

## イネ内穎褐変病に関する研究(4)

誌名	鳥取県農業試験場研究報告
ISSN	03889211
著者	吉田, 浩之
巻/号	23号
掲載ページ	p. 27-33
発行年月	1987年3月

# イネ内穎褐変病に関する研究

## 第4報 感染後の気温が病原細菌の内穎における増殖過程と発病に及ぼす影響

吉田 浩之

### I 緒 言

イネ内穎褐変病の発生に及ぼす環境条件はほとんど解明されておらず不明のままである。わずかに、吉田<sup>10)</sup>ら、岡田<sup>9)</sup>らによって、出穂期の気象あるいは移植期の早晚との関連が推測されているにすぎない。本病のように、もみのみに特異的に発病する病気においては、出穂期あるいはその後の気象条件が発病と不可分の関係にあることは当然予想される。そこで、本病の発生条件を解明する目的の一環として、感染後の気温と発病の関係について若干の実験を行った。その結果、温度によって発病の経過及び発病程度に違いが認められた。また、温度によって内穎組織内における病原細菌の増殖過程も異なった。すなわち、温度による発病の違いと病原細菌の増殖の関係は互いに対応しており、両者間が密接に関連していることが明らかとなった。病徴の発現部位と温度の関係については不明な点もみられるが、以上のような実験結果を得たので、その概要を取りまとめて報告する。

なお、本報告の一部は日本植物病理学会関西部会(1983年10月・大阪市)において講演発表した。

### II 材料及び方法

#### 1 供試植物

開花期のイネ(品種は日本晴)を用いた。圃場で貫行の栽培管理を行った後、出穂期の約10日前にポット(1/5,000 a)へ1株あて移植し、開花期まで網室で管理した。

#### 2 供試細菌

供試細菌は発病もみから分離した黄色の細菌(No8101)であり、病原性を確認の後使用した。したがって、当細菌は *Erwinia herbicola* に属する病原細菌<sup>9)</sup>と思われる。

#### 3 噴霧接種法

供試細菌をジャガイモ半合成培地で28℃、2日間斜面培養後、約 $10^8$ 個/mlの細菌懸濁液となるよう希釈調整し、1983年8月30日に開花中の穂に噴霧接種を行った。接種液量は1株当たり20~40mlとした。

#### 4 穎内滴下注入接種法

噴霧接種の場合と同様に調製した細菌懸濁液を同年8月18日に開花中の穎内へ皮下注射器を用いて1滴(約0.009~0.01 ml)滴下注入した。以下同接種法は単に穎内接種法と記す。

#### 5 接種後の温度処理

接種後のイネは直ちに陽光型人工気象室の20℃及び30℃の恒温槽へ移し、噴霧接種の場合は12日間(8月30日~9月11日)、穎内接種の場合は16日間(8月16日~9月1日)処理した。その後はいずれも網室で管理した。

#### 6 発病もみの類別及び調査

接種によって褐変したもみは①内穎褐変もみと②内外穎褐変もみの2種類に類別した。内穎褐変もみとは主に内穎のみが褐変したもみであり、内外穎褐変もみは内穎のみならず、外穎全体が内穎と同様の色調で褐変したもみである。

発病調査は、噴霧接種では1穂当たりの、穎内接種の場合は接種もみ数当たりの、それぞれ内穎

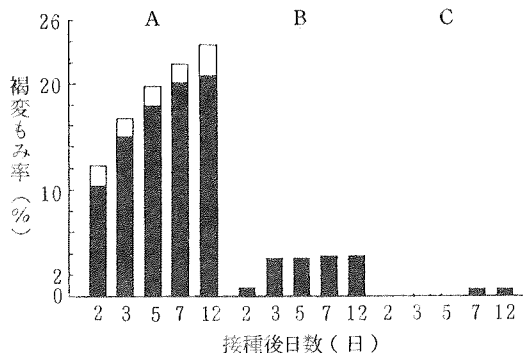
褐変もみ率及び内外穎褐変もみ率を経時的に調べた。噴霧接種における調査穂数は6~8穂、穎内接種の場合は、30℃では病原細菌接種もみ26粒、殺菌接種もみ41粒、無接種もみ16粒、20℃ではそれぞれ42粒、41粒、17粒であった。なお、調査に用いた穂あるいはもみは同一のものを対象とした。

