

稻熱病病斑的微細構造^{1,2}

陳敏慧³ 吳信淦³

中央研究院植物研究所

(Received October 17, 1985; Accepted November 1, 1985)

摘要

人工接種稻熱病菌在稻葉上形成的針尖狀抗病病斑、中止型病斑、水浸狀病斑及錘形病斑曾用半厚片及超薄切片相互追蹤比較觀察。稻葉細胞經稻熱病菌侵入會發起過敏性反應；此包括稻葉細胞因細胞膜、液胞膜破碎而顆粒化以及葉緣體崩散，外觀上即為棕色針尖狀抗病病斑。中止型抗病病斑與水浸狀、錘形感病病斑的微細構造各有異同，但最大的差別在於前者的細胞能因菌絲的侵入而產生足夠的羽毛狀顆粒包圍菌絲，使其失去活力。感病病斑中稻細胞所產生的羽毛狀顆粒不足以抑止已侵入菌絲的蔓延。此種顆粒被推測為稻細胞因稻熱病菌侵入而產生的植物毒。

Key words: Rice blast; lesion; ultrastructure.

一、緒言

稻與稻熱病菌相互作用微細構造的觀察要數 Hashioka 與 Kitano (1971) 為最早，而且連着作了好多年 (Hashioka, 1972; Hashioka 與 Miura 1973; Hashioka 與 Nakai 1974; Hashioka 與 Ando 1975)。本實驗室自 1973 年開始也作了幾年這方面的觀察，因沒有把握能將結果串聯和註釋得很好，多數未曾發表。最近 Koga, Kobayashi 與 Horino (1982)、Koga 與 Horino (1983, 1984a, 1984b) 等幾篇報告，分別涉及稻葉及葉鞘內寄主與病原的相互作用，頗值一讀此。等相互作用的深入研究有助於稻抗稻熱病機制的了解以及進一步探究抗病基因的作用。

電子顯微鏡為研究微細構造的有效工具，但如果在切片技術上不加控制則觀察到幾個細胞的微細構造，可能無法解釋其所以然。近年發展出來的超薄切片機已能使樣品的切塊先切幾片半厚片後隨即切超薄切片。分別在光學顯微鏡及電子顯微鏡下觀察半厚片及超薄切片，則能先對樣品有一全盤性的了解，進而仔細研究特定部位的微細構造。本文即循此途徑分析稻熱病的病斑。

二、材料及方法

抗病及感病病斑係人工噴接稻熱病菌 (小種 IG-2, II-1) 分生孢子於稻 (品種 Caloro, Lomello) 苗而得。水稻種子經用 1.5% 沙威隆浸漬消毒 20 分鐘，清水沖洗 20 分鐘，浸種使露白，植於裝有消毒土壤的小盆內，待長成有三片葉的幼苗時，行人工噴接。分生孢子用糙米培養基 (糙米 5 gm 加

¹ 中央研究院植物研究所研究報告編號 302。

² 國立臺灣大學農藝學研究所碩士論文 (第一作者) 的部份。

³ 中央研究院植物研究所助理研究員及研究員。論文編號 510。

水 5 ml，蒸氣加壓滅菌) 培養，製成孢子懸浮液。噴接後 24 小時內維持 24°C，嗣後維持 28°C，相對濕度 95 至 100%，光照 3,000 Lux，光暗時間 12 小時。3 至 4 天後就會出現病斑，5 至 6 天後分化成抗病或感病病斑。

抗病病斑分針尖狀及中止型，前者棕色，徑約 0.3 mm，後者中心灰色，邊緣棕色，面積約 0.5 × 1.0 mm。感病病斑早期為水浸狀，中心灰綠色，邊緣淡綠色，面積約 1.5 × 2 mm；晚期為紡錘形，中心灰色，其外圍順次有棕色及黃色環圈，面積約 1.5 × 5 mm。

除針尖狀病斑外，分別把各種病斑依中心、邊緣等部位切成大小約 0.5 mm 見方的小塊。浸入以 0.05 M 二甲次胂酸鈉緩衝液配製的戊二醛 (2.5%) 抽氣減壓，4°C 固定 4 小時。以同一緩衝液清洗三次，每次 30 分鐘。次用以同一緩衝液配製的四氧化鐵 (1%) 固定，4°C，1 小時。用蒸餾水沖洗二次，每次 30 分鐘。用 2.5% 醋酸雙氧鈎染色 2 小時。依次用 50%、75%、95% 及 100% (二次) 乙醇脫水，每次 30 分鐘。包埋於 Spurr 氏包埋劑 (Spurr, 1969)。包埋好的切塊在 Reichert-Jung 超薄切片機上以鑽石刀切不同方位的切片。半厚片厚約 0.35 μm，超薄切片厚在 600 至 900 Å 之間 (銀白色反光)。半厚片以甲苯胺藍 (toluidine blue, 1%，pH 11.0) 染色，70°C，1 分鐘且以 50% 乙醇退色及分化。用 Olympus BH-2 光學顯微鏡觀察、照相。超薄切片以樟檬酸鉛 (Reynolds, 1963) 染色，25°C，7 分鐘，蒸餾水沖洗。以 Zeiss 109 電顯鏡觀察、照相。加速電壓 80 KV。照相所用底片均為柯達 2415 (35 或 70 mm)，柯達 HC 110 顯影。

三、結果

(一) 針尖狀抗病病斑

稻健康、正常的葉肉細胞經甲苯胺藍染色後，葉綠體為深藍色，細胞核為紫紅色，細胞質為淡紫色。針尖狀病斑的直徑約跨及 15 個細胞 (圖 1)，在此範圍內的葉肉細胞為深藍色，部份略顯乾涸，細胞間隙略大。圓周之外的葉肉細胞近乎正常。從此種病斑的縱切面知，病斑深及約 4 層細胞。如此，估計一針尖狀病斑涵蓋約 1,000 個細胞。超薄切片顯示病斑的表皮細胞、維管束鞘細胞及其下的葉肉細胞皆已有稻熱病菌的菌絲侵入 (圖 2)。該等菌絲的細胞質似已發生質離，缺少核醣體，其他胞器也已崩散凝聚成團粒，菌絲外壁有細小顆粒附着 (圖 4 及 5)。稻葉的表皮細胞及葉肉細胞的細胞質均已顆粒化，後者的葉綠體已崩散 (圖 3 及 6)。顯然，寄主細胞因病原菌的侵入而發生變化，且將侵入的菌絲困死於病斑的中央。

(二) 中止型抗病病斑

灰色中心部位的葉肉細胞大都乾涸，間隙變得很大 (圖 7a)。若干葉肉細胞在乾涸之前會發生質離 (圖 8)。稻熱病菌菌絲分布於維管束細胞、葉肉細胞及其間隙，其外壁有時受黃、藍色相間的物質包圍 (圖 7b 大箭頭、短箭頭)。黃、藍色相間物質為羽毛狀顆粒，有些與侵入菌絲的外壁直接接觸而菌絲內容物似已瓦解 (圖 9)。羽毛狀顆粒的直徑在 0.5 至 1.0 μm 之間；放大至 150,000 倍時，可見此種顆粒確由片片羽狀物質集合而成 (圖 10)。

