

4種の雪腐病に対するイタリアンライグラス品種の抵抗性検定*

石黒 潔・永田 保・大山 一夫**

Kiyoshi ISHIGURO, Tamotsu NAGATA and Kazuo OYAMA** : Testing varietal resistance in Italian ryegrass to four snow mold diseases under the artificial condition*

Summary

Experiments were carried out to evaluate varietal resistance in Italian ryegrass to four snow mold diseases caused by *Typhula incarnata*, *T. ishikariensis*, *Pythium paddicum* and *Gerlachia nivalis* (syn=*Fusarium nivale*) using the improved snow mold chamber method. Resistance to each snow mold diseases was similar, and increased with plant age. The analyses of variance, however, indicated that resistance to *Typhula* spp., *P. paddicum* and *G. nivalis* could differentiated into 3 groups. Pathogenic specialization within *T. incarnata* was not suggested. Resistance to *T. incarnata* in the snow mold chamber and snow endurance assessed in the field where this pathogen was mainly distributed were highly correlated.

越年性牧草イタリアンライグラス (*Lolium multiflorum* Lam.) は長期間の積雪下において多くの茎葉が腐敗し、いわゆる「冬枯れ」が生じる。この現象は低温や暗黒条件による生理障害によるものではなく、積雪下で発生する雪腐病にほかならないことが明らかにされている^{3,10}。それゆえ現在では雪腐病が雪害の主因であることを疑う余地は皆無となっている¹¹。

イタリアンライグラスに発生する雪腐病の病原菌として雪腐大粒菌核病菌 (*Sclerotinia borealis*), 雪腐黒色小粒菌核病菌 (*Typhula ishikariensis*), 雪腐褐色小粒菌核病菌 (*T. incarnata*), 紅色雪腐病菌 (*Gerlachia nivalis**, syn=*Fusarium nivale*), および褐色雪腐病菌 (*Pythium* spp.) の5種が知られ、これらが単独あるいは複合感染していることが指摘されている^{11,15,17}。これらのうち、雪腐大粒菌核病の発生は北海道の寒冷地に限られているため¹⁷、イタリアンライグラスの秋播き栽培が行われている本州以南では問題とならない。一方、イタリアンライグラスの耐雪性は品種間差異が見出され、耐雪性品種の育成も積極的に進められている¹⁵。しかし、雪腐病抵抗性品種の検定ならびに育成を圃場で実施する場合、特定の病原菌だけを供試して試験することが困難なこと、また根雪始めや積雪期間の年次変動が大きく、しかも実験の反復に長期間を要することなど多くの問題点がある。そこで近年、合理的かつ効率的な検定・選抜を行うため、コムギや牧草類の供試植物に特定の

雪腐病菌を接種し、積雪下の条件に類似の低温室で発病させる室内検定法が試みられ^{5,6}、実際の育種にも応用されるようになった。著者らはこれらの方法を改変し、雪腐大粒菌核病を除く4種の病原菌に起因する雪腐病に対するイタリアンライグラス品種の抵抗性を検定した。本報ではその結果について報告する。

本試験を行うにあたり検定法について御教示いただいた熱帶農業研究所主任研究官山元剛氏、ならびに供試菌株の一部を分譲していただいた北海道農業試験場牧草第3研究室松本直幸氏に深く謝意を表する。

材料と方法

耐雪性の異なるイタリアンライグラス8品種を供試した(Table 1)。Table 2に示した供試菌株のうち *T. incarnata* の In-2 株は新潟県上越市、My-1 株は妙高高原町、Y-2 株は山形県東根市のイタリアンライグラス枯葉上の菌核から採集したものであり、また E-1 株は *T. ishikariensis* の生物型 A に相当する¹⁰。大きさが 35 × 5 × 1.5 cm の硬質塩化ビニール製育苗箱に供試植物30個体を約 1 cm 間隔で栽植し、N, P₂O₅ および K₂O をそれぞれ 0.7 mg/cm² として、10~25°C のガラス室で 20~40 日間育苗した。供試菌株は滅菌したふすま培地 (ふすま 1000 ml, 砂 1000 ml, 水 350 ml および šo 糖 14 g) に 30 日間 15°C 前後で培養し、接種源とした。土壤水分を最大容水量に調整した殺菌土壤約 800 g を大きさが 36 × 25 × 5 cm のプラスチック製パットに薄く敷き、その表面に接種源を約 50 mg/cm² (実験 3 のみ 120 mg/cm²) の割合となるように散布した。ついで、この土壤面に供

