

氏 名(本籍) 藤 田 佳 克

学位の種類 農 学 博 士

学位記番号 農 第 359 号

学位授与年月日 平 成 元 年 3 月 9 日

学位授与の要件 学位規則第5条第2項該当

学位論文題目 ダイズ紫斑病の生態と防除に関する研究

論文審査委員 (主 査)

教授 江原 淑夫

教授 星川 清親

助教授 羽柴 輝良

論文内容要旨

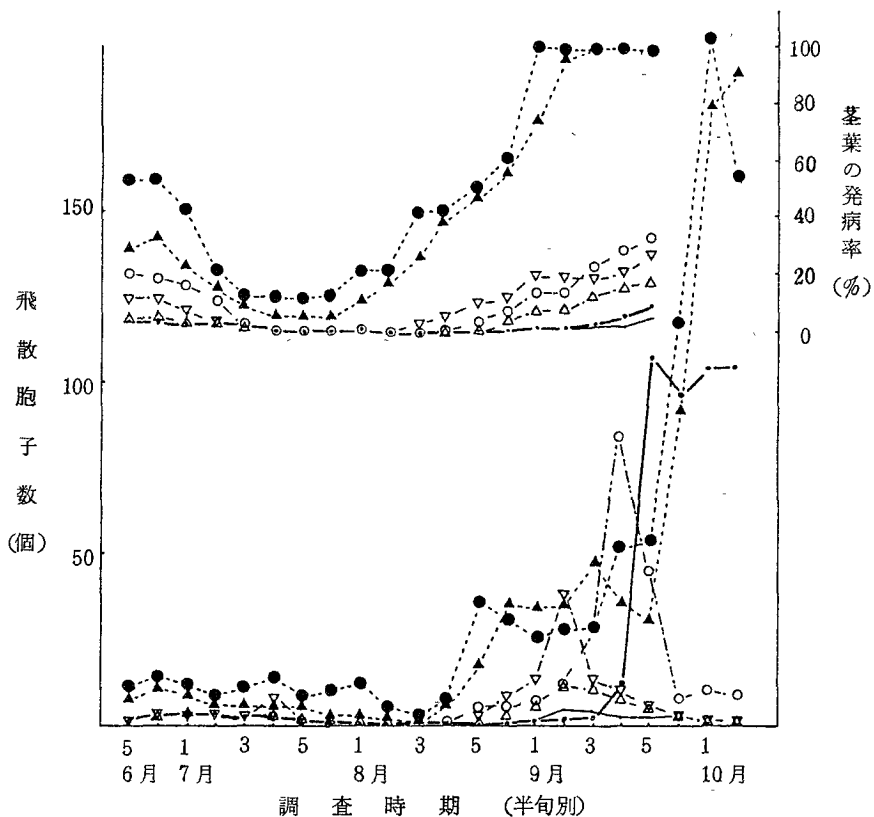
ダイズは貴重な油脂および蛋白源として古くから重要視されてきた作物であるが、水田転換畑が普及するにつれて、主要な転換作物として高く評価されるようになった。ダイズには紫斑病、黒根腐れ病およびウィルス病などが発生し、その被害には無視できないものがある。なかでも紫斑病はダイズの子実には紫斑を形成し、品質を低下させるものとして重要視されている。そこで、本菌の伝染環と侵入方法、ならびに発病条件を明らかにし、その結果に基づき本病の総合的な防除法の確立について検討した。

I. 病徴の診断法

ダイズにおける本病の病徴は、子葉および胚軸では赤褐色の雲紋状斑紋、葉および茎では赤褐色ないし紫褐色の斑点であり、莢では赤褐色の斑点、子実では紫色の斑紋であった。これらの紫斑病の病徴は、葉、茎および莢では黒点病と炭疽病の病徴に、子葉および葉では褐紋病の病徴にそれぞれ類似しており、病徴の診断においては病斑部に形成させた分生胞子を確認する必要がある。一方、本菌はツルマメの葉、茎、莢および子実、ならびにアズキおよびインゲンの葉と子実に病斑を形成した。これらの病徴はダイズにおける病徴に極めて類似しており、病斑には分生胞子形成が確認された。

