

人工接種法による3種の雪腐病に対するコムギ品種の抵抗性検定

竹中 重仁・吉野 嶺一*

Shigehito TAKENAKA, Reiichi YOSHINO*: Testing of resistance of wheat cultivars to three snow mold diseases by snow mold chamber methods

Summary

Experiments were carried out to develop suitable techniques for testing the resistance of wheat cultivars to *Pythium paddicum*, *Typhula incarnata* and *Fusarium nivale* using the snow mold chamber methods. The wheat cultivars used in this study were Nōrin No.61 (low snow endurance), Tōsan No.16 (middle) and Yukichabo (high). The snow mold chamber methods used in this study were as follows: In the method A, five seeds of each cultivar were planted at the opposite sides of a plastic pot, and grown in a growth chamber at 9–15°C with a 16 hr photoperiod ($200\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) for 26–28 days. Each fungus incubated in sand-wheat bran-dextrose medium was spread on the soil surface of each plastic pot. The plants were bent on the inoculum and covered with moistened absorbent cotton. Each pot was wrapped in a bag to keep humidity and incubated at 0.5°C in the dark for varying intervals. At the end of the incubation period, the cotton was removed and the plants were transferred to the growth chamber. The percentage survival was recorded after a recovery period of 2 weeks. In the method B, seedlings were grown outdoors from early November to early December of 1986 (for testing the resistance to *P. paddicum* and *F. nivale*) and 1987 (for *T. incarnata*) to allow plants to cold-harden under natural conditions. During these growth conditions, a minimum air temperature ranged from 0 to 8°C and a maximum air temperature ranged from 15 to 25°C. In the method C, seedlings were grown in the growth chamber for 28 days and hardened at 0–5°C with a 16 hr photoperiod ($50\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) for one week. The methods of artificial inoculation and assessment of resistance in the methods B and C were the same as mentioned in the method A.

The method A was able to detect statistically significant differences between Nōrin No.61 and Yukichabo, but not differences among three cultivars. In the method B Yukichabo especially exhibited increased percentages survival compared with those of Yukichabo in the method A, and therefore the degrees of resistance of three cultivars were distinguishable. The differences among three cultivars in resistance to *P. paddicum*, *T. incarnata* and *F. nivale* were distinctly detected at the incubation period of 3–4 weeks, 7 weeks and 2 weeks, respectively. In the method C, Yukichabo also exhibited increased percentages survival compared with those of Yukichabo in the method A. However, the degrees of resistance of three cultivars were indistinguishable because the percentages survival of Nōrin No.61 and Tōsan No.16 also increased. These results suggest that the method B is a suitable technique for testing the resistance of wheat cultivars to these three snow mold fungi.

コムギを含む越冬性作物の雪腐病に対する品種抵抗性の検定を、圃場で実施する場合、以下の3つの問題点が

ある。1)圃場では各種雪腐病が混合発生するため、特定の病原菌に対する検定が困難である。2)根雪日数の年次変動が大きいので、データの解析が難しい。3)年に1度しか試験ができず、また試験に長時間を要する。これらの問題点を解決するため、今まで多くの研究者達により、本病の人工接種法が考案されてきた1,2,3,5,6,8,10,11,12,13)。

農林水産省北陸農業試験場 Hokuriku National Agricultural Experiment Station, Joetsu, Niigata 943-01, Japan

*現在: 農林水産省農業研究センター Present address: National Agriculture Research Center, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan

これらの方法は、基本的には供試植物に特定の病原菌を接種し、積雪下や積雪下に類似した環境 (snow mold chamber) 下に一定期間置き、その後の再生程度により抵抗性を検定するものである。しかし、人工接種法により抵抗性の検定を行う場合、実験条件、特に供試植物体の生育量と接種後の snow mold chamber 内への収納期間の長短により検定結果が異なり、抵抗性の品種間差が判然としない場合が出てくる⁸⁾。

そこで筆者らは、圃場において耐雪性程度が異なるコムギ3品種を用い、Bruehl⁵⁾と高松¹³⁾の方法を若干改変した人工接種法により、北陸地方に主に分布している褐色雪腐病菌の一種 *Pythium paddicum*, 雪腐褐色小粒菌核病菌 (*Typhula incarnata*) および紅色雪腐病菌 (*Fusarium nivale*) に対する抵抗性検定を実験条件を変えて行った。その結果、圃場での耐雪性程度と一致し、雪腐病抵抗性の品種間差が明瞭に現われる検定条件を得ることができたのでここに報告する。

