

チモシー斑点病抵抗性品種育成に関する研究

3. 抵抗性の検定方法について

筒井佐喜雄（天北農試）・古谷 政道・
川村 公一（北見農試）

緒 言

牧草病害の抵抗性育種では、選抜の効率化をはかるため、早期に抵抗性が判定できる検定方法の研究がなされている。チモシー斑点病に対する抵抗性品種の育成にあたっては、稚苗期に抵抗性個体、系統の選抜に育種効率を高める必要があることより、一定の発病を得るための接種条件や菌株による病原性の違い等について検討した。

材料および方法

本試験は、常呂郡訓子府町弥生、北見農試で実施した。

1) 接種条件の検討

接種条件の検討のため2つの試験を行った。

試験1 苗令と孢子濃度について検討した。処理は、苗令を2, 4, 6, 8週間（発芽期後の育苗日数を週で示した。）とし、孢子濃度を10, 50, 100, 200, 300個（顕微鏡1視野（15×10）当の分生孢子数）とした。

試験2 苗令5週間の苗を用いて、孢子濃度（10, 50, 100, 200, 300個）と、葉位毎の発病を検討した。

両試験共通の処理として、材料は品種「センボク」を供試し、2万分の1アールのシードリングケースに、1箱12個体（栽植密度2cm×2cm）を苗立し、苗に界面活性剤加用（グラミンS 0.5%液となるよう）の孢子懸濁液を噴霧接種した。接種後、20℃、湿度100%の接種箱に50時間保ち、発病調査は、接種後18～19日目に行った。育苗および接種後の管理は、加温のガラス室（温度15～22℃、16時間日長処理）で行った。供試菌株（訓子府町1）は、1969年に農林省畜産試験場飼料作物部第5研究室（保存番号731、現農水省草地試験場環境部病理研究室）より分譲をうけたもので、1969年北見農試育種圃場の発病葉より分離されたものである。菌の培養は、じゃがいも煎汁寒天培地（砂糖20%加用）で10日前後行った。

発病調査は、0：無～5：甚の評点法で行った。

2) 個体の稚苗期の発病と圃場での発病の関係

ガラス室内における稚苗期の発病と圃場での発病の関係を知るため、2つの試験を行った。

試験3 前項（試験2）の処理の、苗令5週間、孢子濃度100個の供試材料を、そのまま圃場に個体植（0.6m×0.3m）し、1983年～1984年の2年間、6回調査した。

試験4 ガラス室内で同一材料について、3回接種（1回目：本葉4～5葉期、2回目：同6～7葉期、3回目：再生葉）を行い（1980年）、抵抗性を示した回数（0～3回）により材料を群別した。群別し

た材料を、個体当り3株に株分けして栄養系(畦巾0.6 m, 畦長0.6 m)として圃場に移植し、3年間(1981~1983年)、9回の発病調査を行った。ガラス室内の接種孢子濃度は100~200個であった。

圃場の発病調査は、1:無又は微~5:甚の評点法で行った。

試験3, 4の圃場の維持管理は、年間施肥量は窒素-りん酸-加里:1.5-1.5-1.5 kg/a, 刈取りは年3回行った。

3) 品種・系統のガラス室内の発病と圃場の発病の関係

表6に示すような材料を用いて、4つの試験(試験5~8)を行った(1978~1985年)。ガラス室内では、本葉5~6枚の時に、孢子濃度100~200個を接種した。1区当り12~16個体、4反復とし、育苗はプラントベッド(36×45×10cm)に2×2cmの個体植で行った。圃場調査は、試験5, 6, 8は個体植(0.6×0.3 m), 1区16~18個体、4反復、試験7は30cm条播, 1区面積3.0 m², 3反復とし、調査は造成後3~4年目草地について行った。発病調査、草地の維持管理は前項に準じた。

4) 菌株による病原性の違い

試験9 北海道の東部および北部の市町の罹病葉より分離した菌株について、レースの存在を検討するため、北見農試育種圃場(訓子府町)で調査した。抵抗性が明らかな10栄養系を用い、分離菌株を接種し、病原性を比較した。供試菌株の分離年度は、訓子府町1が1969年、訓子府町2は1977年(農水省草地試験場環境部病理研究室:保存番号1164, 1977年分譲を受けた。), 訓子府町3など6菌株は1983年である。接種は、ガラス室内で行い、プラントベッドに養成した栄養系に3回の接種(孢子濃度100~200個, 接種後9~13日目調査)を行い、その平均値を栄養系の発病指数とした。試験区の配置は、主区を菌株、細区を栄養系とし、4反復とした。接種試験は1984年に行った。

