

## 紅変米の発生要因に関する研究

### 第1報 胞子飛散と感染・発病過程\*

田中 文夫 \*\* 土屋 貞夫 \*\*

紅変米の病原菌 *Epicoccum purpurascens* の胞子飛散、感染時期、発病と米粒の登熟特性との関係を検討した。本菌は稻作地帯では非常に広範かつ高密度に分布しているが、主に畦畔のイネ科雑草や本田のイネの枯死葉が胞子飛散源となっている。飛散量はイネの出穂期ころより増大し、晴天の日中に集中する点でイネの開花特性と一致する。接種試験により開花中の穎花内への胞子の飛込みが主な感染方法と考えられた。穎内の潜入胞子は比較的速やかに発芽し生育するが、病斑形成まで約30日の日数を要した。米粒への接種により、糊熟期までの緑色の米粒は果皮の活性が高いために病原菌が侵入できず、黄熟期の緑白色の米粒は急激に本菌に対する感受性が高まることを認めた。更に米粒の水分含有率が高い程、紅変米の発生も多くなり、米粒の感受性はその水分含有量によっても著しい影響を受けることが明らかとなった。

#### 緒 言

紅変米の発生は古くから知られ、病原菌は *Epicoccum purpurascens* Ehrenberg ex Schlechtendahl とされている。1931年に多発した記録があるが<sup>2)</sup>、過去における発生動向は詳かでない。しかし1960年代に上川・後志地方、最近では1978、1982、1983、1985年に上川・網走地方を中心に多発し、産米の落等による被害が著しい。

伊藤・岩垂<sup>3)</sup>は稻体の倒伏および収穫後の乾燥法の不良が発生原因としている。また北海道以外の発生報告では広島県の高冷地（1983年、私信）、島根県<sup>1)</sup>、岩手県<sup>6)</sup>の冷害年の発生など、いずれも低温・湿潤な気象条件との関係が深いことが示唆されている。これは北陸地方における腹黒米<sup>9)</sup>、暗色米<sup>7)</sup>のようにフェーン現象などの高温・乾燥条件で多発する病害とは対照的な発生様相を呈し、発生機作の上で興味深い点が多い。

しかし本病は不定性病害としての性格が強いことから、上記の報告を除くと病原菌の生態および

発病条件に関する報告は少ない。

筆者らは1982年から1984年までの3年間、水田地帯における *E. purpurascens* の胞子飛散、感染・発病過程について検討し、二、三の知見を得たのでその結果を報告する。

#### 試験方法

##### 病原菌の胞子飛散

日別胞子飛散調査は1982～1984年の7月20日～9月10日の間、上川農試ほ場内で行った。品種「イシカリ」を栽培した水田内の水面上約40cmの位置に回転式胞子採集器を設置し、ゼラチンとグリセリンを塗付したスライドグラス2枚を12：00～13：00の1時間回転させた後に回収し、18×18mmのカバーグラス中の胞子数を顕微鏡下で計測し、その平均値を日別飛散数とした。

時刻別胞子飛散調査は1982年7月15、16日の晴天日に斉藤式連続胞子採集器（試作器）を用いて行った。イネ体上の胞子形成量については振出し法を用いた。即ち一定量の枯死葉をポリエチレン袋に入れ、ツイーン20を数滴添加した一定量の水道水を加えて振とうし、懸濁液中の胞子数を顕微鏡下で計測した。品種は「はやこがね」を用いた。

