

**BULLETIN
OF THE
NATIONAL AGRICULTURAL RESEARCH CENTER
FOR TOHOKU REGION**

Tohoku Nogyo Kenkyu Center Kenkyu Hokoku
No.108, December 2007

**東北農業研究センター
研究報告**



独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構

東北農業研究センター

岩手県盛岡市

**National Agricultural Research Center
for Tohoku Region**

National Agriculture and Food Research Organization
Morioka, Iwate 020-0198, Japan

本誌から転載・複製する場合は当研究センターの許可を得てください。

東北農業研究センター研究報告 第108号

所 長 八 卷 正

編集委員会

編集委員長	田 中 規 夫	
編 集 委 員	須 山 哲 男	荒 木 陽 一
	滝 田 正 樹	田 村 有 希 博
	鷗 川 洋 樹	

BULLETIN OF THE
NATIONAL AGRICULTURAL RESEARCH CENTER
FOR TOHOKU REGION

No.108

Director General
Tadashi YAMAKI

Editorial Board

Editor
Norio TANAKA

Associate Editors

Tetsuo SUYAMA	Yoichi ARAKI
Tadashi TAKITA	Yukihiro TAMURA
Hiroki UKAWA	

東北農業研究センター研究報告 第108号 (平成19年12月)

目 次

マルチラインにおけるイネいもち病の発病抑制機構とシミュレーションモデル によるその解析 芦澤 武人	1 - 46
黒毛和種雌牛の維持給与水準における給与飼料の種類および濃厚飼料添加が 第一胃メタン産生に及ぼす影響 篠田 満・櫛引 史郎・新宮 博行・上田 靖子	47 - 53
コンテナサイロによる地ビール粕の貯蔵・利用技術の開発 近藤 恒夫・河本 英憲・村元 隆行・東山 雅一	55 - 61
東北地方におけるシバムギ (<i>Agropyron repens</i> (L.)Beauv.) 優占草地の牧草 生産性、永続性および飼料成分 八木 隆徳・目黒 良平・福田 栄紀	63 - 71

BULLETIN OF THE
NATIONAL AGRICULTURAL RESEARCH CENTER
FOR TOHOKU REGION
No.108 (December 2007)

CONTENTS

ASHIZAWA, T. :	
Studies on Mechanisms of Suppression of Rice Blast Disease in Multilines and Their Analyses Using a Simulation Model.....	1 - 46
SHINODA, M., KUSHIBIKI, S., SINGU, H. and UEDA, Y. :	
Methane Emission from Japanese Black Cows Fed Hay or Whole Crop Rice Silage at a Maintenance Intake Level and Effect of Concentrate Feeding on Emission	47 - 53
KONDO, T., KAWAMOTO, H., MURAMOTO, T. and HIGASHIYAMA, M. :	
Preservation and Utilization of Local Brewer's Wet Grain as Feed by Using a Newly Developed Simple Silo	55 - 61
YAGI, T., MEGURO, R. and FUKUDA, E. :	
Agronomic Performance of Quackgrass (<i>Agropyron repens</i> (L.) Beauv.) Dominant Grassland in the Tohoku district in Japan	63 - 71

マルチラインにおけるイネいもち病の発病抑制機構と シミュレーションモデルによるその解析

芦澤 武人*¹⁾

抄録：イネいもち病は、日本で最も重要な病害である。本病を防除するために、新たな真性抵抗性を導入したイネ品種が1960年代に育成・普及されたが、それら抵抗性を侵害するいもち病菌レースが出現・蔓延して罹病化し問題となった。この欠点を克服する方法として、異なる真性抵抗性を個々に持つ同質遺伝子系統を混合栽培するマルチラインが1995年に普及した。しかし、効果的にいもち病を防除するための、マルチラインの利用法は十分明らかでなかった。本研究は、マルチラインにおけるイネいもち病の発病抑制機構の解明と得られた疫学データを利用してシミュレーションモデルを開発し、その抑制機構を解析した。その結果、罹病性系統の葉身上に生じた病斑から同じ罹病性系統の別の葉身へ感染する自己感染比率が発病程度に影響することを明らかにした。これをパラメータとして導入してシミュレーションすると、葉いもち発病推移をよく模擬した。また、発病抑制に関与する誘導抵抗性、突然変異率、安定化淘汰等の要因を解析できた。その他、マルチラインにおけるいもち病菌レースの動態を明らかにし、レース検定の効率化法も開発した。

キーワード：イネいもち病、*Pyricularia grisea*、マルチライン、真性抵抗性、レース、自己感染率、シミュレーションモデル、誘導抵抗性、突然変異、安定化淘汰、垂直分布

Studies on Mechanisms of Suppression of Rice Blast Disease in Multilines and Their Analyses Using a Simulation Model : Taketo ASHIZAWA*¹⁾

Abstract : Rice blast caused by *Pyricularia grisea* is the most destructive disease in rice production in Japan. To control this, rice varieties with new complete resistance genes were bred and released. However, the resistances were broken down within a few years because of the emergence of compatible blast races. To prevent the breakdown, a mixture of near-isogenic lines with different complete resistance genes to blast was first introduced for multilines in 1995 in Japan. For effective control of blast, the author aimed to clarify the degree of blast suppression using multilines.

This study was conducted to investigate the mechanisms of blast suppression and was developed as a simulation model for forecasting leaf blast epidemics to analyze the degree of leaf blast suppression in multilines. The autoinfection ratio was a major factor influencing the degree of leaf blast suppression in multilines. A simulation model for rice blast epidemics in multilines was developed, and the parameter of autoinfection was introduced in the model. The calculated data using the model fit well with the observed data of leaf blast development. Parameters of induced resistance, mutation rate and stabilizing selection were also introduced to clarify the mechanisms of leaf blast suppression. In addition, distribution of blast races in multilines was clarified, and a high-throughput method for race differentiation was developed.

Key Words : Rice blast, *Pyricularia grisea*, Multiline, Complete resistance, Race, Autoinfection ratio, Simulation model, Induced resistance, Mutation, Stabilizing selection, Vertical distribution

* 1) 現・中央農業総合研究センター (National Agricultural Research Center, Tsukuba, Ibaraki 305-8666, Japan)
2007年5月28日受付、2007年11月29日受理

目 次

I 緒 言	3	(3) 非親和性菌を高濃度で前接種し親和性菌 を後接種した場合の穂いもち発病	17
II マルチラインにおけるイネいもち病の発病抑制機構	4	[考 察]	17
1. 抵抗性同質遺伝子系統の混植が病勢進展に及ぼす影響	4	3. 圃場における同質遺伝子系統の発病と抵抗性発現	18
1) 「ササニシキ」同質遺伝子系統の混植圃場 における葉いもちの病勢進展	4	1) 宮城県の「ササニシキ」マルチライン栽培圃場における イネいもち病菌のレース分布と混植系統の発病との関係	18
[材料と方法]	4	[材料と方法]	18
[結 果]	5	[結 果]	19
[考 察]	6	[考 察]	20
2) 抵抗性同質遺伝子系統の混植が葉いもち 病勢の垂直進展に及ぼす影響	7	2) 多発試験圃場における同質遺伝子系統の 葉いもちおよび穂いもち抵抗性	20
[材料と方法]	8	[材料と方法]	21
[結 果]	8	[結 果]	21
[考 察]	9	[考 察]	22
2. 同質遺伝子系統における誘導抵抗性の発現	10	4. いもち病菌レース検定の効率化のための改良	23
1) 葉身における非親和性イネいもち病菌に よる葉いもちの発病抑制	10	[材料と方法]	23
[材料と方法]	11	[結 果]	23
(1) 非親和性イネいもち病菌の前接種が親和 性菌による病斑伸展に及ぼす影響	11	[考 察]	24
(2) 前接種した非親和性菌の孢子濃度が親和 性菌による病斑伸展に及ぼす影響	11	III マルチライン用葉いもちシミュレーションモ デルの開発とその解析	26
(3) 非親和性菌を接種した葉身の近接部位で の親和性菌の病斑伸展への影響	11	[材料と方法]	26
(4) 非親和性菌の前接種が葉身表皮細胞の侵入部位 における親和性菌の菌糸伸展に及ぼす影響	12	(1) モデルの構造	26
(5) 葉身表皮細胞の侵入部位における反応	12	(2) 自己感染と他己感染のパラメータ値の推定	27
(6) 統計処理	12	(3) モデルの解析法	27
[結 果]	12	[結 果]	28
(1) 非親和性菌の前接種による親和性菌の病 斑伸展抑制程度の系統間差	12	(1) 自己感染と他己感染のパラメータ値の推 定とモデルへの導入	28
(2) 非親和性菌の前接種する孢子濃度と親和 性菌の病斑伸展抑制程度との関係	13	(2) モデルの妥当性	28
(3) 非親和性菌の前接種部位が親和性菌の病 斑伸展に及ぼす影響	13	[考 察]	29
(4) 非親和性菌の前接種が葉身表皮細胞にお ける親和性菌の菌糸伸展に及ぼす影響	13	IV マルチラインの発病抑制に及ぼす各種要因の パラメータ設定と感度分析	31
(5) 葉身表皮細胞における細胞反応の差異	13	1. 誘導抵抗性パラメータの設定と感度分析	31
[考 察]	14	[材料と方法]	31
2) 非親和性菌による穂いもちの発病抑制	15	[結 果]	32
[材料と方法]	15	[考 察]	32
(1) 供試植物と栽培	15	2. 安定化淘汰パラメータの設定と感度分析	32
(2) 供試イネいもち病菌	15	[材料と方法]	33
(3) 非親和性菌の接種による「ササニシキ」 同質遺伝子系統の穂いもち発病	15	[結 果]	33
(4) 前接種した非親和性菌の接種濃度の違いが後 接種した親和性菌による発病に及ぼす影響	16	[考 察]	33
(5) 非親和性菌を高濃度で前接種し親和性菌 を後接種した場合の穂いもち発病	16	3. 病原性突然変異パラメータの設定と変異菌 出現頻度の推定	34
[結 果]	16	[材料と方法]	34
(1) 非親和性菌による「ササニシキ」同質遺伝 子系統間の穂いもち発病の差異	16	[結 果]	34
(2) 前接種した非親和性菌の接種濃度の違いが後 接種した親和性菌による発病に及ぼす影響	17	[考 察]	34
		V マルチラインにおける混植系統数と発病抑制 程度との関係の解析	36
		[材料と方法]	36
		[結 果]	37
		[考 察]	37
		VI 総合考察	37
		VII 摘 要	39
		引用文献	40
		Summary	45

I 緒 言

いもち病は、日本の稲作で最も重要な病害であり、本病を防除するために多くの化学農薬が使用されている。これは、我が国では現在、本病に対する圃場抵抗性が弱い「コシヒカリ」や「ひとめぼれ」のようなイネ品種が多く栽培されているためである^{18, 80)}。しかし、近年、環境保全型農業や安全・安心な農産物に対する消費者・生産者の関心が高まり、イネでは農薬の使用を減らすことができる品種抵抗性を利用した本病の防除が注目されている。

イネのいもち病に対する真性抵抗性は、1960年代に「クサブエ」、「ユーカーラ」、「テイネ」、「ウゴニシキ」、「ふ系69号」等の品種に各々導入されたが、それらを侵害できるレースのいもち病菌が出現・増殖して数年のうちに本抵抗性が崩壊し、罹病化することが明らかにされている³⁶⁾。

このいもち病真性抵抗性イネ品種の罹病化への対策として、ムギ類のさび病などで実用化されていたマルチライン（多系品種）の利用の可能性が示されてきた^{58, 79, 84)}。マルチラインとは、ある特定の病原に対する抵抗性遺伝子のみが個々に異なり、他の諸形質が同一な同質遺伝子系統を数種類混合して栽培する方法である。イネのいもち病に対するマルチラインの育成は、台湾において世界で初めて行われ、本病の多発条件においても親品種の2～3倍の収量が得られることが報告された^{15, 16)}。その後日本でも、真性抵抗性遺伝子型が異なる異品種を混合栽培した試験事例が報告され^{4, 67, 69, 70)}、圃場に分布するレースに対し抵抗性品種の混合割合が大きいほど、いもち病の発病が抑制されることが明らかにされた⁴¹⁾。

一方、1995年になって、宮城県で「ササニシキ」から育成されたいもち病に対する真性抵抗性の異なる同質遺伝子系統の混合栽培（品種名：ササニシキBL）が一般圃場で行われ、日本で初めてのマルチラインとして普及された。その後の研究で、マルチラインにおけるいもち病の発病抑制に關与する要因として、抵抗性系統の混植比率⁴²⁾、誘導抵抗性⁵⁶⁾等が示され、「ササニシキBL」栽培圃場でのイネいもち病菌レースの動態も報告された^{7, 59, 76)}。しかし、マルチラインにおいて、これらの要因を考慮したイネいもち病の発病抑制効果を評価する手法は開発されていないだけでなく、誘導抵抗性の発現機構についても十分明らかにされてこなかった。

マルチラインにおいて空気伝染性の病原菌の拡散²³⁾を演算するためのコンピュータシミュレーションモデルとして、EPIMUL^{31, 52-54)}がある。本モデルは、マルチラインにおける病害発生に關与する要因を解析するために開発され、とくに伝染源からの病原菌の密度分布を演算するために利用されている。しかし、圃場内で病原菌が世代を重ねることにより、病原菌の分布の中心が不明瞭になって圃場全体に比較的むらなく分布するよう増殖する現象を模擬するようには作成されていない。よって、EPIMULは病害発生初期における伝染源からの病原菌の拡散程度を評価するのに適しているものの、現実の病勢進展の予測には適していないと考えられる。

一方、イネのマルチラインでは、同質遺伝子系統の混植における病勢進展の抑制程度を正確に予測できる現実的なモデルを作成する必要があると考えた。そこで、著者は、マルチラインを利用したイネいもち病の効果的防除のために、マルチラインにおける葉いもちの発病抑制機構を明らかにし、その知見をもとにシミュレーションモデルを作成することで、発病抑制程度を評価する方法を開発しようとした。さらに、同質遺伝子系統の葉および穂において誘導抵抗性が発病程度に及ぼす影響を解明して、シミュレーションによる解析を行うとともに、病原性変異、安定化淘汰の影響についても同様に解析を試みた。これらの結果は、一部すでに報告した⁸⁻¹²⁾が、ここに未発表のデータを加え、全体をとりまとめた。

この研究は、1996年から2004年までの9年間に東北農業研究センター大仙研究拠点（旧東北農業試験場水田利用部、秋田県大仙市）で実施したものである。この論文を草するに当たり、東北農業研究センター東北水田輪作研究チーム長小泉信三博士には、ご懇切なご指導とご校閲を賜った。ここに衷心より感謝の意を表す。本研究の遂行にあたって、中央農業総合研究センター旧病害防除部病害防除システム研究室齊藤初雄博士、石川県立大学農学部教授古賀博則博士からは、ご助言とご指導を賜った。東北農業研究センター病害抵抗性研究チーム善林 薫氏、野菜茶業研究所茶 IPM 研究チーム長園田亮一氏をはじめ諸氏からは研究遂行上終始ご協力をいただいた。また、本論文を取りまとめるにあたり、宇都宮大学農学部植物病理学研究室奥田誠一教授には多大なるご助言とご校閲を賜った。さらに、東京農工大学農学部植物病理学研究室寺岡 徹教授、茨城

大学農学部生物生産科学科阿久津克己教授、宇都宮大学農学部植物病理学研究室夏秋知英教授ならびに東京農工大学農学部植物病理学研究室有江 力准教授にはご懇切なご校閲を賜った。ここに心から感謝の意を表す。

なお、本報告は著者が東京農工大学へ提出し、受領された学位論文を一部修正、加筆したものである。

II マルチラインにおけるイネいもち病の発病抑制機構

マルチラインによるイネいもち病の発病抑制は、抵抗性系統の混合比率に依存していることが明らかにされている^{41, 42)}。しかし、その抑制程度の量的な評価や、自然発病条件下における発病抑制機構に関して、同質遺伝子系統を用いたマルチラインの詳細な研究はまだ行われていない。

そこで本章では、「ササニシキ」同質遺伝子系統を用い、罹病性系統に対する抵抗性系統の混合割合が病勢進展に及ぼす影響、混合栽培による発病抑制に関わるイネ群落内での病斑の垂直分布、非親和性菌による誘導抵抗性および圃場における真性抵抗性の発現程度の差異を明らかにするとともに、レース検定の効率化手法を開発し、マルチラインにおけるイネいもち病の発病抑制を量的に把握し、その機構を解析した。

1. 抵抗性同質遺伝子系統の混植が病勢進展に及ぼす影響

1) 「ササニシキ」同質遺伝子系統の混植圃場における葉いもちの病勢進展

1994年に宮城県でイネ品種「ササニシキ」の同質遺伝子系統が4種類育成され、1995年に日本で初めてマルチライン（品種名：ササニシキBL）が県内に普及した⁶⁶⁾。Table 1に示したように、2001年までに合計8系統が育成された。

ササニシキ同質遺伝子系統の混植による発病抑制に関する研究は、東北農試でNakajima *et al.*⁵⁵⁾によって始められ、罹病性系統の単植より罹病性系統と抵抗性系統の混植で発病程度が低いことが明らかにされた。育成を行った宮城県でも、辻・加藤⁷⁵⁾によって1992年に始められた。彼らの「ササニシキBL1号」（真性抵抗性遺伝子*Pik*を保有）、「BL2号」（同*Pik-m*）および「BL3号」（同*Piz*）を混合栽培した試験では、葉いもちは予防剤による薬剤防除

より発病抑制効果が高く、穂いもちも葉いもちほどではないが同様に抑制された。一方、小泉・谷⁴²⁾は、マルチラインによるいもち病の発病抑制効果を薬剤散布あるいは圃場抵抗性の強い品種との比較を行うことで評価しようとした。その結果、「ササニシキ」と9種類の同質遺伝子系統を等量で種子混合したマルチラインでは、葉いもちでは薬剤散布および圃場抵抗性強品種と同程度、穂いもちでは圃場抵抗性強品種より効果が高く、薬剤散布より低かった。また、「ササニシキ」の抵抗性同質遺伝子系統の*Piz-t*系統を2分の1の割合で混植すると、葉いもちでは薬剤散布並み、4分の3の割合で混植すると穂いもちも薬剤散布並みに発病が抑制された。

これらのように、マルチラインによる発病抑制効果を比較した調査は行われているが、病勢進展の過程を継時的に調査し、発病抑制に関与する要因を解析した研究はほとんど行われていない。そこで、本章では、抵抗性系統の混植比率が病勢進展に及ぼす影響を明らかにしようとした。

Table 1 Sasanishiki near-isogenic lines (NIL) developed at the Miyagi Furukawa Agricultural Experiment Station

NIL	Complete resistance gene	Year
Sasanishiki BL1	<i>Pia Pik</i>	1994
Sasanishiki BL2	<i>Pia Pik-m</i>	1994
Sasanishiki BL3	<i>Pia Piz</i>	1994
Sasanishiki BL4	<i>Pia Piz-t</i>	1994
Sasanishiki BL5	<i>Pia Pita-2</i>	1997
Sasanishiki BL6	<i>Pia Pita</i>	1998
Sasanishiki BL7	<i>Pia Pib</i>	2001
Sasanishiki BL8	<i>Pia Pii</i>	- a)

a) not released.

〔材料と方法〕

1998～2001年に東北農業研究センター大仙研究拠点（旧東北農業試験場水田利用部、秋田県大仙市）の水田圃場で本試験を行った。供試イネ品種・系統は、「ササニシキ」（真性抵抗性遺伝子*Pia*を保有）とその抵抗性同質遺伝子系統の「ササニシキBL4号」（同*Piz-t*、1998年試験）あるいは「ササニシキBL7号」（同*Pib*、1999～2001年試験）を用いた。試験区は、「ササニシキ」の単植区、「ササニシキ」とその抵抗性同質遺伝子系統を1:1および1:3の割合で混植した区を設けた。なお、1998年試験には、1:3の割合で混植した区を設けなかった。また、

混植区では、いずれの年次も各品種・系統の乾籾を種子重量比で所定の割合に均一になるよう混合したものを播種に用いた。種子は、ペフラゾエート水和剤の200倍希釈液に24時間浸漬して種子消毒を行い、その後4日間浸種を行った。そして、28℃の接種箱内で24時間催芽を行った。

播種は、1998年4月14日、1999年4月13日、2000年4月11日および2001年4月10日にそれぞれ行い、育苗箱に1箱当たり催芽籾で70gを手で播種し、ビニルハウス内でイネ苗を育成した。移植は、手で行い、株当たり4本の割合でそれぞれを各年5月20日、5月20日、5月18日および5月16日に移植した。1区当たりの面積は、10m×10mとし、栽植密度は、条間を22.5cm、株間を22.5cmとした。基肥は、N、P₂O₅、K₂Oをそれぞれ13%含有した化成肥料を10a当たり60kgの割合でいずれの年次も3月末に施用した。追肥は、硫酸アンモニウムを窒素成分で10a当たり1kgの割合で、1998年は6月26日と7月3日、1999年は6月25日と7月2日、2000年は6月26日と7月3日、2001年は6月25日と7月2日に施用した。試験は、3反復（1998年のみ2反復）の乱塊法で行った。いもち病の発病は、すべて一般圃場から飛散したと考えられる自然感染による。なお、試験圃場に分布したイネいもち病菌のレース⁶⁾は、そのほとんどが真性抵抗性遺伝子*Pik-s*、*Pia*および*Pii*を持つ品種・系統に対し親和性で、*Piz-t*および*Pib*を持つものに非親和性であった。

調査は、葉いもちの初発から7月末の葉いもちの盛期まで、3～4日おきに5mm以上の大きさの病斑⁴⁰⁾の数を、1区当たり10～60株について数えた。微気象データの収集は、試験圃場内の畦畔上に気象ロボット（E-T11A5、北東衡器社製）を設置し、気温、風速、降水量、日照時間および結露時間を記録して行った。

試験データの解析は、下記の方法で行い、病勢進展の解析は第Ⅲ章に記載した。Vanderplank⁷⁷⁾は、マルチラインはその集団内において伝染源初期値を減少させる効果があるとしている。伝染源初期値は、罹病性系統のみが栽培されている圃場での値を1とすると、罹病性系統と抵抗性系統が1:1あるいは1:3の割合で混植されているマルチライン圃場では、それぞれ0.5、0.25であることが期待される。このため、単年度内に圃場ではじめて葉いもちの発病が認められた日の伝染源初期値を推定し、これらを

比較した。さらに、混植による発病抑制程度が最も高い時期を推定する目的で、調査日ごとに単植区の病斑数に対する混植区の病斑数（病斑数比 R_i ）を次式により比較した。

$$R_i = L_m / L_s$$

ここで、 L_m は罹病性系統と抵抗性系統の混植区における罹病性病斑数、 L_s は罹病性系統の単植区における罹病性病斑数を示す。

さらに、マルチラインにおける発病抑制程度を簡便に表す指標を得るために、得られた R_i の値と混植に占める罹病性系統の混植率比との関係を回帰分析した。なお、全ての統計処理は、統計処理ソフトのStatistical Analysis Software（SAS Institute, Cary, NC, release 6.11）を用いて行った。

〔結果〕

葉いもちは、1998年は多発生、1999年は中発生、2000年少発生、2001年は甚発生であった（Fig. 1）。「ササニシキ」とその抵抗性同質遺伝子系統を1:1および1:3の割合で混植した区における伝染源初期値の実測値は、いずれの年次でも予測値と同程度であった（Table 2）。この予測値と実測値が1桁以上異なった区はなかったが、1999年の1:3混植区で予測値と実測値の差が若干大きかった。また、1998年は、「ササニシキ」単植区より1:1混植区の方が、病斑数の実測値が大きかった。4年間の試験で得られたこれらすべての病斑数の実測値と予測値を使い、相関係数（ R^2 ）を求めたところ、1:1および1:3混植区でそれぞれ0.94と0.77で相関が高かった。1998年、2000年および2001年における残差平方和（RSS）は、1:1および1:3の混植で低かったが（いずれも0.002以下）、1999年の1:1および1:3混植におけるRSSは、それぞれ0.07と0.02であり、他の年次より値が若干高かった。

病斑数比 R_i の値をFig. 2に示した。「ササニシキ」とその抵抗性同質遺伝子系統を1:1の割合で混植した区では、 R_i の平均値が0.29（標準偏差SD = 0.07）であったのに対し、1:3の割合で混植した区では、0.09（SD = 0.05）であった。各調査日でその値は異なり、1:1混植区では0.13～0.4、1:3混植区では0.03～0.24までの範囲であった。これらの値は、調査時期や年次間で大きな変動はなかった。 R_i （ y ）の値と混植に占める罹病性系統の混植率比（ x ）との関係は、次の多項式で表された（Fig. 3）。

$$y = 0.8436x^2 + 0.1571x - 0.0005 \quad (R^2 = 1)$$

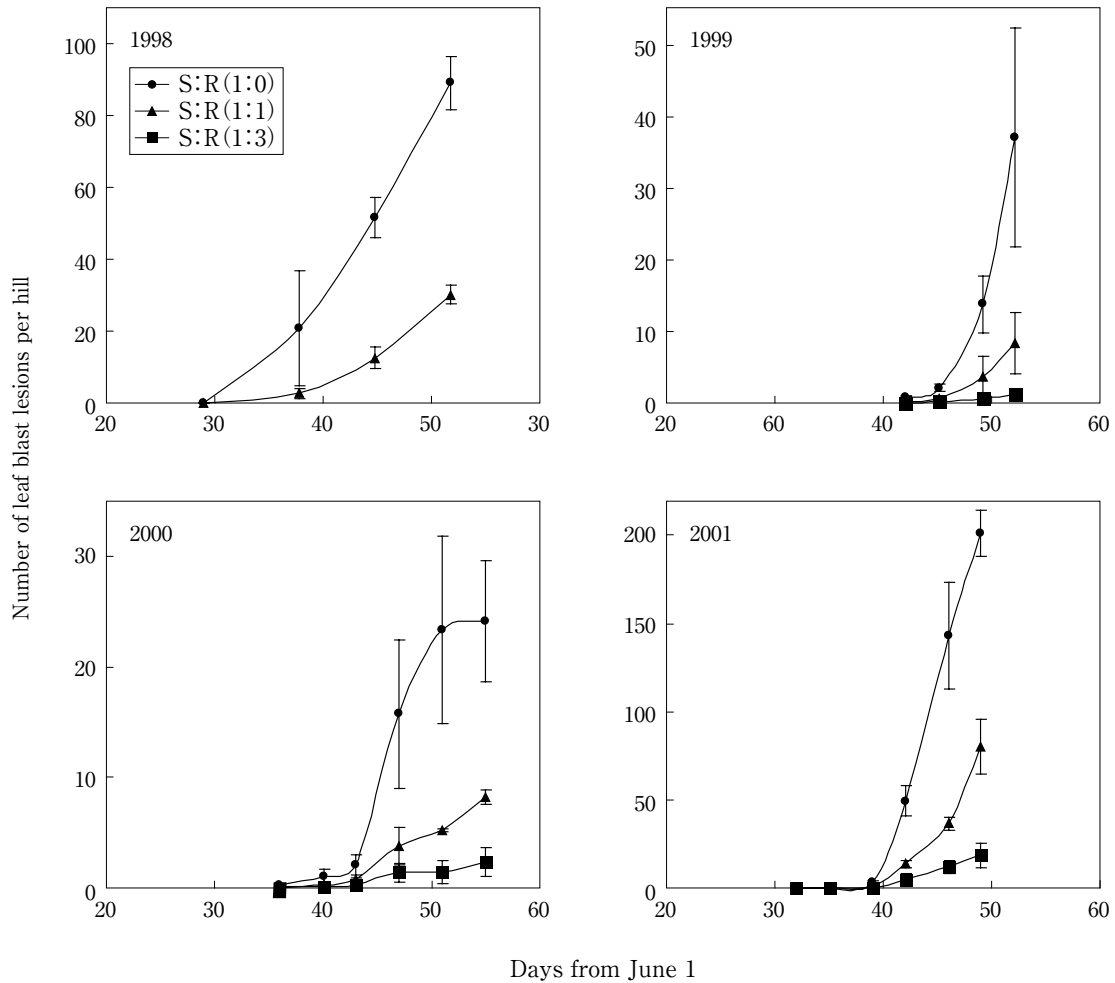


Fig. 1 Number of observed leaf blast lesions in pure stands of rice cv. Sasanishiki and in 1:1 and 1:3 mixtures of Sasanishiki and its resistant near-isogenic line, either Sasanishiki BL4 or BL7 during the 4-year survey (1998–2001).

Table 2 Number of observed and expected leaf blast lesions at time of first lesions were observed in fields in mixtures of Sasanishiki and its resistant near-isogenic line

Plot	Date			
	June 29, 1998	July 12, 1999	July 6, 2000	July 2, 2001
S:R (1:0) ^{a)}				
Observed	0.00625 ^{b)}	0.839	0.261	0.139
S:R (1:1)				
Observed	0.00825	0.15	0.0889	0.0487
Expected	0.00313	0.419	0.1306	0.0693
S:R (1:3)				
Observed	– ^{c)}	0.044	0.0222	0.0333
Expected	–	0.21	0.0653	0.0347

a) S, susceptible Sasanishiki; R, resistant near isogenic line, either Sasanishiki BL4 or BL7. Ratios in parentheses indicate mixture ratios.

b) Values indicate number of lesions per hill.

c) Not tested.

[考 察]

小林⁴⁰⁾は、葉いもちの初期の発生がある時期に地域全般に起こる現象を、「全般発生」と定義している。東北農試水田利用部内の圃場でも、6月下旬から7月上旬に全般発生に起因すると考えられる初発が一般に認められる。圃場内で観察される初発の病斑数(伝染源初期値)は、混植される抵抗性系統の比率によって変動すると考えられる。よって、抵抗性系統の混植比率が増加するのに比例して、伝染源初期値は小さくなると考えられる。4年間の試験結果では、伝染源初期値の実測値は予測値より低い傾向があったものの、ほぼ同程度の値が得られた。1999年の1:3混植区のように実測値と予測値が比較的差がある原因は不明であるが、伝染源を設置せず自然感染に依存したことでバラツキが大きい区があった可能性が考えられた。以上から、抵抗性系統

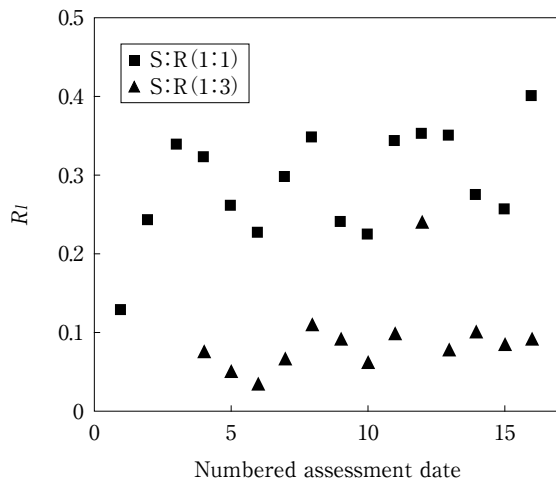


Fig. 2 Ratios of the number of leaf blast lesions (lesion number ratio; R_l) on the components in mixtures of susceptible Sasanishiki (S) and its resistant near isogenic line (R), either Sasanishiki BL4 or BL7, at the ratios (S:R) of 1:1 and 1:3 to the number in pure stands of Sasanishiki from 1998 to 2001. Numbered assessment date (year): 1-3(1998); 4-6(1999); 7-11(2000); 12-16(2001).

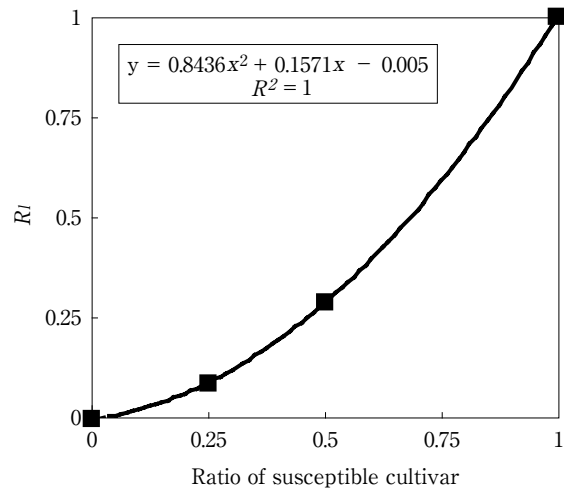


Fig. 3 Relationship between ratio of lesion numbers on the components in the mixtures (R_l) to the proportion of susceptible Sasanishiki in the 1:1 and 1:3 mixtures of susceptible Sasanishiki and its resistant near-isogenic line, either Sasanishiki BL4 or BL7.

の混植比率が初期伝染源として圃場中出现する病斑数に影響することが明らかとなった。

マルチラインにおける葉いもちの発病抑制程度を表す病斑数比 R_l の値は、4年間の圃場試験において葉いもち病斑数の増加推移を調査することで明らかにできた。得られた1:1および1:3混植の発病抑制程度値を用いて多項式が得られた (Fig. 3)。本式は、罹病性系統単植に対して罹病性系統と抵抗性系統の混植で、どの程度病斑数が減るかを簡便に計算するために利用できると考えられた。なお、葉いもちの病勢進展に関する詳細な発病抑制要因の解析については、第IVおよびV章に記述した。

2) 抵抗性同質遺伝子系統の混植が葉いもち病勢の垂直進展に及ぼす影響

マルチラインの発病抑制に関与する直接的な要因は、抵抗性系統の混合割合であるが、間接的な要因も報告されている。Chin and Wolfe¹⁴⁾は、感受性植物の密度減少が親和性菌による病勢進展を抑制する現象を、「胞子の希釈効果 (dilution effect)」と呼び、その影響が大きいとしている。また、非親和性菌が宿主に感染を試みたあとに親和性菌が感染しても、その後の親和性菌による病気の発生が抑制され

る現象を、「誘導抵抗性 (induced resistance)」と呼んでいる^{48, 56)}。これらの要因も圃場での病勢進展の抑制に影響することが期待される。

Kiyosawa and Shiyomi³⁵⁾は、病害防除のためのマルチラインの効果を知るために、抵抗性品種の混合が病勢進展に及ぼす影響を理論的に研究し、病勢進展の抑制程度は伝染源からの飛散勾配に影響を受けることを示した。また、実際の圃場では、外部からの胞子の移入や伝染世代の増加等で重複感染が起こることにより、伝染源からの飛散勾配は平坦化している。Koizumi and Kato⁴¹⁾は、罹病性と抵抗性のイネ品種を混植し、伝染源からの水平方向への病勢の進展を調査した結果、抵抗性系統の混合比率が高いほど伝染源からの水平方向への減少勾配が急になることを明らかにした。このように、伝染源からの水平方向への病勢進展に関する研究が行われてきた。しかし、マルチラインにおいて抵抗性同質遺伝子系統の混合比率が、イネ群落内における葉いもち病勢の垂直方向への進展に及ぼす影響については明らかでない。

そこで、マルチラインにおける葉いもちの病勢の垂直方向への進展過程を明らかにしようとした。

〔材料と方法〕

供試イネ品種は、「ササニシキ」(真性抵抗性遺伝子 *Pia* 保有) と「ササニシキBL7号」(同 *Pib*) を用いた。「ササニシキ」は、試験圃場に分布したレース (007.0がほとんどで037.1がわずかに分布) に対して罹病性で、「ササニシキBL7号」は抵抗性である。試験は、東北農業試験場水田利用部内の圃場で1999年、2000年、2002年および2004年に行った。「ササニシキ」と「ササニシキBL7号」の乾物の種子は、それぞれ1:1と1:3の重量比で均一になるよう混合したものと、「ササニシキ」単独のものを用いた。種子消毒および催芽法は、第II章1)と同様の方法で行った。これらの催芽粉は、1999年4月13日、2000年4月11日、2002年4月9日および2004年4月13日に育苗箱に播種し、ビニルハウス内で育苗した。移植は、1999年5月20日、2000年5月18日、2002年5月16日および2004年5月19日に、育苗した苗4本を1株当たり22.5cm×22.5cmの栽植密度で、手植えて行った。なお、1区当たりの面積は、10m×10mとした。基肥は、N、P₂O₅、K₂Oをそれぞれ13%含有した化成肥料を10a当たり60kgの割合でいずれの年次も3月末に施用した。追肥は、硫酸アンモニウムを窒素成分で10a当たり1kgの割合で、1999年は6月25日と7月2日、2000年は6月26日と7月3日、2002年は6月24日、2004年は6月24日に施用した。試験は、4カ年とも完全無作為化法により3反復で行った。

葉いもちの発生は、自然感染によった。発病調査は、葉いもちの病斑が圃場ではじめて観察された日から3~4日の間隔で行い、1区当たり20~60株について株当たりで5mm以上の長さの罹病性病斑数⁴⁰⁾を調査した。イネ群落内における葉いもち病斑の垂直分布を調べるため、1区当たり2~11株を対象に地表面から葉身上の葉いもちの病斑までの高さを物差しで測った。そして、各年の最終調査日に測定した草丈に対する各調査日における地表面からの葉いもち病斑の平均の高さの割合(以下、PADと略す)を計算し、試験区間の病斑の高さの比較に用いた。1999年と2000年のPADは、葉いもち病斑がはじめて圃場で認められた日から出穂直前の最終調査日まで記録した。2002年と2004年は、最終調査日のみPADを記録した。

統計処理は次の手順で行った。データは分散分析を行い、*F*値が統計的に有意($P < 0.05$)であると

判断された場合、Tukey法を用いて平均値間での比較を行った。全ての統計処理は、統計処理ソフトのStatistical Analysis Software (SAS Institute, Cary, NC, release 9.1)を用いて行った。

〔結果〕

自然感染による葉いもちの発病程度は、1999年は中発生、2000年と2004年は少発生、2002年は極少発生であった(Table 3)。葉いもち病斑が試験圃場内ではじめて観察された日は、1999年では7月12日、2000年は7月6日、2002年は7月11日、2004年は6月25日であった。4カ年の病勢進展は、いずれの年次でも「ササニシキ」単植区で早かったのに対し、「ササニシキ」と「ササニシキBL7号」の1:1混植区で中程度、1:3混植区で遅かった(Table 3)。

Table 3 Leaf blast development in 1:0, 1:1 and 1:3 mixtures of susceptible Sasanishiki and resistant near-isogenic line, Sasanishiki BL7

Year	Date	Number of leaf blast lesions per hill (standard deviation)		
		S:R(1:0) ^{a)}	S:R(1:1)	S:R(1:3)
1999	12 July	0.84(0.09) a ^{b)}	0.15(0.12) b	0.04(0.03) b
	15 July	2.13(0.52) a	0.68(0.24) b	0.16(0.06) b
	19 July	13.83(3.97) a	3.61(2.86) b	0.71(0.35) b
	22 July	37.20(15.4) a	8.43(4.26) b	1.28(0.59) b
2000	6 July	0.26(0.15) a	0.09(0.04) ab	0.02(0.01) b
	10 July	0.99(0.64) a	0.29(0.13) a	0.07(0.03) a
	13 July	2.12(0.90) a	0.73(0.13) b	0.23(0.14) b
	17 July	15.76(6.70) a	3.79(1.68) b	1.43(0.86) b
	21 July	23.36(8.48) a	5.23(0.14) b	1.43(1.05) b
	25 July	24.15(5.47) a	8.25(0.64) b	2.38(1.31) b
2002	11 July	0.06(0.03) a	0.04(0.03) a	0.02(0.01) a
	15 July	0.73(0.53) a	0.6(0.64) a	0.13(0.03) a
	18 July	1.11(1.29) a	0.59(0.38) a	0.1(0.03) a
	22 July	3.38(2.48) a	1.76(1.06) a	0.43(0.25) a
	1 August	3.95(0.62) a	1.87(0.95) a	0.43(0.18) b
2004	25 June	0.12(0.11) a	0.01(0.01) a	0.01(0.01) a
	28 June	0.4(0.56) a	0.06(0.06) a	0.01(0.01) a
	1 July	0.62(0.91) a	0.04(0.03) a	0.01(0.01) a
	5 July	2.82(1.2) a	0.34(0.13) b	0.03(0.03) b
	8 July	7.64(1.84) a	1.09(0.09) b	0.14(0.05) b
	12 July	7.52(2.07) a	1.31(0.33) b	0.22(0.11) b
	15 July	134.48(51.6) a	22.62(3.4) b	4.58(3.08) b
	22 July	70.06(39.5) a	16.43(0.81) ab	5.04(1.57) b
	29 July	23.09(8.75) a	6.18(0.96) b	2.16(0.46) b

a) S, susceptible Sasanishiki; R, resistant near-isogenic line Sasanishiki BL7.

b) Numbers followed by the same letters in a row do not differ significantly according to Tukey's test ($P < 0.05$).