棕色邊緣部位葉肉細胞及維管束均有菌絲侵入。葉肉細胞未乾涸，但其葉綠體崩散 (圖 12)，細胞質顆粒化 (圖 7c, 7d, 11)。帶有稠密黃藍色相間物質的葉肉細胞數目較灰色中心部位的為多 (比較圖 7c 與 7b)，葉肉細胞間隙也有此種物質 (圖 7c, 14)。多數侵入菌絲的外壁有此物質包圍 (7c, 7d)。此種物質也為羽毛狀顆粒 (圖 11)。當羽毛狀顆粒積聚於一葉肉細胞時，常會

因包埋劑之滲入不週而於切片時破裂（圖11及13）。侵入的菌絲受羽毛狀物質包圍後常顯示垂死狀態（圖9及14）。

（三）水浸狀感病病斑

病斑灰色中心部位的切線切面應該是葉肉細胞所在位置，分布着無數菌絲，菌絲間夾雜着少數已乾涸的葉肉細胞（圖15 a）。維管束內亦有菌絲通行無阻，偶或有被黃、藍色相間的顆粒包圍（圖15 b）。此等顆粒也為羽毛狀，受其包圍的菌絲仍完好（圖16）。

病斑淡綠色邊緣部位的葉肉細胞多已乾涸，間隙加大。侵入的菌絲分布於乾涸的葉肉細胞之內及間隙，胞器及核醣體等完整，仍具活力（圖17）。

（四）紡錘形感病病斑

病斑灰色中心與水浸狀病斑淡綠色邊緣相當，即菌絲分布在乾涸的葉肉細胞內、間隙及維管束內。束內的菌絲偶有受黃、藍色相間的顆粒包圍，但仍具活力（圖18）。此等顆粒也為羽毛狀（圖19），但直徑較分布在中止型病斑中的為小，僅約為 $0.2 \mu\text{m}$ （圖20）。此部位的下表皮有很多分生孢子梗及分生孢子長出。

病斑灰色邊緣的葉肉細胞乾涸，菌絲少數分布於乾涸的葉肉細胞內，多數分布於間隙及維管束內（圖21 a）。葉肉細胞雖已乾涸，其葉綠體則尚維持原有微細構造（圖22），菌絲淡紫色（圖21 b）。胞器完好（圖22），顯然仍具活力。

病斑棕色邊緣的葉肉細胞的細胞質相當稠密呈深藍色，內有淡紫色的菌絲，少數菌絲也分布在間隙（圖21 b）。葉肉細胞的葉綠體崩散的程度較此形病斑灰色邊緣的更低，菌絲仍具活力（圖23）。此棕色邊緣未曾發現有何羽毛狀顆粒。

病斑黃色邊緣的葉肉細胞未乾涸，但葉綠體已崩散成絲狀（圖24）。葉肉細胞內、間隙及維管束內均無菌絲踪跡。

四、討論

Hashioka 與 Kusadome (1975) 觀察到稻熱病菌在非寄主植物上也能如在稻上形成吸附器及感染栓。在他觀察的五種植物中，只有在 *Tradescantia reflexa*，稻熱病菌的感染栓受阻於表皮細胞內壁上形成的乳狀突起，其餘四種 (*Canna generalis*, *Kyllinga brevifolia*, *Commelina communis* 及 *Iris sanguinea*)，稻熱病菌都能侵入表皮細胞，甚至其內少數一、二個細胞。被菌侵入的非寄主細胞，部分顆粒化或形成鞘狀物包圍菌絲，使其停止生長。此等相互作用，Hashioka 稱之為免疫。誠然，這些侵入前後的種種變化，都不是肉眼所能看到的。

稻熱病菌侵入稻葉後，則形成抗病或感病病斑。針尖狀的抗病病斑，外觀棕色，早所週知，其微細構造之描述，本文則為首次。從微細構造判斷，此棕色針尖狀病斑可認定為稻因稻熱病菌侵入稻葉引起的過敏性反應。過敏性反應在用葉鞘接種法觀察時常侷限於少數幾個葉鞘內表皮細胞 (Tomita 與 Yamanaka 1983；吳、陳，1973)，與其在葉上涵蓋 1,000 餘個細胞（圖1）相比，相去甚遠。此可能由於使用葉鞘觀察時需將葉鞘切離稻株作人工培養、葉鞘內表皮細胞較大較硬之故。稻葉上過敏性反應的微細構造顯示葉表皮細胞及葉肉細胞因膜破碎而顆粒化以及葉綠體的崩散（圖3、6），葉鞘內表皮細胞的過敏性反應在接種後16至20小時發生，只行細顆粒化 (Tomita 等

1983)。Koga 等 (1984 a) 稻抗稻熱病反應中葉鞘細胞的細胞膜破裂，失去質離的能力。寄主細胞於病原侵入後自行失去質離能力，或可使該細胞與其周圍的細胞有所隔離或增加其細胞質濃度，使侵入的菌絲發生質離 (圖 4、5)。

使用半厚片，配合超薄切片，可窺視病斑的全貌，又可探知病斑一特定部位的微細構造。針尖狀、中止型抗病病斑及感病的水浸狀及紡錘形病斑經如此追跡觀察後確知病斑各部位稻熱病菌與稻細胞的相互作用有所異同。(1)棕色針尖狀病斑中寄主細胞已失去質離能力，而中止型病斑中寄主細胞並未失去質離能力 (比較圖 3、6 與 8)。(2)中止型病斑灰色中心與棕色邊緣的差別在於後者分布着較多充滿着羽狀顆粒的細胞，甚至於細胞間隙也有羽狀顆粒。(3)紡錘形病斑也有棕色環圈，其微細構造却與中止型病斑的不同。前者細胞的細胞質相當稠密，葉綠體未完全崩散，此可能為菌絲蔓延迅速，寄主細胞未及反應就被侵入。最重要的是紡錘形病斑的棕色環圈內布有菌絲而缺乎羽狀顆粒附着其外壁。(4)水浸狀病斑邊緣與紡錘形病斑灰色邊緣部位的葉肉細胞均已乾涸，其內或間隙充塞着菌絲 (比較圖 17 與 22)。此等相似甚為合理，因水浸狀病斑的邊緣稍後即發育為紡錘形病斑的邊緣。(5)菌絲通常均在葉肉細胞或維管束內，但在水浸狀病斑及紡錘形病斑灰色中心部位均可見菌絲分布在葉肉細胞間隙 (圖 15 a)，此乃由於侵入的菌絲轉向表皮細胞 (尤其是下表皮細胞) 蔓延，企圖長出分生孢子梗及分生孢子，而此等部位的葉肉細胞早已乾涸，間隙寬敞。

