穂ばらみ期注射接種によるイネ墨黒穂病の発病*

原田 幸雄**・三橋 泰仁**・松田 正樹**

Yukio HARADA**, Masahito MITSUHASHI** and Masaki MATSUDA** :
Artificial Production of Kernel Bunt of Rice, Caused by *Neovossia horrida*,
Due to Boot Inoculations*

Abstract

In Japan, kernel bunt of rice, caused by the fungus *Neovossia horrida* (Tak.) Padw. & Khan, is usually of minor importance with negligible losses. Occasionally, however, an unusual outbreak of the disease has been noticed locally, where almost all spikes were affected showing very high incidence of the diseased grains on them. Such a sporadic, unusual occurrence of the disease enabled us to assume that some unknown infection mechanism, other than floral infection during anthesis, might operate for the development of the disease. In 1989 and 1990, a series of boot inoculations were made of rice plants (*Oryza sativa* L.) to see whether or not the spikes in boot stage or just in heading were liable to infection with the fungus. Two ml each of inoculum (culture filtrates of the fungus which contained 2×10^5 conidia (secondary sporidia)/ml) were injected with a hypodermic syringe into a boot (sheath) at different growth stages (from panicle-formation stage to heading time). The rice plants were grown in pots and kept in a glasshouse throughout the experiments. Inoculations during the period of late boot stage (2 days before heading) to heading time resulted in high rates of infection (9 spikes out of 20 inoculated in 1989 and all 9 spikes inoculated in 1990). Percent diseased grains on each infected spikes were 27.8-60.0 (av. 40.8) and 4.4-55.1 (av. 25.2) respectively in 1989 and 1990. Diseased grains of various symptom types were produced, among which grains showing no apparent fungus structure outside but filled inside with teliospore masses were most numerous (36.3% and 63.2% respectively in 1989 and 1990). On the other hand, inoculations at or before early boot stage (6 days before heading time) were all unsuccessful. None of the uninoculated control plants was infected. The success of boot inoculations would make a proof of the previously reported effectiveness of chemicals sprayed on rice plants at boot stage in controlling the disease.

(Received February 28, 1994)

Key words : kernel bunt of rice, *Neovossia horrida*, *Oryza sativa*, boot inoculation.

緒 言

イネ墨黒穂病は腥黒穂菌科に属する *Neovossia horrida* (Takahashi) Padw. & Khan の寄生に起因し収穫期近く of 籾に発生する¹⁰⁾。典型的症状は被害籾の内稃の合わせ目より特異の舌状物とともに黒粉 (冬孢子塊) を噴出し付近の健全籾をも汚染し容易に人目につく。この舌状物は菌に侵された胚乳の一部が未利用のまま残り変形したものである。この他内部の胚乳がほとんどすべて菌の冬孢子におき代わっているが、

裂開することもなく外観的に識別の困難な被害籾もある。本病はわが国にも広く分布しているが、平年は発生率も低くほとんど実害のないことから見逃されがちである。しかし年により局地的に異常発生して問題となることがある^{3,5,12)}。

本病の発病機構については子苗感染と開花期の花感染の2説があって混乱している。Reyes¹⁴⁾ は冬孢子で汚染された籾を発芽させ、生じた子苗を栽培して発病植物を得たことから籾あるいは子苗感染説を提唱した。同様に三浦ら¹²⁾ も健全籾に病籾を混和して育苗す

* 本論文の一部は平成2年度日本植物病理学会東北部会で発表した。

** 弘前大学農学部 Faculty of Agriculture, Hirosaki University, Hirosaki, Aomori 036, Japan

ると、発育した植物に本病の増加する傾向を認めたが、健全籾区にも発病穂の現われたことから、子苗感染の有無については論じていない。Tullis and Johnson¹⁸⁾はイネ墨黒穂病菌冬胞子を発芽させて得た担子胞子をイネおよび4種の *Pennisetum* 属の子苗に接種したのち生長させて、そのうち *P. glaucum* と *P. alopecuroides* (チカラシバ) の2種で発病植物を得たが、イネでは発病を認めなかった。

