

- 1) Iwasaki, S., Nozoe, S., Okuda, S., Sato, Z. and Kozaka, T. (1969) Isolation and structural elucidation of a phytotoxic substance produced by *Pyricularia oryzae* CAVARA. *Tetrahedron Lett.*

3977—3980. 2) 佐藤善司・宮越盈 (1974) ピリキュロールの定量法および生成条件について (講要). 日植病報40: 174.

イネ箱育苗に発生する *Rhizopus* 属菌の防除について 第5報 *Rhizopus* 属菌の産生物質がイネ幼苗におよぼす影響

郷 直俊*・佐藤 善司**・矢尾板恒雄*・青柳 和雄*

(*新潟県農業試験場**北陸農業試験場)

N. GHO, Z. SATO, T. YAOITA and K. AOYAGI: Studies on the control of *Rhizopus* in the nursery cases of rice seedlings. 5 Influence of a phytotoxic substance produced by *Rhizopus* on growth of rice

稻作の機械化により稚苗育苗が広く普及するに伴い、従来認められなかった病原菌による病害が育苗箱に多発し、大きな問題となっている。筆者らはそれらの中で *Rhizopus* 属菌の研究に着手し、前報¹⁾ではリゾーブス苗立枯病を発生させる重要な病原菌として、*Rhizopus chinensis* を明らかにするとともに、新潟県内の育苗床土における本菌の分離状況、および発生生態について報告した。また、*R. oryzae*, *R. arrhizus*, *R. javanicus*, *R. delemar* が分離されたことも述べた。リゾーブス苗立枯病の病徵発現に関して、古谷ら (1974) は本属菌発生土壤浸出液を用いてイネ幼苗の根端肥大を再現し²⁾、佐藤ら (1974) は *Rhizopus* 属菌培養ろ液からイネ幼芽・幼根の伸長を阻害する物質としてフマル酸を報告した³⁾。筆者らは *Rhizopus* 属菌によるイネ幼苗の生育障害には本属菌の產生する毒性物質が関与していると考え、前報¹⁾で報告した 5 種の *Rhizopus* 属菌と発酵研究所から分譲された *R. nodosus* の計 6 種を供試して、イネ幼苗におよぼす生育障害、培養温度条件と菌糸の生育、および液体静置培養で培養液中に產生される毒性物質、などについて検討したのでその結果を報告する。

I *Rhizopus* 属菌によるイネ幼苗の生育障害

1 *Rhizopus* 属菌の接種で発生する障害の差異

R. chinensis, *R. nodosus*, *R. oryzae*, *R. arrhizus*, *R. javanicus*, *R. delemar*, の 6 種を育苗箱、および P S A 培地に接種して育苗し、発生するイネ幼苗の生育障害を比較検討した。

1) 育苗箱で発生する障害: 品種ホウネンワセを播種し、培土に対し 4 : 1 の割合で供試菌株のふすま培養菌を混和して覆土後、32~35°C で出芽させ、綠化以降は 18~25°C で管理し、播種 6 日後に調査した。*R. chinensis* 接種区では、根先端部の異常な肥大と褐変、枯死、鞘葉が水浸状に肥大する奇形、および幼芽・幼根の伸長抑制の症状が顕著に認められた。その他の菌の接種区では、いずれも根先端部の褐変と枯死、わずかな幼芽・幼根の伸長抑制がみられた。異常根の発生状況から判定される障害程度は、*R. chinensis* が最も高く、以下 *R. nodosus* > *R. oryzae* > *R. arrhizus* > *R. javanicus* > *R. delemar* の順であった。

第 1 表 育苗箱で発生するイネ幼苗の生育障害

接種菌	異常根 発生率	鞘葉奇形 発生率	根長	根数	草丈
<i>R. chinensis</i>	55%	51%	19mm	2.9本	45mm
<i>R. nodosus</i>	31	0	27	4.0	55
<i>R. oryzae</i>	19	0	29	4.3	51
<i>R. arrhizus</i>	16	0	26	4.5	51
<i>R. javanicus</i>	11	0	27	4.3	52
<i>R. delemar</i>	10	0	31	4.5	54
对照	0	0	39	5.3	67

