

テンサイ種子の *Colletotrichum dematium* f. *spinaciae*による感染

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	築尾,嘉章 杉本,利哉
発行元	日本植物病理學會
巻/号	50巻2号
巻号補足	
掲載ページ	p. 249-254
発行年月	1984年4月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



テンサイ種子の *Colletotrichum dematium* f. *spinaciae* による感染*

築尾嘉章**・杉本利哉**

Yoshiaki CHIKUO** and Toshiya SUGIMOTO**: Infection of Sugar
Beet Seed by *Colletotrichum dematium* f. *spinaciae**

Abstract

Infection of sugar beet seed by *Colletotrichum dematium* f. *spinaciae* (sugar beet anthracnose pathogen) was examined. Severe damage was often seen on the seeds infected at early stage of flower development, from outset of flowering to its peak. Even in case of less heavier infection, seeds are fail to mature and die. If the seeds are able to mature, seed weight and germination rate is very low. Further, 80% of the seeds were found to carry the pathogen. The degree of the disease was different depending largely on sugar beet strains. The pathogen was isolated not only from seed cap and pericarp, but also from true seed inside the seed cap and pericarp. Thus polishing and/or processing of infected seed was not effective in reducing the rate of seed contamination.

(Received October, 31, 1983)

Key Words: sugar beet, seed, anthracnose, *Colletotrichum dematium* f. *spinaciae*.

緒 言

テンサイ炭そ病は1981年8月にテンサイの二、三の品種のとくにそれらの採種畑で大発生して問題となった。筆者ら^{a)}はさきにこの病原菌が心葉黒枯病の病原と同一であり、病徴および病原性から、炭そ病と改称することを提案した。ここでは、本菌の採種用テンサイに対する病原性、特に種子(球果^{b)})表面だけでなく、真正種子^{b)}にまで侵入し、激しい場合には、不稔粒となり、軽症の場合でも高率で種子に感染していることが明らかとなったので報告する。なお本研究を行うにあたり、当場てん菜部育種各研究室の各位の多大な協力をいただいた。ここに感謝の意をあらわす。

材料および方法

供試菌株 自然感染したテンサイ系統 TK-76-49/2 mm-CMS の罹病種子より分離した *Colletotrichum dematium* f. *spinaciae* CS-22 を単孢子分離して用いた。

供試植物および接種方法 テンサイは2年性作物のため前年に栄養生長させた母根を冬期間貯蔵し、4月に径 25 cm のプラスチックポットに栽植した。供試系統 TK-76-49/2 mm-CMS は雄性不稔のため、花粉親として TK-76-49/2 mm-O を同時に栽植した。これら両系統を、隔離温室(17-25℃)に入れ、抽苔・開花させ、交配を行った。交配後、種子親のみを育成温室(20-25℃)に移して接種を行った。接種は開

* 本報告の一部は昭和57年度日本植物病理学会北海道部会で発表した¹⁾。

** 北海道農業試験場 Hokkaido National Agricultural Experiment Station, Toyohira-ku, Sapporo, 061-01, Japan.

a) 球果: 種球ともいい外果皮はコルク質化して堅い。農家はこれを播種する。

b) 真正種子: 球果の中にある植物学上の種子をいい、品種により、1~数個の場合がある。

花盛期（開花始めより17日目）と開花後期（同じく33日目）に行った。接種方法は前報²⁾と同様で、接種源の分生孢子濃度は 6×10^4 コ/ml として、1株当り 100 ml を噴霧接種した。接種後3—5日間、温室内の大型接種箱に入れ、過湿状態とし、その後は温室に戻し、結実後に収穫した。供試株数は開花盛期接種区6株、開花後期接種区8株で対照無接種区は2株とした。

製糖原料用テンサイでは、発病に著しい品種間差がみられたので、品種に対する本菌の病原性を調べるため、採種畑ではほとんど自然発病しなかった NK-169 および NK-152（品種「モノヒカリ」の花粉親）を選び、同様の接種実験を行った。すなわち、両者の母根を鉢に栽植して抽苔させ、開花直前に袋をかけておき、交配日にそれぞれ NK-169-O、NK-152 の花粉を受粉させ受粉日を調整した。交配後8、13（NK-152のみ）、21日に本菌の分生孢子（ 7.4×10^4 コ/ml）を接種した。接種後の管理、収穫は TK-76-49/2 mm-CMS と同様である。供試株数は各区2—4株、ただし対照区は1株とした。