一方 Templeton¹⁶⁾は開花中の穎花を分生子で接種して穂当たり1, 2粒の感染籾を得た。また Whitney¹⁹⁾も開花期の花を担子胞子で接種して感染籾を得たが、Tullis and Johnson¹⁸⁾の追試として行った子苗の接種では *Pennisetum alopecuroides*, *P. glaucum*, イネのいずれでも発病植物を得ることが出来なかった。本蔵・原田⁴⁾は開花期に分生子液を噴霧あるいは注射接種して低率ながら感染籾の発生を認めた。

Royer and Rytter¹⁵⁾はコムギの Karnal 腥黒穂病菌およびイネ墨黒穂病菌の寄主範囲を調べる研究で、供試した57種のイネ科植物中イネのみがイネ墨黒穂病菌に感染することを見出した。接種法として小生子懸濁液を穂ばらみ期の穂に注射する方法と開花中の穎花に噴霧する方法の2つをあげており、イネとイネ墨黒穂病菌の組合わせでは発病植物率80%以上の高い値が示されているが、実際にどちらの接種法が用いられたのか判然としない。また発病の様相も不明である。

圃場において本病の1罹病穂上の病粒は通常1, 2粒であり、これは開花中の穎花の局部感染に起因すると思われる。しかし稀に1穂上に数粒ないし10数粒の被害籾のみられることもある^{12, 13)}。また本病は稲こうじ病と混合して発生することが多い⁶⁾。この様な発病様相は、穂ばらみ期の薬剤散布が本病の防除に効果のあることと相まって、例えば稲こうじ病でみられるような⁹⁾、穂ばらみ期の感染の可能性を暗示する。

著者らは1989年と1990年の両年、出穂直前の穂ばらみ期の穂に病原菌の担子胞子液を注射接種したところ、容易に発病することを見出した²⁾。この事実は本病の生態上新知見を加えるものであり、また防除上も重要な意味を持つと思われるので、ここにその詳細を報告する。

材料および方法

供試菌 1984年9月18日青森県西津軽郡深浦町で採集されたイネ墨黒穂病病穂から枝梗とともに病粒を選別、パラフィン紙に包んで大型シャーレに収め5°Cの冷蔵庫に保存、1989年の接種に用いた。また、この

年の接種で発病した穂の病粒を同様に保存して1990年の接種に用いた。

接種源 本病菌冬胞子の発芽適温は30°C付近とされているので^{11, 17)}、まず担子胞子を得るため次の方法で発芽試験を行った。病籾から冬胞子の小集塊をかき取り、小試験管の殺菌水(2 ml)に懸濁させ、これをもとに順次1/10濃度に希釈して5段階の濃度の胞子液を調製した。これらをそれぞれストレプトマイシン添加素寒天平板培地(粉末寒天20 g, 硫酸ストレプトマイシン明治100 mg, 蒸留水1,000 ml; オートクレーブ殺菌後直径9 cm, 高さ1 cmのシャーレに5 ml分注、固化)に流し込み、余分な液を殺菌ビペットで吸い取り、シャーレの上蓋を半開きにしてクリーンベンチ内で約30分間通風して、寒天表面の遊離水を乾かした後、シャーレをアルミホイルで覆い25~30°C下で培養した。冬胞子の発芽は培養3, 4日後から始まり、間もなく前菌糸先端部(担子器)上に多数の担子胞子が形成された。その数は1担子器上に普通20~30個、多い場合50~60個と見積もられた。次にこの発芽冬胞子のある寒天部分をかき取ってショ糖加用ジャガイモ煎汁(ジャガイモ200 g, ショ糖20 g, 蒸留水1,000 ml; 100 ml容三角フラスコに50 ml分注、オートクレーブ殺菌)に移植し室内散光下(室温26~29°C)で静置培養した。接種量は1フラスコ当り3個の発芽冬胞子で、従って少なくとも100個の担子胞子を含むものと思われる。約2週間後、培養液とともに菌そうを取り出し、分生胞子(小生子)を遊離させるためバイプレーターで振とうさせた後、ガーゼ2枚でろ過して接種源胞子液とした。この胞子液には多少の菌糸の断片とともに、分生子が含まれた。分生子には α 型(バナナ形; lunate sporidia)と β 型(鞭状; filiform sporidia)の両方存在したが、後者の方が多く、両者合わせた濃度は 2×10^5 個/mlであった。

