

幼苗期におけるイネ白葉枯病菌菌系の判別

野田 孝人・大内 昭

Takahito NODA and Akira OHUCHI: A simple classificational method of bacterial isolates of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* at seedling stage

Summary

Four rice varieties, Kinmaze, Sigadagabo, Te-tep and Wase Aikoku 3 which would be available to classify bacterial isolates into the bacterial groups I, II, III, IV and V of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* by the double needle prick inoculation at 4-5th leaf stage were selected from each varietal group. Twenty-five isolates of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* collected from Niigata and Nagano prefectures were tested for virulence to these four rice varieties, and classified into three pathotypes, group I, II and III. Further studies are required to estimate the classification of bacterial isolates, because Wase Aikoku 3 was moderately susceptible to every incompatible isolate at seedling stage.

久原ら⁸⁾および草葉ら⁹⁾によって、日本産イネ白葉枯病細菌の中に病原性の異なる菌系が存在することが指摘されて以来、各菌系の病原性とイネ品種の抵抗性との相互関係について数多くの研究^{3,12,13,14,15)}がなされてきた。現在我が国では高坂の分類方式⁷⁾を発展させた判別体系が確立され、その知見をもとにして種々の病害防除対策が講じられている。しかし、現行の菌系判別では成稲期のイネを用いることが前提とされている^{4,5)}ために、検定に多くの時間、労力および圃場面積が必要である。さらに、本病原とイネ品種との相互関係が従来考えられていたような単純なものではなく、きわめて複雑であることが近年になって指摘されるようになったため、現行の体系で菌系を判別することは實際上困難となってきた^{2,6,10,11)}。

そこで、菌系判別の迅速・簡便化を計るために本実験で幼苗期のイネに針接種する方法を試み、成稲期における検定結果と比較した。本報告の概要は昭和59年度日本植物病理学会大会で発表した。

材料および方法

1 供試菌株および供試品種

イネ白葉枯病細菌 *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* の I, II, III, IV および V 群菌として T7174, T7147, T7133, H75373 および H75304 菌株をそれぞれ供試した。これらの菌株をジャガイモ半合成寒天培地に移植して、28°C で 2 日間培養した後、殺菌蒸溜水懸濁

して所定濃度（試験 1, 2 では $10^8 \sim 10^9$ 個/ml, 試験 3, 4 では $10^6 \sim 10^7$ 個/ml）となるように調節した。供試品種として金南風群 16 品種, 黄玉群 14 品種, Rantai Emas 群 14 品種 および 早稲愛国群 16 品種 の計 60 品種を選び、化成肥料（成分量 N : 15, P_2O_5 : 15, K_2O : 10%）を箱当り 1g 施用したプラスチック製育苗箱（5 × 15 × 10cm）に品種ごとに 20 粒ずつ播種して、ガラス室内で所定期間育苗し幼苗検定では 4 ~ 5 葉期の苗を供試し、成稲期検定では圃場に 1 株 1 本植えて慣行栽培した各品種の止葉あるいは次葉を供試した。

2 接種方法および調査方法

幼苗期検定では 1 菌株あたり 20 株ずつの完全展開最上葉に細菌懸濁液を 2 針で 2 ヶ所宛接種した。成稲期検定では 1 菌株につきそれぞれ 3 株ずつを用い、1 株 5 枚の葉身に 3 針で 2 ヶ所宛接種した。調査は幼苗期検定では接種 2 週間後に、成稲期検定では接種 3 週間後にそれぞれ Ezuka and Horino¹⁾の方法に準じて発病度を 0 ~ 7 の 8 段階に分けて行った。

結果

1 幼苗期におけるイネ品種の抵抗性発現程度

各品種群に属する計 60 品種の 4 ~ 5 葉期（播種後 2 週間）の苗に I, II および III 群菌を接種し、それぞれの発病度を調査した。金南風群 16 品種は I ~ III 群菌に対してすべて 5.0 以上の高い発病度を示し成稲期の反応とよく一致する結果を得た（Fig. 1）。黄玉群 14 品種は II および III 群菌に対してすべて高い発病度を示した。これらの結果は成稲期の反応とよく一致したが、東海 12 号, 東海 28