II. 伝染源と発病経過

本病原菌の越冬方法を明らかにするために、ガラス温室、ガラス室、収納舎および屋外で越冬させたダイズの罹病子実および罹病植物体での菌の生存率を調べた結果、屋内で越冬させた罹病子実および罹病茎・莢での紫斑病菌の生存率が高く、これらが本病の主要な第一次伝染源であると考えられた。第一次伝染源に感染した子葉および胚軸は病斑を形成し、これらの病斑上に形成された分生胞子が初生葉および第1、2本葉の感染源となった。さらに下位葉の病斑に形成された分生胞子が上位葉、続いて莢に感染して子実の発病をひき起こし、このようにして本菌の伝染環が全うされることが明らかとなった。なお、子実の発病は、成熟期17日前の成熟始期に始まり、成熟期に至る過程で急速に増加した。また、開花6日後から50日後まで約3日ごとに莢に本菌分生胞子を接種した結果、開花12日後から37日後までの接種で発病粒率が高くなり、この期間が子実の発病に適した莢の感染適期であると考えられた。一方、茎葉の発病経過と飛散胞子数の推移はほぼ同様の傾向を示した。とくに、6月下旬の茎葉の発病程度ならびに8月中旬から9月第1半旬の茎葉の発病程度と胞子飛散数の推移は、紫斑粒の発生との相関関係が高かった(第1図)。このことから、茎葉の発病と飛散胞子数の推移を調査することによって子実の発病率を予測することが可能であると考えられた。

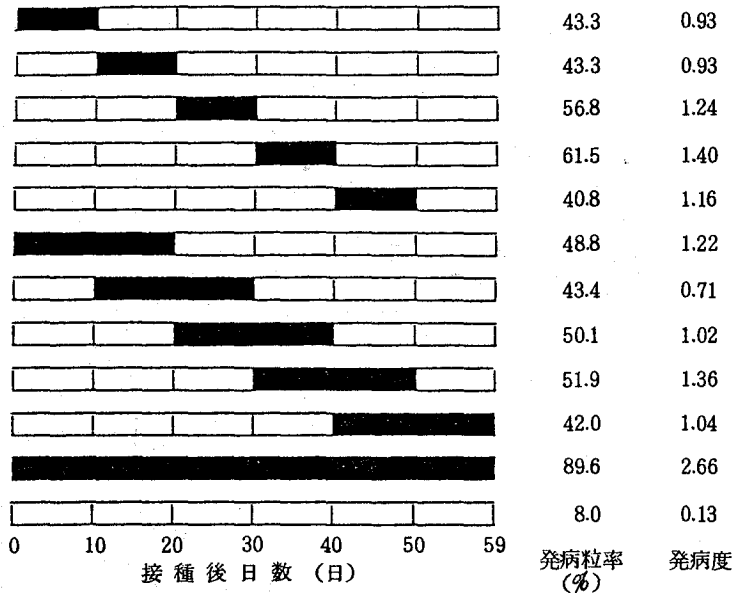


第1図 茎葉の発病および飛散胞子数の推移と発病粒率

発病粒率 約 50% (●・● 1979年, ▲・▲ 1985年)
 10 - 20% (▽・▽ 1980年, △・△ 1981年, ○・○ 1983年)
 1 - 5% (・―・ 1982年, ・―・ 1984年)

Ⅲ. 環境条件と発病

本病の発生に及ぼす環境条件の影響について検討した。葉および子実の病斑部における分生胞子形成の適温は、27℃前後であり、しかも適温範囲が狭かった。分生胞子の発芽および菌糸生育の適温は、20～30℃であった。また、葉および子実における病斑形成の適温は20℃前後であると推察された。次に、散水処理時期および回数を変えて紫斑粒の発生に及ぼす降雨の影響を調査した結果、接種後成熟期までのいずれの時期の散水によっても子実の発病率が増加した。このため、降雨は莢への菌の感染から子実への菌糸の進展までの全過程に影響を及ぼすものと考えられた(第2図)。このように気温および降雨は、子実の発病だけでなく病斑部における分生胞子形成、菌糸生育および葉と莢の発病に対しても影響を及ぼすことが判明した。圃場における紫斑粒発生率が年次により大きく変動する理由の一つは、ここにあると推察された。



