

病原菌からみた茶米の発生生態に関する研究

第4報 病原菌胞子の接種による茶米および暗色米の症状再現、 とくに3接種法の比較と応用

川久保 幸雄

Yukio KAWAKUBO: Ecological studies of rusty kernel rice in relation to the pathogenic organisms. IV. Comparison and application of 3 inoculation methods to reappear the symptoms of rusty kernel rice and Anshoku-mai

はじめに

茶米および暗色米に関する既往の研究では、病原体の侵入様式をあまり考慮することなく、特定の接種方法が採用されてきたために、病徴の再現性に乏しく、信頼性の高い結果を得ることが困難である。そこで、本報では再現性の高い接種法を検討するとともに、胞子濃度と発病程度との関係、*Curvularia* 属菌における菌株の相違ならびに送風処理の有無による発病の差異を追究した。

本研究の一部はすでに発表したところであるが³⁾、その後得た試験結果も含めこことりまとめて報告する。なお、本研究は日本植物防疫協会「変色米に関する特別研究」の一部として行ったものである。

試験遂行に当って御協力をいただいた福井農試杉本達美病理昆虫課長、同課の各位ならびに作物課井上健一技師に深く感謝の意を表す。

I 試験材料および方法

以下の各試験に共通する項目は次のとおりである。

供試菌：茶米からの分離頻度が高い病原体のうち、当農試保存の *Alternaria padwickii* (79-26), *Alternaria* sp. (79-5), *Curvularia lunata* (78-01) および *C. intermedia* (78-01) を供試した。また、対照として *Helminthosporium oryzae* (京大13号菌) を用いた。

糸状菌の分離：前報³⁾の方法に準じた。

イネの栽培：1/5000 a ポットに稚苗を1株2本植とし、施肥量は元肥にN, P, K各0.5g, 穂肥にN 0.2gとした。病原菌の接種までは屋外に置き、接種後はガラス室で管理した。

接種方法

1 胞子の散布接種：PDA 培地で25°C, 2か月間培養した各供試菌の菌そうに、1シャーレ(直径：9

cm) 当り30gずつの殺菌タルクを加え、胞子とよく混和するように毛筆で攪拌したのち、手廻し散粉器に入れ、開花時のイネ(品種：コシヒカリ)に約30cmの距離から散布した。散布した植物体は室内に48時間静置したのち、ガラス室に移した。接種は1981年8月8～9日に行い、9月18日に収穫して発病を調査した。

2 胞子懸濁液の注射接種：穂揃い直後のイネ(品種：コシヒカリ)に70%アルコールを株当り50mlずつ噴霧し、数時間後に各供試菌の胞子懸濁液(胞子濃度：10×10倍で1視野当り *A. padwickii* は5個、その他は50個とした)を、内外頤のこう合部から頤内へ注射針で注入接種した。接種量は頤内から懸濁液があふれ出る程度とした。処理後の穂は全体を袋状のパラフィン紙で覆い、下部をクリップで止めた。接種は1980年8月20日に行い、9月30日に収穫した。

3 送風処理後の噴霧接種：グロースキャビネット内において、35°C, 7m/sの風(茶米の異常多発年であった1978年8月2～3日の気象条件、すなわち最高気温35.9, 34.6°C, 平均風速5.9, 6.6 m/sを参考にして設定した)を、日中9時間(9～18時)当てた穂揃期のイネに、各供試菌の胞子懸濁液を1ポット当り50mlずつ噴霧したあと、25°Cの湿室に1夜静置して、翌日ガラス室に移した。接種は1981年8月26日に行い、10月7日に収穫して調査した。なお、本実験では開花中の頤内に病原菌が侵入するのを防ぐため、閉花受精品種(興除1号)を供試した。

茶米、暗色米の調査：収穫した穂を室内で風乾後、穂長15cm(興除1号の場合12cm)以上のものを選び、ケット試験用粳すり器で粳すりした玄米を、白カルトンおよび実体顕微鏡下で観察した。なお、調査粒数は各試験項目ごとに記した。

