

## 第1章 緒論

北海道においてコムギは、畑作地帯だけでなく、水田地帯の転換畑の基幹作物としても重要な位置づけにある。北海道におけるコムギの生産量は、年次変動は大きい、40~70万トンで全国の6割前後を占めている。

北海道におけるコムギの生産量の年次変動が大きいのは、気象条件の影響が大きい、その他に病害を含む各種障害に原因がある。北海道のコムギには様々な病害が発生する。地上部の病害では、葉身には赤さび病、うどんこ病、穂には赤かび病が、秋播型コムギでは融雪後に雪腐病類が発生する。これらの病害には、薬剤散布による防除が広く行われている。また、土壌伝染性の病害は、立枯病および条斑病が発生しているが、これらは連作によって多発する。

1970年に始まった水田転換政策以降、水田転換畑におけるコムギの栽培が急増した(第1-1-1図)。水田転換畑では使用する作業機械や栽培の省力性からコムギの栽培が増えるに伴い、コムギを連作するほ場が増えた。また、畑作地帯においても経営規模の拡大に伴い、省力栽培が可能なコムギの過作傾向が進んだ。このようなコムギの連作または過作が増加する状況で、1980年代に入ってコムギの栽培面積は10万haを超え、土壌伝染性の病害の多発を促す環境になっていたと言える。そのような状況で本研究の対象であるコムギ眼紋病の発生および被害が拡大していくこととなった。

コムギ眼紋病は、世界各地の比較的冷涼な気象条件にあるコムギ栽培地帯で発生している(Lucas *et al.*, 2000)。我が国では、1983年秋田県八郎潟において(古屋, 1984)、またほぼ同時期に北海道でも美唄市および滝上町で発生が確認された(宮島・斉藤, 1984)。現在まで発生が報告されているのはこの2道県のみである。また、秋田県以南での発生は認められておらず、1990年代に入って秋田県における発生も急激に減少し(古屋・松本, 1996)、その後は国内では北海道でのみ被害をもたらしている病害と言える。

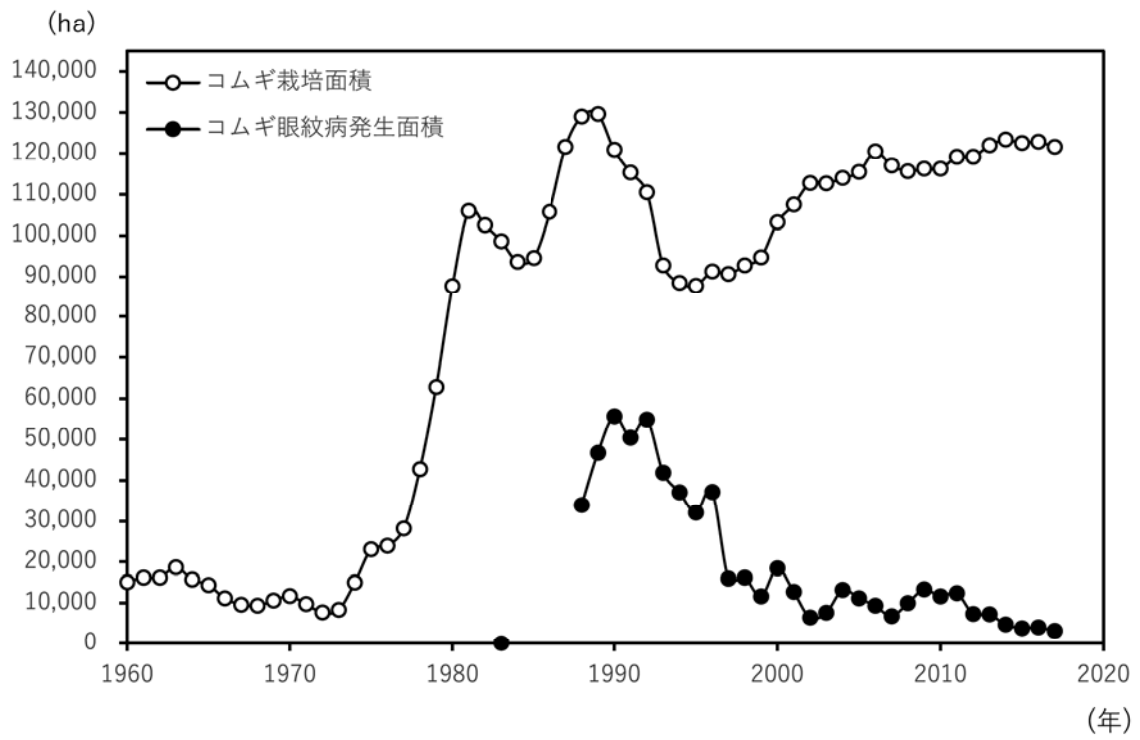
北海道においては、本病の初発生を確認以降、漸増傾向をたどり、1987年には空知および上川支庁(当時)の水田転換畑を中心に道内各地で発生が認められるようになった。本病はコムギの地際葉鞘や茎に眼紋状の病斑を形成する(図版1)。しかしながら、本病の病斑が地際部に近いコムギ茎基部にしか認められず、病斑が進展して茎基部が腐敗し、コムギが倒伏に至らなければ(図版2)、見過ごされることが多い。そのため、

コムギに大きな被害をもたらす病害とは認識されず、防除対策は立てられないままであった。

しかし、1988年6月中旬に北海道内各地でコムギの倒伏が目立ち、この原因が本病に起因することが明らかとなったことから、重大問題としての認識が高まった。この年、北海道庁農政部が行った全道の発生および被害面積の集計によると、発生面積が33,935ha(作付面積の28.6%)、コムギの倒伏面積が4,698ha(作付面積の4%)に達しており(第1-1-1図)、本病発生に伴う減収被害は極めて大きいものと推定された(尾崎, 1990)。

そこで、北海道立中央農業試験場(当時)において、コムギ眼紋病に対する緊急防除対策を確立するための研究を1989年より開始した。本研究の成果は1996年にとりまとめられ、本病の発生生態に基づく防除対策技術として道内に普及されるに至った。

本論文は、本研究課題において筆者が実施して明らかにした、北海道におけるコムギ眼紋病の病原菌、発生生態、被害解析および防除対策をとりまとめたものである。



第1-1-1図 北海道におけるコムギの栽培面積およびコムギ眼紋病の発生面積の推移

## 第2章 研究史

コムギ眼紋病菌は Fron (1912) によって *Cercospora herpotrichoides* Fron として初めて記載された。その後、Deighton (1973) により、*Pseudocercospora* 属が創設され、コムギ眼紋病菌は *Pseudocercospora herpotrichoides* (Fron) Deighton と再記載された。*Pseudocercospora* 属は、*Cercospora* 様の *Mycosphaerella* Johanson アナモルフの新しい属として、それまで *Cercospora* 属に含まれていたいくつかの種のうち、他の *Cercospora* 属菌とは分生子の離脱法が異なることを根拠として創設された。基準種は *Pseudocercospora ipomoeae* Deighton (syn. *Cercospora ipomoeae* Sawada, *Cercospora ipomoeicola* Sawada) である。*Cercospora* 属では分生子離脱痕が肥厚して明瞭で、周縁には微細なヒダ (frill) が、また中心部には微小な乳頭状の突起 (papilla) がみられるのに対し、*Pseudocercospora* 属では肥厚せず不明瞭で裁断状である (Deighton, 1973)。*Pseudocercospora* 属菌にはこれまで 14 種ほどが知られており、そのうちコムギに寄生性を示すかあるいはコムギから分離されたものは、*P. herpotrichoides* (Fron) Deighton, *P. anguoides* Nirenberg, *P. aestiva* Nirenberg の 3 種である。

Lange de la Camp (1966a) は、ライムギに対する病原性の強弱を基本的な分類基準として眼紋病菌 *Cercospora herpotrichoides* Fron (syn. *P. herpotrichoides*) を W (wheat) タイプと R (rye) タイプに分けることができるとした。Scott *et al.* (1975) は、病原性試験をもとにこのことを改めて確認するとともに、この類別の重要性を指摘した。両タイプは寒地培地上の培養性質においても大きな違いがあり、R タイプの菌は菌糸生育が遅く、しばしば菌叢の辺縁が不規則な羽毛状を呈する点で W タイプと異なる (Lange de la Camp, 1966a; Scott *et al.*, 1975)。

これらとは別に Cunningham (1981) は *Agropyron repens* (L.) Beauv. (couch grass) に病原性を有する菌群が認められるとし、これを C (couch) タイプと呼んだ。さらに Hollins *et al.* (1985) はコムギと *Aegilops squarrosa* を侵すがライムギは侵さない S タイプがあることに言及している。

また Brown *et al.* (1984) は *P. herpotrichoides* の薬剤耐性に関する研究で供試菌を菌糸生育の遅速と菌叢辺縁の形状から 2 つに分け、fast-even タイプと slow-feathery タイプと表現した。その後この 2 つのタ

イプは病原性試験の結果をふまえてそれぞれ W タイプと R タイプに相当すると結論されたが、このときの調査で一部にこれらの培養性質で類別できない菌株もみられたとしている (Hollins *et al.*, 1985)。

以上は病原性を基本的な基準として類別する方法と考えられるが、これらとは別に Nirenberg (1981) は主に分生子の形態的な差異に基づいて *P. herpotrichoides* を 2 つの変種、すなわち var. *herpotrichoides* および var. *acuformis* と呼ぶことを提唱した。Nirenberg (1981) による類別は広く認められ、本病の病原菌が複数の分類群が関与していることを初めて明らかにした。両変種は培養上の性質から、それぞれ W タイプと R タイプに対応していると考えられる (King and Griffin, 1985; Priestley *et al.*, 1992)。その後、より多くの菌株を調査した報告では、2 つの変種と 2 つの病原性によるタイプの関係が一致しない菌株も認められている (Lucas *et al.*, 2000)。

von Arx (1983) は、*P. herpotrichoides* は *Pseudocercospora* 属を含めていた *Mycosphaerella* 属のアナモルフとは無関係であるとし、本菌が *Ramulispora* Miura の基準種である *Ramulispora sorghi* (Ellis & Everh) Olive & Lefebvre と同様の分生子形成様式を有すること、これらの種の分生子が側枝を発達させることから、*Ramulispora* 属を拡大して *P. herpotrichoides* を *Ramulispora* 属に移し、Nirenberg (1981) による他種の *Pseudocercospora* 属菌も *Ramulispora* 属に含めるべきとした。この提言は *R. herpotrichoides* を 2 変種 var. *herpotrichoides* および var. *acuformis* とした Boerema *et al.* (1992) によって支持された。その後、*R. herpotrichoides* 2 変種は、分生子の形態、培養性質、薬剤感受性および病原性に差異があり (Scott and Hollins, 1980)、交配型が異なり (Daniels *et al.*, 1991; Dyer *et al.*, 1994b; Robbertse *et al.*, 1994)、非常に低い類似性の RAPD パターンを示す (Robbertse *et al.*, 1995) ことから、*R. herpotrichoides* および *R. acuformis* の別種とされた (von Arx, 1983; Braun, 1995)。

コムギ眼紋病菌のテレオモルフは、Wallwork (1987) によって *Tapesia* (Persw.) Fuckel が属する盤菌類 (*Discomycetes*) であるとされ、*Tapesia yallundae* と記載された (Wallwork and Spooner, 1988)。その後、var. *acuformis* のテレオモルフが見いだされ、*Tapesia acuformis* とされた (Boerema *et al.*, 1992)。本菌のテレオモルフの発見は、*Tapesia* 属が *Helotiales* 目に属し、

*Mycosphaerella* Johanson とは異なる位置にあることから (Stewart *et al.* 1999), *Mycosphaerella* アナモルフから *Pseudocercospora* 属とされていた病原菌を除くとする von Arx (1983) の立場を支持している。しかし, *Tapesia* 属と同属とされている *Mollisia* (Fr.) P. Kast が属名として広く使われているため, *Tapesia* 属の種は *Mollisia* 属への移動を必要とされた (Hawksworth and David, 1989)。

Crous *et al.* (2003) は, ムギ類眼紋病菌の分類学的位置を明らかにするために, *Tapesia* 属, *Mollisia* 属および *Ramulispora* 属に属する代表的な菌の rDNA スペーサー領域 (ITS1, 5.8S および ITS2) の塩基配列を比較解析した。その結果, 眼紋病菌およびその関連菌は *Tapesia* 属および *Mollisia* 属とともに *Helotiales* 目を構成するグループに, *Ramulispora* の基準種である *Ramulispora sorghi* および *Mycosphaerella* 属は *Mycosphaerellales* 目を構成するグループに, それぞれ明瞭に分けられ, コムギ眼紋病菌を *Ramulispora* 属としないことが示された。

*Helotiales* 目の中では, *Tapesia* 属は *Mollisia* 属によるクラスターに含まれ, 眼紋病菌とは距離の遠いクラスターに明瞭に分かれ, 眼紋病菌を *Tapesia* 属としないことが提唱された。これらの結果から, コムギ眼紋病菌およびその関連菌に *Oculimacula* という新しい属名が提案され, アナモルフは *Helgardia* とされた (Crous *et al.*, 2003)。

以上の研究史を踏まえて本研究ではコムギ眼紋病菌を *Oculimacula yallundae* および *Oculimacula acufiformis* とする。

コムギ眼紋病の発生生態に関しては英国など西ヨーロッパにおける報告が多い (Fitt *et al.*, 1988)。コムギ眼紋病の第一次伝染はほ場における前作の罹病残渣で, ここに形成された分生子が雨滴によって飛散し, コムギに感染するとされている (Fitt and Bainbridge, 1983; Soleimani *et al.*, 1996)。また, 分生子の飛散はごく短距離に限られ, 長距離の飛散はほとんどないことが明らかにされている (Fitt and Bainbridge, 1983, Fitt and Nijman, 1983)。分生子の形成適温は低く, 10°C 以下の 5°C とされている (Higgins and Fitt, 1984; Fitt *et al.*, 1988)。また, 感染の適温も 6~10°C と比較的低いことが明らかにされている (Lange de la Camp, 1966b; Schrödter and Fehrmann, 1971; Clarkson, 1981)。国内では, 古屋・松本 (1996) によって本州北部日本海における調査が報告されているが, 北海道における発生生態に関する報告は少ない。

薬剤による防除は, ベンゾイミダゾール系薬剤

(Witchalls and Close., 1971; Bruehl and Cunfer, 1972; 沢崎・佐藤 1988; 篠田, 1988), DMI 剤 (ステロール脱メチル阻害剤) (Gallimore *et al.*, 1987; Leroux and Gredt, 1997; Parnell *et al.*, 2008) に関する報告が数多くある。

耕種的対策については, 輪作, 栽培法 (Glynne and Slope, 1959; Glynne, 1963; Fitt *et al.*, 1990) に関する報告がある。抵抗性品種については, Murray and Bruehl (1983), Murray and Bruehl (1986) など主に北米における報告がある。

### 第3章 病原菌

#### 第1節 病原菌の同定

##### 目的

北海道各地から分離されたコムギ眼紋病菌の菌学的性状および病原性を明らかにする。

##### 材料および方法

##### 1. 病原菌の分離

罹病植物からの病原菌の分離は以下の方法で行った。1989年6~7月に北海道内のコムギほ場から発病株の稈を採集し、冷蔵庫内で保存した。発病サンプルの独立した病斑の病変部と健全部の境を約5mm四方に切り取り、70%エタノールで約30秒間、1%次亜塩素酸ナトリウム水溶液で約30秒間表面殺菌した後、滅菌水で洗浄し、滅菌濾紙上で余分な水分を除去した。この切片をストレプトマイシン硫酸塩を300ppm加用したジャガイモ煎汁寒天培地（PDA；ジャガイモ200g

の煎汁、ブドウ糖20g、寒天15g、蒸留水1l）に置床して22°Cで2週間培養し、生育した菌叢先端部をPDA平板培地に移植した。

##### 2. 病原菌の同定

道内各地から収集した菌株から、1989年に8支庁20市町村から分離した40菌株を選定し、単孢子分離を行った後に試験に供した（第3-1-1表）。

各供試菌株をPDA平板培地上で25°Cで1週間培養し、直径5mmのコルクボーラーで菌叢を打ち抜き、別のPDA平板培地に移植した。培養は22°Cで行い、生育した菌叢の直径を培養3週間後と4週間後に計測し、1日あたりの菌糸伸長速度を算出した。

分生子の形態は古屋（1984）の方法にしたがって形成させ、観察した（Chang and Tyler, 1964）。すなわち、供試菌株をPDA平板培地で25°C2週間培養後に、菌叢の辺縁部を直径5mmのコルクボーラーで打ち抜き、菌糸の生育面を上にして素寒天（WA）平板培地

第3-1-1表 供試菌株の分離地<sup>a)</sup>

菌群 培養形態 <sup>b)</sup>				菌群 培養形態 <sup>b)</sup>			
FE型菌 生育が速く全縁平滑 (fast-growing, even-edged type)				SF型菌 生育が遅く不定形羽毛状 (slow-growing, feathery-edged type)			
番号	菌株名	地域	市町村	番号	菌株名	地域	市町村
1	9-1	石狩	当別町	1	19-4	石狩	千歳町
2	52-2	空知	沼田町	2	71-1	留萌	苫前町
3	74-1	留萌	羽幌町	3	125-2	空知	滝川市
4	119-1	留萌	遠別町	4	164-5	上川	士別市
5	145-1	空知	月形町	5	185-5	胆振	厚真町
6	243-3	後志	共和町	6	248-4	後志	留寿都村
7	245-3	後志	京極町	7	187-2	日高	平取町
8	303-2	上川	旭川市	8	227-1	網走	常呂町
9	403-1	桧山	今金町	9	53-1	上川	美瑛町
10	409-1	胆振	伊達市	10	109-1	上川	下川町
11	427-2	空知	美瑛市	11	206-1	網走	美幌町
12	W1	桧山	北桧山町	12	209-2	網走	斜里町
13	10-2	空知	奈井江町	13	217-1	網走	北見市
14	110-2	空知	長沼町	14	230-1	網走	白滝村
15	89-4	胆振	穂別町	15	232-1	網走	佐呂間町
16	157-3	石狩	江別市	16	250-2	後志	真狩村
17	13-1	石狩	新篠津村	17	307-3	上川	東川町
18	113-4	空知	南幌町	18	316-1	上川	上富良野町
19	176-2	日高	平取町	19	436-1	十勝	新得町
20	196-4	胆振	厚真町	20	439-1	十勝	池田町

a) 1989年に分離

b) PDA平板上

上に置いて9°Cで培養した。培養約15日後に含菌寒天ディスクの辺縁あるいはWA平板上に形成された分生子の大きさを測定するとともに形態を観察した。

コムギおよびライムギに対する病原性は Hollins *et al.* (1985) の方法にしたがって行った。すなわち、長さ2~3cmに細断したコムギの稈にジャガイモ煎汁液体培地(PDB; ジャガイモ200gの煎汁, ブドウ糖20g, 蒸留水1l)を容量比で1:1となるように加えてオートクレーブ殺菌(121°C 20分)し、供試菌株のPDA含菌寒天(直径5mm)を移植し、22°Cで1ヶ月間培養して接種源とした。人工培土(北海三共製くみあい粒状培土)を充填した直径12cmの素焼き鉢にコムギ(品種「チホクコムギ」)およびライムギ(品種「春一番」)の種子を10粒ずつ播種し、約10°Cで制御したガラス温室内で1ヶ月間栽培し、2葉期になったものを検定植物とした。培土の表面に接種源を鉢あたり10gの割合で敷き詰め接種を行った。1菌株あたりコムギおよびライムギそれぞれ4鉢を供試した。接種後も同条件で栽培し、1ヶ月後に全株を抜き取って発病程度を調査した。発病程度は Scott (1971) および Hollins *et al.* (1985)による以下の調査基準にしたがって調査した。発病指数 0: 子葉鞘に病斑, 1: 子葉鞘が貫通, 2: 第一葉鞘に病斑, 3: 第一葉鞘が貫通, 4: 第二葉鞘に病斑, 5: 第二葉鞘が貫通, 6: 第三葉鞘に病斑, 平均発

病指数 =  $\Sigma$  (発病程度別茎数 × 指数) / (調査茎数)

### 結果

1989年に10支庁77市町村235ほ場から1017菌株, 1992年に11支庁96市町村320ほ場から1931菌株を得た。

北海道で分離されたコムギ眼紋病菌には、その培養形態からPDA平板上で生育が速く菌叢の先端が全縁平滑の菌群 (fast-growing, even-edged type: FE型), 生育が遅く菌叢の先端が不定形羽毛状の菌群

(slow-growing, feathery-edged type: SF型)の2菌群があった(第3-1-1表, 図版3)。生育速度はFE型菌が1.9-3.5(平均2.6)mm/日, SF型菌が0.5-1.4(平均0.9)mm/日で差が認められ、両者の識別は可能であった。

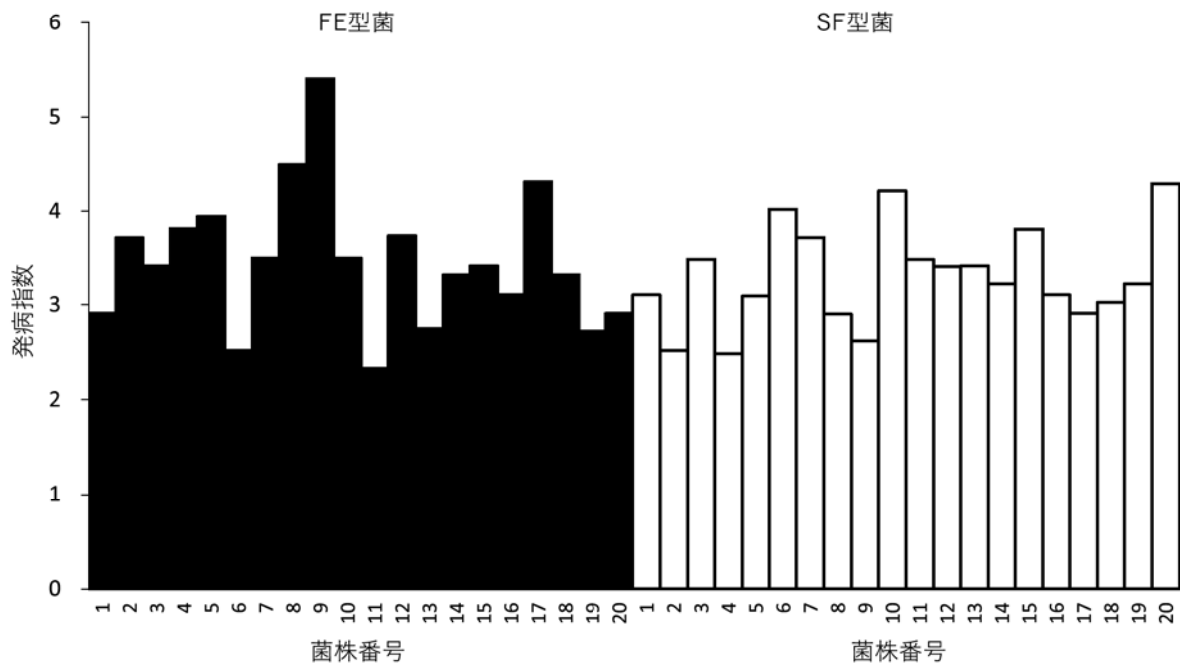
分生子の大きさおよび隔膜数は、FE型菌が長さ35.4-96.0(平均63.2)×幅1.0-2.0(平均1.5)μm, 3-7, SF型菌が長さ41.2-118.3(平均70.1)×幅1.0-2.1(平均1.6)μm, 3-7で、FE型菌がやや大きかったがその差はわずかであった。分生子の形態はFE型菌が直線状からややカーブするもの, SF型菌は直線状のものが多かったが、連続的な差であった(第3-1-2表)。これらの分生子の大きさおよび形態から両者を明確に区別するのは困難であった(図版4)。

