学会賞受賞者講演

べと病菌の生理・生態に関する研究*

稲 葉 忠 興**

Tadaoki INABA** : Ecology and Physiology of *Peronospora effusa*, *P. manshurica*,
Pseudoperonospora cubensis, and *Peronosclerospora maydis*

1. ホウレンソウべと病菌

日本で栽培されているホウレンソウのべと病抵抗性品種の育成は日本国内で行われているが、日本国内での販売用種子の生産は、ヨーロッパ、アメリカで行われていることが多い。1980年、海外から輸入された種子を日本で播種し、栽培したところべと病が大発生した。その原因の解明が要請され、研究を行った。

種子伝染

日本で市販されている輸入種子および日本産種子からべと病菌卵胞子の検出を試みたところ、球形、膜が平滑、直径 $30.3\ \mu\text{m}$ で、発芽管発芽する卵胞子が検出された種子があった。これらの種子を殺菌土をつめた鉢に播種し、播種21日後(第1本葉展開中)、鉢ごと湿室に置き、子葉での分生孢子形成の有無によって発病株を調査した。卵胞子が検出された品種では発病したが、卵胞子が検出されなかった品種では全く発病せず、種子伝染することが分かった。種子伝染による発病株の生長点の超薄切片を電子顕微鏡で観察したところ、べと病菌の吸器、菌糸が認められ、全身発病する性質があることが分かった。実際、柏市の圃場で、萎縮した全身発病株が多数観察され、病斑の裏面には多数の分生孢子が形成されていた。以上の結果から、べと病菌の圃場での第1次伝染源の一つは卵胞子汚染種子、第2次伝染源は種子伝染による発病株で形成された分生孢子であることが明らかになった。

交配型

ホウレンソウ3品種の種子を播種し、種子伝染による発病株の1株から1枚の子葉を採取し、そこで形成された分生孢子をホウレンソウ子葉で継代培養して一つの菌株とした。試験には、合計19菌株を供試した。一つの菌株の分生孢子懸濁液をホウレンソウ子葉に接種すると卵胞子が形成されなかったが、二つの菌株の分生孢子懸濁液を混合して接種すると卵胞子が形成される場合があり、P1型、P2型の

二つの交配型に分けることができた。19菌株のうち、17菌株はP1型、2菌株はP2型であった。以上の結果から、本菌はヘテロタリック(異株性)であることが分かった。蔵精器は蔵卵器に側着して1個形成された。また、蔵精器と蔵卵器は異なる菌糸で形成されていた。

分生孢子形成と卵胞子形成との関係

二つの交配型、P1型とP2型の分生孢子を1:1の割合で混合してホウレンソウ子葉に接種し、分生孢子形成と卵胞子形成との関係を調べた。二つの交配型の菌糸が遭遇すると短時間の間に卵胞子が形成され、蔵卵器は接種4日後、卵胞子は接種5日後から形成された。卵胞子形成部位では分生孢子が形成されなかった。また、卵胞子が形成されない部位では分生孢子的形成が遅延、抑制された。

2. ダイズべと病菌

1978年、水田利用再編対策でダイズが特定作物に指定され、ダイズ栽培面積が急増した。また、多くの地域で枝豆が露地栽培、ハウス栽培されている。これらのダイズ栽培で大きな被害をもたらしている病害の一つがべと病であったため、研究を行った。

種子伝染

ダイズ種子の表面にべと病菌の卵胞子がカサブタ状に付いている卵胞子固着種子を殺菌土に播種したところ、 $15\sim 20^{\circ}\text{C}$ では全身発病したが、 25°C では全く発病しなかった。全身発病株では、まず、初生葉の葉柄基部の部分に病斑が生じた。その後、展開した複葉では病斑が葉の全面に現れることが多く、病斑の裏面には多数の分生孢子が形成された。第4複葉が展開中の全身発病株の各組織のパラフィン切片を作成して調べたところ、菌糸と吸器は、初生葉の病斑部、病徴が現れている第1~3複葉、展開中でまだ病徴が現れていない第4複葉、および茎、葉柄、未抽出の花器(花柄、苞葉、がく、花卉)の各組織中で観察された。

