ササニシキ同質遺伝子系統の非病原性イネいもち病菌接種による穂いもち発病 と同菌株の前接種による穂いもち発病抑制

芦澤 武人^{1*}・善林 薫¹・小泉 信三¹

ABSTRACT

ASHIZAWA, T.^{1*}, ZENBAYASHI, K.¹ and KOIZUMI, S.¹ (2002). Severity of panicle blast on Sasanishiki near-isogenic lines after inoculation with avirulent isolates of rice blast fungus and disease suppression by pre-inoculation. Jpn. J. Phytopathol. 68: 305-308.

To evaluate the efficacy of multilines in rice blast control, panicle blast severity was evaluated for Sasanishiki near-isogenic lines after inoculation with a virulent isolate with or without pre-inoculation with an avirulent blast isolate. Disease severity generally differed among lines, high for Sasanishiki BL No. 6, moderate for No. 3 and low for No. 4. The disease on Sasanishiki BL No. 4 was suppressed when panicles were pre-inoculated with a high concentration of an avirulent spore suspension (2.5×10^6 spores/ml). However, this suppression was not observed on Sasanishiki BL No. 3 or No. 6.

(Received December 17, 2001; Accepted June 4, 2002)

Key words: Sasanishiki near-isogenic lines, rice blast fungus, induced resistance, circular dense planting, panicle blast, multiline.

いもち病は、東北地方のみならずわが国で最も被害の大きいイネの病害である。近年、真性抵抗性遺伝子型を異にする同質遺伝子系統の混植が、農薬依存度を低減した本病防除法の1つとして注目されている。宮城県では、品種ササニシキから9種類の同質遺伝子系統（ササニシキ BL 1号～9号）が育成され、4系統が品種登録された。これらのうちササニシキ BL1号、2号、3号は、それぞれ4:3:3の比率で種子混合され、多系品種として1996年に日本で初めて普及に移された⁷⁾。同品種はその後1997年にササニシキ BL1号、2号、3号が3:3:4、1998～2001年にササニシキ BL1号、2号、3号、4号が1:1:4:4とその混植比率を変更しながら作付けされているが、これらが激しく罹病化した例はまだない^{11,14)}。

多系品種によるいもち病発病抑制機構には、分布レースに対する罹病性系統が量的に少ない上、残りの抵抗性系統が非病原性菌の感染により抵抗性が誘導されることが考えられている⁴⁾。葉身の誘導抵抗性に関しては多くの報告があり、葉いもちの発病抑制要因となる可能性が指摘されている^{2,4,5,10)}。しかし、穂における誘導抵抗性の知見は限ら

れている^{5,6)}。

多系品種によりいもち病を効果的に防除するには、葉いもちだけでなく穂いもちについても十分な知見を得る必要がある。そこで、本研究では穂に非病原性いもち病菌株を接種した場合の同質遺伝子系統の発病程度と本系統の穂における誘導抵抗性を検討した。

供試植物と栽培 本試験ではササニシキ（いもち病真性抵抗性遺伝子型 *Pia*、以下遺伝子名のみで記載）とその同質遺伝子系統9種「ササニシキ BL1号」（*Pia Pik*）、「ササニシキ BL2号」（*Pia Pik-m*）、「ササニシキ BL3号」（*Pia Piz*）、「ササニシキ BL4号」（*Pia* の有無不明、*Piz-t*）、「ササニシキ BL5号」（*Pia* の有無不明、*Pita-2*）、「ササニシキ BL6号」（*Pia Pita*）、「ササニシキ BL7号」（*Pib*）、「ササニシキ BL8号」（*Pia Pii*）および「東北 IL1号」（*Pik-s*）を用いた⁷⁻⁹⁾。これらは宮城県古川農試より分譲を受けたものである。育苗土（加昭工業、太田培土）は1/5000 a のワグネルポットに詰め、化成肥料（多木化学製、N-P-K : 13-13-13）を1ポット当たり元肥として6g施用した。これに鳩胸状態のイネ種子を円形20粒法¹²⁾で

¹ 農業技術研究機構東北農業研究センター（〒014-0102 秋田県大曲市四ツ屋字下古道3） National Agricultural Research Organization, National Agricultural Research Center for Tohoku Region, Omagari, Akita 014-0102, Japan

* Corresponding author (E-mail: toketa@affrc.go.jp)