##### 感染・発病時期

感染時期調査は図1に示した如く、5,000分の1

1987年2月25日受理

\* 本報の一部は、1984年日本植物病理学会、北海道部会で発表した。

\*\* 北海道立上川農業試験場、078-02 旭川市永山6条18丁目

aのワグネルポットに中苗15本を円型に移植し、分けつ稗を除去し主稈のみを生育させた個体を材料として用いた。品種は「おんねもち」で、1区8ポットを供試した。出穂3日目(開花期)、同20日目(糊熟期)および同40日目(黄熟期)の穂に *E. purpurascens* (菌株番号: 81K-1) の胞子懸濁液 ( $1.0 \times 10^5$  胞子/ml) を1ポット当たり約50cc宛、噴霧接種した。供試菌株81K-1は *E. purpurascens* の胞子形成良好なスプロドキア型の1系統で、V-8 ジュース寒天培地上で21°C、20日間培養して得た胞子を用いた。接種後は保湿のため透明なポリエチレン袋でイネ体を被覆し、夜温15°C・昼温22°Cの人工気象箱中で登熟させた。接種10日目に被覆を除去した後、約1日おきに散水を繰り返し、出穂50日目に1区1,000粒の玄米について発生率を調査した。また上記各接種区の穂の一部を10日間隔で経時的に採取し、常法に従って内・外穎および米粒より接種菌の再分離を行い、米粒への侵入時期を調査した。更に1983年に農試ほ場で栽培した「おんねもち」、「空育112号」の穂を出穂後経時に採取し、発生消長の調査を行った。

#### 米粒の登熟特性と発病

米粒の登熟に伴う様々な生理的変化のうちで、米粒の活性度および米粒水分の推移と発病との関係を調査した。供試材料として前述の如く人工気象箱中(夜温15°C・昼温22°C)でポット栽培したイネ(品種「おんねもち」)の主稈の穂を出穂20日目(糊熟期)より10日間隔で採取し、ピンセットを用いて内・外穎を除去して得られた無傷の米粒を供試した。

米粒の活性度の評価方法は亜テルル酸ソーダ染色法<sup>4)</sup>(以下TS法)によって行った。即ち米粒各区200粒を1%の亜テルル酸ソーダ水溶液中に20°C、24時間浸漬後、現われた黒紫色の染色の程度を肉眼で測定した。これはTSが活性の高い原形質に吸着して細胞を黒紫色に発色させる性質を利用したものである。

米粒水分は得られた米粒を小型乾熱器で約150°C、1昼夜乾燥後、秤量して水分含有率を求めた。一方、上記の登熟日数を異にする無傷の米粒各区を常法に従って表面殺菌した後、図1に示した如く、米粒側部に病原菌(81K-1)の胞子懸濁液を米粒当たり約150胞子となるようにマイクロシリジングを用いて接種し、20°C、6日間温室内に静置し

た後に発病程度を調査し、米粒の本菌に対する感受性を評価した。

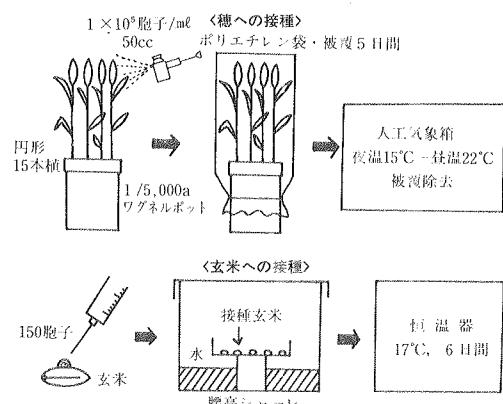


図1 接種方法

また農試ほ場で栽培し成熟期に収穫した1984年産の玄米(品種「おんねもち」)を30°Cの送風乾燥器あるいは殺菌水中に静置して水分を調整した後に同様の方法で81K-1を接種し、発病を観察した。各処理200粒を供試した。

#### 結 果

##### 病原菌の胞子飛散

*Epicoccum purpurascens* は水田地帯において非常に広範に分布するが、イネの生育期間中は畦畔のチモシー、スズメノカタビラ、レッドトップ、オーチャードグラスなどのイネ科雑草<sup>1)</sup>および本田のイネ体下部の枯死葉上で増殖し、多量の分生胞子を形成することが認められた。図2に示すよ

