

P 400g施用区がすぐれていた。

P C P の水稲に対する影響は下葉に赤褐色の葉害斑が現われたが、8月28日調の稈長や穂数には大差がなく収量にも影響するに至らなかった。イネネグイハムシの越冬幼虫数はP C P除草剤の散布で棲息密度をへらしとくに400g散布区は効果が大であった。

これらのことからイネネグイハムシの産卵選好雑草で

ある浮草類の絶滅に新除草剤P C Pを実用使用濃度程度に使用することにより、イネネグイハムシの新幼虫の発生を阻止し当年から翌春にかけての被害を軽減しうる新使用分野の開拓が期待される。しかしながらP C P除草剤のイネネグイハムシを対象にした使用時期、作用機作、他の病害虫の発生におよぼす影響などについては今後追究を要する問題であろう。

培地上におけるイモチ菌胞子の多量形成法

吉村 彰治・鈴木 幸雄

(農林省北陸農業試験場)

緒 言

イモチ菌胞子の人工培養は、その量的確保の面から、種々の困難性があり、試験実施上の障害となっていた。しかるに最近に至り、胞子の多量培養法として、高橋氏¹³⁾、見里氏¹⁰⁾などが発表され、それぞれの方法が、従来の稲藁培地、稲藁煎汁培地、大麦培地、および馬鈴薯汁培地等を使用する方法に比較して、形成量多く優れていることが報告された。しかしながら大量の胞子を必要とする圃場での接種検定、あるいは、胞子の生化学的研究を行なう場合などでは、その形成は必ずしも満足される量が得られず、また下山・市川¹²⁾の指摘しているように、継代培養による胞子形成量の低下などの難点を抱えている。そこで著者等は、前述の諸方法に比較して、より多い形成量と簡便な形成方法の案出を目的にして種々の実験を行なった。

本実験までの経過

先に著者等は穀粒培地、および稲藁部分培養によつて胞子形成の多少を検討し、また、培養基の種類、培養温度、液体培養、培養菌叢反転、切断処理などと胞子形成の多少について実験を行なってきたが、これらの実験結果からは、殆ど期待されるような形成状況や形成量は得られず、ただ単なる養分転換や前述の処理のみでは、寄主体上におけると同様な、著しい形成をなさしめることはでき得ないものように観察された。すなわち、いずれの実験においても、形成個所(菌叢表面写真9参照)の顕微鏡観察では、菌叢表面に水滴が点滴となつて散在し、分生子梗のかわりに気中菌糸が必要以上に發育叢生して胞子の形成少なく、これらの処理操作が、ただ単に気中菌糸の発生を促進するに留まるように観察された。これに対し、稀体病斑上の胞子形成状況は、屋内温室における場合と、野外自然下における場合とでは、その形成状況が、甚だ相違していることが観察される。すなわち、屋内温室などで極端に湿度を高く保持した場所での

胞子形成は、病斑上に胞子が盛上るような形成様相を示す場合や、病斑上および病斑周辺部に気中菌糸の散見される場合が多いが、野外自然状態下での胞子形成では、このようなことは見られず、胞子は病斑上に平面的に形成され、気中菌糸の発生も殆どみられない。これら類似の現象は、前年度における稲藁節を用いた明所および暗所培養試験においても観察している。これらのことから、光線照射および通気乾燥が、胞子形成を促進する要因になつていないかと推察された。本実験は、以上述べたこれまでの実験並びに観察経過を基礎とし、主として胞子形成に及ぼす光線照射と通気に重点をおいて実験を進めた。

実験方法

布ぎれ転換培養法 本実験は、高橋氏のA・B培地を用いる養分転換培養法を基本にして行なつた。高橋氏法によれば、胞子は養分転換後の、菌叢周辺部に多数形成することを報告しており、これは、A培地、B培地の接触点を指すものと思われるが、この線型形成法を面積型形成法に拡大変換することにより、所期の目的を倍增することができるのではないかと考え、液体培養菌叢を転換する方法を始めとする、各種の転換操作法を試みた結果「布ぎれ」による養分転換培養法を考案(後述)して実験に供した。実験は、2月2日より11日迄と、3月10日より22日迄の2回行なつた。

