

れらは、母菌の石狩白毛と農林22号に対する病斑型が多少不安定な中程度のMであったことから、全体的にみて母菌とほぼ類似の病原性を示したものとみられる。このほか1菌株S₀₋₆だけは、農林22号のほか愛知旭および農林20号などで母菌に比べて明らかに弱い病斑型を示したが、これは1ヶ年保存した後の接種なので、病原性の低下も考えられる。つぎに変異菌から再分離されたものでは、12菌株のうち3菌株は、長香稲でやや弱いMの病斑型を示すが、変異菌とほぼ類似の病原性を示した。しかし、1菌株S₁₋₁₅は長香稲と関東51号で変異菌とは明らかに異なるRの病斑型を示し、またほかの8菌株は全品種で全く病斑を生じないなど、かなり病原性の異なるものが認められた。このうちS₁₋₁₅は、母菌から再分離されたもので石狩白毛と農林22号にSを示すものがあるな

どから、むしろ母菌に類似する病原性を示したものと考えられる。このことは変異菌の中に母菌の病原性を示すものが混在するように示唆されて興味深い。

要するに以上の2実験から、培養基上で楔形変異を生じたいもち病菌の母菌と変異菌の病原性は異なること、また、このような原菌では特定の品種でS、R_qまたはR、S_qのように、くり返し実験中に病斑型の移行がみられることである。母菌および変異菌でもこの現象がみられたので、単孢子再分離を行なって病原性を比較したが、ここで原菌とほぼ同じ病原性を示した変異菌より、全く病原性のないものがかなり多く見いだされたことは注目し得る。著者らは菌型類別の研究に当って菌を培養保存中、しばしば急激に病原性の喪失する現象を認めているが、これと合せて興味深いものがある。

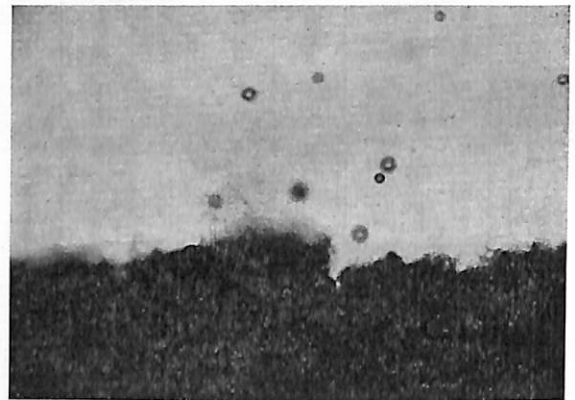
Bacterial exudation の検鏡による稲白葉枯病菌の検索

伊 阪 実 人

(福井県立農事試験場)

I 諸 言

土壤中あるいは植物体上の本病原細菌の検索は、その快質上極めて困難であるが、1922年石山⁹は土壤中の本病原菌を培養法によって分離検出し、井上¹⁰も同方法で菌の土壤越冬について分離培養を試みている。1954年脇本¹¹は Bacteriophage を利用して、本病原菌の検出ならびに定量法を考案し、被害イネ葉、被害籾およびサヤヌカグサ根圏中の菌検索を行なった。一方、田部¹²井¹³らは S tomy 耐性菌による病原菌の定量や検出を、また水上¹⁰は濃縮資料をイネ葉身に多針接種し、その発病によって菌の生存を証明する方法を考案した。筆者も本病原菌を迅

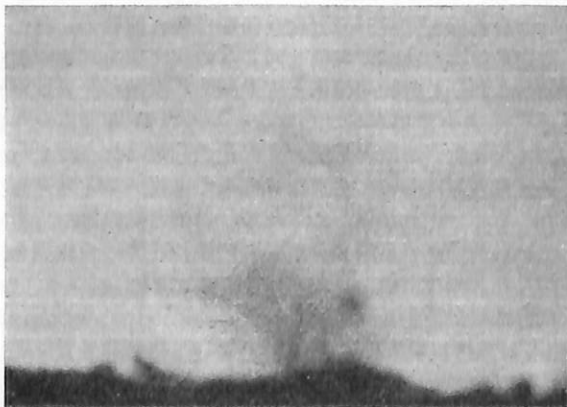


約1~2分後

第1図B 細菌液の噴出

速容易に検索するため、主として接種部位において増殖した細菌液が維管束から噴出する、いわゆる Bacterial exudation を検鏡によって確認し、菌の生存検定について実験を行なったのでここにとりまとめた。本報告はまだ研究途上であり、不備な点も多いが、本病野外菌の検索ならびに生態研究や農薬のスクリーニング上利用される場面が多いように思われるので、報告することとした。

