HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Helminthosporium sativum P.K. et B. の小麥子葉鞘よりの侵入に關する二三の觀察
Author(s)	栃内, 吉彦; 宇井, 格生
Citation	札幌博物学会会報, 18(3-4), 89-93
Issue Date	1949-12-31
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/64349
Type	journal article
File Information	Vol.18No.3-4_010.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

Helminthosporium sativum P. K. et B. の小麥子葉鞘よりの侵入に關する二三の觀察

栃内吉彦・宇井格生
Y. Tochinai and T. Ui
北海道大學農學部植物學教室

Observations on the invasion of *Helminthosporium sativum* P. K. et B. to the coleoptile of wheat seedlings.

(With English résumé, p.93)

麥類斑點病菌，*Helminthosporium sativum* P. K. et B. は大麥，小麥，ライ麥，燕麥等の各種麥類をはじめ58種の禾本科植物を侵害し（Christensen 1922），寄主植物の各生育時期にそのあらゆる器官を侵す寄生性の廣いものである。即ち北海道に於いては，大麥種子に付着せる胞子が，種子の發芽に際してこれを侵害し，その發芽率を20乃至30%低下せしめ（高橋 1945），更に40～50%の罹病稚苗を生ずる。此の菌は，寄主の根部を侵すときは“根腐病”（root-rot）を，地際部を犯すときは“褐枯病”（foot-rot）を，又葉部に侵入すれば斑點病（spot disease）をおこし（Stakman 1920），更に成熟中の種子にあつては，黒目粒（Black Knot）の原因となる（明日山 1938）。之等の諸症の内，種子及び土壤に由來する菌によつて起る稚苗期の疾病は，寄主植物の幼弱なるために蒙る被害の大なる點，及び其の後の生育に及ぼす影響の顯著なる點より見て，最も重要なものと考へられる。

一般に稚苗期に於ける根腐病及び褐枯病は同時に發病するものであるから，米國及びカナダ等に於いては特に此の兩者を區別することなく，一般に foot- and root-rot と呼んで居る。北海道の小麥にあつては，特殊な地帶及び特異な氣候條件の年を除き，褐枯病發生の頻度は根腐病に於けるよりも大である。褐枯病の場合に病原菌の寄主体侵入は，子葉鞘に起る場合が最も多い。依つて本菌の子葉鞘侵入について行つた二，三の觀察並びに實驗の結果の大略を此處に報告する。

觀　察

子葉鞘は，この菌が小麥稚苗を侵す場合の侵入門戸の一つとなるが，一方に於て又この器官は幼葉が未だ充分に生育しない間に病原菌に侵されるのを防ぐ保護の役をする。このことは *Ophioborus graminis* の小麥子葉鞘侵害の場合（Fellows 1929），或は *Sphacelotheca sorghi* の侵入の際に見られる處（Reed & Melchers 1925）と類似する。此の子葉鞘の保護がない場合に，稚苗の，殊に第一葉鞘基部或は第一葉が，どの程度に被害を蒙るかを，北海道に於て褐枯病に强抵抗性の春播小麥農林29號及び同じく罹病性の高い春播小麥農林35號について觀察を行つた。使用品種は何れも北海道農業試驗場産の純系である。之等の種子を4倍昇汞水を以て15分間表面殺菌し，水洗後，殺菌石英砂上に播種し，25°C の恒溫器中の暗所に於て生育せしめた。子葉鞘が約 1cm に達したとき，剃刀をもつて，葉を傷付けぬ樣に子葉鞘先端並びにその一側面を切除して，その部分を *H. sativum* 胞子の濃い懸濁液に瞬間浸し，直ちに引上げ植木鉢の殺菌土壤上におき，その上に約1.5cm の厚さに覆土した。對照區には蒸溜水を以つて同一處理を行つたものを用ひた。更に子葉鞘を切除せぬものについて同樣の接種を行ひ又，蒸溜水處理の對照區を設けた。その結果を第1表に示す。表中發病率の算定は栃内及び梁（1946）の方法に依つた。

第1表 小麥子葉鞘より *H. sativum* の侵入

農林35號		播種數	發芽數	發病程度 −	±	+	++	+++	發病率
接種區	子葉鞘切除	150	147	0	8	32	18	89	81.9
	無處理	150	145	1	47	39	28	30	68.5
對照區	子葉鞘切除	150	126	104	20	2	0	0	4.8
	無處理	150	137	121	15	1	0	0	3.1
農林29號									
接種區	子葉鞘切除	150	128	0	67	26	31	4	44.5
	無處理	150	141	6	93	42	0	0	31.4
對照區	子葉鞘切除	150	130	95	21	14	0	0	9.4
	無處理	150	143	133	10	0	0	0	1.7