(1) 供試菌

〔実験I〕 34年5月苗代罹病葉より分離した菌

〔実験II〕 33年夏、本田にて罹病した稲節より35年1月に分離した菌

(2) 培養基および培養材料

〔培養基〕(イ) 高橋氏処方A培地(前培養に用いる)、ペプトン10g、エピオス5錠、NaCl5g、砂糖10g、寒天15g、水1ℓ。

(ロ) 高橋氏処方B培地(後培養に用いる) 稲藁100g、砂糖10g、寒天5g(寒天のみ $\frac{1}{2}$ 量に減量した)

(c) 馬鈴薯寒天培養基，常法通り調製。

〔培養材料〕 布地として実験Ⅰは手拭地，実験Ⅱは天竺地を用いた。

(3) 培養法

培養は，標準区のみ，馬鈴薯寒天培養基を用い，他の区はすべて，高橋氏処方A，B培地を用いる養分転換法に改良を加えた方法で行なつた。すなわち，前培養として，シャーレに，A培地約15ccを流しこみ，その上に予め高圧殺菌した5cm角の「布ぎれ」，2枚重ねを敷き，その「布ぎれ」の上・中央部に，イモチ菌を接種，24°Cの定温器で前培養（実験Ⅰは，7日間。実験Ⅱは，11日間）を行なつた。B培地に移す養分転換操作は，約20ccのB培地を流しこんだ別個のシャーレに，先にA培地で培養し，繁殖させておいた菌叢を「布ぎれ」もろとも，はぎとつて移植し，後培養とした。標準区は，馬鈴薯寒天培養基で常法により培養（終始24°C）したものである。

〔光線照射 及び 通気処理〕 孢子形成を促進させるため，物理的処理を後培養期間中（実験Ⅰは2日間，実験Ⅱは4日間）に行つたもので，その処理内容は，光線照射及び通気で第1表のとうりである。

第1表 後培養期間中の処理内容

| 実験回次 | 処理名 | 処理方法 |
|------|--------|---|
| 実験Ⅰ | 光線照射 | 後培養を温室で行なつたものである。 |
| | 遮光 | 後培養を遮光状態の定温器内で行なつたものである。 |
| | 開放 | シャーレの上蓋をすかし，空気の流通を自由にした。 |
| 実験Ⅱ | 密閉 | シャーレの上蓋をしたままの常法培養。 |
| | 無処理 | 標準区で，全く処理を行わない常法培養。 |
| | 光線照射 | 後培養を自然光線下のガラス室で行なつたものである。 |
| 実験Ⅱ | 自然光線照射 | 定温器内にFL20Dの蛍光灯2燈を設置し昼夜照射。 |
| | 人工光線照射 | 内側に遮光紙を張つたダンボール箱(30×30×11cm)にシャーレを入れ遮光状態にしてイ・ロの両区に設置した。 |
| | 遮光 | シャーレの上蓋をすかし，空気の流通を自由にした。 |
| 実験Ⅱ | 開放 | シャーレの上蓋をしたままの常法培養。 |
| | 密閉 | 標準区で，全く処理を行わない常法培養。 |
| | 無処理 | 標準区で，全く処理を行わない常法培養。 |

注 後培養処理期間中は培養基内の水分蒸散が激しく，開放処理区はそのまま放置すれば菌叢は乾燥枯死する恐れがあつたため，乾燥防止の意味から菌叢周囲に殺菌水を注加した。注下の際は殺菌水が移植した菌叢をぬらさぬように，注意した。

