

いもち病斑の発現に及ぼす温度の影響および I—KI による病斑の早期検出

吉野 嶺 一 (農林省北陸農業試験場)

イネいもち病の潜伏期間と温度との関係についてはすでに逸見らによって詳細な研究が行なわれ、26~28°Cまでは温度の上昇ともなつて潜伏期間は短縮するが、温度がさらに上昇すると潜伏期間は再び長くなることを明らかにし、千葉らは圃場での観察結果から最低気温18°C以上が2日間続いた場合、5~10日後にいもち病の初発生が認められることを報告している。

また、いもち病病斑周辺部の澱粉蓄積については、吉井が病斑周辺部の澱粉の減少を報告しているのをはじめ、木場はいもち病斑には広汎性同化澱粉微量地帯が存在することを報告し、後藤らは病斑の部分による澱粉分布の違いについて述べ、銚谷は病斑型と澱粉蓄積について論じている。筆者は本田初期の葉いもち病発生を予察する目的で、接種後の温度と病斑発現について実験を行ない報告したが、その後いもち病の潜伏期間と平均気温の間にはほぼ直線的な関係が存在すると考えられる結果および、ヨード・ヨードカリによる染色反応から病斑発現以前に潜在罹病性病斑の検出が可能である実験結果を得たのでここに報告する。

なお、試験の実施にあたっては前室長山口富夫博士から終始御指導を賜わり、現室長茂木静夫博士からは原稿の御校閲をいただいた。ここに御礼申し上げる。

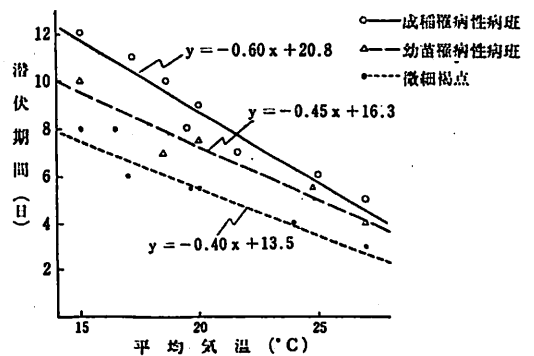
I いもち病の潜伏期間と温度との関係

1 試験方法 ポット栽培した水稻品種日本海に、5~6葉期および出穂20日前の2回、それぞれ顕微鏡1視野(10×15)約20コに調整した孢子液(N-1レース)を噴霧接種し、23~27°Cの侵入好適温室中に20時間保った後、各温度処理区に設置し、病斑発現までの日数を調査した。温度処理はコイトロンを用い、15°C(±0.5)、20°C(±0.5)、27°C(±1)の3段階を設けた。さらに接種後15°Cにおいた稲の一部を1・3・5・7・9日後に27°Cに移し、変温処理区とした。病斑発現までの日数の調査は、接種後比較的早期に現われるb型微細褐点といもち病の蔓延に関係の深いと考えられるPg~Ybg型罹病性病斑にわけて観察し、各処理区10個体の大部分に病斑が認められる日までの日数を潜伏期間とした。

2 試験結果 病斑発現に要した日数から各温度処理区の平均気温を逆算し潜伏期間と温度との関係を調査した結果が第1表および第1図である。

第1表 潜伏期間と温度との関係(日本海)

調査項目		処理温度		15°Cに置いた日数							
		27°C	20°C	1日	3日	5日	7日	9日	12日		
幼	微細褐点	潜伏期間(日)	3	5.5	4	—	6	—	—	8	
	平均気温(°C)	27	20	24	—	17	—	—	—	15	
苗	罹病性病斑	潜伏期間(日)	4	7.5	5.5	—	7	—	—	10	
	平均気温(°C)	27	20	24.8	—	18.5	—	—	—	15	
成	微細褐点	潜伏期間(日)	3	5.5	4	5.5	6	8	8	—	
	平均気温(°C)	27	20	24	19.7	17	16.5	15	15	—	
稲	罹病性病斑	潜伏期間(日)	5	9	6	7	8	10	11	12	
	平均気温(°C)	27	20	25	21.6	19.5	18.6	17.2	15	15	