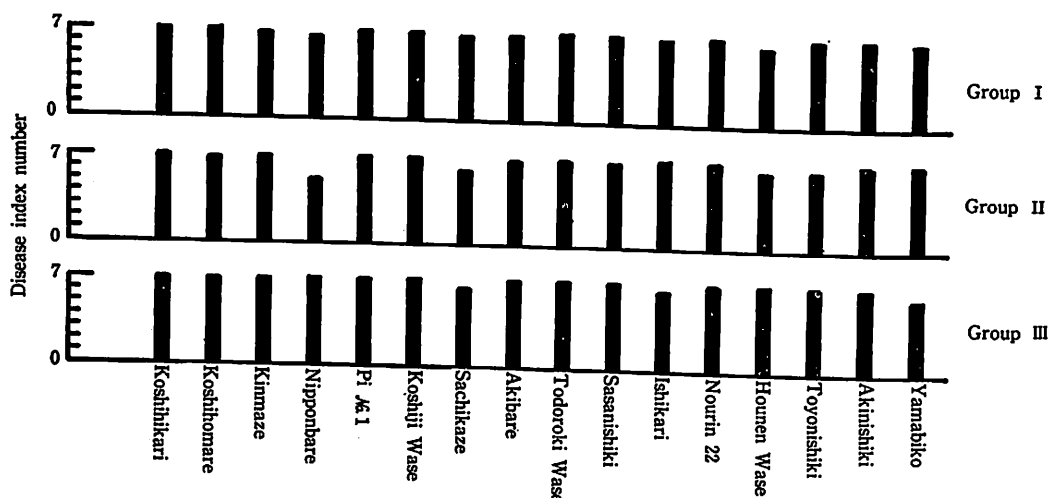


Fig. 1. Reaction of Kinmaze group varieties to bacterial groups I, II and III of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*, by the double needle prick inoculation at seedling stage.

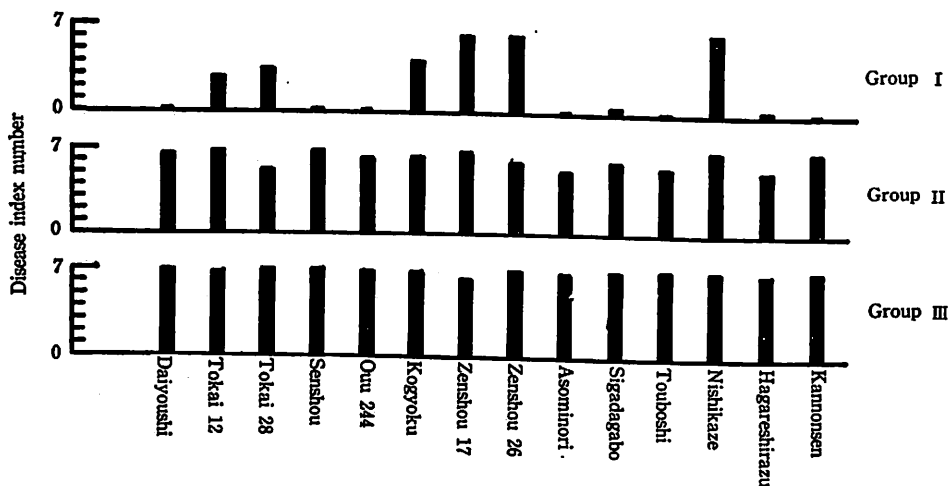


Fig. 2. Reaction of Kogyoku group varieties to bacterial groups I, II and III of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*, by the double needle prick inoculation at seedling stage.

号, 黄玉, 全勝17号, 全勝26号およびニシカゼの6品種はI群菌に対して3.0以上の高い発病度を示し, 成稲期で認められる明瞭な抵抗性反応は示さなかった (Fig. 2)。Rantai Emas 群品種はI群菌に対してはすべて明瞭な抵抗性反応を, III群菌に対してはすべて感受性反応を示し成稲期の反応とよく一致した。しかし, II群菌に対しては各品種とも発病度2.0前後を示し, 成稲期で認められる明瞭な抵抗性反応は認められなかった (Fig. 3)。早稲愛国群16品種は幼苗期において供試3菌株に対していずれも3.0以上の高い発病度を示し, 成稲期で認めら