中止型抗病病斑棕色部位細胞內的羽狀顆粒，包圍着侵入的菌絲，有阻止菌絲蔓延的作用。此種包圍菌絲的類似顆粒，吳與陳 (1973, 1974)、吳與陳 (1977) 曾在稻熱病菌與其寄主的相互作用中提及。本文更推論其分布的位置以及數量與抗病病斑的形成有關，而且首次明示其微細構造為羽毛狀，大小在 0.5 至 1.0 μm 之間。水浸狀及紡錘形病斑的中心部位雖然亦有羽毛狀顆粒，但頻度低，且大小僅約為抗病病斑中的 1% (比較圖 10 與 20)，似未能有效阻止稻熱病菌在病斑內的蔓延。包圍稻熱病菌菌絲顆粒的產生，似為稻抗病基因的表現。於抗病組合，稻抗病基因的表現不受稻熱病菌非毒性基因產物的影響，產生足夠的羽毛狀顆粒；於感病組合，稻熱病菌毒性基因的產物干預該一抗病基因的表現，產生極少量甚或不產生羽毛狀顆粒。人工接種稻熱病菌於稻葉鞘，此等關係仍然存在，但包圍菌絲的顆粒形態上不是羽狀而是雲狀 (吳與陳 1973)，此可能是發生相互作用細胞的內在環境不同。葉鞘內表皮及其下數層細胞雖有與葉肉細胞相同的細胞核，但極少葉綠體。Tomita 等 (1983) 在葉鞘接種後發現顆粒存在，惜未作微細構造的觀察。Hashioka 等 (1973) 在穗稻熱病較抗組合的材料中發現有網狀、纖維狀物質包圍侵入的稻熱病菌菌絲。Koga 等 (1984 b) 在經過質壁分離處理的葉鞘細胞中觀察到少量纖維狀物質附着於侵入的稻熱病菌菌絲外壁上。彼等所稱網狀、纖維狀的物質，形態上與本文所見的羽毛狀顆粒大不相同。

吳等 (1973) 曾報導葉鞘接種後，包圍侵入菌絲的雲狀顆粒由葉鞘細胞的細胞質生成，且能滲入菌絲細胞。本文也有證據顯示羽狀顆粒能在束鞘細胞的細胞質中 (圖 11) 以及充滿着羽毛狀顆粒的葉肉細胞 (圖 7 b、7 c) 中生成。羽狀顆粒又似能溶於細胞質滲過細胞膜、細胞壁而轉運至細胞間隙 (圖 14)。

無論本文所陳的羽毛狀顆粒或葉鞘接種後的雲狀顆粒 (吳與陳, 1973)，均是在稻熱病菌侵入稻細胞後由稻細胞所產生，其數量在抗、感病組合有所不同；在抗組合復使稻熱病菌失去活力。或可推論此種顆粒為稻細胞因稻熱病菌侵入而產生的植物毒。用化學方法檢定此等顆粒為何物，對稻抗稻熱病機制的了解會更趨完整。

就本文所得結果而論，稻之所以抗稻熱病是由於稻細胞因稻熱病菌的侵入而誘發過敏性反應，侷限侵入的菌絲於棕色針尖狀病斑內，或產生對稻熱病菌不利的羽毛狀顆粒阻止侵入菌絲的迅速蔓延，使病斑不再擴大且不形成分生孢子。反之，紡錘形病斑黃色邊緣內雖然未見菌絲，當氣候對稻

熱病菌的生長有利時，潛伏於棕色邊緣的菌絲即可能向外蔓延，病斑繼續擴大，形成更多分生孢子。

引用文獻

- 吳信澄、陳清香：1973、1974 稻熱病菌侵入寄主稻細胞前後的微細構造。生物中心，62、63 年度年終報告。
- 吳信澄、陳正次：1977 稻熱病菌與寄主的相互作用。植物保護會會刊 19: 101-118.
- Hashioka, Y. 1972. Fine structure of the rice blast IX. Scanning electronmicroscopical observations on appressoria of the rice blast fungus and other species of *Pyricularia*. Res. Bull. Fac. Agr. Gifu Univ. 33: 65-73.
- Hashioka, Y. and N. Ando. 1975. Fine structure of the rice blast XIII. Ultrastructure of *Pyricularia oryzae*-nonhost interfaces. Res. Bull. Fac. Agr. Gifu Univ. 38: 39-47.
- Hashioka, Y. and N. Kitano. 1971. Fine structure of the rice blast VIII. Structure and ultra-structure of the initial infection of neck-blast. Res. Bull. Fac. Agr. Gifu Univ. 31: 83-97.
- Hashioka, Y. and H. Kusadome. 1975. Fine structure of the rice blast XIII. The mode of pseudoinfection *Pyricularia oryzae* Cav. to the non-host plants. Res. Bull. Fac. Agr. Gifu Univ. 38: 29-37.
- Hashioka, Y. and N. Miura. 1973. Fine structure of the rice blast X. The initial infection of node-blast. Res. Bull. Fac. Agr. Gifu Univ. 34: 45-53.
- Hashioka, Y. and Y. Nakai. 1974. Fine structure of the rice blast XI. Outthrust of conidiophore cells of *Pyricularia oryzae*, etc., through an epidermal outer wall of a host leaf. Res. Bull. Fac. Agr. Gifu Univ. 36: 9-18.
- Koga, H. and O. Horino. 1983. Electron microscopical observation of rice leaves infected with *Pyricularia oryzae* Cav. in compatible and incompatible combinations II. Resistance expression and cytoplasmic granulation in the epidermal cells. Ann. Phytopath. Soc. Japan 49: 322-330.
- Koga, H. and O. Horino. 1984a. Electron microscopical observation of rice leaves infected with *Pyricularia oryzae* Cav. in compatible and incompatible combination III. Resistance expression and loss of capability of plasmolysis in inner epidermal cells of leaf sheath. Ann. Phytopath. Soc. Japan 50: 353-360.
- Koga, H. and O. Horino. 1984b. Electron microscopical observation of rice leaves infected with *Pyricularia oryzae* Cav. in compatible and incompatible combination IV. The interface between invading hyphae and host cytoplasm in epidermal cells of leaf sheath. Ann. Phytopath. Soc. Japan 50: 375-378.
- Koga, H., T. Kobahashi, and O. Horino. 1982. Electron microscopical observation of rice leaves infected with *Pyricularia oryzae* Cav. in compatible and incompatible combinations I. Fine structure of invaded hyphae in host cells. Ann. Phytopath. Soc. Japan 48: 281-289.
- Reynolds, E.S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain on electron microscopy. Cell Biol. 17: 208.
- Spurr, A.R. 1969. A low viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. J. Ultrastructure Res. 26: 31-43.
- Tomita, H. and S. Yamanaka. 1983. Studies on the resistance reaction in the rice blast disease caused by *Pyricularia oryzae* Cav. I. The pathological changes in the early infection stage of the inner epidermal cells of leaf sheath. Ann. Phytopath. Soc. Japan 49: 514-521.