1:1 および 1:3 混植における株当たり病斑数は、単植と比較して1999年7月12日、15日、19日および22日、2000年13日、17日、21日および25日、2004年5日、8日、12日、15日および29日において有意に少なかった。2002年では、1:3 混植における株当たり病斑数は、8月1日のみに単植と比較して有意差が認められた。このように、抵抗性系統の混植比率が高いほど病斑数の増加程度が低かった。

1999年の単植におけるPADは、7月22日においてのみ1:1 および 1:3 混植より有意に高かった (Fig. 4)。2000年の単植におけるPADは、7月13日、17日、21日および25日において1:3 混植のそれより有意に高かった (Fig. 4)。2002年と2004年の単植におけるPADは、それぞれ8月1日、7月29日にお

いて1:3 混植のそれより有意に高かった (Fig. 5)。このように、葉いもちの発生量に関係なく、PADは葉いもち最盛期（穂ばらみ期）において1:3 混植で抑制された。

〔考 察〕

本章では、葉いもちの病斑数の推移と地表からの病斑の垂直分布を調査することで、マルチラインにおけるいもち病発病抑制機構を明らかにしようとした。

混植における葉いもち病斑は、葉いもち最盛期において、イネ群落内の下層により多く分布した。イネの出穂は、1999年は7月28日、2000年は7月29日、2002年は8月3日、2004年は8月1日に圃場内ではじめて認められた。出穂日から約1週間の出穂期間中に、混植において葉いもち病斑は下層での分布割

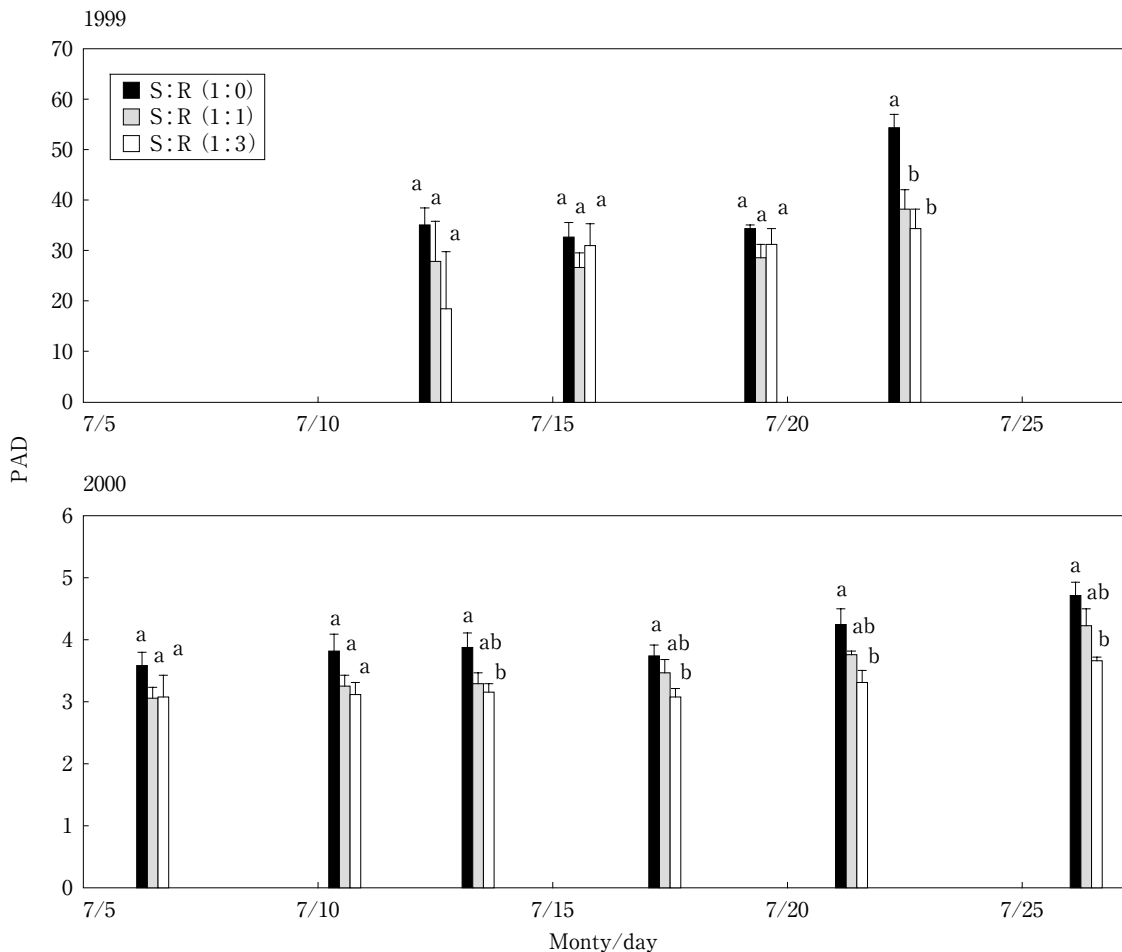


Fig. 4 The percentage of average distance of leaf blast lesions on leaves from the ground at each assessment date to the average plant height at the last assessment date (PAD) in pure stands of susceptible Sasanishiki (S:R = 1:0), 1:1 mixture of Sasanishiki and resistant near-isogenic line, Sasanishiki BL7 (S:R = 1:1) and 1:3 mixture (S:R = 1:3) during leaf blast epidemics in 1999 and 2000. Same letters are not significantly different according to Tukey's test ($P < 0.05$). Vertical bars indicate standard deviations.

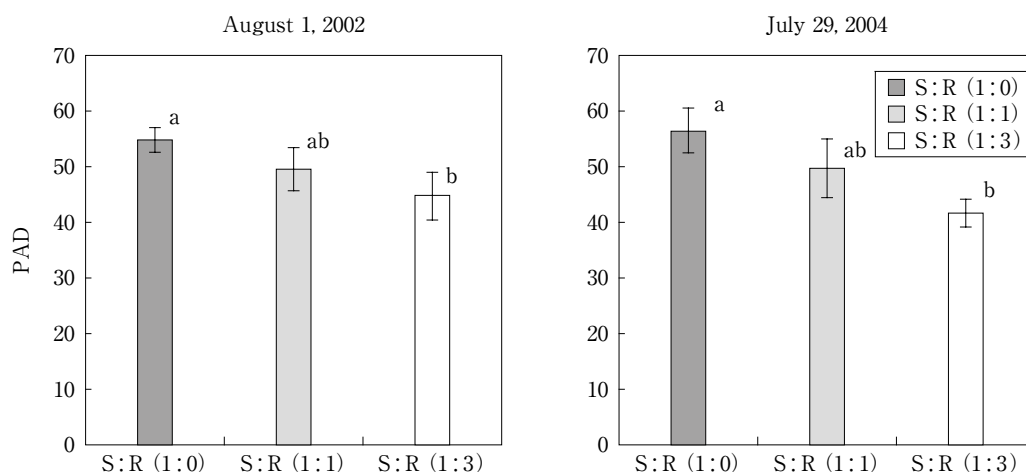


Fig. 5 The percentage of average distance of leaf blast lesions on leaves from the ground at each assessment date to the average plant height at the last assessment date (PAD) in pure stands of susceptible Sasanishiki (S:R = 1:0), 1:1 mixture of Sasanishiki and Sasanishiki BL7 (S:R = 1:1) and 1:3 mixture (S:R = 1:3) on 1 August 2002 and 29 July 2004. Same letters are not significantly different according to Tukey's test ($P < 0.05$). Vertical bars indicate standard deviations.

合が高いと考えられる。加藤・佐々木³²⁾は、罹病性系統単植において、上層と中層に分布する葉いもち病斑が穂いもちの発病に与与する可能性は、それぞれ下層のそれより4倍と2倍あることを報告している。同様に、混植においてもこのような可能性が考えられる。特に、混植で葉いもち病斑が下層に多く分布することにより、穂いもちの発生への影響度がより小さくなると考えられ、マルチラインにおける穂いもちの発生量に葉いもち病斑の垂直分布が影響する可能性が示唆された。一方、葉いもちの発生量の多少に関係なく、単植より混植において葉いもち病斑が下層に多く分布した。これは、抵抗性系統の混植によって2次伝染以降の病勢進展が抑制されたことのみが原因ではなく、垂直進展を抑制する別の要因が関与している可能性が考えられた。この要因は不明であるが、病斑数の増加に伴うイネ体の感受性の変化が単植と混植で違うか否か等を解明する必要があると考えられた。

2. 同質遺伝子系統における誘導抵抗性の発現

1) 葉身における非親和性イネいもち病菌による葉いもちの発病抑制

非親和性イネいもち病菌を前接種されたイネは、抵抗性を発現し過敏反応により非親和性菌の侵入を抑制する。その後、親和性イネいもち病菌を後接種すると、親和性イネいもち病菌の感染行動が抑制

される。これは、非親和性菌による誘導抵抗性^{48, 56)}と呼ばれている。

マルチラインの発病抑制機構の一つには、この誘導抵抗性が関与するとされている。藤田ら²⁰⁾は、異なる病斑型を形成する非親和性イネいもち病菌を用いて、葉いもちの発病抑制程度を比較した。その結果、葉身上にbg型の停止型小病斑を形成する非親和性菌を前接種した場合に、後接種した親和性菌の病斑数の減少率が最も高く、非親和性菌を接種しても無病徴(HR型)である場合にはこの率が低いことを報告している。このため、病斑型によって発病抑制程度が異なることを示している。また、岩野²⁸⁾は、孢子濃度の違いが発病抑制に及ぼす影響についても検討し、高濃度であるほど病斑数と病斑面積を減少させる効果が高いことを報告している。

このように、誘導抵抗性による病斑形成の抑制効果は報告されているが、マルチラインを構成する同質遺伝子系統を用いたイネ葉身の組織・細胞レベルでの反応の差異については明らかでない。イネ葉身では、親和性菌および非親和性菌の接種による細胞反応の差異は、6種の型に分類されている^{44, 45)}。同質遺伝子系統では、真性抵抗性以外の形質が戻し交配された親品種と同質であるため、抵抗性遺伝子間の真性抵抗性発現の差異を葉身レベルで比較する材料として適している。さらに、真性抵抗性遺伝子型

の違いが非親和性菌による発病抑制程度に影響すると考えられる。このことから、同質遺伝子系統を用い、葉身表皮細胞における非親和性菌の前接種による発病抑制の違いを明らかにすることは、マルチラインにおける発病抑制機構を解明するためにも重要である。また、発病抑制の及ぶ範囲は、葉鞘裏面にいもち病菌を接種して顕微鏡で観察する方法^{2, 74)}がこれまで用いられてきたが、葉身でその範囲を詳細に調査した報告はない。そこで、非親和性菌の葉身への接種による発病抑制程度について、「ササニシキ」同質遺伝子系統間で差異が認められるかどうかを明らかにしようとした。

〔材料と方法〕

供試材料は、8種類の「ササニシキ」同質遺伝子系統と4種類のイネいもち病菌を用いた(Table 4)。供試いもち病菌株に対する同質遺伝子系統の反応は、Table 4に示した。滅菌した育苗用山土に、N、P₂O₅およびK₂Oをそれぞれ13%含有した化成肥料を、2.5g/kgの割合で均質に混和した。これをシードリングケース（長さ15cm×幅5cm×深さ10cm）当たり5粒2列で合計10粒を播種し、第7葉が完全展開するまで温室内（22～32℃）で育苗した。

いもち病菌の接種は、相対湿度30%で形成した成熟胞子を対象に、培地表面に少量ずつ滅菌水を加えながら浮遊したものを集めた以外は常法に従った。

Table 4 Sasanishiki near-isogenic lines and their reactions to races of *Pyricularia grisea*

Near-isogenic line	Complete resistance gene	Isolate (Race)			
		TH68-141 (003.0)	Ai74-134 (477.1)	Ina85-182 (303.0)	Ina86T-02 (303.2)
Sasanishiki BL1	<i>Pia Pik</i>	R ^{a)}	S	R	R
Sasanishiki BL2	<i>Pia Pik-m</i>	R	S	R	R
Sasanishiki BL3	<i>Pia Piz</i>	R	S	R	R
Sasanishiki BL4	<i>Pia Piz-t</i>	R	S	R	R
Sasanishiki BL5	<i>Pia Pita-2</i>	R	R	S	S
Sasanishiki BL6	<i>Pia Pita</i>	R	R	S	S
Sasanishiki BL7	<i>Pia Pib</i>	R	R	R	S
Sasanishiki BL8	<i>Pia Pii</i>	R	S	R	R

a) R, resistant; S, susceptible.

(1) 非親和性イネいもち病菌の前接種が親和性菌による病斑伸展に及ぼす影響

8種類の「ササニシキ」同質遺伝子系統の完全展開した第7葉の葉身（以下、葉身）に、10⁵個/mlに調製した非親和性イネいもち病菌株TH68-141（レ

ース003.0）の胞子懸濁液（0.02%のTween 20を含む）を1個体当たり8ml噴霧（前接種）した。対照には、0.02%のTween 20を含む滅菌水を同様に噴霧した。これらのイネは、相対湿度100%で暗黒下に20時間、24±1℃の範囲で調節した接種箱中に静置した。その後、温室に移し、7000～8000 lxでメタルハライドランプによる照明を16時間補光して25℃に保ち、8時間は無照明で20℃に保った。前接種から72時間後に、病菌移植パンチ（藤原製作所社製）を用いて直径2mmの大きさに付傷した葉身に、8×10⁵個/mlに胞子濃度を調製し、カルボキシルメチルセルロース（CMC）を1g/mlの濃度になるよう添加して粘性を高くした接種菌液をのせた⁵⁰⁾。そして、この接種は、葉身の主脈をはさんでいずれか一方の葉身を対象に、葉先から葉の付け根までの距離の中央の位置で行った。接種イネは、再び接種箱内に20時間静置し、その後温室へ戻した。前接種から13日後に、デジタルマイクロメータ（ミツトヨ製）を用いて病斑長を測定した。なお、親和性イネいもち病菌として、「ササニシキBL1号」、「2号」、「3号」、「4号」および「8号」に対し愛74-134菌株（レース477.1）、同「5号」および「6号」に対し稲85-101菌株（レース303.0）、同「7号」に対し稲86T-02（レース303.2）をそれぞれ供試した(Table 4)。

(2) 前接種した非親和性菌の胞子濃度が親和性菌による病斑伸展に及ぼす影響

「ササニシキBL4号」と「8号」の葉身に、10⁵、5×10⁵、10⁶個/mlの濃度にそれぞれ調製した非親和性菌株TH68-141の胞子懸濁液を8mlずつ噴霧接種した。親和性菌には愛74-134菌株を用い、接種法や病斑長の測定は上述の方法に従った。

(3) 非親和性菌を接種した葉身の近接部位での親和性菌の病斑伸展への影響

「ササニシキBL4号」と「8号」の葉身を25cm×35cmのアルミニウム板上に静置させ、内径8mm、外径10mm、厚さ5mmのシリコンリングを葉身中央部から前後1cmの距離に1個ずつ（合計2個）置き、それらの中に1.5×10⁵個/mlに調製した非親和性菌株TH68-141の胞子懸濁液を前接種した。接種は、接種箱内で行い、その後接種苗を温室へ移した。前接種から72時間後に2つのリングの間で主脈を避けた葉身に上述の方法で親和性菌株愛74-134を接種した。前接種から12日後に、リング間の葉身に生じた病斑の長さを測定した。

- (4) 非親和性菌の前接種が葉身表皮細胞の侵入部位における親和性菌の菌糸伸展に及ぼす影響

「ササニシキBL4号」と「8号」の葉身に、非親和性菌株TH68-141の胞子を 1.5×10^5 個/mlの濃度に調製したものを噴霧して前接種した。前接種から72時間後に親和性菌株愛74-134の胞子を 1.5×10^5 個/mlの濃度に調製したものを噴霧（後接種）した。前接種から7日後に葉身を1cmの長さに切断し、葉身透明化法⁴³⁾により透明化し、クリスタルバイオレット (Merck Co.) で染色して光学顕微鏡で観察した。葉身表皮細胞における菌糸伸展は、菌糸伸展度^{72, 73)}によって分類した。

- (5) 葉身表皮細胞の侵入部位における反応

「ササニシキBL4号」と「8号」の葉身表皮細胞における細胞反応の違いを明らかにするために、(4)と同様の方法で非親和性菌を前接種し親和性菌を後接種してから、葉身透明化法を用いて光学顕微鏡で観察した。細胞反応は6種類の感染型^{44, 45)}に分類した。

- (6) 統計処理

上記試験は8個体以上のイネを供試し、試験は少なくとも3回繰り返して行った。菌糸伸展と細胞反応は、侵入部位数でそれぞれ30および100カ所を観察し、平均値を算出した。得られたデータは、分散分析を行い、*F*値が有意であったとき、Studentの*t*検定で処理間の比較を行った。また、前接種する非親和性菌の胞子濃度の差の影響を評価するために、Tukey法で多重比較を行った。ノンパラメトリックなデータである菌糸伸展のデータには、Wilcoxon's rank-sum testを適用した。

「ササニシキBL4号」と「8号」の葉身表皮細胞の反応型の出現頻度を比較するために、Fisher's exact testを用いた。また、ここでは、「ササニシキBL8号」に特異的に生じる葉身表皮細胞の褐変が親和性菌による侵入を抑制するかどうかを明らかにするために、次式を用いて検証を試みた。すなわち、褐変細胞 (*B*) の予測出現頻度 (*P*) は、次式で表される。

$$P(B) = (TAVV(AV/TAV + V/TV) / 2)$$

ここで、*AV*は非親和性菌の前接種によって誘導される褐変細胞の出現頻度、*V*は親和性菌の接種によって誘導される褐変細胞の出現頻度、*TAV*は非親和性菌の接種によって誘導される感染型の総数、

*TV*は親和性菌の接種によって誘導される感染型の総数、*TAVV*は非親和性菌の前接種後に親和性菌を接種することで誘導される感染型の総数を示す。本式を用いて、非親和性菌の前接種が細胞質の顆粒化反応を生じさせこれが親和性菌の侵入を抑制するか否かについても比較した。これらの仮説は、5%の有意水準で検定した。得られたすべてのデータの解析は、Statistical Analysis Software (SAS Institute, Cary, NC, release 6.11)を用いて統計処理を行った。

〔結果〕

- (1) 非親和性菌の前接種による親和性菌の病斑伸展抑制程度の系統間差

非親和性菌 (10^5 個/ml) を前接種した8種類の同質遺伝子系統の親和性菌による病斑長の違いをFig. 6に示した。病斑長の抑制程度は、「ササニシキBL1号」～「8号」において、それぞれ0.98mm、1.4mm、1.4mm、0.97mm、1.7mm、1.6mm、

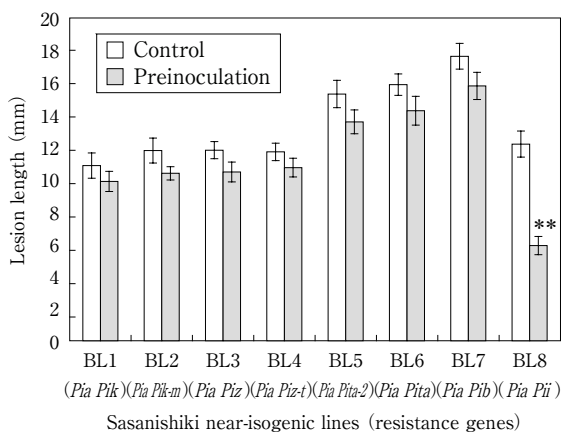


Fig. 6 Effect of preinoculation with an incompatible isolate TH68-141 (race 003.0) of *Pyricularia grisea* on lesion length after punch inoculation with one of three compatible isolates (Ai74-134, race 477.1; Ina85-101, race 303.0; Ina86T-02, race 303.2) in eight Sasanishiki near-isogenic rice lines. BL number indicates Sasanishiki BL number. Reactions of Sasanishiki near-isogenic lines to the races were shown in Table 4. Values with an asterisk are significantly different from those of the control according to Student's *t*-test (**, $P < 0.01$). Vertical bars represent standard errors.

1.8mm、6.3mmであった。これらのなかで、「ササニシキBL 8号」のみで非親和性菌の前接種により有意に親和性菌による病斑長が抑制された。他の7系統は、抑制程度が低く、有意差が認められなかった。「ササニシキBL 8号」では、非親和性菌の接種により褐点型の病斑が観察されたが、他の7系統では認められなかった。この褐点型病斑は、前接種から96時間後に観察された。

(2) 非親和性菌の前接種する孢子濃度と親和性菌の病斑伸展抑制程度との関係

「ササニシキBL 4号」と「8号」に対する非親和性菌の前接種孢子濃度が後接種した親和性菌による病斑の伸展抑制に及ぼす影響を調べた結果、「ササニシキBL 4号」では 5×10^5 と 10^6 個/ml、「ササニシキBL 8号」では 10^5 、 5×10^5 と 10^6 個/mlの孢子濃度で有意に病斑伸展が抑制された。また、非親和性菌の孢子濃度が高まるほどその抑制程度が大きかった (Table 5)。

Table 5 Effect of spore concentration in preinoculation spray of an incompatible isolate TH 68-141 (race 003.0) of *Pyricularia grisea* on subsequent development of leaf blast lesions after challenge inoculation with a compatible isolate Ai74-134 (race 477.1) on Sasanishiki BL4 and BL8

Avirulent spore concentration (conidia/ml)	Lesion length (mm) on	
	Sasanishiki BL4 (<i>Pia Piz-t</i>) ^{a)}	Sasanishiki BL8 (<i>Pia Pii</i>)
0 (Control)	20.9 ± 1.06 ab	13.8 ± 0.94 a
1×10^5	19.1 ± 0.92 ab	8.03 ± 0.5 b
5×10^5	16.3 ± 0.76 bc	6.04 ± 0.86 bc
1×10^6	14.9 ± 0.87 cd	4.75 ± 0.65 c

a) Blast resistance gene.

b) Values indicate means ± standard errors. Values followed by the same letters in a column do not differ significantly according to Tukey's test ($P < 0.05$).

(3) 非親和性菌の前接種部位が親和性菌の病斑伸展に及ぼす範囲

前接種から96時間後では、「ササニシキBL 4号」の葉身には、病斑が観察されなかったが、「ササニシキBL 8号」ではリングの内径と同じ大きさの範囲に褐点が認められた。両系統ともに、非親和性菌の前接種部位まで病斑は伸展しなかったが、対照では通常の病斑伸展が認められた (Fig. 7)。

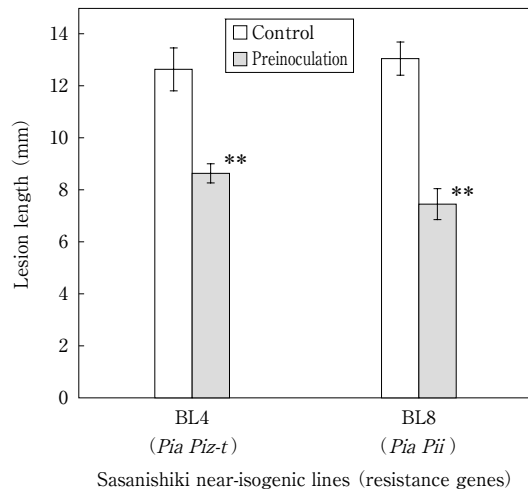


Fig. 7 Effect of preinoculation with incompatible isolate TH68-141 (race 003.0) of *Pyricularia grisea* on lesion expansion after challenge inoculation with compatible isolate Ai74-134 (race 477.1) at noninoculated areas with a distance of 1cm between the two preinoculation sites on leaf blades. BL number indicates Sasanishiki BL number. Values with asterisks are significantly different from those of the controls according to Student's *t*-test (**, $P < 0.01$). Vertical bars represent standard errors.

(4) 非親和性菌の前接種が葉身表皮細胞における親和性菌の菌糸伸展に及ぼす影響

非親和性菌を前接種した葉身表皮細胞の菌糸伸展度の平均値は、「ササニシキBL 4号」で2.76および「ササニシキBL 8号」で1.96であり、対照の3.89および5.15より低かった。菌糸伸展度の中央値を比較すると、「ササニシキBL 4号」で $P < 0.05$ 、「ササニシキBL 8号」で $P < 0.01$ の水準で有意に菌糸伸展が抑制されていた (Fig. 8)。

(5) 葉身表皮細胞における細胞反応の差異

非親和性菌の前接種により、「ササニシキBL 4号」の葉身表皮細胞では、無反応か細胞質の顆粒化を生じたが、わずかに菌糸伸展が観察されるものもあった。一方、「ササニシキBL 8号」では、付着器直下の細胞とそれに隣接する2~5個の表皮細胞の褐変が観察された。そして、親和性菌を接種した「ササニシキBL 4号」と「8号」ともに菌糸伸展が認められ、侵入部位では細胞内容物の顆粒化と無反応のものが観察された。

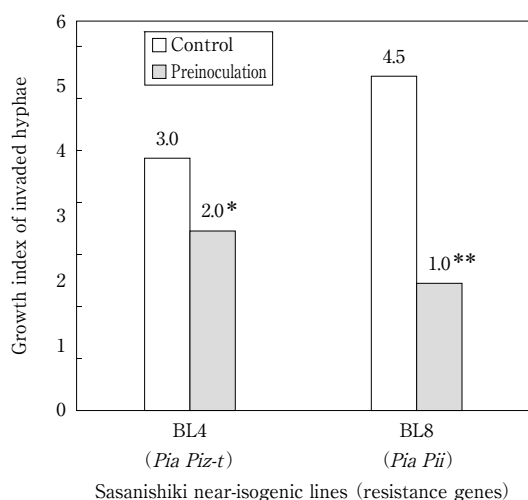


Fig. 8 Growth of invading hyphae of *Pyricularia grisea* in leaf epidermal cells challenge inoculated with compatible isolate Ai74-134 (race 477.1) on Sasanishiki BL4 and BL8 after preinoculation with incompatible isolate TH68-141 (race 003.0). Invaded hyphae in the epidermal cells were classified according to the hyphal growth index of Takahashi (1956). Bars with values indicate medians. The values with asterisk are significantly different from those of the controls according to Wilcoxon's rank-sum test (*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$).

「ササニシキBL 8号」では、表皮細胞の褐変化が高い頻度で有意に認められ ($P < 0.05$)、侵入菌糸の出現頻度も低かった。しかし、「ササニシキBL 4号」ではこのような差は認められなかった (Table 6)。

〔考察〕

本章では、「ササニシキ」同質遺伝子系統間で葉身に対する非親和性菌の前接種によって誘導される抵抗性の機構を明らかにするために行った。病斑の伸展は、非親和性菌を接種すると褐点が生じた場合に抑制された。藤田ら²⁰⁾は、非親和性菌を前接種することで、葉身上に生じる停止型小病斑 (bg型) が、病斑の認められない過敏感反応型 (HR型) よりも葉いもちの病斑伸展を抑制する効果が高いことを示している。このように、非親和性菌の前接種によって生じる病斑型によって、葉いもちの発病抑制程度が異なる。山崎・清沢²³⁾は、真性抵抗性遺伝子 *Pii* を持つイネ品種「石狩白毛」に非親和性菌を噴霧接種すると褐点 (R型) の病斑が生じることを報告している。この反応は、本試験で使用した「ササニシキBL 8号」と同様であったと考えられる。一方、葉身上での発病抑制の範囲も、非親和性菌の前接種孢子濃度により変化すると考えられる。岩野²⁸⁾は、非親和性菌の前接種孢子濃度が高いほど、親和性菌による病斑の数と大きさに影響を及ぼすことを報告している。本試験でも、過去のこれらの報告と同様の結果であったのに加えて、系統間で発病抑制程度に差があることが明らかとなった。

既往の報告では、葉身における誘導抵抗性が局在的か全身的かについては明らかになっていない。そ

Table 6 Infection types of Sasanishiki BL4 and BL8 observed in epidermal cells of leaf blades preinoculated with either distilled water (control) or a spore suspension of an incompatible isolate of *Pyricularia grisea* with or without preinoculation challenge with a compatible blast isolate

Infection type	Sasanishiki BL4 (<i>Pia Piz-t</i>) ^{a)}			Sasanishiki BL8 (<i>Pia Pii</i>)		
	AV ^{b)}	V	Pre-AV + V	AV	V	Pre-AV + V
Unsuccessful penetration with no host reaction	231 ^{c)}	56	108	231 ^{c)}	74	189 (195)
Unsuccessful penetration with host cytoplasmic granules	125	14	18	125	16	41 (37)
Poorly developed invading hyphae with host cytoplasmic granules	3	2	0	3	6	4 (8)
Well-developed invading hyphae without host cytoplasmic granules	0	34	0	0	22	23 (28)
Well-developed invading hyphae with host cytoplasmic granules	0	1	0	0	2	0 (2)
Unsuccessful penetration with host cell browning	0	0	36	0	0	47 (34)*

a) NIL carrying complete resistance genes in parentheses.

b) AV, an incompatible isolate TH68-141 (race 003.0); V, a compatible isolate Ai74-134 (race 477.1); Pre-AV + V, inoculation with V after preinoculation with AV. V was inoculated 96 h after preinoculation with distilled water (control) or AV.

c) Sum of all infection types.

d) Predicted sum of all infection types.

* Value significantly differs from the predicted value according to Fisher's exact test ($P < 0.05$).

ここで、本試験では、シリコンリングによる局在接種とパンチ接種を組み合わせることにより、非親和性菌の前接種部位の近接部位では、非接種部位まで病斑の伸展を抑制する効果があることを示した。その抑制程度は、非親和性菌を接種した部位から「ササニシキBL 4号」で2 mm、「ササニシキBL 8号」で2.5mmに及ぶことが明らかになった。Park and Kim⁶²⁾は、非親和性菌の前接種はその接種を行った部位から3 cm離れた部位まで病斑の大きさを減少させる効果があることを報告している。しかし、彼らが用いた孢子濃度は我々の試験より高い。非親和性菌の孢子濃度と病斑伸展の抑制との関係については、抑制の範囲をより明確にする必要がある。

菌糸侵入と細胞内での菌糸伸展の抑制は、イネに寄生性のない非病原性いもち病菌株をイネの剥離葉鞘に前接種して光学顕微鏡で観察する試みがなされている²⁾。しかし、葉身では、誘導抵抗性による感染抑制機構を組織・細胞学的に明らかにした報告はないため、「ササニシキ」同質遺伝子系統を使って発病抑制の範囲を明らかにする必要があると考えた。非親和性菌の前接種によって生じたb型病斑は、無病徴(HR型)の葉身表皮細胞よりも菌糸伸展を抑制した。これは、細胞反応の型が異なると発病抑制の範囲が異なることを示している。また、「ササニシキBL 4号」では表皮細胞の褐変は全く認められず、「ササニシキBL 8号」のみにこの褐変が特異的に認められた。さらに、細胞質の顆粒化反応はいずれの系統でも認められたことから、非親和性菌による顆粒化反応は、親和性菌による菌糸侵入を抑制する効果が低いと考えられた。菌糸の侵入を抑制する範囲は、「ササニシキBL 4号」の方が「ササニシキBL 8号」より小さいと考えられた。

以上の結果から、マルチラインにおいて非親和性イネいもち病菌による誘導抵抗性は、葉いもちの発病抑制の1要因になる可能性があると考えられる。

2) 非親和性菌による穂いもちの発病抑制

マルチラインを利用していもち病を効果的に防除するためには、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。岩野²⁸⁾は、圃場でイネの穂に非親和性イネいもち病菌を噴霧接種し、発病初期には発病抑制効果が高いが後期に劣ることを報告している。また、Manandhar *et al.*⁴⁹⁾は、非親和性イネいもち病菌を圃場のイネ葉に噴霧接種

し、首いもちの発生程度が減少したことを報告している。しかし、これら以外に、穂における誘導抵抗性に関する報告はない。そこで、穂に非親和性イネいもち病菌を接種した場合の「ササニシキ」同質遺伝子系統の発病程度と、本系統の穂における発病抑制を検討した。

〔材料と方法〕

(1) 供試植物と栽培

供試イネは、「ササニシキ」(真性抵抗性遺伝子 *Pia*を保有)、「ササニシキBL」8種(Table 4)および「東北IL1号」(*Pik-s*)を用いた⁶⁶⁾。育苗用山土を用い、これを1/5000aのワグネルポットに詰め、N、P₂O₅およびK₂Oをそれぞれ13%含有した化成肥料をポット当たり6 gとなるよう元肥として施用した。これに催芽粉を円形20粒法⁶⁵⁾で播種し、無加温のガラス室で3.5葉期まで育苗した。その後は、これらを簡易水槽内に移して管理した。また、主茎のみを生育させ出穂期をそろえた。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全ての穂(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窒素成分で0.2gの硫酸アンモニウムをそれぞれ追肥した。

(2) 供試イネいもち病菌

東北農業研究センター水田利用部保存のイネいもち病菌株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。

(3) 非親和性菌の接種による「ササニシキ」同質遺伝子系統の穂いもち発病

非親和性菌株の接種による「ササニシキ」同質遺伝子系統の穂における発病の系統間差異を明らかにするために、次の試験を行った。「ササニシキBL 1号」~「8号」の穂(各3ポット)に非親和性菌株Kyu89-246および稲85-182をそれぞれ10⁵個/mlに調製した孢子懸濁液を1穂当たり2 ml、ガラス製噴霧器で接種し、これらを25℃で相対湿度100%の接種箱内に20時間静置した。その後、これらを昼間25℃、夜間20℃(平均22℃)の温室に搬入して管理した。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³⁾の階級値を0.5刻みで21段階に細分

化して、1穂ごとに各階級値に対応した被害率を算出した。なお、比較のため供試菌株に罹病性の「ササニシキ」および「東北IL1号」を用い、同様の方法で接種した。

(4) 前接種した非親和性菌の接種濃度の違いが後接種した親和性菌による発病に及ぼす影響

前接種菌の孢子濃度の違いが後接種菌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そろえた「ササニシキBL4号」の穂(各8ポット)に非親和性菌株Kyu89-246を 10^5 、 5×10^5 および 2.5×10^6 個/mlの濃度に調製した孢子懸濁液を前項と同一の方法で噴霧により前接種した。その72時間後に親和性菌株愛74-134を 10^6 個/mlの濃度に調製した孢子懸濁液を噴霧により後接種し、前接種から22日後に被害率を調査した。なお、非親和性および親和性菌株のみを接種した「ササニシキBL4号」の穂(各7ポット)についても同様の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。

(5) 非親和性菌を高濃度で前接種し親和性菌を後接種した場合の穂いもち発病

非親和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。出穂期をそろえた「ササニシキBL3号」、「4号」および「6号」の穂(各3ポット)にそれぞれ非親和性菌株のKyu89-246を 2.5×10^6 個/mlの濃度に調製した孢子懸濁液を噴霧接種した。前接種から72時間後に「ササニシキBL3号」および「4号」には親和性菌株愛74-134を、「ササニシキBL6号」には同GFOS8-1-1をそれぞれ 10^6 個/mlの濃度に調製した孢子懸濁液を噴霧接種して、前接種から24日後に発病程度を調査した。なお、各系統に親和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。

〔結果〕

(1) 非親和性菌による「ササニシキ」同質遺伝子系統間の穂いもち発病程度の差異

本試験結果をFig. 9に示した。非親和性菌の孢子懸濁液(10^5 個/ml)を接種した結果、全ての系統

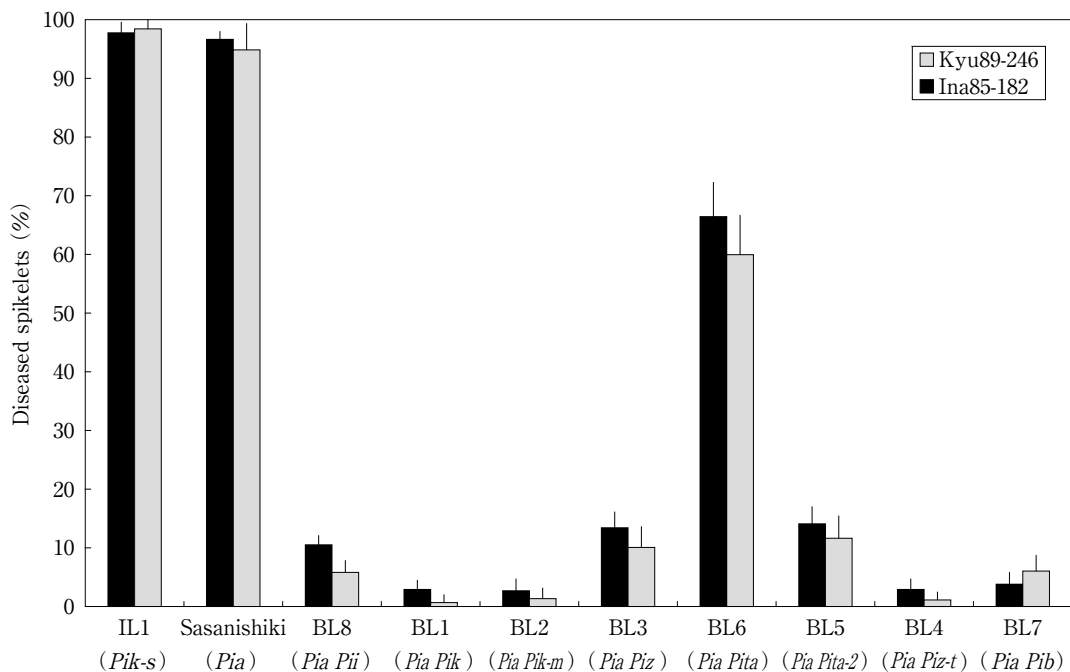


Fig. 9 Panicle blast severity of Sasanishiki near-isogenic lines after simultaneous inoculation with one of two blast isolates (Kyu89-246 and Ina85-182, race 003.0, 10^5 spores/ml). IL1, Tohoku IL1; BL8, Sasanishiki BL8; BL1, Sasanishiki BL1; BL2, Sasanishiki BL2; BL3, Sasanishiki BL3; BL6, Sasanishiki BL6; BL5, Sasanishiki BL5; BL4, Sasanishiki BL4 and BL7, Sasanishiki BL7. Tohoku IL1 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.

