

雑草メヒシバ(*Digitaria ciliaris*)の生物的防除への黒穂病菌利用の可能性

本藏 良三*・猪股恵里子¹

Potential Biological Control of a Weed, Large Crabgrass
(*Digitaria ciliaris*), by the Pathogenic Smut Fungus (*Ustilago syntherismae*)

Ryoso HONKURA* and Eriko INOMATA¹

Abstract

Large crabgrass (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.) is a nuisance in upland fields. This weed displaces useful plants from fields and pastures and grows among cultivated plants competing for nutrients, water, and light. The weed pathogen, smut fungus (*Ustilago syntherismae* (Schweinitz) Peck) specifically infects large crabgrass and causes significant damage, especially to weed seed development.

Smut fungus has been tested for its use as a microbial herbicide. When the germinating weed seeds were inoculated with spores of the pathogen, 53.3-93.3% of the seeds became diseased. The diseased plants showed almost the same growth as healthy plants, but produced no seed. Smut disease spread easily in fields where the weed grew thickly. In the field test where the pathogenic fungus infested the weeds, the number of weed seedlings was reduced by 70.0 % after one year, and reduced by 23.3% after two years.

This pathogen-host combination was shown to be quite effective in controlling the target weed. Smut fungus is likely to be used as a biological agent against the weed, although additional efforts to find a more effective inoculation method, to produce maximum numbers of infected seeds, and to determine how to use the infested seedlings of large crabgrass to decrease the number of healthy seedlings after one or two years are still required for satisfactory control.

(Received November 27, 2009 ; Accepted February 3, 2010)

Keywords : biological control, microbial herbicide, large crabgrass, smut fungus, *Ustilago syntherismae*

キーワード : 生物的防除, 微生物除草剤, メヒシバ, 黒穂病菌

緒 言

農耕地の雑草防除は第二次世界大戦後除草剤が導入されるまでは、もっぱら手取りと中耕除草機の利用によって行われていたため大変な労力を要していたが、除草剤の普及・開発に伴い省力的な雑草管理が可能になった。

しかし今日では、除草剤などの農薬が環境へ与える影響が懸念され、無農薬栽培・環境保全型農業への関心が高まっている。最近、化学肥料と化学合成農薬の使用量をともに地域の慣行の半分以下に削減する栽培

方法に取り組む農家が急速に増加している。

化学合成農薬以外の除草法の一つとして微生物を利用した除草法が上げられる。微生物除草剤は自然界に存在している微生物を利用するものであることから生態系に調和した技術化が可能で、環境汚染面からの心配が少なく、環境保全型農業を行ううえで有効な手段になると考えられる。我が国における微生物を利用した雑草防除に関して、1988年に鈴木により水田の難防除雑草クログワイの防除の可能性が示された⁵⁾。現在は畑雑草スズメノカタビラの防除剤として、日本タバコ

¹ 仙台農業協同組合

* Corresponding author (E-mail : honkura@myu.ac.jp)

産業株が開発した*Xanthomonas campestris*剤（商品名キャンペリコ）が唯一農薬登録され市販されている²⁾。

イネ科雑草のメヒシバ (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.) はいたるところでごく普通に発生し、メヒシバが主な競合雑草の場合には、トウモロコシ10%、大豆60%、陸稲70%、ラッカセイでは97%の減収になることもある⁴⁾。

メヒシバには葉にいもち病が多発生することが多いが、生育の抑制は顕著ではなく、いもち病菌を利用した防除の可能性は小さいものと思われる。

一方、黒穂病（病原菌*Ustilago syntherismae* (Schweinitz) Peck³⁾）は宮城県内では時々発生が確認される程度であるが、発病株の穂はすべてが黒穂病菌に侵害されて、1粒の種子も形成されない場合が普通である（第1図、第2図）。そのため、種子あるいは幼苗の感染率を高くできれば、処理初年目の除草効果はないものの、翌年の発生について高い抑制効果が期待できる。