圖 版 說 明

Explanation of Figures

比例尺單位均為 μm 。

CG 細胞質細顆粒化	EP 表皮細胞	G 葉綠體	H 菌絲	IS 細胞間隙
M 粒線體	MS 葉肉細胞	SG 淀粉粒	VS 維管束鞘細胞	
The unit of scales appeared in all figures is μm .				
CG: granulated cytoplasm	EP: epidermis	G: chloroplast		
H: hypha	IS: intercellular space	M: mitochondrion		
MS: mesophyll	SG: starch grain	VS: vascular bundle sheath		

圖 1—6：針尖狀抗病病斑。

- 圖 1. 病斑的切線切面示一直徑約 0.3 mm 病斑的全貌。縱、橫各跨及 15 個細胞，深約 4 層細胞。葉肉細胞乾涸，間隙加大。
- 圖 2. 病斑中央縱切面，示稻熱病菌絲（短箭頭）已侵入稻葉上表皮細胞、維管束鞘及葉肉細胞。菌絲外壁有細小顆粒附著，內容物已瓦解，稻葉肉細胞的細胞質顆粒化（大箭頭）、葉綠體崩散成絲狀（小箭頭）。
- 圖 3. 示圖 2 葉肉細胞中已崩散的葉綠體以及顆粒化的細胞質（短箭頭）。
- 圖 4. 示圖 2 短箭頭之一所指的菌絲，其外壁附著小顆粒（箭頭），其細胞質發生質離、胞器瓦解 (*)。
- 圖 5. 示圖 4 箭頭所指部分的放大，約 20,000 倍，質離及瓦解更為清晰。
- 圖 6. 痘斑表皮細胞的顆粒化，液胞膜與細胞膜似均已破裂，形成一些泡囊（箭頭）。

Figs. 1-6. Brown specks, of resistant lesion

- Fig. 1. A bird's view of the lesion, sectioned in parallel to its surface that is 0.3 mm in diameter and composed of 15×15 cells. The mesophyll is shown disintegrating and has enlarged intercellular spaces.
- Fig. 2. A longitudinal section of the lesion showing the invaded hyphae (short arrows) of the blast. Note the particulate substances attached to those hyphae that are disintegrating and the granulated cytoplasm of the host cells (long arrow).
- Fig. 3. Showing the granulated cytoplasm (short arrow) of the host.
- Fig. 4. Enlarged hyphae shown in Fig. 2 showing the particulates (arrow) attached to its surface and the plasmolysis happened to it.
- Fig. 5. Enlarged particulates shown in Fig. 4, note that the hyphae has been plasmolysed.
- Fig. 6. A longitudinal section of an epidermis cell showing the broken tonoplast and the resulted granulation of its cytoplasm.

圖 7a, b—10：中止型抗病病斑灰色中心部位的切線切面。

- 圖 7a 葉肉細胞乾涸成細長條（長箭頭），間隙甚大。菌絲多分布在葉肉細胞（短箭頭）及維管束內。
- 圖 7b 若干維管束（短箭頭）及葉肉細胞（大箭頭）內有黃、藍色相間的顆粒包圍侵入的菌絲。
- 圖 8. 示圖 7a 中質離而漸乾涸的葉肉細胞，其葉綠體崩散。
- 圖 9. 示圖 7b 中維管束內包圍菌絲的顆粒成羽毛狀（大箭頭），菌絲垂死。
- 圖 10. 羽毛狀顆粒放大約 150,000 倍，示顆粒由片片羽狀聚集而成。

Figs. 7a, b—10. Central gray region of the resistant lesions, all tangential sections.

- Fig. 7a. Showing the long, dried mesophyll cells (long arrow) with invaded hyphae (arrow) and the enlarged intercellular spaces.
- Fig. 7b. Showing the densely gathered particulates, yellow-blue in color, attached to the invaded hyphae in mesophyll (large arrow) and in the vascular (short arrow).
- Fig. 8. Some enlarged mesophyll cells shown in Fig. 7a are drying.
- Fig. 9. Some enlarged particulates and hyphae shown in Fig. 7b.
- Fig. 10. The enlarged particulates shown in Fig. 9 are feather-like.

圖 7c, d, 11—14：中止型抗病病斑的棕色邊緣。

- 圖 7c 黃藍色相間顆粒的分布甚廣，圖示至少有四個葉肉細胞（短箭頭），甚至於細胞間隙（小箭頭）充塞著此種顆粒。
- 圖 7d 維管束內有菌絲侵入，但受黃藍色相間的顆粒包圍（短箭頭）。

圖11. 棕色邊緣部位的切線切面，多數葉肉細胞細顆粒化（*）。其葉綠體崩散，也有充滿黃藍色相間顆粒的葉肉細胞（☆）。圖中央為一維管束鞘細胞，內有侵入的菌絲，沿細胞質（長箭頭）及菌絲外壁（短箭頭）均分布着羽毛狀顆粒。

圖12. 示葉肉細胞內的細顆粒（長箭頭）及輕度崩散的葉綠板（短箭頭），其外膜破裂（*）、葉綠體（G）膨大。

圖13. 充塞著羽毛狀顆粒的葉肉細胞（參圖11, ☆）。

圖14. 葉肉細胞間隙也有羽毛狀顆粒（箭頭）附著於細胞壁及菌絲外壁。葉肉細胞細顆粒化，其葉綠體崩散，侵入間隙的菌絲顯已垂死。

Figs. 7c, d, 11-14. Brown marginal region of the resistant lesions.

Fig. 7c. The distribution of the particulate is wide and dense not only in the mesophyll cells (four at least in this figure) but also in the intercellular space (short arrow).

Fig. 7d. Most the invaded hyphae in the vascular are surrounded by the particulate (short arrow).

Fig. 11. The hyphae invaded in the vasculars are surrounded by the particulates which mostly distribute along the cytoplasm (long arrow). Mesophylls (short arrow) are finely granulated and occasionally filled with densely gathered particulates(*).

Fig. 12. Enlarged mesophyll showing its granulation of cytoplasm (long arrow), the broken chloroplast membrane(*) and the slightly disintegrated stroma lamella (short arm).

Fig. 13. An enlarged mesophyll is filled with many particulates that are feather-like.

Fig. 14. The distribution of the feather-like particulates extends to intercellular space. Note its attachment to the invaded hyphae.

圖 15 a, b-17：水浸狀病斑。

圖15 a 切線切面，侵入的菌絲佔絕大的優勢，稍葉肉細胞似已消失殆盡，偶而可見已乾涸的殘骸（箭頭）。

圖15 b 維管束內充滿著侵入的菌絲，只偶有黃藍色相間的顆粒附著於菌絲的外壁（箭頭）。

圖16. 充塞於一維管束、附著於菌絲外壁的顆粒也成羽毛狀。

圖17. 水浸狀病斑邊緣部位的葉肉細胞已乾涸，內有仍具活力的菌絲。

Figs. 15a, b-17. Water-soaked (susceptible) lesions

Fig. 15a. The invaded hyphae dominate the mesophyll. Host cells totally disappear but some dried remains (arrow).