### 7 穎内細菌の定量法

穎内接種後1日、3日、6日、12日及び30日後に内穎のみ褐変したもみ(接種1日後のもみは未褐変)2粒を採取し、常法によりエチルアルコールと5.0%次亜塩素酸ナトリウム溶液で表面消毒後、乳鉢ですりつぶし、平板希釈法によって内穎1片当たりの黄色細菌数を求めた。(2回反復)

### 8 穎内接種による発病もみから分離した細菌の病原性

接種6日後の8月24日に、30℃処理の発病もみから常法によって黄色細菌を分離し、前記噴霧接



第1図 噴霧接種後30度に保った場合の発病経過

A: *E. herbicola* (No.8101) B: 殺菌水  
C: 無接種 ■: 内穎褐変もみ □: 内外穎褐変もみ

褐変もみに占める内穎褐変もみの割合は、接種2日後85.0%、3日後90.8%、7日後92.7%、12日後87.2%であり、発病初期からほとんど変わらなかった。一方、20℃処理のその後の褐変もみ発生率は、接種3日後8.4%、5日後11.2%、7日後14.1%、12日後16.9%で、接種後日数の経過とともに漸増したが、30%に比較して発生量は少なかった。褐変もみの病徴は、30℃処理と異なり、内外穎とも褐変のみられる場合が多かった。すなわち、内外穎褐変もみの発病もみに占める割合は、接種3日後93.9%、5日後72.5%、7日後67.4%、

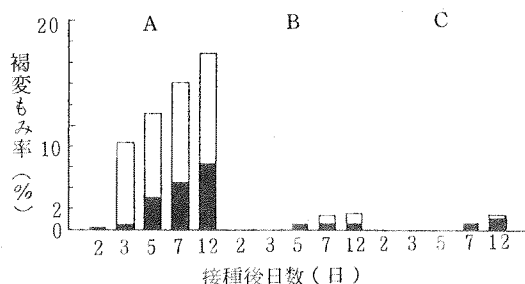
種法によって、9月1日に別に栽培した開花中のイネ(品種ヤマビコ)に接種した。発病調査は9月10日に、1菌株当たり2穂を用いた。

## III 試験結果

### 1 温度処理別褐変もみの発生経過

#### (1) 噴霧接種の場合

病原細菌の開花時噴霧接種後30℃及び20℃に12日間保った場合の褐変もみの発生経過を第1図及び第2図に示した。褐変もみの発生は両温度とも接種2日後から始まった。接種2日後の褐変もみの発生率は30℃で12.2%、20℃で0.8%であった。発病初期の病徴は両温度ともほとんど内穎褐変もみであった。30℃処理のその後の褐変もみの発生率は、接種3日後16.7%、5日後19.8%、7日後21.9%、12日後23.7%と接種後日数の経過とともに増加したが、5日後以降の増加は少なかった。



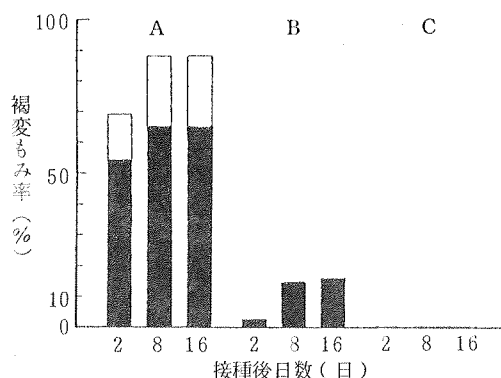
第2図 噴霧接種後20度に保った場合の発病経過

A: *E. herbicola* (No.8101)、B: 殺菌水  
C: 無接種、■: 内穎褐変もみ、□: 内外穎褐変もみ

12日後62.0%であった。殺菌水を噴霧接種した場合も褐変もみが発生した。発生量は著しく少なかったが、病徴及び発生経過は病原細菌接種の場合に類似した。

#### (2) 穎内注入接種の場合

病原細菌の開花時穎内接種後30℃及び20℃に16日間保った場合の褐変もみの発生経過を第3図及び第4図に示した。褐変もみの発生は噴霧接種の場合と同じく、両温度とも接種2日後から始まった。褐変もみの発生率は30℃で69.2%、20℃45.3%であった。発病初期の病徴は内穎のみの褐変が



