

# マコモいもち病菌の孢子形成

糸井 節美\*・瀧野 和宏\*・荒瀬 栄\*

Setsumi ITOI, Kazuhiro TAKINO and Sakae ARASE

## Some Observations on the Sporulation of *Pyricularia zizaniaecola* HASHIOKA

### 緒 言

マコモ (*Zizania latifolia* TURCZ) は、温帯・亜熱帯に分布する大型の沼生多年生草本で、群をなし、地下茎は太く横にはい、日本でも全国の河川、湖沼の水際に生育している雑草である。最近、マコモは飼料用乾草として中国から輸入されているが、わが国でも地下茎定着後の萌芽茎<sup>1)</sup>を利用した省力栽培に着眼し、飼料化が検討されている。1916年原は、マコモに寄生するいもち病菌を *Pyricularia zizaniae* HARA として報告した。1953年<sup>2)</sup>後藤らは、千葉市でマコモのいもち病を見つけ、この菌は *Pyricularia* に属するが、*P. zizaniae* HARA の記録と合致しない点があることを報告している。岩田・高倉<sup>3)</sup>は同年マコモいもち病の病斑を見つけ、後藤らの菌と同一であることを報告している。<sup>4)</sup>HASHIOKA は、マコモいもち病菌を原の記載と合わないため別種とし、*P. zizaniaecola* HASHIOKA として記載した。その後マコモいもち病菌の寄生性についての研究が行われ、加藤らはヒロハノウシノケグサを除いて各植物に病原性がないと報告している。一方、八重樫により、マコモに対して病原性はなく、トールフェスクとイタリアンライグラスのみに病原性があることが示された。しかしマコモいもち病菌の一般的性質についてはほとんど知られておらず多くの問題が残されている。そこで本実験では、マコモいもち病菌の孢子形成、孢子形成過程ならびに孢子発芽について調査した。

### 材料および方法

1. 供試菌 島根県および鳥取県で採集したマコモから分離したマコモいもち病菌11菌株 (Table 1) とイネいもち病菌2菌株 (研60-19, TY 70-94) を用いた。マコモいもち病菌のうちMA 1菌株以外はすべて単

孢子分離菌株である。

### 2. 供試培地

1) オートミール培地 古田<sup>9)</sup>らの方法に従い調製し、直径 9cm のペトリ皿に約 35ml 分注した。

2) マコモおよびメヒシバ寒天培地 オートクレープ滅菌 (1気圧, 5分間) したマコモおよびメヒシバ葉身 (長さ約 1cm) を3枚、ペトリ皿の素寒天上に置床した。

3. 分生孢子形成数の測定 オートミール培地とマコモおよびメヒシバ寒天培地にいもち病菌を植えつけ下記の方法により孢子数を測定した。

1) オートミール培地 26Cの暗黒下で25日間培養したペトリ皿の菌そう表面に Tween 20 を含む脱イオン水 10ml を加え、菌そう表面から分生孢子を画筆でかきとり孢子懸濁液を作った。この懸濁液中に含まれる孢子数を Thoma 血球計算盤で測定し、気中菌糸除去前の孢子数とした。

気中菌糸除去後の孢子数は次のようにして測定した。前述と同様に培養した菌そう上の気中菌糸を赤色光 (ナショナル赤色カラーランプ蛍光灯) 下で水道水によりかきとった。これを26C白色蛍光灯下と26C暗黒下で3日間培養後、孢子数を測定した。

2) マコモおよびメヒシバ寒天培地 あらかじめPSA培地に7-10日間培養しておいた菌そう周縁部からコルクボーラーで打ち抜いた菌糸塊を植えた。26Cの暗黒下および白色蛍光灯照明下で15日間培養後、伊藤<sup>10)</sup>らの方法で孢子数を測定した。