本稿を草するに当たり、本文を御校閲いただいた北陸農業試験場渡辺好昭主任研究官、および菌株を分譲いただいた福井県農業試験場高松進博士に深謝の意を表する。

材料および方法

褐色雪腐病と雪腐褐色小粒菌核病の混合発生する圃場での耐雪性検定結果¹⁵⁾で、異なった耐雪性程度を示したコムギ3品種、ユキチャボ (耐雪性強)、東山16号 (中) および豊林61号 (弱) を供試した。供試菌株として、*P. paddicum* W-82-15, *T. incarnata* HT8301 および *F. nivale* HF8301 の3菌株を用いた。これら菌株の来歴は既報¹⁶⁾の通りである。人工接種法として、上記コムギ3品種の育苗条件を異にする下記3法を用い、各種雪腐病

に対する品種抵抗性検定を行った。

1 人工接種法A

殺菌土をつめた角型ポット (13.3×28.4×9.0cm, N 0.76g/ポット) の両端にコムギを5粒ずつ (計10粒/ポット) 播種し、温度 9~15°C, 照度 200 μ E \cdot m⁻²·s⁻¹ (マルチハロゲン灯, 松下電器産業), 照明時間16時間の人工気象室内で26~28日間育苗した3~4葉期の幼苗を接種に供試した。供試菌株は 300ml のジャガイモ煎汁液体培地で15°C, 10日間培養し、その後、培養液ごと400gのグルコース添加フスマ・砂培地 (フスマ1 ℓ , 砂1 ℓ , グルコース14g, 蒸留水250ml) に流し込み、15°C, 約20日間培養し、接種源とした。接種源を1ポット当たり110g床土上に敷きつめ、接種源に密着するように植物体を両側から倒して、その上に吸水脱脂綿をのせ、ビニール袋で包み、0.5°Cの低温室に収納した。所定の低温処理期間後に、上記人工気象室内で植物体を2週間再生させ、生存株率 (生存株数/全調査株数×100) を調査した。

2 人工接種法B

越冬性作物は秋期から初冬にかけての低温短日条件で硬化 (hardening) し、耐寒性が高まる⁹⁾ことが指摘されているため、上記コムギ3品種を11月上旬から35日間、自然条件下 (最低気温 0~8°C, 最高気温 15~25°C) で3~4葉期まで育苗し、接種に供試した。*P. paddicum* と *F. nivale* の接種試験は1986年に、*T. incarnata* の接種試験は1987年に行った。所定の低温処理期間後に15~25°Cのガラス室で2週間再生させ、生存株率を調査した。コムギの播種法および接種源の作製法は、人工接種法Aに準じた。

3 人工接種法C

硬化処理を人工環境下で行うため、人工接種法Aで育

Table 1. Growth state of wheat cultivars used in snow mold chamber methods

Snow mold chamber method	Cultivar	Plant height (cm)	Number of tillers	Dry weight (g)	Dry matter (%)
A	Nōrin No. 61	36.6	1.5	0.08	10.0
	Tōsan No. 16	31.7	1.5	0.09	10.7
	Yukichabo	31.8	1.0	0.10	11.8
B (1986)	Nōrin No. 61	16.1	1.5	0.06	17.0
	Tōsan No. 16	13.3	2.5	0.07	16.5
	Yukichabo	13.2	1.7	0.06	18.2
B (1987)	Nōrin No. 61	16.4	1.6	0.07	15.2
	Tōsan No. 16	11.8	2.3	0.07	15.5
	Yukichabo	13.0	1.2	0.07	19.2
C	Nōrin No. 61	38.7	1.3	0.14	15.1
	Tōsan No. 16	30.4	2.5	0.16	15.2
	Yukichabo	31.3	1.1	0.15	16.6

a) Values in the table are means of 30 plants.

b) Values in the table are means of 20 plants.