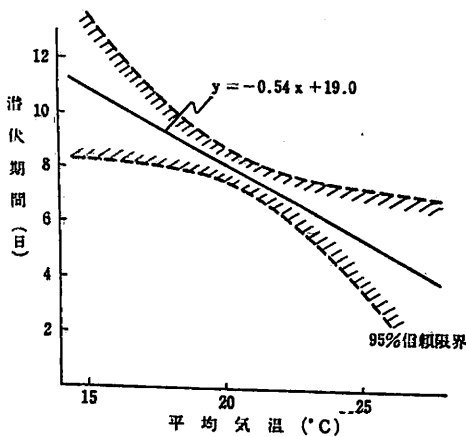
第1図 潜伏期間と温度との関係

成稲および幼苗におけるいもち病潜伏期間の温度による影響は微細褐点・罹病性病斑のいずれにおいても同じ傾向が認められ、実験温度範囲においては平均気温が高いほど潜伏日数が短くなる結果が得られ、これは従来知られている結果と一致する。しかし、稲のageあるいは病斑型によって潜伏期間に対する温度の影響に若干差が認められた。第1表に示したように接種後比較的早く発現が認められる微細褐点では幼苗と成稲の間に差は認められず、いずれも17・24・27°Cにおける潜伏期間は6・4・3日であった。これに対し、罹病性病斑では同一温度においても幼苗と成稲の間に潜伏日数に差が認められ幼苗では27・20・15°Cでの潜伏期間は4・7.5・10日であったのに較べ、成稲では5・9・12日で幼苗より、潜伏期間が長く、しかもその差は低温になるほど大きくなる傾向が認められた。このように病斑型・稲のageによる潜伏期間に対する温度の影響は異なるが、いずれの場合にも第1図に示したように潜伏期間と温度

の間に明瞭な直線関係が認められ、微細褐点では $y = -0.40x + 13.5$ 、また罹病性病斑の 5 葉期の幼苗では $y = -0.45x + 16.3$ 、出穂 2 週間前の成稲では $y = -0.60x + 20.8$ の関係式が得られた。

3 考察 葉いもち病の潜伏期間が本田初期ほど長く、いわゆる蔓延期に入ると短くなることは一般によく知られており、これは稲作期間が進むほど高温に経過するようになるためと考えられる。これは前記実験の結果からも明らかに認め得ることであり、潜伏期間と平均気温の間には直線関係が成り立ち二次の曲線性については有意な結果が得られなかった。

1970年 6月11日～7月30日の葉いもち期間における高田地方の10日毎の平均気温は19.1, 20.9, 24.3, 23.9, 27.7°Cであった。一方、成稲と幼苗の調査結果をコミにした罹病性病斑の平均潜伏期間は第2図に示したように $y = -0.54x + 19.0$ で与えられ、6～7月各旬の潜伏期間を計算すると6月中旬で9日、下旬では8日、7月上旬・中旬では6日、7月下旬では4日の潜伏期間が得られた。実際に6月11日に圃場において接種した場合、6日後の6月17日から病斑が認められ始めたが量的には少なく、接種7～8日後に大部分の病斑が発現し、これは第2図の95%信頼限界にはば入るものと考えられる。したがって、本実験から得られた結果は自然条件においてもほぼ当てはまるのではないかと考えられる。また、稲の体質と潜伏期間については井村の遮光処理後接種した稲では潜伏期間が短縮するという報告もあり、施肥量・日照などの違いと潜伏期間についても実験する必要があると考えられる。



第 2 図 罹病性病斑の潜伏期間

II ヨード・ヨードカリによる病斑の早期検出

前記の実験において接種後 15°C におかれた稲では罹病性病斑の発現までに約12日を必要とすることを述べたが、このような低温時における潜在病斑を早期に検出するためにヨード・ヨードカリ液による染色を試みた。