此の結果より見ると，菌が子葉鞘を通過することなしに，直接第一葉をその發育の極く初期に侵害すれば，第一葉はその基部のみならず，先端部迄も菌の侵害するところとなり，罹病性は高い農林35號にあつては，發芽不能の稚苗が著しく增加する。但し，表示はしなかつたが，無接種の對照區の植物にあつても，子葉鞘切除處理の影響により，草丈はやゝ低下し，又分蘖は增加する傾向を認めた。以上の試驗結果によりて明かなる如く，子葉鞘は小麥種子發芽初期に於ける菌の侵入に對して著しい保護の役をすると思はれる。

更に此の部分よりする菌侵入の樣相及び其他二，三の點について觀察を行つた。

Dosdall (1923) の實驗によれば，*H. sativum* の胞子の蒸溜水中に於ける發芽率は，Czapek 培養液中に於けるよりも遙かに低く，Christensen (1922) の實驗に於いても，水滴中に寄主組織片が存在した場合に，蒸溜水中に於けるよりも發芽は良い樣である。Christensen (1926) は各種寄主植物或は寄主以外の植物の組織片を比較して，發芽率には差は認められなかつたが，發芽勢は寄主片のある方が良好の樣であつたと述べてゐる。筆者は農林29號及び同35號の子葉鞘を使用して侵入の狀況を觀察せる間に，屢々上記二つの異つた品種上で胞子の發芽に差のある事を認めたので，之を確めるために次の如き實驗を行つた。

前記2品種の殺菌種子を腰高發芽シヤーレ中の石英砂發芽床上に，25°C，暗黑下で發芽せしめ，子葉鞘が約2.5cm に達せるとき，シヤーレを密閉してから約10時間後に子葉鞘上に溢泌せる水滴をカバーグラスに取り，それをホールスライド上に懸滴して，この溢泌液中に於ける胞子の發芽を試驗した。6時間後に於ける發芽狀況は第2表に示した通りである。此の結果より

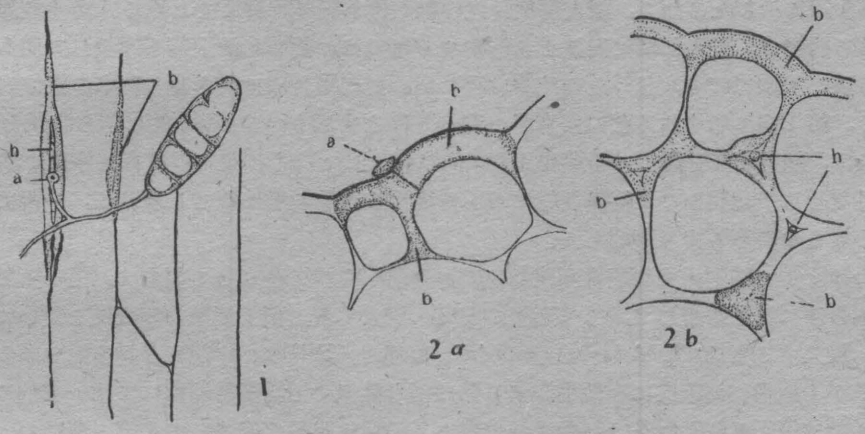
第2表 小麥子葉鞘よりの溢液中に於ける *H. sativum* 分生胞子の發芽

	觀察胞子數	發芽胞子數	不發芽胞子數	發芽率
農林35號	1381	936	445	67.8%
農林29號	1406	799	607	56.8%
蒸溜水	750	264	486	35.2%

第3表 子葉鞘上に於ける *H. sativum* 發芽及び子葉鞘細胞への侵入

	觀察胞子數	發芽胞子數	發芽率	侵入菌糸數	寄主体中に於ける菌糸發育狀況 ±	+	++	寄主細胞の變化及び變色 ±	+	++
農林35號	1017	722	70.9%	691	472	126	56	459	179	16
農林29號	1042	685	65.7	452	319	89	0	350	54	4

見ると，35號の溢液中に於ける發芽は最良で，蒸溜水中に於て最も少なかつた。次に，寄主体上に噴霧せる蒸溜水滴中での發芽を調査した。その結果を第3表に示したが，胞子を發芽せしめた子葉鞘の表皮切片を作製して檢鏡するまでに，未だ發芽管を出さず，從つて寄主体上によく附着してゐない胞子は操作中に流失或は落下に依つて失はれるものがあるから，不發芽胞子の數は實際より少くかぞへられる惧があるが，大体に於いて表に現はれた傾向と大差はないと思ふ。又，上記の如くして發芽せしめた小麥子葉鞘に *H. sativum* の胞子懸濁液を噴霧して，20時間濕室中に保つた後，剃刀にて表皮を薄片に切り取り，之を表面より檢鏡して菌の侵入狀況を觀察した。子葉鞘上に接種せる胞子は 5～6 時間後に發芽を開始し，12時間後に寄主細胞表皮上に附着器を形成し，次いで附着器より纖細な侵入菌糸を出して寄主細胞の表皮を貫穿し，直接表皮細胞内へ，或は又表皮細胞の縫合部より細胞間隙へ侵入する（第1-2圖）。



第1圖 *H. sativum* の子葉鞘細胞膜縫合部よりの侵入（×200）a: 附着器. h: 細胞縫合部へ侵入せる菌糸. b: 細胞膜の肥厚部位.