Fig. 15b. The vasculars are filled with the invaded hyphae, but only very rare particulates attach to the latter's outside wall.

Fig. 16. The particulates in the vasculars are also feather-like.

Fig. 17. The hyphae in a dried mesophyll is still alive.

圖 18—20：紡錘形病斑灰色中心。

圖18. 維管束內有侵入的菌絲，偶有黃藍色相間的顆粒包圍於其外壁（箭頭）。

圖19. 圖18箭頭所指部位的放大，顆粒為羽毛狀（箭頭），菌絲具有深色的核糖體（圓圈）及粒線體。

圖20. 圖19箭頭所指顆粒的放大，約150,000倍。羽毛狀顆粒顯然較圖10的為小。

Figs. 18-20. Central region of the susceptible lesion at later stage.

Fig. 18. Many hyphae have invaded the vasculars but only some of them is surrounded by particulates.

Fig. 19. Enlarged particulates shown in Fig. 18 (arrow).

Fig. 20. Enlarged particulates shown in Fig. 19 are also feather-like.

圖 21 a, b-24：紡錘形病斑邊緣部位。

圖21 a 灰色邊緣部位，侵入的菌絲淡紫色多分布於已乾涸的葉肉細胞間隙（短箭頭），維管束內也有菌絲侵入（圓圈）。圖右側深藍色部位為病斑棕色環圈部位。

圖21 b 棕色邊緣部位，葉肉細胞呈深藍色，其內（白箭頭）及間隙（小箭頭）有侵入的菌絲，淡紫色。

圖22. 圖21 a 中乾涸葉肉細胞的放大，示其葉綠體未完全崩散、間隙的菌絲仍具活力。

圖23. 示圖21 b 中乾涸葉肉細胞的放大，示葉肉細胞的細胞質相當稠密，葉綠體尚未明顯崩散。

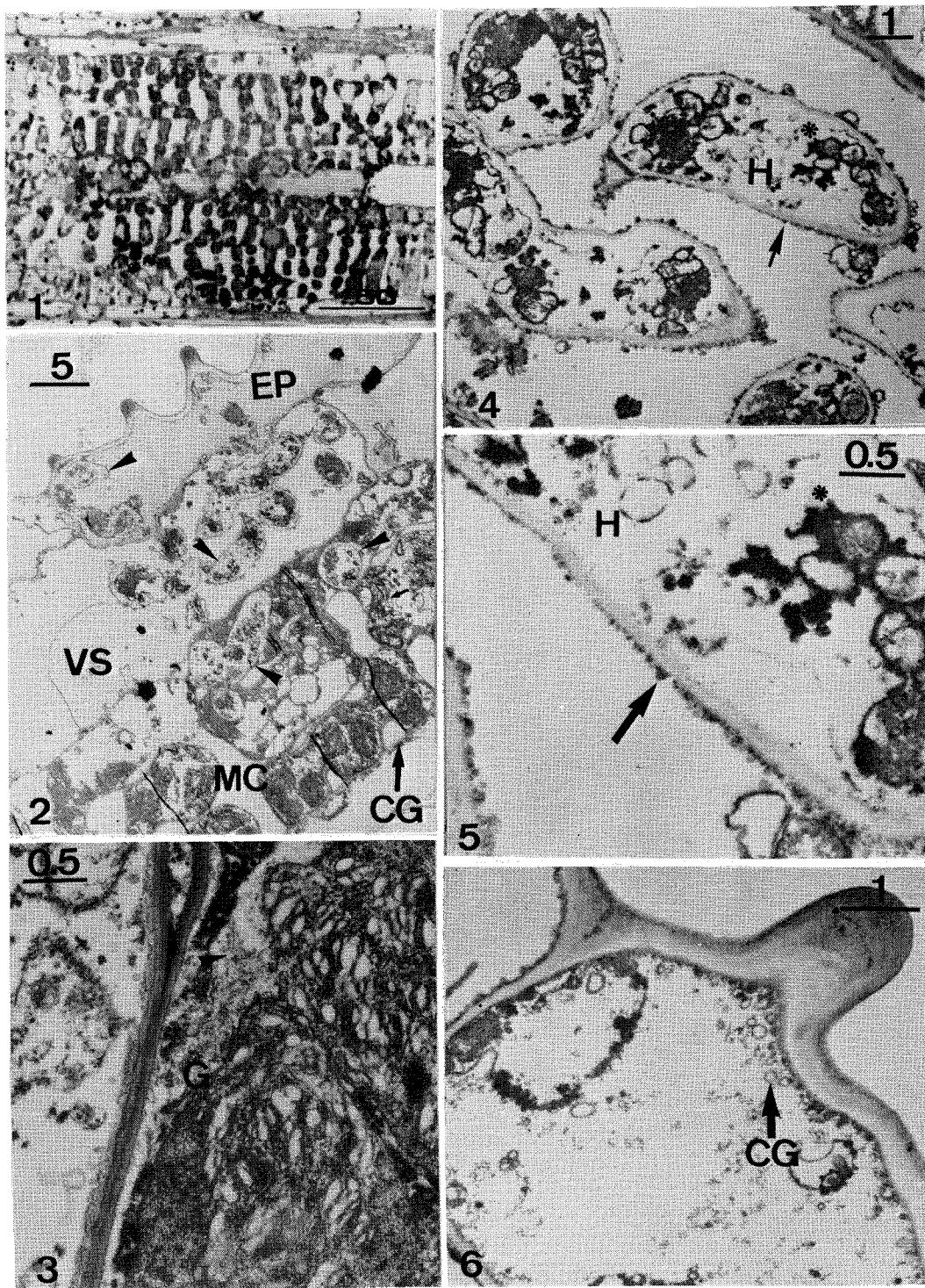
圖24. 黃色邊緣部位葉肉細胞及間隙未見侵入的菌絲，但其葉綠體完全崩散成細絲狀。

