

## 緒 言

イネ葉鞘褐変病は *Pseudomonas* 属菌によって葉鞘、穂が黒褐色を呈する細菌病であり、1918年から北海道に発生していたとされる（舟山，平野，1962）。これまで本病は年によって発生が著しく異なり、数年おきに突発的に大発生し、多大な被害をもたらしていた。近年本病は年々増加する傾向にあって、1976年には北海道全域のみでなく、東北・北陸地方でも発生し被害をおこした。

本病に侵されたイネは玄米重が著しく減少するとともに茶米が多くなるため、量的、質的被害が大きい。そのため良質米の生産上大きな障害の一つとされ、本病防除対策の早急な確立が強く要望されてきた。

本病の激発は過去に数回記録されているが、1964年、1965年の発生は特に激しく、北海道全域で甚しい被害を見た。このため北海道立中央農業試験場、北海道立上川農業試験場で本病の発生生態の解明と防除法確立に関する研究が開始された。筆者は1966年から1978年まで北海道立上川農業試験場で本病の発生生態と防除法確立に関する研究を担当した。

本論文は本病の総合的防除技術を確立するため、病原細菌の同定ならびに生態、発病環境および実用的防除方法について検討した結果をとりまとめたものである。

本研究を遂行するにあたり、元北海道立中央農業試験場病虫部長（現中央農業試験場長）馬場徹代博士には本研究課題を与えられ、また終始懇切な御指導を賜った。また元上川農業試験場長（現北海道拓殖短期大学教授）島崎佳郎博士、前同病虫予察科長井上 寿氏には有益な御指導、御援助と暖かい御鞭撻をいただいた。また前中央農業試験場病虫部長（現道南農業試験場長）高桑 亮博士、同病理科長赤井 純博士、前農林水産省農業技術

研究所系状菌第三研究室長（現日本植物防疫協会研究所）荒木隆男博士、前山形大学農学部教授高橋喜夫博士には有益な御助言と御鞭撻を賜り、北見農業試験場病虫予察科長齊藤 泉博士には本文のとりまとめについて御指導と御鞭撻をいただいた。Culture Collection of Plant Diseases Division D. W. Dye 博士には英文の校閲を賜った。上川農業試験場病虫予察科長土屋貞夫氏、前北見農業試験場病虫予察科長（現十勝農業試験場）坪本和男氏、山形大学農学部教授後藤岩三郎博士には常に御鞭撻をいただいた。中央農業試験場玉田哲男博士には電子顕微鏡観察について御援助をいただいた。また静岡大学農学部教授後藤正夫博士には病原細菌の分類学的研究について御指導と御援助をいただき、九州大学農学部教授脇本 哲博士、農林水産省農業技術研究所西山幸司博士、同蚕糸試験場佐藤 守博士、岡山たばこ試験場小野邦明博士、東北大学農学研究科菊本敏雄博士、十勝農業試験場谷井昭夫博士および Research Institute of Plant Protection Klement, Z. 博士には菌株を分譲いただいた。

また、前中央農業試験場秋田忠彦氏、十勝農業試験場谷井昭夫博士、前上川農業試験場舟山広治氏、前同兎玉不二雄博士（現中央農業試験場）、前同柴田和博水稲育種科長（現農林水産省中国農業試験場稲第1研究室長）、前同碓トシエ氏、同坂部静江氏、同高須やす子氏には研究遂行上種々御協力と御援助をいただいた。薬剤防除試験の一部については上川、空知、留萌地区各農業改良普及所の方々の絶大な御協力をいただいた。

以上の各位に衷心から感謝の意を表するとともに、本論文の校閲の労をとられた北海道大学農学部教授宇井格生博士、同四方英四郎博士、同岡沢養三博士に対し深甚なる謝意を表する次第である。

## I 研 究 史

葉鞘褐変病は、はじめ栗林(1926)により籾黒変病とされ、北海道空知、上川、北見、十勝地方でイネの穂孕期から出穂期の間に発生し、葉鞘、穂が黒褐色となる病害で冷害年に常に多発する傾向があるとし、その発生沿革および分布、病徴などが報告された。病原菌の分離および発病条件も研究されたが、分離菌株はいずれも病原性が認められなかった。これらから伊藤(1932)により本病は低温によって発生する生理的病害であるとされ、稲穂褐変病と命名された。

その後しばらく本病に関する研究は見られなかったが、舟山、平野(1962)は上川地方における本病を研究し、葉鞘褐変症と呼び *Pseudomonas* 属菌による細菌病とした。次いで翌年病原は、ハンガリーで発生する「bruzone」病の病原として Klement(1955)によって命名された *P. oryzae* と同じであるとした(舟山、平野、1963)。この細菌は、胡、白金(1960)によれば中国地方、また Cother(1974)によればオーストラリアでそれぞれ「細菌性褐斑病」および「bacterial glumae blotch」の病原細菌とされているものである。

Goto(1965)は舟山らの葉鞘褐変症の病原細菌が *P. marginalis* の近縁種であることを指摘し、舟山(1966)は寄生性などから本細菌を *P. margi-*

*nails* と同定し、病名を「イネ葉鞘褐変病」、英名を「sheath brown rot」とした。

北海道以外では、古宇田(1935)は青森県で冷害年にイネに発生する黒変現象を観察し、濃褐色～黒褐色になった穎を「黒稈」と呼び、低温あるいは病原菌の関与する可能性を示唆した。また岩手県でも富樫、川村(1942)は同じ様なイネの黒変症の発生を認めている。これらもその症状から葉鞘褐変病と推定されるが明らかでなく、またその後しばらく大発生した記録は見当たらない。

北日本が異常低温に見舞われた1976年には北海道のほか東北、北陸地方でもこの症状が広く認められ、青森、山形(宮島ら、1977)、および岩手県(諏訪、渡辺、1978)では葉鞘褐変病菌によるものであることが確かめられた。これらから本病は冷害を受けやすい北日本に広く分布し、しかもかなり古くから発生していたと考えられる。

このほか本病の発生実態および被害調査などが行われているが(舟山ら、1966; 秋田、沢崎、1973; 千葉ら、1977; 田中ら、1977; 渡辺ら、1977)、いずれも発生状況、分布などの調査であり、病原菌の生態と発生生態および防除法についての研究は殆ど行われていなかった。

## II 発生実態と被害

### 1. 病 徴

本病の病徴は移植後の苗に発生する立枯性の苗腐敗と、穂孕期から穂揃期に現われる止葉葉鞘および穂の褐変腐敗に大別される。

苗腐敗：地際または水際部の葉鞘に初め暗緑色水浸状の微細な斑点が現われ、のち病斑は伸長拡大、ゆがみ黒褐色～灰褐色の幅広い条斑になる。病斑の周縁部は暗緑色水浸状を呈し、健全部との境界は明瞭である（Plate I, 1, 2）。

葉身では葉鞘の葉節部から進展した水浸状暗緑色条斑が葉縁または中肋部に沿ってのび、のち幅広い条斑となる。その後、葉身は萎凋し、軟化腐敗して容易に引き抜けるようになり、著しい悪臭がある。発病は隣接する数株にも見られ、1株のうち1～2茎のみ発病することもあるが、ときには全茎が枯死する例もある。

穂、止葉葉鞘の褐変、腐敗：止葉葉鞘に初め暗緑色水浸状で周縁部の不明瞭な斑紋が現われ

（Plate I, 3）、のち褐色の斑紋になり（Plate V, 4）、また濃褐色～灰褐色の大きな斑紋になることもある（Plate II, 1）。次葉葉鞘では止葉葉鞘の節を被う部分あるいは葉節下部に褐色斑紋、また葉鞘周辺部に褐色条斑が現われることもある。

葉身ではまれに葉鞘の病斑が進展して葉節部に達すると中肋部または葉縁部に周縁部が不明瞭な暗緑色の条斑が現われ、のち褐変し先端部まで伸展する。病葉は昼間内側に巻き、夕方回復するが後に枯死するに至る（Plate II, 1）。

稈の内・外穎に現われる病斑は初め褐色水浸状、周縁部が不明瞭な斑紋で、のち黒褐色～灰褐色になり、ときに内・外穎全面に拡がることがある（Plate II, 2）。罹病稈の玄米には褐色の斑紋が現われ、甚しいものは全体が褐変し茶米となる。また、胚乳の成熟が遅れて不完全米や奇形米になるものもある。

「出すくみ穂」はみごの下部組織が褐変壊死するため（Plate II, 3）、みごの伸長は阻害され、穂が抽出しないものである。また、まれに枝梗の一部が数cmにわたり黒褐色を呈することがある。

### 2. 発生分布

苗の発病：1976～'80年の5年間にわたり6、7月に行った調査によると、調査した10市町村すべてに発生が見られた。鷹栖町、上富良野町、音更町では補植せざるを得ないほどの激発田もあった。

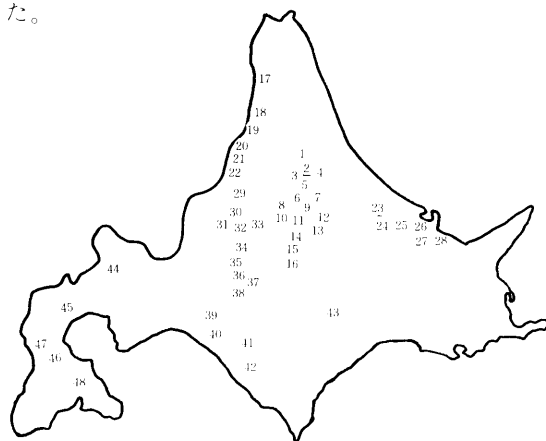


Fig. 1 Distribution of bacterial sheath brown rot of rice plants in Hokkaido prefecture.(1966-1980)

1; Bifuka, 2; Nayoro, 3; Fuuren, 4; Shimokawa  
5; Shibetu, 6; Wassamu, 7; Aibetu, 8; Pippu,  
9; Tooma, 10; Takasu, 11; Asahikawa,  
12; Higashikawa, 13; Biei, 14; Kamifurano,  
15; Furano, 16; Minamifurano, 17; Enbetu,  
18; Shosanbetu, 19; Haboro, 20; Tomamae,  
21; Obira, 22; Rumoi, 23; Engaru, 24; Kunneppu,  
25; Kitami, 26; Tanno, 27; Bihoro, 28; Memanbetu,  
29; Numata, 30; Chippubetu, 31; Uryu, 32; Moseushi,  
33; Fukagawa, 34; Bibai, 35; Iwamizawa,  
36; Kurisawa, 37; Kuriyama, 38; Naganuma,  
39; Azuma, 40; Mukawa, 41; Biratori, 42; Monbetu  
43; Otofuke, 44; Kuchan, 45; Oshamanbe,  
46; Imagane, 47; Kitahiyama, 48; Oono

穂孕期以後の発病：北海道における主なイネ栽培地帯のなかの48市町村について1966～'80年の15年間にわたり8、9月に行った調査結果によると、すべての市町村に発生が認められた(Fig. 1)。

これら市町村のうち激発田は1966年に旭川市、北檜山町、平取町、1975年に羽幌町、名寄市、秩父別町、女満別町、1976年に美瑛町、長万部町、今金町で見られた。沼田町、秩父別町などの北空知地方また名寄市、士別市などのイネ北限地方では旭川市に比べて多発する年が多かった。

### 3. 被害

イネ葉鞘褐変病が多発し、著しい減収をもたらすのは一般に冷害年であり、そのため気象災害による被害も加わる。そのため、本病のみによる減収量や収量決定要素に及ぼす影響は不明である。これらを明らかにするため、圃場の自然感染イネについて発病度と被害、また異なる生育期のイネに接種し気温と発病および被害の関係を調査した。

#### 1) 自然感染イネの被害

発病度の異なる茎および株について不稔歩合および玄米重を調査し、被害を検討した。

##### a) 実験材料および方法

供試イネ：成熟期に100株を刈取り、茎単位の被害はTable 1-(1)の調査基準により、1茎ごとの発病度指数を判定し、それぞれの穂の収量を調査した。

株単位の被害はTable 1-(2)の調査基準の指数を示す株を10株ずつ採取し、それぞれの収量を調査した。

収量調査：常法により不稔歩合、籾重、玄米重および屑米重を調査した。

##### b) 実験結果

本病の発生と被害の関係をみると、茎の発病度が高いほど不稔歩合が増え、1穂当りの玄米重が減少した(Table 2)。

株の発病度と不稔歩合および玄米重との関係で

**Table 1.** Assessment of plant disease severity  
(1) Disease severity of the stem

Grade	Infection category
0	No symptoms
1	Neck node of the ear emerges from the auricle of the affected flag leaf sheath
2	2/3 of ear length emerge from the auricle of affected sheath
3	Half of ear length emerges from the auricle affected sheath
4	Ear tip is below the auricle of affected sheath

$$\text{Disease severity} = \left[ \frac{\sum(\text{Value of grade} \times \text{number of stems in each grade})}{4 \times \text{total number of stems}} \right] \times 100$$

#### (2) Disease severity of the hill

Grade	Infection category
0	No symptoms
1	Affected ear present on one or two of a hill
2	Affected ear present on less than 25 % of a hill
3	Affected ear present on 25 to less than 50 % of a hill
4	Affected ear present on 50 % or more of a hill

Affected ear means that diseased unhulled rice present on more than 50 % of an ear.

$$\text{Disease severity} = \left[ \frac{\sum(\text{Value of grade} \times \text{number of hills in each grade})}{4 \times \text{total number of hills}} \right] \times 100$$

#### (3) Disease severity of the ear and the stem

Item	Infection category								
Grade	0	1	5	5	7	15	25	40	75
Sheath	0	B	O	G	B	G	O	B	G
Ear	0	O	B	O	B	B	G	G	G

O: no symptoms, B: brown, G: greyish brown  
Disease severity = (Value of grade × number of stems in each grade) / Total number of stems

## (4) Disease severity of the flag leaf sheath

Grade	Infection category
0	No symptoms
1	Water-soaked, dark green
2	Yellow brown
3	Brown
4	Greyish brown

$$\text{Disease severity} = \left[ \frac{\sum(\text{Value of grade} \times \text{number of sheaths in each grade})}{4 \times \text{total number of sheaths}} \right] \times 100$$

**Table 2.** Relationship of disease severity of stem, sterility and yields<sup>a)</sup> (1966)

Diseased severity <sup>b)</sup>	No. of stem tested	No. of unhulled rice per ear	Sterility	Weight of unhulled rice per ear	Weight of hulled rice per ear	Ratio of weight of hulled rice per ear
100	18	58.0	97.6%	0.01 g	0.01 g	1.2
75	36	62.7	76.4	0.36	0.27	32.1
50	98	72.6	57.9	0.56	0.41	48.9
25	1,018	68.1	26.5	0.96	0.75	89.3
0	77	65.0	20.6	1.11	0.84	100

a; Diseased rice variety Norin 33 in the paddy field

b; Based on assessment of Table 1-(1) category

**Table 3.** Relationship of disease severity of hill, sterility and yields<sup>a)</sup> (1976)

Variety	Disease severity <sup>b)</sup>	No. of unhulled rice per hill	Sterility	Weight of hulled rice per hill	Weight of hulled rice per hask	Percentage of loss
Ishikari (Shibetu)	100	1,313	38.6%	10.9 g	8.3mg	21.7%
	75	1,273	36.2	10.9	8.6	19.3
	50	1,225	33.6	12.1	9.9	6.9
	25	1,284	25.1	14.5	11.3	—
	0	1,197	22.9	12.7	10.6	0
Onnemochi (Nayoro)	100	1,713	64.4	7.6	4.4	58.1
	75	1,801	55.8	10.3	5.7	45.9
	50	1,607	43.2	13.3	8.3	21.8
	25	1,257	25.5	13.3	10.6	0

a; Diseased rice plants under paddy field conditions

b; Based on the assessment of Table 1-(2) category

も同様の傾向が認められ、発病度25では殆ど被害はないが、発病度50では7~22%の減収になった (Table 3)。

## 2) 人工接種したイネの被害

穂孕期以降のイネに接種し、感染時期と被害の関係を検討した。また穂孕期のイネについて接種時の気温と被害の関係も調査した。

## a) 実験材料および方法

供試イネ：感染時期と被害に関する実験はコンクリート畦水田で育てたイネの穂孕期、出穂期、

穂揃期に接種し、成熟期に発病度と収量の調査を行った。

感染時の気温と被害の関係に関する実験は1/5,000 a ポットに12本植えしてガラス室内で育てたイネの穂孕期に接種した。施肥は要素量で窒素、燐酸、加里を各 1.0 g とし、以下特記する以外は同じである。

供試細菌および接種方法：6701 または6801 株を用い、普通寒天培地で28℃24時間培養した菌を殺菌水にけん濁し、約 $10^8$ /mlの浮游液を接種源とした。穂孕期のイネには止葉葉鞘内に注入接種、また出穂始期、出穂期および穂揃期のイネに対して

は抽出している穂には噴霧接種と止葉葉鞘に注入接種を併用し、未抽出穂には止葉葉鞘内に注入接種した。対照として細菌浮游液の代りに殺菌水を用い同様の処理を行った。

接種時の気温：穂孕期に接種したイネを直ちに昼間（9～17時）20℃または26℃、夜間（17～9時）14℃または20℃の昼夜変温の下に5日間保った。その後ガラス室に移し、成熟期に発病度と不稔歩合を調査した。

### b) 実験結果

感染時期と被害：穂孕期から穂揃期の間接種

Table 4. Relationship of infection time, yield and quality (1967)