苗したコムギ3品種を、温度0~5°C、照度50μE・m⁻²・s⁻¹ (Biolux-A, 日本電気), 照明時間16時間の環境下に1週間置いた後、接種に供試した。所定の低温処理期間後に人工接種法Aで用いた人工気象室内で2週間再生させ、生存株率を調査した。本法では *P. paddicum* W-82-15と *F. nivale* HF8301の2菌株を供試し、コムギの播種法および接種源の作製法は、人工接種法Aに準じた。

結 果

1 接種に供試した植物体の生育量

人工接種法A, 1986年と1987年に行った人工接種法Bおよび人工接種法Cにおいて、接種に供試したコムギ3品種の接種時の年育量を、Table 1に示した。人工気象室内で育苗した植物体は、自然条件下で育苗したものに比べ、3品種とも乾物重は高かったが、徒長ぎみで乾物率が低かった。しかし、人工環境下で1週間硬化処理を行うことにより3品種とも乾物率が増加した。1986年と1987年に各々11月上旬から35日間自然条件下で育苗した植物体の生育量は、年により多少変動したが、兩年ともユキチャボの乾物率が東山16号および農林61号の乾物率より高かった。

2 品種の雪腐病抵抗性の検定結果

P. paddicum 接種区では、人工接種法A, B, Cのいずれにおいても、低温処理期間が長くなるにつれて生存株率が低下した (Fig. 1)。人工接種法Aでは、低温処理期間2, 3, 4週間でユキチャボと農林61号の生存株率間に、また、低温処理期間3, 4週間でユキチャボと東山16号の生存株率間に有意差が認められたが、3品種の生存株率間に有意差は認められなかった (Fig. 1 A)。人工接種法BではAに比べ、ユキチャボの抵抗性が特に高まり、その結果生存株率の品種間差が明瞭に現われ、低温処理期間3, 4週間で3品種の生存株率間に有意差が認められた (Fig. 1 B)。一方人工環境下で硬化処理を行った人工接種法Cでも、人工接種法Aに比べ明らかに3品種の抵抗力が高まり、また人工接種法Bの結果よりも高かった。しかし、3, 4, 5週間の低温処理期間においてもユキチャボと東山16号の抵抗性の差異を検出することができなかった (Fig. 1 C)。

T. incarnata 接種区においても、低温処理期間が長くなるにつれて生存株率が低下した (Fig. 2)。人工接種法Aでは、低温処理期間4週間でユキチャボと農林61号の生存株率間に有意差が認められたが、ユキチャボと東山16号の生存株率間に有意差は認められなかった (Fig. 2 A)。人工接種法BではAに比べ、ユキチャボと農林61号の生存株率間に明瞭な差が現われ、低温処理期間7週

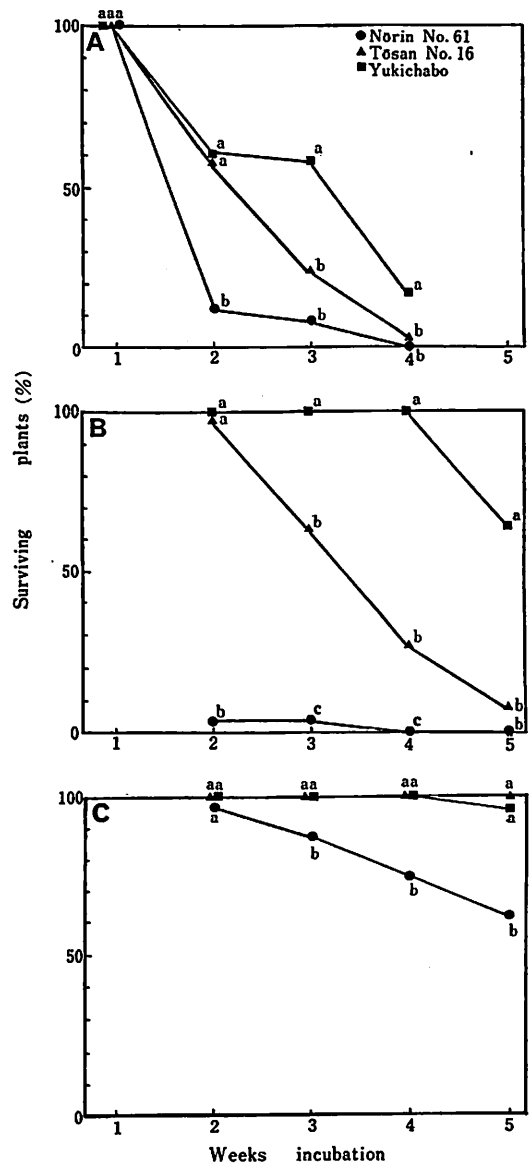


Fig. 1 Survival of wheat cultivars (Nōrin No. 61, Tōsan No. 16 and Yukichabo) after incubation at 0.5°C in the dark with *Pythium paddicum* isolate W-82-15 in snow mold chamber methods A (A), B (B) and C (C). Data are means of 5 pots (10 plants per pot). For statistical comparison, arc sin√% transformed values are used. Values at each incubation period followed by the same letter do not differ at p=0.05, using Duncan's multiple-range test.