れる明瞭な抵抗性反応を示さなかった (Fig. 4)。

2 生育時期による抵抗性の変動

幼苗期検定法を確立するために, 前記Iの知見にもとづいて各品種群からそれぞれ3品種ずつを選抜し, 生育時期の違いによる抵抗性の変動を調査して幼苗期判別品種を選定した。そのために各品種群に属する12品種を2, 3, 4, 6および8週間シードリングケースで育苗した後, I~V群菌に対する抵抗性検定を行った。金南風群16品種から選択した金南風, コシヒカリおよび日本晴について得られた結果を Fig. 5 に示した。これらの3品

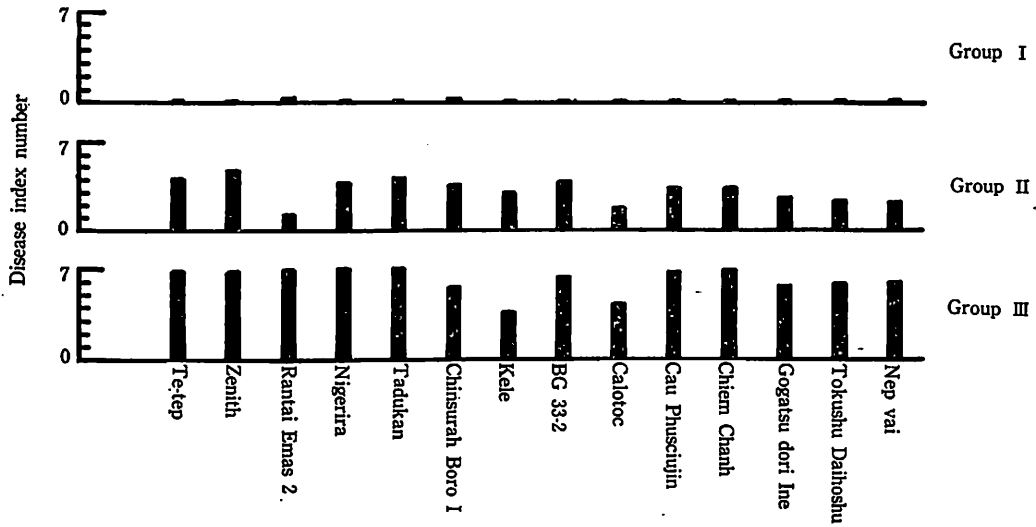


Fig. 3. Reaction of Rantai Emas group varieties to bacterial groups I, II and III of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*, by the double needle prick inoculation at seedling stage.

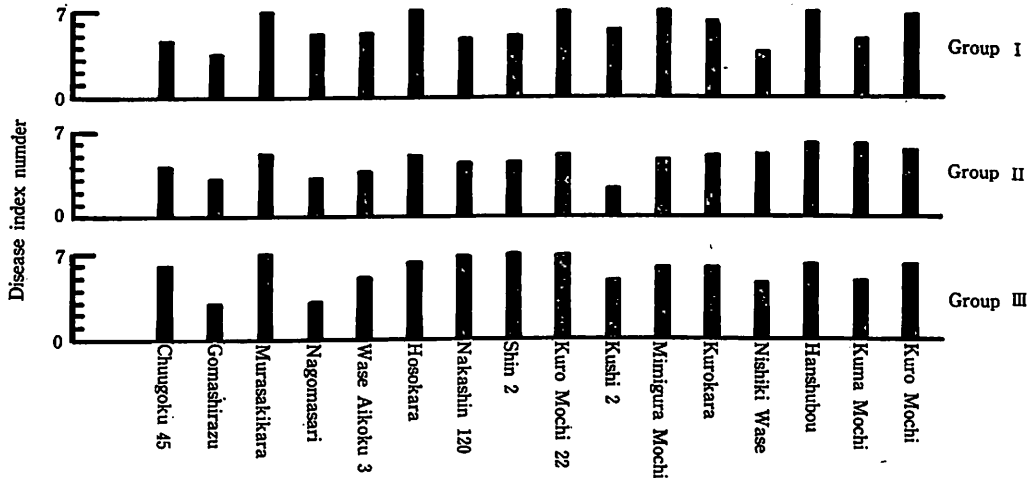


Fig. 4. Reaction of Wase Aikoku group varieties to bacterial groups I, II and III of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*, by the double needle prick inoculation at seedling stage.

