

オオムギの耐雪性機構,
特に褐色雪腐病に対する抵抗性機構の解明

**Mechanisms of snow tolerance and resistance to
Pythium snow rot in winter barley**

2009. 3

渡邊好昭

オオムギの耐雪性機構，特に褐色雪腐病に対する抵抗性機構の解明

第1章 緒論	p. 1
1. 研究の目的	p. 1
2. 既往の成果	p. 3
第2章 雪腐病抵抗性の測定法の検討	p. 8
第3章 オオムギのエイジの増加に伴う耐雪性の変化	p. 17
1. 播種期と雪害の関係	p. 17
2. 雪腐病3菌に対する抵抗性の葉齢による変化	p. 20
3. 褐色雪腐病の侵入抵抗性，拡大抵抗性の葉齢，葉位による変化	p. 24
第4章 低温順化处理による褐色雪腐病拡大抵抗性の変化	p. 35
第5章 植物ホルモン処理による褐色雪腐病拡大抵抗性の変化	p. 47
第6章 低温順化处理による褐色雪腐病拡大抵抗性と体内成分の変化	p. 58
1. 1週間の低温順化处理による褐色雪腐病拡大抵抗性と体内成分の変化	p. 58
2. 5週間の低温順化处理による体内成分の変化	p. 63
第7章 葉位及び葉の位置による褐色雪腐病拡大抵抗性と体内成分の変化	p. 73
第8章 褐色雪腐病抵抗性における糖の役割	p. 81
第9章 総合考察	p. 89
摘要	p. 94
引用文献	p. 98
Summary	p. 107
謝辞	p. 111

第1章 緒論

1. 研究の目的

北海道および本州の積雪地帯において、麦類の生産を制限する要因の一つは雪害である（天野 1987, 渡邊 2000）。作物統計によれば、年次間で大きな差があるが1995年から2004年の被害面積はコムギで平均21,600ha, 最大53,700haにおよび、六条オオムギでは平均200ha, 最大1600haに及んでおり、1984年の豪雪年には六条オオムギで13,100haと極めて大きな被害を及ぼしている。雪害の原因は多岐にわたる可能性が報告されているが（天野 1987, 桑原 2000, 渡邊ら 1987）、主要な原因として雪腐病と長期の低温、湿潤、暗黒条件による消耗の2つが考えられる。

雪腐病が雪害の主要な原因である根拠について、富山（1965）はムギ類の雪腐病はすべて方法さえ適切であれば薬剤の有効な使用によってほとんど完全に雪害を防ぐことができるという事実をあげている。日本で見られる主要な雪腐病菌の種類として以下の6種類が報告されている（川上 2000）。①褐色雪腐病（*Pythium paddicum*, *P. iwayamai*, *P. okanoganense*, *P. graminicola*, *P. vanterpoolii*, *P. volutum*, *P. horinouchie*）、②紅色雪腐病（*Microdochium nivale*）、③雪腐褐色小粒菌核病（*Typhula incarnata*）、④雪腐黒色小粒菌核病（*T. ishikariensis*）、⑤雪腐大粒菌核病（*Sclerotinia borealis*）、⑥スッポヌケ病。この中で本州の積雪地帯では、おもに褐色雪腐病、雪腐褐色小粒菌核病、紅色雪腐病が発生し（竹中 1994, 中島 1998）、麦類のおよそ6割が栽培されている水田では、褐色雪腐病による被害が著しいことが報告されている（高松 1989）。特に、水田から畑への転換当初は褐色雪腐病の中の *P. paddicum* の発生が主体であり、転換年数の増加に伴って畑地化が進むと *P. iwayamai* や雪腐褐色小粒菌核病の被害が増加する（竹中 1994）。現在の麦類の作付体系では、田畑輪換によるイネとの体系が一般的であることから、*P. paddicum* が極めて重要な雪腐病であり、褐色雪腐病に対する抵抗性機構の解明が重要と考えられる。

長期の低温、湿潤、暗黒条件による消耗も雪害の原因と考えられるが、日本の気象条件において、消耗だけでムギが枯死するか否かという点は明らかにされていない。根雪期間が長くなると薬剤による防除の効果が低下することからその可能性は否定できないが、圃場においては雪腐病菌を完全に排除する条件を作り出すことができないため、雪腐病菌の関与無しに低温、湿潤、暗黒条件に長期間おかれただけでムギが枯死するか否かを明らかにすることはできない。一方、雪腐病と消耗の関係について、雪腐病の侵入蔓延は低温、湿潤、暗黒条件による植物体の衰弱により起こるとさ

れているが（岡部 1975, 国井・土屋 1988), 雪腐病の侵入蔓延に植物体の衰弱が必要条件であるという証拠は示されていない。しかし, 積雪下におかれることでコムギの雪腐病抵抗性が低くなることから（中島 1998), 低温, 湿潤, 暗黒による消耗は雪害の重要な要因となっている。

その他の要因として, 積雪下および融雪時の湛水による湿害が考えられる（岡部 1975)。融雪水は温度が低いので湿害は起こりにくいものと考えられるが, 積雪下では 30 日の湛水で生存株率が低下し, 雪腐病によらない雪害が発生しうることが明らかにされており（吉野 1989), 積雪下の湿害は雪害の一つの原因と考えられる。また, 積雪下での酸素不足による窒息も報告されている（Andrews 1996)。積雪が一時的な気温の上昇で溶けた後, 再び凍って氷になると空気の透過性が減少し, その下の植物が酸素不足になるが, このような現象はカナダなどのごく低温の地域に限られており, 日本では問題にならない。

さらに, 植物体の枯死を引き起こすわけではないが, 収量の低下を招く雪害も考えられる。消雪が遅れた場合には出穂期が遅れ, 登熟期間が高温になり, 高温による強制登熟が収量の低下を招くことが考えられる。

雪害には上記のような様々な要因が関与しているが, 富山（1965) が指摘している通り, 雪腐病が最も大きな被害を引き起こす直接の原因と判断されることから, 本研究においては主要な原因として雪腐病について研究を行った。すでに, 雪害, 雪腐病に関しては多くの論文が発表されているが, その中でも雪腐病抵抗性の機構解明の重要性が強調されている（富山 1955)。しかし, 雪腐病抵抗性の機構について中島（1998) は, 抵抗性に関与していると予想される要因との相関関係を実験材料の範囲で論議しているに過ぎず, 注目している物質が原因なのか, 結果なのか明らかにされていないと述べている。原因なのか結果なのかを明らかにする研究が重要である。

そこで本研究では, 褐色雪腐病に対するオオムギの抵抗性機構を解明することを目的に, まず, 雪腐病抵抗性の測定法の検討を行った。病気に対する抵抗性には侵入抵抗性と拡大抵抗性が考えられることから, それを分けて検討できるように, 褐色雪腐病拡大抵抗性測定法を開発した（第 2 章)。その上で, 抵抗性に影響を及ぼす要因について検討した。1 番目にエイジの影響について検討した。まず, 圃場条件において播種期の雪害に及ぼす影響を確認し, つぎに, 主要な雪腐病である褐色雪腐病 2 種と雪腐褐色小粒菌核病それぞれについて, 葉齢が抵抗性に及ぼす影響を明らかにした。さらに, 葉齢, 葉位の耐雪性に及ぼす影響を長期の低温, 湿潤, 暗黒条件に対する抵抗性と褐色雪腐病抵抗性に分け, 褐色雪腐病抵抗性を侵

入抵抗性と拡大抵抗性に分けて検討した（第3章）。2番目に低温順化の褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす影響について、特に低温順化期間と光の条件について検討した（第4章）。3番目に植物ホルモンの影響について検討した（第5章）。続いて、抵抗性機構を解明するために、褐色雪腐病拡大抵抗性と体内成分の変化との関係を検討した。抵抗性に影響を及ぼす要因のうち、最も大きく影響した低温順化処理について、抵抗性との関係が報告されている酵素、及び体内成分と抵抗性の関係を検討した（第6章）。また、植物体のエイジに関連して葉位、葉の位置と体内成分の関係についても検討した（第7章）、さらに、低温順化処理及び葉位、葉の位置において抵抗性と関係すると考えられた糖の褐色雪腐病拡大抵抗性における役割について検討した（第8章）。最後にこれらの研究をまとめ、抵抗性に関与する酵素、及び糖、全フェノール、リグニン等について、褐色雪腐病拡大抵抗性における役割について考察した（第9章）。

なお、本論文においては雪による被害に対する抵抗性を耐雪性、低温による被害に対する抵抗性を耐凍性、その両者を併せて耐冬性と定義した。さらに、耐雪性は雪腐病抵抗性と長期の低温、湿潤、暗黒条件に対する抵抗性に分けて考えられるものとし、雪腐病抵抗性は侵入抵抗性と拡大抵抗性に分けて考えられるものとした。

2. 既往の成果

雪腐病抵抗性の測定方法

雪腐病の抵抗性検定法について、中島（1998）はこれまでの多くの報告を整理し、1)培養した接種源を圃場に散布し発病を促進する方法、2)箱育苗した植物に雪腐病を接種し、積雪下に埋設して、一定期間後に掘り出し、発病度、再生率を判定する方法、3)積雪下の模擬環境を作った人工気象器内で接種する方法、4)病原菌の培養ろ液や酵素を処理する方法の4つに大別し、3)の人工気象器を用いる方法は期間が長くかかるが、多くの研究者がこの方法を利用しているとしている。また、天野（1987）は雪腐病抵抗性検定法について詳細に検討し、Bruehl（1982）の提唱した人工気象器を用いる方法が有効であること、ただし、雪腐病の種類によっては圃場での結果と人工気象器での結果とが著しく違う場合があり、雪腐病黒色小粒菌核病では圃場での検定が必要であることを報告している。さらに、竹中（1994）は人工気象器を用いる方法について検討し、自然条件で低温順化を行った後人工気象器内で接種することで圃場におけるデータと矛盾のない結果が得られることを報告している。これらの方法は、植物体に菌を接種し疑似積雪下条件において接種、一定期間後に生存する株、茎数を数

えて雪腐病抵抗性を測定する方法であり，再生という現象が関わってくる。育種研究者である天野（1987）は，抵抗性は再生によって判断されるべきであり，再生力は極めて重要であると主張している。これは，抵抗性品種には再生力が重要な能力であるとの主張であり，耐冬性品種を育成するための選抜法としては納得できる主張である。しかし，抵抗性機構を検討するためには，抵抗性をできるだけ単純な要因にする必要があり，そのため雪腐病抵抗性と再生力は分ける必要がある。これまでの雪腐病抵抗性の測定方法は，抵抗力と再生力を分けて測定できないことに問題がある。

病原体に対する植物の抵抗性は，侵入抵抗性と拡大抵抗性に分けることができる（白石ら 2001）。それぞれの抵抗性で異なる抵抗性機構が機能している可能性があるため，抵抗性機構解明のためにはこの2つの抵抗性を分けて測定することが必要である。雪腐病においては，侵入抵抗性の測定は菌の侵入部位の顕微鏡観察により可能である（中島 1998, Takenaka and Yoshino 1987）。拡大抵抗性を測定する方法については，一定の場所に接種をして病斑長を測定する方法により可能であり，すでにいくつかの報告がある。富山（1955）はコムギの雪腐褐色小粒菌核病に対する抵抗性の窒素施肥条件による違いを，葉身に接種を行いその病斑長を測定することで検出した。中島（1998）は病斑長の測定によりコムギの紅色雪腐病抵抗性の品種間差は検出できなかったが，60日間の疑似積雪下条件で抵抗性が低くなることを検出できたと報告している。一方，木村・平井（1952）は切断したコムギ葉片を用いて雪腐褐色小粒菌核病，紅色雪腐病抵抗性の品種間差を検出できたが，褐色雪腐病の抵抗性については検出できなかったと報告している。いずれの論文においても接種条件などについて詳細な検討は行われておらず，雪腐病に対する拡大抵抗性測定法の確立が必要である。

雪腐病抵抗性に影響を及ぼす要因

雪腐病抵抗性には品種間差が見られる。オオムギはコムギに比較して耐雪性が低く，わが国における雪腐病抵抗性育種はコムギが主体であるため（入来 2000），多数のオオムギ品種・系統について雪腐病抵抗性を評価し，体系的に整理したものは見られない。大崎（1959）は会津における比較試験結果から雪害抵抗性品種・系統を選抜している。また，湯川（1992）は雪腐褐色小粒菌核病と褐色雪腐病が混発する圃場においてオオムギ品種，系統のスクリーニングを行い，雪腐病抵抗性品種，系統を選抜した。これらのデータから会津で育成された系統，およびその交配親として使われた岩手メンシュアリー，細麦3号などが高い耐雪性を示すことが明らかにさ

れた。一方、東北、北陸では耐冬性の向上を目標に品種改良が行われ、多くの品種が育成されている（河田 2000）。それらの品種の中で、後藤ら（1977）はミユキオオムギの耐雪性はミノリムギよりも高く、べんけいむぎと同等か高いとしている。また、アサナムギの耐雪性はミノリムギよりもやや低く（酒井ら 1980）、ファイバースノウはミノリムギよりも高い（牛山ら 2004）。これらのデータから雪腐病抵抗性の高い品種としてミユキオオムギ、べんけいむぎ、ファイバースノウが上げられる。

栽培要因も耐雪性に密接に関係する。栽培要因のうち播種期の影響が大きいことは、麦類についてすでに数多くの報告があり、総説や文献解題などの形でまとめられている（Bruehl 1982, 渡邊 1984, 湯川 2000, Nakajima and Watanabe 2001）。オオムギにおいても播種期が早い場合に耐雪性が高くなり、播種期が遅い場合には耐雪性が低くなり、さらに播種期がごく遅く、出芽直後に積雪下におかれる場合には耐雪性が高くなることが報告されている（湯川・渡邊 1997, 渡邊ら 1988）。葉齢の進んだ個体が耐雪性を示す理由について、植物体に含まれる貯蔵養分、特にフルクタンなどの炭水化物が関与することがコムギにおいて報告されている（Gaudetら 2001）。また、出芽直後に積雪下におかれた個体が高い越冬率を示す理由について、種子に含まれる貯蔵養分が関与することが示唆されている（吉田ら 1994, 湯川・渡邊 1997）。しかし、その耐雪性機構については十分に解明されているとは言えない。一方、個体の中の各葉位の耐雪性についてみると、高松（1989）は葉齢の進んだオオムギの下位葉は、上位葉よりも枯死割合が高いことを報告している。また、展開したばかりの最上位葉が生き残り、下位葉が枯死していることが消雪後の圃場で観察される。個体の場合には葉齢の進んでいない若い個体の耐雪性が低いのに対し、個々の葉の場合には上位葉の若い器官の耐雪性が高くなり、耐雪性のエイジに伴う変化は個体と葉とでは一致しないが、この理由については解明されていない。

さらに、耐雪性に関係する要因として、冬作物は秋から初冬にかけて低温にさらされることにより耐冬性が高くなる（Levitt 1980, Gustaら 1982, 酒井 1982）。雪腐病抵抗性も低温順化により高くなることが知られている（Arsvoll 1974, Nakajima and Watanabe 2001）。Gaudet and Chen（1987）は、雪腐病 *Cottony snow mold* に対するコムギの抵抗性に及ぼす低温処理期間の影響について報告している。また、Nakajima and Abe（1996）はコムギの紅色雪腐病抵抗性に及ぼす低温順化の温度、期間、光の強さの影響について報告している。しかし、これまでの研究では、抵抗性を侵入抵抗性、拡大抵抗性に分けて検討していない。また、抵抗性の測

定には再生の要因が含まれているために、純粋な雪腐病抵抗性に影響を及ぼす低温順化の条件を検討した報告はない。

植物ホルモンはストレス耐性に関係することが知られており、特にアブシジン酸（以下 ABA）は耐凍性などの冬季に起きるストレスに対する抵抗性でも重要な役割を演じていると考えられている（Levitt 1980, Gusta ら 2005）。また、ジベレリン（以下 GA）も低温に対する抵抗性に関与する可能性が示唆されている（Irving and Lanphear 1968）。耐凍性と同様に雪腐病抵抗性は低温順化により高くなることが知られており（Nakajima and Watanabe 2001）、耐凍性と雪腐病抵抗性には共通点があることから、植物ホルモンが雪腐病抵抗性に関与している可能性が考えられる。さらに植物の耐病性には、サリチル酸（以下 SA）、ジャスモン酸（以下 JA）、エチレンが影響していることが指摘されており（白石ら 2001, 太田 2002, 神谷 2002, 森 2002）、雪腐病抵抗性にも関与していることが考えられる。しかし、これまでに雪腐病抵抗性に及ぼす植物ホルモンの影響については検討されていない。

雪腐病抵抗性機構

松尾ら（1944）は、コムギが長期間積雪に覆われると、まず澱粉、糖の分解が起こり、それに引き続いてタンパク質が分解してアンモニアが蓄積し、その害作用により雪腐病抵抗性が低くなるという考え方を示した。しかし、富山（1955）は実際にはアンモニア態窒素の蓄積は見られず、病斑長の伸展と澱粉、糖の分解には関係がないことを指摘し、澱粉、糖の分解とは独立して起こるタンパク質の分解が抵抗性と関係があると述べている。また、平井ら（1952）も積雪条件下のコムギにおいて顕著なアンモニア態窒素の増加が認められないことから、アンモニアの害作用以外の要因を考える必要があると述べている。一方、天野（1987）はコムギの雪腐褐色小粒菌核病、紅色雪腐病の被害程度と高い相関を示したのはタンパク態窒素含量であり、また、抵抗性品種は越冬前に多量の炭水化物を蓄積し、越冬後も高い炭水化物含量を維持していることを報告している。田村らはイタリアンライグラスの耐雪性の高い品種がフルクタンを多く蓄積すること（田村ら 1985）、オオムギ、コムギにおいても同様の傾向が見いだされることを報告している（田村 1986a, b）。湯川・渡邊（1995）はオオムギ、コムギのフルクタン蓄積量と耐雪性の品種間差について検討し、両者に高い相関関係があることを報告している。これまでの研究により、雪害と関係がある要因は明らかになってきたが、いまだに雪腐病抵抗性機構の解明には至っていない。

