

イネ白葉枯病の病態生理に関する研究 III

14C-光合成産物の病斑部への集積

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	渡辺,実 鮫島,申一 細川,大二郎
発行元	日本植物病理學會
巻/号	46巻5号
巻号補足	
掲載ページ	p. 623-627
発行年月	1980年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター

Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



イネ白葉枯病の病態生理に関する研究 Ⅲ. ^{14}C -光合成産物の病斑部への集積

渡辺 実*・鮫島申一**・細川大二郎*

Minoru WATANABE*, Shin-ichi SAMEJIMA** and Daijiro

HOSOKAWA*: Studies on the Physiological Changes

in the Rice Plants Infected with *Xanthomonas*

campestris pv. *oryzae*

III. Accumulation of ^{14}C -Photosynthetic Assimilates in the Lesions

Abstract

Accumulation of ^{14}C -photosynthetic assimilates in rice leaves infected with *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* was studied by using autoradiography for the purpose of elucidating the movement of nutrients from healthy tissues to the infected parts. When rice plants were exposed to $^{14}\text{CO}_2$ immediately after inoculation, ^{14}C -photosynthetic assimilates did not accumulate in and around the inoculated spots of leaves until the lesions became visible, i. e., approximately 7 days after inoculation. When the leaves were exposed to $^{14}\text{CO}_2$ before visible lesions appeared, 2 and 5 days after inoculation, the assimilates did not accumulate in the inoculated areas, but apparently accumulated in the lesions 24 hr later on from the exposure of leaves with visible lesions. In the newly formed lesions, accumulation site corresponded to the yellow streak parts of lesions along leaf veins. In the large and old lesions, assimilates hardly any accumulated in the center of lesions, grayish-white in color, but accumulated in the border parts of lesions adjacent to healthy tissues which are developing and yellow streak in symptoms.

(Received July 15, 1980)

緒 言

著者らは導管細菌病であるイネ白葉枯病の病態生理的特性を明らかにするため、これまでに抵抗性および感受性イネについて呼吸量増大の差異¹⁰⁾と peroxidase 活性増加およびアイソザイム変化の差異¹⁾を検討してきた。その結果、本病においては、感受性で組織内に病原細菌が著しく増殖する場合に呼吸量および peroxidase 活性が増加することが明らかとなった。

そこで本報では、本細菌の主な増殖の場である導管部への栄養供給の実態を探る目的で、 ^{14}C -光合成産物の病斑部への移行と集積をオートラジオグラフィーで検討した結果を報告する。

実験材料および方法

供試細菌と供試イネ イネ白葉枯病菌Ⅱ群菌の N5824SR 菌 (SR: ストレプトマイシン耐性) と感受性品種の金南風を供試した。細菌の培養法およびイネの栽培法は前報¹⁰⁾のとおりである。出穂期のイネの本葉第10~12葉の半葉に1.5cm間隔で10か所ずつ細菌浮遊液 (約 10^9 個細菌/ml) をつけた3本の針束で接種した。

他の半葉には細菌浮遊液をつけない針束のみで同様に付傷し、対照健全葉とした。

切り取り葉の $^{14}\text{CO}_2$ 光合成 イネの切り取り葉を吸水させながら内径24cmの真空デシケーターに入れ

* 東京農工大学農学部 Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology, Fuchu, Tokyo 183, Japan

** 現在: 帝人化成株式会社 Present address: Institute of Teijin Kasei Co., Ltd., Mihara, Hiroshima 723, Japan

たのち、フタの上部中央の分液ロートから1N HCl 溶液20mlをBa¹⁴CO₃ (比放射能10.4mCi/m mole) 2mg (約100 μ Ci) に滴下して¹⁴CO₂を発生・充満させ、500 Wフラッドランプの照明下で30分間、光合成を行わせた。このときのデンシター内の照度は約6,000~20,000 luxであり、また、照明に伴う温度上昇は5%硫酸銅溶液を入れた熱吸収板で抑えた。