1 試験方法 いもち菌接種後 25, 15°C においた 4 葉期の日本海幼苗を、接種 2 日～7 日後に連日最上葉を採取し、肉眼による病斑発現の有無を観察した後、ヨード・ヨードカリによる病斑の検出を行なった。病斑の検出にあたっては、採取葉をメタノール・アセトン 3 : 1 混合液中に 24 時間ずつ 2 回浸漬し、脱色した後ヨード・ヨードカリ液中に浸漬した。この処理によって罹病性病斑の中毒部あるいは初期病斑の侵入点周辺部はほとんど染まらないのに対し、その他の部分では赤紫色～暗紫色に染まり、病斑の検出を容易に行なうことができた。

次に接種後 20.2～23.2°C の温室中においた 5 葉期の日本海について接種 2～7 日後に各 10 葉を採取して、肉眼観察による病斑数を微細褐点と罹病性病斑にわけて調査し、この結果とヨード・ヨードカリ検出病斑数 (I-K I 検出病斑と呼ぶ) との関係について検出した。

最後に、N-3 レースを水稻品種、愛知旭・クサブエに接種また C-8 レースを石狩白毛・フクユキ・長香稲・野鶉稈・関東 51 号に接種し、7 日後の病斑数と I-K I 検出病斑数との関係を調査した。

2 試験結果 接種後の温度処理をかえた場合の病斑の検出は第 2 表に示したように、肉眼観察では 25°C 処理区で接種 3 日後に微水浸状病斑が認められ 4 日後から罹病性病斑が認められ始め、5～6 日後に多数の罹病性病斑が観察された。これに対し、15°C 処理区では接種 5 日後に微細褐点が観察され、その後次第に数は増加したが 7 日後でも罹病性病斑が認められなかった。一方 I-K I 検出病斑は 25°C 処理区では接種 2 日後から、

第 2 表 接種後日数と病斑の検出

(日本海 4 葉期)

接種後日数	25°C		15°C	
	肉眼	I-K I	肉眼	I-K I
2 日	なし	+	なし	-
3 日	微水浸状	+	〃	-
4 日	罹病性病斑	+	〃	+
5 日	〃	+	微細褐点	+
6 日	〃	+	〃	+
7 日	〃	+	〃	+

また、15°C 処理区で接種4日後から認められ、低温時に病斑の早期検出が可能のようであった。

肉眼観察と I—K I 検出による病斑数の推移を接種後経時的に調査した結果は第3表に示した。肉眼では微細褐点が接種2日後から、罹病性病斑は接種3日後から観察されたが、大部分の病斑発現が認められたのは微細褐点で接種5～6日後、罹病性病斑で接種6～7日後であった。これに対し、I—K I 検出病斑は接種2日後では少ないが接種4日後以降において多数の病斑が検出された。検出病斑は接種2日後では0.5×0.3mm、3日後で10×0.8mmで侵入点を中心としてほぼ円形の I—K I に染まりの薄い部分が認められ、4日後では2.5×1.8mm、ではほぼ紡錘形に近く、澱粉滞積のない壊死部周辺中毒部が検出された。また、その大きさも肉眼4日後の0.3×0.2mmよりいちじるしく大きく、観察が容易であった。しかし接種7日後では病斑周辺が重合して計数することが困難となり、実験温度20.2～23.2°Cの範囲では接種4～5日後の検出が適当のようであった。I—K I 検出病斑数は肉眼観察による罹病性病斑数より常に多く、総病斑数と較べると接種3、4日後では総病斑数より多く、接種2日目および5日後以降では総病斑数より少なくなっている。このことは接種3～4日では未発現の潜在罹病性病斑が I—K I によって検出されたものと考えられ、また接種5日後以降では肉眼で褐点と判定される病斑の一部に中毒部を持ち、I—K I によって検出される病斑があることを示していると考えられる。