低温順化による雪腐病抵抗性の増加の原因を明らかにすることができれば、雪腐病抵抗性の機構解明の一助になると考えられる。低温順化による体内成分の変化は、樹木や越年生作物などについて数多くの報告があり、Sakai and Larcher (1987) によって整理されている。それによれば、澱粉の減少と糖の増加、リボゾーム RNA とタンパク質の増加、脂質、特にリン脂質、糖脂質の増加と脂肪酸組成の変化、植物ホルモンのアブシジン酸の増加が耐凍性と深く関わっている。Sagisaka ら (1991) がコムギの体内成分の変化を低温順化期間から積雪期間にわたって詳細に検討し、耐凍性の高いホロシリコムギに比較して、耐凍性の低い農林 61 号では積雪期間における茎の糖の減少程度が大きい、リン酸化された糖やグルタチオンなどの含量には変化が少ないことを報告している。Zhu ら (2007) はその総説の中で、低温順化により数百の遺伝子が発現すること、その発現を制御する遺伝子が明らかになってきたことを述べている。このように低温順化に伴い変化する体内成分は数多く報告されているが、低温順化による抵抗性増加の原因が明確にならない理由について、Levitt (1980) は一部の要因と耐凍性の相関関係だけから原因を推論することに無理があり、耐凍性を高くする理論的な可能性を検討した上での考察が必要であると述べている。低温順化による雪腐病抵抗性の増加機構を検討するにあたっては、雪腐病に対する抵抗性を増加させる物質について検討を進めていく必要がある。

第2章 雪腐病抵抗性の測定法の検討

病原体に対する植物の抵抗性は、侵入抵抗性と拡大抵抗性に分けることができる（白石ら 2001）。この2つの抵抗性では異なる抵抗性機構が機能している可能性があるため、抵抗性機構を解明するには侵入抵抗性と拡大抵抗性を分けて測定することが必要になる。雪腐病においては、侵入抵抗性の測定は菌の侵入部位の顕微鏡観察により可能である（中島 1998, Takenaka and Yoshino 1987）。一方、拡大抵抗性は葉身の一定の場所に菌を接種し、一定の期間培養を行った後その病斑長により測定することが可能と考えられる。この方法について、コムギを用い雪腐褐色小粒菌核病に対する抵抗性を富山（1955）が、紅色雪腐病に対する抵抗性を中島（1998）が、褐色雪腐病に対する抵抗性を平根（1955）が報告している。また、木村・平井（1952）はコムギの切断葉を用いて雪腐褐色小粒菌核病、紅色雪腐病、褐色雪腐病の病斑長から抵抗性の品種間差、葉位の違いを検討した。しかし、いずれも測定法の詳細な検討は行われていない。また、対象作物についてもコムギ以外では行われていない。

そこで、オオムギの褐色雪腐病拡大抵抗性の測定法を開発することを目的に、褐色雪腐病菌をオオムギ葉身の1カ所に接種し、積雪下と同様の低温暗黒条件で一定の接種期間を経過した後に病斑長を測定する方法について検討した。さらに、オオムギ以外のコムギ、ライムギ、エンバクについてもこの方法が応用できるか検討を行った。また、褐色雪腐病以外の主要な雪腐病である雪腐褐色小粒菌核病、紅色雪腐病についても抵抗性の測定に応用できるか検討を行った。

材料と方法

褐色雪腐病拡大抵抗性測定法の検討

接種源には褐色雪腐病 (*Pythium paddicum*) HP9102 菌株（竹中 1994）の直径 3mm の含菌寒天片を用いた。含菌寒天片はコーンミール寒天培地上で褐色雪腐病を 15℃ 暗黒条件、3 日間培養した菌糸の周辺部分から打ち抜いて得た。葉身の中肋をさけて病菌移植パンチ（藤原製作所）で直径 3mm の傷を付け接種した。接種期間中は積雪下と同様に十分高い湿度になるようにポットごとポリエチレン製の袋で覆い、一定期間、0.5℃ 暗黒の条件に置いた。その後、ガラス室で 3 日間再生させて病斑部位が灰褐色になり病斑の端が明確になった時に、接種位置から基部方向に伸びた病斑長を測定した。

接種条件として、接種期間、接種位置、及び傷を付けないで接種する方

法の検討を行った。ミノリムギ種子を2%次亜塩素酸ナトリウムで消毒した後、15℃で2日間吸水させ、消毒された土（クレハ園芸培土、1kg当たり窒素0.4g、リン酸1.9g、カリ0.6gを含む）を詰めたプラスチック製ポット（13×28×9cm）に播種した。福島市にある東北農業試験場畑地利用部（現東北農業研究センター福島研究拠点）の最低温度を15℃に設定したガラス室（自然日長）において3週間生育させ、第3葉が展開を終了した個体を選び、試験に供試した。接種は第3葉に行った。接種期間の検討では4日、7日、10日、14日の4水準とし、2℃12時間日長、光合成有効放射 $95\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ の光条件で1週間低温順化处理を行った区（CA区）と無処理区（NA区）を比較した。接種位置については、葉身の基部から1/4、1/2、3/4の位置に接種して比較した。侵入抵抗性の影響を除くために接種位置に傷を付ける方法を探ったが、傷を付けることで抵抗性が増加する可能性があるため、接種位置に傷を付けた場合と傷を付けない場合を比較した。

雪腐病拡大抵抗性測定法によるオオムギの褐色雪腐病抵抗性の品種間差異の検出と雪腐病人工接種法との比較

雪腐病抵抗性の異なるオオムギ3品種 ミユキオオムギ（抵抗性高）、ミノリムギ（抵抗性中）、アサマムギ（抵抗性低）を用い、褐色雪腐病拡大抵抗性の品種間差について検討した。1品種につき1ポット当たり4個体で、3ポット12個体を用い、第3葉に接種を行った。

拡大抵抗性測定法と従来からの方法である雪腐病人工接種法との比較では、供試材料として前述の他に抵抗性低のカシマムギ（湯川ら1988）を加えた4品種を用い、CA区とNA区を設けた。拡大抵抗性測定法では、1ポット当たり4個体で、4ポット16個体を用い、展開した第3葉に接種を行った。雪腐病人工接種法はTakenaka and Yoshino（1989）の方法に従った。接種期間を2、4、7週間の3水準として、再生してきた茎数を数えて生存茎率を求め、50%の茎が枯死する接種期間（ LI_{50} ）を算出した（Nakajima and Abe 1990）。接種期間毎に1ポット当たり4個体で、4ポット16個体を供試した。

*P. paddicum*以外の雪腐病菌に対するオオムギの拡大抵抗性の測定

*P. paddicum*以外の雪腐病菌に対する拡大抵抗性測定法の可能性を検討した。供試した雪腐病菌は褐色雪腐病（*P. iwayamai*）HI9114菌株、及び、雪腐褐色小粒菌核病（*Typhula incarnata*）HT8701菌株、紅色雪腐病（*Miclodochium nivale*）HF8601菌株（竹中1994）の3種で、*P. iwayamai*は*P. paddicum*と同じ方法で培養した含菌寒天片を接種に使用した。*T. incarnata*と*M. nivale*はジャガイモ煮汁寒天培地で15℃7日間培養した

含菌寒天片を使用した。供試したオオムギ品種はミノリムギで、CA区とNA区を設けた。接種の方法はいずれの雪腐病菌においても、前述の方法と同一とした。各区1ポット当たり4個体で、4ポット16個体を用い、第3葉に接種を行った。

コムギ、ライムギ、エンバクの褐色雪腐病拡大抵抗性の測定

オオムギ以外のイネ科越年生作物について、褐色雪腐病拡大抵抗性測定法の可能性を検討した。供試した品種は、コムギはユキチャボ（抵抗性高）と農林61号（抵抗性低）（湯川・渡邊 1991）、ライムギはサムサシラズと春一番、エンバクはアキマサリと前進で、おのおのCA区とNA区を設けた。接種源には、褐色雪腐病（*P. paddicum*）を用い、栽培法、低温順化法、接種法はオオムギと同じ方法で行った。各区1ポット当たり4個体で、4ポット16個体を用いた。

結果

褐色雪腐病拡大抵抗性測定法の検討

接種期間と病斑長の関係を図2-1に示した。接種期間が長くなるに従い病斑長が増加し、CA区の病斑長がNA区の病斑長よりも短かった。接種期間4日では低温順化処理区と無処理区に有意差がなかったが、接種期間7日以降で両区の差が有意になった。

葉身中の接種位置については、第3葉が完全に展開した個体を用いた場合、先端部でやや病斑長が長くなる傾向があったものの、基部、中央、先端で有意な差がなかった（図2-2）。さらに接種位置に傷を付けた場合の病斑長17mmに対し、傷を付けない場合の病斑長11.4mmとなり、傷を付けた場合が傷を付けない場合よりも有意に病斑長が長くなった。

拡大抵抗性測定法によるオオムギの褐色雪腐病抵抗性の品種間差異の検出と雪腐病人工接種法との比較

拡大抵抗性測定法で測定された病斑長は、抵抗性高のミユキオオムギで短く、抵抗性中のミノリムギ、低のアサマムギの順に長くなった（図2-3）。各品種間には5%レベルで有意な差があり、拡大抵抗性測定法により褐色雪腐病に対するオオムギの拡大抵抗性の品種間差を検出することが可能であった。上記3品種とさらにカシマムギ（抵抗性低）を加えて、拡大抵抗性測定法と雪腐病人工接種法とを比較した。2つの測定法において、CA区がNA区よりも抵抗性が高く、また、品種間ではミユキオオムギがカシマムギより抵抗性が高く、ミノリムギ、アサマムギがその中間の高さになった。拡大抵抗性測定法で得られた病斑長と雪腐病人工接種法により得られた生存茎率の LI_{50} 値との間には1%レベルで有意な負の相関があった

(図 2-4).

P. paddicum 以外の雪腐病菌に対するオオムギの拡大抵抗性の測定

拡大抵抗性測定法により、*P. paddicum* 以外の雪腐病に対する抵抗性が検出可能か検討したところ、*P. paddicum* と同じ褐色雪腐病の *P. iwayamai* では、低温順化を行った CA 区と行わなかった NA 区の差異を検出できた (図 2-5)。しかし、*T. incarnata* と *M. nivale* では、CA 区、NA 区ともに病斑長はごく短く、雪腐病人工接種法により抵抗性の増加が観察される 1 週間の低温順化処理を行っても、行わない場合と同様の値となり、抵抗性の差異を検出できなかつた。

コムギ、エンバク、ライムギの褐色雪腐病拡大抵抗性測定

コムギ、エンバク、ライムギでも、オオムギと同様に低温順化による褐色雪腐病抵抗性の増加が見られて病斑長が短くなった (図 2-6)。また、品種間差は低温順化処理を行った場合に大きく、コムギではユキチャボ (抵抗性大) が農林 61 号 (抵抗性小) よりも病斑長が短かつた。エンバク、ライムギでも低温順化処理の効果を検出できた。一般的に抵抗性が高いと言われる晩生の品種であるアキマサリ、サムサシラズ の病斑長が、早生品種の前進、春一番よりも短かつた。

考察

本研究で開発した褐色雪腐病の拡大抵抗性測定法では従来の報告 (湯川ら 1988) と一致した結果が得られた。すなわち、低温順化処理を行った CA 区では、雪腐病抵抗性の最も高いミユキオオムギで拡大抵抗性が最も高く、ミノリムギ、アサマムギの順で低くなつた。この品種間差の結果は、後藤ら (1977) が報告している雪腐病抵抗性の順位とも一致した。また、CA 区は NA 区よりも拡大抵抗性が高くなり、低温順化処理によって褐色雪腐病の拡大抵抗性が高くなることが示された。さらに、従来からの雪腐病人工接種法で求めた LI_{50} の結果と 1% レベルで有意な負の相関があり、拡大抵抗性測定法により得られた抵抗性の差異と、雪腐病人工接種法によって得られた結果は同様の傾向を示した。

開発した拡大抵抗性測定法は、病斑長を抵抗性の指標とする。これに対し、従来の雪腐病人工接種法では、生存茎率、あるいは生存株率の値を抵抗性の指標とする (Cormack and Lebeau 1959, Nakajima and Abe 1990, Takenaka and Yoshino 1989) ため、再生能力の影響を受ける。再生能力が高ければ、雪腐病に侵されても高い抵抗性を示すとみなされ、逆に、雪腐病以外の要因で再生が低下した場合でも雪腐病抵抗性が低いと判定される可能性があり、雪腐病抵抗性とは異なる再生能力の影響を受けること

になる。拡大抵抗性測定法では、再生能力と無関係に抵抗性を評価することが可能であり、今後、麦類の褐色雪腐病抵抗性機構を解明していく上で有効な抵抗性測定法になる。

拡大抵抗性測定法は、雪腐病人工接種法に比べて短期間で結果を出すことができた。ミノリムギを用いて接種期間を検討したところ、7日間でCA区とNA区の差が1%レベルで検出でき、接種期間は7日間が適当と判断された。雪腐病人工接種法では、作物の種、品種、個体の大きさ等によって抵抗性を適切に評価できる接種期間が変化し、通常の低温下での接種では8週間以上を要した (Watanabe and Takenaka 1994)。一方、中島 (1998) らが開発した15℃の条件で接種を行う方法でも18日間を要した。さらに、雪腐病人工接種法は生存率を調べるために再生期間が1~3週間必要であり、接種から測定まで長期間を要する。これに対し、本研究の拡大抵抗性測定法では、接種期間が7日間と短く、病斑の境界が明確になるまでガラス室に置く期間を加えても、接種から測定までの期間が10日間であり、雪腐病人工接種法に比べて抵抗性を効率的に測定できる。

拡大抵抗性測定法では、オオムギだけでなく、コムギ、エンバク、ライムギでも *P. paddicum* の抵抗性の測定が可能であった。また、同属の雪腐病菌である *P. iwayamai* にも利用できた。しかし、*T. incarnata* と *M. nivale* を接種した場合には1週間の低温順化の違いを検出することができなかった。富山 (1955) はコムギに *T. incarnata* を接種し、病斑長を測定する方法により抵抗性の品種間差を検出したと報告している。ただし、接種期間は30日以上を要している。一方、中島 (1998) は線状に置いた *M. nivale* の接種源にコムギ葉身を接触させ、長期の積雪下条件を模した低温暗黒条件に置くことにより病斑長の増加を測定したが、品種間の差異は検出できなかったことを報告している。これらの結果は、いずれも接種期間を1ヶ月以上の長期間としており、本試験とは接種期間が大きく違う。本試験では接種期間を1週間と短くしたために、抵抗性の差を検出できなかった可能性があり、今後さらに検討する必要がある。

この拡大抵抗性測定法の問題点として、侵入抵抗性の要因を取り除くために、葉に傷を付けて菌が侵入しやすい条件で接種を行った点があげられる。傷を付けることで耐病性に関与する感染特異的 (PR) タンパク質の生成が誘導されることが知られており (大橋・瀬尾 2001)、抵抗性が増加する可能性がある。そこで、傷を付けないで接種する場合と傷を付けて接種する場合を比較したところ、傷を付けた場合には病斑長が長くなった。このことから、傷を付けることで雪腐病の拡大抵抗性が高くなることはない判断された。

拡大抵抗性測定法の結果に影響を与える要因の一つとして、葉身の接種位置が考えられる。この点を検討するために3葉期の個体の完全展開葉を用い、接種位置による差異を検討したが、先端、中央、基部で抵抗性が有意に変わることはなかった。しかし、5葉期の第5葉に接種を行う試験では先端、中央に比べ基部で病斑長が短くなり、葉身上の位置により抵抗性が変わることが観察された(図 7-1)。この理由についてはさらに検討が必要であるが、葉身における接種位置は、同一試験においては揃える必要がある。

以上の結果から、開発した抵抗性測定法は1週間の接種期間で褐色雪腐病拡大抵抗性を評価することが可能であり、抵抗性機構の解明に利用できるものと考えられた。

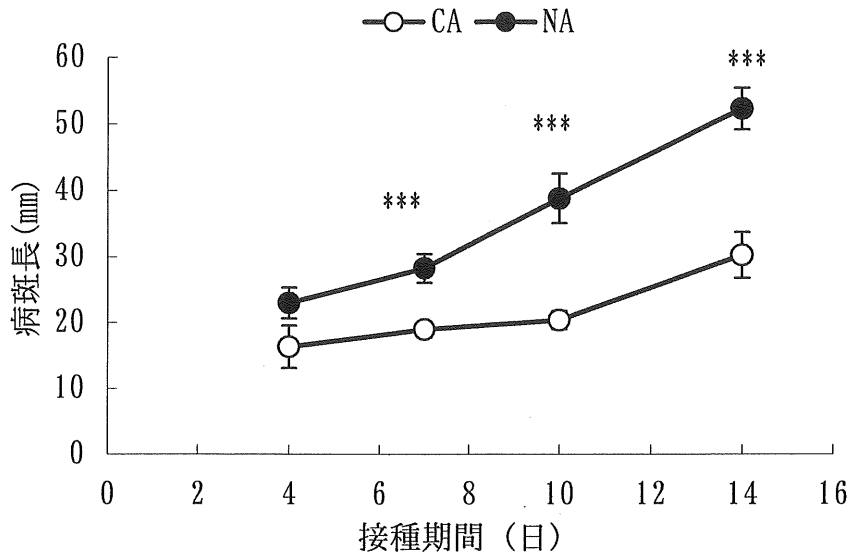


図2-1 褐色雪腐病の接種期間と病斑長の関係
 縦棒は標準誤差 (n=12) を示す. ***は同一日の低温順化処理区 (CA), 無処理区 (NA) 間にt検定により0.1%レベルで有意差があることを示す.

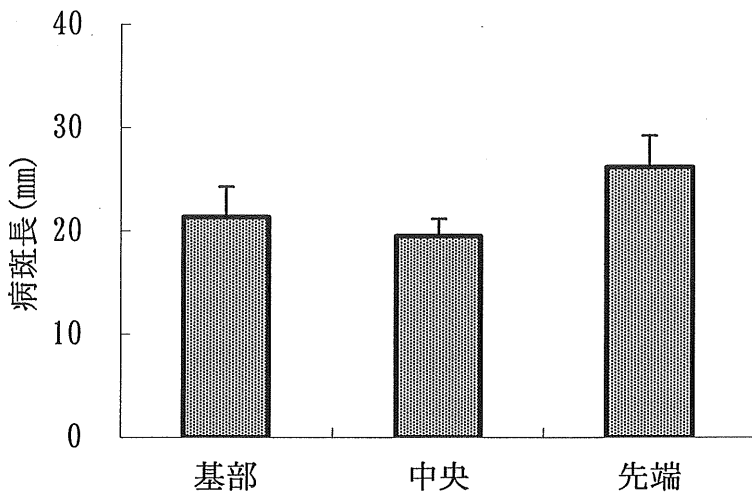


図2-2 葉身における接種位置が褐色雪腐病の病斑長に及ぼす影響
 縦棒は標準誤差 (n=6) を示す.