第2図 発病粒率に及ぼす散水時期および期間の影響

注) 接種: 8月22日(開花22日後)
散水: 1日1回 ■: 散水, □: 無散水

IV. 病原菌の侵入方法

ダイズへの紫斑病菌の侵入行動についての観察は、葉、莢および子実で行った。葉および莢に分生胞子を接種した時の侵入方法は、発芽管が直接気孔侵入する場合と侵入肥大菌糸を形成して後気孔侵入する場合の2通り観察された。発芽管の直接侵入は、接種2日後から認められたが、侵入率は低く2%以下であった。これに対し、侵入肥大菌糸による気孔侵入は接種4~5日後に始まり、7日後頃まで認められたが、侵入率が高く、後者の方がより一般的な侵入方法であると考えられた(第1表, 第3図)。

第1表 葉における侵入肥大菌糸の形成と気孔侵入

a) 侵入肥大菌糸の形成率 ならびに気孔侵入率	接種後日数(日)						
	1	2	3	4	5	6	7
侵入肥大菌糸の形成率(%)	0	0	0.7	50.0	41.5	42.3	56.2
気孔侵入率(%)	0	1.7	0.7	6.9 ^{b)}	16.7	26.7	32.7

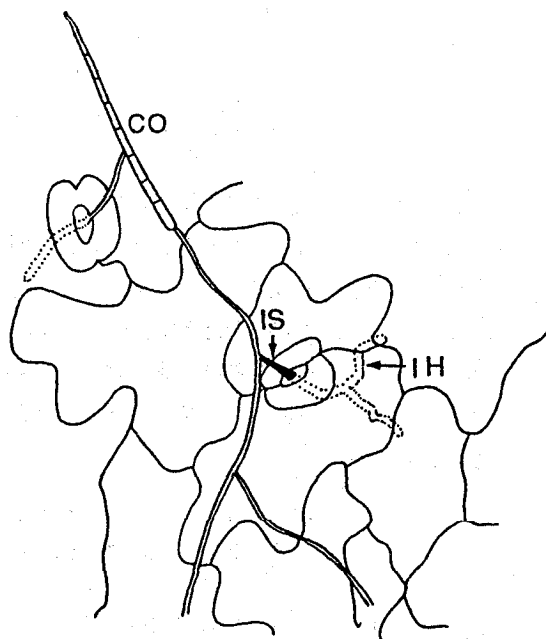
注) 葉に紫斑病菌の分生胞子を接種

- a) 気孔または孔辺細胞上を伸長する発芽管数に対する割合
b) 侵入肥大菌糸による気孔侵入の開始

葉に菌糸を接種した時の侵入方法は、菌糸が気孔へ直接侵入する場合と、表皮細胞縫合部に形成された付着器から穿入糸を出し角皮に貫穿侵入する場合の2通り観察された(第4図)。いずれの侵入方法も接種後24時間以内に認められた。

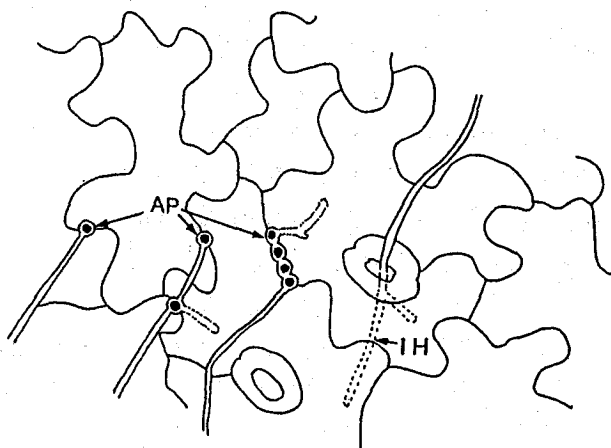
子実に菌糸を接種した時の侵入方法は、菌糸が角皮へ貫穿侵入の場合と、褐色の菌糸が種皮の表面に集合して菌糸塊を形成し角皮に貫入する場合が認められた。以上のようにダイズへの本菌の侵入方法は、葉および莢では気孔侵入の例がもっとも多かったのに対し子実では角皮侵入の例がほとんどであった。

