

いもち菌胞子の担子梗からの離脱におよぼす明暗の影響

鈴木 穂 積

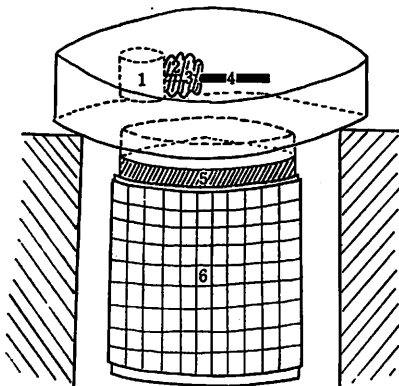
(北陸農業試験場)

つゆあけ後の安定した夏型天候の時期に、空中における胞子の飛散消長を調べると 0～3 時を最高胞子数の山として、15～17 時を最少胞子数の谷とする規則正しい採集曲線が毎日得られるようになる。なぜこのような飛散型を示すかについては、いろいろな原因もあるが、胞子が担子梗から周期的に離脱することが大きな原因と考えられ、この離脱の機作を究明することはいもち病の流行機構を解明するためにも、重要なことであると考えられる。

いもち菌胞子の離脱に関しては多くの研究が行なわれたが、そのほとんどは温度、湿度、風、水滴、光などの個々の要因について、どのような場合に離脱が促進されるかどうかを調べたもので、自然条件下でみられる周期的な離脱現象を解析できるような実験結果は得られていない。そこで飽和湿度、無風、温度も比較的变化の少ない条件下で、離脱に対する明暗の影響を実験した。

I 実験方法

Barksdale¹⁾ (1961) や Ingold²⁾ (1955) が胞子離脱におよぼす明暗の影響についての実験に用いた装置を参考として、第 1 図に示すような装置を作った。この装置は直径 9 cm のシャーレに 2% の寒天を流しこんで硬め、それを 24 時間で 1 回転する自記計の時計の上におき、一方、直径 15 cm の大型シャーレの蓋の内側にコルク栓をはりつけ、コルクの横に縫針をさし、この針にあらかじめ胞子を形成させた長さ 3 cm の自然発病の穂くび部をさしこみ、コルク栓にさしこんだ胞子形成穂くびの基部には、脱脂綿を巻いて水を含ませ、胞子形成部の湿度を飽和に保つようにしたもので、この大型シャーレは胞子形成部ができるだけ多湿となるように、また離脱後の胞子が広い範囲に散らばることなく、病斑直下に落下するように、寒天を流しこんだ小型シャーレにできるだけ近づけてかぶせた。罹病穂くびにおける胞子形成条件は目的によって、暗黒下で行なったり、自然の明暗くりかえし下で行なったりした。離脱の実験には胞子形成 24 時間のものを用いた。離脱実験時における条件のうち自然下というのは、実験室の直射日光のささない東側窓辺においたもので、時刻別の照度変化は自然とは多少違い、4 時 0.0 ルックス、6 時 1480 ルックス、8 時 3000 ルックス、10 時 3620 ルックス、12 時 2800 ルックス、14 時 2600 ルックス、16 時 3000 ルックス、18 時 280 ルックスであった。実験期間の気温は最低 21.0°C、最高 25.5°C を示した。また、暗黒というのは、暗室内にさらに暗箱を作り、その中においたもので、実験操作には黄橙色の写真用暗室電球を用い、できるだけ速やかに操作した。照明区は 15W 蛍光灯 3 本で、罹病穂くびをつけたシャーレの外側から 30 cm 離して照明した。シャーレ取りかえは 9 時から翌日 9 時までを単位とし、実験は 6～10 日間連続して行なった。実験終了後のシャーレは時計を巻いてある自記紙の目盛に合せて 1 時間単位に寒天を切り、その表面を鏡検し、落下している全胞子数を数えた。