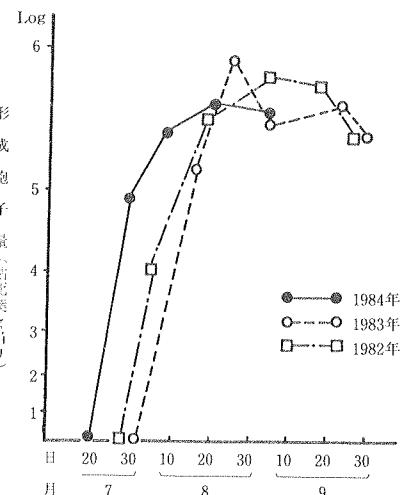
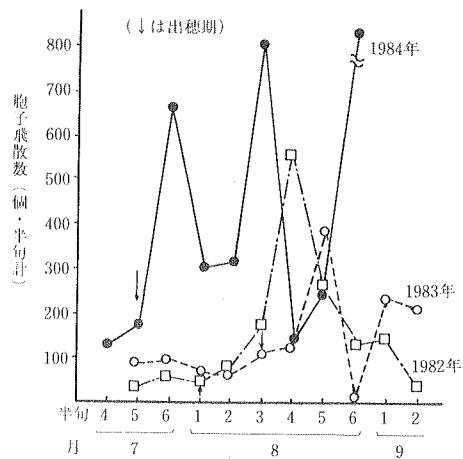


図2 イネ枯死葉における胞子形成

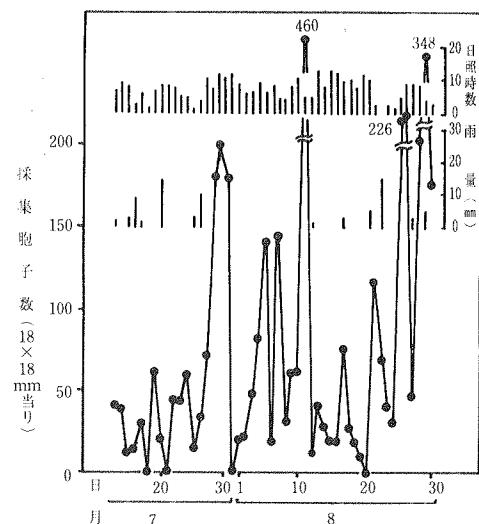
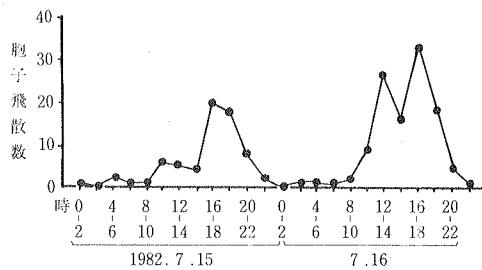
うに、イネ体上では7月下旬から胞子形成が認められ、8月上旬以降、下葉の枯れ上りとともに形成量は急激に増加した。生育期間中の胞子飛散は図3に示すようにイネの生育に伴う年次変動は認められるが、8月上旬以降増加し、8月中旬、下旬に最も多かった。一方、図4に示すように、日別胞子飛散では晴天日に飛散が集中し、雨天日には極めて少ない。また雨天の翌日、翌々日には再び増加する傾向を繰り返した。

1日のうちでは10:00~18:00の日中に多く飛散し、夜間は著しく少なかった(図5)。水田内の高さ別にみるとイネの株元の水面上0.2mで最も多く、同1m以下で多いが、同2.5mでも飛散が認められた。

図3 *E.purpurascens* の半旬別胞子飛散

#### 感染・発病時期

*E. purpurascens* のイネの内・外穎への感染時期を知るために行った接種試験の結果、開花盛期である出穂3日目の接種区での発生率が極めて高く、それ以降の接種区においては一般に低率であった(表1)。1983年に上川農試ほ場で栽培したイネ(品種「はやこがね」)の開花終了後の穎花を解

図4 *E. purpurascens* の日別胞子飛散 (1984年)図5 *E. purpurascens* の時刻別胞子飛散

剖して顕微鏡下で観察すると約20%の穎花中に自然感染した本病菌の胞子が認められた。更に出穂10日後には穎内での菌糸生育が認められることから、穎内の潜入胞子は比較的速やかに芽生え、穎花への感染・定着が完了するものと考えられた。

次に病原菌の接種による接種後の米粒の保菌率の推移ならびに紅変米の発生推移を表1に示す。開花期接種区では出穂30日目(黄熟期)ころから、

表1 *E. purpurascens* の接種時期と紅変米の発生

| 接種時期       | 出穂後日数 | 米粒の保菌率(%) |      |      |      | 紅変米発生率(%) |
|------------|-------|-----------|------|------|------|-----------|
|            |       | 20        | 30   | 40   | 50日  |           |
| 出穂3日目(開花期) | 4.9   | 39.2      | 44.8 | 36.0 | 15.5 |           |
| 20         |       | 6.8       | 32.7 | 32.5 | 0.4  |           |
| 40         |       |           |      | 7.8  | 0.9  |           |

