

異なる温度条件下におけるイネいもち病菌の分生孢子形成、 発芽および付着器形成について

印 茂成・岩野 正敬*・堀野 修*

Moo Soeng IN, Masataka IWANO* and Osamu HORINO*: Sporulation, spore germination and appressorial formation of *Pyricularia oryzae* Cav. at different temperatures

Summary

Spore production of *Pyricularia oryzae* Cav. on the oat meal agar was examined at different temperatures. Effects of the temperature on spore germination and appressorial formation were also investigated. Results obtained are as follows;

- 1) After pre-cultivations at 25°C for 10 days, mycelial mats of blast fungi were kept at different temperatures from 10°C to 35°C for 72 hrs. for the sporulation. The optimum temperature for the sporulation was 25°C.
- 2) When blast fungal mats were cultured at 25°C and 20°C for 48 hrs. following to different pre-cultivation periods at 25°C, spores were formed most at 25°C by 8 days pre-cultivation at 20°C, by 10 days pre-cultivation, respectively.
- 3) Spores germinated best at 25°C on the onion-scale epidermal strip.
- 4) The rate of appressorial formation was the highest at 25°C and it decreased in the order of temperature as follows; 20>28>15>30°C.
- 5) The length of the germ tube on the onion-scale epidermal strip decreased in the order of temperature as follows; 32>25>20>15°C.

イネいもち病菌の分生孢子（以下孢子と省略）形成と付着器形成は種々の環境条件によって変化するが、温度が最も重要な環境条件であることは周知の事実である。葉いもち病斑の孢子形成能と温度との関係については加藤・佐々木³⁾によって詳細な研究がなされているが、人工培地、特に孢子形成用培地として一般に用いられているオートミール培地²⁾上での、温度を制御した条件下における経時的な孢子形成量に関する報告は少ない。また、孢子を形成させるための前培養あるいは後培養時間による孢子形成量の差異についても十分明らかにされていない。さらに異なる温度条件下における付着器形成については従来の報告^{1,7,9)}では必ずしも一致した実験結果が得られていないようなので、これらの点を確認するために若干の実験を行ったので報告する。

本実験を遂行するに当たり懇切な御配慮と御指導をいただいた東北農業試験場栽培第一部山口富夫部長、病害第1研究室進藤敬助主任研究官、中島敏彦研究員、また本実験に御協力いただいた藤井澄子氏に深く感謝の意を

表す。なお本試験は日韓共同研究事業計画の一環として著者の一人、印茂成が日本国際協力事業団（JICA）の援助により東北農業試験場栽培第一部病害第1研究室に派遣されて実施したものである。日本国際協力事業団の関係各位に深謝の意を表す。

1 異なる温度で後培養した培地上いもち病菌孢子形成の経時的变化

試験方法 試験にはオートミール培地を供試し、供試菌株として東北農業試験場病害第1研究室保存の長69-150（レース007）を用いた。直径6cmのシャーレに培地を20ml流し込み、いもち病菌を移植して、25°Cで10日間前培養後、気中菌糸を流水下において毛筆で除去した。ついで、温度を10°C、15°C、20°C、25°C、28°C、30°C、35°Cの7段階に調節した恒温培養槽の蛍光灯照射下にシャーレを静置して後培養を行い孢子を形成させた。後培養の時間を12、24、36、48、72、96、120時間に設定し、各処理区とも3枚のシャーレを供試し、2反復で試験を行った。孢子形成量は次の方法で計測した。1シャーレ当たり20mlの蒸留水を加え、毛筆で培地上の孢子を掻き取り孢子懸濁液を作製した後、トーマ血球計算盤（Burker Turk製）により0.04mm²当

韓国忠南農村振興院 Chungnam Provincial Office of Rural Development, 183 Sangdaedong, Joonggu, Daejeon, Korea
* 東北農業試験場 Tohoku National Agricultural Experiment Station, Yotsuya, Omagari, Akita 014-01

たりの孢子数を10回計測して1 ml 当たりの孢子数に換算した。なお、孢子形成の経時的变化を走査電顕によって観察した。走査電顕の試料は常法に従って2.5% グルタルアルデヒドで3時間蒸気固定した後、1.0% オスミック酸で1時間蒸気固定した。