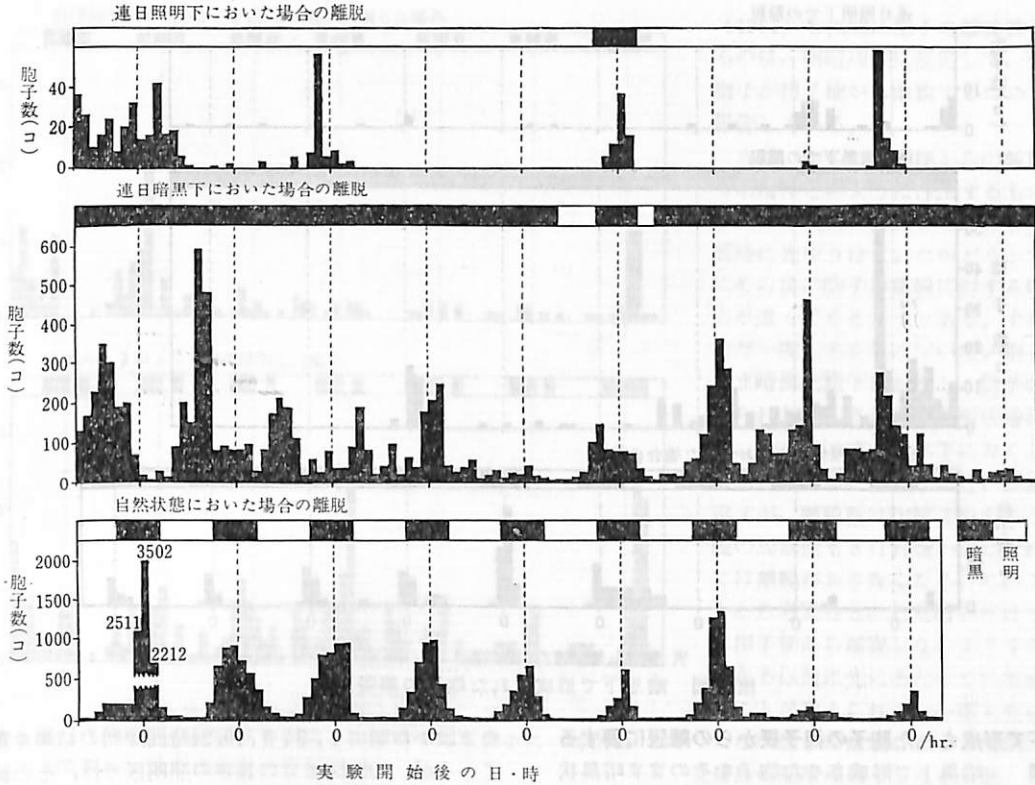


1 : コルク栓 2 : 綿 3 : 縫針
4 : 胞子形成穂くび部
5 : 寒天を流しこんだシャーレ
5 : 自記計時計 (1 日用) と自記紙
第 1 図 実験装置

ク栓をはりつけ、コルクの横に縫針をさし、この針にあらかじめ胞子を形成させた長さ 3 cm の自然発病の穂くび部をさしこみ、コルク栓にさしこんだ胞子形成穂くびの基部には、脱脂綿を巻いて水を含ませ、胞子形成部の湿度を飽和に保つようにしたもので、この大型シャーレは胞子形成部ができるだけ多湿となるように、また離脱後の胞子が広い範囲に散らばることなく、病斑直下に落下するように、寒天を流しこんだ小型シャーレにできるだけ近づけてかぶせた。罹病穂くびにおける胞子形成条件は目的によって、暗黒下で行なったり、自然の明暗くりかえし下で行なったりした。離脱の実験には胞子形成 24 時間のものを用いた。離脱実験時における条件のうち自然下というのは、実験室の直射日光のささない東側窓辺においたもので、時刻別の照度変化は自然とは多少違い、4 時 0.0 ルックス、6 時 1480 ルックス、8 時 3000 ルックス、10 時 3620 ルックス、12 時 2800 ルックス、14 時 2600 ルックス、16 時 3000 ルックス、18 時 280 ルックスであった。実験期間の気温は最低 21.0°C、最高 25.5°C を示した。また、暗黒というのは、暗室内にさらに暗箱を作り、その中においたもので、実験操作には黄橙色の写真用暗室電球を用い、できるだけ速やかに操作した。照明区は 15W 蛍光灯 3 本で、罹病穂くびをつけたシャーレの外側から 30 cm 離して照明した。シャーレ取りかえは 9 時から翌日 9 時までを単位とし、実験は 6～10 日間連続して行なった。実験終了後のシャーレは時計を巻いてある自記紙の目盛に合せて 1 時間単位に寒天を切り、その表面を鏡検し、落下している全胞子数を数えた。

