窒素およびカリ施用量がイネごま葉枯病菌の 宿主侵入に及ぼす影響*

堀 野 修**・赤 井 重 恭***

Osamu HORINO** and Shigeyasu AKAI***: Influence of amount of nitrogen and potassium on host entry and infection of *Helminthosporium oryzae*.

Abstract

In this communication we dealt with the conidial germination and hyphal invasion of *Helminthosporium oryzae* on or into the leaves of rice plants raised in sand culture with different nutrient solutions.

About 98 per cent of germinated conidia established their invasion through motor cells and the rest through stomatal pore, and no instances invading through other area were recognized. After the invasion of infection hyphae into motor cells, abundant granular substances were deposited in the cells.

These granular substances were abundant in the cells of plants raised with excess potassium (8 K and 3 K) or excess nitrogen (6 N) and a few in the cells of plant grown in nitrogen or potassium deficiency (1/4 N or 1/4 K). This granular degeneration of the cells seemed to be an indicative of plant resistant to the fungus, the deficient plant being susceptible to the fungal infection. Although no morphological difference was observed among the fungal hyphae on the tested plants, the infection hyphae seemed to be little narrower in the motor cells showed high granular degeneration.

(Received June 21, 1965)

植物疾病の発生が肥料要素, その他環境条件に左右されることは古くから指摘されており, イネごま葉枯病についてもその発生が肥料要素, とくに窒素, カリなどの施用量に影響されることが知られている^{1,2,3,4)}。逸見ら⁶⁾は, 本病の自然発生ならびに人工接種において窒素の施用量とともに, 病斑数も多くなり, 病斑面積も拡大するものと解したが, 島田^{10,11)}は窒素の施用量が増加すると単位面積当りの病斑数は多くなるが, 病斑拡大率は減少すると述べている²⁾。赤井, 森^{1,2,4)}によると, カリ欠乏状態で生育させたイネの本病感受性は幼苗, 成葉ともに高くなるようである。以上のように肥料要素の量によつて感受性は変化するが, その原因を追究したものは少ないようである。筆者らは窒素

カリの過剰および欠乏状態で砂耕したイネについて, ごま葉枯病菌の侵入状態を明らかにするため実験を行なった。

実験材料および実験方法

1) 供試菌 イネごま葉枯病菌 (*Helminthosporium oryzae*) 京大 13 号を用い, ショ糖加用ジャガイモ煎汁寒天に 28°C, 2 週間培養して生じた分生胞子を接種に使用した。

2) 供試水稻 朝日 4 号を砂耕法により育成したが, 各区の肥料要素施用量は田中・赤井¹²⁾の結果に基づいて第 1 表のように定めた*。病原菌接種は上位第 2 葉に行ない, 65 時間, 112 時間後にそれぞれ接種葉を約 5 mm² に切り取つて FAA 液** で固定した。固定

* 京都大学農学部植物病理学研究室業績, 第177号

** 岐阜大学医学部第二生理学教室

2nd Department of Physiology, Gifu University School of Medicine, Gifu, Japan.

*** 京都大学農学部植物病理学研究室

Faculty of Agriculture, University of Kyoto, Kyoto, Japan.

* 対照区の砂耕液処方: (NH₄)₂SO₄ 75, K₂SO₄ 20, Ca (NO₃)₂ · 4H₂O 40, KH₂PO₄ 10, Na₂HPO₄ · H₂O 15, CaCl₂ · 2H₂O 30, MgSO₄ · 7H₂O 65, クエン酸鉄 10, MnCl₂ · 4H₂O 36 mg, イオン交換水 1 l.

** Formalin, acetic acid, 60 % ethanol(60:25:100)

Table 1. Amount of elements in nutrient solution for sand culture

Plots	Elements used (mg/l)					Ratio of element to the standard
	N	P	K	Mg	Mn	
Standard	20.7	5.6	11.8	6.4	10.0	—
Potassium excess 8 K	20.7	5.6	92.8	6.4	10.0	7.86K
3 K	20.7	5.6	36.0	6.4	10.0	3.06K
Nitrogen excess 6 N	132.0	5.6	11.8	6.4	10.0	6.38N
3 N	62.1	5.6	11.8	6.4	10.0	3.00N
Potassium deficient 1/4K	20.7	5.6	2.9	6.4	10.0	0.25K
Nitrogen deficient 1/4N	4.7	5.6	11.8	6.4	10.0	0.23N

後 0.5% 弗化水素を含む 50% エタノールで 24 時間除珪酸を行ない、常法¹⁴⁾により脱水、パラフィンに埋蔵した。なお染色には 1% ゲンチアンバイオレット水溶液と 0.1% 酸性フクシン 50% エタノール溶液を用いた。