第3-1-2表 北海道から分離されたコムギ眼紋病菌の分生子の大きさと形態

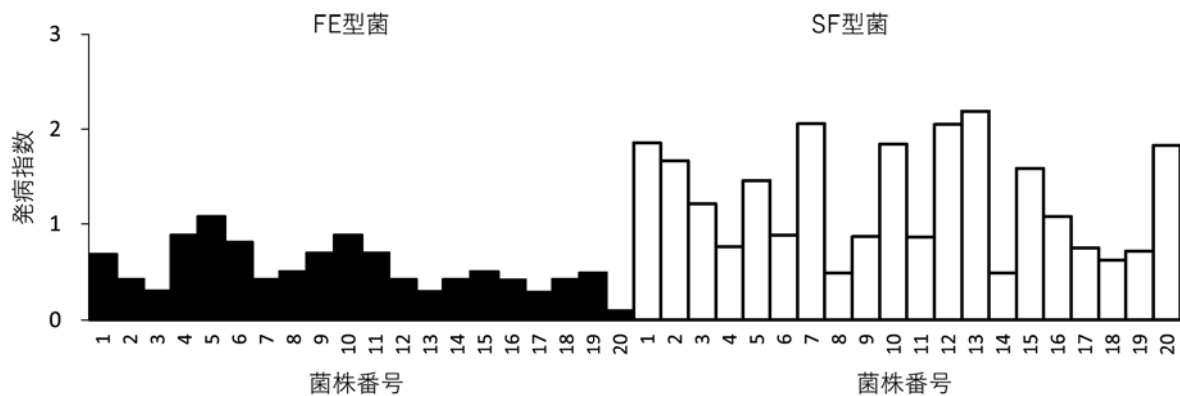
菌群または菌種	長さ (μm)	幅 (μm)	隔膜数	形態
FE型菌	35.4-96.0 (63.2) <sup>a)</sup>	1.0-2.0	3-7	直線状~カーブ状
SF型菌	41.2-118.3 (70.1)	1.0-2.1	3-7	直線状
<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i> var. <i>herpotrichoides</i> <sup>b)</sup>	35.0-80.0 (51.7)	1.5-2	4	直線状~カーブ状
<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i> var. <i>aciformis</i> <sup>b)</sup>	43.0-120.0 (65.8)	1.2-2.3	4-6	直線状
<i>Pseudocercospora anguioides</i> <sup>b)</sup>	80.0-200.0 (152.0)	1.0-1.5	6-8	直線状
<i>Pseudocercospora aestiva</i> <sup>b)</sup>	15.0-32.0 (23.6)	1.0-1.5	3	カーブ状

a) 平均値

b) Nirenberg (1981)



第3-1-1図 北海道から分離されたコムギ眼紋病菌のコムギに対する病原性



第3-1-2図 北海道から分離されたコムギ眼紋病菌のライムギに対する病原性

FE型菌およびSF型菌のコムギにおける発病指数はそれぞれ2.3~5.4(平均3.5)および2.5~4.3(平均3.3)と両菌群ともに強い病原性を示した。一方、ライムギにおける発病指数はコムギに比べて低く、FE型菌が0.1~1.1(平均0.6)、SF型菌が0.5~2.2(平均1.3)とSF型菌で病原性が強い傾向が認められたが、両菌群の発病指数は一部の菌株で逆転している、その差は明瞭ではなかった(第3-1-1図、第3-1-2図)。

#### 考察

北海道内から分離されたコムギ眼紋病菌の性質を調

査した結果、培養形態からFE型菌およびSF型菌の2菌群が確認された。これら2菌群は培養形態から容易に識別できるが、分生子の大きさおよび形態、コムギおよびライムギに対する病原性は識別が不明確である。

わが国で最初に分離されたコムギ眼紋病菌は*Pseudocercospora herpotrichoides*と同定されたが(古屋, 1984; 宮島・斉藤, 1984)、これらの報告における菌株は本試験におけるFE型菌群に相当する。その後、北海道においてSF型菌も分離されている(竹内ら, 1990; 古屋ら, 1993)。これら2菌群をNierenberg(1981)の記載と比較すると(第3-1-2表)、FE型菌およびSF

型菌は、培養性状および分生子の形態から、分生子の大きさがやや小さいものの、それぞれ *P. herpotrichoides* var. *herpotrichoides* および *P. herpotrichoides* var. *acuformis* と一致した。さらに、培養形態およびコムギおよびライムギに対する病原性の違いから（第 3-1-1 図、第 3-1-2 図）、FE 型菌および SF 型菌はそれぞれ Lange de la Camp (1966a) および Scott *et al.* (1975) による *P. herpotrichoides* の W タイプおよび R タイプに相当する。

以上の結果から、北海道から分離されたコムギ眼紋病菌は、Crous *et al.* (2003) の記載に従い、FE 型菌を *Oculimacula yallundae* (Wallwork & Spooner) Crous & W. Gams (アナモルフ: *Helgardia herpotrichoides* (Fron) Crous & W. Gams), SF 型菌を *Oculimacula acuformis* (Boerema, R. Pieters & Hamers) Crous & W. Gams (アナモルフ: *Helgardia acuformis* (Nirenberg) Crous & W. Gams) と同定した。

## 第 2 節 系統解析

### 第 1 項 DNA 類縁性

#### 目的

コムギ眼紋病菌 *Oculimacula yallundae*, *Oculimacula acuformis* およびこれらの近縁種との遺伝的関係を解明するために DNA 類縁性を調査した。

#### 材料および方法

##### (1) 供試菌株

日本国内、ヨーロッパ、アメリカ合衆国、南アフリカ、ニュージーランドから分離されたコムギ眼紋病菌 *Oculimacula yallundae* (アナモルフ: *Helgardia yallundae*, syn. *Pseudocercospora herpotrichoides*) 6 菌株および *Oculimacula acuformis* (アナモルフ: *Helgardia acuformis*, syn. *Pseudocercospora herpotrichoides*) 4 菌株、比較のために *Helgardia anguioides* (syn. *Pseudocercospora anguioides*) および *Helgardia aestiva* (syn. *Pseudocercospora aestiva*) を各 1 菌株、合計 12 菌株を供試した(第 3-2-1 表)。 *O. yallundae* には Cunningham (1965, 1981) による C タイプを含む。

コムギ眼紋病菌 *O. yallundae* および *O. acuformis* は PDA 平板上の培養性質に基づいて識別した。培養性質は PDA (Difco) 平板上で 22°C 3 週間培養して調査した。ベンゾイミダゾール耐性は竹内ら (1990) の方法で 2ppm のベノミルを含む PDA 平板上における生育で

判定した。

##### (2) 核 DNA の抽出

コーンミール寒天培地 (CMA) 平板上で 22°C 14 日間培養した本菌の菌叢を殺菌水とともにかき取り、MM 培地 (Thomas *et al.*, 1992) に接種して 22°C 7~10 日間培養した。培養菌体を殺菌水で洗浄しながら濾紙 (Toyo No. 2) を用いてブフナーロートで集菌し、濾紙で 1 分に水分を取った後、凍結乾燥した。

全 DNA の抽出は Panabieres *et al.* (1989) を改変した方法で行った。凍結乾燥菌体 5~10g を乳鉢で磨砕し、この菌体パウダー 200~250mg をエッペンドルフチューブに入れて、0.5% (v/v) の Nonidet P40 を含む NTE (100mM NaCl, 30mM Tris-HCl, 10mM EDTA, 10mM 2-mercaptoethanol, pH 8.0) 1ml に懸濁した。この懸濁液を 6,700g で 1 分間遠心した沈殿を NSE (100mM NaCl, 200mM sucrose, 10mM EDTA, pH 4.4) 0.7ml に懸濁し、TES (10mM Tris-HCl, 250mM EDTA pH 9.2, 2.5% SDS) 0.17ml を加えた。55°C で 30 分間インキュベートし、6,700g で 30 分間遠心分離した。上清を等量の飽和フェノール:クロロホルム:イソアミルアルコール (50:48:2) を加えて転倒混和し、10,000 rpm 15 分間の冷却遠心で分離、この操作を 2 回繰り返した。上清に等量の 99% エタノールを添加して DNA を沈殿させ、70% エタノールで 2 回洗浄し、エタノールを蒸発させた。DNA 沈殿を TE (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA(2Na), pH 8.0) 0.8ml に懸濁溶解し、RNase 10 $\mu$ g, protcnase K 360 $\mu$ g を加え 37°C で 2 時間インキュベートした。等量のクロロホルム:イソアミルアルコール (48:2) を入れて転倒混和し、6,700g で 10 分間の冷却遠心分離した。上清を 0.1 容の 3M 酢酸ナトリウムを加え混合後、0.54 容のイソプロピルアルコールを加えて沈殿させ、70% エタノールで 2 回洗浄した後、風乾した。

全 DNA から核 DNA の精製は Garber and Yoder (1983) の方法によった。得られた全 DNA を 5 $\times$ TE 7.5ml に溶解し、遠心管に CsCl 8.8g, Bisbenzimidazole 60 $\mu$ l (50 $\mu$ g/ $\mu$ l) を加えて攪拌混合した。CsCl を加えた DNA は屈折率 1.3960 に調整し、18°C で 91,000g 48 時間の超遠心分離 (Hitachi, 70P-73) を行った。核 DNA のバンドを紫外線照射下で確認し、5ml の注射器で回収した。CsCl の除去するため、1M NaCl と飽和イソプロパノール (1:1) の混合液を等量加え、穏やかに混合後静置し、上清を捨てる操作を 4~5 回繰り返した。CsCl を除去後、TEN (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, 25mM NaCl, pH 8.0) で 4 倍量に希釈し、2 倍量の 95% エタノールを加えて DNA を沈殿させた。DNA 沈殿を 70% エタノールで洗



第3-2-1表 供試菌株

菌株名	菌種 (分離時)	分離源	分離地 (国)	培養形態 <sup>a)</sup>		ペンゾ イミダゾール 耐性 <sup>b)</sup>
				菌糸伸長速度 mm/日	短径/長径	
<i>Oculimacula yallundae</i>						
63987 (ATCC60972)	<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i> var. <i>herpotrichoides</i>	オオムギ	ドイツ	1.38	0.98	s
56S	<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i> , FE型菌	コムギ	日本	1.28	0.98	s
421/88	<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i> , Wタイプ	不明	ニュージーランド	1.37	0.98	r
854/87	<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i> , Wタイプ	不明	アメリカ合衆国	1.22	0.98	s
1337/91	<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i> , Wタイプ	不明	南アフリカ共和国	1.15	0.99	s
D82 (ATCC44614)	<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i> , Cタイプ	オオムギ	アイルランド	1.62	0.99	s
<i>Oculimacula aciformis</i>						
63998 (ATCC60973)	<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i> var. <i>aciformis</i>	ライムギ	ドイツ	0.72	0.69	r
9283-3	<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i> , SF型菌	コムギ	日本	0.28	0.39	r
956/91	<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i> , Rタイプ	不明	フランス	0.54	0.56	r
397/91	<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i> , Rタイプ	不明	英国	0.30	0.40	s
<i>Helgardia anguioides</i>						
63996 (ATCC60971)	<i>Pseudocercospora anguioides</i>	コムギ	ドイツ			s
<i>Helgardia aestiva</i>						
64002 (ATCC62012)	<i>Pseudocercospora aestiva</i>	コムギ	ドイツ			s

a) PDA平板上で22°C3週間培養

b) ペノミル2ppmにおける生育で判定, s: 感受性, r: 耐性

浄した後、風乾し、TE に溶解して以下の実験に供した。

### (3) DNA-DNA 再会合反応

核 DNA の類縁性は Seidler and Mandel (1971), Seidler *et al.* (1975) の方法を改良した Kuninaga and Yokosawa (1982a, b) の DNA-DNA 再会合反応速度解析法によって行った。

再会合反応速度を速めるために 20% DMSO を加えた 5×SSC (Standard saline citrate : 0.15M NaCl, 15mM Trisodium citrate pH 7.0) に供試 DNA を溶かし、氷冷しながら超音波装置 (Branson Sonifier, Model B-12) を用いて出力 35W で 150 秒間の超音波処理で分子量 5×10<sup>5</sup> Da 程度 (約 900bp, ほぼ一遺伝子に相当) に断片化した。

再会合反応速度の測定は昇降温式自記分光光度計 (MPS-5000, 島津) を用いて行った。260nm の吸光度で 75~86μg/ml になるように濃度調整をした DNA 試料を単独 (900μl) または異なる菌株を等量混合 (各 450μl) して石英マイクロセル (4×10×40mm) に入れ、試料水分の蒸発を防ぐためにセルを封入した。DNA 試料を解離させて一本鎖にするため、封入したセルごと 98°C の熱湯に入れて 10 分間熱処理した。処理後ただちに一定の温度に調整したセルホルダーに入れ、260nm の一定波長における吸光度の変化を測定した。反応速度は、20% DMSO を含む 5×SSC 溶液における再会合反応の最適温度、T<sub>m</sub>-25°C とした (Kuninaga and Yokosawa, 1982a, b)。反応時間の経過とともに一本鎖 DNA が再び二本鎖 DNA になる状態を吸光度の減少として、DNA 試料の 50% が二本鎖に再会合するまで吸光度を記録した。この吸光度の減少に要する時間を測定し、DNA 試料が 50% 再会合したときの値を Cot<sub>1/2</sub> とした。

### (4) データ解析

菌株間の DNA 類縁性は Cot<sub>1/2</sub> 値を基に計算した。菌株 A, B および A と B を等量混合した DNA 試料の Cot<sub>1/2</sub> 値をそれぞれ Cot<sub>1/2</sub><sup>A</sup>, Cot<sub>1/2</sub><sup>B</sup>, Cot<sub>1/2</sub><sup>Mix</sup> とし、Seidler and Mandel (1971) の式によって算出した。

DNA 類縁性 (%)

$$= [ 1 - (Cot_{1/2}^{Mix} + (Cot_{1/2}^{100} - Cot_{1/2}^0) / Cot_{1/2}^{100}) ] \times 100$$

$$Cot_{1/2}^{100} = 1/2 (Cot_{1/2}^A + Cot_{1/2}^B)$$

$$Cot_{1/2}^0 = Cot_{1/2}^A + Cot_{1/2}^B$$

## 結果

コムギ眼紋病菌 *Oculimacula yallundae*, *Oculimacula acufiformis* およびその類縁菌 *Helgardia anguioides*,

*Helgardia aestiva* の核 DNA の類縁性は第 3-2-2 表に示した。非加重平均距離法 (UPGMA 法, Sneath and Sokal, 1973) による DNA 類縁性に基づく系統樹を第 3-2-1 図に示した。

*O. yallundae* および *O. acufiformis* 同種内の DNA 類縁性は、分離地が世界各国に及んでいるのにも関わらず *O. yallundae* 6 菌株間で 82~97%, *O. acufiformis* 4 菌株間で 93~99% と高かった。*O. yallundae* と *O. acufiformis* との間では 24~34% であった。*O. yallundae* および *O. acufiformis* と *H. anguioides* および *H. aestiva*, *H. anguioides* と *H. aestiva* との間の DNA 類縁性は 0~24% と低かった。

## 考察

核 DNA の再会合反応による *O. yallundae* と *O. acufiformis* との間の DNA 類縁性は低く、2 種のコムギ眼紋病菌の間には遺伝的隔離が認められた。この結果はコムギ眼紋病菌内の遺伝的多様性を示唆し、本病原菌を 2 種の異なる病原菌からなることを示し、全 DNA およびリボソーム DNA (rDNA) における制限酵素断片長多型 (RFLP) を用いた Nicholson *et al.* (1991) の報告を支持した。

DNA 類縁性の測定は、微生物の分類学を決定するのに有用である。種の区切りの DNA 類縁性の下限は、細菌 (Johnson, 1984; Wayne *et al.*, 1987) では 60% または 70%, 酵母 (Kurtzman, 1987) では 70% とされている (第 3-2-2 図)。

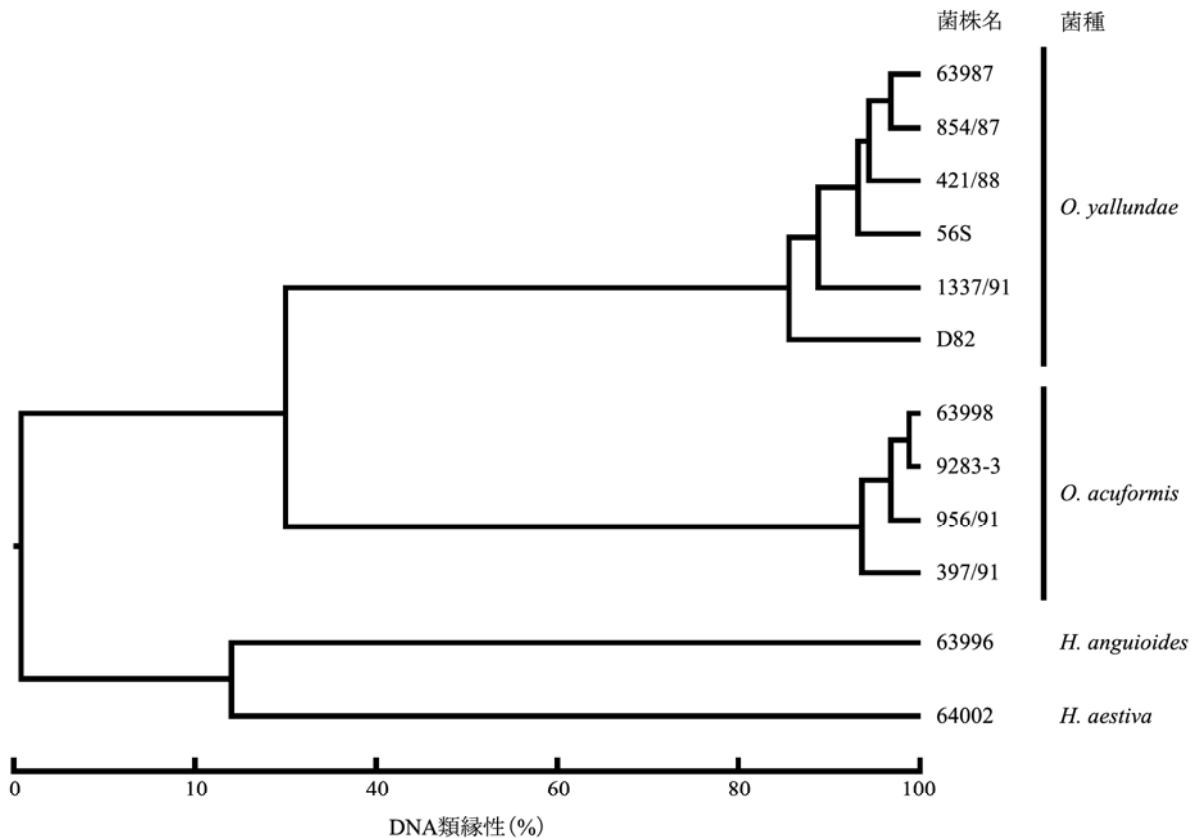
DNA 類縁性の基準は植物病原性の真菌の分類にも適用されており、同種の菌株間の DNA 類縁性は高いことが明らかである。例えば、*Fusarium oxysporum* では 95~100% (Kuninaga and Yokosawa, 1989), *Verticillium dahliae* では 84% 以上 (国永・横沢, 1988), *Phialophora gregata* では 89~100% (Yamamoto *et al.*, 1992), *Alternaria alternata* では 85~95% (国永・横沢, 1987) と報告されている。さらに、比較的高い DNA 類縁性が種レベルより低い分類群内の菌株間で観察されている。*F. oxysporum* の種内の分化型間では 65~95% (Kuninaga and Yokosawa, 1989), *P. gregata* の分化型間では 65~71% (Yamamoto *et al.*, 1992) および *A. alternata* の種内の病原型間では 85~95% (国永・横沢, 1987) と報告されている。一方、異なる種に属する分離株間で DNA 類縁性は低く、*F. oxysporum* と *F. solani* の間では 36~48% (Kuninaga and Yokosawa, 1989), *A. alternata* と *Alternaria solani* の間では 10% 以下 (国永・横沢, 1987), *Verticillium dahliae* と *V. albo-atrum* の間では 48

第3-2-2表 *Oculimacula yallundae*, *O. aciformis*, *Helgardia anguioidea* および *H. aestiva* の菌株間におけるDNA類縁性

菌株	<i>O. yallundae</i>				<i>O. aciformis</i>				<i>H. anguioidea</i>		<i>H. aestiva</i>	
	63987	56S	421/88	854/87	1337/91	D82	63998	9283-3	956/91	397/91	63996	64002
<i>O. yallundae</i>												
63987	100	93 <sup>a)</sup>	96	97	91	82	28	27	29	34	0	2
56S		100	94	93	90	85	31	27	29	nt <sup>b)</sup>	0	0
421/88			100	93	86	91	32	28	32	34	nt	2
854/87				100	89	86	30	27	31	nt	nt	nt
1337/91					100	86	26	26	30	34	nt	4
D82						100	31	24	32	33	nt	0
<i>O. aciformis</i>												
63998							100	99	97	93	0	0
9283-3								100	97	94	0	0
956/91									100	95	nt	0
397/91										100	nt	nt
<i>H. anguioidea</i>												
63996											100	24
<i>H. aestiva</i>												
64002												100

a) DNA類縁性, Seder and Mandel(1971)の計算式で算出

b) 未試験



第3-2-1図 *Oculimacula yallundae*, *O. aciformis*, *Helgardia anguioides* および *H. aestiva* の菌株間におけるDNA類縁性に基づくUPGMA法による系統樹

～65% (国永・横沢, 1988) と報告されている (第3-2-2図)。

これらの報告は、異なる分化型および病原型を含む同一種内の菌株間のDNA類縁性が60～70%以上であることを示す。これらの報告に従うと本試験の結果から2種のコムギ眼紋病菌 *O. yallundae* と *O. aciformis* とは遺伝的に分離した明確な別種であることが示された。

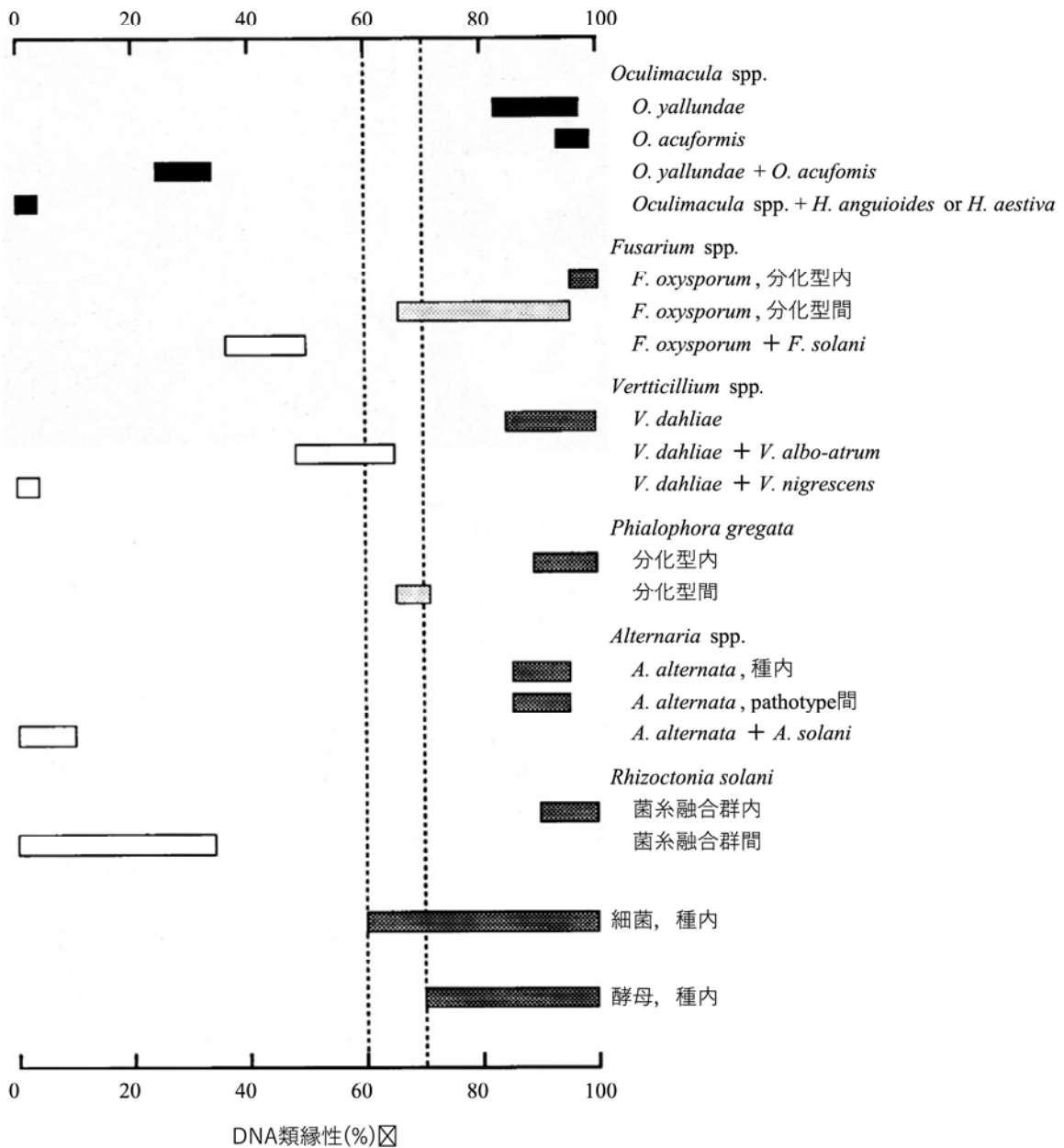
本試験の結果はこれら2種の病原菌が遺伝的に隔離しているとする他の報告を支持している。培養形態で分類され、*O. yallundae* および *O. aciformis* に相当する2菌群の間では菌糸和合性は観察されず、*Pseudocercospora aestiva* (syn. *Helgardia aestiva*) とのいずれの間でも菌糸和合性は観察されなかった (Hocart *et al.*, 1989)。また、2種のコムギ眼紋病菌との間、*P. aestiva* との間では顕微鏡観察で菌糸融合は認められなかった (Nirenberg, 1984)。

