

イネ品種早稲愛国3号に由来する白葉枯病抵抗性の簡易検定法*

堀野 修**・江塚昭典*** (**北陸農業試験場・***野菜試験場)

Osamu HORINO and Akinori EZUKA: A simple screening method for bacterial leaf blight resistance of rice derived from Wase Aikoku 3

Summary

Two rice varieties, Wase Aikoku 3 and Kinmaze, and their F₂ population were inoculated with several isolates representative of three bacterial pathotypes (group I, II, and III) of *Xanthomonas oryzae* (Uyeda et Ishiyama) Dowson by spraying method at 1.5, 4~5, 7~8, and 9~10 leaf stages. Reaction of individual plants were evaluated as R (resistant) or S (susceptible) according to the lesion length measured two weeks after the inoculation.

1. The plants inoculated at 1.5 or 4~5 leaf stage did not always show distinct reactions. Some seedlings of the parental varieties, especially Wase Aikoku 3, showed a different reaction from that of adult plants. It is likely that the resistance gene of Wase Aikoku 3, *Xa-w*, was not in full operation at such young seedling stages.

2. On the other hand, all the plants inoculated at 7~8 or 9~10 leaf stage showed distinct reactions as well as the adult plants. The parental varieties exhibited their typical reactions. Segregation ratio of F₂ population was in a good fitness to the expected value of 3:1 (R:S) against every bacterial pathotype.

3. One hundred and twenty F₂ plants which were inoculated at 7~8 leaf stage were grown up to adult stage. After their heading, flag leaves were inoculated by pin prick method again. The reactions of all the individuals were in agreement with that obtained at 7~8 leaf stage by spraying method.

4. These results indicate that the spraying inoculation at 7~8 or later leaf stage is a satisfactory method of screening hybrids for the resistance derived from Wase Aikoku 3. This method allows rice breeders to screen their breeding materials at the seedling stage and to examine the other traits than the resistance after transplanting the screened plants in paddy field. It will be useful for breeding resistant varieties from the crosses including varieties carrying the resistance gene, *Xa-w*.

わが国に分布するイネの白葉枯病菌 *Xanthomonas oryzae* (Uyeda et Ishiyama) Dowson は、その侵害しうるイネ品種の範囲によって3菌系群に、またイネ品種はこれらの菌系群に対する反応にもとづいて4品種群に類別されている^{1,5)}。4品種群のうち早稲愛国3号群は、止葉針接種法では3菌系群のいずれに対しても抵抗性の反応を示す^{1,9)}。中でも早稲愛国3号に由来する品種は多くの菌系に対して安定した高度の抵抗性を示し、抵抗性育種素材として有望とみられている¹⁾。しかし、それらの品種も幼苗における針接種ではしばしば抵抗性の発現が不完全となり、検定が困難となることが知られている^{3,7)}。これは、早稲愛国3号の抵抗性を支配する遺伝子 *Xa-w* の性質上、幼穂期にはその作用の発現が十分でないため

と推定されている³⁾。そのため、従来は *Xa-w* による抵抗性の検定は出穂後に止葉に針接種するのが最も安全であると考えられてきた⁹⁾。

しかし、実際の育種事業に応用するためには、止葉針接種法は多くの労力と圃場面積とを要し、非能率である。そこで、これに代わる能率的な簡易検定法の確立が望まれる。従来、本病抵抗性検定のための接種法としては、針接種法のほかに浸漬接種法¹⁰⁾、浸水接種法¹¹⁾、噴霧接種法⁶⁾、剪葉接種法⁴⁾などがそれぞれ目的に応じて採用されてきた。とくに久原は、幼苗浸水接種法によって早稲愛国3号およびそれに由来する品種の抵抗性検定が可能であることを報告している。おそらく、浸水接種法にかぎらず、一般に針接種法よりも mild な接種法を用いれば、幼苗期でもこれら品種の抵抗性の検定が可能なのはなからうか。筆者らはこのような見地から、幼苗噴霧

* 本報告は第25回北陸病害虫研究会で「イネ白葉枯病に対する品種抵抗性に関する研究 第7報」として発表された。

接種法が交雑育種における抵抗性個体選抜の目的に適用できるかどうかを検討し、好成績をえたので、その結果を報告する。

この研究を実施するに当たり、供試材料の交配をしていただいた前東海近畿農業試験場水田作物部第一研究室藤井啓史室長ほか室員各位に深謝の意を表する。

I 材料および方法

早稲愛国 3 号, 金南風, および早稲愛国 3 号 × 金南風 F₂ (以後 F₂ と略記) をプラスチックのシードリングケース (15 × 6 × 10cm) に 5 粒ずつ播種し, ガラス室内