II 実験結果

自然の明暗周期下で形成された胞子の担子梗からの離脱に対する明暗の影響 自然の明暗の周期下で作られた胞子の離脱に対して光がどのように作用するかを調べるため、実験を自然の明暗の周期下で行なった場合、暗黒下で行なった場合、照明下で行なった場合について、胞子の離脱量や離脱の日周期がどのように変わってくるか調べた。その結果は第 2 図のとおりである。自然の明暗の周期下で行なった場合の結果が、同図の最下段のものであるが、これによると胞子の最高離脱数はどの日でも 0～2 時の間にみられる。最少の胞子離脱は 8～18 時の間におこり、自然の場合とは多少違っている。離脱が最高数に達する時刻は、暗くなり始めて 6～8 時間目であり、その周期は非常に規則正しいことがわかる。この現象は自然における採集胞子数の時刻による変化の状況と



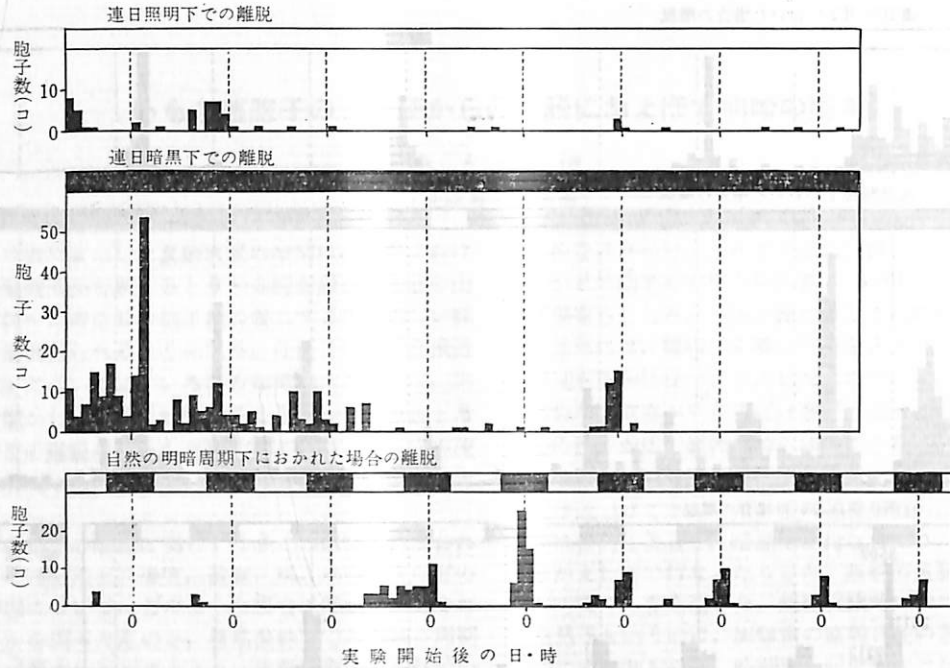
第2図 自然下で形成させた胞子の離脱

非常によく似ている。同図の中段は、連日暗黒下においた胞子の時刻別離脱変動を示したものであるが、実験の暗黒は9時に開始したためか、最高離脱時刻は16時頃となっている。この時刻は胞子形成穂くびが暗黒下におかれてから、7時間目にあたり経時的には自然の明暗周期下におかれたと同じである。2日目も1日目と同じく16時に最高離脱数を示した。しかし、2日目の22時以後になると、離脱は規則性を失ない、不定期的に離脱数が増したり減少したりしている。このように3日目以降には離脱の山が、1日に3回も生じたり、しかも周期が次第に短くなり、離脱数も少なくなってくる。6日目で暗黒を中止して、自然の明暗周期下にもどしたところ、離脱の状態も実験開始初期の形にもどり、暗くなってから8時間目にあたる1時に離脱胞子の最高数が観察された。翌日の7日目にもまだ、6日目の光の影響がのこり、前日よりもかえて顕著に最高の山が生じた。しかし8日目からは山の周期も再び不規則になり、胞子の離脱数も少なくなった。同図の上段は、連日照明による離脱数の変化を示したものであるが、照明を続けていると胞子の離脱は非常に少数且不規則化し、自然の明暗周期下に現われるような周期曲線をささなくなる。とくに4日目以降には離脱する胞子がほとんど認められなくなった。6日目に照明を消し、自然状態の明暗周期にしたところ、この日だけは暗くなって8時間目にあたる2時に、少数ながら離脱数の山が現われ、自然に近い周期曲線が認め