表2 紅変米の発生推移 (1983年)

| 品種・系統  | 出穂後日数 | 紅変米発生率(%) |     |     |     |     |
|--------|-------|-----------|-----|-----|-----|-----|
|        |       | 20        | 30  | 40  | 50  | 65日 |
| おんねもち  |       | 0         | 0.3 | 0.9 | 2.8 | 4.0 |
| 空育112号 |       | 0         | 0.1 | 0.8 | 2.5 | 3.4 |

米粒の保菌率が急激に増加し、それに伴い紅変米の発生も増加した。しかし30日以降の接種区においては米粒の保菌率は遅れて増加するが、紅変米の発生にまで至らなかった。この結果、開花期の穎花への感染から病徵の発現まで約30日程度の日数を要することが明らかであった。表2に1983年

の上川農試ほ場での紅変米発生推移を示したが、上記接種試験の結果とほぼ同様の傾向であった。

#### 米粒の登熟特性と発病

登熟過程における米粒は乳熟～糊熟期ころまでは濃い緑色を呈するが、糊熟期以降は緑色が次第にうすれ、黄熟期に緑白色となり、成熟期には白となる。内藤<sup>4</sup>は米の胚の活性の簡易評価法として、トリフェニル・テトラゾリウム・クロライト (TTC), 亜テルル酸ソーダ (TS) などによる着色反応の程度によって米粒の活性度を表現した。そこで登熟過程に伴う米粒表面の活性度の推移を TS 法により検定した(表3)。出穂20日目ころ(糊熟期)の若い米粒は緑色を呈し、TS に極め

表3 米粒活性および米粒水分の推移と病斑形成

| 出穂後日数 | 米粒表面活性 a) |        | 米粒水分   | 接種による紅変症状 b) |       |       |
|-------|-----------|--------|--------|--------------|-------|-------|
|       | 全面染色粒     | 胚部染色粒  |        | 全面紅変粒        | 局部紅変粒 | 計     |
| 20日   | 57.8 %    | 23.3 % | 46.9 % | 1.6 %        | 4.8 % | 6.4 % |
| 30日   | 18.4      | 22.5   | 32.9   | 65.0         | 21.0  | 86.0  |
| 40日   | 6.0       | 76.0   | 29.9   | 34.0         | 36.0  | 70.0  |
| 50日   | 0         | 82.0   | 25.6   | 25.0         | 42.3  | 67.3  |

(注) a) 亜テルル酸ナトリウム 1% 液に 20°C, 24 時間浸漬後、黒紫色に染色される粒

b) 全面紅変粒：玄米表面の 1/2 以上が紅変した粒。

局部紅変粒： " 1/2 以下 "

て良く着色反応を示し、果皮の原形質活性が高いことが認められる。しかし出穂30日目(黄熟期)以降の米粒は表面の活性が次第に低下し、胚を除いて呈色しなくなる。それぞれの時期の米粒に *E. purpurascens* を接種した結果、乳熟～糊熟期の緑色の米粒では侵入が阻止されて病徵の発現が認められなかった。しかし黄熟期の米粒は激しい症状を示し、本菌に対する感受性が最も高かった。その後、成熟期には次第に発病程度が低下し、自然病斑に類似する局部的な紅変症状が多く出現した(表3)。一方、米粒水分は乳熟期をピークに次第に減少し、成熟期に約25%前後となるが、黄熟期以降の感受性の低下の原因として米粒水分の低下が重要と考えられたため、収穫後の玄米の水分を調整し、接種試験を行った。その結果を図6に示すが、米粒の本菌に対する感受性はその水分との相関が高いことが認められた。

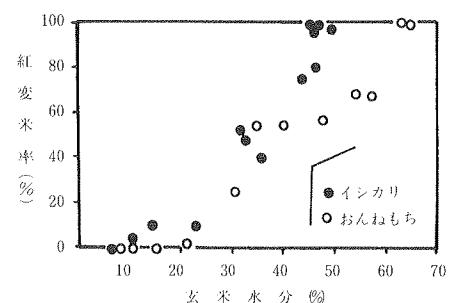


図6 玄米水分と発病 (玄米接種試験)