種のうち、いずれの生育時期ともすべての菌株に対して高い発病度を示す金南風を幼苗期の判別品種として選定した。なお、供試3品種ともすべての菌株に対して苗令の進展と共に発病度が漸減する傾向が認められた。このような現象は他の品種群においても観察された。その理由の一つとして各生育時期ともすべて接種後2週間目に発病調査を行ったので、葉面積に占める病斑面積率が苗令の進展と共に低下したことが考えられる。

同様にして黄玉群14品種の中から代表的品種とされて

いる黄玉と、幼苗期においてI群菌に対する抵抗性が明瞭に現われた Sigadagabo および唐干の3品種を選別し、抵抗性の変動を調査した。I群菌に対する黄玉の反応は一定ではなく、苗令の進展と共に発病度が低減したことから、本品種を幼苗期の判別品種に利用することは不適当と考えられた。一方、IおよびV群菌に対し安定的に抵抗性を示し、II~IV群菌に感受性を示す Sigadagabo および唐干は黄玉群の特性を備えていると考えられる (Fig.6)。このような理由から幼苗期の判別品種と

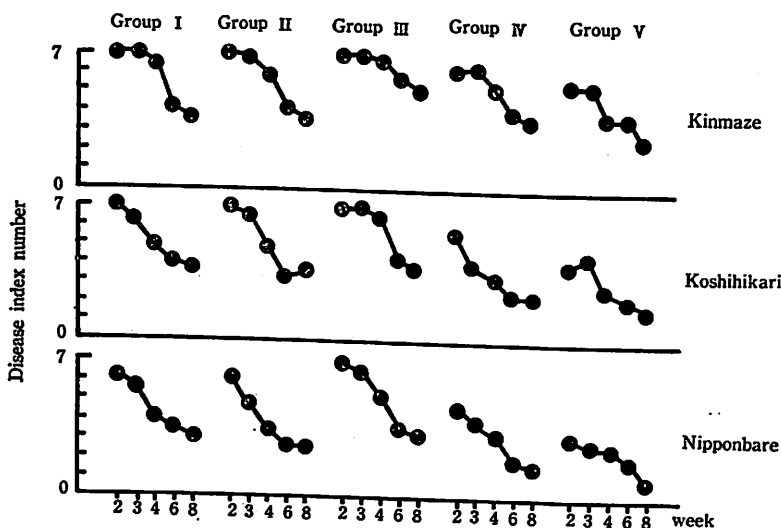


Fig. 5. Relationship between the disease index number and the combination of Kinmaze group rice varieties, bacterial isolates and ages of rice seedlings.

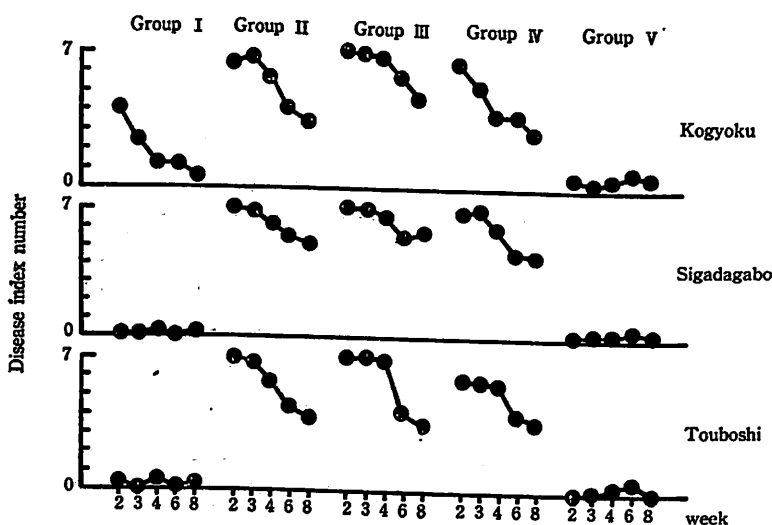


Fig. 6. Relationship between the disease index number and the combination of Kogyoku group rice varieties, bacterial isolates and ages of rice seedlings.