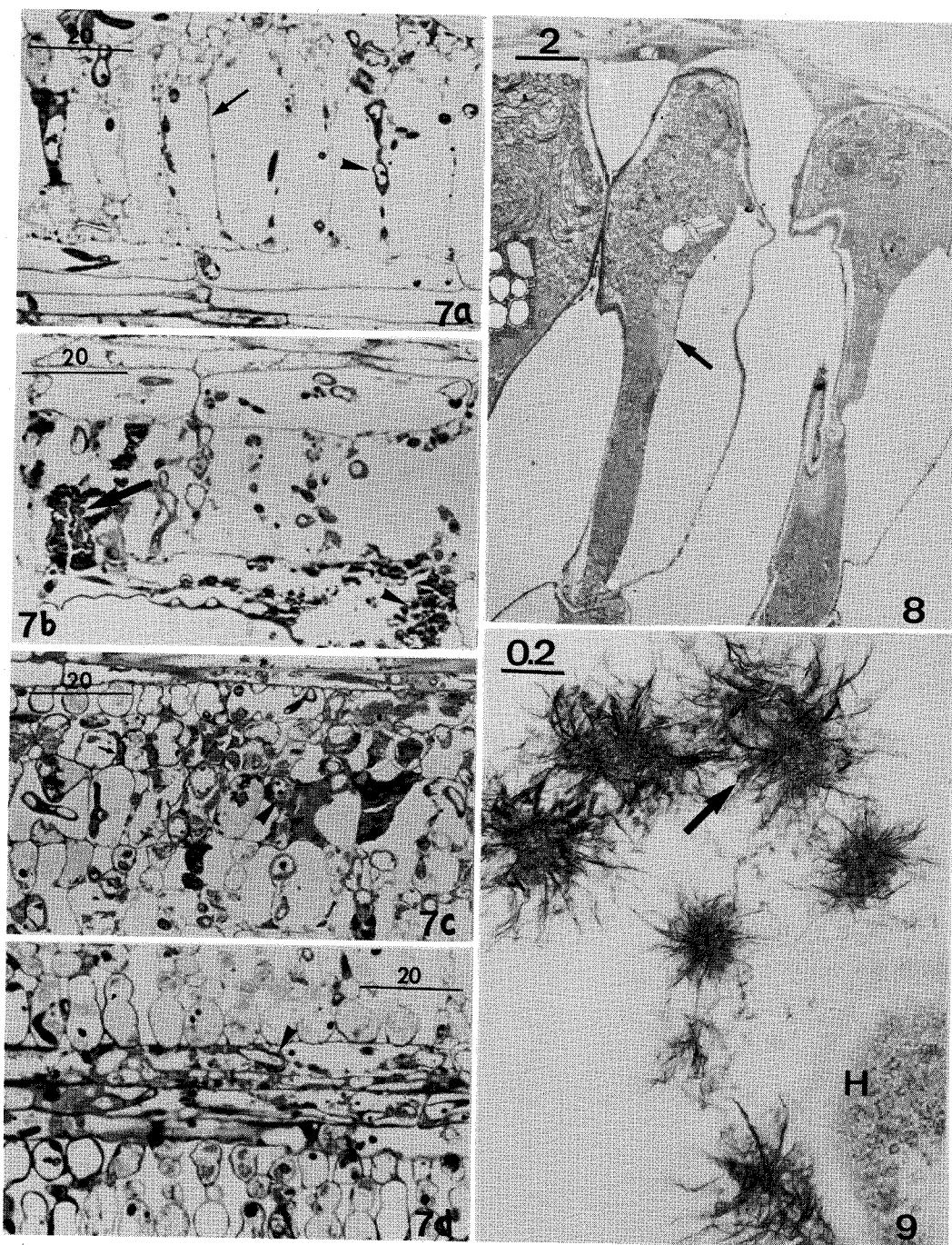
Figs. 21a, b-24. Discolored marginal regions of the susceptible lesion at later stage.

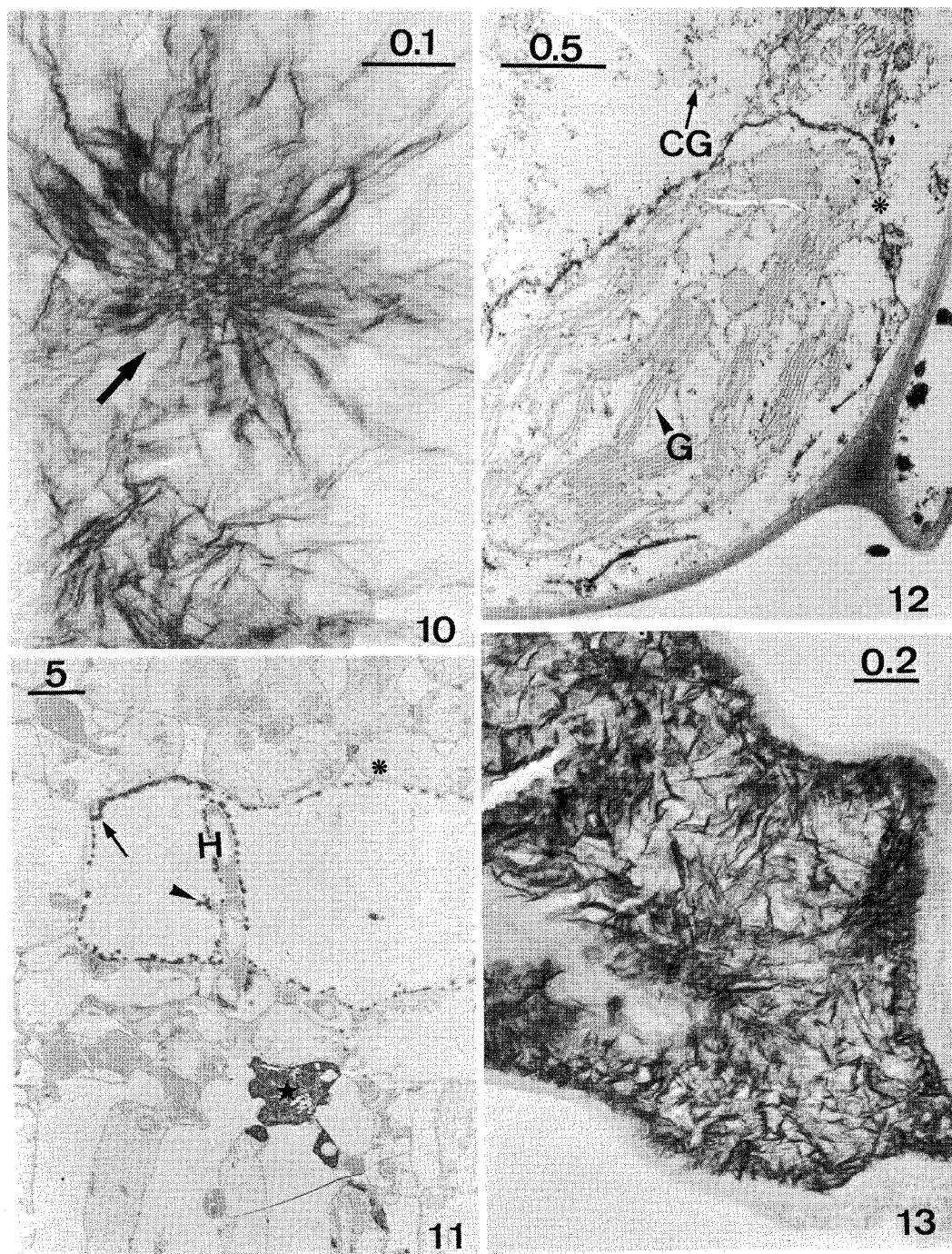
Fig. 21a. At gray colored margins, many hyphae appear in the intercellular spaces of meso-

