イネ病原菌胞子の発芽力におよぼす静水圧の影響*

(植物疾病に対する物理的要因の影響 Ⅲ)

池 上 八 郎**・高 木 勇***

Hatiro Ikegami** and Isamu Takagi***: Influence of Hydrostatic Pressure
upon Germinability of the Spores of Some Rice-Parasitic Fungi
Effects of Physical Factors upon the Plant Diseases III)

Abstract

1. The conidia of *Cochliobolus miyabeanus* and the chlamydospores of *Ustilagoidea virens*, and the conidia of *Piricularia oryzae* lost germinability by compression of 2,500 kg/cm² and 2,000 kg/cm², respectively, for 10 minutes. The germ-tubes of *C. miyabeanus* affected by hydrostatic pressure were slender and shorter than those of the normal. Conidia of *C. miyabeanus* compressed at 2,000 kg/cm² for 10 minutes, and those of *P. oryzae* pressured at 1,000 kg/cm² for 20-30 minutes, germinated bearing a 3-5-branched germ-tube.

2. The germination index of these fungi decreased with the length of time of compression at 1,000, 1,500 and 2,000 kg/cm², except of that of *C. miyabeanus* which compressed at 1,000 kg/cm². Tolerance of conidia to the pressure seemed to be largest in *C. miyabeanus*, though tolerance is variable with spore individuals. The conidia of *P. oryzae*, however, were found to be lowest in pressure tolerance among the fungi employed, and variation in tolerance due to spore individual was also restricted.

3. Elongation of the germ-tubes of the conidia of *C. miyabeanus* and *P. oryzae* was restricted in parallel with increase of pressure.

(Received August 8, 1966)

緒 言

静水圧処理したイネ病原菌分生胞子の形態的変性については既報⁴⁾した。今回は静水圧処理が胞子の発芽におよぼす影響について、(1) 加圧時間を一定にして静水圧を変えた場合、(2) 静水圧を一定にして加圧時間を変えた場合、および(3) 加圧胞子の発芽管の伸長度について実験した結果を報告する。

本実験を行なうにあたって、岐阜大学農学部、橋岡良夫教授、同大学医学部、舟岡省五名誉教授ならびに金関毅教授から御指導、御鞭達を賜わった。記して謝意を表する。

材料および方法

供試菌 イネいもち病菌 (*Piricularia oryzae* Cavara) およびイネごま葉枯病菌 (*Cochliobolus miyabeanus* Ito et Kurib.) は既報⁴⁾と同様に培養し、またイネこうじ病菌 (*Ustilagoidea virens* (Cooke) Tak.) は陸稲圃場から採集後、低温 (0~2°C) で4か月間保存した黄色病粒上の若令の黄色厚膜胞子を用いた。上述の2種の培養菌およびイネこうじ病病粒から殺菌蒸溜水で胞子浮遊液(1視野当り 5~10個, ×150)を作製した。この胞子浮遊液 1~2ml を滅菌した薄

* 岐阜大学農学部植物病理学研究室業績 41 号 本報告の一部は昭和 40 年 4 月 3 日、日本植物病理学会大会において発表した。

** 岐阜大学農学部 Faculty of Agriculture, Gifu University, Gifu-ken, Japan.

*** 岐阜大学医学部 Gifu University School of Medicine, Gifu-ken, Japan.

い2重のゴム袋に入れ、さらに薄いビニールで包み糸で固く結んだ。

加圧装置と加圧法 既報⁴⁾と同様であって、500 kg/cm²は低圧容器内で、1,000~2,500 kg/cm²は高圧容器内でそれぞれ所定時間加圧した。なお加圧中に孢子が発芽しないように5°C以下の室内で操作した。

孢子の発芽調査法 加圧孢子浮遊液に殺菌蒸留水を加えて孢子濃度を1視野当り3~10個(×150)とした。これをスライドガラス上に点滴し、28°Cの湿室にて所定時間保温後発芽率を調べた。*P. oryzae*および*C. miyabeanus*では孢子の長径以上に発芽管の伸長したものを、*U. virens*では2次孢子を生じた孢子をそれぞれ発芽孢子とした。*P. oryzae*、*C. miyabeanus*および*U. virens*の無加圧孢子の発芽率はそれぞれ80.9, 93.5, 63.1%であった。これらを発芽指数100として加圧孢子のそれと比較した。なお調査孢子数は前2者は350個、後者は500個とし、いずれも2~3回の実験を反復し、その平均値で示した。