上記のことは第4表に示したように品種とレースの組み合わせをかえて接種し、7日後の病斑数と I—K I 病斑数を比較した場合にも認められた。すなわち、クサブエに N—3 レースを、フクユキに C—8 レースを接種した場合のように抵抗性反応を示す組み合わせでは、多数の微細褐点が認められるにもかかわらず、I—K I 検出病斑数は0であり、いわゆる R の反応を示す場合には I—K I による病斑検出ができない。これに対し、愛知旭に N—3 レースを、長香稲・野鶏梗・関東51号に C—8 レースを接種した罹病性反応を示す組み合わせでは、微細褐点と罹病性病斑が発現し、I—K I による病斑検出が可能であった。また、I—K I 検出病斑数はそれぞれの品種に発現した罹病性病斑数より多く、総病斑数よりも少なかった。したがって I—K I 検出病斑は肉眼で観察可能および不可能な罹病性病斑を検出しているものと考えられる。例外的に石狩白毛に C—8 レースを接種した場合7コの I—K I 検出病斑が認められたが、この原因は不明である。

第3表 観察法による病斑検出の相違

(日本海5葉期20.2～23.2°C)

接種後日数	肉眼観察			I—K I 検出	
	微細褐点	罹病性病斑	大きさ	検出病斑	大きさ
2 日	4.0	0	pinhole	0.4	0.5×0.3mm
3 日	1.5	0.2	〃	4.0	1.0×0.8
4 日	6.7	0.6	0.3×0.2mm	15.5	2.5×1.8
5 日	19.6	4.4	1.0×0.5	17.9	3.5×2.1
6 日	12.5	12.0	1.4	16.7	4.0×2.7
7 日	7.2	19.5	1.7	重合	—

第4表 I—K I 検出病斑と病斑型との関係

接種菌型	品 種	病斑反応型	病 斑 数		I—K I 検出病斑数
			b	pg~ybg	
N—3	愛知旭 クサブエ	S	179	11	17
		R	70	0	0
C—8	石狩白毛 フクユキ 長香稲 野鶏梗 関東51号	R	124	0	7
		R	73	0	0
		S	132	86	128
		S	23	39	44
		S	27	52	64

3 考 察 葉に斑点性病斑を形成する植物病害の多くは、菌の侵入によって同化作用に混乱が生じ、同化澱粉の分布に不均衡をひきおこす。木場はこの様な斑点性病斑を分類し、イネいもち病を各種露菌病などと同様に広汎性同化澱粉微量地帯を持つ病害としている。典型的ないもち病斑は崩壊部・壊死部・中毒部を持つが、後藤らによれば壊死部および中毒部外周に濃い澱粉滞積部があり、中毒部には澱粉滞積はなく、この中毒部は意外に広いと報告している。したがって本実験における I—K I 検出病斑は澱粉滞積のない中毒部を対照に検出を行なっていると考えてよく、いわゆる R 反応を示す菌と品種の組み合わせにおいて中毒部を持たない b 型病斑が I—K I によって検出されないのは当然であり、石狩白毛と C—8 レースの組み合わせで少数の病斑を検出したことは特殊な例と考えられる。その他の型の病斑においては鎌谷が指摘しているように、進行性の w~pg 型病斑であっても、停滞性の ypg~ybg 型病斑であっても澱粉滞積のない中毒部があり、いずれも I—K I によって検出される。いもち病斑における中毒部は、例えば葉鞘接種を行なった場合、アンモニウム性硝酸銀陽性反応が菌糸の伸長に先行して、褐変を起す前の隣接細胞にも認められることから、病斑発現に先立って菌糸の未侵入細胞もこれに含まれると考えられ、それだけ I—K I による検出が容易であり、早期検出が可能となるものと考えられる。これらのことから本実験に示した罹病性病斑の早期検出に I—K I を用いる方法は発生予察のように、

少しでも早く病勢の動きを知ろうとする場合には有効であると考えられる。I-K Iによる病斑の検出はF A A固定材料でも可能であるが、この場合には脱色が不十分なため検出病斑の色の濃淡が不鮮明となり、本法のようにメタノールアセトンを用いる方が鮮明な病斑が検出された。また、検出のための脱色に要する時間はメタノールアセトンの量を多くするか、または液をひんばんにとりかえることによって短縮することが可能であり、採取葉についてその日の内に病斑を検出することも可能であった。また、I-K Iによって過染した場合には水洗によって脱色することができた。

