

## バクテリオファージによつて分類したイネシラハガレ病菌々型とその病原性について

吉村彰治・吉野嶺一・森橋俊春

(農林省北陸農試験場)

### 緒 言

既に報告<sup>5)</sup>したように筆者等は単溶菌斑分離を行なうことによつて、1959年SBと仮称したファージはOP<sub>1</sub>及びOP<sub>1h</sub>が混合したものではなく、血清反応、電顕像その他の性質から判断して、OP<sub>2</sub>と命名すべき新しいファージであること並びにIと仮称したファージも溶菌反応その他に多少の相違はあるが、血清反応、寄主範囲等の点で前記SBファージに類似しOP<sub>2</sub>に含まれるべき性質のものであること等の結果を得たので、1958年筆者等が北陸地方各地の罹病標本から分離した菌株は、ファージに対する親和反応、特に菌型の判定の点で再検討を加える必要を生じた。

本試験報告は以上にもとづき、1959年新らたに単溶菌斑分離したOP<sub>1</sub>、OP<sub>1h</sub>、SB (OP<sub>2</sub>)、I (OP<sub>2</sub> よりの溶菌斑型突然変異体) ファージの4種を供試し、北陸農試所有の菌株について親和性に関する追試を行ない、菌型

を判定し、夫々の菌型に分類された菌株の病原性について検定を行なつた結果の概要である。

### I ファージに対する分離菌株の反応と菌型の判定

**試験方法** ファージはいずれも単溶菌斑分離し、その寄主範囲を確認したOP<sub>1</sub>、OP<sub>1h</sub>、SB及びIファージを供試し、溶菌斑形成法により各菌株に対する親和反応を検定した。但し、各菌株の浮游液に加えた夫々のファージ液は1シャーレ当り $n \times 10^6$ の溶菌斑が確実に出現するよう調整した。なお各分離菌株の馬鈴薯半合成寒天培地に4日間培養したものを用いた。

**菌型の判定** ファージによる菌型の判定は前掲報告の結果から、A (A'), B, C, D, Eの5型とした。菌型判定の基準となるファージの親和関係を示すと第1表のとおりである。

註：品 第1表ファージの寄主範囲による菌型の分類 (案)

菌型	新らしく決めた基準	菌型	既報 <sup>5)</sup> の基準
A型	OP <sub>1</sub> , OP <sub>1h2</sub> , OP <sub>2</sub> (SB, I) によつて溶菌される菌株	A型	S (OP <sub>1</sub> ), SB, Iファージによつて溶菌される菌株
	A型菌と同じ親和反応を示すが、Iファージにより形成される溶菌斑型が針孔状であり、SB及びIファージによる溶菌斑形成に時間を要するもの……A'型	D型	S (OP <sub>1</sub> ), SBファージによつて溶菌され、Iファージによつて溶菌されない菌株
B型	OP <sub>1h</sub> , OP <sub>1h2</sub> , OP <sub>2</sub> (SB, I) によつて溶菌される菌株	B型	B (OP <sub>1h</sub> ), SB, Iファージによつて溶菌される菌株
C型	OP <sub>1</sub> , OP <sub>1h</sub> , OP <sub>1h2</sub> , OP <sub>2</sub> (SB, I) のいずれにも溶菌されない菌株	C型	S (OP <sub>1</sub> ), SB, B (OP <sub>1h</sub> ), Iファージによつて溶菌されないか、あるいは極めて溶菌のおりにくい菌株
D型	OP <sub>1h2</sub> , OP <sub>2</sub> (SB, I), によつて溶菌される菌株		
E型	OP <sub>2</sub> (SB, I) によつて溶菌される菌株	E型	Iファージによつて溶菌される菌株
		AB型	S (OP <sub>1</sub> ), SB, B (OP <sub>1h</sub> ) 及び I ファージによつて溶菌される菌株 (その後、このような菌株はないことが判明)