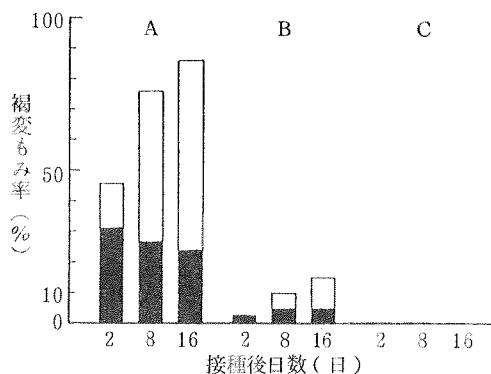
第3図 穎内接種後30度に保った場合の 場合の発病経過

A : *E. herbicola* (No.8101)、B : 殺菌水、  
C : 無接種、 : 内穎褐変もみ、  
 : 内外穎褐変もみ

主であり、30℃で72.2%、20℃で68.4%のみが同症状のみであった。30℃処理におけるその後の褐変もみの発生は、接種8日後88.5%、16日後88.5%で接種8日後以降の増加はみられなかった。また、褐変もみの病徴も発病初期からほとんど変化がみられなかった。20℃処理における褐変もみの発生量は、接種8日後76.2%、16日後85.7%と漸増した。褐変もみの病徴は30℃処理の場合と異なり、日数の経過とともに内外穎褐変もみの比率が増した。すなわち、接種8日後で65.6%、16日後72.2%と同症状のみが増加した。殺菌水の穎内接種によって褐変もみが発生したが、発生量、病徴及び発生経過は噴霧接種の場合と同様の傾向を示した。

2 接種後の温度が内穎組織病原細菌の増殖に及ぼす影響

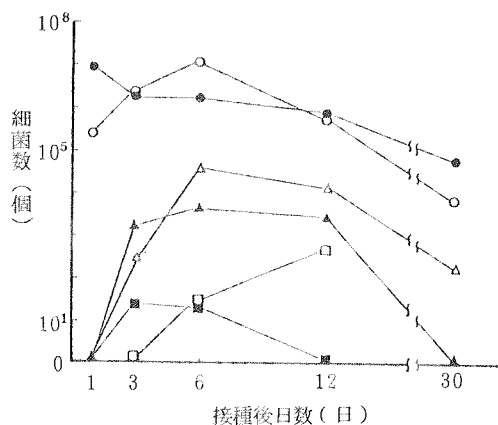
内穎組織内細菌量の定量に用いた褐変もみの病徴を第1表に示した。また、接種後日数の経過と内穎内細菌数の消長を第5図に示した。接種1日後の内穎1片当たりの細菌数は、30℃で $0.9 \times 10^7$ 個、20℃で $4.2 \times 10^5$ 個であった。供試したもみはいずれも未褐変であったが、30℃処理もみの細菌数は20℃の場合に比較してかなり多かった。接種3日後の細菌数は、30℃処理では $2.3 \times 10^6$ 個となり、1日後に比較してやや減少した。20℃処理では $3.0 \times 10^6$ 個とやや増加し、両温度処理ともほぼ同レベルの細菌量となった。供試したもみの内穎



第4図 穎内接種後20度に保った場合の発病経過

A : *E. herbicola* (No.8101)、B : 殺菌水、  
C : 無接種、 : 内穎褐変もみ、  
 : 内外穎褐変もみ

は第1表に示したように、病原細菌接種区ではいずれも接種3日後以降のものは明瞭に褐変していた。接種6日後の細菌数は、30℃処理では $1.6 \times 10^6$ 個で、3日後とほとんど変わらなかった。一方、20℃処理では $1.4 \times 10^7$ 個とかなり増加し、30℃処理に比較してもやや多くなった。接種12日後の細菌数は、30℃処理ではやや減少して $8.0 \times 10^5$ 個となり、20℃処理ではかなり減少して $6.7 \times 10^5$ 個となった。接種30日後の黄熟期におけるもみでは、30℃処理で $6.5 \times 10^4$ 個、20℃処理で $8.0 \times 10^2$ 個となりいずれもかなり減少した。30℃と20℃の両温度処理間における細菌数の増殖経過の違いは接種直