* 本報告の概要是昭和57年度日本植物病理学会大会で発表した。

** 農林水産省北陸農業試験場作物部 Crop Division, Hokuriku National Agricultural Experiment Station, Inada, Joetsu Niigata, 943-01

Table 1. Italian ryegrass varieties tested

Varieties	Ploidy	Snow endurance ^{a)}
Takakei 14	4x	H ^{b)}
Niigatakei	2x	MH
Hitachiaoba	4x	MH
Ace	4x	MH
Waseaoba	2x	M
Nasuhiikari	2x	W
Yamaaoba	2x	W
Minamiwase	2x	VW

a) Assessed in the field at Hokuriku Natl. Agric. Exp. Stn.¹⁰⁾

b) H;hardy, MH;moderately hardy, M;medium, W;weak, VW;very weak.

試植物の本葉が直接接触するように育苗箱を横に傾け、その植物体上部に約4.5g/cm³の砂袋を載せて接種した。乾燥を防ぐためパット全体をビニール袋で包み、0.5±0.5°Cの暗冷実験室で30~50日間静置した。所定期間後、植物体をガラス室に移して数日間再生させ、生存株率を求めて抵抗性を判定した。

結果

1 雪腐褐色小粒菌核病に対する抵抗性の品種間差異

Table 2. Fungal isolates tested

Fungal isolates	Species	Origin
In-2	<i>Typhula incarnata</i> ^{a)}	Joetsu, Niigata
My-1	<i>T. incarnata</i> ^{a)}	Myoko, Niigata
Y-2	<i>T. incarnata</i> ^{a)}	Higashine, Yamagata
E-1	<i>T. ishikariensis</i> ^{a)}	Sapporo, Hokkaido
TU-1	<i>Pythium paddicum</i>	Joetsu, Niigata
Fn-1	<i>Gerlachia nivalis</i> ^{b)}	Higashine, Yamagata

a) Dikaryon isolates.

b) Synonym of *Fusarium nivale*.

試験区によっては供試植物のほとんどが枯死したため抵抗性の品種間差が判然としない場合もあったが、高系14号は常に高い抵抗性を示し、ミナミワセ、ヤマアオバ、ナスヒカリなどは抵抗性弱であった(Table 3)。また供試植物の苗令が進むにつれ高い抵抗性を示す傾向が見られた。採集地が異なる3株の雪腐褐色小粒菌核病菌に対して供試各品種は類似した抵抗性反応を示した。菌株と品種の抵抗性の関係を詳しく検討するため分散分析を行ったが、品種×菌株の交互作用は認められなかった(Table 4)。これらのことから採集地の異なる供試3菌株間に病原性の差異を指摘することは困難であった。

Table 3. Survival of Italian ryegrass varieties inoculated with various snow mold fungi followed by incubating at 0.5°C in the dark