区制・反復：1区1ポット, 2反復とした。

II 試験結果

1 胞子の散布による茶米および暗色米の発生程度

福井県農業試験場病理昆虫課農試 No. 84 (病)
福井県農業試験場 Fukui Agricultural Experiment Station,
Ryomachi, Fukui 910

第1表 孢子散布による茶米および暗色米の発生程度

供試菌	茶		米		暗		色		米	
	発病粒数 ^{a)} (100粒当り) 換算値 ①	供試菌の 再分離率 ^{b)} % ②	供試菌による 発病粒数 ^{c)} ③ (①×②)	供試菌による 真の発病粒数 ④(③-対照区)	発病粒数 ^{a)} (100粒当り) 換算値 ①	供試菌の 再分離率 ^{b)} % ②	供試菌による 発病粒数 ^{c)} ③ (①×②)	供試菌による 真の発病粒数 ④(③-対照区)	⑤(④-対照区)	⑥(⑤-対照区)
<i>A. padwickii</i>	27.5	51.9	14.3	12.8	3.4	56.5	1.9	1.8		
<i>Alternaria</i> sp.	33.7	74.2	25.0	22.7	5.6	48.2	2.7	2.4		
<i>C. lunata</i>	37.8	81.3	30.7	28.9	13.1	92.4	12.1	10.4		
<i>C. intermedia</i>	30.5	44.5	13.6	11.8	10.5	72.2	7.6	5.9		
<i>H. oryzae</i>	31.3	62.0	19.4	19.4	3.9	41.2	1.6	1.6		
対照(タルクのみ)	17.5	°)			3.2	°)				
無処理	7.0				0.2					

a) 調査粒数 500粒 b) 分離粒数 45~60粒 c) 分離粒数 16~49粒
 °) 糸状菌の分離率 *A. padwickii* 8.6%, *Alternaria* sp. 13.1%, *Curvularia* spp. 10.3%, *H. oryzae* 0%
 °) 糸状菌の分離率 *A. padwickii* 2.7%, *Alternaria* sp. 8.4%, *Curvularia* spp. 51.9%, *H. oryzae* 0%

第1表に示すように、供試菌の孢子を散布することにより茶米の発生粒数①が増加し、対照区(タルクのみ)に比べ約2倍の値を示した。ここで発生した茶米が供試菌によるものかどうかを知るため、病原菌の再分離を試みたところ、44.5% (*C. intermedia*) ~81.3% (*C. lunata*) の再分離率を得た。したがって、この値を①に乗じた値が供試菌による発生粒数③と推定される。一方、対照区の茶米からも供試菌と同属・同種のもの分離されたため、それぞれによる茶米発生粒数を③から減じた値が、供試菌による真の発生粒数④と推定される。この前提に立って病原別による真の茶米発生粒数④を求めたところ、*C. lunata* によるものが最も多く28.9粒/100粒と計算され、*Alternaria* sp., *H. oryzae*, *A. padwickii* および *C. intermedia* の順に少なくなった。

暗色米の発生粒数を同様の方法によって求めたところ(第1表)、*C. lunata* で最も多く10.4粒/100粒と計算され、*C. intermedia* および *Alternaria* sp. の順に少なくなった。

2 孢子懸濁液の注射接種による茶米および暗色米の発生程度

孢子懸濁液を額内に注射接種する方法によっても、茶米の発生が認められた(第2表)。前記1の実験と同様に

第2表 孢子懸濁液の注射接種による茶米および暗色米の発生程度^{a)}

供試菌	調査数	茶米		供試菌再分離率 ^{b)} %	供試菌による茶米発生粒数(100粒当り換算値)		暗色米	
		粒	%		粒	%	粒	%
<i>A. padwickii</i>	74.0	30.0	74.2	22.3	0			
<i>C. lunata</i>	72.0	14.9	100	14.9	3.3			
<i>C. intermedia</i>	68.5	47.8	94.9	43.4	11.2			
<i>H. oryzae</i>	69.0	26.1	100	26.1	0			
対照(殺菌水)	92.0	7.0	°)		0			
無処理	62.5	3.3			0			

a) 孢子濃度(10×10倍の1視野当り)*A. padwickii* 5個, その他50個
 b) 分離粒数 17~39粒 °) 分離粒数 4粒, 糸状菌の分離率 *Penicillium* sp. 25%, 菌が分離されず75%