第2圖 子葉鞘表皮の侵入による肥厚（×400）　**2a.** 細胞内へ菌の直接侵入せるもの. **2b.** 細胞縫合部より侵入せるもの. b: 細胞膜の肥厚並びに變色. h: 細胞間隙の菌糸.

菌の子葉鞘接種の際の細胞膜穿貫による細胞内侵入と，細胞縫合部穿入との比率は外界條件によつて異る。一般に小麥にあつては，大麥に於けるより細胞縫合部からの侵入が少い傾向が認められる。此の點に關しては別に詳細な報告を行ひ度い。子葉鞘表面で最も良く侵入を見られるのは，子葉鞘の中の2本の維管束にに近い表皮，即ち楕圓形を呈する子葉鞘横斷面の尖端部附近であつた。子葉鞘上に形成される附着器は，西門氏（1930）が玉蜀黍の斑點病に就いて述べて居る如き掌狀のものではなく，Stevens（1922）が小麥葉鞘の内側で觀察せる如く球形若しくは偏球形を呈した。

菌の侵入によりて起る寄主細胞の變化については別に報告するが，その大要は第3表に示した如くであつて，農林35號では同29號に比して菌の侵入並びに其の後の發育は速かであり，又旺勢であつた。而して35號に於ける子葉鞘細胞の病變は，29號に於けるより顯著であつた。接種後48時間に單一附着器より侵入した菌は，35號に於いては長さ3～5mm の濃褐色狹長なる病斑を形成するが，29號では1～2mm の淡色の病斑を形成するに過ぎなかつた。

上記の子葉鞘材料をホルマリンで固定し，横斷或は縱斷ミクロトーム切片を作り，Fremming 三重染色，或は Pianase 染色を施して觀察した。その結果によると，附着器の形成或は菌糸

の侵入によりて，子葉鞘表皮細胞は肥厚し，又染色を施さぬ切片で此の部分を檢鏡すると，黄乃至淡黄褐色をしてゐるのが見られる（第2圖a）。更に此の部を詳細に觀察すると，細胞膜表層は最初 Safranin に依つて濃染するが，後には褐色に變じて染らなくなり，細胞内容全部褐變する。此の點は，生蕃茄葉に稻熱病菌を接種せる場合の吉井氏（1948）の所見に類似する。細胞縫合部よりの菌の侵入にあつては，侵入箇處に隣接する表皮細胞膜，或ば侵入菌糸に接する細胞膜の肥厚，變色及びサフラニンに依る染色性の增加が認められた（第2圖b）。細胞膜を穿貫して直接細胞内に侵入した菌糸は，2—3本に分岐し，狹長な表皮細胞中を何れも縱方向に伸長する。此の方向への菌糸の生長は，横に接する細胞中への蔓延に比して遙かに速かである。菌糸の侵入を蒙つた表皮細胞は膨壓を失ひ，暫時の後にその外側の細胞膜は内側細胞膜に附着して，あたかも膜が極端に肥厚せる如き外觀を呈するに至る。細胞縫合部より侵入せる菌糸は，第1圖に示したる如く，侵入部位付近の細胞膜を肥厚黄褐變せしめる。かくの如き細胞膜に於ける病變は，侵入初期に表面より觀察せる處では，菌糸が細胞膜を穿貫して侵入せる場合よりも廣い範圍に起り，且つその病變は著しい。此の場合には侵入せる菌糸の縱方向への蔓延は少く，第1圖に示す如く菌の發育が一部分で停止するものが多い。然し乍ら生長を停止しない菌糸は，細胞間隙を通つて子葉鞘内側に向ひ侵入して行く。前記の發育を停止せる菌糸も，種子に付着せる子葉鞘をやゝ乾燥狀態においた後再び濕潤狀態に復せしめれば，一部にまた伸長を始めるもののある事を觀察した。