本報告に当っては、末次勲場長の御校閲を得、また病虫課長友永富博士、奈須田和彦技師からは本研究施行上の御指導と御援助を受けたほか御校閲をも賜った。ここ



約15~20秒前後

第1図A 細菌液の噴出

に併せて厚く御礼申し上げたい。

II Bacteriae exudation による菌検出への基礎実験

(1) 接種源との関係

本病原細菌の Bacterial exudation の検出に良好とみられるイネおよびサヤスカグサについて比較検討した。

実験方法 イネでは品種金南風(本病に罹病性)の5葉期のものを、つぎのような状態として用いた。(a)接種葉身を基部から切りはなし、水道水を注加した試験管中に下部を浸す、(b)苗の根部を同様に試験管中におき、葉身に接種、(c)小型ポットで育苗中の苗葉身に接種、の区を設けた。サヤスカグサは野外から採集後直ちに葉身に接種し、数葉をつけた茎を(a)と同様状態においた。供試菌は H F 6030 (病原性やや大) で半合成培地に 28°C 2日間培養し、島津製ボツシロム光電比色計の440mμ 5%透過率(≒10⁸)とし、それぞれの濃度菌を調製して用いた。接種はピンセット単針接種器(農技研)で葉身中央部(主脈をはずす)に並べて2点接種した。接種5日後に葉身接種部の上方約2cmを2~3mmに横断し、スライドガラス上の点滴にのせ、カバーガラスをかけて Bact. exudation を検鏡した。

実験結果 イネおよびサヤスカグサ葉における Bacterial exudation はいずれもみとめられたが、前者が明瞭であった。しかし葉身のみの場合(a)は低濃度菌接種が困難のようであった。

第1表 接種源と Bact. exudation との関係

接種源	菌濃度		
	10 ⁸	10 ⁶	10 ⁴
イネ苗(a)	5 (冊)	5 (冊)	0 (-)
〃 (b)	5 (冊)	5 (冊)	2 (冊)
〃 (c)	5 (冊)	5 (冊)	3 (冊)
サヤスカグサ	2 (冊)	2 (冊)	1 (+)

注 数値は接種5葉中の菌噴出数
冊: 菌の噴出顕著 冊+: かなり顕著 +: 噴出少

(2) 検鏡部位と Bacterial exudation

接種後の病原菌を検出する場合、接種部位からの検鏡位置と Bact. exudation との関係を知るために本実験を行なった。

実験方法 小型ポット(径14cm)で育苗した金南風の5葉期の苗に2の(1)実験と同方法で、ピンセット単針接種器を用い、各濃度の菌液を1~5点接種した。接種3日後、葉身接種部の上方1~50mmにおける Bact. exudation を調べた。

実験結果 Bact. exudation は菌濃度が高いほど、また接種点数の多いほど明瞭であった。接種部からの距離別では30mmまでは大差なく顕著であったが、50mmの部分では exudation が少なくなり、低濃度菌は検出困難であった。

第2表 接種部よりの距離と Bact. exudation

菌濃度	接種点数	接種部からの距離					
		1mm	3mm	5mm	10mm	30mm	50mm
10 ⁸	1	4 (冊)	3 (冊)	3 (冊)	2 (冊)	2 (冊)	1 (+)
	2	5 (冊)	5 (冊)	5 (冊)	5 (冊)	4 (冊)	2 (+)
	3	5 (冊)	5 (冊)	5 (冊)	5 (冊)	4 (冊)	2 (+)
	5	5 (冊)	5 (冊)	5 (冊)	5 (冊)	5 (冊)	3 (冊)
10 ⁶	1	3 (冊)	2 (冊)	2 (冊)	2 (冊)	2 (冊)	1 (+)
	2	3 (冊)	3 (冊)	3 (冊)	2 (冊)	5 (冊)	1 (+)
	3	5 (冊)	5 (冊)	5 (冊)	5 (冊)	4 (冊)	1 (+)
	5	5 (冊)	5 (冊)	5 (冊)	5 (冊)	5 (冊)	2 (+)
10 ⁴	1	2 (+)	2 (+)	2 (+)	1 (±)	1 (+)	0 (-)
	2	3 (+)	1 (+)	2 (+)	1 (+)	2 (+)	0 (-)
	3	5 (冊)	5 (冊)	5 (冊)	4 (冊)	3 (+)	1 (+)
	5	5 (冊)	5 (冊)	5 (冊)	5 (冊)	4 (冊)	1 (+)
check	0	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)

