

Rhizopus chinensis Saito

によるイネ苗立枯病罹病根の組織学的観察

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	野田,孝人 羽柴,輝良 佐藤,善司
発行元	日本植物病理學會
巻/号	46巻1号
巻号補足	
掲載ページ	p. 40-45
発行年月	1980年1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



Rhizopus chinensis Saito によるイネ苗

立枯病罹病根の組織学的観察

野田孝人*・羽柴輝良**・佐藤善司*

Takahito NODA*, Teruyoshi HASHIBA**, Zenji SATO*: The Structural Changes in Young Swollen Roots of Rice Seedlings Infected with *Rhizopus chinensis* Saito

Abstract

The number and width of exodermal and cortical cells in swollen rice seedling roots infected with *Rhizopus chinensis* or induced by the toxin produced by the pathogen increased and the thickness of the cortical cell walls also increased to about 3 times compared with those of healthy roots. Hyphal penetration into the inner layers was not observed.

イネの機械移植栽培の普及に伴い、育苗期間中に各種土壌生息菌によって引き起こされる病害が発生し問題となっている^{1,2,3,4,5,6,7}。中でも *Rhizopus* 属菌によるイネの生育障害は1974年に茨木¹⁾によって初めて報告されて以来、現在では全国的に発生が見られ、被害も多く機械移植栽培にとって大きな障害となっている。*Rhizopus* 属菌による立枯病罹病苗の生育は地上部・地下部とも著しく抑制され、根先端部の肥大や鞘葉基部の奇形化などの特異的病徴が現われる。郷ら⁸⁾は育苗床土から5種の *Rhizopus* 属菌 (*R. oryzae*, *R. chinensis*, *R. arrhizus*, *R. javanicus*, *R. delemar*) を分離し、その障害発生程度を比較した結果、*R. chinensis* によるものが最もその程度が激しいことを報告した。古谷ら⁹⁾は本属菌が蔓延しイネに障害が発生した土壌の浸出液が、イネ稚苗の根の生育抑制と根端の肥大を引き起こすことを報告した。しかも、罹病イネ体内への菌糸の侵入が確認できなかったことから、彼らは本属菌の生産する毒性物質が病徴発現に関与して

いるのではないかと考察している。一方、佐藤ら¹⁰⁾は *Rhizopus* 属菌の培養ろ液から毒性物質としてフマル酸を単離、報告した。しかし、フマル酸は高濃度でイネ幼根の伸長を阻害するが、本病の特異的な病徴の一つである根先端部の肥大化を引き起こす作用はない。郷ら⁸⁾および佐藤ら¹¹⁾は *R. chinensis* の培養ろ液から根先端部の肥大、鞘葉基部の奇形化、幼芽・幼根の伸長阻害などの病徴を再現できる毒性物質を得たことを報告している。本実験では、病原菌感染によって誘起された肥大根、本毒素処理によって形成させた肥大根および健全根の内部組織を比較検討し、また、罹病肥大根での菌糸の侵入の有無を観察して肥大根形成における本毒素の役割を論議した。なお、本報告の一部はすでに昭和53年度日本植物病理学会夏季関東部会において発表した¹²⁾。

供試菌は新潟農試保存の *Rhizopus chinensis* Rh-2 菌。供試イネ品種は金南風。径8cmのベトリ皿に約15mlのPSA培地を流し込み、供試菌を移植して32℃

* 農林水産省北陸農業試験場 Hokuriku National Agricultural Experiment Station, Joetsu, Niigata-ken 943-01, Japan

** 農林水産省農業技術研究所 National Institute of Agricultural Sciences, Kita-ku, Tokyo 114, Japan

1) 茨木忠雄 (1973). 日植病報 39: 141, 190. 2) 茨木忠雄 (1974). 日植病報 40: 189-190. 3) 茨木忠雄 (1976). 農及園 51: 40-44, 259-298. 4) 西岡幹弘・都築 仁・中西 勇 (1975). 日植病報 41: 247. 5) 斉藤 正・古谷真二 (1971). 日植病報 37: 164-165. 6) 植松 勉・吉村大三郎・西山幸司・茨木忠雄・藤井 博 (1976). 日植病報 42: 310-312. 7) 矢尾板恒雄・郷 直俊・青柳和雄・浅野 勇・横山竜雄 (1976). 北陸病虫研報 24: 60-63. 8) 郷 直俊・佐藤善司・矢尾板恒雄・青柳和雄 (1978). 北陸病虫研報 26: 90-94. 9) 古谷真二・倉田宗良・斉藤 正 (1974). 四国植防研究 9: 49-55. 10) 佐藤善司・茨木忠雄・岩崎成夫 (1974). 日植病報 40: 123. 11) 佐藤善司・野田孝人・郷直俊・小林久芳・奥田重信 (1978). 日植病報 44: 349. 12) 野田孝人・羽柴輝良・佐藤善司 (1979). 日植病報 45: 79.