(3) 調査

調査は，後培養処理1日および2日後（実験Ⅰ）と4日後（実験Ⅱ）に行なつたもので調査項目は下記のとおりである。

〔調査1〕 顕微鏡で菌叢表面の孢子形成状況を観察した。

〔調査2〕 菌叢表面の1ヶ所に殺菌水を2滴々下し，約1cm平方の菌叢表面を白金線で攪拌して，孢子浮游液を作り，それをスライド上にとり，顕微鏡(10×15)で計測した1視野平均の孢子数である。

〔調査3〕 調査2で観察したシャーレに，あらたに，10cc宛の殺菌水を注加して，菌叢全面を白金線で攪拌して作つた孢子浮游液を，スライド上にとり，顕微鏡(10×15)で計測した1視野平均の孢子数である。

〔調査4〕 気中菌糸の叢生程度を肉眼観察により判別したもので「+」の多少によつて気中菌糸の叢生程度をあらわしたものである。

〔調査5〕 調査時における菌叢直径である。

実験結果

上記方法による調査結果は，第2表および第3表に示すとおりである。

第2表 実験Ⅰ 光線照射ならびに通気が孢子形成におよぼす影響

| 区番号 | 処 理 | シャーレの上蓋 | 処理期間中気象表 | | | | 調査1 | | 2 | 3 | 4 | 5 |
|-----|------------|---------|----------|-------|-------|------|-----|----|--------|--------|--------|--------|
| | | | 温度 | 湿度 | 日射量 | 日照時数 | 24 | 48 | 1視野孢子数 | 1視野孢子数 | 1視野孢子数 | 1視野孢子数 |
| 1 | 光線照射(自然光線) | 開放 | 10~35 | 58~70 | 326.7 | 5.7 | + | 卍 | 925.0 | 19.4 | - | 24 |
| 2 | " | 密閉 | | * | 326.7 | 5.7 | - | ± | 0.4 | | + | 24 |
| 3 | 遮光(定温器内) | 開放 | 24 | 63 | | | - | ± | 0.5 | | + | 24 |
| 4 | " | 密閉 | 24 | ** | | | - | ± | 0.4 | | 卍 | 24 |
| 5 | 標準 | " | 24 | ** | | | - | ± | 0.4 | | ± | 30 |

注 1 * シャーレの上蓋に水滴が多数懸垂していた。
** シャーレの上蓋には余り水滴がみられなかつた。

第3表 実験Ⅱ 同 上

| 区番号 | 処 理 | シャーレの上蓋 | 処理期間中気象表 | | | | 調査1 | 形状 | 成 況 | 1視野 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|-----|--------------|---------|----------|-------|-------|------|-----|----|-------|------|---|----|---|---|
| | | | 温度 | 湿度 | 日射量 | 日照時数 | | | | | | | | |
| 1 | 光線照射 | 開放 | 15~29 | 52~54 | 104.9 | 17.8 | 卍 | | 384.5 | 40.1 | + | 44 | | |
| 2 | (自然光線) | 密閉 | | * | 104.9 | 17.8 | ± | | 1.1 | 1.5 | + | 45 | | |
| 3 | 光線照射 | 開放 | 24 | 68 | | | 卍 | | 267.4 | 56.1 | + | 44 | | |
| 4 | (人工光線) | 密閉 | 24 | ** | | | + | | 7.4 | 6.8 | 卍 | 45 | | |
| 5 | 遮光 | 開放 | 15~29 | | | | ± | | 2.3 | 1.4 | 卍 | 43 | | |
| 6 | (ガラス室, 自然光線) | 密閉 | 15~29 | * | | | ± | | 2.8 | 0.7 | 卍 | 43 | | |
| 7 | 遮光 | 開放 | 24 | | | | ± | | 2.3 | 1.5 | 卍 | 44 | | |
| 8 | (定温器人工光線) | 密閉 | 24 | ** | | | ± | | 2.2 | 2.1 | 卍 | 44 | | |
| 9 | 標準 | 密閉 | 24 | ** | | | ± | | 0.6 | - | ± | 60 | | |