本研究はメヒシバ黒穂病菌を微生物除草剤として利

用することにより、畑雑草として最も重要なメヒシバを防除することを目的として、黒穂病菌の接種方法、罹病株と健全株の生育の比較、自然感染による黒穂病の蔓延状況および圃場における黒穂病発病株の多少と翌年のメヒシバ実生の発生量との関係を調査した。

その結果、黒穂病菌を人工的に接種したメヒシバ種子の播種、あるいはメヒシバ発芽前に黒穂胞子を圃場に散布することにより、処理翌年のメヒシバ実生の発生量を抑制することが可能であり、メヒシバ黒穂病がメヒシバ防除に利用できるものと考えられたので、その内容を報告する。

実験材料および方法

1. 黒穂病菌の培養法

1) 供試メヒシバ黒穂病菌

- (1) 2002年10月に亶理郡亶理町逢隈で採集したメヒシバ罹病穂から分離した菌株（以下、逢隈菌と呼ぶ）
- (2) 2003年10月に仙台市泉区根白石で採集したメヒシバ罹病穂から分離した菌株（以下、根白石菌と呼ぶ）

2) 黒穂病菌の培養

(1) 黒穂病菌の分離と保存

前年秋に採集した罹病穂上の黒穂胞子を素寒天培地上に少量撒き、20～25℃の自然光型恒温器内で培養した。黒穂胞子の発芽が始まり、前菌糸先端部（担子器）に担子胞子を形成した時に、担子胞子を含む寒天片を切り取ってストレプトマイシンを添加した蔗糖加用ジャガイモ煎汁寒天培地（PSA培地）に移植した。その後、PSA斜面培地に移植して室温で保存した。

(2) 振とう培養

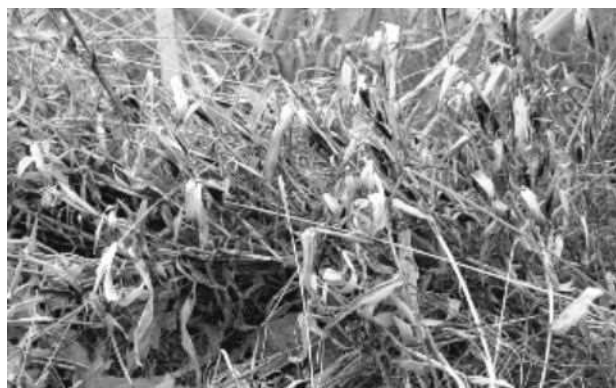
100または300mlの三角コルベンに20～80mlの蔗糖加用ジャガイモ煎汁液体培地（PS培地）を入れ、黒穂病菌菌糸体を少量加えて振とう培養（100または120回／分）を行った。培養は25または28℃の恒温器内において暗条件で行った。

2. メヒシバの栽培

1) 供試メヒシバ種子

接種実験年の前年10月に、周辺に黒穂病の発生が全く認められなかったガラス温室の内部に自生したメヒシバ個体から採種し、室温で乾燥した後に約5℃の冷蔵庫内で保存したものを使用した。

2) メヒシバ栽培法



第1図 メヒシバ黒穂病（発病株の全身症状）



第2図 メヒシバ黒穂病（穂の症状）

園芸培土（クレハ）と赤玉土を等量混合した用土を直径30cmの駄温鉢に詰めて、5月下旬～6月上旬に1鉢当たり12～30粒ずつ播種し、ガラス温室または網室内で成熟期の10月まで栽培した。

