

雪腐黒色小粒菌核病が寒地型イネ科牧草の 貯蔵炭水化物に及ぼす影響

鶴見義朗・原田文明・森山真久

Effect of *Typhula* snow blight (*Typhula ishikariensis* S. Imai)
on reserve carbohydrate in temperate grasses
Yoshiro TSURUMI, Fumiaki HARADA, and Masahisa MORIYAMA

Summary

1) Clones from two varieties different in overwintering ability in four temperate grasses, perennial ryegrass (PRG), tall fescue (TF), orchardgrass (OG) and timothy (TY) (refer to Table 1) were planted respectively to investigate the effect of snow mold blight (*Typhula ishikariensis* S. Imai) on reserve carbohydrate. Oxime copper was applied for the fungicide treatment in contrast with the *Typhula* snow mold treatment inoculated with the cultured pathogen before wintering. Stem bases of 3 cm length were sampled before wintering and before the snow thawed in spring. They were dried in a freeze dryer and then ground. Samples of 300 mg with pure water in test tube were immersed in boiling water for 30min. and filtered. Sugars were analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC) equipped with differential refractive index (RI) detector and KS802 column for mono- and disaccharide or KS803 for fructan.

2) A large number of sclerotia of snow mold blight were found on the leaves of all grasses in the snow mold treatment. In consequence, the amount of regrowth was smaller than that in the fungicide treatment.

Some plants of Kiyosato (PRG) and Jebel (TF) were killed during winter in the snow mold treatment (Table 1).

3) The amount of fructose increased after overwintering in PRG and TY, and the amount was more

in the snow mold treatment than in the fungicide treatment due to the fructan degradation caused by snow mold blight.

4) The amount and degree of polymerization (DP) of fructan decreased after overwintering. The amount was more degenerated in the snow mold treatment as compared with that in the fungicide treatment, but the differences in DP remained small. In Kiyosato and Jebel of which plants were killed in the snow mold treatment, the fructan contents were less than 10% of the dry matter, which result might suggest that more than that fructan content after wintering should be required to ensure the regrowth in spring.

5) Regrowth of the other varieties was also smaller in the snow mold treatment. However, the decrease in fructan content and its DP were less conspicuous than that in regrowth. Consequently, the effect of snow mold blight on other chemical components such as protein, fat, etc. should be studied further.

キーワード：貯蔵炭水化物、フラクタン、雪腐黒色小粒菌核病、寒地型イネ科牧草

Key words : reserve carbohydrate, fructan, *Typhula* snow blight, temperate grass

緒言

寒地型イネ科牧草の主要な貯蔵炭水化物はフルクタンであり²⁾、フルクタンは越冬中のエネルギー、越冬後の再生のための重要な物質である。また、雪腐病害は雪害、

北海道農業試験場 (062 札幌市豊平区羊ヶ丘1)

Hokkaido National Agricultural Experiment Station, Hitsujigaoka 1, Sapporo 062, Japan

「平成7年度 研究発表会において発表」

凍害とともに越冬に大きな影響を及ぼす。寒地の多雪地帯のイネ科牧草の最も重要な雪腐病は黒色小粒菌核病 (*Typhula ishikariensis* S. Imai) である^{3,5)}。そのため、雪腐黒色小粒菌核病が越冬中の寒地型イネ科牧草の貯蔵炭水化物の消耗、組成に及ぼす影響を調査した。

材料及び方法

寒地型イネ科牧草の主要な4草種、各草種越冬性の異なる2品種、各品種2クローン (Table 1参照) を株分けし、1991年6月18日に各クローン16株/区を45cm×40cmで2区制で移植した。雪腐病防除区は有機銅剤400倍、0.61/m²を1991年12月6日に散布し、雪腐病接種区はフスマ・バーミキュライト培地で培養した黒色小粒菌

核病菌A型³⁾ 1g/株を12月12日に接種した。施肥量(kg/a)は基肥としてN1.0、P₂O₅1.4、K₂O1.0、苦土石灰10、追肥としてN0.5、P₂O₅0.4、K₂O0.5を施肥した。分析用サンプルは茎基部(長さ3cm)を根雪前の1991年11月27日、消雪前(積雪24cm)の1992年3月31日に採集し、凍結乾燥器で乾燥後、ウイレー型粉碎機で粉碎した。糖の分析サンプルは試験管に粉碎サンプル300mgと蒸留水を入れ、30分間沸騰水で処理後、抽出した。単、二糖類の高速液体クロマトグラフィ(HPLC)分析はカラムKS-802、フルクタンはカラムKS-803を用い、検出器には示差屈折計を用いた。定量はピーク面積から試薬イヌリン、平均分子量はピークの保持時間から Pulluranスタンダードによる回帰式により算出した。

