

トウモロコシ南方さび病抵抗性の春播き接種検定法

誌名	九州農業試験場報告
ISSN	03760685
著者名	伊東,栄作 池谷,文夫 濃沼,圭一
発行元	農林省九州農業試験場
巻/号	33号
巻号補足	
掲載ページ	p. 1-10
発行年月	1998年1月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター

Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



トウモロコシ南方さび病抵抗性の春播き接種検定法

伊東栄作・池谷文夫・濃沼圭一

(1996年10月24日受理)

要 旨

伊東栄作・池谷文夫・濃沼圭一 (1998) トウモロコシ南方さび病抵抗性の春播き接種検定法. 九州農試報告 33: 1-10.

飼料用トウモロコシの晩播栽培で最重要病害となっているトウモロコシ南方さび病 (病原菌: *Puccinia polysora* UNDERW.) に対する抵抗性を春播き条件でより効率的に接種検定する方法を開発しようとした。

春播き接種検定は、4月上旬から中旬に播種し、6月上旬に4000個/mlに調整した夏胞子の懸濁液を1株当たり0.5mlずつ噴霧して接種する方法で行った。

まず、4つのF₁品種を供試し、春播き接種検定での本病発病程度と晩播自然発生でのそれとの関係を比較した。春播き接種検定では、晩播自然発生に比べて、発病程度が安定して高く、その品種間差異をよりの確に評価できた。次に、接種列からの距離が発病程度に与える影響を本病感受性F₁品種を用いて調査した。発病程度は接種列から離れるに従って低下し、接種列から1列目と2列目との間に顕著な有意差が認められた。この結果にもとづき、検定区2列に対して伝染源の品種・系統を1列ずつ配置する方法で抵抗性を高精度で検定できると考えられた。また、本病抵抗性程度が異なる39の自殖系統を用いて春播き接種検定を行ったところ、発病程度には1%水準で有意な系統間差が認められた。

以上の結果から、本病に対する春播き接種検定法の有効性が確かめられたので、今後、本病抵抗性育種試験での活用が期待された。

キーワード：トウモロコシ，南方さび病，抵抗性，接種検定。

I. 緒 言

トウモロコシ南方さび病 (病原菌: *Puccinia polysora* UNDERW.) は、九州地域を中心とするわが国暖地の飼料用トウモロコシの晩播栽培における最重要病害の一つである。葉の枯死や雌穂収量の低下などの著しい被害をもたらすため^{4,9)}、晩播用トウモロコシ品種は本病抵抗性を有することが必須条件になっている。

本病の被害はもっぱら晩播栽培で見られ、春播き栽培での発生はほとんど認められない¹⁰⁾。したがって、自然発生による場合には本病抵抗性は晩播栽培で検定される。

ところが、晩播栽培による本病抵抗性検定は、台風による倒伏の多発、高温による生育障害および他病害の同時発生等によって攪乱されることが多い。また、晩播栽培では、不稔個体率の増大や花粉量の減少により、選抜個体の自殖と採種に支障をきたし、効率的な育種が困難な実状にある。

このように、晩播栽培での自然発生による本病抵抗性の検定（以下、晩播による検定と略記）を自殖系統の育成試験の中で利用する場合には問題点が多く、よりの確かつ効率的な検定法が求められている。

一方、本病には幼苗での抵抗性の検定を難しくする性質がある。まず、抵抗性には病勢進展速度が遅くなるSlow-rustingと呼ばれる現象が関与しているため、抵抗性病斑が明確ではない²⁾。孢子堆の大きさや容積などには抵抗性による差異¹⁾が認められるが、その評価は極めて多岐で、多数系統を対象とする育種試験への適用には限界がある。また、本病に対する感受性は葉位や葉齢により異なる³⁾。そのため、イメージスキャナー利用による幼苗検定法⁶⁾や切離葉片への病原菌接種による検定法⁵⁾が開発されている。しかし、圃場検定と比べて煩雑な手順を要するため、自殖系統育成試験へのこれらの幼苗検定法の適用は容易でない。