注 数値は接種5葉中の菌噴出数
+は噴出量を示す。

(3) 接種後の経過日数との関係

イネ葉身に病原菌を接種すると、イネ体内で増殖した菌は維管束から噴出するが、その経過日数との関係について実験をすすめた。

実験方法 品種金南風の5葉期の苗を用い、2の(1)実験と同処法で得た各濃度の菌液を6月9日に接種した。接種翌日から5日後まで、接種部の上方約1cmを鉗で横断し、Bact. exudation を調べた。

実験結果 菌液の噴出は接種菌の濃度の高いほど、また接種数の多い場合において明瞭にみられ、接種1日後でも検出し得たが、顕著な Bact. exudation は3日後からであった。

第3表 接種後の経過日数と Bact. exudation

接種点数	菌濃度	接種後の経過日数				
		1日	2日	3日	4日	5日
1点	10 ⁸	1 (±)	2 (冊)	5 (冊)	5 (冊)	5 (冊)
	10 ⁶	0 (-)	0 (-)	2 (冊)	3 (冊)	5 (冊)
	10 ⁴	0 (-)	0 (-)	1 (+)	2 (+)	3 (冊)
3点	10 ⁸	3 (冊)	3 (冊)	5 (冊)	5 (冊)	5 (冊)
	10 ⁶	2 (冊)	5 (冊)	5 (冊)	5 (冊)	5 (冊)
	10 ⁴	1 (±)	2 (冊)	4 (冊)	5 (冊)	5 (冊)
check	0	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)

(4) 各種細菌と Bacterial exudation

イネ菌に接種された本病原細菌以外の菌でも Bact. exudation を示すか否かについて実験した。

実験方法 水稻品種旭1号の5葉期の苗を供試し、ブイオンアガー斜面で2日間培養した。各菌懸濁液を葉身中央部に2点接種した。接種3日後に接種部より1cm上方の Bact. exudation を検鏡した。なお本実験に用いた菌は、*Xanthomonas oryzae* (HF6030), *Pseudomonas syringae*, *Erwinia aroideae*, *Bacillus subtilis* および菌種不明の土壌ならびにイネ葉上細菌(いずれも本病発生田より分離)を用いた。

実験結果 本実験において供試した各種細菌の中、**稲白葉枯病菌 *Xanthomonas oryzae*** は明らかに菌液の噴出を示したが、他の菌は全くみられなかった。

第 4 表 各種細菌と Bact. exudation

接 種 細 菌	Bact. exudation
<i>X. oryzae</i>	5
<i>Ps. syringae</i>	0
<i>E. arvoideae</i>	0
<i>B. subtilis</i>	0
土 中 細 菌	0
イネ葉上細菌 1	0
” 2	0

(5) 接種方法との関係

これまでは専ら針接種によって菌の検出を試みたが、さらに微量の病原菌を検出するための接種方法について検討した。

実験方法 水稻品種金南風の 5 葉期を用いて、ピンセット単針接種器で 2 点ならびに 5 点の針接種と、15 メッシュのカーボランダムによる摩擦接種とを行ない、Bact. exudation による菌の検出能について比較検討した。菌濃度は島津製ボツシロム光電比色計の 440m μ 20 %透過率 (=10⁷) を基としてそれぞれの菌液濃度を作った。接種は 11 月 16 日に行ない、4 日後にこれまでの実験と同様方法で Bact. exudation を調べた。

実験結果 針接種とカーボランダム接種による菌検出能の比較は第 5 表のように、後者がかなり良好であった。すなわち、本実験では針接種よりかなり低濃度菌も検出できた。

第 5 表 接種方法と Bact. exudation

菌 濃 度	接 種 方 法		
	2 点	5 点	カーボランダム
10 ⁷	2	5	5
10 ⁶	2	2	5
10 ⁵	0	0	5
10 ⁴	0	0	3
0	0	0	0

注 数値は接種 5 葉中の菌噴出数

III 病原細菌検出への応用

(1) 土粒中における病原細菌の検出

土粒中の菌検索を容易に行なうため、試料をカーボランダムにより接種し、Bact. exudation による菌の生存を検討した。

実験方法 前実験 (2 の (5)) と同方法で調製した各濃度の菌液 10ml に、土粒 1 g を加え十分振とうして約 1 時間静置した後、各々の試料をカーボランダム (150 メッシュ) および針接種器でイネ苗葉身に前述までの方法と同様な接種を行なった。接種は 11 月 20 日、5 日後に Bact. exudation を調べた。なお本実験に用いた土粒は、水田土 (壤土) を多量の水道水とともに攪拌し、沈