Variety	Item	Booting stage		First heading stage		Middle heading stage		Full heading stage		
		A <sup>a)</sup>	B	A	B	A	B	A	B	
Shiokari	Disease severity <sup>b)</sup>	62.5	0	0	0	0	0	0	0	
	No. of hulled rice per ear	79.5	79.9	81.0	78.8	78.9	79.6	79.2	80.6	
	Sterility (%)	53.5	4.6	4.2	3.6	3.7	3.8	3.7	3.7	
	Weight of hulled rice per ear (g)	0.8	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	
	1,000-grain weight of hulled rice (g)	19.7	20.7	20.9	21.1	20.7	21.1	21.0	21.2	
	Perfect rice (%)	66.2	88.9	85.3	88.3	88.7	87.6	88.0	88.1	
	Green-kernel rice (%)	14.6	10.8	9.6	8.6	8.6	9.5	9.1	9.0	
	Rusty rice (%)	12.6	2.1	2.4	2.7	2.6	2.3	2.2	2.5	
	Malformed rice (%)	6.3	0.2	0.2	0.3	0.2	0.5	0.4	0.2	
	Rice screenings <sup>c)</sup>	(%)	21.3	7.5	8.6	7.7	7.5	7.5	7.5	7.5
	Eiko	Disease severity	49.7	0	3.2	3.7	8.8	0	10.3	11.2
		No. of hulled rice per ear	99.4	95.3	98.4	97.7	95.4	93.5	97.5	98.7
Sterility (%)		16.3	6.1	5.4	5.6	5.7	6.2	5.6	5.5	
Weight of hulled rice per ear (g)		0.9	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	
1,000-grain weight of hulled rice (g)		21.4	22.0	22.0	22.0	22.0	22.0	22.0	22.0	
Perfect rice (%)		71.7	89.8	88.0	87.9	88.1	88.2	87.9	87.8	
Green-kernel rice (%)		12.9	5.7	5.8	6.1	5.8	5.6	5.6	6.2	
Rusty rice (%)		7.7	3.8	3.7	3.8	3.7	3.7	3.8	3.8	
Malformed rice (%)		7.3	0.3	0.4	0.4	0.4	0.3	0.4	0.5	
Rice screenings		(%)	17.3	12.2	12.4	12.2	12.4	12.0	11.8	13.0

a; A: Inoculated rice plants, B: Non-inoculated rice plants,

b; Based on assessment of Table 1-(1) category

c; Ratio of number of rice screenings to that of hulled rice

したとき、発病は穂孕期に接種したイネに多く、出穂始期、出穂期、穂揃期のイネでは少なかった (Table 4)。

また、発病と収量および品質の関係をみると、穂孕期に接種したイネは不稔歩合、茶米数、奇形米数および屑米数が多く、玄米重は少なかった。しかし他の時期に接種しても対照のイネと大差な

かった。

感染時の気温と被害：接種時の気温と被害の関係を見ると、昼間20℃に保ったイネは26℃に保ったイネよりも発病度および不稔歩合が高く、特に夜間14℃に保ったとき発病、被害ともに増加した (Table 5)。

Table 5. Effect of temperature at infection time on yield loss<sup>a)</sup>

Item	Temperature at inoculation time (°C)							
	20-14 <sup>b)</sup>		20-20		26-14		26-20	
	A <sup>c)</sup>	B	A	B	A	B	A	B
Disease severity <sup>d)</sup>	32.3	1.7	27.5	3.7	9.1	1.3	6.4	3.6
No. of unhulled rice per ear	65.0	60.5	54.2	54.6	62.3	63.9	58.2	47.0
Sterility percentage (%)	49.0	31.9	46.7	25.9	33.2	20.2	17.6	16.4

a; Inoculated rice plants at booting stage were kept in each controlled chamber for five days and moved to greenhouse

b; Day temperature eight hours — night temperature 16 hours

c; A: Inoculated rice plants, B: Non-inoculated rice plants

d; Based on assessment of Table 1-(3) category

接種イネの不稔歩合は対照のイネよりも高いが、昼間気温20℃のときは26℃の場合よりも50~80%も増加することが認められた。

以上の結果から、出穂期および穂揃期よりも穂孕期に感染した方が被害は最も大きく、更に穂孕期の気温が低いとき、特に昼間が20℃のときは発病度、不稔歩合ともに高くなり、著しい減収が見られた。

#### 4. 小 括

葉鞘褐変病は北海道において古くから発生し、最近では1966, '69, '70, '75, '76, '80年に多発し、冷害年に多い傾向が見られる。

本病は北海道内の48市町村で認められるので、広範な地域にわたって分布していると考えられる。また、北海道の他に東北地方でも海岸冷涼地帯お

よび山間高冷地で多発の傾向があるとされている (千葉ら, 1977; 田中ら, 1977; 渡辺ら, 1977)。

本病による主な被害は不稔歩合と茶米数の増加によるものであり、発病度が高いほど減収することが認められた。

接種時期と被害の関係から、穂孕期に感染したイネは不稔および茶米歩合が高まり、著しい減収をきたすと考えられた。しかし出穂始期以降に感染した場合被害は殆ど認められなかった。

気温と被害の関係を見ると、穂孕期が低温のとき感染したイネは対照のイネよりも不稔歩合が50~80%増加した。このことは、不稔実粒は減数分裂期から出穂期の低温により生ずるほかに、本病に罹病すると更に増加することを示している。

これらから、穂孕期のイネの低温下における感染により収量および品質は著しい低下をきたし、甚大な被害を与えるものであると認められる。

### III 病原細菌

葉鞘褐変病菌は *Pseudomonas oryzaicola* あるいは *P. marginalis* の近縁種であるとされたが (舟山, 平野, 1963; Goto, 1965), その後 *P. marginalis* と同定された (舟山, 1966)。

しかし, *P. oryzaicola* については細菌学的性質の記載が不十分であるため, 本細菌との異同を明らかにすることが困難である。そこで, 北海道, 東北地方から集取した本細菌の多くの菌株と, ハンガリーの Klement, Z. から分譲を受けた *P. oryzaicola* との細菌学的性質, 血清学的性質および寄生性を再検討し, その種名について検討した。また, 本細菌のファージを分離し, その諸性質についても検討した。

#### 1. 病原細菌の分類, 同定

##### 1) 細菌学的性質

##### a) 実験材料および方法

供試細菌: 北海道および東北地方で採取した罹病イネの種籾, 腐敗苗および止葉葉鞘から, 普通寒天培地を用い, 画線培養法あるいは希釈平板法によって細菌を分離した。そのうちイネに寄生性を認めた66菌株を供試細菌とし (Table 6), 普通寒天培地に保存した。なお, 対照細菌としてハンガリーのResearch Institute of Plant Protection から分譲された *P. oryzaicola* A 309 (NCPPB 1417, = PDDCC 3877) および *P. syringae* pv.

Table 6. Source of bacterial isolates tested

Isolate no.	Isolated from;	Locality	Date of isolation
Sheath brown rot pathogen			
6801, 6814 <sup>a</sup>	Diseased flag leaf sheath	Hokkaido Asahikawa	July, 1968
7101 <sup>a</sup> , 7102 <sup>a</sup>	do	do	July, 1971
7103 <sup>a</sup> , 7104 <sup>a</sup>	do	do	Aug. 1971
7105 <sup>a</sup> , 7106 <sup>a</sup>	do	Biei	Aug. 1971
7107 <sup>a</sup> , 7108 <sup>a</sup>	do	Pippu	Aug. 1971
7109 <sup>a</sup> , 7110 <sup>a</sup> , 7111 <sup>a</sup>	do	Otofuke	Aug. 1971
7201 <sup>a</sup> , 7202 <sup>a</sup>	do	Asahikawa	Aug. 1972
7301 <sup>a</sup> , 7302 <sup>a</sup> , 7303 <sup>a</sup> , 7304 <sup>a</sup> , 7305 <sup>a</sup>	do	do	Aug. 1973
7601, 7605, 7607, 7608, 7610	do	do	July, 1976
7611	do	Shibetu	Aug. 1976
7612 <sup>a</sup>	do	Otofuke	Aug. 1976
7654, 7655	do	Imagane	Sept. 1976
AK14, AK15, AK21, AK31, AK32	do	Aomori Kuroishi	Sept. 1976
251, 421, 422, 451, 452, 453	do	Yamagata Nishikawa	Sept. 1976
7613, 7614	Diseased seedling	Hokkaido Asahikawa	June, 1976
7615, 7616	do	Takasu	June, 1976
7617, 7618, 7619, 7620, 7621	do	Kamifurano	June, 1976
7622 <sup>a</sup> , 7623 <sup>a</sup>	do	Azuma	June, 1976
7633, 7635, 7638, 7642	do	Otofuke	June, 1976
7651 <sup>a</sup> , 7652 <sup>a</sup> , 7653 <sup>a</sup>	Healthy seedling	Iwamizawa	June, 1976
101, 102, 104, 125, 1651, 1653, 1655, 2492,	Diseased unfulled rice	Asahikawa	May, 1976
<i>Pseudomonas oryzaicola</i> A309 <sup>a</sup>	Diseased flag leaf sheath	Hungary	1956
<i>P. syringae</i> pv. <i>syringae</i> 96 <sup>a</sup>	Diseased apricot	Yugoslavia	1970

a; Not used in study of bacteriophage



*syringae* 96 (輸入許可：農林水産省指令横植第673号)を供試した。

細菌学的性質：試験方法は下記のとおりで、ゼラチン液化(20℃)、発育温度およびタバコ過敏反応試験(26-29℃)以外は28℃で所定期間培養した。

鞭毛染色は西沢・菅原(1966)、硝酸呼吸はKomagataら(1965)の方法によった。レバン産生はLelliottら(1966)、5%サッカロース加用ペプトン水培養はCrosse and Garrett(1963)、ポリペクテートゲル(pH 8.5)の液化はHildebrand(1971)の方法によった。アルギニンジヒドロラーゼ活性はThornley(1960)、マーガリンの加水分解はLelliottら(1966)、ツイーン80の加水分解はMisaghi and Grogan(1969)の方法によった。

単一炭素源としての炭水化物の利用は、寒天を1.5%、ブロムチモールブルーを0.3%の割合に加えたAyersらの合成培地(Soc. Am. Bacteriol. 1957)を用い、糖類は1%、有機酸塩は0.2%とし21日目まで調べた。

タバコ過敏反応はKlement(1963)、ジャガイモの軟腐試験はLelliottら(1966)の方法によった。運動性はO-F試験とアルギニンジヒドロラーゼ活性試験における発育形態によって判定した。

発育温度は、ペプトン水を分注した小試験管に希薄細菌液を接種し、所定温度(±0.5℃)の恒温水槽中で培養し、1~2日後に発育細菌による混濁の有無または希釈平板法により調べた。

その他の試験はManual of Microbiological Methods(Soc. Am. Bacteriol. 1957)およびManual for the Identification of Medical Bacteria(Cowan and Steel, 1970)に従った。

試験培地への移植は普通寒天培地で24時間培養した細菌のけん濁液( $10^8-10^{10}$ /ml)を白金線または白金耳を用いて行った。

## b) 実験結果

供試66菌株と対照細菌2菌株は普通寒天培地上でよく発育した。24時間培養した細菌は短桿状、

大きさ0.5~0.8×1.0~3.0 $\mu$ m、1~4本の単極性鞭毛をもち(Plate II, 4)、運動性であった。

本細菌は普通寒天培地で培養すると、5日後の菌苔は平滑、全円、中高、半透明、牛酪質で褐色を帯びるが、対照細菌は乳白色であった。ブイヨン水、ペプトン水中で発育したが、5%塩化ナトリウム加用ペプトン水中では発育しなかった。

最適発育温度は26~28℃であるが、14℃および20℃でも48時間後に菌量 $10^{7-8}$ /mlに達し、旺盛な増殖を示した。37℃では発育せず、55℃10分間で死滅した。

クエン酸、コハク酸、尿酸、酢酸、マロン酸を利用したが、馬尿酸、L-酒石酸は利用しなかった。発育素は要求せず、またいずれの供試培地からもガスは産生しなかった。その他の性質はTable 7-1、7-2に示すように多数が一致した。

しかし菌株間に若干性質の異なるものもあり、ラムノースの利用は66菌株のうち22菌株、エリスリットは20菌株が陽性であった。キシロース(6801, 7654, 7655：非産生)、ラクトース(6801, 7612, 7638, 7642：非産生)、コーン氏液培養(AK 14,

Table 7-1. Characteristics in which all 66 strains of the sheath brown rot pathogen were positive

---

Motility
Fluorescent pigment on King's medium B
Oxidation of glucose in Hugh and Leifson O-F medium
Catalase
Oxidase
Arginine dihydrolase
Alkaline reaction in litmus milk
Growth in Uschinsky's solution
Growth in Fermi's solution
Starch hydrolysis
Margarine lipolysis
Ammonia production
Acid from;
Glucose, Arabinose, Mannose, Mannitol, Trehalose
Utilization of;
Citrate, Malonate, Succinate, Urate, Acetate, $\beta$ -Alanine, L-Valine, L-Lysine
Hypersensitive reaction in tobacco

---

**Table 7-2.** Characteristics in which all 66 strains of the sheath brown rot pathogen were negative

Gram reaction
Endospore
Growth at 37°C
Levan formation from sucrose
Denitrification
Reduction of nitrate
Methyl red reaction
Acetoin production
Growth in 5% NaCl broth
Esculin hydrolysis
Arbutin hydrolysis
Cytochrome oxidase
Phenylalanine deaminase
Urease
Tyrosinase
2-Ketogluconate production
Hydrogen sulfide production
Indole production
Pit formation on polypectate gel at pH 8.5
Requirement for growth factors
Acid from;
Maltose, Sucrose, Raffinose, Inulin, Salicin,
Dextrin, Adonitol, Inositol, Dulcitol, Sorbitol,
$\alpha$ -Methylglucoside
Utilization of;
Tartrate, Hippurate, 2-Ketogluconate,
Polygalacturonic acid
Potato soft rot

**Table 7-3.** Characteristics in which 66 strains of the sheath brown rot pathogen differ from one another

Character	Reaction of type strain	% of 66 strains positive
Tween 80 lipolysis	+	36
Lecithinase	+	56
Gelatin liquefaction	+	99
Growth in Cohn's solution	-	3
Acid from;		
Xylose	-	96
Lactose	-	94
Rhamnose	+	33
Erythritol	-	30

101 :陽性),ゼラチン液化 (AK 31 :陰性)では1~4菌株のみが異なる反応を示した (Table 7-3)。

なお レシチナーゼ活性およびツイーン80の加水分解は再試験を行うと前回とは異なる結果の得られる菌株があり,再現性が乏しかった。

葉鞘褐変病菌は対照の *P. oryzae* と次の9項目が異なった。すなわち,対照菌は普通寒天培養の菌苔が乳白色であり,コバックス・オキシダーゼ活性,アルギニンジヒドロラーゼ活性は示さない。レバンを産生し,エスクリンを加水分解するが,マーガリンは分解しない。サッカロース,ソルビットから酸を産生し,トレハロースからは産生しない (Table 7-4)。従って両菌の細菌学的性質は,再現性の乏しい4項目を除いた69項目中60項目が一致し,相似度が86.9%と低かった。また, *P. oryzae* は *P. syringae* pv. *syringae* 96と完全に一致し相似度が100%であった。

## 2) 血清学的性質

本細菌の抗血清を作製し,凝集反応法および寒天ゲル内拡散沈降法によってその特異性を調べた。

### a) 実験材料および方法

供試細菌:本細菌66菌株 (Table 6) と九州大学農学部,東北大学農学研究所,東京大学応用微生物研究所,農水省農業技術研究所,同蚕糸試験場,専売公社岡山たばこ試験場,発酵研究所および道立十勝農試から分譲された8属41種の細菌を用いた (Table 8)。なお分譲された菌株は当該機関の菌株番号を付した。

抗血清の作製:本細菌6801株の生菌抗原を常法によってウサギの皮下および耳静脈に6回注射し力価25,000の抗血清を得た。また,同様の方法により, *P. oryzae* A 309 株の加熱抗原(100°C—1時間)を用い,力価4,000の抗血清を得た。

凝集反応:100倍希釈抗血清,生菌および加熱菌(100°C—1時間)を用い,Manual of Microbiological Methods (Soc. Am. Bacteriol. 1957)の方法に準じスライド凝集法,および試験管内凝集法によって,抗血清の反応域を調査した。

**Table 7-4.** Characters of diagnostic value in distinguishing the sheath brown rot pathogen from other arginine dihydrolase, oxidase positive, fluorescent pseudomonads

Characteristic	the sheath brown rot pathogen Type strain(6801)	<i>P. marginalis</i> <sup>a)</sup>					<i>P. fluorescens</i> <sup>b)</sup>					<i>P. putida</i> <sup>b)</sup>	<i>P. oryzzicola</i> A309
		A	B	C	F	G	A	B	C	F	G		
Denitrification	- <sup>c)</sup>	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Levan formation from sucrose	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+
$\beta$ -glucosidase	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Gelatin liquefaction	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
Utilization of:													
L-Arabinose	+	+	+	+	-	+	d				d		+
Trehalose	+	+	+	+	+	+	+				-		-
2-Ketogluconate	-	+	+	+	+	+	+				+		
Inositol	-	+	+	+	+	+	+				-		
Sorbitol	-	+	+	+	d	+	d				-		+
Adonitol	-	-	+	d	+	-	d				-		
Polygalacturonic acid	-	+	-	-	-	-	-				-		
Pits on polypectate gel(pH 8.5)	-	+	-	-	-	-	-				-		-
Hypersensitivity in tobacco	+	-	-	-	-	-	-				-		+

a; Date from Hildebrand and Schroth (1971), and Lelliott et al. (1966).

b; Date from Sands et al. (1970), and Stanier et al.(1966).

c; +, > 90% of the strains positive; -, <10% of the strains positive; d, 10 to 90% of the strains positive.