間で3品種の生存株率間に有意差が認められた (Fig. 2 B)。

F. nivale は他の2菌より明らかに病原力が強く、人

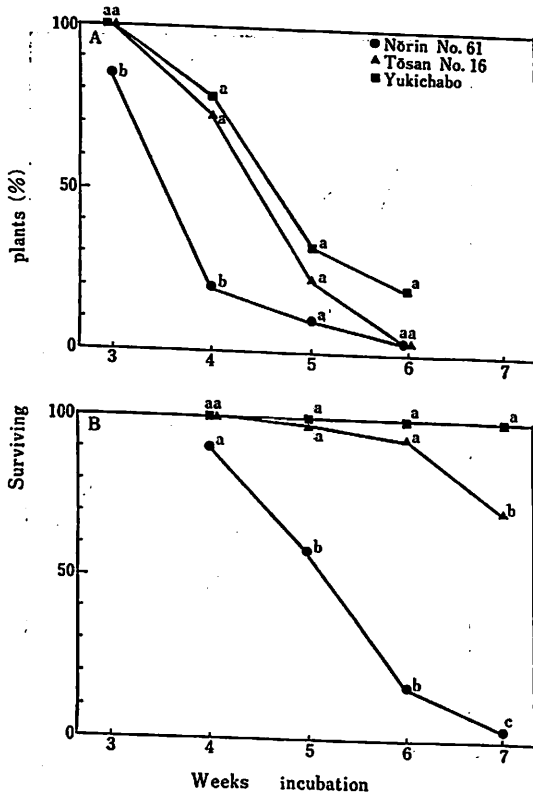


Fig. 2 Survival of wheat cultivars (Nōrin No. 61, Tōsan No. 16 and Yukichabo) after incubation at 0.5°C in the dark with *Typhula incarnata* isolate HT8301 in snow mold chamber methods A (A) and B (B). Data are means of 5 pots (10 plants per pot). For statistical comparison, arc sin $\sqrt{\%}$ transformed values are used. Values at each incubation period followed by the same letter do not differ at P=0.05, using Duncan's multiple-range test.

工接種法 A, B では低温処理期間 3 週間で、3 品種ともほとんどの株が枯死してしまった (Fig. 3)。人工接種法 A ではいずれの低温処理期間においても 3 品種の生存株率間に有意差は認められなかったが (Fig. 3 A), 人工接種法 B では低温処理期間 2 週間で有意差が認められた (Fig. 3 B)。一方人工接種法 C では、人工接種法 A, B に比べ明らかに 3 品種の抵抗力が高まったが、2 週間の低温処理期間で農林 61 号と他の 2 品種の生存株率間に有意差が認められたのみであった (Fig. 3 C)。

考 察

Bruehl 4) は、人工接種法を用いたコムギ品種の雪腐病抵抗性検定は、圃場試験に比べ、細かい抵抗性の品種間差が出にくいことを指摘している。これは、人工接種法による検定結果が、供試植物体の接種時の生育量や接