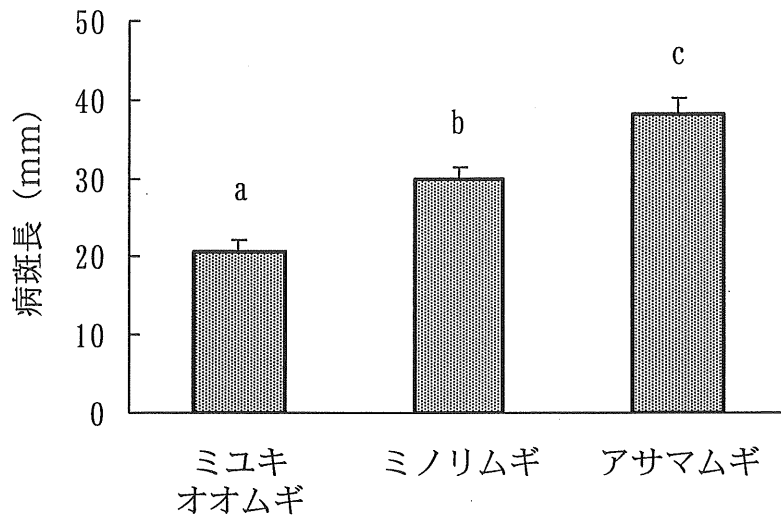


図2-3 褐色雪腐病に対するオオムギ葉身の拡大抵抗性の品種間差.
縦棒は標準誤差 (n=12) を示す. 同一アルファベットはTukeyの方法により5%レベルで有意差がないことを示す.

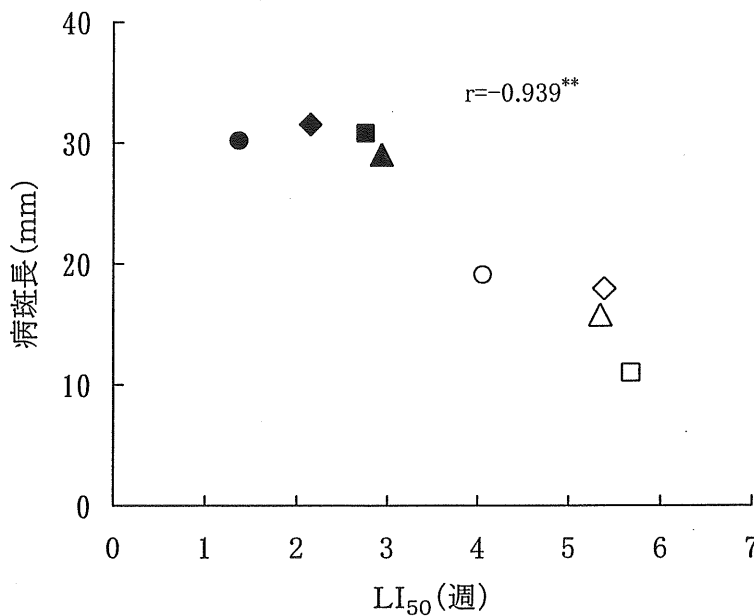


図2-4 褐色雪腐病に対するオオムギの拡大抵抗性と雪腐病人工接種法より推定したLI₅₀の関係.
ミユキオオムギ(□、■)、ミノリムギ(△、▲)、アサマムギ(◇、◆)、カシマムギ(○、●)の低温順化处理区(白抜き)、無処理区(黒塗り)の値. **は1%レベルで有意であることを示す.

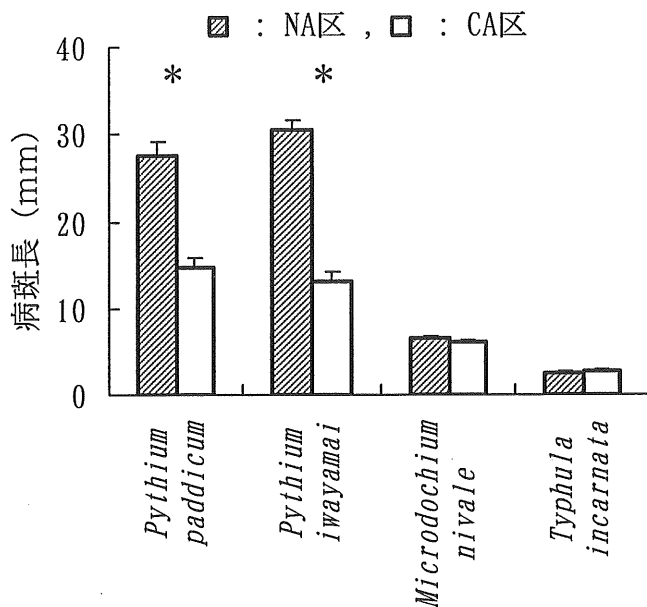


図2-5 拡大抵抗性測定法により検出できる雪腐病の種類。
縦棒は標準誤差 (n=16) を示す。*はNA区とCA区間にt検定により5%レベルで有意差があることを示す。

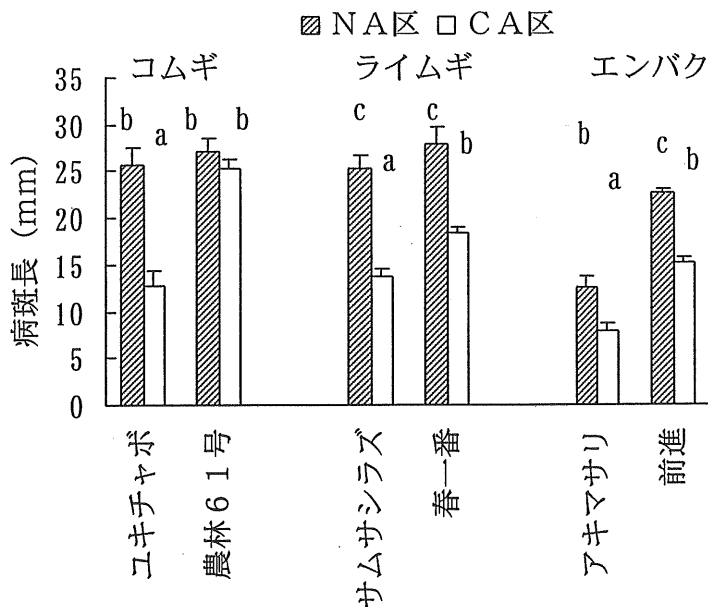


図2-6 拡大抵抗性測定法で検出したコムギ，ライムギ，エンバクの褐色雪腐病抵抗性に対する低温順化処理の影響と品種間差異。
縦棒は標準誤差 (n=16) を示す。同一アルファベットは、作物種ごとにTukeyの方法により5%レベルで有意差がないことを示す。

第3章 オオムギのエイジの増加に伴う耐雪性の変化

冬作物の耐雪性に関係する栽培要因については数多くの論文があることは第1章で示した。このうち、特に播種期の影響が大きく、播種期が早い場合に耐雪性が高くなり、播種期が遅い場合に耐雪性が低くなり、さらに播種期がごく遅く、出芽直後に積雪下におかれる場合には耐雪性が高くなることが知られており、エイジが耐雪性に影響していることが考えられる。しかしながら、エイジと耐雪性の関係の解明は十分とは言えず、個体の耐雪性は、出芽直後のごく若い時には高いが、葉齢が進むにつれ低くなり、さらに葉齢が進むと高くなる傾向を示す。一方、一つの個体の中で個葉の耐雪性についてみると、若い展開したばかりの上位葉で耐雪性が高く、葉齢が進んだ下位葉で耐雪性が低くなる傾向があり、高松（1989）は、下位葉は上位葉よりも枯死割合が高いことを報告している。個体の場合には葉齢の進んでいない若い個体の耐雪性が低いのに対し、1個体で見ると、上位葉、すなわちエイジの進んでいない葉の耐雪性が高くなり、耐雪性のエイジに伴う変化は個体と個葉とでは一致しない。しかしこの原因については明らかにされていない。

そこで、オオムギのエイジに伴う耐雪性の変化とその機構を検討するために、1. 播種期と雪害の関係（圃場試験） 2. 雪腐病3菌に対する抵抗性の葉齢による変化（ポット試験） 3. 褐色雪腐病の侵入抵抗性、拡大抵抗性の葉齢、葉位による変化（ポット試験）について試験を行った。

1. 播種期と雪害の関係（圃場試験）

水田転換畑において、圃場条件におけるオオムギの播種期と雪害の関係を検討するために試験を実施した。ここでは、特に早期播種から晩播まで、播種期の水準を多く設定して葉齢がちがう個体の耐雪性を明らかにすること、あわせて、根雪前のオオムギの乾物重と雪害の関係を明らかにすることを目的として試験を行った。

材料と方法

オオムギ品種ミノリムギを供試し、新潟県上越市にある北陸農業試験場（現中央農業総合研究センター北陸研究センター）の水田転換畑（強グライ土）において試験を実施した。1984年9月15日（根雪前96日）から11月8日（根雪前42日）まで19回、3日毎に播種量 8g/m^2 、条間25cmに条播した。施肥量（ g/m^2 、分量）は、N 8, P_2O_5 12, K_2O 8とした。12月11日に10個体を掘り取って根雪前地上部乾物重、乾物率を測定し

た。雪害の程度として越冬茎率と葉腐面積率を調査した。越冬茎率は根雪直前の12月11日と消雪後の4月16日に同一の場所(2条×50cm, 0.25㎡)の茎数を数えて求めた。葉腐面積率は雪腐病によって腐敗した葉が灰白色になり、緑の生存した部分と腐敗した部分の違いが明確となった消雪8日後に、観察により行った。

結果

試験年次の根雪期間は12月22日から4月8日までの108日間であり、新潟県上越市高田の根雪日数の平均値95日(高田測候所, 1971~2000)と比較して長く、多雪年であり、圃場条件で雪害の検討を行うには十分な根雪期間であった。

播種期と雪害の関係を見ると、9月15日(根雪前96日)から10月9日(根雪前72日)播種までは、越冬茎率は92~103%、葉腐面積率は30~40%で、減収に結びつく雪害は認められなかった(表3-1)。10月12日(根雪前69日)播種では葉腐面積率は65%となったが、越冬茎率は98%であり、収穫期において穂数の減少は認められず、減収はないものと判断された。10月15日(根雪前66日)播種では葉腐面積率は75%となり、越冬茎率が90%に減少し、収穫期の穂数も20%以上減少して減収した。さらに10月18日(根雪前63日)播種では葉腐面積率が90%、越冬茎率が58%となって、顕著な雪害が見られた。10月21日(根雪前60日)以降の播種では、葉腐面積率が100%となって越冬直後には生存していると思われる葉はなかった。10月27日(根雪前54日)には越冬茎率が1%、それ以降の播種では越冬茎率が0%となり、著しい雪害を被った。

根雪前までの生育と雪害の関係を明らかにするために、越冬前地上部乾物重と越冬茎率の関係を検討した(図3-1)。変化の大きかった越冬前地上部乾物重0.08g(10月30日播種)から0.57g(10月15日播種)までの越冬前地上部乾物重と越冬茎率の間の相関係数を計算した結果、両者には正の相関関係があり、相関係数は0.933と0.1%レベルで有意となった。

考察

本試験の3日ごとに播種を行う多水準の播種期試験を実施した結果から、雪害は播種期が早い場合には認められず、ごく早期に播種しても雪害を助長することはなかった。また、雪害が発生し始める10月15日(根雪前66日)播種から6日遅れると越冬茎率は半減し、さらに6日遅れると越冬茎率は1%まで低下し、播種期の僅かな遅れで雪害が著しく大きくなる場合があることが明らかとなった。しかし、ごく晩播による耐雪性の増

加は観察されず、根雪前 42 日にあたる 11 月 8 日に播種した場合でも越冬茎率は 0% となった。

ごく晩播条件での耐雪性について、湯川・渡邊（1997）は同じ北陸農業試験場で、同じミノリムギを用いて検討し、根雪前 42 日では著しい被害を受けるが、根雪前 32 日となる 12 月 5 日播種では雪害程度は小さくなり、耐雪性が高くなることを報告している。同時に、耐雪性低のカシマムギ、コムギ品種ユキチャボ（耐雪性高）、農林 61 号（耐雪性低）を供試して同様の結果を得ており、種、品種にかかわらず、ごく晩播条件で耐雪性が高くなることを報告しており、ごく晩播栽培において耐雪性が高まるのは根雪直前に播種した場合と考えられる。

一方、播種がごく早かった場合の耐雪性の変化について明らかにした研究は少ない（野島 1946, 富山 1955）。播性のない品種を早まきすれば茎立ちして凍害を被る危険性があることが示されているが（中川 1960）、野島（1946）は播性が I～II の会津 4 号を供試して 9 月 5 日に播種しても越冬茎率が大きく低下しないことを示しており、この程度の早播きであれば問題ないとしている。本試験で供試したミノリムギは播性 IV であり、9 月 15 日までの播種であれば、茎立ちによる凍害の発生は考えられない。越冬茎率の低下は認められず、耐雪性は低くならなかった。それでも、種田ら（1985）は茎立ちによる凍害を防ぐために 9 月 20 日～25 日を播種早限としている。なお、播性と早播き適性とは必ずしも一致しないことが橋本ら（1962）によって示されており、ごく早く播種した場合の越冬性については、さらにデータを蓄積する必要がある。一方、富山（1955）は早播きによって増える老葉の雪腐病抵抗性が低く、そのために被害が増加する可能性があることを報告しているが、本試験の結果からはごく早播きによる葉腐面積率の変化は認められず、影響は小さいと判断された。

播種期が遅れた場合に雪害が大きくなることは明らかとなったが、雪害を受けないための晩播限界については明確にはなっていない。本試験において、越冬茎率から判断した播種適期の幅は広く、根雪が 12 月下旬から 108 日間あったにもかかわらず、10 月 12 日（根雪前 69 日）までは雪害が観察されなかった。このことから、10 月上旬までがミノリムギの播種適期と判断された。この結果は、種田らの報告（1985）よりも 10 日以上遅いものとなった。このような違いが生じる理由として、雪害を表す方法の違いがあげられる。収量と結びつく越冬茎率を指標とした場合には 10 月 12 日（根雪前 69 日）播種まで被害がないと判断されたが、10 月 6 日（根雪前 75 日）播種でも葉腐面積率が増加していたことから、葉腐面積率を指標とした場合には、播種晩限は早まる。しかし、雪害は減収で判断され

るべきで、収量への影響が少ない葉の腐敗を対象とする必要はなく、収量と直接結びつく茎数で判断するのが適切と考えられる。

根雪前地上部乾物重と越冬茎率の関係を検討してみると、乾物重が 0.1g 以下では越冬茎率が 0% になり、0.5g 以上では越冬茎率 90% 以上となり、乾物重が増加するのに伴って越冬茎率が増加し、両者の間に直線回帰関係が見られた (図 3-1)。この図から雪害を回避するためには、一定の乾物重を根雪前に確保する必要があるが、根雪前地上部乾物重は、雪害を回避するための目標値として、あるいは雪害を予測するための指標として有効と考えられた。

播種期と根雪前地上部乾物重との間には密接な関係があり、播種期が遅くなるに従って乾物重は減少する傾向を示した。特に 9 月 27 日以降、播種期の遅れに従って根雪前地上部乾物重が指数関数的に減少した (図 3-2)。根雪前地上部乾物重は、出芽後から調査日までの積算温度の増加に伴い、指数関数的に増加した。この関係は、

$$Y=0.0123e^{0.0066x}, r=0.976^{***}$$

で示され、0.1% レベルで高い相関関係があった。この関係式から 100 日程度の根雪期間に耐えるための地上部乾物重 0.5g を得るのに必要な積算温度が 561℃ 日と算出され、この値から播種晩限を決定することが可能になる。しかし、早期に播種した区では回帰曲線からのずれが大きくなる場合があった。この原因として、早期播種した個体が遭遇する高温域では、温度 1℃ の生育に及ぼす影響の度合いに低温域と違いがあることが考えられる。

2. 雪腐病 3 菌に対する抵抗性の葉齢による変化 (ポット試験)

雪腐病菌に対する抵抗性と植物のエイジの関係について検討するためには、雪腐病菌の影響だけをとらえる必要がある。圃場条件では発生する雪腐病菌の種類や密度が均一ではなく、複数の雪腐病が混在している可能性があり (高松 1989, 竹中 1994)、また、湿害などの雪腐病以外の要因も影響することが考えられる。そこで、ポットを用い、主要な雪腐病である褐色雪腐病 (2 種) と雪腐褐色小粒菌核病 (1 種) を人口接種する方法を用いて、1 種類の雪腐病が均一に発生する条件で、雪腐病菌に対するオオムギ、コムギの葉齢と抵抗性の関係を検討した。

材料及び方法

供試作物の栽培方法

オオムギ (品種ミノリムギ) とコムギ (品種ユキチャボ) 種子を、15℃

において2日間催芽処理し、消毒された土（クレハ園芸培土）を詰めたプラスチック製ポット（13×28cm、高さ9cm）に播種、北陸農業試験場のガラス室（無加温、最高気温25.0℃、最低気温7.0℃）で生育させた。植物の葉齢を変えるために、播種日を3水準設けた。生育期間Ⅰは播種日を1989年11月27日とし、12日間生育させた。生育期間Ⅱは播種日を11月17日とし、22日間生育させた。生育期間Ⅲは播種日を11月6日とし33日間生育させた。全処理区とも、低温順化处理は12月8日から12月22日の14日間、ガラス室の窓を開放し、外気にさらして行った。雪腐病菌の接種は12月22日に行った。

雪腐病菌の接種

接種に用いた雪腐病菌は、褐色雪腐病2種（*P. paddicum* HP8701菌株、*P. iwayamai* HI8701菌株）と雪腐褐色小粒菌核病1種（*T. incarnata* HT8701菌株）で、接種はTakenaka and Yoshino（1989）の方法により行った。すなわち、各菌をジャガイモ煎汁液体培地で7日間、グルコース添加フスマ・砂培地で14日間培養し、同量の園芸培土を加えて増量したものを接種源とした。これを1ポットあたり110g敷き詰めて、その上に植物体を接種源と接するように倒し、吸水脱脂綿で被って、ポリエチレン袋に入れ高湿度条件が保たれるようにした。0.5℃に設定した低温庫に一定期間置いて接種処理を行った。接種期間は生育期間Ⅰの場合は2、3、4週間とし、生育期間Ⅱでは3、4、6週間、生育期間Ⅲでは4、6、9週間のそれぞれ3期間とした。接種期間終了後、最低気温を15℃に設定した温室内で再生させて、雪腐病の被害程度を測定した。

