイトアレキシンの生成とも関連しないと報告している。さらに Király⁷⁾らは褐変も含めて過敏死は抵抗性の原因ではなく結果であると主張している。これに対して Deverall⁸⁾はその綜説で両論を併記し問題はなお未解決であることを示している。

筆者はいもち病についてかねてよりファイトアレキシンの探索を続けてきたが、結果はすべて否定的であった。また褐点病斑からもいもち病菌が再分離できることから⁹⁾、褐変組織に静菌的な機械的抵抗性があるものと考え、実験を行なってきたところ、褐変組織の性質について若干の知見を得たので以下に報告する。

実験材料としてイネは9品種、いもち病菌は5菌株を供試したが、いずれの組み合わせでも結果は大同小異であったので、以下の報告には罹病性品種朝日と抵抗性品種テテップで得られた結果を、菌株については区別せずに集計したものをする。

まず朝日に噴霧接種して、進展性病斑の生じた葉を約7cmの長さに切りとり、径12mm高さ12cmの試験

* 同志社香里中・高等学校 Doshisha Koori High School, Neyagawa, Osaka, Japan.

1) 鑑谷大節 (1958). 植物防疫 12 : 102-104. 2) 河村栄吉・小野小三郎 (1948). 農試彙報 4 : 13-22.
3) 鈴木直治 (1963). The Rice Blast Disease. The Johns Hopkins Press, Baltimore. pp. 277-301.
4) 高橋喜夫 (1959). 山形農林学会報 13 : 17-28. 5) Sato, N. and Tomiyama, K. (1977). Ann. Phytopath. Soc. Japan 43 : 598-600. 6) Shiraishi, T., Oku, H., Ouchi, S and Isono, M. (1976). ibid. 42 : 609-612. 7) Király, Z., Barna, B. and Érsek, T. (1972). Nature 239 : 456-458.
8) Deverall, B. J. (1977). Defence Mechanisms of Plants. Cambridge University Press, London. pp. 25-28. 9) 黒崎良男 (1971). 日植病報 37 : 359-361.

管に1片ずつ入れて色素液(メチレンブルー300倍液)を切口より吸収させ、2・3日後に観察した(第1図)。その結果、供試した未褐変の18病斑のうち16病斑は色素を強く吸収して、周辺健全部より濃く染まった。一方すでに褐変していた15病斑は、うち7病斑がまったく染まらず、8病斑が部分的に染まる程度であった。すなわち褐変組織が色素溶液の流入阻止に何等かの役割を演じているものと考えられる。この点は停止病斑内部へは ^{32}P が集積しないという徳永¹⁰⁾らの報告と大筋で一致している。

Fig. 1. Absorption of methylene blue by the rice leaf bearing blast lesions. L : Leaf blade of 7 length, Les : blast lesion, MB : methylene blue, 1/300 aqueous solution.

噴霧接種の場合褐点病斑しか生じないテテップでは以上の現象を観察することは困難であるから、特殊な熱傷接種法によって実験を進めた。すなわち約120°Cに保温した径2.4mmのアルミニウム棒を用い、約7cmに切りとったイネ葉に2カ所ずつ熱傷を与える。そこへ孢子懸濁液を滴下し、ペトリ皿内の水に浮かべ、ふたをして室内におく。接種後2～3日たつと熱傷部よりやや外側に、熱傷部をとりかこむように濃褐色の褐変組織が現われる(第2図)。褐変組織にかこまれた部分は完全に壊死を起し、菌によって占領される。ときには培地に培養したような旺盛な菌叢をみることがある。こういう場合でも褐変組織の外側はふつう壊死線を生ずる程度で、健全組織のまま保たれていることが多い。ときには小範囲の中毒部を生ずるが、寄主が

Fig. 2. Schematic representation of the blast lesion by inoculation with a conidial suspension onto a heat-injured spot. BZ : brown-discolored marginal zone, I : a drop of inoculum, N : necrotic area.

かなり罹病性でないかぎり菌の侵入をうけることはまれである。ただし豊田¹¹⁾らが通常病斑で報告しているように、わずかな菌体が褐変組織の外側に存在しているかもしれない。しかし少なくとも外観上、褐変組織は健全部と病斑部の境界線をなし、その線の巾は0.3mm以下と非常に狭いにもかかわらず菌を封じ込めている。この場合イネの組織は熱傷をうけて死んでおり、菌は当初まったく抵抗をうけずに伸長している筈である。また褐変が接種後48時間頃にはすでにかなり明瞭に起っていることからみて、菌が伸長を停止した後に褐変したとは考えにくい。一方熱傷だけで水道水を滴下した対照区では明瞭な褐変組織が形成されることは稀で、まったく褐変を起さないことも多い。壊死部の大きさは一例をあげると接種区で3.13mm、対照区で2.94mmとほぼ等しかった。実験結果の一例を第1表に示す。

第1表 熱傷接種によって形成される褐変組織

朝 日 接種区	褐変組織形成の程度			
	明瞭なもの	不明なもの	形成なし	供試病斑数
対照区 ^{a)}	32	0	0	32
テテップ 接種区	6	12	14	32
対照区 ^{a)}	32	0	0	32
	2	7	23	32

a) 孢子浮遊液の代りに水滴をおいた。

10) 徳永芳雄・古田力・佐々木次雄 (1959). 東北農試報告 17 : 102-136.
2). 日植病報 17 : 1-4.