* 平成7年3月31日 平成7年度大会で行われた学会賞受賞者講演の要旨

** 農業研究センター National Agriculture Research Center, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan

また、第1複葉が展開中の全身発病株の成長点の超薄切片を電子顕微鏡で観察したところ、菌糸、吸器が認められた。以上の結果から、圃場での第1次伝染源の一つは卵孢子固着種子、第2次伝染源は種子伝染による発病株で形成された分生孢子であることが明らかになった。

卵孢子固着種子

北海道、岩手、群馬、埼玉、千葉、静岡、熊本産のダイズ種子27品種38点を調べたところ、北海道から熊本までの23品種34点で0.1~23.4%の卵孢子固着種子が含まれていた。

卵孢子固着種子は、全身発病株で結実した種子の56.6%で認められた。また、分生孢子懸濁液を花器(播種30~33日後)または莢(播種40~43日後)に接種し、その後、成熟した種子でも卵孢子固着種子が認められた。以上の結果から、卵孢子固着種子は、全身発病株で結実した種子、分生孢子によって感染した花器や莢が生育後、そこで成熟した種子で生じることが明らかになった。

卵孢子形成

罹病葉での卵孢子形成数は昼夜の温度が20°C~20°C区、23°C~20°C区で多く、25°C~20°C区で少なかった。罹病葉に散水すると多数の卵孢子が形成された。卵孢子形成数は光照度が5,000 lux以上で多く、1,000 lux または暗黒下で著しく少なかった。1日の光照射時間を0, 1, 8, 24時間と変えたところ、光照射時間が長くなれば卵孢子形成数が増加した。光合成阻害剤のDCMUを 10^{-6} M、 10^{-5} M濃度で罹病葉に噴霧したところ、 10^{-6} Mではダイズ葉の光合成および卵孢子形成は影響を受けなかったが、 10^{-5} Mではダイズ葉の光合成が阻害され、卵孢子形成も抑制された。罹病葉に $^{14}\text{CO}_2$ を与えて同化させたところ、 ^{14}C 光合成産物は卵孢子に多量に取り込まれていることが分かった。以上の結果から、卵孢子形成は宿主の光合成に依存した性質があることが明らかになった。

分生孢子形成と卵孢子形成との関係

病斑を湿室に入れて分生孢子的形成過程を調べたところ、3時間後に分生子柄が形成され始め、5時間後に分生子柄の数が最高になり、分生子柄の分岐が始まり、7時間後に分生子柄の分枝の先端に分生孢子が多数形成された。病斑では、分生孢子は接種7日後から多数形成され、卵孢子は接種9日後から形成され始め、11日後から多数形成された。卵孢子が形成された部位では、分生孢子がほとんど形成されなかった。

3. キュウリベと病菌

1970年代は全国で野菜類の施設栽培が急増の時期であった。これに伴い、各種病害が発生するようになり、野菜病害の基礎的研究の要請が高まった。そこで、キュウリベと病の病態生理学的研究を行った。

病斑形成と宿主の光合成との関係

接種後、罹病株を暗処理(暗黒下に置くこと)すると病斑面積が減少した。罹病株を光強度が異なる条件下に置いたところ、光強度が弱いと病斑面積が減少した。光合成阻害剤のリニユロンをキュウリ葉に噴霧したところ、キュウリ葉の光合成が阻害され病斑面積も減少した。罹病株を暗処理すると菌糸数、吸器数は減少し、菌糸幅も狭くなった。以上の結果から、宿主の光合成が低下するとべと病菌の菌糸の生育が抑えられ、その結果、病斑形成も抑えられることが明らかになった。

そこで、キュウリ葉に $^{14}\text{CO}_2$ を与えて同化させ、罹病葉における ^{14}C 光合成産物の挙動を調べた。接種前に $^{14}\text{CO}_2$ 処理し、その後、接種すると ^{14}C 光合成産物は病斑部に全く集積しなかったが、典型的な病斑を形成した接種8日後に $^{14}\text{CO}_2$ 処理すると、 ^{14}C 光合成産物は $^{14}\text{CO}_2$ 処理開始1時間後にすでに病斑部に移行集積した。病斑部に集積した ^{14}C の化学形態の分析結果、および、超薄切片のマイクロオートラジオグラフを電子顕微鏡で観察した ^{14}C の分布状況から、 ^{14}C はべと病菌のタンパク質に特異的に取り込まれていることが分かった。以上の結果から、罹病葉で同化生成された ^{14}C 光合成産物は、短時間の間に病斑部に移行集積し、べと病菌に吸収され菌体タンパク質の生成に使われていることが明らかになった。