**試験結果** 前記方法による菌型判定の試験結果は第2表の通りである。

各菌型の内訳は、A型菌42、A'型菌7、B型菌14、C型菌7、E型菌6でA型菌が最も多く見られた。但し、本実験ではOP<sub>1h2</sub>に対する反応をみていないので、別にこのファージに対する上記E型菌6菌株の反応を検定した結果、いずれも溶菌反応を呈さなかつた。供試菌中にはD型菌は存在しないようである。

### II 各菌型に分類した分離菌株の病原性検定

#### 試験方法

〔耕種概要〕 病原性判別品種：黄玉・赤神力・全勝26号、農林27号・アサカゼ・神閑1号・ヤチコガネ・農林18号・十石・宝・神山

播種：4月17日。挿秧：5月24日。施肥：10a当り元肥；硫安40kg、過石33kg、塩加10kg。追肥；硫安11.3kg。

第 2 表 ファージと菌株との親和関係実験結果

菌番号	OP1	OP1h	SB	I	菌 型	既報による 判 定
HN-1	+	-	+	+	A	A
2	+	+	+	+	B	B
3	+	-	+	+	A	A
4	+	-	+	+	A	A
5	+	-	+	+	A	A
6	+	-	+	+	A	A
7	+	+	+	+	A	A
8	+	+	+	+	B	B?
9	+	-	+	+	A	A
10	+	-	+	+	C	C
11	+	-	+	+	E	E
12	+	-	+	+	A	A
14	+	-	+	+	A	A
15	+	-	+	+	A	A
16	+	-	+	+	A	A
17	+	-	+	+	A	AB?
18	+	-	+	+	A	AB?
19	+	-	+	+	A	AB?
20	+	-	+	+	A	AB?
21	-	+	+	+	B	B?
22	-	+	+	+	B	B
23	+	-	+	+	B	B
24	+	-	+	+	A	A
25	+	-	+	+	A	A
26*	-	-	-	-	C	C
27*	+	-	+	+	A	A
28*	+	-	+	+	A	A
29*	+	-	+	+	A	A
30*	+	-	+	+	A	A
31*	-	+	+	+	B	B
32*	+	-	+	+	A	A
33*	+	-	+	+	A	A
34*	+	-	+	+	A	A
35*	+	-	+	+	A	A
36*	+	-	+	+	A	A
HY-1*	+	-	+	+	A	A
1-2*	-	-	+	+	E	E
S(新庄菌)	+	-	+	+	A	A
B(紅粉屋菌)	-	+	+	+	B	B
HT-1	+	-	±	+	A'	D
2	+	-	±	+	E	C
4	+	-	±	+	A	A?
5	+	-	±	+	C	D?
6	+	-	±	+	A'	D
7*	+	-	±	+	E	
8*	+	-	±	+	A'	
9*	+	-	±	+	C	
10*	+	-	±	+	A	
11*	+	-	±	+	A	
12*	+	-	±	+	A'	
13*	+	-	±	+	A'	
14*	+	-	±	+	A'	
15*	+	-	±	+	A'	
16*	-	+	±	+	B	
HF-1	+	-	+	+	A	A
2	-	+	+	+	B	B
3	-	+	+	+	B	B
4	+	+	+	+	B	B
5	-	+	+	+	B	B
6	-	+	+	+	B	B
7	-	+	+	+	B	B
HI-1	-	+	+	+	B	B
2	+	-	+	+	A	A
3	+	-	+	+	A	A
4	+	-	+	+	E	E
4-2	-	-	-	-	C	C
4-3	+	-	+	+	A	A
5	+	-	+	+	A	A
5-2	-	+	+	+	B	B
6	-	-	+	+	E	E
7	+	-	+	+	A	A
8	+	-	+	+	A	A
8-2	-	-	-	-	C	C
9	-	+	+	+	B	B
10	+	-	+	+	B	B
11	-	+	+	+	B	B
12	-	-	+	+	C	C?
13	+	-	+	+	A	A