が発病した。被害率は「ササニシキBL 6号」が2菌株とも60%前後と最も高く、「ササニシキBL 3号」、「5号」および「8号」が10%前後で、「ササニシキBL 1号」、「2号」、「4号」および「7号」は5%以下と最も低かった。一方、親和性菌を接種した「ササニシキ」と「東北IL 1号」の被害率は、いずれも95%以上ときわめて高かった。

(2) 前接種した非親和性菌の接種濃度の違いが後接種した親和性菌による発病に及ぼす影響

本試験結果をFig. 10に示した。非親和性菌のみを 10^5 個/mlおよび 5×10^5 個/mlの濃度で接種した穂では被害率が低かった。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、非親和性菌を前接種し親和性菌を後接種した穂では、前接種した菌株の孢子濃度が 10^5 個/mlと低い場合には非親和性菌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、親和性菌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。

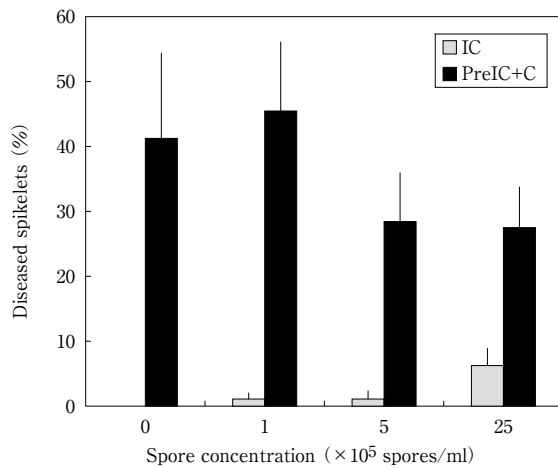


Fig.10 Effect of pre-inoculum spore concentration of incompatible blast isolate Kyu89-246(race 003.0) on panicle blast severity caused by compatible isolate Ai74-134 (race 477.1) on Sasanishiki BL4 (blast resistance gene, *Pia* and *Piz-t*). IC, inoculated with the incompatible isolate; PreIC, pre-inoculated with the incompatible isolate; C, inoculated with the compatible isolate after pre-inoculation. Bars on columns represent standard deviations.

(3) 非親和性菌を高濃度で前接種し親和性菌を後接種した場合の穂いもち発病

本試験結果をFig. 11およびFig. 12に示した。非親和性菌のみを接種した穂の被害率は、「ササニシキBL 6号」、「3号」、「4号」の順に高く、特に「ササニシキBL 6号」では非親和性菌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、親和性菌のみを接種した穂と非親和性菌を高濃度で前接種し親和性菌を後接種した穂の被害率を比較したところ、「ササニシキBL 3号」および「6号」では、非親和性菌を前接種した穂は親和性菌のみの接種と同程度の被害率で、非親和性菌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BL 4号」では非親和性菌の前接種により有意に被害率が低くなった。

[考 察]

非親和性菌の接種によってすべての同質遺伝子系統の穂が発病し、系統間で被害率に差が認められた。これは、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⁶⁸⁾ことが影響しているとともに、系統間で抵抗性程度に差があることを示唆している。一方、宮城県の農家圃場で実際に栽培されている「ササニシキBL」でも、非親

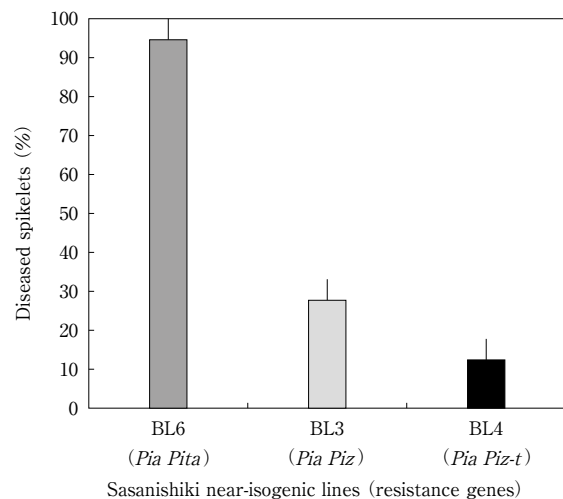


Fig.11 Severity of panicle blast on three Sasanishiki near-isogenic lines inoculated with a high spore concentration (2.5×10^6 spores/ml) of incompatible isolate Kyu89-246 (race 003.0). Sasanishiki near-isogenic lines are shown in Table 1. Bars on columns represent standard deviations.

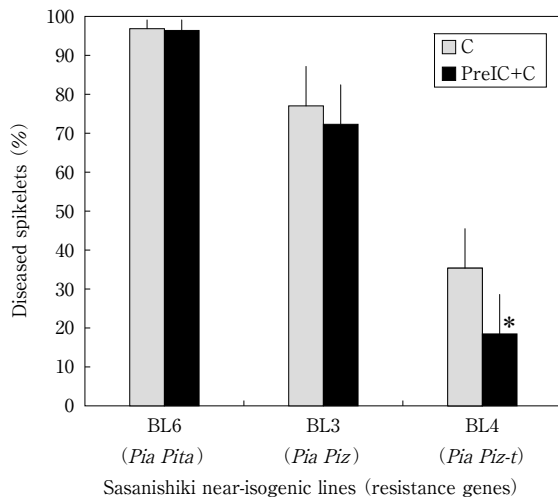


Fig.12 Effect of pre-inoculation with a high spore concentration (2.5×10^6 spores/ml) of incompatible isolate Kyu89-246 (race 003.0) on panicle blast severity caused by compatible isolates on three Sasanishiki near-isogenic lines. Sasanishiki near-isogenic lines are shown in Table 1. C, inoculated with compatible isolate Ai74-134 (race 477.1) to Sasanishiki BL3 and BL4, and an isolate GFOS8-1-1 (race 303.0) to Sasanishiki BL6; PreIC, pre-inoculated with incompatible 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.

和性菌によって「ササニシキBL」を構成する4系統すべての穂で発病することが確認されている⁷⁾。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、非親和性菌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。

前接種する非親和性菌の孢子濃度が高いほど、「ササニシキBL 4号」の穂では、後接種する親和性菌による発病が抑制された。この抑制機構は現在不明であるが、葉身では非親和性菌の接種孢子濃度が高いほど親和性菌による発病を抑制する^{28, 68)}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た。

「ササニシキBL 3号」、「4号」および「6号」の穂に高孢子濃度で非親和性菌を前接種し、親和性菌を後接種した結果、「ササニシキBL 4号」のみで有意に発病が抑制された。これは、ササニシキ同質

遺伝子系統のなかには、非親和性菌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を示唆している。なお、「ササニシキBL 1号」、「2号」および「7号」は、「ササニシキBL 4号」と同様の発病抑制効果を示す可能性がある。

以上のように、「ササニシキ」同質遺伝子系統の穂では、非親和性菌の接種により全ての系統が発病し、その発病程度に系統間差があること、非親和性菌による発病抑制は、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、マルチラインの実際の栽培圃場で誘導抵抗性が働く条件は、非親和性のいもち病菌によって本病が多発しており、かつ、非親和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定されると推察される。圃場での非親和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²⁸⁾、実際の混植圃場での発病抑制の有無については検討の余地が残されている。

3. 圃場における同質遺伝子系統の発病と抵抗性発現

1) 宮城県の「ササニシキ」マルチライン栽培圃場におけるイネいもち病菌のレース分布と混植系統の発病との関係

宮城県では1995年から「ササニシキBL」が普及したが、自家採種を行わないように指導されており、必ず採種圃産の種子由来のササニシキBLが作付けされている。ところが、作付け初年目に一部の栽培圃場で同品種を構成する一部の同質遺伝子系統が罹病化⁷⁰⁾したため問題となった。そこで、これらの系統を侵害するレースの分離頻度と罹病した系統の真性抵抗性遺伝子型の関係を調べるとともに、「ササニシキBL」を侵害するレースの伝染源が採種圃産の種子である可能性も考えられたので、「ササニシキBL」の採種圃場とその周辺圃場および「ササニシキBL」の一般栽培圃場を対象に調査を行った。

〔材料と方法〕

1996年および1997年には宮城県内各地の「ササニシキBL」栽培圃場、1998～2000年にかけては「ササニシキBL」栽培圃場と周辺圃場(1998年のみ)の穂いもち発病を調査し、栽培圃場全体をくまなく歩きながら罹病穂を採集し、これらからいもち病菌を単孢子分離して、常法に従いレースを同定した^{6, 38, 81)}。

また、採集した罹病穂の種子の一部を、常法で種子消毒してからシードリングケース（長さ15cm×幅5cm×深さ10cm）に5～10粒播種して20～25℃の温室で4葉期まで育苗した。これら幼苗に、東北農業試験場水田利用部保存のイネいもち病菌株新83-34（レース001.0、以下レース省略）、Kyu89-246（003.0）、稲86-137（007.0）、Kyu92-22（017.1）、24-2-1-1（037.1）、Kyu9439013（047.0）、笹森121（077.1）、愛74-134（477.1）の胞子を常法によりそれぞれ噴霧接種して、採集したイネの有する真性抵抗性遺伝子を推定した⁵⁾。なお、「ササニシキBL」を構成する同質遺伝子系統は、1996年が「ササニシキBL 1号」:「2号」:「3号」を3:3:4、1997～2000年が「ササニシキBL 1号」:「2号」:「3号」:

「4号」を1:1:4:4の比率で種子混合したものであった。また、調査した圃場に間違いなく「ササニシキBL」が作付けされていることや周辺の作付け品種を事前に確認しておいた。

〔結果〕

1996～2000年は、1998年を除いていずれもいもち病の少発年であったこと、「ササニシキBL」栽培予定地域に分布するレースに対し抵抗性の同質遺伝子系統で「ササニシキBL」を構成したこともあり、調査した圃場のほとんどが0.1%以下の発病株率で、1穂当たりの被害率が1%程度の籾もちがほとんどであった。しかし、1998年の採種圃場における被害率は「ササニシキBL」が0.2～7.5%、「ひとめぼれ」は9.8%であった。

Table 7 Pathogenic races of *Pyricularia grisea* isolated from Sasanishiki BL cultivated in Miyagi Prefecture from 1996 to 2000 and complete resistance genes in the rice infected by the races

Year	Race													Number of total isolates
	Location	003.0	007.0							037.1				
		<i>Pia</i> ^{c)}	<i>Pik-s</i>	<i>Pia</i>	<i>Pii</i>	<i>Pik</i>	<i>Pik-m</i>	<i>Piz</i>	<i>Piz-t</i>	<i>Pia</i>	<i>Pii</i>	<i>Pik</i>	<i>Pik-m</i>	
1996														
	Kannari, Harada											100(2)		2
	Kannari, Arikabe			100(2)										2
	Shiwahime											100(3)		3
	Wakayanagi											100(2)		2
	Kurikoma			66.7(4)								33.3(2)		6
	Marumori A ^{a)}		100(2)											2
	Marumori B											50.0(1)	50.0(1)	2
1997														
	Naruse	100(1) ^{d)}												1
	Nakaniida							83.5(5)	16.7(1)					6
	Sendai, Izumi			8.3(1)			8.3(1)	41.7(5)	41.7(5)					12
1998														
	Furukawa A							50.0(1)				50.0(1)		2
	Furukawa B			82.8(29) ^{e)}				8.6(3)		8.6(3)				35
	Furukawa C			91.7(11)					8.3(1)					12
	Furukawa D ^{b)}				76.9(10)						23.1(3)			13
	Furukawa E							66.7(2)	33.3(1)					3
	Semine A			95.2(20)	4.8(1)									21
	Semine B			80.0(16)	15.0(3)	5.0(1)								20
1999														
	Furukawa F							100(1)						1
	Furukawa G							100(1)						1
	Furukawa H								—(1)					1
2000														
	Onoda							—(1) ^{f)}						1

a) Location with alphabetical characters are different sampling points at same locations.
 b) Samples were isolated from rice cultivar Hitomebore. The field Furukawa D was adjacent to Furukawa A, B and C.
 c) Complete resistance gene identified using spray inoculation method.
 d) Percentage of identified complete resistance gene in each location (number of isolated *P. grisea*).
 e) Samples in Furukawa and Onoda from 1998 to 2000 (in bold face) collected are from seed production fields.
 f) Not identified races.

「ササニシキBL」栽培圃場および採種圃場の罹病イネが有していると推定された主な真性抵抗性遺伝子は、各個体とも1遺伝子ずつで、*Pik-s*、*Pia*、*Pii*、*Pik*、*Pik-m*、*Piz*、*Piz-t*の7種類であった (Table 7)。

1996年と1997年に「ササニシキBL」の一般圃場から分離されたイネのレース構成は、003.0、007.0、037.1の3種類と単純であった (Table 7)。このうち、「ササニシキBL」の全構成系統に対して非親和性のレース007.0は、「ササニシキBL」を構成する多くの系統から分離された。また、1996年には「ササニシキBL1号」と「2号」のいずれにも非親和性のレース007.0が分離された。

〔考 察〕

「ササニシキBL」の構成系統は、*Pik-s*、*Pia*および*Pii*を保有しておらず、これらの遺伝子を有していた個体が「ササニシキBL」の栽培圃場内で認められたのは、種子の混ざりや前作のこぼれ種等に由来すると考えられる。このため、今回のような調査を行う場合、分離源のイネの真性抵抗性遺伝子型を調査する必要があるほか、移植した以外のイネ品種が株間で生育していないか等に注意する必要がある。

1996年と1997年の実態調査から、「ササニシキBL」栽培圃場に分布するレースには大きな年次変動が認められた。この変動要因の一つに、親和性のレースが採種圃場ですでに発生している年次があり、これが種子伝染の経路により伝染源となる可能性が考えられた。そこで、これを検討する目的で1998～2000年にかけて、「ササニシキBL」の採種圃場とその周辺圃場および「ササニシキBL」の一般栽培圃場におけるレース分布状況を調査した。つまり、ある年次に「ササニシキBL」の採種圃場で分離された侵害レースの種類と頻度が次年度に「ササニシキBL」の一般栽培圃場で分離された侵害レースのものとよく類似していれば、その種子が伝染源であった可能性が強く示唆されると考えた。しかし、本試験結果では、1998年の採種圃場の「ササニシキBL」とその隣接した「ひとめばれ」(*Pii*)の採種圃場からレース007.0と037.1が分離された。これらのうち、「ササニシキBL」を侵害できるのはレース037.1のみであったが、次年度以降の「ササニシキBL」栽培圃場でレース037.1が分離されることはなかった。宮城県では、1998年の「ササニシキBL」採種圃場の種子は次年度の伝染源になる可能性が指摘されたた

め、1999年の作付けには使用されなかった (宮城県、長田 茂氏、私信)。このため、1999年に作付けされた「ササニシキBL」の種子には1997年産のものが使用された可能性が高い。

本調査の結果からは、採種圃場種子からの種子伝染の可能性は明らかにできなかった。しかし、少なくとも1998～2000年には「ササニシキBL」を侵害するイネのレースが種子伝染する頻度は低かったと考えられる。

辻ら⁷⁶⁾や大場ら⁵⁹⁾の報告では、「ササニシキBL」を作付けしてから2年以内に構成系統を侵害するレースが分離されている。これらの由来は、周辺圃場からの飛び込みか「ササニシキBL」の栽培圃場内で出現したものか明らかでない。

なお、今回の試験結果から、「ササニシキBL」を構成するすべての系統の穂はそれぞれに対して非親和性のイネのレース007.0により感染することが明らかとなった。今回の試験結果では採集標本数が少ないため、明確な結論は出せないが、「ササニシキBL」のなかで特定の系統がこの地域の優勢レース007.0に侵害されやすいという傾向は認められなかった。これは、各系統の穂上におけるイネのレース間の適応度には大きな差がない可能性があることを示唆している。

2) 多発試験圃場における同質遺伝子系統の葉イネおよび穂イネ抵抗性

マルチラインでは、圃場に分布するイネのレースに対し、混植された抵抗性同質遺伝子系統で真性抵抗性が発現することにより発病が抑制される。しかし、レース・判別品種体系^{81, 82)}で想定される反応と同様に、いずれの同質遺伝子系統においても、葉および穂で真性抵抗性が発現していることが必ずしも確認されているわけではない。

真性抵抗性を保有したイネ品種の葉に非親和性のイネのレースを接種すると、真性抵抗性が発現し、一般に罹病性病斑は形成されない。しかし、真性抵抗性遺伝子*Pita*を持つ品種では、非親和性菌を噴霧接種するとRS型 (弱度罹病型) の反応を示し、罹病性病斑に類似した病斑を形成することがある⁸²⁾。また、イネの穂では、一般に真性抵抗性の発現程度が葉よりも弱くて若干の発病がみられ、また、保有する真性抵抗性遺伝子が異なると、その発病程度に差があるとされている⁶⁸⁾。さらに、円形20粒播種法で育成した「ササニシキ」同質遺伝子系統の穂に非親

和性いもち病菌を噴霧接種すると、穂いもちの発病程度に系統間で差があるとともに、接種する孢子濃度が高くなるほど穂いもちの発病程度が高まることが報告されている⁸⁾。

これらのようなことが、一般の栽培圃場で混植される抵抗性同質遺伝子系統でも起こるとすれば、マルチラインにおける発病抑制効果が低くなり、本病が多発して被害が大きくなる可能性がある。そこで、本章では、東北農業研究センター水田利用部内の圃場で「ササニシキ」および「ひとめぼれ」の同質遺伝子系統を栽培し、多発条件下における各系統の葉および穂の被害程度を明らかにしようとした。

〔材料と方法〕

東北農業研究センター水田利用部内の圃場で、「ササニシキ」とその同質遺伝子8系統および「東北IL1号」は3反復、「ひとめぼれ」とその同質遺伝子5系統は2反復のそれぞれ乱塊法により圃場試験を行った。試験区は、条間22.5cm、株間22.5cm、条長20m、3条で1区とし、2001年5月16日に1株1本植えの栽植密度で、育苗した各系統の苗を手植えた。各試験区には、圃場全体のいもち病の発生量を多くするため、圃場抵抗性の弱い「ササニシキ」を1条ずつ、同様の栽植密度で手植えし、伝染源も設置した。すなわち、2000年に水田利用部内の圃場で採集した「ササニシキ」の罹病穂を長さ1.5mの園芸用支柱に3穂ずつ木綿のひもで結んで地表面から高さ60cmとなるようにし、これらを6月25日に試験圃場内に2m×4m間隔で設置した。基肥は、N、P₂O₅、K₂Oをそれぞれ13%含有した化成肥料を10a当たり60kgの割合で3月末に施用した。追肥は、硫酸アンモニウムを窒素成分で10a当たり1kgの割合で、6月28日と7月10日に施用した。

発病程度は、浅賀の基準³⁾により評価（通常の11段階で達観による評価）し、葉いもちは7月23日に、穂いもちは9月3日にそれぞれ1区1系統当たり10株ずつ調査した。なお、褐点型病斑のデータも得るため、罹病性病斑に相当する病斑面積の褐点が生じている場合にはそれらも調査に加えた。

〔結果〕

試験圃場では、葉・穂いもちともに多発した。本病の初発確認は7月2日、これは6月26日の感染好適日に生じた感染によるものと考えられた。葉いもち初発時の病斑密度は、一般圃場より高かった。この後も感染好適日が多く出現したため（データ省

略）、病勢の進展が著しく、葉いもちでズリコミ症状となる株もみられた。なお、7月23日に無作為に選んで回収した伝染源10穂のうち8穂で本菌の孢子形成が認められた。このことから、この伝染源は長期間機能していたものと推察される。

「ササニシキ」とその同質遺伝子系統の葉いもちの発病程度は、「東北IL1号」（真性抵抗性遺伝子 *Pik-s*）、「ササニシキ」（*Pia*）および「ササニシキBL8号」（*Pii*）で高かったが、「ササニシキBL1号」（*Pik*）および「2号」（*Pik-m*）ではわずかに罹病性病斑が認められたのみで発病程度は低かった。「ササニシキBL3号」（*Piz*）、「5号」（*Pita-2*）、「6号」（*Pita*）、「7号」（*Pib*）では褐点型の病斑のみが認められ、「ササニシキBL4号」（*Piz-t*）では、病斑が全く認められなかった（Table 8）。

「ササニシキ」とその同質遺伝子系統の穂いもちの発病程度は、「東北IL1号」、「ササニシキ」および「ササニシキBL8号」できわめて高く、その他はいずれも低いが、「ササニシキBL3号」、「5号」および「6号」は、「ササニシキBL4号」および「7号」よりも発病程度が高かった（Table 8）。

「ひとめぼれ」とその同質遺伝子系統の葉いもちの発病程度は、「ひとめぼれ」（*Pii*）では罹病性病斑が認められたのに対し、他の系統では罹病性病斑は認められず、*Pik-m*および*Pita*系統では、褐点の抵抗性病斑のみがみられ、*Piz*、*Pia-2*および*Piz-t*系統では、全く病斑が認められなかった（Table 9）。

Table 8 Difference of blast severity among rice cultivar Sasanishiki and its near-isogenic lines

Near-isogenic line (Complete resistance gene)	Diseased leaf area(%) ^{a)}	Diseased spikelets(%)
Tohoku IL1 (<i>Pik-s</i>)	20.3 b	81.5 a
Sasanishiki (<i>Pia</i>)	31.9 ab	79.5 ab
Sasanishiki BL1 (<i>Pia Pik</i>)	0.09 c	4.2 def
Sasanishiki BL2 (<i>Pia Pik-m</i>)	0.09 c	2.5 efg
Sasanishiki BL3 (<i>Pia Piz</i>)	0.002 c	5.3 cde
Sasanishiki BL4 (<i>Pia Piz-t</i>)	0 c	1.1 g
Sasanishiki BL5 (<i>Pia Pita-2</i>)	0.005 c	5.8 cd
Sasanishiki BL6 (<i>Pia Pita</i>)	0.01 c	8.7 c
Sasanishiki BL7 (<i>Pia Pib</i>)	0.002 c	1.5 fg
Sasanishiki BL8 (<i>Pia Pii</i>)	39.6 a	72.5 b

a) Values of log (X+1) transformed diseased leaf area and arcsine transformed diseased spikelets within the same column followed by different letters are significantly different according to Tukey's test (P = 0.05).

Table 9 Difference of blast severity among rice cultivar Hitomebore and its near-isogenic lines

Near-isogenic line (Complete resistance gene)	Diseased leaf area (%) ^{a)}	Diseased spikelets (%)
Hitomebore (<i>Pii</i>)	10.3	55.3 a
<i>Pik-m</i> line (<i>Pii Pik-m</i>)	0.003	1.4 c
<i>Piz</i> line (<i>Pii Piz</i>)	0	4.4 bc
<i>Pita</i> line (<i>Pii Pita</i>)	0.01	8.3 b
<i>Pita-2</i> line (<i>Pii Pita-2</i>)	0	4.1 bc
<i>Piz-t</i> line (<i>Pii Piz-t</i>)	0	2 c

a) Multiple comparisons did not used for data of diseased leaf area according to nonhomoscedasticity. Values of arcsine transformed diseased spikelets within the same column followed by different letters are significantly different according to Tukey's test ($P = 0.05$).

「ひとめぼれ」とその同質遺伝子系統の穂いもちの発病程度は、「ひとめぼれ」できわめて高かったが、その他はいずれも低く、*Pita*よりも*Pik-m*および*Piz-t*系統の発病程度が低かった (Table 9)。

〔考 察〕

本試験圃場に分布したいもち病菌のレース調査は行わなかった。しかし、葉いもちでは一般にいもち病菌レースに対する真性抵抗性遺伝子の反応が明確であるので、それを前提に各系統の発病程度から推定すると、たとえば、「ササニシキ」同質遺伝子系統の発病程度は「東北IL 1号」、「ササニシキ」および「ササニシキBL 8号」のみで高いことから、試験圃場で優勢なレースは007.0であった可能性が強く、さらに、「ササニシキBL 1号」および「2号」ではわずかに罹病性病斑がみられたことから、レース037.1がわずかに分布した可能性もある。そのため、ここではレース007.0と037.1が分布していたものと仮定し以下の考察を行った。

Yamada *et al.*⁸¹⁾の判別品種体系では、いもち病菌レースに対する真性抵抗性遺伝子の反応は抵抗性と罹病性に区別される。しかし、実際には判別品種の「ヤシロモチ」(*Pita*)では、非親和性いもち病菌を噴霧接種すると罹病性病斑にきわめて類似した葉いもち病斑を形成することがある⁸²⁾。今回供試した真性抵抗性遺伝子*Pita*を持つ系統でも圃場に分布すると考えられた非親和性菌の2レースに対し同様の反応を示す可能性があったが、本調査では、褐点型以外の葉いもち病斑は認められなかった。このため、供試系統の葉いもちの抵抗性反応は圃場条件で

も本体系と一致していると考えられた。

本試験を行った圃場で分布していたと推定されるレースに対する抵抗性系統の穂いもちの発病程度は、「ササニシキ」同質遺伝子系統、「ひとめぼれ」同質遺伝子系統の両群系統ともに群内の系統間に差が認められた。すなわち、いずれも*Pita*、*Piz*および*Pita-2*を持つ系統の発病程度がやや高く、*Piz-t*および*Pib* (「ササニシキBL 7号」のみ)をもつ系統の発病程度が比較的低かった。なお、「ササニシキBL 1号」および「2号」では、「ササニシキBL 7号」と同程度の発病程度であったが、罹病性の葉いもち病斑が認められたため、これら2系統の穂いもち発病には、非親和性菌以外に親和性菌も関与した可能性が考えられる。

温室内で生育をそろえた「ササニシキ」同質遺伝子系統の穂へ非親和性菌を接種した結果⁸⁾と、本試験で示された「ササニシキ」同質遺伝子系統の発病の系統間差はほぼ同様の傾向が認められた。また、「ひとめぼれ」の同質遺伝子系統間でも、発病程度に「ササニシキ」同質遺伝子系統と同様の傾向が認められた。このことから、それぞれの系統が保有する真性抵抗性遺伝子と非親和性レースによる穂いもち発病程度には一定の関係があると推察される。

著者ら⁷⁾は、宮城県で1996~2000年に抵抗性「ササニシキ」同質遺伝子系統のみを混合栽培した「ササニシキBL」の一般栽培圃場から採集した罹病穂からいもち病菌を分離して、レース検定を行った結果、各罹病穂に対して本来非親和性の菌が多く分離され、その頻度は、そのマルチラインを構成する同質遺伝子系統の混植比率と密接な関係がある可能性を指摘した。しかし、そのときの調査では、混植に用いた各系統のうち、圃場に分布すると推定されるレースに対して非親和性の反応を示すと考えられる系統の発病程度は、靱いもちがみられる程度と低くとどまり、非親和性菌による穂いもち発病の系統間差の有無は明らかでなかった。そのため、レース頻度に及ぼす非親和性系統の役割が十分解明できなかった。一方、水田利用部内圃場で行った本試験は、本病の多発条件下であったため、圃場に分布すると考えられるいもち病菌レースに対して非親和性の「ササニシキ」同質遺伝子系統間で穂いもち発病程度に系統間差が認められた。これは、実際の圃場でもいもち病が多発したときには、その圃場に分布するいもち病菌のレースに対して非親和性の「ササニシ

キ」同質遺伝子系統でも、穂いもちの発病がみられ、その程度に差が生じてくることを示唆している。

4. いもち病菌レース検定の効率化のための改良

マルチラインでは、混植に用いた抵抗性同質遺伝子系統の多くに対して親和性を示すレースが蔓延すると、混植による発病抑制効果がなくなる。このため、マルチラインを導入する前には、その地域のレース分布を調査し、構成する同質遺伝子系統に対して、どの程度の侵害レースが分布するかを明らかにする必要がある²⁷⁾。レース分布の調査は、罹病標本から菌を分離し、判別品種に噴霧接種後、レース判別を行う過程を経る^{22, 37, 81)}。しかし、温室内での育苗施設の面積や接種箱数の制限があるため、著者らが通常レース判別を行うときでも、一度に接種できる菌株数は1接種箱当たり4～6個体で、効率的に試験を行えないのが現状である。そこで、一度に多数のいもち病菌のレース判別を行える方法に変えることを目的に、従来法の改良を試みた。

〔材料と方法〕

野菜育苗用のセルトレイ（12×24列、ヤンマー農機）を、3×4列（1セルトレイ当たり12穴、以下セルトレイと略す）に切断（縦6.5cm×横9cm×高さ4.5cm）し、これらにN、P₂O₅、K₂Oをそれぞれ13%含有した化成肥料を粉末にして、育苗培土に2.5g/kgの割合で均等に混和したものを詰めた。12種類の判別品種の催芽初は、1穴当たり1品種3粒ずつ並べて播種・覆土し、植物生育調節剤（ウニコナゾールP液剤）の100倍希釈液（2.5μg/ml）をジョウロで1セルトレイ当たり10mlを灌注した。28℃で2日間出芽させた後、23～32℃の温室内で5葉期まで2週間育苗した（Fig. 13）。また、従来法として、シードリングケース（長さ15cm×幅5cm×深さ10cm）に育苗用山土と粒状の上述の化成肥料を1ケース当たり3gとなるよう混和して詰め、1品種当たり5粒を2列で10粒ずつ、1ケース当たり4品種で合計40粒を播種し、3ケース1組として育苗した。これらを、生育調査あるいは接種試験に供した。一方、異なるイネいもち病菌株を接種したイネ体相互の接触による汚染を防ぐため、仕切り用の箱（9cm×10cm×18cm、6面のなかで連続する9cm×10cmと9cm×18cmの各1面ずつ、合計2面のみをあける）をアクリル板で作成した（Fig. 14）。

判別品種の育苗方法の違いが生育に及ぼす影響を調べるために、判別品種が軟弱に生育しやすい時期

である2003年11月に生育調査を実施した。上述の方法でセルトレイおよびシードリングケースに育苗した判別品種を、セルトレイでは1品種当たり3本で1セルトレイ当たり36本、シードリングケースでは1列5本を選び1シードリングケース当たり20本で計60本を、3反復で調査した。調査項目は、草丈、葉齢およびセルトレイあるいはシードリングケースを含む判別品種の占める空間占有体積とした。調査は、シードリングケースで育苗した「K60」を除く11種の判別品種が達観で第5葉がほぼそろって完全展開したと判断した時点で行い、これと同時にセルトレイの判別品種についても調査を行った。なお、空間占有体積は、判別品種を生育させたセルトレイあるいはシードリングケースを水平に置き、葉身を垂らした状態で、最長の縦×横×高さを測定して算出した体積とした。

接種試験に供試したイネいもち病菌は、2003年に東北農業研究センター水田利用部内の自然発病圃場から葉いもち病斑を採集し、単孢子分離した12菌株A～L（いずれもレース007.0、以下レース省略）、山形大学農学部生井恒雄教授から分譲を受けた5菌株N101～N106（いずれも037.1）および東北農業研究センター水田利用部保存菌株の6菌株、Kyu89-246（003.0）、稲86-137（007.0）、Mu-95（001.2）、24-22-1-1（037.1）、稲85-101（303.0）および愛74-134（477.1）の合計23菌株とした。これらを常法により孢子形成させた。孢子懸濁液の濃度は、 1.5×10^5 個/mlに調製し、0.02%の濃度になるようTween 20を添加した。孢子懸濁液は、セルトレイに育苗した判別品種に対して1セルトレイ当たり10ml、シードリングケースのものに対して3ケース1組当たり80mlずつを噴霧接種した。なお、セルトレイの接種イネは、接種箱に搬入後仕切り用の箱でそれぞれ覆い、縦80cm×横90cm（接種箱内の大きさは、縦80cm×横160cm×高さ140cm）に収まるように詰めて並べた。そして、25℃で相対湿度100%の接種箱に20時間静置後、25℃の温室へ移し発病まで管理した。試験は1セルトレイ当たり1菌株として23菌株を3反復で行うとともに、3シードリングケース1組当たり1菌株として23菌株を同時に接種に供した。レース判別は、接種から7日後に行った。なお、試験は、2003年8月、10月および12月の合計3回行った。

〔結果〕

セルトレイで育苗した判別品種は、矮化用の植物

成長調節剤の効果で、草丈がシードリングケースのものと比較して著しく低くなった (Fig. 13-14)。5葉期の草丈は、対照が25~30cmであったのに対し、セルトレイの判別品種では5~6cm程度であり、1/5程度に抑制された (t 検定、 $P < 0.01$)。この生育の抑制程度は、岩野ら²⁹⁾の育成した矮性系統の草丈5~6cmと同程度であった。葉齢は、試験区間で有意差が認められず (t 検定、 $P < 0.01$)、葉齢の進展が極端に遅い品種はなかった (Fig. 15)。詳細をみると、第5葉が完全展開するまでの期間は、シードリングケースのものと比較してセルトレイの方が達観で1~2日間程度早かった (データ省略)。また、接種時に必要なセルトレイを含む5葉期の判別品種の占める空間占有体積は、シードリングケースのものと比較すると1/63程度であった。

供試したいもち病菌の判別品種に対する病原性を調査した結果、セルトレイで育苗した判別品種では、シードリングケースのものと同様に罹病性あるいは抵抗性が明確に区別でき、いずれの時期においても従来法と同様にレース判別が可能であった (Fig. 16)。ところで、非親和性レースのいもち病菌を接種すると、「石狩白毛」では抵抗型 (R型) の褐点を形成したり、葉身の一次支脈を超えない弱度

罹病型 (RS型) の小さな病斑を形成することが病害虫発生予察特別報告³⁷⁾で明らかにされている。また、「ヤシロモチ」では、抵抗性と罹病性の中間型 (M型) の病斑を生じることがある³⁴⁾。同様のこれらの病斑は、セルトレイあるいはシードリングケースのものでも観察されたが、レースを判別するときに病斑型の類別を困難にすることはなかった。

[考察]

3×4列のセルトレイと高濃度の植物生育調節剤処理を組み合わせることで、シードリングケースを使う従来法²⁹⁾と比較して、より小型の判別品種を育成することができた。また、作成した仕切り用の箱を用いることで、接種箱内で異なる菌株を接種した判別品種相互の接触や、結露した水滴の落下が葉上の孢子懸濁液を飛散させることによる他菌株の汚染の可能性を排除できた。これを利用することで、本試験結果から、100菌株程度あるいはそれ以上の供試菌株をそれぞれ接種したセルトレイの判別品種を、1接種箱内 (80cm×160cm×140cm) に搬入可能であると考えられた。接種箱の大きさは機種により異なるため、他の規格では接種可能な菌株数が変わるものの、本法により一度に多数のいもち病菌株を接種に供することができると思われた。



Fig.13 Seedlings at the five-leaf stage of the 12 differential rice varieties used to identify Japanese races of rice blast fungus in a multi-cell tray. Three seeds of each variety were sown in a cell and treated immediately after sowing with uniconazole, a plant growth regulator. The bar represents 1cm.

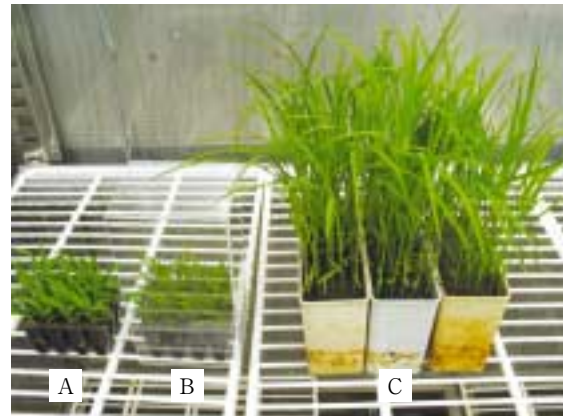


Fig.14 Seedlings at the five-leaf stage of the 12 differential rice varieties at 14 days after sowing for differentiating Japanese races of rice blast fungus. A: dwarf uniconazole treated-seedlings grown in a multi-cell tray B: uniconazole treated-seedlings grown in a multi-cell tray covered with a plastic case; C: control seedlings grown in conventional three seedling cases according to the method of Goto and Yamanaka (1968).