本病の感染可能な最低気温は12～16℃で、26℃程度が最も感染に適していることがアメリカの菌株で明らかにされている³⁾。当研究室の所在する宮崎県都城市の6月上旬の最低気温は、平年で16.4℃で⁷⁾、日本の菌株もアメリカの菌株と同様の温度反応を示すとすれば、気温の面からは本病菌は春播き栽培でも十分に感染が可能であると推察される。

本研究では、本病抵抗性検定の精度の向上を図り、自殖系統育成試験における抵抗性の個体選抜と固定化を効率的に進めるため、春播き条件下において本病抵抗性を接種検定（以下、春播き接種検定と略記）する方法を開発しようとした。

なお、本稿の校閲を頂いた九州農業試験場畑地利用部長 権藤昭博博士に厚くお礼を申し上げる。

II. 材料および方法

試験は、①春播き接種検定の精度に関する試験、②接種列からの距離が発病程度に及ぼす影響に関する試験、③育成中の自殖系統への春播き接種検定法の適用に関する試験から成っている。

いずれの試験も九州農業試験場畑地利用部（宮崎県都城市）で行い、隔離圃場に試験区を設けた。アール当たり基肥として堆肥300kg、苦土石灰15kg、熔燐5kg、N : 0.9kg、P₂O₅ : 0.9kg、K₂O : 0.7kg、追肥としてN : 0.7kg、K₂O : 0.6kgを施用した。

接種には、前年の秋季に九州農業試験場畑地利用部の試験圃場で採取し、単孢子堆分離は行わずに、温室内のトウモロコシ株上で継代した夏孢子を用いた。ただし、4月中旬以降6月上旬の接種期までは最低気温16℃、散水により湿度を高めに保った温室内で養成した植物体上で夏孢子を増殖した。増殖後、夏孢子が約4000個/mlになるように調整した懸濁液を作成した。懸濁液には展着剤グラミンを1000mlに対し1滴添加した。この懸濁液を1株当たり0.5mlとなるように3～4枚の上位展開葉と未展開葉に噴霧した。また、

接種直後の乾燥や日射による過熱を避けるため、接種は日没前に行った。なお、初めて接種試験を行った1991年には、保湿と防雨のため、接種後4日間、接種を行った3～4枚の上位展開葉までをパーチメント紙製の袋で包んだ。その後、このような処置は、実施しなくても本病が確実に感染することが確かめられたため、1992年には中止した。

発病程度の評価は、試験ごとに発病の状況を見ながら適宜定めた生育ステージに、供試品種・系統ごとに、無を0、甚を5とする評点⁹⁾によって行った。

1. 春播き接種検定の精度に関する試験

本病抵抗性のP3282、P3286、P3470および本病感受性のG4743の計4F₁品種を用いて晩播による検定と春播き接種検定を行い、それらの発病程度を比較・検討した。

晩播による検定は、1989、1990および1991年に行った。各年次とも、畦間75cm、株間20cm（栽植密度667本／アール）の栽植様式で、1区面積9.0m²の2反復乱塊法で配置した。播種期は1989年には6月8日、7月26日および8月8日、1990年には6月12日、7月23日および8月9日、1991年には6月18日および8月12日である。発病程度の評価は絹糸抽出期後28日目に行った。

春播き接種検定は1991年と1992年に行った。1991年には、畦間75cm、株間30cm（栽植密度444本／アール）の栽植様式で、1区面積3.0m²の2反復乱塊法で配置した。4月9日に播種し、5月30日に接種した。接種は、各区13個体中の6個体に行った。1992年には、畦間75cm、株間20cm（栽植密度667本／アール）の栽植様式で、1区面積2.25m²の2反復乱塊法で配置した。4月13日に播種し、6月5日に各区全15個体に接種した。発病程度の評価はいずれの年次でも絹糸抽出期後35日目に行った。