して、供試菌による真の茶米発生粒数を求めたところ、*C. intermedia* によるものが最も多く43.4粒/100粒であり、*H. oryzae*, *A. padwickii*, *C. lunata* の順に少なくなった。孢子懸濁液を注射接種した方法では、孢子散布法に比べ全般に茶米の発生率が高まったが、暗色米の発生は *C. lunata* および *C. intermedia* による場合だけに限られ、これ以外の供試菌では発生が認められなかった。

第3表 孢子濃度の相違と茶米および暗色米の発生程度

供試菌	孢子濃度 ^{a)}	調査粒数	茶米粒率		暗色米粒率	
			個	%	個	%
<i>Alternaria</i> sp.	5	28.0	26.4	0		
	50	27.5	24.3	2.5		
	200	27.5	34.7	2.5		
<i>C. lunata</i>	5	29.5	18.3	0		
	50	43.0	24.4	0		
	200	29.5	38.8	0		
<i>C. intermedia</i>	5	69.5	18.0	4.8		
	50	67.0	30.3	5.5		
	200	47.5	60.2	20.5		
<i>H. oryzae</i>	5	41.5	20.5	0		
	50	49.0	47.7	0		
	200	32.5	69.7	0		
対照(殺菌水)		19.5	21.2	0		

a) 10×10倍の1視野当り数値

次に、本接種法を用いて、孢子濃度の相違による各症状の発生程度を比較した。第3表に示すとおり、茶米の発生率は各供試菌とも孢子濃度が5個/視野では、対照区と明らかな差異は認められなかったが、50~200個と濃度が高まるにしたがって発生率も増加し、とくに *C. intermedia* および *H. oryzae* においてその増加が顕著であった。*C. intermedia* による暗色米の発生も孢子濃度と密接に関連し、懸濁液中の孢子濃度が200個に高まると発生率も増加した。

Curvularia 属菌の菌株の相違による茶米および暗色米の発生程度を注射接種法で検討した。第4表に示すと

第4表 *Curvularia* 属菌の菌株の相違と茶米および暗色米の発生程度

<i>Curvularia</i> の由来	供試菌株数	1菌株当り 調査粒数		茶		米		暗色米		
		株	個	発病粒率	供試菌の再分離率 ^{*)}	供試菌による発病粒数(100粒当り換算値)	発病粒率	供試菌の再分離率 ^{*)}	供試菌による発病粒数(100粒当り換算値)	
分離源	8	茶米	109.9	58.6	47.0	94.5	44.4	21.4	98.7	21.1
		暗色米	8	97.0	39.6	51.5	91.3	47.0	31.0	97.2
子座形成の有無	8	有	100.9	39.3	45.9	95.2	43.7	27.1	100	27.1
		無	8	107.6	47.0	56.6	93.3	52.8	26.4	97.6
対照(殺菌水)				20.0	15.0	^{c)}		0		
無処理				63.0	7.0			2.3		

^{a)} 10×10倍の1視野当り数値 ^{b)} 分離粒数5~20粒 ^{c)} 分離粒数7~20粒 ^{d)} 糸状菌の分離率 *Alternaria* sp. 16.6%
その他不明83.4%