48時間培養した。昇こう-アルコールで2分間表面殺菌した後、28°Cの定温器内で1~2mmに出芽させた種子を菌そう上に置いて接種した。菌接種によって形成させた肥大根を以後、罹病根とよぶ。一方、供試菌を径8cmのペトリ皿で32°C、2日間液体静置培養した後、ミリポアフィルターを通して除菌した培養ろ液を10倍希釈した液(粗毒素)、または、精製した毒素に少量のエチルアルコールを加えて溶解し、蒸留水で希釈した液(濃度0.5 µg/ml)に出芽種子を浸漬して肥大根を形成させた。以後、これを毒素処理根とよぶ。各材料は接種または処理後、32°Cに2日間保ち肉眼的に同程度の肥大を示した根を選んで供試し、対照の健全根は素寒天上に置いた出芽種子から生育した根でいずれも種子根である。細胞の数、大きさおよび細胞壁の厚さの測定部位は罹病根および毒素処理根では最も肥大した部分、健全根ではほぼ中央部であり、各材料共20個体を供試した。

観察材料の作製 光顕用観察材料はFAA(No. 2液)で約50時間固定した後、常法に従って脱水、パラフィン包埋を行った。厚さ10~15 µmの切片をオレンジGおよびデラフィールドのヘマトキシリンによる二重染色、またはデラフィールドのヘマトキシリンで単染色して観察した。透過型電顕用観察材料は常法に従って固定、脱水、包埋後、超薄切片を作成し、日本電子100B型電子顕微鏡で微細構造を観察した。走査型電顕用観察材料は常法に従って固定、アルコール脱水を行った後、アルコールを酢酸イソアミルで置換して1~2日置き、臨界点乾燥、金蒸着を行い日立S-550型電子顕微鏡で根の表面および断面の観察を行った。なお、横断面は臨界点乾燥を行う直前に、安全剃刀の刃(両刃)で材料を切断して作成した。

罹病イネおよび毒素処理イネの外部形態

罹病イネおよび毒素処理イネの写真をFig. 1に示した。罹病イネでは根先端部の肥大、鞘葉基部の奇形化などの本病の特徴的病徴が現われ、一方、毒素処理イネにおいても罹病イネと全く同様な症状が観察された。

各処理根の外皮細胞および皮層細胞の数

各処理根の1横断切片の外皮細胞および皮層細胞の全数を光顕観察によって測定し、健全根のそれと比較した結果をTable 1に示した。罹病根と毒素処理根の外皮細胞および皮層細胞数は健全根と比較して10~15%増加し、有意な差が

認められた。しかし、罹病根と毒素処理根の間ではそれらについて顕著な差異は認められなかった。

外皮細胞および皮層細胞の大きさ 各処理根の外皮細胞および皮層細胞の大きさを光顕観察によって測定した。その結果、罹病根、毒素処理根ともにすべての部位の細胞、すなわち表皮、外皮、厚膜、皮層、内皮および中心柱各組織の細胞が健全根のそれぞれと比べて大きくなっており、特異的に肥大した細胞は認められなかった。罹病根および毒素処理根では健全根と比べてとくに厚膜組織が不明瞭になっており、毒素の特徴的な作用の一つと考えられた(Fig. 2)。各処理根の外皮細胞および皮層細胞の長径と短径を測定した結果をFig. 3に模式的に示した。罹病根の外皮細胞は40×64 µm(短径×長径)、皮層細胞は84×124 µm、毒素処理根の外皮細胞は52×66 µm、皮層細胞は98×126

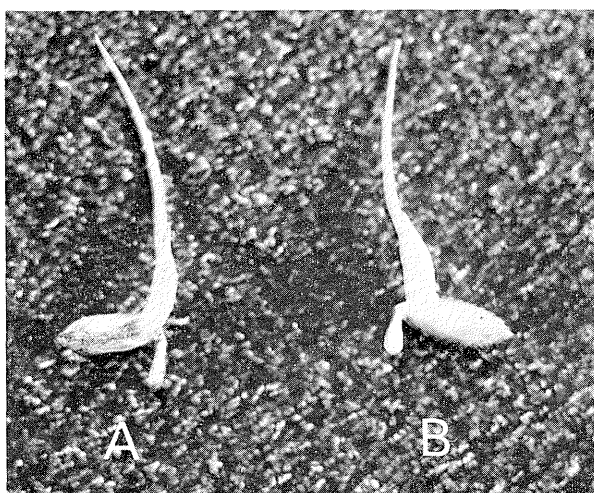


Fig. 1. A. Typical symptoms on a rice seedling infected with *Rhizopus chinensis*.