寒天ゲル内二重拡散沈降反応：Ouchterlony 法 (木村, 1964) に従った。燐酸緩衝液-生理食塩水 (0.85% NaCl, 0.1% NaN<sub>3</sub>, 0.01M 燐酸緩衝液, pH 7.1) に寒天 (Special agar noble, Difco 製) を 1.5% の割合に加え、反応ゲルとした。寒天平板の中央とそこから 10mm 離れた周囲に 6 コの寒天穴 (直径 8mm) を設け、原液の抗血清を中央の穴、生菌または加熱抗原 (100℃ または 120℃ で 1 および 2 時間) を周囲の穴に分注した。37℃ に保ち 4 日後に沈降帯の有無を調べた。

#### b) 実験結果

凝集反応：葉鞘褐変病菌の抗血清と生菌抗原のスライド法および試験管法による反応はいずれの方法でも本細菌 66 菌株の全てとの間でのみ凝集反応が認められたが、植物病原性 *Pseudomonas* 属菌を含む 8 属 41 種および本病病斑部から分離した随伴菌 27 菌株との間では見られず、種特異性が極めて高かった (Table 9)。

しかし、同じ抗血清と加熱抗原との間では、本

細菌のほかに *P. ovalis* と凝集反応が見られた。

*P. oryzzicola* 抗血清についてはスライド凝集法のみで行った。生菌抗原は同様に他の *P. glumae*, *P. ovalis* および *P. syringae* の 3 病原型とも反応したが、*P. syringae* の 10 病原型を含む他の 8 属 38 種とは反応しなかった。

加熱抗原は *P. ovalis* が反応しないほかは生菌抗原の場合と同じ反応域であると認められた。

寒天ゲル内二重拡散沈降反応：本細菌の抗血清と生菌抗原の反応は、供試した 6801~7305 株の本細菌 20 菌株の全てとの間で 4 本の共通沈降帯を生じ (Plate III, 1), またその他の *Pseudomonas* 属 9 種および *P. syringae* の 8 病原型との間でも 1~4 本の沈降帯を生じたので (Table 10), 特異性が低いと認められた。

加熱抗原 (100℃—1 時間) の場合は、本細菌との間で 2 日後に明瞭な濃い 1 本の共通沈降帯が見られた (Plate III, 2)。また *P. fluorescens* IAM1 2022 株, *P. marginalis* FN 31, OKH 24 および IFO 3925 株との間でも 4 日後に淡い不明瞭な沈

Table 8. Origins of the cultures used for serological and bacteriophage tests

Bacterial culture	No. of culture
<i>Aerobacter aerogenes</i> (Kruse) Beijerinck	IAM1019
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Smith & Townsend) Conn	A2-1-1
<i>Bacillus cereus</i> Frankland & Frankland	IAM1029
<i>B. polymyxa</i> (Prazmowski) Macé	B1-2-1
<i>B. subtilis</i> (Ehrenberg) Cohn	IAM1140
<i>Corynebacterium michiganense</i> pv. <i>michiganense</i> (Smith) Jensen	C1-1-7
<i>C. flaccumfaciens</i> pv. <i>oortii</i> (Saaltink & MassGesteranus) Dye & Kemp	On-1
<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>atroseptica</i> (van Hall) Dye	P-14, P-30
<i>E. carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i> (Jones) Bergery et al.	EC7, 1068
<i>E. herbicola</i> (Löhnis) Dye	KH1 <sup>a)</sup>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Schroeter) Migula	P1-1-2 <sup>a)</sup>
<i>P. avenae</i> Manns	P1-17-1, P38 <sup>a)</sup> , 7502 7503
<i>P. cichorii</i> (Swingle) Stapp	NC60-1
<i>P. cruciviae</i> Gray & Thornton*	IAM1048
<i>P. desmolytica</i> Gray & Thornton*	IAM1504
<i>P. diminuta</i> Leifson & Hugh	IAM1513
<i>P. fluorescens</i> Migula	IAM12022
<i>P. fragi</i> (Eichholz) Gruber	IAM1650
<i>P. glumae</i> kurita & Tabei	P1-22-1
<i>P. graveolens</i> Levine & Anderson*	IF03460
<i>P. jaggeri</i> Stapp*	IAM1008
<i>P. lacunogenes</i> Goresline*	KL1 <sup>a)</sup>
<i>P. marginalis</i> pv. <i>marginalis</i> (Brown) Stevens	IF03925, FN31, OKH24, Am1-3, Cm-1
<i>P. melanogenum</i> Iizuka & Komagata*	IAM1554
<i>P. myxogenes</i> Fuhrmann*	IAM1502
<i>P. ochracea</i> (Zimmermann) Chester*	K01 <sup>a)</sup>
<i>P. oryzicola</i> Klement*	A309 <sup>a)</sup>
<i>P. ovalis</i> Chester*	P1-12-1
<i>P. pavonaceae</i> Levine & Soppeland*	IAM1155
<i>P. putida</i> (Trevisan) Migula	IAM1506
<i>P. riboflavina</i> Foster*	AMS6102
<i>P. rugosa</i> (Wright) Chester*	P1-15-1
<i>P. saccharophila</i> Doudoroff	— IAM1504
<i>P. schuylkilliensis</i> Chester*	P1-16-2
<i>P. segnis</i> Goresline*	IAM1311 <sup>a)</sup>
<i>P. solanacearum</i> (Smith) Smith	P1-18-2
<i>P. stutzeri</i> (Lehmann & Neumann) Sijderious	P-2
<i>P. synxantha</i> (Ehrenberg) Holland	IF03906
<i>P. syringae</i> pv. <i>aptata</i> (Brown & Jamieson) Young et al.	607
<i>P. syringae</i> pv. <i>atropfaciens</i> (McCulloch) Young et al.	P-1
<i>P. syringae</i> pv. <i>atropurpurea</i> (Reddy & Godkin) Young et al.	A(N)-2, RCG-2
<i>P. syringae</i> pv. <i>coronafaciens</i> (Elliott) Young et al.	IFO3310
<i>P. syringae</i> pv. <i>eriotryae</i> (Takimoto) Young et al.	P1-7-2
<i>P. syringae</i> pv. <i>lachrymans</i> (Smith & Bryan) Young et al.	Cu8
<i>P. syringae</i> pv. <i>lapsa</i> (Ark) Young et al.	75C-1
<i>P. syringae</i> pv. <i>maculicola</i> (McCulloch) Young et al.	H7311

Table 8. (continued)

Bacterial culture	No. of culture
<i>P. syringae</i> pv. <i>mori</i> (Boyer & Lambert) Young et al.	S6802, S6803, S6805, S6806, S6809
<i>P. syringae</i> pv. <i>phaseolicola</i> (Burkholder) Young et al.	421, 509
<i>P. syringae</i> pv. <i>striafaciens</i> (Elliott) Young et al.	IF03309
<i>P. syringae</i> pv. <i>syringae</i> van Hall	AZ25, 96 <sup>a)</sup>
<i>P. syringae</i> pv. <i>tabaci</i> (Wolf & Foster) Young et al.	6602, 7246
<i>P. xanthae</i> Zettnow*	IAM1310
<i>Serratia marcescens</i> Bizio	IAM1021
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>alfalfae</i> (Ricker et al.) Dye	X1-6-1
<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> (Pammel) Dowson	X1-1-1
<i>X. campestris</i> pv. <i>citri</i> (Hasse) Dye	X1-2-1
<i>X. campestris</i> pv. <i>cucurbitae</i> (Bryan) Dye	X1-3-1
<i>X. campestris</i> pv. <i>glycines</i> (Nakano) Dye	X1-7-1
<i>X. campestris</i> pv. <i>hordei</i> (Hagborg) Dye	X1-11-2, 21, 33
<i>X. campestris</i> pv. <i>hyacinthi</i> (Wakker) Dye	X1-4-1
<i>X. campestris</i> pv. <i>oryzae</i> (Ishiyama) Dye	X1-5-1
<i>X. campestris</i> pv. <i>pisi</i> (Goto & Okabe) Dye	X1-9-1
<i>X. campestris</i> pv. <i>pruni</i> (Smith) Dye	X1-10-1
<i>X. campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i> (Doidge) Dye	N7001
<i>X. campestris</i> pv. <i>vitians</i> (Brown) Dye	LX78102

\* ; Omitted from the Approved Lists of Bacterial Names

a ; Not used for bacteriophage tests

Table 9. Agglutination reactions with antisera of the sheath brown rot pathogen and *P. oryzae* to *Pseudomonas* nomenspecies

<i>Pseudomonas</i> species	Antisera <sup>a)</sup>			
	Sheath brown rot pathogen 6801		<i>P. oryzae</i> A309	
<i>P. avenae</i>	— <sup>b)</sup>	— <sup>c)</sup>	— <sup>b)</sup>	— <sup>c)</sup>
<i>P. glumae</i>	—	—	+	+
<i>P. ovalis</i>	—	+	+	—
<i>P. oryzae</i>	—	—	+	+
<i>P. syringae</i> pv. <i>phaseolicola</i>	—	—	+	+
<i>P. syringae</i> pv. <i>striafaciens</i>	—	—	+	+
<i>P. syringae</i> pv. <i>syringae</i> AZ25	—	—	—	—
<i>P. syringae</i> pv. <i>syringae</i> 96	—	—	+	+
sheath brown rot pathogen	+	+	—	—

a ; Slide agglutination test with 1/100 diluted antisera,

b ; Whole antigen, c ; Antigen heated one hour at 100°C

降帯を生じたが、本細菌との間に生ずる沈降帯とはスパーを生じた (Plate III, 3)。他の8属39種とは全く反応しなかった。さらに 100°C—2時間、120°C—1 または 2 時間の加熱抗原の場合は、本

細菌と1本の沈降帯を生じ、他の8属41種の細菌とは反応しなかった。

以上のように本細菌の抗血清は生菌よりも加熱抗原との反応に高い特異性が認められたので、*P.*

*oryzicola* 抗血清の場合は加熱抗原(100°C—1時間)のみを用いた。これによると *P. oryzicola* および *P. syringae* pv. *syringae* 96 との間でのみ2本

の共通沈降帯を生じたが (Plate III, 4), 本細菌および他の8属38種の細菌とは全く反応せず, 特異性が極めて高かった (Table 10)。

Table 10. Gel-diffusion reactions with antisera of the sheath brown rot pathogen and *P. oryzicola*

<i>Pseudomonas</i> species	Antisera		
	Sheath brown rot pathogen 6801		<i>P. oryzicola</i> A309
	A <sup>a)</sup>	B	B
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 <sup>b)</sup>	0	0
<i>P. cichorii</i>	3	0	0
<i>P. fluorescens</i>	3	(1) <sup>c)</sup>	0
<i>P. graveolens</i>	4	0	0
<i>P. lacunogenes</i>	2	0	0
<i>P. marginalis</i> pv. <i>marginalis</i>	2—4	(1)	0
<i>P. oryzicola</i>	3	0	2
<i>P. schuykilliensis</i>	1—2	0	0
<i>P. syringae</i> pv. <i>atropurpurea</i>	2	0	0
<i>P. syringae</i> pv. <i>coronafaciens</i>	2	0	0
<i>P. syringae</i> pv. <i>lachrymans</i>	1	0	0
<i>P. syringae</i> pv. <i>mori</i>	2	0	0
<i>P. syringae</i> pv. <i>phaseolicola</i>	1—2	0	0
<i>P. syringae</i> pv. <i>striaefaciens</i>	2	0	0
<i>P. syringae</i> pv. <i>syringae</i> AZ25	2	0	0
<i>P. syringae</i> pv. <i>syringae</i> 96	2	0	2
<i>P. syringae</i> pv. <i>tabaci</i>	3	0	0
Sheath brown rot pathogen	4	1	0

a; A: whole antigen, B: antigen heated one hour at 100°C,

b; No. of precipitation bands, c; Precipitation bands showing spur

以上のことから、葉鞘褐変病菌の抗血清は凝集反応法および加熱抗原を用いた寒天ゲル内拡散沈降法によると高い種特異性が認められるので、本細菌と *P. oryzicola* および *P. marginalis* とは血清学的に異なる種であると考えられる。また、*P. oryzicola* 抗血清は寒天ゲル内拡散沈降法により *P. oryzicola*, *P. syringae* pv. *syringae* のみと反応し、共通沈降帯を生ずるので、両菌は血清学的に近縁な関係にあると考えられる。

### 3) 寄生性

本細菌の寄主範囲を噴霧および有傷接種法によって検討した。

#### a) 実験材料および方法

供試細菌: Table 6 に示した本細菌66菌株, *P. oryzicola* A309および *P. syringae* pv. *syringae* 96株の病原性を幼苗または穂孕期のイネに接種して検討した。

なお、寄主範囲の試験には6801株を用いた。

供試植物: オオムギなど19種類の植物 (Table 11) の種子をワグネルポットまたは素焼鉢に播種し、ガラス室で育苗し3~4葉期に接種した。イネの場合はポットに栽培した苗の他に圃場で栽培した穂孕期の止葉葉鞘も供試した。

キャベツ, レタス, パセリは切離葉, タマネギは鱗片, レモンは果実を用いた。

Table 11. Host range of isolate 6801 of the sheath brown rot pathogen

Plant	Variety	Pathogenicity	
		Spray	Wound
Rice ( <i>Oryza sativa</i> )	Ishikari	+	+
Barley ( <i>Hordeum vulgare</i> )	AKan	+	+
Wheat ( <i>Triticum aestivum</i> )	Haruminori, Haruhikari	+	+
Oats ( <i>Avena sativa</i> )	Zensin, Honami, Ohotuku	+	+
Maize ( <i>Zea mays</i> )	Golden cross bantam	+	+
Mountain brome grass ( <i>Bromus marginatus</i> )	Yukijirusi normal	-	+
Perennial ryegrass ( <i>Lolium perenne</i> )	Yukijirusi normal	-	+
Tall fescue ( <i>Festuca arundinacea</i> )	Kentucky 31	-	-
Timothy ( <i>Phleum pratense</i> )		-	+
Reed canarygrass ( <i>Phalaris arundinacea</i> )		-	+
Red clover ( <i>Trifolium pratense</i> )		-	-
White clover ( <i>Trifolium repens</i> )		-	-
Soybean ( <i>Glycine max</i> )	Kitamisiro, Kitamusume	-	-
Azuki bean ( <i>Phaseolus angularis</i> )	Wasetairyu, Chagarawase	-	-
Kidney bean ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	Taishokintoki, Kitaharabeninaga	-	-
Pea ( <i>Pisum sativum</i> )		-	-
Eggplant ( <i>Solanum melongena</i> )		-	-
Red pepper ( <i>Capsicum annuum</i> )		-	-
Sweet pepper ( <i>Capsicum annuum</i> )		-	-
Cabbage ( <i>Brassica oleracea</i> )		-	-
Onion ( <i>Allium cepa</i> )		-	+
Head lettuce ( <i>Lactuca sativa</i> )		-	-
Parsley ( <i>Petroselinum crispum</i> )		-	-
Lemon ( <i>Citrus limon</i> )		-	-

a: +; positive infection, -; negative infection

接種方法：普通寒天培地で28℃24時間培養した細菌の浮游液（約 $10^7$ /ml）を接種源とした。イネの場合は苗の葉鞘基部に注入接種，また穂孕期の止葉葉鞘に注入あるいは噴霧接種を行った。その他23種類の植物には噴霧接種，100本の針束を用いた有傷接種を行った。接種ののち温室に48時間おき，のちガラス室内に移した。

#### b) 実験結果

寄生性：分離年月，分離源および採集地を異にする本細菌66菌株はすべて苗または穂孕期のイネに病原性を示した。すなわち，本細菌を注入接種した苗は葉鞘に黒褐色水浸状の条斑を生じ，更に発病葉鞘に続く葉身の中肋や葉緑に黒褐色水浸状条斑を形成した。

また穂孕期のイネに注入または噴霧接種したとき，止葉葉鞘は水浸状暗緑色の不定形斑紋を生じ，のち病斑は暗褐色～灰褐色になり，穂は「出すくみ症状」を呈した。

対照の *P. oryzae* または *P. syringae* pv. *syringae* 96菌株を接種したイネもこれと極めて類似した病斑を形成した。

寄主範囲：Table 11 に示すように葉鞘褐変病菌6801株は噴霧と有傷接種によりイネ科植物のオムギ，コムギ，エンバクおよびトウモロコシに病原性を示し，噴霧接種によると葉縁や葉先に暗緑色水浸状の波状～不定形の斑紋を生じ，のち黄色～黄褐色に変色した。有傷接種の場合は穿刺部の周辺に黄褐色～褐色の斑紋が現われた。

チモシー，マウンテンブロームグラス，リード

カナリーグラス、ペレニアルライグラスには有傷接種によるのみ病原性を示し、穿刺部が赤褐色、周縁部が不定形黄褐色の暈を伴う病斑を生じた。

タマネギの鱗片に対しても有傷接種による病原性を示すが、軟腐症状とはならない。しかし、マメ科6種、ナス科2種のほか、キャベツ、レタス、パセリー、レモン果実およびトールフェスクには何れの接種法でも全く病原性を示さなかった。

以上から本細菌の寄主範囲はイネ科植物に限られていると認められた。

## 2. 病原細菌のバクテリオファージ

本細菌のファージの分離を試み、その諸性質を明らかにし、本細菌の生態に関する研究への利用法について検討した。

### 1) 形態および一段増殖

本細菌に活性を示すファージを分離し、これらの形態および増殖過程を調査した。

#### a) 実験材料および方法

供試ファージ：本病に罹病した穂孕期のイネの葉鞘（品種：双豊モチ）、腐敗苗（イシカリ）および種籾（ユーカーラ）から富沢（1970）の方法によりファージを分離した。それぞれの試料から5株（1976年旭川市採集、菌株番号P1、P5、P7、P8、P10）、2株（1976年音更町採集、P33、P38）および8株（1976年旭川市採集、P51、P52、P53、P54、P55、P56、P57、P58）計15株のファージを分離した。

作製したファージ濃厚液（ $10^{10-11}/\text{ml}$ ）を $0^{\circ}\text{C}$ で保存し、これを実験に用いた。

供試細菌：本細菌101、7601、7633の3菌株を用いた。

溶菌斑形成培地：富沢（1970）のペプトン培地、ペプトン上層寒天培地およびペプトン寒天培地を用いた。

溶菌斑形成法：富沢（1970）の方法に準じ、ファージ液（ $10^3-4/\text{ml}$ ）0.1ml、細菌浮游液（ $10^8-9/$

ml）0.1mlおよび $45^{\circ}\text{C}$ のペプトン上層寒天培地 2.5mlを混和し、あらかじめ固化しておいたペプトン寒天培地上に重層した。 $25^{\circ}\text{C}$  24時間後に形成した溶菌斑を調査した。

形態：ファージ濃厚液を $5,760\times\text{g}$ で30分間遠沈後、上澄部を $20,000\times\text{g}$ で90分間遠沈した。この沈殿部をファージ試料とし、2% PTA でネガティブ染色し、電子顕微鏡（日立製 HS7D 型）で加速電圧50KVの下で観察した。ファージ粒子の大きさをそれぞれ50個について測定した。

ファージ抗血清の調製：ファージ濃厚液をミリポアフィルター（ $0.45\mu\text{m}$ ）でろ過し、ろ液を免疫原ファージ液（ $10^{10}/\text{ml}$ ）とした。常法によりこれをウサギに注射し、ファージ抗血清を得た。なお、ファージ不活化反応速度恒数は96であった。