注 1 *, ** 実験Ⅰに準ずる。
2 調査3項の数字は，1区，3区を除き他区は散光状態のまま調査が1日遅れたものである。

実験Ⅰ 養分転換操作後24時間目の菌叢表面の形成状況観察によれば，光線照射開放区は，孢子形成が行われつつあるのが認められたが，他の区はそれを認めることができなかつた。48時間後の調査では，光線照射開放区は，菌叢全面に孢子を著しく多量に形成しているのが観察された。しかし，他の区では形成孢子は，1~2ヶみられただけである。孢子濃度の調査でも光線照射開放区は，他の区に比較して，極めて高い数値を示した。逆

に気中菌糸の叢生は、遮光密閉区に多く、胞子形成の多かつた光線照射開放区には、その叢生が殆どみられなかつた。

実験Ⅱ 処理4日後の形成状況観察では、自然光線照射開放区および人工光線照射開放区に多数の胞子形成がみられた。しかし、その形成状況は、実験Ⅰと異なり菌叢周囲5~7mm巾に輪紋状に形成され、菌叢中央部には、あまり胞子形成が行なわれなかつた。胞子濃度の〔調査2〕では、やはり自然光線および人工光線照射開放区が濃度極めて高く、他の区では、人工光線照射密閉区が極めて少いながらこれに次ぎ、全般的に胞子濃度は低い。胞子濃度の〔調査3〕では、〔調査2〕に比較してその濃度差は少ないが、傾向は全く同様である。一方、気中菌糸の叢生状況は、各区共、菌叢中央部に叢生しており、実験Ⅰに比較して全般的に多く、区間では、光線照射区が少ない傾向を認めた。

自然光線照射開放区(第1区)と、人工光線照射開放区(第3区)を比較した結果、〔調査2〕の一定面積採取調査では、前者は、後者よりも胞子濃度は高かつた。これは、温湿度、その他の形成環境が、一方は自然状態下にあるため一定でなく、この成積のみにては比較することは困難であるが、おそらく照射光線量の相違が大きな原因になつているものと考えられる。しかし、〔調査3〕の全面採取調査では、この関係が逆転しており、その原因については判然としないが、人工光線照射、すなわち、人工的にも、相当量の胞子形成促進が可能なることを示唆している。自然光線照射密閉区(第2区)と、人工光線照射密閉区(第4区)の比較では、後者が、形成胞子量多く、自然光線区は劣つた。これは、自然光線区が密閉状態にあるため、シャーレ内の温度が高くなり、胞子形成環境としては極めて悪い条件で経過したためによるものと思われる。従つて、シャーレ内の温度を調節することができれば、人工光線照射区よりも、形成量が多くなるのではなからうか。自然光線照射開放区について、実験Ⅰと、実験Ⅱを比較するに、前者が胞子形成多く後者は少なかつた。実験Ⅱにおける胞子形成の少なかつた原因としては、供試菌や、後培養処理期間中の胞子形成環境、特に温湿度や日射量の違いとも思われるが、概して、菌叢中央部の気中菌糸の叢生が著しく、胞子形成が阻害されたこと、および、後培養処理期間が長かつたため、胞子の形成最盛期を過ぎ、形成された胞子が一部飛散逸脱したのではないかと推察された。

考察及び論議

以上、本実験では、光線照射開放区が、極めて多量の胞子を形成し、その形成状況は、稲体罹病葉上における形成状況に近似する状態であつたが、これは光線が一つの大きな促進要因になつているものと考えられる。

光線と胞子形成との関係については Barnett を始め

多くの研究者が、種々の植物病原菌について実験報告を行ない、同じく Hawker は、胞子形成と光線との関係から、植物病原菌を分類しているが、これらによれば、イモチ菌は、その胞子形成に関しては光線を必要とするものようである。なお井上、木下は、稲小粒キンカク病菌の分生胞子形成について、光線照射及び空気流動が好条件となることを観察し、また、松浦、池上は、紫雲英キンカク病菌の子のう盤の成熟には、光線が必要なることを指摘している。