られたが、7日目以降に再び照明をしたところ、離脱する胞子はほとんど認められなかった。ただ、9日目の16時から22時の間に突然の離脱を認めたが、この原因については不明である。

暗黒下で形成された胞子の担子梗からの離脱に対する明暗の影響 光の刺激をあたえないように暗黒下で胞子を作らせた場合に、その後の条件によって離脱がどのように変るかを調べた。暗黒下では胞子の形成数は少なかった。胞子離脱の条件は、引き続き連日暗黒にした場合、連日照明下においた場合、自然の明暗周期下におかれた場合の3種とした。得られた結果は第3図のとおりである。この図の上段は連日照明下においた場合であるが、離脱胞子数は非常に少なく、とくに3日後からはほとんど認められなくなり、離脱の周期曲線も認められない。図の中段は連日暗黒とした場合であるが、胞子の離脱は初日にはかなり多く認められたが、その後は経時的に離脱数の減少を示し、4日目からは非常に少なくなり、ついには離脱が認められなくなるほか、この場合も周期曲線は認められなかった。

同図の下段は自然の明暗周期下においた場合の離脱状態であるが、3日目までは胞子の離脱はほとんど認められなかったのに、4日目からは離脱数を増し、1時頃に最高の離脱数を示した。すなわち自然に形成された胞子が自然の明暗周期下に離脱する場合と同様の周期が次第に認められるようになってきた。



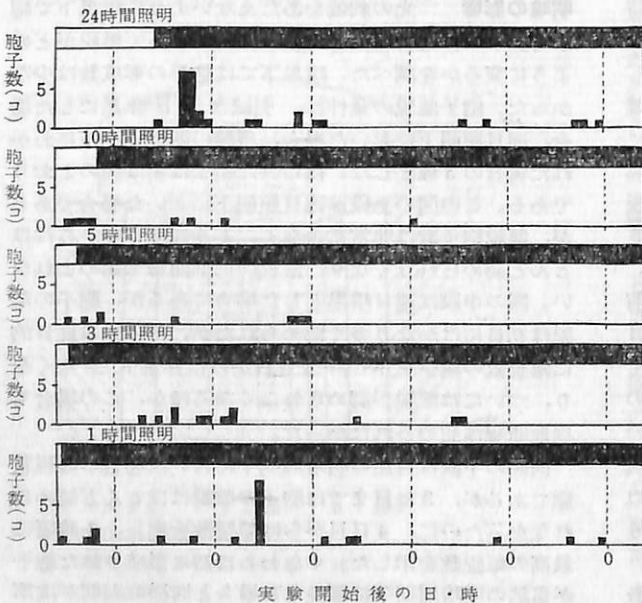
第 3 図 暗黒下で形成された胞子の離脱周期

暗黒下で形成された胞子の担子梗からの離脱に要する照明時間 暗黒下で形成させた胞子をそのまま暗黒状態にしておくとし、胞子の離脱はほとんどおこらなくなるが、離脱数を多くするためには、一定時間の照明とそれに続く暗黒が必須条件となるように考えられる。照明時間を 1, 3, 5, 10, 24 時間とする 5 区を作り、それぞれ時間別照明後は再び暗黒にし、照明時間と胞子離脱との関係を調べたところ第 4 図のような結果となった。この図