注) 異常根は根先端部肥大および褐変。鞘葉奇形は水浸状肥大。供試菌株番号は *R. chinensis* (新潟Rh-2), *R. oryzae* (同Rh-42-2), *R. arrhizus* (同Rh-1), *R. javanicus* (同Rh-51), *R. delemar* (同Rh-13) 区制 1 区 2 迹。調査菌数 1 区 50~71 本。

2) P S A 培地上で発生する障害: ペトリ皿に流し込んだ P S A 培地に供試菌を接種して 32°C, 24 h 培

養後、5 mmに出芽したホウネンワセを菌そうの上に置き、32°Cで72 h保った後に発生した障害を調査した。その結果(第2表)、*R. chinensis* 接種区では育苗箱と同様に、根先端部の肥大と褐変、枯死、鞘葉の奇形、および育苗箱よりも激しい幼芽・幼根の伸長抑制が認められた。*R. nodosus*, *R. oryzae* の接種区も育苗箱と同様、根先端部の褐変と枯死、および著しい幼芽・幼根の伸長抑制が認められた。しかし、*R. delemar* の接種区では、ごく少数の根で褐変が認められたにすぎず、*R. javanicus*, *R. arrhizus* の接種区ではまったく異常は認められなかった。1) および2) の試験結果から、*Rhiz-*

第2表 PSA培地上で発生するイネ幼苗の生育障害

接種菌	異常根 発生率	鞘葉奇形 発生率	根長	根数	草丈
<i>R. chinensis</i>	93%	33%	12mm	4.2本	21mm
<i>R. nodosus</i>	25	0	22	3.9	24
<i>R. oryzae</i>	96	0	10	2.7	25
<i>R. arrhizus</i>	0	0	55	4.2	27
<i>R. javanicus</i>	0	0	51	3.9	24
<i>R. delemar</i>	2	0	49	3.9	28
対照	0	0	36	4.4	26

注) 異常根および鞘葉奇形の症状は第1表と同じ。供試菌株番号は第1表に準ずる。区割 1区 3連。調査苗数1区7本。

opus 属菌の菌糸とイネ幼苗が接触した条件で発生する生育の障害程度は、*R. chinensis* が最も高く、*R. nodosus*, *R. oryzae* がこれに次ぎ、*R. arrhizus*, *R. javanicus*, *R. delemar* では低いと考えられた。なお、根先端部の肥大、および鞘葉が水浸状に肥大する奇形は *R. chinensis* 接種区のみに発生し、他の種では認められず、この病徴は本種によって発生する最も特徴的な症状であった。

2 Rhizopus 属菌の産生物質処理で発生する生育障害

Rhizopus 属菌によって発生するイネ幼苗の生育障害には本属菌の産生する毒性物質が関与していると考え、液体静置培養液でイネ幼苗を処理し、発生する生育障害を検討した。液体培地 [ジャガイモ煎汁液 (30g/l) 1 l にグルコース10 g, ペプトン5 gを加える。] に *R. chinensis* 18 菌株, *R. oryzae* 2 菌株, *R. arrhizus* 3 菌株, *R. javanicus*, *R. delemar* 各1菌株の5種25菌株を接種し、32°C, 48 h 培養後ろ過して菌体を除去した。このろ液を 2 ml 試験管にとり、70°Cの温水で 20 min 減菌操作を行ない (この温度と処理時間では *R. chinensis* の産生物質の毒性は変化せず、菌糸および胞子は死滅した。), さらに水 18 ml を加えて10倍に希釈し、催芽したトドロキワセを処理して発生する生育障害を検