種子よりの炭そ病菌の検出 収穫した種子は乾燥後、果皮を機械的に研磨し、次に3mmのふるいにかけて精選種子を得た。これを水道水で30分水洗し、本菌検出のさまたげとなる *Alternaria* 属菌を除くため、イプロジオン50%水和剤500倍液に30分浸漬後、再び15分水洗し、次に3%アンチホルミン液に5分浸漬し、表面殺菌を行った。浸漬後、汚紙上で水分を除き、酸性ジャガイモ煎汁寒天培地に置床し、25℃で7日間、保持したのち本菌の有無を検定した。

種子の各部位の汚染を検定する場合は、種子を24時間水洗し吸水、軟化させて、前述のイプロジオン液に浸漬し、水洗後、針で萌蓋、果皮および真正種子の3

部分に分解した。分解後、各部を水洗し、さらに3%アンチホルミン液に浸漬し、菌の分離を行った。

種子の走査電子顕微鏡観察 走査電子顕微鏡用の試料は5%グルタルアルデヒドで1日、1%四酸化オスミウムで12時間固定、アルコール系列で脱水、酢酸イソアミルで置換、臨界点乾燥後、スパッタコーティングを施して JSM-T200 で観察した。

結 果

種子よりの菌の分離

TK-76-49/2 mm-CMS 系統からの菌の分離結果を Table 1 に示した。本菌は開花盛期および開花後期に接種によって得られた黒変した種子からは、それぞれ100%および96%の高率で分離された。種子の発芽率は、対照無接種区が69%を示したのに比べて、両接種区ともにそれぞれ1%および15%で著しく低かった。また外観的には黄褐色を呈し健全とみられた種子でも開花盛期接種区で94%、同後期接種区で73%の高率で本菌が検出された。種子の発芽率は前者で16%と低かったが、後者では対照区とはほぼ同じであった。なお開花盛期接種区の1,000粒重は対照区の約半分であったが、後期接種区では対照区とはほぼ同様であった。

本系統と比較のため供試した NK-169 および NK-152 系統に対する接種試験の結果を Table 2 に示した。NK-169 では交配後8日目接種区では64.6%、21日目は34%の検出率を示し、TK-76-49/2 mm-CMS に比べその感染程度は若干低かった。種子の発芽率は8日目の接種では著しく低かった。NK-152 の場合もいずれの接種時期でも本菌に感染したが、その程度は、接種時期が遅くなる程、低くなる傾向を示した。また感染程度は、TK-76-49/2 mm-CMS に比べて他

Table 1. Infection of *C. dematium* to sugar beet seed crops (TK-76-49/2mm-CMS)

Inoculation stage	Appearance of seed	Number of seeds examined	Isolation rate of <i>C. dematium</i> (%)	Germination rate(%)	Weights of 1000 seeds(g)
Early-middle stage of flowering (17days after first date of flowering)	Healthy	100	94	16	4.1
	Blackened	100	100	1	
Late stage of flowering (33days after first date of flowering)	Healthy	100	73	65	10.9
	Blackened	100	96	15	
Uninoculated	Healthy	100	6	69	8.5

Table 2. Infection of *C. dematium* to sugar beet seed crops at different infection stage

Strain of sugar beet	Days after pollination to inoculation	Number of seeds tested	Isolation rate of <i>C. dematium</i> (%)	Germination rate of seeds (%)
NK-169	8 days	65	64.6	3.1
NK-169	21 days	209	34.0	74.6
NK-169	Uninoculated	97	0	90.7
NK-152	8 days	86	72.1	55.8
NK-152	13 days	70	58.6	54.3
NK-152	21 days	98	29.6	85.7
NK-152	Uninoculated	105	0	67.6

Table 3. Isolation rate of *C. dematium* from sugar beet seeds after seed processing