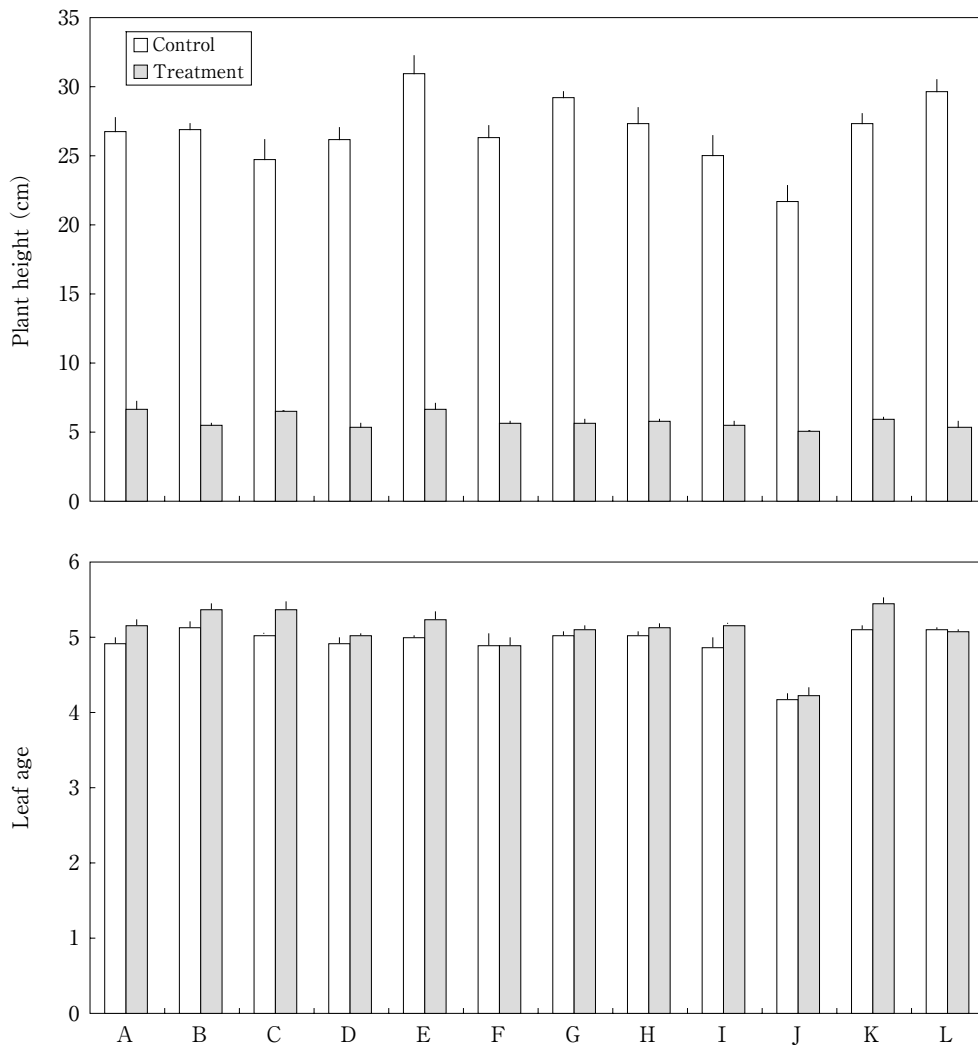


Fig.15 Comparison of height and leaf age between control and uniconazole treated-seedlings for 12 differential rice varieties at 14 days after sowing. A~L are differential rice varieties with the blast resistance gene in parentheses. A: Shin2 (*Pik-s*); B: Aichiasahi (*Pia*); C: Ishikarisiroke (*Pii*); D: Kanto51 (*Pik*); E: Tsuyuake (*Pik-m*); F: Fukunishiki (*Piz*); G: Yashiomochi (*Pita*); H: PiNo. 4 (*Pita-2*); I: Toride1 (*Piz-t*); J: K60 (*Pik-p*); K: BL1 (*Pib*); L: K59 (*Pit*). Vertical bars represent the standard errors.



Fig.16 Reactions on leaves of uniconazole-treated 12 differential rice varieties to rice blast isolate N104 (race 037.1). The varieties (A~L) are shown in Fig. 15. A~E and J: susceptible-type lesions; F, H, I, K and L: no visible lesions; G: resistant-type lesions. The bar represents 1cm.

なお、本試験では、この仕切り用の箱を用いなくとも、30菌株程度は接種したセルトレイの判別品種を1接種箱内に搬入可能であった（データ省略）。

冬期に判別品種が徒長して倒伏するしたり、本来抵抗性と判断される品種でも罹病性に近いybg型病斑¹⁾を形成することがある問題点を克服するために、大場⁶⁰⁾はウニコナゾールP液剤の750倍希釈液をシードリングケースに播種した後灌注処理することで、草丈を15cm程度に抑制し、レース判別に適した判別品種を育成できるとしている。これに対し、本試験では、草丈を5~6cmに抑制したことと、セルトレイを用いることで、倒伏の心配がな

いだけでなく、小型化することもできた。一方、供試菌株を接種した判別品種上に生じたS型の罹病性病斑⁵⁷⁾は、大場⁶⁰⁾の報告と異なり、通常観察される紡錘型と比較してやや楕円形に近い病斑となった (Fig. 16)。この理由については不明であるが、ウニコナゾールPの灌注の有無にかかわらず、イネ組織内におけるいもち病菌の進展程度が同程度であっても、ウニコナゾールPを灌注した場合にはイネ細胞が小型化することで病斑の伸展程度が見かけ上低いように観察される可能性が考えられた。しかし、罹病性と抵抗性を区別することは容易であり、病斑形状の違いがレース判別に及ぼす影響はほとんどないと考えられた。

以上のことから、従来法より効率的にレース判別が行えることが示され、レース判別を行う試験研究機関においても利用可能であると考えられた。

Ⅲ マルチライン用葉いもちシミュレーションモデルの開発とその解析

橋本ら²⁴⁾は、葉いもち病勢進展シミュレーションモデルBLASTLを開発し、本モデルとリアルタイムの気象データを使って、葉いもちの流行を予測するために利用した。このモデルは、いもち病に罹病性の品種のみが栽培されている場合に有効であるが、マルチライン用には開発されていない。そこで、福島県をはじめ多くの県で活用されているこのBLASTLを、マルチライン用に改良することを試みた。

本章では、マルチラインにおける同質遺伝子系統の混植の効果を明らかにするための道具として、マルチライン用の葉いもち病勢進展シミュレーションモデルを開発するとともに、開発したモデルを用い、様々な気象条件下における発病程度の違いを比較・解析した。

〔材料と方法〕

(1) モデルの構造

マルチライン用の葉いもち病勢進展モデルを作成するために、まず、葉いもち病勢進展モデルBLASTLを改良した。BLASTLでは、1株内で病斑の生じている葉身からそれ以外の葉身への胞子の飛散と付着は次式で表される。

$$S_n = K \times L_n / A \times Z^{-|d|} \times S_m$$

ここで、 S_n は第 n 葉における付着胞子数、 K は胞子

付着の効果の定数、 L_n は第 n 葉の葉面積、 A はイネ1株の占有面積、 Z は葉位間隔の距離定数、 d は胞子の離脱葉位と付着葉位との差、 S_m は第 m 葉からの飛散胞子数を表す。

BLASTLは、1株内での自己感染型のモデルであるので、混植における病勢進展を模擬するためには、少なくとも2株間の胞子飛散をモデル化し、病斑の生じたイネ株からその病斑のあるイネ株へ感染する「自己感染」(autoinfection)と、その病斑のない他のイネ株への感染(ここでは「他己感染」と定義する)(alloinfection)をパラメータ化し、それらの値を求める必要がある⁵⁴⁾。

これを解決するために、葉位間の胞子飛散と付着のモデルを改良し、自己感染と他己感染のパラメータを設定して、株間を胞子が行き来するようにプログラミングを行った。この2つのパラメータの関係は、分配の法則を利用した次式で表すことができる。

$$D = a(b + c)$$

ここで、 D は1株内での葉身における付着胞子の比率、 a は胞子分配の定数、 b は自己の株に自己感染する比率、 c は他の株に他己感染する比率を表す。それぞれの株内で集計する胞子数の合計は、それぞれ自己感染と他己感染による胞子の総数として計算される。この自己感染と他己感染の胞子の分配のために、葉身への胞子の付着数は、次式のように表す。

$$S_{np} = bS_n + cS_n$$

ここで、 S_{np} は1株当たりの第 n 葉上の付着胞子数の合計、 bS_n は自己感染のために第 n 葉上に付着する胞子数、 cS_n は他己感染のために第 n 葉上に付着する胞子数を表す。マルチライン用のモデルでは、イネの2つの株を模擬させており、それぞれの株は個々の同質遺伝子系統を表す。このように、2つの株が、BLASTLが2つ結合したように相互に胞子が行き来するように作動する。すなわち、ある一方の株(同質遺伝子系統)から胞子が飛散すると、その株に受け渡される(自己感染)とともに、一部の胞子はもう一方の同質遺伝子系統に受け渡される(他己感染)。マルチライン用のモデルでは、葉いもちの病勢進展の解析のために、「ササニシキ」が罹病性の同質遺伝子系統で、「ササニシキBL4号」と「7号」が抵抗性の同質遺伝子系統と設定して利用した。演算に使用したレース003.0は、「ササニシキ」に親和性で「ササニシキBL4号」と「7号」に非親和性である。このため、自己感染と他己感染のパ

ラメータは罹病性系統の株のみで機能し、抵抗性系統の株ではいもち病菌は増殖できないので本試験では機能しない。しかし、両系統に親和性のレースも設定し、演算できるようプログラミングも行った。

本モデルでは、同質遺伝子系統の真性抵抗性遺伝子といもち病菌のレースとの関係は、真性抵抗性遺伝子に対応するレースのコード番号として処理している^{38, 81)}。レース番号は、個々の遺伝子に対する親和性と非親和性の反応に基づいている。それぞれの遺伝子のためのコード番号の総数が、それぞれの親和性のレースの番号を表す。もし、この10進法のコードとレース番号を演算に使用すると、葉いもちの病勢進展を計算するのに多大な時間を要するためモデルの演算に適さない。特に、レースの種類と真性抵抗性遺伝子の数が多くなると顕著となる。そこで、演算時間を節約するために、レースの親和性と非親和性に対する個々の真性抵抗性遺伝子をもつ同質遺伝子系統の反応は、2進法を用いて処理することにした。さらに、BLASTLはFORTRAN言語で構築されたが、その後N88BASICを経てVisual BasicあるいはTurbo Pascalに書き換えられているものの、より使いやすいインターフェイスにするために、本試験ではObject Pascal言語を使ってプログラミングを行った。

マルチライン用のモデルを使って葉いもちの病勢進展をシミュレートするために、各演算には第II章で得られた発病調査結果を利用し、「ササニシキ」の単植圃場で初めて病斑が観察された日をもとに1週間さかのぼって感染日を設定した。なお、「ササニシキ」単植圃場以外の混植圃場で病斑が認められなくてもこの日を感染日とした。潜伏期間は、BLASTL中にすでにプログラムされているのでそれを用いた。初期病斑数は、単植区が1個、「ササニシキ」とその抵抗性同質遺伝子系統の1:1および1:3混植区がそれぞれ0.5および0.25個と設定した(第II章参照)。このように、初期病斑数は、罹病性同質遺伝子系統に対する抵抗性同質遺伝子系統の比率として計算により求めた。気象データは圃場調査を行った年次のもを用いてBLASTLと同様の形式で入力するとともに、イネの生育のパラメータも本モデルの既定値を用いた。

(2) 自己感染と他己感染のパラメータ値の推定

自己感染と他己感染のパラメータは、モデルの中でマルチラインにおける葉いもちの発病推移に最も

影響を及ぼす1要因であると考えられる。そこで、第II章で得られた圃場試験による葉いもちの発病推移の結果をもとに他己感染に対する自己感染の比の推定を試みた。

各調査日(はじめて圃場で病斑が確認された日を除く)において、罹病性系統単植区(単植)における病斑数と、罹病性系統と抵抗性系統を1:1および1:3の割合で混植した区(混植)の病斑数との関係の仮説は、次式として示される。

$$L_{em} = L_{es} \times R_s \times R_{em}$$

ここで、 L_{em} と L_{es} はそれぞれ混植、単植における病斑数の期待値、 R_s は混植に占める罹病性系統の率比、 R_{em} は単植の病斑数の期待値に対する混植における病斑数の期待値の比を表す。たとえば、罹病性「ササニシキ」と抵抗性同質遺伝子系統を1:1および1:3の比率で混合栽培したとき、罹病性系統の比率が1/2、1/4となるため、 R_s の値はそれぞれ0.5と0.25になる⁶⁴⁾。一方、この比率の減少によって感染の場がそれぞれ1/2、1/4減少するため、 R_{em} の値はそれぞれ0.5と0.25となる。これらのために、単植の病斑数の期待値を n とすると1:1および1:3混植における病斑数の期待値は、それぞれ $0.25n$ と $0.0625n$ となる。上式によれば、単植における L_{es} の病斑数は n 、1:1および1:3混植における L_{em} の病斑数は、それぞれ $0.25n$ と $0.0625n$ と表される。しかし、いもち病菌は自己感染型の病原菌であるので、これを考慮する必要がある。つまり、各調査日における他己感染率に対する自己感染率の比(autoinfection/alloinfection ratio)^{21, 54, 64)}は、仮説として次式で示される。

$$A_m = L_{om} / (L_{os} \times R_s \times R_{em})$$

ここで、 A_m は混植において抵抗性系統への感染(他己感染)に対する罹病性系統への感染(自己感染)の率比(autoinfection/alloinfection ratio)、 L_{os} と L_{om} は、それぞれ単植と混植における病斑数の実測値を表す。 R_s と R_{em} は上述と同様である。また、 A_m の値は、1:1と1:3混植の間で差がある可能性が考えられたので、これを検討するためにStatistical Analysis Software (SAS Institute, Cary, NC, release 9.1.3)を用いて統計処理を行った。

(3) モデルの解析法

シミュレーションモデルによる葉いもち発生推移の予測値と実測値の関係を明らかにするために、回帰分析を行い、モデルの妥当性を評価した。一方、

病斑が最も多い時期あるいは調査した全ての日の病斑のいずれかが、葉いもちを抑制する同質遺伝子系統の効果を評価する最もよい予測の判断材料となるかを決定するために、全ての調査日と最終調査日の病斑数の実測値と予測値を用いて回帰分析を行った。これらの統計処理は、Statistical Analysis Software (SAS Institute, Cary, NC, release 9.1.3) を用いて行った。

〔結果〕

(1) 自己感染と他己感染のパラメータ値の推定とモデルへの導入

自己感染率比 (autoinfection/aloinfection ratio) を計算した結果、その値の平均値が 1:1 混植では 1.3 (標準偏差 SD = 0.27)、1:3 混植では 1.4 (SD = 0.35) であった (Fig. 17)。これらの値は、1:1 混植より 1:3 混植の方が大きかったものの、試験区間で統計的有意差は認められなかった (t 検定、 $P < 0.05$)。

一方、モデルに導入する自己感染と他己感染のパラメータは、上述の式の孢子付着に関する係数の b (自己感染)、 c (他己感染) である。上述のように、1:1 と 1:3 混植では数値間で有意差が認められないため、ここでは自己感染率比として 1.3 の

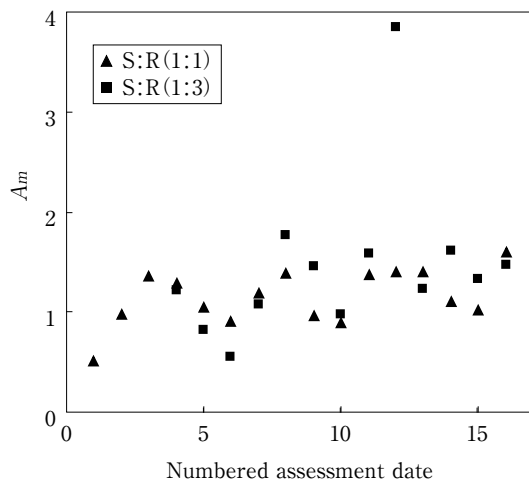


Fig.17 The ratio of autoinfection to alloinfection (A_m) in mixtures of susceptible Sasanishiki (S) and its resistant near-isogenic line (R), either Sasanishiki BL4 or BL7, at the ratios (S:R) of 1:1 and 1:3 to the number in pure stands of Sasanishiki from 1998 to 2001. Numbered assessment date (year): 1-3 (1998); 4-6 (1999); 7-11 (2000); 12-16 (2001).

値を利用して、 b と c のパラメータ値を決定した。すなわち、付着孢子数の分配の比を 1 とすると、 $b = 0.65$ 、 $c = 0.35$ として以下のシミュレーションを行った。

(2) モデルの妥当性

葉いもち病斑数の実測値の推移は、全ての試験年で 7 月の最終週まで増加した (Fig. 18)。最終調査日のあと、病斑のある下位葉が枯れあがり、病斑数が減少した (データ省略)。通常、圃場内のササニシキの単植区で初めて観察される病斑の数は、株当たり平均で 1.0 個よりも少なく、これは、自然感染に依存しているためである (Fig. 18)。これに対し、モデルにおける初期伝染源の病斑数は、罹病性ササニシキの単植では 1.0 個とし、罹病性ササニシキとその抵抗性同質遺伝子系統を 1:1 および 1:3 の混植では、それぞれ 0.5 個と 0.25 個とする理論値を用いた。これらの理論値は、混植された抵抗性同質遺伝子系統の混植比率によって変わる。シミュレーションで計算される初期病斑数の予測値は、初期病斑数の実測値より多かった。4 年間の調査において、圃場およびシミュレーションの最終調査日の病斑数は、それぞれササニシキの単植で 14~143 個と 16~181 個、1:1 の混植で 5.2~36 個と 2.6~39 個、1:3 の混植で 1~12 個と 1~5.4 個であった。調査期間内におけるいもち病菌の侵入率比⁸⁵⁾の総数は、1998 年は 5.32、1999 年は 1.83、2000 年は 3.67、2001 年は 13.8 であった。これらの比の総数は、直接いもち病の発生量を説明することはできないが、流行の傾向を示しうる。葉いもちの発生量は、4 年間の試験で異なる気象条件の影響を受け、2001 年が最も発病程度が高く、1998 年と 1999 年は中程度で、2000 年は低く、なかでも発生量の多い年では、侵入率比の総数が多い傾向があった。

シミュレーションモデルによって演算された予測値と 1998~2001 年に圃場試験により得られた実測値を回帰分析した結果、ササニシキ単植区で、相関係数 (R^2)¹⁷⁾ の値はそれぞれの年次で 0.89、0.59、0.98 および 0.95、1:1 混植区で 0.96、0.55、0.98 および 0.95、1:3 混植区で 0.58、0.99 および 0.96 と 1999 年の相関係数の値が低かった。この年は、1998、2000、2001 年と比較して約 1 週間初発が圃場で確認されるのが遅かった。残差の二乗和は発病初期でそれらの値の差が大きい傾向があった (データ省略)。

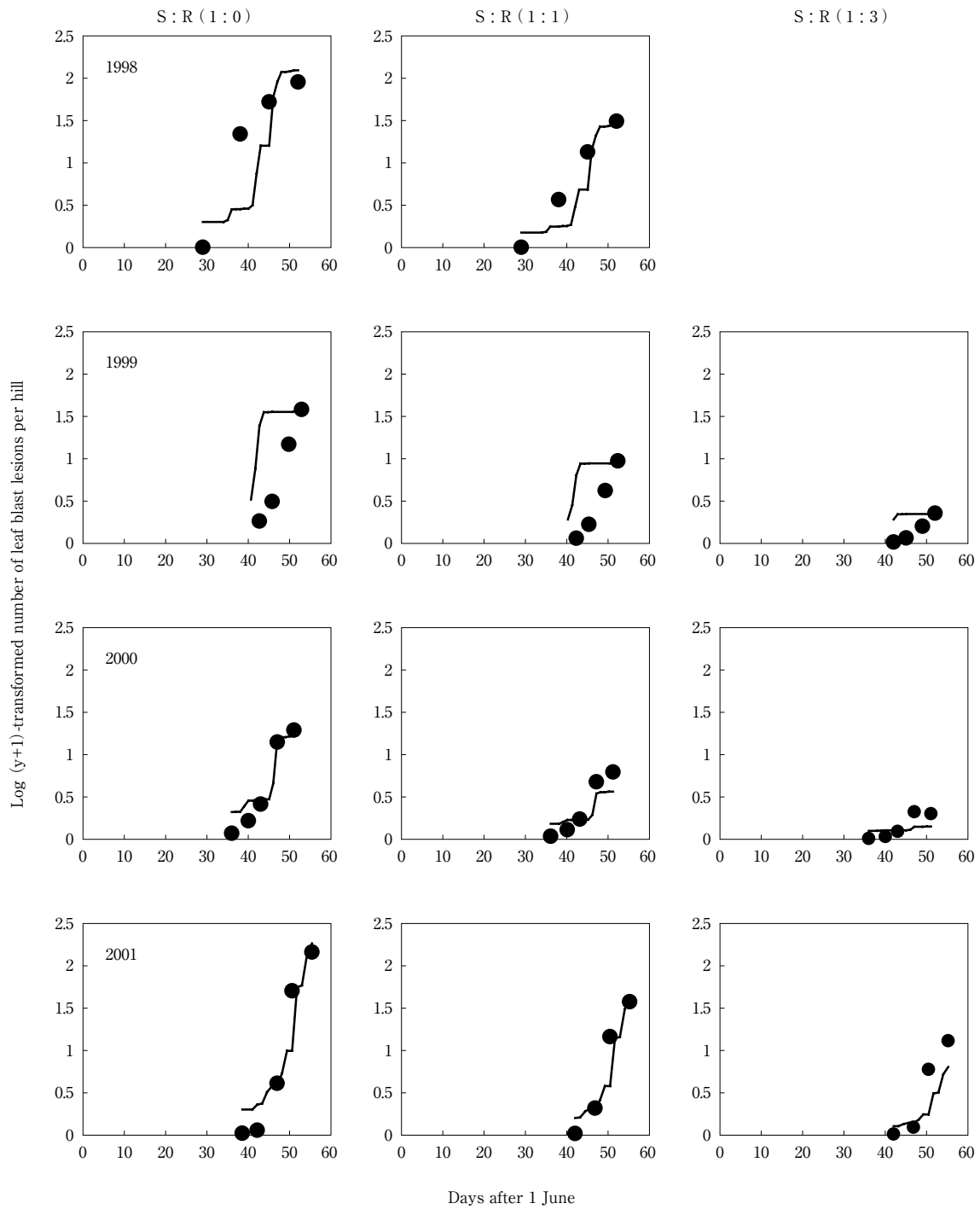


Fig.18 Observed (dots) and simulated (solid line) curves of rice leaf blast epidemics, caused by *Pyricularia grisea*, in mixtures of susceptible (S) cv. Sasanishiki and its resistant (R) near-isogenic line, Sasanishiki BL4 or BL8, at the proportions (S:R) of 1:0, 1:1 and 1:3 from 1998 to 2001.

一方、病斑が最も多い時期（調査最終日）の病斑数と調査した全ての日の病斑数についてそれぞれ回帰分析をした結果、相関係数 (R^2) はそれぞれ0.99と0.91であった。残差の二乗和も調査最終日の病斑

数の方が小さい範囲に収まった（データ省略）。

[考察]

病原菌の増殖過程を表す疫学モデル^{13, 30)}は、システムモデルとしてトマト輪紋病の発生条件を検討す

るため、Waggoner and Horsfall⁷⁶⁾ によってはじめて報告された。その後、イネいもち病においても、BLASTCAST⁶¹⁾、FOSSBI⁷¹⁾、BLASTL²⁴⁾ 等のモデルが発表された。システムモデルを改良する場合、モデルに組み込んだ予測式をより適合性の高いものに置き換えることが基本となる⁷⁷⁾。葉いもちの病勢進展を予測するシミュレーションモデルBLASTLは、植物病原菌の流行に関与する多くの機能（イネの生育、潜伏期間、胞子形成、侵入、感染好適条件等）をモデルに導入し、相互に関連させるよう構築されている。また、本モデルでは、気象データを用いて計算されるいもち病菌の侵入率比⁸⁵⁾ が病勢進展に影響する主要因になっている。

マルチライン用のシミュレーションモデルには既にEPIMULがあり、病原菌の拡散程度の解析や、Genotype Unit Area (GUA：マルチラインを構成する同質遺伝子系統の各遺伝子型が占める面積)の影響を解析したりすることによる改良が進められている。しかし、主にこれらは第1回目の伝染源からの拡散程度を予測するもので、実用的なマルチライン用のシミュレーションモデルではない⁵¹⁻⁵⁴⁾。そこで本章では、マルチラインにおいて実際の葉いもちの病勢進展を予測し、葉いもちを効果的に防除する方法の検討を目的として、BLASTLの改良を試みた。

今回作成したシミュレーションモデル (BLASTMULと呼称する。BLASTとMULTILINEの造語) は、罹病性ササニシキとその抵抗性同質遺伝子系統の混植における病斑数の増加程度を演算する。また、BLASTLと同様に罹病性系統の単植においても演算が可能なモデルを構築した。BLASTLでは、一般に初期病斑数を設定後、6月1日を起点として演算を開始する。一方、BLASTMULでは、混植による発病抑制程度をより現実的に評価するために、初発の病斑が圃場で観察された日を1週間さかのぼった日を感染日として設定し、シミュレーションを行えるようにした。

次に、罹病性イネ株と抵抗性イネ株の各葉身へ付着する胞子の量（各株への分配程度）の差（自己感染/他己感染の比）⁵⁴⁾ を推定し、これを自己感染と他己感染のパラメータの値（それぞれ0.65と0.35）としてBLASTMULに導入した。

そして、このパラメータ値を導入したBLASTMULを用いて、罹病性系統の単植、罹病性系統と抵抗性系統の1:1混植および1:3混植における各

シミュレーションによる病斑数の出力結果(予測値)と、1998~2001年に得られた自然感染による病斑数の実測値を比較した。回帰分析の結果、1999年は相関係数の値が低かったが、1998年、2000年および2001年はその値が高く、本モデルの適合性は高いと考えられた。一方、1999年は他の年次より葉いもちの発生時期が約1週間遅かった原因は不明であるが、モデルにおける葉いもちの病勢進展に影響した可能性があり、これがモデルの適合性が低くなった要因の一つであると考えられた。また、第6~10本葉より上位の葉（第11~13本葉）の葉位別感受性は1/100低く設定されているため、発生時期が遅延することにより、上位葉における病斑がモデルでは増加しにくかったとも考えられた。このように、マルチラインにおける葉いもちの病勢進展の予測に利用するためには、本モデルの適合性がより高まるよう今後改良する必要があると考えられる。石黒²⁶⁾ は、BLASTLを用いて農薬散布適期を決定するためにより正確なモデルへ改良し、その検証を行ったが、同様に、今後はBLASTMULに用いられているパラメータを詳細に解析する必要があると考えられた。

これに対し、回帰分析の結果、調査最終日における病斑数の予測値は、実測値とよく一致した。最も病斑数の多い時期が、単年度内における混植の効果を最もよく表しており、特に、「ササニシキ」の単植における病斑数を算出基礎として、混植における発病抑制程度を評価するために利用できると考えられた。「ササニシキ」とその抵抗性同質遺伝子系統を1:1あるいは1:3の割合で混植した圃場における最大病斑数（最も病斑数が多い時期の値）に対する「ササニシキ」を単植した圃場における最大病斑数の比は、1:1混植では0.17~0.4、1:3混植では0.03~0.24であった。これらの比が、ほかの地域や異なる品種でも同様であるかについては、今後検証する必要がある。

本章では、罹病性系統と抵抗性系統の混植の圃場試験結果とBLASTMULによる病勢進展の予測結果を解析し、BLASTMULに自己感染と他己感染のパラメータが必要であることを明らかにした。そして、自己感染の割合が他己感染のそれより高いことが明らかになるとともに、これらのパラメータが混植による発病抑制効果に影響することを示した。しかし、発病抑制のメカニズムについては十分に検討しなかった。一般には、EPIMULと同様に、胞

子の拡散程度を解析した結果もとにモデルを構築する接近法が有用である。しかし、本モデルでは、現実的な発病予測モデルを作る目的で、同質遺伝子系統を種子混合し、自然感染下での発病による病勢進展結果を用いて自己感染と他己感染のパラメータ値を決定したが、EPIMULのような解析法も検討する必要がある。

Mundt and Brophy⁵⁴⁾ は、さび病の感染の比率が、genotype unit area (GUA) によって影響を受けることを示し、0.56~0.0025m²までGUAの値を変化させてシミュレーションを行ったところ、病気の拡散はGUAがより小さい方が効果の高いことを示している。イネではGUAが小さいため、発病抑制効果が現れやすいと考えられる。今後は、栽培面積と発病抑制程度との関係についても検討する必要がある、これらにはEPIMULと同様に格子モデルの利用が有用であろうと考えられた。

本章では、イネのマルチライン用葉いもち病勢進展シミュレーションモデルBLASTMULを開発し、抵抗性系統の混植による発病抑制効果を評価した。これらの解析結果は、いもち病を効果的に防除するために、葉いもち流行期間内においていもち病防除剤を使用しないマルチラインの最もよい混合比率を決定するための手段としても利用可能であろうと考えられた。

Ⅳ マルチラインの発病抑制に及ぼす各種要因のパラメータ設定と感度分析

マルチラインでは、圃場に分布するいもち病菌レースに対する抵抗性系統が混植されることで発病が抑制される。これ以外のマルチラインにおける発病抑制の要因として、非親和性菌による誘導抵抗性(第Ⅱ章)、いもち病菌の適応度に及ぼす安定化淘汰が考えられる。さらに、これら以外に、抵抗性系統を侵害する病原性突然変異菌が出現・蔓延することにより、マルチラインの発病抑制効果が無効になる可能性があり、突然変異菌の出現頻度も明らかにする必要がある。そこで、本章ではBLASTMULを用いて、これらについて検討を行った。

1. 誘導抵抗性パラメータの設定と感度分析

第Ⅱ章において、ササニシキ同質遺伝子系統の非親和性菌による発病抑制(誘導抵抗性)の効果を、イネ葉身を用いて組織・細胞レベルで明らかにし

た。しかし、マルチラインにおいて圃場のイネにおける組織・細胞レベルで起こる誘導抵抗性を評価しつつ、圃場での葉いもちの発病抑制程度を検証することは難しい。そこで、得られた知見をもとに、BLASTMULに誘導抵抗性のパラメータを導入して、シミュレーション手法による誘導抵抗性の効果を推定することを試みた。

〔材料と方法〕

非親和性菌による誘導抵抗性は、大きく分けて、①防御面積、②防御の持続期間、③防御の強さ(レベル)がパラメータとして考えられる⁴⁶⁾。また、感染から発病までの潜伏期間(Latent Period: LP)もパラメータとして重要である。BLASTMULに誘導抵抗性のパラメータを導入するために、これらの中から誘導抵抗性の発現面積(Area of Induced Resistance: AIR)、誘導抵抗性の持続期間(Days after Induced Resistance: DIR)をBLASTMULに導入した。また、LPはBLASTLにすでにプログラムされているのでそれを利用した。

BLASTMULのプログラムに誘導抵抗性のパラメータを組み込む場合、葉面積を制御するパラメータとの関係を決める必要がある。とくに、葉身上に胞子が落下する位置を確率的に決める方法が適しているが、BLASTMULは分析モデルであるので、直接これを導入することができない。そこで、演算部の感染可能葉面積(Leaf Area Without Lesions: LAWL)から誘導抵抗性が生じる面積を引いた残存葉面積(Remained Leaf Area: RLA)を次式で表した。

$$RLA = LAWL - AIR$$

ここで、残存葉面積が演算部で演算される期間は、誘導抵抗性の持続期間に依存し、設定したこの持続期間が終了した後は、感染可能葉面積として復帰し、演算に用いられるようにした。

誘導抵抗性のパラメータが、BLASTMULで病勢進展にどのような影響を及ぼすかを明らかにするために、2001年(多発年)の東北農業研究センター水田利用部内で収集した微気象データを用いて、シミュレーションを試みた。演算に用いた設定値は、誘導面積50mm²、誘導日数DIRを10日間とした。シミュレーションを行うために、2種類の同質遺伝子系統を1:1の比率で混植した条件下で、片系統のみを侵害するレースが50%と両系統を侵害するレースが50%の割合で分布するとして演算を行った。誘導

抵抗性が病勢進展に及ぼす影響を評価するために、対照として誘導抵抗性パラメータを用いずに演算を行った。

感度分析は、次式により評価を行った²⁵⁾。

$$R = (\partial Z / z) / (\partial Xi / Xi)$$

ここで、 R は相対的感度、 Z はモデル全体の取る値、 Xi はある過程のパラメータの値を示す。この式の右辺の分母はある過程のパラメータ Xi を ε %変化させた場合の変化率であり、次式で表される。そのときのモデル全体の取る値の変化率が分子に相当する。

$$\partial Xi / Xi = \varepsilon / 100$$

ここでは、病勢進展の著しい時期である7月10日、12日、14日、16日について相対感度を算出した。

〔結果〕

相対感度は、7月10日では0.00008、12日では0.00015、14日では0.01014、16日では0.10123であり、

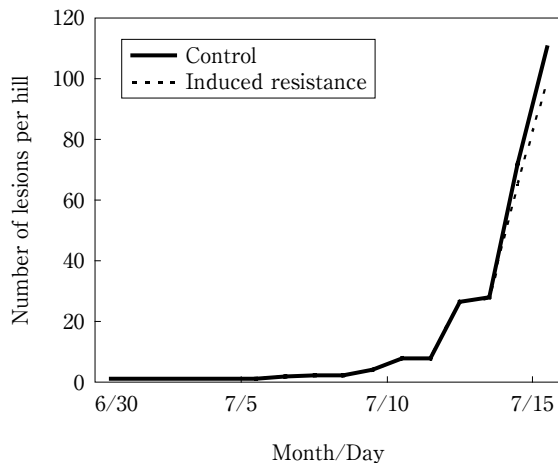


Fig.19 Effect of parameter of induced resistance on compatible blast race to two near-isogenic lines in 1:1 mixture with two near-isogenic lines. The race, compatible with the both lines, and the other race (an inducer), compatible with the line and incompatible with the other line, were set in the 1:1 mixture. Meteorological data was used for simulations collected in an experimental field at National Agricultural Research Center for Tohoku Region, Omagari, Akita Prefecture in 2001. Two parameters of induced resistance, Area Induced Resistance ($AIR = 50 \text{ mm}^2$) and Days Induced Resistance ($DIR = 10 \text{ days}$), were used to compare between control and induced resistance simulations.

発病初期と比較して後期の方で相対感度が高かった。これらのなかで、7月10日と7月16日の病斑数をみると、誘導抵抗性パラメータを設定した場合は3.92個と99個、作動させなかった場合は3.93個と110個であり、発病初期には誘導抵抗性の効果が小さいが、後期で発病抑制効果が認められた (Fig. 19)。

〔考察〕

Lannou *et al.*⁴⁶⁾ は、誘導抵抗性のパラメータをシミュレーションモデルEPIMULに導入してその影響を評価し、最大で20%程度の発病抑制効果があるとしている。BLASTMULによるシミュレーションの結果では、葉いもちの発生後期（葉いもちの最も多い時期）に最大で10%程度の抑制効果があると演算された。しかし、株当たり病斑数で100個程度に達していることから、多発条件下での最大の抑制効果がこれに相当すると考えられた。一方、葉いもちの発生初期では、混植された2系統のうち一方の系統に親和性を示すいもち病菌の病斑数が少なく、感染可能な葉面積も大きい。このため、非親和性菌が抵抗性系統に誘導抵抗性を発現させても、感染可能な葉面積を減少させる効果がほとんどないと考えられた。一方、親和性菌と非親和性菌を混合接種した場合は、非親和性菌を前接種し親和性菌を後接種した場合より、発病抑制効果が劣ることが噴霧接種試験により示されている²⁸⁾。このため、発生初期では親和性菌と非親和性菌が同時に増殖するが、それらの病斑数は少ないので、誘導抵抗性が発現する葉面積も小さいが、発生後期では非親和性菌の病斑数が多く、誘導抵抗性が発現する面積も大きくなると考えられる。これにより、発生後期になって発病抑制効果が大きく現れるものと推察された。

2. 安定化淘汰パラメータの設定と感度分析

安定化淘汰 (Stabilizing Selection: SS) は、複雑な遺伝子型をもつレースは単純な遺伝子型の品種上では生存に適さず、生存に必要な遺伝子を多く持てば、それだけ生存に不利になるというVanderplank⁷⁷⁾によって唱えられた説である。いもち病菌でも、多くの真性抵抗性遺伝子を侵害するレースは適応度 (fitness) が低くなり、マルチラインにおいてもより増殖しにくくなる可能性が考えられる。マルチラインにおいてもこれを検証する必要があるが、本試験では、シミュレーションによりfitnessの低下が増殖程度に及ぼす影響を評価することを目的として試験を行った。

〔材料と方法〕

突然変異によって新たに出現したいもち病菌の適応度が低下 (fitness cost) する安定化淘汰をパラメータ化するには、モデルの演算部のなかで胞子形成、病斑形成、病斑数等で算出される値を変動させるように設定する必要がある。いずれの演算部も改良が可能であるが、ここでは、胞子形成を対象とし、胞子形成数を調節できるようにBLASTMULのパラメータを改良した。すなわち、1日間に形成される胞子数である分生胞子形成数の総数 (Sum of SPOres: SSPO) は、個別の病斑上に形成される個別病斑分生胞子形成数の総数 (SPOres: SPO) に安定化淘汰係数 (Stabilizing Selection: SS) を乗じた値として求めることとし、次の式で表した。

$$SSPO = SS \times SPO$$

なお、SSの取る値の範囲は、0～1とした。

安定化淘汰のパラメータが、病勢進展にどのような影響を及ぼすかを明らかにするために、BLASTMULによるシミュレーションを試みた。設定したパラメータ値は、1、0.99、0.9、0.75、0.5とした。その他の条件は2000年の微気象データを利用した以外は、すべて誘導抵抗性パラメータの項と同様とし、感度分析も同様に行った。

〔結果〕

相対感度は、パラメータ値が1、0.99、0.9、0.75、0.5のとき、それぞれ0.015、0.15、0.34、0.58であった (Fig. 20)。このように、安定化淘汰パラメータの値が小さくなるほど病勢進展程度が低くなった。

〔考察〕

Kiyosawa³⁹⁾ は、イネいもち病菌のレース頻度と品種の真性抵抗性遺伝子型別の栽培面積から、安定化淘汰が存在する可能性を示唆している。これは、Vanderplank⁷⁷⁾ の安定化淘汰説をもとに、4つの抵抗性・罹病性遺伝子対とそれに対応する4つの非病原性・病原性遺伝子対の頻度の変化を予測するモデルを構築しており、安定化淘汰が前提条件として成り立つようモデル化されている。しかし、著者ら⁶⁾ が行った東北地域のレース分布調査結果では、レース007.0が寡占状態にあるにもかかわらず、栽培品種は真性抵抗性遺伝子がPii型以外にPia型の品種も多く栽培されており、安定化淘汰説に合致しない事例もある。一方、Parlevliet⁶³⁾ は、本説を十分に実証した報告がないことから、安定化淘汰が存在しない可能性を指摘しており、導入された抵抗性遺伝子に

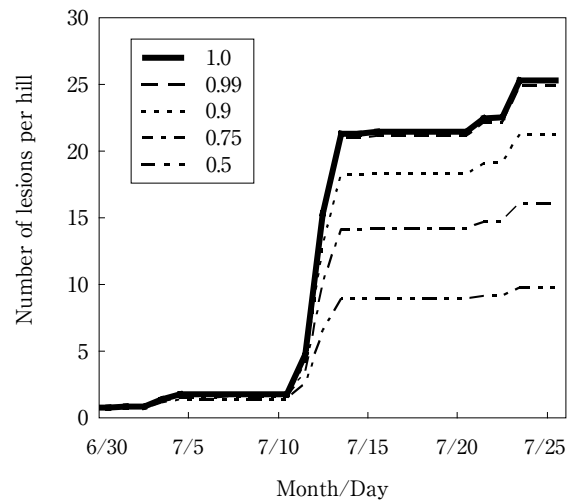


Fig. 20 Effect of parameter of stabilizing selection on development of compatible blast race to two near-isogenic lines in 1:1 mixture with two near-isogenic lines. The race, compatible with the both lines, and the other race (an inducer), compatible with the line and incompatible with the other line, were set in the 1:1 mixture. Values of the parameter of stabilizing selection for simulations were set at 0.5, 0.75, 0.9, 0.99 and 1, respectively. Meteorological data was used for their simulations collected in an experimental field at National Agricultural Research Center for Tohoku Region, Omagari, Akita Prefecture in 2000.

