学会賞受賞者講演

イネいもち病菌レースの分化およびいもち病の環境保全型防除に関する研究[†]

生井 恒雄*

NAMAI, T.*: Race differentiation of the rice blast fungus, *Pyricularia oryzae*, and environmentally friendly control of rice blast disease

イネいもち病菌 *Pyricularia oryzae* に起因するイネいもち病は、世界中の稲作国にとり極めて憂慮すべき作物病害の一つである。わが国では、これまで本病を主に抵抗性品種の開発・利用と、化学薬剤の使用により防除してきた。しかし、抵抗性品種の開発・利用は、本病菌の病原性の変異性の高さから新品種導入後短期間で罹病化した事例が多く、問題になってきた。また、化学薬剤の利用は、環境への化学汚染や薬剤耐性菌の発生、さらに消費者の食の安全に対する懸念を払拭できないことなどが問題になっている。

イネいもち病菌の病原性変異は主に突然変異によって起こるとされるが、野外における抵抗性品種の罹病化にかかわる新レースの分化に関しては、いまだに不明な点が多い。ところで、山形県では、1980年代から良食味の本病抵抗性品種の開発を独自に進め、‘はえぬぎ’、‘どまんなか’ (*Pia*, *Pii*) を開発し、1992年にそれまでの主力品種‘ササニシキ’ (*Pia*) から全県的に作付変換を行った。本研究はその機会をとらえ、ポット試験と野外調査を並列し、新品種に対する罹病化レース発生の検証と、新品種導入後の野外におけるレース構成の変化に関する生態学的調査を行った。

一方、化学薬剤の使用については、政策的に環境保全型農業促進の流れが加速し、減化学農薬防除技術の開発が進められている。そこで、本研究ではイネのそれぞれの栽培時期に対応した環境保全型の防除技術を検討した。

1. イネいもち病菌の病原性レースの分化

抵抗性品種に対する病原性レースの発生が、野外の‘どこで’、‘どのように’ 起こるかはほとんど明らかではない。多くの事例では、抵抗性品種の罹病化は抵抗性品種の導入から

3～4年後に見られることから、野外に分布するいもち病菌と新たに導入された抵抗性品種との接触がその引き金になることも十分に考えられる。また、既往の報告には、抵抗性品種の穂は非病原性レースにも微感染すること、穂いもちからの分離菌には多様なレースが見られる場合があること、韓国の‘統一系統’の罹病化の直前に穂いもちが発生したこと、などがある。以上から、イネいもち病菌の罹病化レースの分化に抵抗性品種の穂が重要な意味を持つのではないかと考え、野外で優占的に分布していたが抵抗性品種の導入により非病原性となった菌株が、導入された抵抗性新品種の穂に微感染し、増殖する際に変異が誘発されるという仮説を立て、実証を試みた。

ポット試験 野外からの分離菌は、実験室長期保存の菌株とは異なり人工培地上で容易に変異が起こることから、本研究では罹病イネから分離した野生の複数菌株を用いた。すなわち、山形県庄内地方の複数の水田に自然発生した‘ササニシキ’の罹病穂から単孢子分離し、慣行法によるレース検定により新品種に非病原性であることを確認した11菌株である。供試イネには山形県が独自開発した新品種‘はえぬぎ’と‘どまんなか’を使用した。接種は、親菌株を新品種の穂に確実に感染させること、親菌以外の菌株の混入を防ぐことと理由から注射接種法を用いた。すなわち、1/5,000 a ワグネルポットで穂孕期まで栽培した両品種の穂に、親菌株の胞子液 (5×10^4 個胞子/ml) を止葉葉鞘を貫いて注射接種した。その結果、接種穂は通常通りに出穂したが、感染部位は褐色に変色し、いわゆる抵抗型病斑を形成した。しかし、感染穂には予想を超えた多くの分生胞子が形成された。この再分離菌を常法によりレース検定したところ、新品種を侵害できるレースを含め多様なレースが混在した (生井ら, 1997a)。