圃場実験では、雑草の中でメヒシバが優占し、ほぼ均一に生育していた約1aのトマト露地栽培跡地を使用し、施肥、耕耘は行わなかった。

3. 種子への接種方法

9cmペトリ皿に湿らせたろ紙を敷き、メヒシバ種子をペトリ皿1枚当たり50粒ずつの計100粒を播いて25℃の恒温器内に保持した。催芽2日後から発芽が始まり、3日後には約20%の種子が約1mm発芽した。これらの催芽3日後の種子に、葉さじ（小）一杯量の黒穂胞子または分生子液（培養菌糸片を含む）5mlを振りかけて接種した。接種後25℃の恒温器内に4日間保持し、種子の発芽状態を、発芽の兆候が全く認められない未発芽、鳩胸状態、3mm発芽、7mm発芽の4段階に分け、それぞれ15粒ずつを鉢に播種し、ガラス室内で育成した。

黒穂胞子は前年にメヒシバ穂に形成したものを採集し、室温保存したものを供試した。

分生子液（培養菌糸片を含む）は、約2週間振とう培養した菌液をガーゼでろ過し、通過した分生子を殺菌水で約 2×10^5 個/1mlの濃度に調整して使用した。

感染の有無は、出穂期ころの黒穂症状の発現の有無によって判定した。

4. 黒穂病罹病個体と健全個体の生育量の比較

園芸培土を詰めた3鉢に黒穂胞子を接種したメヒシバ種子を12粒ずつ播種した。網室内で栽培し、茎葉の生長を観察した。穂の発病が確認され茎葉の伸長が停

止した時期に抜き取り、罹病株と健全株について株毎の草丈、茎数および地上部の乾物重を測定した。

5. 自然感染による黒穂病の蔓延と翌年のメヒシバ発生抑制効果の調査

2004年にメヒシバが全面に繁茂した約1aの畑圃場を供試し、そのほぼ中央に、2005年6月に接種種子を数粒播種したところ、10月には草冠部の直径が約60cmの黒穂病罹病メヒシバが1株発生した。この圃場において2006年および2007年に黒穂病の発生状況を調査した。また、2008年5月22日に、前年の黒穂病多発地点と少発地点のメヒシバ実生の個体数を比較し、メヒシバの発生抑制効果を調査した。

実験結果および考察

1. 黒穂病菌の分生子形成条件の検討

接種には黒穂胞子、分生子および菌糸を利用する方法が考えられるが、分生子が培地上で大量に得やすいため、分生子の形成条件を検討した。



第3図 振とう培養で形成された分生子（描画、×400）

第1表 培養条件と分生子形成との関係

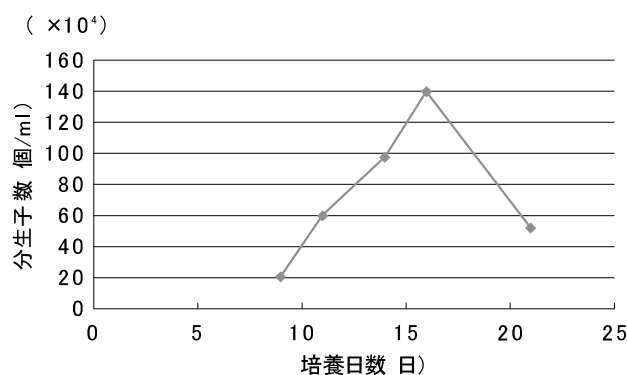
培地の量	供試菌株	培養方法	振とう速度	培養温度	培養結果
100ml三角コルベンに20ml	根白石菌	振とう培養	120回/分	28℃	分生子形成あり
		静地培養	—	28℃	菌糸のみ増殖
	逢隈菌	振とう培養	120回/分	28℃	菌糸のみ増殖
		静地培養	—	28℃	菌糸のみ増殖
100ml三角コルベンに20ml	根白石菌	振とう培養	120回/分	25℃	分生子形成あり
	逢隈菌	振とう培養	120回/分	25℃	菌糸のみ増殖
100ml三角コルベンに40ml	根白石菌	振とう培養	100回/分	25℃	菌糸のみ増殖
	逢隈菌	振とう培養	100回/分	25℃	菌糸のみ増殖
300ml三角コルベンに80ml	根白石菌	振とう培養	120回/分	25℃	菌糸のみ増殖
	逢隈菌	振とう培養	120回/分	25℃	菌糸のみ増殖

