

石川県で分離されたイネ白葉枯病菌のレース (予報)

安達直人・永昌秀樹

Naoto ADACHI and Hideki NAGAHATA :
Pathogenic races of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in
Ishikawa Prefecture

難防除病害の一つであるイネ白葉枯病の効率的な防除を行う上で、病原細菌のイネ品種に対する寄主特異性を考慮する必要がある。日本国内において、白葉枯病病原細菌は現在Ⅰ群菌からⅦ群菌までのレースに大別されている⁹⁾。

1990年代前半までは、北陸農業試験場(現中央農業研究センター北陸研究センター)の堀野、野田らによって、国内におけるレース分布が精力的に研究されていた^{3,4,8,10,11)}。当時、石川県ではⅠ群菌およびⅡ群菌のみが確認され、他のレースについては未報告であった。1990年代に入ると白葉枯病の発生が全国的に減少し、徐々に本病が問題視されなくなったためか、1993年以降、レース分布調査を含めた生態学的研究の進展は皆無に近い状態となった。しかしながら、石川県の一部の地域においては今だにその被害が多く認められ、抵抗性品種の導入を含む、総合的な防除法の開発が強く望まれている。そこで、約10年間滞っていた県内における白葉枯病菌のレース検定を行うことによって、今後の防除対策の一助とすることを目的に以下の試験を実施した。

なお、レース判別用イネ品種の種子を農林水産省中国農業試験場(現農業技術研究機構近畿中国四国農業研究センター)作物開発部稲育種研究室から分譲いただき、また、対照として用いた白葉枯病菌を京都府立大学農学部名誉教授堀野修博士並びに石川県農業短期大学農業資源研究所助手中谷内修氏から分譲いただいた。ここに記して厚くお礼申し上げる。

材料および方法

1. 病原細菌の分離

白葉枯病菌の分離は、1999年および2001年に、県内の4地点(第3図)の白葉枯病罹病株より常法に準じて

行った¹⁹⁾。すなわち、罹病葉中の枯死化していない黄色病斑部を5mm角に切り取り、70%エタノールに瞬間浸漬した後、次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素濃度1%)で3分間の表面殺菌を行った。次いで、滅菌水で3回すすぎを行った後、ジャガイモ半合成培地に置床し、28℃で培養した¹⁰⁾。3日後に生育してきた黄色菌泥を白金耳でかき取り同培地に画線し、数日後に現れる単一コロニーを分散媒(10%スキムミルク、1.5%グルタミン酸ナトリウム)に懸濁し、-60℃で冷凍保存した。なお、供試した分離菌の細菌学的性質の調査は行わず、PCRによる16S-23S rDNA スペーサー領域の増幅¹⁾とイネに対する病原性の確認により白葉枯病菌と判断した。

2. 供試品種

金南風群として金南風およびIR24、黄玉群として黄玉、Rantai Emas群としてTe-tepおよび早稲愛国群として中国45号を供試した。各品種の白葉枯病菌レースとの相互関係は第1表に示した。

全品種とも2001年5月30日に石川県農業総合研究センター内の圃場に移植した。金南風、黄玉およびTe-tepについては、第1回目の剪葉接種をする3日前の8月5日に1/5000aのワグネルポットに鉢上げした。また、第1回目の接種結果から第2回目の接種が必要となったことから、第2回目接種前の8月30日にIR24を、さらには9月3日に中国45号を同様に圃場からポットへ鉢上げした。

3. 接種

供試菌株を第2表に示した。冷凍保存菌株を室温で融解後、ジャガイモ半合成培地に画線し28℃で培養した。生育してきた単コロニーを別のジャガイモ半合成培地に広げ、生育した菌体を滅菌水に懸濁して約 $10^8 \sim 10^9$ cfu/mlの濃度となるように調整し接種源とした。

接種は2001年8月8日(IR24、中国45号についてはそれぞれ8月31日、9月4日)に剪葉接種法⁷⁾により行った。すなわち、解剖はさみを菌懸濁液に浸し、即座に供試品種の最上位展開葉から逆算して第2葉(2回