して本実験では Sigadagabo を選定した。Rantai Emas 群14品種の中から Te-tep, Tadukan および特殊大穂稻の3品種を選択し抵抗性の変動を検定した (Fig. 7)。なお、本品種群のうち代表的品種とされる Rantai Emas 2 は種子数が少なかったために、本実験では供試しなかった。これらの3品種は I~V 群菌に対し特有の反応を示し品種間における差異は少なかったが、II 群菌に対する発病度がいずれの生育時期でも安定し相対的に低い値を示す Te-tep を幼苗期の判別品種として選定した。早稲愛国群16品種の中から代表的品種と考えられる早稲愛国3号、中国45号および名鑑まさりの3品種を選択して抵抗性の変動を検討した。3品種とも I~III 群菌

に対して高い発病度を示し成稲期での反応と著しく異ったが、品種間に顕著な差異が認められなかったので代表品種とされる早稲愛国3号を一応選定した (Fig. 8)。

3 I~V 群菌に対する選定品種の反応

前述2の実験にもとづいて幼苗期の菌系判別品種として選定した金南風, Sigadagabo, Te-tep および早稲愛国3号の4品種を用いて、あらかじめ菌系の判明している15菌株に対する反応を幼苗期と成稲期に分けて検定し、幼苗期における菌系判別の可能性を検討した。本実験では、菌系判別の迅速・簡便化を計る意味から幼苗期の検定には播種後2週間の幼苗を用いた。また、不親和性菌系に対する早稲愛国3号の発病度が高いことから

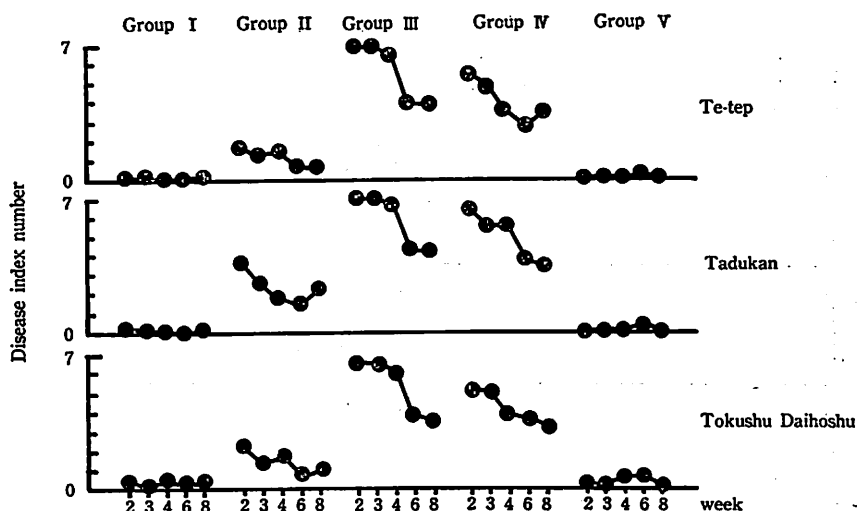


Fig. 7. Relationship between the disease index number and the combination of Rantai Emas group rice varieties, bacterial isolates and ages of rice seedlings.

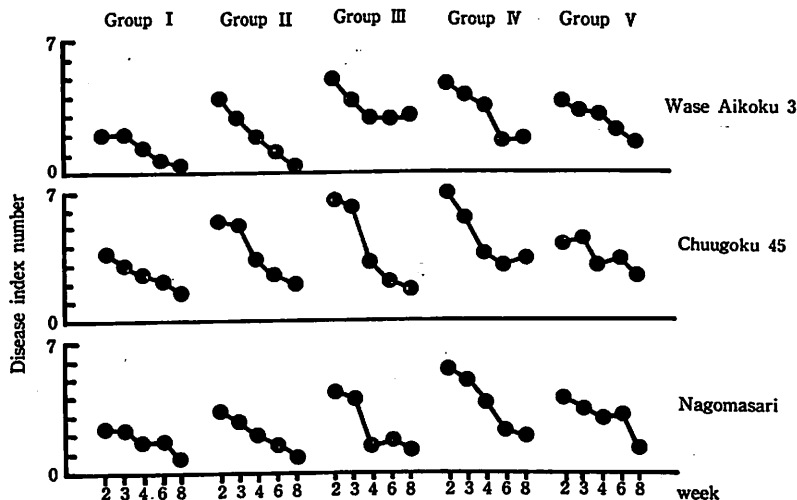


Fig. 8. Relationship between the disease index number and the combination of Wase Aikoku group rice varieties, bacterial isolates and ages of rice seedlings.