Table 1. Effect of *Typhula* snow blight on overwintering in temperate grasses

Grass	Variety	No. of Sclerotia ¹		Overwintering (%)		Regrowth ² (DMg/plant)	
		Fungicide ³	Typhula ⁴	Fungicide ³	Typhula ⁴	Fungicide ³	Typhula ⁴
PRG	Kiyosato (2)	0.5	4.2	100	78	34	1(3)
"	Norlea (2)	0.1	3.2	100	100	19	7(37)
TF	Jebel (2)	0.0	4.0	100	82	17	1(6)
"	Hokuryo (2)	0.0	4.3	100	100	42	27(64)
OG	Akimidori(2)	0.1	3.7	100	100	63	28(44)
"	Okamidori(2)	0.1	2.6	100	100	39	30(77)
TY	Nossapu (2)	0.2	5.0	100	100	62	24(39)
"	Senpoku (2)	0.1	3.8	100	100	52	28(54)

Note: Abbreviations of grass species are PGR for perennial ryegrass, TF for tall fescue, OG for orchardgrass and TY for timothy. Figures in the parentheses of variety column are no. of clones used and those of regrowth column are relative regrowth of the Typhula treatment to the fungicide treatment. 1) Observed on April 4, 1992. 0:none~5:many 2) Measured on May 26, 1992. 3) Fungicide(Oxime-copper) was applied before wintering. 4) Typhula snow blight was inoculated before wintering.

Table 2. Effect of *Typhula* snow blight on the content of fructose and sucrose in the stem base of temperate grasses

Grass	Variety	Fructose(%)			Sucrose(%)		
		before wintering	in spring		before wintering	in spring	
			Fungicide	Typhula		Fungicide	Typhula
PRG	Kiyosato (2)	3	9	13	3	4	4
"	Norlea (2)	3	6	10	5	8	8
TF	Jebel (2)	2	5	3	4	3	2
"	Hokuryo (2)	2	3	3	5	4	6
OG	Akimidori(2)	1	2	1	3	3	3
"	Okamidori(2)	2	3	2	4	3	4
TY	Nossapu (2)	3	5	7	4	3	4
"	Senpoku (2)	3	5	7	4	3	4

Note: Samples were collected before wintering(November 27, 1991) and in spring after wintering(March 31, 1992) and data are shown on the dry matter bases. See table 1 to refer to the abbreviations for grass species and treatments with Fungicide or Typhula.

Table 3. Effect of Typhula snow blight on content and degree of polymerization of fructan in temperate grasses

Grass	Variety	Fructan(%)				DP of fructan*			
		before	in spring			before	in spring		
			wintering	Fungicide ^a	Typhula ^b b/a		wintering	Fungicide ^a	Typhula ^b b/a
PRG	Kiyosato (2)	43	15	8	53	36	28	25	88
〃	Norlea (2)	50	34	29	85	47	41	40	98
TF	Jebel (2)	37	10	3	32	6**	10	9	92
〃	Hokuryo (2)	40	20	12	60	37	27	26	96
OG	Akimidori(2)	40	25	18	71	104	82	79	96
〃	Okamidori(2)	41	27	26	96	116	96	95	99
TY	Nossapu (2)	36	18	18	97	168	102	93	91
〃	Senpoku (2)	39	21	15	73	196	115	92	80

Note: Samples are the same as Table 2 and fructan percents are shown on the dry matter bases. See table 1. to refer to the abbreviations for grass species and the treatments with fungicide or Typhula.

* Degree of polymerization of fructan estimated from retention time of the peak by HPLC.