実験結果

1) 病原菌の寄生体侵入部位 本病原菌のイネ葉侵入は、気孔孔隙または機動細胞から行なわれることは島田¹⁰⁾、吉井¹⁵⁾、Tullis¹³⁾らがすでに報告しているが、栄養条件の異なるイネについての観察は少ないようである。筆者らの実験結果によると、各試験区間に相違は認めがたく、多くの場合機動細胞から侵入するようである。機動細胞上に達した本菌分生胞子の発芽管は速やかに膨大して付着器を形成し、珪酸層下に侵入し、さらに機動細胞膜中層を通過して機動細胞間、あるいは機動細胞内に侵入する。他方発芽管はイネ葉上を匍匐して気孔上に達しても容易に侵入せず、伸展をつづける場合もあるが、ごくまれに気孔孔隙から侵入することもある(第2表)。その場合、菌糸はねん転して瘤

Table 2. Part of leaves of rice plant invaded by the causal fungus

Plots	Invasion through motor cells	Invasion through stomatal pore
Cont.	96.7 (%)	3.3 (%)
8 K	100.0	0
3 K	98.4	1.6
6 N	98.2	1.8
3 N	100.0	0
1/4 K	97.0	3.0
1/4 N	98.4	1.6

状の付着器をつくり、それからごく細い穿入糸を出して気孔孔隙を通り、同化組織に達するようである。なお、その場合侵入菌糸は孔辺細胞中に侵入するようである。

2) 菌糸侵入の際にみられる機動細胞の顆粒状変性

栄養条件を異にして育成した栄養生長期のイネ葉、上位第2葉を用いて、本菌の侵入の際にあらわれる機動細胞の顆粒状変性の程度を各試験区間で比較した。

一般に寄主細胞が病原菌の侵入をうけた場合、細胞は抵抗反応を示すが、その場合細胞の示す機能的抵抗によつて寄主の感受性あるいは抵抗性を追究しようとした試みは少なくない。平井⁵⁾はムギ類雪腐病において侵入を受けた細胞の隣接細胞にミクロゾームが集まってくることを観察し、抵抗性品種ほどその集まり方が顕著であることを報告した。奥^{7,8)}もまたイネごま葉枯病において、侵入部位付近の細胞に顆粒が集まってくることを観察し、抵抗性品種では一般に菌の侵入に対して種々の生理機能が鋭敏に反応して、菌の侵入に抵抗するのに反し、罹病性品種では著しい変化が認められないことを述べている。筆者らは上述のように接種したイネ葉をゲンチアンバイオレットと酸性フクシンで染色して観察したが、菌糸の侵入した機動細胞ではその隣接細胞中に顆粒状物質が認められ、それらが褐色に染まっているのを観察した。

すなわち、接種後 65 時間では測定機動細胞のうち、30~50% が顆粒状変性をあらわし、112 時間後には 30~55% の機動細胞に顆粒状変性がみとめられた。

Table 3. Degree of granular degeneration in motor cells of leaves

Plots	65 hours after inoculation				112 hours after inoculation			
	—	+	++	+++	—	+	++	+++
Cont.	62.1	22.8	7.6	7.5	65.1	17.6	7.3	10.0
8 K	50.3	1.2	17.2	31.3	44.5	16.1	7.1	32.3
3 K	52.7	5.0	6.9	35.4	49.9	16.5	12.4	21.2
6 N	51.3	28.7	8.3	11.7	56.8	12.9	8.0	22.3
3 N	56.1	20.6	11.2	12.1	75.6	24.4	0	0
1/4 K	69.4	23.2	2.9	4.5	68.5	21.9	2.9	6.7
1/4 N	56.9	24.8	15.9	2.4	85.5	14.5	0	0

The figures in the table indicate the percentage of motor cells which deposited granules.

(—) No granules deposited

(+) Small amount of granules deposited

(++) Considerable amount of granules deposited

(+++) Remarkable deposition of granules

Fig. 1 Width of infection hyphae in motor cells.

Fig. 2 Width and length of infection hyphae in mesophyll cells

とくにカリ過剰区 (8 K, 3 K), 窒素過剰区 (6 N) では顆粒状物質の生成が著しく, 窒素欠乏区 (1/4 N), カリ欠乏区 (1/4 K) では少なかった。第 3 表の結果と機動細胞中に侵入している菌糸の太さ (第 1 図) とを比較すると, 8 K, 3 K, 6 N 区などでは菌糸は比較的細く, 接種 65 時間後すでに機動細胞の顆粒状変性が著しく, 顆粒状物質は侵入菌糸の周囲をとり囲んでいるようであった。このようにカリ過剰区および窒素過剰区において顆粒状変性の著しいことは, それらの区において病斑の拡大率が低いこと^{2,3)} と関係があるように思われる。