試験結果 異なる温度で後培養した場合の経時的な孢子形成量を第1表に示した。後培養12時間から48時間までのオートミール培地上の孢子形成量は28°Cで最も多かった。しかし、後培養72時間以降では25°Cでの孢子形成量が28°Cの孢子形成量より若干多くなった。25°C、28°C以外の温度で後培養した場合の孢子形成量は30°C > 20°C > 15°Cの順で多かった。また、後培養の温度が10°Cと35°Cの場合の孢子形成量を比較すると、後培養36時間までは10°Cで多かったが、後培養48時間以降では逆に35°Cで多くなる傾向がみられた。

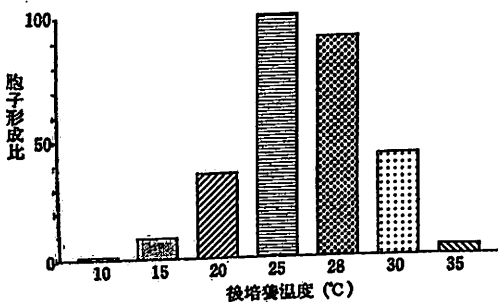
第1表 異なる温度条件で後培養したいもち病菌孢子形成量の経時的变化 (10⁸個/ml)

| 温度 (°C) | 後 培 養 時 間 (hr) | | | | | | |
|---------|----------------|------|-------|-------|-------|-----------------|-------|
| | 12 | 24 | 36 | 48 | 72 | 96 | 120 |
| 10 | 1.0 | 2.5 | 2.5 | 3.5 | 3.8 | 3.5 | 3.5 |
| 15 | 1.0 | 1.5 | 2.3 | 10.5 | 25.3 | 44.0 | 63.0 |
| 20 | 2.3 | 10.8 | 25.8 | 56.3 | 97.8 | 107.8 | 122.0 |
| 25 | 1.5 | 36.0 | 83.5 | 147.3 | 273.8 | 358.5 | 437.8 |
| 28 | 8.5 | 44.5 | 115.5 | 187.0 | 249.0 | 328.1 | 409.4 |
| 30 | 0.5 | 19.0 | 46.8 | 68.8 | 117.0 | 182.0 | 175.3 |
| 35 | 0.5 | 1.5 | 1.8 | 3.8 | 11.3 | — ¹⁾ | — |

1) オートミール培地が乾固して測定不能。

15°Cから28°Cの温度範囲の孢子形成量は、後培養12時間から120時間まで増加し続け、最終計測の120時間後に最高となった。後培養の温度35°Cでは120時間以降になると、培地の水分蒸発が著しく、培地が完全に乾固した。

第1図には10°Cから35°Cまでの異なる温度条件下で



第1図 異なる温度条件下で72時間後培養した孢子形成比 (25°Cでの孢子形成量273,800個/mlを100として示した。)

72時間、後培養した場合の孢子形成量を25°Cでの孢子形成量273,800個/mlを100とした比率で示した。25°Cでの孢子形成を100%とすると、28°Cが91, 30°Cが43, 20°Cが36, 15°Cが9, 35°Cが4, 10°Cが1%であった。図版Iには1) 25°Cで24時間 2) 30°Cで24時間 3) 25°Cで48時間 4) 30°Cで48時間、それぞれ後培養した培地上での孢子形成状態の走査電顕写真を示した。図版Iから明らかなように、上記の条件の範囲においては、25°Cで48時間、後培養した場合の孢子形成量が最も多く、ついで30°C48時間、25°C24時間、30°C24時間の順であったが、この観察結果は第1表の計測結果とはほぼ一致した。なお、走査電顕で観察した結果、25°C、30°Cでそれぞれ24時間、後培養した場合には1~2細胞の孢子が比較的多かったが、両温度下で48時間、後培養すると3細胞の成熟した孢子が多数認められた。また、30°Cで24時間、後培養した培地上の菌そうの生育(図版I, 2)は25°Cで24時間、後培養した菌そうの生育(図版I, 1)に比べて明らかに劣っていた。