注 1 \*は1959年分離菌株  
 2 1958年分離菌株の採取場所等については既報を参照されたい。  
 3 1959年分離菌株の採取場所等については附表として示した。

附表 菌分離に供した罹病葉の採取場所と品種 (1959年)

菌番号	罹 病 葉 採 取 場 所	品 種
HN-25	新潟県直江津市宮野十文字	不明
26	中頸城郡三和村錦	金南風
27	高田市下ノ田	山陰52号
28	高田市富川	山陰52号
29	東頸城郡松代町	農林29号
30	高田市下ノ田	山陰52号
31	新津市大岡	山陰52号
32	高田市下ノ田	ギンマザリ
33	三島郡越路町	山陰52号
34	高田市下ノ田	本一16
35	高田市下ノ田	コガネモチ
36	高田市下ノ田	コガネモチ
HT-7	富山県 長門内(富山市)	新優
8	富山市浜黒崎	不明
9	富山市新川	不明
10	中新川郡水橋町	不明
11	中新川郡立山町	金南風
12	上町柿沢	シロガネ
13	黒部市前沢	不明
14	石田犬山	不明(中生)
15	立野	コガネモチ
16	前沢	サヤスカグサ
HY-1	山形県	
1-2		

〔接種及び調査〕 供試菌は第2表の78菌株中より第3表に掲げた52菌株とし、供試菌株の菌型別内訳は、A型菌が28菌株、B型菌13菌株、C型菌が5菌株、E型菌が4菌株、A'型菌が2菌株である。

接種方法；馬鈴薯半合成培地上で28°C培養5日目の菌を殺菌水で懸濁し約10<sup>7</sup>/ccの菌濃度としたものを縫針5本の針束によつて8月11・12日に接種した。1菌1品種当り4株、各株10枚の上位展開葉に中肋を避けて接種した。

調査：1菌1品種当り4株、各株8葉について、9月11・12日にその病斑面積を予め作つておいた scale に合せて調査を行なつた。

試験結果 病斑面積をmm<sup>2</sup>で表わしその32葉平均値を示せば第3表の通りである。

考察 針束接種を行なつた際、イネシラハガレ病菌株中には抵抗性品種と罹病性品種によつてその病斑面積に著るしい差を生ずる菌株と大きな差を生じない菌株があることは既に九州農試の指摘しているところであり第3表からも明らかにそれが推察される。

しかし、抵抗性品種をも侵す菌株中病斑面積が著るしく小さい菌株と罹病性品種のみを侵し、病斑面積が大きい菌株、例えばHN-10とHI-4のいずれが病原性強であるかを判定することは困難である。従つて筆者等は次の2つに分けて考察を行つた。

a) 全品種を通しての病斑面積に重点を置き、菌株と品種との間に病原性に於いて特殊な関係即ち、菌株によつて抵抗性品種と罹病性品種に変化がないものとして分散分析を行なうと次のようになる。

菌株間の病原性に差異のあることは第3表からも直観的に知り得るし、また第4表の分散分析の結果に於ても1%で有意差がある。そこで、まづ菌型とは無関係に供

第3表 接種試験結果——病斑面積 (mm<sup>2</sup>)