供試イネ 1989年にはムツニシキ、1990年にはアキヒカリをそれぞれ用いた。予め20日間温室で育苗した草丈15 cmの苗を5千分の1aワグネルポットに1989年は各3本、1990年は1本ずつ植え、無加温のガラス室内で栽培管理した。試験期間中、時々かん水する以外は追肥や薬剤の散布は行わなかった。用土はポット当たり粘土2.5 kg, 化成肥料(N:P:K=2:8:15)5 gで、各接種区1ポットを用意した。

接種法 1989年の実験では7月下旬から8月上旬の幼穂形成~穂ばらみ期に3回、1990年には8月上旬~8月下旬の幼穂形成期から穂ばらみ~出穂期にかけて3~6日間隔で7回、いずれも注射接種を行った。す

なわち注射器の針を下に向け、針を葉鞘上部から穿刺し、1穂当たり2mlの胞子液を注入した。各区(ポット)比較的生育の進んだものの中から約10穂選び接種した。対照に無接種の1ポットを用意した。

発病調査 1989年には10月4日、1990年には9月26日にそれぞれ供試穂を採取し、発病調査を行った。感染粒の判定は外部症状が明らかなもののほかに、穎が閉じていても光にかざして黒ずんで見えるものは穎を針で突き破り内部の黒粉(冬胞子塊)の有無を確認した。これら感染粒の症状の区分は第1図に示す。

A. 感染粒

a. 外穎に亀裂・胞子飛散

1) 玄米が露出し亀裂

2) 玄米は露出せず亀裂

b. 内外穎が開き、果皮露出または胞子飛散

1) 内外穎の先端は開く

2) 内外穎の先端は閉じる

c. 亀裂・開穎無し(光にかざすと黒ずんで見える)

B. 健全粒

C. 不稔粒

第1図 イネ墨黒穂病感染粒、健全粒及び不稔粒の分類

結 果

1. 1989年の接種試験

第1表にみられるように、幼穂形成期(7月29日)および穂ばらみ期の初期(7月31日)の接種区では発病がみられなかった。一方穂ばらみ期の後期(8月5日)に接種したポット4および5でそれぞれ10接種穂中8穂および1穂で発病がみられた。このうち高い発病率の得られたポット4のそれぞれの発病穂の粒の症状の解析結果を第2表に示す。各穂の感染率は最低27.8%,最高60.0%,平均40.8%であった。感染粒の症状はどの穂においてもa-1からcまでの各症状型がみられたが、一般に感染率の高い穂No.1,4,7,8でc型の多い傾向がみられ、この型は8穂全体で全感染粒の36%であった。また各穂に多数の不稔粒がみられ全体で45.9%であった。

2. 1990年の接種試験

第3表にみられるように、8月4日から8月24日までの幼穂形成期～穂ばらみ期初期に行われた6接種区ではいずれも発病がみられなかった。一方8月30日の穂ばらみ～出穂期の接種区で9接種穂のすべてに感染粒の発生がみられた。この区のポット7のそれぞれの発病穂の粒の症状の解析結果を第4表に示す。各穂の感染率は最低4.4%,最高55.1%,平均25.2%であった。感染粒の症状は前年の試験におけると同様c型が最も多く、9穂全体で感染粒の63.2%を占めた。不稔粒の発生率は全体で平均4.9%であり、対照の無接種10穂での平均2.8%に比べていく分多かった。健全・稔実粒数は接種区平均69.3個で対照区の106.5個の65.1%にとどまった。

第2図には2つの発病穂上における感染粒の分布と症状型とを示す。これによれば感染粒は同一2次枝梗上あるいは隣接する小枝梗上にかたまって発生する傾向が認められる。他の7発病穂についても同様であった。