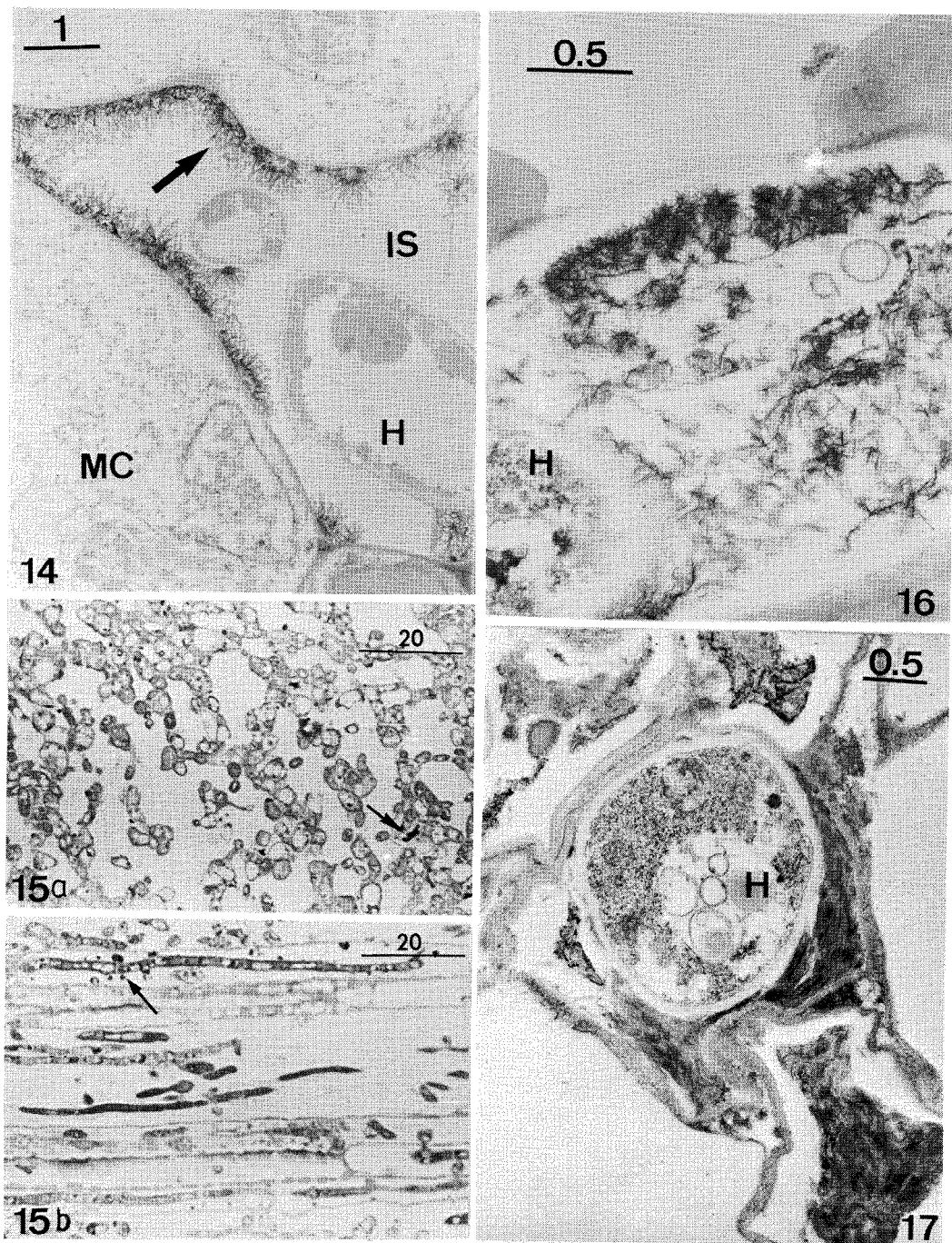
phylls (short arrow) which have already dried. The circled area denotes the invaded hyphae in the vasculars.

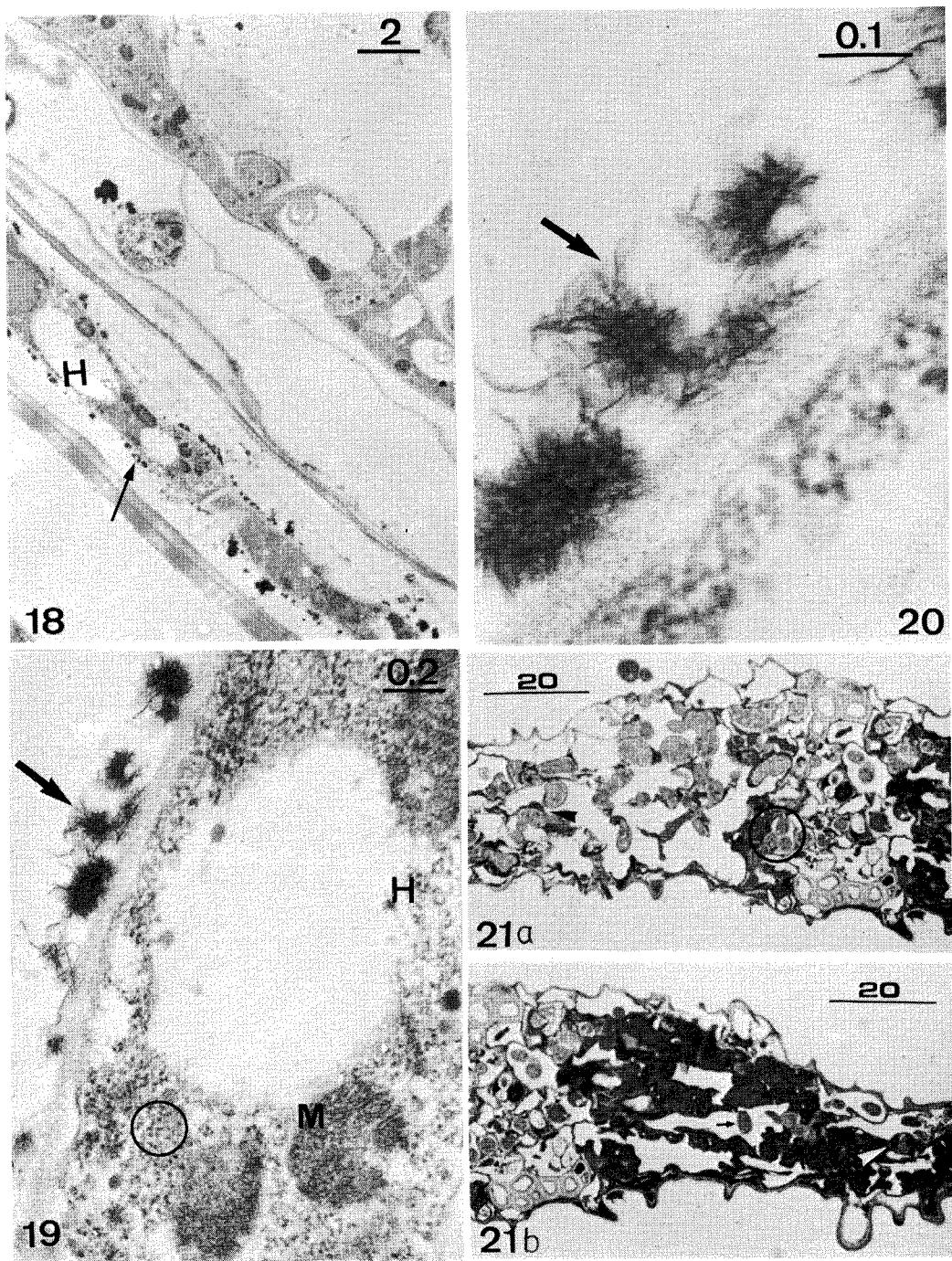
- Fig. 21b. The brown colored margin which is located outside the gray colored are composed of mesophylls with dense content. The invaded hyphae (white arrow, in the mesophyll; small arrow at intercellular space) are few.
- Fig. 22. An enlarged drying mesophyll shown in Fig. 21a, showing that the chloroplast is not yet totally disintegrated and that the invaded hyphae are alive.
- Fig. 23. An enlarged mesophyll shown in Fig. 21b, showing that its content is dense and that chloroplast is only slightly disintegrated.
- Fig. 24. Mesophylls at yellow-colored margin have no invasion of hyphae but hold some totally disintegrated chloroplasts.