ダイズ組織内における菌糸の進展は、葉の海绵状組織や子実のI型細胞層のような細胞間隙の多い所では旺盛で病斑部周縁組織まで及んだが、葉の柵状組織や莢の柔組織のような細胞間隙の少ない所では進展速度が遅く菌糸の進展も病斑部内に限られるなど、菌糸の進展と宿主組織の細胞間隙の有無との間に密接な関係が認められた。莢に侵入した菌糸は、莢が緑色を呈している間は外表皮から1~4層の柔組織内にとどまっていたが、莢が黄化し始める頃から進展速度が速くなり、成熟期15日前頃には内表皮へ達し子実に侵入して紫斑粒を発生させた。莢に侵入した菌糸がこの時期まで莢の内表皮へ進展できないことは、子実の発病が成熟始期まで認められない要因となっていると推察された。莢の内表皮への菌糸の進展方法は、縫合線部と莢壁部とは異なっていた。すなわち縫合線部においては、菌糸は維管束の周囲の柔組織内を進展し、内表皮へ達したのに対し、莢壁部においては厚膜組織の表層に菌糸塊を形成してのちに内表皮へ進展した。



第3図 紫斑病菌分生胞子による葉への侵入

注) CO:分生胞子, IS:侵入肥大菌糸
IH:侵入菌糸



第4図 紫斑病菌菌糸による葉への侵入

注) AP:付着器, IH:侵入菌糸
付着器の形成様式は左が末端に1個形成、中央が付着器から伸びた菌糸に形成、右が連鎖状形成を示す

V. 耕種的防除法

耕種条件としては、地下水位の高さ、水田転換後年数、栽植密度および収穫時期と乾燥方法の影響について検討した。地下水位の高さが発病に影響を及ぼすことはなかった。水田転換畑あるいは疎植区では子実の発病率が高くなる場合が認められたが、これはダイズの成熟が遅れて登熟期間が長くなり、子実への感染期間が長引いたためと考えられる。したがって、ダイズの生育を旺盛にするような栽培条件は本病の発生を助長する可能性があると思われる。また、収穫時期が遅く乾燥が不十分な場合には子実発病率の増加する傾向が認められることから、適期収穫と早期乾燥が重要である。

VI. 抵抗性品種の利用

培地における本菌の分生孢子形成法について検討した結果、P S A 培地またはダイズ粒煎汁培地で培養した紫黒色菌叢を気中菌糸を除去後5～9日間光照射し、23～30℃の暗黒条件下に1日置く方法で多くの分生孢子形成が認められた(第2表)。本菌は宿主から分離直後には高い分生孢子形成能を有するが、培養を続けるうちに分生孢子を形成しない白色菌叢が増加し、ついには分生孢子形成能を消失する。分生孢子形成能を有する菌株を得るには、分生孢子を形成する紫黒色菌叢の菌糸または分生孢子を移植する方法が有効であった。以上の方法によって形成させた分生孢子

子をダイズ植物体全体に噴霧し、その後ガラス室で成熟期まで1日1時間ずつ散水処理すると品種の抵抗性検定に適した発病条件が得られた。一方、成熟期の異なる品種の抵抗性検定においては、早期に開花した花を摘み取ることによって早生種の成熟期を遅らせ、晩生種に近づける方法が適当であると思われた。以上の方法に従って、摘花によって成熟期を調整した個体に分生孢子懸濁液を接種し、既存品種の抵抗性検定を行った結果、奥羽13号、Macoupie、花嫁、小出在来および朝白が比較的強い抵抗性を示すことが明らかとなった。しかし、これら5品種のいずれにも子実にわずかながら紫斑が認められ、免疫的な抵抗性を示すものではなかった。これに対しツルマメ子実は免疫的ともいえるほど高度な抵抗性を示した。

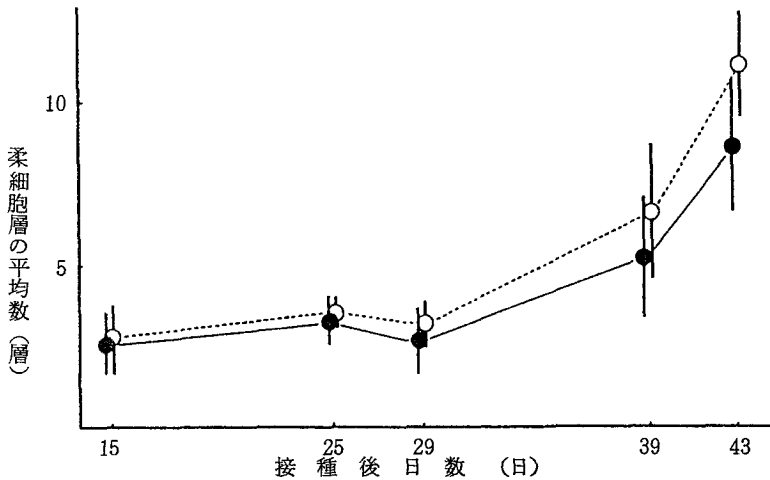
ダイズおよびツルマメの抵抗性機作について検討した。葉、莢および子実での本菌の侵入行動においては、抵抗性品種と罹病性品種との差が全く認められず、ダイズの本病抵抗性は莢組織内