第5表 発病におよぼす送風処理の影響

供試菌	送風処理の有無	茶		米		暗色米			
		発病粒数 ^{a)} (100粒当り換算値) ①	供試菌の再分離率 ^{b)} ②	発病粒数 ^{c)} (①×②) ③	供試菌による其の発病粒数 ^{d)} (③-対照区) ④	発病粒数(100粒当り換算値) ①	供試菌の再分離率 ^{e)} ②	発病粒数 ^{f)} (①×②) ③	供試菌による其の発病粒数 ^{g)} (③-対照区) ④
<i>A. padwickii</i>	有	24.6	34.8	8.6	6.9	1.0	29.2	0.3	0.2
	無	11.2	13.6	1.5	1.4	0.4	0	0	0
<i>Alternaria</i> sp.	有	18.4	56.8	10.5	9.4	0.9	31.0	0.3	0.1
	無	10.4	57.9	6.0	6.0	0.3	50.0	0.2	0.2
<i>C. lunata</i>	有	29.0	48.6	14.1	13.8	0.5	87.5	0.4	0.3
	無	23.8	38.3	9.1	9.0	0.8	32.5	0.3	0.3
<i>C. intermedia</i>	有	19.8	36.4	7.2	6.9	1.5	64.2	1.0	0.9
	無	8.4	37.9	3.2	3.1	1.6	94.5	1.5	1.5
<i>H. oryzae</i>	有	28.6	64.7	18.5	18.5	1.8	41.5	0.7	0.7
	無	18.8	46.7	8.8	7.5	0.9	41.7	0.4	0.4
対照(殺菌水)	有	8.9	^{e)}			0.7	^{e)}		
	無	6.8	^{f)}			0.7	^{e)}		
無処理	有	8.0				0.4			
	無	6.2				0.5			

^{a)} 調査粒数500粒 ^{b)} 分離粒数32~60粒 ^{c)} 分離粒数1~9粒
^{d)} 糸状菌の分離率 *A. padwickii* 18.9%, *Alternaria* sp. 12.5%, *Curvularia* spp. 3.3%, *H. oryzae* 0%
^{e)} 糸状菌の分離率 *A. padwickii* 10.0%, *Alternaria* sp. 22.5%, *Curvularia* spp. 10.0%, *H. oryzae* 0%
^{f)} 糸状菌の分離率 *A. padwickii* 2.1%, *Alternaria* sp. 0%, *Curvularia* spp. 1.3%, *H. oryzae* 18.6%
^{g)} 糸状菌の分離率 *A. padwickii* 0%, *Alternaria* sp. 0%, *Curvularia* spp. 0%, *H. oryzae* 0%

第6表 送風処理から *H. oryzae* 接種までの日数と茶米発生率との関係

送風処理から接種までの日数	茶				米			
	調査粒数	茶米粒率	供試菌の再分離率 ^{a)}	供試菌による茶米発生粒数(100粒当り換算値)	調査粒数	茶米粒率	供試菌の再分離率 ^{b)}	供試菌による茶米発生粒数(100粒当り換算値)
日	粒	%	%	粒	粒	%	%	粒
0(当日)	692.5	18.6	46.7	8.7	128.0	19.0	7.9	1.5
1	594.5	29.1	86.7	25.2	437.0	10.0	5.2	0.5
2	550.0	13.1	33.4	4.5	542.0	9.5	13.3	1.3
3	400.0	8.6	20.0	1.7	361.5	7.7	1.9	0.1
4	493.0	6.4	3.3	0.2	438.0	8.0	0	0
11	387.5	12.5	0	0	545.5	4.4	0	0
無接種	619.5	7.2	0	0	317.5	4.3	0	0

^{a)} 分離粒数30粒 ^{b)} 分離粒数13~30粒

おり、*Curvularia* 属菌の分離源が茶米あるいは暗色米のいずれであっても、茶米および暗色米の発生粒数には著しい差異がなかった。また、子座を形成する菌株としない菌株との間においても、茶米および暗色米の発生粒数に著しい差異は見出されなかった。

3 発病におよぼす送風処理の影響

第5表に示すように、送風処理をすることなく供試菌の懸濁液を噴霧した場合、各供試菌による其の茶米発生粒数^④は100粒当り1.4粒(*A. padwickii*)~9.0粒(*C. lunata*)と全体的に低い値であった。一方、接種前