第1表 幼穂形成～穂ばらみ期のイネ穂に対する墨黒穂病菌の注射接種の結果(1989)^{a)}

ポット No.	接種月日	接種時の穂の发育段階	発病確認月日	発病穂率
1	7.29	幼穂形成期 (出穂 ^{b)} 9日前)	—	0/10
2	7.31	穂ばらみ期 (出穂7日前)	—	0/10
3	7.31	穂ばらみ期 (出穂7日前)	—	0/10
4	8.5	穂ばらみ期 (出穂2日前)	9.9	8/10
5	8.5	穂ばらみ期 (出穂2日前)	9.9	1/10
6	無接種		—	0/10

a) 品種はムツニシキ

b) 「出穂」は最初の出穂開始日を表す

考 察

に起こり、出穂 20 日前ころから雌雄ずいの原基が現われ、出穂 6 日前ころから穂ばらみ始める。そして穂長が星川⁷⁾によれば、イネの幼穂の分化は出穂約 30 日前最大になって 2, 3 日後から出穂し、その直後から開花

第 2 表 穂ばらみ期注射接種のイネポット 4^{a)} における各穂の発病状況 (1989)

穂 No.	着生粒数	感染粒数 (%)	症状別感染粒数					不稔粒数	健全・稔実粒数
			a-1	a-2	b-1	b-2	c		
1	85	51 (60.0)	9	8	6	5	23	28	6
2	62	21 (33.9)	2	1	7	5	6	37	4
3	81	23 (28.4)	5	6	1	5	6	48	10
4	73	31 (42.5)	6	5	3	5	12	22	20
5	54	15 (27.8)	2	3	1	6	3	26	13
6	79	24 (30.4)	3	4	5	9	3	53	2
7	86	34 (39.5)	1	5	6	7	15	46	6
8	81	46 (56.8)	14	5	4	2	21	16	19
平均 (%)	75	31 (40.8)	5.3	4.6	4.1	5.5	11.1	34.5 (45.9)	10 (13.3)

a) 8 月 30 日接種

第 3 表 幼穂形成～穂ばらみ期のイネ穂に対する墨黒穂病菌の注射接種の結果 (1990)^{a)}

ポット No.	接種月日	接種時の穂の発育段階	発病確認月日	発病穂率
1	8. 4	幼穂形成期 (出穂 ^{b)} 26 日前)	—	0/10
2	8. 7	〃 (出穂 23 日前)	—	0/10
3	8.11	〃 (出穂 19 日前)	—	0/10
4	8.15	〃 (出穂 15 日前)	—	0/10
5	8.20	〃 (出穂 10 日前)	—	0/10
6	8.24	穂ばらみ期 (出穂 6 日前)	—	0/ 8
7	8.30	穂ばらみ～出穂期 (出穂 2 日前～出穂中)	10.5	9/ 9
8	無接種		—	0/10

a) 品種はアキヒカリ

b) 「出穂」は最初の穂の出穂開始日を表す

第 4 表 穂ばらみ～出穂期注射接種イネ (ポット 7)^{a)} における各穂の発病状況 (1990)

穂 No.	出穂日		接種時の穂の発育段階	着生粒数	感染粒数 (%)	症状別感染粒数					不稔粒数	健全・稔実粒数
	開始	完了				a-1	a-2	b-1	b-2	c		
1	8.29	9.1	出穂 1 日後	109	10 (9.2)	0	0	0	0	10	7	82
2	8.29	8.31	出穂 1 日後	68	3 (4.4)	0	0	0	0	3	1	64
3	8.29	9.1	出穂 1 日後	112	9 (8.0)	1	0	0	0	8	3	100
4	8.30	9.2	出穂当日	123	22 (17.9)	5	2	0	1	14	5	96
5	8.30	9.1	出穂当日	113	20 (17.7)	2	1	0	1	16	14	79
6	8.30	9.2	出穂当日	84	28 (33.3)	4	2	0	2	20	6	50
7	8.31	9.3	出穂 1 日前	117	39 (33.3)	6	6	0	5	22	4	74
8	9.1	9.3	出穂 2 日前	107	59 (55.1)	8	10	5	2	34	2	46
9	9.1	9.3	出穂 2 日前	73	38 (49.4)	2	10	4	5	17	2	33
平均 (%)				101	25.3 (25.2)	3.1	3.4	1.0	1.8	16	4.9 (4.9)	69.3 (68.9)
無接種 10 穂平均 (%)				109.6	0 (0)	0	0	0	0	0	3.1 (2.8)	106.5 (97.2)