一段増殖：脇本（1955）の方法に準じ、7601株をペプトン培地で $10^8-9/\text{ml}$ に希釈した菌液0.9mlに $10^8-10/\text{ml}$ のファージ液0.1mlを加えた。5分後にファージ抗血清0.1mlを加えて未吸着ファージを不活性化した。抗血清添加5分後にペプトン培地で $10^5$ 倍に希釈し、ファージ添加10分後から10分間おきに溶菌斑形成法によって活性ファージを定量した。120分以降 $10^6$ 倍希釈液中の活性ファージを定量し、その増殖過程を調査した。

#### b) 実験結果

形態：分離した3系統のファージはいずれも多面体の頭部と尾部を有する（Table 12）。P1ファージは頭部の直径60nm、尾部が収縮性で長さ85nm、幅14nm（Plate IV, 1 a, b）、P33ファージは頭部の直径59nm、尾部が非収縮性で $231\times 9\text{nm}$ であった（Plate IV, 2, 3）。P51ファージの形態はP1ファージに類似し、頭部の直径50nm、尾部が収縮性で $120\times 11\text{nm}$ であった（Plate IV, 4）。また、このファージはP1、P33ファージにくらべて頭部と尾部が離れ易く、完全な形態をした粒子は少なかった。

一段増殖：P1ファージの増殖過程をFig. 2に示した。 $25^{\circ}\text{C}$ の培養温度でペプトン培地中の7601株に吸着感染したとき、潜伏期は110分、定常期は240分、平均放出量は220であった。



Table 12. Morphology of three strains of *Pseudomonas fuscovaginae* bacteriophage

Item	FP1	FP2	FP3
Morphology	Tadpole	Tadpole	Tadpole
Diameter of head (nm)	Average <sup>a)</sup>	60.0	59.2
	Range	53.8-61.5	53.8-61.5
Length of tail (nm)	Average	85.4	231.2
	Range	76.9-92.3	210.3-253.6
Width of tail (nm)	Average	13.8	8.7
	Range	11.5-15.4	7.7-10.8

a; Values represent the mean of 50 particles

## 2) 寄生性

本細菌ファージの系統, 寄主範囲を明らかにし, ファージ感受性菌の分布を調べた。

### a) 実験材料および方法

供試ファージ：前項で記したファージ15株を用いた溶菌試験を行った。そのうちP 1, P 33, P 51の3ファージについて寄主範囲を調査した。

供試細菌：本細菌41菌株と植物病原性 *Pseudomonas* 属菌7種12病原型を含む7属34種総計75菌株 (Table 6, 8) を用いた。

細菌に対するファージの寄生性： $10^3$ /ml に希釈したファージ液0.1ml を用い, 供試細菌を指示菌として溶菌斑形成法により溶菌斑の有無によりファージの活性を調べた。

### b) 実験結果

葉鞘褐変病菌に対する寄生性によるファージの類別：供試ファージ15株は本細菌15菌株に対する活性により3系統に分けられた (Table 13)。すなわち, FP1 系統としたものは止葉葉鞘の病斑部より分離した本細菌5菌株のみに活性を示し, 直径1.0mmの透明な溶菌斑を形成するものでP 1, P 5, P 7, P 8, P 10のファージがこれに属する (Plate IV, 5)。FP 2系統は腐敗苗から分離した2菌株のみに活性を示し, 直径0.4mmの溶菌斑を形成するP 33, P 38ファージである (Plate IV, 6)。FP 3系統は種粒から分離した8菌株のみに活性を示し, FP 1 と類似の溶菌斑を形成するP 51, P

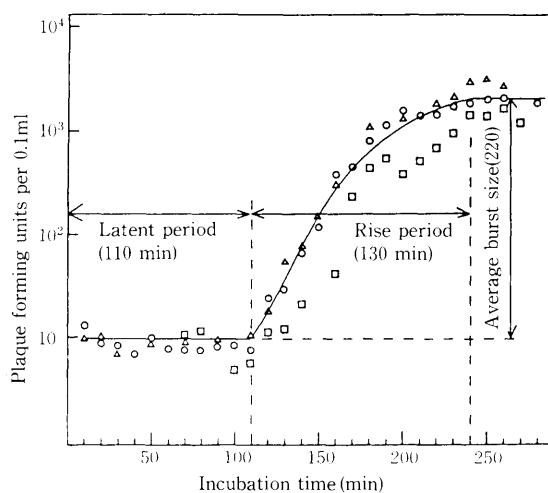


Fig. 2 One-step growth curve of P1 bacteriophage with the sheath brown rot pathogen 7601 as host.

52, P 53, P 54, P 55, P 56, P 57, P 58ファージである (Plate IV, 7)ただしこのファージのうちP 52ファージは本細菌1651株, P 54ファージは125, 1651および1655株, P 58ファージは1651株に活性を示さなかった。

各種細菌に対するファージの寄生性：FP 1 (P 1), FP 2 (P 33)およびFP 3 (P 51)の3系統ファージはいずれも本細菌のみに活性を示し, Table 8に示した *Pseudomonas* 属菌を含む7属34種25病原型の細菌には全く活性を示さなかった。

ファージによる葉鞘褐変病菌の類別：Table 6に示した本細菌41菌株は, 3系統のFP 1, FP 2およびFP 3ファージの寄生性に基づいて4群に分けられ,それぞれA, B, C, Dと命名した (Table 14)。

**Table 13.** Grouping of the bacteriophages with their host range

Strain of phage	Phage isolate	Indicator isolate <sup>a)</sup>													Origin of phage			
		7601 <sup>b)</sup>	7605	7607	7608	7610	7633	7638	101	102	104	125	1651	1653		1655	2492	
FP1	P 1	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Flag leaf sheaths collected at Asahikawa on Aug. 1976
	P 5	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	P 7	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	P 8	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	P10	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
FP2	P33	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Seedlings collected at Otofuke on June, 1976
	P38	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
FP3	P51	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Seeds collected at Asahikawa on May, 1976
	P52	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	
	P53	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	P54	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	
	P55	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	P56	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	P57	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	P58	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	

a; +: sensitive, -: resistant, routine dilution test

b; Isolate number of the sheath brown rot pathogen

**Table 14.** Lysotype of the sheath brown rot pathogen differentiated by phage reaction

Lysotype	Reaction of bacteriophage <sup>a)</sup>			Number of isolates and its sources
	FP1	FP2	FP3	
A	+	-	-	16 (Seedlings, flag leaf sheaths)
B	-	+	-	8 (Seedlings)
C	-	-	+	8 (Seeds)
D	-	-	-	9 (Seedlings, flag leaf sheaths)

a; +: plaque forming, -: not plaque forming, routine dilution test

すなわち、A群に属する葉鞘褐変病菌はFP1ファージのみに感受性であって供試細菌の39%を占め、いずれも止葉葉鞘病斑、腐敗苗から分離したものである。B群はFP2ファージのみに感受性であり、腐敗苗から分離した菌株である。C群はFP3ファージのみに感受性であり、種籾のみから分離された菌株がこれに属する。D群はいずれのファ

ージにも非感受性であって供試細菌の18%を占め、止葉葉鞘病斑、腐敗苗、種籾から分離された。

これら4群に属する菌株の採集地をみると、A群は6市町村、B、C、D群はそれぞれ5、2、4市町村に存在し、A群は最も広い地域にわたって分布している (Table 15)。

**Table 15.** Distribution of lysotypes of the sheath brown rot pathogen

Location	Number of isolates per lysotype	Total			
		A	B	C	D
Hokkaido Asahikawa	5	1	8	2	16
do Shibetu	1	0	0	0	1
do Kamifurano	1	2	0	2	5
do Otofuke	0	3	0	1	4
do Takasu	1	1	0	0	2
do Imagane	0	1	1	0	2
Aomori Kuroishi	2	0	0	3	5
Yamagata Nishikawa	6	0	0	0	6

### 3) ファージによる病原細菌の検索

多種類の細菌が混在する自然環境から葉鞘褐変病菌を検出するため、本細菌のファージを利用する方法を検討した。

#### a) 実験材料および方法

供試ファージおよび細菌：ファージはP 1ファージ、指示菌として本細菌7601株を用いた。

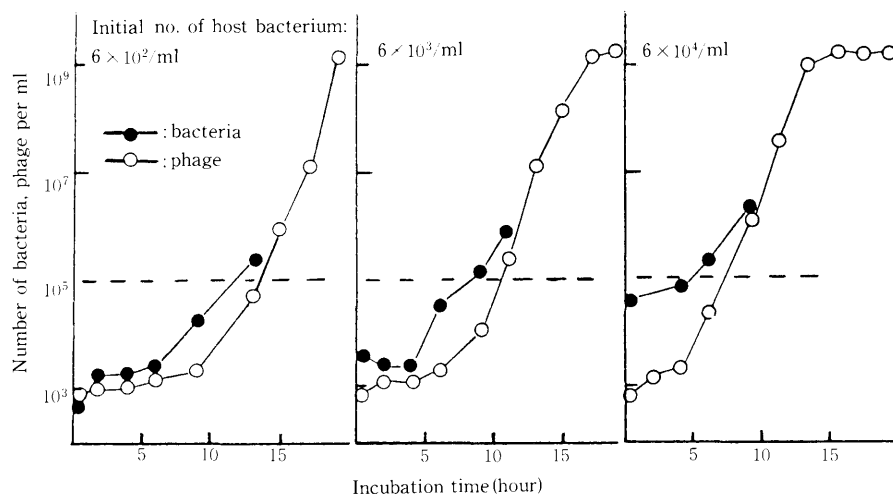
供試培地：ファージの増殖には富沢（1970）のペプトン培地を用いた。

寄主細菌培養系におけるファージの定量：後藤ら（1970）の方法に準じ、7601株の普通寒天培養菌をペプトン培地で $10^{2-4}$ /mlに希釈し、これにファージ液を $9 \times 10^2$ /mlの割合で添加して25℃で振とう培養した。ファージ添加後2時間おきに溶菌斑形成法によってファージの増殖過程を検討した。

異種細菌が混在する系におけるファージの定量：7601株の培養菌をペプトン培地で $0.7 \sim 7.0 \times 10^4$ /mlに調整した。この本細菌浮游液に、分けつ期のイネ体をペプトン水中で洗浄して得た異種細菌からなる細菌液を希釈して $7 \times 10^{1-5}$ /mlになるように加え、更にファージ液を $7 \times 10^2$ /mlの割合で添加した。葉鞘褐変病菌、異種細菌およびファージの混合培養液を25℃、24時間振とう培養した後に1/10容のクロロホルムを添加混合したのち、水層部0.1mlをとり溶菌斑形成法によって活性ファージ数を測定した。

#### b) 実験結果

寄主細菌培養系におけるファージの増殖：Fig. 3に示すように、初期菌量が $10^2$ /mlおよび $10^3$ /mlの細菌を含む培養液で、菌量が $10^5$ /mlに達した各13時間および9時間後にファージの増殖がはじ



**Fig. 3** Growth of *P. fuscovaginae* 7601 and P1 phage in closed system. Phage input:  $9 \times 10^2$ /ml

まり、20時間後には $10^9$ /mlに達した。しかし、菌量 $10^4$ /ml以下の間はファージの増殖は認められなかった。すなわち、本細菌の菌量が $10^4$ /ml以下のときファージは増殖しないが、 $10^5$ /ml以上になれば増殖する。

異種細菌が混存する系におけるファージの増殖：試料中に異種細菌が $10^3$ /ml存在するとき、寄主細菌が7/ml以上存在すればファージは24時間後に $10^4 \sim 7$ /mlまで増殖した(Fig. 4)。しかし、異種細菌が $10^5$ /mlの場合、寄生細菌の初期菌量が $7 \times 10$ /ml以上のとき24時間後にファージは増殖した

が、初期菌量が7/ml以下のときは増殖しなかった。すなわち、多種類の細菌が混在する系ではその菌量が多いときファージの増殖は抑制される。

自然環境下の植物生体における異種の着生細菌はほぼ $10^5 \sim 7$ /gであり、以上の葉鞘褐変病菌および異種細菌の菌数とファージ増殖の関係において、異種細菌が $10^5$ /ml存在しても本細菌が $7 \times 10$ /ml以上存在すれば24時間後にファージは増殖することから、本法を用いれば植物生体重1g当り菌量 $10^2 \sim 10^3$ の葉鞘褐変病菌が検出可能である。

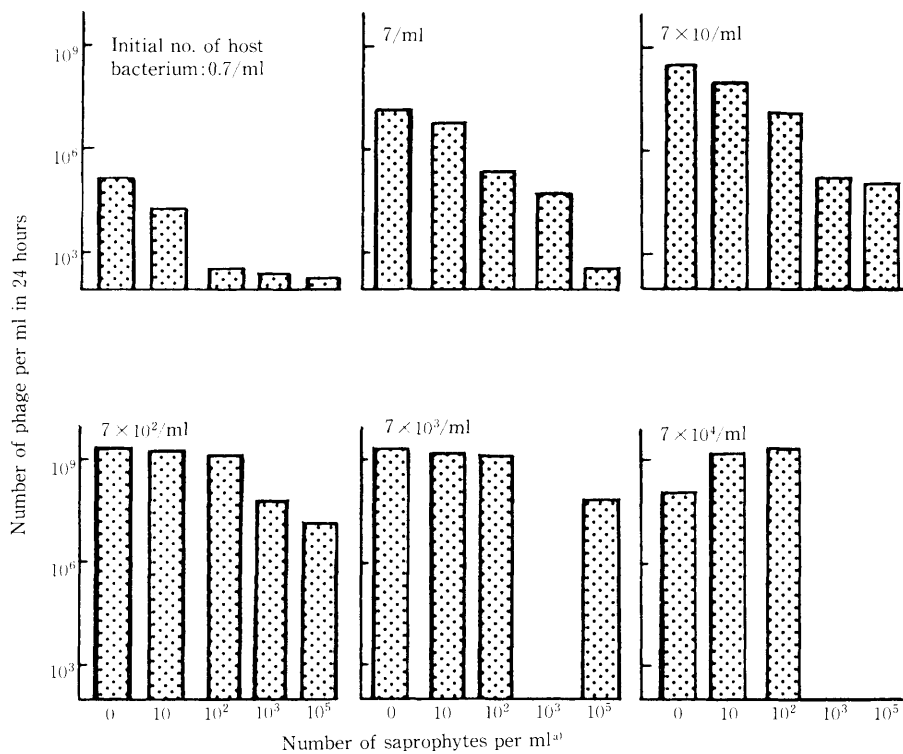


Fig. 4 Phage propagation in open system with the different population of the saprophytes and the host bacterium. Phage input  $7 \times 10^2$ /ml. a; Used the water washed rice plants

### 3. 小 括

葉鞘褐変病菌は *Pseudomonas* 属に属し、オキシダーゼ活性、アルギニンジヒドロラーゼ活性などが陽性であるので saprophytic fluorescent pseudo-

monads の細菌 (Lelliott et al., 1966; Stanier et al., 1966; Misaghi and Grogan, 1969; Hildebrand and Schroth, 1971) である。イネを侵す *Pseudomonas* 属の病原細菌は *P. oryzzicola* (Klement, 1955), *P. glumae* (栗田, 田部井, 1967) および

*P. avenae* (Goto and Ohata, 1961; 宮島, 1974; 富永, 1981) の3種が知られている。

*P. oryzicola* の細菌学的性質は本細菌とはオキシダーゼ活性, アルギニンヒドロラーゼ活性など9項目が異なり, 両菌の相似度は87%と低かった。なお, 近年同菌は *P. syringae* pv. *syringae* の異名であるとされた(Luketina and Young, 1979)。

*P. glumae* および *P. avenae* は非蛍光色素産生菌であるので本細菌とは明らかに異なる。

これらのことからイネの病原細菌で本細菌に類似するものは見られない。

本細菌は従来行なわれてきた同定法により *P. marginalis* とされたが(舟山, 1966), この菌は多数の異なる系統からなる集合種である。最近, 細菌の同定に必要とされる諸性質を見ると (Table 7-4), エスクリンの加水分解, 硝酸呼吸, ポリペクテートゲル液化など重要な性質が葉鞘褐変病菌と異なる。

また本細菌は, saprophytic fluorescent pseudomonads に属する *P. putida*, *P. fluorescens* の bio-type G に最も類似する。

しかしながら, 前者とはゼラチン液化, トレハロース・2-ケトグルコン酸・馬尿酸の利用, デンプンの加水分解, タバコ過敏反応が異なり, 後者とはアラビノース・2-ケトグルコン酸・イノシトール・ソルビトール・アドニトールの利用, タバコ過敏反応が異なる (Table 7-4)。従って *Pseudomonas* 属菌で葉鞘褐変病菌に一致するものは見られない。

葉鞘褐変病菌の抗血清は葉鞘褐変病菌のみと反応し種特異性が高く, *P. oryzicola* の抗血清も本細菌とは全く反応せず, 本細菌は血清学的性質から見ても *P. oryzicola* および *P. marginalis* とは異なる。

葉鞘褐変病菌の寄主範囲はイネ科に限られるのに対し, *P. marginalis* は多数の植物に病原性を有し軟腐症状を現わすので, 両種は異種とみなすのが適当である。*P. oryzicola* を接種したイネの

病徴は本細菌の場合と全く同じであるが, コムギにおける病徴(Otta, 1974)は異なり寄主範囲(Otta and English, 1971)も異なる。

従って, 上記の細菌学的性質, 血清学的性質および寄生性から葉鞘褐変病の病原細菌を新種とし *Pseudomonas fuscovaginae* sp. nov. と命名, 報告した(谷井ら, 1976)。しかし, 国際細菌命名規則(Lapage et al., 1980)の改訂により, 規則27および28aに合致しなくなったため Approved Lists of Bacterial Names (Skerman et al., 1980) に掲載されなかった。そこで改めて *P. fuscovaginae* sp. nov., nom. rev. とし Int. J. Syst. Bacteriol. に発表した(Miyajima et al., 1983)。基準株は6801株 (NCPFB 3085, = PDDCC 5940)である。

葉鞘褐変病菌のファージは3系統あり, これらは形態的に Bradley (1967)のGroup AまたはBに相当する。いずれの系統も種特異性が高く, 特にP1ファージはファージ放出量が多く, また感受性菌の地域的分布も広い。そこでこのP1ファージを用い本細菌の検出法について検討した。

