

学 位 論 文 題 名

コムギの紅色雪腐病抵抗性に関する研究

学位論文内容の要旨

コムギ雪腐病は積雪寒冷地帯における秋播コムギ栽培の最大の生産阻害要因である。本研究は東北地域で最も重要な紅色雪腐病に対する抵抗性検定法を開発し、抵抗性に及ぼす環境要因と抵抗性の機作を明らかにする目的で行ったものである。

紅色雪腐病菌 (*Microdochium nivale*) は積雪下で植物を侵害するが、その菌糸生育適温は10-20°Cの常温域にある。本菌は他の土壤微生物との競合に弱く、それら微生物の活性が低い積雪下で植物を利用する生態的特徴を持つ。この特徴を利用して、他の土壤微生物の影響を排除して、常温域で接種し本病に対する抵抗性を評価する方法を検討した。滅菌土壌を用いて、土壤微生物の活性を下げた状態でコムギを育苗し、ふすま・バーミキュライトで培養した接種源を土壌表面に散布し、吸水した脱脂綿で被覆し、ふたをした。接種後の静置温度を15-18°Cの常温域に設定すると、判定までの日数を大幅に短縮することができることを明らかにした。本接種法を常温接種法と命名した。

また、接種後の処理日数を数段階設けることにより、50%枯死日数 (LI₅₀) で品種の雪腐病抵抗性を定量的に表現した。こうして得られたLI₅₀の値と圃場試験で得られた抵抗性の値には高い相関があり、本法の実用性を実証した。LI₅₀は使用する菌株の病原力、供試植物の雪腐病抵抗性、および静置温度により変化するので、試験目的に応じた静置温度を選ぶことにより抵抗性を正確に評価できることを指摘した。コムギと紅色雪腐病菌の系では、18°Cでは静置日数が短かすぎ微妙な抵抗性の差を検出しにくいので、15°Cが適当であった。

抵抗性の変化を生態的にとらえる目的で、LI₅₀を指標とし根雪前の抵抗性を7年間調査し、その間の気象データとの関連を解析した。その結果、播種から根雪までの積算気温と密接な関係があったが、総日射量とは相関がないことを明らかにした。抵抗性極強品種の「PI173438」は積算気温が上がるとLI₅₀が急激に上昇したが、抵抗性弱の「フクホコムギ」ではごく僅かしか上昇しなかった。つぎに播種から根雪まで定期的に紅色雪腐病抵抗性の変化を調べた。その結果、播種後しばらくの間は品種間差が検出できなかったが11月中下旬以降になり、日平均気温が5°C以

下に低下すると「PI173438」は抵抗性が急に上昇し、「ナンブコムギ」および「キタカミコムギ」との間に有意差がついた。しかし、両年次とも「キタカミコムギ」と「ナンブコムギ」では播種から根雪までの期間にわたり、抵抗性に差がないことを明らかにした。

積雪下における紅色雪腐病抵抗性の衰退過程を追跡した。その結果、各品種の抵抗性は埋雪期間が長くなるにしたがって低下したが、その程度は品種により異なった。「キタカミコムギ」の抵抗性の低下程度が「ナンブコムギ」よりも大きかった。「ナンブコムギ」は積雪ストレスに耐性であるため、根雪前の抵抗性が「キタカミコムギ」と同じであっても、融雪後の抵抗性が高く表れると推察された。以上の知見をもとに、播種から雪解けまでの紅色雪腐病抵抗性の変動を品種別に類型化して4つのタイプにまとめ、抵抗性進展曲線による生態的な分析から、品種の地域適応性が判定可能であると結論した。