実験結果

1. 異なる静水圧で加圧した孢子の発芽

P. oryzae、*C. miyabeanus*および*U. virens*の孢子に対して、加圧時間を10分とし、加圧度を変えて処理した孢子の発芽はFig. 1のように、1,000 kg/cm²までは加圧の影響がきわめて少なかった。後2者の孢子は1,500 kg/cm²以上、加圧度の増加にしたがって発芽指数が減少し、2,500 kg/cm²に至って発芽孢子が全くみられず、両菌孢子の発芽曲線はほぼ同一であ

Fig. 1. Germination index of spores of three rice-parasitic fungi which were compressed at the different hydrostatic pressures for 10 minutes (after 24 hours at 28°C).

った。これに対して*P. oryzae*の孢子は1,500 kg/cm²の加圧度で発芽は著しく不良となり、2,000 kg/cm²で無発芽となった。すなわち供試3種の孢子のうち、*P. oryzae*の孢子は耐圧力が最も小であることがわかった。また*P. oryzae*の孢子の耐圧力については個体差が比較的小であった。1,500 kg/cm²で加圧した*C. miyabeanus*の孢子の発芽形態はPlate 1に示すように、無加圧孢子と全く同様の発芽管を伸長したものの(2, 3-A), 発芽管が弯曲して伸長の抑制されたものの(3-B), およびかなり影響をうけて細い発芽管がわずかに伸長したもの(3-C, D)などがみられ、また孢子の中央部の2~3の細胞が変性したものでは、両端の未変性細胞からの発芽管の伸長が認められ、変性細胞からは細い発芽管を生じていた(4)。一般に加圧の影響をうけたと観察される孢子の細胞から生ずる発芽管は細く、しかも短かった。しかし既報⁴⁾の凝固細胞は発芽管を生じなかった。2,000 kg/cm²で加圧した*C. miyabeanus*の孢子の発芽形態はPlate IIのように、一般に濃褐色の孢子は耐圧力が強く、2,000 kg/cm²、10分加圧した既報⁴⁾の未変性孢子は発芽した。このような孢子は発芽管がわずかに伸長したところで3~5方向に分岐し、それぞれがさらに長く伸長する例が多かった(1, 2)。このような発芽管の異常分岐は1,500 kg/cm²、10分の加圧では全く観察できなかった。

2. 1,000 kg/cm² で加圧した孢子の発芽

5~60分の5階級の加圧孢子の発芽をFig. 2に示す。*C. miyabeanus*の孢子は1,000 kg/cm²、60分加圧まで発芽指数はほとんど変らなかったのに対して、*U.*

Fig. 2. Germination index of spores of three rice-parasitic fungi which were compressed at 1,000 kg/cm² for the different minutes (after 24 hours at 28°C).

virens の胞子は、30 分加圧で著しく低下し、60 分後では発芽指数 20 となった。また *P. oryzae* の胞子は 10 分加圧までは無加圧胞子と変らなかったが、20 分加圧で発芽指数 50、60 分加圧で 8 となった。以上の処理では *C. miyabeanus* の胞子が最も耐圧性であり、*U. virens* の胞子がこれにつき、*P. oryzae* の胞子は耐圧性最小である。*C. miyabeanus* の胞子を除く他の 2 種の胞子は個体差が認められた。つぎに、1,000 kg/cm² で加圧した *P. oryzae* の胞子の発芽形態を Plate II に示す。20 分加圧した胞子は発芽管の伸長不良のものが多く (3)、また 30 分加圧胞子では発芽管の異常分岐が認められた (4)。

3) 1,500 kg/cm² で加圧した胞子の発芽

Fig. 1 のように、1,500 kg/cm² では 3 種ともに加圧によって発芽が減少した。加圧時間を異にした場合の発芽を Fig. 3 に示す。すなわち *C. miyabeanus* の胞子は 15 分加圧まで発芽指数の減少著しく、15~60 分までは緩慢となり、60 分でもなお発芽指数 40 であった。*U. virens* の胞子は 30 分加圧まで発芽指数は著しく減少し、45 分ではほとんど発芽しなかった。*P. oryzae* の胞子は 15 分加圧まで急減し、30 分加圧で無発芽となった。以上の結果から、*C. miyabeanus* の胞子は耐圧力最大であるが、胞子の耐圧力の個体変異も大であるといえる。