雪腐病被害程度の測定法

雪腐病の被害程度は生存莖率、葉腐面積率、再生乾物重の3つの方法で測定した。生存莖率は接種終了後2週間目に再生した莖と枯死した莖の数を数えて算出した。葉腐面積率は接種終了後3日目に観察により測定した。再生乾物重は接種終了後3週間目に地上部を切りとり、60℃で2日間乾燥して乾物重を測定し、無接種区の再生乾物重との比で表示した。すべての試験区において1区あたり3ポットを供試し、結果は3ポットの平均値で示した。

結果

生育期間の気温と植物体の生育量

生育期間の平均気温は生育期間Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、それぞれ10.8、12.7、14.5℃であり、低温順化处理期間の最低気温は0.2℃、日最低気温の平均は3.3℃、日平均気温は5.3℃であった。

接種直前に供試する植物体の地上部の生育量を 30 個体調査し表 3-2 に示した。オオムギ，コムギともに生育期間 I から生育期間 III と，生育期間が長くなるほど葉齢が進み，茎数，草丈，生重，乾物重が大きくなり，乾物率も高くなった。

雪腐病を接種したオオムギとコムギの生存茎率に及ぼす生育期間の影響

生育期間を 3 水準に変えて，3 種の菌を接種した場合の生存茎率を図 3-3 に示した。オオムギに *P. paddicum* を接種した場合には，生育期間 I では接種期間 3 週間で生存茎率の低下が認められ，接種期間 4 週間で生存茎率がごく低くなった。生育期間 II では接種期間 6 週間で生存茎率の低下が認められ，生育期間 III では接種期間 6 週間まで生存茎率が高かったことから，生育期間が長くなって葉齢が進むほど *P. paddicum* による被害は少なくなり，抵抗性が増加した。*P. iwayamai* を接種した場合，葉齢と被害の関係は *P. paddicum* の場合と同様の傾向を示した。一方，*T. incarnata* を接種した場合，生育期間 I と II の間には明確な差が認められず，接種期間 4 週間で著しく生存茎率が低下した。生育期間 III では生存茎率の低下の起こるまでの接種期間が長くなり，生育期間 I，II に比較して被害が抑えられた。この結果，オオムギでは供試した 3 種の菌すべてについて葉齢が進むほど抵抗性が増加すると考えられた。一方，コムギでは *P. iwayamai* においてのみ明確な生存茎率の低下が認められ，生育期間が長いほど生存茎率が高くなった。しかし *P. paddicum* と *T. incarnata* を接種した場合には，生存茎率の低下が認められなかった。

これらのデータより接種期間と生存茎率の間の回帰直線を求めて 50% の茎が枯死するのに要する接種期間 (LI_{50}) を算出し，表 3-3 に示した。オオムギについては 3 菌とも，コムギについては *P. iwayamai* を接種した場合に，生育期間が長くなるほど LI_{50} が大きな値となって，葉齢が進むのに伴って抵抗性が高くなることを示した。

雪腐病を接種したオオムギとコムギの葉腐面積率，再生乾物重に及ぼす生育期間の影響

葉腐面積率を雪害の指標とすると，生存茎率を指標とした時と比べて被害は大きく現れた (表 3-4)。生育期間と被害との関係は生存茎率と同様，オオムギでは接種に用いた 3 菌とも生育期間が長くなるほど葉腐面積率の値が小さく，コムギでも *P. iwayamai* を接種した場合には生育期間の影響が明確になった。また，コムギに *T. incarnata* を接種した場合，生存茎率では有意な減少が見られなかったが，葉腐面積率では被害が明確になり，生育期間が長くなるほど被害が小さくなる傾向があった。*P. paddicum* を接種した場合には，全般に被害が少なかったが，生育期間が長くなるに

従って被害が小さくなる傾向が見られた。

再生乾物重を雪害の指標とした場合、*P. paddicum*, *P. iwayamai*を接種した場合には、生育期間と被害との関係は生存茎率を指標とした場合と同様の傾向を示した。しかし、オオムギに *T. incarnata* を接種した場合には、生育期間に関係なく、全区とも著しい被害を被った。

考察

生存茎率、葉腐面積率、再生乾物重の3つの指標を総合してみると、オオムギ、コムギともに生育期間が長くなって、葉齢が進むほど被害が小さくなり、雪腐病抵抗性が高くなると考えられた。これは、接種に用いた3種の菌とも共通であり、全区に被害がない場合や、全区の被害が甚だしい場合を除き、3水準設けた接種期間と被害との関係、あるいは LI_{50} の値から示された。

雪腐褐色小粒菌核病については、本試験と同様に Bruehl (1967) が、播種期を変えたコムギに *T. idahoensis* を接種し、生育期間が長く、葉齢の進んだ個体ほど抵抗性が高いことを示した。また、富山 (1955) は、生存株率で見た場合に雪腐褐色小粒菌核病に対する被害は晩播ほど大きくなるとしており、雪腐褐色小粒菌核病に対する抵抗性は葉齢とともに増加すると考えられた。

一方、褐色雪腐病抵抗性と葉齢との関係については、葉齢の進んだ個体ほど抵抗性が高いとする報告と、逆に低いとする報告の両方がある。竹中・渡辺 (1991) は *P. paddicum* と *P. iwayamai* が発生する圃場の土を接種して、晩播ほどオオムギの生存茎率が低くなることを報告している。しかし、Lipps and Bruehl (1980) は *P. iwayamai* に対して若い個体ほど抵抗性が高いことを報告している。このように結果が一致しなかった原因として、Lipps and Bruehl が褐色雪腐病菌の接種試験を冠水状態で行っているため、コムギは湿害を被ることが一つの要因になっていると考えられる。積雪下で冠水条件になると、菌の関与なしにコムギが枯死することが観察されている (吉野 1989)。圃場での播種期試験においてもオオムギでは晩播ほど被害が著しいことを示した (表 3-1)。さらに、湯川ら (1987) はコムギを供試し、褐色雪腐病が発生すると考えられる水田転換畑で、9月下旬から11月上旬まで2~3日ごとに播種を行い、晩播ほど被害が著しいことを報告している。また、平根 (1955) はコムギとオオムギの播種期と褐色雪腐病の発病の関係を検討し、10月下旬頃までの播種期では遅くなるに従って生存株率が低くなるが、それよりも遅い播種期で、積雪前の茎数が1~1.3本程度の個体では、生存株率が高くなることを報告してい

る。このように試験結果が食い違う原因の1つに、品種の違いが上げられる。さらに、根雪期間がそれぞれの試験で違うことも関係している可能性がある。

3種の雪腐病菌による被害の大きさはオオムギとコムギの間で異なった。コムギの場合には *T. incarnata* と *P. paddicum* に比較して *P. iwayamai* の被害が大きかったのに対し、オオムギの場合には3菌とも被害を及ぼすが、*P. paddicum* と *P. iwayamai* の2菌に比べ、*T. incarnata* の被害が大きかった。従来から、*P. iwayamai* の病原力はオオムギに対しても高いことが知られている。高松 (1989) はオオムギ、コムギともに *P. iwayamai* の病原力が *P. paddicum*, *T. incarnata* に比べ大きいことを報告している。本試験においてオオムギに対する *P. iwayamai* の病原力が *P. paddicum* の病原力と同等程度であった原因として、供試菌株の違いが考えられる。竹中 (1994) は *P. paddicum* と *P. iwayamai* について多数の菌株を用いて病原力を検討し、菌株により病原力が大きく違うことを報告している。オオムギに対する *T. incarnata* の被害は、生存茎率を指標とした場合に比べ、再生乾物重を指標にした場合に大きくなった。この点について竹中 (1994) は *Pythium* 菌が地上部に蔓延するのに対し *Typhula* は地下部を中心に蔓延し再生を妨げることを報告しており、本試験結果と一致する。

3. 褐色雪腐病の侵入抵抗性、拡大抵抗性の葉齢、葉位による変化（ポット試験）

オオムギのエイジの増加に伴う耐雪性の変化の機構を解明するために、雪腐病の抵抗性と、積雪下の環境条件である長期間の低温、湿潤、暗黒条件における植物体の消耗に対する抵抗性の2つに分けて、葉齢、葉位による変化を検討した。また、雪腐病の抵抗性については、褐色雪腐病菌の侵入に対する抵抗性（侵入抵抗性）と、菌の伸展に対する抵抗性（拡大抵抗性）に分けて検討した。

材料と方法

供試作物の栽培方法

試験にはオオムギ品種ミノリムギを用いた。2%次亜塩素酸ナトリウムで消毒し、15℃で催芽した種子を、消毒された土（クレハ園芸培土）を詰めたプラスチック製ポットに播いた。福島市にある東北農業試験場畑地利用部の最低温度を15℃に設定したガラス室（自然日長）において、所定の葉齢に達するまで生育させた後、2℃12時間日長、光合成有効放射 $95 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の光条件で1週間の低温順化処理を行った。

葉齢，葉位による褐色雪腐病抵抗性の差異

雪腐病菌は，オオムギに大きな被害を引き起こす褐色雪腐病菌 (*P. paddicum*) HP9102 菌株を用いた．人工接種による雪腐病抵抗性の測定は，Takenaka and Yoshino (1989) の方法に従って行った．供試個体の葉齢は 0.5, 1, 2, 3 齢の 4 水準とした．雪腐病菌の接種は，フスマ培地で増殖した褐色雪腐病菌を土壌表面に散布し，その上に植物体を倒して，接種源と植物体が接触するように吸水脱脂綿で覆った．その後，0.5℃ 暗黒条件の冷蔵庫内に置き，接種期間を 0, 4, 6, 8 週間の 4 水準とした．所定の接種期間の後，植物体を最低温度 15℃ に設定したガラス室で再生させ，3 日後に葉腐面積率を，1 週間後に生存株率を，3 週間後に地上部を刈り取り乾物重を測定した．葉腐面積率は全葉面積中の枯死葉面積の割合で示した．生存株率は，全個体中の再生個体数を観察により求め，中島の方法 (1998) に従い，50% の株が枯死する接種期間 (LI_{50}) を算出した．試験には 1 ポット当たり 4 個体，1 処理区 3 ポット合計 12 個体を用いた．

褐色雪腐病の侵入抵抗性の測定は，人工接種による雪腐病抵抗性の測定と同様にフスマ培地で増殖した接種源を土壌表面に散布する方法で行った．試験には 1 葉期の個体の第 1 葉と 4 葉期の個体の第 1 葉，第 4 葉を用い，それぞれの葉が接種源と接触するように吸水脱脂綿で押さえた．接種期間は 1 週間として，葉の中央部分の長さ 2cm を切り取り，Takenaka and Yoshino (1987) の方法に従ってラクトフェノールアルコールにより葉の葉緑素を除去し，アニリンブルーで雪腐病菌糸を染色して，顕微鏡下で侵入数を数えた．観察した視野数に対する気孔，角皮双方から侵入している数の比を侵入抵抗性の値とした．

褐色雪腐病の拡大抵抗性の測定は第 2 章で開発した方法に従って行った．試験には 1 葉期の第 1 葉，2 葉期の第 1 葉，第 2 葉，3 葉期の第 1 葉，第 2 葉，第 3 葉を用いた．各葉の中央部に接種源を寒天片を接種して，接種位置から基部方向に伸びた病斑長を拡大抵抗性の値とした．1 葉期の個体は 1 ポット当たり 6 個体，2 葉期の個体は 1 ポット当たり 3 個体，3 葉期の個体は 1 ポット当たり 2 個体とし，試験には 12 個体を用いた．

葉齢による低温，湿潤，暗黒条件に対する抵抗性の差異

試験に供試したオオムギの葉齢は 0.5, 1, 2, 3 葉齢の 4 水準とした．低温，湿潤，暗黒処理は，水を張ったバットにポットで生育させた植物体を入れ，黒色のポリエチレン袋で覆って湿潤，暗黒条件を保ち，0.5℃ に設定した冷蔵庫内に置いて行った．処理期間は，0, 4, 8, 12 週間の 4 水準とした．低温，湿潤，暗黒処理の終了後，ガラス室（最低温度 15℃，自然日長）に移し，1 週間後に再生した個体を生存個体として，生存株率

を算出した。また、処理終了時、再生 1 週間、2 週間の乾物重を測定して、相対生長率 (RGR) を算出した。1 ポットに 5 個体を生育させ、1 処理当たり 3 ポットを用いた。

結果

葉齢、葉位による褐色雪腐病抵抗性の差異

人工接種による褐色雪腐病の被害は、葉齢により違いが見られ、1 葉期、2 葉期の個体は、3 葉期の個体に比べ褐色雪腐病抵抗性が低かった (表 3-5)。接種期間 4 週間では、1 葉期、2 葉期の個体は全て枯死したが、3 葉期の個体は全て再生した。接種期間 6 週間では、3 葉期の個体でも生存株率が 17% まで低下し、1 葉期、2 葉期と有意な差がなくなったが、葉腐面積率には有意差が認められた。一方、ごく若い 0.5 葉期の個体は、1 葉期、2 葉期の個体よりも褐色雪腐病抵抗性が高かった。接種期間 4 週間では、0.5 葉期の個体は、3 葉期の個体と同等の葉腐面積率、生存株率の値で、1 葉期、2 葉期の個体よりも抵抗性が高かった。接種期間 6 週間では、0.5 葉期の葉腐面積率は 1 葉期、2 葉期の個体と同等の値になったが、生存株率では 3 葉期の個体を上まわった。接種期間 8 週間では、1~3 葉期の個体は再生しなかったが、0.5 葉期の個体は 8% が再生した。LI₅₀ は 0.5 葉期では 5.7 週、1 葉期、2 葉期では 2.0 週、3 葉期では 5.2 週となり、1 葉期、2 葉期の若い個体は葉齢の進んだ個体よりも褐色雪腐病抵抗性が低い、第 1 葉が展開する前のごく若い 0.5 葉期の個体は 3 葉期と同等の褐色雪腐病抵抗性を示した。

再生乾物重は、接種期間 0 週間、すなわち無接種の条件では 1 葉期から 3 葉期まで差が見られなかったが、0.5 葉期は小さかった (表 3-5)。接種期間 4 週間では、1 葉期、2 葉期は再生せずに 0 となった。再生した 0.5 葉期と 3 葉期の乾物重を比較すると、0.5 葉期の方が小さかった。接種期間 6 週間でも、0.5 葉期は 3 葉期に比べて生存株率が高いが再生乾物重は小さい傾向を示した。以上の結果からごく若い 0.5 葉期の個体は、3 葉期の個体と同等の褐色雪腐病抵抗性を示すが、再生量は小さいものと考えられた。

褐色雪腐病菌侵入抵抗性は、葉齢と葉位により違いがあった (表 3-6)。4 葉期において、展開した直後の第 4 葉の侵入数は、下位葉の第 1 葉よりも少ない傾向があった。1 葉期の第 1 葉の侵入数は 4 葉期の個体の第 1 葉よりも少なかったが、4 葉期の展開直後の第 4 葉よりも多くなっていた。

褐色雪腐病拡大抵抗性も葉齢、葉位で有意に変化した (図 3-4)。1 葉期の第 1 葉では病斑長が長く拡大抵抗性は低かった。2 葉期の第 1 葉では、

1葉期の第1葉と同等の低い抵抗性であったが、上位葉の第2葉は第1葉よりも有意に病斑長が短く、抵抗性が高かった。3葉期の第1葉、第2葉、第3葉は上位葉になるに従い病斑長が短くなり、拡大抵抗性が高い傾向を示した。

葉齢による低温、湿潤、暗黒条件に対する抵抗性の差異

低温、湿潤、暗黒期間が4週間までは、生存株率はどの葉齢でも100%となった(表3-7)。低温、湿潤、暗黒期間が8週間になると、生存株率の低下が見られ、1葉期では3葉期よりも有意に低くなった。一方、葉齢が0.5の場合には1葉期と比較して生存株率が高い傾向にあった。低温、湿潤、暗黒期間が12週間になると、葉齢にかかわらず生存株率は0%となり、全ての個体が枯死した。

生存した個体の乾物重は、処理終了直後の0週では、低温、湿潤、暗黒処理期間に関わらず、葉齢が進んだものほど大きくなる傾向があり、3葉期でもっとも大きく、1葉期と0.5葉期で小さくなった。再生1週間後、2週間後の乾物重も葉齢が進んだものほど大きくなる傾向があり、RGRは葉齢により明確な差がなかった。これにより、葉齢の進んだ個体が再生時に乾物重が大きくなる原因として、成長速度が大きかったわけではなく、再生を開始する時の乾物重が大きかったためと考えられた。

考察

葉齢の進んだ個体の耐雪性が高いことは、これまでに行われた多くの播種期試験の結果から明らかであるが、本試験の結果から、褐色雪腐病抵抗性と長期の低温、湿潤、暗黒条件に対する抵抗性の2つの要因とも、葉齢の進んでいない個体よりも葉齢の進んだ個体が高いことが明らかとなった。

さらに、褐色雪腐病抵抗性について見ると、侵入抵抗性は、葉齢の進んだ個体では、下位葉で菌の侵入数が増加したが、上位葉では侵入数が著しく少なくなった。また、拡大抵抗性についても同様に、下位葉で病原菌の進展が大きいが、上位葉では進展が小さくなり、若い葉で褐色雪腐病抵抗性が高くなる傾向がうかがわれた。同様の試験を4葉期の材料でも実施して同様の結果を得ており、若い組織で褐色雪腐病抵抗性が高くなった。

葉齢の進んだ個体では、下位葉の雪腐病抵抗性が低いにもかかわらず、上位葉における侵入抵抗性、拡大抵抗性が高いことで個体全体の褐色雪腐病抵抗性が高くなった。一つの個体の中では、若い組織の抵抗性が個体全体の抵抗性を左右していると考えられる。