#### 考 察

農試内ほ場における *E. purpurascens* の分布は非常に広範に認められ、かつ分生胞子の空中飛散も極めて多い。飛散量の年次変動は認められるが、もろ病菌などに比較して毎年高い密度を維持しており、紅変米の発生量との関係は明らかでなかった。しかし降雨日に飛散が著しく抑制され、そ

の翌日あるいは翌々日に多く、時刻別には日中に集中するなどの点は腹黒米の病原菌 *Alternaria padwickii* について行った Sreeramula et al<sup>5)</sup>、田村<sup>9)</sup>の観察とほぼ一致する。胞子の飛散はその離脱との関係が深いことは明らかで、本菌の場合もイネの枯死葉に形成された分生胞子が夜露等によって離脱し、朝になって露が乾燥する頃から飛散するものと思われるが、夜露だけよりも降雨によって十分な水分を与えられた場合に胞子形成が豊富となり飛散が多くなるものと考えられる。

また前述の *A. padwickii* では胞子の飛散はイネの出穂期とほぼ一致することが報告されている<sup>5)</sup>が、上川地方においてはイネ作付面積の約 73% を占める早生種の出穂期が例年 8 月上旬となっており *E. purpurascens* の胞子飛散が多くなり始める時期とほぼ一致する。更に時刻別にはイネの花粉の飛散とほぼ同じ時間帯で開花時刻<sup>3)</sup>にも当たっており、これが胞子の穎花内への潜入を容易にする条件となっているものと考えられる。

本菌は開花終了直後の接種では穀の褐変を生ずる<sup>10)</sup>が紅変米の発生は非常に低率である。更に本試験の結果から本菌の穀への感染は主に開花期の穎内への胞子の飛込みによって起こる可能性が強い。穎内の潜入胞子は比較的速やかに発芽し、穎内で菌糸生育するが、糊熟期までの緑色の米粒には侵入し得ず、感受性の最も高まる黄熟期以降の緑白色の米粒に侵入を開始するようになる。この点は *E. purpurascens* がイネの緑色の健全葉には寄生せず、黄化葉あるいは枯死葉で増殖することと類似する。

一方、梅原ら<sup>12)</sup>は *Curvularia intermedia* の穎内接種による暗色米の初発生は開花期接種後 28 日目ころから認められるとし、竹谷ら<sup>8)</sup>は *C. intermedia* の胞子発芽が植物ホルモンのアブシジン酸 (ABA) で促進され、ゼアチンにより抑制されることから、暗色米発生の一要因として穀中の ABA が生育後期まで高レベルに維持され、同時にゼアチンが減少することが穎内の病原菌の発芽・生育に影響することを示唆している。*E. purpurascens* の胞子発芽に及ぼす ABA、サイトカイニン様物質の作用は明らかでなかった。今後更に検討が必要である。しかし本試験結果より、紅変米の発生に影響を与えるイネ側の要因として米粒水分が重要であった。果皮の老化に伴い急激

に感受性の増大した黄熟期以降、米粒への侵入が始まるが黄熟期から成熟期にかけての米粒水分の低下は病斑の拡大にはむしろ抑制的で、実際には玄米全体に着色が及ぶことは少なく、局部的な病斑が形成されることが多いと考えられる。なお自然病斑の大部分は玄米の背部に観察され、次いで側部が少数を占めるが、腹部に見られるのは極めて稀である。その理由として背部の通道組織の存在が病原菌に水分を供給し、侵入に好適な環境を与えること、背部の糊粉層は腹部の 1 ~ 2 層に比較し、3 ~ 6 層と厚く<sup>11)</sup>、澱粉層においてはデンプン粒の転流が腹部より早く老化が早いことが病原菌の増殖に有利に作用することが推測される。病斑の位置については、それが腹部に限られる腹黒米とは対照的であり侵入機作の点から興味深い。

以上の観察から薬剤防除の時期としては穎内潜入胞子の発芽の時期としての出穂、開花期および米粒への侵入開始時期の黄熟期が重要と考えられた。しかしそ他の発生要因として、前述のホルモン物質との関係、稻体窒素のバランスおよび根の活力との関係など未検討の点が多く、今後の調査が必要である。更に品種間差ならびに環境条件の影響についても明らかにされねばならない。