で育苗して, 本葉 2 葉 (不完全葉を除く, 以下も同じ) 抽出期, 4~5 葉期, 7~8 葉期, 9~10 葉期の各苗齡のイネに, 白葉枯病菌の第 I 群, 第 II 群, 第 III 群の各菌群の代表的菌株を噴霧接種した。供試イネは接種後ただちに 25°C のダブルチャンバー式低温恒温接種箱に入れ, 1 夜飽湿度に保ったのちガラス室に戻した。

この試験は 1972 年 6 月から 8 月までの間, 数回に分けて実施した。いずれの場合も, 基肥として 1 ケース当たり硫酸 0.3g, 過石 0.5g, 塩加 0.2g を施用し, 以後生育に応じて適宜基肥と同量の追肥を与えて, つねに標準の栄養状態で生育させた。供試菌は第 1 表に示したように,

Table 1. Pathotype and derivation of the isolates of *Xanthomonas oryzae* used for the experiment.

Isolate	Pathotype	Locality	Host plant	Isolated at
Q6808	Group I	Amagi C., Fukuoka Pref.	<i>Leersia sayanuka</i> Ohwi	Kyushu Nat. Agr. Exp. Sta.
T7123	"	Ueno C., Mie Pref.	Ukon Nishiki	Tokai-Kinki Nat. Agr. Exp. Sta.
N5861-1+	Group II	Mutant selected from N5861 (group I)	Kinmaze	Tokai-Kinki Nat. Agr. Exp. Sta.
T7174	"	Gifu C., Gifu Pref.	Hatsushimo	"
Q6803	Group III	Re-isolated from Q6710	Asakaze	Kyushu Nat. Agr. Exp. Sta.
T7133	"	Iinan T., Mie Pref.	?	Tokai-Kinki Nat. Agr. Exp. Sta.

Table 2. Reactions of Wase Aikoku 3, Kinmaze, and F₂ population of the hybrid between them at four different leaf stages to spraying inoculation with three different pathotypes of *Xanthomonas oryzae*.

Leaf stage at the inoculation	Plants tested	Bacterial pathotype					
		Group I		Group II		Group III	
		R	S	R	S	R	S
1.5	Wase Aikoku 3	40	4	34	10	29	15
	Kinmaze	0	44	2	42	1	43
	F ₂	26	18	29	15	24	20
	P (3:1)*	0.02~0.01		0.2~0.1		0.01~0.001	
4~5	Wase Aikoku 3	21	7	20	8	16	12
	Kinmaze	2	26	0	28	0	28
	F ₂	20	8	18	10	22	6
	P (3:1)*	0.7~0.5		0.2~0.1		0.7~0.5	
7~8	Wase Aikoku 3	40	0	40	0	40	0
	Kinmaze	0	40	0	40	0	40
	F ₂	91	29	88	32	89	31
	P (3:1)*	0.9~0.8		0.7~0.5		0.9~0.8	
9~10	Wase Aikoku 3	43	0	43	0	43	0
	Kinmaze	0	43	0	43	0	43
	F ₂	32	11	31	12	33	10
	P (3:1)*	>0.9		0.7~0.5		0.8~0.7	

* Probability in chi square test for the fitness of observed ratio of R : S to the expected ratio, 3 : 1.

各菌系群から2菌株ずつ、計6菌株を用いた。いずれもジャガイモ半合成培地に25°Cで2日間培養したのち、 $10^7 \sim 10^8$ 個/mlの濃度の懸濁液として噴霧接種に用いた。1ケース当たりの接種量は2葉抽出期と4～5葉期の場合には7ml、7～8葉期と9～10葉期の場合には10mlとした。

接種の2週間後に病斑が約0.5cm以上に拡大したものと急性的な萎凋症状を示した個体をS(感受性)、病斑長が0.5cm以下あるいは無発病の個体をR(抵抗性)と判定して、発病調査を行なった。上記の判定基準にしたがって、両親品種がその本来の反応を示すかどうか、またF₂の分離比が期待値に適合するかどうかを検討した。

さらに、7～8葉期の噴霧接種に供試したF₂のうち120個体(第Ⅲ群菌接種)をそのまま出穂期まで生育させ、再び同じ菌株を用いて止葉に2針法で接種し、2週間後にその結果を調査して、個体ごとに7～8葉期の噴霧接種の結果と比較検討した。