鉢植えイネの¹⁴CO₂ 光合成 Plate I-1 のアクリル製同化箱 (40×50cm, 高さ82cm) に鉢植えのイネを入れて箱を密封し、Ba¹⁴CO₃ 10mg (約530 μ Ci) に1N HCl 溶液 20mlを滴下して¹⁴CO₂を充満させ、自然光 (同化箱内の照度60,000~90,000 lux, 温度30℃前後) で1時間、光合成を行わせた。

オートラジオグラフィ法 切り取り葉は光合成直後から48時間後までの所定時間、暗黒下で吸水・保持したのちにアイロンで乾燥し、台紙にはりつけて、GM計数管で測定した放射能活性値からオートラジオグラフィの露出時間を算出した。鉢植えイネは光合成直後または所定日数、夏期自然温度の温室に置いたのち、葉を切り取って常法によりオートラジオグラフィを行った。

実験結果

切り取り葉における¹⁴C-光合成産物の病斑部への集積

接種後2日目と5日目の潜伏感染葉および10日目の初期病斑葉を切り取って光合成させ、その直後にオートラジオグラフィをとった場合、潜伏感染葉では¹⁴C-光合成産物の接種部への集積は全く見られず、初期病斑葉の病斑部にごくわずかな集積が見られたが、不明瞭であった。

次に、発病葉を光合成させ、その直後、1, 3, 6, 16, 24および48時間後にオートラジオグラフィをとって¹⁴C-光合成産物の移行と集積を検討した。Plate Iの2~9はそれぞれの左側がオートラジオグラフィ、右側が標本写真であり、すべての葉の左半葉が接種葉、右半葉が付傷した対照健全葉である。また、オートラジオグラフィの矢印の部位は¹⁴C-光合成産物の集積を示す。光合成直後から16時間後までは健全部のみが一樣に黒化し、病斑部には¹⁴C-光合成産物が集積せずに黒化が見られなかった (Plate I-2, 光合成後1時間)。しかし、24時間および48時間後になると細い線状の新鮮病斑部と一致して明らかな線状の集積が認められた (Plate I-3, 24時間後)。別の実験で、発病葉を光合成させ、その直後、2, 6, 12, 24および48時間後に

オートラジオグラフィをとった場合でも、同様に12時間後までは病斑部への集積が見られず、24時間以降に初めて集積が認められた。

鉢植えイネにおける¹⁴C-光合成産物の病斑部への集積

前項の切り取り葉を用いた予備実験で、光合成の24時間以降に¹⁴C-光合成産物が病斑部に集積することを認めたので、次に鉢植えイネを用いて経時的動向を検討した。まず、鉢植えイネに接種後、直ちに光合成を行い、その直後、1, 3, 5, 7, 10および15日後に葉を切り取ってオートラジオグラフィをとった結果、5日後までの潜伏感染葉では葉が一樣に黒化し、接種部に特異的に集積する状況は認められなかった (Plate I-4, 直後) が、初発病した7日以後は新鮮病斑部に細い線状の集積が明らかに認められた (Plate I-5と6; 7日後と10日後)。

次に、接種後6日の初期病斑を形成した鉢植えイネを光合成させ、その直後、1, 2, 3, 4および8日後に葉を切り取ってオートラジオグラフィをとった結果、直後には病斑部への集積が見られなかったが、1日後からは線状の集積が見られ (Plate I-7, 1日後)、3~4日後には大病斑周辺部 (健全部との境界部) の新鮮病斑部に集積が著しくなり (Plate I-8, 4日後)、8日後にはさらに顕著となった (Plate I-9)。

考察

宿主-寄生者間における特定栄養物質の授受を検討する場合、放射性同位元素標識化合物をトレーサーとして用いることが有力な方法として広く一般に行われている。たとえば、さび病感染イソゲン⁹⁾、うどんこ病感染リンゴ¹⁰⁾の感染組織に¹⁴C-光合成産物あるいはH₂³⁵SO₄由来-³⁵Sが移行・集積し、コムギに寄生しているうどんこ病菌に宿主から³²P, ³⁵Sが移行すること^{8, 9)}、あるいはキュウリべと病病斑部および病原菌分生孢子に¹⁴C-同化産物が移行すること⁸⁾などが明らかにされている。