以上の試験で、再分離菌に新品種の‘はえぬぎ’および‘どまんなか’に病原性を示す変異菌が認められたことから、

[†]平成23年3月27日 平成23年度大会で行われる予定であった学会賞受賞者講演の要旨

* 山形大学農学部 Faculty of Agriculture, Yamagata University, Tsuruoka, Yamagata 997-8555, Japan

罹病化レースの病原性と供試イネ品種の真正抵抗性遺伝子との関係を調べた。すなわち、様々な真正抵抗性遺伝子を持つ品種として‘ササニシキマルチライン’の 5 品種（ササニシキ BL1; *Pia, Pik*, ササニシキ BL2; *Pia Pik-m*, ササニシキ BL3; *Pia, Piz*, ササニシキ BL4; *Pia, Piz-t*, ササニシキ BL5; *Pia, Pita-2*）および 2 系統（東北 IL6; *Pia, Pita*, 東北 IL9; *Pia, Pib*）と 1993 年にササニシキ罹病穂から単孢子分離し非病原レースと確認した 7 菌株を用い、前述と同様の接種方法で試験した。その結果、すべての供試菌株とも、用いたいずれの品種および系統の穂に褐色の病斑を形成し、多くの分生胞子を形成することが明らかとなった。これらの品種・系統からの再分離菌株のレースを検定したところ、共通して病原性の幅の広い多様な類似のレースに判定され、用いたイネ品種・系統の抵抗性遺伝子に影響されるような傾向は認められなかった（生井ら, 1999）。

これまでの試験で、非病原性菌株を穂孕期という極めて若い穂に接種した場合、感染し分生胞子が形成されたが、このことは必ずしも現実的ではない。そこで、現実的に起こりうることを想定される出穂直後の穂を用いた試験を、‘ササニシキマルチライン’の 4 品種・2 系統と野外から分離した非病原性の 6 菌株を用いて行った。接種は、親菌株の孢子液を染込ませたガーゼで穂を包む方法で行った。その結果、用いた品種・系統間で感染程度や孢子形成数に差が見られたものの、いずれの品種・系統の穂にも病斑が認められ、その上に分生胞子が形成されることが確かめられた。以上から、非病原性菌でも、抵抗性品種の出穂直後の穂には微感染し、孢子形成する現象は野外でも起こりうることを確かめられた（生井ら, 2000）。

このようなイネいもち病菌の病原性レースの分化は、抵抗性イネ品種や系統上だけに限られる現象かどうかを明らかにするために次の試験を行った。すなわち、イネ以外の非宿主植物であるが人工接種により感染するため、同様の試験が可能と考えられたジュズダマを用いて検討した。ジュズダマを素焼きの植木鉢に栽培して穂孕期まで生育させ、ササニシキの罹病穂から分離したイネいもち病菌 3 菌株を注射接種して調べた。その結果、ジュズダマの穂にも穂いもちが発生し、そこには分生胞子が形成され、そこから再分離した菌株の病原性は親菌とは異なり、イネに多様な病原性を示す変異菌が含まれることが明らかとなった。そこで、このような変異は病原性だけに見られるものかどうかを明らかにするために、再分離菌の毒素生産性について検討した。毒素成分の TLC プロフィールを調べた結果、再分離株の毒素生産性は親株と異なるだけでなく、再分離菌間でも差が見られるものがあることが明らかとなった。そこで、これらの変異菌につい

て、当時いもち病菌の固体識別法として注目されていた *Pot2-repPCR* フィンガープリント法により解析を行った結果、親菌株と病原性変異菌はもとより、毒素生産性変異菌間でも識別できないことが明らかとなった（生井・岩館, 2002）。