第3表 培養3液処理で発生するイネ幼苗の生育障害

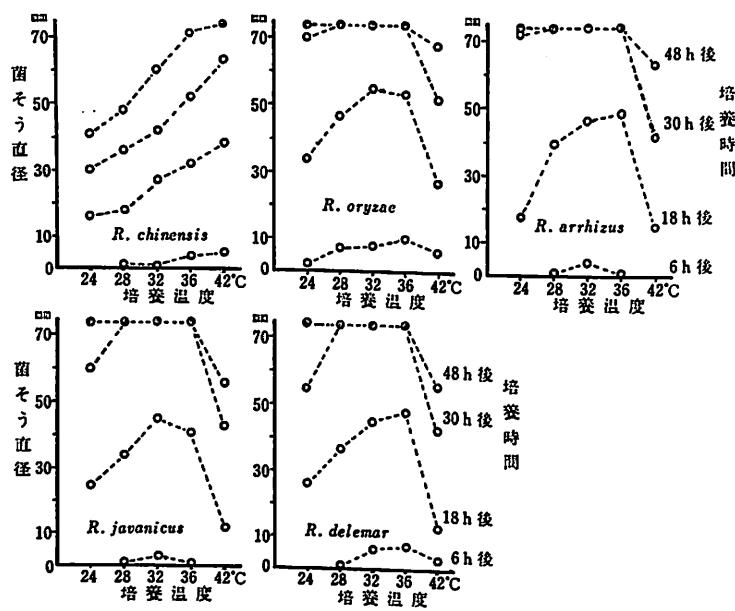
処理区	供試苗株数	根長	根数	草丈
<i>R. chinensis</i>	18株	18mm	3.0本	26mm
<i>R. oryzae</i>	2	47	3.9	29
<i>R. arrhizus</i>	3	47	3.9	29
<i>R. javanicus</i>	1	50	3.6	29
<i>R. delemar</i>	1	49	4.0	30
対照		44	4.4	30

注) 供試菌株番号は第1表に準ずる。対照は培地の1/20希釈液で処理したもの。区割 1区 2連。調査苗数1区15本。

討した。その結果、*R. chinensis* 処理区では育苗箱やPSA培地と同様、根先端部の肥大、幼根の伸長抑制が18菌株すべてに認められた。また希釀しない培養液やエチルエーテル抽出物質を水に溶かして処理するなど、産生物質の濃度を高めると、もう一つの特徴的病徴である鞘葉が水浸状に肥大する奇形が発生し、幼芽の伸長も抑制された。したがって、*R. chinensis* の培養液処理で箱育苗に発生するイネ幼苗の生育障害のうち、根先端部の褐変と枯死を除くすべての症状が再現でき、*R. chinensis* によって発生する障害は本菌の産生する毒生物質によるものと判断した。しかし、その他の種、*R. oryzae*, *R. arrhizus*, *R. javanicus*, *R. delemar* の処理区ではこの方法で、根先端部の肥大や褐変などの特徴的な病徴は再現できず、培養液の濃度を高めて処理しても同様であった。