これまで、いもち病菌の孢子形成量には同一温度下でも培地の種類^{2,5)}、光照射の有無^{2,5)}、および菌株の違い^{2,4)}により差異があることを多くの研究者が詳細に報告している。末田⁶⁾は孢子形成の最低および最高温度はそれぞれ10°C、35°Cであると述べているが、本試験の結果は末田⁶⁾の結果とはほぼ一致した。

2 前培養期間の違いによる培地上いもち病菌の孢子形成

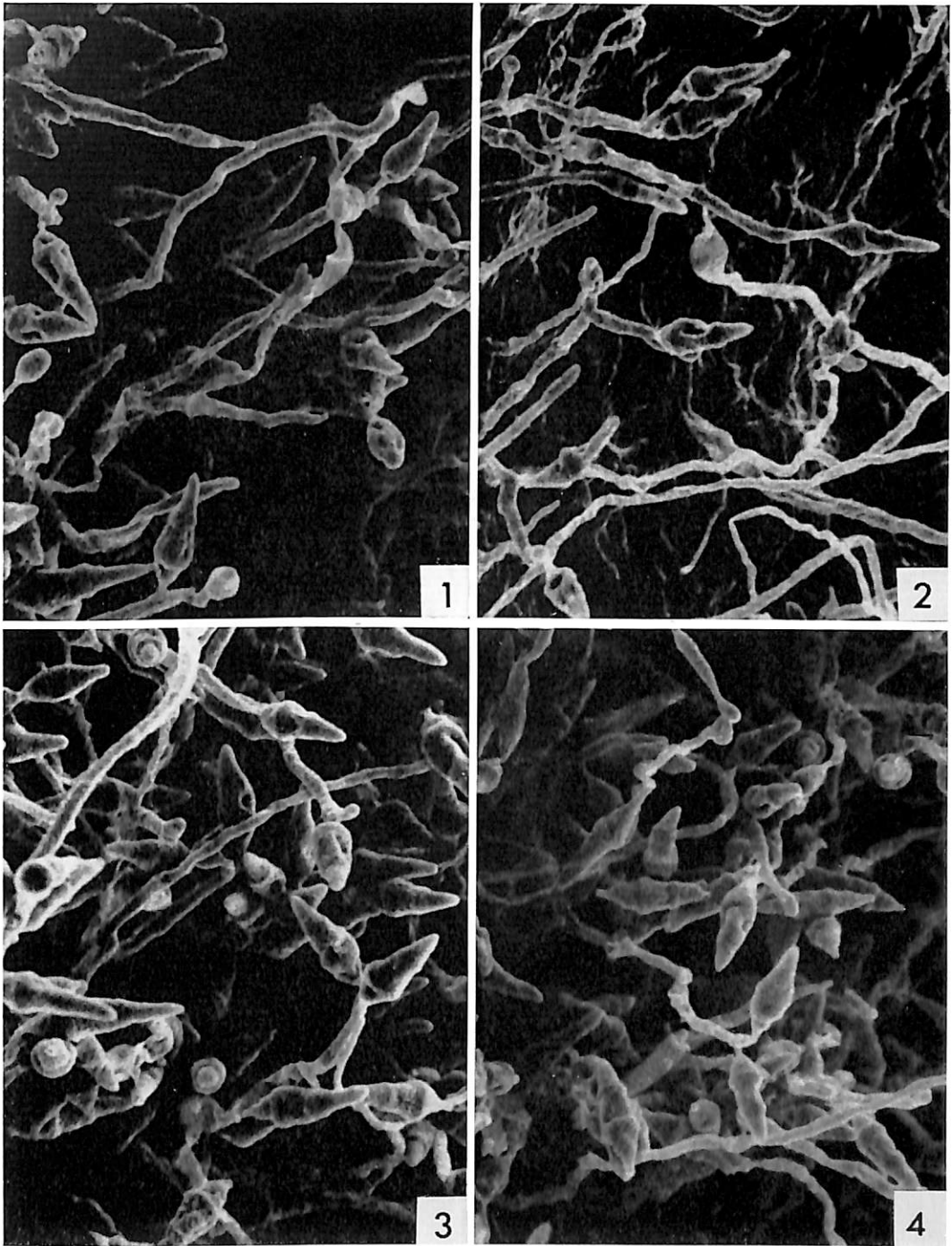
試験方法 オートミール培地を入れた6 cm シャーレにいもち病菌を移植し、25°Cで6日、8日、10日、12日、14日の各日数、前培養した。所定日数の前培養後、20°Cと25°Cに調節した恒温培養槽の蛍光灯照射下に48時間シャーレを静置して後培養を行い孢子を形成させたあと、直ちに孢子数を計測した。なお、供試菌株、孢子数の計測法およびその他の試験方法は前述1と同様である。