2種の病原菌の差異を生化学的および分子生物学的に示す報告もされており、本試験の結果はアイソザイム多型 (佐野ら, 1989; Julian and Lucas, 1990; Priestley *et*

*al.*, 1992), rRNAプロープによるDNA多型 (Nicholson *et al.*, 1991; Priestley *et al.*, 1992) および非特異的DNAプロープによるDNA多型 (Thomas *et al.*, 1992) によって明確に区別されるこれら報告の結果を支持している。

コムギ眼紋病菌のテレオモルフとして *Tapesia yallundae* (Wallwork and Spooner, 1988) および *Tapesia aciformis* (Boerema *et al.*, 1992) が記載され、後にそれぞれ *Oculimacula yallundae* および *Oculimacula aciformis* と再記載されたが、テレオモルフの形態では両者を識別できないことが報告されている (King, 1990)。同様の例が菌糸融合に基づいて少なくとも13個の菌糸融合群 (AG) に分けることができる植物病原菌 *Rhizoctonia solani* (テレオモルフ: *Thanatephorus cucumeris*) で観察されている。これらの菌糸融合群はテレオモルフの形態で区別することができないが、Kuninaga and Yokosawa (1985) は *R. solani* の異なるAG間のDNA類縁性からこれらのAGが生物種として独立していることを示した。

本試験の結果からコムギ眼紋病菌 *O. yallundae* と *O.*



第3-2-2図 植物病原菌類のDNA類縁性, ■:同種, ▨:異分化型間, □:別種

*acufomis* は、遺伝的に隔離された別種からなることが明らかとなった。これら2菌種はアナモルフおよびテレオモルフの形態によって識別することができない。そのため、Takeuchi and Kuninaga (1994) はこれらを別種としないことを提案したが、分子生物学的分類が一般的となった最近では、独立した関係が認められれば別種とすることが広く認知されている。

培養形態から *O. yallundae* に相当する病原菌は1912年に初めて報告され、ヨーロッパ、北アメリカ、南アフリカ、ニュージーランドおよび日本などの温帯地域

に広く分布していることが知られている。さらに本菌は病原性の違いによって W タイプ (Scott and Hollins, 1980; Hollins *et al.*, 1985) の他、C タイプおよび S タイプが報告されている (Cunningham, 1965, 1981; Scott *et al.*, 1976)。

一方、*O. acufomis* に相当する病原菌の最初の報告は1966年 (Lange de Camp, 1966a) または1975年 (Scott *et al.*, 1975) でその分布も広くない。また、本菌では病原性の違いに関する報告はない (Scott and Hollins, 1980; Hollins *et al.*, 1985)。

本研究における DNA 類縁性の解析では *O. yallundae* の菌株間では 82~97% で、*O. acufiformis* の菌株間の 93~99% に比較して、遺伝的に多様であることが示された。同様の結果が rRNA プローブによる制限断片長多型 (RFLP) が *O. yallundae* が *O. acufiformis* より多様であるとする報告で得られている (Nicholson *et al.*, 1991; Priestley *et al.*, 1992)。これらの分子生物学的解析から *O. yallundae* が *O. acufiformis* よりも変異が進んでおり、多様な環境条件に適応した可能性があることを示唆している。

本研究で供試した *Helgardia anguoides* (syn. *Pseudocercospora anguoides*) および *Helgardia aestiva* (syn. *Pseudocercospora aestiva*) は両菌株間で 24% の DNA 類縁性を示し、*O. yallundae* (アナモルフ: *Helgardia yallundae*) および *O. acufiformis* (アナモルフ: *Helgardia acufiformis*) の菌株とは 0~4% であった。これらの結果は分生子の形態に基づいて Nirenberg (1981) が提案した分類基準を支持している。また、これらの種間のアイソザイム多型を比較した結果と一致している (Julian and Lucas, 1990; Priestley *et al.*, 1992)。

## 第 2 項 ミトコンドリア DNA の解析

### 目的

コムギ眼紋病菌 *Oculimacula yallundae*, *Oculimacula acufiformis* およびこれらの近縁種との遺伝的関係を解明するため、ミトコンドリア DNA (mtDNA) の制限酵素断片長多型を調査した。

### 材料および方法

#### (1) 供試菌株

日本国内、ヨーロッパ、アメリカ合衆国、南アフリカ、ニュージーランドから分離されたコムギ眼紋病菌 *Oculimacula yallundae* (アナモルフ: *Helgardia yallundae*, syn. *Pseudocercospora herpotrichoides*) 6 菌株および *Oculimacula acufiformis* (アナモルフ: *Helgardia acufiformis*, syn. *Pseudocercospora herpotrichoides*) 6 菌株、比較のために *Helgardia anguoides* (syn. *Pseudocercospora anguoides*) および *Helgardia aestiva* (syn. *Pseudocercospora aestiva*) を各 1 菌株、合計 14 菌株を供試した (第 3-2-3 表)。*O. yallundae* には Cunningham (1965, 1981) による C タイプを含む。

コムギ眼紋病菌 *O. yallundae* および *O. acufiformis* は PDA 平板上の培養性質に基づいて識別した。培養性質は PDA (Difco) 平板上で 22°C 3 週間培養して調査し

た。ベンゾイミダゾール耐性は竹内ら (1990) の方法で 2ppm のベノミルを含む PDA 平板上における生育で判定した。

#### (2) ミトコンドリア DNA の抽出

全 DNA からミトコンドリア DNA (mtDNA) の抽出は、CsCl-bisbenzimidazole 密度勾配遠心法によって行った (Garber and Yoder, 1983; Pfeifer and Khachatourians, 1989)。

全 DNA を 5×TE 7.5ml に溶解し、遠心管に CsCl 8.8g, Bisbenzimidazole 60μl (50μg/μl) を加えて攪拌混合した。CsCl を加えた DNA は屈折率 1.3960 に調整し、18°C で 91,000g 48 時間の超遠心分離 (Hitachi, 70P-73) を行った。核 DNA の上部に形成される mtDNA のバンドを紫外線照射下で確認し、5ml の注射器で回収した。上記の操作を 2 回繰り返して mtDNA を精製した。CsCl の除去するため、mtDNA の画分に 1M NaCl と飽和イソプロパノール (1:1) の混合液を等量加え、穏やかに混合後静置し、上清を捨てる操作を 4~5 回繰り返した。CsCl を除去後、TEN (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, 25mM NaCl, pH 8.0) で 4 倍量に希釈し、2 倍量の 95% エタノールを加えて DNA を沈殿させた。-20°C で一昼夜保存した後、4°C で 49,600g 20 分間の遠心分離後、TE に溶解した。

#### (3) 制限酵素処理

抽出した mtDNA 溶液 2μl を制限酵素処理した。制限酵素 (Nippon Genc Co. Japan, Toyobo Co. Japan) はメーカー説明書に従って、6 塩基を認識する 9 種類 (*Bgl*II, *Cl*aI, *Eco*RI, *Eco*RV, *Hind*III, *Kpn*I, *Nsi*I, *Pst*I, *Spe*I) を使用した。制限酵素処理はウオーターバスを用いて所定の時間行った。制限酵素処理した DNA 断片は TBE バッファー (0.089M Tris, 0.089M ホウ酸, 0.02M EDTA) (Maniatis *et al.*, 1982) を用い、0.7~1.0% アガロースゲルで電気泳動した。*Hind*III 消化 λDNA をサイズマーカーとして使用した。ゲルはエチジウムブロマイド溶液 (0.5μg/ml) で染色し、紫外線光下で DNA 断片を検出した。

#### (4) データ解析

制限酵素で切断された mtDNA 断片をアガロースゲルで分離した断片長の電気泳動パターンを比較した。制限酵素断片長多型の類似度は、アガロースゲル電気泳動で同じ距離を移動した断片は共通の断片であるとし、2 つの菌株間における共通断片と異なる断片をスコア付けして評価した。菌株間の mtDNA 塩基配列多様性指数 (p 値) は、塩基サイトあたりの塩基置換数の割合によって推定し、Nei and Li (1979) による以下

第3-2-3表 供試菌株

菌株名	菌種 (分離時)	mtDNA タイプ	分離源	分離地 (国)	培養形態 <sup>a)</sup>		ベンゾ イミダゾール 耐性 <sup>b)</sup>
					菌糸伸長速度 mm/日	短径/長径	
<i>Oculimacula yallundae</i>							
63987 (ATCC60972)	<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i> var. <i>herpotrichoides</i>	Ic	オオムギ	ドイツ	1.38	0.98	s
56S	<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i> , FE型菌	Ia	コムギ	日本	1.28	0.98	s
421/88	<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i> , Wタイプ	Ib	不明	ニュージーランド	1.37	0.98	r
854/87	<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i> , Wタイプ	Ia	不明	アメリカ合衆国	1.22	0.98	s
1337/91	<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i> , Wタイプ	Ia	不明	南アフリカ共和国	1.15	0.99	s
D82 (ATCC44614)	<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i> , Cタイプ	Ic	オオムギ	アイルランド	1.62	0.99	s
<i>Oculimacula aciformis</i>							
63998 (ATCC60973)	<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i> var. <i>aciformis</i>	II	ライムギ	ドイツ	0.72	0.69	r
9283-3	<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i> , SF型菌	II	コムギ	日本	0.28	0.39	r
28	<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i> , SF型菌	II	コムギ	日本	0.36	0.60	s
956/91	<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i> , Rタイプ	II	不明	フランス	0.54	0.56	r
397/91	<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i> , Rタイプ	II	不明	英国	0.30	0.40	s
412/89	<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i> , Rタイプ	II	不明	スペイン	0.55	0.65	r
<i>Helgardia anguioides</i>							
63996 (ATCC60971)	<i>Pseudocercospora anguioides</i>	III	コムギ	ドイツ			s
<i>Helgardia aestiva</i>							
64002 (ATCC62012)	<i>Pseudocercospora aestiva</i>	IV	コムギ	ドイツ			s

a) PDA平板上で22°C3週間培養

b) ベノミル2ppmにおける生育で判定, s:感受性, r:耐性

の式で算出した。

$$p = (-\ln F) / r$$

$$F = 2n_{xy} / (n_x + n_y)$$

$n_{xy}$  : 2 菌株間で共通な制限酵素断片数

$n_x, n_y$  : それぞれの菌株の制限酵素断片数

$r$  : 制限酵素が認識する塩基数

$p$  値は各制限酵素が認識する塩基数によって重み付けした平均値から計算した。 $p$  値が低いことは各グループの菌株間の mtDNA の類似度が高いことを示す。

## 結果

供試 14 菌株の mtDNA を 9 制限酵素で消化した断片パターンを第 3-2-4 表に示した。用いた制限酵素のうち、*EcoRI* および *EcoRV* で消化した断片の電気泳動パターンを図版 5 に示した。

これらの結果から mtDNA 制限酵素断片長多型 (RFLP) のタイプおよび平均サイズを第 3-2-5 表に示した。

9 種類の制限酵素処理による mtDNA の断片長パターンは、*O. yallundae* と *O. acufornis* との間で差異が認められた。これらコムギ眼紋病菌 2 種の mtDNA の断片長パターンは *H. anguoides* および *H. aestiva* と大きく異なった。

*O. yallundae* 6 菌株の mtDNA パターンは、6 種類の制限酵素 (*BglII*, *Clal*, *EcoRI*, *HindIII*, *KpnI*, *PstI*) では多型が認められなかったが、*EcoRV*, *NsiI* および *SpeI* では多型が認められた。*O. yallundae* 6 菌株は *EcoRV*, *NsiI* および *SpeI* による断片長パターンによって、Ia タイプ 3 菌株 (56S, 854/87, 1337/91), Ib タイプ 1 菌株 (421/88) および Ic タイプ 2 菌株 (63987, D82) の 3 種類の mtDNA タイプに分けられた (第 3-2-3 表)。*NsiI* では、Ic タイプの 2.7 kb の断片が Ia タイプでは 2.0 kb と 0.7 kb の 2 本の断片に置き換わっていた。*EcoRV* では、Ic タイプの 4.5 kb の断片および Iab タイプの 4.2 kb の断片がそれぞれ Iab タイプでは 2.5 kb と 2.0 kb の 2 本の断片および Ic タイプでは 2.4 kb および 1.8kb の 2 本の断片に置き換わっていた。*SpeI* では Iab タイプの 5.4 kb の断片が Ic タイプでは 4.4 kb と 1.0 kb の 2 本の断片に置き換わっていた。これら制限酵素断片長の多型は、新たな制限酵素サイトの導入によるものであると考えられる。

*O. acufornis* 6 菌株 (mtDNA タイプ II とする) の間には、供試した 9 種類の制限酵素による断片長パターンに差異は認められなかった。

供試菌株間における mtDNA の断片パターンの差異

は Nei and Li (1979) による方法で評価した (第 3-2-6 表)。mtDNA の RFLP 解析結果から推定した類似度の系統樹を非加重平均距離法 (UPGMA: unweighted pair-group method with arithmetic averaging) (Sneath and Sokal, 1973) によって作成した (第 3-2-3 図)。9 種類の制限酵素による断片長パターンは、共通と考えられる断片の数と特異的だと考えられる断片で評価した。

*O. yallundae* 6 菌株では Ia タイプと Ib タイプで 94%, Ia タイプと Ic タイプで 92%, Ib タイプと Ic タイプでは 89% の断片が共有で、mtDNA 塩基配列多様性指数 ( $p$  値) は 0.010~0.020 であった。*O. acufornis* 6 菌株では検出された全ての断片が共通で、 $p$  値は 0.000 であった。

*O. yallundae* と *O. acufornis* との間では比較的高い多型性が認められ、共有する断片は 43% で、 $p$  値は 0.139~0.145 であった。

コムギ眼紋病菌 *O. yallundae* および *O. acufornis* と *H. anguoides* および *H. aestiva* との間では共有する断片は 9~17% と低く、 $p$  値は 0.300~0.401 であった。

制限酵素断片長の合計から推測される *O. yallundae* および *O. acufornis* の mtDNA の平均サイズはほぼ同等で *O. yallundae* が 38.6 kb, *O. acufornis* が 38.4 kb であった (第 3-2-5 表)。*H. anguoides* の mtDNA サイズは *O. yallundae* および *O. acufornis* より小さく 32.5 kb, *H. aestiva* の mtDNA サイズは供試菌株の中で最小の 27.5 kb であった (第 3-2-5 表)。

## 考察

コムギ眼紋病菌の分類学的関係を明らかにするために 9 つの異なる制限酵素を用いた RFLP 解析によって mtDNA 配列の相違を推定した。RFLP 解析は DNA のすべての遺伝的変異を検出しないが、RFLP 解析による塩基配列多様性の推定値は塩基配列の解析 (Nei, 1983) で得られたものと同様であり、より多くの異なる制限酵素を用いて系統的関係を調べることによって精度を高めることができる。mtDNA 塩基配列の遺伝的多様性は  $p$  値の計算によって推定されている (Nei and Li, 1979)。より小さい  $p$  値はより少ない塩基配列の違いに関連するため、密接に関連する真菌は低い  $p$  値を示す。そのため、同じ種または特定の種内の  $p$  値は低い [*Phytophthora megasperma* f. sp. *glycines* (0.025), *Phytophthora cactorum* (0.018) (Förster et al., 1988), *Phytophthora infestans* (0.071 以下) (Carter et al. 1990), *Pythium ultimum* (0.074 以下) (Martin, 1990), *Pythium oligandrum* (0.025 以下) (Martin and Kistler, 1990),



第3-2-4表 *Oculimacula yallundae*, *O. acuformis*, *Helgardia anguioides* および *H. aestiva* の mtDNA制限酵素断片長 (1)

<i>Bgl</i> II				<i>Cla</i> I				<i>Eco</i> RI			
Iabc	II	III	IV	Iabc	II	III	IV	Iabc	II	III	IV
12	—	—	—	17	—	—	—	—	—	—	20
—	—	—	10	—	15	—	—	11	—	—	—
—	7.2	—	—	11	—	—	11	—	—	10	—
6.8	—	—	—	—	—	9.4	—	9.6	9.6	—	—
—	5.6	—	—	—	—	9.4	—	—	—	7.0	—
—	5.6	—	—	—	—	—	9	—	6.5	—	—
5.5	—	—	—	—	8.2	—	—	—	6.4	—	—
—	—	5.2	—	—	—	—	7.5	—	—	6.2	—
—	—	—	5.0	6.5	6.5	—	—	5.8	—	—	—
—	—	4.3	—	—	4.5	—	—	5.0	—	—	—
—	—	—	4.0	—	—	4.2	—	—	—	—	4.7
—	—	—	3.6	4.0	4.0	4.0	—	—	—	3.7	—
3.4	3.4	—	—	—	—	3.0	—	—	3.5	—	—
—	3.4	—	—	—	—	1.5	—	3.4	3.4	—	—
—	—	—	3.1	—	—	1.0	—	—	—	3.3	—
2.8	2.8	2.8	—	—	—	—	—	—	—	2.7	2.7
2.8	2.8	2.8	—	—	—	—	—	—	2.5	—	—
—	—	2.7	—	—	—	—	—	1.8	—	—	—
—	—	2.7	—	—	—	—	—	1.7	1.7	—	—
—	—	2.5	—	—	—	—	—	—	1.6	—	—
—	—	2.5	—	—	—	—	—	—	1.2	—	—
—	2.4	—	—	—	—	—	—	—	1.1	—	—
2.3	—	—	—	—	—	—	—	—	0.7	—	—
—	—	2.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	1.9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	1.8	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1.7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	1.6	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1.4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	1.3	—	—	—	—	—	—	—	—
—	1.2	1.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	0.9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	0.85	—	—	—	—	—	—	—	—
—	0.8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	0.7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	0.65	—	—	—	—	—	—	—	—	—

mtDNAタイプは第1表に示したとおり (Iabc=Ia, Ib, Ic ; Iab=Ia, Ib)

表中の数値は断片長 (kb)

同一の数値の断片長は電気泳動ではほぼ同じ位置または2倍の強度の断片によって示される

第3-2-4表 *Oculimacula yallundae*, *O. acufomis*, *Helgardia anguioides* および *H. aestiva* の  
mtDNA制限酵素断片長 (2)

<i>Eco</i> RV					<i>Hin</i> dIII				<i>Kpn</i> I			
Iab	Ic	II	III	IV	Iabc	II	III	IV	Iabc	II	III	IV
—	—	16	—	—	—	—	—	11.5	—	—	—	21
—	—	—	—	12.5	9.5	—	—	—	16	16	—	—
—	—	—	9.0	—	—	8.8	8.8	—	—	—	15	—
7.2	7.2	—	—	—	—	8.6	—	—	—	13	—	—
—	—	—	7.0	—	8.5	—	—	—	12	—	—	—
6.3	6.3	6.3	—	—	6.8	—	—	—	11	—	—	—
—	—	—	5.8	—	—	—	5.8	—	—	—	9.6	—
5.2	5.2	—	—	5.2	—	—	5.2	—	—	9.0	—	—
—	—	—	—	5.0	—	—	4.0	—	—	—	8.0	—
—	4.5	—	—	—	3.8	3.8	—	—	—	—	—	6.8
4.2	4.2	—	—	—	—	3.6	—	3.6	—	—	—	—
4.2	—	—	—	—	—	3.2	—	—	—	—	—	—
—	—	—	3.7	—	—	—	—	3.1	—	—	—	—
—	—	3.3	—	—	3.0	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	3.2	—	—	—	2.8	—	—	—	—
—	—	—	3.0	—	—	—	2.6	—	—	—	—	—
2.9	2.9	2.9	—	—	—	2.2	—	—	—	—	—	—
2.6	2.6	2.6	—	—	—	2.2	—	—	—	—	—	—
2.5	—	2.5	2.5	—	2.0	—	—	—	—	—	—	—
—	2.4	—	—	—	—	—	1.9	—	—	—	—	—
2.0	—	2.0	—	—	1.6	1.6	—	—	—	—	—	—
—	1.8	1.8	—	—	—	—	1.5	1.5	—	—	—	—
—	—	—	—	1.0	1.4	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	0.9	—	—	—	1.3	1.3	—	—	—	—
—	—	—	0.9	—	1.2	1.2	—	1.2	—	—	—	—
—	—	—	—	0.75	—	1.2	—	—	—	—	—	—
0.7	0.7	0.7	—	—	1.1	—	—	—	—	—	—	—
0.6	0.6	0.6	—	—	—	—	—	1.0	—	—	—	—
						0.85	—	—	—	—	—	—
						—	—	0.8	—	—	—	—
						—	0.75	—	—	—	—	—
						—	0.7	0.7	—	—	—	—
						—	0.6	—	0.6	—	—	—

第3-2-4表 *Oculimacula yallundae*, *O. acuformis*, *Helgardia anguioides* および *H. aestiva* の mtDNA制限酵素断片長 (3)

<i>Nsi</i> I						<i>Pst</i> I				<i>Spe</i> I				
Ia	Ib	Ic	II	III	IV	Iabc	II	III	IV	Iab	Ic	II	III	IV
14	14	—	14	—	—	—	17	—	—	—	—	—	12	—
11	11	11	—	—	—	—	—	—	16	10	10	10	—	—
—	—	—	10.5	—	—	15	—	—	—	—	—	—	7.5	—
—	—	—	—	—	10	12	—	—	—	—	—	5.8	—	—
—	—	—	—	9.5	—	—	—	—	11.5	5.4	—	—	—	—
—	—	9.2	—	—	—	—	10	—	—	—	—	—	—	4.8
—	—	6.5	—	6.5	—	—	—	9.5	—	—	—	—	—	4.6
—	—	—	—	5.8	—	8.5	—	—	—	—	4.4	—	—	—
—	—	—	5.2	—	—	—	8.2	—	—	—	—	4.2	—	—
5.1	5.1	—	—	—	—	—	—	8.0	—	4.0	4.0	—	—	—
—	—	—	—	4.5	—	—	—	7.5	—	—	—	—	—	3.5
—	—	4.2	—	—	—	—	—	2.2	—	3.4	3.4	3.4	—	—
—	—	—	—	—	3.4	—	—	2.1	—	—	—	—	3.2	—
—	—	—	—	—	2.8	1.6	1.6	1.6	—	3.0	3.0	—	—	—
—	2.7	—	2.7	—	—	1.5	1.5	1.5	—	—	—	—	2.5	—
2.5	2.5	2.5	2.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2.3
—	—	—	—	—	2.4	—	—	—	—	2.2	2.2	2.2	—	—
—	—	—	—	—	2.2	—	—	—	—	—	—	—	—	1.8
2.0	2.0	2.0	2.0	—	—	—	—	—	—	1.6	1.6	1.6	—	—
2.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.4
—	—	—	—	1.7	1.7	—	—	—	—	1.3	1.3	1.3	1.3	—
—	—	—	—	1.4	1.4	—	—	—	—	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2
—	—	1.3	—	1.3	1.3	—	—	—	—	—	—	—	1.2	—
1.2	1.2	1.2	1.2	—	—	—	—	—	—	1.1	1.1	1.1	—	1.1
—	—	—	—	—	1.1	—	—	—	—	—	1.0	—	1.0	1.0
—	—	—	—	—	0.85	—	—	—	—	0.95	0.95	0.95	—	—
—	—	—	—	0.75	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.85
0.7	—	—	—	—	0.7	—	—	—	—	0.82	0.82	0.82	0.82	—
—	—	0.6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.8	0.8
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.76	0.76	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.75	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.72	0.72	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.7
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.68	0.68	0.68
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.66	0.66	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.55	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.54	0.54	—	0.54	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.52	0.52	—	—	—

第3-2-5表 *Oculimacula yallundae*, *O. acufiformis*, *Helgardia anguioides* および *H. aestiva* のmtDNAゲノムサイズ