寄主細菌培養系の場合, ファージの増殖は寄主細菌の菌量が $10^5$ /ml以上に達したときはじまるが,  $10^4$ /ml以下のときはみられない。

異種細菌が混在する場合にはその菌量が多いときファージの増殖は抑制される。しかし, 試料中に異種細菌が $10^5$ /ml存在しても寄主細菌が $7 \times 10$ /ml以上の割合で存在すれば, 24時間後には寄主細菌は $10^5$ /ml以上に達すると推察されるのでファージは増殖すると認められる。

植物生体における異種細菌はほぼ $10^5 \sim 7$ /gであり, 本法により植物生体における葉鞘褐変病菌の生存を検定する場合, 葉鞘褐変病菌および異種細菌の菌数とファージ増殖の関係において, 異種細菌が $10^5$ /ml存在しても本細菌が $7 \times 10$ /ml以上存在すれば24時間後にファージは増殖することから, 検出限界は生体重1g当り $10^2 \sim 10^3$ であると考えられる。

## IV 発 生 生 態

葉鞘褐変病菌の伝染経路、および発病に及ぼす環境要因を解明し、感染時期、発生量を予察することは、本病の防除対策を確立するための基礎である。そこで一般の分離法とともに本細菌のファージを利用して病原菌を検出し、生態を調査した。次いで種子伝染、侵入部位および感染時期を検討し、更に気象および栽培環境の影響について実験を行った。

### A 病原細菌の生活環

本細菌の生活環を明らかにするためイネ、イネ科植物における越冬および消長を調査し、また病原菌の侵入部位および感染時期について検討した。

#### 1. 病原細菌の越冬

屋内および野外に放置した罹病イネ、および水田付近に自生しているイネ科植物における本細菌の越冬を調査した。

#### 1) 罹病藁および籾における越冬

屋内に保存した罹病藁および籾、また野外に放置した藁における本細菌の越冬を調査した。

##### a) 実験材料および方法

供試材料：罹病藁、籾および玄米を室内に保存して翌年本細菌の検出に用いた。籾および玄米は褐点籾：褐色斑点を生じたもの、褐斑籾：褐色不定形斑紋を生じたもの、褐変籾：籾全体が濃褐色～灰褐色のもの、茶米玄米：玄米の大部分が褐色の4つに分け( Fig. 5)、対照は健全籾および玄米とした。

また、前年、PIファージに感受性である溶菌A型を示す本細菌に自然感染した褐変籾、藁についても同様に病原菌の検出に供した。

野外における越冬の実験には罹病藁を10gずつナイロン袋に詰めて水田地表面に放置し、病原菌の検出に供した。

また自然感染した褐変籾を屋内に保存して翌年栽培し、発病を調べた。

##### 病原細菌の検出

i) 希釈平板法：罹病籾各10gを0.1%昇汞液(70%エタノール中)で10秒間表面殺菌し、殺菌

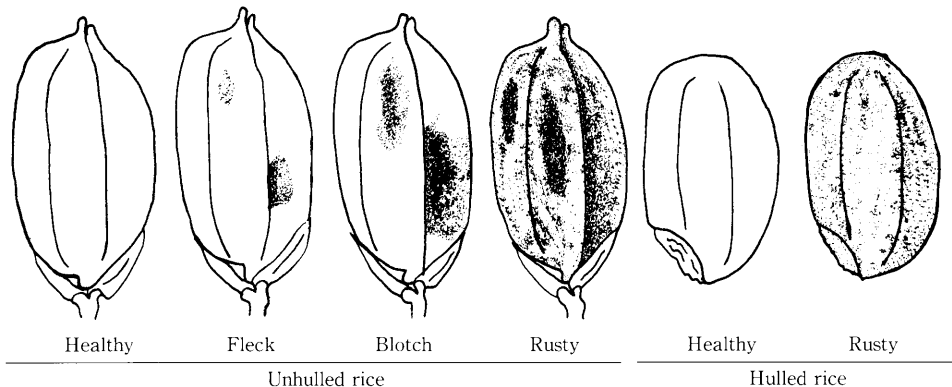


Fig. 5 Several lesions of affected unhulled and hulled rice.

水で水洗ののち殺菌水20mlを加えて乳鉢で磨砕した。この磨砕液の10倍ずつの段階希釈を3～4回繰り返す、希釈液1mlと普通寒天培地15mlを混和し、平板とした。28℃5日間培養後の菌の定量を行い、抗血清凝集法により病原菌を検定した。

野外に放置した罹病藁10gを90mlの殺菌水中で洗浄し、上清についてNAC改変培地を用い、上記の方法により細菌を分離培養し、抗血清凝集法により病原菌を検定した。

NAC改変培地の組成は以下のとおりである：キングB培地100ml,  $\text{COCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  2% 1ml, セトリマイド0.2% 1ml, ナリジキシン酸0.01% 5ml,  $\text{TINO}_3$  0.01% 0.5ml, ポリミキシン10ppm 1ml,  $\text{H}_3\text{BO}_3$  1% 1ml, ノボビオシン0.45% 1ml。

ii) ファージによる検出法：褐変籾、罹病藁各々10gを $10^{3-4}$ /mlのPIファージ液1.0mlとともにペプトン培地50mlに加え、25℃24時間振とう培養した。クロロホルム5mlを添加混合したのち水層部0.1mlをとり、溶菌斑形成法によりその活性ファージ数を測定した。

24時間後のファージ数が加えたファージより多きとき本細菌が生存していると判定し、10倍増加

したときは+,  $10^2$ 倍は++,  $10^3$ 倍以上は+++, 増加しないときは-の符号で表わし、以上特記する以外は同じである。

栽培および発病：罹病籾を播種し、発病を調査した。すなわち、120℃30分間高圧蒸気殺菌した土を詰めた1/5,000aワグネルポットに褐変籾(比重1.0で浮くものと沈むもの)および茶米玄米をそれぞれ12粒播種し、ガラス室内で隔離栽培した。これらのイネが穂孕期になったとき気温、湿度を異にした人工気象室に移し、穂揃期に病茎率を調査した。気温、湿度は i) 15℃ (RH70~80%) 6日間, ii) 15℃ 6日間次いで17~27℃ (RH100%) 3日間, iii) 17~27℃ 3日間, 次いで15℃ 3日間の3区とした。実験は各区とも2~5反復とした。

## b) 実験結果

罹病籾および藁における越冬：希釈平板法により、屋内に保存した籾、玄米から本細菌の検出を行った結果、翌年4月に褐斑籾、褐変籾および茶米玄米から検出されたが、褐点籾、健全籾および健全玄米からは検出されなかった (Table 16)。

Table 16. Overwintering of *Pseudomonas fuscovaginae* on seeds kept indoors (Dilution plate method, 1967)

Seed applied <sup>a)</sup>	Number of total bacteria <sup>b)</sup>	Number of <i>P. fuscovaginae</i>
Unhulled rice <sup>c)</sup>		
healthy	$2.2 \times 10^5$	0
fleck	$1.9 \times 10^5$	0
blotch	$1.7 \times 10^5$	$2.7 \times 10^3$
rusty	$2.3 \times 10^5$	$5.7 \times 10^3$
Hulled rice		
rusty	$8.7 \times 10^5$	$1.0 \times 10^4$
healthy	$4.1 \times 10^4$	0

a; Seeds collected from paddy fields the previous year and kept indoors.

b; Number of bacteria per 10 seeds, c; Based on the fig. 5 category.

ファージ法によると、室内に保存した罹病藁では6月、褐変籾では採取後12ヵ月たった10月中旬に本細菌の生存していることが認められた。

一方、水田に放置した罹病藁の場合は希釈平板法により分離すると、12月中旬まで生存したが、

1月以降には検出されなかった (Table 17)。

この結果から、本細菌は屋内に置いた罹病籾、藁で越冬、生存するが、野外に放置した藁では翌年までの生存は困難なものと認められる。

罹病種子から育てたイネの発病：罹病籾、玄米

**Table 17.** Detection of *Pseudomonas fuscovaginae* from diseased flag leaf sheaths scattered in paddy fields (Dilution plate method, 1974~75)<sup>a)</sup>

Date of isolation (month/day)	Number of total bacteria <sup>b)</sup>	Number of <i>P. fuscovaginae</i>
11.10	$7.3 \times 10^5$	$5.8 \times 10^5$
11.22	$9.7 \times 10^6$	$3.5 \times 10^5$
12. 4	$1.3 \times 10^7$	$2.5 \times 10^5$
12.19	$1.4 \times 10^7$	$2.3 \times 10^4$
1. 9	$8.4 \times 10^6$	0
1.30	$6.3 \times 10^6$	0

a; Diseased flag leaf sheaths scattered in paddy fields on 30 October, 1974

b; Number of bacteria per gram fresh weight

いずれから育てたイネも15°Cに3日間または6日間おき、その前後3日間を飽和湿度の下に保ったとき、穂孕期になると発病し、罹病稈から育てたイネの発病率は罹病玄米の場合よりも高かった。

しかし15°C RH70~80%の下にのみ6日保ったイネは発病しなかった (Table 18)。

以上のことから、本細菌は保菌稈中で越冬し、種子伝染すると認められた。

**Table 18.** Relationships between seed borne infection, temperature and humidity

Temperature and humidity at the booting stage		Source of seeds <sup>a)</sup>	Incidence of affected stems (%)	
			16 Aug.	23 Aug.
15°C		Unhulled rice (> specific gravity)	0	0
70~80% RH		do (< specific gravity)	0	0
(9~15, Aug.)	(16~23, Aug.)	Hulled rusty rice	0	0
15°C	17~27°C	Unhulled rice (> specific gravity)	0	58
70~80% RH	100% RH	do (< specific gravity)	0	62
(9~15, Aug.)	(16~19, Aug.)	Hulled rusty rice	0	20
17~27°C	15°C	Unhulled rice (> specific gravity)	63	—
100% RH	70~80% RH	do (< specific gravity)	81	—
(9~12, Aug.)	(13~16, Aug.)	Hulled rusty rice	44	—

a; Used unhulled and hulled rusty rice kept indoors

## 2) イネ科植物における越冬

圃場の周辺に自生するイネ科植物における本細菌の越冬を検討した。

### a) 実験材料および方法

供試材料：本病が前年多発した東旭川町、秩父別町の水田の畦畔に自生するヌカボ、ケンタッキ

ーブルーグラス、スムースブロームグラス、メドーフェスクを翌年5月に採取し菌の検出に用いた。

病原細菌の検出：供試植物の茎葉、根部各10gを殺菌水90mlで表面洗浄し、洗浄液の上清部について希釈平板法により病原細菌の検出を行った。また、この上清部5mlを1%カザミノ酸液45mlと混合し、24時間培養した液を30~75本の苗にイネ



苗注射法（秋田，沢崎，1972）に従い接種した。接種苗を湿室に2日間おいた後7日目に発病苗率を調査した。更にこの苗から細菌を再分離し，抗血清凝集法により病原菌を判別した。

### b) 実験結果

植物体洗浄液を用いた希釈平板法によると，本細菌は水田畦畔に自生する4種類のイネ科植物からは全く検出できなかった。これに対し洗浄液を用いたイネ苗注射法によると，ヌカボから検出され，その苗の発病率は1.6%および3.2%であり，明らかにヌカボにおいて越冬すると認められた。

## 2. 植物体における病原細菌の生存

イネ葉鞘褐変病は苗と穂孕期のイネに発生するが，その間病徴は認められない。そこで無傷接種したイネおよび圃場のイネ体表面における本細菌の生存を調査した。更にイネ科植物上の生存についても検討した。

### 1) 接種イネにおける生存

本細菌を種籾，分けつ期および止葉期のイネに無傷接種し，イネ体表面における生存を調査した。

### a) 実験材料および方法

供試細菌：普通寒天培地で28℃24時間培養した7601株を殺菌水にけん濁し， $10^{6-8}$ /mlの細菌浮游液を接種源とした。

接種方法：籾に対する接種は催芽籾を $10^8$ /mlの細菌浮游液に3分間浸漬して行った。接種籾は12, 20, 25, 28℃の恒温器内で16日間育苗した。生育中のイネに対しては $10^{6-7}$ /mlの細菌浮游液を噴霧接種し，湿室に2日間保ったのち温室内に移した。

供試イネ：120℃30分間高圧蒸気殺菌した土を詰めた腰高シャーレ，または1/5,000 a ワグネルポットに健全籾（品種：イシカリ）を20～30粒播種し，恒温器内または温室で育て，5葉期，7葉期，止葉期と生育時期を異にするイネに接種した。

病原細菌の検出：接種籾から育てた苗は30個体，生育中に接種したイネは10個体を取り，それぞれ長さ2～3cmに細断し前節の第2項に記したファージ法により本細菌の生存を判定した。

### b) 実験結果

病原菌は接種種籾を育てた苗から接種後16日まで検出され，検出菌量は高温よりも低温の下で育てた苗の方が高かった（Table 19）。しかしこの間いずれも発病は認められなかった。

5葉期に接種したイネにおける病原菌は接種後18日目から検出され，穂孕期になると検出菌量は著しく高くなり，病斑を形成した（Table 20）。

Table 19. Recovery of *Pseudomonas fuscovaginae* from healthy seedlings grown from inoculated seeds (Phage method)

Temperature (°C)	Incubation time	Plaque forming units per ml		
		6	11	16 (Days)
12	0	$5.4 \times 10^2$	$3.0 \times 10^1$	$1.2 \times 10^2$
	24	$1.4 \times 10^6$	$1.3 \times 10^6$	$2.2 \times 10^6$
20	0	$3.6 \times 10^2$	$3.0 \times 10^1$	$8.0 \times 10^1$
	24	$2.3 \times 10^3$	$1.6 \times 10^3$	$6.5 \times 10^4$
25	0	$4.3 \times 10^2$	$5.0 \times 10^1$	$6.0 \times 10^1$
	24	$3.0 \times 10^3$	$2.1 \times 10^3$	$1.2 \times 10^3$
28	0	$6.0 \times 10^2$	$3.1 \times 10^2$	$1.9 \times 10^2$
	24	$1.2 \times 10^6$	$5.7 \times 10^4$	$7.0 \times 10^2$

**Table 20.** Multiplication of *Pseudomonas fuscovaginae* on healthy rice plants inoculated with bacterial suspensions at different stage (Phage method)

Inoculation time <sup>a)</sup>	Recovery from :	Propagation of phage <sup>b)</sup>					Disease incidence <sup>c)</sup>
		3	7	18	72* <sup>d)</sup>	77 (day)	
5th leaf stage	Upper leaves	—	—	—	—	—	15%
	Lower leaves	—	—	+	—	—	
	Upper sheaths	—	—	—	+++	—	
	Lower sheaths	—	—	+	—	—	
7th leaf stage	Upper leaves	+	+++	++	—	—	0%
	Lower leaves	+++	—	—	—	—	
	Upper sheaths	++	—	—	—	—	
	Lower sheaths	+++	+++	—	+	—	
Flag leaf stage	Upper leaves	+++	+++	+++	++	—	5%
	Upper sheaths	+++	+++	+++	+	—	

a ; 10<sup>6</sup> per ml bacterial suspension was sprayed at both 5th and 7th leaf stages of rice plants, 10<sup>7</sup> per ml at flag leaf stage

b ; Degree of phage propagation, — : no propagation, + : 10 times propagation, ++ : 10<sup>2</sup> times, +++ : 10<sup>3</sup> times over

c ; Percentage of affected plants at full heading stage

d ; \* : Booting stage of rice growth stage

7葉期に接種したイネにおける検出菌量は21日後まで高かったが、穂孕期には低くなり、発病は見られなかった。更に止葉期に接種したイネでは検出菌量は高く、穂孕期に発病した。

この結果から、本細菌は菌量は少ないが、病徴を示すことなくイネに生存することができ、穂孕期になれば著しく高まると考えられる。

## 2) 圃場のイネにおける生存

圃場のイネ体表面における本細菌の存在を明らかにするため、枯死した下葉および外観健全な茎葉部から経時的に病原菌の検出を行った。

### a) 実験材料および方法

供試材料：保菌籾から育てた「農林33号」の苗を上川農試圃場で慣行栽培し、田面水に垂れている枯死下葉から菌の検出を行った。

また、保菌籾および健全籾から育てた苗を移植期を変えて栽培し、外観健全な茎葉部における菌

の生存を調べた。

### 病原細菌の検出

i) 希釈平板法：下葉30枚を50mlの殺菌水中で洗い、希釈平板法により細菌を分離培養し、抗血清凝集法により病原菌を検出した。

ii) ファージ法：外観健全な10~30茎の上位葉身および葉鞘部を長さ4~5cmに細断し、ファージ法により菌の生存を判定した。

### b) 実験結果

保菌籾から生育したイネの田面水に垂れ枯死した下葉から6月26日以降病原菌が検出されたが、菌量は少なく10<sup>3-4</sup>/gであった (Table 21)。なおこのイネにおける初発病は6月16日に不時出穂茎で見られ、その後の病株率は28%であった。

保菌籾、健全籾から育てた外観健全なイネ体表面において、病原菌は6月20日から7月14日までの間検出されなかった。保菌籾から育てたイシカリの茎葉から7月22日の初発病の8日前に検出さ

**Table 21.** Recovery of *Pseudomonas fuscovaginae* from decayed lower leaves of rice plants (Dilution plate method, 1970)<sup>a)</sup>

Isolation date (month/day)	Number of total bacteria <sup>b)</sup>	Number of <i>P. fuscovaginae</i> <sup>b)</sup>
6.11	$2 \times 10^5$ <sup>b)</sup>	0
6.26	$8 \times 10^4$	$4 \times 10^3$
6.27	$4 \times 10^4$	$5 \times 10^3$
7. 7	$2 \times 10^5$	$1 \times 10^4$
7.22	$2 \times 10^5$	$6 \times 10^3$

a ; Initial occurrence of the disease was on 16 June

b ; Number of bacteria per gram fresh weight

**Table 22.** Seasonal variation in epiphytic populations of *Pseudomonas fuscovaginae* on rice plants (Phage method, 1977)<sup>a)</sup>