第1表 イネ品種群と白葉枯病菌レースとの相互関係

品種群	供試品種	石川県内 栽培品種	各レースに対する反応 ¹⁾							
			I	II	III	IV	V	VI	VII	
金南風群	金南風	コシヒカリ								
		ほほほの穂	S ²⁾	S	S	S	S	S	S	S
黄玉群	IR24	能登ひかり他								
		未確認	S	S	S	S	S	S	R	
Rantai Emas群	黄玉	未確認	R	S	S	S	R	R	S	
早稲愛国群	Te-tep	未確認	R	R	S	S	R	S	R	
		中国45号	R	R	R	S	S	R	S	

注1) 野田ら(1987)を一部改正

2) S:感受性, R:抵抗性

第2表 検定に供した菌株

菌株名	分離地	品 種	レース
IO9901	石川県金沢市大場町	ほほほの穂	-
IO9907	石川県七尾市飯川町	どんとこい	-
IO9909	石川県羽咋市飯山町	ほほほの穂	-
IO0103	石川県金沢市才田町	コシヒカリ	-
T7156	滋賀県安曇川町	湖西1号	I
T7147R ¹⁾	岐阜県岐阜市	ハッシモ	II
T7167	京都府宇治田原町	中生新千本	III

注1) T7147Rは分離菌T7147のリファンピシン耐性培養変異株。

目の接種については止葉)の葉先から5cm程の位置で切断する方法で接種した。1品種あたり2ポットについて、1ポットあたり3葉ずつの計6葉に接種した後、ポットを野外に放置した。白葉枯病の接種試験を行う際に、4~5葉期の幼苗では本病に対する抵抗性が十分に発現されない品種があることが知られているため²⁾、本研究では高精度での検定を期待し、成稲への接種とした。

進展病斑長の測定は接種2週間後と3週間後に行い、生理的な枯れ上がりが著しいものや、昆虫による食害が認められたものは測定不能とし除外した。

結 果

菌接種2週間後および3週間後の進展病斑長を第3表に示した。本実験においては、レースが既知であるT7156, T7147RおよびT7167の判別品種に対する反応を基に、平均病斑長が20mmを超えるものを感受性(S)、20mm以下のものを抵抗性(R)とした。金沢市で分離されたIO9901およびIO0103の金南風に対する2週間後の平均病斑長はそれぞれ93mm, 126mmであり、黄玉とTe-tepに対してはいずれも2mmであることから(SSR)、両菌はI群菌もしくはV群菌に属することが推定された

第3表 接種2週間および3週間後の平均病斑長

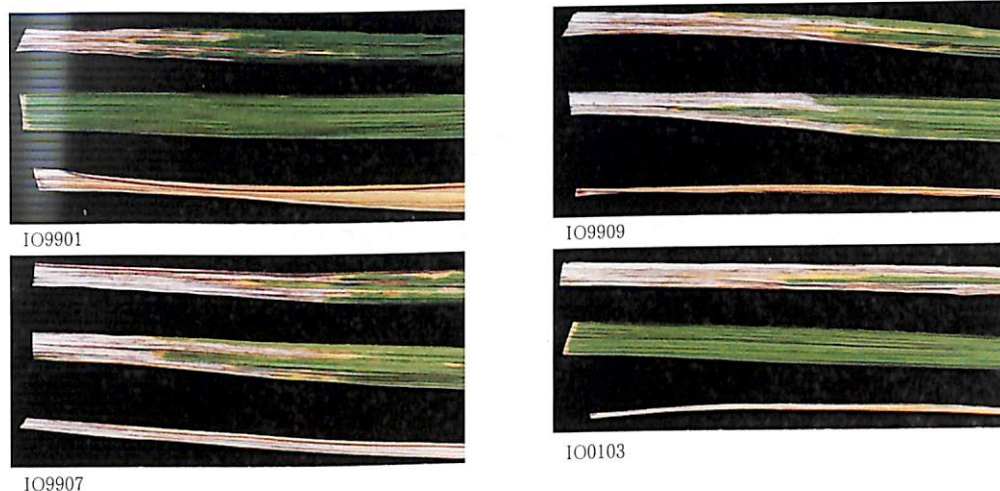
菌株名	金南風	黄玉	Te-tep
IO9901	93.3±9.1 ¹⁾	2.0±0.3	1.5±0.2
	98.2±8.3 ²⁾	1.3±0.2	1.0±0.0
IO9907	114.5±5.6	65.0±8.9	1.7±0.3
	124.0±7.7	72.8±7.7	1.6±0.4
IO9909	117.3±13.4	81.3±6.0	1.8±0.3
	124.5±4.9	90.8±7.3	1.0±0.0
IO0103	125.7±8.2	1.2±0.2	1.5±0.2
	146.2±10.0	1.3±0.3	1.4±0.2
T7156	119.8±5.2	1.5±0.3	2.0±0.7
	123.2±8.2	1.2±0.2	1.0±0.0
T7147R	85.5±8.0	66.8±9.3	1.6±0.2
	87.0±8.6	61.0±7.7	2.0±0.4
T7167	47.5±4.9	42.0±8.4	82.2±6.1
	58.2±7.0	41.8±6.4	90.3±10.8