次に、本実験結果から光線照射に並行して通気による水分蒸散、あるいは低湿度環境も、またイモチ菌胞子形成の促進要因となつていることは確実である。逸見等はイモチ菌胞子形成と湿度との関係について実験を行ない、高湿度程形成量多く、通常88%以下の空気湿度にてはその形成が行なわれにくいことを報告し、田村は、大豆シハシハ病罹病種子、および種皮で、胞子形成と湿度との関係を実験して、高湿度の場合にのみ胞子形成が可能なることを報告している。これらのことは、著者等の実験で低湿度環境が胞子形成を促進すると云う事実と相反するが、これらの実験では、胞子形成時における湿度の影響をみているのではなく、それ以前の菌叢の発育と湿度との関係を検討した結果のようにも考察される。すなわち、種々の湿度環境に対する菌叢の発育の良否が結果としての胞子形成量を左右したものと思われる。しかしながら、本実験で行なつた後培養開放下における空気湿度は52~70%であり乾燥によつて、菌叢の生存すら困難な低湿度条件ではあつたが、胞子を形成する菌叢には、培養基内の水分、あるいは、注加した水分によつて、胞子形成に必要な水分は充分に供給されたものと思われるので、ここでは単なる低湿度(乾燥)のみが胞子の形成を促進したのではなく、開放通気による水分蒸散や、その他の要因が関与したものと考えらるべきであろう。

本実験はイモチ菌胞子の大量培養法の案出に主眼をおいたため、処理操作の方法、その他に不満足な点が多いが、今後、問題となる点を整理し方法の簡易化に努めたい。なお、光源の種類、光線量との関係、通気処理の問題、使用培地、分生子梗の発達から胞子の形成に至るまでの経過とその機作に関する解析、本実験方法によつて形成させた胞子の病原性、あるいは、系統菌並びに継代培養による胞子形成量の低下との関係等は、今後検討する予定である。

摘 要

1 イモチ菌胞子の多量培養形成を目的とし、高橋氏の養分転換培養法を基礎にして、実験を行ない、若干の改変を加えて、「布ぎれ転換培養法」を考案した。

2 本培養法の後培養期間中に「光線照射、開放通気処理を行なうことにより、極めて多量の胞子を培養形成せしめることができた。

引用文献

1 Barnett, H. L. and V. G. Lilly (1950) *Phytopath.*, 40 : 80~89.
 2 Bisby, G. R. (1925) *Mycologia* 17 : 89~97.
 3 Coons, G. H. (1916) *Jour. Agr. Res.*, 5 : 713~769.
 4 Hawker, L. E. (1957) *The physiology of reproduction in fungi*, Cambridge p. 128.
 5 逸見武雄 (1949) 稻熱病の研究。
 6 Houston, B. R. and J. W. Oswald (1946) *Phytopath* 36 : 1049~1055.
 7 池上八郎 (1959) 日植病, 24 : 273~280.
 8 井上義孝・木下末雄 (1953) 日植病, 17 : 178.
 9 松浦 義 (1937) 紫雲英菌核病に関する研究 第 1

報 山形農試報告。
 10 見里朝正・原 薫 (1957) 農業及園芸, 32 : 795~798.
 11 Snyder, W. C. and H. N. Hansen (1941) *Mycologia* 33 : 580~591.
 12 下山 守人・市川 久雄 (1959) 北陸病害虫研究会報 7 : 22~25.
 13 高橋喜夫 (1955) 農業技術, 10 : 563~565.
 14 山田峻一 (1956) 日植病, 20 : 148~155.
 15 Zachariah, A. T., H. N. Hansen and W. C. Snyder (1956) *Mycologia* 48 : 459~469.
 16 石川農試病害成績 (1959) 19~20.
 17 北陸農試病害第 2 研究室成績 (1958) 1~5.
 18 北陸農試病害第 1 研究室成績 (1959) 1~4.