品種名 菌番号	黄玉	赤神	全勝	豊林	神四	豊林	ヤ	チ	ア	宝	神山	十石
	力	26号	27号	1号	18号	コ	ネ	カ	カ			
A型菌												
HN-1	14	11	12	22	21	25	32	69	36	38	110	
3	41	32	47	30	42	83	68	67	94	69	93	
4	25	16	30	34	32	24	59	99	77	33	146	
5	3	5	2	2	1	6	1	20	39	35	18	188
7	7	2	0	1	1	1	1	20	20	13	45	
9	55	33	53	63	24	41	41	77	65	73	107	
12	30	12	4	31	39	30	80	36	36	36	124	
14	9	4	4	11	7	5	12	17	11	21	29	
15	16	10	10	13	15	19	35	32	19	31	45	
17	37	31	35	33	33	18	18	32	40	68	62	
18	1	0	1	1	1	0	16	13	25	37	30	
19	0	0	0	0	0	0	9	18	27	20	21	
20	0	0	0	0	0	0	28	17	42	51	69	
23	37	27	22	14	18	13	18	37	27	19	33	
24	24	26	26	18	23	16	22	31	37	41	49	
25*	56	27	19	61	43	41	108	88	52	52	148	
27*	14	18	13	14	10	12	35	23	16	23	38	
29*	68	63	71	84	73	76	129	118	77	142	158	
HT-4	1	1	1	3	1	0	22	27	31	20	50	
HI-2	24	30	26	9	15	9	8	24	27	11	17	
4-3	3	2	1	1	1	1	80	85	57	54	172	
8	0	1	1	1	1	1	33	36	53	57	80	
10	6	4	4	5	5	6	15	14	11	16	39	
13	0	0	0	0	0	0	50	19	32	28	41	
HF-1	1	0	1	1	1	0	31	23	23	17	44	
4	1	1	1	1	0	0	43	19	22	16	25	
6	0	0	1	0	0	1	41	50	14	4	33	
S(新庄菌)	1	1	5	2	2	1	1	3	3	4	3	
A'型菌												
HT-1	3	5	4	6	4	4	36	52	46	48	87	
6	1	2	1	2	0	0	19	30	18	37	26	
B型菌												
HN-2	36	29	58	42	56	44	36	50	27	36	112	
8	52	44	77	129	125	114	61	72	77	59	102	
21	1	2	2	2	3	4	32	27	29	24	111	
22	1	4	1	4	2	3	28	35	17	25	81	
HI-1	0	0	0	0	0	0	13	16	11	15	31	
5-2	21	18	20	16	20	26	28	29	39	28	66	
9	0	0	0	0	0	0	15	12	21	25	28	
11	0	0	0	0	0	0	42	39	38	22	60	
HF-2	2	3	1	3	1	2	61	59	47	47	86	
3	1	0	0	0	0	0	24	46	27	27	56	
5	0	0	0	0	0	0	31	23	26	10	39	
7	0	0	0	0	0	0	8	15	16	11	24	
B(紅粉屋菌)	20	14	39	33	16	12	12	6	6	12	35	
C型菌												
HN-10	16	14	20	17	20	11	16	21	19	33	37	
HT-5	1	1	3	2	2	2	61	81	47	62	98	
HI-4-2	3	4	4	3	4	4	15	12	12	14	14	
8-2	1	0	0	1	1	1	4	9	9	7	8	
12	0	0	1	1	2	0	46	28	44	37	132	
E型菌												
HN-11	9	15	15	26	8	11	30	26	21	27	39	
HT-2	1	3	0	0	2	0	28	26	25	26	55	
HI-4	7	7	5	7	5	6	151	151	147	110	300	
6	1	0	0	0	1	1	16	12	18	14	40	

第4表 分散分析表

要 因	平方和	自由度	分 散	分散比	
全 変 動	623982	571			
品 種 間	181648	10	18165	47.2**	
菌 株 間	245749	51	4819	12.5**	
群 間	7858	4	1965	5.0**	
群 内	A 型 型	136409	27	5052	13.5**
	A' 型 型	1150	1	1150	3.0
	B 型 型	56855	12	4738	12.3**
	C 型 型	6591	4	1648	4.3**
E 型 型	36886	3	12295	31.9**	
誤 差	196584	510	385		

\* は1%で有意差あり

試全菌株をその病斑面積 (11品種平均) の大きさにより tukey の方法で大別すると3つの group に分けられる。これを最も面積大なるものから第I群, 第II群, 第III群として示すと次のようになる。