さらに、各菌株のガラス室内の発病と北見農試育種圃場における発病の関係を検討した。栄養系の圃場調査は、試験4に準じた。

結果および考察

1) 接種条件の検討

(1) 個体の抵抗性判定について

試験1 接種時の苗令と孢子濃度について検討した。調査結果を表1と図1に示した。苗令と発病指数の関係をみると、苗令が進むにつれて発病指数は高くなった。苗令2週間ではやや低く、4~6週間以上で安定した発病が得られた。孢子濃度間では、200個の区が最高の発病を示し、各苗令100個以上で安定した発病が得られた。

試験2 個体の抵抗性判定に効率的な調査葉位などについて検討した。結果を表2に示した。供試苗令の接種時本葉数は6.5枚で、最上位葉は十分展開してない個体も認められた。また、第1,

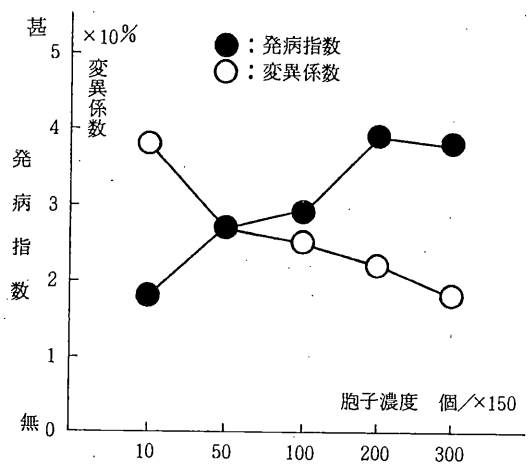


図1. 苗令6週間の発病程度と変異係数

2本葉は調査時にはすでに枯死葉が多く、判定不能となった。これらより、第3～6葉について検討した。孢子濃度についてみると、孢子濃度が高くなるにつれて発病は高くなり、100～200個で中程度以上の安定した発病が得られた。葉位間では、第3～5本葉の発病は同程度で、第6本葉よりやや高かった。次に、抵抗性の選抜では、大量の個体調査が必要である。このとき、労力などから、個体の抵抗性の判定はできるだけ簡便であることが望ましい。このため、個体の発病を、第3～6本葉中のいずれかで代表できるか否かを検討した。表3に示すように、各葉位間の発病指数の関係は有意であったが、調査葉中の最大発病指数と各指数との関係が高く、最大発病指数を用いた個体の判定が有効であった。

(2) 個体のガラス室における発病と圃場の発病の関係

試験3 前項試験2のガラス室内で調査した同一材料を圃場に移植し、発病調査を行った。表4に示すように、2年間6回の調査のうち、ガラス室内と圃場の発病指数の間には、有意な関係が認められる場合が多かった。

試験4 圃場で調査した3年間9回中の最大発病指数でその個体の抵抗性を判定し、ガラス室内の結果と組合せると表5のとおりとなり、ガラス室内で抵抗性を示した回数が多いグループ程、圃場での抵抗性個体割合が高かった。

表3. 葉位毎発病指数と最高発病指数等の関係

項目	最高指数	3～6葉平均値	3～5葉平均値
葉	3	.78**	.76**
	4	.82**	.80**
位	5	.67**	.83**
	6	.54**	.79**
最高発病指数		.88**	.91**

注) 調査個体数: 38個体, 苗令5週間, 孢子濃度100個, 接種後18日目の調査結果を示し, **は1%水準で有意。

表1. 苗令と孢子濃度を変えた場合の発病指数

孢子濃度 苗令	10	50	100	200	300	平均値
	(11)	(60)	(118)	(212)	(372)	
2 (2.1)	1.5	1.7	2.0	2.6	2.6	2.1
4 (5.0)	1.7	2.0	2.8	3.7	3.5	2.7
6 (6.8)	1.8	2.7	2.9	3.9	3.8	3.0
8 (7.9)	2.1	2.6	3.9	4.1	3.7	3.3
平均値	1.8	2.2	2.9	3.6	3.4	