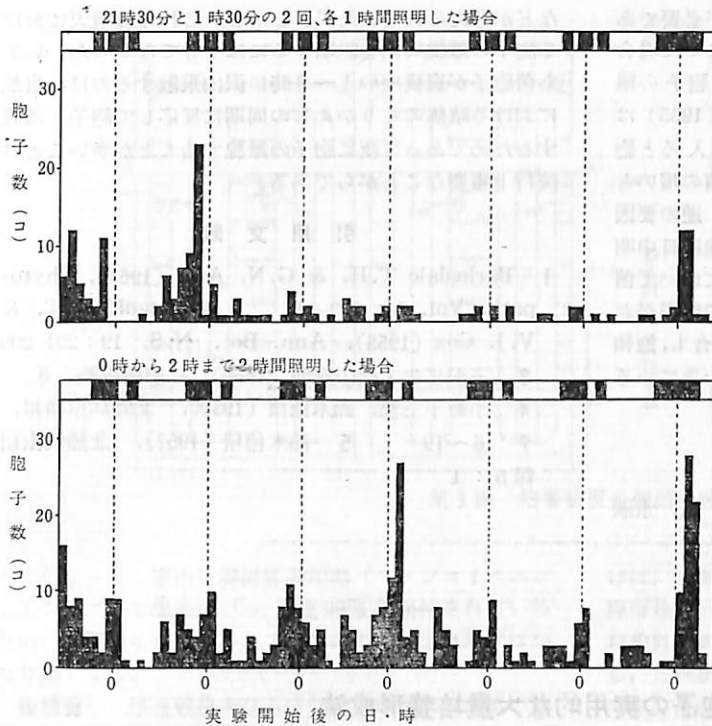
の下段から順に 1, 3, 5, 10, 24 時間照明の結果を現わしているが、10 時間までの長さの照明区では、その後を暗黒にしても胞子の離脱が非常に少ないことがわかった。しかし、24 時間照明区は、離脱数こそそれ程多くないが、照明後を暗黒にすることによって、8 時間後に最高離脱数を示し、自然の明暗周期下に現われるような離脱周期が認められた。

自然の明暗周期下で形成された胞子に真夜中に 1 時的な照明をした場合の離脱の変化

自然の明暗の周期下で形成された胞子を、そのまま自然の明暗の周期下におくと、1~2 時に胞子の離脱数をもっとも多くなるが、この時刻を含めてその前後に照明し、胞子の離脱状況を調べたところ、第 5 図のような結果となった。まず、同図の下段は離脱のもっともおきやすい 0~2 時までの 2 時間照明した場合の結果であるが、次第に増加しつつあった離脱数が 20 時頃より急に減少してしまうことがわかる。このような変化は夜間の一時的照明をくりかえしている間中続いたが 8 日目に夜間照明を止めると正常な離脱の周期性をあらわしてきた。つぎに、同図の下段は、胞子離脱の最高の山となる前後の 21 時 30 分と 1 時 30 分に 1 時間ずつ照明した場合であるが、離脱数の時刻別周期性は認められず、離脱数もまた増加しなかった。しかし、7 日目に夜間の一時的照明を止めると、0 時頃に最高を示す自然の離脱周期をあらわした。このことから、夜間における 2 回の照明は離脱を抑制して周期を乱すことがわかった。