対して病原菌は完全に適応するとしている。一方、Leach *et al.*⁴⁷⁾ は、病害の永続的な抵抗性を予測するために、安定化淘汰に関与する適応度や病原菌の適応度が低下した後に補償作用が働き病原力が回復する可能性について論じているが、圃場試験で明らかにされた報告は皆無である。これに対し、藤田ら¹⁹⁾ は、従来その地域に分布するレースと新たに発生したレースのいもち病菌の病原力の比較はしていないが、イネ品種「やまてにしき」に対して親和性のレース047が、一般圃場において発生2年目までは病斑形成と胞子形成能が低い、3年目に増加することを明らかにしている。このように、病原力の差として適応度の低下があるとすると、突然変異菌の増殖に影響する可能性がある。同様に、マルチラインでも、抵抗性系統に病原性を獲得したレースの病原力が弱い場合に、レース間での増殖速度の違いによ

って、より病原性の幅の広い菌が増殖しにくい可能性があり、これがマルチラインの真性抵抗性の永続性に影響を与えると考えられる。本試験では、シミュレーションにより病原性の幅の広い菌の安定化淘汰パラメータの値を変動させてその影響を評価した。その結果、パラメータの値が低いほど病勢進展が抑制されることが明らかとなった。なお、本パラメータの値は相対感度と比例して変動することから、気象条件が異なってもこの関係に一定の傾向があった。今後は、このような事象がマルチラインの栽培圃場に発生するいもち病菌でも起こっているかを検証する必要がある。

3. 病原性突然変異パラメータの設定と変異菌出現頻度の推定

マルチラインを構成する抵抗性系統に対して病原性を獲得した突然変異菌が出現・蔓延すると、発病抑制効果が低下することが懸念される。このため、突然変異菌の出現頻度を明らかにし、変異菌の定着を抑制する必要があると考えられる。突然変異菌の出現率については、清沢³³⁾が接種試験により突然変異孢子率の測定を試みているものの、マルチラインの栽培圃場における突然変異率を調査した報告はない。また、突然変異菌がどの程度の頻度で出現するかは、いもち病の発生量によっても影響を受ける可能性がある。そこで、BLASTMULに突然変異のパラメータを導入し、いもち病の発生量の異なる気象データを用いて、突然変異菌の出現頻度の推定を試みた。

〔材料と方法〕

病原性突然変異のパラメータが、突然変異菌の出現頻度に及ぼす影響を明らかにするために、BLASTMULに病原性突然変異パラメータを導入した。BLASTMULのなかで突然変異菌の出現数は、抵抗性系統上で1日間あたりに生じる突然変異菌の病斑数として演算した。このため、 cS_n (第Ⅲ章中の抵抗性系統への孢子の分配) で演算される出力結果は、抵抗性系統上に病斑として生じないので、この結果は仮想の病斑数としてプールされる。そこで、この抵抗性系統上に生じる仮想の病斑数に、突然変異率を乗じるように設定した。すなわち、突然変異菌の出現数 (病斑数) (Number of Mutated Lesions: NML)、 cS_n 、突然変異率 (Mutation Rate: MR) の関係は、次式により表される。

$$NML = cS_n \times MR$$

ここで、突然変異菌として出現する病斑数は、各演算日における出現頻度を示すので、それらが病斑として出現し増殖する過程を示すのではなく、出力結果は1日間あたりの出現頻度を表す。

1998~2001年に東北農業試験場水田利用部内で収集した微気象データ (いもち病甚~少発年) を用いて、病原性突然変異頻度が突然変異菌の出現に及ぼす影響を解析した。BLASTMULには、抵抗性系統を75%と罹病性系統を25%混植した条件を設定し、伝染源初期値として罹病性系統のみに病原性を示すレースのいもち病菌の病斑数を0.25個とした。抵抗性系統に対する突然変異率は 10^{-5} として演算した。一方、演算される突然変異菌の出現数はきわめて小さな値であることが予想されたので、株間15cm×条間30cmを栽植密度とした面積10aのマルチライン栽培圃場を想定し、10aあたりの同出現数を計算した。同時に、突然変異率を 10^{-2} ~ 10^{-9} まで変動させての計算も試みた。

〔結果〕

抵抗性系統上に突然変異により生じる日別の株当たり病斑数は、発病程度に年次間差があっても発病初期には少なかった。その後は、罹病性系統に生じる病斑数が増加するにつれ、突然変異菌の病斑数値の高い日が多く出現し、その傾向はいもち病の多発年の方が高かった。突然変異菌の日別の株当たり罹病性病斑数は、 1.25×10^{-5} ~ 9.54×10^{-11} までの変動幅があった (Fig. 21)。

抵抗性系統上に突然変異により生じる日別の株当たり罹病性病斑数は、 0.409×10^0 ~ 1.78×10^{-5} まで変動した (Fig. 22)。この出現数が1個以上に達する日は認められなかった。一方、 10^{-2} ~ 10^{-7} まで変動させたときの、抵抗性系統上に生じる罹病性病斑数のとる値の範囲は、株当たりで 1.25×10^{-3} ~ 9.54×10^{-13} 、10a当たりで 4.09×10^2 ~ 1.78×10^{-9} であると計算された。

〔考察〕

清沢³³⁾は、いもち病突然変異菌の出現程度を測定する方法として、突然変異率を定義し、噴霧接種や注射接種による突然変異菌の出現率を推定している。標準菌株を用いたこの実験では、 10^{-2} ~ 10^{-3} という高い値を示した。一方、岩野らは、ササニシキ同質遺伝子系統と野外分離株を用いて接種試験を行い、その値は 10^{-5} ~ 10^{-6} であったとしており (未発表)、報告間で値にばらつきがある。突然変異率が

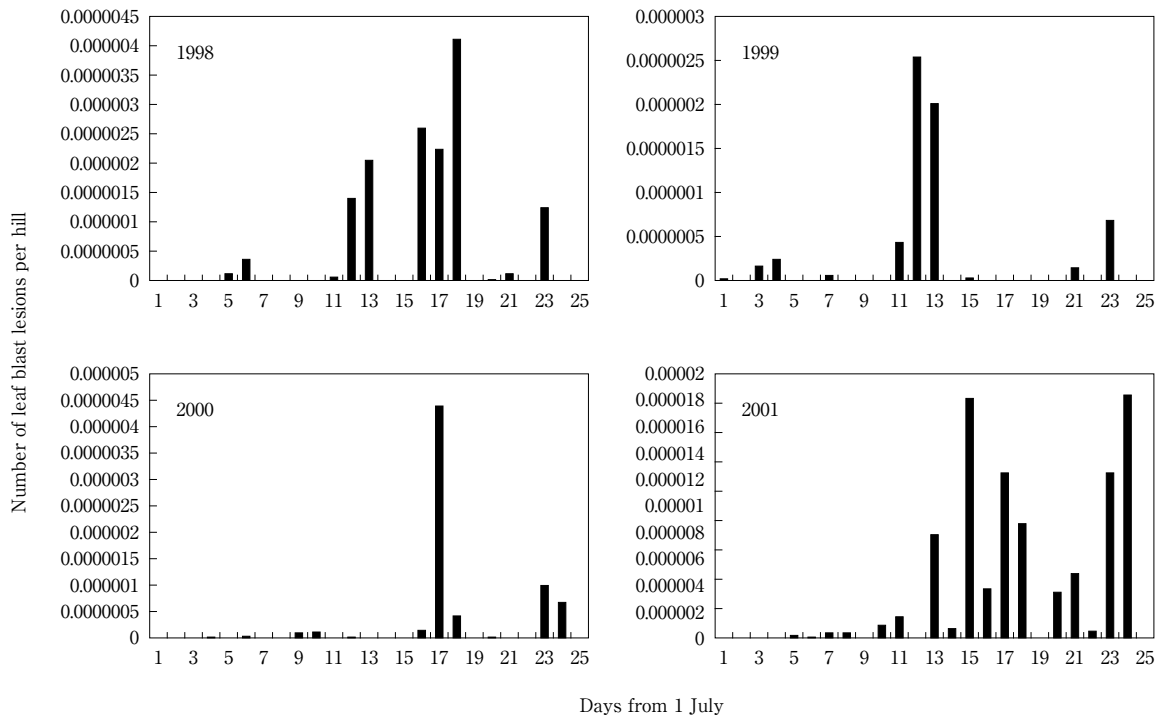


Fig. 21 Simulated number of mutated leaf blast lesions formed on resistant near-isogenic line in a hill per day in 1:3 mixture of susceptible and resistant near-isogenic line from 1998 to 2001. Mutation rate was set as 10^{-5} for simulation using BLASTMUL.

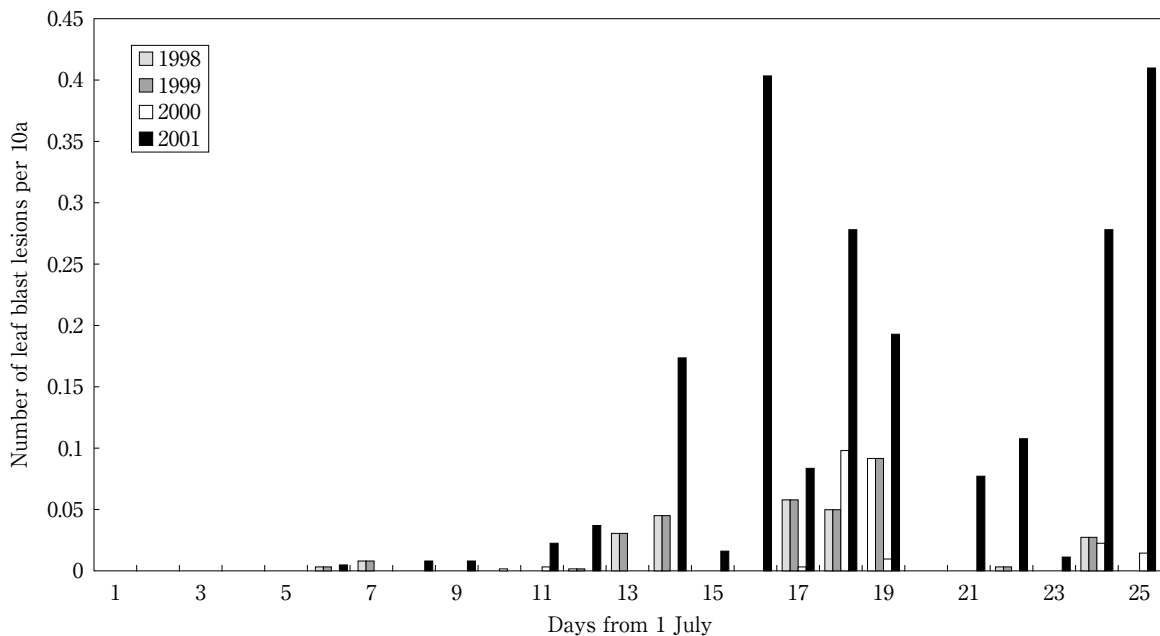


Fig. 22 Simulated number of mutated leaf blast lesions on resistant near-isogenic lines per day in 1:3 mixture of susceptible and resistant near-isogenic line cultivated in a 10a field (approximately including 20,000 hills) from 1998 to 2001. Mutation rate was set as 10^{-5} for simulation using BLASTMUL.

圃場に分布するいもち病菌においてどの程度の値であるかの推定を行う場合、シミュレーション手法は有効である。本試験では、BLASTMULに突然変異パラメータを導入し、突然変異率の値を変化させた場合の、突然変異菌の出現の有無を推定した。その結果、葉いもちの発生量がきわめて多い条件下であっても、株当たりでは出現する可能性はほとんどないと考えられた。そこで、面積10a当たりの出現数を求めたところ、突然変異率が 10^{-5} では最多でも病斑数は0.4個程度と1個に満たなかった。さらに、突然変異率の値を変動させて演算を行った結果、10a当たりで 10^{-2} の突然変異率の場合、 4.09×10^2 個の突然変異菌が出現すると演算された。本条件は通常推定される突然変異率（ここでは、一般的な1塩基置換の生じる頻度 $10^{-8} \sim 10^{-9}$ ）より高い値であるが、その他の値として突然変異率が 10^{-4} であるとすると4.09個の突然変異菌が出現すると演算された。実際の圃場で突然変異菌を出現させ、その率を調査した報告はないので、明確にはいえないが、圃場では一般に突然変異菌が採集されることがあり⁵⁹⁾、その数は多くないことから、現段階では $10^{-4} \sim 10^{-5}$ 程度がより現実に近い突然変異率の値であると考えられる。このことから、今後はより正確な突然変異率を圃場試験で得ることが必要である。

V マルチラインにおける混植系統数と発病抑制程度の関係の解析

マルチラインにおける葉いもちは、伝染源初期値（初期伝染源）の病斑数を出発点として自己感染と他己感染により混植される系統に胞子を分配しながら新たな病斑を形成し、病勢が進展すると考えられる。一方、小泉・谷⁴²⁾は、抵抗性系統を75%、罹病性系統を25%混植するといもち病の発病が慣行による薬剤防除並に抑制できることを報告している。つまり、マルチラインにおいて葉いもちを安定的に防除するためには、抵抗性系統を3/4混合することが必要であると考えられる。しかし、突然変異菌が出現・増殖した場合には、あらたな抵抗性系統へ交代する必要があるだけでなく、侵害レースの出現により抵抗性系統の混植比率が減少する場合には薬剤防除の有無も判断する必要性がでてくる。このため、突然変異菌の出現に対応した混植する系統数を明らかにしておく必要があると考えた。

一般に、突然変異菌の出現方法は、1系統を侵害できるレースから2系統を侵害できるレースに変異すると考えられる。そこで、本章では効果的で安定的に葉いもちの発病を抑制する指標を上述の小泉・谷⁴²⁾による「慣行防除並」を基準として、混合系統数と2系統侵害レースによる葉いもちの発病程度との関係を明らかにするための新しいモデルの作成を試みた。

〔材料と方法〕

「慣行防除並」の抵抗性系統を75%と罹病性系統を25%の割合で混植した場合の発病抑制程度と、2系統を侵害するレースのいもち病菌が出現・蔓延した場合の発病抑制程度とが、同程度となる等量混合系統数を計算するモデルを作成した。

まず、計算に必要な初期伝染源の病斑数 I を初期伝染源病斑数（個）として設定した。ここでは、 I は一般圃場で自然発生により認められる初発の病斑数（これを第1世代とする）を表す（第II章参照）。 I のとる値の範囲は、0～1とした。罹病性系統単植と2系統混植での I の値は、いずれも1とした。一方、3～10系統の各等量混植での I の値は、 $2/3 \sim 2/10$ とした。

つぎに、罹病性系統単植（単植、ここでは2系統混植も含む）における第2世代以降の病斑数の増加は、次式で表される。

$$Ls_i = Ls_{i-1} \times P$$

ここで、 Ls_i は単植における i 世代の株当たり病斑数、 Ls_{i-1} は単植における $i-1$ 世代の株当たり病斑数、 P は1世代当たりの病斑数の増加倍数を表す。

一方、2系統侵害レースが100%分布する条件において、3～10系統の各等量混植（混植）における第2世代以降の2系統侵害レースの病斑数の増加は、次式で表される。

$$Lm_i = Lm_{i-1} \times P \times A$$

ここで、 Lm_i は各混植における i 世代の株当たり病斑数、 Lm_{i-1} は各混植における $i-1$ 世代の株当たり病斑数、 A は自己感染率比の0.65（他己感染率比は0.35、罹病性系統単植と上述の2系統混植では自己と他己の区別がないので1.0）を表す。

計算は、世代数が4世代、 P が10としてそれぞれの混植の条件で行った。これらの計算結果をもとに、単植における病斑数 Ls_i に対する各等量混植における病斑数 Lm_i を計算し、病斑数比 (R_i) を算出した。

〔結果〕

Fig. 23に示すように、単植に対する混植の病斑数比 (R_i) の値は、混植する系統数が増加するほど低下した。抵抗性系統を75%混植し、罹病性系統を25%混植したときの発病程度は、この病斑数比で表すと、その値は0.07であった。また、混植された系統のなかで、2種類の高質遺伝子系統に病原性を示すレースは、8系統を等量混植（これらの系統のうち2種類が侵害される）したときに、病斑数比の値が0.07であった。

〔考察〕

本章は、安定してマルチラインを利用するための一つの指標として、等量混植する系統数と、2系統侵害レースによる葉いもち発病程度との関係を明らかにした。その結果、2系統侵害レースが100%分布する条件では、8系統の等量混植が、抵抗性系統

を75%と罹病性系統を25%混植した場合と同程度の発病抑制程度であると判断された (Fig. 23)。

本モデルは、病勢進展にはイネの出葉する枚数が影響を及ぼすこと、通常病勢進展はロジスティック曲線を示し、7月末までには葉いもちの流行期間が終了することを十分に考慮しなかった。しかし、BLASTMULで得られた葉いもち流行期間内における病勢進展の結果を利用した単純な新たなモデルを作成し、演算結果を比較することで、突然変異菌が蔓延した場合における発病抑制程度を評価できた。これらの結果から、2系統を侵害するレースが100%分布する場合でも、葉いもちを効果的に抑制できる混合系統数は、日本で真性抵抗性遺伝資源（主に、*Pia*、*Pii*、*Pik*、*Piz*、*Pita*、*Pita-2*、*Piz-t*、*Pib*の各遺伝子）として利用できるほぼ最大数であることが明らかとなった。このため、マルチラインを安定的に利用するためには、今後有用な遺伝資源を探索することも必要であると考えられた。

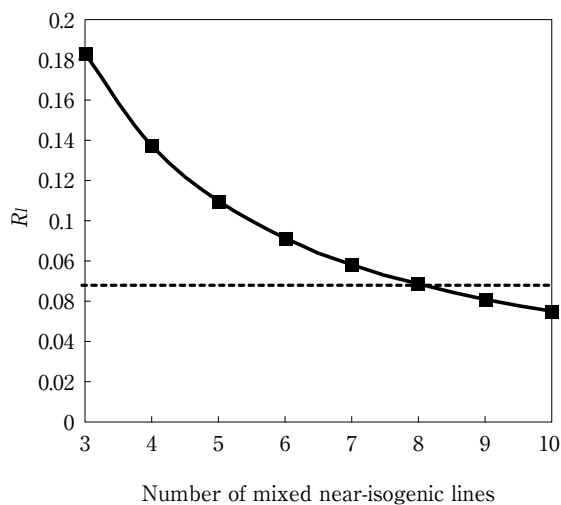


Fig. 23 Effect of increasing number of near-isogenic lines on two-line compatible race increased in mixture. The equal amount of near-isogenic lines mixed was used for respective calculations. A value (0.07, dotted line) indicates lesion number ratio for one-line compatible race increased in a 1:3 mixture of susceptible and resistant near-isogenic line. R_i : ratios of lesion numbers on the components in the mixture of susceptible and resistant near-isogenic lines at the respective ratios to the number in pure stand of susceptible near-isogenic line.

VI 総合考察

イネのマルチラインは、イネいもち病の防除を目的に、1995年から「ササニシキBL」が日本で初めて宮城県で普及された。「ササニシキBL」は、同年に「ササニシキBL 1号」、「2号」、「3号」を4:3:3の比率で作付けされたが、このうち「ササニシキBL 1号」、「2号」を侵害するレース037.1の発生により、1996年には3:3:4に、1997年からは「ササニシキBL 4号」を新たに加え、1号、2号、3号、4号を1:1:4:4の比率に変更され、2006年時点で継続してこの混合比率で栽培されている。

このような状況のもとで、本病を防除するための効果的な混植比率を明らかにするためにマルチライン用シミュレーションモデルを開発することが必要であると考え、本モデルの構築に向けて研究を開始した。

本論文は、1996年から2004年にかけて行った研究によって得られた知見をとりまとめたものであり、モデルの作成のための研究以外に、誘導抵抗性およびレース検定の効率化のための改良等についても併せてとりまとめたものであり、その概略は以下の通りである。

東北農業研究センター（旧東北農業試験場）水田利用部（秋田県大曲市）において、イネいもち病の自然発病条件下で、ササニシキとその抵抗性同質遺伝

子系統を混合栽培し、葉いもちの発病推移を1998～2001年の4カ年調査した。その結果、抵抗性系統の混合比率から推定される初期病斑数は、予測値と実測値で大きな違いが認められないことが明らかとなった。さらに、初発後の病勢進展には、抵抗性系統の混植比率と初期伝染源量の差だけでなく、自己感染率が大きく影響することが明らかとなった。

このような病勢進展の抑制として、Koizumi and Kato⁴¹⁾は、異品種を混合栽培することで、伝染源からの水平方向への葉いもちの病勢進展が抑制されることを報告しているが、垂直方向への病勢進展に関する知見がなかった。そこで、葉いもち病斑の垂直方向への進展に及ぼす影響を調べた結果、抵抗性系統の混植比率が高まるほど、病斑の垂直方向への進展が抑制されることが明らかとなった。このような垂直方向への進展抑制は、その後の穂いもち発生量にも影響を及ぼす可能性が高いと考えられた³²⁾。

非親和性イネいもち病菌による葉身における誘導抵抗性は、マルチラインにおける発病抑制機構の一つであると考えられたので、「ササニシキ」とその同質遺伝子系統を用いて組織・細胞学的な観察を行った。その結果、非親和性菌による発病抑制は、系統間で発現程度に差異があること、非親和性菌の接種濃度が高いほど発病抑制効果が高いこと、非接種部位まで病斑伸展を抑制する効果が及ぶこと、非親和性菌により褐点型病斑を形成する「ササニシキBL8号」では無反応型の「ササニシキBL4号」と比較して菌糸侵入や伸展を抑制する効果が高いことを明らかにした。このような発病抑制の効果は、実際の圃場でも認められる可能性がある^{48, 49)}、十分解明するまでには至っていない。

穂における誘導抵抗性は、非親和性菌接種による発病程度が低いほど、親和性菌による発病程度が低く、「ササニシキ」同質遺伝子系統間で発病抑制程度に差異があることを明らかにした。一方、いもち病の多発圃場における同系統の発病程度は、葉・穂いもちともに接種試験結果と同様の傾向が認められ、宮城県の栽培圃場でも同様に発病程度の差が生じる可能性があると考えられた。しかし、1996～2000年に宮城県の「ササニシキBL」栽培地帯を対象に行った発病調査では、レース007.0のいもち病菌がいずれの構成系統からも分離され、系統間で発病程度に大きな差がなかった。これは、多発年に本

マルチラインが遭遇する機会がほとんどなく、発病差を認められないことが一因であるとも考えられる。

一方、マルチラインを導入する前には、地域のレース分布を把握し、これに有効な抵抗性系統を混合する方策を立てる必要がある。しかし、後藤・山中²²⁾の方法は、一度に多個体のいもち病菌のレースを検定することができず多大な労力がかかる。そこで、本レース検定法の改良を試みた。その結果、3行×4列のセルトレイと植物生育調節剤（ウニコナゾールP液剤）の100倍希釈液（2.5 μg/ml）をジョウロで1セルトレイ当たり10mlを灌注することで、判別品種を小型化することに成功し、接種箱内での空間占有体積を減少できることが明らかとなった。本法は、汎用性が高く、独法や公立の試験研究機関での利用が可能であろうと考えられた。

以上のように、本研究で得られた結果の一部を利用して、マルチライン用の葉いもちシミュレーションモデル（BLASTMUL）を構築した。

マルチライン用のシミュレーションモデルは、Kampmeijer and Zadoks³¹⁾が作成したEPIMUL以外に報告がなかった。このモデルは、伝染源からの病原菌の拡散を模擬することができるが、実際の圃場における病気の進展をシミュレートするには不適であると考えた。このため、本論文では、まず福島県をはじめいくつかの県で発生予察に利用されている橋本ら²⁴⁾が作成した葉いもち病勢進展モデルBLASTLをマルチライン用に改良することにした。BLASTLは、株モデルであるので、BLASTMUL用に、まず系統（株）間の胞子の行き来をモデル化し、自己感染と他己感染のパラメータを設定した。これらの値は、1998～2001年の圃場試験結果からそれぞれ0.65と0.35の値が与えられ、マルチラインでは自己感染の割合が高いことを明らかにした。このようにして構築したBLASTMULは、1998～2001年の自然発病推移と同様の発病推移を模擬し、特に葉いもち発生後期での適合性が高いことを明らかにした。

一方、その他の発病抑制要因として、誘導抵抗性、安定化淘汰のパラメータを設定するとともに、病原性変異菌の出現頻度を推定するために病原性突然変異のパラメータを設定し、BLASTMULに導入した。その結果、誘導抵抗性パラメータの相対感度は低く、発病抑制に大きな影響を及ぼさないことを明らかにした。これは、病勢進展に必要な葉身の葉面積が十分量存在することと、片系統侵害レースと両

系統侵害レースが混在しても、それぞれは同時に増殖するため、片系統侵害レースが抵抗性系統に誘導抵抗性を発現させても、実際に感染可能葉面積を減少させる影響が現れるのは、病勢がある程度進展した葉いもちの発生後期にあたるためと考えられた。これに対し、安定化淘汰パラメータの感度は高く、この値が低いほど顕著に病勢進展が抑制されることを明らかにした。いもち病菌が新たに病原性を獲得することにより、適応度が下がるという理論がVanderplank⁷⁾により提唱されているが、これがマルチラインの栽培圃場において分布するいもち病菌においても起こるかについては、今後検討の余地が残されている。

一方、病原性突然変異パラメータは、突然変異率を変動させると抵抗性系統に付着する突然変異菌の胞子量に影響することが明らかにされた。突然変異菌は、株当たり病斑数が100個に達する条件下でも株単位では発生する可能性はほとんどないが、同様な発病条件で10a単位の面積規模があり、かつ突然変異率が高い値であると発生する可能性があることを明らかにした。これについても、同様に圃場試験で実証する必要があるが、元菌から変異菌が発生したことをDNAマーカー等で証明するだけでなく、今後その出現率も明らかにしていくことが重要であると考えられた。

マルチライン用の葉いもち病勢進展シミュレーションモデルBLASTMULは、このように、マルチラインに関与する様々な要因を詳細に解析するのに利用できることが示された。そこで、これらから得られた知見をもとに、より永続的な混合系統数を求めるモデルを新たに作成した。そして、マルチラインの構成系統のうち1系統を侵害するレースが突然変異して2系統を侵害するようになった場合でも、慣行の薬剤防除並みに発病を抑制できる等量混合の系統数を求めた。その結果、8系統が目的の混合系統数であることが明らかにされた。今後は、別途格子モデル等でいもち病菌の越冬を考慮した数10年単位のいもち病菌レースの動態を解析することが必要であると考えられる。したがって、このモデルは、単年度内において安定してマルチラインを利用する場合に必要な系統数を判断するのに用いるのが妥当であろうと考えられる。

Ⅶ 摘 要

マルチラインにおけるイネいもち病の発病抑制要因の解明と、それらの疫学データを利用してマルチライン用の葉いもち病勢進展シミュレーションモデルを開発し、モデルによる各種要因の解析を行った。

1. 「ササニシキ」とその抵抗性同質遺伝子系統を試験圃場で混合栽培した結果、抵抗性系統の混合比率が高くなるほど自然感染による初期伝染源量は少なくなった。その後の病勢進展は、抵抗性系統の混合比率から推定される値より低く推移し、これ以外の要因として自己感染率比が発病抑制に関与していると推察された。

2. 抵抗性同質遺伝子系統の混植は、葉いもち病斑の垂直方向への進展を抑制する効果があり、抵抗性同質遺伝子系統の混合比率が高いほど上位葉への病勢進展が抑制された。

3. 葉身における非親和性イネいもち病菌による発病抑制には、「ササニシキ」同質遺伝子系統間で差異があり、褐点型の病斑を形成するものが無反応型のものより発病抑制効果が高かった。この発病抑制効果は、非親和性菌の胞子濃度が高まるほど高くなり、また、非接種部位まで及んだ。さらに、褐点型の病斑を形成する系統では菌糸侵入も抑制する効果があった。

4. 穂における非親和性イネいもち病菌による発病抑制にも系統間で差異があり、被害率の低い系統ほど、親和性菌による発病が抑制された。この発病抑制効果は、胞子濃度の影響を受け、高濃度ほど発病抑制効果が顕著に表れた。

5. 1996～2000年にかけて、宮城県の「ササニシキBL」栽培圃場と採種圃場におけるイネいもち病菌のレース分布を調べた結果、構成系統に非親和性のレース007.0が高頻度に分離された。構成系統の「ササニシキBL 1号」、「2号」に対し親和性のレース037.1は低頻度に分離されたが、県内で優勢することはなかった。いもち病菌が分離されたイネ系統の真性抵抗性遺伝子型の推定結果から、いずれの系統からもレース007.0が分離された。このため、ある特定の系統に感染しやすいという傾向は認められなかった。

6. レース007.0のいもち病菌が優勢すると考えられる多発試験圃場で、「ササニシキ」と「ひとめぼれ」の同質遺伝子系統を栽培した結果、非親和性

菌を接種した温室内試験の発病程度と同様の傾向を示した。このため、実際と同質遺伝子系統を混合栽培した圃場でも、いもち病の発生量が多いと、系統間で被害初率に差異がある可能性が考えられた。

7. マルチライン用の葉いもち病勢進展シミュレーションモデルBLASTMULを開発した。本モデルの葉いもち発病の予測値は、自然発生条件下における実測値によく適合した。このことから、系統間の胞子の行き来をモデル化した自己感染と他己感染のパラメータ値は妥当であると判断された。本モデルの演算結果から、葉いもちの発生量が最も多い時期における、罹病性系統単植における病斑数に対する罹病性系統と抵抗性系統の混植における病斑数の比が、発病抑制程度を最もよく説明する指標であることが明らかとなった。

8. 誘導抵抗性のパラメータをBLASTMULに導入して感度分析を行った結果、相対感度は低く、本パラメータは発病抑制に大きく影響を及ぼさない可能性が高いと考えられた。これは、病斑数の少ない発病初期には葉面積が多く存在すること、発病後期の葉いもちの病斑数が増加しないと発病抑制効果が現れにくいことが影響していると考えられた。

9. 安定化淘汰のパラメータを同様に感度分析した結果、相対感度は高く、本パラメータの値が低いほど、病勢進展が抑制された。このため、安定化淘汰が存在する場合には、混植圃場において発病抑制が認められる可能性が高いと考えられた。

10. 病原性突然変異のパラメータを設定し、突然変異菌の出現頻度をシミュレーションにより解析した結果、株当たりでは出現する可能性はほとんどないと演算されるが、10aあたりに面積規模を拡大すると、演算に使用する突然変異率の値が高いほど出現する突然変異菌の病斑数が多くなることが示された。

11. BLASTMULにより示された演算結果から、自己感染と他己感染のパラメータ値を利用して、1系統侵害レースが突然変異により2系統侵害レースとなりマルチライン栽培圃場に蔓延しても、慣行の薬剤防除並みと同等に発病が抑制される等量混合系統数を計算した。その結果、8系統が必要な数であることが明らかとなった。

引用文献

- 1) 鏡谷大節. 1955. 葉稲熱病の感染型について. 栃内・福士両教授還暦記念論文集. 北海道大学. 札幌市. p.197-201.
- 2) Arase, S.; Fujita, K. 1992. Induction of inaccessibility to *Pyricularia oryzae* by preinoculation of *P. grisea* in rice leaf-sheath cells. J. Phytopathol. 134: 97-102.
- 3) 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法に関する研究. 農事試研報 35: 51-138.
- 4) 浅賀宏一, 進藤敬助, 八重樫博志, 岩野正敬. 1983. フクニシキおよび奥羽244号ととりで1号の混植によるいもち病抑制効果 (講演要旨). 北日本病虫研報 49: 89-90.
- 5) 浅賀宏一. 1987. 稲いもち病. 山口富夫, 山中達編. 養賢堂. 東京. p.229-234.
- 6) 芦澤武人, 園田亮一, 齊藤初雄, 古賀博則. 1994年に北海道および東北地方に分布したイネいもち病菌のレース. 北日本病虫研報 48: 30-32.
- 7) 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.
- 8) 芦澤武人, 善林 薫, 小泉信三. 2002. 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. 日植病報 68: 305-308.
- 9) 芦澤武人, 善林 薫. 2005. セルトレイと植物生育調節剤を利用したイネいもち病菌レース判別試験の効率化. 日植病報 71: 11-15.
- 10) Ashizawa, T.; Zenbayashi, S. K.; Sonoda, R. 2005. Effects of preinoculation with an avirulent isolate of *Pyricularia grisea* on infection and development of leaf blast lesions caused by virulent isolates on near-isogenic lines of Sasanishiki rice. J. Gen. Plant Pathol. 71: 345-350.
- 11) Ashizawa, T.; Zenbayashi, K.; Koizumi, S. 2007. Vertical distribution of leaf blast lesions in mixtures of rice cultivar Sasanishiki and its resistant near-isogenic line. J. Gen. Plant Pathol. 73: 129-132.
- 12) Ashizawa, T.; Sasahara, M.; Ohba, A.; Hori,

- T.; Ishikawa, K.; Sasaki, Y.; Kuroda, T.; Harasawa, R.; Zenbayashi, K.; Koizumi, S. 2007. Lesion-based analysis of leaf blast suppression in mixtures of rice cultivar Sasanishiki and a resistant near-isogenic line. *J. Gen. Plant Pathol.* 73 : 15-21.
- 13) Berger, R. D. 1989. Description and application of some general models for plant disease epidemics. (Leonard, K. J.; Fry, W. E. eds., *Plant Disease Epidemiology. Vol.2 Genetics, Resistance, and Management*). New York. McGraw-Hill. p.125-149.
- 14) Chin, K. M.; Wolfe, M. S. 1984. The spread of *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* in mixtures of barley varieties. *Plant Pathol.* 33 : 89-100.
- 15) Chiu, S. H.; Teng, Y. C. 1975. Yield and resistance of rice blast resistant composite varieties. *J. Agric. Research (Taiwan)* 24 : 1-10.
- 16) Chiu, S. H.; Teng, Y. C. 1976. Studies on disease resistance, yielding capacity and grain quality of blast resistant multiline and composite varieties of rice. *J. Agric. Research (Taiwan)* 25 : 249-258.
- 17) Cornell, J. A.; Berger, R. D. 1987. Factors that influence the value of the coefficient of determination in simple linear and nonlinear regression models. *Phytopathology* 77 : 930-935.
- 18) 藤井 潔, 早野由里子, 荒川 誠. 2005. イネ病害虫複合抵抗性品種の育成とその普及. *植物防疫* 59 : 226-230.
- 19) 藤田佳克, 鈴木穂積. 1982. イネいもち病菌レース047の発生後の年次経過と病原力の増大. *日植病報* 48 : 290-294.
- 20) 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.
- 21) Garrett, K. A.; Mundt, C. C. 1999. Epidemiology in mixed host populations. *Phytopathology* 89 : 984-990.
- 22) 後藤和夫, 山中 達. 1968. イモチ病菌のRaceに関する研究. *宇都宮大学農学報.* 7(2) : 27-71.
- 23) Gregory, P. H. 1968. Interpreting plant disease gradients. *Annu. Rev. Phytopathol.* 6 : 189-212.
- 24) 橋本 晃, 平野喜代人, 松本和夫. 1984. シミュレーションによる葉いもちの発生予察に関する研究. *福島農試特研報* 2 : 1-104.
- 25) 石黒 潔, 橋本 晃. 1990. 穂いもちシミュレーションモデルの開発 第2報モデルの検証と感度分析. *福島農試研報* 29 : 15-71.
- 26) 石黒 潔. 2001. シミュレーション・モデルを用いたイネいもち病(葉いもち)防除法の改善. *東北農試研報* 99 : 1-110.
- 27) 石川浩司, 黒田智久, 堀 武志. 2004. 2003年に新潟県のコシヒカリ同質遺伝子系統現地試作ほから分離されたイネいもち病菌レース. *日植病報* 70 : 195 (講演要旨).
- 28) 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.
- 29) 岩野正敬, 井上正勝, 春原嘉弘. 2002. イネいもち病菌レース判別品種用矮性系統の育成とそれを用いたレースの簡易検定法. *関東病虫研報* 49 : 13-15.
- 30) Jeger, M. J. 1986. The potential of analytic compared with simulation approaches to modeling in plant disease epidemiology. (Leonard, K. J.; Fry, W. E. eds., *Plant Disease Epidemiology. Vol. 1 Population Dynamics and Management*). New York. Macmillan Publishing Co. p.255-281.
- 31) Kampmeijer, P.; Zadoks, J. C. 1977. EPIMUL, a simulator of foci and epidemics in mixtures of resistant and susceptible plants, mosaics, and multilines. Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, Netherlands.
- 32) 加藤 肇, 佐々木次雄. 1974. イネいもち病の疫学的研究—とくにイネ体上におけるいもち病菌の増殖過程と穂いもち発生量の数値予測—. *農技研報* C28 : 281-61.
- 33) 清沢茂久. 1966. いもち病菌の病原性の自然突然変異について. *植物防疫* 20 : 159-162.
- 34) 清沢茂久. 1969. 水稻品種ヤシロモチのいもち病抵抗性の遺伝分析. *農及園* 44 : 407-408.
- 35) Kiyosawa, S.; Shiyomi, M. 1972. A theoretical evaluation of the effect of mixing resistant variety with susceptible variety for control-

- ling plant diseases. Ann. Phytopathol. Soc. Japan 38 : 41-51.
- 36) 清沢茂久, 柳淵欽也, 渡辺進二. 1975. いもち病抵抗性育種および育種研究の現状と問題点〔1〕. 農及園 50 : 25-30.
- 37) 清沢茂久. 1979. 作物の病害抵抗性育種とその基礎研究. 農及園 54 : 1427-1432.
- 38) Kiyosawa, S. 1981. Gene analysis for blast resistance. Oryza 18 : 196-203.
- 39) Kiyosawa, S. 1986. Estimation of stabilizing selection of virulence genes in the rice blast fungus population in prefectures in Japan. Bull. Natl. Agrobiol. Resour. 2 : 61-96.
- 40) 小林次郎. 1984. 発生初期における葉いもちの疫学的研究. 秋田農試研報 26 : 1-84.
- 41) Koizumi, S.; Kato, H. 1987. Effect of mixed plantings of susceptible and resistant rice cultivars on leaf blast development. Ann. Phytopathol. Soc. Japan 53 : 28-38.
- 42) 小泉信三, 谷 俊男. 1996. イネいもち病の発病抑制効果におけるササニシキ多系品種とほ場抵抗性強品種及び薬剤散布の比較. 愛知農総試研報 28 : 53-68.
- 43) Koga, H.; Kobayashi, T. 1980. A whole-leaf clearing and staining technique to observe the invaded hyphae of blast fungus and host responses in rice leaves. Ann. Phytopath. Soc. Japan 46 : 679-681.
- 44) 古賀博則, 小林尚志. 1982. 親和性および不親和性イネ・いもち病菌組合せにおける葉身での初期感染過程の比較. 日植病報 48 : 506-513.
- 45) 古賀博則, 小林尚志. 1982. 不親和性いもち病菌レースに対するイネ品種とりで1号の葉身の細胞反応. 北陸病虫研報 30 : 12-18.
- 46) Lannou, C.; Vallavieille-Pope, C. D.; Goyeau, H. 1995. Induced resistance in host mixtures and its effect on disease control in computer-simulated epidemics. Plant Pathol. 44 : 478-489.
- 47) Leach, J. E.; Vera Cruz, C. M.; Bai, J.; Leung, H. 2001. Pathogen fitness penalty as a predictor of durability of disease resistance genes. Annu. Rev. Phytopathol. 39 : 187-224.
- 48) Manandhar, H. K. 1996. Rice Blast Disease: Seed Transmission and Induced Resistance, ph. D. Thesis, The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, Denmark. 110p.
- 49) Manandhar, H. K.; Jørgensen, H. J. L.; Mathur, S. B.; Smedegaard-Petersen, V. 1998. Suppression of rice blast by preinoculation with avirulent *Pyricularia oryzae* and the nonrice pathogen *Bipolaris sorokiniana*. Phytopathology 88 : 735-739.
- 50) 三沢正生. 1959. いもち病菌接種法についての考察. 植物防疫 13 : 15-16.
- 51) Mundt, C. C.; Leonard, K. J. 1985. A modification of Gregory's model for describing plant disease gradients. Phytopathology 75 : 930-935.
- 52) Mundt, C. C.; Leonard, K. J.; Thal, W. M.; Fulton, J. H. 1986. Computerized simulation of crown rust epidemics in mixtures of immune and susceptible oat plants with different genotype unit areas and spatial distributions of initial disease. Phytopathology 76 : 590-598.
- 53) Mundt, C. C.; Leonard, K. J. 1986. Analysis of factors affecting disease increase and spread in mixtures of immune and susceptible plants in computer-simulated epidemics. Phytopathology 76 : 832-840.
- 54) Mundt, C. C.; Brophy, L. S. 1988. Influence of number of host genotype units on the effectiveness of host mixtures for disease control: A modeling approach. Phytopathology 78 : 1087-1094.
- 55) Nakajima, T.; Sonoda, R.; Yaegashi, H. 1996. Effect of a multiline of rice cultivar Sasanishiki and its isogenic lines on suppressing rice blast disease. Ann. Phytopathol. Soc. Japan 62 : 227-233.
- 56) Nakajima, T.; Sonoda, R.; Yaegashi, H.; 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. Japan 62 : 360-364.
- 57) 農林水産省振興局植物防疫課編. 1961. 病害虫発生予察特別報告第5号. p. 5-6.
- 58) 岡部四郎. 1967. 多系混合方式による耐病性の育種. 育種学最近の進歩 8 : 88-100.