(Fig. 4, Fig. 8), 幼苗検定での接種菌濃度を $10^6 \sim 10^7$ 個/ml と低くした。Fig. 9 に示したように Te-tep に II 群菌を、早稲愛国 3 号に I, II および III 群菌を接種した場合、発病度 2.0 前後を示す事例も見出されたが、これらの結果は成稲期の結果とはほぼ一致した。以上のことから幼苗期のイネを用いて I, II および III 群菌を類別することは比較的容易と考えられた。なお、IV および V 群菌は分離当初に比べ病原力が低下しているために、I 群菌と V 群菌および III 群菌と IV 群菌との厳密な判別は困難であり、成稲期検定においても同様の結果が得られた。

4 幼苗期における分離菌株の菌系判別

新潟および長野県産の白葉枯病罹病葉から分離した 25 菌株の菌系判別を幼苗期と成稲期とに分けて行い、その結果を比較した。Fig. 10 のとおり分離 25 菌株は幼苗期のイネで比較的容易に類別でき、I 群菌が 7 株、II 群菌が 15 株および III 群菌が 3 株と判定された。これらの結果は成稲期での検定結果とよく一致し、検定期間による差異は全く見出されなかった。なお、幼苗期における早稲愛国 3 号の抵抗性反応はあまり明確でなく、菌株によって発病度が 3.0 前後とかなり高い場合も認められた。

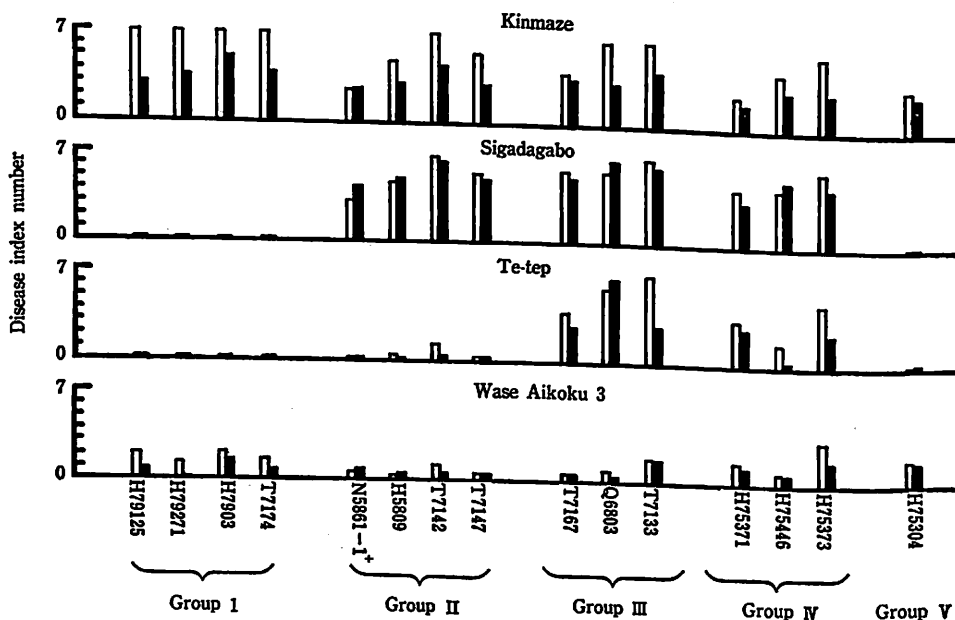


Fig. 9. Reaction of differential varieties to bacterial isolates belonging to group I, II, III, IV and V of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*, by the double needle prick inoculation at seedling and adult stages.
 □ : Seedling stage, ■ : Adult stage.