4. 病斑上での分生孢子的形成過程 自然感染したマコモいもち病罹病葉を採集し、豊田<sup>11)</sup>らの方法を用いて孢子形成状況を観察した。

5. 発芽試験 マコモ寒天培地でマコモいもち病菌MA 2-1菌株を30日間培養して形成させた分生孢子を

\* 植物病理学研究室

Table 1. *Pyricularia zizaniaecola* isolates used in this study

Isolate	Geographical origin	Date collected
MA 1	Nishikawatsu-cho Matsue-shi Shimane pref.	1978 July
MA 2-1*	do.	1981 Sept.
MA 3-1*	Iwami-cho Tottori pref.	do.
MA 4-1*	Yasugi-shi Shimane pref.	do.
MA 5-1*	Kedaka-cho Tottori pref.	do.
MA 6-1*	Kasuga-cho Matsue-shi Shimane pref.	do.
MA 7-1*	Kuroda-cho do.	do.
MA 8-1*	Sotonakabara-cho do.	do.
MA 9-1*	Sugata-cho do.	do.
MA 10-1*	Ikuma-cho do.	do.
MA 11-1*	Kashima-cho Shimane pref.	do.

\* : Mono-conidial isolate.

供試した。発芽試験はマコモ葉煎汁（マコモ葉乾燥重 50g, 水 1ℓ）、ジャガイモ 250g, 水 1ℓ）と脱イオン水の 3 区で行った。各区とも顕微鏡 1 視野（100倍）あたり約 10 個の胞子濃度に調整した胞子懸濁液（約 0.2ml）をスライドグラス上に滴下し、28C に 1—6 時間保った後、発芽率を調べた。各区最低 400 個の分生胞子を調査した。

## 結 果

### 1. マコモいもち病菌の胞子形成

供試したマコモいもち病菌 11 菌株ならびにイネいもち病菌 2 菌株のオートミール培地上での胞子形成は Table 2 に示した。マコモいもち病菌 11 菌株のうち気中菌糸かきとり前に胞子形成が認められたものは 5 菌株（MA 3-1, MA 4-1, MA 7-1, MA 10-1, MA 11-1）であった。気中菌糸かきとり後も胞子形成が認められたのは MA 4-1 菌株のみで、対照のイネいもち病菌に比較して胞子形成量は非常に少なかった。イネいもち病菌はオートミール培地上で、暗黒下でも分生胞子を形成し、気中菌糸かきとり後蛍光灯照明下でさらに胞子形成が促進された。しかし、マコモいもち病菌では気中菌糸除去ならびに蛍光灯照射の効果は認められなかった。

一方マコモ寒天培地上での胞子形成は Table 3 に示した。暗黒下では供試した 8 菌株のうち MA 6-1 菌株を除く 7 菌株で胞子形成が認められた。蛍光灯照明下においても 5 菌株で胞子形成が認められた。メヒシバ寒天培地上の胞子形成は Table 4 に示した。MA 6-1, MA 7-1, MA 10-1 の 3 菌株は、暗黒下で胞子を形成せず、暗黒下でのマコモ寒天培地上での胞子形成結果と同じ傾向を示した。

### 2. 病斑上での分生胞子の形成過程

自然感染したマコモ、イネおよびメヒシバの各いもち

病の病斑上での胞子形成過程を観察した。マコモいもち病菌の胞子形成過程を Fig. 1 に示した。マコモいもち病菌の分生子梗は湿室に入れてから早い場合で 2 時間 40 分後、遅い場合は 5 時間 10 分後に出現した (Fig. 1-1)。分生子梗は基部から先端に向かってゆるやかに細くなり、先端に小球があらわれる前には、先端は著しく細くなった (Fig. 1-3)。小球の形成は分生子梗出現から 2—2.5 時間後であった。小球は出現後約 1 時間

で分生胞子となり、24 時間後には 1 本の分生子梗に 5—6 個の分生胞子が形成された (Fig. 1-4~12)。胞子形成の経過は HENRY<sup>12)</sup>ら、豊田<sup>11)</sup>らの観察した *P. oryzae* の胞子形成とほぼ一致し、仮軸分枝法によると言える。分生子梗出現から胞子が形成されるまでの時間は、イネいもち病菌、メヒシバいもち病菌と同じであった。