播種直後の第1葉が完全に展開していない0.5葉期の個体では、耐雪性

は1葉期よりも高かった。雪腐病人工接種法により測定した褐色雪腐病抵抗性においても、また、低温、湿潤、暗黒条件に対する抵抗性でも同様であった。これらの結果は、コムギについて吉田ら（1994）が、オオムギについて湯川・渡邊（1997）が行った圃場におけるごく晩播試験の結果と同様の傾向を示した。出芽直後の個体の耐雪性が高まる要因には種子の胚乳養分が関与し、播種時期が遅いほど越冬率が高くなる原因は、種子に残る養分の量が多いためと考えられる（吉田ら 1994, 湯川・渡邊 1997）。また、湯川ら（2001）は根雪前播種のコムギの越冬率と種子重の間に関連があることを報告しており、出芽直後の個体の耐雪性と胚乳養分量の間には密接な関係が存在することが考えられる。一方、褐色雪腐病抵抗性についてみると、0.5葉期の個体については葉身が展開していないために侵入抵抗性、拡大抵抗性に分けて検討することができなかった。そのため、出芽直後の個体が、雪腐病抵抗性が高いのか、あるいは、葉身が展開していないために土壌との接触が少なく、雪腐病と遭遇しないために生存株率が高くなったのかは明確ではない。

3つの試験の結果から、耐雪性は葉齢の増加とともに高まり、雪腐病抵抗性、低温、湿潤、暗黒条件に対する抵抗性ともに葉齢の増加により高まる傾向を示すことが明らかとなった。さらに葉齢の進んだ個体では若い組織の侵入抵抗性、拡大抵抗性双方が高まることで雪腐病抵抗性が高まることが明らかとなった。また、第1葉が展開する前のごく葉齢の小さい個体では耐雪性が高まる可能性があることが明らかとなった。

表3-1 播種日による雪害の違い(1984年播種)

播種日	根雪前 日数	越冬前 茎数 (本/個体)	越冬前 地上部 乾物重 (g/個体)	越冬 茎率 (%)	葉腐 面積率 (%)	穂数 (m ⁻²)	子実重 (g/m ²)
9月15日	96	3.4	2.34	98	30	408	488
9月18日	93	3.7	1.86	97	30	368	551
9月21日	90	4.5	2.21	98	30	458	593
9月24日	87	5.5	2.03	93	30	436	557
9月27日	84	5.9	2.13	92	30	422	582
9月30日	81	6.0	1.69	99	30	388	556
10月 3日	78	5.9	1.28	103	30	352	520
10月 6日	75	6.3	1.21	96	40	406	662
10月 9日	72	6.8	1.04	100	40	424	659
10月12日	69	5.6	0.76	98	65	342	496
10月15日	66	5.5	0.57	90	75	314	463
10月18日	63	4.1	0.36	58	90	212	378
10月21日	60	4.3	0.29	43	100	252	440
10月24日	57	3.6	0.20	18	100	-	-
10月27日	54	2.3	0.14	1	100	-	-
10月30日	51	1.8	0.08	0	100	-	-
11月 2日	48	1.8	0.08	0	100	-	-
11月 5日	45	1.3	0.05	0	100	-	-
11月 8日	42	1.0	0.03	0	100	-	-

表3-2 オオムギ, コムギの生育期間と接種前までの生育量

	生育期間	草丈 (cm)	茎数 (本)	葉齢	生重 (g)	乾物重 (g)	乾物率 (%)
オ	I (14日)	11.0	1.0	1.6	0.2	0.0	10.7
オ	II (24日)	19.7	1.6	3.3	1.0	0.1	11.3
ム	III (35日)	32.2	2.8	4.4	3.2	0.4	13.7
ギ	I (14日)	11.4	1.0	2.4	0.2	0.0	12.8
コ	II (24日)	19.9	2.2	3.7	0.8	0.1	13.0
ム	III (35日)	29.7	3.5	5.0	2.9	0.4	15.1
ギ							

表3-3 生育期間の異なるオオムギ, コムギの雪腐病菌接種時の生存茎率のLI₅₀ (週)

雪腐病菌	生育期間	オオムギ			コムギ		
		I	II	III	I	II	III
<i>P. paddicum</i>		3.0	5.5	9.6	-	-	-
<i>P. iwayamai</i>		2.9	6.7	9.5	2.9	4.5	7.7
<i>T. incarnata</i>		3.1	3.5	7.3	-	-	-

生育期間 I:14日, II:24日, III:35日

表3-4 生育期間の異なるオオムギ, コムギの雪腐病菌接種後の葉腐面積率と再生乾物重

生育期間	葉腐面積率(%)					再生乾物重(対無接種区 %)					(週)
	2	3	4	6	9	2	3	4	6	9	
オオムギ	<i>P. paddicum</i>										
I	71	85	99			58	20	0			
II		26	67	92			51	55	8		
III			23	67	56			66	55	37	
オオムギ	<i>P. iwayamai</i>										
I	49	90	92			69	21	2			
II		56	83	93			47	34	13		
III			59	84	75			52	38	32	
オオムギ	<i>T. incarnata</i>										
I	62	87	98			43	8	0			
II		67	82	93			5	1	0		
III			61	70	81			7	2	0	
コムギ	<i>P. paddicum</i>										
I	17	22	69			106	116	20			
II		4	15	40			98	68	72		
III			11	33	35			89	81	76	
コムギ	<i>P. iwayamai</i>										
I	58	38	100			54	15	0			
II		50	85	100			37	29	1		
III			69	93	89			40	38	18	
コムギ	<i>T. incarnata</i>										
I	21	51	88			75	58	27			
II		52	77	75			58	42	28		
III			71	71	56			49	51	37	

生育期間 I:14日, II:24日, III:35日

表3-5 オオムギの葉齢の違いが褐色雪腐病の被害に及ぼす影響.

接種期間	葉齢	葉腐面積率 (%)	生存株率 (%)	再生乾重 (g/ポット)
0週間	0.5	0	100	3.25 b
	1	0	100	6.25 a
	2	0	100	6.80 a
	3	0	100	5.88 a
4週間	0.5	44 a	84 a	1.04 b
	1	100 b	0 b	0 c
	2	100 b	0 b	0 c
	3	43 a	100 a	2.18 a
6週間	0.5	99 b	42	0.01 n. s.
	1	100 b	0	0 n. s.
	2	100 b	0	0 n. s.
	3	91 a	17	0.15 n. s.
8週間	0.5	100	8	0.003 n. s.
	1	100	0	0 n. s.
	2	100	0	0 n. s.
	3	99	0	0 n. s.

n. s. 及び同一英文字は接種期間ごとにTukeyの方法で5%レベルで有意差がないことを示す.

表3-6 オオムギの葉齢と葉位の違いによる褐色雪腐病菌糸の侵入数の差異.

葉齢	葉位	観察視野数	気孔侵入数	角皮侵入数	侵入数/視野数
1	1	13	49	7	4.3
4	1	10	83	30	11.3
4	4	108	22	11	0.3

表3-7 オオムギの葉齢が低温，湿潤，暗黒条件での生存株率と
その後の再生に及ぼす影響。

低温、湿潤 暗黒処理 期間	葉齢	生存株率 (%)	乾物重 (mg/個体) 再生期間		
			0週	1週	2週
0週間	0.5	100	24 c	56 d	172 c
	1	100	44 c	124 c	205 c
	2	100	78 b	180 b	354 b
	3	100	186 a	304 a	558 a
4週間	0.5	100	20 c	30 c	96 c
	1	100	24 c	56 c	112 c
	2	100	48 b	128 b	358 b
	3	100	128 a	258 a	596 a
8週間	0.5	86	16 c	16 b	48 b
	1	69	24 c	32 b	124 b
	2	80	40 b	50 b	88 b
	3	96	118 a	150 a	346 a
12週間	0.5	0	-	-	-
	1	0	-	-	-
	2	0	-	-	-
	3	0	-	-	-

同一英文字はそれぞれの低温，湿潤，暗黒処理期間において再生期間ごとにTukeyの方法で5%レベルで有意差がないことを示す。

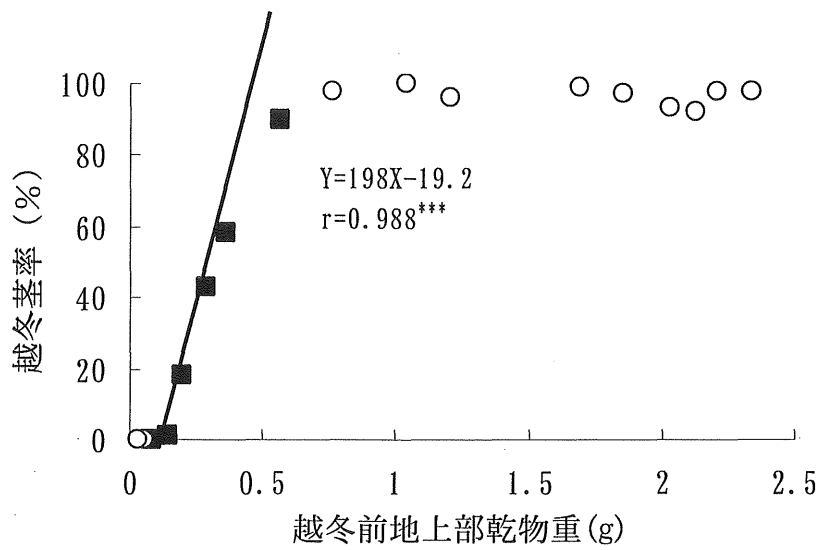


図3-1 越冬前地上部乾物重と越冬茎率の関係
 図中の関係式，相関係数は■のデータから算出
 ***は0.1%水準で有意.

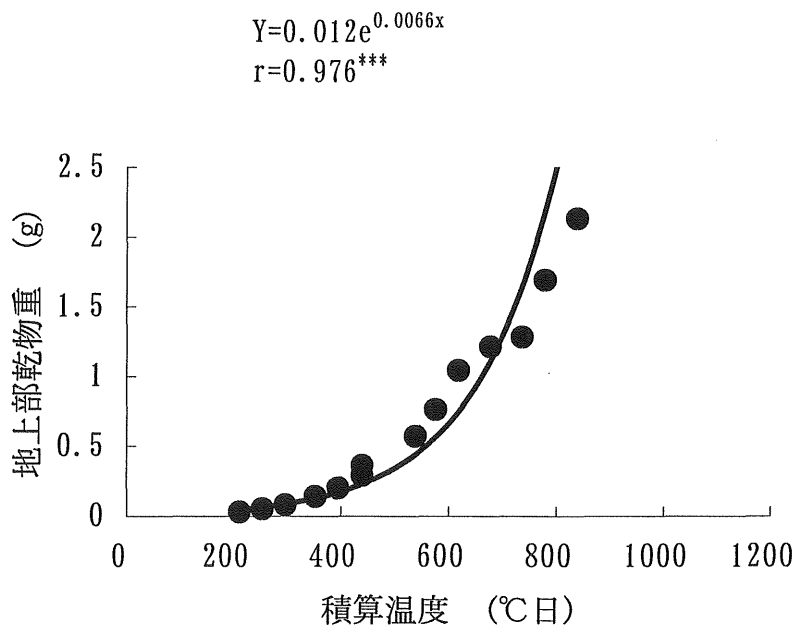


図3-2 出芽日からの積算温度と地上部乾物重
 の関係
 ***:0.1%レベルで有意

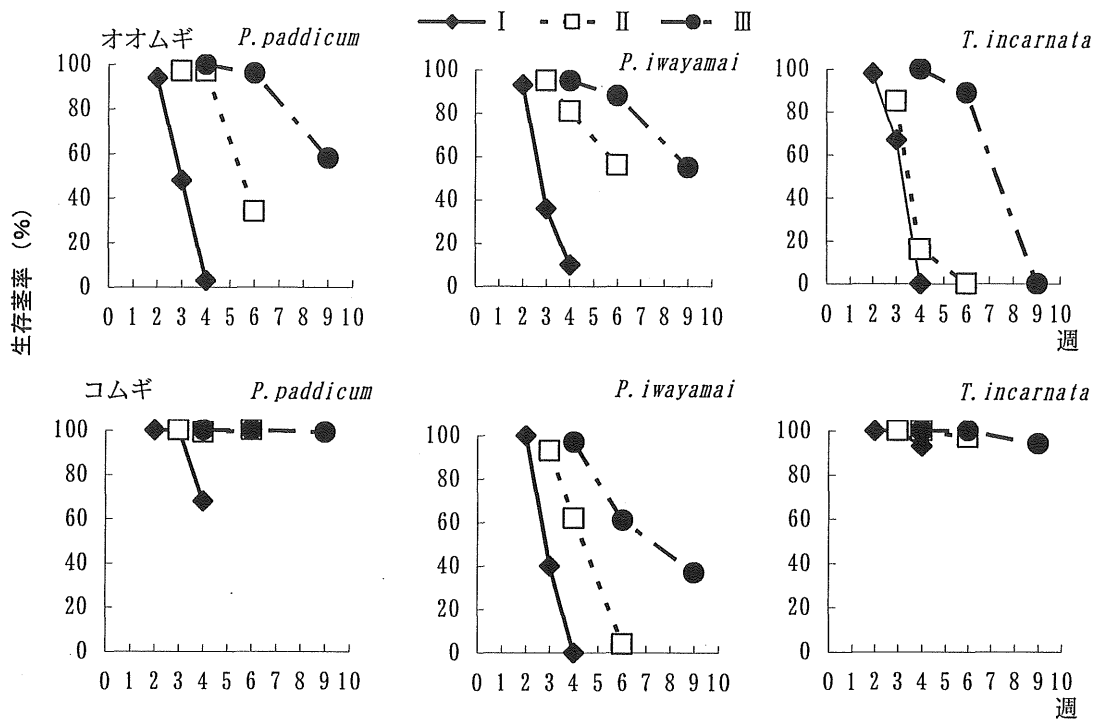


図3-3 生育期間の異なるオオムギ、コムギの雪腐病菌接種による生存率の推移
 生育期間 I : 14 日, II : 24 日, III : 35 日

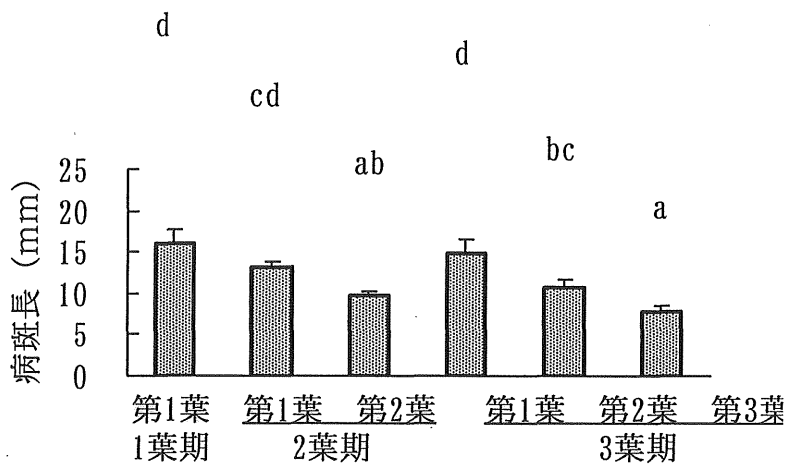


図3-4 オオムギの葉齢と葉位による雪腐病拡大抵抗性の差異。
 縦棒は標準誤差 (n=12) を示す。同一英文字はTukeyの方法で5%レベルで有意差がないことを示す。

第4章 低温順化处理による褐色雪腐病拡大抵抗性の変化

冬作物は秋季から冬季に徐々に低温にさらされることで、耐凍性や耐雪性が増加する低温順化が知られている (Gusta ら 1982, Levitt 1980, 酒井 1982). コムギでは耐凍性と同様、低温順化により雪腐病抵抗性が増加することが知られている (Nakajima and Abe 1996). Gaudet and Chen (1987) は、カナダで見られる雪腐病 *Cottony snow mold* に対するコムギの抵抗性に及ぼす低温処理期間の影響について報告している. また、Nakajima and Abe (1996) は紅色雪腐病に対するコムギの抵抗性に及ぼす低温順化の温度、期間、光の強さの影響について報告している. しかし、これらの研究では、抵抗性を侵入抵抗性、拡大抵抗性に分けて検討していない. また、オオムギについての検討は行われていない. さらに、雪害が著しい本州の日本海側において多発し、重大な被害を引き起こす褐色雪腐病について (平根 1955, 高松 1989)、低温順化の条件を検討した報告はない.

そこで本研究では、オオムギの褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす低温順化の期間、光の強さ、波長の影響について検討した. また、オオムギが低温順化後に暖かい条件 (デハードニング) に戻った場合の抵抗性の変化、及び低温順化後に積雪下のような低温暗黒条件におかれた場合の抵抗性の変化を明らかにする目的で、低温順化後の温度条件が抵抗性に及ぼす影響についても検討した.

材料と方法

供試作物の栽培方法

オオムギ品種ミノリムギを供試し、東北農業試験場畑地利用部の最低温度を 15℃ に設定したガラス室内で 3 週間栽培して、第 3 葉が完全に展開した個体を使用した. 低温順化处理は 2℃、12 時間日長で、光源には植物育成用蛍光灯 (プラントルクス、東芝) を用い、光合成有効放射 $95 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の光条件で行った.

低温順化处理期間が褐色雪腐病拡大抵抗性及び耐凍性に及ぼす影響

褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす低温順化期間の影響を明らかにするために、低温順化期間を 0, 1, 3, 7, 14, 28 日間に設定し、抵抗性の測定を行った. また、耐雪性品種であるミユキオオムギ (後藤ら 1977) についても、低温順化期間を 0, 7, 14, 21, 28 日間に設定して、同様の測定を行った.