菌種	mtDNA タイプ	mtDNAゲノムサイズ(kb)									平均
		<i>Bgl</i> II	<i>Cla</i> I	<i>Eco</i> RI	<i>Eco</i> RV	<i>Hin</i> dIII	<i>Kpn</i> I	<i>Nsi</i> I	<i>Pst</i> I	<i>Spe</i> I	
<i>O. yallundae</i>	Ia, Ib, Ic	38.7	38.5	38.3	38.4	38.9	39.0	38.5	38.6	38.2	38.6
<i>O. acufiformis</i>	II	38.6	38.2	38.2	38.7	38.6	38.0	38.1	38.3	38.9	38.4
<i>H. anguioides</i>	III	32.8	32.5	32.9	32.8	32.6	32.6	31.5	32.4	32.7	32.5
<i>H. aestiva</i>	IV	27.9	27.5	27.4	27.7	27.4	27.8	27.9	27.5	26.2	27.5

第3-2-6表 *Oculimacula yallundae*, *O. acufiformis*, *Helgardia anguioides* および *H. aestiva* のmtDNAの制限酵素断片長多型

菌種	<i>O. yallundae</i>			<i>O. acufiformis</i>	<i>H. anguioides</i>	<i>H. aestiva</i>
	mtDNAタイプ					
mtDNAタイプ	Ia	Ib	Ic	II	III	IV
<i>O. yallundae</i>						
Ia	74/148 <sup>a)</sup>	70/149	68/148	34/157	10/148	6/132
Ib	0.94/0.010 <sup>b)</sup>	75/150	66/149	33/158	12/149	6/133
Ic	0.92/0.014	0.89/0.020	74/148	34/157	10/148	6/132
<i>O. acufiformis</i>						
II	0.43/0.139	0.42/0.145	0.43/0.139	83/166	13/157	7/141
<i>H. anguioides</i>						
III	0.14/0.334	0.16/0.304	0.14/0.334	0.17/0.300	74/148	10/132
<i>H. aestiva</i>						
IV	0.09/0.400	0.09/0.401	0.09/0.400	0.10/0.385	0.15/0.315	58/116

a) 上段：共通断片数／全断片数

b) 下段：F値／p値；F値＝共通断片の割合；p値＝塩基多様性指数 (Nei and Li, 1979)

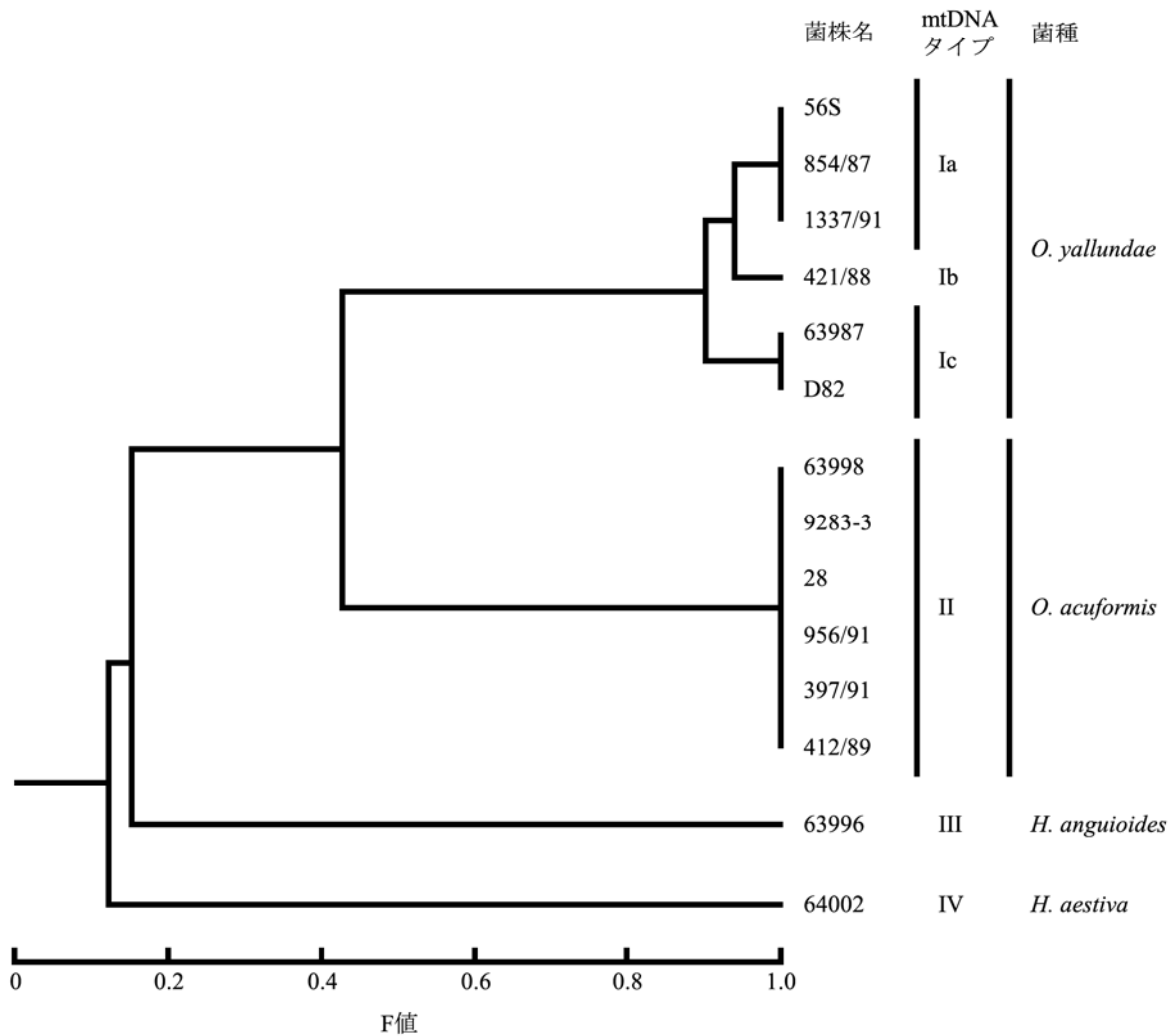
*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (0.056 以下)(Kuninaga and Yokosawa, 1992), *Phialophora gregata* f. sp. *adzukicoca* (0.002 以下) および f. sp. *sojae* (0.046 以下) (Yamamoto et al., 1993)].

遺伝的に分化した異なる種間で mtDNA の高い塩基配列の多様性が観察されている。例えば, *Phytophthora megasperma*, *P. parasitica*, *P. cryptogea* および *P. cactomm* の間の p 値は 0.081~0.181 (Förster et al., 1988) および *Pythium* spp. の種間の p 値は 0.067~0.316 の範囲であった (Martin and Kistler, 1990)。これら報告の結果は、同種または同じ分化型内の菌株間の mtDNA の塩基配列の多様性は約 0.07~0.08 以下の p 値を示すことを示唆している。

本研究では *O. yallundae* および *O. acufiformis* の菌株間に高い p 値 (0.139~0.145) が観察された (第 3-2-6 表)。この結果はこれら病原菌が別々の種に対応した遺伝的に異なる分類学的集団であることを示す。

今回の結果は、DNA-DNA ハイブリダイゼーションによるコムギ眼紋病菌の DNA 類縁性を調べた第 1 項

の結果と一致する。DNA 類縁性の解析結果では、コムギ眼紋病菌は主に培養形態に基づいて識別され、遺伝的に隔離された *O. yallundae* および *O. acufiformis* の 2 種で構成されていることが示された (Takeuchi and Kuninaga, 1994)。これは、アイソザイム多型 (Julian and Lucas, 1990; Priestley et al., 1992), rRNA プロープによる DNA 多型 (Nicholson et al., 1991; Priestley et al., 1992; Nicholson et al., 1993), 非特異 DNA プロープ (Thomas et al., 1992), mtDNA プロープ (Nicholson et al., 1993), RAPD 解析 (Nicholson and Rezanoor, 1994) による結果を支持している。さらに、DNA 類縁性および mtDNA 分析による結果は、遺伝的多様性に関する他の報告と一致する。*P. herpotrichoides* の 2 菌群の間で菌糸和合性は観察されず (Hocart et al., 1989; di San Lio et al., 1994), 菌糸融合は検出されなかった (Nirenberg, 1984)。Dyer et al. (1994a) および Nicholson et al. (1995) は、*O. yallundae* および *O. acufiformis* にそれぞれ相当する W タイプと R タイプの菌株間で不和合性を示すことを報告し、これは本病原菌には遺伝的に独立した 2 種が存



第3-2-3図 *Oculimacula yallundae*, *O. acuformis*, *Helgardia anguioides* および *H. aestiva* の菌株間におけるmtDNAの制限酵素断片長多型に基づくUPGMA法による系統樹

在するという本研究の結果を支持している。

多様な地理的起源および異なる病原型の菌株を含む *O. yallundae* および *O. acuformis* の種内の mtDNA において、*O. yallundae* に多様性が認められたが、*O. acuformis* には認められなかった。

*O. yallundae* に相当する *P. herpotrichoides* には、W タイプ、C タイプおよび S タイプの病原型を含むとされている (Cunningham, 1965, 1981; Scott *et al.*, 1976). しかし、これらは宿主に対する病原性の適応能力に差が生じているものの (Scott *et al.*, 1976; Scott and Hollins, 1977, 1980), 連続的な変異であり、別個の分化型として明確な病原性の違いはない。さらに、これら病原型は DNA-DNA ハイブリダイゼーション (Takeuchi and Kuninaga, 1994), mtDNA の RFLP 分析および rRNA プローブ (Nicholson *et al.*, 1991; Priestley *et al.*, 1992;

Nicholson *et al.*, 1993) および mtDNA プローブ

(Nicholson *et al.*, 1993) による DNA 多型で区別できない。C タイプの菌株はエステラーゼアイソザイム多型 (Priestley *et al.*, 1992) およびいくつかのプライマーによる RAPD パターン (Nicholson and Rezanoor, 1994; Nicholson *et al.*, 1995) で区別することができたが、これら識別法は同一分類群に属する菌株間でもかなりの多様性を示す (Hwang *et al.*, 1987; Bruns *et al.*, 1991; Meijer *et al.*, 1994). さらに、W タイプと C タイプの菌株間で稔性可能な交雑が生じていることが報告されている (Nicholson *et al.*, 1995).

以上から、コムギ眼紋病菌は培養形態に基づいて識別される明確に遺伝的に独立した *O. yallundae* および *O. acuformis* の 2 種からなることが示された。

本研究では *O. yallundae* および *O. acuformis* における

mtDNA のサイズはほぼ同じであった (第 3-2-5 表). Nicholson *et al.* (1993) が報告している本菌の mtDNA サイズは本試験の結果と異なり小さかった. 彼らは既知の W タイプ菌株の mtDNA プローブを用いて *EcoRI* で消化した *P. herpotrichoides* 菌株の DNA とのハイブリダイゼーションで断片長を検出して, mtDNA サイズを決めているが, 1 つまたは 2 つの断片を検出できていないか, あるいは見落としているため, 小さい値になったものと考えられる.

本研究に供試した *Helgardia anguioidea* (syn. *Pseudocercospora anguioidea*) および *Helgardia aestiva* (syn. *Pseudocercospora aestiva*) の mtDNA は 2 種のコムギ眼紋病菌 *O. yallundae* (アナモルフ: *Helgardia yallundae*) および *O. acuformis* (アナモルフ: *Helgardia acuformis*) と明らかな差異が認められ, Nirenberg (1981) が分生子の形態的特徴に基づいて分類したこれら種の間には遺伝的な類縁性が認められないことが示された (第 3-2-3 図).

### 第 3 節 病原菌の分布

#### 目的

コムギ眼紋病には 2 種類の病原菌 *Oculimacula yallundae* および *O. acuformis* が関与し, 両菌が北海道から分離されているが (竹内ら, 1992; 古屋ら, 1993), その発生割合および分布は明らかにされていない. そこで, 本病原菌の北海道内における分布を明らかにする.

#### 材料および方法

1989 年および 1992 年に分離したそれぞれ 1017 菌株および 1931 菌株の地理的分布を道南, 道央, 道北および道東の 4 地域, 支庁, 市町村別の *O. yallundae* および *O. acuformis* の分離割合を調査した.

市町村ごとの *O. acuformis* の分離割合を目的変数, アメダス調査地点における 4 月の平均気温 (調査年を含む過去 5 年間の平均) を説明変数として, 統計ソフト R (R Development Core Team, 2018) を用いてロジスティック回帰分析を行った. アメダス地点がない市町村は近傍のアメダス地点のデータを用いた.

#### 結果

1989 年分離菌は 47.7% が *O. yallundae*, 52.3% が *O. acuformis* であった (第 3-3-1 表). 1992 年分離菌は, 56.3% が *O. yallundae*, 43.7% が *O. acuformis* であった (第

3-3-2 表). 病原菌の分布は 2 カ年で大きな差異は認められなかったが, 菌種によって地理的分布が異なり, 道南および道央地域では *O. yallundae*, 道東および道北地域には *O. acuformis* がそれぞれ優占した (第 3-3-1 図, 第 3-3-2 図).

1989 年および 1992 年調査のデータによるロジスティック回帰分析によって, 4 月の平均気温が低い地点で *O. acuformis* の分離割合が高くなることが推定された (第 3-3-3 図, 第 3-3-4 図, 第 3-3-3 表).

#### 考察

コムギ眼紋病菌 *O. yallundae* および *O. acuformis* の菌種による地理的分布が異なった要因について考察する.

第 6 章第 2 節で示すように, 2 種のコムギ眼紋病菌 *O. yallundae* および *O. acuformis* は DMI 剤であるプロピコナゾール乳剤に対する感受性には明らかな差が認められ, *O. acuformis* は感受性が低い. しかし, プロピコナゾール乳剤が使用される前の 1989 年と本剤が使用されるようになった 1992 年では *O. yallundae* および *O. acuformis* の比率と分布に大きな差異は認められていない. よって, 本剤の使用による選択圧が菌種の分布に影響を及ぼしたとは考えにくい.

*O. acuformis* は *O. yallundae* に比べ, ライムギに対する病原性が高いとされているが (Hollins *et al.*, 1985; Lucas *et al.*, 2000), 北海道におけるライムギの栽培はごくわずかであることからその影響は考えられない.

*O. yallundae* と *O. acuformis* は同一ほ場で共存し, ほ場における最終的な発病程度に差はないが (Lucas *et al.*, 2000), *O. yallundae* は *O. acuformis* に比べて早い時期から発病が進展することが報告されている (Goulds and Fitt, 1990b; Bateman, 1993; Bock *et al.*, 2009). 環境を制御した接種試験において, 10~15°C では *O. yallundae* は *O. acuformis* に比べて病原性は強いが (Fitt *et al.*, 1987; Creighton *et al.*, 1989), それより低温条件 (平均温度 7°C) では, 病原性は弱い (Hollins *et al.*, 1985). また, *O. yallundae* による発病程度が高いほ場において, 低温年では *O. acuformis* による発病が上回ることが報告されている (Goulds and Fitt, 1990b). 本研究の調査結果では, *O. acuformis* が優占したほ場は, 冷涼な気候条件の地域に多かった. そこで, 調査した市町村ごとの *O. acuformis* の分離割合とアメダス調査地点における 4 月の平均気温 (調査年を含む過去 5 年間の平均) との関係性をロジスティック回帰分析を行ったところ, いずれの調査年においても両者に有意な関係が認められ (第 3-3-3 表), *O. acuformis* が優占する地域は平均気温が低

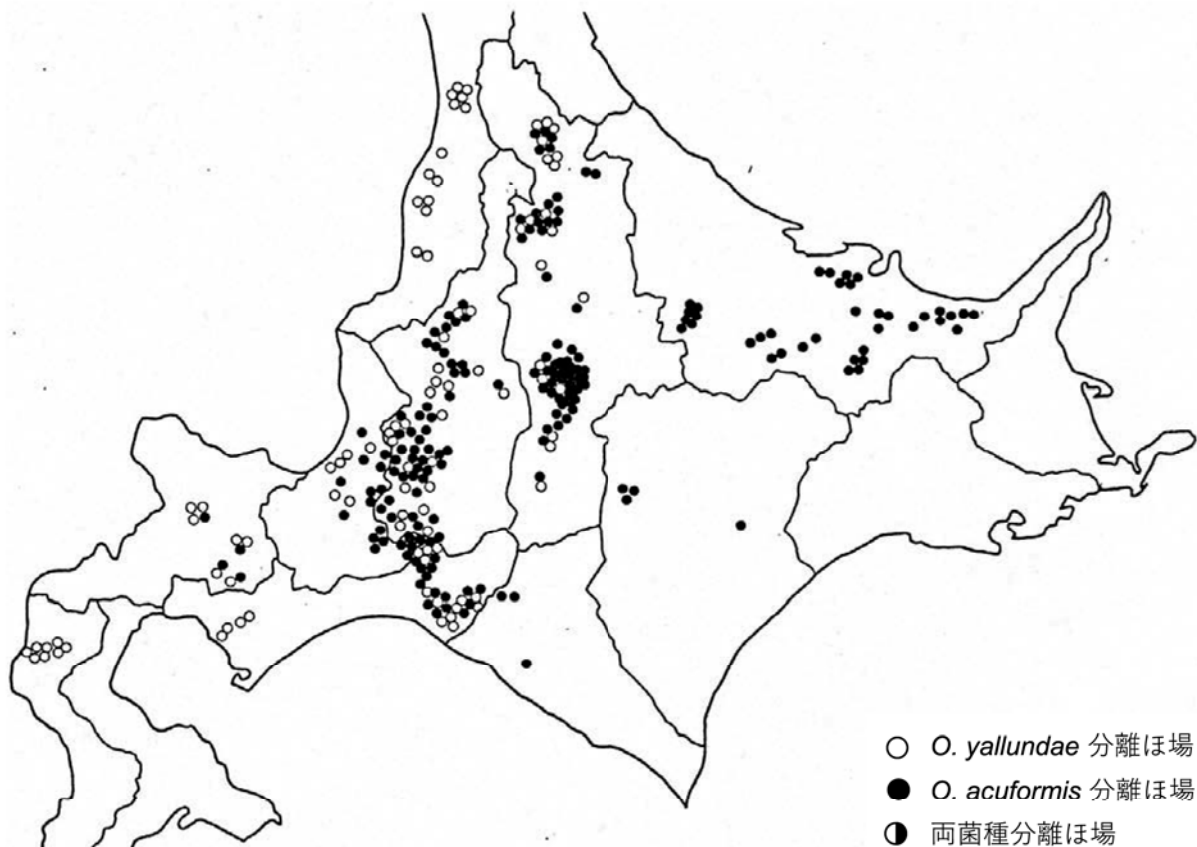
第3-4-1表 コムギ眼紋病菌の北海道における分布 (1989年調査)

地域	支庁 <sup>a)</sup>	調査市町村数 <sup>a)</sup>	調査ほ場数	菌種別ほ場数 <sup>b)</sup>			菌種別菌株数 (%) <sup>c)</sup>		
				Oy	Oy+Oa	Oa	総数	Oy	Oa
道南	桧山	1	4	4	0	0	33	33 (100)	0 (0)
道央	石狩	8	21	15	4	2	94	80 (85.1)	14 (14.9)
	空知	21	64	35	20	9	349	224 (64.2)	125 (35.8)
	後志	4	11	1	5	5	36	15 (41.7)	21 (58.3)
	胆振	7	28	24	2	2	99	93 (93.9)	6 (6.1)
	日高	2	3	2	0	1	7	6 (85.7)	1 (14.3)
	道北	留萌	5	10	3	4	3	36	14 (38.9)
道東	上川	13	62	55	7	0	240	20 (8.3)	220 (91.7)
	十勝	2	2	0	0	2	7	0 (0)	7 (100)
	網走	14	30	0	0	30	116	0 (0)	116 (100)
計		77	235	139	42	54	1017	485 (47.7)	532 (52.3)

a) 1992年当時の北海道における支庁（現振興局）および市町村の区分に基づく

b) Oy : *Oculimacula yallundae* 分離ほ場, Oa : *Oculimacula acuformis* 分離ほ場, Oy+Oa : *O. yallundae* および *O. acuformis* が分離されたほ場

c) Oy : *O. yallundae*, Oa : *O. acuformis*

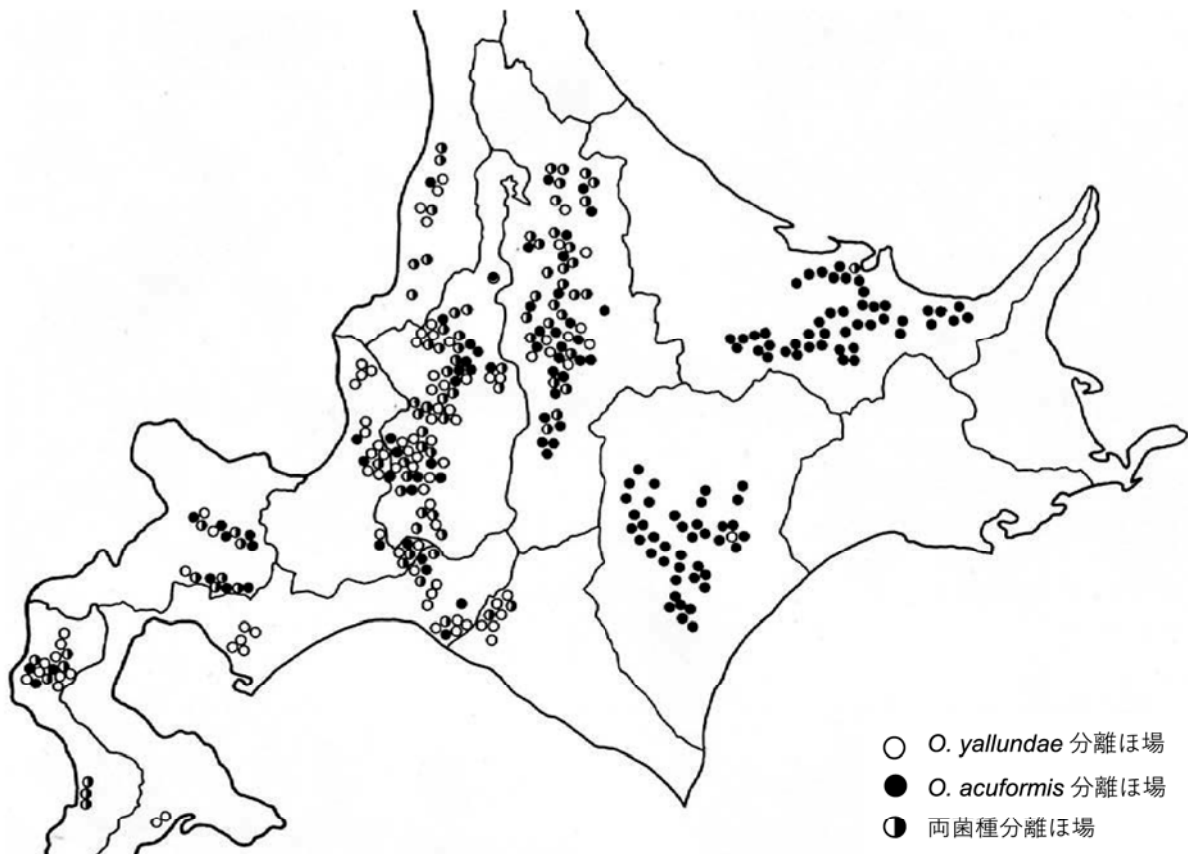


第3-3-1図 コムギ眼紋病菌の北海道における分布 (1989年)

第3-4-2表 コムギ眼紋病菌の北海道における分布 (1992年調査)