イネ白葉枯病感染葉を¹⁴CO₂で光合成させた本実験において、潜伏期の感染葉では接種部への¹⁴C-光合成産物の集積は全く認められず、発病初期の新鮮病斑部および灰白色枯死部を含む大病斑の周辺の新鮮病斑部に明らかな移行と集積が認められた。すなわち、接種後2日目および5日目に¹⁴CO₂で光合成した潜伏感染葉、および接種直後に¹⁴CO₂で光合成させ、その直後から5日後までの潜伏感染葉のいずれにおいても、¹⁴C-光合成産物は1葉中に一樣に分布し、接種部への

特異的な移行・集積は全く認められなかった。

一方、病斑を形成した発病葉を $^{14}\text{CO}_2$ で光合成させた場合、あるいは接種直後に $^{14}\text{CO}_2$ で光合成させ、ほぼ7日以後に病斑が出現してきた発病葉を採取した場合、病斑部への ^{14}C -光合成産物の移行・集積は光合成後24時間以後において明らかに認められるようになった。すなわち、病斑部への ^{14}C -光合成産物の集積状況は、葉脈に沿って伸長した黄色・線状の新鮮病斑部ではほぼそれと一致して光合成産物の集積・黒化が見られたが、灰白色枯死部を含む大型病斑では病斑内枯死組織にはほとんど集積せず、主として病斑部と健全部との境界の葉脈に沿った黄色の新鮮病斑部に線状に集積した。

このように ^{14}C -光合成産物が病斑部、とくに新鮮病斑部に特異的に移行・集積したことから、病原細菌が活発に増殖中の維管束周辺組織において透過性が増大し、光合成産物が維管束部に移行しやすくなって、病原細菌の増殖に効率的に利用されているのではないかと推測される。すでに著者らは本病細菌浮遊液に浸漬処理されたイネ葉鞘組織および本病感染組織において透過性が増大することを予報し^{4,11,12)}、宮崎ら^{6,7)}は本病細菌の生産する毒素としてのフェニル酢酸が透過性の増大、クロロフィルの分解作用を示すことを報告している。また、前報¹⁰⁾で本病感染葉の呼吸量が、とくに感受性品種において病徴出現期ごろから著しく増大することを報告したが、 ^{14}C -光合成産物が病斑形成とともに病斑部に特異的に集積した今回の実験結果を合わせて考えると、感染組織に転流した光合成産物が病原細菌の呼吸基質として利用されている可能性が推測される。光合成産物が導管内の細菌に移行して摂取されることが最近、堀野ら²⁾によって明らかにされた。すなわち、堀野らはイネ品種 Te-tep に本病細菌の不親和性菌と親和性菌を針接種し、4日後に $^{14}\text{CO}_2$ を同化処理して処理直後と48時間後に電顕オートラジオグラフで調べた結果、導管内の細菌への ^{14}C のとりこみは親和性の場合に不親和性より明らかに多いことを認め

た。

稲葉ら³⁾はキュウリベと病感染葉における ^{14}C -光合成産物の挙動を詳細に検討した中で、接種8日後の病斑形成葉を $^{14}\text{CO}_2$ で同化処理すると、同化産物は7時間後から健全部より病斑部に多く集積することを報告している。この知見と、24時間以後に初めて病斑部への集積が明らかになった本実験結果とを対比すると、キュウリベと病が典型的な斑点病であるのに対し本病は導管病であり、導管部に明らかな集積が認められるまでには柔組織の場合より長時間を要するのではないかと推察される。

なお、イネ葉に固定された ^{14}C -光合成産物の放射能活性が時間・日数の経過とともに急速に減少し、葉から茎・根などの他の器官に転流していることが観察された。この点については次報に報告する予定である。