Strain/variety	Seed lot	Processing grade	Isolation rate (%)		
			<i>C. dematium</i>	<i>Phoma</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp.
TK-76-49/2mm-CMS	A	Non-polished	4.3	7.1	61.6
		Polished	4.3	11.9	67.1
	B	Non-polished	14.3	24.3	37.1
		Polished	7.1	22.9	37.1
	C	Non-polished	17.1	1.4	30.0
		Polished	5.7	2.9	22.9
Monohikari	D	Non-processed	2.9	12.9	15.7
		Processed	0.0	5.7	5.7
	E	Non-processed	41.4	12.9	24.3
		Processed	37.1	5.7	0.0
	F	Non-processed	38.6	2.9	12.9
		Processed	31.4	8.6	2.9

Table 4. Isolation of pathogens from the parts of sugar beet seed collected from artificially-inoculated plant at flowering stage (TK-76-49/2mm-CMS)

Parts of seed	Number of seeds tested	Isolation rate (%)		
		<i>C. dematium</i>	<i>Phoma</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp.
Seed cap	122	69.7	0.0	26.2
Pericarp	131	87.8	0.0	4.6
True seed	112	71.4	0.9	5.4
Seed ball	105	89.5	0.0	1.9

Table 5. Isolation of pathogens from the parts of sugar beet seed collected from naturally-infested plant at flowering stage (Monohikari)

Parts of seed	Number of seeds tested	Isolation rate (%)		
		<i>C. dematium</i>	<i>Phoma</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp.
Seed cap	105	10.5	3.8	56.2
Pericarp	105	20.0	4.8	21.9
True seed	105	3.8	4.8	8.6

の品種は全体に低かった。

研磨精選種子からの炭そ病菌の分離頻度

通常、テンサイの種子は研磨・精選されてから使用される。このために表面あるいは表面近くにある病原菌は除去されるとされているので⁶⁻⁸⁾、異なる採種畑から採った炭そ病菌自然感染種子を使用して研磨精選処理前後の分離率を調べた (Table 3)。本菌の分離率は採種畑 B, C のように処理前の50%あるいは30%に減少した区もあったが, A, E, F 畑のようにほとんど変化のみられないものもあり, 研磨精選処理だけでは必ずしも本菌を除去することはできないことが明らかとなった。

罹病種子各部位からの菌の分離

人工接種および自然感染種子の各部位からの本菌の分離結果を Table 4 および Table 5 に示した。人工接種種子全体からの分離率は89.5%で著しい感染率を示していた。各部位別では種子のふたにあたる萌蓋や容器にあたる果皮は種子全体と同様に感染率はきわめて高かった。また種子の内部に存在する真正種子も71.4%と非常に高率で感染していた。

自然感染種子の場合は感染率が低かったが, 萌蓋および果皮から本菌が検出され, また検出率は低かったが, 真正種子からも本菌が分離された。

罹病種子の顕微鏡観察

本菌に罹病した種子の走査電子顕微鏡観察像を Plate I-1, 3 および 4 (3 および 4 は切断面) に, 光学顕微鏡観察像を Plate I-2, 5 および 6 に示した。罹病種子は萌蓋を中心に黒変しており (Plate I-6), これを切断すると, 対照区では内部にある真正種子が充実している (Plate I-5) が, 罹病すると未発達のままに終り, そのため内部には空隙 (Plate I-3) が多かった。この場合には, 真正種子の種皮上に菌糸の認められること (Plate I-4) が多かった。さらに重症の場合, 種子の表面には, 多量の分生孢子層が形成されていた (Plate I-1)。

考 察

テンサイ炭そ病は幼苗期, 製糖原料用テンサイまた採種用テンサイのいずれの生育期間でも感染する。このうち原料用テンサイでは葉身には発病せず, 葉柄のみに病斑が散発する程度のため, 根中糖分や根重への影響はあまりないと考えられる。しかし採種用テンサイの場合には, 種子を中心に発病が多い。特に開花初期から盛期に感染している場合に被害が著しく, 極端

な場合は早期枯死をおこし, 軽症の場合でも不稔粒あるいは稔実不良種子となって, 1,000粒重の低下をもたらすことが多い。開花後期に感染した場合でも罹病し, 種子は稔実するが, 真正種子まで菌が侵入していることが多い。従って本菌は種子伝染をおこし, これらの種子を播種すると苗立枯病がおこることはすでに明らかにされている⁴⁾。