### 3. マコモへの接種試験

マコモいもち病菌 4 菌株 (MA 6-1, MA 7-1, MA 9-1, MA 11-1) をマコモの葉身と葉鞘に噴霧接種した。<sup>8)</sup>八重樫の報告とは異なり、いずれの菌株も葉身部に、接種 1 日後には微小褪色点、3 日後には微小褐点、4 日後には周囲淡褐色、中央部濃褐色の円一楕円形の病斑を形成した。6 日後には楕円～紡垂形 (3×2mm) で黄色の中毒部、褐色の壊死部、灰色の崩壊部からなる自然病斑 (Fig. 2-A) と同様の大型病斑 (Fig. 2-B) となった。病斑は葉身に限らず葉鞘部にも認められた (Fig. 2-C)。

### 4. 分生胞子の大きさ

結果を Table 5 に示した。マコモいもち病菌の分生胞子の大きさは、出所先の違いにかかわらず、胞子の長さ、幅の比率は 2.0 で同じ値を示した。対照のイネいもち病菌の胞子と較べると、長さはほぼ同じであったが、幅がマコモいもち病菌の胞子の方が広がった。

### 5. 分生胞子発芽

脱イオン水、マコモ煎汁、ジャガイモ煎汁中の分生胞子の発芽率を Table 6 に示した。いずれの区も 5 時間後に 50% 以上の発芽率が認められた。

## 考 察

イネいもち病菌の分生胞子は古田<sup>9)</sup>らの方法により多量の分生胞子を同調的に形成させることができる。マコモ

Table 2, Mean sporulation capacity (SC) for 11 isolates of *Pyricularia zizaniaecola* on oatmeal agar (OMA)

Isolate	SC on OMA ( $\times 10^2/cm^2$ ) <sup>a)</sup>		
	Before removal of aerial hyphae <sup>b)</sup>	After removal of aerial hyphae <sup>c)</sup>	
		Darkness	Fluorescent light
<i>P. zizaniaecola</i>			
MA 1	0	0	0
MA 2-1	0	0	0
MA 3-1	1	0	0
MA 4-1	61	21	3
MA 5-1	0	0	0
MA 6-1	0	0	0
MA 7-1	5	0	0
MA 8-1	0	0	0
MA 9-1	0	0	0
MA 10-1	2	0	0
MA 11-1	1	0	0
<i>P. oryzae</i>			
Ken 60-19	109 <sup>d)</sup>	17	323
TY 70-94	38 <sup>d)</sup>	104	650

- a) : Values are expressed in conidia per square centimeter and are the average of 5 petri dishes.
- b) : Incubated at 26C for 25 days in the darkness.
- c) : Incubated for 3 days after removal of aerial hyphae.
- d) : Incubated at 26C for 15 days in the darkness.

いもち病菌の分生胞子形成に関する報告は今のところないので、同氏らの方法に従って胞子形成実験を行った。

オートミール培地上で胞子形成が認められたいもち病菌は5菌株あった。しかし、気中菌糸をかきとった後、光を照射しても胞子形成量の増加は全く認められなかった。また、マコモ寒天培地上でも、MA 7-1 菌株以外は光の照射による胞子形成量の増加は認められなかった。このことからマコモいもち病菌の胞子形成反応は本田の類別によれば光無感応型あるいは光阻害型に類別できると考えられる。しかし、メヒシバ寒天培地上での連続蛍光灯照明下では、供試した8菌株すべてに量の多少はあるが胞子形成が認められたことから、光による阻害はないようで、むしろ光無感応型に類別した方が妥当であろう。胞子形成の基質としてマコモとメヒシバを比較した場合、マコモ寒天培地上で胞子形成が良好な菌株と、マコモとメヒシバの各寒天培地上ではほぼ同じ形成量を示す菌株が認められた。マコモはマコモいもち病菌の宿主であるので胞子形成量が多いのは当然であるが、非

宿主のメヒシバ葉身上でもほぼ同じ形成量を示したことは興味深く、*Pyricularia* 属菌の宿主に共通なる種の胞子形成促進物質の存在が示唆された。オートミール培地上で胞子を形成させた場合、その形成までに25日間を要しておりあまり実用的ではない。マコモ寒天培地を用いた場合は胞子形成までに15日で、接種試験、発芽試験に十分利用できた。