試験結果 25°Cで前培養日数を6日から14日まで変え、その後20°Cと25°Cで48時間、後培養を行っていもち病菌の孢子形成量を計測した結果を第2表に示した。前培養6日、後培養の温度20°Cの場合の孢子形成量は

第2表 25°Cで前培養の日数を変えた場合のいもち病菌の孢子形成量 (10⁸個/ml)

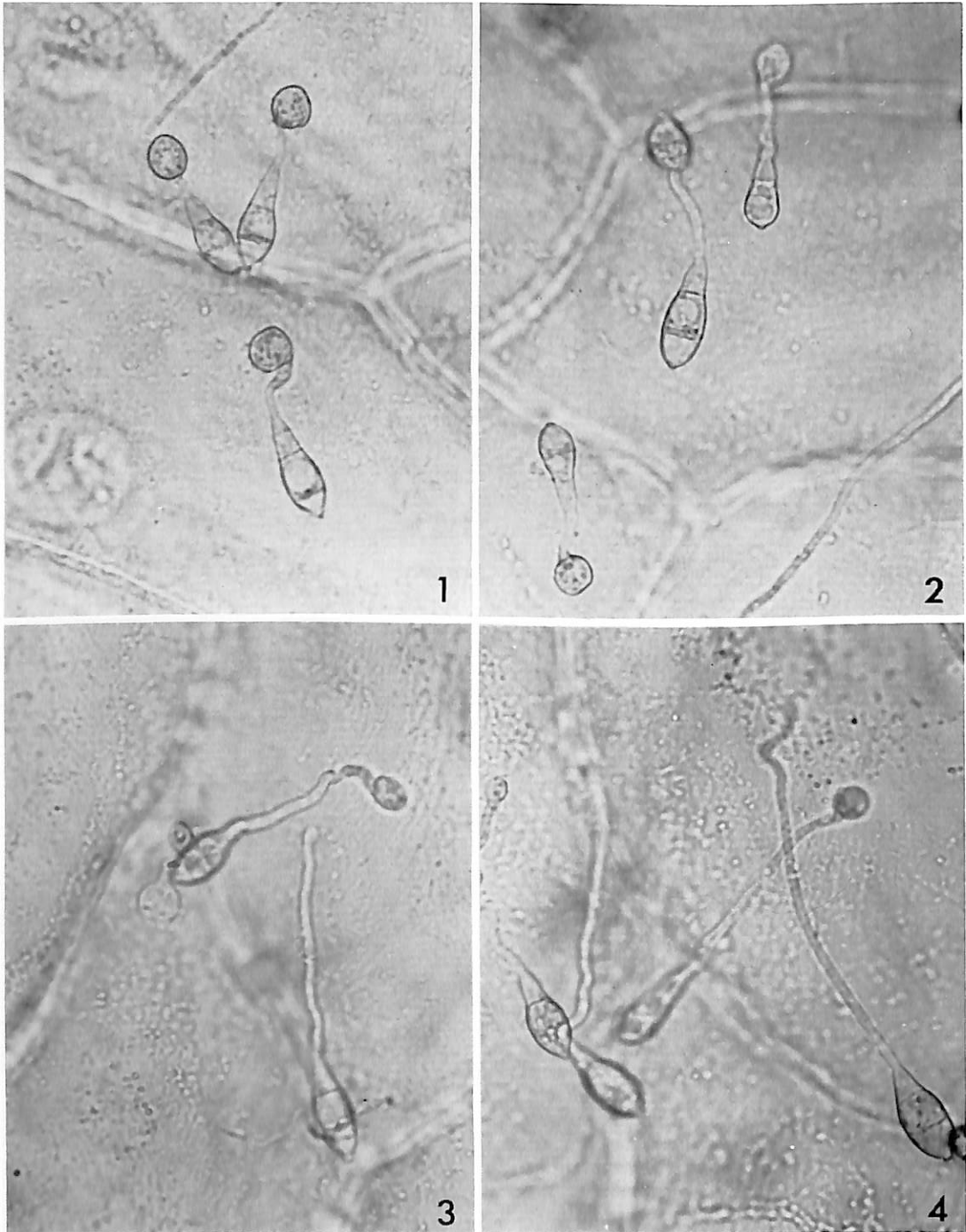
| 後培養の温度 (°C) | 前 培 養 日 数 (日) | | | | |
|------------------|---------------|-------|-------|------|------|
| | 6 | 8 | 10 | 12 | 14 |
| 20 ¹⁾ | 51.0 | 103.3 | 56.3 | 40.5 | 20.5 |
| 25 | 114.5 | 130.5 | 153.8 | 71.9 | 11.7 |