さらに、低温順化处理が褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす影響と、耐凍性

に及ぼす影響を比較するため、ミノリムギを用いて、低温順化期間を 0, 7, 14, 21, 28 日間とし、葉身の褐色雪腐病拡大抵抗性と同時に生育させた個体の耐凍性の測定を行った。

低温順化処理における光条件が褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす影響

低温順化処理における光条件の影響を明らかにするために、以下の 3 つの実験を行った。

1) 明条件の日数

低温順化処理における明条件の日数の影響について検討した。すなわち、7 日間の低温順化処理のうち最初の 1 日を 12 時間日長の明条件とし残りの 6 日を 24 時間暗条件とした区、最初の 2 日を明条件とし残りの 5 日を暗条件とした区、3 日を明条件 4 日を暗条件とした区、5 日を明条件 2 日を暗条件とした区、7 日全期間を明条件にした区を設け、褐色雪腐病拡大抵抗性を比較した。

2) 光の強さ

低温順化処理時の光の強さの影響について検討した。すなわち、植物体を白色寒冷沙、黒色寒冷沙、2 重の黒色寒冷沙により覆うことにより光の強さを変え、7 日間の低温順化処理を行って褐色雪腐病拡大抵抗性を比較した。

3) 光の波長

低温順化処理の光の波長の影響について検討した。すなわち、低温順化を行う個体を透明、赤、緑、青のセロファン紙により覆うことで光の波長を変え、7 日間の低温順化処理を行って褐色雪腐病拡大抵抗性を比較した。なお、190~900nm の透過率は透明のセロファンでは全領域で高く、赤では 600nm 以上、緑では 480~560nm と 720nm 以上、青では 360~500nm と 720nm 以上の波長で高かった。

低温順化処理後の温度条件が褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす影響

低温順化処理により獲得した褐色雪腐病拡大抵抗性が、低温順化処理後の温度、光条件により変化するか否かを明らかにするために、以下の 2 つの試験を行った。

1) デハードニング処理

低温順化処理後のデハードニング処理の影響を明らかにするため、低温順化処理を 7 日間行った後、15℃暗黒条件に 7 日間あるいは 14 日間置いた植物体の褐色雪腐病拡大抵抗性の測定を行った。

2) 低温暗黒処理

低温順化処理後の積雪下を想定した低温暗黒条件の影響を明らかにするため、低温順化処理を 7 日間行った後、0.5℃暗黒条件に 14 日間あるい

は 28 日間置いた植物体の褐色雪腐病拡大抵抗性の測定を行った。

褐色雪腐病拡大抵抗性の測定法

接種には褐色雪腐病菌 *P. paddicum* HP9102 菌株の含菌寒天片を用いた。抵抗性の測定は第 2 章で開発した方法に従い、葉身を付傷し、含菌寒天片を付着させた後に 0.5℃ 暗黒条件に 1 週間置いた。その後、最低温度を 15℃ に設定したガラス室に移し、含菌寒天片を取り除き葉身表面を殺菌して 3 日後に病斑長を測定した。抵抗性の測定には、完全に展開した第 3 葉を用い、1 処理について 12 個体を供試した。

耐凍性の測定

植物に付着した土を洗い流した後、地上部 5cm 地下部 2cm を残して切り取って耐凍性測定用の試料とした。キムワイプをしめらせその間に試料を挟んで、アルミホイルに包み、プログラム制御が可能な低温器に入れ凍結処理を行った。温度は -2℃ の条件に 12 時間保った後、1 時間に 1℃ の低下速度で -14℃ まで低下させた。-4℃ から -14℃ まで、2℃ 毎にサンプリングして 2℃ の条件に一晩おいて解凍した後、最低温度を 15℃ に設定したガラス室において再生させ、再生個体数を調査して 50% 致死温度 (LT₅₀) を算出した。

結果

低温順化処理期間が褐色雪腐病拡大抵抗性及び耐凍性に及ぼす影響

ミノリムギの褐色雪腐病拡大抵抗性は、無処理区に比べて 7 日間の低温順化処理によって有意に増加した (図 4-1)。低温順化処理期間が 14 日になると 7 日よりも抵抗性が増加したが、低温順化処理前と 7 日の病斑長の差に比べ、低温順化処理 7 日と 14 日の病斑長の差は小さかった。さらに、低温順化処理期間が 28 日では、14 日に比べて有意な差はなく、14 日以上での低温順化処理による抵抗性の増加は認められなかった。低温順化処理期間が 3 日以下では低温順化処理前と有意差がなく、抵抗性が増加するためには低温順化処理期間が 7 日必要であった。

低温順化処理による抵抗性の増加は、ミユキオオムギでもミノリムギと同様に認められ、7 日間の低温順化処理で抵抗性が増加した (図 4-2)。ミユキオオムギでは低温順化処理期間 7 日と 14 日あるいはそれ以上の処理期間の病斑長には有意な差はなく、低温順化処理が 7 日以上では抵抗性の増加は認められなかった。

低温順化処理の褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす影響と耐凍性に及ぼす影響を比較したところ、両者の間には 0.1% レベルで有意の正の相関関係があった (図 4-3)。低温順化処理期間と耐凍性の関係は雪腐病拡大抵抗

性の関係と同様に、低温順化処理の最初の7日間で耐凍性の増加が大きく、処理期間が14日以上になるとその増加は小さくなった。

低温順化処理における光条件が褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす影響

1) 明条件の日数

低温順化処理期間中の明条件の日数は抵抗性に影響し、7日間の低温順化処理のうち、全期間明条件で処理した個体において病斑長が無処理区に比べて有意に短くなった(図4-4)。明条件4日でも病斑長は短くなったが、無処理区との間に有意な差は認められなかった。この結果から抵抗性の増加には7日間の低温順化処理においては、全期間の明条件が必要であった。

2) 光の強さ

低温順化処理時の寒冷沙による被覆の抵抗性に及ぼす影響は認められなかった。すなわち、無被覆と比較して、白寒冷沙、黒寒冷沙、2重の黒寒冷沙により被覆した場合の病斑長には有意な差が生じることなく、無処理区と比較すると全ての区で有意に病斑長が短くなった(図4-5)。低温順化処理時の光量子フラックス密度は、無被覆では $95 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ であるのに対し、白寒冷沙で46%、黒寒冷沙で57%、二重の黒寒冷沙で79%が削減されていたが(表4-1)、抵抗性には影響を与えず光の強さの影響は小さかった。

3) 光の波長

低温順化処理時に各種のセロファンで被覆した場合には、赤、青、緑ともに無処理区と比較して病斑長が短くなったが、色による差異は認められず(図4-6)、抵抗性に及ぼす光の波長の影響は小さかった。

低温順化処理後の温度条件が褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす影響

1) デハードニング

低温順化処理1週間の後、15℃暗黒条件に1週間置くと低温順化処理区と比較して有意ではないが病斑長が長くなり、無処理区とも有意差のない中間の値になった(図4-7)。さらに、15℃暗黒条件に2週間置くと病斑長は無処理と同程度の長さになった。このことから低温順化処理により高くなった抵抗性は、その後のデハードニング条件により低くなった。

2) 低温暗黒処理

低温順化処理1週間の後、積雪下を模した0.5℃、暗黒条件に2週間置くと病斑長が長くなり、低温順化処理区と比較しても、無処理区と比較しても有意差のない中間の値になった(図4-8)。さらに0.5℃、暗黒条件に4週間置くと病斑長は無処理区よりも有意に長くなったことから、

低温順化により高まった抵抗性は積雪下のような低温暗黒条件に置かれることで低くなった。

考察

褐色雪腐病拡大抵抗性が増加するために必要な低温順化処理期間について検討したところ、2℃、12時間日長条件で3日間では不十分であり、7日間が必要であった(図4-1)。Nakajima and Abe (1996) は、コムギの紅色雪腐病抵抗性について検討し、1週間の低温順化処理で抵抗性が増加することを報告している。また、Arsvoll (1974) もチモシー、メドーフエスクを供試して同様に1週間の低温順化処理で紅色雪腐病、雪腐褐色小粒菌核病、雪腐黒色小粒菌核病、雪腐大粒菌核病の抵抗性が増加することを観察している。このことから、雪腐病拡大抵抗性の増加は低温順化処理を7日程度行うことで起こると考えられた。ミノリムギでは低温順化処理期間が14日では、7日より抵抗性が有意に増加したが、最初の7日間に比べ、次の7日間での抵抗性の増加程度は小さく、さらに低温順化処理期間を28日にしても抵抗性の増加は認められなかった。一方、耐雪性高のミユキオオムギを用いた場合には、抵抗性は低温順化処理期間7日で増加し、処理期間を14日以上にしても増加は認められなかった(図4-2)。この品種間の差はさらに実験を繰り返して確認する必要がある。Nakajima and Abe (1996) のコムギを供試した試験では、低温順化処理期間を1週間から5週間と変化させても、その抵抗性の差は小さいことを報告している。また、Arsvoll (1974) も低温順化処理期間1週間と3週間では有意差がないことを報告している。一方、Gaudet and Chen (1987) は、cottony snow moldの抵抗性と低温順化処理期間の関係について検討し、供試するコムギの葉齢によって違い、生育期間5週間のコムギでは低温順化処理期間2週間から16週間まで抵抗性に差異が認められないが、生育期間が2.5週以下の若いコムギでは低温順化期間が10週間まで抵抗性が高くなることを報告している。オオムギにおいても雪腐病抵抗性が植物のエイジに大きく影響されることを観察しており(第3章)、低温順化処理の効果も植物のエイジにより変化する可能性がある。

低温順化処理では低温と光が必要であるが、その光条件と雪腐病抵抗性と関係について検討した報告は少な(Arsvoll 1974, Nakajima and Abe 1996)、特に、明条件の日数と、光の波長の影響について検討した報告は見られない。本試験で低温順化処理期間中の明条件の日数を比較したところ、低温順化処理7日間の全期間を12時間日長の明条件にした時に褐色雪腐病拡大抵抗性が有意に増加したが、明条件が短い場合には抵抗性は増

加しなかった (図 4-4). 一方, 7 日間の明条件の光の強さと波長は, 抵抗性に影響しなかった (図 4-5, 6). 色つきのセロファンで植物体を覆った場合には, 植物に到達する光の波長が変わるとともに光の強さも変わり, 寒冷沙被覆よりも低い光量の場合もあったが (表 4-1), それでも被覆しない区と抵抗性の差異はなく, 無処理区に比べて高かった. 低温順化処理時の光の強さに関して, Nakajima and Abe (1996) はコムギの紅色雪腐病抵抗性は強い光で高くなる傾向を示したことを報告している. また, Arsvoll (1974) はチモシー, メドーフェスクの紅色雪腐病, 雪腐褐色小粒菌核病, 雪腐黒色小粒菌核病, 雪腐大粒菌核病について強光下で抵抗性が高くなることを報告しており, 本試験の結果とは一致しない. この原因として, 雪腐病菌の種類と寄主の違いが考えられる. また, 雪腐病抵抗性の測定方法の違いも関係していることが考えられる. 本試験では病斑長を測定しているのに対し, Nakajima and Abe (1996) や Arsvoll (1974) は, 菌を接種し, 一定の接種期間をおいて被害を起こさせた後再生させて生存個体数や再生量を観察する方法で行っている. そのため, 光の強さは再生の基質やエネルギーとしての光合成産物の蓄積に関与している可能性がある.

本試験の結果, 褐色雪腐病拡大抵抗性には光の強さが影響せず, 明条件の日数が影響したことから, 抵抗性に及ぼす低温順化中の光の役割は, エネルギーや再生の基質としての糖の蓄積作用とは考えにくく, 色素によるシグナル伝達 (Crosatti ら 1999) の可能性が考えられる.

低温順化処理後に置かれる温度条件によって, 褐色雪腐病拡大抵抗性は大きく変化した. 低温順化処理によって高まった抵抗性は, 15℃暗黒条件に置くことでデハードニングして低くなり, 2 週間で低温順化処理前と同等になった. デハードニングによる雪腐病抵抗性の変化については, Tronsmo (1985) がチモシーを供試し, 雪腐黒色小粒菌核病の抵抗性が 2 週間のデハードニングでは低くならず, 耐凍性が同様の条件で低くなるのとは違う反応を示すことを報告しており, 本研究の結果とは一致しないが, この原因については明らかではなかった.

一方, 低温順化処理後に積雪下と同様の低温暗黒条件に 2 週間置かれると, 抵抗性は低くなって低温順化前と同等となり, さらに, 4 週間置かれると低温順化前よりも抵抗性が低くなった. 中島 (1998) は低温順化後に積雪下の条件を模した 60 日間 0.75℃暗黒条件に置くことで, 紅色雪腐病の拡大抵抗性が減少することを報告している. これらの結果は積雪下と同様の条件に置くことで抵抗性が低くなることを示している.

本試験の低温順化処理期間を変えた試験において, オオムギの褐色雪腐

病拡大抵抗性と耐凍性の間には 0.1%レベルで有意な正の相関関係が見られた (図 4-3). Arsvoll (1974) は, 低温順化処理の条件を変えた試験において, チモシー, メドーフエスクの紅色雪腐病, 雪腐褐色小粒菌核病, 雪腐黒色小粒菌核病, 雪腐大粒菌核病の 4 つの被害程度の平均値と凍害の間には高い相関があることを報告している. Gaudet and Chen (1987) は, コムギの Cottony snow mold の抵抗性と耐凍性の中に相関関係があることを報告している. また, 天野 (1987) は北海道において耐凍性の異なる 25 品種・系統の秋播コムギを供試して, 紅色雪腐病, 雪腐褐色小粒菌核病, 雪腐黒色小粒菌核病では有意な相関は認められないが, 雪腐大粒菌核病被害と凍害の間には高い正の相関が認められることを報告している. さらに, Abe and Matsumoto (1981) は, 品種間の比較試験においてオーチャードグラスの雪腐黒色小粒菌核病抵抗性と耐凍性の中に相関があることを報告しており, これらの結果は雪腐病抵抗性と耐凍性には何らかの関係があることを示唆している. 雪腐病は生物的ストレスであり, 凍害は非生物的ストレスであることから, 両者に対する抵抗性の機構は同一のものとは考えにくい. しかし, 本試験でも見られたように, 低温順化処理による抵抗性の増加は, 雪腐病抵抗性においても, 耐凍性においても類似して起こることから, 両者の抵抗性を誘導するシグナル伝達については共通部分がある (吉田ら 1998) ことが考えられる.

表4-1 各種被覆材の低温順化時における光量子フラックス密度と削減率

処理	光量子フラックス密度 ($\mu \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	削減率 (%)
低温順化(無被覆)	95	-
白寒冷紗	51	46
黒寒冷紗	41	57
黒寒冷紗2重	20	79
透明セロファン	68	28
赤セロファン	43	55
緑セロファン	8	92
青セロファン	11	88

光量子センサー(koito iks-27/101)による測定

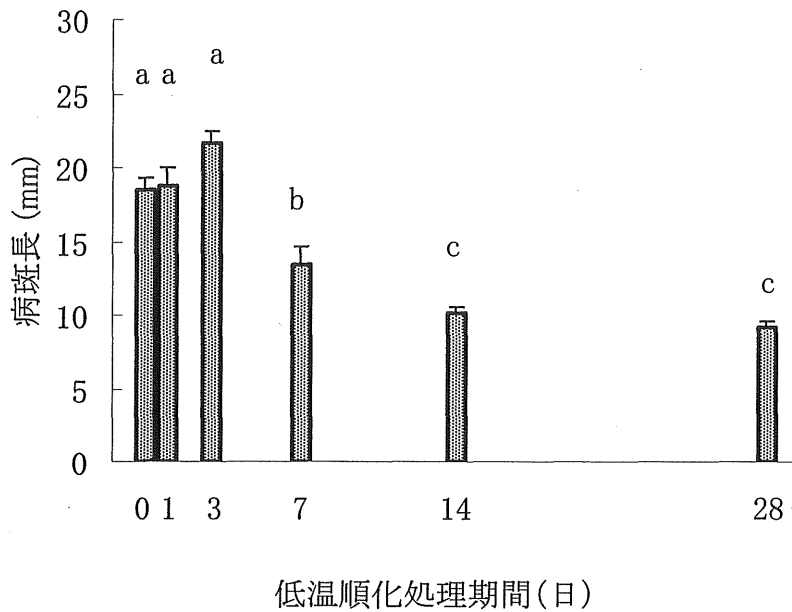


図4-1 ミノリムギの褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす低温順化处理期間の影響。
 縦棒は標準誤差 (n=12) を示す。
 同一のアルファベット間にはTukeyの方法で5%レベルで有意差のないことを示す。

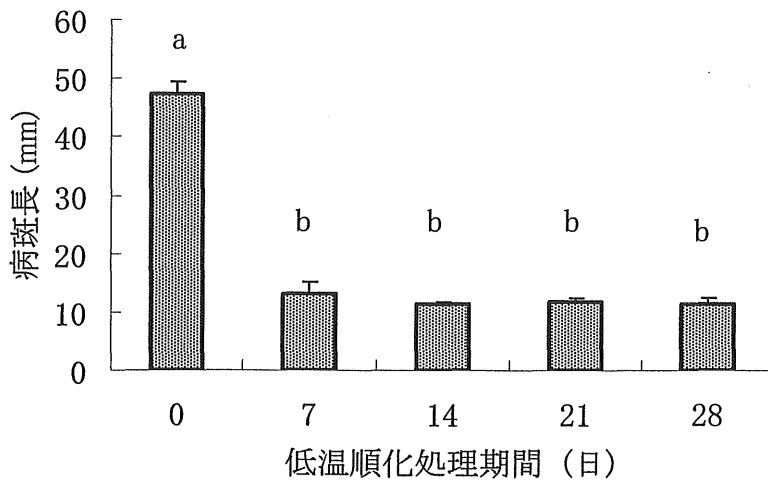


図4-2 ミユキオオムギの褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす低温順化处理期間の影響。
 縦棒は標準誤差 (n=12) を示す。同一のアルファベット間にはTukeyの方法で5%レベルで有意差のないことを示す。

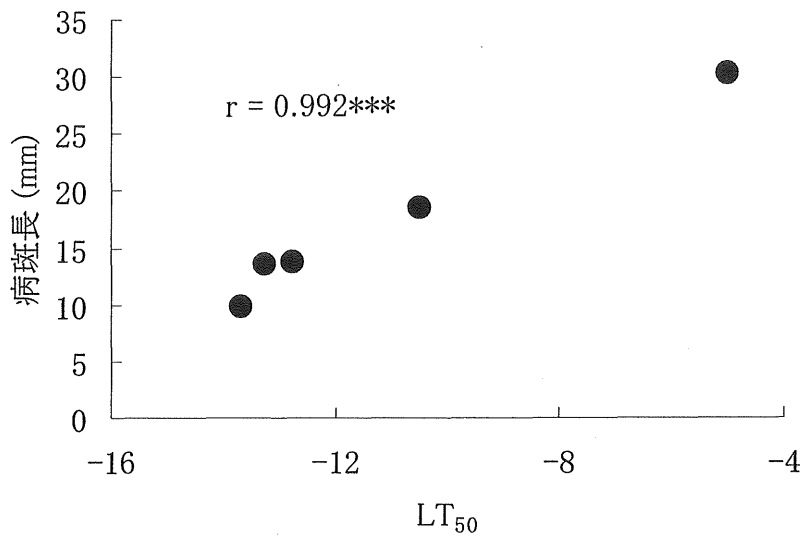


図4-3 ミノリムギの褐色雪腐病拡大抵抗性と耐凍性の関係。

LT₅₀ 50%致死温度. ***: 危険率0.1%で有意.

