

いもち病菌の針接種法とそれによるレースの簡易検定

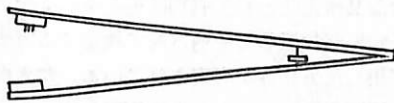
岩野 正 敬 (北陸農業試験場)

M. IWANO : A needle-prick inoculation method and its application for simple identification of races of rice blast fungus

三沢¹⁾により考案されたパンチ接種法はイネ葉身の任意の部位に病斑を形成させることができ、その利用範囲は広い。徳永²⁾らはその後、接種源に改良を加え孢子ペイスト法を考案した。また大畑³⁾らは針束接種をおこなって病斑を形成させているが、これらの方法は接種源の調整方法にやや簡便さを欠いている。パンチ接種法の場合、接種器具でイネ葉身を圧迫してかなり広範囲の組織を破壊するため実験の目的によっては不都合な場合があり、また病斑が不規則に拡大する傾向がある。そこで筆者はこれらの欠点を改良するため針接種による接種方法を考案し、併せてそれをレースの簡易検定に応用することを試みたので報告する。本稿の執筆にあたっては、病害第1研究室、佐藤善司室長から種々の御教示ならびに御校閲を頂いた。記して厚くお礼申上げたい。

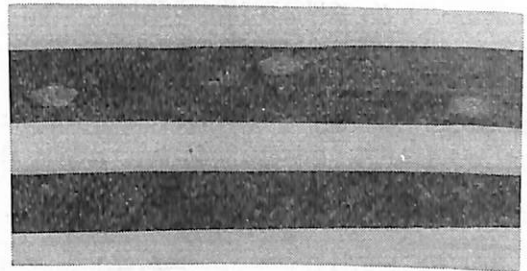
I 針接種の方法

1 接種器具 第1図のように写真用竹製ピンセットの先端部に絹針3針を5mmの長さに切断したものを束にしてとりつける。ピンセットのほかの先端部には平滑なゴム板(10×10mm, 厚さ5mm)を貼りつけ受部とした。この間に葉をはさみ、適当な力を加えて葉を貫通する。



第1図 接種器具

2 接種源の調整方法 a) 殺菌した3%素寒天を9cmシャーレに2~3ml流しこんで薄い寒天膜⁴⁾をつくり、孢子が形成されているオートミール寒天培地をかさねあわせ、少し加圧して孢子を寒天膜に付着させる。ニクロム線の先端を扁平にして作った移植器具(幅約1mm)で孢子の付着した寒天膜を約2mm角に切りとり、孢子の付着面を接種器具であらかじめ貫通した部位に貼りつけることにより接種が完了する。これを温室に所定時間保った後にガラス室に移せば夏期だと3~4日で病斑が



第2図 針接種法により形成された病斑
上:イナバワセ (Pi-i) 下:クサフエ (Pi-k)
007 (N-1) 菌接種後7日目

あらわれてくる。そして7~8日目頃から病斑の先端部から褐変をはじめてくるが、基部は進展を続ける傾向がある。(第2図)

b) 病斑上に形成された孢子を接種源にする場合は、多量に孢子が形成されている病斑の裏側を寒天膜におしつける。孢子が少ない場合はシャーレ内に湿らせた濾紙を敷き、更に水を含ませた脱脂綿塊を置き、絶えず水分を供給するようにして病斑を置く。シャーレの上ぶたを少しあけて通気して室内におくか、または蛍光灯で照明すると病斑上の気中菌糸の発生が少なく、20~40時間後には多量の孢子が形成される。病斑を数回、寒天膜におしつけてもなお孢子が付着するので、長さ10mm, 幅3mm位の病斑であれば、1病斑から30~40個の接種源を得ることも可能である。孢子濃度は顕微鏡(オリンパスEH CRTR-1型×150倍)の1視野当り20個以上がよいが孢子数が多いほど、寒天膜を切りとる際に孢子が白色の塊となってみえるため接種作業がしやすい。

II 針接種法によるレースの簡易検定

前述したように本法によると1病斑から多数の接種源が容易に得られしかも整一な病斑を形成させることができるのでレースの簡易検定に利用することを試み若干の試験をおこなった。