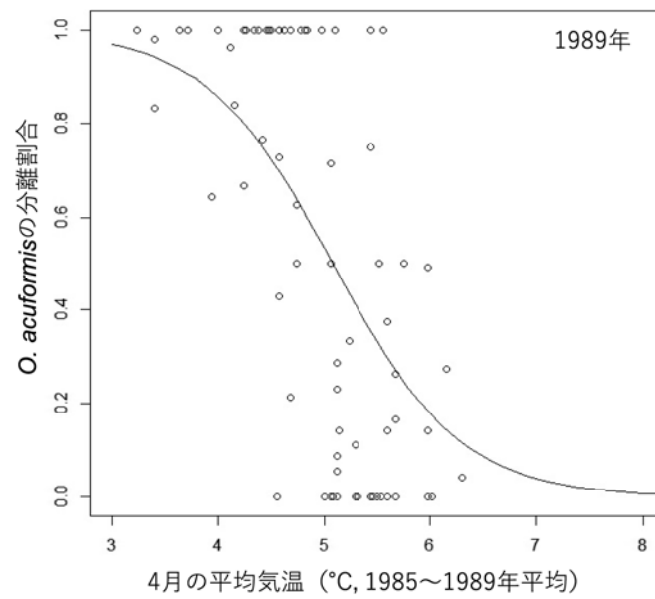
地域	支庁 <sup>a)</sup>	調査市町村数 <sup>a)</sup>	調査ほ場数	菌種別ほ場数 <sup>b)</sup>			菌種別菌株数 (%) <sup>c)</sup>		
				Oy	Oy+Oa	Oa	総数	Oy	Oa
道南	渡島	1	2	2	0	0	15	15 (100)	0 (0)
	桧山	3	19	9	7	3	159	136 (85.5)	23 (14.5)
道央	石狩	6	21	14	3	4	135	106 (78.5)	29 (21.5)
	空知	20	70	25	29	16	493	336 (68.2)	157 (31.8)
	後志	6	18	3	7	8	101	55 (54.5)	46 (45.5)
	胆振	7	20	13	3	4	139	118 (84.9)	21 (15.1)
道北	日高	2	8	6	2	0	55	51 (92.7)	4 (7.3)
	留萌	5	11	3	7	1	77	51 (66.2)	26 (33.8)
	上川	19	64	10	28	26	437	210 (48.1)	227 (51.9)
道東	十勝	12	41	1	0	40	153	7 (4.6)	146 (95.4)
	網走	15	46	0	1	45	167	2 (1.2)	165 (98.8)
計		96	320	86	87	147	1931	1087 (56.3)	844 (43.7)

a) b) c) 第3-4-1表と同じ

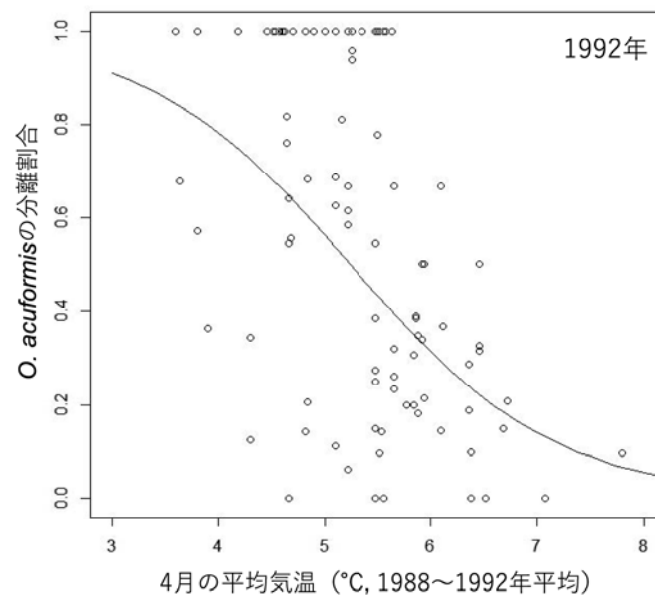


第3-3-2図 コムギ眼紋病菌の北海道における分布(1992年)





第3-3-3図 ロジステック回帰分析による分離地点における4月の平均気温と *O. acufomis* の分離割合との関係 (1989年)



第3-3-4図 ロジステック回帰分析による分離地点における4月の平均気温と *O. acufomis* の分離割合との関係 (1992年)

第3-4-3表 ロジスティック回帰分析による4月の平均気温と*Oculimacula aciformis*の分離率の関係

年次	説明変数	回帰係数	オッズ比	95%信頼区間	p値
1989年	4月の平均気温 (1985-1989年平均)	-1.6583	0.190	0.080 ~ 0.301	< 2e-16
1992年	4月の平均気温 (1988-1992年平均)	-1.0298	0.357	0.289 ~ 0.425	< 2e-16

い傾向があった。また、北海道に比べ気象が温暖である秋田県では、*O. yallundae*のみが分離され、*O. aciformis*は分離されていないことも（古屋ら，1993），平均気温と病原菌の分布の関連性を示すものと考えられる。

本研究による調査後は全道的な菌種の調査は行われていない。しかし，2カ年の調査でほぼ同様の傾向が見られたこと，その後の2008～2009年における調査事例においても道東のオホーツク（第3-3-1表および第3-3-2表の網走）地方は*O. aciformis*のみが分離され，道北の上川および道央の空知地方では*O. yallundae*および*O. aciformis*の両菌種が分離されていることから（小松，私信），現在でも同様の分布であるものと推察される。

このように北海道において菌種の分布の差異を生み出している要因は，気象条件の相違による可能性が示唆された。これまで*O. yallundae*と*O. aciformis*のほ場における発病の進展の違いを示した報告はあるが，本菌の地理的分布の違いに言及した報告はない。

## 第4章 発生生態

### 第1節 伝染源

#### 目的

コムギ眼紋病が発生していないほ場がどのようにして発病ほ場となるか、その実態を解明するため、汚染土壌の混入による伝搬の可能性を明らかにするとともに、コムギ眼紋病未発生ほ場にコムギを栽培し、作業機械に付着した汚染土壌の移動による本病原菌の伝搬を確認する。

#### 材料および方法

##### 1. 汚染土壌による伝染源の評価

北海道岩見沢市において1992年にコムギ眼紋病が発生したほ場で播種作業をした後のドリル播種機の作溝部に付着した土壌を1992年9月7日に移植ゴテで採取した。この土壌を消毒済みの人工培土（北海三共製くみあい粒状培土）と重量比で1, 5, 10, 50, 100%混和して1/5000 aのワグネルポットに充填し、コムギ種子を10粒播種した。コムギ品種は「チホクコムギ」で、播種は1992年9月21日に行った。試験は4反復で行った。ワグネルポットは未耕地に埋め込み、各ポットは2m以上離して設置した。

発病調査は1993年7月6日に各ポット全茎を採取し、葉鞘を取り除いた稈について発病を調査し、発病茎率および発病度を求めた。発病茎率は調査茎のうちの発病茎の割合を百分率で表した。発病度は竹内ら(1990)による以下に示した基準にしたがって算出した(第4-1-1図)。

#### 茎の発病指数

0: 病斑を認めない

1: 病斑が茎の円周の半分以下を占めている

2: 病斑が茎の円周の少なくとも半分を占めている

3: 病斑が茎を完全に取り囲んでいる

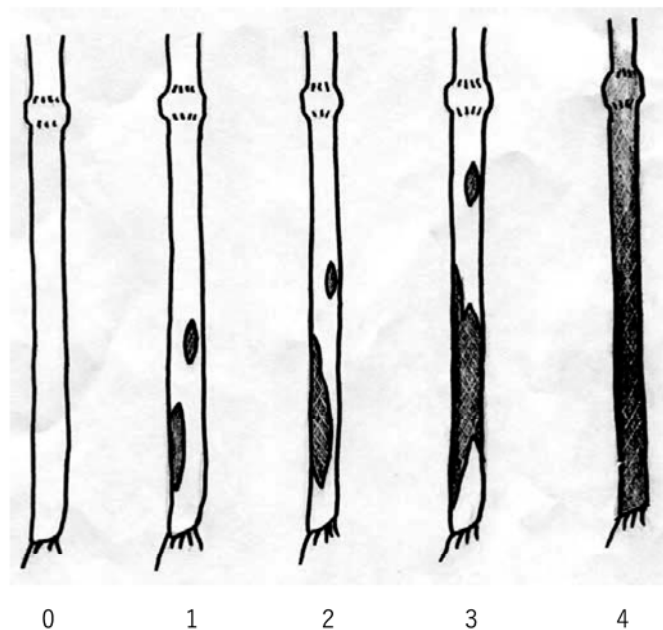
4: 病斑部が拡大して茎基部全体に及んでいる

発病度 = {  $\Sigma$  (発病程度別茎数 × 指数) / (調査茎数 × 4) } × 100

##### 2. 汚染土壌が付着した農業機械による伝搬と伝染

1991～1994年に北海道岩見沢市のコムギ眼紋病が発生しているコムギ連作ほ場とそれに隣接したコムギが栽培されることがないほ場（コムギ初作ほ場）で試験を行った。コムギ初作ほ場は1991年まで水田だったほ場に1992年秋の播種からコムギを作付けしたほ場である。

コムギの播種は1991年9月7日(コムギ連作ほ場の



第4-1-1図 コムギ眼紋病の発病指数別の症状

み), 1992年9月7日, 1993年9月7日にそれぞれ行った。コムギ品種「チホクコムギ」をうね幅21cmでドリル播種機を使って㎡あたり340粒播種した。施肥量は基肥として化成肥料を10aあたり窒素4kg, リン酸12.5kg, カリウム5kg, 追肥として硫酸を10aあたり窒素6kgとなるように施用した。その他の栽培条件は慣行に従った。1992年以降の播種, 追肥および収穫などの機械作業はコムギ連作ほ場から先に行った。

発病調査は1992年7月6日(コムギ連作ほ場のみ), 1993年7月13日および1994年7月12日に試験ほ場より無作為に200茎採取し, 葉鞘を取り除いた稈につ

いて発病茎率および発病度を既述の方法で調査した。

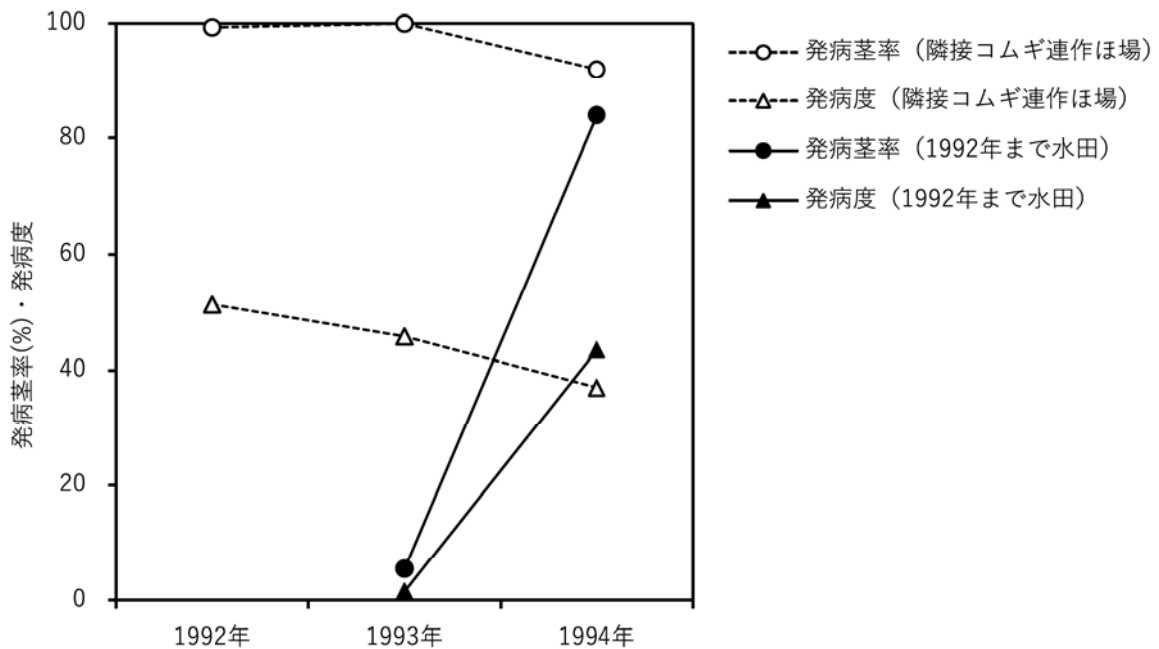
**結果**

汚染土壌による伝染源の評価の試験結果は第4-1-1表に示した。コムギ眼紋病発生ほ場を作業後の作業機械に付着した汚染土壌を1%混和しただけでも, わずかながら発病が認められ, 汚染土壌の混入割合を増すにしたがって発病茎率および発病度は高くなった。

汚染土壌が付着した農業機械によるコムギ眼紋病未発生ほ場への伝染の調査結果は第4-1-2図に示した。コムギ連作ほ場における発病は3年間で発病茎率が

第4-1-1表 作業機械付着土壌の混和によるコムギ眼紋病の発病

土壌混和率	発病茎率 %	発病度
0%	0	0
1%	8.8	2.2
5%	16.8	4.2
10%	55.9	14.0
50%	78.9	20.6
100%	91.0	23.3



第4-1-2図 作業機械付着土壌の移動によるコムギ眼紋病の未発生ほ場への伝染

92.0~100.0%, 発病度が 37.0~51.3%であった。コムギ初作ほ場では、コムギ栽培初年目でも発病はわずかに認められ、発病茎率 5.5%, 発病度 1.5, コムギ栽培 2 年目では発病茎率 84.0%, 発病度 43.5 であった。

### 考察

コムギ眼紋病の第一次伝染源はほ場における前作の罹病残渣で、ここに形成された分生子が雨滴によって飛散し、コムギに感染する (Fitt and Baibbridge, 1983; Soleimani *et al.*, 1996)。分生子の飛散はごく短距離に限られ、長距離の飛散はほとんどない (Fitt and Baibbridge, 1983, Fitt and Nijman, 1983)。雨滴による飛散は高さ 15~20cm が最大で本病の発病が地際部に限られるのはそのためである (Fitt and Lysandrou, 1984)。本病の発生ほ場から分生子の飛散で未発生ほ場に伝染する可能性はほとんどなく、本病は種子伝染しない (角野ら, 1991) ことから、本病の未発生ほ場が汚染ほ場となるには伝染源の移動が必要である。

本試験では、各種作業を本病発生ほ場で行った後、同一機械で連続的にコムギ初作ほ場で行うことで、コムギ初作ほ場でコムギ栽培 1 年目から本病の発生が認められた (第 4-1-2 図)。本病は汚染土壌のわずかな混入でも発病し (第 4-1-1 表)、ほ場作業に使われる作業機械に付着した汚染土壌の移動によって容易に汚染ほ場になることが示された。本試験における本病未発生ほ場はコムギが栽培される前年まで水田であった。コムギ眼紋病菌は湛水条件では死滅する (角野ら, 1992) ことから、本試験で前年まで水田でコムギ初作ほ場における発病は、本病発生ほ場から作業機械による汚染土壌の混入による発病であると推察される。

コムギ初作ほ場でコムギを連作したところ、連作 2 年目において隣接するコムギ連作ほ場と同程度の発病となったことから (第 4-1-2 図)、コムギ眼紋病菌は汚染された作業機によって容易にほ場に侵入、定着し、短期間で蔓延する病害であることが明らかとなった。コムギ栽培地域では、収穫時など共通の機械で作業するケースが多く、ある地域内でひとたび本病が発生するとその地域内の未発生ほ場への伝搬を防ぐことは極めて困難である。

第 1 章で示したように、コムギ眼紋病が北海道で発生が確認されて以降、発生と被害が短期間に拡大したのは (尾崎, 1990)、このような伝搬方法によって容易に未発生ほ場に侵入、定着、蔓延したことによるものであると考えられた。

## 第 2 節 発病経過

### 目的

北海道におけるコムギ眼紋病の発病経過を明らかにするとともに、気象経過との関係を解析する。

### 材料および方法

試験は、北海道岩見沢市にある水田転換畑でコムギ眼紋病の発病が認められていたコムギ連作ほ場において、1989 年 9 月播種から 1990 年 7 月中旬、1990 年 9 月播種から 1991 年 7 月中旬までの 2 カ年に行った。コムギ品種「チホクコムギ」を 1989 年 9 月 18 日、1990 年 9 月 7 日にうね幅 21cm でドリル播種機を使って  $m^2$  あたり 340 粒播種した。施肥量は基肥として化成肥料を 10a あたり窒素 4kg、リン酸 12.5kg、カリウム 5kg、追肥として硫安を 10a あたり窒素 6kg となるように施用した。コムギ眼紋病に影響がある薬剤散布は行わず、自然発病で試験を行った。

試験地における気象観測値は岩見沢測候所 (現岩見沢特別地域気象観測所) によった。

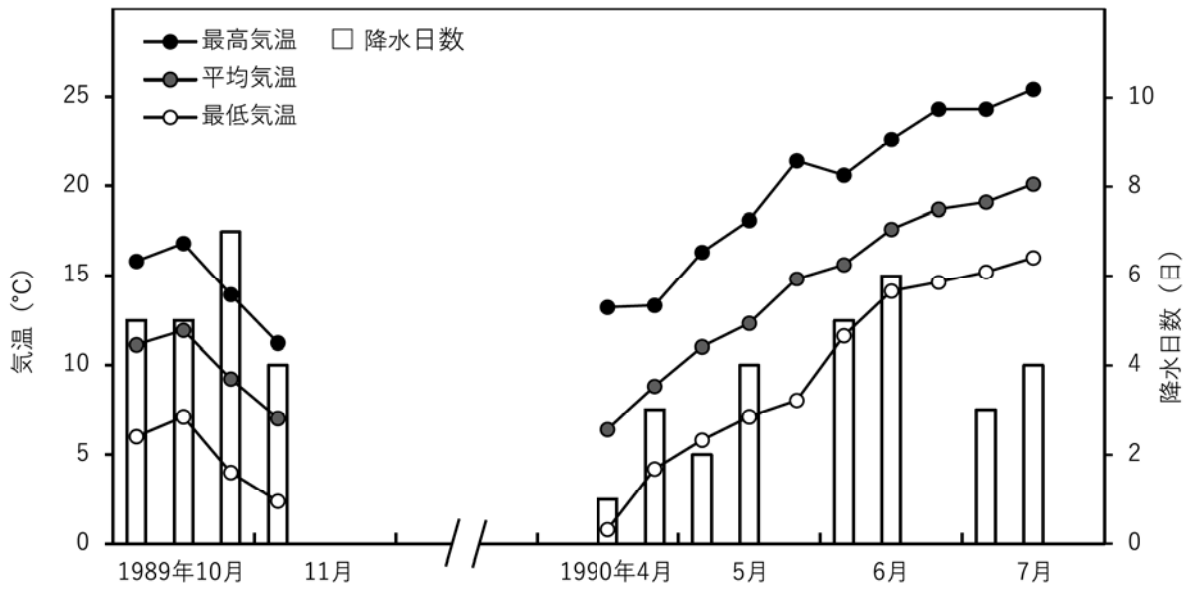
発病調査は、根雪前から収穫期前まで約 10 日おきに無作為に 100~200 茎を採取し、発病茎率および発病度を既述の方法で調査した。稈が形成される時期からは葉鞘を取り除いた稈について同様に調査した。

### 結果

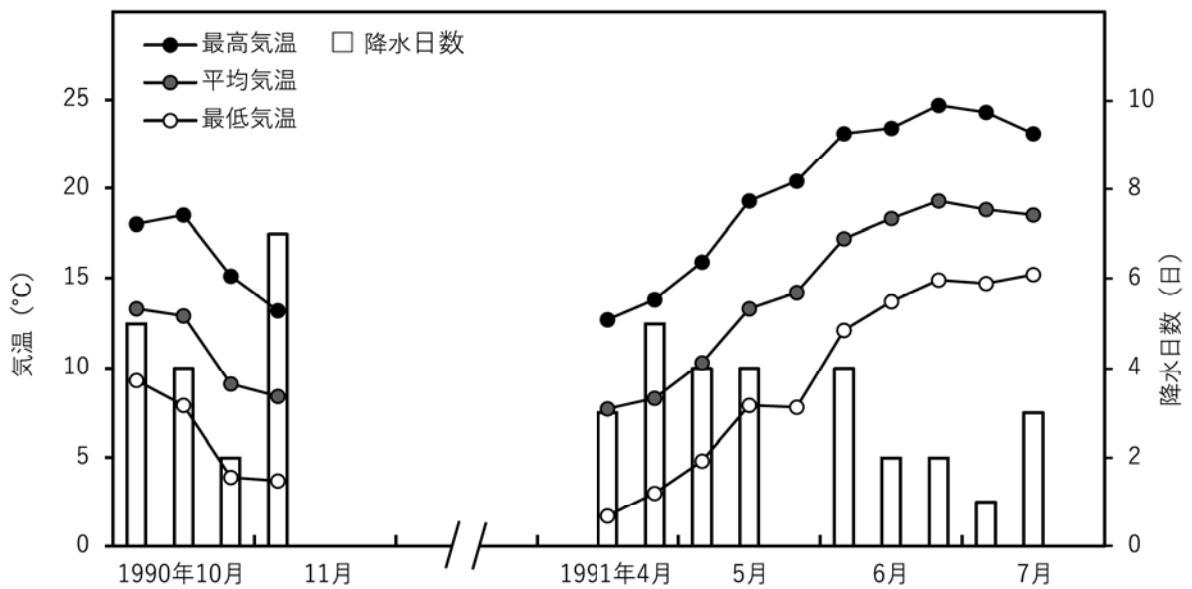
コムギの出芽は 1989 年 9 月 25 日、1990 年 9 月 15 日であった。

試験地における平均気温、最高気温、最低気温および 1mm 以上の降水日数の旬別平均値は、第 4-2-1 図 (1989~1990 年) および第 4-2-2 図 (1990~1991 年) に示した。

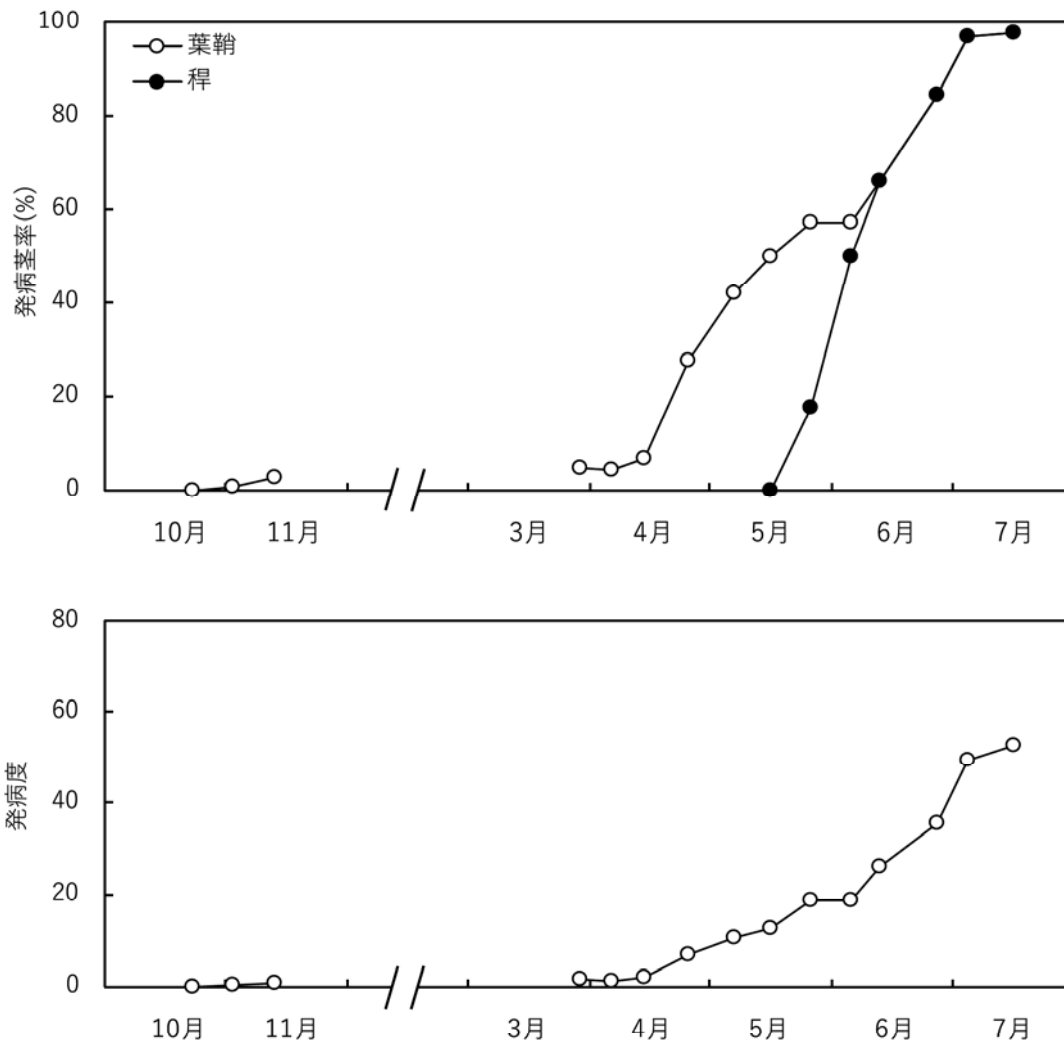
発病経過の調査結果は第 4-2-3 図および第 4-2-4 図にそれぞれ示した。発病の初発は、1989 年は 11 月 4 日、1990 年は 10 月 25 日に認められた。その後の発病は増加することなく、根雪前の 11 月中旬の調査においてもいずれの年も発病茎率は 2.5% であった。融雪前の 3 月下旬の発病茎率は根雪前と同程度に低かったが、融雪後の 4 月下旬から急激に増加し、5 月上旬の発病茎率は約 60% に達した。5 月上旬に稈が形成されてから 5 月中旬以降に稈の発病が急増し、6 月下旬~7 月上旬にはほぼ 100% 近い発病茎率に達した。発病度は 5 月中旬以降に急減に増加し、6 月下旬~7 月上旬に最終的な発病度に近い値となった。