4) 2,000 kg/cm² で加圧した胞子の発芽

Fig. 1 で示したように、2,000 kg/cm² では *C. miyabeanus* および *U. virens* の胞子の発芽を認めたので、これら 2 種の胞子について、加圧時間を異にした場合の発芽を調べて Fig. 4 の結果をえた。両菌胞子とも

に 10 分加圧までは発芽指数著しく減少し、*U. virens* の胞子は 20 分加圧で無発芽となったのに対して、*C. miyabeanus* の胞子は 20~45 分加圧まで緩慢な減少を示し、60 分加圧で無発芽となった。この結果も *C. miyabeanus* の胞子の耐圧性と胞子個体変異が大であることを示した。

5) イネいもち病菌およびイネごま葉枯病菌の加圧胞子の発芽管の伸長度

i) イネいもち病菌胞子

異なる静水圧下に 10 分加圧した *P. oryzae* の胞子の 28°C、3、6 および 9 時間後の発芽管の伸長度は Fig. 5 のようである。なお発芽管の伸長度に胞子の長径以上のもの (長発芽管) と以下のもの (短発芽管) にわけた。3 時間後では無加圧と 500 kg/cm² の両区ではすでに長発芽管の胞子が認められ、1,000 および 1,500 kg/cm² ではほとんどみられなかった。6 および 9 時間に至って各区ともに長発芽管の胞子は増加し、短発芽管の胞子は減少したが、静水圧の高いほど短発芽管の胞子の率が高くなった。すなわち静水圧の増加にしたがって発芽管の伸長が遅延し、また静水圧の影響によって発芽しても発芽管の伸長が抑制される。

ii) イネごま葉枯病菌胞子

異なる静水圧で 10 分加圧した *C. miyabeanus* の胞子の 28°C、3、6 および 9 時間後の発芽管の伸長度を上述の *P. oryzae* と同様に調べた結果は Fig. 6 のようである。発芽管の伸長度は 500 kg/cm² において最大、ついで無加圧区であった。1,000 kg/cm² 以上の加圧は無加圧区に比較して発芽率を低下させ、また発

Fig. 3. Germination index of spores of three rice-parasitic fungi which were compressed at 1,500 kg/cm² for the different minutes (after 24 hours at 28°C).

Fig. 4. Germination index of spores of two rice-parasitic fungi which were compressed at 2,000 kg/cm² for the different minutes (after 24 hours at 28°C).

Fig. 5. Elongation of germ-tubes with the lapse of time of incubation derived from the conidia of *P. oryzae* which were compressed at the different hydrostatic pressures for 10 minutes.

Fig. 6. Elongation of germ-tubes with the lapse of time of incubation derived from the conidia of *C. miyabeanus* which were compressed at the different hydrostatic pressures for 10 minutes.