1 噴霧接種法と針接種法によるレース判別品種上での病斑型の比較 レースの異なる7菌株と山田らによ

り提案された新判別品種を用い、第 5 葉期に接種して噴霧接種と針接種による病斑型を比較した。その結果、噴霧接種で感受性反応をしめす組合せは針接種でも大きい感受性 (S 型) の病斑を形成した。なお噴霧接種と比較して針接種では病斑の出現が 1~2 日早かった。噴霧接種で褐点 (R 型) の病斑を生ずるものは針接種では針による付傷部が灰褐色のやや大型の病斑となったが明らかに S 型病斑とは異なっていた。噴霧接種で無病斑のものは針接種では針による付傷部だけが褐変した。ただし、ヤシロモチは噴霧接種による病斑型と針接種による病斑型が異なっていた。濃厚な孢子液を噴霧接種した場合、ヤシロモチは中間反応の M 型病斑を多数生じて R 反応から S 反応が判断しがたいことがある。針接種の場合はその傾向が更に明瞭で、いずれの菌株を用いても R 反応とは判定しがたい大型の S 型病斑を形成した。これらの結果

からヤシロモチに対する反応を除き針接種でレースの簡易検定が可能であると考えられる。

2 一般農家水田から採取した病斑を用いたレースの簡易検定 水田で自然発病している葉いもち病の病斑を採取し、湿らせた脱脂綿でぬぐい前述の方法で孢子を形成させた後、判別品種に針接種 (1 品種 2 個体、1 葉に 3 ケ所) してレースを検定した結果と、同じ病斑から単孢子分離をおこなって得た菌株を常法により噴霧接種してレースを検定した結果とを比較してみるとヤシロモチに対する反応を除き、16 病斑中 15 病斑が同一の反応型をしめしたが 1 病斑だけが異なった反応型をしめした。

3 1 病斑中におけるレースの混在程度の確認 針接種法によるレースの簡易検定は 1 病斑中におけるレースの混在を無視し、1 病斑 1 レースを前提とした方法で

第 1 表 穂首いもち病々斑から分離された菌株のレース

判別品種	コード番号	単一レースが得られた病斑											複数レースが得られた病斑										
		1*	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16						
新 2 号	1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
愛知旭	2	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S
石狩白毛	4	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
関東 51 号	10	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S
ツユアケ	20	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S
フクニシケ	40	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
ヤシロモチ	100	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
Pi No. 4	200	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
とりで 1 号	400	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
レ ー ス		003	003	003	003	003	003	003	003	007	031	033	033	037	101	003 033	003 043	003 077	033				
分離菌株数		16	30	16	14	12	11	25	10	20	9	10	16	24	8 19	3 14	17 1 6						

* : 新潟県下の各地から採取したコシヒカリの病斑番号

あるため、水田で自然発病している病斑上でのレースの混在程度を明らかにしておく必要がある。1975年に新潟県下の各地から採取したコシヒカリ (真性抵抗性遺伝子がなく、すべてのレースに S 反応をしめす) の罹病穂首を供試して、1 病斑から 10~30 個の単孢子分離菌株を得て常法によりレースを検定した。その結果 (第 1 表)、16 病斑中 13 病斑から単一レースだけが分離されたが、1 病斑から 2 および 3 レースが分離された場合もあった。葉いもちでは供試 4 病斑のすべてから単一レースが分離された。

考 察

ヤシロモチを除き針接種法により判別品種に形成された病斑の病斑型からレースの簡易検定をおこなうことが可能であると考えられる。山田らも述べているように濃厚な孢子液をヤシロモチに噴霧接種した場合、中間反応の M 型病斑を多数生ずるが針接種では S 型病斑と区別し

がたい大型の病斑を形成する。この差異がどこに基因するものかは不明であるが、将来ヤシロモチに替るレースの判別に適した品種を探索する必要がある。これまでにレースの簡易検定法として判別品種のセットを調査対象水田に一定期間放置して発病させて検定する方法^{6,7,8)}、注射接種を応用した方法等⁹⁾が考案されている。前者の方法は病原性の範囲の狭いレースとより範囲の広いレースの判別が難しくなる危険性があるし、初発時のように発病に関与する孢子数が少ないと考えられる場合には、その孢子が S 型病斑を形成させる頻度が低くなり誤って判定することにもなりかねない。しかし実用的には病原性の範囲の広いレースを検知できるという点でこの方法は優れたものと考えられる。後者の方法は 1 病斑ですべての判別品種に接種できる孢子液を得ることは困難であるし、反応型が噴霧接種のそれと比べてより罹病的に発現¹⁰⁾することも検定の際不都合である。中村らは採取した病斑又は病斑上に形成させた孢子を直接判別品種に接種す