第4-2-1図 試験地における平均気温、最高気温、最低気温および1mm以上の降水日数の旬別平均値 (1989~1990年)



第4-2-2図 試験地における平均気温、最高気温、最低気温および1mm以上の降水日数の旬別平均値 (1990~1991年)



第4-2-3図 北海道におけるコムギ眼紋病の発病経過(1989～1990年)

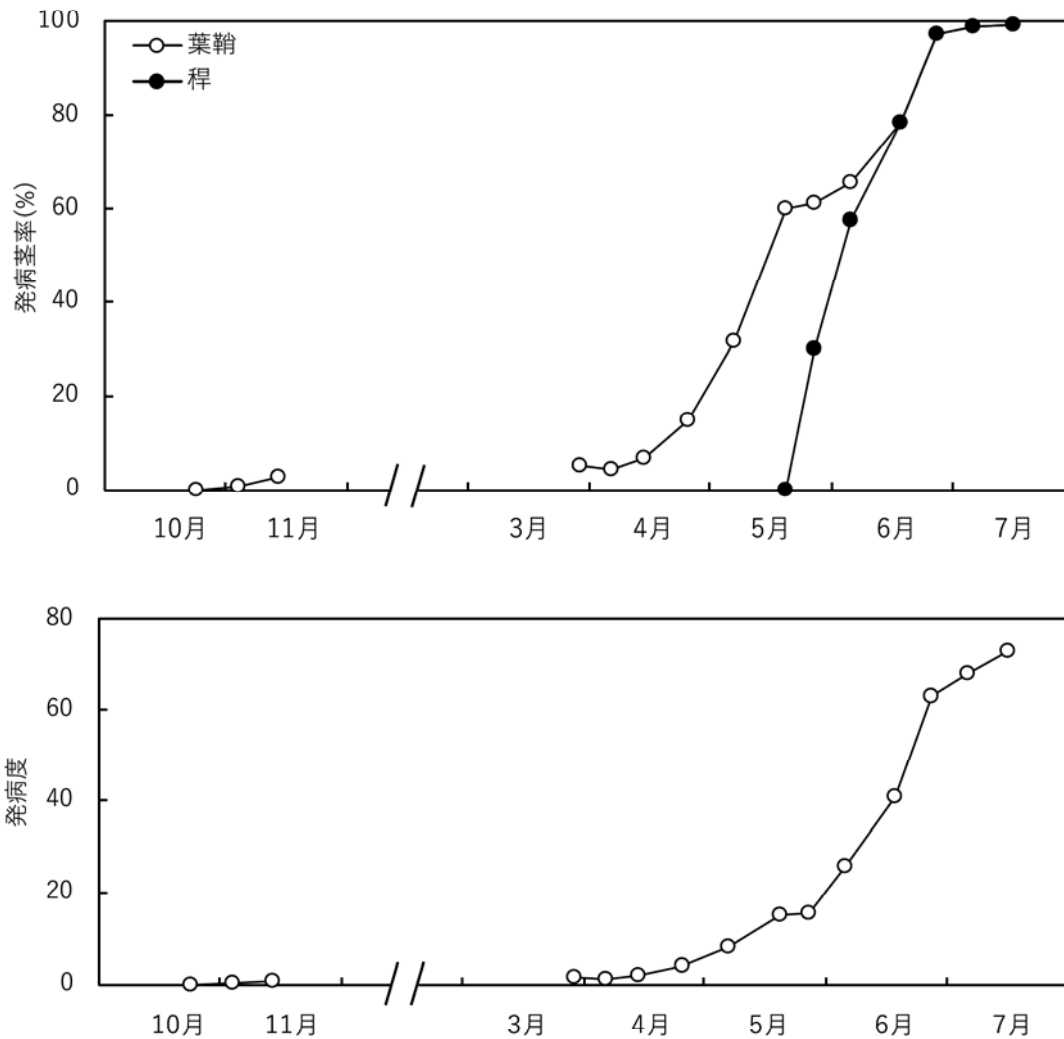
### 考察

コムギ眼紋病は発病ほ場における前作のコムギ罹病残渣上に形成された分生子が第一次伝染源となる。分生子は雨滴によって飛散し、出芽後のコムギに感染する (Soleimani *et al.*, 1996)。本病原菌は10℃以下の低温で分生子を形成し (Higgins and Fitt, 1984; Fitt *et al.*, 1988), 6～10℃の低温で感染する (Lange de la Camp, 1966b; Schrödter and Fehrmann, 1971; Clarkson, 1981)。

本試験ではコムギ眼紋病の初発は調査2カ年ともコムギ出芽40日後の11月4日および10月25日に認められた。10月上～中旬以降は、気温はおおむね10℃以下となる期間が長くなり (第4-2-1図, 第4-2-2図), 本病の分生子形成および感染に十分な条件にあるため, 地表面の罹病残渣に形成された分生子による第一次感染が

起こると考えられる。英国における報告では, 10月中旬出芽で約40日後の11月下旬に葉鞘の発病が認められている (Fitt, 1985; Fitt and White, 1988)。英国においてもこの期間の気温は10℃以下で降雨量が多い (Fitt, 1985)。一方, 秋田県では9月20日播種で (出芽日は不明), 11月中旬に葉鞘病斑から眼紋病菌に酷似した菌叢の糸状菌を分離したが, 純粋分離するに至らなかったとしている (古屋・松本, 1996)。

初発後の積雪前から融雪までの期間は発病の進展は認められなかったが (第4-2-3図, 第4-2-4図), 英国では, 北海道では根雪となる12月～3月までの期間も, 降水量は少ないものの気温は2～8℃に推移するため, 発病が進展し, 3月には80%以上の葉鞘に発病が認められている (Fitt, 1985; Fitt and White, 1988)。



第4-2-4図 北海道におけるコムギ眼紋病の発病経過(1990～1991年)

融雪後の起生期以降のコムギは、分けつが旺盛に進み、個体の大きさも十分に確保されるため、コムギ葉鞘が地表面と接触している部分が増える。また、積雪前の感染による病斑上に形成された分生子も重要な感染源となる。さらに4月中旬以降は感染に適した温度条件となるため(第4-2-1図, 第4-2-2図), 4月下旬以降に発病は進行する(第4-2-3図, 第4-2-4図)。秋田県においても、5月上旬から発病率で約10%の発病が確認され、その後発病は増加し(篠田, 1988; 古屋・松本, 1996), 北海道とほぼ同様の発病経過を示す。北海道では稈の発病程度が高まるのは6月以降であるが、英国では冬季は温暖で積雪が少ないので冬期間に発病が進展するため、稈の発病程度が高まるのは5月以降と早い

(Fitt and White, 1987)。そのため、コムギ眼紋病の発病がコムギの生育前半から影響を及ぼし、かつその影響も長期間となると考えられる(Scott and Hollins, 1978)。

本試験の結果から北海道におけるコムギ眼紋病の発病経過は以下の3段階に分けることができた。

I期: 葉鞘に病斑が形成される

(出芽後から節間伸長期: 5月上旬まで)

II期: 病斑が葉鞘から稈に移行する

(節間伸長期～止葉期: 5月中～5月下旬)

III期: 稈の病斑が拡大する

(止葉期以降: 6月上旬以降)



### 第3節 気象要因と発病

#### 目的

本病は、北海道と秋田県でのみ発生が確認されている低温性の病害であるが、発病程度の年次変動が大きいことから、気象条件が発病に影響している可能性が高い。しかし、発病に関与する気象要因は、海外における報告があるが (Fitt *et al.*, 1988; Vanova *et al.*, 2005; Matusinsky *et al.*, 2009), 国内では報告例はない。そこで、北海道におけるコムギ眼紋病の発病と気象要因の関係を解析するとともに、前節の発病経過の調査からその関係を考察した。

#### 材料および方法

試験は、岩見沢市にある水田転換畑ですでにコムギ眼紋病の発病が認められていたコムギ連作ほ場において、1986~1987年(播種年~収穫年)から1995~1996年まで10シーズンに渡って行った。コムギ品種「チホクコムギ」をうね幅21cmでドリル播種機を使って $m^2$ あたり340粒播種した。施肥量は基肥として化成肥料を10aあたり窒素4kg, リン酸12.5kg, カリウム5kg, 追肥として硫酸を10aあたり窒素6kgとなるように施用した。コムギ眼紋病に影響がある薬剤散布は行わず、自然発病で試験を行った。発病調査は、7月上~中旬に試験ほ場より150茎採取し、葉鞘を取り除いた稈について発病茎率および発病度を既述の方法で調査するとともに、指数3以上の発病茎を重症茎とし、重症茎数を求めた。

気象観測値は岩見沢測候所(現岩見沢特別地域気象観測所)によった。解析対象期間はコムギの出芽後の10月1日から根雪前の11月10日までと融雪後のコムギが起生期となる4月11日から発病調査前の6月30日までの期間とした。1旬ごと10日間または11日間単位で平均気温、日最高気温の平均(最高気温)、日最低気温の平均(最低気温)および1mm以上の降水日数(降水日数)を説明変数、調査を行った茎数に対する重症茎の発生数(重症茎数)を目的変数として、統計ソフトR(R Development Core Team, 2018)を用いて単変量ロジスティック回帰分析を行った。また、単変量ロジスティック回帰分析で影響が大きかった要因については多変量ロジスティック回帰分析を行った。

#### 結果

各年のコムギ眼紋病の発病を第4-3-1表に示した。いずれの年次も発病茎率は92.0~100%と高く、年次間の差は小さかったが、発病度は31.5~94.2, 重症茎の発生割合は4.0~94.7%と差が大きかった。

試験地における平均気温、最高気温、最低気温および降水日数の調査期間10ヵ年平均の推移を第4-3-1図に示した。10月上旬~11月上旬および4月中旬~7月上旬における調査期間における平均気温、最高気温、最低気温は、平均値でそれぞれ5.8~19.3 $^{\circ}C$ , 10.4~24.1 $^{\circ}C$ , 0.9~15.8 $^{\circ}C$ , 降水日数は2.1~6.2日間の範囲であった。

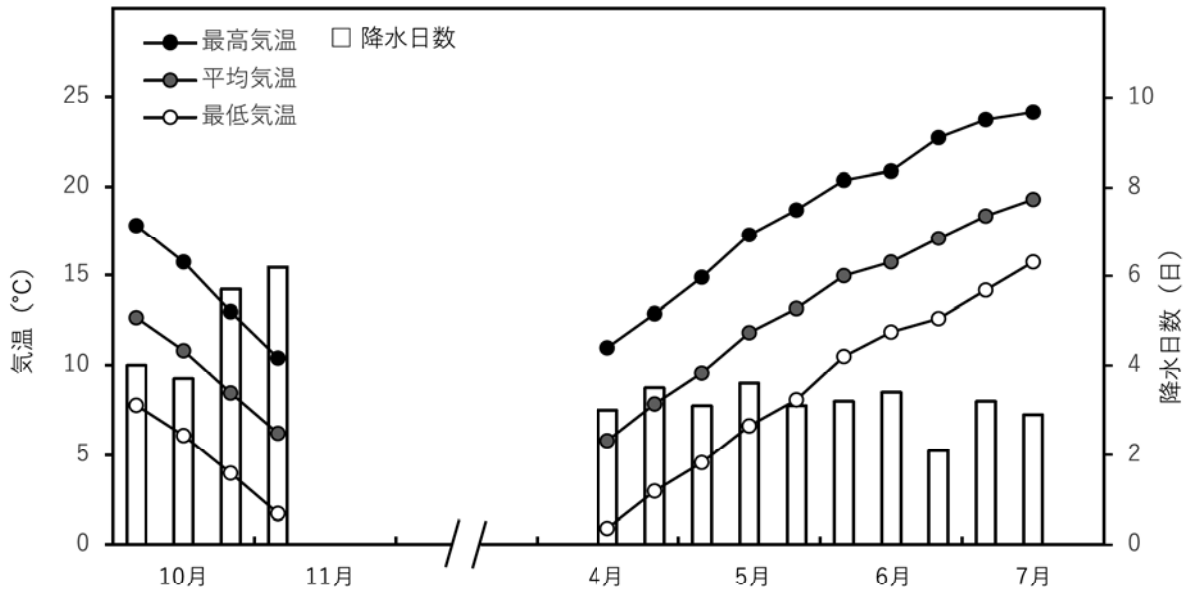
コムギ眼紋病の発病と気象要因との関連について単変量ロジスティック回帰分析を行った結果(第4-3-2

第4-3-1表 コムギ眼紋病の発病の年次変動<sup>a)</sup>

試験年次	発病調査月日	発病茎率 (%)	発病度	重症茎数 <sup>b)</sup>	重症茎割合 <sup>b)</sup> (%)
1986-1987	7月18日	100.0	71.0	99	66.0
1987-1988	7月4日	100.0	87.5	128	85.3
1988-1989	7月11日	100.0	94.2	142	94.7
1989-1990	7月4日	96.7	49.3	32	21.3
1990-1991	7月1日	95.3	63.9	81	54.0
1991-1992	7月6日	99.3	78.1	121	80.7
1992-1993	7月6日	96.0	55.8	57	38.0
1993-1994	7月12日	92.0	48.0	35	23.3
1994-1995	7月10日	96.0	31.5	6	4.0
1995-1996	7月14日	96.7	82.3	125	83.3

a) 北海道岩見沢市コムギ連作ほ場における調査

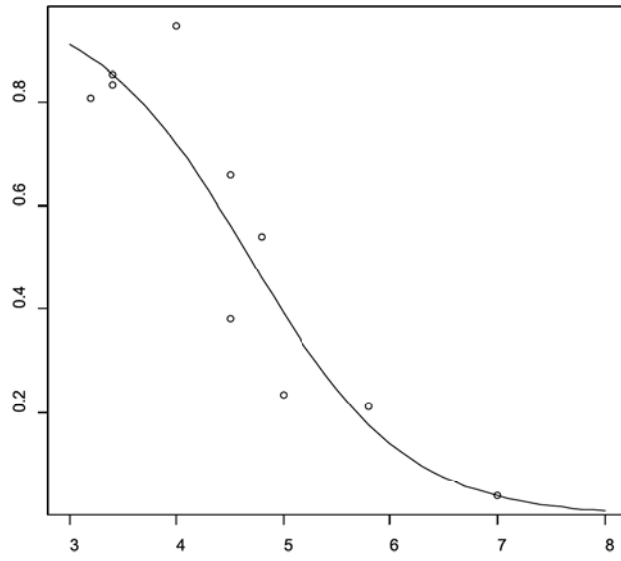
b) 発病指数3以上の発病茎を重症茎とした



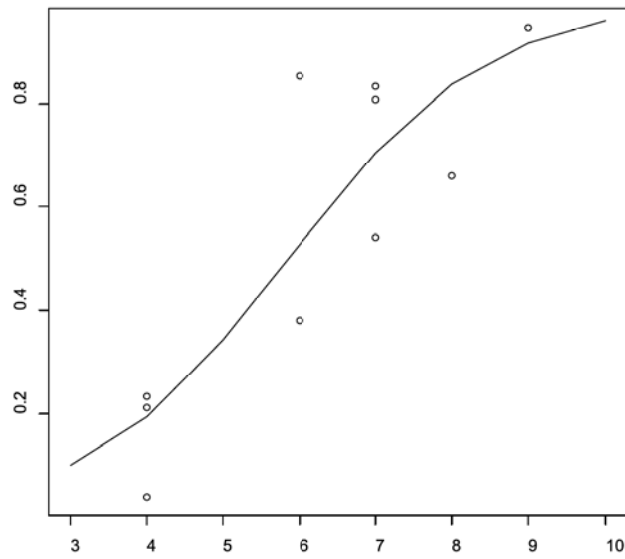
第4-3-1図 試験地における平均気温、最高気温、最低気温および1mm以上の降水日数の旬別平均値 (1989~1996年10カ年平均)

第4-3-2表 ロジスティック回帰分析によるコムギ眼紋病の重症茎と気象要因との関係

期間	気象要因	回帰係数	オッズ比	95%信頼区間	気象要因	回帰係数	オッズ比	95%信頼区間
10月上旬		0.084	1.087	1.047 ~ 1.127		0.123	1.131	1.092 ~ 1.171
10月中旬		0.044	1.045	1.018 ~ 1.072		-0.050	0.951	0.923 ~ 0.979
10月下旬		-0.217	0.805	0.767 ~ 0.843		-0.240	0.787	0.756 ~ 0.817
11月上旬		-0.572	0.564	0.515 ~ 0.614		-0.414	0.661	0.622 ~ 0.700
4月中旬		0.047	1.048	1.021 ~ 1.075		0.023	1.023	1.003 ~ 1.043
4月下旬	平均気温 (°C)	-0.436	0.646	0.604 ~ 0.688	最高気温 (°C)	-0.281	0.755	0.720 ~ 0.790
5月上旬		-0.738	0.478	0.429 ~ 0.527		-0.376	0.686	0.653 ~ 0.720
5月中旬		-0.445	0.641	0.600 ~ 0.681		-0.370	0.690	0.656 ~ 0.725
5月下旬		-0.390	0.677	0.637 ~ 0.717		-0.229	0.796	0.767 ~ 0.824
6月上旬		-0.126	0.882	0.847 ~ 0.917		-0.001	0.999	0.971 ~ 1.028
6月中旬		-0.559	0.572	0.529 ~ 0.614		-0.546	0.579	0.543 ~ 0.616
6月下旬		0.159	1.173	1.139 ~ 1.206		0.142	1.152	1.128 ~ 1.176
10月上旬		0.111	1.118	1.085 ~ 1.150		0.039	1.040	1.009 ~ 1.071
10月中旬		0.087	1.091	1.067 ~ 1.115		0.372	1.450	1.418 ~ 1.483
10月下旬		-0.172	0.842	0.800 ~ 0.885		0.114	1.121	1.098 ~ 1.143
11月上旬		-0.648	0.523	0.465 ~ 0.581		0.763	2.144	2.102 ~ 2.186
4月中旬		0.137	1.147	1.111 ~ 1.183		0.020	1.020	0.987 ~ 1.054
4月下旬	最低気温 (°C)	-0.334	0.716	0.678 ~ 0.753	1mm以上の 降水日数 (日)	-0.278	0.757	0.726 ~ 0.788
5月上旬		-1.372	0.253	0.175 ~ 0.332		-0.165	0.848	0.805 ~ 0.891
5月中旬		-0.475	0.622	0.583 ~ 0.661		0.336	1.399	1.354 ~ 1.445
5月下旬		-0.521	0.594	0.538 ~ 0.649		-0.057	0.944	0.922 ~ 0.967
6月上旬		-0.260	0.771	0.736 ~ 0.807		0.123	1.131	1.098 ~ 1.163
6月中旬		-0.451	0.637	0.596 ~ 0.677		0.160	1.174	1.140 ~ 1.208
6月下旬		0.081	1.085	1.044 ~ 1.125		0.083	1.087	1.057 ~ 1.117



第4-3-2図 5月上旬の最低気温とコムギ眼紋病の重症茎の発生との関係



第4-3-3図 11月上旬の1mm以上の降水日数とコムギ眼紋病の重症茎の発生との関係

第4-3-3表 多変量ロジスティック回帰分析によるコムギ眼紋病の重症茎と気象要因との関係

期間	回帰係数	オッズ比	95%信頼区間	p値
5月上旬の最低気温	-1.288	0.276	0.158 ~ 0.394	< 2e-16
11月上旬の1mm以上の降水日数	0.705	2.025	1.933 ~ 2.116	1.29e-14
交互作用	-0.368	0.692	0.558 ~ 0.827	0.00615

表), 重症茎は気温と負の関連, 降水日数と正の関連を示す期間が多かった. 5月上旬の最低気温(オッズ比 0.253, 95%信頼区間 0.175~0.332)と11月上旬の降水日数(オッズ比 2.144, 95%信頼区間 2.102~2.186)は重症茎と高い関連性が認められた(第4-3-2図, 第4-3-3図). 5月上旬の最低気温と11月上旬の降水日数を説明変数として多変量ロジスティック回帰分析を行った結果, これらの要因の間に交互作用が認められた(第4-3-3表).

#### 考察

コムギ連作ほ場において10シーズンの期間, コムギ眼紋病の発病程度の年次変動を調査した. 第5章で示すように, 本病は発病指数3以上でコムギの減収が生じる(竹内, 2018)ことから指数3以上の発病茎を重症茎とし, 重症茎の発生割合で発病程度を評価した. 調査した連作ほ場は調査1年目の発病程度が高いほ場であったことから, 伝染源密度は高く, 発病の年次変動に及ぼす伝染源密度の影響は小さい条件であったと考えられる. コムギ眼紋病の感染と発病には降雨と気温との関係に関する多くの報告がある(Fitt *et al.*, 1988). そこで, 重症茎で評価した発病程度と気象要因との関係を気温と降水日数を対象として解析を行った結果, 秋期に降水日が多く, 低温に推移した年に本病の発病程度が増える傾向が認められた. 特に11月上旬の降水日数と5月上旬の最低気温が本病の発病程度に大きく影響していた(第4-3-2表).

本病の第一次伝染はほ場における前作の罹病残渣で, ここに形成された分生子が雨滴によって飛散し, コムギに感染する(Soleimani *et al.*, 1996). 分生子の形成適温は10°C以下と低く, 5°Cが適温とされている(Higgins and Fitt, 1984; Fitt *et al.*, 1988). また, 感染の適温は6~10°Cと比較的低い(Lange de la Camp, 1966b; Schrödter and Fehrmann, 1971; Clarkson, 1981).

コムギ播種約1ヶ月後となる10月中旬以降は, 気温はおおむね10°C以下となる期間が長くなり(第4-3-1図), 本病の分生子形成および感染に十分な条件にあるため, 本病の罹病残渣からの第一次感染が起きる時期と考え

られる. 積雪前の期間は, 発病の進展は認められないが(第4-2-3図, 第4-2-4図), この期間の降水日が多いと, 地表面の罹病残渣からの第一次感染の機会が増え, 融雪後の発病の進行にも影響を及ぼすと推察される(第4-3-2表, 第4-3-3図). 角野・竹内(1994)は, 分生子をほ場のコムギに時期別に接種した試験で, 北海道では10~11月に接種した場合に4月以降に接種した場合に比べ最終的な発病程度が高いことを報告している. 11月上旬は降水日数が他の期間に比べても多く, 気温も2~10°Cと分生子形成に最適な期間となるため(第4-3-1図), 本病の重要な第一次感染期間であると考えられた.

融雪後の4月中旬以降は感染に適した温度条件となるため(第4-3-1図), 前年の一次感染によって葉鞘に形成された病斑が進展して発病が増加するとともに(第4-2-3図, 第4-2-4図), これら葉鞘の病斑から稈へ感染する(Fitt *et al.*, 1988). 5月上旬は平均気温が10°C以上となるが, この期間に最低気温が低いと感染適温である10°Cを下回る期間が長くなり, 稈に感染する期間が長期化して稈における発病が増加するため, 5月の最低気温が重症茎の発生と関連性が高かったものと推察された(第4-3-2表, 第4-3-2図).

以上のように, 本病の発病程度に及ぼす時期別の気象要因は, 第2節で示した北海道における発病経過とこれまでに報告されている本病の発生生態でよく説明できることができた.