11) 豊田栄・鈴木直治 (195

この結果から褐変組織は熱傷に対する単なる癒傷組織ではなく、菌と寄主の相互反応によることは明らかである。なお対照区にも強度の褐変を起すこともあり、これはいもち病菌以外の雑菌によるものと考えられる。

この熱傷病斑に、先の通常病斑のときと同様に色素液を吸収させたところ、対照区に比して色素の染着は格段に少なかった。病斑部の色素染着の程度は濃淡の差となって表われることはほとんどなく、全面に染まる病斑、部分的に染まるもの、まったく染まらないものと区別される。したがって染着面積率で染着の程度を表わした。結果は第2表の通りである。

第2表 熱傷病斑へのメチレンブルー溶液の浸透

	病斑の染着面積率(%)	
	平均値	範囲 ^{a)}
朝 日 接種区	25	0~64
対照区	63	18~100
テテップ 接種区	15	0~37
対照区	66	29~98

a) 25回の実験による最小値~最大値

第2表によれば供試した2品種とも接種区では色素の染着は少なく、また抵抗性品種テテップでは罹病性品種朝日より染着が少なかった。なお病斑内部でメチレンブルーがいもち病菌によって分解または脱色される量は無視できる程度であることが、別の実験で確かめられている。したがって病斑が染まらないということは、病斑の外側で多量の色素が急速に分解または脱色されていないかぎり、褐変組織が色素溶液の流通を阻害しているといえる。このことは色素溶液に限らず、一般に水または水溶液の流入阻害によるかも知れない。この点をさらに究明するために、病斑部の含水量を測定した。すなわち上記の色素吸収実験と同様に接種した切葉の病斑部を切りぬき、病斑4片をまとめてただちに化学天秤で新鮮重を秤量し、室内で風乾して乾物重を計り、新鮮重との差をもって水分含量を算出した。第3表の測定例は、接種した切葉をベトリ皿内の水に浮かべ、5日目に小試験管に移し、その後3日間は切葉の切口より吸水させたもので、この3日間に熱傷病斑はだんだん乾燥してくるが、対照区や健全部はほとんど水分を失わないことが肉眼でも観察できる。また同様な実験11回の繰返しを単純平均したものが第4表である。すなわち病斑の含水量は熱傷病斑とくにテテップのそれで低かった。病斑部が乾燥する

第3表 熱傷病斑の含水量

	新鮮重 amg	風乾重 bmg	含水率 $\frac{a-b}{a}$
朝 日 接種区	0.56	0.46	0.18
対照区	1.21	0.51	0.58
テテップ 接種区	0.53	0.49	0.08
対照区	1.47	0.69	0.53

第4表 熱傷病斑の含水率(%)

	平均値	範囲 ^{a)}
朝 日 接種区	34	11~55
対照区	56	30~67
テテップ 接種区	15	0~41
対照区	47	18~69

a) 11回の実験による最小値~最大値

原因は隣接健全部よりの水分補給減少の他に、病斑部自身の蒸散量増加が考えられるので、蒸散量の測定を試みた。すなわち熱傷病斑を各区6片ずつ切りぬき、ひとまとめにして展着液(リノー1000倍液)に浸し、じゅうぶん水を吸わせた後、引き上げて紙で水を切り、ただちに秤量した。その後できるだけ自然蒸散を少なくするために湿度飽和に近い湿室に静置し、24時間後にふたたび秤量した。その結果を第5表に示す。

第5表 熱傷病斑の水分蒸散

	蒸散前 amg	蒸散後 bmg	蒸散率 $\frac{a-b}{a}$
朝 日 接種区	1.54	1.17	0.24
対照区	1.49	1.01	0.32
テテップ 接種区	1.89	1.51	0.20
対照区	1.71	1.29	0.25

この結果では接種区の方がむしろ蒸散量が少ないが、同様な実験3回の平均をとると各区の間にはほとんど差がなかった。したがって熱傷病斑が乾燥していくのは、蒸散量の増加によるものではなく、病斑周辺の褐変組織が水の流入を阻止していることによるものと考えられる。水の流通が悪くなれば水溶性の物質移行は当然妨げられるから、さきの熱傷病斑がメチレンブルーに染まらないことや、徳永らの報告で³²Pが褐変病斑内や病斑の上方へ移行しないということも水の流通阻害によるものと考えられる。このように褐変組織は水および水溶性物質が病斑内へ流入することを妨げ、感染後期の病原菌に対して水溶性養分の供給を阻止

し、菌の拡大に対する抵抗の一翼を担っているものと とは別の機構によるものと考えられる。
推定する。ただし、組織褐変以前におきる抵抗はこれ

(1978年9月13日受理)

Explanation of Plate

A-C : Rice blast lesions caused by spraying the conidial suspension of *Pyricularia oryzae* on a susceptible variety Asahi. The upper leaf in each figure shows a young lesion without brown-discolored marginal zone, and the lower leaf an old lesion with brown-discolored marginal zone.

A. Leaves before methylene blue absorption.

B. The same leaves as above but allowed to absorb methylene blue for 24 hr (see Fig. 1).

C. The same leaves as above but allowed to absorb methylene blue for 72 hr.

D-F : Rice blast lesions caused by placing a drop of conidial suspension on each heat-injured spot on a resistant variety Tetep. The upper leaf in each figure shows a lesion caused by the mere heat treatment and has no brown-discoloration in the marginal zone. The lower leaf in each figure shows a lesion caused by inoculation onto the heat-injured spot and has a brown-discolored marginal zone.

D. Leaves before methylene blue absorption.

E. The same leaf as above but was allowed to absorb methylene blue for 7 hr (see Fig. 1).

F. The same leaf as above but was allowed to absorb methylene blue for 30 hr.