- 59) 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.
- 60) 大場淳司. 2002. 植物成長調節剤(矮化剤)で処理したイネいもち病菌レース判別品種の宮城県における適合性. 北日本病虫研報 53:37-40.
- 61) 太田恵二. 1982. シミュレーションによるイネいもち病の発生予察法. 青森県. 今月の農業. 26:12-19.
- 62) Park, S. K.; Kim, K. C. 1983. Effects of mixing and reciprocal inoculation with compatible and incompatible races of *Pyricularia oryzae* on the enlargement of disease lesions of rice blast. Korean J. Plant Pathol. 22:300-306.
- 63) Parleviet, J. E. 1981. Stabilizing selection in crop pathosystems: An empty concept or reality?. Euphytica 30:259-269.
- 64) Robinson, R. A. 1976. Plant Pathosystems, New York. Springer-Verlag. 184p.
- 65) 佐竹徹夫. 1972. イネポット栽培の改良法—生育時期のそろった穂を得るために—. 日作紀 41:361-362.
- 66) 佐々木武彦, 阿部眞三, 松永和久, 岡本栄治, 永野邦明, 丹野耕一, 千葉芳則, 狩野 篤, 植松克彦, 滝沢浩幸, 早坂浩志, 涌井 茂, 黒田倫子, 薄木茂樹, 千葉文弥, 菅野法近, 佐々木都彦, 遠藤貴司. 2002. ササニシキの多系品種「ササニシキBL」について. 宮城古川農試報 3:1-35.
- 67) 進藤敬助. 1977. 抵抗性主働遺伝子型が異なる品種の混合栽培がいもち病の発生に及ぼす影響. 北日本病虫研報 28:55 (講演要旨).
- 68) 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.
- 69) 東海林久雄, 竹田富一, 木村和夫, 鈴木穂積, 藤田佳克. 1982. いもち病常発地帯における発病抑制法としての主働抵抗性遺伝子型を異にするイネ品種の混合栽培とその問題点. 山形農試報 17:59-69.
- 70) 鈴木穂積, 藤田佳克. 1980. 主働抵抗性因子型を異にするイネ品種の混植による葉いもちの発病抑制とその要因(講演要旨). 日植病報 46:364-365.
- 71) 高井 昭, 金井克巳. 1982. シミュレーションによるイネいもち病の発生予察法. 福岡県. 今月の農業. 26:86-93.
- 72) 高橋喜夫. 1951. 稲熱病抵抗性の検定に関する植物病理學的並に育種學的研究. 北海道立農試報 3:1-56.
- 73) 高橋喜夫. 1956. 稲熱病抵抗性の機作(Ⅱ) 稲熱病抵抗に伴う寄主細胞の形体的変質. 山形大学紀要(農学)2:83-97.
- 74) 富田啓文, 山中 達. 1983. イネいもち病における抵抗反応に関する研究 I. 感染初期細胞の病態変化. 日植病報 49:514-521.
- 75) 辻 英明, 加藤清一. 1997. ササニシキいもち病真性抵抗性同質遺伝子系統の混合栽培(ササニシキBL)におけるいもち病発生状況(講演要旨). 北日本病虫研報 48:214.
- 76) 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.
- 77) Vanderplank, J. E. 1963. Plant Diseases. Epidemics and Control. New York. Academic Press.
- 78) Waggoner, P. E.; Horsfall. 1969. EPIDEM, a simulator of plant disease written in computer. Conne. Agric. Exp. Stn. Bull. 698:1-80.
- 79) Wolfe, M. S.; Barrett, J. A.; Jenkins, J. E. E. 1981. The use of cultivar mixtures for disease control. (Jenkyn, J. F.; Plumb, R. T. eds., Strategies for the Control Cereal Disease). Oxford. Blackwell. p.73-80.
- 80) 八重樫博志. 1991. 水稻良食味品種の作付け拡大といもち病. 植物防疫 45:456-458.
- 81) Yamada, M.; Kiyosawa, S.; Yamaguchi, T.; Hirano, T.; Kobayashi, T.; Kushibuchi, K.; Watanabe, S. 1976. Proposal of a new method for differentiating races of *Pyricularia oryzae* Cavara in Japan. Ann. Phytopathol. Soc. Japan 42:216-219.
- 82) 山中 達. 1987. 稲いもち病. 山口富夫・山中達編. 養賢堂. 東京. pp.241-242.
- 83) 山崎義人, 清沢茂久. 1966. イネのいもち病抵抗性の遺伝に関する研究 第I報 いもち病菌の数種の系統に対する日本稲品種の抵抗性の遺

- 伝. 農技研報 D14 : 39-69.
- 84) 横尾政雄. 1974. 作物の病害防除のための多系品種. 育雑 24 : 104-111.
- 85) 吉野嶺一. 1979. いもち病菌の侵入に関する生態学的研究. 北陸農試報 22 : 163-221.

Studies on Mechanisms of Suppression of Rice Blast Disease in Multilines and Their Analyses Using a Simulation Model

Taketo ASHIZAWA

Summary

Rice blast is the most destructive disease for rice production in Japan. To control this disease, fungicides were applied, because elite rice cultivars with high eating quality, such as Koshihikari, Hitomebore and Sasanishiki, which have low levels of partial resistance, are cultivated in large areas in Japan. However, recent concerns about food safety and environmental awareness on the part of consumers and producers has produced a desire to control rice blast by using resistant rice cultivars.

Rice cv. Kusabue, which has a complete blast resistance gene, *Pik*, was introduced in farm fields in 1960. However, the cultivar resistance was broken down by the emergence of new virulent blast races in 1963. Similarly, newly released cultivars having complete resistance genes, *Piz*, *Pita*, *Pita-2* and *Pib*, have also become diseased by the increase in virulent races within a few years.

To prevent the breakdown in resistance, the concept of a multiline was introduced to control blast. A rice multiline was first bred in Taiwan, and the suppression of blast using the multiline was higher than that in the recurrent parent rice cultivar for the multiline under a severe blast condition.

In Japan, a multiline known as Sasanishiki BL was first introduced and cultivated in farm fields in 1995 in Miyagi Prefecture. Using the multiline, researchers have studied the mechanisms of blast suppression, the ratio of resistant near-isogenic lines in mixtures and the induced resistance. Simultaneously, the distribution of pathogenic races of blast fungus in Sasanishiki BL has been investigated in farm and seed production fields. However, evaluation of the effectiveness of blast suppression in the multiline has not yet been analyzed, and the mechanism of induced resistance in the multiline has not been clarified.

The present studies were conducted to clarify the mechanisms of suppression of rice blast in the Sasanishiki BL multiline and to report their analyses using a simulation model. An summary of the results is as follows:

1. Field experiments were conducted to clarify the difference in number of initial lesions among pure stands of susceptible Sasanishiki, 1:1 and 1:3 mixtures of Sasanishiki and its resistant near-isogenic line, Sasanishiki BL4 or BL8, from 1998 to 2001. The number of blast lesions was high in pure stands of Sasanishiki, moderate in the 1:1 mixtures, and low in the 1:3 mixtures. In addition, leaf blast development in the mixtures was slower than that expected from the rates of the resistant near-isogenic line in the mixture.
2. Vertical development of leaf blast lesions was suppressed in the 1:1 and 1:3 mixtures of Sasanishiki and its resistant near-isogenic line compared to a pure stand of Sasanishiki.
3. The degree of suppression of blast on leaf blades preinoculated with an incompatible isolate was different among Sasanishiki near-isogenic lines. The suppression on Sasanishiki BL7 with the b-type lesions preinoculated with an incompatible isolate was greater than that on Sasanishiki BL4 with the HR (hypersensitive reaction) type (cytological granules) lesions. The suppression was affected by spore

concentration of the incompatible isolate, and by extended uninoculated areas of leaf blades. In addition, leaf blades with b-type lesions also suppressed invasion hyphae.

4. The degree of blast suppression on panicles preinoculated with an incompatible isolate was different among Sasanishiki near-isogenic lines. Panicle blast severity of the near-isogenic lines with low severity was less suppressed by a compatible isolate compared with that of higher severity. The panicle blast severity by a compatible isolate was suppressed by preinoculation with high spore concentrations of an incompatible isolate.

5. Distribution of pathogenic races in farm and seed production fields of Sasanishiki BL cultivated in Miyagi Prefecture from 1996 to 2000 was investigated. Blast fungus of race 007.0, which is incompatible with Sasanishiki BL lines, was frequently isolated from the lines. The compatible fungus of race 037.1 was also isolated from Sasanishiki BL1, having the *Pik* gene, and BL2, having the *Pik-m* gene, but the race did not become predominant in the prefecture. A complete resistance genotype was identified using infected panicles of Sasanishiki BL, which indicated that specific lines constituting Sasanishiki BL did not tend to be infectious to the race 007.0.

6. To clarify the effect of incompatible blast fungus of race 007.0 in multilines on blast severity in paddy field conditions, Sasanishiki and Hitomebore near-isogenic lines were cultivated in an experimental field in a severe blast epidemic in 2001. A difference of blast severity among the lines was observed, and the difference was similar to that found in an inoculation test using incompatible isolates.

7. A simulation model, named BLASTMUL, was developed to clarify leaf blast development in multilines. Simulated numbers of leaf blast lesions fit well with observed numbers. Parameters of autoinfection and alloinfection, whose values are 0.65 and 0.35, respectively, functioned well in the model. The model showed that the highest number of blast lesions within a year is a good predictor to clarify the effectiveness of leaf blast suppression in multilines.

8. A parameter of induced resistance was introduced, and then sensitivity analysis was done to evaluate the effect of suppression by an incompatible blast fungus. The model of relative sensitivity was low. This indicated that the parameter was not sufficient to affect leaf blast development, regardless of severe blast occurrence.

9. A parameter of stabilizing selection was also introduced, and sensitivity analysis was done to evaluate the effect of leaf blast suppression. The model of relative sensitivity was high. The result indicated that leaf blast suppression might occur when the stabilizing selection is effective in a population of blast fungus in multilines.

10. A parameter of mutation was introduced, and sensitivity analysis was done to evaluate the frequency of emergence of mutated blast fungus. Simulation results revealed that the mutated fungus did not emerge within a representative hill (a small area), but it did emerge within an area of 1,000m² (including approximately 20,000 hills) in accordance with a higher mutation rate.

11. A new model was developed using BLASTMUL to clarify the number of mixed lines for effective control of two-line compatible races. A parameter set of autoinfection and alloinfection was used to calculate the number. The model indicated that an 8-line mixture was effective to control leaf blast similar to conventional application of blasticides.

黒毛和種雌牛の維持給与水準における給与飼料の種類および濃厚飼料添加が第一胃メタン産生に及ぼす影響

篠田 満^{*1)}・櫛引 史郎^{*2)}・新宮 博行^{*2)}・上田 靖子^{*3)}

抄録：黒毛和種繁殖雌牛に黄熟期収穫のイネホールクロップサイレージ（イネWCS）を維持量給与した場合のメタン産生量は、摂取乾物（DM）1 kg当たり33 L/kgで、開花期収穫の乾草の28 L/kgよりも有意に高かった。しかし、可消化有機物および可消化エネルギーあたりでは有意な差ではなかった。イネWCSの維持量給与水準において米ヌカまたは蒸煮圧片トウモロコシを原物で2 kg、添加割合で30%給与することにより、摂取DM当たりのメタン産生量は低下し、その低下の程度は米ヌカの方が大きかった。第一胃液のプロピオン酸モル比はイネWCS給与は乾草給与に比べて低いが、米ヌカまたはトウモロコシを添加するとその比は高まった。プロピオン酸モル比の高い飼料の方がメタン産生量は少ない傾向にあった。本試験より、イネWCS給与において、トウモロコシもしくは米ヌカの添加はメタン産生量の減少に有効であることが認められた。

キーワード：メタン、肉用牛、維持、イネホールクロップサイレージ、米ヌカ、トウモロコシ、プロピオン酸

Methane Emission from Japanese Black Cows Fed Hay or Whole Crop Rice Silage at a Maintenance Intake Level and the Effect of Concentrate Feeding on Emission : Mitsuru SHINODA^{*1)}, Shirou KUSHIBIKI^{*2)}, Hiroyuki SINGU^{*2)} and Yasuko UEDA^{*2)}

Abstract : The objective of this study was to measure methane emission from beef cattle cows fed hay or whole crop rice silage (WCS) and to determine the reduction rate in methane emission due to the addition of rice bran or steam flaked corn (corn) at a maintenance energy intake level. Methane emission per dry matter intake level (DMI) of Japanese Black cows fed rice WCS harvested at the yellow-ripe stage was 33L/kg DMI, which was higher than that of cows fed hay harvested at the flower stage (28L/kg DMI). However methane emissions per digestible organic matter or digestible energy were not significantly different between cows fed hay and cows fed rice WCS. Feeding 2 kg of rice bran or corn, 30% of the ration with rice WCS decreased methane emission per DMI, and the degree of reduction for rice bran was larger than that for corn. Ruminal propionate proportions in cows fed rice WCS were lower than those for hay feeding. The addition of rice bran or corn to rice WCS increased the ruminal propionate proportion. Methane emissions from cows with a high ruminal propionate proportion tended to decrease. The results demonstrate that feeding corn or rice bran with rice WCS is effective for decreasing methane emission from cows.

Key Words : Methane Emission, Beef Cattle, Whole Crop Rice Silage, Rice Bran, Corn, Propionate

* 1) 現・北海道農業研究センター (National Agricultural Research Center for Hokkaido Region, Memuro, Hokkaido 082-0071, Japan)

* 2) 現・畜産草地研究所 (National Institute of Livestock and Grassland Science, Ikenodai, Tsukuba, Ibaraki 305-0901, Japan)

* 3) 現・北海道農業研究センター (National Agricultural Research Center for Hokkaido Region, Hitsujigaoka, Toyohira, Sapporo, Hokkaido 062-8555, Japan)

2006年11月16日受付、2007年10月4日受理

I 緒 言

近年、地球温暖化が問題となっており、メタンや二酸化炭素など温室効果ガスの排出量削減が求められている。メタンは二酸化炭素に比べて発生量は少ないものの、単位量当たりの温室効果は大きい。中でも反芻家畜からのメタン産生量はメタン排出量全体の15%を占めており、給与する飼料とメタン産生の関係について情報の蓄積とその抑制が課題となっている。

反芻家畜のメタン産生量に影響する要因をまとめた総説では、メタン産生量は給与水準と飼料の栄養価の影響を受け、一般に給与水準が高い場合は栄養価が低い方が、給与水準が低い場合は栄養価が高い方が多くなるとされている(柴田 2002a)。また、脂肪や抗生物質などの添加物利用、および低質飼料給与での補助飼料による栄養価向上など、メタン産生抑制法が提示されている(柴田 2002b)。

近年、飼料イネホールクロープサイレージ(以下イネWCS)の給与法が検討されている。イネWCSはTDN含量が55%前後で、肉用繁殖牛の飼料として適度なTDN含量であり、また、濃厚飼料の性格の強い高消化の穀実と、繊維が主体で低消化の茎葉という、性質が異なる部分から構成されている。イネWCS給与時のメタン産生については、塩谷ら(2002)が出穂前のイネWCSについて報告しているが、一般的に推奨されている黄熟期収穫のイネWCSについては検討されていない。

そこで、本試験ではイネWCSを対象に肉用繁殖牛に維持水準で給与した場合のメタン産生量を測定するとともに、併用して給与する濃厚飼料の種類がメタン産生に及ぼす影響を検討した。

本試験では、メタン測定システムの製作・使用およびメタン産生量のデータ処理において畜産草地研究所寺田文典氏から懇切丁寧な指導・助言を受けた。飼料および糞の熱量の測定では畜産草地研究所の栗原光規氏(現農林水産技術会議事務局)の協力を得た。また、本論文は北海道農業研究センター富樫研治研究管理監、東北農業研究センター梨木守チーム長(現畜産草地研究所)に校閲いただいた。さらに、飼料イネの栽培および家畜飼養管理では東北農業研究センター業務2科および3科職員の協力を得た。ここに深く感謝の意を表す。

II 材料と方法

本試験で使用したメタン測定システムは1基のみで、同一時期に複数の供試牛のメタン産生量を測定できないため、試験時期を2期に分け、1期目は乾草(以下乾草区)とイネWCS(以下イネWCS区)をそれぞれ単独で給与した場合のメタン産生量を、2期目はイネWCSに加熱処理した生米ヌカ(以下米ヌカ区)または蒸煮圧片トウモロコシ(以下トウモロコシ区)を添加した場合のメタン産生量を測定した。

1. フード法によるメタン産生量の測定

畜産草地研究所で開発されたフード法によるメタン測定システムを導入して、呼気中のメタン濃度を測定した(農林水産技術会議事務局編、2002)。図1にシステムの概要を示した。

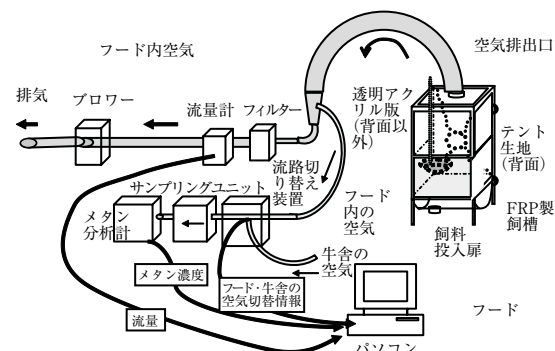


図1 フード法によるメタン測定システムの概略

牛舎のスタンション枠に繋養された供試牛は、スタンションの前部で固定された飼槽と一体型の、背面をシートで覆われたフードの中に頭部を入れ、自由に飼料を採食する。フード内の空気はブローによって吸引され、排気量を測定する流量計を通じて屋外に排泄される。メタン分析計へのフード内からの流路と牛舎内からの流路が2分間隔で切り替えられ、フード内と牛舎内のメタン濃度が交互に測定される。また、本装置ではメタン分析計までのチューブ内の気体がフード内と牛舎内とで十分置き換わってから測定するように、切り替え1分間経過後からメタン濃度の測定値をパソコンに取り込む設定となっている。このように、フード内のメタン濃度は4分間につき1分間が測定されるので、供試牛からのメタン産生量は測定時間で積算したフード外へのメタン排出量(メタン濃度×流量)の4倍値である。

2. 給与試験

1) 粗飼料の種類がメタン産生に及ぼす影響

乾草区は開花期収穫の遅刈りイタリアンライグラス乾草を、イネWC S区は黄熟期収穫のイネWC Sをそれぞれ黒毛和種成雌牛4頭（体重420～510kg）に給与して、乾草区、イネWC S区の順にメタン産生量を測定した。

1日当たりの給与量は維持給与水準として現物で、乾草が5kgまたは6kg、イネWC Sは9kgとし、乾草区は10日間から19日間給与したのち、供試牛を1頭ずつ順次フードに入れ、メタン産生量を1日ないし2日間、イネWC S区は9～12日間給与した後、メタン産生量を3日間測定した。また、試験期間中にそれぞれの供試飼料の栄養価を測定するために、乾草区は3日間、イネWC S区は5日間の全糞採取法で消化試験を実施した。メタン測定終了後、経時的に第一胃液を経口で採取した。

2) イネWC Sに添加する濃厚飼料の種類がメタン産生に及ぼす影響

前記の単一給与試験の6か月後に実施した。試験には体重390～500kgの黒毛和種成雌牛4頭（以下、A、B、C、D）を供試し、単一給与試験と同一のイネWC Sに、濃厚飼料として米ヌカ（米ヌカ区）もしくは蒸煮圧片トウモロコシ（トウモロコシ区）を混合して給与した。供試牛の4頭中3頭は前述の単一給与試験と同一牛であった。イネWC Sの1日当たり給与量は原物で8kgで、乾物（DM）では約4kgに相当した。米ヌカまたはトウモロコシの1日当たり給与量は原物で2kgで、給与飼料全体に占める割合はDMで約30%であった。米ヌカは夏期の変性を防止する目的で加熱処理を施した製品を供試した（今井ら 2000）。

供試牛AおよびBの2頭はトウモロコシ区、米ヌカ区の順に、また、供試牛CおよびDの2頭は米ヌカ区、トウモロコシ区の順に飼料を給与した。予備期14日間の終了後に、メタン産生量を試験1と同様にフード法で2～3日間測定したが、供試牛BおよびCでトウモロコシ区のメタン産生量が著しく低かったため、Bは米ヌカ区の試験を終了後、再度トウモロコシ区飼料を9日間給与し、また、Cはトウモロコシ区終了後もひきつづきトウモロコシ区飼料を6日間延長して給与し、それぞれ2回目のトウモロコシ区のメタン産生量を測定した。

養分摂取量測定のため、メタン測定日の前後のい

ずれか4日間、全糞採取による消化試験を実施した。各区の最終日には第一胃液を給与開始2時間後と4時間後に採取した。以上のように供試牛は、(1)糞採取－メタン測定－第一胃液採取、もしくは、(2)メタン測定－糞採取－第一胃液採取のいずれかの日程で試験が実施された。なお、トウモロコシ区1回目の試験でメタン産生が少なかった供試牛BおよびCについては、採食量は通常であったため消化試験を実施した。一方、トウモロコシ区の供試牛Aについては、(2)の日程の糞採取時の摂取量低下により糞および第一胃液の採取を実施しなかった。また、米ヌカ区の供試牛Dについては、(1)の日程の第一胃液採取日に摂取量が低下したことから、第一胃液を採取しなかった。したがって、供試牛頭数は消化試験ではトウモロコシ区が3頭、第一胃液採取ではトウモロコシ区および米ヌカ区が3頭で、それ以外の調査項目はすべて4頭であった。

3. 試料の分析と統計処理

供試飼料および糞の水分、灰分、粗蛋白質（CP）および粗脂肪含量（EE）は定法（森本 1971）により分析した。また、総繊維含量（OCW）は酵素法（阿部 1988）で定量した。イネWC Sのデンプン含量は酵素分析法のF-キット「スターチ」（ロッシュ・ダイアグノスティック社製）により定量した。カロリーは燃研式自動ボンベ熱量計（島津製作所CA-4AJ型、京都）で定量した。

第一胃液の揮発性脂肪酸（VFA）組成はクロトン酸を内部標準としてガスクロマトグラフィーを用いて定量した。

有意差の検定は、乾草区とイネWC S区の間で、また、濃厚飼料添加の効果を判定するためイネWC S区、米ヌカ区およびトウモロコシ区の3区の間で、それぞれF検定による分散分析で実施した。

III 結 果

供試したイネWC Sのモミの割合は、収穫時の調査でDMで57%であった。表1に供試した飼料原料、および米ヌカ区、トウモロコシ区の給与飼料の飼料成分を示した。米ヌカは粗脂肪含量がDM中22.2%と高かった。なお、イネWC Sのデンプン含量は38%であった。給与飼料の粗脂肪含量は米ヌカ区で8.1%と高かったが、トウモロコシ区では3.1%と低かった。

表2に各処理区の飼料摂取量および成分消化率を

表1 供試飼料原料および給与飼料の成分組成

	OM(%DM)	CP(%DM)	EE(%DM)	OCW(%DM)	GE(MJ/kgDM)
原料 乾草 (乾草区)	87.8	11.5	1.3	68.5	17.7
イネWCS (イネWCS区) ¹⁾	87.6	6.8	2.4	35.4	16.9
米ヌカ	90.0	15.0	22.2	37.2	23.1
蒸煮圧片トウモロコシ	97.8	9.1	4.6	16.8	18.8
飼料 イネWCS+米ヌカ (米ヌカ区) ²⁾	88.3	9.1	8.1	35.9	18.7
イネWCS+トウモロコシ (トウモロコシ区) ²⁾	90.5	7.4	3.1	30.1	17.4

OM:有機物、DM:乾物、CP:粗蛋白質、EE:粗脂肪、OCW:総繊維、GE:総エネルギー

1) イネホールクロープサイレージ

2) イネWCSに米ヌカまたは蒸煮圧片トウモロコシを2kg添加して給与。

表2 飼料摂取量、成分消化率およびTDN含量

	摂取量		消化率					TDN (%DM)
	DM (kg/日)	GE (MJ/日)	DM (%)	OM (%)	EE (%)	OCW (%)	GE (%)	
乾草区 (n=4) ¹⁾	4.61±0.44	81.7±7.7	53.4±3.1	56.5±2.4	33.8±8.7	53.6±1.3	52.4±2.5	50.2±2.1
イネWCS区 (n=4)	4.33±0.00	73.2±0.0	57.1±2.1 ^a	63.9±2.1 ^a	56.2±3.6 ^a	25.5±5.5	62.2±1.8	57.7±1.9 ^a
米ヌカ区 (n=4)	6.11±0.09	114.1±1.5	62.0±4.6 ^{ab}	67.3±4.6 ^{ab}	79.1±6.1 ^b	32.1±8.4	65.8±4.8	67.4±4.5 ^b
トウモロコシ区 (n=3)	6.16±0.02	107.5±0.4	68.5±6.3 ^b	73.1±5.7 ^b	79.4±5.7 ^b	33.1±14.1	71.0±6.1	69.2±5.4 ^b

平均±標準偏差 ¹⁾() 内は調査頭数

^{a, b} 異符号間に有意差あり (P<0.05)。イネWCS区、米ヌカ区、トウモロコシ区の3区間で差を検定。

表3 黒毛和種成雌牛の維持レベル給与における第一胃からのメタン産生量と添加濃厚飼料の影響

	メタン産生量 (n=4)				
	(L/日)	(L/kgDMI)	(L/kgDDMI)	(L/kgDOMI)	(L/MJDE)
乾草区	127±17	27.5±2.2 [*]	51.5±4.1	55.4±4.4	2.96±0.23
イネWCS区	142±15	32.8±3.4 ^{a*}	57.5±6.1 ^a	58.6±6.2 ^a	3.12±0.33 ^a
米ヌカ区	142±16	23.1±3.2 ^c	37.3±5.1 ^b	38.9±5.3 ^b	1.88±0.26 ^b
トウモロコシ区	165±36	28.5±5.6 ^b	41.6±8.1 ^b	43.1±8.4 ^b	2.30±0.45 ^b

平均±標準偏差、DMI:乾物摂取量、DDMI:可消化乾物摂取量、DOMI:可消化有機物摂取量、DE:可消化エネルギー

^{*}乾草区とイネWCS区間で摂取乾物当たりのメタン産生量の差が有意 P<0.05。

^{a, b} 異符号間に有意差あり (P<0.05)。イネWCS区、米ヌカ区、トウモロコシ区の3区間で差を検定。

示した。摂取量は米ヌカ区、トウモロコシ区が、乾草区、イネWCSよりも1.5kg~1.8kgほど多かった。DMと有機物(OM)の消化率は米ヌカ区およびトウモロコシ区で高かった。OCWの消化率は、トウモロコシ区および米ヌカ区ともイネWCS区より高かったが変動が大きく、差は有意でなかった。TDN含量はイネWCSが57.7(%DM)、乾草が50.2(%DM)であった。また、米ヌカ区およびトウモロコシ区はTDN含量がイネWCS区よりも約10ポイント高かった。

肉用牛に維持水準で給与した本試験では、1日当たりのメタン産生量が300リットル(L)以下で、フード内空気の排出流量を270L/分程度とするこ

とで、メタン濃度の測定が0~1000ppmのレンジで可能であった。

表3にメタン産生量を示した。供試牛の1日のメタン産生量は127L(乾草区)から165L(トウモロコシ区)であった。

乾草区とイネWCS区を比較すると、摂取DM1kg当たりのメタン産生量はイネWCS区が32.8Lで乾草区の27.5Lよりも多かったが、摂取した可消化有機物(DOM)1kg当たりに換算するとメタン産生量の差は縮小し有意ではなかった。

トウモロコシ区では、供試牛B、Cの1回目の摂取DM当たりメタン産生量はそれぞれ2.0L/kg、6.3L/kgと著しく少なかったが、2回目測定のみ

表4 乾草、イネWCSおよびイネWCSに濃厚飼料を添加したときの給与開始2時間後の第一胃液VFA組成

	酢酸 (mol%)	プロピオン酸 (mol%)	酪酸 (mol%)	バレリアン酸 (mol%)	カプロン酸 (mol%)
乾草区 (n=4) ¹⁾	74.3±2.8	18.4±2.1 ^{**}	5.0±1.3 ^{**}	2.2±0.2 ^{**}	0.0±0.0 ^{**}
イネWCS区 (n=4)	72.6±1.7 ^a	11.6±0.8 ^{a***}	11.3±0.7 ^{**}	2.9±0.3 ^{b**}	1.5±0.8 ^{a***}
米ヌカ区 (n=3)	65.3±4.9 ^b	20.9±4.9 ^b	9.4±0.7	4.1±0.4 ^a	0.3±0.2 ^b
トウモロコシ区 (n=3)	65.3±5.1 ^b	19.3±5.3 ^b	12.5±3.2	2.6±0.5 ^b	0.3±0.4 ^a
トウモロコシ区B ²⁾	55.2	29.9	9.4	2.2	3.2
トウモロコシ区C ²⁾	65.0	20.9	9.9	3.3	0.8

平均±標準偏差 ¹⁾ () 内は調査頭数、²⁾ 供試牛BおよびCのメタン産生が少ない時のVFA組成。
^{a, b} 異符号間に有意差あり (P<0.05)。イネWCS区、米ヌカ区、トウモロコシ区の3区間で差を検定。
^{*} 乾草区とイネWCS区で有意 (P<0.05)。^{**} 乾草区とイネWCS区で有意 (P<0.01)。

タン産生量は増加し、A、Dを加えた4頭の平均は28.5 L/kgであった。

米ヌカ区とトウモロコシ区はイネWCS区よりもメタン産生量は低下し、DM摂取量当たり、可消化DM摂取量当たり、DOM摂取量当たり、および可消化エネルギー (DE) 摂取量当たりのいずれの産生量も差は有意であった。米ヌカ区とトウモロコシ区を比較すると、DM摂取量当たりのメタン産生量は米ヌカ区が23.1 L/kgで、トウモロコシ区の28.5 L/kgに比べて有意に低かったが、DOM摂取量当たり、および、DE摂取量当たりでは差は有意でなかった。

表4に給与開始から2時間経過時の第一胃液VFA組成を示した。

粗飼料のみの給与のイネWCS区と乾草区とを比較すると、イネWCS区は乾草区よりも有意にプロピオン酸モル比が低く、酪酸モル比が高かった。米ヌカ区およびトウモロコシ区はイネWCS区よりも酢酸モル比が低下し、プロピオン酸モル比は上昇した。メタン産生量が極端に少なかったトウモロコシ区B、Cの1回目の第一胃液プロピオン酸モル比は、Bが29.9%と高かったが、Cでは20.9%と高くはなかった。なお、表に示さなかった4時間経過時点のVFA組成では、乾草区の酢酸モル比が70.3%と4ポイント低下した以外に、給与2時間経過と4時間経過ではVFA組成に大きな変動はなかった。

IV 考 察

Shibataら (1993) は、反芻家畜における摂取DM 1 kg当たりのメタン産生量は黒毛和種成雌牛で、33.40 L/kgとしている。また、塩谷ら (2002) は暖地型牧草で30~38 L/kg、出穂前のイネWCSで36 L/kgのメタン産生量を報告している。これ

らの値に対して、本試験のメタン産生量はイネWCS区では近似していたが、乾草区は低かった。塩谷ら (2002) の成績では、DM摂取量が少ない場合、摂取量当たりのメタン産生量も少なかったことから、乾草区の低メタンの原因として摂取量の影響が予想された。そこで、塩谷ら (2002) が示した摂取量とメタン産生量の関係式に本試験の乾草区の摂取量4.6kgを当てはめると計算値は31.2 L/kgで、メタン産生量実測値27.5 L/kgよりも依然多く、摂取量からは乾草区の低メタンの原因を説明できなかった。給与飼料の栄養価とメタン産生量との関係についてみると、一般にメタン産生量は給与水準が低い場合は栄養価が高い方が多くなることが認められた (柴田 2002a)。乾乳牛に維持水準で給与した試験 (久米ら 2003) でも、消化率の高い飼料でメタン産生量が高まる傾向であった。一方、Shibataら (1992) の乾草と濃厚飼料の割合を変えた試験では、乾草70%が乾草100%および乾草30%よりもメタン産生が多く、飼料の栄養価が低い範囲では総説 (柴田 2002a) と同様の結果であった。本試験では乾草区のメタン産生量が通常の水準よりも少ない原因は不明であるが、メタン産生量は中程度の栄養価の飼料で多く、乾草区のように消化率が低い場合およびトウモロコシ区および米ヌカ区のように給与飼料全体の消化率が高い場合に少ないという傾向は前述のShibataら (1992) の成績に類似していた。