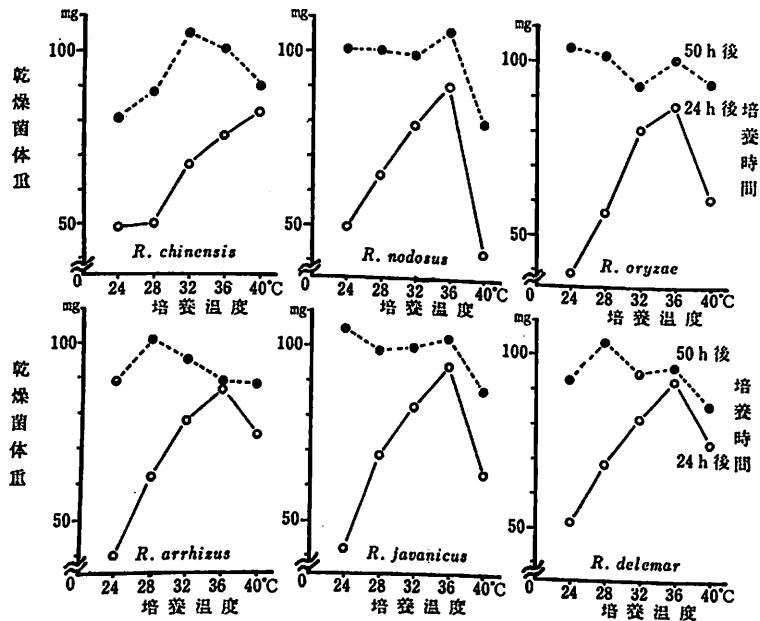
II Rhizopus 属菌の培養温度と生育

R. chinensis の培養温度と生育についてはすでに前報⁹⁾で報告したが、ここではさらに本菌以外の5種の菌株を供試して、PSA培地と液体培地で培養し、培養温度条件と生育の種間差異について検討した。PSA培地を径9 cm のペトリ皿に流し込み、中央にコルクボーラーで打抜いた菌を接種し、それぞれ24, 28, 32, 36, 40°Cに保ち、12 hごとに菌そうの直径を測定し、菌糸の伸長速度を比較した。また前述の液体培地を径9 cm のペトリ皿に20 ml 流し込み、供試菌6種の胞子懸濁液を接種し、24, 28, 32, 36, 40°Cに保ち、24 h後、50 h後に生育した菌糸の乾物重を調べ、生育量を検討した。PSA培地上の菌糸伸長速度は(第1図)、*R. oryzae*, *R. arrhizus*, *R. javanicus*, *R. delemar* の4種は種間にあまり差がなく、32~36°Cで速かったのに対し、*R. chinensis* は42°Cで最も速かった。また*R. chinensis* は36°C以下の条件でその他の種より伸長がかなり遅れたが、菌そうは密であった。液体静置培養24 h後における乾物重(第2図)ではPSA培地上と同様、*R. oryzae*, *R. arrhizus*, *R. javanicus*, *R. delemar* および



第 1 図 P S A 培地における菌糸の伸長速度

注) ◎は菌そうがペトリ皿 (9 cm) 内の全面に伸びきったことを示す。



第 2 図 液体培地における菌糸の生育量

注) 乾燥菌体重は 1 ペトリ皿 (9 cm) で培養、24および50時間に生育した菌糸の乾物重を示す。

R. nodosus の 5 種は種間に差なく 36°C で最も速く生育したのに *R. chinensis* はその他の種と異り、40°C で速く生育した。50 h 培養後の結果で *R. chinensis* はその他の種に比較して、24~28°C では生育量は劣り、40°C では逆に優った。これらの結果から、*R. chinensis* は 40~42°C の高温で特異的に速く生育し、その他の種が 32~36°C で速く生育したのとはかなり異った。

III *R. chinensis* の產生する毒性物質

R. chinensis はイネ幼苗の生育に強い障害を与えることは本菌の產生する毒性物質によるものと判明した。そこで液体静置培養でこの毒性物質の產生条件、*R. chinensis* 菌株間における產生量の差異、および抽出方法について検討した。

1 毒性物質の產生条件

R. chinensis の毒性物質は培養期間中のどの生育時期に產生されるかを明らかにするため、新潟 Rh-2 菌 (IFO 保存菌) を液体静置培養し、経時的にイネ幼苗の生育障害検定を前述の方法で行ない、その產生を調べた。径 9 cm のペトリ皿に液体培地 20 ml を流し込み、胞子懸濁液を接種して 32°C に保った。3~12 h 経過ごとに培養ペトリ皿をとり出し、培養ろ液を 5~400 倍に希釈し、品種トドロキワセを処理して発生する根先端部の肥大状況を調べ、その程度を 3 段階で示した。その結果、根先

本県で分離された *R. chinensis* 18 菌株のすべては、液体静置培養で本病の特徴であるイネ幼苗の根先端部に肥大を発生させ、毒性物質の產生を認めたが、さらにこの物質の產生に菌株間差が認められるかどうかを検討した。前述の液体培地に 18 菌株を培養し、品種ホウネンワセをそれらの培養ろ液で処理した結果、すべてに根先端部の肥大が著しく認められた。18 菌株の根部肥大発生率は平均 82% で菌株間差は少なかった。なお、生育量を菌体乾物重 (1 ペトリ皿当りの乾物重。反復 3 回) で調べた結果、平均 84 mg で菌株間にはほとんど差がないものと考えられた。