2. 接種列からの距離が発病程度に及ぼす影響に関する試験

本病感受性F₁品種のP3358を供試した。試験は列（畦）間75cm、株間20cm（667本／アール）の栽植様式で行った。試験区中央の2.5m幅の通路の両側に、それと直角方向に長さ4mでそれぞれ14列を配置した。接種は両端の各1列、計4列を対象に全個体に行い、それぞれ1接種列を含む7列を1区とする4反復として解析した。播種は1992年4月17日に、接種は6月5日に行った。発病程度の評価は絹糸抽出期後25日目にあたる7月28日に列毎に行った。

3. 育成中の自殖系統への春播き接種検定の適用に関する試験

南方さび病抵抗性を育種目標に育成中のS₃世代系統2、S₃世代系統5、S₂世代系統28に本病感受性自殖系統のH84、Na12、Mi23およびH95rh_mの4系統を加えた合計39系統を供試した。試験区は、畦間75cm、株間30cm（栽植密度444本／アール）の栽植様式で、1区面積2.25m²の2反復乱塊法とし、1992年4月13日に播種した。また、試験区2畦に対して伝染源系統として本病感受性のH95rh_mを1畦挿入し、6月5日に伝染源系統に接種した。発病程度の評価は絹糸抽出期後25日目に行った。

III. 試験結果

1. 春播き接種検定の精度に関する試験

晩播による検定では、発病程度は播種期や年次によって大きく変動した。すなわち、各試験での発病程度の平均値は、1.1～3.8で、播種期が同じでも年次による差が大きかった。

各播種期の発病程度の広義の遺伝力は0.830~0.997で、発病程度と遺伝力がともに高い場合に供試品種間の最小有意差が小さくなる傾向が認められた。ちなみにすべての供試品種間に5%水準の最小有意差が認められたのは、延べ8回の試験のうちで、1989年7月播種と1990年8月播種の2回だけであった (Table 1)。

Table 1. Severity ratings for southern corn rust under late-planting conditions (Experiment 1a)^{a)}

Hybrid	Planting date								Mean
	1989			1990			1991		
	Jun.	Jul.	Aug.	Jun.	Jul.	Aug.	Jun.	Aug.	
P3470 ^{b)}	2.3	2.2	1.8	0.3	2.9	1.9	2.3	1.4	1.9
P3282 ^{b)}	2.7	2.6	1.9	0.6	3.6	2.5	2.7	1.4	2.3
P3286 ^{b)}	2.6	3.0	2.3	1.2	4.0	3.3	2.5	1.7	2.6
G4743 ^{c)}	4.3	4.3	3.6	2.4	4.9	4.8	3.3	2.4	3.8
Mean	3.0	3.0	2.4	1.1	3.8	3.1	2.7	1.7	2.6
$h_B^{2d)}$	0.951	0.973	0.875	0.830	0.939	0.997	0.836	0.831	0.917
LSD _{.05}	0.6	0.3	0.7	1.3	0.7	0.2	0.5	0.7	0.3

a) Severity rating : 0 = no pustules, 1 to 4 increasing amount of leaf covered by rust pustules, and 5 = all leaves killed by the rust.

b) Resistant hybrid.

c) Susceptible hybrid.

d) Heritability of broad meaning ; $h_B^2 = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_G^2 + \sigma_E^2}$

一方、春播き接種検定における発病程度の平均値はいずれの年次でも2.9と安定して高く、その広義の遺伝力も0.921~1.000と高く、いずれの年次でも発病程度にはすべての供試品種間に5%水準の最小有意差が認められた (Table 2)。

Table 2. Severity ratings for southern corn rust by inoculation test under spring-planting conditions (Experiment 1b)^{a)}

Hybrid	Year	
	1991	1992
P3470	2.1	1.7
P3282	2.5	2.5
P3286	2.8	2.8
G4743	3.0	4.3
Mean	2.9	2.9
$h_B^{2b)}$	0.921	1.000
LSD _{.05}	0.3	0.1

a) Refer to foot-note a) of Table 1.

b) Refer to foot-note d) of Table 1.