下した下層を除いてさらにガーゼで濾過乾燥したものである。

実験結果 土粒中の菌の検出は土粒の存在しない場合より困難であり、針接種において低濃度菌の接種は土粒の存在によってかなり影響された。しかしカーボランダム接種では、土粒を加えない場合とほぼ同様な検索ができた。

第 6 表 土粒中の菌検出

菌 濃 度	土 粒 区			土 粒 な し		
	2 点	5 点	カーボン	2 点	5 点	カーボン
10 ⁷	3	5	5	5	5	5
10 ⁶	3	3	5	5	5	4
10 ⁵	0	2	5	3	4	5
10 ⁴	0	0	3	2	2	4
0	0	0	0	0	0	0

注 数値は接種 5 葉中の菌噴出数

(2) 種子中における菌の検出

発病田から採取した種子中に菌の生存がみられるかについて本方法による検出実験を行なった。

実験方法 発病田から採取した水稻品種マンリョウ (成熟期 9 月 20 日ころ) の完熟乾燥種子 1~100 g を三角フラスコにとり、100~200ml の殺菌水を加えて 30°C 3 時間振とうした後、ガーゼで濾過した濾液を 3500G、10 分間遠沈濃縮し、予め用意した金南風の苗に、ピンセット単針接種器とカーボランダムで接種した。接種 5 日後に Bact. exudation を調べた。

実験結果 Bact. exudation による種子中の菌検索は、接種方法によってかなりの差異がみられた。すなわち、針接種では 100 g の種子を用いた場合によやく菌の生存を認めしたが、カーボランダム接種は 50 g で明らかに生存を検定した。供試種子 1~10 g ではいずれの方法でも接種ができなかった。

第 7 表 種子中の菌検出

病物の量	接 種 方 法		
	1 点	2 点	カーボン
1 g	0	0	0
5	0	0	0
10	0	0	0
50	0	0	3
100	1	2	3
100 (健全)	0	0	0

注 数値は接種 5 葉中の菌噴出数

(3) 被害葉による菌の越冬

被害葉での菌越冬をカーボランダム接種と、Bact. exudation によって検討した。

実験方法 本病に侵された乾燥被害葉 (水稻品種、マンリョウ) 10 g ずつを、無発病の水田土をつめた 1/3000 a ワグネルポット中に深度 10cm にして埋没した。埋没後は湿潤区 (ポット排水口をゴム栓で塞ぐ) と乾燥区 (栓なし) を設け、ほ場に放置した。被害葉の埋没は

10月4日に行ない、翌年3月より掘出してイネ幼苗(金南風)に濃縮磨碎汁液をカーボランダム接種した。接種7~10日後に接種葉10葉について、Bact. exudationを調べ、1葉でも菌液の噴出がみられた場合に+として表示した。なお屋内貯蔵葉についても調査した。

実験結果 埋没した被害葉からの菌の検出は3月26日より5月25日まで行なった。その結果は第8表の如く、湿润区は全く生存を認めなかったが、乾燥区では4月14日まで菌の生存を認めた。なお、屋内貯蔵の乾燥葉は5月25日においても生存を認めた。

第8表 被害葉による土壤越冬

調査月日	乾燥区	湿润区	屋内貯蔵
3月26日	+	-	+
4月6日	+	-	+
4月14日	+	-	+
5月21日	-	-	+
5月25日	-	-	+

注 +は菌の生存 -は菌検出不能

IV 総合考察

稲白葉枯病菌の検索はその存在場所によってかなりの難易がある。イネあるいはサヤヌカグサの発病葉からは容易に分離培養することができるが、土壤中、水中またはその他の生存場所からの検出は困難な場合が多い。

石山は田植前の水田土および素焼鉢中の殺菌土中で、かなり長期にわたり菌が生存することを分離培養によって検出したが、井上らは水田土中からの分離に成功していない。かような結果とあいまって、脇本はフアージ法を考案し、これの利用による病原細菌の定量、土壤中や糞などの菌検索を行なって本病の生態研究に大きな貢献をもたらした。とくに土壤中での菌の生存は、主にサヤヌカグサなどの根で行なわれることを明らかにし、被害葉中での生存は否定的であった。しかしフアージ法はフアージが土粒に吸着されやすいため、かなりの loss がみられ夾雑物中の菌検索については難点もみられている。一方、水上は選心沈澱濃縮接種法を考案し、簡単な菌の検出法を案出したが、 10^4 /ml以下の菌検出については困難視している。