a) 8 月 30 日接種

第2図 発病穂上における感染粒の分布と症状

○ 健全粒, ● 発病粒 (文字は症状型), ⊗ 不稔粒

が始まる。本研究において、出穂1, 2日前の穂ばらみ期から出穂期に葉鞘内にイネ墨黒穂病菌分生子液を注射接種すると、容易に穂が発病し、1989年の試験では平均40.8%, 1990年は平均25.2%と高率に感染粒の発生することが明らかとなった。以上の結果から、野外水田で雨天が続くようなとき、イネの茎葉上に飛散した本病菌の担子孢子あるいは分生子(小生子)が雨水や露と共に出穂のため緩み始めた葉鞘内に侵入し穂に感染する、いわゆる穂ばらみ期感染が実際に起こりうると思われる。このことは本藏・長田⁹⁾および井口⁸⁾が、本病の薬剤防除試験で、穂ばらみ期の散布でかなり高い防除効果を得ていることから十分推察できる。

第4表から個々の穂の接種時の生育状況と感染率率との関係を見ると、一般に出穂1, 2日前の穂への接種が出穂中の穂への接種より高い感染率率を示している。1989年と1990年の試験では前者においてはるかに高い感染率率を得られた。供試イネの品種や気温条件等が異なるので単純に比較は出来ないが、1989年の接種は出穂前の穂ばらみ期の穂のみを対象としたのに対し、1990年の接種穂には一部出穂中のものも含まれていた。従って、接種時期の僅かの遅れが感染率率の

差となって現われた可能性が考えられる。

穂ばらみ期接種で発病した穂の感染率率は、自然発病穂の感染率率¹³⁾より著しく高い。また同一接種穂の感染粒には種々の症状がみられたが、これは穂上の小花の生育に若干の遅延のあること⁷⁾と関係しているものと思われる。すなわち、比較的生育の遅れた小花では菌によって胚乳が完全に利用され尽くすのに対し、生育の進んだ小花では胚乳の一部が未利用のまま残され、これが特異の舌状形を呈して粒の亀裂や裂開を起こすのであろう。穂ばらみ期接種の発病穂で穎の閉じた感染粒の圧倒的に多いことは前述の推察とよく一致する。

これまでの本病薬剤防除試験では、開花5日前から開花4日後頃までの比較的長期間の散布で防除効果が認められている。このことは開花期感染とともに、穂ばらみ期感染の可能性を考慮することによって、よく理解される。両感染経路のいずれが主要となるかはこの期間の気象条件によって影響され、従って薬剤散布時期と防除効果の関係は年によりあるいは地域によりかなり変動するものと考えられる。

Ikegami⁹⁾は稲こうじ病 (*Ustilaginoides virens* (Cke.) Takahashi) の穂ばらみ期接種による感染に

ついで報告している。接種は出穂 13 日前, 6 日前, および 3 日前の 3 時期に行い, 感染率は 3 日前接種が最も高く, 6 日前接種そして 13 日前接種と順に低下した。穂ばらみ期の葉鞘内の穂が感染する点では今回の墨黒穂病の穂ばらみ期接種試験の結果に類似する。ただし, 稲こうじ病の場合に比べ, 本病では感染危険時期が穂ばらみ期のごく後期(出穂開始 2 日前)ないし出穂中に限られており, さらに多くの研究者が報告しているように, 本病では開花期の小花の局部感染も起こりうる点で異なっている。このような本病菌の感染機作はコムギの Karnal bunt¹⁵⁾, すなわち腥黒穂病菌の 1 種 *Neovossia indica* (Mitra) Mundkur のそれに極めてよく似ており, 菌学的見地からも興味深いものである。