Italian ryegrass varieties	<i>Typhula incarnata</i>			<i>T. ishikariensis</i>		<i>Pythium paddicum</i>	<i>Gerlachia nivalis</i>
	In-2	My-1	Y-2	E-1	TU-1	Fn-1	
Exp. 1^{a)}							
(30 da ^d , 45 da ^e)							
Takakei 14	0 a ^f	—	—	68.2 a	72.5 a	30.3 a	
Niigatakei	0 a	—	—	74.2 a	74.2 a	40.0 a	
Hitachiaoba	0 a	—	—	37.8 bc	72.7 a	15.0 a	
Waseaoba	0 a	—	—	34.5 bc	72.5 a	22.5 a	
Nasuhiikari	0 a	—	—	29.7 bc	30.9 ab	27.8 a	
Minamiwase	0 a	—	—	22.8 c	26.9 b	10.0 a	
(40 da., 45 da.)							
Takakei 14	0 a	—	—	72.5 a	73.9 b	37.5 a	
Niigatakei	0 a	—	—	82.2 a	97.5 a	22.8 a	
Hitachiaoba	0 a	—	—	61.4 a	77.5 b	10.0 a	
Waseaoba	0 a	—	—	40.6 a	69.5 b	12.5 a	
Nasuhiikari	0 a	—	—	54.2 a	47.5 b	10.8 a	
Minamiwase	0 a	—	—	37.5 a	50.0 b	12.5 a	
(30 da., 52 da.)							
Takakei 14	0 a	—	—	37.2 a	67.5 a	10.3 a	
Niigatakei	0 a	—	—	34.5 ab	52.8 ab	8.1 a	
Hitachiaoba	0 a	—	—	7.8 c	32.0 bc	5.6 a	
Waseaoba	0 a	—	—	11.1 bc	49.0 ab	5.0 a	
Nasuhiikari	0 a	—	—	17.0 abc	3.1 d	5.6 a	
Minamiwase	0 a	—	—	6.4 c	10.8 cd	5.0 a	
(40 da., 52 da.)							
Takakei 14	0 a	—	—	53.3 a	92.0 ab	5.6 a	
Niigatakei	0 a	—	—	54.4 a	95.0 a	17.8 a	
Hitachiaoba	0 a	—	—	13.1 b	66.7 bc	12.8 a	
Waseaoba	0 a	—	—	38.3 a	68.6 bc	2.5 a	
Nasuhiikari	0 a	—	—	35.1 a	61.3 c	17.7 a	
Minamiwase	0 a	—	—	13.8 b	45.3 c	13.6 a	

Exp. 2b)

(30 da., 38 da.)

Takakei 14	63.7 a	—	—	89.7 a	2.6 ab	63.1 ab
Niigatakei	48.3 b	—	—	57.1 b	1.4 ab	76.7 a
Hitachiaoba	35.9 b	—	—	58.9 b	5.0 a	38.9 a
Ace	43.3 b	—	—	39.4 b	0 b	35.5 b
Waseaoba	30.9 b	—	—	48.9 b	2.2 ab	53.0 b
Yamaoba	28.7 b	—	—	16.4 b	0 b	34.4 b
Nasuhikari	35.6 b	—	—	44.6 b	0 b	6.9 b

Exp. 3c)

(20 da., 42 da.)

Takakei 14	36.7 a	13.0 a	65.3 a	54.0 a	—	—
Niigatakei	10.3 b	0 b	18.3 b	37.0 ab	—	—
Hitachiaoba	6.7 bc	0 b	39.7 ab	48.3 a	—	—
Waseaoba	0 c	0 b	22.0 ab	41.0 a	—	—
Nasuhikari	0 c	0 b	7.3 b	20.0 b	—	—
Minamiwase	0 c	0 b	13.3 b	17.0 b	—	—

(30 da., 42 da.)

Takakei 14	47.3 a	56.0 a	63.3 a	80.0 ab	—	—
Niigatakei	26.7 b	6.7 bc	46.0 a	50.0 c	—	—
Hitachiaoba	11.3 bc	23.8 b	41.0 ab	83.3 ab	—	—
Waseaoba	20.3 bc	27.0 b	26.7 abc	69.3 abc	—	—
Nasuhikari	11.0 cd	0 c	7.3 bc	52.3 bc	—	—
Minamiwase	0 d	3.3 bc	3.7 c	53.3 abc	—	—

a) Values in the table represent % survival based on 15 plants per plot. The mean percentage of 4 plots is shown.

b) Values in the table represent % survival based on 15 plants per plot. The mean percentage of 6 plots is shown.

c) Values in the table represent % survival based on 10 plants per plot. The mean percentage of 3 plots is shown.

d) Plant age.

e) Incubation period after inoculation.

f) For statistical comparison, $\text{arc sin } \sqrt{\%}$ transformed values are used. Values within a column followed by the same letter are not significantly different ($P=0.05$) as determined by Duncan's multiple-range test.