第5図 穎内接種後の温度と内穎組織内黄色細菌の増殖経過

●—● No.8101 30℃      △—△ 殺菌水 20℃  
○—○ " 20℃      ■—■ 無接種 30℃  
▲—▲ 殺菌水 30℃      □—□ " 20℃

第1表 供試もみの病徴

接種後温度	接 種 原	接 種 後 日 数				
		1	3	6	12	30
30℃	<i>E. herbicola</i> (No.8101)	-	+	+	+	+
	殺菌水	-	-	-	±	-
	無接種	-	-	-	-	-
20℃	<i>E. herbicola</i> (No.8101)	-	+	+	+	+
	殺菌水	-	-	-	±	±
	無接種	-	-	-	-	-

もみ(内穎)の病徴 - : 未褐変、± : 薄い褐変、+ : 濃い褐変

後の増殖速度の差が主であり、接種後日数の経過するにしたがって、顕著な違いはみられなかった。

殺菌水を穎内へ滴下した場合も、第3図及び第4図にみられるように褐変もみが発生した。第1表に示したもみを材料にして、殺菌水接種及び無接種の場合の内穎内細菌数の消長を第5図に示した。その結果、両温度処理とも接種1日後では細菌は検出されなかったが、接種3日後では30℃処理で $1.1 \times 10^3$ 個、20℃処理で $3.6 \times 10^2$ 個となった。接種6日後では30℃処理で $5.5 \times 10^4$ 個、20℃処理で $6.0 \times 10^3$ 個とかなり増加した。しかし、接種12日後はいずれもやや減少し、黄熟期のもみでは $10^2$ 個の低い細菌数となった。無接種の場合はいずれ

も著しく少なかった。

### 3 接種後の再分離黄色細菌の病原性

第5図にみられるように、黄色細菌は病原細菌接種もみ、殺菌水接種もみ及び無接種もみのいずれからも分離された。これらの細菌は病原細菌由来のものなのか、あるいはそれ以外のものなのかを調べるため病原性の検定を行った。その結果は、第2表に示した。病原細菌No.8101接種もみから分離した黄色の細菌6菌株はいずれも褐変もみを発生させ、病原性が確認された。一方、殺菌水接種もみから分離した6菌株はいずれも病原性が認められなかった。

第2表 接種後のもみ(内穎)から再分離される黄色細菌の病原性

接 種 原	もみの病徴	分離細菌 No.	褐 変 も み 率 (%)		
			内 穎 褐 度	内 外 穎 褐 度	合 計
<i>E. herbicola</i> (No.8101)	内穎褐変	1	18.8	2.4	21.2
		2	4.1	2.4	6.5
		3	3.4	1.7	5.1
		4	12.3	0	12.3
		5	40.7	14.8	55.5
		6	9.7	1.0	10.7
殺 菌 水	健 全	1	0	0	0
		2	0	0	0
		3	0	0	0
		4	0	0	0
		5	0	0	0
		6	0	0	0

## V 考 察

イネ内穎褐変病の発生時期<sup>1)</sup>は、自然感染圃場においては出穂3日後から15日後ごろまでであり、開花期前後が主要な感染時期である。感染と発病が短時日に限られる病気においては、その期間の環境条件は他の期間のそれと比較して、より重要な意味を持つものと思われる。特に、気象条件は本病の発生の最も主要な誘因と推察され、このことは岡田ら<sup>6)</sup>もそのように記述している。また、尾崎ら<sup>7)</sup>も同一品種の発病調査において、移植期の早いほど発病が増加する結果を得ており、気象要因の発病に及ぼす影響をうかがわせる。気象要因の中でも、気温の影響は特に重要と思われる。そこで、温度が発病の時期、発生量及び病徴に及ぼす影響を調べ、さらに病原細菌 (*Erwinia herbiicola*) の内穎組織内での増殖経過を追跡して、発病との相互関係を検討した。