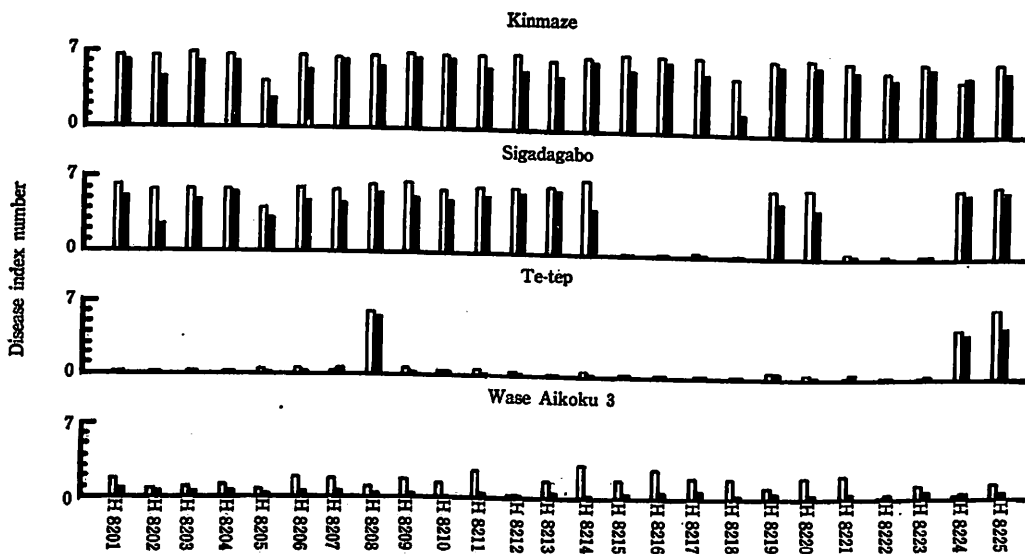


Fig. 10. Reaction of differential varieties to twenty-five isolates of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* collected from Niigata and Nagano prefectures, by the double needle prick inoculation at seedling and adult stages.
 □ : Seedling stage, ■ : Adult stage.

考 察

イネ白葉枯病細菌の病原性とイネ品種の抵抗性との相互関係について、これまでに数多くの研究がなされている^{8,9,12,13}。1969年、高坂⁴)は鷲尾ら¹³)と坂口ら¹²)の報告を整理して、イネ品種は金南風群、黄玉群、Rantai Emas 群および早稲愛国群の4品種群に、病原細菌は第I群、第II群および第III群の3菌系群に分類する方式を提案した。その後、さらに両者の相互関係についての研究^{3,14,15})がなされ、本病原細菌を5菌系群に、イネ品種を7品種群に類別する判別体系が確立された。しかし、1983年に小川¹¹)は従来の判別品種にIR8を加えることによってI群菌がIAおよびIB群に、III群菌がIIIA群とIIIB群とに細分されることを報告した。また、1984年に堀野⁶)は小川の方式にさらに韓国産品種統一を加えることによって、I群菌はIAとIBのほかICの3菌系群に細分されることを報告した。一方、野田・大内¹⁰)はIII群菌Q6809の病原性変異株Q6809-1が品種群に関係なく特定の品種に対する病原性だけを喪失したことを報告している。このように、より多くの菌株や判別品種を供試することによって、今後さらに多くの菌系や品種群が識別され、既往の判別体系が複雑化の一途をたどることは十分予測される。実際、崔²)は韓国産白葉枯病菌を日本、IRRI および韓国の判別品種を用いて検定し、日本の判別品種によるI群菌がさらに5つ、II群菌が6つおよびIII群菌が4つの分化型にそれぞれ細類別されたことを報告している。

このような現象の解明は、本病原細菌の病原性分化に関する研究にとって重要な意味を持つばかりでなく、抵抗性品種の育成・普及や発生子察にとってきわめて重要なことである。すでに、堀野^{4,5})は日本各地から分離した本病原細菌の病原性を検定し、国内における菌系分布を明らかにしている。また、各地域においても菌系の分布調査が行われ、その結果が本病防除の基礎資料として活用されている。しかし、複雑化しつつある判別体系や煩雑で長期間を要する成稲期検定法などが障害となって、本病原細菌の病原性検定を実用場面で実施することが困難となっている。これにかわり、迅速で簡便な検定法を確立するために、本実験で幼苗期のイネを用いてI~V群菌の類別が可能かどうかについて検討した。その結果、金南風、Sigadagabo、Te-tep および早稲愛国3号の4品種を判別品種として用いることによって、I~V群菌の類別がある程度可能であることが明らかとなった。ただし、早稲愛国3号が幼苗期において明瞭な抵抗性を現わさないために、I群菌とV群菌およびIII群菌とIV群菌との判別が難しく、この点が今後の検討課題と考えられ