A cultural method of the mass sporulation of the rice blast fungus
 (*Piricularia oryzae* BRIOSI et CAVARA)

S. YOSHIMURA and Y. SUZUKI
 (Hokuriku Agricultural Experiment Station)

Summary

This experiment were carried out to obtain the spore of rice blast fungus in large quantities by means of artificial treatment.

As the result of this experiment, wilters made a successful to spore mass formation under the following method:

1. Used medium (Mr. Takahashi's medium)
 - A medium...Pepton 10 gm. NaCl 5 gm. Sugar 10 gm. EBIOS 5 tablets. Agar 15 gm. Dist. water 1L
used for mycelium growth 7 days
 - B medium...Rice straw 50 gm. Sugar 10 gm. Agar 15 gm. Dist. water 1L
used for after culture (spore formation) 2 days

2. Process of transput of growth mycelium.
7 days growth culture mycelium which grown on a piece of cloth spread above A medium surface are transput from A to B medium with cloth piece together.

3. Treatment
Treatment were carried out in green house (15~30°C) and thermostat (24°C).

Mycelial mat make to exposure in light condition (day light and fluorescent light) and aerial condition by open the cover of petri dish to let dry air in.

When to try above mentioned, we will be able to obtain mass product of spores of rice blast fungus.

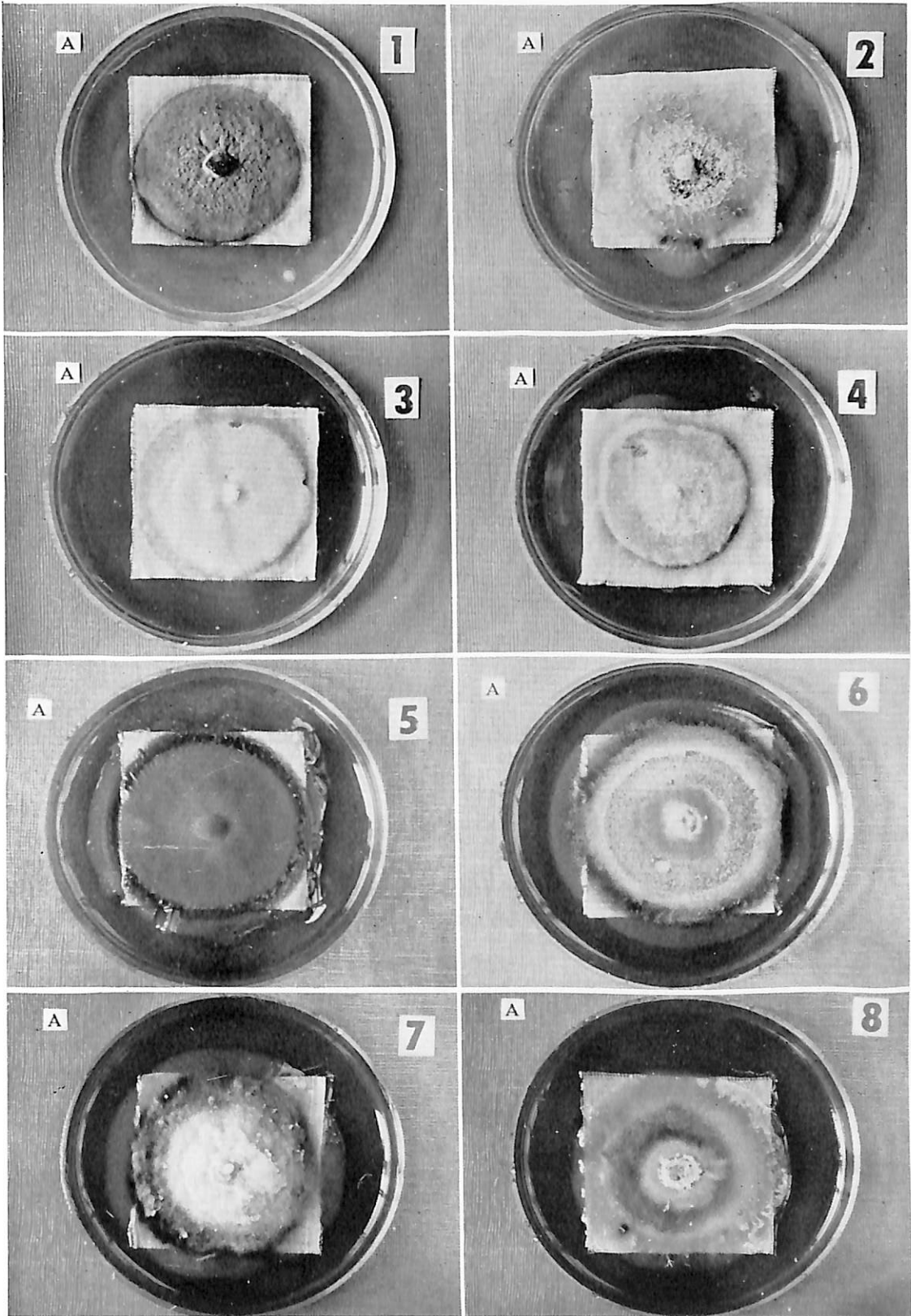
写真説明

- | | | |
|--------------------|-------------|---------------------|
| 1 自然光線照射開放区 | 2 自然光線照射密閉区 | 3 自然光線遮光開放区 |
| 4 自然光線遮光密閉区 | 5 人工光線照射開放区 | 6 人工光線照射密閉区 |
| 7 人工光線遮光開放区 | 8 人工光線遮光密閉区 | 9 菌叢上の水滴 |
| 10 (1)区(5)区の孢子形成状況 | 11 採集した孢子 | 12 本培養法による形成孢子の発芽状況 |

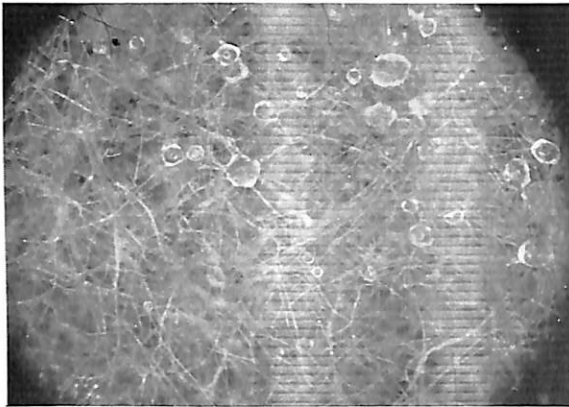
Photo Plate

Showing the result of the sporulation of the rice blast fungus in culture media.

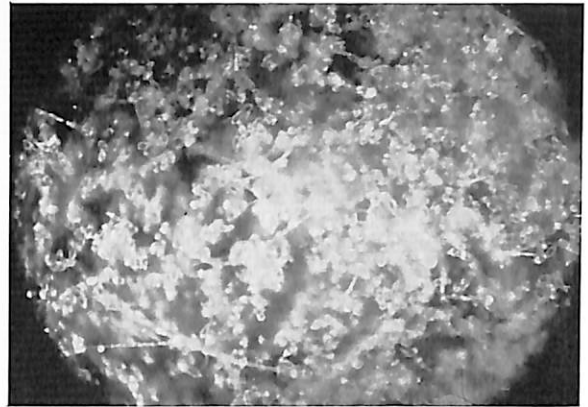
1. Cover opened, day light condition.
2. Cover closed, Ditto.
3. Cover opened, darkness condition.
4. Cover closed, Ditto.
5. Cover opened, artificial light condition.
6. Cover closed, Ditto.
7. Cover opened, shield the artificial light.
8. Cover closed, Ditto.
9. Drops on mycelial mat.
10. Sporulation in culture media.
11. Spores.
12. Germination spores.