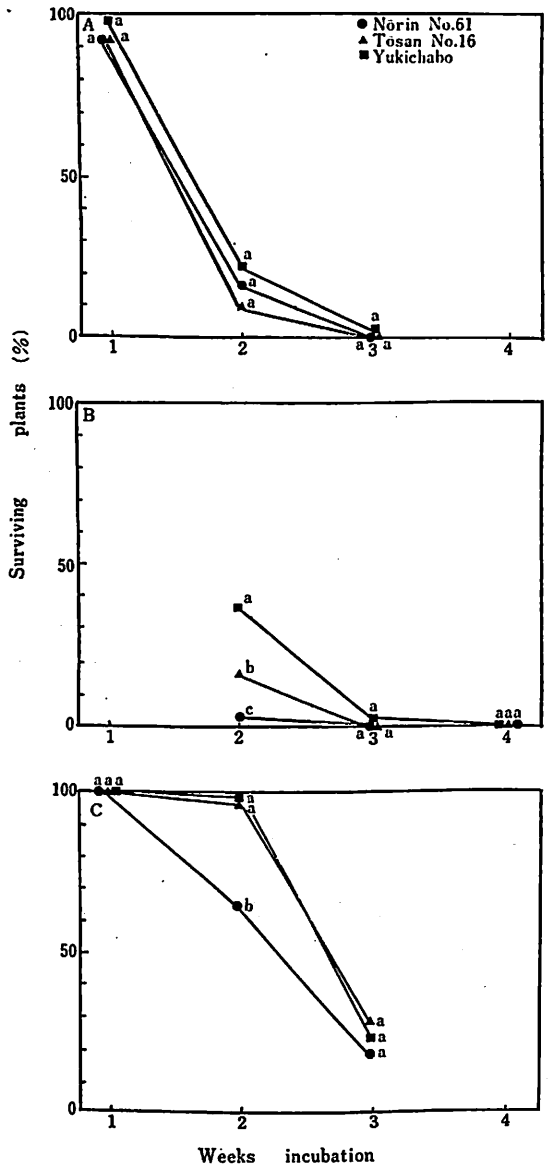


Fig. 3 Survival of wheat cultivars (Nōrin No. 61, Tōsan No. 16 and Yukichabo) after incubation at 0.5°C in the dark with *Fusarium nivale* isolate HF8301 in snow mold chamber methods A (A), B (B) and C (C). Data are means of 5 pots (10 plants per pot). For statistical comparison, arc sin $\sqrt{\%}$ transformed values are used. Values at each incubation period followed by the same letter do not differ at P=0.05, using Duncan's multiple-range test.

種後の低温処理期間の長さなどの実験条件に大きく影響されるためと考えられる。そこで、上記の実験条件を変えた人工接種法により検定を行った結果、11月上旬から

35日間自然条件下で3~4葉期まで育苗した植物体を用いた人工接種法Bにより、雪腐病に対する抵抗性の品種間差が明瞭に現われた。このことから、各菌に対するコムギ品種抵抗性検定は人工接種法Bを用いて、*P. paddicum* に対する抵抗性は低温処理期間3~4週間後に、*T. incarnata* に対する抵抗性は7~8週間後に、*F. nivale* に対する抵抗性は約2週間後に検定すればよいことが明らかとなった。本法を用いた検定で、*F. nivale* に対する抵抗性の品種間差が、他の2菌より明瞭に現われなかった理由として以下のことが考えられる。すなわち、本試験に供記したコムギ3品種は、褐色雪腐病と雪腐褐色小粒菌核病が混合発生していた圃場で、耐雪性強・中・弱品種と判定されたものであるため、*F. nivale* に対しても抵抗性強・中・弱品種であるとは必ずしも言えない。また、高松¹⁴⁾も報告しているように、*F. nivale* は他の2菌に比べ明らかに病原力が強いので、抵抗性の品種間差が出にくい可能性も考えられる。本菌に対する抵抗性検定については、他の品種を用いて再検討する必要がある。

硬化処理により、越冬性作物の耐寒性や雪腐病抵抗性が高まることが指摘されている^{2,7,9)}。本試験でも、人工気象室で育苗した植物体を0~5°C、照度50 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、照明時間16時間の環境下に1週間収納することにより、無処理区に比べ、3品種とも雪腐抵抗性が明らかに高まった。渡辺¹⁹⁾も、同様な環境下にオオムギを1週間保持した後、接種することにより、無処理区に比べ*P. paddicum* の葉身内での伸展が抑制されたことを報告している。しかし、この方法では人工接種法Bのような明瞭な品種間差は現われていない。渡辺^{17,18)}はオオムギとイタリアンライグラスを用いて、越冬前の植物体の生育量を表わす指標の中で、地上部乾物量と乾物率が越冬率との間に高い相関関係を示したことを報告している。しかし本試験では、人工接種法Cにおいて3品種の抵抗性が人工接種法Aの結果に比べ高まった理由を、Table 1の結果から上記2つの指標によって説明することはできるが、これにより、人工接種法Bにおいて抵抗性の品種間差が明瞭に現われる理由を説明することはできない。抵抗性の品種間差発現に関与する要因については、今後更に検討したい。