第 4 図 暗黒下で形成された胞子の離脱に要する照明時間



第5図 自然の明暗周期下で形成された胞子に真夜中に一時的に照明した場合の離脱の変化

III 考 察

天気の安定した7月下旬から8月上旬にかけて、空气中胞子の飛散数消長を調べると、真夜中の1~3時にもっとも多く、15~17時にもっとも少ない採集曲線が、規則正しい周期をもって連日続くようになる。担子梗からの胞子の離脱周期も、多湿条件下では、暗くなり始めると少しずつ離脱数が増し、暗くなってから6~8時間目に急速に増加し、それ以後の離脱は急速に減少し、最少離脱時刻は日中の明るいときである。このような離脱周期は規則正しく続き、胞子離脱が最高になる時刻は、空中飛散数の多い時刻とほぼ一致している。しかし胞子数が最少を示す時刻は8~18時の間にあり、一定の時刻ではなく、自然の場合とは多少違っている。この原因は自然状態下での日中の湿度は低下するのに対して、本実験では始終飽和に保っていた関係から、光についての影響だけが現われる結果となったためと思われる。いもち菌胞子の離脱には飽和湿度や露などの水滴が重要な役割をはたしていることは鈴木、(1957)⁵⁾、小野・鈴木(1959)¹⁾、三沢ら(1960)³⁾、Barksdaleら(1961)¹⁾によって報告されているが、畦間では飽和湿度や葉上水滴の形成が日没の18時頃から翌朝の7時過ぎまで経続していることを考えると、これらの要因だけでは1~3時に多量の胞子離脱がおこる原因を説明することは困難である。したがって、離脱数が時刻別周期をあらわす大きな要因は1日の明暗の周期ではないかと考えられる。Barksdaleら

(1961)¹⁾も夜間に胞子の離脱数の多くするのは、明暗周期に反応して、いもち菌胞子が担子梗から離脱するためであると報告している。

さて、胞子の担子梗からの離脱に対して明暗はどのように作用するものであろうか、本実験の結果からすると、胞子形成時に光をうけていたかどうかで、すでにその後の胞子の離脱に対する明暗の反応が違って来るようである。すなわち、まだ一度も光を受けていない胞子そのまま暗黒状態下におくと、胞子の離脱がみられない。また、胞子形成時に光にあて、その後は連日暗黒下におくと、初めは離脱数も多く自然下に近い離脱周期を示すが、離脱数は次第に少なくなり、離脱の周期性も3日目頃からずれ、ついには離脱がおきなくなる。このようなことから考えると、ただ暗いだけでは胞子は担子梗から離脱しないようであり、暗くなる以前に光にあたっている必要のあることが考えられる。一度も光をうけていない胞子の離脱に要する照明時間は、自然の明暗周期下では3日間、連続照明

下では24時間以上必要であることがわかった。連日照明を続けていると、胞子形成中に光をうけていてもいなくても離脱はほとんどおこらない。このことから考えると光を受けているあいだ中は離脱がおきにくいように思われる。自然の明暗周期下で形成された胞子を、胞子のもっとも離脱のおきる時刻に照明すると、離脱が停止してしまう。また胞子離脱の多い時刻の前後に2回照明すると胞子の離脱はほとんどみられない。このようなことからして、胞子の離脱には照明時間について6~8時間の暗黒時間が必要のようである。

光といもち菌胞子の担子梗からの離脱の関係について、Barksdaleら(1961)¹⁾は温室中の病斑面が暗くなると間もなく離脱が始まり、照明をすると著しく減退すること、また夜間に胞子を離脱していた病斑を数日間暗黒あるいは照明下に連続して放置すると、いずれも胞子の離脱は全く行なわれないことを報告した。一方小野・鈴木(1959)は明暗と離脱との関係を実験し、自然の明暗下で形成された胞子は、24時間の照明や暗黒処理の実験では、その明暗の処理に無関係によく離脱することを報告した。これらの結果はそれぞれ相反しているようにも考えられるが、後者は自然の明暗周期下で形成された胞子の照明あるいは暗黒下の離脱の1日以内の実験に相当するが、前者は本実験における光を受けたことのない胞子の離脱の実験であるからこの両者は相反した結論ではない。

このようにして、いもち菌胞子が離脱するためには日

中の明るい環境から夜の暗い環境に入ることが必要であって、この逆の暗いところから明るいところにてた場合には離脱がおきない。これは *Daldinia* 菌の胞子の離脱とよく似ているものであり、Ingold ら (1955) は *Daldinia* 菌は明るいところから暗いところに入ると胞子の離脱が始まることを報告し、*Sordaria* 菌の暗いところから明るいところにてた場合の離脱とは、逆の要因のはたらいていることを述べており、この現象は日中明るいときに光エネルギーを吸収して、暗黒下において菌体に何らかの変化が生じ、これによって胞子の離脱がおきるものと推論しているが、いもち菌胞子の場合も、飽和湿度の条件下で、*Daldinia* 菌と似た現象がおきているものと考えられる。