注) 培地はPS培地を使用した。

20mlのPS液体培地を含む100ml三角コルベンに少量の菌糸体を添加し、振とう速度120回/分、25または28℃で振とう培養した場合に、第3図に示したような分生子を形成した(第1表)。

分生子は培養8日目から確認され、16日目に分生子濃度が 1.4×10^6 個/mlで最大となり、その後減少した(第4図)。

その他の条件下では菌糸のみが増殖した。根白石菌は分生子を形成した同一条件下で培養しても分生子が



第4図 振とう培養日数と分生子形成量との関係

形成されないことがあり、分生子形成は不安定であった。逢隈菌はいずれの条件でも分生子を全く形成しなかった。

2. 種子への接種方法の検討

発芽中の種子に黒穂胞子を少量振りかけて接種した場合の感染・発病率を第2表に示した。接種4日後でも発芽の見られなかった発芽の遅い個体ほど発病株率が高く、15個体中14個体で発病が認められた。鳩胸状態から約3mm発芽した個体では15個体中11~12個体で発病が認められた。接種4日後にすでに約7mm発芽した発芽の最も早かった個体では15個体中8個体に発病が認められた。

なお、同様の調査を2回行ったが、ほぼ同様の結果が得られた。

第2表 接種時のメヒシバ発芽状態と黒穂病感染率との関係

発芽状態*	健全株数(株)	感染株数(株)	感染率(%)
未発芽	1	14	93.3
鳩胸状態	4	11	73.3
3mm発芽	3	12	80.0
7mm発芽	7	8	53.3
(無接種)	30	0	0

*接種4日後の状態

発芽中の種子に分生子液(菌糸片を含む)をかけて接種した場合には発芽の早い種子、発芽の遅い種子ともに発病は全く認められなかった。

以上の結果から、メヒシバに黒穂病を起こさせるには黒穂胞子を用いて、発芽時に接種する方法が確実に高い感染率が得られることが明らかとなった。今後は人工培養による黒穂胞子の形成条件の検討が必要であろう。

なお、分生子懸濁液を出穂以前の未成熟穂を含む葉鞘内に注射器を用いて菌液を注入接種した場合、出穂後の穂に噴霧器を用いて菌液を噴霧接種した場合のどちらも発病は全く認められず、正常に出穂して正常な種子が着生した。

穂に接種した場合、胚周辺に菌糸が共存していることも考えられたことから、種子を採集し、翌年5月に播種して、10月まで黒穂病発生の有無を調査したが、発病は全く認められなかった。

黒穂病菌の感染方法には、子苗感染、胚感染、苗条感染と局部感染の4種の型が考えられている¹⁾。今回実施した接種実験の結果および罹病個体はすべての穂が発病したことから、メヒシバ黒穂病菌の感染は幼芽あるいは幼苗時に起こるものと推察される。

3. 黒穂病がメヒシバの生育に及ぼす影響

催芽時に黒穂胞子を接種した種子を鉢植えした後、生育を観察した。穂ばらみ期の罹病の有無が確認されるようになった時期に健全株と罹病株の草丈、茎数、地上部の乾物重を調査し、その結果を第3表に示した。地上部の乾物重には差異は認められなかったが、罹病株の平均草丈54.7cmに対して、健全株は62.1cmと草丈に有意な差異が認められた。しかし、乾物重に差がなかったことから考えると、罹病株と健全株が混在した場合に太陽光の受光に優劣が生じるほどの大きな草丈の差はないものと考えられた。

生育の観察では、穂が形成されるころまで健全株と罹病株の見分けが全くつかなかったが、出穂期が近づくと止葉と次葉の葉鞘が異常に膨らみ、内部に黒穂胞子が形成され、穂の発病が確認できた(第2図)。

罹病株の発病穂率を調査した結果、罹病株22株に着生した穂数は合計224本であったが、すべての穂が黒穂症状を示し、穂全体が黒穂胞子により黒粉化し、種子は全く形成されなかった。