芽管の伸長も遅延させた。しかし $2,000 \text{ kg/cm}^2$ で加圧した発芽胞子では 9 時間後その大多数の発芽管は長く伸長していた。

考察および結論

供試 3 菌のうち、*C. miyabeanus* の分生胞子は耐圧力最大であり、また胞子の個体差が比較的大きく、一般に濃褐色の胞子は淡褐色のものよりも耐圧力が大であった。これに対して *P. oryzae* の分生胞子は耐圧力が最小であって、胞子の個体差が比較的小であった。堀野³⁾によると、*C. miyabeanus* の分生胞子の細胞膜は平均 3.5μ で 3 層からなっているが、*P. oryzae* の分生胞子の細胞膜は 2 層からなり、その厚さは前者の約 $1/10$ で薄いと報じている。この細胞膜の厚さと同膜構成層の数が細胞原形質に対する静水圧の影響の大小に関係があると考えられる。また前報のように *U. vires* の厚膜胞子は球形であるが、胞子の細胞膜は突起のある外層と比較的薄い内層からなっているが、同菌の厚膜胞子の耐圧力は上述の 2 菌の間であった。本実験供試の 2 菌の胞子は $2,500 \text{ kg/cm}^2$ で致死したが、Larson ら⁵⁾ は種々細菌の増殖型菌は $6,000 \text{ kg/cm}^2$ で、また高木⁸⁾ は大腸菌 (*Escherichia coli* kitasato 62) で $6,000 \text{ kg/cm}^2$ 、5 分間の加圧でそれぞれ致死すると報じており、一般に細菌は耐圧力が大であるといえる。三木⁷⁾ は大根の種子について静水圧の除圧後、3 日目に発芽した種子は、 $50 \sim 500 \text{ kg/cm}^2$ 加圧では対照の約 20%、 $1,000 \text{ kg/cm}^2$ 加圧では約 2%、6 日目においてそれぞれ約 40%、約 13% であったとしている。すなわち植物の種子は糸状菌胞子よりもかなり低い静水圧で障害を受ける。また Larson ら⁵⁾ は桿菌は球菌よりも耐圧力小であると述べ、同様な傾向を Funaoka ら¹⁾ も認めている。本実験では胞子の形状と耐圧力との関係について、細胞膜の厚さなど部分的な示唆をえたが、胞子の耐圧力は胞子の大小とその細胞数、細胞膜数とその厚薄、細胞原形質の耐圧力の大小など、多くの因子が関与しているであろう。*C. miyabeanus* の分生胞子の発芽率は $1,000 \text{ kg/cm}^2$ 60 分加圧によっても影響されず、 $2,000 \text{ kg/cm}^2$ 40 分処理によっても、なお若干の発芽率を示したが、 $2,000 \text{ kg/cm}^2$ 10 分加圧によって発芽管の異常分枝が観察された。このような異常分枝の発芽管は $1,500 \text{ kg/cm}^2$ 以下では全く観察されなかった。しかるに *P. oryzae* の分生胞子では $1,000 \text{ kg/cm}^2$ 20 および 30 分加圧でも異常分枝の発芽管を生じた。正子⁶⁾ が γ 線 570 kr 、3 時間照射によって *C. miyabeanus*

の分生胞子の 2 叉あるいは 3 叉分枝発芽管を認めているが、これは本実験の異常分枝に類似するようである。また X 線照射によるエンバクの裸黒穂病菌 (*Ustilago avenae*) の異常発芽が報じられているが²⁾、本実験における *U. vires* の加圧厚膜胞子ではかかる異常発芽はみられなかった。*P. oryzae* および *C. miyabeanus* の分生胞子はともに加圧度とは逆比的に発芽管が伸長するが、前者は $1,500 \text{ kg/cm}^2$ 、後者は $2,000 \text{ kg/cm}^2$ 、ともに 10 分間加圧によっても、9 時間後には長い発芽管を生じた胞子があった。既報⁴⁾ の *C. miyabeanus* の分生胞子の $500 \sim 2,000 \text{ kg/cm}^2$ 静水圧による形態変性と発芽との関係の観察において、未凝固胞子はすべて発芽能力を有し、また部分的凝固胞子の一部が発芽胞子となることを明らかにした。この部分的凝固胞子のなかの細胞の過半数は、凝固した胞子の発芽しないものと、胞子の長径以下の細く、しかも短かい発芽管を生ずるにとどまるもののが多かった。これらは静水圧によって胞子の細胞原形質が著しい変性をうけたと解される。また全凝固胞子はすべて発芽能力を失って致死したと判定される。上述のことから静水圧のような物理的処理をした *C. miyabeanus* の分生胞子の光学顕微鏡下での形態変性の様相を観察すれば、胞子の発芽の有無、胞子の生死を判定することができよう。このことは *P. oryzae* にも適用の可能性があるが、*U. vires* の厚膜胞子では着色した小突起をもつ細胞膜のために細胞内の形態変性が観察しがたく、これは発芽試験によって胞子の生死を確める必要があろう。