筆者は以上の方法をさらに改良し、迅速容易に野外の菌検索を行なうため、主として接種後イネ葉身維管束から噴出する増殖菌のいわゆる Bacterial exudaton の検鏡によって判定する基礎実験と、その応用について検討してきた。その結果、接種法としてはカーボランダムによる摩擦接種が針接種より微量の菌を接種でき、その検出は発病によらず葉身切片からの Bact. exudation によって容易に菌の生存を確認できた。本方法によれば接種3日後で菌の検出が可能であり、カーボランダム接種は土粒などの存在下でも、とくに精度の低下はみられなかった。またそのテクニックも極めて簡単であり、今後本病菌の生態研究上利用価値が大きいものと思われる。

しかし、本病の野外菌を検索する場合、接種植物としてはイネ苗を用いるため、本実験で検討できなかったところのイネ親枯性細菌菌、イネ褐条病菌と Bacterial exudation との関係についてはさらに検討しなければならない。

V 摘要

(1) 本報告は稲白葉枯病菌 *Xanthomonas oryzae* Bacterial exudation の検鏡による検索方法と、その利用による病原細菌の生存検定について行なった研究結果である。

(2) Bact. exudation によって菌を検出するには、サヤヌカグサよりイネ幼苗が良好であった。

(3) Bact. exudation は針接種の場合、多針ほど明瞭であり、接種部より30mmまでの範囲が検出に良好であった。また接種3日以降からの検鏡が適当のようであった。

(4) 各種細菌液をイネ苗に接種した場合、その Bact. exudatin は本病原細菌 *Xanthomonas oryzae* 以外は認められなかった。

(5) 接種方法について検討した結果、針接種よりカーボランダムによる摩擦接種がかなり良好であった。また土粒中における本病原細菌の検出を Bact. exudation によって行なったが、カーボランダム接種は土粒が存在しない場合とほぼ同等に検出できた。また被害粒中の菌検出結果も同様であり、種子中の菌存否をも確認できた。

(6) 本方法によって検索した土壤中における被害葉での菌の越冬は、乾燥状態では4月中旬まで生存し、湿润状態では早期に死滅するようであった。なお屋内貯蔵葉では長期の生存がみられた。

引用ならびに参考文献

1. 後藤和夫・豊田栄 (1957) 日植病報21: 46~47.
2. —. 大畑貫一 (1958) 日植病報23(3): 155.
3. Hildebrand, E. M. (1939) Phytopath. 29: 142~155
4. 石山伯一 (1922) 農事試験場報告 45(3): 233~261
5. 井上義孝・後藤和夫・大畑貫一 (1957) 東海近畿農試研究報告 4: 74~82.
6. 伊阪実人 (1962) 北陸病虫研究会報10: 90.
7. —. 足立哲 (1962) 北陸病虫研究会報10: 11~12.
8. —. 村井昌英 (1964) 日植病報29(2): 95~96.
9. 向秀夫・吉田孝二 (1951) 日植病報 15(3~4): 179.
10. 水上武幸 (1961) 佐賀大農学彙報 3: 1~85.
11. 田部井英夫, 他 (1957) 日植病報22(1): 9.
12. 田上義也 (1962) 九州農試病害第1研究室特報第1号: 1~156.
13. —, 他 (1963) 九州農試彙報 9(1): 89~122.
14. 脇本哲 (1954) 九大農学芸誌14(4): 495~498.
15. — (1955) 農及園30(1): 1501.
16. — (1956) 農及園31(1): 1413~1414.
17. —. 玉利勝正 (1956) 九州病虫研究会報 2: 107~109
18. —. 吉井甫 (1955)

九大農芸誌15(2) : 161~169. 19. 吉村彰治 (1963) 北陸農試報 5 : 1~182.