III 摘 要

1 葉いもち病の潜伏期間は稲の age, 病斑型によって若干異なるが、葉いもち流行期の罹病性病斑の潜伏期間は平均気温の一次式で表わすことが可能であり、およそ $y = -0.54x + 19.0$ で計算される。

2 罹病性病斑は罹病葉をメタノールアセトン 3 : 1 で脱色し、ヨード・ヨードカリ液で染色することにより、早期に検出することが可能であり、肉眼観察による病斑発現が接種 6 ~ 7 日後であったのにたいし、I-K I 検出病斑は 4 ~ 5 日後であった。この検出法は低温の場合に殊に有効であり、いもち病の発生初期において発

生子察に利用できると考えられる。

引用文献

- 1) 鏡谷大節 (1958) 稲熱病抵抗性品種育成に関する植物病理学的研究 (第 2 報). 東北農試報告. 14 : 15 ~ 21.
- 2) 千葉末作・鷲尾貞夫・中川原孝 (1960) 圃場における葉いもちの発生時期. 発生量と葉鞘接種による被害度. 北日本病虫研年報. 11 : 19 ~ 22.
- 3) 後藤和夫・深津量榮 (1955) 病斑周辺の澱粉滞積について. 東近農試報告. 栽培部 2 : 41 ~ 51.
- 4) 逸見武雄・安部卓爾・池屋重吉・井上義孝 (1936) 稲熱病に関する研究 (第 IV 報). 農事改良資料. 105 : 1 ~ 145.
- 5) 井村純三 (1940) 稲熱病及び稲胡麻葉枯病の潜伏期間並に発病程度に及ぼす日光の影響に就きて. 日植病報. 10 : 16 ~ 26.
- 6) 木場三朗 (1952) 作物の発病と収量との関係 2. 農及園. 27 : 285 ~ 286.
- 7) 吉井 甫 (1937) 稲熱病に関する研究 III. 日植病報 6 : 289 ~ 303.
- 8) 吉野嶺一・山口富夫 (1970) いもち病菌接種後の温度と発病との関係 (講要). 日植病報 36 : 156 ~ 157.
- 9) 吉野嶺一・山口富夫 (1970) 稲葉鞘におけるいもち病菌侵入に伴う Fontana 液陽性反応, 第 22 回北陸病害虫研究会講演 (1970).

イネいもち病菌の葉身組織内菌糸の観察法*

吉野 嶺 一 (農林省北陸農業試験場)

植物病原菌の寄主体への侵入・伸展の観察にはマイクロームあるいは徒手切片を用いた顕微鏡観察、最近では超薄切片による電顕観察が多く行なわれている。これらの観察方法と並んで侵入頻度・菌-寄主反応を知るために従来から用いられている方法として、表皮を剝離して染色する方法、あるいは大きな組織片を透明化する leaf clearing method があり、このような観察方法は生態的な立場から菌の侵入を調査しようとする時、きわめて有用であると考えられる。leaf clearing method は古くから多数の植物病原菌の観察に用いられており、1930 年代の初めにラクトフェノールに浸漬する方法が報告されているのをはじめ Leven はピリジンで脱色後ラクトフェノールコットンブルーで染色することにより、キャ

ベツ・キュウリ・イチゴ・タバコ等各種の植物で病原菌の観察が可能なることを報告し、Isaac はジオキサンとプロピオン酸で固定後ヘマトキシリンガムで染色マウントすることによりさび菌・うどん粉病菌を観察し、White らは大麥うどん粉病菌をラクトフェールアニリンブルーで染色し、Janes は塩素ガスで漂白後メチルバイオレットで染色してトマト輪紋病を、Adegbola らはカルノア液で固定後ラクトフェノールアニリンブルーに浸漬して Pythium bean blight を観察するなど多数の報告がなされている。稲の病害においては水酸化カリに罹病葉を浸漬して黄化萎縮病菌卵胞子を観察することは広く知られているが、いもち病菌については伊藤らがピアネーズ液で染色後カルボールターベンチンに浸漬する方法を、鈴木がサフランニンで染色後フェノールに浸漬する方法を

* 本報告の一部は昭和 46 年度日本植物病理学会大会において報告した。