2. 接種列からの距離が本病発病程度に及ぼす影響に関する試験

接種列から離れるに従い、発病程度は3.6から2.4に順次低下した。特に、接種列から1列目と2列目の間には発病程度に1%水準で有意差が認められた (Fig. 1)。

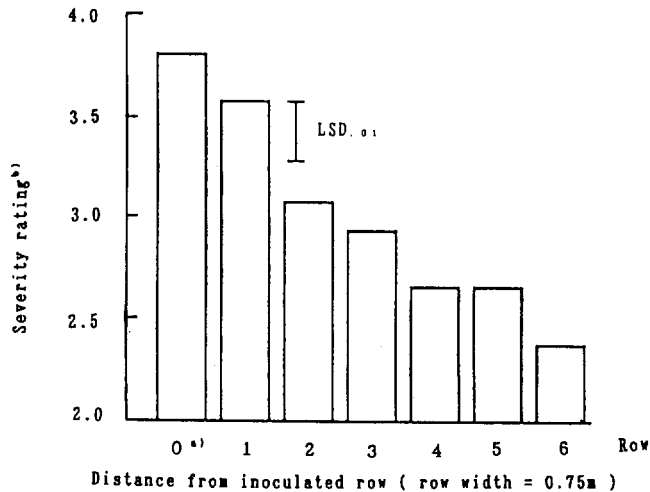


Fig. 1. Influence of distance from inoculated row on severity ratings for southern corn rust under spring-planting condition (1992, Experiment 2)^{a)}.

a) Inoculated row.

b) Refer to foot-note a) of Table 1.

c) Susceptible hybrid, P3358, was used.

3. 育成中の自殖系統への春播き接種検定の適用に関する試験

春播き接種検定での発病程度には供試自殖系統間に1%水準で有意差が認められた (Table 3)。また、育成中の自殖系統の本病抵抗性程度には幅広い変異が認められたが、いずれの系統も本病感受性の対照系統より抵抗性が高いことが示された (Fig. 2)。

Table 3. Analysis of variance for severity ratings for southern corn rust by inoculation test of 39 inbreds under spring-planting condition (1992, Experiment 3)^{a)}

Source	d.f.	MS	F
Inbreds	38	1.92	8.76**
Replication	1	0.63	2.87
Error	38	0.21	

a) Refer to foot-note a) of Table 1.

** : significant at $P < 0.01$

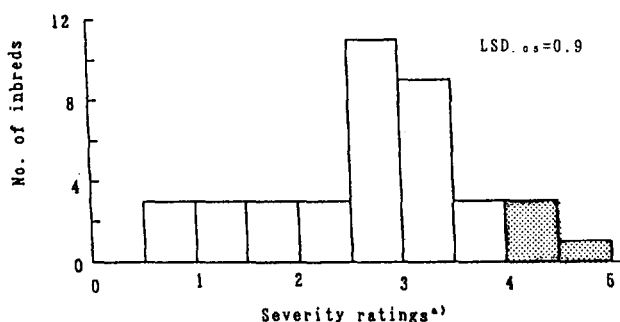


Fig. 2. Severity ratings for southern corn rust of 39 inbreds by inoculation test under spring-planting condition (1992, Experiment 3).

a) Refer to foot-note a) of Table 1.

□ : Resistant inbreds.

▨ : Susceptible inbreds.

IV. 考 察

試験1の結果、晩播による検定では、播種期や年次によって発病程度とその遺伝力の変動が大きく、供試品種間の発病程度の差異を明確には検出できない場合が多かった。これに対して、春播き接種検定ではいずれの年次でも安定した発病が認められ、発病程度の遺伝力も0.921~1.000と高く、発病程度にはすべての供試品種間に5%水準で有意差が認められた。これらの結果から、春播き接種検定では、晩播による検定に比較して、本病発病程度をより高精度で検定できると結論された。