黒穂病菌がメヒシバ幼苗に感染しても、メヒシバは感染の影響を大きく受けることなく生育し、穂の形成期以後は幼穂組織に多量の黒穂胞子を形成して、メヒ

第3表 黒穂病罹病個体と健全個体の生育量の比較

黒穂病感 染の状態	調査株数 (株)	草丈 (cm)		茎数 (本/株)		乾物重 (g/株)	
		平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差
罹病株	22	54.7	±5.7	10.2	±2.6	13.2	±2.1
健全株	14	62.1	±6.5	10.2	±3.3	15.4	±3.1
平均値の有意差検定*		有意差あり		有意差なし		有意差なし	

*t-検定 (p<0.05)

シバの種子形成を完全に阻害した。メヒシバにとっての黒穂病の被害は枯死や生育抑制ではなく、種子形成阻害が主たるものであった。

4. 自然感染による黒穂病蔓延の状況

2005年に黒穂病菌接種種子の播種により、メヒシバが均一に繁茂するほぼ中央に1株のみ発病した約1aの畑を得た。この畑を用いて、2006年と2007年における黒穂病の広がりを調査した。

2005年に1株のみの発病であったものが、2006年には前年の発生地周辺の直径約1mに21株が集中して発病した。さらにその周辺半径約6mの範囲内に発病株が散在し、遠いものでは約8m離れた所でも発病があり、合計31株の発病が認められた(第5図)。

2007年には、さらに発生が拡大した。圃場を1m四方に区画して、各区画内の黒穂病罹病株数を10月下旬に調査したところ、前年に発病の多かったところでは64~152株/m²の発病株が存在し、発病株率でみると21.1~37.7%であった。その周辺では約20~30株/m²の発病株が認められ、前年には発病株がなかった圃場周辺部でも数株/m²以上の発病が認められることが多く、

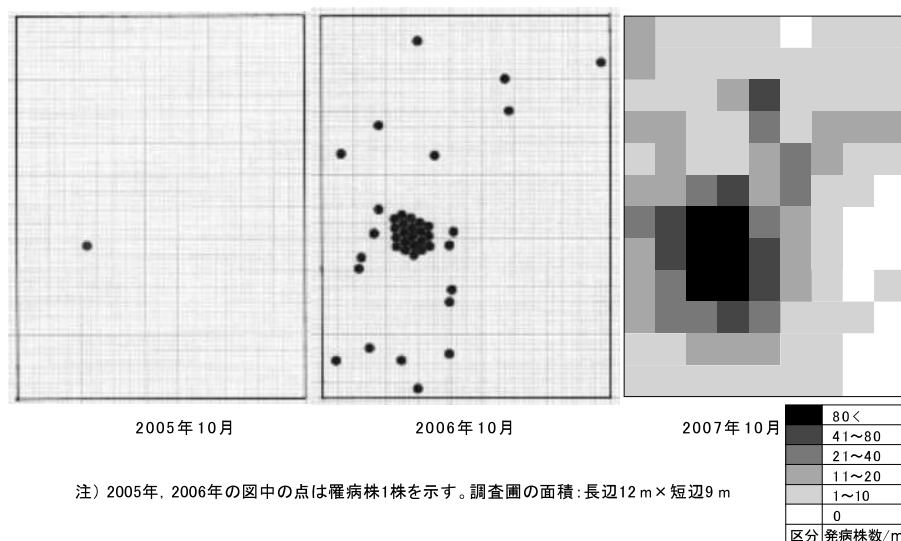
発病株がなかったのは全108区画のうち周辺部の12区画のみであった。このように、メヒシバが繁茂する条件下では黒穂病は容易に蔓延することが確認された。