1) 20°Cと25°Cでそれぞれ48時間後培養を行った。



図版 I 25°Cと30°Cで24時間および48時間で後培養した孢子形成状態を示す走査型電顕写真

- | | |
|------------------|------------------|
| 1. 25°Cで24時間 後培養 | 2. 30°Cで24時間 後培養 |
| 3. 25°Cで48時間 後培養 | 4. 30°Cで48時間 後培養 |



図版Ⅱ 発芽床の異なる温度条件で孢子懸濁液をタマネギ鱗片表皮上に滴下後7時間保った場合の孢子附着器形成と孢子発芽管長

1. 20°C 2. 25°C 3. 30°C 4. 32°C

51,000個/mlであったが、前培養8日では前培養6日の約2倍の胞子が形成された。しかし、前培養10日の胞子形成量は急減し、さらに前培養が12日、14日と長くなるにしたがって胞子形成量は減少する傾向がみられた。

一方、25°Cでは20°Cの場合とは異なり、前培養10日で胞子形成量が最高に達し、前培養12日、14日では20°Cの場合と同様に減少した。

以上の結果から、多量の胞子を必要とする場合、前培養の日数は25°Cで10日が最適であると考えられる。高橋⁸⁾はいもち病菌の胞子形成量と前・後培養の日数との関係について検討し、前培養が14日以上では胞子のイネに対する病原力が低下することを指摘し、また後培養が5日以上でも同様に胞子の病原力が低下することを報告した。本試験の結果から接種試験を目的として胞子形成を行う場合の前培養の期間としては菌そうがシャーレの外壁に到達する日数が適当であると考えられる。すなわち、6cmシャーレを用いた場合、25°Cで6日～10日、20°Cで8日～10日を前培養期間として設定すれば強病原力の胞子が多量に得られると推察される。

3 異なる温度下におけるいもち病菌の胞子発芽、発芽管長および付着器形成

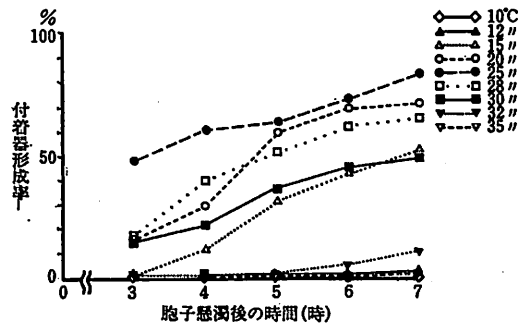
試験方法 試験にはオートミール培地で25°C、9日間前培養、25°C、3日間後培養して形成させた胞子を供試した。まず70%エチルアルコールに24時間浸漬保存したタマネギ鱗片表皮を蒸留水で洗浄してスライドグラス上に置き、その鱗片表皮上に胞子懸濁液(5個/0.04ml)を数滴、滴下した。これを蒸留水5mlを入れた直径9cmのシャーレに置き、シャーレは胞子懸濁液の乾燥を防ぐためふたをした。温度条件は第3表に示したように10°Cから35°Cまでを9段階に分け、胞子懸濁液作製後3時間から7時間まで1時間ごとに約300個の胞子について発芽率と付着器形成率を調査した。また胞子の発芽管長は15°Cから32°Cまで異なる5つの温度条件下に発芽床を7時間保ち、付着器を形成させた胞子約100個について発芽管長を調査した。