る。しかし、不親和性のI、IIおよびIII群菌を接種した早稲愛国3号では成稲期と同様に抵抗性の褐色斑がしばしば現われるので、この性質を利用することによって迅速・簡便な菌系判別法が確立できるように思われる。さらに、堀野^{4,5})が1973年~1979年の本邦産白葉枯病菌で明らかにしたように、IVおよびV群菌の分離頻度は両者合わせて約1%ときわめて低いため、優勢なI~III群菌に重点を置いた幼苗期検定法はより実用性が高いと考えられる。

摘 要

幼苗期のイネを用いて白葉枯病細菌の菌系を迅速・簡便に判定する簡易検定法について検討した。菌系判別品種として金南風群品種から金南風を、黄玉群品種からSigadagaboを、Rantai Emas 群品種からTe-tepを、早稲愛国群品種から早稲愛国3号をそれぞれ選定し、4~5葉期苗の完全展開最上葉に既知のI~V群菌を接種したところ、I~III群菌を迅速に類別できることが判明した。本法によって新潟および長野県産の白葉枯病細菌25菌株は容易にI、IIおよびIII群菌に類別できるので、幼苗期検定法は実用性が高いと判断される。ただし、幼苗期の早稲愛国3号は不親和性の菌系に対して比較的高い発病度を示すので、本品種の使用についてはさらに検討が必要である。

引用文献

- 1) Ezuka, A. and Horino, O. (1974) Classification of rice varieties and *Xanthomonas oryzae* strains on the basis of their differential interaction. Bull. Tokai-Kinki Natl. Agr. Exp. Stn. 27: 1~19.
- 2) 崔 庸哲 (1984) 韓国産イネ白葉枯病菌の病原性分化について. 日植病報 50: 142.
- 3) Horino, O. and Hartini, R.H. (1978) Resistance of some rice varieties to bacterial leaf blight and a new pathogenic group of the causal bacterium, *Xanthomonas oryzae*. Contr. Centr. Res. Inst. Agric. Bogor. 44: 1~17.
- 4) 堀野 修 (1978) 最近の日本におけるイネ白葉枯病菌系分布. 日植病報 44: 297~304.
- 5) 堀野 修 (1981) 1977年、1979年の日本におけるイネ白葉枯病菌系分布. 日植病報 47: 50~57.
- 6) 堀野 修 (1984) 日本のイネ白葉枯病菌に対する韓国イネ品種(統一、密陽42号、八光)の反応. 日植病報 50: 142.
- 7) 高坂卓爾 (1969) イネ病害防除における抵抗性品種の利用. 農及園 44: 208~212.
- 8) 久原重松・関谷直正・田上義也 (1958) 抵抗性品種の集団栽培地域に激発した稻白

- 葉枯病の病原菌について。日植病報 23:9. 9) 草葉敏彦・渡辺 実・田部井英夫・向 秀夫 (1958) 水稻白葉枯病に対する品種間抵抗性の差異 系統菌の病原性について (その1)。日植病報 23:9. 10) 野田孝人・大内 昭 (1984) イネ白葉枯病菌Q6809 (Ⅲ群菌) の病原性変異株について。日植病報 50:276~277.
- 11) Ogawa, T. (1983) Pathogenic specialization in bacterial groups I and III of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* in Japan. Ann. Phytopath. Soc. Japan 49:69~72. 12) 坂口 進・阪訪隆之・村田伸夫 (1968) イネ栽培種および野生種のイネ白葉枯病耐病性。農技研報 D18:1~29. 13) 鷺尾 養・仮谷 佳・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 A13:55~85.
- 14) 山田利明・堀野 修・佐本四郎 (1979) イネ白葉枯病抵抗性に関する遺伝・育種学的研究 第1報 白葉枯病菌 I~V 群菌に対する二つの新しい反応型品種の発見。日植病報 45:321~325. 15) Yamamoto, T., Hartini, R. H., Muchamad, M., Nishizawa, T. and Tantera, D. M. (1977) Variation in pathogenicity of *Xanthomonas oryzae* (Uyeda et Ishiyama) Dowson and resistance of rice varieties to the pathogen. Contr. Centr. Res. Inst. Agric. Bogor 28:1~22. (1985年9月20日受領)