** Estimated from the peak of fructan chromatogram with a few shoulders (refer to Fig.2).

結果

寒地型イネ科牧草のペレニアルライグラス (PRG)、トールフェスク (TF)、オーチャードグラス (OG) およびチモシー (TY) 品種のクローンの越冬後の防除区、接種区の黒色小粒菌核病の菌核形成程度、越冬率および再生株重は Table 1 に示した通りである。接種区では越冬性の優れた TY においても極めて多数の菌核が融雪後に観察され、春の再生が不良となり、再生株重が著しく低下した。とくに、枯死株が発生したキヨサト (PRG) と Jebel (TF) の株重は極めて少なかった。

単、二糖類の分析結果を Table 2 に示した通りである。グルコースの含量は 1~4% で少なく、越冬前と越冬後とも変異が小さかったため (Fig. 1~4 参照)、表

には記載しなかった。PRG と TY のフルクトースの含量は越冬前より越冬後に多くなり、接種区は防除区より多かった。スクロースは越冬後の Nor (PRG) の含量が比較的高く、Jebel (TF) の接種区の含量が少なかった。

重合度 3 以上の糖をフルクタンとして、その含量および平均重合度を Table 3 に示した。また、供試草種各 1 クローンの HPLC のクロマトグラフを Fig. 1~4 に示した。越冬後のフルクタンの含量および重合度は各品種とも著しく低下し、越冬後の接種区の含量は防除区より減少した。とくに越冬後枯死株の発生した接種区のキヨサトと Jebel の含量が低かった。しかし、フルクタンの重合度は防除区と接種区間に大きな差異は認められなかった。

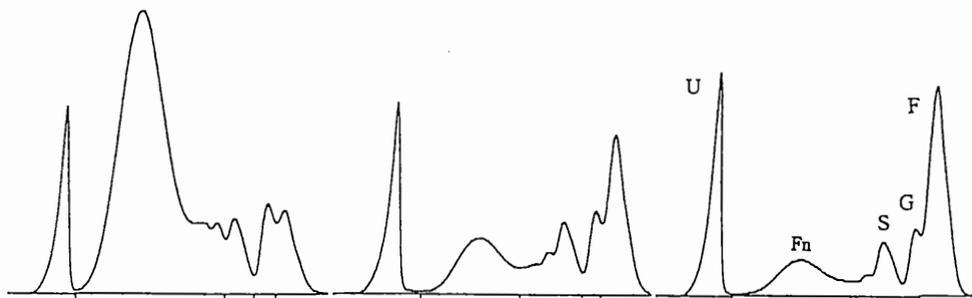


Fig.1. HPLC chromatograms of carbohydrate in the stem base of clone no.8 of perennial ryegrass var. Kiyosato before wintering (left) and after overwintering (middle and right), of which middle chromatogram was controlled with fungicide and of which right chromatogram was inoculated with *Typhula* snow blight before wintering. HPLC was equipped with KS803 column and RI detector. Base line is retention time where fructose peak(F) is 20.5min., glucose(G) 19.8min., sucrose(S) 18.7min. and fructan(Fn) depends on DP. Each sugar content is drawn by relative value of RI detector. U sign is unknown substance.

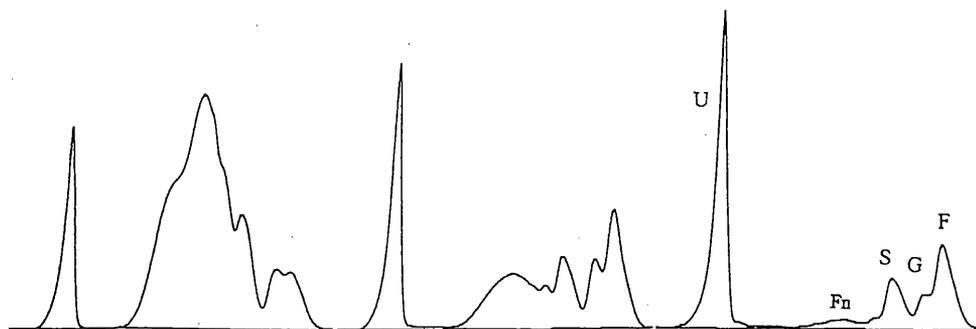


Fig.2. HPLC chromatograms of carbohydrate in the stem base of clone no.14 of tall fescue var. Jebel before wintering (left) and after overwintering (middle and right). Treatments and abbreviations are the same as Fig.1.