3 毒性物質の抽出

径 9 cm のペトリ皿に前述の液体培地 20 ml を流し込み、Rh-2 菌を接種して 32°C、48 h 培養後ろ過し、塩酸または炭酸ナトリウムで pH をそれぞれ 4.5, 10.0 に調整した。このろ液 20 ml を分液ロートにとり、同量の石油エーテル、ベンゼン、クロロフォルム、エチルエーテル、酢酸エチルで 3 回抽出後溶媒を除去し、水 100 ml を加えて催芽したトドロキワセを処理し、発生する根先端部肥大程度を 3 段階で示した (第 5 表)。つぎに同様な方法でクロロフォルム、エチルエーテルについて、抽出時の pH を 2.5, 4.5 にし、比較した。その結果 (第 5 表) 培養ろ液の pH が 10.0 ではどの溶媒抽出区でも根先端部の肥大は発生しなかった。培養ろ液の pH を酸性にすると、ベンゼン、クロロフォルム、エチルエーテル、酢酸エチルで抽出され、特にクロロフォルム、エチルエーテルでよく抽出された。またエチルエーテルでは pH 2.5 より 4.5 で効率よく抽出された。

第 4 表 *R. chinensis* の培養時間と毒性物質の產生

希釈倍率	培養時間 (h)									
	3	6	18	24	36	48	60	72	96	
5 倍	-	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
10			+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-
20			+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-
50		±	++	±	+++	+++	+++	+++	+++	-
100			-	++	++	++	++	++	++	-
200				-	±	-	-	-	-	-
400					-	-	-	-	-	-
対照	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

注) 根先端部肥大程度は + < ++ < +++ で ± は株状根を示す。
- は異常を認めないもの。

端部が肥大する病徵は培養 6 h 後すでに認められ、30~60 h 後で最も激しくなり、その後徐々に弱まり、96 h 後では軽微なものとなった。このことから毒性物質は菌糸の生育とともに產生され、生育が停滞し、胞子形成が盛んとなるころには產生されなくなったものと考えられた。なお 60 h 以上経過すると毒性が弱まったのは、培養ろ液を放置して経時にその活性を調べた結果から、この物質が不安定で不活化しやすいためと推定された。

2 毒性物質產生の菌株間差

第 5 表 各種有機溶媒による毒性物質の抽出

処理区	石油エーテル	ベンゼン	クロロフォルム	エチルエーテル	酢酸エチル	
	pH	*	±	++	++	+
溶媒試験 I	4.5	*	±	++	++	+
抽出 pH	10.0	-	-	-	-	-
時の培養試験 II	2.5			++	++	
	4.5			++	++	

注) 根先端部肥大程度は第 4 表に準ずる。

* は幼根伸長抑制だけで根の肥大は認めなかつたもの。

摘要

1. *R. hizopus* 属菌の中、*R. chinensis* によるイネ幼苗の生育障害が最も大きく、*R. nodosus*, *R. oryzae*, がこれに次ぎ、*R. arrhizus*, *R. javanicus*, *R. delemar* は低かった。
2. *R. chinensis* の液体培養ろ液処理でイネ幼苗に特

徴的な病徵が発現し、毒性物質の產生を認めたが、その他の種では認められなかった。

3. *Rhizopus* 属菌 6 種の培養温度と生育を比較した結果、*R. chinensis* は 40°C の高温で特異的に速く生育し、その他の種は 32~36°C で速く生育した。

4. *R. chinensis* 毒性物質の产生は菌糸の生育とともに高まり、停滞状態では产生せず、またこの物質は不活性化しやすいと推定された。

5. *R. chinensis* 毒性物質产生の菌株間差は少なかつた。

6. *R. chinensis* の毒性物質は、ベンゼン、クロロフォルム、エチルエーテル、酢酸エチルにより酸性条件下

で抽出され、特にクロロフォルム、エチルエーテルで効率よく抽出された。

引 用 文 献

- 1) 古谷真二・倉田宗良・齊藤正 (1974) *Rhizopus* 属菌によるイネ稚苗の生育障害とその防除に関する研究。四国植防研究 9 : 49~55.
- 2) 佐藤善司・茨木忠雄・岩崎成夫 (1974) イネ苗立枯病に関する研究。第 3 報(講要) 日植病報 40 : 123,
- 3) 矢尾板恒雄・郷直俊・青柳和雄・浅野勇・横山竜夫 (1976) イネ箱育苗に発生する *Rhizopus* 菌の防除について。第 4 報。北陸病虫研報 24 : 60~63.

(1978年 8月 14日受領)