Table 4. Analyses of variance of resistance to several snow mold diseases in Italian ryegrass varieties

Source of variation	Exp. 1b)		Exp. 2c)		Exp. 3d)	
	d. f.	M. S.	d. f.	M. S.	d. f.	M. S.
Italian ryegrass varieties (V)	5	1241***a)	6	1421**	5	2289**
Fungal isolates (I)	2	2883**	2	747**	2	522**
V × I	10	456*	12	278*	10	140
Errors	54	215	105	95	36	206
Total	71		125		53	

a) *, **; Significant at the 5% and 1% levels, respectively.

b) Data used in the statistical analysis are followed; Plant age is 30 days old, incubation period is 52 days, and fungal isolates tested are E-1 (*T.ishikariensis*), 7U-1 (*P. paddicum*) and Fn-1 (*G. nivalis*), respectively.c) Data used in the statistical analysis are followed; Plant age is 30 days old, incubation period is 38 days, and fungal isolates tested are In-2 (*T. incarnata*), E-1 (*T.ishikariensis*) and Fn-1 (*G. nivalis*), respectively.d) Data used in the statistical analysis are followed; Plant age is 30 days old, incubation period is 42 days, and fungal isolates tested (*T. incarnata*) are In-2, My-1 and Y-2, respectively.

2 雪腐黒色小粒菌核病に対する抵抗性の品種間差異

Table 3 に示したように、高系14号、新潟系などは抵抗性が高く、ミナミワセ、ヤマアオバなどは抵抗性弱であった。また供試植物の苗令が進むほど抵抗性が高くなり、接種後の静置期間が長いほど生存株率が低下する傾向があった。

3 褐色雪腐病に対する抵抗性の品種間差異

試験区によっては接種に供した植物が暗冷実験室で静置中ほとんど枯死したため抵抗性の品種間差が明確とならない場合もあった。しかし高系14号や新潟系は常に高い抵抗性を示し、ナスヒカリ、ミナミワセなどは抵抗性

弱であった。また本病に対する抵抗性も苗令が進むと高くなり、接種後の静置期間が長くなるほど生存株率が低下した (Table 3)。

4 紅色雪腐病に対する抵抗性の品種間差異

試験区によっては反復間の差異が著しいため抵抗性の品種間差異が明確に認められなかった場合もあるが、新潟系や高系14号が本病に対し高い抵抗性を示し、ヤマアオバやエースが抵抗性弱であった (Table 3)。また本病に対する抵抗性も他の3種の雪腐病の場合と同様に、苗令が進むにつれて高くなり、接種後の静置期間が長いほど生存株率が低下した。

5 4種の雪腐病に対する抵抗性の相互関係

Table 3 に示したように、高系14号、新潟系などはいずれの雪腐病に対しても抵抗性が高く、ミナミワセ、ヤマアオバなどは抵抗性弱であるという傾向が見られた。そこで異なる4種の供試菌と品種の抵抗性の関係を詳しく検討するため、分散分析を行った。4種の雪腐病に対する抵抗性を同時に比較する結果が無いため、3種の雪腐病についての分散分析を2回行って、総合判断した。すなわち、1回目の分散分析は抵抗性の品種間差が最も明確となった苗令30日の植物に雪腐病菌を接種し52日間静置した試験の結果を分散分析した。この場合、Table 3 に示したように、雪腐褐色小粒菌核病菌接種区では全個体が枯死し、統計処理に不適であるため、これを除いた3種の雪腐病菌の実験結果のみについて分散分析を行った。その結果、Table 4 に示したように、品種および菌株の主効果にそれぞれ有意性(1%)が認められ、さらに品種×菌株の交互作用も有意(5%)となった。これらのことから、供試3種の雪腐病菌に対する品種の抵抗性は必ずしも一致しないことが示唆された。なお、交互作用が見出されたおもな理由として、褐色雪腐病に対してナスピカリの抵抗性が極弱であることが考えられる。2回目の分散分析は苗令30日の植物に異なる4種の雪腐病菌を接種し、38日間静置した試験の結果を使用した。この場合、Table 3 に示したように、褐色雪腐病菌接種区ではほとんどの個体が枯死し、統計処理に不適であるため、これを除いた3種の雪腐病菌の結果のみについて分散分析を行った。その結果、Table 4 に示したように、品種および菌株の主効果にそれぞれ有意性(1%)が認められ、さらに品種×菌株の交互作用も有意(5%)となった。したがって本実験の結果からも各雪腐病菌に対する品種の抵抗性が必ずしも一致しないことが示唆された。なお、本実験において交互作用が認められた理由として、新潟系およびワセアオバの2倍体品種が紅色雪腐病に高い抵抗性を示したことが考えられる。以上の結果から総合判断すると、雪腐褐色小粒菌核病と雪腐黒色小粒菌核病に対する品種の抵抗性はたがいによく一致すると推考される。一方、これらと紅色雪腐病あるいは褐色雪腐病の品種抵抗性とは一致しないように思われる。したがって、本実験結果の範囲内では4種の雪腐病に対するイタリアンライグラス品種の抵抗性は小粒菌核病類、紅色雪腐病および褐色雪腐病の3群に類別できる。