摘 要

1989 年および 1990 年の両年ガラス室内でイネ墨黒穂病の感染機構を調べるため接種試験を行った。穂ばらみ期のごく後期(出穂 2 日前)から出穂中期に葉鞘内にイネ墨黒穂病菌の分生子(小生子)懸濁液を注射接種すると, 容易に発病穂が得られ, 発病穂上の感染率は自然発病穂に比べ著しく高かった。出穂 6 日前あるいはそれより早い時期の葉鞘(内にある穂)への注射接種では発病穂が得られなかった。穂ばらみ期接種により発病した穂の感染率には種々の症状がみられたが, 穎の閉じたまま内部に黒粉を蔵する型の穎が最も多かった。穂ばらみ期接種試験の成功は本病防除上穂ばらみ期薬剤散布の有効性の理論的根拠になるものと思われる。

引 用 文 献

1. 藤田勝正 (1932). 稲の墨黒穂病菌の発芽に就きて. 日植病報 2: 473 (講要).
2. 原田幸雄・三橋泰仁・松田正樹 (1991). 穂孕期注射接種によるイネ墨黒穂病の発病. 日植病報 57: 85-86 (講要).
3. 本間宏基・恵畑康利・古川 明・井口慶三・村田明夫 (1986). イネ墨黒穂病の発生とその症状. 日植病報 52: 146 (講要).
4. 本藏良三・原田幸雄 (1989). イネ墨黒穂病の接種試験. 北日本病虫研報 40: 191 (講要).
5. 本藏良三・三浦正勝・三浦喜夫 (1990). イネ墨黒穂病の被害と防除. 北日本病虫研報 41: 43-46.
6. 本藏良三・長田 茂 (1993). イネ墨黒穂病防除薬剤の散布時期. 北日本病虫研報 44: 10.
7. 星川清親 (1980). 新編食用作物. 養賢堂, 東京. pp. 59-70.
8. 井口慶三 (1990). イネ墨黒穂病発生ほ場におけるひも状胞子の飛散状況と発病との関係および薬剤防除法. 日植病報 56: 383 (講要).
9. Ikegami, H. (1960). Infection of the false smut due to inoculation with chlamydospores and ascospores at the booting stage of rice plants (Studies on the false smut of rice. IV). Res. Bull. For. Agric. Gifu Univ. 12: 45-51.
10. 兼平 勉・土佐佳史・篠原正行 (1988). イネ墨黒穂病とその病原菌. 植物防疫 42: 9-12.
11. Lin, C.K. (1936). Factors affecting the germination of chlamydospores of *Tilletia horrida* Tak. Univ. Nanking Coll. Agric. For. Bull. 45: 41-53.
12. 三浦喜夫・辻 英明・石垣政道 (1988). 宮城県におけるイネ墨黒穂病の多発生について. 北日本病虫研報 39: 94-97.
13. 中田覚五郎 (1948). 作物病害図編 (改訂第九版). 養賢堂, 東京. pp. 18-19.
14. Reyes, M. (1993). The black smut, or bunt, of rice (*Oryza sativa* Linnaeus) in the Philippines. The Philip. J. Agr. 4: 241-270, Plates I-VII.
15. Royer, M.H. and Rytter, J. (1988). Comparison of host ranges of *Tilletia indica* and *T. barclayana*. Plant Dis. 72: 133-136.
16. Templeton, G.E. (1961). Local infection of rice florets by the rice kernel smut organism, *Tilletia horrida*. Phytopathology 51: 130-131.
17. Teng, S.C. (1931). Observations on the germination of the chlamydospores of *Tilletia horrida* Tak. Cont. Biol. Lab. Sci. Soc. China, Bot. Ser. 6: 111-115.
18. Tullis, E.C. and Johnson, A.G. (1952). Synonymy of *Tilletia horrida* and *Neovossia barclayana*. Mycologia 44: 773-788.
19. Whitney, N.G. (1989). Taxonomy of the fungus causing kernel smut of rice. Mycologia 81: 468-471.