分生胞子形成過程の観察では、分生子梗出現から胞子形成完了までの経過は、イネいもち病菌、メヒシバいもち病菌と差異は認められなかった。このことから、マコモいもち病菌の胞子形成が常用の培地上で難しいのは、分生子梗出現以前の分生子梗母菌糸の発達等に関連する栄養条件などに原因があると思われる。

イネ科植物に寄生する多くのいもち病菌の分生胞子の中ではマコモいもち病菌のみがその形態から種の同定が可能で、本菌はHASHIOKAにより *P. zizaniaecola* HASHIOKA と命名された。一般に分生胞子の大きさや形態は培養条件によってかなり変動することが知られている。本実験で宿主上の分生胞子や異なる培養条件下で形成された分生胞子の長さ/幅の平均の比率はすべて2.0で、イネいもち病菌より小さ

かった。このことからマコモいもち病菌の分生胞子の形態は形成条件によって大きく変動しないものと思われる。

### 摘 要

マコモいもち病罹病葉からマコモいもち病菌11菌株を分離した。マコモいもち病菌をオートミール培地上で26C 25日間、暗黒下と蛍光灯照射下で培養したが分生胞子形成が認められたのは3菌株で、胞子形成量はわずかであった。マコモいもち病菌をオートクレーブ滅菌したマコモおよびメヒシバ葉身の上で26C 15日間培養したところ多量の胞子を形成した。マコモいもち病菌の分生胞子をイネいもち病菌分生胞子と比較すると長さはほぼ同じで、幅は広がった。マコモにマコモいもち病菌の胞子懸濁液を接種したところ、1~2日後にマコモの葉身に微小褐色点が形成され、6日後には中央部が褐色の病斑となった。

謝 辞 本研究をまとめるにあたり、ご助言と校閲を

Table 3. Mean sporulation capacity (SC) for 8 isolates of *Pyricularia zizaniaecola* on autoclaved rice grass leaf segments (ARL)

Isolate	SC on ARL ( $\times 10^2/\text{cm}^2$ ) <sup>a)</sup>	
	Darkness	Fluorescent light
MA 3-1	2240	560
MA 4-1	2880	2440
MA 6-1	0	0
MA 7-1	60	1540
MA 8-1	1140	0
MA 9-1	1200	1070
MA 10-1	220	0
MA 11-1	4700	860

a) Inoculated petri plates were incubated at 26C for 15 days. Values are expressed in conidia per square centimeter, and are the average of 5 petri dishes.

Table 5. Size of conidia of *Pyricularia zizaniaecola*<sup>a)</sup>

Fungus	Length ( $\mu\text{m}$ ) (Range)	Width ( $\mu\text{m}$ ) (Range)	Length/Width
<i>P. zizaniaecola</i> <sup>b)</sup>	27.9 (35.0–25.0)	13.9 (17.5–10.0)	2.0
<i>P. zizaniaecola</i> <sup>c)</sup>	28.0 (35.0–23.0)	14.3 (17.5–11.3)	2.0
<i>P. zizaniaecola</i> <sup>d)</sup>	26.4 (32.5–22.5)	13.5 (15.0–10.0)	2.0
<i>P. oryzae</i> <sup>e)</sup>	27.5 (32.5–22.5)	11.5 (13.0–9.5)	2.4

- a) The average of 40 conidia.  
 b) Conidia on a lesion of rice grass blast.  
 c) Conidia from isolate MA 2-1 cultured on autoclaved rice grass leaf segments at 26C for 30 days.  
 d) Conidia from isolate MA 11-1 cultured on potato-sucrose agar at 26C for 15 days.  
 e) Conidia from isolate Ken 60–19 cultured on oatmeal agar at 26C for 15 days.

Table 4. Mean sporulation capacity (SC) for 8 isolates of *Pyricularia zizaniaecola* on autoclaved crabgrass leaf segments (ACL)

Isolate	SC on ACL ( $\times 10^2/\text{cm}^2$ ) <sup>a)</sup>	
	Darkness	Fluorescent light
MA 3-1	360	320
MA 4-1	560	900
MA 6-1	0	180
MA 7-1	0	60
MA 8-1	3480	1520
MA 9-1	1100	1660
MA 10-1	0	440
MA 11-1	3760	2900

a) Inoculated petri plates were incubated at 26C for 15 days. Values are expressed in conidia per square centimeter, and are the average of 5 petri dishes.