考 察

Bruehl ら^{5,6,7,13)}は雪腐病に対するコムギの抵抗性を室内で検定する方法として、まずポットで供試植物を育苗

し、そこへ接種源を散布し、水を含んだ脱脂綿を植物の上から抑えつけておいて低温槽に静置させる方法をとっている。しかし、この方法では多数の個体を扱う場合、かなり大規模な低温槽が必要となる欠点がある。一方、イタリアンライグラスの場合は他殖性植物のため品種内における遺伝的変異が大きく、抵抗性の検定を行うには多数の個体を供試する必要がある。そこで本試験では小規模な低温槽でも多数の個体を供試できるよう改良した方法で抵抗性の検定を試みた。その結果、供試植物の苗令ならびに接種後の静置期間などの実験条件を調整することによって、イタリアンライグラス各品種の雪腐病抵抗性を検定できることが明らかとなった。すなわち、供試植物の苗令が進むと宿主の抵抗性は高まり、静置期間が長くなるにしたがって生存株率は低下する傾向を示した。この際、品種間における抵抗性の序列が大きく変動することはなかった。それゆえ、供試植物の苗令や静置期間を適宜設定するならば、各種雪腐病に対する抵抗性の品種間差が容易に判定できると考えられる。本実験で得た雪腐褐色小粒菌核病に対するイタリアンライグラス品種の抵抗性の序列と圃場で観察された耐雪性の序列¹⁰⁾とはよく一致している。この理由として、北陸農試作物第4研究室の行った圃場試験^{11,13)}では雪腐病菌としておもに雪腐褐色小粒菌核病菌が関与していたことがあげられる。したがって、雪腐褐色小粒菌核病の抵抗性を検定する方法として本報の手法が推奨され、得られる結果の信頼性も高いと考えられる。

採集地が異なる雪腐褐色小粒菌核病菌3株に対して供試したいずれの品種も同様な抵抗性反応を示し、菌株間において病原性の差異を指摘することは困難であった。雪腐褐色小粒菌核病菌の病原性の差異を確認するためににはさらに多数の菌株を供試する必要があるが、本菌のような多犯性の病原菌では、従来病原性の差異が確認された例はほとんど知られていない。したがって、雪腐褐色小粒菌核病では病原性の分化を考慮する必要は少ないようと思われる。

本実験の結果、4種の雪腐病に対するイタリアンライグラス品種の抵抗性はある程度類似しているように思われたが、分散分析によって厳密に検討したところ、雪腐病に対する抵抗性は雪腐小粒菌核病類、褐色雪腐病および紅色雪腐病の3群に類別できることが判明した。Bruehl¹⁴⁾は多数のコムギ系統を供試し、雪腐黒色小粒菌核病、雪腐褐色小粒菌核病および紅色雪腐病に対する抵抗性は互いに高い相関を示すことを報告している。また天野ら¹⁵⁾はコムギで、Abe ら¹⁶⁾はオーチャードグラスでそれぞれ雪腐黒色小粒菌核病および雪腐褐色小粒菌核病の抵抗性に類似性を認めながらも、これらは厳密に区

別できるとしている。一方、Lipps ら¹³⁾はコムギを供試し、雪腐小粒菌核病類と褐色雪腐病との抵抗性に相関は無いことを明らかにしている。これらの報告と本報とは供試植物や検定法が異なるため単純に比較できないが、かなりの類似性が認められる。

イタリアンライグラスを含む越冬性の植物は秋期から初冬にかけての低温短日条件で硬化(hardening)し、耐寒性や雪腐病抵抗性が高まることが指摘されている^{4,12)}。したがって、植物本来の雪腐病抵抗性を判定するには、供試植物を育苗後期に低温に置き硬化させるのが望ましく、その処理を行っている事例が^{1,2,4,5,6,13)}多い。しかし、本実験では施設の制約から硬化処理を行っていない。その影響については今後明らかにする予定である。