II 試験結果および考察

噴霧接種の試験結果は第2表のとおりであった。同じ菌系群に属する各2菌株の接種結果の間には著しい差はみられなかったので、本表中ではそれらを一括して示した。

2葉抽出期および4～5葉期の接種では一般に反応が不明瞭で、両親品種のうち早稲愛国3号では本来の反応とは異なるSと判定された個体がかかなり多くみられた。金南風では早稲愛国3号よりは判定が容易であったが、本来ならばすべての供試菌株にS反応を示すはずであるのに、まれにRと判定された個体があった。F₂にも反応の不明瞭な病斑を形成した個体が多く、調査の際RとSとの判定に困難を感じた。R:Sの分離比は、*Xa-w*による単遺伝子性遺伝を想定した場合の期待値3:1に適合しない場合、または適合度の低い場合が多かった。これらの結果からみて、4～5葉期までの幼苗に噴霧接種する方法では、早稲愛国3号に由来する抵抗性は発現が不十分でその的確な検定は困難であり、育種場における個体選抜の目的には適しないものと思われる。

7～8葉期または9～10葉期のイネに噴霧接種した結果は、上述の場合とは異なり、早稲愛国3号、金南風、F₂とも反応はきわめて明瞭であって、調査の際判定に困難を感じることは全くなかった。両親品種は全個体がその品種本来の反応を示し、F₂の分離比はいずれの菌系群に対してもR:Sが3:1の期待値によく適合した。

また、7～8葉期に噴霧接種したF₂の一部について出穂後に止葉針接種を行なったところ、その結果は全個体7～8葉期の噴霧接種の結果と一致した。

以上の結果から、早稲愛国3号に由来する抵抗性を検定するには、7～8葉期以上の苗齢のイネを供試して噴霧接種を行なえば、止葉針接種と同様に的確な検定結果がえられ、反応の識別にも問題のないことがわかった。早稲愛国3号の抵抗性を支配する遺伝子 *Xa-w* は白葉枯病菌の第I, II, III群のいずれに対しても共通に働くものと考えられている。したがって、実際の育種のための検定に際しては、第III群菌の病原力の強い1菌株を選んで、それに対する反応を調査しさえすれば、選抜の目的は達せられると考えられる。この方法によれば、ガラス室内での本病抵抗性の早期検定が可能であり、選抜された個体を本田へ移植してその他の形質を調査することができるので、育種上の利用価値が大きいのと思われる。

なお、筆者ら(未発表)は早稲愛国3号に由来する抵抗性の別の簡易検定法として、本田栽培のイネの最高分けつ期ころに欠みで頂部を剪葉し直後に噴霧機で噴霧接種する方法も試み、ほぼ満足すべき結果をえている。久原の浸水接種をも含めて、実際の育種事業の中でどの方法を採用するかは、育種の規模、圃場面積、ガラス室や接種箱などの設備の有無、労力事情などによって、適宜判断すればよいであろう。

III 摘 要

早稲愛国3号、金南風、およびそれらの交配F₂を供試し、本葉2葉抽出期、4～5葉期、7～8葉期、9～10葉期に、白葉枯病菌の第I, II, III群の代表菌株を噴霧接種した。接種2週間後に発病調査を行ない、個体別に反応をR, Sのいずれかに判定した。

1. 2葉抽出期と4～5葉期の噴霧接種では一般に反応の不明瞭な場合が多く、両親品種、とくに早稲愛国3号に成稲の場合とは異なる反応を示した個体が多かった。これは早稲愛国3号に由来する抵抗性がこの苗齢では十分発現しないためと考えられる。

2. 7～8葉期と9～10葉期の噴霧接種では、反応はきわめて明瞭であり、両親品種は全個体がその品種本来の反応を示した。F₂の分離比はいずれの菌系群に対してもR:S=3:1の期待値によく適合した。

3. 7～8葉期に噴霧接種したF₂のうち120個体を出穂期まで生育させ、止葉に針接種を行なったところ、その反応は全個体7～8葉期の噴霧接種の反応と一致した。

4. 以上の結果から、早稲愛国3号に由来する抵抗性を簡易に検定するには、7～8葉期以後のイネを供試して噴霧接種を行なえば満足すべき結果がえられることがわかった。この方法によれば、ガラス室内での早期検定が可能であり、選抜された個体を本田へ移植して他の形