Isolation date	Bacteriophage propagation on rice plants <sup>b)</sup>			
	Rusty unhulled rice		Healthy unhulled rice	
	Ishikari <sup>c)</sup>	Souhoumochi <sup>c)</sup>	Ishikari <sup>d)</sup>	Ishikari <sup>d)</sup>
June 20	—	—	—	—
	—	—	—	—
July 4	—	—	—	—
	—	—	—	—
	+++	—	+	—
22	+++	—	+	—
28	NT	—	—	—
Aug. 1	+++	+++	+++	+++
Incidence of disease (%) <sup>e)</sup>	1	1	3	4

a ; Initial occurrence of the disease was on 30 July

b ; Degree of phage propagation, — : no propagation, + : 10 times propagation, ++ :  $10^2$  times, +++ :  $10^3$  times over

c ; Transplantation on 19 May

d ; Transplantation on 16 July

e ; Percentage of affected hill at full heading stage

れ、初発病2日後にはいずれのイネでも検出菌量が高まった (Table 22)。

これらから、本細菌は圃場のイネ体において田面水に垂れ枯死した下葉と発病前に外観健全な茎葉部にも生存し、穂孕期になると菌量が高まると考えられる。

### 3) イネ科植物における生存

イネ科植物における本細菌の生存を明らかにす

るため、イネ科植物の種子に接種し、この種子を育てた苗から病原菌の検出を行った。また水田周辺に自生するイネ科植物における生存についても検討した。

#### a) 実験材料および方法

供試細菌および接種法：7601株の $10^{7-8}$ /mlの細菌浮游液に種子を30分間浸漬して接種した。

供試植物：リードカナリーグラスその他イネ科

植物10種類の接種種子を120℃15分間高压蒸気殺菌した0.8%寒天加用石塚氏水耕液（岡島，1977）および無殺菌の床土（水田土壌）に播き，ガラス室内で育てた。

また，水田畦畔に自生するヌカボその他7種類の植物について病原菌の検出を行った。

#### 病原細菌の検出

i) 希釈平板法：接種種子から育てた苗は5～10個体，水田周辺に自生するイネ科植物の下葉は10～30枚を殺菌水中で洗い，各々希釈平板法によ

り細菌を分離培養し，抗血清凝集法により病原菌を検定した。

ii) ファージ法：水田周辺に自生するヌカボその他3種類のイネ科植物における本細菌の生存を所定の日ごとにファージ法により判定した。検出には下葉10～30枚を用いた。

#### b) 実験結果

接種種子から育てた10種類のイネ科植物の苗のうち，水耕栽培したりードカナリーグラス，ヌカ

**Table 23.** Multiplication of *Pseudomonas fuscovaginae* on healthy gramineous grasses inoculated with bacterial suspensions on seeds (Dilution plate)

Recovery from :	Day after inoculation	Water culture		Soil culture	
		A <sup>a)</sup>	B <sup>a)</sup>	A	B
<i>Phalaris arundinacea</i>	7	$3 \times 10^8$	$N^{b)}$ $\times 10^5$	$2 \times 10^5$	0
	15	$6 \times 10^9$	$4 \times 10^7$	$6 \times 10^5$	0
	21	— <sup>c)</sup>	—	$4 \times 10^4$	0
<i>Agrostis clavata</i> var. <i>nukabo</i>	7	$2 \times 10^4$	$1 \times 10^3$	$3 \times 10^5$	$1 \times 10^3$
	15	$3 \times 10^5$	$3 \times 10^3$	$2 \times 10^4$	0
<i>Agropyron intermedium</i> var. <i>intermedium</i>	7	$2 \times 10^8$	0	$2 \times 10^5$	$5 \times 10^3$
	15	$5 \times 10^{10}$	0	$2 \times 10^7$	$3 \times 10^5$
	21	—	—	$2 \times 10^6$	0
<i>Dactylis glomerata</i>	7	$6 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^3$	0
	15	—	—	$6 \times 10^3$	0
	21	$4 \times 10^5$	$2 \times 10^4$	$2 \times 10^4$	0
<i>Phleum pratense</i>	7	$1 \times 10^5$	$4 \times 10^3$	$2 \times 10^4$	$1 \times 10^3$
	15	$4 \times 10^5$	0	$4 \times 10^4$	0
	21	$2 \times 10^5$	$3 \times 10^4$	$9 \times 10^3$	0
<i>Festuca pratensis</i>	7	$7 \times 10^5$	$3 \times 10^3$	$1 \times 10^4$	$1 \times 10^3$
	15	$2 \times 10^7$	$1 \times 10^6$	$2 \times 10^7$	$1 \times 10^4$
	21	$4 \times 10^6$	$7 \times 10^4$	$2 \times 10^5$	0
<i>Festuca arundinacea</i>	7	$2 \times 10^6$	0	$2 \times 10^4$	0
	15	$7 \times 10^5$	0	$1 \times 10^6$	0
	21	$3 \times 10^6$	$2 \times 10^3$	—	—
<i>Lolium multiflorum</i>	7	$2 \times 10^7$	0	—	—
	15	$7 \times 10^8$	0	—	—
	21	$6 \times 10^6$	0	—	—
<i>Lolium perenne</i>	7	$7 \times 10^5$	$2 \times 10^3$	$2 \times 10^5$	0
	15	$3 \times 10^7$	$3 \times 10^5$	$9 \times 10^4$	0
	21	$2 \times 10^9$	0	—	—
<i>Poa pratensis</i>	15	$1 \times 10^6$	$9 \times 10^4$	$7 \times 10^3$	0

a; Number of bacteria per gram fresh weight, A: total bacteria, B: *P. fuscovaginae*

b; Extensive colonies prevented the counting of individual colonies

c; Not tested

**Table 24.** Recovery of *Pseudomonas fuscovaginae* from seven species of plants near balk and footpath (Dilution method, 1970, '75)

Recovery from :	Locality	Date of isolation	No. of total bacteria <sup>a)</sup>	No. of <i>P. fuscovaginae</i> <sup>a)</sup>	Media used
<i>Agrostis clavata</i> var. <i>nukabo</i>	Asahikawa	11 June 1970	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^4$	PDA
do	Higashi A.	30 June 1975	$2 \times 10^7$	$5 \times 10^4$	Nutrient agar
<i>Dactylis glomerata</i>	do	do	$6 \times 10^6$	$5 \times 10^4$	do
<i>Phleum pratense</i>	Asahikawa	do	$8 \times 10^3$	$4 \times 10^2$	NAC modified
do	do	9 July 1975	$6 \times 10^5$	$6 \times 10^2$	do
<i>Leersia oryzoides</i>	do	do	$4 \times 10^3$	0	do
<i>A. clavata</i> var. <i>nukabo</i>	do	do	$4 \times 10^4$	0	do
<i>Trifolium pratense</i>	do	do	$5 \times 10^5$	0	do
<i>T. repens</i> var. <i>giganteum</i>	do	do	$8 \times 10^5$	0	do

a ; Number of bacteria per gram fresh weight

**Table 25.** Seasonal variation in population of *Pseudomonas fuscovaginae* on gramineous grasses near balk, footpath and paddy field (Phage method, 1977)

Recovery from :	Bacteriophage propagation on gramineous grasses <sup>a)</sup>						
	June/20	25	July/4	14	22	28	Aug./1
<i>Agrostis clavata</i> var. <i>nukabo</i> (Footpath)	—	—	—	—	—	—	—
do (Balk)	NT	++	—	—	NT	—	—
<i>Poa pratensis</i> (Footpath)	NT	—	—	—	—	—	—
do (Balk)	NT	—	++ <sup>p</sup>	—	+++ <sup>p</sup>	—	—
<i>Leersia oryzoides</i> (Footpath)	—	—	—	—	—	—	—
do (Balk)	—	—	—	—	NT	NT	—

a ; Degree of phage propagation, — : no propagation, + : 10 times propagations, ++ :  $10^2$  times, +++ :  $10^3$  times over

b ; p : pine hole plaque

ボ、オーチャードグラス、チモシー、メドーフェスク、トールフェスク、ペレニアルライグラスおよびケンタッキーブルーグラスの8種類の植物体上で本細菌は少なくとも15日または21日まで病徴を現わすことなく生存した (Table 23)。

しかし、無殺菌の床土で育てた場合、菌量は水耕栽培に比べて少なく、ヌカボ、ホイートグラス、チモシー、メドーフェスクの4種類の植物のみに7日または15日まで生存したが、21日後には検出されなかった。また、いずれの接種植物も病徴を示さなかった。

イネの栽培期間に水田周辺に自生するイネ科植物のうち無病徴のヌカボ、オーチャードグラスおよびチモシーの下葉から本細菌が検出されたが、菌量は少なくとも $10^{2-4}$ /gであった。エゾノサヤヌカグサからは検出されなかった (Table 24, 25)。

なおケンタッキーブルーグラスから、指示菌7601株に対してピンホール型溶菌斑を示すファージが得られたが、これが本細菌ファージであるか否かは明らかでない。

これらのことから、本細菌は8種類のイネ科植物上で病徴を現わすことなく生存でき、更にイネの栽培期間に水田周辺に自生するヌカボ、オーチャードグラスおよびチモシーの病徴が全く見られない茎葉に本細菌は生存し、これらの植物は伝染源となりうると考えられる。

### 3. 病原細菌の侵入と発病

葉鞘褐変病は苗と穂孕期のイネに発生し、穂孕期には主に止葉葉鞘が発病し、出すくみ穂を生ずる。そこで止葉葉鞘病斑部の組織学的観察により病原菌の侵入部位を調査した。次いで穂孕期の各葉鞘について気孔の形態と罹病性の差異を検討した。更に生育時期を異にするイネに接種し、病原菌の感染方法と感染時期の関係を検討した。また出すくみ穂とみごの発病についても調査した。

#### 1) 侵入および増殖部位

穂孕期の止葉葉鞘部における病原菌の侵入とその後に増殖する部位を組織学的に観察した。

#### a) 実験材料および方法

供試材料および接種方法：人工接種により感染したイネおよび自然感染したイネの止葉葉鞘部を組織学的に観察した。人工接種による感染の場合はガラス室内でポットに栽培した穂孕期の「ユーカー」に $10^8$ /mlの細菌浮游液を噴霧接種し、25℃の温室に48時間保ち3～5日後に供試した。自然感染の場合は発病初期の水浸状病斑を用いた。

組織学的観察：ホルマリン、酢酸、エタノール混合液 (FAA, No. 2; 6.5: 2.5: 91.0) で固定した病斑部を、0.5%弗化水素酸で4日間脱硅酸処理したのち常法により7～10 $\mu$ mの横断、縦断連続パラフィン切片をつくり、Stoughtonの方法 (西山, 1945) で染色した。

#### b) 実験結果

侵入、増殖部位：人工接種により感染した葉鞘の横断切片を観察すると、本細菌は接種4日後に層状または塊状になって葉鞘裏面の一部に存在したが、葉鞘表面には認められなかった (Plate V, 1, 2)。気孔侵入に際し菌はまず葉鞘裏面の気孔副細胞上で増殖して塊状となり、そののち気孔開口部の前腔、後腔から呼吸腔内に侵入しそこで増殖していた (Plate V, 3, 4)。

また縦断切片でも特殊な形態の開いた気孔 (Plate VI, 1) の表面に菌が多数存在し (Plate VI, 2)、更に気孔直下の柔組織細胞間隙に入り増殖し塊状になるのが認められた (Plate VI, 3, 4, 5, 6)。

自然感染による水浸状病斑の横断切片をみると、菌は柔組織細胞間隙で増殖して通気腔に噴出し、塊状になって存在したが (Plate VII, 1, 2, 3)、横走および縦走維管束内部には認められなかった (Plate VII, 3, 4)。

また靱では内・外穎鉤合部および上表皮の凹部に塊状の菌が存在した (Plate VII, 5, 6)。

これらから、本細菌は止葉葉鞘裏面に存在する異常形態の開孔気孔から侵入し、柔組織細胞間隙を侵すものと認められる。

## 2) 穂孕期における葉鞘位別罹病性

自然感染による穂孕期の病斑は初め止葉葉鞘に現われ、葉身または下位葉鞘から現われることは殆どないので、止葉葉鞘は感受性であると考えられる。このことを明らかにするため穂孕期の各葉鞘について開孔気孔率および気孔開度と罹病性を比較した。

## a) 実験材料および方法

実験 — 1：ガラス室内でポットに栽培した「イシカリ」の穂孕期の各葉鞘について気孔の形態を観察した。また、これらの一部は気孔の開孔を促進するため蒸留水を噴霧したのちポリエチレン袋で被覆し、翌日の10時から18時の間に供試した。葉節の下方約10cmの葉鞘を切り取り、FAA No. 2で固定したのち徒手切片をつくり、気孔30個について開孔気孔率、気孔開度を調べた。

実験 — 2：圃場で栽培した穂孕期の「ユウカラ」の止葉、次葉、第3および第4葉鞘に $10^8$ /mlの細菌浮游液を噴霧接種した。また葉鞘に傷を作らないようにピペットで葉鞘内に同じ菌液を注入接種した。その後12日目に各葉鞘の発病率を調べた。

実験 — 3：温室内でポットに栽培した「イシ

カリ」の穂孕期に接種した。接種は、別の穂孕期のイネから抜き取った幼穂、および脱脂綿を $10^4$ /mlあるいは $10^6$ /mlの菌液に浸し、幼穂を抜き取った止葉葉鞘内および他の葉鞘内に挿入した。接種後温室に72時間保ったのちガラス室に移し、7日後に病茎率および発病度を調べた。

## b) 実験結果

実験 — 1：穂孕期のイネの各葉鞘における開孔気孔率の経時的变化をTable 26に示した。葉鞘裏側は快晴のときでも濡れており、各葉鞘裏面の気孔は被覆の有無および時刻にかかわらず87~100%が開いていた。一方、葉鞘表側の気孔はポリエチレン袋被覆の有無にかかわらず殆ど閉じていた。

次いで気孔の開度を経時的に見ると (Table 27)、無被覆の場合、10時から16時までの間は変化が少なく止葉葉鞘で常に $1.0\sim 1.1\mu\text{m}$ であり、次葉葉鞘、第3葉鞘では $0.6\sim 0.8\mu\text{m}$ であったが、18時にはいずれも10時から16時における開度の $\frac{1}{2}$ になった。

一方、被覆した場合、止葉葉鞘で12時に最大の $1.3\mu\text{m}$ になったが、次葉葉鞘、第3葉鞘では10時から18時までの間変化は少なく $0.5\sim 0.7\mu\text{m}$ の範囲

Table 26. Stomatal behavior on leaf sheaths at the booting stage of rice plants (1979)

Time of day (hour)	Covering of polyethylene bag	Frequency of opening stomata						Weather conditions	
		Abaxial side			Adaxial side				
		N <sup>a)</sup>	N-1	N-2	N	N-1	N-2		
10 hr	Covered	0	3	0	100	94	100	Fine	27.2°C
	No covered	3	0	0	100	97	100		
12 hr	Covered	0	0	0	100	100	100	Fine	29.5°C
	No covered	0	0	0	97	100	100		
14 hr	Covered	0	0	0	97	97	97	Fine	31.0°C
	No covered	0	0	0	100	100	97		
16 hr	Covered	0	0	0	100	100	97	Fine	29.5°C
	No covered	0	0	0	100	100	100		
18 hr	Covered	0	0	0	100	100	100	—	—
	No covered	0	0	0	87	97	94		

a; N: flag leaf sheath, N-1: second leaf sheath, N-2: third leaf sheath

**Table 27.** Diurnal variation of stomatal aperture on the adaxial side of leaf sheaths at the booting stage of rice plants

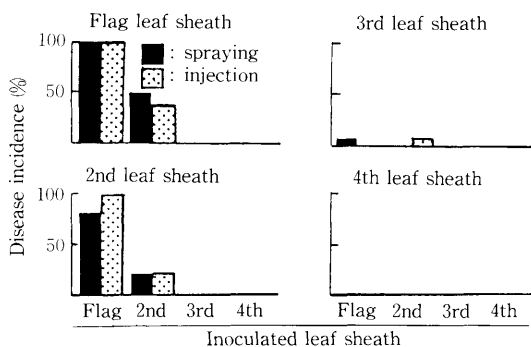
Time of day (hour)	Covering of polyethylene	Stomatal aperture <sup>a)</sup> (μm)		
		N <sup>b)</sup>	N-1	N-2
10 hr	Covered	0.7	0.7	0.5
	No covered	1.1	0.7	0.8
12 hr	Covered	1.3	0.6	0.6
	No covered	1.1	0.7	0.6
14 hr	Covered	0.9	0.5	0.6
	No covered	1.0	0.7	0.6
16 hr	Covered	0.8	0.5	0.5
	No covered	1.1	0.7	0.6
18 hr	Covered	0.7	0.5	0.5
	No covered	0.5	0.4	0.4

a; Values represent the mean of 30 stomata  
 b; N: flag leaf sheath,  
 N-1: second leaf sheath,  
 N-2: third leaf sheath

内であった。

実験 — 2: 圃場で接種した各葉鞘の発病を Fig. 6 に示した。噴霧接種によると止葉葉鞘が最も高い発病率を示し、次いで次葉葉鞘で、下位葉鞘は全く発病しなかった。この結果は注入接種した葉鞘でも同じであった。

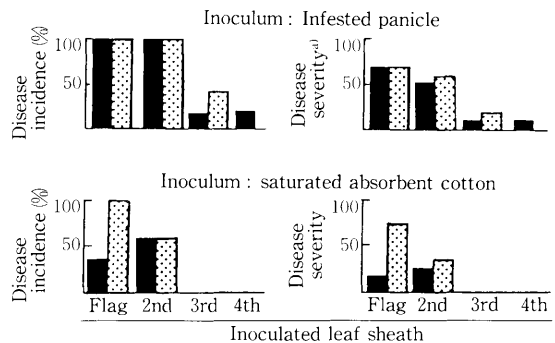
実験 — 3: 菌量の異なる菌液に浸した幼穂および綿を各葉鞘の内部に挿入したときの発病を Fig. 7 に示した。含菌綿の場合接種菌量が多いと



**Fig. 6** Susceptibility of the leaf sheaths at the booting stage of rice plants. (1968)

き止葉葉鞘の発病は激しかったが、少ないときはそれよりもはるかに劣った。一方、幼穂の場合は菌量の多少に関係なく発病度が高くなった。しかし、下位葉鞘では接種源および菌量に関係なく発病度は極めて低かった。