に送風処理を行うと茶米の発生粒数④が増加し、無処理区に比べ1.6倍 (*C. lunata*) ~ 4.9倍 (*A. padwickii*) の高い値を示した。暗色米の発生は茶米に比較して少なかったため、本実験では暗色米発生におよぼす送風処理の影響は認められなかった。

次に、穂揃い期のイネに送風処理をしたあと0~11日後に *H. oryzae* を接種し、茶米の発生程度を検討した。第6表に示すとおり、送風処理後4日目に接種しても、茶米の発生はほとんど認められず(100粒当り褐変粒では0.2粒、健全粒では0粒)、送風処理後3日以内に接種することにより、茶米の発生が著しく増加することが明らかとなった。

III 考 察

茶米および暗色米の病徴再現試験においては、従来から病原菌の侵入様式にあまり考慮を払うことなく、特定の接種方法が採用されてきたために、病徴の再現率がきわめて低い。すなわち、これまでおもに用いられた噴霧接種法では、茶米の発生率はわずかに1.5~9.1%である(第5表)のために、信頼性の高い結論を導くことが困難である。

このような理由から、本研究では種々の接種法を用いて茶米および暗色米の再現試験を試みると同時に、病原体の再分離を行い、どの方法が病徴の再現に最適であるかについて検討した。その結果、穂揃い直後のイネ頰内に *Alternaria* sp., *A. padwickii*, *C. lunata*, *C. intermedia* および *H. oryzae* の各孢子懸濁液を注射接種することにより、最も高率に茶米および暗色米の発生を再現できることが判明した。また、孢子散布による接種法あるいは送風処理したあとに懸濁液を噴霧する方法でも、比較的高い再現性が得られることが判明した。

開花期に孢子をタルクとともに散布して接種する方法は、すでに田村⁶⁾によって試みられているが、同氏によれば腹黒米の病徴再現試験には不相当であるとされている。しかし、本法は操作が簡便で茶米の発生率も比較的高いため、孢子形成量の多い菌株では利用する価値が十分あると思われる。ただ、本法の短所として孢子濃度を明確に規定できないことがあげられる。

頰内へ孢子懸濁液を注射接種する方法は、後藤ら²⁾によりイネ枯細菌病の病徴再現試験法として用いられたが、茶米の発生率は本法で最も高く、再現性に優れた接種法と考えられる。ただ、同時に多数の試料を処理することが困難であった。一方、本法を用いた実験から、接種孢子濃度と茶米発生率との間に密接な正の相関が指摘された(第3表)。先に筆者は⁴⁾、イネ開花期前後における病原菌孢子的飛散量と茶米発生率との間に、有意な正

の相関が存在することを報告したが、本実験の結果を加味して総合判断すると、茶米の発生率は開花期における病原菌孢子的の侵入量に依存すると考察される。

孢子懸濁液を噴霧する接種法では、閉花受精を行う興除1号を供試したため、茶米の発生率は他の接種法に比べて少なかった。しかし、本法でも接種前に送風処理を行うと、茶米発生率は無処理の1.6~4.9倍に増加した。送風処理後4日目の頰に *H. oryzae* を接種しても、茶米の発生はほとんど認められなくなった。その理由として、この間に頰の損傷が回復するのか、あるいは籾の発育段階が進むためと思われる。いずれにしてもこの知見から、穂揃い期にフェーンが襲来し茶米の多発生が予想される場合、少なくとも3日以内に防除を行うことが肝要と推察される。今後、この点については穂の発育段階、菌種・菌株の相違、気象条件などの側面からさらに検討する必要がある。