B. Typical symptoms on a rice seedling treated with the toxin.

Table 1. Number of exodermal and cortical cells in a transection of a swollen rice seedling root infected with *Rhizopus chinensis* or treated with the toxin

	Exodermal cells	Cortical cells
Infected root	84*	249**
Toxin treated root	89*	242**
Healthy root	77	216

*, **: Statistically significant at 5% and 1% levels, respectively, compared with healthy roots.

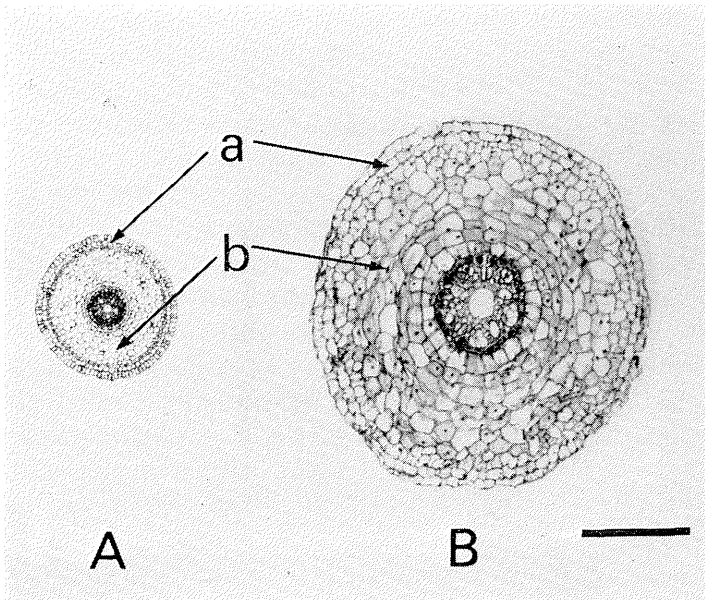


Fig. 2. Transections of toxin treated and healthy rice seedling roots.

A. Healthy root. B. Toxin-treated root.
a. Exodermal cells. b. Cortical cells.
Bar represents 0.5 mm.

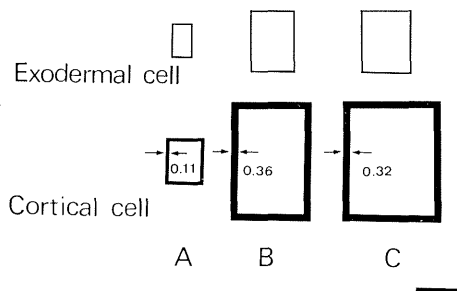


Fig. 3. Diagrams showing width and thickness of exodermal and cortical cells of swollen rice seedling roots infected with *Rhizopus chinensis* or treated with the toxin.

A. Healthy root. B. Infected root. C. Toxin-treated root.
Bar represents 50 μm .

Note: the width of exodermal and cortical cells on infected and toxin-treated roots increased to 2 or 3 times and the thickness of the cortical cell walls increased to about 0.36 and 0.32 μm , respectively, compared with 0.11 μm of healthy roots. There were no obvious differences between infected and toxin-treated roots on the width of exodermal and cortical cells and the thickness of cortical cell walls.

μm であり、一方、健全根の外皮細胞は $22 \times 38 \mu\text{m}$ 、皮層細胞は $40 \times 48 \mu\text{m}$ であった。このように、罹病根と毒素処理根では、外皮細胞、皮層細胞ともに健全根のそれらと比べて長径、短径が2～3倍となった。

皮層細胞の細胞壁の厚さ 透過型電顕で皮層細胞の微細構造を観察した結果、健全根と比べて罹病根、毒素処理根ともに液胞の著しい発達が見られた。また、皮層細胞壁の顕著な肥厚が認められ、健全根ではその厚さが平均0.11 μm であったのに対して、罹病根では平均0.36 μm 、毒素処理根では平均0.32 μm であり罹病根、毒素処理根とも健全根のそれと比べて約3倍の厚さであった (Fig. 3, Plate I-1, 2, 3, 4)。このように、健全根と罹病根および毒素処理根の間には微細構造に関して著しい差異が認められたが、罹病根と毒素処理根の間には顕著な差異は認められず、内部形態的にも毒素によって病徴が再現される結果を得た。

走査電顕による組織観察 走査電顕によって罹病根を観察した結果、肥大根組織への菌糸の侵入が認められた (Plate II-2)。しかし、菌糸は崩壊した表皮または外皮の細胞間隙に存在しているだけで、それより内部の組織への侵入は認められなかった (Plate II-1)。罹病根、毒素処理根ともに、その表面は著しく崩壊しており根毛の発生もほとんど見られなかった。

以上のことから、本病の病徴発現には菌の生産する毒素が大きな役割を果しているものと考えられる。目下、本毒素の化学構造を検討中である。

供試菌 *Rhizopus chinensis* Rh-2 菌は新潟農試から分譲して頂い

た。また、本実験を行うにあたり、東京大学応用微生物研究所第8研究部（主任奥田重信教授）の各位から有益な助言と多大なご援助を頂いた。あわせて深謝の意を表する。

（1979年9月25日受理）

Explanation of Plates

Plate I.