注1) 接種2週間後の平均病斑長(mm)±S.E.

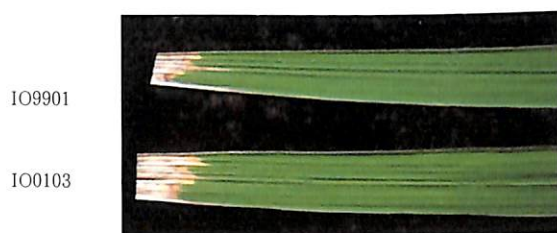
2) 接種3週間後の平均病斑長(mm)±S.E.

(第1図)。そこで、I群菌かV群菌かを特定するため、両菌を中国45号に接種したところ、2週間後の平均病斑長はいずれも17mmであったことから(第4表)、両菌ともI群菌に属すると判定した。一方、石川県北部(能登地方)で採集されたIO9907およびIO9909の金南風に対する病斑長はそれぞれ115mm, 117mmであり、黄玉に対する病斑長はそれぞれ65mm, 81mmであった。Te-tepに対しては2mm以下であることから(SSR)、II群菌もしくはVII群菌に属するものと推定された。そこで、両菌をIR24に接種したところ、18日後の平均病斑長はそれぞれ137mm, 139mmとなり(第4表)、これらの菌はいずれもII群菌に属することが明らかとなった。

なお、早稲愛国群である中国45号の接種菌に対する反応について、第2図で見られる黄変は便宜的に病斑長



第1図 3週間後の病斑（上から金南風，黄玉，Te-tep）



第2図 中国45号に対する2週間後の病斑

として測定したものの、通常 I 群菌が金南風を侵す際に見られる白葉枯病の典型的な症状とは若干異なり、病斑の進展は抑制されていたことから、抵抗性反応を示したものと判断した。Kaku *et al.* は白葉枯病抵抗性遺伝子 *Xa-3* を持つ早稲愛国群の抵抗性反応の一つとして、browning reaction encircling a yellow lesion を報告しているが⁶⁾、褐変症状が認められなかったことから、今回の反応はそれとは異なるように思えた。また、接種後の病斑長進展の測定は、接種3週間後に行う報告が多いが^{3,4,8-11)}、守中らは剪葉接種後2週間で発病調査が可能としている⁷⁾。本研究でも2週間後の判定で抵抗性の差異を十分に認めることができた。

考 察

イネ白葉枯病は古くから知られた病害であるにも関わらず、本病に対して登録のある化学農薬は少なく、また、いずれの農薬も卓効を示すとは言い難い。そのため、抵抗性品種の導入が有効な防除法の一つと言える。石川県

第4表 中国45号およびIR24に対する平均病斑長

菌株名	金南風	黄玉	IR24	中国45号	レース
IO9901	60.2±1.1 ¹⁾	—	—	16.5±1.5	I
IO9907	90.0±2.7 ²⁾	87.5±4.0	137.0±1.8	—	II
IO9909	89.2±1.7	86.3±3.0	138.5±2.9	—	II
IO0103	65.8±2.5	—	—	16.8±1.4	I

注1) IO9901, IO0103については接種2週間後の平均病斑長(mm)±S.E.

2) IO9907, IO9909については接種18日後の平均病斑長(mm)±S.E.