本実験で用いたいずれの接種法においても、暗色米⁵⁾の発生率は茶米に比べ著しく少なかった。しかし、孢子的散布接種および送風処理後に孢子懸濁液を噴霧接種することにより、供試した全ての病原菌でその発生が認められた。梅原ら⁸⁾も、*Curvularia* spp. 以外に *A. alternata* によっても暗色米が発生することを報告している。本実験に供試した病原菌のうち、*Curvularia* spp. によって暗色米の発生率が最も高く、竹谷ら⁵⁾の結果によく一致する知見を得た。*Curvularia* 属菌で暗色米が発生しやすい理由として、玄米に対する侵害性の相違のほか、*Curvularia* 属菌の特殊な性質、すなわち子座を形成する能力を備えていること⁷⁾が考えられる。この点を解明するために、*Curvularia* 属菌における菌株の相違と暗色米および茶米の発生程度について、孢子懸濁液の注射接種法で検討したところ、暗色米および茶米はいずれも *Curvularia* 属菌の分離源および子座形成の有無とは無関係に発生することが判明した(第4表)。この結果から、*Curvularia* 属菌による暗色米の多発原因は菌株の性質よりも他の要因に求められると推察される。さらに、接種前に送風処理を行っても暗色米の発生は増加せず、この点が茶米の発生と大きく異なるところである。

Curvularia 属菌以外の供試菌においても、常に茶米の発生が暗色米より多いことから、暗色米は茶米の症状を経過したあとに発生するのではないかと考えられる。

IV 摘 要

茶米から分離されるおもな糸状菌 *Alternaria* sp., *A. padwickii*, *C. lunata* および *C. intermedia* に、対照菌として *H. oryzae* を加え、これらによる茶米および暗色米の再現を種々の接種法で比較すると同時に、

病原菌の再分離を行って被害程度の量的評価を試みた。

1 供試菌はいずれの接種法でも茶米および暗色米の症状を再現したが、茶米の発生が暗色米より著しく多かった。

2 穂揃い直後の穎内に孢子懸濁液を注射接種する方法や、開花時に孢子を散布する接種では、穂揃い期に孢子懸濁液を噴霧接種する方法に比べ、発病程度がより高かった。

3 送風処理直後に孢子懸濁液を噴霧接種する方法では、送風処理をしなかった無処理のものに比べ茶米の発生率が明らかに高かった。しかし、送風処理後4日を経過すると、*H. oryzae* 接種による茶米の増加はほとんど認められなくなった。

4 穎内に孢子懸濁液を注射接種する方法では、孢子濃度が高くなるにしたがって、茶米および暗色米の発生率が増加した。

5 供試した各病原菌のうち、暗色米の発生は *Curvularia* 属菌で最も高かったが、本属菌における分離源の相違および子座形成能の有無と、暗色米の発生程度とは全く無関係であることを明らかにした。また、暗色米の発生は送風処理後の接種でも増加せず、茶米の発生様相と明らかな差異が認められた。

引用文献

- 1) 藤井正治 (1981) 水稻品種「興除1号」の穎花および穂軸に関する二、三の組織学的観察。農業および園芸 56: 577~578.
- 2) 後藤和夫・大畑貫一 (1958) 稲粒枯性細菌病。日植病報 23: 155.
- 3) 川久保幸雄・杉本義則・高松進・古河衛・奈須田和彦 (1980) 病原菌からみた茶米の発生生態に関する研究 第1報 1978年の福井県における茶米、暗色米の発生状況ならびに糸状菌の分離結果について。福井農試報告 17: 13~30.
- 4) 川久保幸雄 (1982) 同上 第3報 病原菌孢子の飛散と茶米発生との関係。北陸病虫研報 30: 19~24.
- 5) 竹谷宏二・八木敏江・笹野市蔵・石崎久次 (1981) 暗色米に関する研究 石川県における発生生態について。石川農試研究報告 11: 29~48.
- 6) 田村実 (1976) *Alternaria padwickii* による腹黒米発現に関する生理生態的研究。石川農試特別研究報告 2: 1~74.
- 7) 椿啓介 (1979) 変色米の原因となる *Curvularia* 属菌の見分け方。植物防疫 33: 513~520.
- 8) 梅原吉広・中川俊明 (1980) 着色米の発生と登熟期間の温度との関係。北陸病虫研報 28: 6~9.

(昭和58年8月10日受領)