5. 黒穂病の発生が翌年のメヒシバ実生の発生密度に及ぼす影響

黒穂病多発地点と少発地点の翌年と翌々年の実生の発生数を比較した。その結果を第4表に示した。

2006年10月の発病株数が平均0.3株/m²と発病の少なかった3地点の2007年10月の実生株数は平均523.3株/m²であった。一方、2006年10月に5.5株/m²と発病の多かった3地点の2007年10月の実生株数は平均364.0株/m²であり、実生株数は発病の少なかった地点と比較して70.0%まで減少していた。

2007年10月に黒穂病発病株が散在した地点(平均発病株数4.7株/m²、発病株率0.9%)では、2008年5月下旬に平均1,341.3本/m²の実生の発生が認められた。一方、2007年10月の発病株数が平均104.3株/m²、発病株率27.9%という多発地点では、平均313.3本/m²の実生の発生であり、発病株の少なかった地点の23.3%にまで減少していた。このことは、黒穂病の多かった地点



第5図 メヒシバ黒穂病の蔓延経過

第4表 黒穂病の発生程度が翌年のメヒシバ実生の発生数に及ぼす影響

調査区	2006年10月	2007年10月		2008年5月
	発病株数 (株/m ²)	実生数 (株/m ²)	発病株数 (株/m ²)	実生数 (本/m ²)
少発区	0.3 ±0.6	523.3 ±80.0	4.6 ±3.2	1,341.3 ±519.4
多発区	5.5 ±1.5	364.0 ±52.7	104.3 ±44.5	313.0 ±180.4

注) 実生数、発病株数は少発区、多発区それぞれ3地点の平均で表し、その標準偏差を示した。

の2年後のメヒシバ実生の発生量は、発病の少なかった地点の23.3%にまで減少したことを示している。

これらの結果から、メヒシバが優占する圃場において、接種したメヒシバ種子を圃場に散布する方法、あるいは黒穂胞子を圃場に散布して接種する方法など、黒穂病の感染と発病を高い頻度で発生させる方法を確立すれば翌年のメヒシバの発生を抑制してメヒシバ防除に利用できると思われる。

謝 辞

メヒシバの発病株数調査等には、宮城大学食産業学部植物病理学研究室専攻学生の協力をいただいた。ここに深甚なる感謝の意を表す。

摘 要

メヒシバは畑や牧草地にはびこり、肥料や水、光を栽培植物と競合する、被害の大きい雑草の一つである。本研究ではメヒシバ黒穂病菌が微生物農薬としてメヒシバ防除へ利用できるかについてその可能性を検討した。黒穂胞子をメヒシバ種子の発芽時に接種すると、53.3～93.3%の罹病種子が得られた。感染種子は健全種子とほぼ同じような生育を示したが、穂ばらみ期になると罹病株はすべての穂が発病し、種子をまったく

形成しなかった。メヒシバが繁茂した圃場においては、自然感染による黒穂病の蔓延が認められ、黒穂病が多かった地点では、黒穂病の少発生地点に比べて、2年後のメヒシバ実生の発生数が23.3%にまで減少した。

これらの結果から、高率の感染個体を得る接種方法や感染種子の利用方法等を工夫すると、メヒシバ黒穂病菌を雑草メヒシバの生物的防除に利用できるものと考えられた。

引用文献

- 1) 原田幸雄 (1996) 黒穂病菌. 新編植物病原菌類解説. pp92-101. 養賢堂. 東京.
- 2) 今泉誠子 (2000) 微生物除草剤・・・「キャンペリコ」の開発. 山田昌雄編著 微生物農薬. pp63-76. 全国農村教育協会. 東京.
- 3) 柿島 真 (1982) 日本産黒穂病菌の分類学的研究. 筑大農林研 1: 1-124.
- 4) 野口勝可 (1994) 雑草管理の目的 雑草による被害. 草薙得一ほか編 雑草管理ハンドブック. pp233-235. 朝倉書店. 東京.
- 5) 鈴木穂積 (1988) 病原菌を利用したの水田雑草クログワイの生物的防除法の試み. 農業および園芸63: 741-744, 877-879, 969-974.