抵抗性に及ぼす環境要因を明らかにするために、人工気象室を用いて紅色雪腐病抵抗性の発現に必要なハードニング温度を検討した。その結果、「PI173438」では6°C以下の低温処理を加えた場合のみ抵抗性発現が見られたが、14°C-8°C区では発現しなかった。「ナンブコムギ」では14°Cでは発現しなかったが、12°C以下の温度で抵抗性が発現した。しかし、4°C以下の低温処理でも12°C処理の場合と発現量は大きく、4°C以下では「PI173438」より発現量が少なかった。以上のことから、抵抗性が誘導される上限温度に品種間差があることを初めて明らかにした。つぎに抵抗性発現に必要なハードニング期間を検討した。その結果、2°Cのハードニング区では、抵抗性の上昇が短期間で終了し、その後漸増した。一方、6°Cのハードニング区では、最初の1週間の抵抗性の発現量が2°C区よりも少ないが、その後、直線的な上昇を続け、5週間後には2°C区よりも高い抵抗性となった。秋季に野外試験で観察された抵抗性の直線の上昇は人工気象室を用いた試験では6°Cのハードニング区と類似していることを明らかにした。抵抗性は人工気象室での初期生育期間が長くなるにつれて増加したが、初期生育2週間目の処理区は1週目の処理区よりも有意に低下した。その後、抵抗性は3-7週間にかけては直線的に増加し、品種間差は初期生育期間が長くなるにつれて大きくなることを明らかにした。

抵抗性の発現に必要な光強度と日長時間を検討した。抵抗性は2°Cのハードニング処理時に光がないと発現せず、光強度 $75\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ からみられ、 $150\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ で飽和に達し、日長時間と有意な相関関係がないことを明らかにした。以上のことから、抵抗性発現に光は必須であるが、制限要因にはならないと結論された。

以上の個体レベルの研究で得られた知見をもとに、抵抗性に関与する物質の存在が示唆され、その発現・衰退には3段階の過程があるとする仮説を立てた。すなわち、初期生育により蓄積された前駆物質がハードニングによりKey物質に変わり、

それが積雪下で消耗されることにより、最終的に融雪後の抵抗性の差として表れると推察した。

抵抗性の機作を解明するために紅色雪腐病菌の侵入過程を走査電顕で観察したところ、気孔侵入が主で、角皮侵入は観察されなかった。ハードニング無処理区で接種4日目から、ハードニング処理区では6日後から菌糸の侵入が認められた。葉への侵入開始までの時間に品種による差はなかった。また、凍結葉に本菌は侵入できず、気孔からの侵入頻度に品種間差がないことを明らかにした。葉身の病斑の長さにも品種間差がないことから、抵抗性の差は葉身では発現していないと結論された。積雪下におけるコムギ葉身のクロロフィルの分解はハードニング処理区のみでみられ、ハードニング無処理の場合には起こらないことを初めて明らかにした。ハードニング処理をして0.75°Cでインキュベートしたコムギの場合、 β -1,3-glucanase, chitinase, PR-1a, peroxidaseは、紅色雪腐病菌を葉の先端部に接種しただけで、病原菌が到達していない冠部にも誘導されることを明らかにした。これらは接種により、より早くより強く誘導されたが、ハードニング処理単独の無接種区でも誘導されることを示した。PR-1aは、ハードニング処理した抵抗性極強品種の「CI14106」で抵抗性弱品種の「Norstar」の場合と比較して、より強くより早く誘導され、この品種間差は無接種の場合とハードニング処理単独の場合でも確認された。

以上のことから、常温接種法の開発により抵抗性検定法が大きく改良され育種の効率化に貢献した。また LI_{50} による抵抗性の定量化が可能となり、抵抗性発現に関与する環境要因が定量的に解析され、抵抗性の機作の解明に繋がる現象が明らかになった。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 生 越 明

副 査 教 授 喜久田 嘉 郎

副 査 教 授 小 林 喜 六

学 位 論 文 題 名

コムギの紅色雪腐病抵抗性に関する研究

本論文は和文で記され、図28、図版14、表10を含む総頁数152からなり、8章をもって構成されている。

コムギ雪腐病は積雪地帯におけるコムギ栽培の最大の阻害要因である。本研究は東北地域で最も重要な紅色雪腐病に対する抵抗性検定法を開発し、抵抗性に及ぼす環境要因と抵抗性の機作を明らかにする目的で行ったものである。