第3表 異なる温度条件下での胞子発芽率の経時的変化

| 温 度(°C) | 胞子懸濁後の時間(hr.) | | | | |
|---------|------------------|----|----|----|----|
| | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| 10 | 5% ¹⁾ | 20 | 21 | 22 | 25 |
| 12 | 8 | 22 | 26 | 39 | 42 |
| 15 | 56 | 62 | 77 | 68 | 76 |
| 20 | 62 | 66 | 79 | 83 | 78 |
| 25 | 85 | 83 | 82 | 84 | 89 |
| 28 | 53 | 69 | 74 | 77 | 75 |
| 30 | 74 | 71 | 71 | 64 | 64 |
| 32 | 66 | 62 | 59 | 61 | 56 |
| 35 | 58 | 71 | 70 | 66 | 57 |

1) 約300個あたりの胞子発芽率。

試験結果 異なる温度条件下での胞子発芽率の経時の変化を第3表に示した。10°Cと12°Cでの胞子発芽率は3時間から経時的に増加したが、両温度下での7時間後の発芽率はそれぞれ25%、42%で、15°C以上での発芽率に比べて明らかに低かった。15°C、20°C、28°Cでの発芽率は5～6時間で最高となり、また15°Cから25°Cまでの範囲では温度が高いほど発芽率も高かった。また、25°Cでは胞子懸濁後わずか3時間で発芽率は85%に達し、その後発芽率の顕著な増加は認められず、25°Cでは胞子発芽が速やかに行われるものと考えられた。30°C、32°C、35°Cの高温度下での発芽率は25°Cの場合より低い傾向がみられた。以上のように、10°Cから35°Cまでの範囲では25°Cの発芽率が最も高く、3時間後の発芽率は25°Cについて、30°C>32°C>20°C>35°C>15°C>28°C>12°C>10°Cの順となり、また7時間後では20°C>15°C>28°C>30°C>35°C>32°C>12°C>10°Cの順であり、25°Cより温度がはなれるに従い発芽率は低下した。



第2図 異なる温度条件下でのいもち病菌付着器形成率の経時変化

10°Cから35°Cまでの異なる温度条件下での付着器形成率の経時変化は第2図に示したとおりである。10°Cでは胞子懸濁後3時間から7時間まで付着器の形成は全く認められなかった。12°Cと35°Cでは、4時間後まで付着器形成は認められず、5時間後でわずか1～2%の付着器形成率で、その後7時間後まで明らかな増加はみられなかった。15°Cから32°Cまでの範囲では、3時間後からすでに付着器が形成され、その後7時間後まで増加し続けた。7時間後の調査で付着器形成率の最も高かった温度は25°Cで、ついで20°C>28°C>15°C>30°Cの順であった。このように、付着器形成に対する最適温度は、前項で調査した胞子発芽に対する最適温度と同じ25°Cであり、ついで20°Cであることが明らかとなった。

鈴木⁷⁾はいもち病菌胞子の発芽、付着器形成に及ぼす温度の影響について調査し、発芽率は28°C>31°C>25

第4表 異なる温度条件下での胞子の発芽管伸長¹⁾

| 温度(°C) | 15 | 20 | 25 | 30 | 32 |
|----------|------|------|------|------|------|
| 発芽管長(μm) | 11.6 | 12.0 | 13.1 | 17.9 | 37.2 |

1) タマネギ鱗片表皮上で付着器を形成させた胞子約100個について発芽管長を調査した。

°C>20°C>16°C>14°Cの順に高く、付着器形成は20°C~31°Cで6時間後から始まることを報告している。本試験の結果は鈴木⁷⁾の結果とは必ずしも一致しなかったが、その原因としては供試菌株、胞子形成時の条件など試験条件が異なることによるものと考えられる。