以上の結果から、止葉葉鞘裏面の気孔は開度が大きいので下位葉鞘よりも病原菌が侵入し易く、また止葉葉鞘は感受性も高いので、葉鞘内に病原



**Fig. 7** Inocula and disease development of the leaf sheaths. Inocula were put in each leaf sheath.

a; Based on the assessment of Table 1-(4) category.  
 ■ : Inoculum con. 10<sup>4</sup> per ml,  
 □ (dotted) : Inoculum con. 10<sup>6</sup> per ml

菌が侵入すると、幼穂および止葉葉鞘組織で増殖することにより発病が激しくなると考えられる。

### 3) 感染時期

イネの感染時期を明らかにするため、苗、分けつ期、止葉期および穂孕期と生育期の異なるイネに接種し、生育時期と発病の関係を検討した。なお接種時の気温をかえ、気温と発病の関係も調査した。

#### a) 実験材料および方法

実験 — 1: 2葉期、3葉期および4葉期の苗に吉村ら(1965)の3つの方法により接種した。すなわち、浸水接種は苗全体、浸漬接種は根部のみを2~3秒間10<sup>7</sup>/mlの細菌浮游液に浸した。穿針接種は菌液に浸した単針で葉鞘基部に傷を付けた。



接種苗を1/5,000 a ワグネルポットに移植した後、13℃または15℃に保ち、病茎率を11日後に調査した。

実験 — 2：ポットに栽培した分けつ期、止葉期および穂孕期のイネに対して注入接種または噴霧接種を行った。注入接種は分けつ期のイネには水際部の葉鞘から展開葉身内、止葉期および穂孕期には止葉葉鞘内に $10^7$ /mlの菌液を注射器で注入した。噴霧接種は $10^7$ /mlの菌液を10茎あたり10 ml噴霧した。対照は殺菌水を同様に注入あるいは噴霧した。

接種後湿室(RH100%)に24時間保った後、低温(10-18℃)、中温(14-22℃)および高温(18-26℃)に6日間保ったのち、ガラス室に移し所定の日ごとに病茎率を調査した。

実験 — 3：ポットに栽培した「しおかり」を幼穂の発育程度により止葉期から穂孕期までの期間をFig. 8のように6区分し、各時期ごとに接種

した。 $10^7$ /mlの菌液を噴霧接種し、湿室に24時間保ったのちガラス室に移し、15日後に発病度を調査した。

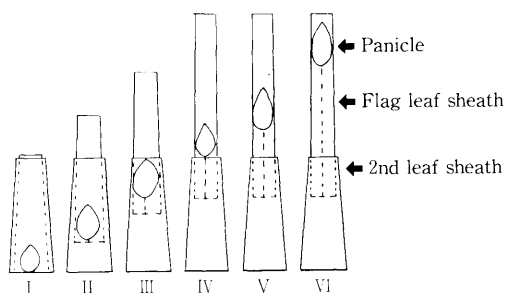


Fig. 8 Developmental growth stage of young panicle from the flag leaf stage (I) to the booting stage (VI).

b) 実験結果

実験 — 1：幼苗期の接種結果をTable 28に示した。

Table 28. Relationship between the incidence of seedling rot and the age of rice seedlings inoculated by different methods

Temperature (°C)	Age of seedlings at inoculation <sup>a)</sup>	Method of inoculation	Percentage of affected seedling (%) <sup>b)</sup>
13	2	Immersion <sup>c)</sup>	40
		Dipping <sup>d)</sup>	0
		Injection <sup>e)</sup>	100
	3	Immersion	40
		Dipping	40
		Injection	100
	4	Immersion	0
		Dipping	0
		Injection	100
15	3	Dipping	0
		Injection	0
	4	Dipping	0
		Injection	0

a; Plant age in leaf number

b; 11 days after inoculation

c; Immersion of the whole plant into the bacterial suspension of  $10^7$  per ml

d; Dipping root part into the bacterial suspension

e; A needle puncture at the basal part of leaf sheath

穿針接種した苗を13℃に保ったとき苗令に関係なく全ての苗は発病したが、浸水、浸漬接種後13℃に保った4葉期の苗、および15℃に保った苗は殆ど発病しなかった。

この結果から幼苗期の発病は気温が13℃のとき傷口あるいは若い苗の開孔部から侵入感染が始まると考えられる。

実験 — 2：分けつ期、止葉期および穂孕期のイネに対する接種時の気温と発病の関係を Fig. 9 に示した。注入接種したイネはいずれの生育時期でも気温に関係なく高い発病率を示したが、低温の下では発病は遅れた。

噴霧接種では穂孕期のイネのみが発病し、分けつ期および止葉期のイネは全く発病しなかった。

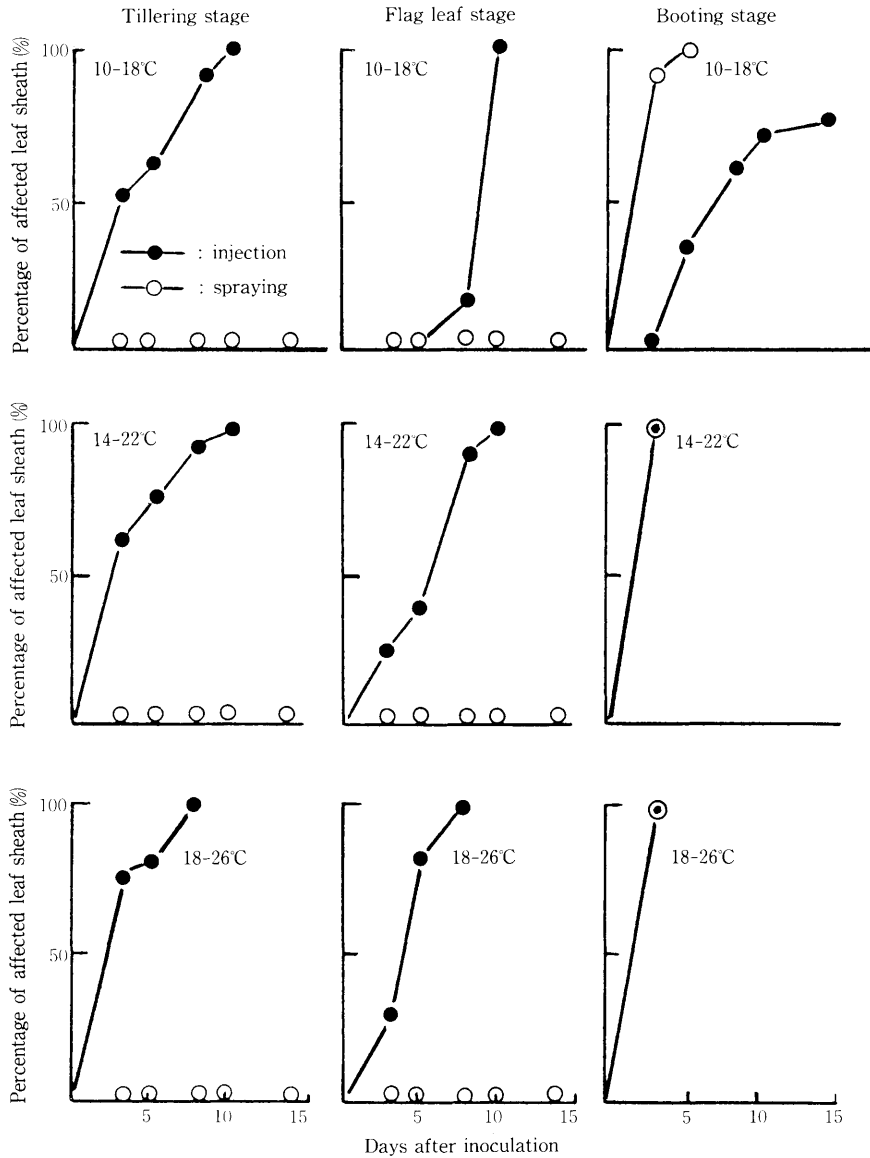


Fig. 9 Relationship between the disease incidence and the age of rice plants inoculated by different methods.

この結果から本細菌はイネのいずれの生育期でも傷口または止葉葉鞘内の開孔部から侵入し感染をおこすが、無傷のイネでは穂孕期のみに限られる。

実験 一 3：止葉期から穂孕期までの期間を6区分して噴霧接種した結果を Fig. 10 に示した。幼穂の位置が次葉葉鞘の底部の高さで、止葉葉鞘が固くとしている時期 (Fig. 8, I, II) に接種したときは全く発病しなかった。これに対し幼穂の先端が次葉葉節まで伸長し、止葉葉鞘が開き始める時期 (Fig. 8, III) 以降は発病し、幼穂の位置

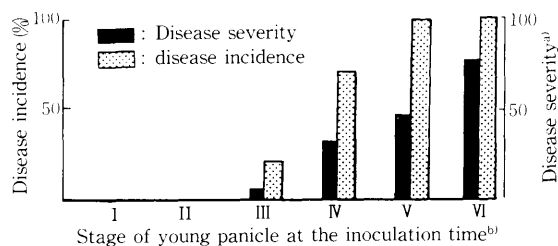


Fig. 10 Developmental growth stage of young panicle and the infection of flag leaf sheath.

a; Based on the assessment of Table 1-(4) category.  
b; Based on Fig. 8 category.

が高くなる方が発病度も高くなった。

以上の結果から、イネはいずれの生育期でも傷口からの感染により発病するが、無傷では穂孕期のみが感染するものと判断される。

#### 4) みごの発病と出すくみ穂

激しく発病した茎は穂が抽出せずいわゆる出すくみ穂を生ずる。イネ褐色葉枯病も同様に出すくみ穂を生ずるが、この病気では第1節間部、いわゆるみごが発病することなく出すくみ穂を生じ、その原因は病原菌の代謝産物によるみごの伸長阻害であるとされている (内藤, 越水, 1974)。これに対し本病についてみごの発病と出すくみ穂の関係を検討した。

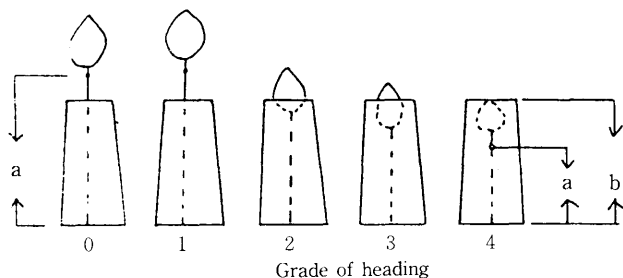
##### a) 実験材料および方法

自然感染により出すくみ穂が多発した圃場から、Table 29 に示した出すくみ度指数に該当する茎を採取し、みごの発病率と病斑長を調査した。

また、コンクリートワク水田およびガラス室内のポットに栽培したイネの穂孕期止葉葉鞘に接種し、みごの発病と出すくみ穂の関係を調査した。

Table 29. Assessment of the heading of rice plants<sup>a)</sup>

Grade	Heading category
0	Neck node of spike emerges from the healthy leaf sheath
1	Neck node of spike emerges from the affected leaf sheath
2	2/3 of panicle length emerge from the affected leaf sheath
3	1/3 of panicle length emerge from the affected leaf sheath
4	Panicle tip is below the affected leaf sheath



Emerged panicle : Grade; 0, 1  
Non-emerged panicle : Grade; 2, 3, 4  
a: Rachis  
b: Flag leaf sheath

a; Diagram illustrating a heading

接種菌量は前者では $10^8/ml$ 、後者では $10^{1-8}/ml$ とし、これを止葉葉鞘内に注入した。成熟期にみごの発病率と病斑長、出すくみ穂の発生率を調べ

た。

b) 実験結果

自然感染したイネまた人工接種したイネのいずれもみごの発病により出すくみ穂を生じ、穂の出すくみ度指数が大きいほどみごの発病率は高く病斑も長くなった (Fig. 11)。

また、接種菌量とみごの発病および出すくみ穂の発生率およびみごの発病率は高く、病斑も長くなった (Fig. 12)。

以上から本病における出すくみ穂はみごの発病によりその伸長が阻害されることによりおこるので、単に病原菌が増殖してその代謝産物によりみごの伸長が阻害されるとは考え難い。

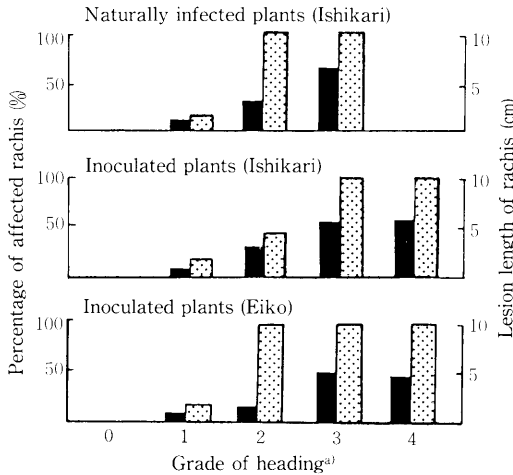


Fig. 11 Disease incidence of rachis and the heading of rice plants.

a; Based on the assessment of Table 29 category.  
 ■: Disease incidence (%)  
 ▨: Length of lesion

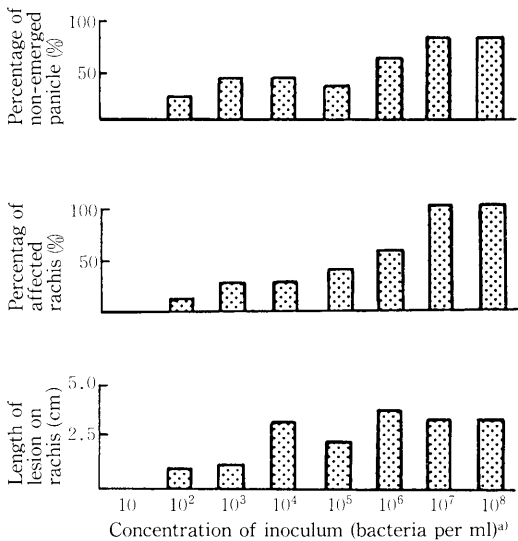


Fig. 12 Effect of inoculum concentration on infection of rachis and incidence of non-emerged panicle.

a: One ml of inoculum was injected into flag leaf sheath

4. 小 括

葉鞘褐変病菌は屋内で乾燥の下に保存された罹病籾および藁で越冬するが、野外に放置した藁では2~3ヵ月後に検出できなくなる。よって乾燥の下に保存された罹病イネは第1次伝染源となりうると考えられる。

本細菌は水田畦畔に自生するヌカボ、オーチャードグラス、チモシーの茎葉に生存しているが、菌量は少ない。この菌が風雨または灌漑水によりイネ体に伝播される可能性もあり、これらの保菌植物も伝染源となることは、水口周辺、また畦畔に接する部分のイネが局部的に発病する事実から示唆される。

本細菌は圃場で田面水に垂れ枯死したイネの下葉に菌量は少ないが生存しており、穂孕期になると止葉葉鞘部で菌量が著しく高くなり、次いで低温多湿の環境になると発病する。すなわち、本細菌は病徴を現わすことなくイネ体上に生存し穂孕期に感染する。このことは人工接種したイネでも明らかに認められる。

イネは苗腐敗を除き穂孕期になってから止葉葉鞘が発病するので、本細菌が侵入する部位を止葉葉鞘について組織学的に観察した結果、葉鞘裏面に存在する退化した異常形態の開いた気孔(星川、

1975) から侵入し、柔組織細胞間隙で増殖する。しかし、葉鞘表面の気孔から侵入せず、維管束中には認められなかった。よって本細菌は葉鞘裏面の異常形態の気孔から侵入し、細胞間隙を侵害する柔組織病菌と認められる。

穂孕期の止葉葉鞘は下位葉鞘よりも気孔開度が大きく、また自然感染あるいは無傷接種いずれの場合でも発病し、下位葉鞘は殆ど発病しない。従って止葉葉鞘は病原菌が侵入し易く、感受性が高いと考えられる。

また穂を抜き取った止葉葉鞘内に低菌量の含菌綿または含菌幼穂を挿入し接種すると、綿に比べ幼穂による発病の方が大きかった。このことは幼穂組織が病原菌の増殖にとって好適な基質となっていることを示唆している。

本病が移植後の苗と穂孕期に発生することはイネの感受性が生育時期によって異なることを示している。

苗腐敗は、低温の下で苗令の異なる苗に無傷接種すると、成苗よりも幼苗で多発した。従って、苗腐敗に対する感受性は幼苗期において高いものと考えられる。

分けつ期のイネは傷口からの感染のみによって発病し、止葉期および穂孕期のイネは止葉葉鞘内に菌液を注入すると開孔部からの感染によりいずれも発病する。しかし噴霧接種では穂孕期のイネのみが発病する。すなわち穂孕期には葉鞘の重なり合っている部分が開くので病原菌は葉鞘内に侵入するが、止葉期には葉鞘がとじているので侵入しないと認められる。従って、自然感染において

穂孕期のイネが発病することはイネの生育にともなう形態的变化により菌の侵入する機会が多くなるためと考えられる。

激しく発病した茎は出すくみ穂を生ずるが、その原因は、穂孕期に葉鞘内部に侵入した病原菌により最も速やかに伸長するみごの下部が感染し、組織の壊死がおこるため、伸長が阻害されるためと考えられる。

## B 発生環境

本病の発生は年により著しく変わるが、古くから冷害年に多発するとされている(栗林, 1926)。本病の発生要因のうち気象と栽培環境、とくに移植期および施肥量の関係を調べた。

### 1. 気象要因と発病

気温、湿度と発病およびイネ組織における病原菌の増殖との関係を調査した。

#### 1) 気温と発病

本病は冷害年のうちでもとくにイネの穂孕期が低温の年に多発すると認められており(秋田, 沢崎, 1973; 宮島, 秋田, 1975; 千葉ら, 1977), その原因について接種したイネの発病およびイネ組織における病原菌の増殖に及ぼす気温の影響を検討した。

Table 30. Assessment of the heading of rice plants

Grade	Heading category
0	Panicle tip is below the flag leaf sheath
1	1/3 of panicle length emerges from the flag leaf sheath
2	2/3 of panicle length emerge from the flag leaf sheath
3	Neck node of spike emerges from the flag leaf sheath

Degree of heading =  $\sum(\text{Value of grade} \times \text{number of tillers in each grade}) \times 100/3 \times \text{total number of tillers}$