第2表 分生孢子形成に及ぼす光照射日数の影響

処 理 区	暗黒処理日数 (日)	
	1	2
1日光照射後暗黒処理	16	0
2 "	80	63
3 "	696	696
5 "	913	577
7 "	1,235	756
9 "	979	616

注) 表中の数字は1cm²当たりの分生孢子数

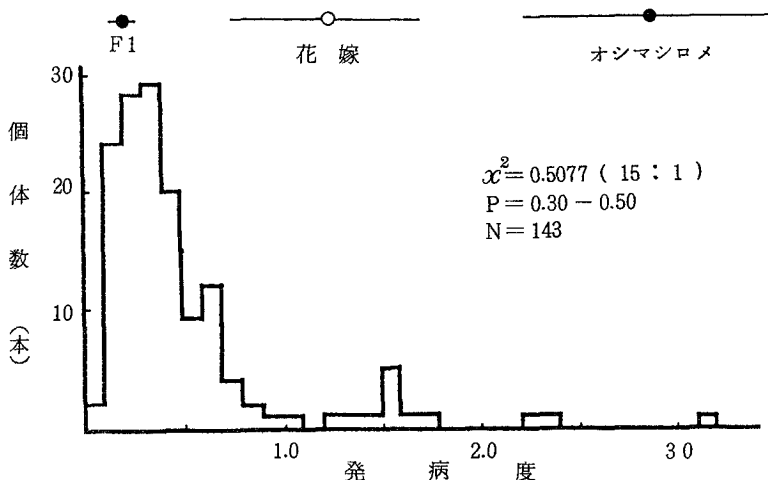
の菌糸進展抑制としてだけ発現された(第5図)。これに対し、ツルマメの抵抗性は英組織内での菌糸進展抑制と子実への菌糸侵入阻止という二つの機作に依存した。子実への菌糸侵入阻止は硬実というツルマメ特有の形質によるもので、栽培品種には導入できないが、ツルマメ英の抵抗性はダイズの抵抗性と同じ機作によるうえに、ダイズのそれよりさらに強いと考えられた。ダイズ品種オシマシロメとツルマメE-1系統との種間交雑によりツルマメの紫斑病抵抗性の遺伝子分析を行った結果、ツルマメの抵抗性は作用力の異なる二つの優勢遺伝子によって支配されていることが判明した(第6, 7図)。さらに、二つの遺伝子はいずれも高度な抵抗性を示し、かつツルマメ特有の形態的形質との連鎖が低く、高度な抵抗性品種育成の遺伝子源として有用であると考えられた。



第5図 ダイズの英組織内における菌糸の進展

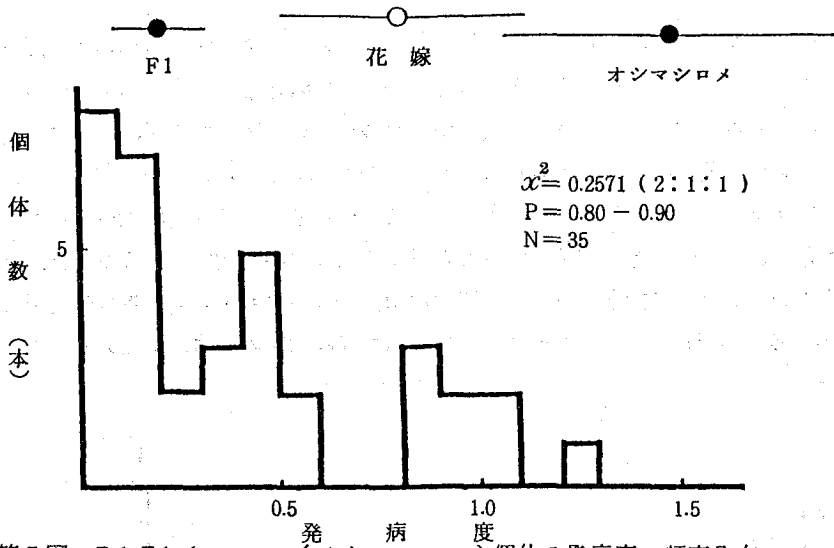
注) 成熟始期 (R 7) : 接種 36 日後, 成熟期 (R 8) : 接種 48 日後