Table 6. Conidial germination of isolate MA 2-1 of *Pyricularia zizaniaecola*

Time (hr)	Germination rate (%) <sup>a)</sup>		
	Deionized water	Rice grass decoction	Potato broth
1	1.8	1.0	13.4
2	9.9	18.3	22.1
3	10.9	30.1	31.4
4	50.1	46.2	34.6
5	52.9	56.2	54.6
6	63.1	82.3	59.3

a) Conidial suspensions were incubated at 28C. At least 400 conidia were counted on each test.

していただいた本学部教授野津幹雄先生に心から謝意を表す。

### 引用文献

1. 高屋武彦・本田太陽・伊藤昌光・阿部林：農業技術 **36**：398—402, 1981.
2. 原攝祐：病虫雑 **3**：693—694, 1916.
3. 後藤和夫・山中達・小林茂子：日植病報 **18**：160, 1954 (要旨).
4. 岩田勉・高倉和明：日植病報 **18**：150, 1954 (要旨).
5. 岩田勉・山貫重夫・成田武四：日植病報 **19**：174, 1955 (要旨).
6. HASHIOKA, Y. : Trans. mycol. Soc. Japan **14** : 256—265, 1973.
7. 加藤肇・山口富夫：関東東山病害虫研究会年報 **27**：14—15, 1980.
8. 八重樫博：東北農試研報 **63**：49—125, 1981.
9. 古田力・関口義兼：植物防疫 **21**：160—162, 1967.
10. 伊藤征男・山口富夫：日植病報 **45**：699—704, 1979.
11. 豊田栄・鈴木直治：日植病報 **17**：1—5, 1952.
12. HENRY B. W. and ANDERSON B. L. : Phytopathology **38**：265—278, 1948.
13. 本田雄一：日本植物病理学会，植物感染機作病理化学談話会，病原微生物の培養と形態形成：42—52, 1981.
14. 本田雄一：植物防疫 **33**：430—438, 1979.

Fig1. Conidial formation of *Pyricularia zizaniaecola* on a lesion of rice grass leaf.

1 : 5<sup>h</sup>10<sup>m</sup>, 2 : 6<sup>h</sup>10<sup>m</sup>, 3 : 7<sup>h</sup>30<sup>m</sup>, 4 : 10<sup>h</sup>30<sup>m</sup>, 5 : 14<sup>h</sup>30<sup>m</sup>, 6 : 17<sup>h</sup>10<sup>m</sup>,  
7 : 18<sup>h</sup>15<sup>m</sup>, 8 : 20<sup>h</sup>50<sup>m</sup>, 9 : 21<sup>h</sup>00<sup>m</sup>, 10 : 23<sup>h</sup>50<sup>m</sup>, 11 : 26<sup>h</sup>20<sup>m</sup>, 12 : 26<sup>h</sup>22<sup>m</sup>.

Fig. 2. A : Lesions of rice grass blast on naturally infected leaves.

B : Lesions on rice grass leaves after 6 days of inoculation.

C : Lesions on rice grass leaf-sheaths after 6 days of inoculation.

### Summary

Eleven isolates of *Pyricularia zizaniaecola* HASHIOKA were isolated from diseased leaves of rice grass (*Zizania latifolia* TURCZ.). The 3 isolates of *P. zizaniaecola* sporulated sparsely on oatmeal agar after 25 days at 26C on the darkness or the fluorescent light irradiation. However, many isolates formed conidia abundantly on autoclaved rice grass leaf segments and also on crabgrass leaf segments after 15 days at 26C. The length of conidia was as large as that of *P. oryzae*, but the width was larger than that of *P. oryzae*. When rice grass plants were inoculated with conidial suspension of *P. zizaniaecola*, 1—2 days after inoculation the small and discolored spots were produced on rice grass leaves. Afterwards, on the 6th day these lesions began to assume around conformation with a brown-black center.