海外ではドイツにおいて気象データによる本病の発病程度を予測するモデルにおいて, 感染には4~13°Cの気温および80%以上の相対湿度が15時間以上の期間が必要だとしている(Fitt *et al.*, 1988). チェコにおける調査では, 10月~4月までの3mm以上の降水日数が最も発病程度に影響が大きいとし, 4~10°Cの気温も影響しているとしている(Matusinsky *et al.*, 2009). 北海道における本試験では, コムギは冬季の3~4ヶ月間が積雪下となるため, 感染の適温となる期間は海外におけるこれらの報告より明らかに短い. さらに, 一次感染期間として重要な冬季以前の10~11月の降雨がこれらの地域では1.0~1.2mm/日であるのに対して

本試験では3.4mm/日と明らかに多い(国立天文台編, 1993)。また、北海道で栽培されている穂数型の品種は分けつが多く過繁茂になりやすいため(下野, 1986)、降雨が多いとコムギの地際部が感染に十分な湿度が保たれやすい。これらのことから、本試験では海外における報告に比較して、降雨より感染適温の期間に関する気温の要因が発病程度に及ぼす影響が大きいものと推察された。

重症茎と関連性が高かった5月上旬の最低気温と11月上旬の降水日数の2要因に対して多変量ロジスティック回帰分析を行った(第4-3-3表)。その結果、これらの要因の間に交互作用が認められたことから、11月上旬の降雨日数が多いと一次感染が増加して感染率が高まり、それが5月上旬の最低気温の効果に影響し、重症茎を増加させていることが示唆された。

## 第5章 被害解析

### 目的

コムギ眼紋病はコムギの地際葉鞘や茎に眼紋状の病斑を形成し、病勢が進展すると茎基部が腐敗して早期倒伏の原因となるため減収や品質低下などの被害は著しいが、倒伏による被害のみが認識されることが多く、発病程度と減収や品質低下との関係は不明であった。そこで、北海道におけるコムギ眼紋病対策の確立に資する目的で本病の発病とコムギの減収および品質低下との関係について検討を行った。

### 材料および方法

試験は1989年、1990年および1992年に北海道岩見沢市のコムギ連作ほ場で行った。コムギ品種「チホクコムギ」をうね幅21cmでドリル播種機を使って㎡あたり340粒播種した。施肥量は基肥として化成肥料を10aあたり窒素4kg、リン酸12.5kg、カリウム5kg、追肥として硫酸を10aあたり窒素6kgとなるように施用した。その他の栽培条件は慣行に従った。

無防除区以外に本病に登録の4薬剤、未登録の18薬剤を1ないし2回10a当たり100～120Lを散布し、発病程度が異なる試験区を1989年9区、1990年15区、

1992年24区設置した。収量に影響を及ぼす薬害は確認されなかった。1989年は1区30㎡、1990年および1992年は1区20㎡、3反復で行った。

発病調査は、1989年は7月11日、1990年は7月4日、1992年は7月6日に各区より無作為に50茎採取し、葉鞘を取り除いた稈について発病茎率および発病度を既述の方法で調査した。

1989年は7月29日、1990年は7月20日、1992年は7月27日に各区1㎡を刈り取って子実収量を調査するとともに、各試験区の穂数を調査した。試験区内でコムギが倒伏した面積の割合を遠視で調査し百分率で表した。収穫したコムギから千粒重を調査した。1穂重は子実収量および穂数より、1穂粒数は子実収量、穂数および千粒重よりそれぞれ算出した。1989年は収穫時に発病指数別に茎を分け、1穂重、千粒重、1穂粒数、収穫したコムギのリットル重、整粒歩合、検査等級およびアミログラム特性値（中津、2000）を調査した。発病指数4の茎は倒伏の有無で分けて調査した。

### 結果

#### 1. 発病指数別のコムギの収量構成要素および品質

第5-1-1表 コムギ眼紋病の発病指数とコムギの1穂粒数、千粒重および1穂重との関係

発病指数	調査茎数	1穂粒数 (粒)	千粒重 (g)	1穂重 (g)
0	204	20.5	37.3	0.766
1	116	19.5	37.7	0.735
2	121	20.5	37.3	0.765
3	288	19.6	35.9	0.704
4	186	19.5	34.9	0.680
4（倒伏）	170	19.4	30.7	0.594

第5-1-2表 コムギ眼紋病の発病指数とコムギの品質との関係

発病指数	リットル重 (g)	整粒歩合 (%)	等級	アミログラム (B.U.) <sup>a)</sup>	
				最高粘度 <sup>b)</sup>	ブレークダウン <sup>b)</sup>
0	760	95.9	1	700	210
1	767	96.2	1	680	190
2	760	94.3	1	700	220
3	755	95.0	2上	650	190
4	734	93.5	2下	640	170
4（倒伏）	727	89.4	3	610	160

a) 測定機器はアミログラフ（ブラベンダー社）、水分は13.5%

b) 数値が低いほど品質が低下していることを示す

第5-1-3表 コムギ眼紋病の発病とコムギの収量構成要素および収量との相関係数

項目	1989年 (n=9)		1990年 (n=15)		1992年 (n=24)	
	発病茎率	発病度	発病茎率	発病度	発病茎率	発病度
穂数	-0.4325 <sup>a)</sup>	-0.5032	0.2804	0.3663	-0.1873	-0.4424 <sup>*b)</sup>
1穂粒数	-0.3818	-0.5201	-0.1254	-0.2092	-0.2064	-0.3846
千粒重	-0.8846 ***	-0.9506 ***	-0.4069	-0.5137 *	-0.7189 ***	-0.8764 ***
1穂重	-0.7182 *	-0.7737 **	-0.4612	-0.5847 *	-0.6737 ***	-0.8603 ***
子実収量	-0.8112 **	-0.8808 ***	-0.0748	-0.0818	-0.6047 **	-0.8412 ***

a) 小数第4位まで示した

b) 5%水準で有意 (\*), 1%水準で有意 (\*\*), 0.1%水準で有意 (\*\*\*)

コムギ眼紋病の茎単位の発病指数とコムギの収量構成要素との関係を第5-1-1表に、コムギ品質との関係を第5-2-2表に示した。発病指数2までは影響はほとんど認められないが、発病指数3以上で減収および品質の低下が認められた。収量構成要素では、1穂粒数の減少はほとんどなく、千粒重の低下が大きかった。発病指数4で倒伏を伴うと減収および品質の低下が大きくなった。

## 2. 発病とコムギの子実収量および収量構成要素の関係

コムギ眼紋病の発病とコムギの収量構成要素および子実収量との相関関係を第5-1-3表に示した。発病が多かった1989年および1992年は、発病茎率および発病度は千粒重、1穂重および子実収量と高い負の相関が認められたが、穂数および1穂粒数とは相関が低かった。発病が少なかった1990年は千粒重および1穂重で負の相関が認められたがいずれとも相関の程度は低かった。

試験年次における発病茎率および発病度と子実収量の関係を第5-1-1図および第5-1-2図に示した。3ヵ年の発病の年次間差は大きく、発病茎率および発病度は、それぞれ1989年は35.7~100%および13.9~94.3、1990年は27.3~96.7%および9.5~49.3、1992年は80.0~100%および29.8~80.5の範囲であった。

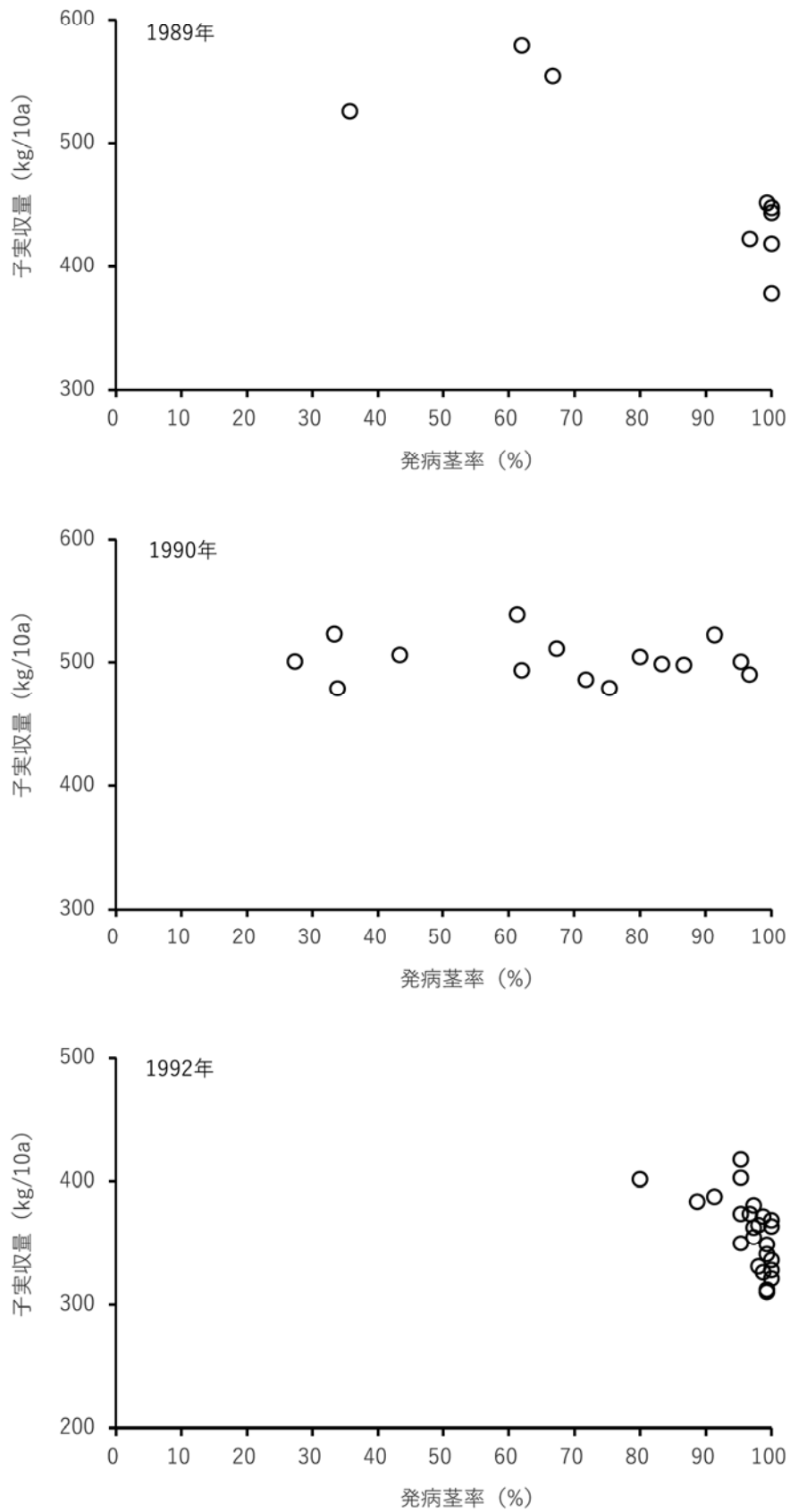
## 3. 発病とコムギの倒伏との関係

1989年および1992年はコムギの倒伏が認められたが、1990年はほとんど倒伏しなかった(第5-1-3図, 第5-1-4図)。収穫期におけるコムギの倒伏面積割合は、1989年は0~65%、1990年は0~13.3%、1992年は23.3~100%であった。1989年は発病茎率90%以上、発病度80以上で、1992年は発病茎率90%以上、発病度40以上で倒伏面積割合の増加が認められた(第5-1-3図, 第5-1-4図)。

## 考察

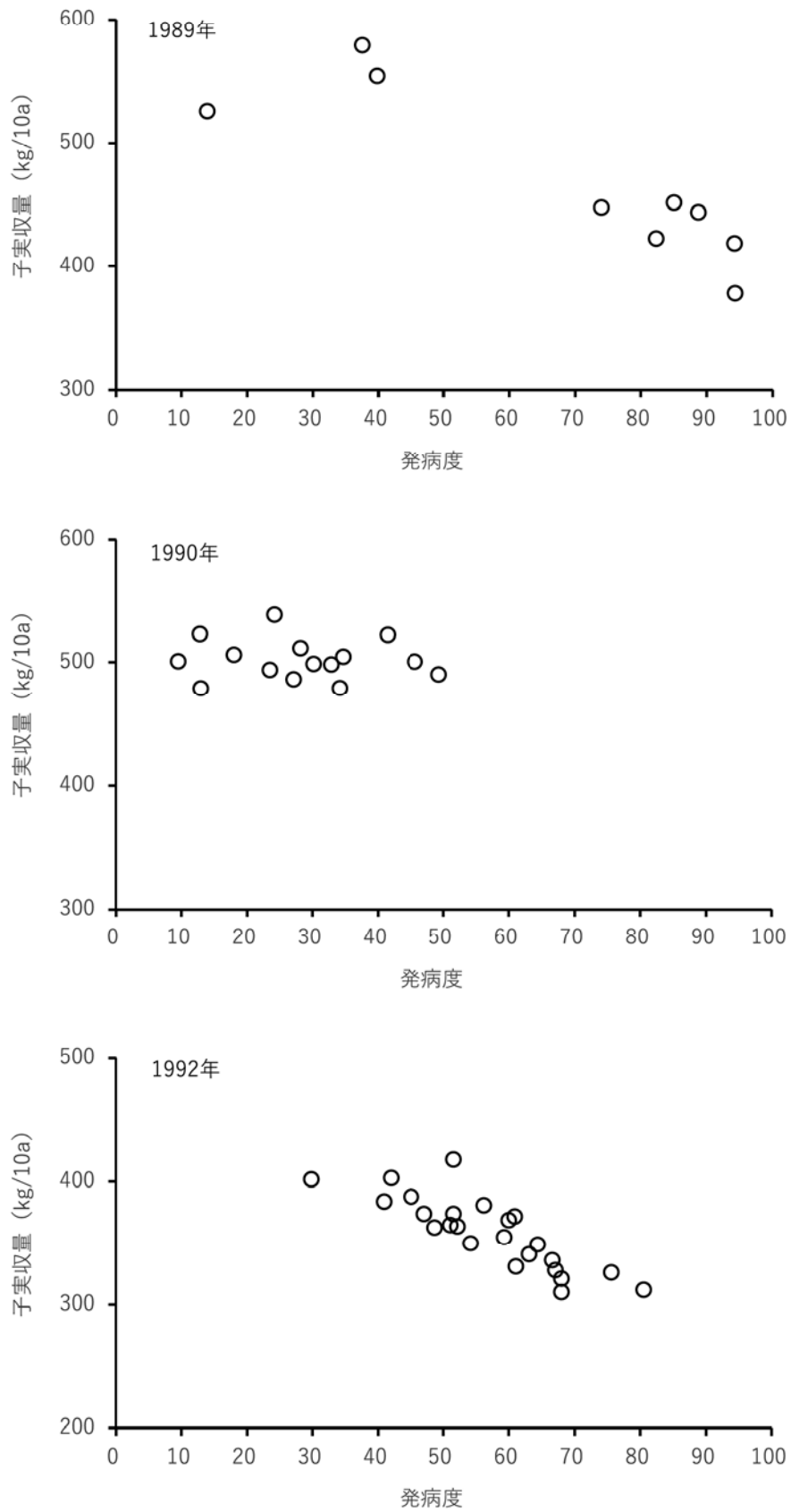
コムギ眼紋病はコムギの茎基部で病斑を形成し、上位に進展することはほとんどないため、コムギが倒伏して初めて被害を認識することが多い。発病指数別に茎単位の減収および品質低下の程度を調査したところ、倒伏に至らなくても、発病指数3以上、すなわち病斑が茎を完全に囲むようになると、減収および品質低下が認められた。本病によるコムギの収量構成要素および品質に及ぼす影響を検討したところ、穂数および1穂粒数にはほとんど影響しないが、千粒重の減少および品質の低下が認められた。コムギの収量構成要素は、穂数、1穂粒数、千粒重の順に決まる。第4章第2節で示したように、北海道では発病初期~中期は葉鞘にのみ病斑を形成し、病斑が稈に移行して拡大するのはコムギの節間伸長期以降である。節間伸長期前までに穂数および1穂粒数は概ね決まるため、これらに対する本病の影響は小さいが、この後のコムギ粒の肥大が進む時期に発病が進展して病斑が茎を囲むと、水分および養分の転流が阻害されるため、千粒重が減少し、リットル重、整粒歩合などのコムギ粒の品質、アミログラム特性値によるコムギ品質の低下を引き起こすものと考えられる。

Scott and Hollins (1974) の報告によると、英国のコムギでは、重度の発病(本試験における発病指数3以上に相当)では、1穂重、1穂粒数および千粒重の低下が、中度の発病(本試験における発病指数2に相当)でも千粒重の軽度の低下が生じる。また、Clarkson (1981) の報告では、1穂重、1穂粒数および千粒重は重度の発病で顕著に低下し、中度の発病でもこれら収量構成要素の減少が認められている。同等の発病程度であっても、北海道における本病による収量構成要素の減少程度は、これら報告に比べて小さい。北海道の秋播型コムギは、冬期間は積雪下で生育が停滞し、融雪後の3ヶ月間余りの生育で収穫期を迎える。英国

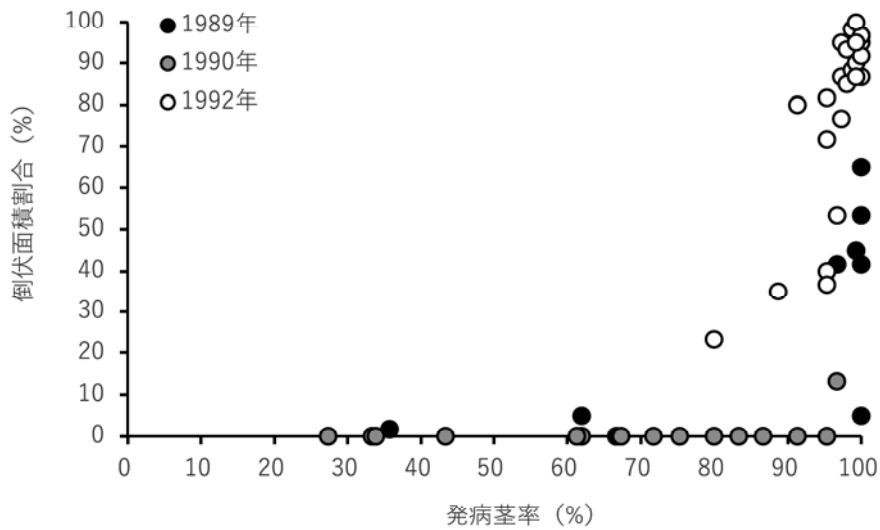


第5-1-1図 コムギ眼紋病の発病茎率とコムギ子実収量との関係

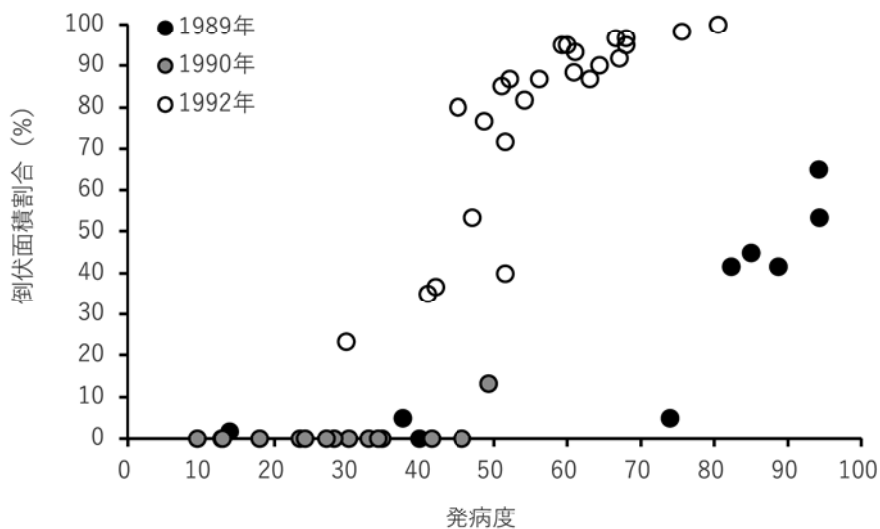




第5-1-2図 コムギ眼紋病の発病度とコムギ子実収量との関係



第 5-1-3 図 コムギ眼紋病の発病茎率とコムギ子実重の倒伏面積割合との関係



第 5-1-4 図 コムギ眼紋病の発病度とコムギ子の倒伏面積率との関係

を含む西ヨーロッパでは、冬季は温暖で積雪が少ないので起生期は早く、夏季は冷涼なために登熟期間は長く、北海道に比べ生育期間が長い(下野, 1980; 柳沢, 2000)。そのため、コムギ眼紋病の発病がコムギの生育前半から影響を及ぼし、かつその影響も長期間となる(Scott and Hollins, 1978)。さらに収量レベルも北海道に比べ高いため(下野, 1980; 柳沢, 2004)、発病による被害が大きくなるものと考えられる。

本病による被害が生じる発病茎率および発病度を検討した。発病茎率と子実収量との関係では(第 5-1-1

図)、1989 年は 66.7%以下では減収はみられず、96.7%以上で減収が認められた。1990 年は 27.3~96.7%の範囲で減収は認められなかった。1992 年は 91.3%以下では減収がみられず、95.3%以上で減収がみられた。以上から発病茎率 90%以下では減収は生じないと推察された。発病度と子実収量との関係では(第 5-1-2 図)、1989 年は 39.8 以下では減収がみられず、74.0 以上で減収が認められた。1990 年は 9.5~49.3 の範囲で減収は認められなかった。1992 年は 40.9 以上で減収傾向がみられた。以上から発病度 40 以下では減収は生じないと

考えられた。本病は発病指数2以下の茎では減収が認められないことから（第5-1-1表）、発病度40以下では発病指数2以下の茎がほとんどを占めるためだと推察される。コムギ品質に対しては発病指数2以下ではほとんど影響はないことから（第5-2-2表）、減収が生じる発病レベルに達しない場合には品質の低下は認められないと考えられる。

コムギ眼紋病による減収および品質低下は倒伏によってさらに大きくなった。英国においても、倒伏によって減収が大きくなることが報告されている（Scott and Hollins, 1974）。コムギの倒伏はその年の気象やコムギに生育によって影響を受けるため、年次間差が大きかったが、発病茎率90%以上で倒伏面積割合の顕著な増加が認められた（第5-1-3図）。また、発病度との関係（第5-1-4図）では、倒伏が多かった1992年には発病度が40以上で倒伏面積割合が顕著に増える傾向が認められた。発病度40以上では、病斑が茎全体を取り囲む発病指数3以上の茎が増加するためだと考えられる。

コムギ眼紋病は、水平進展の後に垂直進展が起こるため、ある程度（ここでは90%）の発病茎率にならないと被害にはつながらない（竹内ら, 2018）。以上の結果から、コムギ眼紋病によって被害が生じる発病水準は、発病茎率で90%、発病度で40と推定される。1990年の結果から明らかなように、本病は減収を生じない範囲の発病ではほとんど問題とされない。したがって、本病は実質的に被害が生じる発病とならないような対策を講じることが効率的である。本研究で設定した発病水準は、防除対策の検討の目安として活用できる。

## 第6章 薬剤防除

### 第1節 ベンゾイミダゾール剤の効果

#### 目的

北海道におけるコムギ眼紋病菌のベンゾイミダゾール剤に対する感受性および耐性菌の分布を明らかにする。また、ベンゾイミダゾール剤であるチオファネートメチル水和剤散布による防除効果を検討するとともにコムギほ場における耐性菌密度と効果の関係を明らかにする。

#### 材料および方法

##### 1. 眼紋病菌のベンゾイミダゾール感受性

3で示す薬剤防除試験の各試験区の罹病茎から既述の方法により分離した120菌株を用い、ベンゾイミダゾール剤であるチオファネートメチルおよびベノミルに対する感受性を調査するため、以下の方法で最低生育阻止濃度(MICと略)を求めた。すなわち検定に用いた培地はチオファネートメチル水和剤(70%)およびベノミル水和剤(50%)を0, 0.1, 0.2, 1, 2, 10, 20, 100, 200, 1000, 2000, 10000ppmの12段階の濃度になるように加えたPDA培地(ブドウ糖加用ジャガイモ煎汁寒天培地)である。これらの培地上にPDAで18°C14日間前培養した検定菌株を直径5mmのコルクボーラーで打ち抜き、接種した。接種後、18°C14日間培養し、菌の生育の有無を調査してMICを求め、これを感受性値とした。

##### 2. 北海道における耐性菌の分布

第3章第1節において1989年6月~7月に道内各地のほ場から採取した被害標本より分離した病原菌について耐性菌の有無について検定を行った。検定培地はベノミル2ppm添加したPDA平板を用い、ベノミル2ppmで菌叢の生育が認められるものを耐性菌とした。

##### 3. チオファネートメチル水和剤散布による効果

試験は1988~1995年に岩見沢市、北村、長沼町、美瑛町および訓子府町の28ほ場で行った。供試品種は1998年美瑛町、1989年岩見沢市Bほ場および1990年北村の3ほ場の「ホロシリコムギ」以外は「チホクコムギ」であった。薬剤はチオファネートメチル水和剤の1000倍液を10a当たり100~120L散布した。試験は3反復で行った。試験条件の概要は第6-1-1表に示したとおりである。1988年美瑛町、1989年美瑛町および1990年長沼町の試験では1および2回散布を行った。発病調査は、各区より無作為に50茎採取し、葉鞘を

取り除いた稈について発病茎率および発病度を既述の方法で調査した。

防除価は以下の式で算出した。

$$\text{防除価} = 100 - \{ (\text{防除区の発病度}) / (\text{無防除区の発病度}) \} \times 100$$

また、一部の試験において発病調査後に無防除区の罹病茎の病斑部から病原菌を分離し、既述の方法によってベンゾイミダゾール耐性の検定を行い、検定菌株のうちの耐性菌の割合を百分率で表し、各ほ場における耐性菌密度とした。