人工接種法Bによる検定結果は、上述したように圃場での検定結果と一致し、明瞭な品種間差が現われる。しかし、本法は秋から初冬の自然条件下で育苗した植物体を供試するため、試験期間が制限される欠点がある。今後、雪腐病抵抗性強品種と弱品種とは識別できるが、中程度の抵抗性が検出されにくい人工接種法A、Cを改良し、抵抗性の明瞭な品種間差を検出でき、かつ夏期にも

実施できる検定法を開発する必要がある。

摘 要

1 育苗条件と低温処理期間の長さを変えた人工接種法により、耐雪性の異なるコムギ3品種の*P. paddicum* *T. incarnata* および *F. nivale* に対する抵抗性検定を行った。

2 秋期から初冬にかけての低温短日条件下で育苗した植物体を用いた人工接種法Bは、人工気象室で育苗した植物体を用いた人工接種法Aおよび人工環境下で硬化処理を行った植物体を用いた人工接種Cに比べ、3菌に対する抵抗性の品種間差が明瞭に現われた。

3 各菌に対するコムギ品種抵抗性検定には人工接種法Bを用いて、*P. paddicum* に対する抵抗性は低温処理期間3~4週間後に、*T. incarnata* に対する抵抗性は7~8週間後に、*F. nivale* に対する抵抗性は約2週間後に検定すればよいことが明らかとなった。

引用文献

- 1) Abe, J. and Matsumoto, N. (1981) Resistance to snow mould diseases caused by *Typhula* spp. in cocksfoot. J. Japan. Grassl. Sci. 27: 152-158.
- 2) Årsvoll, 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: 1-14.
- 3) Bloomquist, H.H. and Jamalainen, E.A. (1968) Preliminary tests on winter cereal varieties of resistance to low temperature parasitic fungi in controlled conditions. J. Sci. Agric. Soc. Finl. 40: 88-95.
- 4) Bruehl, G.W. (1982) Developing wheats resistant to snow mold in Washington state. Plant Disease 66: 1090-1095.
- 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) 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.
- 7) Gaudet, D.A. and Chen, T.H.H. (1987) Effects of hardening and plant age on development of resistance to cottony snow mold (*Coprinus psychromorbidus*) in winter wheat under controlled conditions. Can. J. Bot. 65: 1152-1156.
- 8) 石黒

- 深・永田 保・大山一夫 (1982) 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. 北陸病虫研報 30:121-125. 9) Levitt, J. (1972) Responses of plants to environmental stress. Academic Press, New York, 697pp. 10) Lipps, P.E. and Bruehl, G.W. (1980) Reaction of winter wheat to Pythium snow rot. Plant Disease 64:555-558. 11) Smith, J.D. (1981) Snow molds of winter cereals: guide for diagnosis, culture, and pathogenicity. Can. J. Plant Pathol. 3:15-25. 12) Sunderman, D.W. (1964) Modifications of the Cormack and Lebeau technique for inoculating winter wheat with snow mold-causing *Typhula* species. Plant Dis Repr. 48:394-395. 13) 高松 進 (1983) 室内人工接種法を利用したムギ雪腐病の病原菌別薬効比較. 北陸病虫研報 31:79-81. 14) 高松 進・川久保幸雄・杉本達美 (1987) 数種ムギ褐色雪腐病菌の病原力比較. 福井農試報 24:15-24. 15) 竹中重仁・吉野嶺一・山田昌雄 (1986) 圃場におけるムギ雪腐病の発生経過と被害の品種間差 (講要). 日植病報 52:102. 16) Takenaka, S. and Yoshino, R. (1987) Detection of snow mold fungi in wheat plants by means of polyacrylamide gel electrophoresis of ribosomal proteins. Ann. Phytopath. Soc. Japan 53:591-597. 17) 渡辺好昭・塩谷哲夫・湯川智行 (1988) 播種期と施肥窒素量がイタリアンライグラスの雪害に及ぼす影響 (講要). 日草誌34別号:239-240. 18) 渡辺好昭・湯川智行・塩谷哲夫 (1988) 大麦の播種期と雪害. 北陸作部学会報 23:67-69. 19) 渡辺好昭・湯川智行・竹中重仁・塩谷哲夫 (1988) ハードニング処理がオオムギの雪腐病抵抗性に及ぼす影響 (講要). 日作紀 57 別号:247-248.

(1988年11月4日受領)