分生孢子形成と宿主の光合成との関係

罹病葉を午後5時に採取して湿室に入れ、翌日、分生孢子的形成数を調べたところ、曇天日より晴天日に罹病葉を採取した方が多くの分生孢子が形成された。日の出から午後5時までの間、1枚の罹病葉の半葉を太陽光線にさらし、他の半葉は黒紙で覆った後、湿室に入れて分生孢子的形成させたところ、太陽光線にさらした部分の病斑で多くの分生孢子が形成された。罹病株を暗黒下に7日間置いて形成された病斑では、分生子柄の数と分岐数、各分枝の先端での分生孢子的着生数などが減少した。以上の結果から、分生孢子的形成は宿主の光合成に依存した性質があると推察された。

そこで、罹病葉に $^{14}\text{CO}_2$ を与えて同化させ、 ^{14}C 光合成産物の分生孢子への取り込みの様相を調べた。分生孢子中の ^{14}C 量は、 $^{14}\text{CO}_2$ 処理した日の夕方に罹病葉を採取して湿室に入れて分生孢子的形成させたときに最も多く、 $^{14}\text{CO}_2$ 処理してから1~3日後の夕方に罹病葉を採取して湿室に入れて分生孢子的形成させると減少した。一方、接種前日に $^{14}\text{CO}_2$ 処理し、接種7日後に分生孢子的形成させると、分生孢子中の ^{14}C 量は極端に少なかった。また、 ^{14}C の化学形態を調べたところ、糖類、アミノ酸、特に、プロリンが分生孢子的細胞壁・核やタンパク質を中心とした細胞質を作るのに使われていることが分かった。以上の結果から、分生孢子的形成は、宿主の光合成に依存しており、

昼間、同化生成された光合成産物は、その日の夜に分生胞子の形成に使われていることが明らかになった。

ウリ類べと病菌の寄生性分化

1983～1985 年の間、日本、アメリカ、イスラエルのウリ類べと病菌の寄生性を調べる国際共同研究を 3 カ国で実施した。日本のキュウリべと病菌 2 菌株、メロンべと病菌 2 菌株、アメリカのメロンべと病菌 1 菌株、カボチャべと病菌 1 菌株、イスラエルのキュウリべと病菌 2 菌株の分生胞子懸濁液をそれぞれの国で、同一の 7 属 13 種 26 品種のウリ類に接種し、病斑形成と分生胞子形成の程度を観察し、pathotype 1～5 に整理した。

4. トウモロコシべと病菌

国際協力事業団がインドネシアで「食用作物に関する日本・インドネシア共同研究計画」プロジェクトを推進したが、その一環として、インドネシアで激発しているトウモロコシべと病の研究の一部を日本で行った。

全身発病機構

2～3 葉期の若いトウモロコシが分生胞子に感染すると全身発病する。全身発病株の各組織のパラフィン切片、および生長点の超薄切片を作成して、光学顕微鏡または電子顕微鏡観察によって調べたところ、菌糸、吸器は、成長点

をはじめ、全組織中に分布していた。このことから、菌糸はトウモロコシの生長点に侵入すると、その後、分化・形成される葉組織に次々と侵入し、伸長し続けるため、新しく抽出・展開した葉組織では病徴が現れ、全身発病することが明らかになった。

分生胞子形成と菌糸の形態との関係

全身発病株では、葉が抽出・展開直後では分生胞子が形成されないが、このような部位でも、抽出・展開して約 10 日間を過ぎると、分生胞子が形成されるようになることが分かった。抽出・展開中の葉組織では、細胞間隙が狭く、葉組織の生長に伴って菌糸も伸長しなければならないため、菌糸は糸状で、分生胞子が形成されないが、抽出・展開後、ある日時が経った葉組織では、細胞間隙が増え、菌糸は十分生育して、じゅず玉状になり、分生胞子が形成されるようになる と推察された。

終わりに、本研究の端緒と多くのご教示を戴いた梶原敏宏博士をはじめ、ご指導、ご助言、ご協力を戴いた高橋賢司博士、日野稔彦博士、守中 正博士、濱屋悦次博士に対し深く感謝の意を表する。また、著者のこれまでの研究に対して、温かいご理解とご支援を賜った諸先輩、同輩、後輩の研究者各位に心から厚く御礼申し上げる。