病原細菌を開花中のイネの穂に噴霧接種し、直後から人工気象室内で12日間30℃及び20℃に保った。その結果、第1図及び第2図に示したように、30℃及び20℃処理のいずれにおいても接種2日後から発病が始まった。しかし、その時点での両者間の発病もみ率は30℃で12.2%、20℃で0.8%と約15倍の差がみられた。すなわち、30℃処理の方が20℃処理に比較して、より早く発病が始まり、しかも発生量が多いことを示している。また、その病徴は、発病初期では両温度とも内穎のみ褐変する症状が多いが、日数が経過するにつれて、20℃処理では内穎のみならず外穎をも褐変するもみが増加した。30℃では発病初期と変わらなかった。

開花中の穎の中へ、より確実に一定量の病原細菌を接種するため、皮下注射器を用いて滴下注入接種した。その後は噴霧接種の場合と同様に温度処理を16日間行った。その結果は第3図及び第4図にみられるように、褐変もみ率は噴霧接種に比較してかなり増加したが、30℃及び20℃処理とも接種2日後から発病し始め、発生量及び病徴の推移とも噴霧接種の場合とほぼ同様の傾向を示すことが確認された。

以上の結果、内穎褐変病は開花期前後の感染期から発病期における気温の違いによって、発病経過、発病程度及び病徴が異なることが明らかとなった。発病に最も影響を与える温度域とその期間が特定される必要があるが、今後の課題である。

温度の影響に関して、後藤<sup>1)</sup>は細菌の増殖に直接作用して発病を左右することを示している。内穎褐変病の気温による発病の違いは病原細菌の内穎組織内における増殖とどのように関連しているのか、経時的に細菌量を定量することによって検討した。接種試験に用いた皮下注射器から注入される1滴は、計量の結果およそ $10^5$ 個の細菌を含むが、接種1日後の内穎内細菌数は30℃で $0.9 \times 10^7$ 個、20℃で $4.2 \times 10^5$ 個であった。すなわち、接種直後においては30℃処理の方が顕著な増殖を示した。その後の細菌の増殖経過は、30℃ではむしろ抑制され、20℃では接種6日後まで増加した。このような細菌量の変動は、30℃処理における接種直後の発病の急増と20℃処理における緩やかな増加という両温度間の傾向をある程度説明したものと考えられた。対馬ら<sup>8)</sup>によると、イネもみ枯細菌病菌のもみにおける増殖経過は、接種6日目までは経時的に増加し、6日目で $5.1 \times 10^7$  CFUとなっている。また、病徴発現以降の細菌数は接種後の環境条件と関係なく一定で、 $10^7$  CFU以上としている。本病ともみ枯細菌病を同一に論ずることには無理があると思われるが、本実験では接種12日後までの発病もみからは1内穎当たり $10^6 \sim 10^7$ 個の細菌数が検出されている。病徴発現に一定量以上の細菌数が必要かどうか定かでないが、本病の場合、およそ内穎組織全体で $10^6$ 個以上の細菌数が必要と思われる。しかし、黄熟期のもみでは $10^4$ 個以下しか検出できず、この減少の理由は本実験では明らかにすることができなかった。

低温域(本実験では20℃)で、内穎の褐変のみならず、外穎をも褐変が起る理由は何か。低温で病徴の拡大及び激化がみられるのは、宿主の生育条件を除外すれば、主として病原菌の最適生育温度が低温域にある場合であり、もみの場合を例にとれば、イネ葉鞘褐変病<sup>5)</sup>の発病が該当する。し

かし、本病原細菌は25℃から35℃の高温域に高原状に巾広く最適発育温度(筆者実験結果未発表)がみられ、単に病原細菌の増殖適温のみでは説明不可能である。イネもみ枯細菌症の場合、後藤<sup>2)</sup>によると、16℃、20℃では内穎のみの黒褐変が著しいとしている。しかし、菌量との関係については論じていない。内穎と外穎は組織学的にはほとんど同様の構造<sup>3)</sup>をしておりながら、病原細菌との関係において不明な点が多く、両者の関係についてはさらに今後の研究が必要と思われる。

なお、イネの各部位からは黄色の細菌が各種分離<sup>4)</sup>されるため、本実験で定量した黄色の細菌がはたして、接種に用いた病原細菌由来のものであるのかどうか確認の必要があったが、分離細菌の病原性が確認されたことによって、実験目的は達せられたものと解した。