第I群: HN-29, HN-8, HI-4

第II群: HN-25, HN-3, HN-9, HN-4, HN-2, HN-12, HI-4-3

第III群: HN-17, HN-1, HT-5, HN-5, HN-24, HF-2, HI-5-2, HT-1, HI-12, HN-23, HI-8, HN-15, HN-21, HN-11, HN-10, HN-27, HI-11, HN-20, HN-22, B, HI-2, HF-3, HI-13, HT-2, HT-4, HF-4, HF-6, HF-1, HT-6, NT-7, HN-14, HN-18, HI-10, HF-5, HI-6, HI-9, HN-19, HI-1, HI-4-2, HF-7, HI-8-2, S

このような菌株間の病原性の差異がファージとの親和性で分けられた菌型とどのように結びつくかは多少の論議を要する。但し, A'型菌は2菌株のみであり論議の対象から除外した。

第4表に於ては, 群間変動に1%で有意差が認められるので, 菌型と菌型の比較を行なつた場合いずれかの菌型間の病原性に差がある。そこで, A型菌とB型菌等各々2つの菌型についてそれぞれ差の検定を行なつた結果A型菌, B型菌, E型菌の間には病原性に差がなくC型菌のみがA・B・E型菌のいずれに対しても5%で有意差を持つている。

このことから group として比較した場合, C型菌はA・B・E型菌より病原性が弱いといえる。

しかし各菌型とも群内変動に於て1%で有意差がありどの菌型に於てもファージ親和性によつて同一菌型に入つた菌株が病原性については1つの群に入らないことを示している。例えば, 同じA型菌中にも HN-29 のように著しく病原性の強いと思われるものから HN-19, S のように極めて弱いものまであり HN-19 はC型菌である HT-5 よりむしろ, 病原性が弱いと考えられる。

そこで先に行なつた病原性の grouping によつて各群に属する各菌型の菌株数を表示すると次のようになる。

第5表 菌株の病原性強弱と菌型との関係 (1)

	第1群	第2群	第3群	計
A 型 菌	1	6	21	28
B 〃	1	1	11	13
C 〃	0	0	5	5
E 〃	1	0	3	4
計	3	7	40	50

第5表によるとA型菌, B型菌は第I, II, III群, E型菌は第I, III群に属する菌株からなり, A・B・E型菌はそれぞれ病原性の強い菌も弱い菌もあるがC型菌は第III群の病原性を示す菌より成り立っており, 比較的病原性の弱い菌株のみである点に特徴がある。

b) 罹病性品種のみを侵す菌株を病原性弱, 抵抗品種

をも侵すものを病原性強と考えた場合、分散分析により使用品種に有意差が認められるので tukey の方法により群別すると罹病性品種として十石、宝、神山、アサカゼ、ヤチコガネ、抵抗性品種として赤神力、黄玉、農林 27号、全勝 26号、神関 1号、農林 18号に分けることが出来る。

第 3 表から各菌型の罹病性品種のみを侵す菌株数及び抵抗性品種をも侵す菌株数を表示すると第 6 表のようになる。

第 6 表 菌株の病原性強弱と菌型との関係 (2)

菌 型	抵抗性品種をも侵す菌株数	罹病性品種のみを侵す菌株数	計
A 型 菌	13	15	28
B " "	4	9	13
C " "	1	4	5
E " "	1	3	4
計	19	31	50

第 6 表に示された例数は少ないので分析により推定を下すことはできないが、各菌型の病原性強なる菌株の比率は A 型菌では 46%、B 型菌では 31%、C 型菌では 20%、E 型菌では 25% であり、 $A > B > E > C$  である。しかしいずれの菌型にの病原性の強い菌株があり、ファージとの親和性による分類がそのまま病原性の分類にはならないことは「a の場合の考察」と同様である。