斯くの如くして細胞内或は細胞間隙を組織の内部へ向つて蔓延せる菌糸は，第一葉鞘内側表皮を内から外へ貫き通過して，第一葉鞘の表皮へ侵入する。菌子葉鞘内側表皮を貫いて第一幼葉表皮へ侵入する事は *Ophioborus graminis* の場合（Fellows 1929）と異る處であるが，その際菌糸が子葉鞘内側表皮に多數集合する點は兩者類似する。農林35號にては一般的に，又農林29號にては侵入が旺勢に行はれた場合に限り，子葉鞘組織が崩潰して，第一葉鞘の表皮細胞が露出するに至ると，菌は容易にこれに侵入して速かに第一葉基部に病斑を作る。又菌が子葉鞘の内側表皮を貫通し得ず，第一葉鞘への侵入を果し得ぬときも，分蘖による莖基部の肥大，或は他の原因によつて，子葉鞘の裂開を來たせば菌は容易に内部の葉鞘へ侵入するに至る。然し以上の如き子葉鞘より第一葉基部への菌の侵入が，幼若な稚苗期に起らなければ，立枯と云ふような激しい症狀を呈することは特別な場合以外にはない。この點に子葉鞘の菌侵入に對する保護機構の意義が認められる。

論　　議

北海道に於いて *Helminthosporium sativum* P. K. et B. は，大麥，小麥の異つた發育時期に接種を起して，各時期に夫々特有の病症を惹起する。特に稚苗期に於ける侵害によりて，種子の不發芽，幼苗の褐枯等を惹起して著しい被害を及ぼす。此の稚苗期に於ける褐枯病にありては，菌の侵入は主として葉鞘に起る。而して子葉鞘は菌の子葉組織侵入に對する防禦的役割を果すものであつて，子葉組織が菌の侵入により，或は他の原因によつて裂開すれば菌は容易に第一葉基部に侵入して，その生育を妨げ，更に第二葉に侵入する。

子葉鞘組織への菌の侵入狀況を見るに，細胞を貫穿して細胞内へ直接侵入する場合と，表皮細胞縫合部より細胞間隙へ侵入する場合との兩者が認められる。*H. oryzae* の稻葉侵入に關しても同樣のことが觀察されてゐる（吉井 1938）。細胞縫合部より侵入せる菌は，やがてその生育を停止することが多いが，一たん生育を停止せる菌糸が其後の條件の變化によつて再び生育を始めることもあつた。菌の侵入により，その附近の細胞膜はサフラニンに濃染され，又肥厚，變色する。かゝる細胞膜の肥厚は表皮細胞のみならず，組織内部の細胞膜に於いても認められる。稚苗期に褐枯病に犯されやすい春播小麥農林35號及び强抵抗性の同29號を比較す

ると前者に於て細胞膜の變化及び原形質の病變は著しい。

この報告には示さなかつたが，本菌の大麥子葉鞘侵入にあつては，細胞縫合部穿貫侵入の比率が，小麥に於けるよりも大であつて，細胞膜を穿貫して直接侵入せる場合にも，細胞內容の變色は小麥の場合程著しくない。接種實驗に於いて大麥は常に小麥よりも强抵抗性を示し，圃場に於いても小麥褐枯病の發生は大麥に比して多い。

引 用 文 献

明日山秀文 (1938)；日. 植. 病. 報. 8, 251～260, —— Christensen, J. J. (1922)；Minn. Agr. Exp. Sta. Bull. 11, —— Christen, J. J. (1926)；Ibid. 37, —— Dosdall, L. (1923)；Ibid, 17, —— Fellows, H. (1929)；Jour. Agr. Res. 37, 647～661; —— 西門義一 (1930)；大原農研. 特. 報. 4, —— Reed, G. M. et L. E. Melchers (1925)；U. S. Dept. Agr. Bull. 1284, —— Stackman, L. J. (1920)；Minn. Agr. Exp. Sta. Bull. 191, —— Stevens, F. L. (1922)；Bull. Nat. Hist. Survey, 13. Art. 9, —— 高橋喜夫 (1945)；謄寫版刷報告, ——栃內吉彦，梁守衛(1946)；寒地農學, 1, 93～104, —— 吉井甫 (1939)；日. 植. 病. 報. 9, 170, —— 吉井甫 (1948)；日. 植. 病. 報. 13, 14～18.

Résumé

The protective action of wheat coleoptile against the attacks of *Helminthosporium sativum* was examined by cutting off the young coleoptiles. The numbers of blighted seedlings were larger in the susceptible wheat variety (Norin No. 35) than in the resistant one (Norin No. 29).

The invasion of the hypae to the coleoptile was observed using fixed or fresh materials. The protoplasmic changes induced by the invasion of the pathogen, were much more remarkable in the susceptible hosts than in the resistant ones.

Invasion of the hyphae occurred by penetrating through the epidermal cell walls, or on the middle lamella of them. In both cases, the cell walls thickened and were colored in light brown. At the early stage of the invasion, the affected cell walls were stained by Safranin deeply but in the advanced stage, they could hardly stained by the pigment and colored of itself in brown. The mycelia, invaded intercellular spaces of the coleoptile tissues, in general stopped their growth mean-while, but a few of them began their growth again under certain conditions.