る方法を試みたが接種成功率が低い(50%以下)こと、病斑発現までに遅い場合は15日を要すると報告している。針接種法は中村らの方法と比較して接種成功率が高いこと、病斑発現までの日数が短いこと、1病斑から多数の接種源が得られることが利点である。一般的にはさほど高率ではないが1病斑内に複数のレースが混在していることは事実であり、針接種による方法でも結果として病原性の範囲の広いレースを検出したことになる危険性はある。しかし1病斑から1個の単孢子分離菌株を得てレースを判定する方法より簡便で实际的であろう。吉野¹¹⁾は発生予察の立場から初発前に幼苗トラップを水田に設置して、水田のイネに病斑がみられる1週間前に幼苗トラップに病斑が形成されることを報告している。このような方法で得られた病斑を供試して直ちに針接種をおこなえば5~6日でレースの簡易検定ができるので初発時のレースを知るためにも有効な方法であると考えられる。

摘 要

いもち病菌を簡便に接種して整一な病斑を得るために針接種法を考案し、併せてレースの簡易検定に利用できることを明らかにした。

引用文献

- 1) 三沢正生(1959)いもち病接種法についての考

案。植物防疫13:15~16. 2) 徳永芳雄ら(1965)水稻の代謝生理とイモチ病との関係. 第2報 磷酸代謝と葉イモチ耐病性. 東北農試研報32:61~88. 3) 大畑貫一ら(1966)イネのいもち病抵抗力に及ぼす低温の影響. ならびに抵抗力の変動とイネの体内成分との関係. 農研報告C第20号:1~65. 4) 関口義兼・古田力(1966)いもち病菌分生胞子の同時多量形成法(講要). 日植病報27:67. 5) 山田昌雄ら(1976)いもち病菌レース新判別法の提案(英文). 日植病報42:216~219. 6) 浅賀宏一・吉村彰治(1968)圃場におけるいもち病菌菌型の簡易推定法. 関東東山病虫研報15:7. 7) 中西勇・西岡幹弘(1972)いもち病菌菌型の簡易検定法. いもち病菌の菌型に関する共同研究(第3集):128~132. 8) 藤川隆ら(1972)いもち病菌菌型の簡易検定法. いもち病菌の菌型に関する共同研究(第3集):132~135. 9) 下山守人・寺沢祖(1968)いもち病菌菌型群の簡易検定について. 関東東山病虫研報15:6. 10) 中村啓二ら(1972)予察圃場などにおけるいもち病菌菌型およびその分布型などの簡易調査方法. いもち病菌の菌型に関する共同研究(第3集):140~146. 11) 吉野横一(1977)イネいもち病菌の侵入に関する予察的研究V. 機械植補植苗の葉いもち伝染源としての役割および幼苗 Trap の初発日調査への利用. 北陸病虫研報25:6~13.

(1977年6月8日受領)

昭和51年の異常低温下におけるいもち病圃場抵抗性強品種の発病の実態調査

鈴木穂積・藤田佳克(東北農業試験場)

H. SUZUKI and Y. FUJITA: Survey of actual conditions of rice blast development of field resistant varieties in cool summer, 1976.

昭和51年の東北地方の稲作は夏期の異常低温により、冷害といもちによる被害が発生した。このような異常低温年にいもち病圃場抵抗性強品種の抵抗性は安定したものであったかどうかを知ろうと横手盆地と北部阿武隈山地で実態調査などを行なったのでその結果を報告する。

本調査には当場栽培第一部作物第一研究室長渡辺進二博士、福島県農業試験場病虫部の御協力を得たので御礼申し上げます。

調査地区と方法

調査地区は次のとおりである。

横手盆地：田沢湖町玉川，同町下田沢，大曲市大戸，仙北村横堀，六郷町白山，仙南村寺田，横手市石町，十文字町富沢，湯沢市上ノ宿，雄勝町石戸，同町長倉。

北部阿武隈山地：三春町要田，船引町西向，山根町雨乞平，都路町岩井沢地内2カ所，同町上山口，大熊町野上，富岡町，原町石神，同町大原，飯館村八木沢，同村比曾。

発病調査は1地区10筆以上の水田を水田単位に次の基準で行なった。①籾いもち：1穂の $\frac{2}{3}$ 以上の枝梗が罹病している穂の1株当たり発病穂率を，1水田10株について調べ，次の5段に分けその水田の発病程度とした。0—