以上から、野外に分布する野生のいもち病菌は抵抗性イネ品種・系統だけでなく、非宿主植物など病原菌と宿主が非親和関係でも感染し増殖できるような場合に、病原性のみならず毒素生産性についても変異が誘発されることが実証された。

圃場におけるレース分化菌発生の検討 野外で、旧品種上のいもち病菌が新品種の出穂中の穂に微感染している状況が現実的に見られるか、さらにそこで異なるレース菌が分布するかを検証するために調査を行った。すなわち、山形県庄内地方で、旧品種‘ササニシキ’と新品種‘はえぬぎ’が隣接し、旧品種の穂にいもちが激発している条件を満たしている水田を探索し、新品種の穂の発病を確認するとともに、両品種の穂からいもち病菌を分離してレース検定を行った。その結果、上記の条件に合致する 6 ケ所の水田の存在を確認した。新品種の穂には枝梗や籾にわずかにいもち病が発生しているものが見られた。新・旧両品種の穂から単孢子分離したいもち病菌のレースを検定したところ、旧品種の穂からの分離菌のほとんどが‘ササニシキ’により適応したレース 003 の菌であったが、‘はえぬぎ’からは、新品種に病原性を持つ複数のレースの菌が共通して得られた。以上から、野外でも抵抗性品種の穂が新レース分化の場となっている可能性が高いことが明らかとなった。

野外における新品種導入後のレース分布の変化 新品種の導入 2 年目の 1993 年から 1996 年の 4 年間にわたり、山形県庄内地方の水田におけるいもち病菌レース分布を調査した。すなわち、例年庄内地方のいもち病に関する生態調査を行っていた一般水田 47 ケ所で、毎年、同一水田、同一場所（水口付近）に自然発生した葉いもち、穂いもちを採集し、分離菌のレースを調査した。その結果、1993 年には新品種を侵害できるレースはほとんど検出されなかったが、3 年目の 1994 年に中山間部の複数水田から新品種を侵害できる病原性の幅広いレースが分離され、1995 年には平野部からも同様に検出された。その後、1996 年にはほとんどの調査水田から、‘はえぬぎ’と‘どまんなが’により適応したレース 007 が検出された。以上から、抵抗性品種導入後のレース構成は、罹病化レース発生当初は病原性の幅広いレースが見られたことでレース数も多かったが、年次を経るにつれて新品種‘はえぬぎ’と‘どまんなが’により適応したレースが増加し庄内地方全体に優占化するように変化し、その結果としてしだいにレース数は減少した（生井ら, 1997b）。

2. イネいもち病の環境保全型防除法に関する研究

イネいもち病の防除はイネの生育ステージごとにそれぞれに適切な防除法が実施されている。すなわち、最初は保菌種子の消毒であり、その後は育苗時の苗いもちの発生抑制、続いて本田での初発生の防止となる。最後は穂いもちの抑制である。しかし、現状ではいずれも化学薬剤により高い防除効果が得られている。本稿では、これまで種々検討した、化学薬剤を用いない実践的な環境保全型防除法について述べる。

温湯種子浸漬消毒法 イネいもち病は主要な種子伝染性病害の一つであるため、本病の防除では種籾の消毒が欠かせない。これまで、多くの種子消毒用の化学薬剤が開発され用いられてきたが、食の安全・安心に対する消費者からの要望や、使用薬剤の処理などが問題になっていた。本研究では、近年の時代の流れに應えるために、化学薬剤を用いない種子消毒法として温湯浸漬消毒機を開発した。研究の発端は、イネ種子の催芽機メーカーの役員からの催芽処理中に起こる種子伝染性細菌病の二次伝染に対する技術相談であった。その後、山形県水田農業試験場の早坂 剛氏との実用化に向けた共同研究を経て、いもち病に防除効果があり、イネ種子の発芽基準を十分クリアできる温湯浸漬種子消毒機を開発した。この機種では乾燥種籾を 58°C、20 分あるいは 60°C、15 分の処理により、化学薬剤と同等の防除効果が得られる。最初は、特別栽培や有機農業農家用の機種として考えて販売したが、現在は一般栽培用として全国に広く普及している（早坂ら、2001, 2002）。