播種し、無加温のガラス室内で3.5葉期まで畑状態で育苗した。その後はこれらを簡易プール内に移し湛水状態で管理した。また、育苗中に生じた分けつ茎はすべて切除し、主茎のみを生育させ出穂期を揃えた。接種・調査には、接種日を含めて3日以内に穂首が抽出したすべての穂（1ポット当たり12～18穂）を供試した。なお、多肥条件を維持するため出穂前に、追肥として硫酸アンモニウムの水溶液を、窒素成分でポット当たり0.2gの割合で、2回に分けて施用した。さらに、穂いもちの発病を促すため、接種箱から温室へ搬入した日にポット当たり0.2gの硫酸アンモニウムをそれぞれ追肥した。

供試イネいもち病菌 独立行政法人農業技術研究機構東北農業研究センター保存のイネいもち病菌 (*Pyricularia grisea* Sacc.) Kyu89-246 (レース003.0), 稲85-182 (同003.0), GFOS8-1-1 (同303.0) および愛74-134 (同477.1) を用いた。供試菌株はオートミール培地上で25°C, 14日間培養した後、培地表面を歯ブラシでブラッシングし、25°Cで3日間蛍光灯下に置き、胞子を形成させ、接種に用いた。

非病原性菌株接種によるササニシキ同質遺伝子系統の穂いもち発病 ササニシキBL1号～8号の各穂の非病原性菌株による発病を明らかにするために次の試験を行った。ササニシキBL1号～8号の穂（各3ポット）に非病原性菌株Kyu89-246および稲85-182をそれぞれ 1×10^5 個/mlに調整した胞子懸濁液を1穂当たり2ml, ガラス製噴霧器で接種し、これらを相対湿度100%で25°Cの接種箱内に20時間静置した。その後、これらを昼間25°C, 夜間20°C（平均22.0°C）の温室に搬入した。発病調査は接種から20日後に行い、浅賀の穂いもち調査基準¹⁾を21段階に細分化して、1穂ごとに被害率を算出した。なお、比較として供試菌株に親和性のササニシキおよび東北IL1号を用い、同様に接種した。

本試験結果をFig. 1に示した。非病原性菌を接種したすべての系統が発病し、被害率はササニシキBL6号が2菌株とも60%前後と最も高く、ササニシキBL3号、5号および8号が10%前後で、ササニシキBL1号、2号、4号および7号は5%以下と最も低かった。また、親和性組合せのササニシキと東北IL1号の被害率はいずれも95%以上ときわめて高かった。このような結果は、穂では葉より真性抵抗性が明瞭に発現しにくく、罹病性に偏った反応を示すという報告と符合しているとともに¹³⁾、被害率の系統間差があることを示している。これらのことから、ササニシキ同質遺伝子系統の穂は葉身と異なり、非病原性菌株の接種によっても発病するのが一般的であること

が明らかとなった。なお、宮城県農家の圃場で実際に栽培されているササニシキBLでも非病原性菌によってササニシキBLを構成する4系統すべてが発病することが確認されている³⁾。さらに、当センター内でレース007.0が優勢に分布した多発条件下での圃場試験でも、各系統はFig. 1に示したような穂いもちの発病傾向がみられた（未発表）。このことは、実際の圃場でも非病原性菌による穂の発病程度に系統間差があることを示唆している。

前接種した非病原性菌株の接種濃度の違いが後接種した病原性菌株による発病に及ぼす影響 前接種菌株の胞子濃度の違いが後接種菌株の発病抑制に及ぼす影響を明らかにする目的で行った。すなわち、上述の方法で出穂期を揃えたササニシキBL4号の穂（各8ポット）に非病原性菌株Kyu89-246を 1×10^5 , 5×10^5 および 2.5×10^6 個/mlの濃度に調整した胞子懸濁液を前項と同一の方法で噴霧接種（前接種）した。その72時間後に病原性菌株愛74-134を 1×10^6 個/mlの胞子濃度で噴霧接種（後接種）し、後接種19日後に被害率を調査した。なお、非病原性および病原性菌株のみを接種したササニシキBL4号の穂（各7ポット）についても同様な調査を行い比較した。温室内での管理は前項の方法に準じた。