胞子の老若によって耐圧力に変動があるかどうかを確めるために、培養期間を変えて実験を行なった。14~30 日の異なる培養日数の胞子は、 $1,500 \text{ kg/cm}^2$ および $2,000 \text{ kg/cm}^2$ 10 分の加圧ではほぼ同程度の耐圧力を示したが、これより若令、老令ともに耐圧力小であった。正子⁶⁾ は同菌について比較的若令および老令の胞子はその中間の胞子よりも紫外線による感受性が高いことを報じており、著者らの結果と類似していることは興味深い。*C. miyabeanus* の分生胞子および *V. vires* の厚膜胞子の若令 (黄色) と老令 (緑色) 胞子について 150, 300, および 450 kg/cm^2 の低圧では、おのおの 10 分加圧した結果によれば無加圧胞子と同様の発芽率を示し、低圧処理による発芽促進は認められなかった。

摘 要

1. *Cochliobolus miyabeanus* の分生胞子と *Ustil-*

Plate II

aginoidea virens の厚膜胞子とともに $2,500 \text{ kg/cm}^2$, 10 分加圧で, また *Piricularia oryzae* の分生胞子は $2,000 \text{ kg/cm}^2$, 10 分加圧で全く発芽能力を失った。静水圧の影響を受けた *C. miyabeanus* 分生胞子が発芽したとき, 発芽管は無加圧胞子のそれよりも細く短かった。本菌の分生胞子を $2,000 \text{ kg/cm}^2$, 10 分加圧して発芽させた場合, 発芽管はやや伸長してから 4~5 叉に分岐する異常伸長が観察された。同様の発芽は $1,000 \text{ kg/cm}^2$, 20 分および 30 分加圧した *P. oryzae* の分生胞子でもみられた。

2. $1,000$, $1,500$ および $2,000 \text{ kg/cm}^2$ で加圧時間を変えた場合, 胞子の発芽指数は $1,000 \text{ kg/cm}^2$ における *C. miyabeanus* の分生胞子を除いて, 加圧時間の長くなるほど減少した。*C. miyabeanus* の分生胞子が耐圧性最も大であり, また胞子個体間の耐圧力の差は大であった。*P. oryzae* 分生胞子の耐圧力は最も小であるとともに個体間の差は小であった。

3. *C. miyabeanus* および *P. oryzae* の分生胞子発芽管は静水圧の高まるにつれて次第に減少し, $2,500$

kg/cm^2 では長時間保温しても伸びなかった。

引用文献

1. Funaoka, S. Takagi, I. und Furuyama, Y. (1964). Lymphatologia, Suppl, Nr 2: 17-22
2. Holton, C. S. and Niln, R. A. (1966). Phytopathology 56: 265-268
3. 堀野修・赤井重恭 (1965). 日本菌学会報 6(2): 41-46
4. 池上八郎・高木勇・古山嘉美 (1965). 岐阜大農報 21: 43-52
5. Larson, W. P., Hartzell T. B. and Diehl, H. S. (1918). J. Infections Diseases 22: 271
6. 正子朔 (1961). 京大農植病研業績特別発表 14: 1-115
7. 三木福治郎 (1960). 岡山医学会誌 72 (8-10): 1643-1649
8. 高木勇 (1964). 岐阜医大紀要 12 (2): 75-84

Explanation of Plates

Plate I. Germination (after 24 hours at 28°C) of conidia of *Cochliobolus miyabeanus*, non-compressed and compressed at $1,500 \text{ kg/cm}^2$ for 10 minutes,

1. Germination of the non-compressed normal conidia.
2. Germination of the compressed conidia
3. A normal germ-tube(A), an abnormal curved germ-tube(B) and poor germ-tubes (C and D).
4. Germ-tubes from each end cell and a poor germ-tube from a side cell of a compressed conidium.

Plate II. Abnormal germ-tubes of the compressed conidia of *Cochliobolus miyabeanus* (1 and 2) and *Piricularia oryzae* (3 and 4) after 24 hours at 28°C .

1. A conidium bearing a branched germ-tube(A) and two non-germinated conidia(B) which were compressed at $2,000 \text{ kg/cm}^2$ for 10 minutes.
2. Two branchy germ-tubes from an end cell and from a side cell of a conidium which was compressed at $2,000 \text{ kg/cm}^2$ for 10 minutes.
3. Poor germination of the conidia which were compressed at $1,000 \text{ kg/cm}^2$ for 20 minutes.
4. Abnormal branching of a germ-tube from a conidium which was compressed at $1,000 \text{ kg/cm}^2$ for 10 minutes.