注) 苗令, 孢子濃度の()内は, それぞれ, 接種時の本葉数(枚)および一視野(15×10)当たり孢子数(個)

表2. 孢子濃度と葉位毎の発病指数

孢子濃度 葉位	10	50	100	200	300	平均値
	(13)	(51)	(106)	(196)	(367)	
3	1.2	2.4	2.7	2.3	3.4	2.4
4	1.0	2.1	3.0	3.2	3.8	2.6
5	0.8	1.9	2.6	2.9	3.5	2.3
6	0.3	1.6	2.1	2.2	2.9	1.8
平均値	0.8	2.0	2.6	2.7	3.4	
接種時葉数	6.0	6.3	6.7	6.6	6.7	(6.5)

注) 葉位は下位からの数えた本葉の葉位を示し, 接種時葉数は本葉数(枚)を示し, 苗令5週間, 接種後18日目の調査結果を示した。

表4. ガラス室内の発病と圃場の発病との関係

番草名	年次	相関係数
1	2	.25
	3	.42**
2	2	.40**
	3	.36*
3	2	.51**
	3	.42**
供試個体数		

注) *,**は5, 1%水準で有意

(3) 品種・系統のガラス室内における発病と圃場の発病の関係

表6に示すような材料を用いて、試験を実施した。試験により結果は異なったが、検定の指標となる抵抗性および感受性の材料を配置した試験7, 8では、ガラス室内と圃場での発病の関係は高かった。

2) 菌株による病原性の違い

北海道内6市町で採集した罹病葉から分離した8菌株を供試し、ガラス室内で育苗した10栄養系に接種し、病原性の違いについて検討した。表7, 8に示したように、各分離菌株間の発病指数の関係は高く、栄養系への反応に著しい違いは認められなかった。なお、訓子府町1, 2, 3は、北見農試圃場において採集した分離年次の異なる菌株である。これら、3菌株の差も小さかった。

次に、10栄養系の北見農試圃場における発病と、各菌株の発病との関係を検討した。圃場の調査は、3年間(1981~1983年)、

表5. ガラス室内の発病と圃場の発病との関係

圃場検定			圃場での抵抗性			抵抗性 個体率
ガラス室内検定 個体数(A)			抵抗性(B) 中間 感受性			
抵抗性を示した回数	0	26		10	16	0
	1	5	1	3	1	20
	2	18	15	3		83
	3	7	7			100
合計		56	23	16	17	

注) 抵抗性は発病指数により区分した。ガラス室内では発病指数1以下を抵抗性、4以上を感受性、圃場では2以下を抵抗性、4以上を感受性とし、その間を中間とした。抵抗性個体率(%) = B/A × 100

表6. 品種・系統のガラス室内検定と圃場検定の関係

項目	相関係数	検定材料数	材料の抵抗性
試験5	-0.5	24	R主体
6	.46 *	29	M主体
7	.90 **	19	S~R
8	.85 **	20	S~R

注) 材料の抵抗性のR, M, Sはそれぞれ抵抗性, 中間, 感受性を示す。相関係数は、5~6葉期のガラス室内の発病と造成後2~3年目の1番草の発病調査から求めた。*, ** : 5, 1%水準有意。