## V 摘 要

イネ内穎褐変病の発病過程に及ぼす気温の影響を調べ、次のような結果を得た。

- 1 病徴の発現時期は30℃及び20℃処理のいずれにおいても、病原細菌接種2日後であった。しかし、両温度における発病程度は30℃処理で高く、病気の進展は30℃処理で早いことが示された。
- 2 その後の発病経過は、30℃処理では接種5日後～7日後ごろまで増加し、20℃処理では接種12日後まで発病の増加が認められた。
- 3 病徴が発現する部位は30℃処理に保った場合は主に内穎であり、典型的な病徴がみられた。一方、20℃処理の場合は、発病初期は主に内穎に病徴がみられるが、日数の経過とともに外穎をも発病する場合が多かった。
- 4 滴下注入接種後の内穎組織内における病原細菌の増殖を経時的に定量した結果、30℃処理では接種1日後でおよそ1内穎当たり $10^7$ 個、20℃処理でおよそ $10^5$ 個であった。その後、30℃処理ではやや減少するが、20℃処理では6日後まで増加し続

けた。接種20日後では両温度処理ともおよそ $10^6$ 個程度となり、ほぼ同じ細菌量となった。

5 以上の結果は、30℃処理における接種直後の急激な発病の増加と20℃処理における緩やかな発病の増加がそれぞれの温度処理における内穎組織内の病原細菌の増殖経過とおおむね対応関係にあることを示すものと考えられた。

## 引用文献

- 1 後藤正夫(1981):新植物細菌病学、ソフトサイエンス(東京); 1—272.
- 2 後藤孝雄(1980):イネもみ枯細菌病による穂の感染時期に及ぼす温度の影響、日植病報46(3); 398(講要).
- 3 星川清親(1975):解剖図説イネの生長、農山漁村文化協会(東京); 1—373.
- 4 松野守男(1967):米粒上に着生する黄色細菌に関する研究(Ⅲ)分離した菌種の形態と生理について、日植病報33; 223—229.
- 5 宮島邦之(1979):イネ葉鞘褐変病の病徴、日植病報35(5); 372(講要).
- 6 岡田大・日高透(1983):早植水稻における内穎褐変病防除試験、日植病報49(1) 88(講要).
- 7 尾崎克己・小林誠・高井昭・松田明(1980):変色米に関する特別研究、日植防協会、変色米に関する特別委託試験成績; 18—27.
- 8 対馬誠也・茂木静夫・斎藤初雄(1986):イネもみ枯細菌病菌の靱における増殖過程および越冬日植病報52(1); 106—107(講要).
- 9 吉田浩之・安木睦夫(1983):イネの内穎褐変症に関する研究(第1報)分離細菌の病原性と若干の細菌学的性質、近畿中国農研65; 3—7.
- 10 ————・尾崎克己・畔上耕児(1982):イネの内穎褐変症、植物防疫36(3); 24—28.
- 11 ————(1986):イネ内穎褐変症に関する研究(第3報)感染時期と発病の関係、鳥取農試報22; 1—9.

# Studies on Bacterial Palea Browning of Rice

## IV. Effects of airtemperature after infection on the disease development and bacterial population in the palea tissue

Hiroyuki YOSHIDA

### Summary

The present study was conducted to investigate effects of incubation temperature on the development of palea browning of rice caused by *Erwinia herbicola*. Palea browning on unhulled rice grains appeared 2 days after inoculation with the pathogen at both incubation temperatures of 20 C and 30 C. However, a significant difference in the number of diseased grains observed at 20 C and 30 C, indicated that the rate of disease development was higher at 30 C. At 30 C the disease became severe during 5th to 7th day after inoculation, while at 20 C it was significant by 12 days. At 30 C typical symptoms occurred only on paleas, but at 20 C browning spread gradually from paleas to lemmas with the increase in incubation period. The bacterial population in palea tissues at 1 day after inoculation was about  $10^7$  CFU at 30 C and about  $10^5$  CFU at 20 C. The population at 30 C had a tendency to decrease at later periods, but that at 20 C rather increased during 6 days after inoculation. Eventually, the bacterial populations at both temperatures were almost same, i. e.,  $10^8$  CFU by 12 days. These results suggest that both the rapid and remarkable development of the symptoms at 30 C after inoculation and the slow but steady development at 20 C during the same incubation period may relate to the modes of multiplication in the bacterial population in these palea tissues.