本試験での接種は6月上旬に行った。NISHI⁸⁾は熊本県でこの時期に既に本病の最初の自然感染を認めているが、発病はごくわずかで、年次によっては全く認められないことがあることを報告している。本試験の結果は、6月上旬に本病夏胞子を接種し、十分な伝染源を確保することによって、上記のような自然発生の影響をほとんど受けることなく、本病抵抗性を安定的に検定できることを示している。

試験2では、接種列から離れるに従って発病程度は順次低下し、1列目と2列目の間には有意な発病程度の差が見られた。これと関連して、ナイジェリアでは本病を著しく発病させたポット植えの植物を16個体、半径40メートルの試験区の中央に伝染源として置いた場合に、その30日後には試験区全体の発病程度がほぼ均一になった例が報告されている⁹⁾。試験2での発病程度の評価は接種後53日目に行ったが、発病程度には依然として伝染源からの距離の影響が見られた。これらの結果の相違は、何らかの気象要因等によるものと推測されるが、今後さらに検討を要する課題である。しかし、伝染源からの距離の発病程度への影響が示されたことから、接種検定では接種を行う伝染源品種・系統を各試験区に対して均一に配置する必要があると考えられた。

本試験のように試験区と伝染源品種・系統を列として配置する場合には、検定精度は両

者が1:1のときに最も高いが、伝染源品種・系統が全試験面積の50%を占めることになり、多数の系統を同時に検定する育種試験では必ずしも効率的とはいえない。伝染源品種・系統の割合を低くするほど多数の系統を検定できるメリットがあるが、それに対応して検定精度は低下する。したがって、伝染源品種・系統の割合は検定の効率と精度の両面から決定する必要がある。厳密にはさらに詳細な検討が望まれるが、以上の結果と考察を総合的に判断すると、当面、すべての試験列に隣接するように、試験区2列に対して1列の割合で接種列を挿入すれば、高精度の検定が可能であると考えられた。

自殖系統を供試した試験3においても、発病程度の系統間差は明瞭に認められた。このことから、春播き接種検定法は自殖系統の場合にも有効に活用できると考えられた。

本試験での発病程度の評価は試験毎の発病の実態に合せて適宜行った。しかし、いずれの試験でも絹糸抽出期後25日目頃には、病勢が十分に進展しており、評価が可能であると考えられた。また、絹糸抽出期後30日目以降には、生理的な枯れ上がりやごま葉枯病などの他病害の発生が目立ち、評価が難しくなる場合もあった。したがって、春播き接種検定における発病程度の評価は、絹糸抽出期後25～30日目頃に行うのが適切と考えられた。

また、接種は夏胞子の懸濁液を葉の表面に噴霧する方法で行った。しかし、接種後に降雨があった場合の再接種の必要性については未検討である。また、接種量についても検討を行っていない。これらの点については今後の検討課題である。

一方、春播き接種検定では、南方さび病感受性系統が作付されている時期に、本病菌が接種される。接種された病菌が検定圃場外に伝染する恐れがあるため、近辺でトウモロコシが栽培されている場合には、本法による検定は隔離圃場を用いて行う必要がある。

以上の結果から、春播き接種検定により南方さび病抵抗性を従来の晩播による検定よりも高精度に検定できることが明らかになった。緒言でも述べたように、本病抵抗性についての接種検定法にはこれまでもいくつかの方法^{5,6)}が報告されている。しかし、これらの方法は接種や抵抗性検定の評価に煩雑な手順を要し、実際の育種試験への適用には限界がある。これに対して、春播き接種検定法はその手順が容易で育種試験の一環としてその他の特性調査と併行して適用できる有利性がある。さらに、晩播による検定では採種が難しいが、本法は普通の春播き栽培で行うため、選抜個体の自殖と採種が容易である。これらのことから、本法の利用により、本病抵抗性育種の効率化が図れるものと期待される。

引用文献

- 1) CAMMACK, R.H. (1958) Factors affecting infection gradients from a point source of *Puccinia polysora* in a plot of *Zea mays*. *Ann. appl. Biol.* 46 : 186-197.
- 2) BAILEY, B.A., SCHUH, W., FREDERIKSEN, R.A., BOCKHOLT, A. J. and SMITH, J.D. (1987) Identification of slow-rusting resistance to *Puccinia polysora* in maize inbreds and single cross. *Plant Dis.* 71 : 518-521.
- 3) HOLLER, C.A. and KING, S.B. (1985) Effect of dew period and temperature on infection of seedling maize plant by *Puccinia polysora*. *Plant Dis.* 69 :

219-220.