摘要

1 雪腐褐色小粒菌核病菌、雪腐黒色小粒菌核病菌、褐色雪腐病菌および紅色雪腐病菌の4種の病原菌に起因する雪腐病に対するイタリアンライグラス品種の抵抗性を幼苗検定法により検討した。

2 各種の雪腐病に対する抵抗性は、苗令が進むにつれて高まり、接種後の静置期間が増すと生存株率は低下した。しかし、このような実験条件下でも抵抗性の序列が大きく変動することはなかった。

3 採集地が異なる雪腐褐色小粒菌核病菌3株において病原性の差異は見出されなかった。

4 雪腐褐色小粒菌核病がおもに発生している圃場で観察される耐雪性と、幼苗検定法による雪腐褐色小粒菌核病抵抗性との間には高い相関が認められ、この幼苗検定法の信頼性が確認された。

5 4種の雪腐病に対する各品種の抵抗性はある程度類似するものの、分散分析の結果、雪腐小粒菌核病類、褐色雪腐病および紅色雪腐病の3群に類別できることが判明した。

引用文献

- 1) Abe, J. and Matsumoto, N. (1981) Resistance to snow mould disease caused by *Typhula* spp. in cocksfoot. *J. Japan. Grassl. Sci.* 27 : 152-158.
- 2) 天野洋一・尾関幸男(1981)秋播小麦の雪腐病抵抗性と耐凍性育種. I 検定法の改善と抵抗性品種分類への適用. 北海道立農試集報 46 : 12-21.
- 3) 荒木隆男(1975)北海道における牧草雪腐病の多発. 植物防疫 29 : 484-488.
- 4) Årvoll, K. (1977) Effects of hardening, plant age and development in *Phleum pratense* and *Festuca pratensis* on resistance to snow mould fungi. *Meld. Norg. LandbrHøgsk.* 56, (28) : 1-14.
- 5) Bruehl, G.W., Sprague, R., Fischer, E.R., Nagamitsu, M., Nelson, E.L. and Vogel, O.A. (1966) Snow molds of winter wheat in Washington. *Washington Agri. Exp. Sta. Bull.* 677 : 1-21.
- 6) Bruehl, G.W. (1967) Lack of significant pathogenic specialization within *Fusarium nivale*, *Typhula idahoensis* and *T. incarnata* and correlation of resistance in winter wheat to these fungi. *Plant Disease Reporter* 51 : 810-814.
- 7) Bruehl, G.W. (1967) Correlation of resistance to *Typhula idahoensis*, *T. incarnata* and *Fusarium nivale* in certain varieties of winter wheat. *Phytopathology* 57 : 308-310.
- 8) Cormack, M.W. and Lebeau, J.B. (1959) Snow mold infection of alfalfa, grasses and winter wheat by several fungi under artificial condition. *Can. J. Bot.* 37 : 685-693.
- 9) Gams, W. and Müller, E. (1980) Conidiogenesis of *Fusarium nivale* and *Rhynchosporium oryzae* and its taxonomic implications. *Neth. J. Pl. Path.* 86 : 45-53.
- 10) 北陸農業試験場作物第4研究室編(1982)昭和54—56年度飼料作物育種試験成績書.
- 11) 石黒潔(1982)イタリアンライグラスの雪腐病に関する菌の消長について(講要). 日植病報 48 : 134.
- 12) Levitt, J. (1972) Responses of plants to environmental stress. Academic Press, New York. pp. 697.
- 13) Lipps, P.E. and Bruehl, G.W. (1980) Reaction of winter wheat to *Pythium* snow rot. *Plant Disease* 64 : 555-558.
- 14) Matsumoto, N., Sato, T. and Araki, T. (1982) Biotype differentiation in the *Typhula ishikariensis* complex and their allopatry in Hokkaido. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 48 : 275-280.
- 15) 岡部俊(1975)イタリアンライグラスの育種に関する基礎的研究—とくに耐雪多収性選抜に対する作物学的考察. 北陸農試報17 : 129-284.
- 16) 富山宏平(1955)麦類雪腐病に関する研究. 北農試報 47 : 1-234.
- 17) 富山宏平(1965)ムギ類の雪腐病. 日植病報 31 : 200-206.

(1982年8月16日受領)