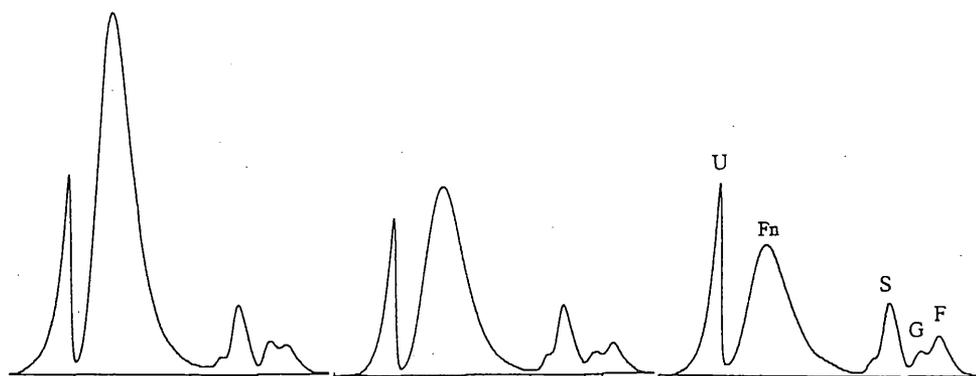


Fig.3. HPLC chromatograms of carbohydrate in the stem base of clone no.18 of orchardgrass var. Akimidori before wintering (left) and after overwintering (middle and right). Treatments and abbreviations are the same as Fig.1.

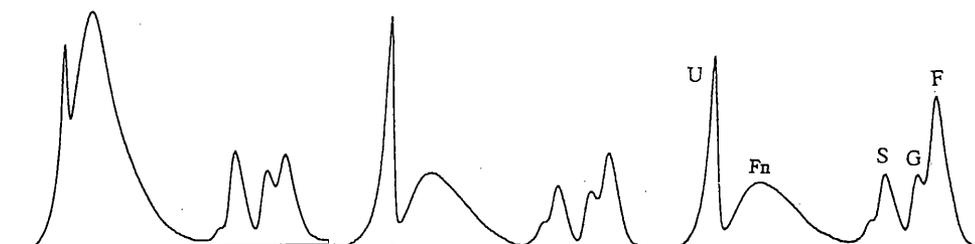


Fig.4. HPLC chromatograms of carbohydrate in the stem base of clone no.20 of timothy var. Nosappu before overwintering (left Fig.) and after overwintering (middle and right). Treatments and abbreviations are the same as Fig.1.

考 察

寒地の積雪下における主要雪腐病は黒色小粒菌核病と褐色小粒菌核病であり、前者が後者より病原性が強いことが報告されている^{3,5)}。そのため、黒色小粒菌核病が越冬中のイネ科牧草の越冬性に関与する貯蔵炭水化物の消耗に影響を及ぼしていると考えられる。寒地型イネ科牧草の貯蔵炭水化物の主要な糖はフルクタン的一种であるフレインであり、フレインはフレイナーゼにより分解される⁶⁾。富山⁴⁾は積雪下における小麦の含糖量と雪腐病発病率との関係はあるが、必ずしも直接的な関連性は

ないと報告している。本試験の越冬後の接種区では、P RGとTYのフルクトースの含量が防除区より増加した。その原因は黒色小粒菌核病の影響によりフルクタンが分解された結果、生じたフルクトースであると考えられる。しかし、Jebel (TF) はフルクトース、スクロースおよびフルクタンも極めて少量であった。その原因は雪害、雪腐病害により貯蔵炭水化物がほとんど消費つくされたためであると推察される。

越冬後のフルクタンの含量、重合度はともに越冬前より著しく減少したが、越冬後の接種区は防除区に比較して、フルクタンの含量は減少したが、重合度の減少は少

なかった。雪腐病によりフラクタンの分解が促進されたものと推察される。

各草種の供試2品種の育成地についてみれば、TYの2品種はいずれも北見農試で育成された品種であるが、PRGのキヨサトは山梨酪試、Norleaはカナダの品種、TFのJebelは地中海型品種、ホクリヨウは北農試育成品種、OGのアキミドリは草地試育成品種、オカミドリは北農試育成品種であり、寒冷地で育成された品種が温暖地で育成された品種よりフラクタンの含量、重合度とも高く、とくに、接種区の含量ではその差が大きかった (Table 3)。湯川⁴⁾も小麦において寒冷地で育成された耐雪性品種はフルクタンの高蓄積群に属すると報告している。