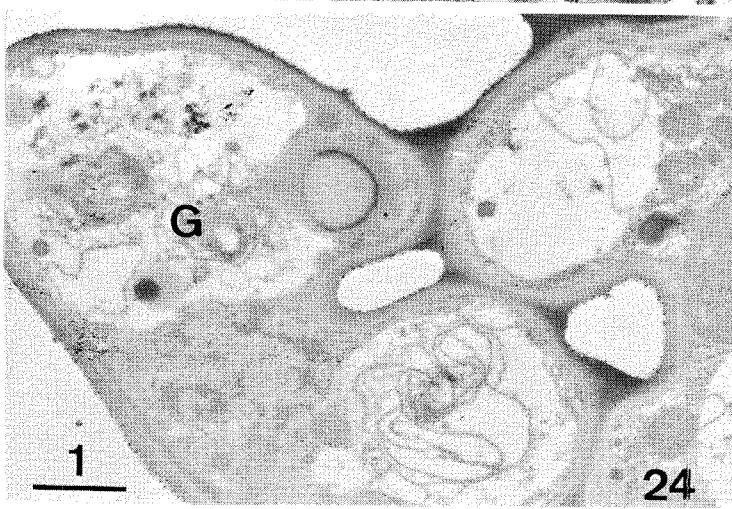
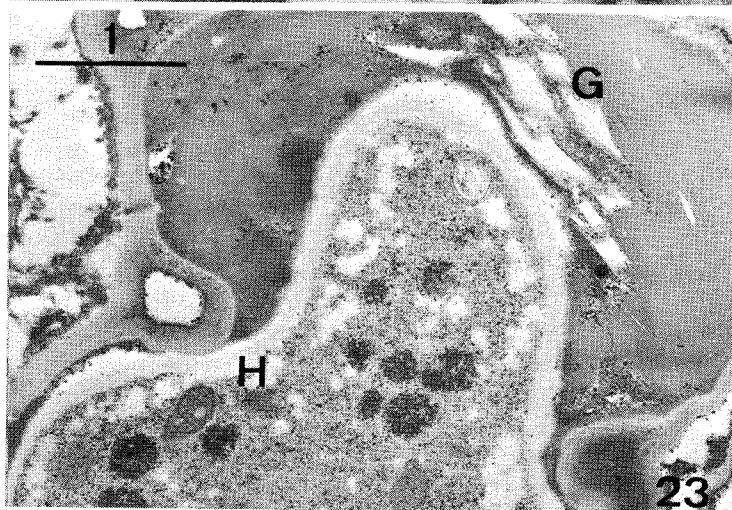
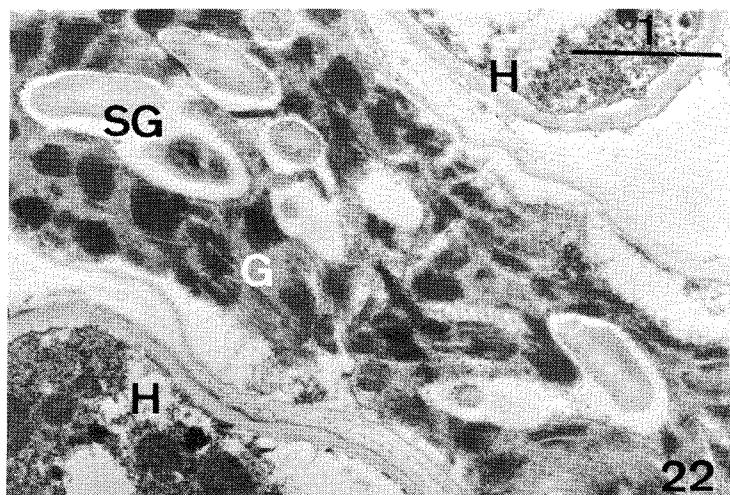












ULTRASTRUCTURE OF THE RICE BLAST DISEASE LESIONS

MIN-HUEI CHEN and HSIN-KAN WU

*Institute of Botany, Academia Sinica
Nankang, Taipei, Taiwan 11529, Republic of China*

Abstract

Lesions of highly resistant (HR), moderately resistant (MR) and moderately susceptible (MS) types obtained by artificial inoculation on rice leaves with conidia of blast fungus were ultrastructurally compared. The comparison was facilitated by getting both semithin and ultrathin sections successively on an Ultracut E microtome so as to correlate the structures at light microscope and electron microscope levels.

About 1,000 cells were involved in the HR type lesion, in which only several cells were invaded. The invading fungus had been plasmolysed and were morbid. The host cells in the lesion had their cell membrane broken, cytoplasm granulated and chloroplasts disintegrated. It seemed that this might be a result of hypersensitivity which took place after the invasion of blast fungus (Figs. 1-6).

Many features of similarity and dissimilarity at ultrastructural level between the lesions of resistant (Figs. 7-14) and susceptible (Figs. 15-24) types were recorded. The most striking difference, however, was the distribution of the feather-like particles. In the resistant type, it appeared in many cells at the brown margin and was about 0.5-1.0 μm in diameter (Figs. 9-11). In the susceptible type, it appeared only at central region and was far less frequent and small, 0.1-0.2 μm in diameter (Figs. 18-20). Most of the invaded fungus in the resistant host cells was partially or totally surrounded by such particles and had their organelles disintegrated. It was suggested that the feather-like particles is one of the phytoalexins reported previously by the other workers.