イネWCS給与はDM摂取量当たりのメタン産生量は乾草給与よりも多かったが、可消化量のDOM摂取量当たり、およびDE摂取量当たりでは差が有意でなかった。可消化量という家畜生産性を基準にすると、イネWCS給与によるメタン産生量は乾草給与と同等であろう。

メタン産生量の抑制のためには、第一胃内におい

て不飽和脂肪酸の飽和化およびプロピオン酸生成の促進によって、メタン産生の基質となる水素を除去することが有効で(板橋2002、柴田 2002b)、脂肪酸カルシウム添加によってメタン抑制効果が認められた(栗原ら1997、寺田 1999)。高脂肪飼料についても、永西ら(2002)は山羊で飼料にトウモロコシおよびビール粕を15%の割合で添加して、また、黒毛和種育成牛で飼料にビール粕および生米ヌカを12%の割合で添加して、メタン産生の抑制効果を認めた。

本試験で供試した蒸煮圧片トウモロコシのTDN含量はDM中92.3% (日本標準飼料成分表 1995)と高く、米ヌカも粗脂肪含量がDM中22.2%、TDN含量も91.5% (日本標準飼料成分表 1995)と高い。さらに、米ヌカおよびトウモロコシとも添加割合は約30%と高かった。これらから本試験でも第一胃内のプロピオン酸生成もしくは脂肪添加によるメタン生成抑制が期待され、実際にメタン産生抑制効果が認められた。また、その抑制効果は脂肪含量が3.1%のトウモロコシ区よりも8.1%の米ヌカ区の方が大きかった。第一胃内のプロピオン酸モル比との関係を見ると、今回給与した4種類の飼料においてプロピオン酸モル比が高い飼料では、DM摂取量当たりのメタン産生量が少ない関係が見られ、プロピオン酸生成の影響がうかがわれた。特に、米ヌカ区はOCW含量が35.9%でイネWC Sと同程度であり、第一胃液プロピオン酸割合はトウモロコシ区と同程度であったが、メタン産生量の低下は大きかった。以上からトウモロコシおよび米ヌカを原物重量で2kg、添加割合で30%の給与において、トウモロコシ区では易消化性のデンプンによるプロピオン酸生成により、また、米ヌカ区は高脂肪とともにプロピオン酸生成によりメタンが抑制されたと推察される。

本試験では高デンプンのトウモロコシおよび高脂肪の米ヌカという成分の異なる濃厚飼料を給与することから、当初、飼料給与順序を反転し2頭がトウモロコシ区先行、2頭が米ヌカ区先行とする設定としたが、トウモロコシ区2頭の再試験のため、メタン産生量測定は1頭のみトウモロコシ区先行で、3頭が米ヌカ区先行となった。実際には、トウモロコシ区先行の1頭および米ヌカ先行2頭の計3頭で米ヌカ区のメタン産生量がトウモロコシ区より多く、米ヌカ区先行の残り1頭で米ヌカ区とトウモロコシ区のメタン産生量がほぼ等しいという結果であったことから、飼料の給与順序はメタン産生に影響しな

かったと考えられる。また、摂取水準もメタン産生量に影響するが(柴田 2002a)、トウモロコシ区、米ヌカ区はイネWC S区の1.4倍程度の摂取水準であるので、トウモロコシ区、米ヌカ区とイネWC S区の摂取量の違いによるメタン産成の影響は小さいと考えられる。

高脂肪飼料では繊維成分の消化率の低下が懸念されるが、脂肪酸の10%添加では繊維成分の消化率に一定の傾向が認められず(佐藤ら 1991、佐藤・常石 1993)、また、10%以下の高脂肪飼料でも例外(Palmquist 1991)はあるものの、繊維成分の消化率は低下しないとの報告が多い(Doreauら 1991、Ohajurukaら 1991、Weigelら 1997、Weiss・Wyatt 2004)。本試験では米ヌカのTDN含量91.5(%DM) (日本標準飼料成分表 1995)、イネWC SのTDN含量実測値57.7(%DM) および給与割合から計算した米ヌカ区のTDN含量は67.3(%DM)で、表2のTDN実測値とよく一致したことから、今回の8%程度の脂肪含量では、消化率の著しい低下はないものと推測される。

本試験ではトウモロコシ区の1回目の試験で、供試牛B、Cでメタン産生が著しく低下した。イネWC Sへの濃厚飼料添加の影響を第一胃液プロピオン酸割合からみると、プロピオン酸モル比は本試験のトウモロコシ区および米ヌカ区では30%の濃厚飼料割合で20%前後であったのに対して、牧草サイレージでは著者の一人が実施した試験において30~75%の濃厚飼料割合の範囲で20%以下であった(篠田・萬田 1990)。以上から第一胃液プロピオン酸組成から濃厚飼料としての性質をみると、黄熟期に収穫した本試験のイネWC Sは、モミが半分以上占めデンプン含量も38%と高いものの、単一給与では濃厚飼料的性質が弱く、濃厚飼料との混合給与では濃厚飼料的性質が強いことが認められる。また、メタン産生は第一胃内で生成される水素を除去する正常な機能であるので(板橋 2002)、メタン産生量が著しく減少した供試牛B、Cの事例および摂取量自体が低下した供試牛Aの事例は、イネWC Sへの蒸煮圧片トウモロコシ30%添加は第一胃内発酵を不安定にすることを示している。一方、供試牛BおよびCで給与期間の延長によりメタン産生量が増加したことから、トウモロコシ区の著しいメタン産生の低下は、給与飼料の変更に伴う一時的なもののみなせよう。

本試験では米ヌカのような高脂肪飼料給与で、ま

た、蒸煮圧片トウモロコシのような高デンプン飼料給与でメタン産生の抑制効果が認められたが、米ヌカおよびトウモロコシとも適正給与水準について検討する必要がある。

引用文献

- 1) 阿部 亮. 1988. 炭水化物成分を中心とした飼料分析法とその飼料栄養価評価法への応用. 畜産試験場資料 No.2. p.20-23.
- 2) Doreau, M.; Legay, F.; Bauchart, D. 1991. Effect of Source and Level of Supplemental Fat on Total and Ruminant Organic Matter and Nitrogen Digestion in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 74 : 2233-2242.
- 3) 永西 修, 寺田文典, 田鎖直澄, 竹中洋一, 川島知之. 2002. 脂肪質飼料給与による雌牛からのメタン発生の抑制. 畜産草地研究成果情報 1 : 23.
- 4) 今井明夫, 石崎和彦, 楠 正敏, 金井正人. 2000. 家畜飼料として利用する生米ぬかの品質劣化防止. 北陸農業研究成果情報 16 : 79.
- 5) 板橋久雄. 2002. 畜産における温室効果ガスの発生制御 (総集編). III-1. メタン産生のメカニズム. 畜産技術協会. p.32-41.
- 6) 久米新一, 野中和久, 大下友子. 2003. 乾乳牛のメタン発生量並びに窒素・ミネラル排泄量に及ぼす給与粗飼料の影響. 北海道農研報 178 : 21-34.
- 7) 栗原光規, 柴田正貴, 西田武弘, 寺田文典. 1997. 脂肪酸カルシウムの給与によるメタン産生の抑制. 畜産研究成果情報 11 : 45.
- 8) 森本 宏. 1971. 動物栄養試験法. 養賢堂. p.280-297.
- 9) 農林水産技術会議事務局編. 1995. 日本標準飼料成分表. 中央畜産会. p.293.
- 10) 農林水産技術会議事務局編. 2002. 研究成果シリーズ404. 肉用牛からのメタン産生抑制技術の開発. 農林水産技術会議事務局. p.57-63.
- 11) Ohajuruka, O. A.; Wu, Z.; Palmquist, D. L. 1991. Ruminant Metabolism, Fiber, and Protein Digestion by Lactating Cows Fed Calcium Soap or Animal-Vegetable Fat. *J. Dairy Sci.* 74 : 2601-2609.
- 12) Palmquist, D. L. 1991. Influence of Source and Amount of Dietary Fat on Digestibility in Lactating Cows. *J. Dairy Sci.* 74 : 1354-1360.
- 13) 佐藤 博, 常石英作. 1993. 中鎖脂肪酸トリグリセリド給与が子牛の血漿成分および繊維消化に及ぼす影響. 日畜会報 64 : 623-628.
- 14) 佐藤 博, 常石英作, 花坂昭吾. 1991. 中鎖脂肪酸給与が子牛の飼料消化性, 第一胃内発酵および血液成分に及ぼす影響. 日畜会報 62 : 142-147.
- 15) Shibata, M.; Terada, F.; Iwasaki, K.; Kurihara, M.; Nishida, T. 1992. Methane Production in Heifers, Sheep and Goats Consuming Diets of Various Hay-Concentrate Rations. *Anim. Sci. Technol.* 63 : 1221-1227.
- 16) Shibata, M.; Terada, F.; Kurihara, M.; Nishida, T.; Iwasaki, K. 1993. Estimation of Methane Production in Ruminant. *Anim. Sci. Technol.* 64 : 790-796.
- 17) 柴田正貴. 2002a. 畜産における温室効果ガスの発生制御 (総集編). III-2. 変動要因と発生量の推定. 畜産技術協会. p.42-61.
- 18) 柴田正貴. 2002b. 畜産における温室効果ガスの発生制御 (総集編). III-3. 発生量の制御. 畜産技術協会. p.62-75.
- 19) 篠田 満, 萬田富治. 1990. 混合飼料中の粗飼料繊維の性質が乳牛における消化率と第一胃内発酵に及ぼす影響. 北海道農試研報 154 : 93-102.
- 20) 塩谷 繁, 神谷 充, 岩間裕子, 田中正仁. 2002. 暖地型牧草およびイネを給与した牛からのメタン発生量. 九州農業研究 64 : 103.
- 21) 寺田文典. 1999. 家畜ルーメン内のメタン産生の制御技術の開発. 農林水産技術会議事務局. 研究成果シリーズ339. p.138-141.
- 22) Weigel, D.J.; Elliott, J.P.; Clark, J.H. 1997. Effects of Amount and Ruminant Degradability of Protein on Nutrient Digestibility and Production by Cows Fed Tallow. *J. Dairy Sci.* 80 : 1150-1159.
- 23) Weiss, W.P.; Wyatt, D.J. 2004. Digestible Energy Values of Diets with Different Fat Supplements when Fed to Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 87 : 1446-1454.

コンテナサイロによる地ビール粕の貯蔵・利用技術の開発

近藤 恒夫*¹⁾・河本 英憲*¹⁾・村元 隆行*²⁾・東山 雅一*¹⁾

抄 録：地ビール粕の飼料利用を図るために、市販のプラスチック製コンテナを用いた簡易サイロを考案するとともに、このサイロによる地ビール粕サイレージの調製・貯蔵試験を行った。その結果、このサイロにより調製した地ビール粕サイレージは発酵品質が良好であり、開封後の好気的変敗も起こりにくいことが明らかになった。現地試験の結果も踏まえて、コンテナサイロを用いた地ビール粕の飼料利用システムを提示した。

キーワード：コンテナサイロ、地ビール、ビール粕、サイレージ、飼料

Preservation and Utilization of Local Brewer's Wet Grain as Feed by Using a Newly Developed Simple Silo : Tsuneo KONDO*¹⁾, Hidenori KAWAMOTO*¹⁾, Takayuki MURAMOTO*²⁾ and Masakazu HIGASHIYAMA*¹⁾

Abstract : A simple silo was newly developed to preserve and utilize local brewer's wet grain as feed. Ensiling local brewer's wet grain in the simple silo produced silage with good fermentation qualities. Aerobic deterioration of the silage after opening the silo was hardly observed. A utilization system of local brewer's wet grain as feed is proposed, based on the results of field experiments.

Key Words : Brewer's wet grain, Silage, Feed, Silo

I 緒 言

地ビールとは、中小の醸造事業所によりその土地・地域で少量生産されるビールのことをいう。1994年の酒税法改正で、年間最低製造数量の基準が2000klから60klに引き下げられたことにより、その生産が広がった。1995年には17事業所、96年には65事業所、ピークとなる97年には117の事業所が参入し、2002年には、事業所数は全国で220以上にのぼっている。

ビールの醸造工程ではビール粕、麦芽根、ホップ粕、ビール酵母など、さまざまな副産物が産出されるが、最も多量に産出されるのがビール粕である。ビール粕は麦芽（オオムギ）の糖化液から麦汁を濾別する際に残る不溶解物で、飼料として有用であるが、水分が高く、常温でそのまま放置するとすぐに腐敗してしまう（森本 1985）。そこで、大手ビー

ルメーカーでは、自社内の施設でビール粕を脱水機で水分を低くしてからトランスバッグに詰めて密封し、サイレージ化して、主に牛用飼料として流通させる（今井 2000）などの対応をとってきた。

しかし、地ビール醸造事業所のほとんどはこうした処理施設をもたないため、ビール粕の処理に多少とも苦慮しているのが実状である。循環型社会形成推進基本法の制定を受けて策定された、食品リサイクル法に適切に対応するためにも、地ビール製造事業所の実態に合った処理法を明らかにする必要がある。

本研究では、こうした課題に対処し、できるだけ簡便な処理による地ビール粕の通年的・安定的な飼料利用を図るため、コンテナサイロを用いた地ビール粕の貯蔵・利用技術を開発した。なお、この研究の幾つかの結果については既に報告しているが（河本ら 2004、河本ら 2005、近藤ら 2005）、本論

* 1) 東北農業研究センター (National Agricultural Research Center for Tohoku Region, Morioka, Iwate 020-0198, Japan)

* 2) 現・岩手大学 (Iwate University, Morioka, Iwate 020-8550, Japan)

2007年9月25日受付、2007年11月29日受理

文はそれらに加筆し、未発表データも加えて、新たに取りまとめたものである。

II 北東北における地ビール生産および地ビール粕の処理実態

1. 調査方法

2002年から2003年にかけて、青森県、岩手県、宮城県および秋田県に所在する12の地ビール製造事業所を対象に、ビール生産量、原料使用量、ビール粕の処理等について聞き取り調査を行った。

2. 結果と考察

2002年3月末時点で、東北地域には製造免許を受けた事業所が21カ所あり、本研究ではそのうち北東北を中心として12カ所の事業所を調べた(表1)。ビールの年間生産量は最も多い事業所で500kl、最も少ない事業所で12klと幅広かったが、半数の事業所は60klから90klの間であった。仕込み1回あたりの麦芽使用量は200kg内外とする事業所が8カ所と多く、360kg~500kgの範囲にある事業所が4カ所あった。

ビール粕の処理についてみると、堆肥製造業者あるいは廃棄物処理業者に処理を委ねていた事業所が3カ所、自施設内で処理(堆肥)していた事業所が1カ所であり、農家に処理を委ねていた事業所は8カ所であった。農家の内訳をみると、耕種農家が1カ所、畜産農家が7カ所であり、耕種農家では堆肥に、畜産農家では主に飼料に利用していた。なお、多くの事業所では、排出されたビール粕を一時的に

ストックするのに容量500l内外のコンテナ、あるいは大型のポリバケツを用いていた。

E事業所では、かつては畜産農家に処理を委ねていたが、①ビール粕の排出が不定期である、②腐敗しやすい、③水分が多いことなどが問題となり、畜産農家での処理は中止となった。これらの問題はE事業所の場合だけにとどまらず、ビール粕を飼料として利用している畜産農家に共通して聞かれた。

調査した12の事業所のうち、8事業所はレストランを併設していた。これらの事業所では、特に夏の暑熱期に発生しやすいビール粕の腐敗臭を防ぐことを課題としてあげていた。

以上の聞き取り調査結果により、地ビール粕の腐敗を防ぐ簡易な処理と飼料利用に関する技術の開発は、地ビール製造事業所、畜産農家の双方にとって重要な課題であることが確認された。また、地ビール生産量などから推して、地ビール粕貯蔵用のサイロの大きさは500l程度が一つの目安であると推察された。

III 小規模コンテナサイロによる地ビール粕サイレージの調製・貯蔵

1. 材料と方法

1) 小規模コンテナサイロの作成

市販のプラスチック製の角形コンテナ(容量36l:長さ46cm、幅30.5cm、深さ26cm)を用いて簡易サイロを作成し、地ビール粕の調製・貯蔵試験を行った。簡易サイロは密封サイロと水蓋サイロの2

表1 北東北における地ビール製造事業所のビール生産およびビール粕処理の実態

事業所	ビール生産量 (kl/年)	麦芽使用量 (t/年)	仕込み1回あたりの 麦芽使用量 (kg)	ビール粕の処理	備考
A	40	8	200	堆肥製造業者へ	
B	12	3	200	廃棄物処理業者へ	レストラン併設
C	500	100	500	肉牛農家(飼料利用)へ	レストラン併設
D	60	11	180	肉牛農家(飼料利用)へ	レストラン併設
E	70	14	200	堆肥製造業者へ (以前は畜産農家へ)	レストラン併設
F	80	14	360	自施設内で堆肥製造 (以前は畜産農家へ)	
G	90	22	500	畜産農家(飼料利用)へ	
H	30	6	200	養鶏農家(飼料利用)と 肉牛農家へ(堆肥)	レストラン併設
I	80	16	200	肉牛農家(飼料利用)へ	レストラン併設
J	50	10	200	耕種農家(堆肥)へ	レストラン併設
K	120	22	375	肉牛農家(堆肥)へ	レストラン併設
L	65	16	240	酪農家(飼料利用)へ	レストラン併設

注. ビール生産量には発泡酒の生産量も含む。

種類作成した(図1)。密封サイロは、上辺に密着資材(市販の防水すき間埋めテープ)を張り巡らしたコンテナ本体、透明なアクリル板の蓋、ダブルクリップから構成された。水蓋サイロは、活栓を付したコンテナ本体、ビニールシート(厚さ<0.02mm)、水で構成された。

2) 地ビール粕サイレージの調製・貯蔵試験

G事業所から排出された地ビール粕を試験に供した。密封サイロでは、コンテナ本体の上辺近くまで地ビール粕を詰め、軽く抑えてからアクリル板の蓋を被せ、ダブルクリップで蓋、防水すき間埋めテープおよびコンテナ本体上辺を挟み付けて外気と遮断した。水蓋サイロについては、コンテナ本体に地ビール粕を詰め、表面を平らにならしてビニールシートを被せてから水を注ぎ、外気と遮断した。水蓋サイロの試験では、水深5cm、10cm、15cmの試験区を設定し、詰め込み後4日間、コンテナ下部に取り付けた活栓から排汁した。密封サイロ、水蓋サイ

ロとも、25℃に調温した室内に貯蔵した。

貯蔵してから19日後に開封し、目視によりサイレージのカビ発生の有無を調べた。また、pHをガラス複合電極pHメータにより、水分含量を熱乾法(135℃、2時間)により測定した。開封後の好気的変敗を調べるために、サイレージの温度変化を温度センサ(長尺リード付温度センサ)でモニターした。

2. 結果と考察

小規模コンテナサイロで調製した地ビール粕のサイレージは、サイロの種類によらずpHが3.5~3.6と十分に低いものであった(表2)。

水蓋サイロの水深10cm以下の条件ではカビの発生が認められたが、19日程度の貯蔵期間であれば、カビによる破棄量は少ないとみられた。密封サイロ、水深15cmの水蓋サイロでは、貯蔵中にカビの発生は認められなかった。

地ビール粕をコンテナ本体に入れ、外気に触れたままサイレージ化しないで放置すると、表面は10時

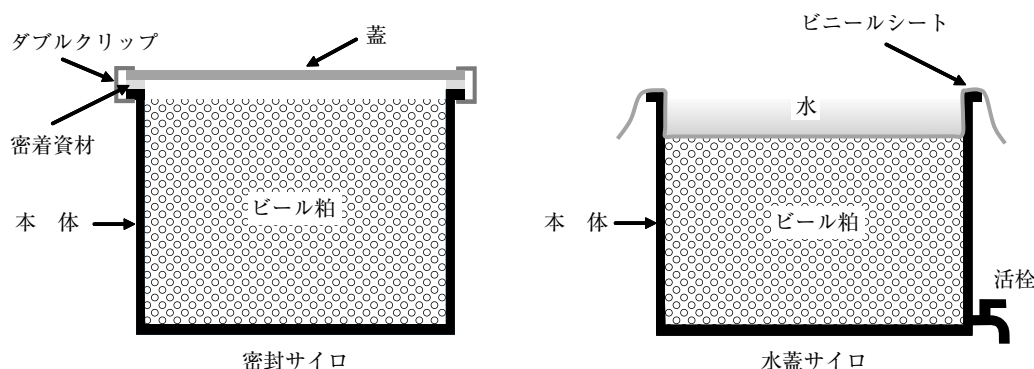


図1 小規模コンテナサイロの模式図

表2 小規模コンテナサイロで調製した地ビール粕サイレージの性状

	生 粕	サイレージ			
		密封サイロ	水蓋サイロ		
			水深 5 cm	水深10cm	水深15cm
pH	-	3.47	3.56	3.52	3.50
カビによる廃棄量 (%)	-	0	0.9	0.3	0
乾物率 (%)	-	22.1	20.7	21.4	22.2
排汁量 (ml/kg)	-	-	47	181	63
発熱までの時間 (hr) *					
表面から 5 cm	13	113	22	31	29
表面から10cm	15	113	27	48	46
表面から15cm	21	148	-	-	-

注. 数値は2連試験の平均値。

*生粕についてはコンテナに詰めてからの時間、サイレージについては開封後の時間。

間程度で発熱し始めた。一方、サイレージの開封後の発熱は、密封サイロでは100時間以上経過してから、水蓋サイロでは20~30時間経過してから観察された。

以上のことから、密封サイロ、水蓋サイロともpHが十分に低い地ビール粕サイレージを調製できることが明らかとなった。また、密封サイロは、水蓋サイロに較べて開封後の好気的変敗の進行が遅いことから、開封後の貯蔵性にも優れると推察された。

IV 実規模コンテナサイロによる地ビール粕サイレージの調製・貯蔵

1. 材料と方法

1) 実規模コンテナサイロの作成

市販のプラスチック製の角形コンテナ（容量400l：長さ1000cm×幅700cm×深さ600cm、容量500l：長さ1230cm×幅755cm×深さ550cm）を用いて、実規模コンテナサイロを作成した（図2）。このサイロは、移動用キャスター（コンテナ本体のオプション、150φゴム、一組は自在、一組は固定）と排汁口（コンテナ本体のオプション、1.5インチ）を装着したコンテナ本体、周囲に密着資材（市販の防水すき間埋めテープ、幅5cm）を張り巡らした蓋（コンテナ本体のオプション）から構成され、コンテナ本体側面にはUボルトを付して、市販のゴムベルトまたは自転車ゴムチューブを架けて蓋を固定できるようになっている。

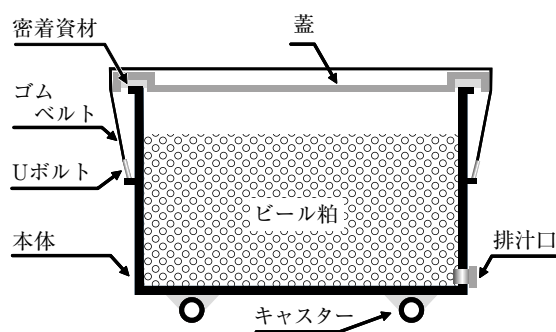


図2 実規模コンテナサイロの模式図と外観

2) 地ビール粕サイレージの調製・貯蔵試験

C事業所から排出された地ビール粕を試験に供した。コンテナ本体（容量400l）にビール粕を詰め、表面を軽く抑えて平らにならしてから蓋を被せ、ゴムベルトで締めて密封した。地ビール粕の詰め込み量については2つの処理区、コンテナ本体上端まで詰めた区（A区）とコンテナ本体上部に16cm程度の空間ができるように詰めた区（B区）を設定した。ビール粕を詰め込む際に、温度センサを表面から10cm、20cmおよび30cm下に埋め込み、貯蔵中の温度変化をモニターした。密封してから20日後に開封して分析用サンプルを採取した後、25℃に調温した室内に開封したまま放置した。

3) サイレージ発酵品質の分析

サイレージ原物にその4倍量の蒸留水を加え、4℃で一晩浸漬して得た抽出液を用いて、ガラス複合電極pHメータによりpHを、高速BTBポストラベル法により有機酸を（大桃ら 1993）、水蒸気蒸留法により揮発性塩基態窒素（VBN）（柁木 2001）を測定した。また、サイレージの水分含量を熱乾法（135℃、2時間）で求めた。

4) 飼料成分分析

サイレージ原物を60℃で48時間通風乾燥した後、メッシュサイズ1mmのふるいを通過する粒度に粉碎した試料を用いて、常法（阿部 2001a、b）により粗蛋白質、粗脂肪、総繊維（OCW）、低消化性繊維（Ob）および粗灰分について分析した。

2. 結果と考察

コンテナ上端まで詰め込んだA区では、貯蔵中に本体と蓋の間から排汁が少々噴出した。開封時の観察では、A区、B区ともカビの発生は認められなかった。B区には表面にやや黒ずんだ箇所がごく僅かながらあったが、破棄部分はほとんどなかった。

実規模コンテナサイロで調製した地ビール粕サイレージは、A区、B区とも、pHが3.6程度で十分に低く、乳酸含量も0.9%程度と高かった（表3）。また、揮発性塩基態窒素が少なく、良好な発酵品質のサイレージであった。飼料成分についてみると（表4）、材料（生粕）、A区のサイレージ、B区のサイレージの間に大きな違いはなかった。

図3に地ビール粕の貯蔵中の温度変化を示す。A区、B区とも、また表面からの深さによらず、ほぼ同じ温度変化であったので、図にはA区の表面から10cmの深さのデータだけを表示している。排出後

表3 実規模コンテナサイロで調製した地ビール粕サイレージの発酵品質

	乾物率(%)	pH	有機酸含量(新鮮物中%)			揮発性塩基態窒素/全窒素(%)	V-SCORE
			乳酸	酢酸	n-酪酸		
サイレージA区 表面	21.3	3.5	0.95	0.08	0.04	2.3	97
〃 内部	17.3	3.6	0.89	0.04	0.07	2.7	94
サイレージB区 表面	19.3	3.6	0.91	0.16	0.02	2.4	99
〃 内部	16.1	3.6	0.94	0.05	0.06	2.6	95

注. 1) サイレージA区：コンテナ本体の上辺まで地ビール粕を詰めて密封。
 2) サイレージB区：コンテナ本体の上部に16cm程度の空間ができるよう地ビール粕を詰めて密封。

表4 実規模コンテナサイロで調製した地ビール粕サイレージの飼料成分

	乾物率(%)	粗蛋白質	粗脂肪	総繊維	低消化性繊維	粗灰分
		乾物中%				
材料(生粕)	15.5	22.0	6.8	53.1	40.2	3.2
サイレージA区	17.3	23.7	7.7	55.4	39.1	3.0
サイレージB区	16.1	24.4	7.8	55.6	39.7	3.0

注. サイレージA区、B区については表3を参照。

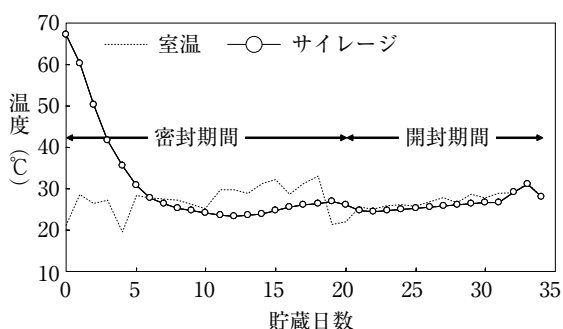


図3 実規模コンテナサイロで貯蔵した地ビール粕サイレージの温度変化

注. サイレージ温度はサイレージA区の表面から10cmの深さのものを表示。

間もないビール粕を用いたため、サイロに詰め込んだ直後は70℃近くあり、室温と同程度まで低下するのに6日間要した。開封してからの明らかな温度上昇は認められず、好気的変敗は起こりにくいと判断された。

以上の結果、試作した実規模コンテナサイロにより、発酵品質の良好な地ビール粕サイレージが調製でき、開封後の好気的変敗も起こりにくいことが明らかになった。

V 実規模コンテナサイロによる地ビール粕サイレージ調製・貯蔵の現地試験

1. 材料と方法

1) 現地試験

現地試験は、GおよびL事業所、ならびに各事業所近在の畜産農家で行った。

各事業所において、排出直後のビール粕をコンテナ本体（容量500l）の上部に空間がやや残る程度に詰め込み、軽く抑えて表面を平らにして蓋を被せ、ゴムベルトで締めて密封した。このサイロをフォークリフトで運搬車両に載せ、畜産農家に搬入した。畜産農家に搬入後、フォークリフトでサイロを降ろし、農家内の適当な場所に数日間（G事業所では6日間、L事業所では4日間）貯蔵した。サイロを開封後、発酵品質を調べるためにサイレージ試料を採取した。

2) 発酵品質の分析

前述の方法に従い、水分および有機酸について分析した。

2. 結果と考察

G事業所では、1回の仕込みで800~900lのビール粕が排出された。そこで、この事業所では容量500lのコンテナサイロ2台を用いることとした。作業に要した時間は、コンテナサイロ2台分のビール粕の詰め込みに20分弱、蓋を被せてゴムベルトで密封するのに0.5分、定置場所への移動に2分、フォークリフトで運搬車両へ積載するのに2分であった。L事業所では、1回の仕込みで排出されるビール粕をコンテナサイロ1台に詰め込むことができたため、作業時間はG事業所の半分以下であった。

どちらの事業所についても、開封した地ビール粕サイレージにカビの発生は認められなかった。発酵品質をみると（表5）、pHが3.7、3.8と低く、乳酸含量が0.7、0.9%と高かった。従って、4~6日間

表5 実規模コンテナサイロを用いた地ビール粕サイレージの現地調製試験

地ビール 製造事業所	貯蔵 期間	乾物率 (%)	pH	有機酸含量(新鮮物中%)		
				乳酸	酢酸	n-酪酸
G事業所	6日間	23.7	3.7	0.87	0.17	0.01
L事業所	4日間	18.8	3.8	0.69	0.01	0.00

表6 地ビール粕サイレージを混合した自家配合飼料の飼料成分

水分	TDN	粗蛋白質	粗脂肪	デンプン	総繊維	低消化性繊維	粗灰分
38.4	87.1	17.6	5.5	34.6	13.9	7.5	5.4

注. TDNは飼料成分組成からの推定値。

程度の密封期間で発酵品質の良いサイレージが調製できると考えられる。

G事業所からの地ビール粕サイレージについては、畜産農家で食パン残さ、豆腐粕、市販フスマなどと混合して自家配合飼料を調製して、肥育牛に給与することも行った。その結果、ほぼ1週間でコンテナサイロ2台分の地ビール粕サイレージが採食された。自家配合飼料の飼料成分は、表6に示すようであった。

これらの現地試験結果から、実規模コンテナサイロによる地ビール粕サイレージ調製・貯蔵の作業性ならびにサイレージの発酵品質に特に問題はないと判断された。

VI 地ビール粕の飼料利用システム

以上の諸結果に基づくと、実規模コンテナサイロを用いた地ビール粕の貯蔵・利用について、次のような作業システムが提案できる(図4)。

- ①地ビール醸造事業所で、排出されたビール粕を直ちにコンテナ本体に詰めて(写真参照)、上面を平にならしてから蓋を被せ、ゴムベルトで締めて密封し、事業所内の適当な場所に置く。
- ②コンテナサイロをフォークリフトで運搬車両に積み込み、搬送中サイロが動かないように荷締めベルトなどを使って運搬車両に固定し、畜産農家まで搬送する。
- ③畜産農家では、コンテナサイロをフォークリフトで運搬車両から降ろし、給与するまで適当な場所に置いておく。

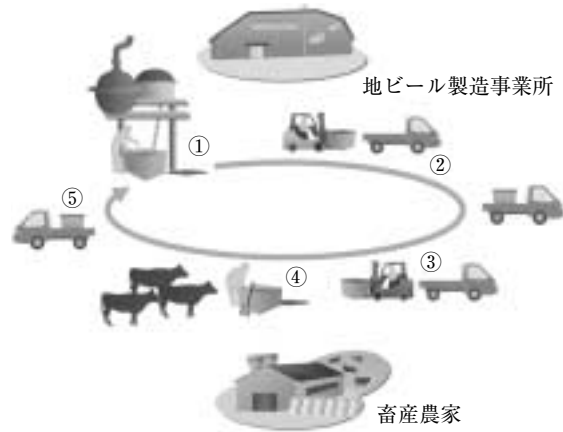


図4 コンテナサイロによる地ビール粕の飼料利用システムのイメージ

注. 図中の①～⑤は、本文の①～⑤に対応。



写真 コンテナサイロへの地ビール粕の詰め込み作業

- ④蓋を取り、ビール粕サイレージを取り出し、家畜に給与する。
- ⑤空になったコンテナサイロを再び地ビール製造事業所に搬送して戻す。

この作業システムについての補足事項および留意点を以下に列記する。

- (1) ビール粕をコンテナサイロに詰める際、量が多すぎて蓋が持ち上がることがないよ

うに注意する。ビール粕の量がサイロ容量の8割程度以上であれば、上部に空間があってもかまわない。

- (2) ゴムベルトや密着資材は劣化したら取り替える。なお、ゴムベルトの代わりに、多少手間はかかるが荷締めベルトを用いてもよい。
- (3) きちんと密封されていれば4～6日でサイレージになり、密封してから少なくとも20日間は良好な状態で貯蔵できる。
- (4) 開封後は1週間以内に使い切ることが望ましい。

聞き取り調査によれば、ビール粕の廃棄処理費は、運搬費も含めて仕込み1回あたり3万円内外であった。G事業所では年間40回以上仕込むので、ビール粕を廃棄すると1年間の処理費は120万円を越えることになる。しかし、ビール粕をサイレージ化して利用すれば、廃棄に要する経費が不要になるばかりでなく、飼料としての価値が生まれる。流通ビール粕サイレージの価格は概ね16円/現物kg程度であり、水分60%とすれば乾物1kgあたり40円の計算になる。従って、この事業所から1年間に排出されるビール粕（乾物で約4トン）はおよそ16万円に相当すると見積られる。サイレージ化に必要なコンテナサイロの資材費は400l容で約11万円、500l容で約13万円であったので、コンテナサイロ2台分の資材費は年間廃棄処理費の1/5程度で済むと試算される。

引用文献

- 1) 阿部 亮. 2001a. 一般成分（6成分）.（石橋晃監修）新編動物栄養試験法. 東京, 養賢堂. p.455-466.
- 2) 阿部 亮. 2001b. 炭水化物.（石橋晃監修）新編動物栄養試験法. 東京, 養賢堂. p.484-496.
- 3) 今井明夫. 2000. 乳酸発酵技術.（阿部, 吉田, 今井, 山本編）未利用有機物資源の飼料利用ハンドブック. サイエンスフォーラム. p.171-175.
- 4) 河本英憲, 近藤恒夫, 出口 新, 村元隆行, 東山雅一. 2004. 小規模地ビール事業所から排出されるビール粕の簡易保存技術. 日草誌 50(別): 220-221.
- 5) 河本英憲, 近藤恒夫, 村元隆行, 東山雅一. 2005. コンテナを利用した地ビール粕の簡易保存技術. 日草誌 51(別): 428-429.
- 6) 近藤恒夫, 河本英憲, 村元隆行, 東山雅一. 2005. 地ビール粕の飼料利用システム. 東北農業研究 58: 95-96.
- 7) 榎木茂彦. 2001. サイレージ発酵産物.（石橋晃監修）新編動物栄養試験法. 東京, 養賢堂. p.496-501.
- 8) 森本 宏. 1985. ビール粕.（森本宏編）改著飼料学. 東京, 養賢堂. p.180-183.
- 9) 大桃定洋, 田中 治, 北本宏子. 1993. 高速液体クロマトグラフィーによるサイレージ中の有機酸の定量. 草地試研報 48: 51-56.

東北地方におけるシバムギ (*Agropyron repens* (L.) Beauv.) 優占草地の牧草生産性、永続性および飼料成分

八木 隆徳*¹⁾・目黒 良平*²⁾・福田 栄紀*³⁾

抄 録：東北地方に自生するシバムギ (*Agropyron repens* (L.) Beauv.) の収量性や永続性、栄養価を調査し、シバムギの飼料特性を評価して畜産的に利用する際の基礎的知見を得ることを目的とした。試験1ではシバムギ優占草地の生産量と永続性を採草条件と模擬放牧条件で刈り取り回数と施肥量を変えて5年間調査した。試験2では採草条件、試験3では放牧条件において栄養価を他草種と比較した。

試験1の結果、年間乾物収量の5年間の平均は採草条件では976–1,311kg/10a、模擬放牧条件では648–1,042kg/10aであった。シバムギは採草条件では純群落化し高い永続性を有すると考えられた。一方、強度の高い放牧条件では減少し、ケンタッキーブルーグラスやシロクローバの割合が高まると推察された。試験2では、シバムギの1番草は穂ばらみ期から結実期までの生育に伴う栄養価の低下が非常に緩慢であり、結実期にはオーチャードグラスと同等以上の栄養価であることが示された。試験3ではシバムギのTDN含有率の年間平均は59%程度でペレニアルライグラスやオーチャードグラスより低いものの、リードカナリーグラスやケンタッキーブルーグラスより高い栄養価をもつ草種である傾向が示された。

シバムギは採草および肉用種繁殖牛の放牧用の草種として十分活用できる。

キーワード：シバムギ、収量、永続性、飼料成分、採草、放牧

Agronomic Performance of Quackgrass (*Agropyron repens* (L.) Beauv.) Dominant Grassland in the Tohoku District in Japan : Takanori YAGI*¹⁾, Ryohei MEGURO*²⁾ and Eiki FUKUDA*³⁾

Abstract : Quackgrass (*Agropyron repens* (L.) Beauv.) is considered to be a noxious weed in northern Japan, and controlling its growth is difficult because of its aggressive spreading by rhizomes. We conducted field experiments on quackgrass to determine its forage productivity, quality and nutritive value for use as a forage crop. The mean annual dry matter yields during five years were 976–1,311 kgDM/10a on meadow and 648–1,042kgDM/10a on simulated pasture. The fluctuation of seasonal productivity was small in comparison with other forage grasses. The persistency of quackgrass dominance in meadows was very high; on the other hand, quackgrass coverage decreased gradually in pastures. After the boot stage, the total digestible nutrients (TDN) and crude protein concentration decreased. The rate of decrease in quackgrass was lower than that in orchardgrass. Quackgrass had an annual average TDN concentration of 59%, which was higher than Kentucky bluegrass (*Poa pratensis* L.) and reed canarygrass (*Phalaris arundinacea* L.) and lower than orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) and perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) on grazing utilization.