3) 侵入菌糸の形態と時間的变化 前項で使用した接種葉のパラフィン切片から, 各試験区のイネ葉機動

細胞中および同化組織中に侵入している菌糸の太さを調べた。上述のように (第 1 図), 従来本病に対して抵抗的であるといわれているカリ過剰区 (8 K, 3 K) のイネ葉機動細胞中の菌糸の太さは, 他の区に比して細く, またそのなかに生じた顆粒が菌糸をとり囲んで, 菌糸の伸長を抑制しているように観察された。この事実はごま葉枯病に感染したイネ品種の葉組織中の菌糸の直径を調べ, 抵抗性品種の葉に侵入した菌糸は細いが, 罹病性品種に侵入した菌糸は太いと報告した Tullis¹²⁾ の結果と一致する。1/4 N 区の菌糸の平均直径は接種後 65 時間では 3.13μ であつたが, 112 時間後には 5.66μ となつて, 菌糸は機動細胞からさらに同化組織中へ容易に侵入するようである。一方, 8 K, 3 K の機動細胞に侵入した菌糸も同化組織へ侵入するが, 機動細胞に隣接する同化組織では速やかに褐変がおこり, フクシンで濃染されていた。また機動細胞に侵入した菌糸の単位面積当りの分布状態と同化組織中に侵入した菌糸の分布状態とを比較すると, すべての試験区を通じて後者は前者より少ないようであつた。同化組織中に侵入している菌糸の平均長を各試験区間で比較することはやや困難であつたが, 8 K, 3 K, 3 N 区では短く, 対照区, 6 N, 1/4 K, 1/4 N では長かつた。また菌糸が機動細胞から

同化組織に侵入する場合には, 同化組織細胞間隙を通るようであつた。(第 2 図)。

考 察

イネごま葉枯病菌がイネ葉に侵入する場合, 侵入菌糸の 98 % が機動細胞から, 残りの僅か 2 % が気孔孔隙から侵入したが, 栄養条件をかえて育成した場合にも, 侵入部位には変化なく, 区間に明瞭な差を認めなかつた。しかし, 対照区, 1/4 K 区においては他の区よりも気孔孔隙侵入が僅かに多いように思われた。このような結果は Tullis¹³⁾, 吉井¹⁵⁾ らの報告と一致する。一方小野⁹⁾ はイネの生育条件によつて侵入部位が異なることを観察し, 奥⁷⁾ はイネが本菌に対して抵

抗性あるいは罹病性であっても、本菌侵入は常に機動細胞からおこり、その他の細胞からの侵入は認められないと報じている。筆者らは、本菌が機動細胞に侵入する際、Tullis¹³⁾、小野⁹⁾その他が認めているように、細胞の顆粒状変性を認めたが、その程度はカリ過剰区、窒素過剰区において著しく、カリ欠乏区、窒素欠乏区において少ないことなどから細胞の抵抗性、罹病性と一致するようと思われる。また機動細胞中の菌糸の太さと顆粒状変性の程度とも関係が認められ、顆粒状変性が顕著で、壊死の速やかな区(8 K, 3 K)では、感染菌糸の発育はきわめて不良のようである。

摘 要

イネごま葉枯病の発病とイネの栄養条件との関係、とくに侵入した菌糸の形態について観察したが、砂耕したイネ葉への本菌の侵入は 98 % が機動細胞から行なわれ、残りの 2 % は気孔孔隙から侵入した。この関係は栄養条件を異にしても変化しなかつた。

本菌侵入の際、とくにカリ過剰区(8 K, 3 K)において、機動細胞中に顕著な顆粒状変性が認められ、この顆粒状物質は菌糸の周囲をとりまいて菌糸の伸長を抑えるようと思われる。一方窒素、カリ欠乏区(1/4 N, 1/4 K)においては、この顆粒状変性の現われ方が弱く、菌糸は容易に同化組織中へ侵入していく。

各区の感染菌糸の形態を比較すると、8 K, 3 K, 3 N 区では、菌糸は細いようであつた。

引 用 文 献

1. 赤井重恭(1954) 農業及園芸, 29(6): 797.
2. ———(1962) 加里研究, 3: 1-6.
3. ———(1965) 農業及園芸, 40(3): 467-468.
4. Akai, S. and S. Mori (1954) Mem. Coll. Agr., Kyoto Univ. 69: 1-11.
5. 平井篤造(1955) 植物の病害抵抗性機作に関する研究,
6. 逸見武雄, 他(1939-1941) イモチ病防除に関する研究経過大要.
7. 奥八郎(1961) 病原菌の生理化学的性質からみたイネごま葉枯病機作の解析, 1-30.
8. Oku, H. (1962) Phytopath. Zeits. 44(1): 39-56.
9. 小野小三郎(1947) 生物増刊, 1: 53-57.
10. 島田尙光(1954) 日植病報, 18(3): 164.
11. ———(1956) 北陸病害研究会報, 4: 39-40.
12. 田中寛康・赤井重恭(1963) 日植病報, 28(3): 144-152.
13. Tullis, E. C (1935) Jour. Agr. Res. 50(1): 81-90.
14. 西山市三(1952) 細胞遺伝学研究法, 東京, 127-145.
15. 吉井甫(1939) 日植病報, 9(3): 170-172.