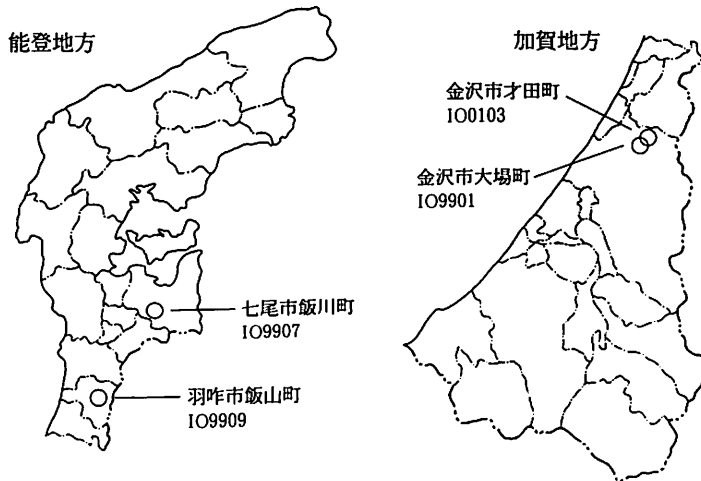
内における2000年度の主要作付け品種は、コシヒカリ、能登ひかりおよびほほほの穂であり(第5表)、これら3品種で全体の88.3%を占める。いずれの品種も金南風群であるが、コシヒカリの実際の被害はほとんどなく、後者2品種の被害が著しい。

堀野によれば、1973年および1975年に行ったレース分布調査では、富山県、石川県、福井県ではI群菌のみが確認され、新潟県においてはI群菌とII群菌が50%ずつ確認されている³⁾。さらに、1977年および1979年に行った調査ではII群菌の分布が全国的に見て北上していることを指摘しており、北陸地域では新潟県、福井県でII群菌の存在を認めているが、石川県ではI群菌のみ確認されている⁴⁾。その後の野田らの調査により、1983年に石川県で初めてII群菌が確認されている⁵⁾。1993年までに、I, II群菌以外のレースが確認されていない地域は東北・北陸地域に限られており、関東・甲信越、東海・近畿、中国・四国地域では、それぞれ比率が異なるものの、III群菌が確認されている。九州・沖縄地域では

第5表 1990年代以降の石川県内における主要品種（粳）の作付動向

年度	作付面積上位4品種（粳）				上位4品種の 合計比率 ^{D)} (%)
	①	②	③	④	
2000	コシヒカリ	能登ひかり	ほほほの穂	ハナエチゼン	92.4
1999	コシヒカリ	能登ひかり	ほほほの穂	ハナエチゼン	92.5
1998	コシヒカリ	能登ひかり	ほほほの穂	加賀ひかり	93.3
1997	コシヒカリ	能登ひかり	ほほほの穂	加賀ひかり	95.0
1996	コシヒカリ	能登ひかり	ほほほの穂	加賀ひかり	96.1
1995	コシヒカリ	能登ひかり	ほほほの穂	加賀ひかり	94.3
1994	コシヒカリ	能登ひかり	ほほほの穂	加賀ひかり	90.9
1993	コシヒカリ	能登ひかり	加賀ひかり	ほほほの穂	90.4
1992	コシヒカリ	能登ひかり	加賀ひかり	越路早生	91.4
1991	コシヒカリ	能登ひかり	加賀ひかり	越路早生	90.9
1990	コシヒカリ	能登ひかり	加賀ひかり	越路早生	89.7

注1) 稲, 酒米等も含む全作付面積に対する合計比率。



第3図 供試菌株分離地の地理的背景

I, II, III群菌に加え, IV群菌やV群菌もわずかながら確認されており, 1985年には当時の新レースとしてVII群菌が宮崎県で分離された^{8,10,11)}。堀野は西南暖地におけるレースの多様性に関して, 抵抗性品種の導入によるレースの変異や, 多発条件下であるため病原性変異の頻度が高いことを指摘している³⁾。1993年以降は, 北陸地域, 特に石川県を対象とした白葉枯病菌のレース分布調査は行われていない。

石川県においては, 白葉枯病防除を想定した積極的な抵抗性品種の育成および導入は行われておらず(第5表), 以前に比べレースが多様化してきているとは考えがたい

が, 今後の本病の効率的防除を考える上で, 現在の県内におけるレースを把握することは重要である。

第4表に示したように, 金沢市で分離されたIO9901およびIO0103はI群菌であり, 能登地方で分離されたIO9907とIO9909の2菌株はともにII群菌であることが明らかとなった。近年では, 日本国内の白葉枯病菌のレース分布を調査した報告はほとんどないが, 滋賀県における調査(1998年)では新レースは確認されていない²⁾。広島県(1999年)では, 金南風群品種の栽培地帯で新たにV, VII群菌の出現が報告されており, またレースの分布状況が地域的に特徴的なものとなっている¹²⁾。白葉