IV む す び

いもち菌胞子離脱の要因として温度、湿度、風、水滴

などが考えられていたが、しかし、これらは暗天における胞子の離脱周期を説明するには十分でなかった。いもち菌胞子が真夜中の 1~3 時に沢山飛散するのは、自然における暗黒のくりかえしの周期に反応して胞子が離脱するためであって夜に胞子の離脱することが多いことは流行上重要なことがらである。

引用文献

- 1 Barksdale T.H. & G.N. Asai (1961). *Phytopath.* Vol. 51; 313-317
- 2 Ingold C. T. & V.J. Cox (1955). *Ann. Bot. N.S.* 19: 201-209
- 3 三沢正生・松山宣明 (1960). *日植病報* 25: 3
- 4 小野小三都, 鈴木穂積 (1959), *北陸病虫研報*, 7: 6~19
- 5 鈴木穂積 (1957). *北陸病虫研報* 5: 1

いもち菌胞子の実用的な大量培養形成法

鈴木 幸雄

(農林省北陸農業試験場)

I はじめに

いもち病に対する品種の抵抗性を検定する場合などに、行なう噴霧接種法は、簡便で接種効率も比較的高いが、圃場などで多数の育成系統に対して接種する場合には、大量の胞子の準備が必要であるほか、これらの胞子を必要に応じて随時提供し得るような確保体制をとるべくしておくことが重要である。

これらのことに関連して、従来から多くの研究者が工夫改良しているが、著者らがさきに報告したように、いもち菌胞子の培養形成には後培養において通気と光線照射による同調処理が効果的であることを認めているので、その点を十分にとり入れた大量培養形成装置を試作した。著者はこの装置によって、20~30 a の被検定育成系統の噴霧接種準備を行なっているが、良い結果を得ているので、その方法と装置を紹介し参考にとり供したい。

II 培養形成法

培養の基本は比較的材料の得られやすい大麦穀粒培養法によっているが、培養段階を前培養（菌糸繁殖）と後培養（通気・光線照射同調処理）とに分け、後培養は後記のような同調装置を用い、恒温恒湿の病菌接種室で行なった。その具体的事項および保存準備法は次のとおりである。

前培養 300ml の三角フラスコに大麦（皮麦）50 g

と水道水 60ml を入れてオートクレーブで高圧殺菌し、これに菌（胞子をよくつくる菌株をあらかじめ選抜しておく）を移植し、24~26°C の定温器で 8~12 日間前培養する。その際培養途中で、フラスコを毎日、強振とうし、菌糸が全穀粒表面に均一に繁殖するようにつとめる。このことは前培養における大切な処置である。

前培養が終了すれば、1 フラスコ当り約 70ml の殺菌水を入れて再び振とうし、そのまま 1 夜静置する。これは前培養中に生じた気中菌糸を穀粒表面から除く効果と穀粒への水分補給をねらったもので、この処理も重要である。

このように吸水膨張させた培養穀粒を、殺菌したケーキパット培養皿（後記）1 枚にフラスコ 2 コ分をひろげて後培養に移す。

後培養装置 本体は電研育苗器を利用したもので構造は第 1 図に示すとおりである。

これは鉄骨の組立式となっており、縦 146cm、横 67cm、高さ 133cm、内部に 7 段 4 列の棚が設けられている。これに、後記する培養皿をのせ、側面にとりつけた蛍光灯によって皿の表面が均一に照射されるようにする。光源の蛍光灯は、植物育成用の NEC—FL40BR タイプを使用し、これを育苗器側面に 8 灯とりつけた。なお、培養皿は、縦 22cm、横 32cm、深さ 2cm のアルマイト製のケーキパットを用いた。

後培養中の温湿度調節 後培養は、恒温恒湿接種室