○··○: オシマシロメ (罹病性品種), ●—●: 花嫁 (抵抗性品種), 縦線は標準偏差を示す



第6図 F2 (オシマシロメ/ツルマメ) 個体の発病度の頻度分布

注) 横線は標準偏差を示す



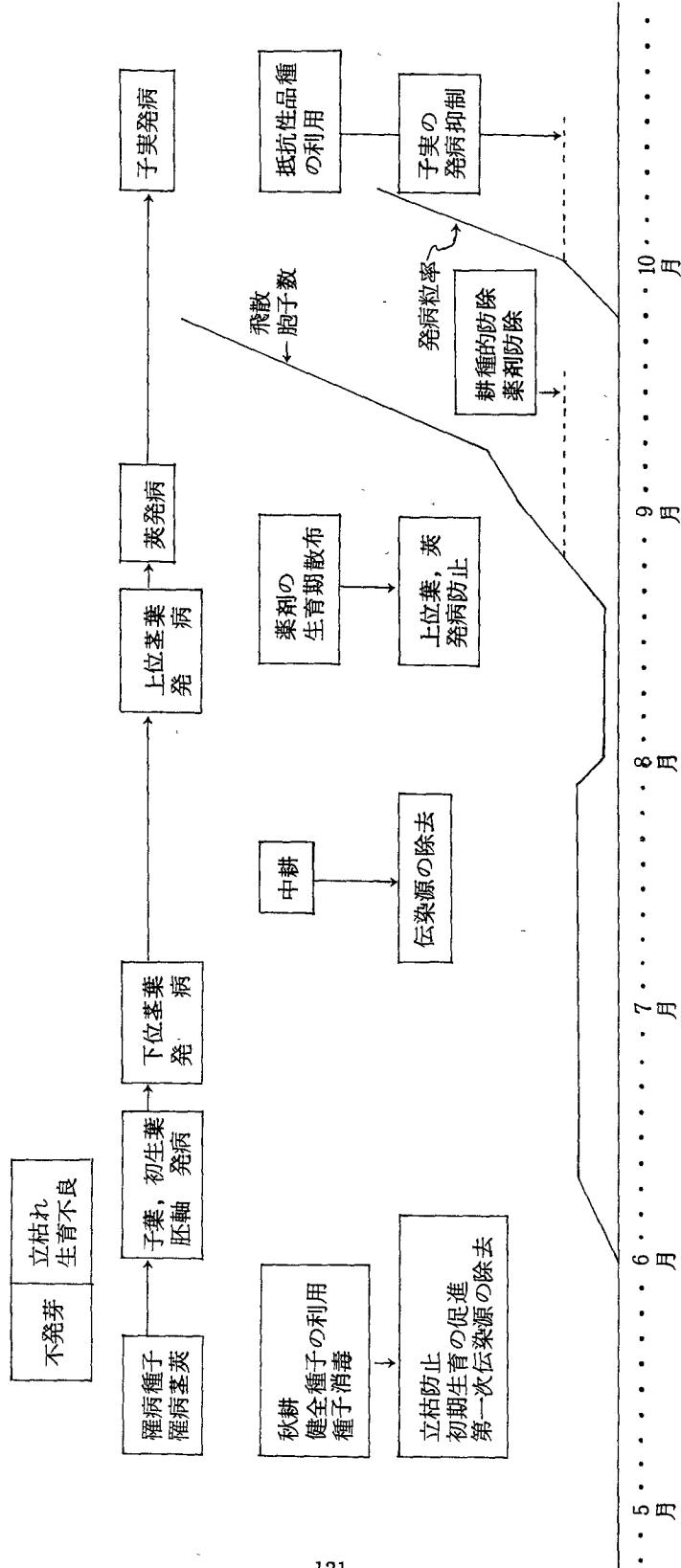
第7図 B1F1 (ツルマメ/2*オシマシロメ) 個体の発病度の頻度分布
 注) 横線は標準偏差を示す