質を調査することができるので、育種上の利用価値が大きいと思われる。

引用文献

- 1) Ezuka, A. and Horino, O. Classification of rice varieties and *Xanthomonas oryzae* strains on the basis of their differential interactions. Bull. Tokai-Kinki Nat. Agr. Exp. Sta. (In press).
- 2) 江塚昭典・堀野修・鳥山国土・篠田治躬(1973) イネ白葉枯病に対する品種抵抗性に関する研究 6. 早稲愛国3号の抵抗性遺伝子 *Xaw* について(講要). 日植病報 39: 232. 3) Ezuka, A., Watanabe, Y. and Horino, O. Difference in resistance expression to *Xanthomonas oryzae* between seedlings and adults of Wase Aikoku group rice varieties (1). Bull. Tokai-Kinki Nat. Agr. Exp. Sta. (In press). 4) Kauffman, H. E. (1973) Research on bacterial disease, current status. Paper presented at the International Rice Research Conference, April 1973. IRRI.
- 5) 高坂淳爾(1969) イネ病害防除における抵抗性品種の利用. 農及園 44: 208~21. 6) 久原重松(1972) 稲白葉枯病に対する抵抗性品種の幼苗検定法. 昭和45年度九州農試年報 39~44. 7) 坂口進・諏訪隆之・村田伸夫(1964) イネ栽培種および野性種のイネ白葉枯病耐病性. 農技研報 D 18: 1~29. 8) 脇本哲(1955) OP₁ Phage (*Xanthomonas oryzae* bacteriophage) の増殖に関する研究 I. 種々の条件下の一段増殖実験 九大農学芸誌 15: 151~160. 9) 鷲尾養・仮谷桂・鳥山国土(1966) 稲白葉枯病抵抗性品種の育成に関する研究. 中国農試報 A 13: 55~85. 10) 吉田孝二・向秀夫(1961) 多針接種によるイネの白葉枯病に対する抵抗力検定方法. 植物防疫 15: 343~346. 11) 吉村彰治・岩田和夫(1965) イネ白葉枯病に対する品種抵抗性の検定方法に関する研究(第1報) 浸漬接種法とその適用方法 その1. 北陸病虫研報 13: 25~31.

白葉枯病菌に対するイネ品種の量的抵抗性について

安藤隆夫*・山元 剛**・山田昌雄*

(*北陸農業試験場 **熱帯農業研究センター)

イネ白葉枯病の防除は、従来主として農薬散布と抵抗性品種の栽培によって行なわれてきた。農薬公害がさげられ、又、卓越した農薬が少ない現在では、抵抗性品種に対する期待が一層大きくなっている。本病に対するイネ品種の抵抗性には主働遺伝子の作用による質的抵抗性と、主働遺伝子の作用しない量的抵抗性とが考えられている。坂口、江塚らは、質的抵抗性について検討し、*Xa-1* *Xa-2*, *Xa-w* の3抵抗性遺伝子の存在を明らかにしているが、抵抗性品種育成に際しては、本病原菌の新系統の出現を想定した場合、質的抵抗性の獲得と共に、量的抵抗性の付与についても十分考慮されねばならないと考える。

我々は、この観点から本病原菌に対するイネ品種の量的抵抗性について若干検討したので、ここにその概要を報告する。

起稿にあたり、罹病葉を送っていただいた新潟県農試、熊本県農試、鹿児島県農試病虫部の各位に感謝の意を表す。

I 金南風、黄玉両群品種の各菌系群に対する量的抵抗性

病原性の異なるI, II, III群各菌系群に対する各品種の量的抵抗性を知る目的で試験を行なった。なお、本報におけるI, II, III群菌とは金南風、黄玉、Rantaj-emas各品種群に対応するもので、坂口らに従い、I群菌とは金南風群品種のみを侵すもの、II群菌とは金南風、黄玉両群品種のみを侵すものをいう。

試験方法 ほ場で慣行栽培した金南風群、黄玉群計65品種の止葉に、H7002菌(I群)、H5809菌(II群)、Q6809菌(III群)各菌を1株当り3枚・5株の計15枚以上に5針接種した。接種は菌濃度を 10^9 /mlに調整し、出穂期別に8回に分け、2連制で行なった。発病調査は第1回を接種後19日目、第2回を28日目に行ない、1葉当りの√病斑面積 mm^2 を病斑拡大度として表わして量的抵抗性を示した。

試験結果 第1回目と第2回目の発病調査はほぼ同様