育苗土へのシリカゲル混和 イネはケイ酸植物と呼ばれるように、ケイ酸資材の施用が生育に良好な影響をおよぼす。また、ケイ酸資材が本田でのイネいもち病の発生抑制に有効であることはすでに知られ、以前から使用されてきた。しかし、従来のケイ酸資材は土壌に混和すると土壌 pH をアルカリ側に変えることから、育苗用土壌への使用は不適であった。そこで、土壌 pH に影響しない資材としてシリカゲルに注目し、用土に混和し育苗することで苗いもちの発生抑制が見られることを明らかにした（Hayasaka *et al.*, 2005）。すなわち、育苗用土壌のケイ酸含量は、土壌により異なることから、苗いもちの防除に有効なケイ酸濃度を検討した。その結果、イネ苗中のケイ酸含量が 5% 以上になるようにシリカゲルを混和することにより、苗いもちの発生を大きく抑制できることを明らかにした。このシリカゲル資材はすでに市販されている。この研究も山形県水田農業試験場、早坂 剛氏、山形大学農学部藤井弘志氏、安藤 豊氏らとの共同研究である。

田植え直後の深水管理法 本病は、化学薬剤や温湯浸漬種子消毒法による消毒あるいはシリカゲル混和処理を行っても完璧な撲滅は不可能であり、育苗中にわずかに発生し、移

植すると持込みいもちとして本田のいもち病の原因となりうる。そこで、発生した苗いもちを本田に移植したとしても、その後苗のいもち病菌を死滅させれば防除は可能となる。そこで、水中におけるイネいもち病菌の生存能力が低いことに注目し、ポット試験により人工接種した罹病苗を 10 日以上水没処理することで、病斑上のいもち病菌を死滅させることが可能であることを明らかにした。その後、圃場試験により本田でも罹病苗上のいもち病菌が死滅することを検証した。すなわち、移植直後から苗の保温を兼ねて 10 日程度の深水管理を行うことにより、接種株はもとより周辺株にいもち病が発生しなかったことから、新たな耕種的防除法を提案している（鈴木ら、2010）。

野外に存在する伝染源の管理 本田における初発生を抑えるためには、野外に存在する伝染源の管理が重要である。そこで、2000 年から 2006 年まで早春に庄内地方の水田周辺で第一次伝染源を徹底的に探索した。その結果、いくつかのいもち病菌が採集されたが、イネに病原性を持つ唯一のものとして、ビニール袋に密封された状態で、秋に畦畔などに放置されて越冬している籾殻が極めて重要な伝染源であることを確認した。このような籾殻は乾燥状態で保持されるためいもち病菌が生残している。この放置籾殻から分離したいもち病菌の遺伝子型が、周辺の水田に初発生した葉いもちの菌と一致することも確認された（生井・堤、2008）。

イネいもち病の防除法は時代とともに大きく変化している。最近では、長期にわたり防除効果がある抵抗性誘導剤などの登場で、化学薬剤の使用量は減少している。しかし、消費者から評価されている有機農業や特別栽培においては前述の技術が使用できる。まず、保菌種子の撲滅には温湯浸漬種子消毒法が、育苗中の苗いもちの抑制についてはシリカゲルの添加により可能である。また、本田に持ち込んでしまった苗いもちに対しては、田植直後からの深水処理により対応できる。本田での発生防止については、これまで見逃されていた第一次伝染源として放置籾殻が極めて重要であることから、農家への圃場衛生に関する指導を徹底する必要がある。