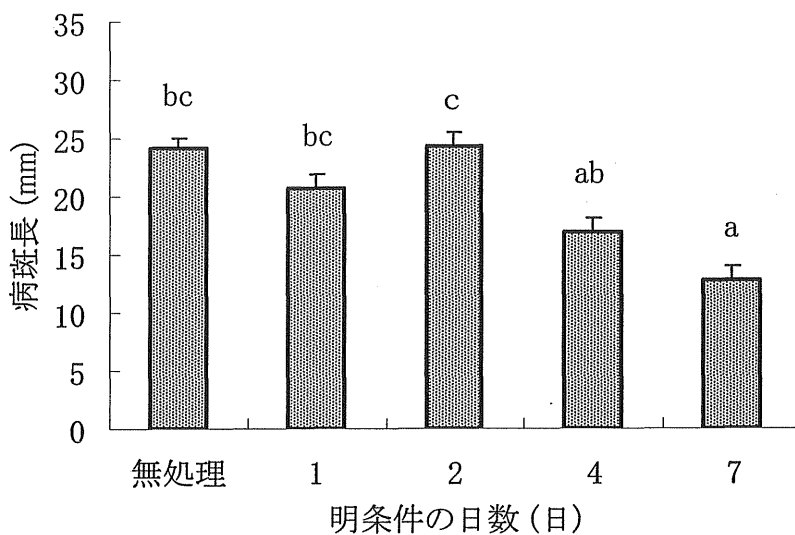


図4-4 ミノリムギの7日間の低温順化处理のうち明条件の日数が褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす影響。縦棒は標準誤差 (n=12) を示す。同一のアルファベット間にはTukeyの方法で5%レベルで有意差がないことを示す。

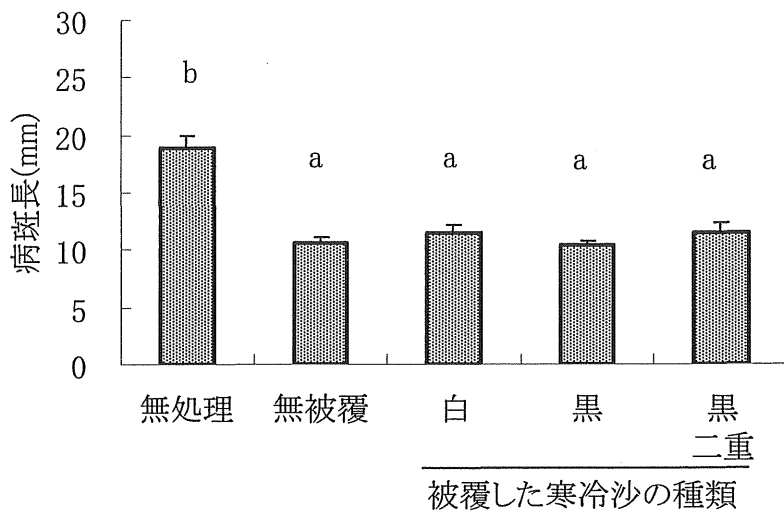


図4-5 ミノリムギの低温順化处理時の被覆が褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす影響。
縦棒は標準誤差 (n=12) を示す。同一のアルファベット間にはTukeyの方法で5%レベルで有意差がないことを示す。

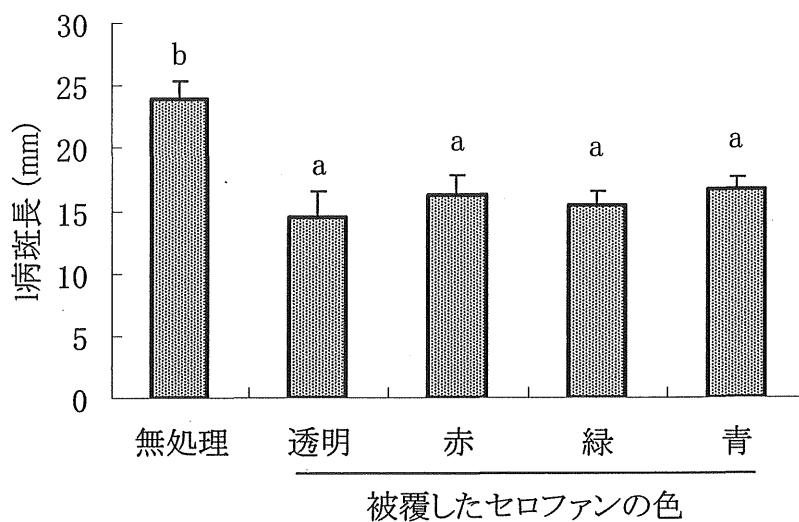


図4-6 ミノリムギの低温順化处理時に被覆したセロファンの色が褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす影響。
縦棒は標準誤差 (n=12) を示す。同一のアルファベット間にはTukeyの方法で5%レベルで有意差がないことを示す。

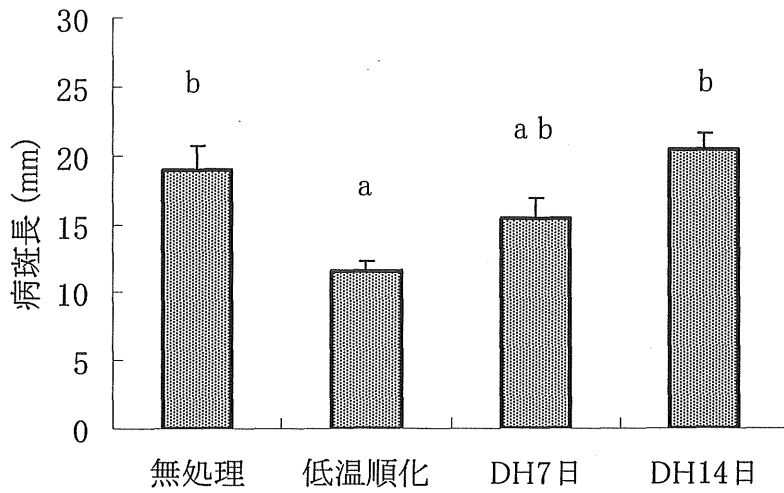


図4-7 ミノムギの低温順化後のデハードニング (DH) が褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす影響
縦棒は標準誤差 (n=12) を示す. 同一のアルファベット間にはTukeyの方法で5%レベルで有意差がないことを示す.

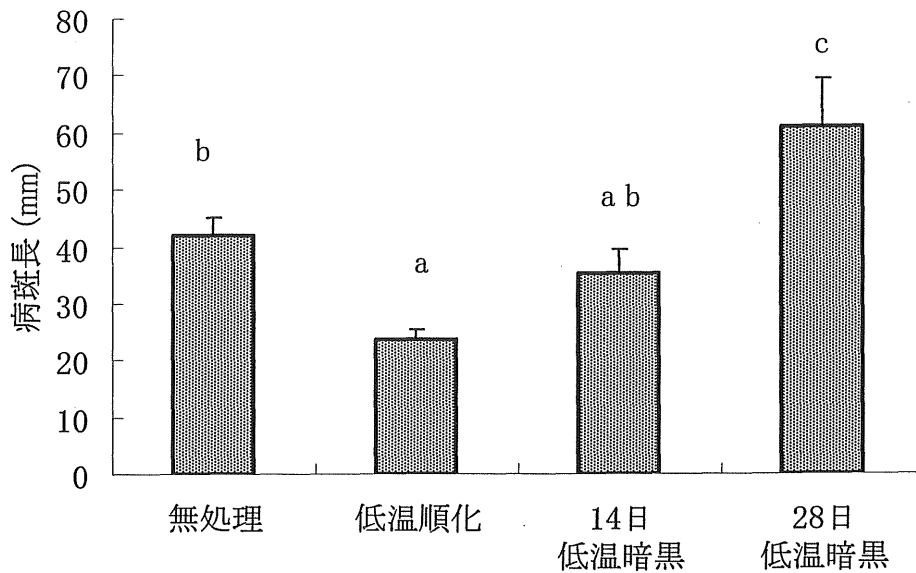


図4-8 ミノムギの低温順化後の低温暗黒処理が褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす影響
縦棒は標準誤差 (n=12) を示す. 同一のアルファベット間にはTukeyの方法で5%レベルで有意差がないことを示す.

第5章 植物ホルモン処理による褐色雪腐病拡大抵抗性の変化

植物ホルモンはストレス耐性に関係することが知られており、特にアブシジン酸（以下 ABA）は耐凍性などの冬季に起きるストレスに対する抵抗性でも重要な役割を演じると考えられている（Levitt 1980, Gusta ら 2005）。また、ジベレリン（以下 GA）も耐凍性に関与する可能性が示唆されている（Irving and Lanphear 1968）。耐凍性と同様に雪腐病抵抗性は低温順化により高まることが知られており（Nakajima and Watanabe 2001）、耐凍性と雪腐病抵抗性には共通点があることから、植物ホルモンが雪腐病抵抗性に関与している可能性がある。さらに植物の耐病性には、サリチル酸（以下 SA）、ジャスモン酸（以下 JA）、エチレンが影響していることが指摘されており（白石ら 2001, 太田 2002, 神谷 2002, 森 2002）、雪腐病抵抗性にも関与していることが考えられる。しかし、これまでに雪腐病抵抗性に及ぼす植物ホルモンの影響については検討されていない。

そこで、各種の植物ホルモンをオオムギの葉面に散布し、植物ホルモンが褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす影響を調査した。さらに、効果があった ABA と SA については、病害抵抗性に関与しているフェニルアラニンアンモニアリアーゼ（以下 PAL）の阻害剤、アミノオキシ酢酸（以下 AOA）を散布した直後に ABA あるいは SA を散布した場合の効果についても検討した。

材料と方法

供試作物の栽培方法と植物ホルモンの葉面散布処理

試験にはオオムギ品種ミノリムギを使用し、東北農業試験場畑地利用部の最低温度を 15℃ に設定したガラス室内で 3 週間栽培して、第 3 葉が完全に展開した個体を使用した。

散布した植物ホルモンは ABA, SA, JA, エチレン発生剤のエテホン, GA, オーキシシン及びサイトカイニンである。展着剤として 0.5% の tween20 を含む所定濃度の植物ホルモン溶液を 1 個体あたりおよそ 2mL 葉面散布した。植物ホルモンの処理は午前 10 時頃に実施した。ABA は天然型の (s)-(+)-ABA（東レ）を使用し、濃度を 1, 10, 100 μ M とした。SA の濃度は 10, 100, 1000 μ M, JA の濃度は 0.1, 1, 10mM とした。エチレンの発生剤としてエテホンを使用し、濃度を 0.1, 1, 10mM とした。GA は GA₃ を使用し、濃度を 10, 100, 1000 μ M とした。オーキシシンはナフタレン酢酸（以下 NAA）を使用し、濃度を 10, 100, 1000 μ M, サイトカイニンはベンジルアデニン（以下 BA）を使用し、濃度を 10, 100, 1000 μ M とした。

試験は、植物ホルモン毎に実施し、対照として無処理区と低温順化処理区を設けた。低温順化処理は 2℃、12 時間日長で 1 週間行った。予備試験において濃度 0、すなわち展着剤のみで植物ホルモンを含まない溶液を散布した場合と無処理区とでは同等の褐色雪腐病拡大抵抗性であることを確認したので、対照には濃度 0 を含めなかった。

効果の顕著だった ABA と SA については、前日処理した場合の褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす影響を確認した。処理濃度を ABA については 1, 10 μM とし、SA については 100, 1000 μM とした。

PAL の阻害剤である AOA が ABA, SA による褐色雪腐病拡大抵抗性の増加に及ぼす影響について検討した。0.5% の tween20 を含む AOA (濃度 10mM) を散布した後、およそ 1 時間後に ABA 10 μM 、あるいは SA 100 μM を散布して、AOA 無処理区と褐色雪腐病拡大抵抗性を比較した。

褐色雪腐病拡大抵抗性の測定法

雪腐病菌の接種には、植物ホルモンの散布後 3~5 時間室温に置いて散布液が乾いた葉身を用いた。第 2 章で開発した方法に従い、付傷処理し、褐色雪腐病菌 HP9102 菌株の含菌寒天片を付着させ、0.5℃ 暗黒条件に 1 週間置床することにより実施した。その後、最低温度を 15℃ に設定したガラス室に植物体を移し、3 日後に病斑長を測定して褐色雪腐病拡大抵抗性を調査した。

結果

ABA の葉面散布によって、オオムギの褐色雪腐病拡大抵抗性が有意に増加した (図 5-1)。ABA 10 μM 処理における病斑長が最も短かったが、1 から 100 μM の ABA 濃度の差は有意ではなかった。ABA 処理区は、低温順化処理区に比べると病斑長が有意に長く、ABA の葉面散布処理は低温順化処理の抵抗性を増加させる効果よりも低かった。接種 1 日前に ABA 葉面散布を行った場合には抵抗性の増加が認められず、接種当日に散布を行った場合に抵抗性の増加が有意となった (図 5-2)。

SA の葉面散布によっても抵抗性が増加する傾向が認められた (図 5-3)。SA の葉面散布処理区は無処理区と比較して、有意ではないものの病斑長が短くなり、低温順化処理区とも有意差がなかった。10 μM から 1000 μM まで濃度の差は認められなかった。接種 1 日前に SA 葉面散布を行った場合には抵抗性の増加が認められず、接種当日に SA 葉面散布を行った場合には無処理と比較して抵抗性の増加が認められた (図 5-4)。

JA 処理による抵抗性の増加は認められなかった (図 5-5)。また、エチレンの発生剤であるエテホンによる抵抗性の増加も認められず、逆に 10mM

処理により病斑長が有意に長くなり、抵抗性の減少が認められた（図 5-6）、 GA_3 の葉面散布処理区の病斑長は無処理区と差がなく（図 5-7）、また、NAA（図 5-8）及び BA（図 5-9）の葉面散布区の病斑長も無処理区と有意な差は認められなかった。

褐色雪腐病拡大抵抗性を高める効果が認められた ABA と SA について、PAL の阻害剤である（小川・天笠 1998）AOA 処理直後に散布して、褐色雪腐病拡大抵抗性の変化を検討した結果、ABA は、AOA 無処理の場合には前述のように抵抗性を増加させたが、AOA 処理後に散布した場合は抵抗性の増加は認められなかった（図 5-10）。また、SA でも同様な結果になった（図 5-11）。

考察

ABA と植物の耐病性の関係について論じた総説において、Flors ら（2005）は ABA 処理により耐病性に関与する遺伝子発現や酵素活性が抑制され耐病性が減少する場合と、病原菌の侵入を妨げるパピラのカロース蓄積が促進され耐病性が増加する場合があるが、寄主となる植物と病原菌の種類によりその関係は違ふと述べている。本試験の結果からオオムギにおいて、ABA の葉面散布処理により褐色雪腐病拡大抵抗性が増加することが明らかとなった。ABA には気孔を閉じる作用があり（川上 2002）、この作用によって病害の侵入抵抗性が増加する可能性が指摘されている（Flors ら 2005）。褐色雪腐病も気孔を通じて侵入することは第 3 章 3 の結果からも明らかであるが、本試験では傷を付けた部位に接種して侵入抵抗性の要因を排除し、拡大抵抗性について測定を行っていることから、ABA の気孔を閉じる作用は本試験結果には関与していないものと考えられる。なお、ABA の処理は接種当日に行った場合に効果があり、前日に行った場合には効果が認めなかったことから、1 週間以上の処理が必要な低温順化処理とは異なり、短時間に効果が現れたと言える。

ABA は耐凍性に深く関係する植物ホルモンとして知られ（Levitt 1980, Gusta ら 2005）、ABA 処理によって耐凍性が増加することが観察されている（Irving and Lanphear 1968, Gusta ら 1982, Lalk and Dorffling 1985, Veisz ら 1996）。オオムギでも ABA 処理により耐凍性が増加することが報告されている（Bravo ら 1998）。一方、第 4 章で示したように耐凍性は耐雪性、雪腐病抵抗性と高い相関関係があり、耐凍性と雪腐病抵抗性は密接に関連していることから（Gaudet and Chen 1987, Arsvoll 1974）、雪腐病抵抗性、耐凍性と ABA の 3 者は相互に関連しているものと考えられた。

SA も病害抵抗性を誘導する植物ホルモンであることが知られており

(瀬尾ら 1997), オオムギにおいてもうどんこ病抵抗性やフザリウムによる病害抵抗性を誘導することが報告されている (Walters ら 1993, Wisniewska and Chelkowski 1999). 本試験の結果から SA はオオムギの褐色雪腐病拡大抵抗性に影響することが明らかとなった. また, SA はコムギにおいて耐凍性を増加させるとする報告 (Tasgin ら 2003) もあることから, SA の雪腐病抵抗性への影響は耐凍性増加とともに起こっている可能性がある.

JA は病原菌の感染により誘導され, その JA が病害抵抗性を引き起こすことが知られており (太田 2002), オオムギでも JA によってうどんこ病に対する抵抗性が増加することが報告されている (Schweizer ら 1993). しかし, 本試験では JA 散布によって褐色雪腐病拡大抵抗性は増加しなかった. また, エチレンも傷害抵抗性, 病害抵抗性に関与するホルモンである (森 2002). 特に JA とエチレンは密接に関係すると考えられ (瀬尾ら 1977), エチレンが病害抵抗性に関与するタンパク質や遺伝子の発現を促すことがオオムギでも報告されている (Muradov ら 1993). しかし, 本試験の結果ではエチレンには抵抗性を増加させる作用は認められず, むしろ, エチレン 10mM 処理で抵抗性がわずかに減少した. 抵抗性減少の原因については明らかではないが, 外生のエチレンによってさび病を接種したコムギで抵抗性が罹病生に変化することが報告されており (谷・山本 1990), エチレンの病害抵抗性に及ぼす作用については十分に明らかになっていない部分がある.

SA は褐色雪腐病拡大抵抗性を増加させたが, JA, エチレンは効果が認められなかった. SA, JA, エチレンはいずれも病害抵抗性, 傷害抵抗性と深く関わっており, SA は PR (Pathogenesis related) タンパク質を, JA, エチレンも SA に誘導されるタンパク質とは違う PR タンパク質を誘導することが知られている (瀬尾ら 1997, Jayaraj ら 2004). 紅色雪腐病抵抗性にはキチナーゼ, β -1,3-グルカナーゼなどの PR タンパク質が関与することがコムギを用いて明らかにされていることから (Ergon ら 1998), オオムギの褐色雪腐病抵抗性に関しては SA により誘導される PR タンパク質が関与している可能性が考えられる.