摘 要

導管細菌病であるイネ白葉枯病について、細菌増殖の場としての維管束部への栄養供給の実態を把握する目的で本実験を行った。

1. イネ品種金南風に親和性の N5824SR 菌 (Ⅱ群菌) を針束接種し、 $^{14}\text{CO}_2$ で光合成させたのち、経時的に ^{14}C -光合成産物の感染組織への集積をオートラジオグラフィーで検討した。

2. 接種後2日目および5日目に光合成した潜伏感染葉、および接種直後に光合成させ、その直後から5日後までの潜伏感染葉では、いずれも ^{14}C -光合成産物の接種部への特異的な集積は全く認められなかった。

3. 発病葉を光合成した場合、24時間以後に病斑部への ^{14}C -光合成産物の集積が明らかに認められた。また、接種直後に光合成した場合、約7日以後に病斑の出現とともに病斑部に集積が認められるようになった。病斑部への集積状況は、初期病斑では葉脈上の黄色・線状の病斑部に一致して集積し、大病斑では病斑内枯死組織にはほとんど集積せず、主に病斑周辺の黄色新鮮病斑部に線状に集積した。

引用文献

1. 阿久津美恵・渡辺 実 (1978). 日植病報 44: 499-503.
2. 堀野 修・稲葉忠興 (1979). 同上 45: 557-558 (講要).
3. 稲葉忠興・梶原敏宏 (1974). 同上 40: 30-38.
4. 河野吉久・渡辺 実 (1973). 同上 39: 179 (講要).
5. Livne, A. and Daly, J. M. (1966). Phytopathology 56: 170-175.
6. Miyazaki, E., Yamanaka, S. and Misawa, T. (1975). Tohoku J. Agr. Res. 26: 11-19.
7. Miyazaki, E., Yamanaka, S. and Misawa, T. (1976). *Ibid.* 27: 1-11.

8. Mount, M. S. and Ellingboe, A. H. (1969). *Phytopathology* 59: 235.
9. Slesinski, R. S. and Ellingboe, A. H. (1971). *Canad. J. Bot.* 49: 303-310.
10. 渡辺 実・浅海孝夫 (1975). *日植病報* 41: 364-372.
11. 渡辺 実・紺屋一美・細川大二郎 (1970). 同上 36: 174 (講要).
12. 渡辺 実・鯨島申一 (1972). 同上 38: 201 (講要).
13. Wieneke, J., Covey, Jr., R. P. and Benson, N. (1971). *Phytopathology* 61: 1099-1103.

Explanation of Plate

Plate I.

1. Assimilative box: assimilation with $^{14}\text{CO}_2$ was carried out under the sunlight of 60,000~90,000 lux for 1 hr at about 30 C.
- (2~9) Left side of each plate is an autoradiograph, and right side is a photograph of specimen. Left half blade of each leaf was wound-inoculated with bacterial suspension (about 10^9 cells per ml) by needle bundle, and right half was wounded by needle bundle without bacterial suspension. Arrows in the autoradiographs show accumulation sites of ^{14}C -photosynthetic assimilates.
2. One hr after exposure to $^{14}\text{CO}_2$ of detached leaves with visible lesions. Accumulation did not observed in lesions.
3. Twenty-four hr after exposure to $^{14}\text{CO}_2$ of detached leaves with visible lesions. Accumulation was observed as streaks in fresh lesions.
- (4~6) Intact leaves of pot-grown rice plant were exposed to $^{14}\text{CO}_2$ immediately after the inoculation.
4. Immediately after the exposure in latent period. Accumulation did not occur in inoculated areas.
5. Seven days after the exposure. Accumulation was observed as fine streaks in fresh lesions where the first symptom appeared.
6. Ten days after the exposure. Accumulation was observed as fine streaks in fresh lesions.
- (7~9) Intact leaves with fresh lesions were exposed to $^{14}\text{CO}_2$.
7. One day after the exposure. Accumulation was observed as streaks on lesions.
8. Four days after the exposure. Accumulation was mainly observed in developing border parts of lesion, but hardly any in grayish-white old tissues within lesions.
9. Eight days after the exposure. Accumulation was the same as Plate I-8.

Plate I