表7. 菌株による病原性の差異

調査場所 菌株名 栄養系名	ガラス室内の発病指数									圃場の発病指数		
	訓子府町			中標別町	音更町	浜頓別町	稚内市	豊富町	平均値	レンジ	平均値	最小最大
1	3.4	3.4	3.9	3.6	3.4	3.2	3.5	3.6	3.5	0.7	3.6	2-5
2	3.3	3.1	3.4	3.4	3.3	3.1	3.2	3.1	3.2	0.3	3.3	2-5
3	3.7	3.2	3.8	3.5	3.7	3.3	3.2	3.5	3.5	0.6	3.4	2-5
4	3.5	2.9	3.3	3.2	3.1	3.1	3.1	2.9	3.2	0.6	1.3	1-3
5	2.0	1.8	2.5	1.9	2.0	1.5	1.4	1.7	1.9	1.1	1.1	1-2
6	2.1	2.0	2.6	2.4	2.5	2.4	2.1	1.6	2.2	1.0	1.2	1-2
7	3.5	2.9	3.7	3.5	3.7	3.4	3.5	3.3	3.4	0.8	2.1	2-4
8	4.0	3.7	3.9	3.7	4.3	3.9	3.6	3.7	3.9	0.4	3.7	3-5
9	3.2	3.4	3.2	3.7	2.6	2.7	3.0	3.1	3.1	1.1	4.1	3-5
10	1.8	1.8	2.5	1.7	2.0	2.2	1.8	1.7	1.9	0.8	1.3	1-2
平均値	3.1	2.8	3.3	3.1	3.1	2.9	2.8	2.8	3.0	0.5	2.5	
訓子府町-1との相関係数	-	**	**	**	**	**	**	**	**			
圃場最大指数との相関係数	**	**	**	**	*	*	**	**				

注) 発病指数: 0; 無, 1; 微~5; 甚を示し, ガラス室内は3回の平均値, 圃場は9回の平均値およびそれらの最小, 最大指数を示した。

9回行った。表9に示すように、ガラス室内の発病と圃場の発病調査時期には、中標津町、訓子府町1とは半数以上の時期で有意な関係が認められ、浜頓別町、音更町でも少ない回数ではあるが、有意な関係が認められた。有意な関係が認められた調査時期は2、3番草が多かった。また、調査期間中の各栄養系の最大発病指数とガラス室内の発病指数の間には、いずれの菌株にも有意な関係が認められた。

摘 要

チモシー斑点病抵抗性品種育成の効率化のため、稚苗期における抵抗性の検定方法や菌株による病原性の違いなどについて検討した。

- 1) ガラス室内の発病と圃場での発病を調査した結果、孢子濃度は一視野(×150)当り100個前後で接種すれば、ほぼ均一な発病が得られ、調査の効率などを考慮すると、苗令は発芽期後4~6週間(本葉数5~7枚)が適当であった。各個体の発病は、最多発病葉の調査で判定した。
- 2) 前記の方法を用いた抵抗性個体の選抜や、品種・系統の特性検定を行い、その有効性を示した。
- 3) チモシーの主要栽培地帯より分離した菌株について、10栄養系を用いて病原性の差を調査した。その結果、各菌株の栄養系に対する反応に著しい違いは認められなかった。
- 4) 菌株のガラス室内の発病指数と、別に調査した同一栄養系の北見農試圃場における発病指数の間には、有意な関係が認められた。

参 考 文 献

- 1) 阿部二郎(1986)北海道農試研報. 146, 89-143
- 2) 荒木 博(1985)北海道農試研報. 143, 105-114
- 3) 松本邦彦・杉山正樹・中田栄一郎・堀 真雄(1973)日植病報. 39, 193 (講要)
- 4) 佐久間勉(1975)北海道農試研報. 111, 143-213
- 5) 島貫忠幸(1987)北海道農試研報. 148, 1-56
- 6) 但見明俊(1975)草地試研報. 6, 66-76
- 7) 渡辺亀彦・中島紘一(1970)日草誌. 16, 67 (講要)
- 8) 吉山武敏・宝示戸貞雄・田中弘敬(1967)農林省畜試草地部研究速報(昭和41年度分). 41-59

表8. 2; 3の菌株間の病原性の関係

場所名	訓子府町-1	中標津町	浜頓別町
中標津町	.94**		
浜頓別町	.92**	.85**	
音更町	.92**	.83**	.96**

注) 10栄養系の発病指数を用いて計算した。
** 印: 1%水準で有意

表9. 菌株のガラス室の発病と訓子府町圃場での発病との関係

場所名	ガラス室と圃場の発病の有意な関係の回数				圃場調査回数
	1%	5%	10%	合計	
訓子府町-1	1	4	3	8	9
中標津町	3	6	0	9	9
浜頓別町	0	2	2	5	9
音更町	0	1	2	4	9

注) ガラス室の発病指数と圃場で調査した9回の発病指数で計算した相関係数がそれぞれの水準で有意な関係のを示した回数を示す。