GA の散布処理によりカエデの耐凍性が減少し, GA の生合成を阻害するビーナインの散布処理により耐凍性が高まることが報告されている (Irving and Lanphear 1968). また, GA の散布処理でナタネの耐凍性を低めることが報告されている (Kacperska-Palacz ら 1975). しかし, 本試験では, GA によるオオムギの褐色雪腐病拡大抵抗性への影響は認められず, オーキシン, サイトカイニンも関与は認められなかった.

ABA 処理の効果が PAL 阻害剤である AOA 処理により打ち消されたことから、ABA 処理による褐色雪腐病拡大抵抗性の増加は PAL 活性の増加により引き起こされたものと考えられる。PAL はフェニルプロパノイド生合成の初期段階での律速酵素であり (吉田・南川 1978)、耐病性に深く関与しているファイトアレキシンやリグニンの生合成と関わっている (山田 1997)。PAL の阻害剤である AOA とアミノオキシプロピオン酸を用いて、オオムギのうどんこ病に対する親和性が変化することが報告されており (Arakawa ら 1997)、PAL 活性がオオムギの耐病性に関与していることが示唆されている。しかし、ダイズでは ABA が PAL 活性を抑制し耐病性を減少させること (Ward ら 1989)、トマトでも ABA の発現を抑制させた場合に PAL 活性が上昇し耐病性が高まることが報告されており (Audenaert ら 2002)、本試験の結果と矛盾することから、さらに検討を行う必要がある。一方、SA は PAL 活性を増加することがコムギでも報告されており (Kanade and Patil 2004)、SA の褐色雪腐病抵抗性増加の原因は PAL 活性増加による可能性がある。

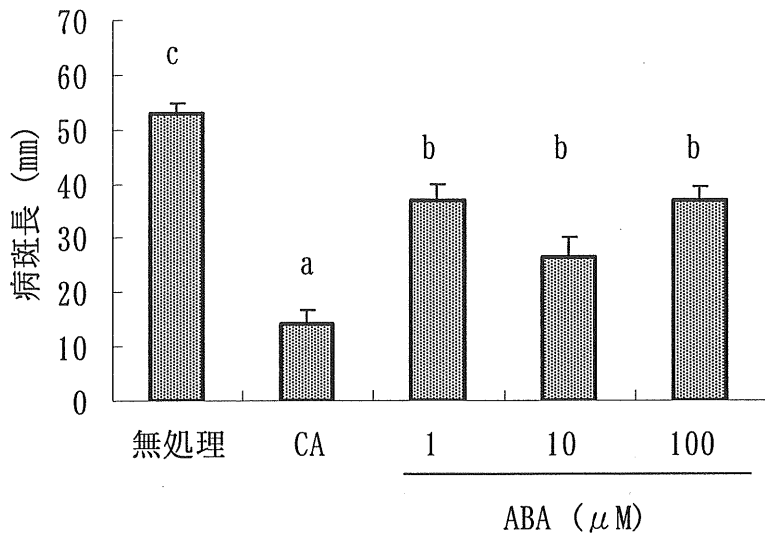


図5-1 アブシジン酸 (ABA) の葉面散布処理がオオムギの褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす影響。縦棒は標準誤差 (n=9) を示す。同一のアルファベット間にはTukeyの方法で5%レベルで有意差がないことを示す。CAは低温順化处理。

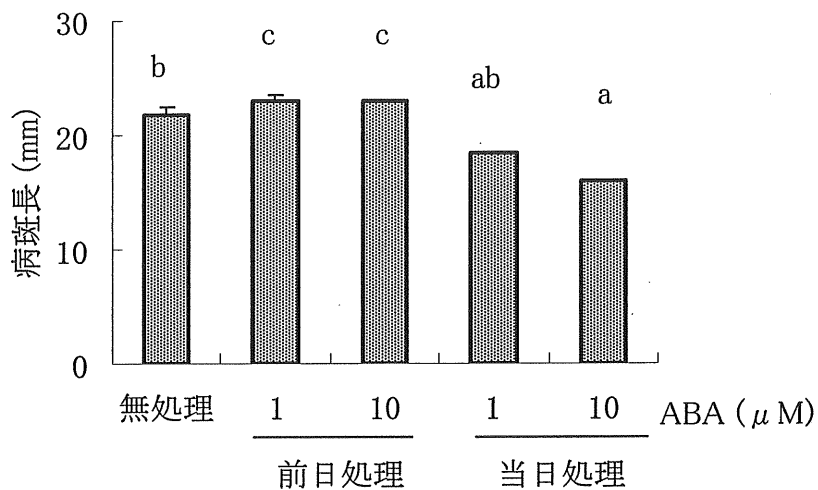


図5-2 アブシジン酸 (ABA) の葉面散布処理時期と濃度がオオムギの褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす影響。縦棒は標準誤差 (n=12) を示す。同一のアルファベット間にはTukeyの方法で5%レベルで有意差がないことを示す。

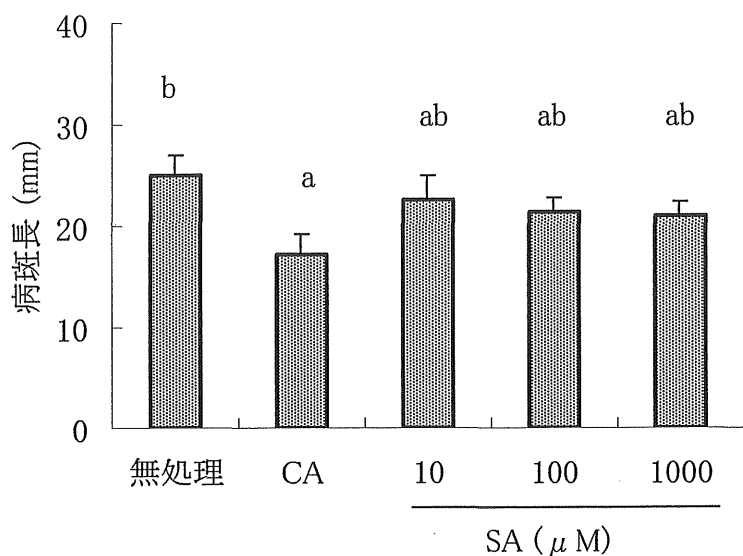


図5-3 サリチル酸 (SA) の葉面散布処理がオオムギの褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす影響。縦棒は標準誤差 (n=12) を示す。同一のアルファベット間にはTukeyの方法で5%レベルで有意差がないことを示す。CAは低温順化処理。

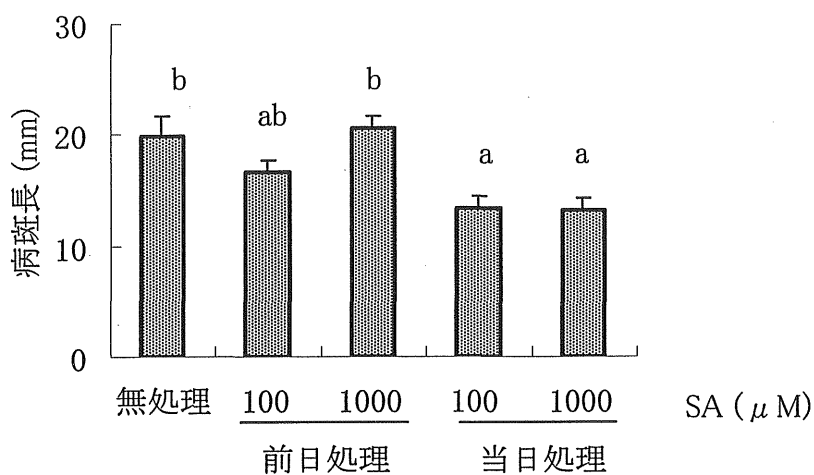


図5-4 サリチル酸 (SA) の葉面散布処理時期と濃度がオオムギの褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす影響。縦棒は標準誤差 (n=12) を示す。同一のアルファベット間にはTukeyの方法で5%レベルで有意差がないことを示す。

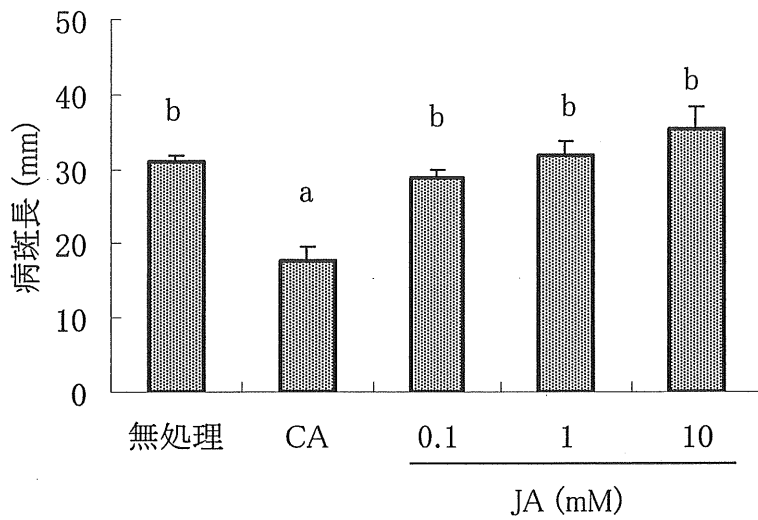


図5-5 ジャスモン酸 (JA) の葉面散布処理がオオムギの褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす影響。縦棒は標準誤差 (n=12) を示す。同一のアルファベット間にはTukeyの方法で5%レベルで有意差がないことを示す。CAは低温順化処理。

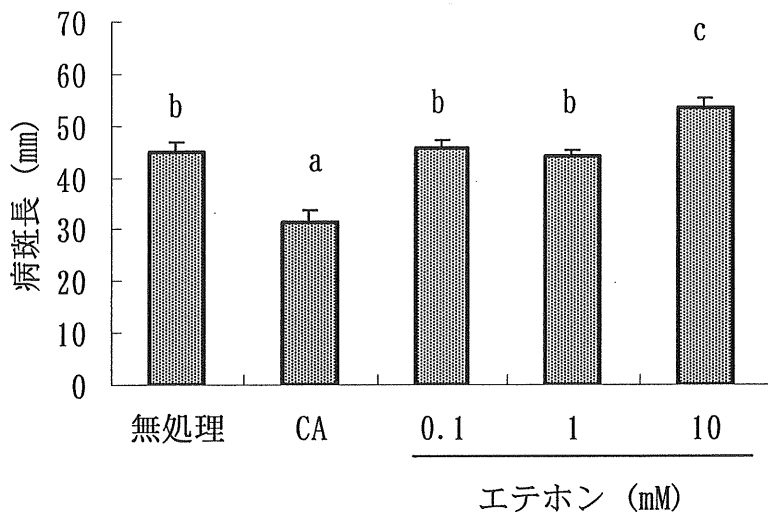


図5-6 エテホンの葉面散布処理がオオムギの褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす影響。縦棒は標準誤差 (n=12) を示す。同じアルファベット間にはTukeyの方法で5%レベルで有意差がないことを示す。CAは低温順化処理。

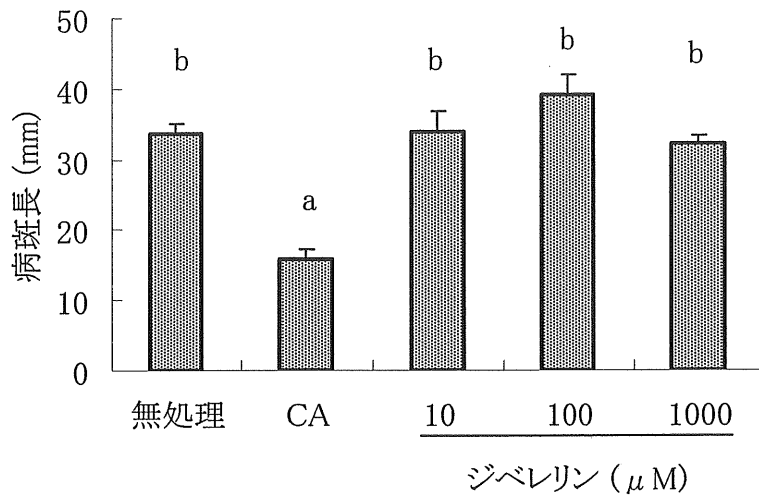


図5-7 ジベレリンの葉面散布がオオムギの褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす影響。
 縦棒は標準誤差 (n=12) を示す。同一のアルファベット間にはTukeyの方法で5%レベルで有意差がないことを示す。CAは低温順化处理。

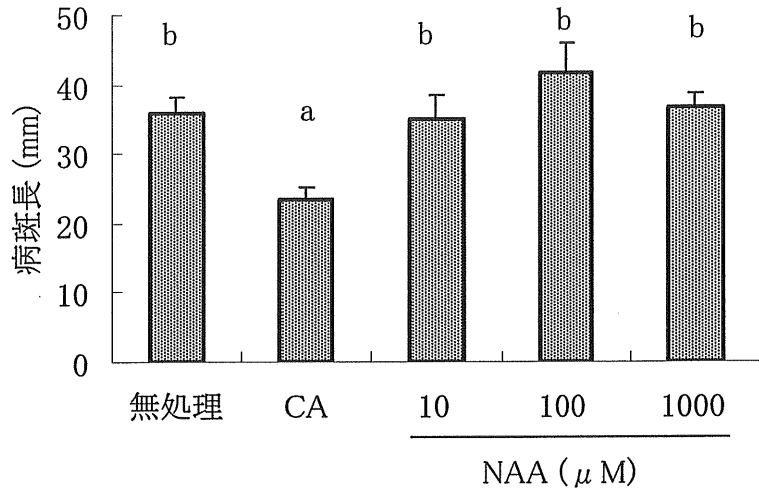


図5-8 ナフタレン酢酸 (NAA) の葉面散布処理がオオムギの褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす影響。
 縦棒は標準誤差 (n=12) を示す。同一のアルファベット間にはTukeyの方法で5%レベルで有意差がないことを示す。CAは低温順化处理。

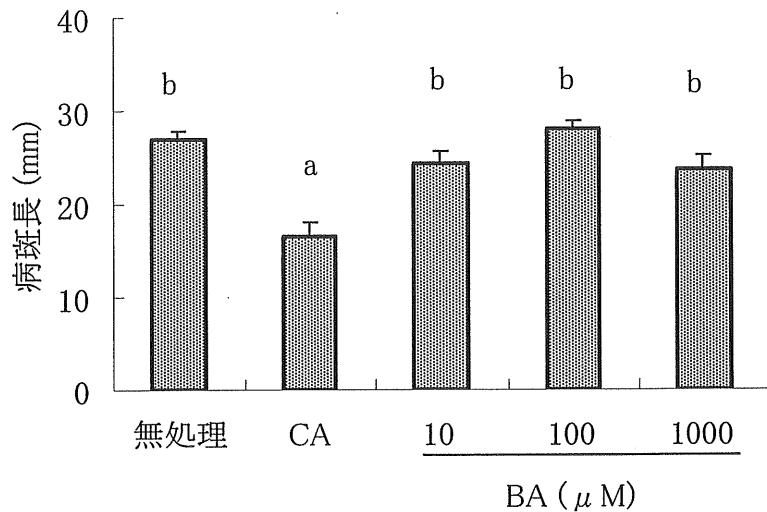


図5-9 ベンジルアデニン (BA) の葉面散布処理がオオムギの褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす影響。
縦棒は標準誤差 (n=12) を示す。同一のアルファベット間にはTukeyの方法で5%レベルで有意差がないことを示す。CAは低温順化处理。

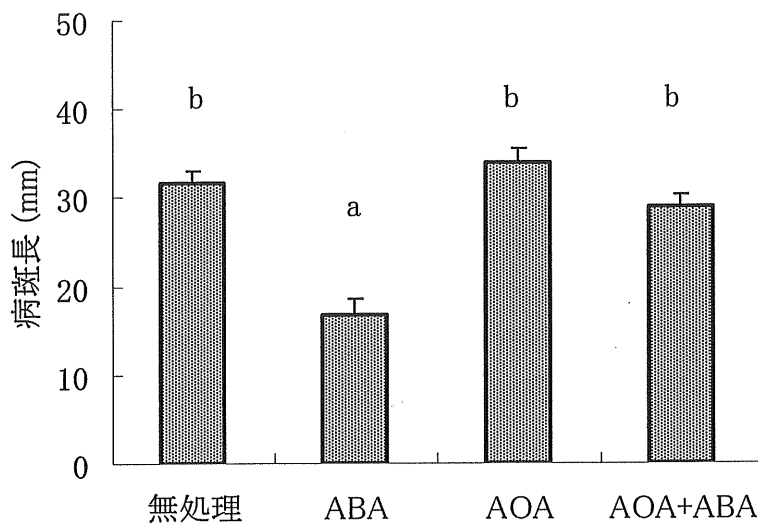


図5-10 アブシジン酸 (ABA), アミノオキシ酢酸 (AOA) の葉面散布処理がオオムギの褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす影響。
縦棒は標準誤差 (n=12) を示す。同一のアルファベット間にはTukeyの方法で5%レベルで有意差がないことを示す。

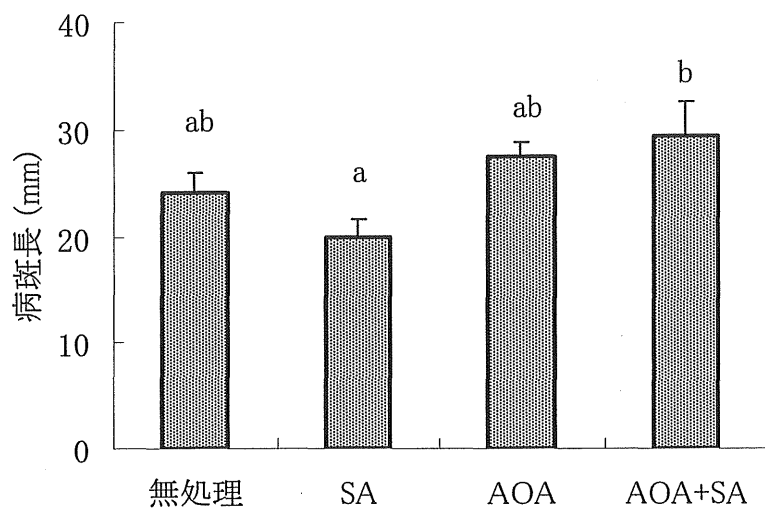


図5-11 サリチル酸 (SA), アミノオキシ酢酸 (AOA) の葉面散布処理がオオムギの褐色雪腐病拡大抵抗性に及ぼす影響.

縦棒は標準誤差 (n=12) を示す. 同じアルファベットは Tukeyの方法で5%レベルで有意差がないことを示す.