しかし、草種間の比較においては、越冬性とフルクタンの含量に明らかな関連性は認められなかった。また、重合度と越冬性、耐凍性と関連性については、TY、OR、PG、R、TF (Jebel) には明らかな相関が見られるが、これらの耐性に比較的強いTF (ホウリヨウ) は低かった。このように越冬性程度のフルクタンの含量、重合度と一致しない原因は各草種は異なった組織、細胞、代謝系を有するためと考えられる。

Kiyomoto¹⁾は小麦の雪腐病抵抗性品種の非構造性炭水化物は越冬中の減少が少ないと報告している。接種区で枯死株のみられたキヨサトとJebelではフルクタンの越冬中の減少が大きく、その含量は10% (乾物中) 以下となった。十分な春の再生を確保するためには、越冬時に10%以上のフルクタンを保持することが必要であると推察される。

その他の草種、品種の接種区では春の再生が著しく低下したにもかかわらず、フルクタンの含量、重合度の低下は再生株重の減少ほど大きくなかった。富山⁵⁾は小麦の褐色小粒菌核病の接種試験では老葉のタンパク質含量の分解が起こり、抵抗性が低下するが、若い葉ではタンパク質の低下と抵抗性の低下が少ないと報告している。雪腐病害、雪害の体内成分に及ぼす影響の解析のためには、さらにタンパク質、アミノ酸、脂質などの他の体内成分について検討する必要がある。

謝 辞

接種用の雪腐黒色小粒菌核病菌を提供戴いた現農業環境技術研究所の松本直幸博士および試験材料の調整、分析に多大な援助を戴いた北農試業務1科高橋財造技官に厚く感謝の意を表したい。

引用文献

- 1) Kiyomoto, R. K. (1987) Carbon dioxide exchange and total nonstructural carbohydrate in soft white winter wheat cultivars and snow mold resistant introductions. *Crop Sic.*, 27, 746-752
- 2) 小島邦彦・伊沢 健 (1967) 牧草炭水化物の生理化学的研究 第2報 草種による炭水化物特性について. *日草誌* 13, 39-50.
- 3) 松本直幸 (1989) 雪腐小粒菌核病菌の種生態学的研究. *北農試研報*152, 91-162.
- 4) 田村良文・星野正生 (1979) イタリアンライグラスにおける非構造性炭水化物の品種・個体間差異 1. 全非構造性炭水化物含有率と耐雪性. *日草誌* 25, 171-177.
- 5) 富山宏平 (1995) 麦類雪腐病に関する研究. *北農試報告*47, 1-234.
- 6) Yamamoto, S. and Mino, Y. (1985) Phlein degradation in stem bases of temperate grasses after defoliation. *Proc. XV IGC*, 369-371.
- 7) 湯川智之 (1990) 小麦のフルクタン蓄積量の品種間差異と系譜上でのつながり, *北陸農業の新技术* 3, 21-27.

摘 要

- 1) 寒地型イネ科牧草4草種、各草種越冬性の異なる2品種、各品種2クローン (Table 1) を供試し、越冬前に雪腐病防除あるいは黒色小粒菌核病菌の接種を行い、両処理について越冬後の茎基の糖類を分析し、黒色小粒菌核病の貯蔵炭水化物に及ぼす影響を調査した。糖の分析はHPLCを用い、単、二糖類の分析にはカラムKS802、フラクタンの分析にはKS803を装着し、検出器には示差屈折計を使用した。
- 2) 黒色小粒菌核病の接種区では菌核の形成が著しく、春の再生が著しく低下した。とくに枯死株の発生した接種区のPRGのキヨサトとTFのJebelの株重は少なかった (Table 1)。
- 3) PRGとTYのフルクトース含量は越冬後に増加し、接種区では防除区より増加した。接種区でのフルクトースの増加は雪腐病害によるフルクタンの分解によるものと推察された (Table 2 Fig. 1、4)。
- 4) 越冬後のフルクタン含量、重合度は著しく減少し、また、接種区は防除区に比較し、含量はさらに低下したが、重合度の低下は少なかった。越冬後枯死株の発

生した接種区のキヨサトとJebelのフルクタン含量が著しく低下した (Table 3)。これらのフルクタンの含量は10% (乾物中) 以下となり、越冬には10%以上のフルクタンの含量を保持することが必要であると推察された。

5) その他の草種、品種の接種区では再生が著しく低下したにもかかわらず、フルクタン含量、重合度の低下は再生株重の低下より大きくなった。雪腐病害がその他の体内成分に及ぼす影響についてさらに検討する必要がある。

(1996年3月25日受理)