Key Words : Quackgrass, Yield, Persistency, Feed composition, Meadow, Pasture

* 1) 現・北海道農業研究センター (National Agricultural Research Center for Hokkaido Region, Sapporo, Hokkaido, 062-8555)

* 2) 元・東北農業研究センター (Retired, National Agricultural Research Center for Tohoku Region, Morioka, Iwate, 020-0198)

* 3) 現・近畿中国四国農業研究センター (National Agricultural Research Center for Western Region, Oda, Shimane, 694-0013)

I 緒 言

シバムギ (*Agropyron repens* (L.) P.Beauv.) は明治時代に牧草として北海道に導入されたが、生産性は低く家畜の嗜好性が劣るとみなされている。長田 (1972)、加納ら (1995) は、シバムギは以前から北海道で広く分布していることを報告している。また、的場ら (1995) は東北地域の岩手、秋田、山形県内での発生を認め、清水ら (2001) は全国に分布していると報告しており、シバムギの分布が拡大している可能性が考えられる。

シバムギはいったん定着すると、根絶が困難な草種で (的場ら 1995)、また、地下茎による栄養繁殖が旺盛で (本江ら 1982)、チモシー (*Phleum pratense* L. 以下TI) 採草地に侵入したシバムギの耕種の防除は困難であるとされている (手島ら 1996)。

一方、利用の面からは、米国ミネソタ州で収量や飼料成分についてバイオタイプ間差を認めた報告 (Sheaffer *et al.* 1990) やヒツジによる嗜好性を調査した例 (Marten *et al.* 1987)、カナダにおいて栄養価や肉牛の増体をTIと比較した報告 (Martineau *et al.* 1994) があるものの、国内におけるシバムギの飼料利用についての研究はほとんど無い。しかし、生産現場では、シバムギをサイレージ利用したり、TIと形態が類似しているためシバムギに置き換わったことを知らずに利用を続けていることもある。また、放牧草地においてウシはシバムギを他の牧草と同様に食べていることが観察されており、飼料特性の評価が求められている。

今後、草地更新率の低下に伴い老朽化草地が増加し、シバムギの侵入を許し経年化とともに優占する草地が増加することが予測される。加えて、防除や更新を徹底することはコストや労働力の両面から困難であることから、シバムギを排除するだけでなく畜産的に利用する方策も検討する必要がある。

そこで、本研究では東北地方に自生するシバムギの収量性や永続性、栄養価を調査し、シバムギの飼料特性を評価して畜産的に利用する際の基礎的知見を得ることを目的とした。試験1ではシバムギ優占草地の生産量と永続性を採草条件と模擬放牧条件で刈り取り回数と施肥量を変えて5年間調査した。試験2では採草条件、試験3では放牧条件において栄養価を他草種と比較した。

本研究の遂行にあたり、東北農業研究センター研

究支援センター業務第2科の大平寛、井上義男 (元職員)、井上章太郎、猪澤信一、櫻静夫、熊谷栄策、野中俊夫、大森勇人の諸氏をはじめ当科諸氏には多大のご支援を頂いた。また、日本短角研究チーム梨木守チーム長 (現畜産草地研究所 企画管理部) には本報告の御校閲を賜った。ここに記して、深謝する。

II 材料と方法

1. 試験1 地上部の乾物生産性と永続性

供試草地は東北農業研究センター内 (盛岡市下厨川、北緯39度45分、東経141度8分、標高167m、年平均気温9.3℃、年間降水量1,541mm) の平坦な草地において実施した。

試験草地：供試草地 (総面積約4 ha) は1980-1986年にオーチャードグラス (*Dactylis glomerata* L. 以下OG)、トールフェスク (*Festuca arundinacea* Schreb.)、ベレニアルライグラス (*Lolium perenne* L. 以下PR)、ケンタッキーブルーグラス (*Poa pratensis* L. 以下KB)、シロクローバ (*Trifolium repens* L. 以下WC) を順次播種して造成され、肉用種繁殖牛群の放牧が続けられてきた。放牧強度は年間600CD (成牛500kg換算) 前後であった。年間施肥量は窒素、リン酸、カリ各10kg/10aとし、複合肥料で施用した。シバムギはこの草地へ1980年代末に侵入後、急速に分布を広げ1995年頃には優占した。この結果、本試験開始時にはシバムギ優占草地内に既存の播種草種及び播種していないリードカナリーグラス (*Phalaris arundinacea* L. 以下RC) が局所的に点在する様相を示した。この放牧草地内に1995年の春に20m×40mの試験区を設け、牧柵で囲んで牛が入れないようにした。この試験区内に1区2m×3mの処理区画を3反復で無作為に配置した。

処理：地上部生産量と植生を1995年から1999年の5年間調査した。施肥量と刈り取り回数を変え採草条件と模擬放牧条件を設定した。なお、模擬放牧は放牧を想定し、採草条件より施肥量を低減し、かつ低刈りとした。刈り取り高さは採草は地際から10cm、模擬放牧は5cmの高さとした。年間刈り取り回数は採草条件が2回 (6月下旬と9月中旬)、3回 (6月中旬、8月上旬と10月中旬)、4回 (5月下旬、7月上旬、8月下旬と10月中旬)、模擬放牧条件が2回 (6月下旬と9月中旬)、4回 (5月中旬、6月中下旬、8月上旬と10月中旬)、6回 (5月中旬、6月中

旬、7月上旬、8月上旬、9月中旬と10月中旬)の各3水準を設けた。年間施肥量は採草条件と模擬放牧条件各3水準を設け、窒素成分で採草条件は10、17.5、25kg/10a、模擬放牧条件では0、5、10kg/10aとなるように複合肥料(16-16-16)を施肥した。施肥配分は採草条件では4月に全体の半量、残量を最終刈り取り以外の刈り取り後に均等に施肥した。模擬放牧条件では5kg区では4月に5kg/10a、10kg区では4月と6月に5kgずつ施肥した。調査は各処理区画内を1m四方の方形枠を用いて植被率と各草種の被度を調査後、枠内を刈り取り収量を求めた。枠外は枠内の刈り取り終了後同じ刈り高さで刈り取った。

2. 試験2 採草条件下における生育ステージに伴う飼料成分の変化

1番草の生育ステージに伴う飼料成分の変化を1998年に調査した。調査はシバムギと比較対照として北東北地域の主幹草種であるOG(品種はキタミドリ)について行った。分析用の試料はシバムギは前述の試験1の禁牧区内の処理区画に隣接した部分(面積約2a)から、OGは同供試草地近隣の単播採草地(面積50a)内から、それぞれ無作為に3カ所を選択し、地上10cmで刈り取った。

各草種毎に穂ばらみ期、出穂期、開花期、結実期に刈り取り分析に供した。刈り取り日は各生育ステージの順にシバムギは6月6日、6月16日、6月27日、7月16日、OGは5月16日、5月23日、6月1日、6月21日とした。各草地とも4月下旬の施肥量は窒素、リン酸、カリ各5kg/10aを複合肥料で施用した。

各試料は70℃24時間の通風乾燥後に粉碎し、1mmメッシュの篩を通して分析用試料とした。酵素分析法により細胞壁物質(OCW)、低消化性繊維(Ob)を分画し、細胞内容物(OCC)および高消化性繊維(Oa)を求めた。粗タンパク質(CP)、中性デタージェント繊維(NDF)、酸性デタージェント繊維(ADF)は定法により分析した(自給飼料品質評価研究会2001)。湿式灰化後、Ca、Mg、Kは原子吸光法、Pはバナドモリブデン酸法により含有率を求めた。可消化養分総量(TDN)は以下の推定式によって推定した(自給飼料品質評価研究会2001)。

$$TDN = 0.674 \times (Occ+Oa) + 0.217 \times Ob + 18.53$$

3. 試験3 放牧条件下における飼料成分の他草種との比較

試験1で述べた禁牧した試験区周囲の放牧地において、1998年の5月から10月まで毎月上旬に、シバ

ムギ、OG、PR、KBおよびRCの各草種が優占している部分を無作為に各草種毎に3カ所選択し、高さ5cmで刈り取って分析用試料とした。全草種同日に刈り取った。分析はCP、NDF、ADF、OCW、Ob、OCC、Oaについて試験2と同様に行ない、TDNも前述の推定式により推定した。

4. データ解析

試験1は各年次および5年間の平均値について繰り返し3の刈り取り回数と施肥量の2元配置の分散分析を採草条件および模擬放牧条件それぞれに行った。なお、模擬放牧条件では2回刈りの値を除外して4回刈りと6回刈りの値を用いて解析した。

試験2は各成分の草種間差について刈り取りステージ毎に繰り返し3の平均値を用いてt検定を行った。

試験3は各成分の年間平均値の草種間差について、繰り返し3の6ヶ月分で18個得られたデータの平均値を用いてScheffeの方法で多重検定を行った。

III 結果と考察

1. 試験1 地上部の乾物生産性と植生維持

1) 地上部の乾物生産性

年間乾物収量を表1に示した。採草収量は5年間の平均で976-1,311kg/10aの範囲にあり、年次変動があるものの5年間を通じ維持傾向がみられた。5年間の平均収量は刈り取り回数間には1%水準、施肥量間で5%水準で有意差が認められた。交互作用に有意差は認められなかった。施肥量が10-25kg/10aのいずれの水準でも3回刈りで最も高い収量が得られる傾向がみられた。

模擬放牧条件での乾物収量は3年目まで減少し以降は維持傾向がみられ、5年目は640-1,008kg/10aであった。5年間の平均収量は刈り取り回数間には有意差はみられないが、施肥量間には1%水準で有意差が認められ施肥量が多い区ほど多収であった。有意ではないが、刈り取り回数が多いほど収量が低下する傾向がみられた。

東北地域における牧草の乾物収量の実態は450-750kg/10a程度であり、生産目標は採草地で750-900kg/10a、放牧地で600-750kg/10aとされている(農林水産省畜産局1996)。また、東北地域での基幹草種であるOG(品種ワセミドリ)の北東北における採草収量は840kg/10a(眞田ら2006)という報告がある。これらと栽培条件が異なるため厳密な比較はできないが、今回得られたシバムギ優占草地

Table 1 Total annual yield of quackgrass under meadow and simulated pasture conditions (Exp.1).

		Meadow						Simulated pasture							
Cutting frequency of a year	Fertilization rate (kgNPK/10a·year)	Yield (kgDW/10a)						Cutting frequency of a year	Fertilization rate (kgNPK/10a·year)	Yield (kgDW/10a)					
		'95	'96	'97	'98	'99	mean			'95	'96	'97	'98	'99	mean
2	10.0	1071	1315	1042	878	1176	1096	2	0	1075	1175	756	632	940	916
	17.5	1059	1277	1023	1268	1130	1151		5	1150	1247	982	825	1008	1042
	25.0	1080	1426	1114	1323	1151	1219		-	-	-	-	-	-	-
3	10.0	1250	1415	1089	1168	1226	1230	4	0	1026	749	616	781	751	785
	17.5	1256	1405	1077	1370	1371	1296		5	1029	909	693	699	838	834
	25.0	1223	1584	1267	1282	1200	1311		10	1157	975	820	855	821	926
4	10.0	1241	1100	849	1050	1016	1051	6	0	976	551	423	651	640	648
	17.5	1132	1067	858	891	934	976		5	1025	764	614	899	715	803
	25.0	1365	1238	1048	1227	1073	1190		10	1138	809	700	941	823	882
Significant difference ^{a)}	Cutting	*	**	**	ns	**	**	Significant difference ^{b)}	Cutting	ns	*	**	ns	ns	ns
	Fertilization	ns	*	**	ns	ns	*		Fertilization	*	*	**	ns	ns	**
	Interaction	ns	ns	ns	ns	ns	ns		Interaction	ns	ns	ns	ns	ns	ns

a) *, **, ns : significant at $P < 0.05$, $P < 0.01$ and $P > 0.05$ respectively by the Two-way ANOVA.

b) : Analysis was done in four and six time cuttings without two cuttings.

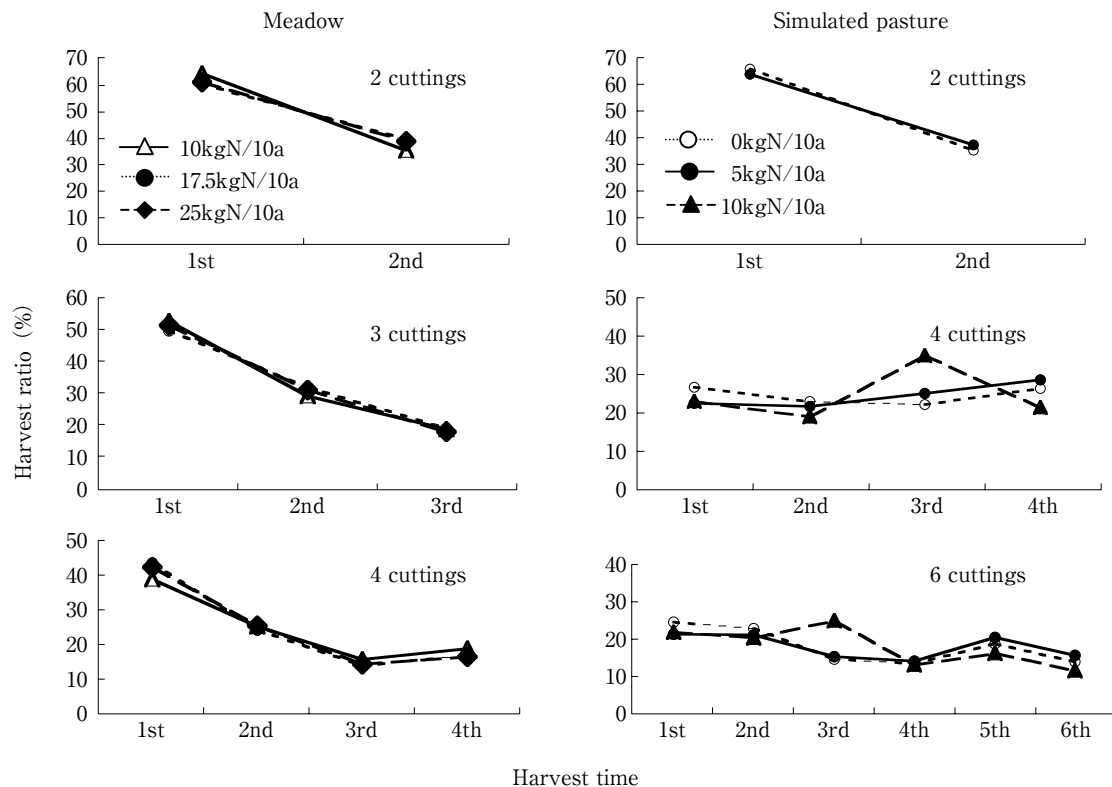


Fig. 1 Mean harvest ratio at each harvest time during five years (Exp.1)

の収量は採草および模擬放牧いずれの条件でも生産目標や他の試験結果を上回る値が得られたことから、生産性はそれほど低いものではないことが明らか

かとなった。

刈り取り時期別の収量割合を5年間の平均値で図1に示した。採草条件では施肥量間差は小さかった。

Table 2 Changes in the coverage of quackgrass, Kentucky bluegrass, white clover, and other species in meadows during five years (Exp.2).

Cutting frequency of a year	Fertilization rate (kgNPK/10a·year)	Quackgrass					Kentucky bluegrass					White clover					Others				
		'95	'96	'97	'98	'99	'95	'96	'97	'98	'99	'95	'96	'97	'98	'99	'95	'96	'97	'98	'99
2	10.0	100	100	100	100	94	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0
	17.5	100	100	100	100	95	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	25.0	100	100	100	100	96	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	10.0	100	100	99	98	90	1	1	6	2	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	17.5	100	100	100	100	88	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	25.0	100	100	100	100	95	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	10.0	100	99	95	96	91	0	0	5	4	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	17.5	100	99	97	99	89	1	1	2	1	5	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	25.0	100	100	99	100	91	1	1	1	0	3	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

The number shows the mean value during a year. unit : %

Table 3 Changes in the coverage of quackgrass, Kentucky bluegrass, white clover, and other species in simulated pastures during five years (Exp.2).

Cutting frequency of a year	Fertilization rate (kgNPK/10a·year)	Quackgrass					Kentucky bluegrass					White clover					Others				
		'95	'96	'97	'98	'99	'95	'96	'97	'98	'99	'95	'96	'97	'98	'99	'95	'96	'97	'98	'99
2	0	100	95	93	65	58	4	5	3	12	7	0	5	3	8	5	0	5	3	13	13
	5	100	100	99	95	83	1	0	1	5	6	0	0	1	3	0	0	0	1	0	2
4	0	100	91	69	46	30	3	9	17	16	31	0	0	11	29	6	0	4	1	8	25
	5	100	90	83	69	38	4	10	15	26	26	0	0	2	12	22	0	5	1	12	10
	10	100	97	93	86	64	5	4	8	3	25	0	0	0	3	4	0	1	0	2	4
6	0	100	85	44	36	17	6	14	40	36	21	0	0	9	16	32	0	0	2	5	15
	5	100	78	58	29	22	9	19	35	41	37	0	1	8	14	20	0	1	2	3	7
	10	100	93	78	48	36	1	6	17	37	36	0	0	3	11	11	0	1	2	3	7

The number shows the mean value during a year. unit : %

採草2回刈りでは1番草と2番草の収量比率は約60-40%であった。採草利用で年間2回刈りではTIが想定されるが、吉澤ら(2005)はTI(品種なつさかり)の収量比率を調べた結果、75-25%と報告している。よって、シバムギはTIほど1番草の割合が高くないといえる。また、シバムギの4回刈りでは約40-25-15-20%であったが、眞田ら(2006)は、OG(品種ワセミドリ)の4回刈りは35-30-25-10%であると報告している。この報告と比較すると、シバムギは1番草及び4番草の割合が高いといえる。

模擬放牧条件下における6回刈りの各番草割合は10-27%の範囲にあり、施肥処理こみで季節別割合

は春夏秋(各5-6月、7-8月、9-10月)それぞれ約40-30-30%であった。これまでに、季節別割合はOG(品種ワセミドリ)では36-47-18%(眞田ら2006)、TI(品種ホクシュウ)では58-19-22%(吉澤ら2005)、KBでは48-29-24%程度(須藤ら2003)であることが示されている。シバムギはこれらの草種と比較すると、多回刈り条件における季節生産性の変動が穏やかであると考えられる。

2) 植生の変化

採草条件下における各草種の年間平均被度の5年間の推移を表2に示した。採草条件では全ての処理区においてシバムギ被度は95%以上を4年間維持し、裸地の発生はみられなかった。5年目に数%低

下したが、これは試験地の8月の平均日最高気温が30.5℃で平年値の28.1℃を2.4℃も上回った(気象庁2007)こと、また、日最高気温が30℃を超える日が20日もあった猛暑により夏枯れが発生したことが被度低下の主な原因であり、平年の気象条件であればこの低下は非常に少ないものと考えられる。

模擬放牧条件下における各草種の年間平均被度の5年間の推移を表3に示した。試験開始後5年目のシバムギ年間平均被度は2回刈りでは他草種を圧倒していたが、6回刈りでは40%を下回るレベルにまで低下し、KB被度と並んだ。これは頻度の高い利用を継続するとKBが増加するという報告(岡本ら1987、出口ら1992、高橋ら1995)と一致する。また、シバムギとKBが混在する草地を輪換放牧利用(6-9回刈り/年)すると、KBが増加すること

が確認されており(梨木ら2005)、本試験における多回刈り条件ではシバムギが衰退しKBが増加することが確かめられた。また、WCも徐々に被度を増やす傾向にあり、施肥量が少ないほどその増加程度が大きかった。したがって、シバムギを放牧利用する際には、年間2回程度の粗放な利用であれば安定的に利用できるものの、集約放牧のような頻繁な利用を継続すると、シバムギは減少しKBやWCなどの放牧耐性のより高い草種が増えることが考えられる。

以上から、シバムギの被度は利用強度に大きく影響を受けることが明らかとなった。シバムギは多肥低利用強度の採草条件では純群落化し、高い永続性を有すると考えられた。一方、低施肥高利用強度の放牧条件ではKBやWCとの競合関係の結果、シバ

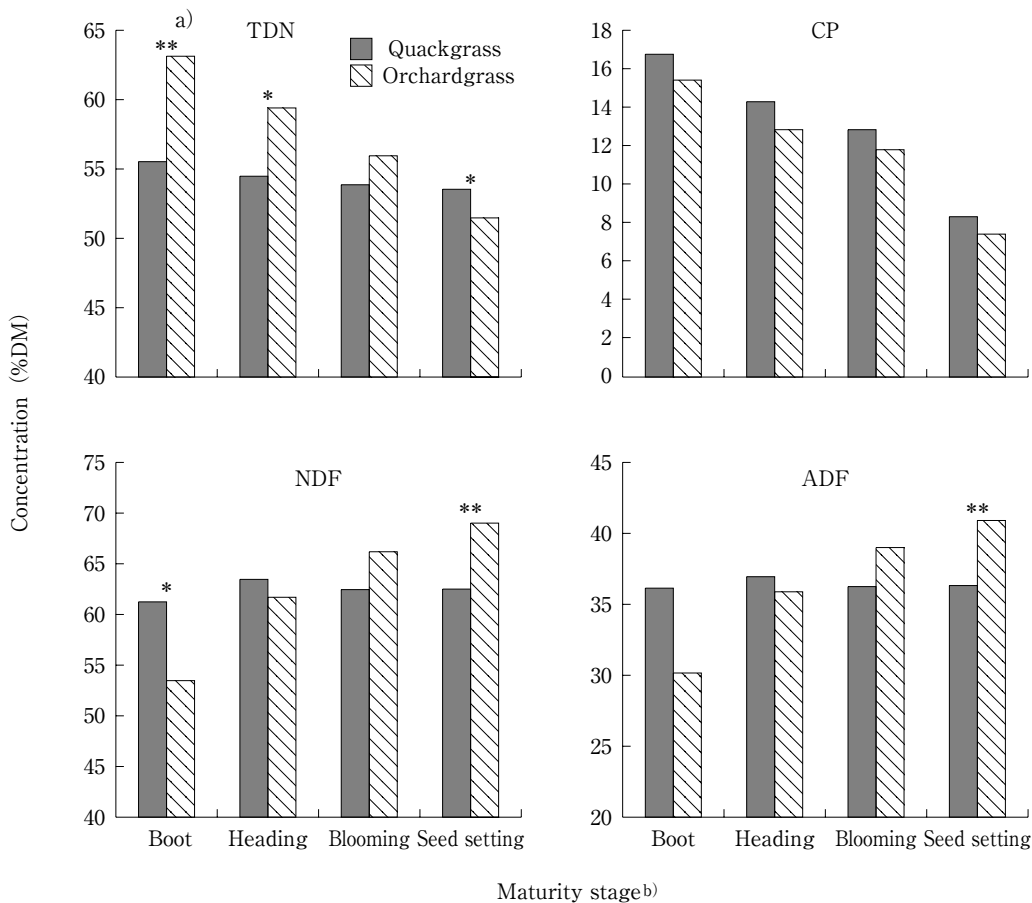


Fig. 2 Changes in the total digestible nutrients (TDN), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), and acid detergent fiber (ADF) contents of quackgrass and orchardgrass with maturity stage (Exp. 2)

a) *, ** significant at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively by t-test.

b) Maturity dates were June 6, June 16, June 27, and July 16 on quackgrass and May 16, May 23, June 1, and June 21 on orchardgrass in 1998.

ムギは徐々に減少し、KBやWCを主体とする植生に変化することが推察された。

2. 試験2 採草条件下における生育ステージに伴う飼料成分の変化

1番草の生育ステージに伴う飼料成分の変化を図2に示した。TDN含有率は、穂ばらみ期でシバムギは56%、OGは63%でOGが有意に高かった ($P<0.01$)。その後、両草種とも生育に伴いTDN含有率は低下したが、その低下の程度は草種で異なり、結実期ではシバムギは54%、OGは52%となりシバムギの方が高くなった ($P<0.05$)。CP含有率をみると、穂ばらみ期においてシバムギは17%、OGは16%で、両草種ともその後生育に伴い徐々に低下し、結実期にはシバムギは9%、OGは8%程度となった。両草種間に有意差は認められなかった。難消化性成分であるNDF含有率およびADF含有率は両草種とも増加する傾向にあった。NDF含有率の穂ばらみ期から結実期までの変化はシバムギで61%から63%、OGで54%から69%、ADF含有率の変化はシバムギで36%から37%、OGで30%から41%となり、TDN含有率と同様にシバムギの変化は非常に小さいものであった。

1番草の生育に伴う *in vitro* 消化率の低下はOGでは1日あたり0.68–0.72ポイント、TIでは0.50–0.55ポイントと報告されている (大原1976)。また、TIのTDN含有率は5月30日から7月9日までの40日間で約14ポイント低下することが報告されている (近藤ら 1997) が、これらと比較すると、シバムギは穂ばらみ期から結実期 (6月6日から7月16日) までの40日間でTDN含有率の低下はわずか2ポイント程度であり、生育に伴う栄養価の低下が非常に緩慢であることが特徴的であった。一方、シバムギは穂ばらみ期でのTDN及びNDF含有率は各56%、61%であり、これはOGの開花期から結実期の水準に等しかった。このことから、シバムギは早刈りを行ってもTDN含有率が65%を超える高品質な飼料にはならないと考えられた。

以上から、採草利用を想定した場合、シバムギは早刈りしても栄養価の改善は期待できないが、遅刈りせざるを得ないような立地条件においてはOGより良質の粗飼料源となる可能性がある。

3. 試験3 放牧条件下における飼料成分の他草種との比較

表4に放牧草地における各草種の時期別の飼料成

分を示した。シバムギのTDN含有率は56.5–62.6%の範囲にあり年間平均は59.2%で、搾乳牛や育成牛を飼養するには不足するが、肉用種繁殖牛の維持に必要なとされる50% (農林水産省農林水産技術会議事務局 1999、2000) を超えていた。シバムギのTDN含有率を他草種と比較すると、有意差はみられないが、OGやPRより低く、RCやKBに比べて高い傾向にあった。CP含有率は20.2–28.7%の範囲にあり、春から秋にかけて徐々に高まる季節的推移を示し、年間平均含有率は23.1%で他草種に比べ高い傾向にあった。シバムギのCP含有率はTIに比べ高いことが海外で報告されており (Christen *et al.* 1990)、東北に自生しているシバムギもCP含有率が高い傾向がみられることが確認された。シバムギのNDF含有率は48.4–58.4%で夏期に増加する傾向がみられ、年間平均は53.1%であった。これはKBより低く ($P<0.05$)、OGやPRと同程度であった。

ミネラル成分であるCaおよびMgのシバムギの年間平均含有率は各0.23、0.13%で、どちらも供試草種の中で最も低い傾向を示した。PとK含有率については顕著な草種間差はみられなかった。シバムギのK/(Ca+Mg) 当量比は3.96–5.05の範囲にあり、年間平均で4.18で他草種と比べ有意に高かった ($P<0.05$)。

以上から、シバムギを放牧利用した場合の飼料成分を他草種と比較すると、TDN含有率は60%前後で中程度であり、CP含有率とK/(Ca+Mg) 当量比が高いという特徴を有するといえる。なお、グラスタニー予防の点からK/(Ca+Mg) 当量比の基準値は2.2以下とされている (農林水産省農林水産技術会議事務局 1999)。現状ではグラスタニーの発症はみていないが、この数値に近づけるためにはCaとMgの散布及びカリ施肥量の低減を行なうことが考えられる。

4. まとめ

本試験ではシバムギ優占草地の牧草生産性、永続性および飼料成分について採草条件、模擬放牧条件と放牧条件において検討した。採草条件では収量が高く、植生維持に優れ、また、飼料成分ではTDNが55%程度で、特に生育に伴う飼料品質の劣化が緩慢であるといえる。一方、模擬放牧条件では乾物収量は5年目で640–1,008kg/10a確保でき、低利用強度条件で植生維持が可能であった。放牧条件での飼料成分はCP含有率が高く、TDN含有率は他種牧草

Table 4 Seasonal changes in the total digestible nutrients (TDN), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), macromineral concentrations, and equivalence ratios in pasture (Exp. 3).

		QG	OG	PR	RC	KB			QG	OG	PR	RC	KB
TDN (%DM)	May	62.6	63.7	65.0	60.3	58.5	Ca (%DM)	May	0.24	0.21	0.40	0.27	0.29
	June	57.6	62.7	62.7	56.0	55.2		June	0.26	0.24	0.48	0.29	0.32
	July	56.5	59.4	55.5	54.5	54.6		July	0.22	0.32	0.55	0.26	0.28
	Aug.	57.1	61.8	62.5	58.5	65.4		Aug.	0.21	0.27	0.56	0.23	0.31
	Sep.	59.9	60.3	61.9	58.2	57.5		Sep.	0.24	0.33	0.58	0.31	0.30
	Oct.	60.7	62.2	62.5	59.9	58.0		Oct.	0.24	0.34	0.58	0.34	0.35
	mean ^{a)}	59.2ab	61.7a	61.7a	57.8bc	58.2bc		mean	0.23c	0.29bc	0.53a	0.29bc	0.31b
	sd	2.5	1.7	3.3	2.4	3.7		sd	0.03	0.06	0.09	0.06	0.06
CP (%DM)	May	20.9	17.4	22.1	18.5	17.4	Mg (%DM)	May	0.10	0.18	0.25	0.15	0.21
	June	20.2	15.5	18.2	19.8	17.0		June	0.12	0.21	0.26	0.17	0.23
	July	21.3	19.2	22.9	20.4	20.9		July	0.14	0.28	0.32	0.21	0.23
	Aug.	21.7	19.8	23.1	19.2	22.6		Aug.	0.12	0.26	0.32	0.16	0.21
	Sep.	25.9	21.1	24.2	23.1	23.0		Sep.	0.14	0.31	0.37	0.22	0.25
	Oct.	28.7	23.1	24.0	26.1	24.9		Oct.	0.14	0.31	0.35	0.24	0.28
	mean	23.1a	19.4b	22.4ab	21.2ab	21.0ab		mean	0.13d	0.26b	0.31a	0.19c	0.24bc
	sd	3.2	2.8	2.4	3.7	3.2		sd	0.02	0.06	0.05	0.04	0.05
NDF (%DM)	May	50.6	51.8	47.4	54.4	59.2	K (%DM)	May	3.18	3.03	3.39	2.84	2.29
	June	57.0	52.8	51.8	58.6	61.8		June	3.63	4.45	4.84	3.32	2.44
	July	58.4	56.6	56.4	60.8	61.5		July	3.45	3.83	3.35	2.72	2.73
	Aug.	57.1	51.7	49.0	55.0	50.2		Aug.	3.16	3.92	3.12	2.50	2.68
	Sep.	49.9	52.3	51.4	53.2	58.7		Sep.	4.62	3.70	3.92	3.58	2.93
	Oct.	48.4	49.9	50.1	47.5	56.5		Oct.	3.58	3.21	3.73	3.98	3.23
	mean	53.1b	52.5b	51.0b	55.3ab	58.0a		mean	3.60a	3.69a	3.72a	3.16ab	2.72b
	sd	4.5	2.8	3.4	4.7	4.6		sd	0.71	0.73	0.83	0.62	0.47
P (%DM)	May	0.31	0.30	0.41	0.29	0.38	K/ (Ca+Mg)	May	3.96	3.10	2.13	2.87	1.88
	June	0.33	0.30	0.35	0.32	0.36		June	4.04	3.85	2.70	3.07	1.85
	July	0.45	0.38	0.39	0.31	0.37		July	4.06	2.53	1.55	2.33	2.12
	Aug.	0.39	0.29	0.30	0.31	0.28		Aug.	3.98	2.97	1.47	2.66	2.18
	Sep.	0.42	0.31	0.31	0.34	0.36		Sep.	5.05	2.28	1.69	2.70	2.16
	Oct.	0.35	0.34	0.31	0.35	0.38		Oct.	3.92	1.98	1.67	2.79	2.05
	mean	0.38a	0.32a	0.34a	0.32a	0.35a		mean	4.18a	2.78b	1.87c	2.74b	2.04c
	sd	0.08	0.06	0.06	0.04	0.06		sd	0.86	0.87	0.54	0.47	0.46

QG : quackgrass, OG : orchardgrass, PR : perennial ryegrass, RC : reed canarygrass, KB : Kentucky bluegrass.
a) : The significant differences are shown by different letters on each group by the Scheffe's test (P<0.05).

と比較して中程度であった。

以上のことから東北北部に自生しているシバムギは、採草用としてはあまり高品質ではないものの、刈り遅れた場合の品質低下が小さいため、集約的な管理が困難な立地条件での活用が望ましい。また、放牧利用の場合は強い放牧強度で利用すると衰退するため、放牧強度が比較的低い肉用種繁殖牛向けの放牧用草種として十分利用できるといえ、今後の活用が期待される。

今後はシバムギ優占草地の家畜生産性の評価も必要である。

引用文献

- 1) Christen, A. M.; Seoane, J. R.; Leroux, G. D. 1990. The nutritive value for sheep of quackgrass and timothy hays harvested at two stages of growth. *J. Anim. Sci.* 68 : 3350-3359.
- 2) 出口健三郎, 澤田嘉昭, 佐藤尚親. 1992. 単播および混播条件における地下茎型イネ科牧草の植生推移. *北草研報* 26 : 136-139.
- 3) 本江昭夫, 岩橋信也. 1982. 多年生イネ科雑草シバムギ・ナガハグサ・コヌカグサにおける地

- 下茎の拡散能力. 雑草研究 27: 98-102.
- 4) 自給飼料品質評価研究会(編) 2001. 改訂粗飼料の品質評価ガイドブック. 日本草地畜産種子協会. p.5-16.
 - 5) 加納春平, 手島茂樹, 高橋 俊. 1995. 北海道の草地, 飼料畑における主な帰化雑草の分布. 北草研報 29: 39-43.
 - 6) 気象庁. 2007. 気象統計情報.
<http://www.data.kishou.go.jp/> (引用日2007.01.10)
 - 7) 近藤恒夫, 大下友子, 久馬 忠, 嶺野英子, 村井勝. 1997. 北東北におけるチモシー (*Phleum pratense* L.) の刈り取り日と乾草の栄養価との関係. 日草誌 43: 168-170.
 - 8) Marten, G. C.; Sheffer, C. C.; Wyse, D. L. 1987. Forage nutritive value and palatability of perennial weeds. Agron. J. 79: 980-986.
 - 9) Martineau, Y.; Leroux, G. D.; Seoane, J. R. 1994. Forage quality, productivity and feeding value to beef cattle of quackgrass (*Elytrigia repens* (L.) Nevski) compared with timothy (*Phleum pratense* L.). Anim. Feed Sci. and Tech. 47: 53-60.
 - 10) 的場和弘, 橋 雅明, 伊藤一幸, 田村良文, 伏見昭秀. 1995. 東北における帰化種を中心とした雑草の発生状況. 日草誌 41(別): 81-82.
 - 11) 梨木 守, 成田大展, 東山由美, 菅野 勉, 目黒良平. 2005. 北東北地域におけるケンタッキーブルーグラス優占草地の輪換放牧条件下での牧養力. 日草誌 51: 27-33.
 - 12) 農林水産省農林水産技術会議事務局. 1999. 日本飼養標準乳牛 (1999年版). p.4-98.
 - 13) 農林水産省農林水産技術会議事務局. 2000. 日本飼養標準肉用牛 (2000年版). p.4-88.
 - 14) 農林水産省畜産局. 1996. 草地管理指標—草地の維持管理編—. 日本草地協会. p.10-13.
 - 15) 岡本恭二, 菊池武昭, 富井光一, 両角清一, 嶋村匡俊, 圓通茂喜, 阿部幹夫, 山田 豊, 牛山正昭. 1987. 傾斜永年放牧草地: ケンタッキーブルーグラス優占植生における草生産量と黒毛和種繁殖牛の牧養力. 日草誌 33(別): 166-167.
 - 16) 大原益博. 1976. 数種牧草の1, 2及び3番草の生育に伴うin vitro乾物消化率と粗蛋白質含量の推移. 新得畜試研報. 7: 55-62.
 - 17) 長田武生. 1972. 日本帰化植物図鑑. 北隆館. p.199.
 - 18) 眞田康治, 高井智之, 中山貞夫, 山田敏彦, 水野和彦, 大同久明, 田村健一. 2006. オーチャードグラス新品種「はるねみどり」の育成とその特性. 北農研報 185: 13-31.
 - 19) Sheaffer, C. C.; Wyse, D. L.; Marten, G. C.; Westra, P. H. 1990. The potential of quackgrass for forage production. J. Prod. Agri. 3: 256-259.
 - 20) 清水矩宏, 森田弘彦, 廣田伸七. 2001. 日本帰化植物図鑑. 全国農村教育協会. p.416.
 - 21) 須藤賢司, 小川恭男, 池田哲也, 落合一彦, 梅村和弘. 2003. 北海道におけるナガハグサ型草地の種組成と生産量. 畜産草地研究所資料 平成14-8 草地の動態に関する研究 (第6次中間報告). つくば. 畜産草地研究所. p.69-74.
 - 22) 高橋 俊, 名田陽一, 佐藤康夫, 加納春平, 手島茂樹. 1995. 草地利用法の変換による植生制御. 北農試研報 161: 47-56.
 - 23) 手島茂樹, 小川恭男, 三枝俊哉. 1999. 牧草地内に侵入したシバムギの耕種的防除法に関する研究 第4報. 日草誌 45(別): 84-85.
 - 24) 吉澤 晃, 下小路英男, 古谷政道, 藤井弘毅, 佐藤公一, 玉置宏之, 鳥越昌隆, 中住晴彦, 川村公一. 2005. チモシー新品種「なつさかり」の育成. 北海道立農業試験場集報 88: 37-47.

東北農業研究センター研究報告 第108号

平成19年12月 発行

編集兼発行 東北農業研究センター
代表者 八 卷 正
〒020-0198 盛岡市下厨川字赤平4
電 話 (019) 643-3414, 3417
(情報広報課)

印 刷 所 河北印刷株式会社
〒020-0015 盛岡市本町通2-8-7