以上 2 つの考察を総合して考えると、供試したファージ及び菌株の範囲内ではファージとの親和性による菌の分類がそのまま病原性の強弱とは結びつかず、各菌型ともに病原性の強いものから、弱いものまで含んでいる。ただ病斑面積に重点を置いて考えた場合、C 型菌は他の菌型のものに比較してやや病原性が弱いようであるが、これは先に述べたとおり菌型全体としていえることであつて、病原性が弱いから C 型菌であるといえないことはもちろんである。

この結果は九州農試<sup>2)</sup>や農技研<sup>3)</sup>の、病原性と菌型との間には何らの関係もないという報告とやや異なるようであるが、九州農試では C 型菌は扱つておらず、また、農技研の C 型菌は北陸農試の SB (OP<sub>2</sub>) ファージとの親和性を検定していない点で直接比較できないが、C 型菌を除いては、これらの報告と同様な結果を得た。

以上述べたように、ファージにより分類された菌型が病原性の強弱とはつきりと結びつかないことは、この分類方法が現在の段階では病原性に関してはその分類の基礎となり得ないことを示している。

なお、本年分離した菌株 (HN-25, HN-27, HN-29) は病原性が概して強く、分離年次の古い新庄菌 (S) が極めて弱い病原性を示したことは、渡辺等<sup>9)</sup>の指摘した縦代培養による病原性の低下を示唆しているものと思われる。今後は菌の生理的性質との結びつきの面で病原性を

考えるべきであろう。

### III 摘 要

北陸農試所有のイネシラハガレ病菌をファージによつて分類し、併せてその病原性との関係につき判別品種を用いて検定を行なつた。

1 1958~1959年の 2 ケ年にわたり、北陸地方各地の罹病標本から分離した 76 菌株は OP<sub>1</sub>, OP<sub>1h</sub>, SB (OP<sub>2</sub>), I (OP<sub>2</sub>) ファージによつて A, A', B, C, E の 5 菌型に分類され、供試菌株の範囲では A 型が最も多く、B 型がこれに次ぎ A', C 及び E 型は少なくなつた。

2 ファージによつて分類された菌型と病原性との関係については、概ね次のように要約される。

a) 針接種による病斑面積から菌型とは無関係に供試全菌株の病原性は第 I 群 (強), 第 II 群 (中), 第 III 群 (弱) に大別される。

菌型全体として見た場合、各菌型間には C 型菌は A・B・D 型菌より病原性弱く、A・B・E 型菌間には差が認められない。しかし各菌型の内部変動には有意差があり、前記の grouping にあてはめると A・B 型菌は第 I・II・III 群, E 型菌は第 I・III 群, C 型菌は第 III 群に属する菌株から構成され C 型菌は病原性の弱い菌株のみであつた。

b) 罹病性品種のみを侵す菌株を病原性弱、抵抗性品種をも侵すものを病原性強と考えた場合には菌型中の病原性強を示す菌株の比率は  $A > B > E > C$  であるがどの菌型に於ても病原性強なる菌株と弱なる菌株を含んでいる。

以上を総合すればファージにより分類した菌型は概して病原性の強弱とは結びつき難く、この方法は病原性に関してはその分類の基礎となり得ない。従つて他の方法、例えば菌の栄養生理との結びつきにおいて検討されることが望ましい。

### 参 考 文 献

- 1 田上義也他(1959): 九州農林試験場環境第 1 部病理第 1 研究室成績書 p. 46~57.
- 2 田上義也・藤井薄・久原重松・栗田年代(1960): 日杉病 (講要) 25(1) p. 5.
- 3 向秀夫・脇本哲・草葉敏彦・渡辺実(1960); 同前.
- 4 吉村彰治, 森橋俊春(1959): 北陸病害虫研究会報 第 7 号 p. 43~52.
- 5 ———・齋藤正・森橋俊春・吉野嶺一(1960): 日植病 (講要) 25(1) p. 5.
- 6 渡辺実・山中達・宮永時任(1953): 農研中間報告 第 6 号 p. 68~72.