1. Fine structure of cortical cells of a healthy root. Bar represents 1 μ m.
2. Fine structure of cortical cells of an infected root. Bar represents 1 μ m.
- 3-4. Fine structure of cortical cells of a toxin-treated root. Bar represents 1 μ m.

Plate II.

- 1-2. Scanning electron micrographs of a transection of an infected root. Hyphal penetration into the inner layer was not observed. Bar represents 50 μ m.

Abbreviations

C: Cortical cells of roots. CW: Cell wall. H: Hypha. M: Mitochondrion. R: Ribosome.
V: Vacuole.

Plate I

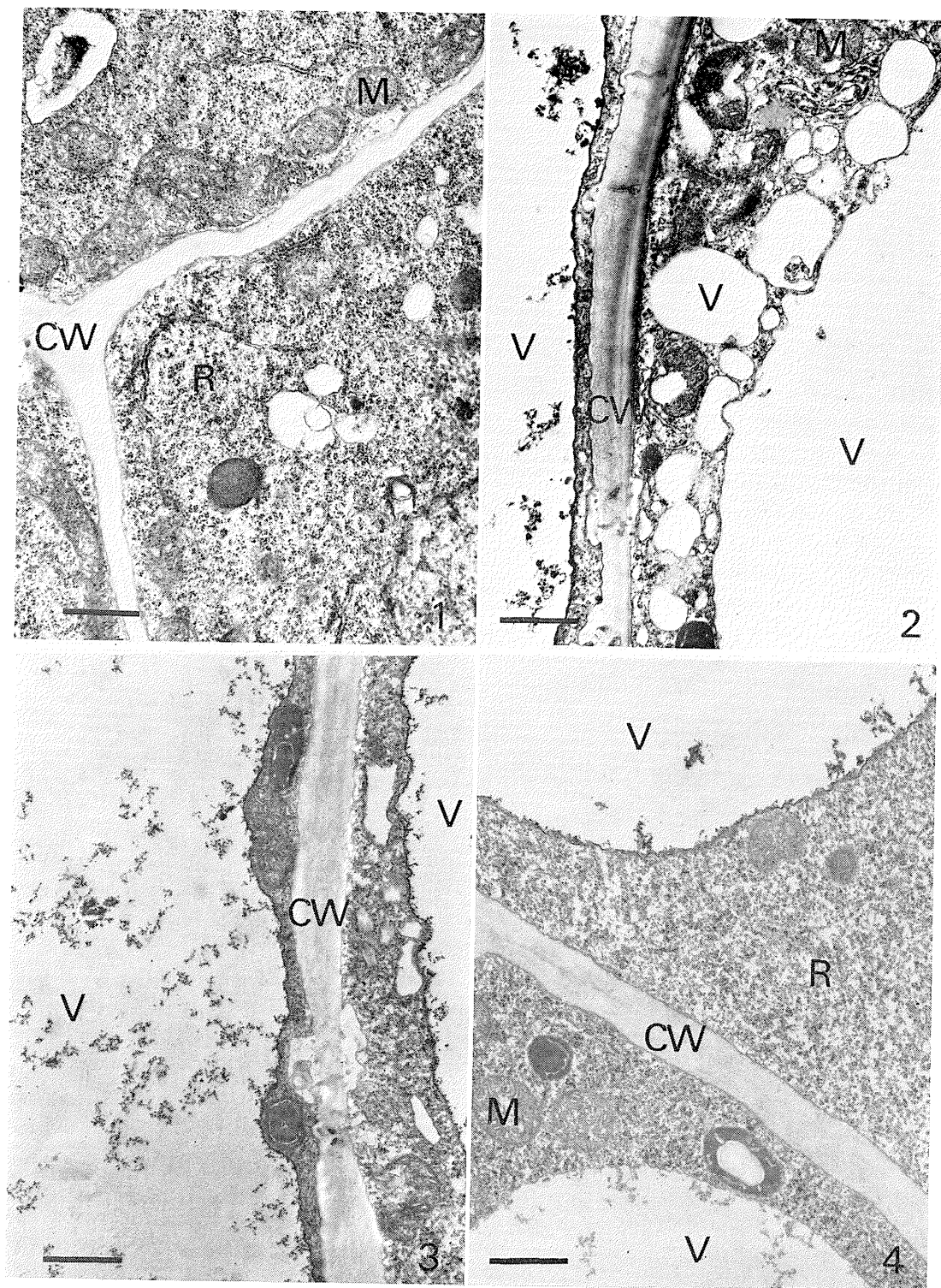


Plate II