テンサイ3系統ともに, 開花時期の早いうちに感染するほど, 被害が大きくなる傾向があった。一般に, テンサイの花は受粉後6-24時間で受精が完了し, 受精後6日で子葉が分化, 14日で胚が完成し, 21日で実質の発育が完了するとされている⁹⁾。この間に, 真正種子をとりかこんでいる萌蓋, 果皮はコルク質化が進むため, 開花後期には病原菌の侵入を阻止し, このため, 開花後期に感染した種子ほど被害が小さいと考えられる。

本菌による原料テンサイの発病程度には明らかな品種間差が見られた⁹⁾。採種用テンサイの種子の汚染状況にも, ある程度品種間に差がみられ, 採種畑で特異的に大発生した TK-76-49/2 mm-CMS は他の2系統よりも著しい汚染がみられた。

テンサイ褐斑病菌の場合, 病原菌による種子の汚染は表皮付近に限られ, 真正種子にまではおよばないとされている⁹⁾。従って種子を研磨精選することで, 病原菌をかなり除去できる。しかし本病の場合, 真正種子の種皮にまで菌が検出されるので, 研磨精選処理でこれを完全に除去することは困難である。このことは同様に種子内部にまで侵入するテンサイじゃのめ病菌⁹⁾と同様であり, 今後品種育成および種子生産上, 特に注意を要するであろう。

摘 要

採種用テンサイに対する炭そ病菌の病原性について検討した。開花初期-盛期の花器の未熟な時期に感染すると, 激しいときは株全体が枯死し, 軽症のときでも不稔種子を多く形成し, 発芽率および1,000粒重の低下をもたらした。開花後期に接種した場合は感染の程度は前者に比べると低かった。しかし種子からの検出率は80%以上で著しく高かった。

本病の発病は採種用テンサイ系統間で差がみられ, TK-76-49/2 mm-CMS は NK-169, NK-152 に比べて, 発病程度が高かった。本病に感染した種子を研磨精選処理を行っても, 本菌を完全に除去することはできなかった。このため, 種子を萌蓋, 果皮および真正

種子の3部分に分解して本菌の検出を試みたところ、に感染した種子は内部の真正種子が結実していない場合が多かった。
蒴蓋、果皮はもちろん、内部にある真正種子からも分離された。開花盛期のような花器の未熟な時期に本菌

引用文献

1. 築尾嘉章・杉本利哉 (1983). 日植病報 49: 118 (講要).
2. 築尾嘉章・杉本利哉・遠藤利光 (1984). 日植病報 50: 46-52.
3. El-Nashaar, H. and Bugbee, W. M. (1981). J.S.S.B.T. 21: 11-22.
4. 遠藤利光・佐々木正人 (1982). 日植病報 48: 363 (講要).
5. 細川定治 (1980). 甜菜. 養賢堂, 東京. pp. 37-42.
6. Leach, L. D. and MacDonald, J. D. (1976). J.S.S.B.T. 19: 4-15.
7. MacDonald, J. D. and Leach, L. D. (1976). Phytopathology 66: 868-872.
8. 成沢信吉 (1973). てん菜研究報告14: 1-161.

Explanation of plate

Plate I

1. Naturally-infested sugar beet seed (TK-76-49/2 mm-CMS).
Acervuli (arrows) are abundantly observed. (Bar: 1000 μ m)
2. The structure of sugar beet seed (Light microscopy). (Bar: 5 mm)
3. Cross section of artificially-infested sugar beet seed (TK-76-49/2 mm-CMS).
14 days after inoculation. Immatured true seed. (Bar: 1000 μ m)
4. High magnification of Fig. 3.
Hyphae on seed coat (true seed). (Bar: 100 μ m)
5. Cross section of uninoculated healthy sugar beet seed (Light microscopy). (Bar: 1 mm)
6. Immature sugar beet seeds (Light microscopy). (Bar: 2 mm)
Left: infected, note on the blackend seed cap.
Right: healthy.

Abbreviation : H: hyphae, P: pericarp, SC: seed cap, SE: sepal, TS: true seed.

Plate I