本試験結果をFig. 2に示した。非病原性菌株のみを 1×10^5 個/ml および 5×10^5 個/ml の濃度で接種した穂では被

Fig. 1. Panicle blast severity of Sasanishiki near-isogenic lines after simultaneous inoculation with one of two blast isolates (Kyu89-246 and Ina85-182, race 003.0). IL1, Tohoku IL No. 1; BL8, Sasanishiki BL No. 8; BL1, Sasanishiki BL No. 1; BL2, Sasanishiki BL No. 2; BL3, Sasanishiki BL No. 3; BL6, Sasanishiki BL No. 6; BL5, Sasanishiki BL No. 5; BL4, Sasanishiki BL No. 4 and BL7, Sasanishiki BL No. 7. Tohoku IL No. 1 and Sasanishiki are susceptible to race 003.0. The other eight lines are incompatible combinations with race 003.0. Bars on columns represent standard deviations.

Fig. 2. Effect of pre-inoculum spore concentration of avirulent blast isolate Kyu89-246 on panicle blast severity caused by virulent isolate Ai74-134 (race 477.1) on Sasanishiki BL No. 4. IC, inoculated with the avirulent isolate; PreIC, pre-inoculated with the avirulent isolate; C, inoculated with virulent isolate after pre-inoculation. Bars on columns represent standard deviations.

害率が低かった。しかし、同菌を 2.5×10^6 個/ml の高濃度で接種した穂では被害率がわずかに高くなった。一方、非病原性菌株を前接種し病原性菌株を後接種した穂では、前接種した菌株の孢子濃度が 1×10^5 個/ml と低い場合には非病原性菌株の効果が認められなかったが、接種濃度が 5×10^5 個/ml、 2.5×10^6 個/ml と高くなるにつれ、病原性菌株のみを接種した穂より統計的に有意に被害率が低くなった。これは、非病原性菌株の高濃度前接種が病原性菌株による発病を抑制することを示している。この抑制機構は、現在不明であるが、葉身では非病原性菌株の接種孢子濃度が高いほど病原性菌株による発病を抑制することから、穂でも同様のことが抵抗性発現に関与しているのではないかと考えられる^{5,13)}。

非病原性菌株を高濃度で前接種し病原性菌株を後接種した場合の穂もち発病 非病原性菌株の高濃度前接種の影響が、同質遺伝子系統間で異なるかどうかを明らかにするため本試験を行った。出穂期を揃えたササニシキ BL3 号、4 号および 6 号の穂（各 3 ポット）にそれぞれ非病原性菌株の Kyu89-246 を 2.5×10^6 個/ml の孢子濃度で噴霧接種した。前接種から 72 時間後にササニシキ BL3 号および 4 号には病原性菌株愛 74-134 を、ササニシキ BL6 号には同 GFOS8-1-1 をそれぞれ 1×10^6 個/ml の孢子濃度で噴霧接種して、後接種から 21 日後に発病程度を調査した。なお、各系統に病原性菌株のみを接種した穂を比較のために用いた。温室内での管理は上述の方法に準じた。

本試験結果を Fig. 3 および Fig. 4 に示した。非病原性

Fig. 3. Severity of panicle blast on three Sasanishiki near-isogenic lines inoculated with a high spore concentration (2.5×10^6 spores/ml) of avirulent isolate Kyu89-246. Sasanishiki near-isogenic lines are shown in Fig. 1. Bars on columns represent standard deviations.

Fig. 4. Effect of pre-inoculation with a high spore concentration (2.5×10^6 spores/ml) of avirulent isolate Kyu89-246 on panicle blast severity caused by virulent isolates on three Sasanishiki near-isogenic lines. Sasanishiki near-isogenic lines are shown in Fig. 1. C, inoculated with virulent isolate Ai74-134 to Sasanishiki BL No. 3 and No. 4, and an isolate GFOS8-1-1 (race 303.0) to Sasanishiki BL No. 6; PreIC, pre-inoculated with avirulent isolate. Bars on columns represent standard deviations. Value with an asterisk is significantly different from that of the control using *t*-test at 5% level.