枯病菌の病原性の変異は、抵抗性品種を通過させることによって起こることが知られているが¹⁰⁾、広島県および今回の筆者らの調査結果は、レース分布は必ずしも栽培品種による影響のみでないとした堀野の指摘^{3,4)}を支持している。一方、これまでのレース分布調査では、各県内の詳細な分離地については言及していないことから、一部の地域のみ調査結果であることも否定できず、主要栽培品種がほとんど変化のない石川県に限っていえば、1983年に初めて報告されたⅡ群菌については、レースの出現というよりむしろ顕在化と表現する方が正しいと思われる。本研究においては、供試菌株数が4菌株であり、分布状況を議論する上では数が少ないことを考慮すべきであるが、金沢分離菌と能登分離菌でレースが分かれたことは興味深い現象である(第3図)。このことが単なる偶然である可能性は否定できないが、今後さらに県内の白葉枯病発生地を網羅的に調査することで、詳細なレース分布状況を把握したい。

摘 要

1999年および2001年において石川県内で分離されたイネ白葉枯病菌4菌株を、レース判別品種である金南風、IR24、黄玉、Te-tepおよび中国45号に接種したところ、金沢市で分離された2菌株はⅠ群菌、能登地方で分離された2菌株はⅡ群菌であることが判明した。

引用文献

- 1) Adachi, N. and Oku, T. (2000) PCR-mediated detection of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* by amplification of the 16S-23S rDNA spacer region sequence. J. Gen. Plant Pathol. 66 : 303~309.
- 2) 日野耕作・落合弘和・辻 壽一・加来久敏(1999) 滋賀県で発生するイネ白葉枯病菌のレース分布とRFLP解析. 日植病報 65 : 363~364 (講要).
- 3) 堀野 修(1978) 最近の日本におけるイネ白葉枯病菌菌系の分布. 日植病報 44 : 97~304.
- 4) 堀野 修(1981) 1977年, 1979年の日本におけるイネ白葉枯病菌菌系の分布. 日植病報 47 : 50~57.
- 5) 堀野 修(1997) 植物防疫講座(第3版) 病害編, 148~150, 日本植物防疫協会, 東京.
- 6) Kaku, H. and Ogawa, T. (2001) Genetic analysis of the relationship between the browning reaction and bacterial blight resistance. gene *Xa3* in rice. J. Gen. Plant Pathol. 67 : 228~230.
- 7) 守中 正・加来久敏・堀 真雄・木村俊彦(1978) イネ白葉枯病の剪葉接種法の適用条件に関する研究. 中国農試報告 E-13 : 1~16.
- 8) 野田孝人・堀野 修・大内 昭(1987) 国内におけるイネ白葉枯病菌レースの分布. 北陸病虫研報 35 : 7~13.
- 9) 野田孝人(1989) イネ幼苗期における白葉枯病抵抗性に関する研究. 北陸農試報告 30 : 25~104.
- 10) 野田孝人・堀野 修(1991) 1973~1989年の日本産イネ白葉枯病菌の全国分布-特に1989年のレース分布について-. 北陸病虫研報 39 : 35~39.
- 11) Noda, T., Yamamoto, T., Kaku, H. and Horino, O. (1996) Geographical distribution of pathogenic races of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Japan in 1991 and 1993. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 62 : 549~553.
- 12) Oku, T., Sato, K., Kurao, M., Matsuura, S., Sakai, Y. and Tsuchiya, T. (2000) Notes on the occurrence of pathogenic races of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* found in Hiroshima Prefecture in 1999. J. Gen. Plant Pathol. 66 : 332~334.
- 13) 田上義也・藤井 溥・久原重松・栗田年代(1961) 異なる寄主を通過した白葉枯病菌のイネ品種に対する反応. 日植病報 26 : 56 (講要).
- 14) 對馬誠也(1995) 作物病原菌研究技法の基礎(大畑貫一ら編), 28~30, 日本植物防疫協会, 東京.
- 15) 脇本 哲(1993) 植物病原性微生物研究法(脇本哲監修), 73~74, ソフトサイエンス社, 東京.

(2001年10月14日受領)