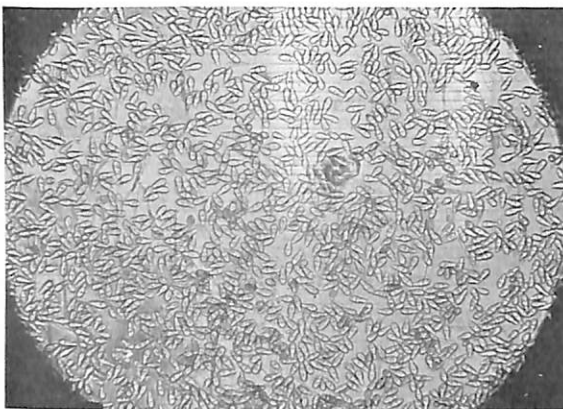
9



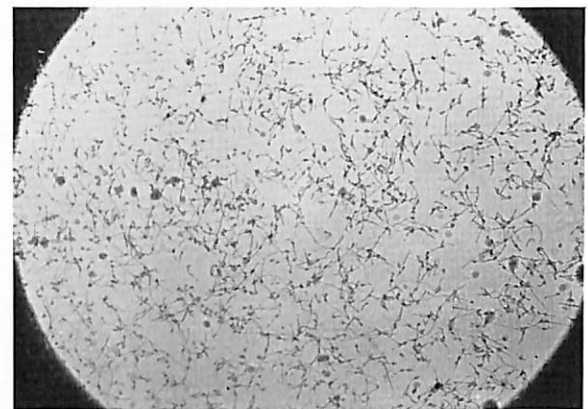
10



11



12



稲数種病害菌の培養濾液が他菌の生育に及ぼす影響

山 元 剛

(農林省北陸農業試験場)

オウカイシユク病罹病稲にゴマハガレ病、イモチ病等の多発し易いことは、小野(1953)田杉(1956)友永ら(1957)笹野(1958)等によつて知られており、モンガレ病、フシイモチは、ショウリュウキンカク病(以下ショウリュウと略称)の被害度を助長し、逆にセンチウシガラレ、クビイモチはショウリュウの被害度を減少させることが西沢(1952)吉井・野中(1953)野中(1957)によつて報告されている。昭和33年・34年に圃場で観察したところ、ショウリュウとゴマハガレ病との間にも第1表の如く、ショウリュウ罹病稲にはゴマハガレ病もまた多く発生している傾向が見られた。

このように、同一稲体上に2種又はそれ以上の菌が共存する場合、その相互の関係の仕方には(1)両菌が直接に関係する場合(2)1菌が稲にあたえた作用が稲の

第1表 ショウリュウとゴマハガレ病との関係

| | ゴマハガレ病病斑数(1葉当)※ | | |
|------------|-----------------|----------------|------|
| | A 健全稲 | B ショウリュウ罹病稲 ※※ | B/A |
| 越路早生(昭35) | 7.0 | 10.3 | 1.47 |
| 農林1号(昭33) | 1.9 | 2.3 | 1.21 |
| 農林21号(昭34) | 2.2 | 3.1 | 1.41 |

※ 止葉及次葉の病斑数の平均
 ※※ 罹病に病斑を生じたもの及びそれ以上に進展したものをそれ以下は健全とした。

生理を変え他菌に対して抵抗又は罹病的な反応として現われる場合(3)両菌が相互に関係しないが、稲の生理状態、外部条件等がたまたま両菌の好みに共通したため共存している場合、以上3通りがあるように考えられる。吉井・野中は、このうち第2の観点から稲の生理変化について報告している。著者はこれらの関係について