近年の遺伝子解析技術の進歩はめざましく、いもち病菌の固体識別も可能になっている。そこで、その技術を用い穂に発生するいもち病菌の動態を検討した。その結果、激発水田でも穂いもちが同一株の下位葉から伝染するとは限らないこと（生井ら、2006）、同一穂にも多様な遺伝子型の菌が混在することなどを明らかにした（生井・大友、2008）。このように、穂いもちの伝染経路は予想以上に複雑であることから、現時点では穂いもちに関して効果的な防除技術を提案できていない。

謝辞：本研究を進めるに当たり，以下の多くの方々のご指導とご協力を賜った。ここに記して感謝の意を表す。東北大学の故三沢正生先生，山中 達先生にはイネいもち病の研究を開始する契機を与えていただいた。東北大学の故江原淑夫先生，山形大学の故高橋喜夫先生，故後藤岩三郎先生，富樫二郎先生には研究の進め方について懇切なご指導ご助言を頂いた。山形県水田農業試験場の早坂 剛博士をはじめ，山形大学農学部赤瀬 章前教授，安藤 豊教授，藤井弘志教授には共同研究に参加させて頂いた。また，本研究は，山形大学農学部植物病理学研究室の卒業論文，修士論文研究の一環として行われたものであり，担当した卒業生，修了生諸氏に深く感謝したい。最後に，本研究に資金提供していただいた株式会社タイガーカワシマ，いもち病罹病イネを快く譲渡していただいた庄内地方の多くの水田耕作者の諸氏に感謝する。

引用文献

- 早坂 剛・石黒清秀・渋谷圭治・生井恒雄 (2001). イネ種子伝染性病害を対象とした温湯種子消毒. 日植病報 67: 26-32.
- 早坂 剛・松浦孝幸・生井恒雄 (2002). 種子玄米における侵入いもち病菌の動態と防除. 日植病報 68: 297-304.
- Hayasaka, T., Fujii, H. and Namai, T. (2005). Silicon content in rice seedlings to protect rice blast fungus at the nursery stage. J. Gen. Plant Pathol. 71: 169-173.
- 生井恒雄・福島朗山・石橋優子・大場淳司・富樫二郎 (1997a). イネ品種はえぬきおよびどまんなかの穂を通過した非親和性いもち病菌レースの病原性変異. 日植病報 63: 37-43.
- 生井恒雄・大場淳司・吉田ひかる・樋口綾子・富樫二郎 (1997b). 山形庄内地方における新品種はえぬき，どまんなかの導入に伴ういもち病菌レース構成の変動. 日植病報 63: 491. (講要)
- 生井恒雄・大場淳司・菅原秀治・富樫二郎 (1999). 抵抗性イネ品種の穂から再分離したいもち病菌の病原性変異に及ぼす通過イネの真性抵抗性遺伝子の影響. 日植病報 65: 67-75.
- 生井恒雄・細川真希・富樫二郎 (2000). 齢の異なる穂における非病原性いもち病菌の発病と孢子形成. 日植病報 66: 109. (講要)
- 生井恒雄・岩館康哉 (2002). ジュズダマを通過したイネいもち病菌野外株の変異. 日植病報 68: 195. (講要)
- 生井恒雄・上林千裕・芦澤武人 (2006). いもち病罹病イネ株におけるいもち病菌の *Pot2* 遺伝子型およびレースの垂直分布. 日植病報 72: 101-108.
- 生井恒雄・大友宏輔 (2008). 1 穂内のいもち病罹病全イネ籾から分離された *Pyricularia grisea* の *Pot2* 遺伝子型. 日植病報 74: 340-342.
- 生井恒雄・堤佳奈子 (2008). 野外におけるイネいもち病の第一次伝染源に関する研究. 1. ビニール袋に被覆され積雪下で越冬した籾殻におけるイネいもち病菌の生存と第一次伝染源としての役割. 山形大学紀要 (農学) 15: 155-164.
- 鈴木宏幸・生井恒雄・長谷 修 (2010). 深水管理による苗いもちからの葉いもち病防除. 日植病報 76: 45. (講要)