異なる温度条件下で、付着器を形成した胞子の発芽管長を胞子懸濁液滴下7時間後に調査した結果を第4表に示した。15°Cから32°Cまでの範囲での発芽管長は32°C>30°C>25°C>20°C>15°Cの順となり、高温ほど発芽管長が長くなる傾向がみられた。15°C, 20°C, 25°Cでの発芽管長はそれぞれ11.6μm, 12.0μm, 13.1μmで明瞭な差異は認められなかった。一方、30°C, 35°Cでの発芽管長は17.9μm, 37.2μmと25°C以下での発芽管長に比較して著しく長いことが特徴的のようである。なお、発芽床を20°C, 25°C, 30°C, 32°Cに7時間保ち、各温度条件下での付着器および胞子発芽状況を撮影した顕微鏡写真を図版IIに示した。図版IIの写真は、20°Cから32°Cの温度範囲内での胞子の付着器形成は概して高温ほど少なく、また発芽管は高温ほど長いことを示している。

摘 要

異なる温度条件下で培養したいもち病菌の胞子形成量の経時的变化を検討した。また、タマネギ鱗片表皮上でのいもち病菌の胞子発芽、付着器形成および発芽管長に及ぼす温度の影響について検討した。

1 25°Cで10日間、前培養したいもち病菌を10°Cから35°Cまで異なる温度で72時間培養した場合、25°Cの胞子形成量が最も多く、ついで28°C>30°C>20°C>15°C>35°C>10°Cの順であった。

2 6cm シャーレを用いて25°Cで前培養日数を6日から14日まで変え、その後25°Cで48時間、後培養し

た場合、前培養10日の胞子形成量が最も多かった。20°Cで48時間、後培養した場合には、前培養8日の胞子形成量が最も多かった。

3 タマネギ鱗片表皮上での3時間後の胞子発芽率は25°Cで最も高く、ついで30°C>32°C>20°C>35°C>15°C>28°C>12°C>10°Cの順であった。7時間後の胞子発芽率は25°C>20°C>15°C>28°C>30°C>35°C>32°C>12°C>10°Cの順であった。

4 タマネギ鱗片表皮上での7時間後の付着器形成率は25°Cで最も高く、ついで20°C>28°C>15°C>30°Cの順であった。

5 タマネギ鱗片表皮上に胞子懸濁液滴下7時間後に付着器を形成した胞子の発芽管長を観察した結果、32°Cの発芽管長が最も長く、ついで30°C>25°C>20°C>15°Cの順であった。

引用文献

- 1) 安部卓爾・安田 康(1961)イモチ病菌の分生胞子の発芽による付着器の形成とその病理学的意義について。京都府大学術報告 農学 13:36~44.
- 2) 古田力・関口義兼(1967)いもち病菌の胞子形成法。植物防疫 21:160~162.
- 3) 加藤 肇・佐々木次雄(1974)イネいもち病の疫学的研究—とくにイネ体上におけるいもち病菌の増殖過程と穂いもち発生量の数値的予測—。農技研報 C28:1~61.
- 4) 生井恒雄・山中 達・三沢正生(1976)イネいもち病菌の分生胞子形成に関する研究 I. 分生胞子形成に及ぼす光の影響。日菌報 17:483~491.
- 5) 大森 薫・中島三夫(1970)多量のイネいもち病菌胞子を得る培地ならびに培養法 関東病虫研報 17:12.
- 6) 末田平七(1928)稲いもち病菌=関スル研究。台湾総督府中央研究所農事部報 31:1~130.
- 7) 鈴木穂積(1969)いもち病菌胞子の発芽、付着器形成に及ぼす温度の影響。北陸病虫研報 17:6~9.
- 8) 高橋喜夫(1955)人工培地上にいもち菌胞子を多量に作る方法。農業技術 10:563~565.
- 9) 吉野敏一(1973)イネいもち病菌の侵入に関する予察的研究 II 接種温度と侵入率の経時变化。日植病報 39:186.

(1985年7月31日受領)