VII. 薬剤による防除

紫斑病によるダイズの被害は発芽率の低下や立ち枯れなどの生育初期の障害と、紫斑粒の発生に伴う品質低下が主である。生育初期の障害に対しては種子消毒が高い防除効果を示したが、紫斑粒の発生に対する種子消毒の効果は必ずしも高くなかった。紫斑粒の発生を抑えるためには薬剤の茎葉散布がもっとも効果的であった。防除効果の高い薬剤はチオファネートメチル剤およびボルドウ液であり、各薬剤の散布適期は、開花21~42日後および開花14~28日後であった。一方、紫斑粒の発生は、8月中旬から9月第1半旬の飛散胞子数と茎葉の発病程度によって予測できることから、防除適期内の9月第1半旬までに防除要否を診断し、過剰防除をさけることができると思われる。

VIII. まとめ

紫斑病菌の伝染環の解明とダイズ組織への侵入行動の観察から、紫斑粒の発生は8月中旬から9月第1半旬に莢に感染した菌糸が莢の内表皮に進展し、子実へ侵入することによって引き起こされることが判明した。したがって、本病防除においては、この期間の莢の感染を防ぐとともに莢の病斑拡大と子実への菌糸の進展を抑制することが重要である。莢の感染を防ぐためには耕種的方法または防除剤の利用が有効である。莢の病斑拡大を抑制するためには抵抗性品種の利用が有効であり(第8図)、ダイズおよびツルマメの紫斑病抵抗性の機作ならびにツルマメの抵抗性遺伝子の有用性を明らかにしたことは、これまで困難とされていた高度抵抗性品種の育成に大きな手掛かりになると思われる。



第8図 発病経過および飛散胞子数の推移と防除

審査結果の要旨

ダイズ紫斑病はダイズの葉、茎および莢などの組織に褐斑を生じ、特に子実にて紫斑を形成し、品質低下をもたらす問題となる。本研究は本病菌 (*Cerospora Kikuchi Gardner*) の伝染環とダイズ組織への侵入方法ならびに発病条件を明らかにし、本病の総合的な防除法の確立について検討した。本病の病原は病斑部に形成される分生胞子により識別出来る。屋内で越年した罹病子実および罹病茎・莢での本菌の生存率は高く、これらが主要な第一次伝染源となる。茎・葉の発病程度と胞子飛散の推移は、紫斑粒の発生と相関が高く、このことより発病予測が可能である。本病の発病には組織に関係なく気温および降雨が大きな要因となり、年次変動はこれによって決定される。本菌は胞子発芽による発芽管が直接気孔侵入する場合と、侵入肥大菌糸を形成した後、気孔侵入する場合がある。後者での侵入率は高く、一般的侵入法と考えられる。菌糸侵入は直接気孔からの場合と、細胞縫合部に付着器を形成し、穿入糸による侵入がある。子実への菌糸の侵入は、菌糸が角皮へ貫穿侵入する場合と、菌糸塊を形成し、角皮貫入する場合がある。さらに組織、器官別に菌糸侵入伸長の差異を明らかにした。ダイズ種子の本病抵抗性は莢組織内の菌糸進展抑制としてだけ発現するが、ツルマメの場合は莢組織内での菌糸進展抑制と子実への侵入阻止の二段階を経る。ツルマメ莢の抵抗性はダイズ莢の抵抗性と同じ機作によるが、ダイズのそれよりも強く、ツルマメの食用としての劣悪形質との関連の低い優性遺伝子に支配され、この遺伝子のダイズ導入によって本病高度抵抗性品種が可能であることを示唆した。

以上のように、本論文提出者は、ダイズ紫斑病の感染から発病に至る過程を明らかにし、この結果をもとにツルマメの抵抗性遺伝子とその導入を試みた。本研究結果は、ダイズ紫斑病防除に大きく貢献した。よって審査員一同は、著者は農学博士の学位を授与されるに値すると判定した。