### (1) 発病に及ぼす気温の影響

穂孕期のイネに接種し、昼夜の気温を変え、発病および出穂に及ぼす影響を検討した。

#### a) 実験材料および方法

ポットに栽培した穂孕期の止葉葉鞘に  $10^7/ml$  の

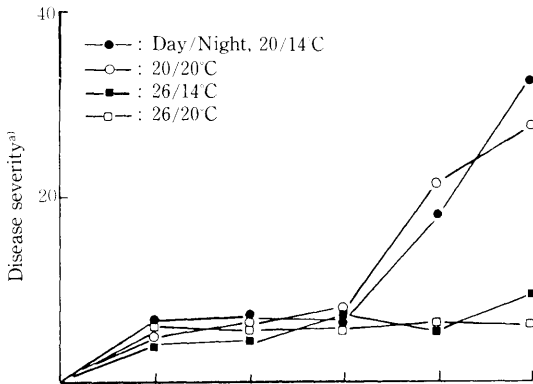


Fig. 13-A Influence of four different day/night temperatures after inoculation at the booting stage on disease development.

a; Based on the assessment of Table 1-(3) category

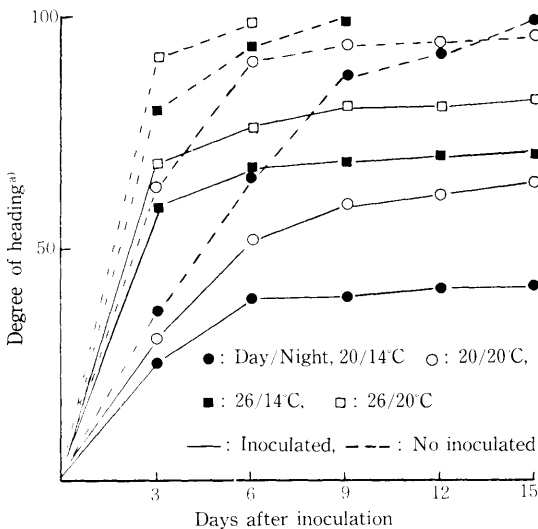


Fig. 13-B Influence of day/night temperatures after inoculation at the booting stage on the date of heading.

a; Based on Table 30 category

細菌浮游液  $1 ml$  を注入接種した。接種したイネは昼間 (9-17時)  $20^\circ C$  あるいは  $26^\circ C$ 、夜間 (17-9時)  $14^\circ C$  あるいは  $20^\circ C$  に調整した4つの人工気象室に5日間置いた。その後ガラス室に移し、発病度およびTable 30の基準による出穂度から出穂の経過を調査した。

#### b) 実験結果

穂孕期に接種したイネを昼夜変温環境に保ったときの発病をみると、昼間  $20^\circ C$  では接種6日後まで水浸状の初期病斑が進展し、発病度は低かったが、15日後には  $26^\circ C$  よりも発病度は著しく高くなった。しかし、夜間の気温は発病に殆ど影響しなかった (Fig. 13, A)。

更に気温と出穂の関係についてみると、昼間  $20^\circ C$  のとき  $26^\circ C$  よりも出穂が遅れ、夜間の気温の低い方が激しい出すくみ穂を生じた (Fig. 13, B)。

以上から穂孕期に接種したイネに対して夜間よりも昼間の気温は感染、発病および出穂に大きな影響を及ぼし、特に昼間が低温のとき感染すると発病は激しくなり、出穂は遅延すると認められた。

### (2) イネにおける菌の増殖と気温

人工接種した穂孕期のイネの発病と、組織における本細菌の増殖に及ぼす気温の影響を検討した。

#### a) 実験材料および方法

前項実験と同様に穂孕期に接種したイネを、低温 (昼間  $17^\circ C$  - 夜間  $11^\circ C$ )、中温 ( $23^\circ C$  -  $17^\circ C$ ) および高温 ( $29^\circ C$  -  $23^\circ C$ ) に14日間保ち、発病度と発病回数所定の日ごとに調べた。

止葉葉鞘と穂における本細菌の定量は、所定の日ごとに長さ  $2 \sim 3 cm$  に切り取った組織を  $100 ml$  の殺菌水中で2回洗浄したのち、乳鉢で磨砕し希釈平板法により行った。病原菌は抗血清凝集法により判別し、生体重  $1 g$  当り菌量で表わした。

#### b) 実験結果

穂孕期に接種したイネを異なる気温の下に保ったとき、止葉葉鞘および穂の発病とその組織にお

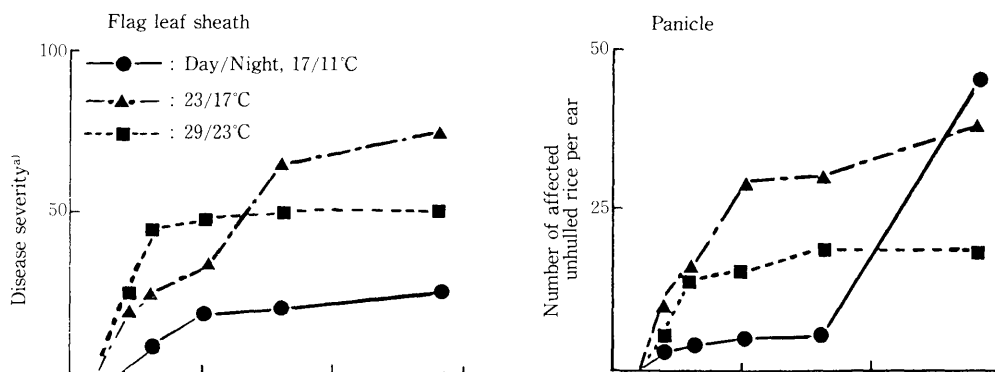


Fig. 14-A Influence of three different day/night temperatures after inoculation at the booting stage on disease development.  
a; Based on assessment of Table 1-(4) category

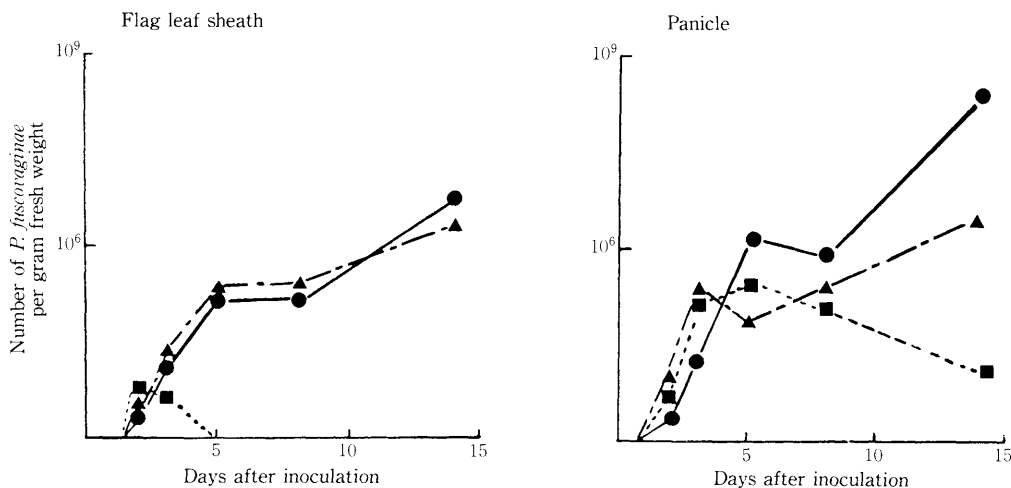


Fig. 14-B Influence of day/night temperatures on the multiplication of *Pseudomonas fuscovaginae* in inoculated flag leaf sheaths and panicles.

ける菌の増殖の関係を Fig. 14 に示した。

低温に保ったイネでは、葉鞘の水浸状病斑は14日後まで進展拡大し、その間菌は活発な増殖を示した。穂では水浸状の病粒数が漸増し、菌は最も旺盛に増殖し $10^8/g$ に達した。中温に保ったイネでは葉鞘に黒褐色～灰褐色の病斑が生じ、菌は活発に増殖したが、穂では褐変粒は日数がたつにつれ漸増し、菌は緩慢な増殖を示した。一方、高温に保ったイネでは、葉鞘の病斑は進展拡大を停止し、菌も殆ど増殖せず、穂でも病粒数は少なく、菌量も減少し $10^4/g$ になった。

以上のことから、穂孕期が低温のとき本細菌は活発に増殖するが、高温では殆ど増殖しないと認められた。更に菌の増殖は止葉葉鞘よりも穂組織で著しく良好であると考えられる。

## 2) 湿度と発病

細菌病は一般に多湿の下で多発し、これは植物体表面における病原細菌の移動が助長されるためとされている (Lucas and Grogan, 1969; Leben et al., 1970)。本病の発生にも高い湿度は重要な要因であると推察され、感染、発病に及ぼす高い湿

度の持続する時間の影響を検討した。

### a) 実験材料および方法

ポットに栽培した穂孕期のイネに $10^7$ /mlの細菌浮游液を噴霧接種し、飽和湿度、24~28℃に3~72時間保ったのち野外において水滴を乾かしたのちガラス室に移した。接種6日後に病莖率、15日後に発病度を調査した。

### b) 実験結果

接種イネを飽和湿度の下に保った時間と感染、発病の関係をFig. 15に示した。接種直後のイネを乾かしたとき発病は認められなかった。しかし、飽和湿度の下に3時間以上保つと発病し、その時

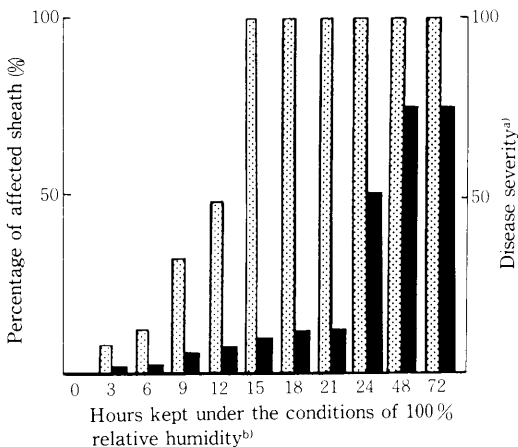


Fig. 15 Influence of moist hour on disease development at the booting stage after spray inoculation.

a; Based on assessment of Table 1-(4) category.  
b; Disease incidence was recorded in 6 days, Disease severity in 15 days after inoculation.  
■: Percentage of affected sheath (%)  
▨: Disease severity

間が長いほど発病率は高くなり、15時間以上では100%に達した。また発病度も飽和湿度の下に保つ時間が24時間以上になると増加した。

## 2. 移植時期と発病

イネの移植期の早晚と発病の関係を検討した。

### a) 実験材料および方法

品種「農林33号」と「ささほなみ」について移植期を変えて上川農試圃場に栽培し、7月上旬以降所定の日ごとに50株ずつについて発病株率を調査した。

### b) 実験結果

移植期による発病を見ると、5月下旬に移植したイネに比べ6月中旬以降に遅植えしたイネは初発病および出穂期が遅れ、その後の発病株率も少なかった。しかし、「ささほなみ」は6月5日に移植したとき発病株率は著しく高かった (Fig. 16)。

これらから標準移植期に比べ極端に遅植えしたイネの初発病は遅れ、発病株率は低い傾向が認められた。ただし通常の移植期間内での早晚と発病の間に一定の関係は見られなかった。

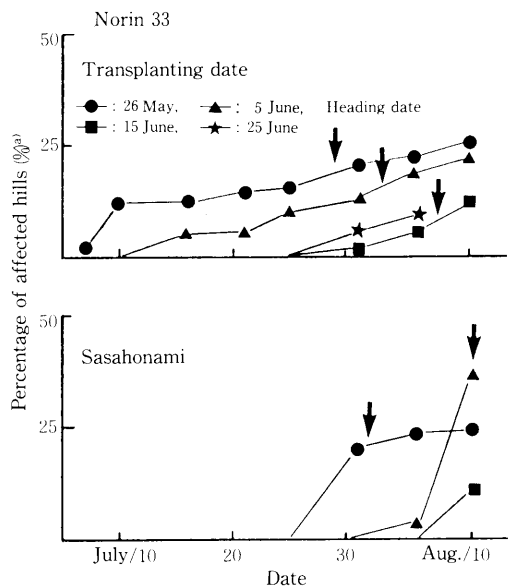


Fig. 16 Relationship between transplanting date and disease incidence in two rice varieties with difference of heading time. (1970)

a; Values were recorded out of 50 hills in each plots.

## 3. 施肥と発病

窒素の施用量、施肥量と本病の発生の関係を自然感染または人工接種による発病イネについて検



討した。

1) 窒素の施用量と発病

窒素施用量を異にした圃場で本病の発生を比較した。

a) 実験材料および方法

品種「農林33号」、「ささほなみ」、「ユーカラ」の成苗を上川農試圃場に15×30cmの栽植密度で5月26日に1株2本植えた。

窒素施用量は10a当り要素量で4, 8, 12, 16, 32kgの5段階とし、磷酸、加里は全て8kgおよび6kgを施用した。

発病調査は前項の実験と同様に行った。

b) 実験結果

窒素施用量と発病の関係を見ると、「ユーカラ」では初発病日は施肥量の少ない区が早かった(Fig. 17)。「農林33号」は32kg区よりも低かったが、「ささほなみ」、「ユーカラ」では逆に32kg区よりも高く、窒素量と発病の関係には一定の傾向が見られなかった。

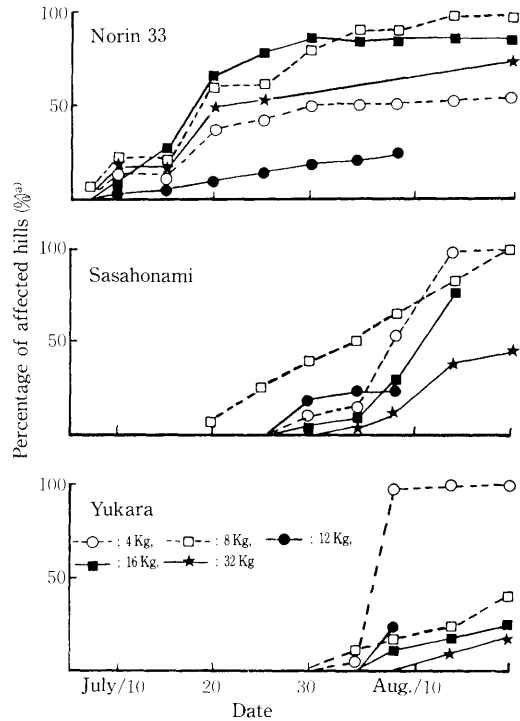


Fig. 17 The amount of applied nitrogenous fertilizer and disease incidence at three varieties with differences of heading time. (1970)<sup>b)</sup>

a ; Values were recorded out of 50 hills in each plots.  
b ; Phosphorus and potassium were 8Kg and 6Kg per 10a at all plot, respectively.

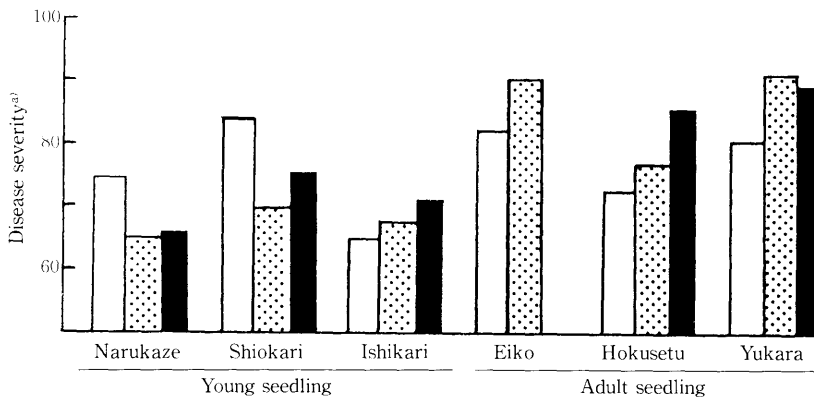


Fig. 18 Amount of applied fertilizer and disease severity after inoculation at the booting stage. (1971)

a ; Based on assessment of Table 1-(4) category.

□ : Standard application (N : 8, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> : 6, K<sub>2</sub>O : 4Kg per 10a),

■ : 1.5 times at standard amount,

▨ : 2.0 times at standard amount

## 2) 施肥量と発病

窒素、燐酸および加里を配合した施肥量と発病の関係を人工接種したイネについて検討した。

### a) 実験材料および方法

品種「なるかぜ」、「しおかり」、「イシカリ」の稚苗および「栄光」、「ほくせつ」、「ユーカラ」の成苗を前項実験と同様に5月23日に移植した。

標準施用区は10a当り要素量で窒素8kg、燐酸6kg、加里4kgとし、更にこれの1.5倍区、2.0倍区をもうけた。

接種は $10^{8-9}$ /mlの細菌浮游液を穂孕期の止葉葉鞘30茎に注入し、成熟期に発病度を調べた。

### b) 実験結果

人工接種したイネについて施肥量と発病の関係をFig. 18に示した。

標準施用区における発病度を見ると、「なるかぜ」、「しおかり」は2倍区よりも高かったが、「イシカリ」、「ほくせつ」および「ユーカラ」では逆に2倍区よりも低く、施肥量と発病の間には一定の傾向が認められなかった。なお、施肥量を増すと出穂期は稚苗から生育したイネが1～2日、成苗から生育したイネが3～4日遅れた。

## 4. 小 括

イネ葉鞘褐変病は冷害年、特にイネの穂孕期が低温多湿の年に多発する。穂孕期のイネを低温の下に保つと、イネの出穂は遅れ、その間病原菌はイネ組織内で旺盛に増殖し、感染、発病は増加する。昼間が低温のとき出穂は更に遅れ、発病は促進される。よって穂孕期の低温とくに昼間の低温は感染を増加し、発病を助長する大きな要因と考えられる。

高い湿度が3～15時間続くと感染率は高まり、24～48時間では発病は更に激しくなる。従って穂孕期における高い湿度は発病を助長する要因であると認められる。

移植期、窒素施用量および施肥量を変えるとそれにもない初発病日も変わるが、発病の多少とは一定の傾向が見られない。このことから栽培法の違いによってイネの穂孕時期が変り、その時期の気象条件により発病し、あるいは回避されるものと考えられる。

以上の結果から、低温、多湿の気象条件は発病に大きな影響を及ぼすが、移植期および施肥量は発病に直接関与しないものと考えられる。