穂いもちに対する品種の抵抗性検定方法に関する研究

第 2 報, 接種時の気象条件と穂いもち発生との関係

鈴木 幸雄

(農林省北陸農業試験場)

穂いもちの発生は、出穂期前後の気象環境によって左右されることが認められている。同じように、穂いもち抵抗性検定のために、野外で行なう噴霧接種の場合そのときの気象環境によっては、いもち病菌の発芽侵入が阻害され、接種効率の低下することが考えられる。

環境因子によって余り左右されずに、頸いもちの抵抗性を検定する方法として、綿巻接種、および、切断した穂を試験管内で発病させる方法などが試みられた。しかし、これらは、能率的な直接検定という観点からすれば、適当な方法とは考えられない。そこで、噴霧接種の場合、接種後の気象環境が、どの程度、穂いもちの発生に影響するかを検討し、より効果的な噴霧接種法を見出そうとして試験を行なった。本試験では、とくに、接種時の天候、時刻と発病との関係、ならびに、接種後、温室に静置した場合の発病について検討を行なった。

I 晴、雨天日接種と発病との関係

晴天日と雨天日に接種した場合に穂いもちの発病はどのように変化するかについて検討を行なった。

試験方法 供試品種は農林 1 号、藤坂 5 号、農林 43 号、千秋楽とし、1/5000 a ポットを使用して 4 月 12 日播種、5 月 19 日に挿秧した。試験区の構成は第 1 表の通りである。

第 1 表 試験区の構成

試験区名	供試品種名	接種月日	調査月日
晴天日接種	農林 1 号 藤坂 5 号	7 月 31 日	8 月 26 日
	農林 43 号 千秋楽	8 月 23 日	9 月 10 日
雨天日接種	農林 1 号 藤坂 5 号	8 月 11 日	8 月 26 日
	農林 43 号 千秋楽	8 月 22 日	9 月 10 日

供試菌は H6301 菌 (1963 年当時苗代の罹病葉より分離) とし、大麦穀粒培地を用い、常法に従て、胞子を形成させた。接種液の胞子濃度は、0.1mm³中、約 30 ケになるように調整し、杓子型噴霧器で接種したものである。

試験結果 第 2 表および第 3 表の通りである。

結果の考察 接種後 1~3 日間の気象状況は、第 2 表に示すとおりである。すなわち、早生品種を対象にした、晴天日接種区 (7 月 31 日) は高温乾燥の夏型天候で

第 2 表 接種後 1~3 日間の気象表

試験名	月 日	気温 °C			湿度 %			日照時数 h	降水量 mm
		最高	最低	平均	最高	最低	平均		
晴天日接種	7 月 31 日	31.8	22.0	26.9	95	47	71	7.6	—
	8 月 1 日	29.8	22.5	26.2	93	65	78	10.8	—
	8 月 2 日	29.5	21.5	25.5	93	60	76	12.5	—
	8 月 23 日	29.7	22.2	26.0	98	60	79	3.0	5.1
	8 月 24 日	25.8	22.2	24.0	98	92	96	0.1	94.8
	8 月 25 日	28.1	21.2	24.7	97	71	84	5.2	19.4
雨天日接種	8 月 11 日	30.5	19.2	24.9	97	56	77	0.8	4.0
	8 月 12 日	29.2	23.5	26.4	97	70	84	2.0	2.2
	8 月 13 日	29.6	23.8	26.7	93	66	76	9.1	—
	8 月 22 日	29.0	21.0	25.0	97	62	80	0.4	2.3
	8 月 23 日	29.7	22.2	26.0	98	60	79	3.0	5.1
	8 月 24 日	25.8	22.2	24.0	98	92	96	0.1	94.8

第 3 表 晴雨天日別噴霧接種と穂いもち発病との関係

晴天日接種	供試品種	発病率 %		発病率 %	無接		発病率 %	
		発病率 %	発病度 %		発病率 %	発病度 %		
晴天日接種	農 1	6.9	2.3	15.1	7.9	9.1	3.0	
	藤 5	5.5	2.3	12.2	4.1	5.3	1.8	
	農 43	68.4	54.8	83.3	64.6	12.9	8.3	
	千秋楽	5.1	4.0	14.7	12.6	0	0	

終始した。しかし、晩生品種の晴天日接種区 (8 月 23 日) は、接種時には曇天となり夜間に至り降雨あり、晴天日接種としての条件は充足されなかった。一方、早生、および晩生品種を対象にした雨天日接種区は、日照時数少なく降雨あり、試験区としての条件は満足すべき状態にあった。

これに対し、穂いもちの発生は、第 3 表に示したとおり、晩生品種では発生が多く、早生品種では、やや少なかった。晴天日接種区と雨天日接種区と比較では、いずれの品種も雨天日接種区において発病が多く、本試験の場合、4 品種、平均して 10% の発病率の増加が認められた。

このことから、穂いもちを対象にした噴霧接種の場合、接種日が雨天日 (降雨量 2.3~4.0mm で比較的少ない時) であれば、穂いもちの発生が多くなり、接種効率