菌株のみを接種した穂の被害率は、ササニシキ BL6 号、3 号、4 号の順に高く、特にササニシキ BL6 号では非病原性菌株の接種であるにもかかわらず穂全体が枯死す

るものもあった。一方、病原性菌株のみを接種した穂と、非病原性菌株を高濃度で前接種し病原性菌株を後接種した穂の被害率を比較したところ、ササニシキ BL3 号および 6 号では、非病原性菌株を前接種した穂は病原性菌株のみの接種と同程度の被害率で、非病原性菌株前接種による発病抑制効果がほとんど認められなかったが、ササニシキ BL4 号では非病原性菌株前接種により有意に被害率が低くなった。このことから、ササニシキ同質遺伝子系統のなかには非病原性菌株による発病抑制効果が認められる系統と認められない系統があることが明らかとなった。発病抑制は、穂での真性抵抗性の発現が明確な系統のみ認められるものと考えられる。なお、ササニシキ BL1 号、2 号および 7 号においても、ササニシキ BL4 号と同様の発病抑制効果が認められる可能性があり、今後検討する価値はあると思われる。

以上、ササニシキ同質遺伝子系統の穂では、非病原性菌接種によりすべての系統が発病し、その発病程度に系統間差があることと、非病原性菌株による発病抑制は、接種濃度が高く、かつ、特定の系統のみに認められることが明らかとなった。よって、多系品種の実際の栽培圃場で誘導抵抗性が働く条件は、非病原性菌によっていもち病が多発しており、かつ、非病原性菌の感染による発病程度が低い系統が混植されている場合に限られると推察される。圃場での非病原性菌による穂いもち発病抑制は、単植した品種ハマアサヒ (*Pia Pib Pii Pik*) で発病初期に効果があり、後期では劣ったとされる報告のみであることから⁵⁾、実際の混植圃場での発病抑制の有無については今後検討する必要がある。

引用文献

1. 浅賀宏一 (1981). イネ品種のいもち病に対する圃場抵抗性の検定方法に関する研究. 農事試験報 35: 51-138.
2. 芦澤武人・善林 薫・小泉信三 (1998). ササニシキ同質遺伝子系統の葉身における非親和性菌による誘導抵抗性の系統間差. 日植病報 64: 364 (講要).
3. 芦澤武人・善林 薫・小泉信三 (2001). 1996~2000年に宮城県のササニシキ多系品種栽培圃場から分離されたイネいもち病菌のレースとそれらの由来. 北日本病虫研報 52: 14-16.
4. 藤田佳克・園田亮一・八重樫博志 (1990). 病斑型を異にする非親和性いもち病菌の前接種による葉いもち発病抑制. 日植病報 56: 273-275.
5. 岩野正敬 (1987). 非親和性いもち病菌の接種によるいもち病の発病抑制. 東北農試研報 75: 27-39.
6. Manandhar, H.K., Jørgensen, H.J.L., Mathur, S.B. and Smedegaard-Petersen, V. (1998). Suppression of rice blast by preinoculation with avirulent *Pyricularia oryzae* and the nonrice pathogen *Bipolaris sorokiniana*. Phytopathology 88: 735-739.
7. 宮城県古川試験場 (1994). ササニシキのいもち病真性抵抗性同質遺伝子系統水稻新品種決定に関する参考成績書. pp. 1-90, 宮城県古川試験場.
8. 宮城県古川試験場 (1997). ササニシキのいもち病真性抵抗性同質遺伝子系統水稻新品種決定に関する参考成績書. pp. 1-38, 宮城県古川試験場.
9. 宮城県古川試験場 (1998). ササニシキのいもち病真性抵抗性同質遺伝子系統水稻新品種決定に関する参考成績書. pp. 1-33, 宮城県古川試験場.
10. Nakajima, T., Sonoda, R., Yaegashi, H. and Saito, H. (1996). Factors related to suppression of leaf blast disease with a multiline of rice cultivar Sasanishiki and its isogenic lines. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 62: 360-364.
11. 大場淳司・辻 英明・笹原剛志 (1999). 1998年に宮城県のササニシキ BL 栽培圃場から分離された同品種を侵害するイネいもち病菌レース. 北日本病虫研報 50: 12-15.
12. 佐竹徹夫 (1972). イネボット栽培の改良法—生育時期の揃った穂を得るために—. 日作紀 41: 361-362.
13. 進藤敬助・浅賀宏一 (1989). イネ品種の穂いもち抵抗性検定に関する研究. 東北農試研報 80: 1-51.
14. 辻 英明・笹原剛志・菅野博英・大場淳司・神名川真三郎 (1999). ササニシキ BL 栽培圃場におけるいもち病菌レースの年次変動. 北日本病虫研報 50: 16-20.