- 4) 伊東栄作・濃沼圭一・池谷文夫(1995) 飼料用トウモロコシ品種における南方さび病の発生と部位別収量 九州農試報告 28 : 167-174.
- 5) 宮川久義・井上興(1995) 切離葉片への病原菌接種によるトウモロコシ南方さび病抵抗性の簡易検定法 九病虫研会報 41 : 11-14.
- 6) 宮川久義・井上興・矢野彰吾・村木和之(1995) イメージスキャナー利用によるトウモロコシ南方さび病抵抗性の幼苗検定法 山口農試研報 46 : 86-91.
- 7) 宮崎県・宮崎地方気象台(1991) 宮崎県農業気象月報・平成3年6月 p14.
- 8) NISHI, K. (1996) Incidence of southern corn rust in japan. In: proceedings of the international workshop on pest management strategies in Asian monsoon agroecosystem. (HOKYO, N. and NORTON, G. eds.) p.165-172. Kyushu National Agricultural Experiment Station, Kumamoto (1996).
- 9) RODRIGUES-ARDON, R., SCOTT, G.E. and KING, S.B. (1980) Maize yield losses caused by southern corn rust. *Crop Sci.* 20: 812-814.
- 10) 高橋敦・石黒潔(1993) トウモロコシ南方さび病に対する抵抗性品種の選定(第一報). 九農研 55 : 130.
- 11) ZUMMO, N. (1988) Components contributing to partial resistance in maize to *Puccinia polysora*. *Plant Dis.* 72 : 157-160.

Inoculation Test for Resistance to Southern Corn Rust under Spring-Planting Conditions

Eisaku ITO, Fumio IKEGAYA and Keiichi KOINUMA

Summary

Southern corn rust, caused by *Puccinia polysora* UNDERW., seldom occurs under spring-planting conditions, but often attacks severely late-planting silage corn (*Zea mays* L.) in the warm region of Japan. However, since its occurrence varies from year to year, several years are required to evaluate conclusively the resistance of breeding materials to the rust. This study was carried out to develop a method for testing the resistance to rust by inoculation under spring-planting conditions.

In the inoculation test, seeds were planted from early to mid-April in the isolated field, and 0.5ml of suspension with 4000 uredospores per ml was sprayed on a plant in early June. During the winter season, the collection of uredospores was maintained by clonal propagation on seedlings of the susceptible hybrid in a glasshouse.

In Experiment 1, four cultivars were used. Rust occurrence under late-planting conditions without inoculation was observed for three years from 1989 to 1991, while inoculation tests were carried out in 1991 and 1992. Rust occurred more stably and the differences among cultivars in the rust severity ratings were recognized more definitely in inoculation tests than under late-planting conditions.

In Experiment 2, the influences of the distance from an inoculated spreader row on the occurrence of rust was investigated using a susceptible hybrid cultivar, P3358, in 1992. The rust severity ratings decreased gradually as the distance from the spreader row increased, and were significantly higher at 1% level in the first row than in the second row from the spreader. Based on the results, it was assumed that the inoculated spreader can be planted at the ratio of one in every successive three rows.

In Experiment 3, the rust severity ratings of 39 inbreds with a wide range of resistance to rust were evaluated in 1992 by inoculation test, for which a susceptible inbred, H95rh_m, was used as the inoculated spreader. Differences among inbreds in the rust severity ratings were distinctly observed and significant

at 1% level.

The overall results indicate that the resistance of breeding materials to southern corn rust can be evaluated effectively by inoculation test under spring-planting conditions.

Key words : Maize, Southern corn rust, resistance, inoculation test.