謝 辞：本試験の遂行に当り、児玉不二雄博士（元中央農試稻作部栽培第二科長、現中央農試病理科長）には終始有益な御助言、御指導をいただいた。なお本文の御校閲を賜った富岡暢氏（前中央農試病虫部長、現武田薬品工業株式会社）には厚くお礼申し上げる。

## 引 用 文 献

- 星川清親，“穀粒の発熟(1)”，農業技術，29，254—258 (1974).
- 伊藤誠哉、岩垂 健。“紅変米に関する研究”，北海道農試報告，31，1~84 (1934).
- 長尾正人，“稻の遺伝と育種 4~14”，養賢堂，1935，p.219
- 内藤 広，“穀類活性度の簡易検定法、第 1 報、発芽法と還元法による米の活性度の比較”，食糧研報，18，77~81 (1964).
- Sreeramula, T.; Seshavataram, V. “Spore content of air over paddy field. I. Change in a field near Pentapadu from 21 September to 31 December”, Indian Phytopath. 15, 61~74 (1957).

- 6) 諏訪正義, 小川勝美, 赤坂安盛, 渡部 茂. “1980年岩手県に発生した着色米について”, 北日本病虫研報, **32**, 110-112 (1981).
- 7) 竹谷宏二, 八木敏江, 石崎久次, 田村実. “石川県に多発した暗色米(仮称)について”, 日植病報, **45**, 98 (1979).
- 8) 竹谷宏二, 佐藤 勉, 八木敏江, “暗色米に関する研究, 梗内のホルモン物質と *Curvularia* 菌”, 日植病報, **48**, 346 (1982).
- 9) 田村 実, “*Alternaria padwickii* による腹黒米発現に関する生理生態的研究”, 石川県農試特別報告, **2**, 1-74 (1976).
- 10) 田中文夫, 土屋貞夫. “北海道におけるイネ褐変穀の発生に関する病原菌と発病条件”, 北日本病虫研報, **33**, 46-48 (1982).
- 11) 田中文夫, 土屋貞夫. “紅変米の病原菌 *Epicoccum purpurascens* の胞子形成”, 日植病報, **51**, 369 (1985).
- 12) 梅原吉広, 中川俊昭. “着色米に関する研究 12. 登熟温度と玄米の病徵との関係”, 日植病報, **47**, 363 (1981).
- 13) 山田員人, 門脇義行. “島根県における紅変米の発生”, 日植病報, **49**, 373 (1983).

## Factors Affecting for the Incidence of Pink Coloring of Rice Grains, Caused by *Epicoccum purpurascens*

### I. Conidial dispersion and infection to the glume and kernels

Fumio TANAKA\*, Sadao TSUCHIYA\*

#### Summary

Etiological and ecological researches on Pink coloring of rice grains caused by *Epicoccum purpurascens* were conducted. The pathogen will overwinter lurking on the rice straw and some weeds. Conidial formation of this fungus was found abundantly on the withered leaves of rice plant and on those of weeds. The conidia dispersed plentifully in fine weather, but rarely in rainy day, and were trapped in the next day or the day after the next of rainy day. As for the dairy change, the maximum of it was observed from 10:00 to 18:00 in day time, and the conidial dispersion were almost the same with the pollen dispersion of rice plant.

Conidia of the fungus were found occasionally in the glume after flowering. Panicles of rice plant which were inoculated with the causal fungus just in flowering time turned out to give severe occurrence of the disease. And it was observed that it took about 30 days from the infection in flowering glume to the formation of lesion on the surface of kernels.

Green rice kernels in dough-ripe stage were not infected by the fungus, but in yellow-ripe stage, the color of rice kernels turned to light green, which was caused by the reduction of chlorophyll content, and kernels were infected severely by the pathogen. It seems that pacing with to the reduction of activity of pericarp the resistance of rice kernels for the disease weakens. And the sensitivity of rice kernels to the fungus after yellow-ripe stage were closely related to the water content of them.

\*Hokkaido Prefectural Kamikawa Agricultural Experiment Station, Nagayama, Asahikawa, Hokkaido, 079, Japan.