紅色雪腐病菌は積雪下で植物を侵害するが、生育適温は10-20°Cの常温域にある。本菌は他の土壤微生物との競合に弱く、それら微生物の活性が低い積雪下で植物を利用する生態的特徴を持つ。この特徴を利用して、他の土壤微生物の影響を排除して常温域で接種し、本病に対する抵抗性を評価する方法を検討した。滅菌土壌を用いて、コムギを育苗し、接種源を土壌表面に散布し、吸水脱脂綿で被覆し、接種後の静置温度を15°Cに設定し、判定までの日数を大幅に短縮した。本接種法を常温接種法と命名した。

接種後の処理日数を数段階設けることにより、50%枯死日数(LI₅₀)で品種の雪腐病抵抗性を定量的に表現可能とした。こうして得られたLI₅₀の値と圃場試験で得られた抵抗性の値には高い相関があり、本法の実用性を実証した。

LI₅₀を指標とし根雪前の抵抗性を7年間調査し、その間の気象データとの関連を解析した。その結果、播種から根雪までの積算気温と密接な関係があったが、総日射量とは相関がないことを明らかにした。つぎに播種から根雪まで経時的に抵抗性の変化を調べた。その結果、播種後しばらくの間は品種間差が検出できなかったが11月中下旬以降になり、日平均気温が5°C以下に低下すると抵抗性極強品種の「PI173438」は抵抗性が急に上昇することを示した。

積雪下における抵抗性の衰退過程を追跡したところ、各品種の抵抗性は埋雪期間が長くなるにしたがって低下したが、その程度は品種により異なることを明らかにした。「ナンプコムギ」は積雪ストレスに耐性であるため、融雪後の抵抗性が高く

表れると推察された。以上の知見をもとに、播種から雪解けまでの紅色雪腐病抵抗性の変動を品種別に類型化して、抵抗性進展曲線による生態的な分析から、品種の地域適応性が判定可能であると結論した。

人工気象室を用いて抵抗性の発現に必要なハードニング温度を検討した。その結果、抵抗性が誘導される上限温度に品種間差があることを初めて明らかにした。つぎに抵抗性と初期生育期間の関係を検討したところ、初期生育2週間目の処理区は1週目の処理区よりも有意に抵抗性が低下したが、3-7週間にかけて直線的に増加し、品種間差は初期生育期間が長くなるにつれて大きくなることを明らかにした。

抵抗性の発現に必要な光強度と日長時間を検討した。その結果、抵抗性はハードニング処理時に光がないと発現せず、発現は光強度 $75\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ からみられ、 $150\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ で飽和に達し、日長時間と有意な相関関係がないことを明らかにした。これらのことから、抵抗性発現に光は必須であるが、制限要因にはならないと結論された。

つぎに抵抗性の機作を解明するために紅色雪腐病菌の侵入過程を走査電顕で観察したところ、気孔侵入が主で、角皮侵入は観察されなかった。また、凍結葉に本菌は侵入できず、気孔からの侵入頻度に品種間差がないことを明らかにした。葉身の病斑の長さにも品種間差がないことから、抵抗性の差は葉身では発現していないと結論された。積雪下におけるコムギ葉身のクロロフィルの分解はハードニング処理区のみでみられ、ハードニング無処理の場合には起こらないことを初めて明らかにした。ハードニング処理をしたコムギの場合、 β -1,3-glucanase, chitinase, PR-1a, peroxidaseは、紅色雪腐病菌を葉の先端部に接種しただけで、病原菌が到達していない冠部にも誘導されることを明らかにした。これらは接種により、より早くより強く誘導されたが、ハードニング処理単独の無接種区でも誘導されることを示した。PR-1aは、ハードニング処理した抵抗性極強品種の「CI14106」で抵抗性弱品種の「Norstar」の場合と比較して、より強くより早く誘導されることを明らかにした。

以上のことから、常温接種法の開発により抵抗性検定法が大きく改良され、育種の効率化に貢献するとともに、抵抗性発現に関与する環境要因が定量的に解析され、抵抗性の機作に新知見を加えた。

以上の研究成果は、本病の抵抗性検定法を大きく改良するとともに、抵抗性の機作に関する新知見を加えたものであり、学術上応用上貢献するところ大きく、高く評価される。よって審査員一同は、中島隆が博士（農学）の学位を受けるに十分な資格があるものと認めた。