#### 結果

##### 1. 眼紋病菌のベンゾイミダゾール感受性

実験結果は第6-1-1図および第6-1-2図に示した。検定120菌株のベノミルに対する感受性値の頻度分布を見ると、2ppm以下、200ppm以上およびその両者の中間にそれぞれピークが認められ、MIC値が低濃度、中濃度および高濃度の菌が混在していることが明らかとなった。また、チオファネートメチルに対する感受性値も三峰性の頻度分布を示し、10ppm、10000ppm以上と両者の中間位にピークが認められた。ベノミルとチオファネートメチルとの間のMIC値の相関は高かった(第6-1-2表)。しかし、耐性菌のチオファネートメチルに対するMIC値はベノミルのそれに比べると明らかに高い傾向が認められた。

##### 2. 北海道における耐性菌の分布

1989年は北海道内10支庁管内77市町村235ほ場から1017菌株を分離し、耐性の有無について検定した。その結果、154ほ場(65.5%)から耐性菌が検出された(第6-1-3表)。また、検定菌株のうち耐性菌は498菌株(49.0%)であった。

1992年は北海道内10支庁管内96市町村320ほ場から1931菌株を分離し、耐性の有無について検定した。その結果、241ほ場(75.3%)から耐性菌が検出された(第6-1-4表)。また、検定菌株のうち耐性菌は918菌株(47.5%)であった。

耐性菌の検出頻度は、太平洋およびオホーツク海側の日高、十勝および網走管内で高かった。一方、留萌および桧山管内の調査ほ場からは耐性菌は検出されなかった(第6-1-3図)。

耐性菌は*O. yallundae*および*O. acufomis*いずれの菌種にも存在したが、*O. acufomis*は*O. yallundae*に比べて耐性菌が多い傾向があった(第6-1-5表)。

第6-1-1表 試験条件の概要

試験年次	試験ほ場	供試品種	散布回数	散布月日		発病調査日
1988	岩見沢市	チホクコムギ	2	5月6日	6月2日	7月4日
	北村	チホクコムギ	2	5月6日	6月2日	7月4日
	美瑛町	ホロシリコムギ	2 1	5月17日 5月17日	5月26日	6月30日
1989	岩見沢市A	チホクコムギ	2	4月24日	5月1日	7月11日
	岩見沢市B	ホロシリコムギ	2	4月24日	5月1日	7月11日
	長沼町A	チホクコムギ	2	4月21日	4月28日	7月13日
	長沼町B	チホクコムギ	2	4月21日	4月28日	7月13日
	美瑛町	チホクコムギ	2 1	4月28日 4月28日	5月8日	6月15日
1990	岩見沢市	チホクコムギ	2	5月2日	5月16日	7月4日
	岩見沢市	チホクコムギ	1	5月7日		7月4日
	北村A	ホロシリコムギ	1	5月10日		7月5日
	北村B	ホロシリコムギ	1	5月8日		7月5日
	北村C	ホロシリコムギ	1	5月10日		7月5日
	長沼町	チホクコムギ	2 1	5月1日 5月1日	5月11日	7月5日
1991	美瑛町	チホクコムギ	2	5月7日	5月18日	6月30日
	岩見沢市	チホクコムギ	2	5月7日	5月17日	7月1日
	岩見沢市	チホクコムギ	1	5月7日		7月1日
	長沼町	チホクコムギ	2	5月3日	5月11日	7月2日
1992	美瑛町	チホクコムギ	2	5月9日	5月17日	7月1日
	岩見沢市	チホクコムギ	2	5月6日	5月16日	7月6日
	長沼町	チホクコムギ	2	5月6日	5月13日	7月9日
1993	訓子府町	チホクコムギ	2	5月7日	5月19日	7月6日
	岩見沢市	チホクコムギ	1	5月14日		7月6日
1994	美瑛町	チホクコムギ	1	5月14日		7月15日
	岩見沢市	チホクコムギ	1	5月19日		7月12日
1995	長沼町	チホクコムギ	1	5月13日		7月12日
	岩見沢市	チホクコムギ	1	5月8日		7月10日
	千歳市	チホクコムギ	1	5月18日		7月5日

### 3. チオファネートメチル水和剤散布による効果

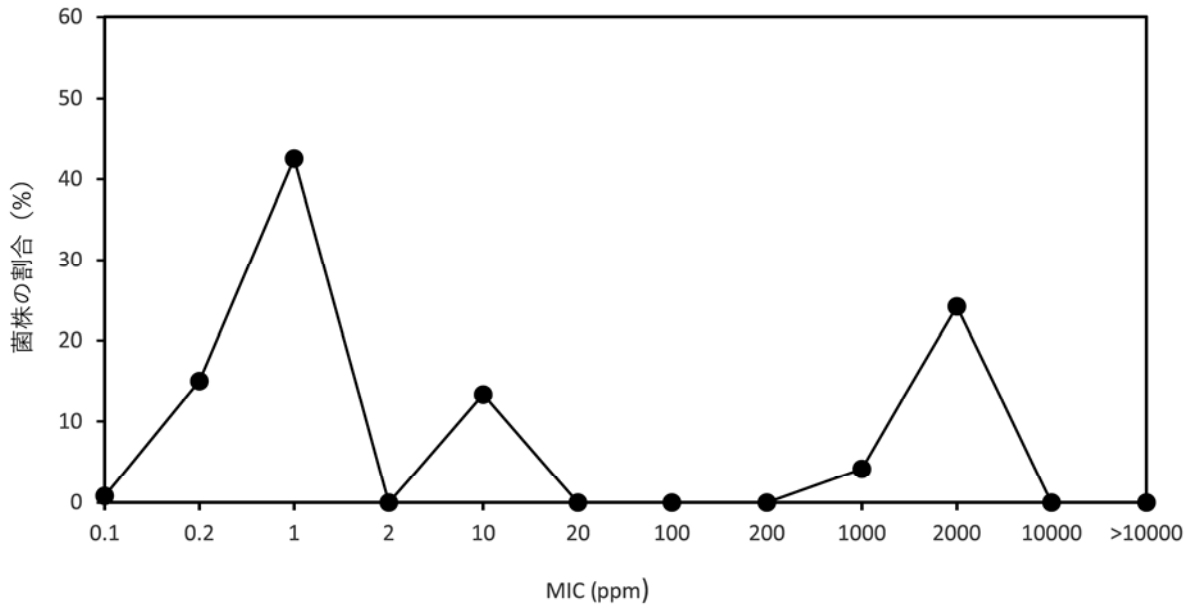
8カ年31試験の結果を第6-1-6表に示した。チオファネートメチル水和剤の効果は試験によって大きく異なり、防除効果が高い試験例がある一方でほとんど効果が認められない試験例もあった。2回散布および1回散布では効果の差は認められなかった。

耐性菌の割合を調査した試験の結果を割合が低い順に並べて第6-1-7表に示した。試験ほ場の耐性菌の割合は7.1~100%と大きく異なった。チオファネートメチル水和剤は感受性菌が優占しているほ場では明らかな防除効果が認められたが、耐性菌密度が高いほ場ではほとんど防除効果が認められなかった。耐性菌が30%以下では効果が認められたが、耐性菌が50%以上ではほとんど効果が認められなかった。

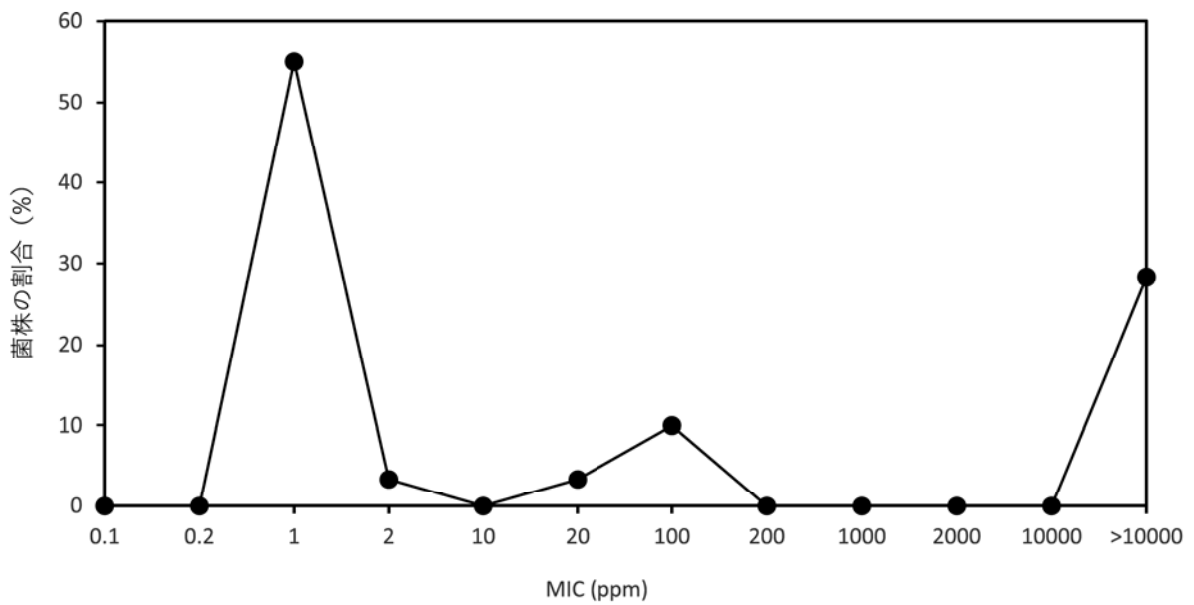
### 考察

コムギ眼紋病による被害が問題となった後、本病の薬剤による防除法について検討され(沢崎・佐藤, 1988; 篠田, 1988), チオファネートメチル水和剤の茎葉散布が有効であることが明らかとなり実用化されるに至った。しかし、同剤の使用頻度の高い地帯ではまもなく防除効果の低下が見られ、耐性菌の出現が指摘された(清水・宮島, 1989)。そこで、北海道における耐性菌の分布状況を明らかにするとともに、ほ場における耐性菌の密度と薬剤の防除効果の関係について検討した。

薬剤処理の異なるほ場および試験区から分離した120菌株を供試し、コムギ眼紋病菌のベノミルおよび



第6-1-1図 コムギ眼紋病菌のペノミル感受性頻度分布 (n=120)



第6-1-2図 コムギ眼紋病菌のチオファネートメチル感受性頻度分布 (n=120)

第6-1-2表 コムギ眼紋病のベノミルとチオファネートメチルに対するMIC値の相関<sup>a)</sup>

	ベノミル (MIC ppm)									
	0.1	0.2	1	2	10	20	100	200	1000	2000
チオファネートメチル (MIC ppm)	0.1									
	0.2									
	1	1	18	47						
	2			4						
	10									
	20					4				
	100					12				
	200									
	1000									
	2000									
	10000									
	>10000								5	29

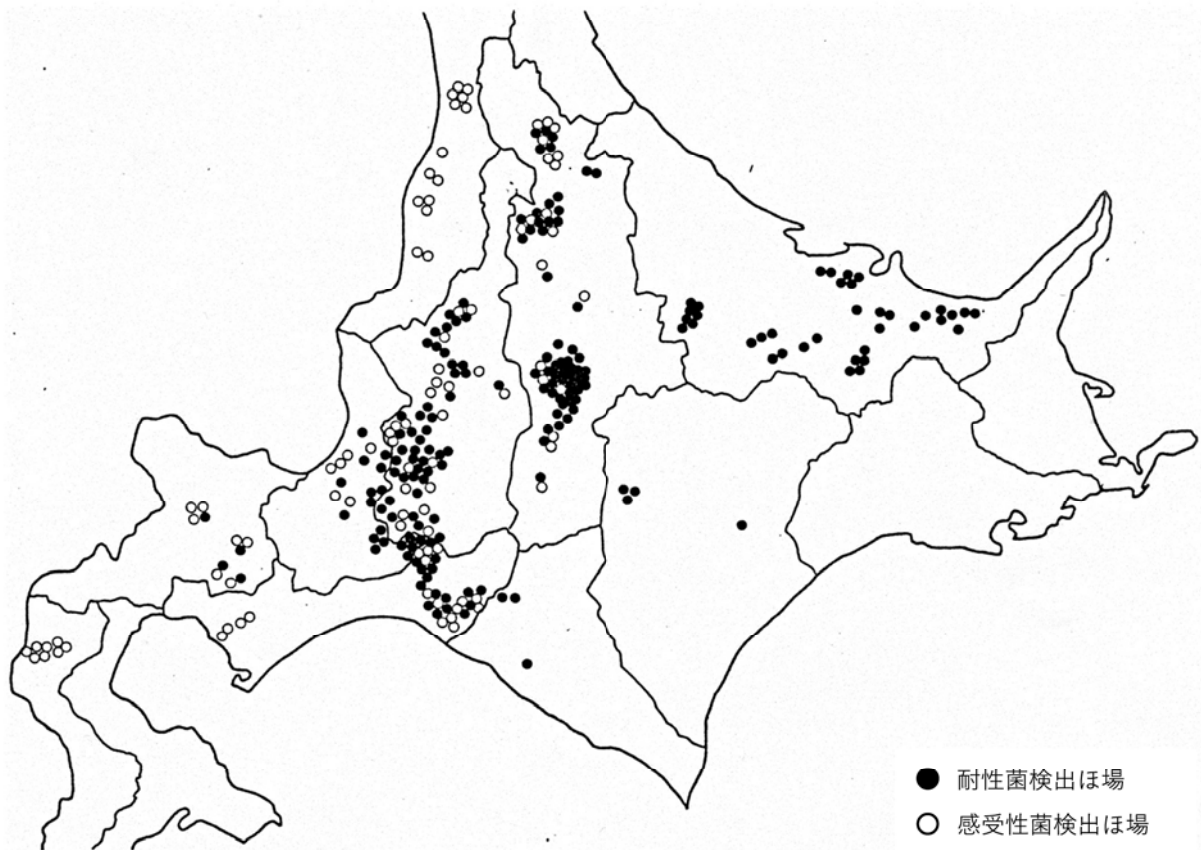
a) n=120

第6-1-3表 ベンゾイミダゾール耐性コムギ眼紋病菌の分布 (1989年調査)

地域	支庁 <sup>a)</sup>	調査市町村数 <sup>a)</sup>	調査ほ場数	耐性菌検出ほ場数(%)	検定菌株数	耐性菌株数(%)
道南	桧山	1	4	0 (0)	33	0 (0)
道央	石狩	8	21	15 (71.4)	94	67 (71.3)
	空知	21	64	44 (68.8)	349	144 (41.3)
	後志	4	11	3 (27.3)	36	4 (11.1)
	胆振	7	28	13 (46.4)	99	24 (24.2)
	日高	2	3	3 (100)	7	7 (100)
道北	留萌	5	10	0 (0)	36	0 (0)
	上川	13	62	45 (72.6)	240	131 (54.6)
道東	十勝	2	2	2 (100)	7	7 (100)
	網走	14	30	29 (96.7)	116	114 (98.3)
計		77	235	154 (65.5)	1017	498 (49.0)

第6-1-4表 ベンゾイミダゾール耐性コムギ眼紋病菌の分布 (1992年調査)

地域	支庁 <sup>a)</sup>	調査市町村数 <sup>a)</sup>	調査ほ場数	耐性菌検出ほ場数(%)	検定菌株数	耐性菌株数(%)
道南	渡島	1	2	0 (0)	15	0 (0)
	桧山	3	19	2 (10.5)	159	3 (1.9)
道央	石狩	6	21	17 (81.0)	135	73 (54.1)
	空知	20	70	56 (80.0)	493	222 (45.0)
	後志	6	18	9 (50.0)	101	28 (27.7)
	胆振	7	20	12 (60.0)	139	43 (30.9)
	日高	2	8	6 (75.0)	55	35 (63.6)
道北	留萌	5	11	5 (45.5)	77	10 (13.0)
	上川	19	64	48 (75.0)	437	197 (45.1)
道東	十勝	12	41	40 (97.6)	153	146 (95.4)
	網走	15	46	46 (100)	167	161 (96.4)
計		96	320	241 (75.3)	1931	918 (47.5)



第6-1-3図 北海道におけるベンゾイミダゾール耐性コムギ眼紋病菌の分布(1989年)

第6-1-5表 コムギ眼紋病菌の菌種別のベンゾイミダゾール耐性菌の割合

調査年次	菌株数(%)				総数
	<i>Oculimacula yallundae</i>		<i>Oculimacula acuformis</i>		
	感受性菌	耐性菌	感受性菌	耐性菌	
1989	306 (30.0)	191 (18.8)	227 (22.3)	293 (28.8)	1,017 (100)
1992	810 (41.9)	283 (14.7)	203 (10.5)	635 (32.9)	1,931 (100)

チオファネートメチルに対する感受性を検定したところ、三峰の分布曲線を示し、2 ppm 以下の濃度で明らかなピークが認められた。ベンゾイミダゾール剤に対するコムギ眼紋病菌の耐性検定は、カーベンダジム 1ppm (Brown *et al.*, 1984; Coskun *et al.*, 1987) またはベノミル 2ppm (Griffin and King, 1985; Hollins *et al.*, 1985; King and Griffin, 1985) における生育の有無によって判定されている。そこでベノミル感受性頻度分布で感性菌と耐性菌の境界となる MIC 値を 2 ppm とし、ベノミル 2ppm 添加培地によって耐性検定を行うことにした。なお、耐性菌の頻度分布から、ベノミル 200ppm 以上

の高濃度で生育する菌株群と 2ppm 以上 20ppm 以下までの濃度で生育する菌株群が存在することが判明した。

ベノミルとチオファネートメチルは共通の抗菌性代謝生成物カーベンダジム (MBC) を生ずるため、両剤間に交差耐性がみられることは広く知られており (上杉, 1981), コムギ眼紋病菌においても同様であった (Brown *et al.*, 1984)。しかし、チオファネートメチルの耐性菌に対する MIC 値はベノミルのそれに比べて明らかに高かった。これは、チオファネートメチルの水溶液中における MBC への交換速度がベノミルの場



第6-1-6表 コムギ眼紋病に対するチオファネートメチル水和剤1000倍液散布の効果

試験年次	試験ほ場	散布回数	無防除		防除		防除価	耐性菌株率 (%)
			発病茎率 (%)	発病度	発病茎率 (%)	発病度		
1988	岩見沢市	2	100.0	87.5	55.6	23.1	73.6	
	北村	2	100.0	95.6	98.9	73.6	23.0	
	美瑛町	2	96.2	61.5	95.1	59.7	2.9	
		1	96.2	61.5	95.5	62.8	0.0	
1989	岩見沢市A	2	100.0	94.2	66.7	43.2	54.1	26.1
	岩見沢市B	2	97.8	82.0	54.0	25.1	69.4	7.1
	長沼町A	2	100.0	85.8	44.2	21.5	74.9	
	長沼町B	2	100.0	97.3	95.6	65.8	32.4	
	美瑛町	2	87.7	41.0	92.7	42.8	0.0	100.0
		1	87.7	41.0	91.3	44.3	0.0	
1990	岩見沢市	2	96.7	49.3	33.8	13.0	73.6	20.0
	岩見沢市	1	96.7	51.3	69.3	28.5	44.4	20.0
	北村A	1	91.3	34.1	88.2	30.4	10.9	83.3
	北村B	1	94.0	37.0	44.8	17.0	54.1	9.1
	北村C	1	50.5	17.8	49.1	15.3	14.0	71.4
	長沼町	2	99.3	89.4	95.3	55.4	38.0	
		1	99.3	89.4	98.6	70.9	20.7	
	美瑛町	2	100.0	85.8	98.9	85.0	0.9	100.0
1991	岩見沢市	2	95.3	63.9	69.2	41.7	34.7	42.8
	岩見沢市	1	96.7	70.5	75.0	36.0	48.9	27.3
	長沼町	2	100.0	97.1	96.0	73.8	24.0	
	美瑛町	2		81.3		79.6	2.1	
1992	岩見沢市	2	99.0	78.1	98.0	61.1	21.8	76.7
	長沼町	2		86.5		81.1	6.2	
	訓子府町	2	57.4	25.0	69.6	32.4	0.0	
1993	岩見沢市	1	96.0	42.2	95.3	38.0	10.0	53.4
	美瑛町	1	85.0	35.0	78.0	30.0	14.3	
1994	岩見沢市	1	82.3	33.6	63.3	24.9	25.9	66.7
	長沼町	1	28.8	10.9	33.0	10.5	3.7	
1995	岩見沢市	1	98.7	40.7	71.3	21.7	46.7	12.5
	千歳市	1	91.3	54.3	87.5	46.1	15.1	

合よりやや緩慢であることが関与しているものと考えられる(手塚・上杉, 1983)。

北海道におけるベンゾイミダゾール系薬剤に対する耐性菌の分布は、耐性菌の検出されたほ場が1989年で65.5%、1992年で75.3%、耐性菌の割合が1989年で49.0%、1992年で47.5%存在したことから、かなり広範囲に及んでいることが明らかとなった。特にオホーツク海および太平洋側の日高、十勝および網走管内ではすべてのほ場で耐性菌が検出され、耐性菌の割合も高かった。一方、日本海側の桧山、後志および留萌管内では感受性菌がほとんどであった(第6-1-3図)。このように太平洋側の耐性菌の密度の高い地帯は雪腐

大粒菌核病の発生地帯で(富山, 1955)、根雪前にチオファネートメチル水和剤の散布が行われているため、これが耐性菌の密度を高めたものと考えられる。

異なった耐性菌密度を示すほ場におけるチオファネートメチル水和剤の茎葉散布は、耐性菌が50%以上の場合は防除効果が認められなかったが、30%以下では有効であることが明らかとなった。この結果はGriffin and King (1985)の結果とよく一致した。

以上の結果から、チオファネートメチル水和剤は耐性菌密度が高い道東地方ではほとんど防除効果が期待できないと考えられた。一方、耐性菌密度の比較的低い地帯においても広範囲から耐性菌が分離されている

第6-1-7表 コムギ眼紋病に対するチオファネートメチル水和剤の効果と耐性菌株率の関係

試験年次	試験ほ場	散布回数	無防除		防除		防除価	耐性菌株率 (%)
			発病茎率 (%)	発病度	発病茎率 (%)	発病度		
1989	岩見沢市B	2	97.8	82.0	54.0	25.1	69.4	7.1
1990	北村B	1	94.0	37.0	44.8	17.0	54.1	9.1
1995	岩見沢市	1	98.7	40.7	71.3	21.7	46.7	12.5
1990	岩見沢市	2	96.7	49.3	33.8	13.0	73.6	20.0
1990	岩見沢市	1	96.7	51.3	69.3	28.5	44.4	20.0
1989	岩見沢市A	2	100.0	94.2	66.7	43.2	54.1	26.1
1991	岩見沢市	1	96.7	70.5	75.0	36.0	48.9	27.3
1991	岩見沢市	2	95.3	63.9	69.2	41.7	34.7	42.8
1993	岩見沢市	1	96.0	42.2	95.3	38.0	10.0	53.4
1994	岩見沢市	1	82.3	33.6	63.3	24.9	25.9	66.7
1990	北村C	1	50.5	17.8	49.1	15.3	14.0	71.4
1992	岩見沢市	2	99.0	78.1	98.0	61.1	21.8	76.7
1990	北村A	1	91.3	34.1	88.2	30.4	10.9	83.3
1990	美瑛町	2	100.0	85.8	98.9	85.0	0.9	100.0
1989	美瑛町	2	87.7	41.0	92.7	42.8	0.0	100.0
1989	美瑛町	1	87.7	41.0	91.3	44.3	0.0	100.0

こと、また、1990年の北村の試験例のように、同一市町村内においても耐性菌密度は薬剤の使用歴により著しく異なることから、本剤散布にはほ場ごとの耐性菌密度の把握が必要となる。しかし、ほ場ごとに精密に耐性菌密度を調査するのは現実的ではなく、本剤のコムギ眼紋病に対する使用の判断は、各ほ場のベンゾイミダゾール系薬剤の使用歴などから推定せざるを得ない。Fehrmann (1984) は継続的なベンゾイミダゾール系薬剤の使用がコムギ眼紋病菌の耐性化を誘導させることを報告している。したがって、耐性菌の割合が低い道央および道南地方では、ベンゾイミダゾール系薬剤の最小限の使用により、現在以上に耐性菌の密度を高めないことが必要である。そのための対策として、他の病害防除にはベンゾイミダゾール系薬剤を使用せず他系統の薬剤を用いることが有効であると考えられるが、チオファネートメチル水和剤はコムギ赤かび病の防除に重要な薬剤であるため、使用の制限は困難である。

北海道においてコムギ眼紋病の防除にベンゾイミダゾール系薬剤を使用することは困難であることが明らかとなった。したがって、本病に対する薬剤防除は本剤に代替する薬剤の実用化が必要である。

## 第2節 DMI 剤の効果

### 目的

北海道から分離されたコムギ眼紋病菌について、DMI 剤（ステロール脱メチル阻害剤）に対する感受性を明らかにする。また、DMI 剤であるプロピコナゾール乳剤およびプロクロラズ乳剤散布による防除効果を検討するとともに、コムギほ場における病原菌の菌種構成と効果の関係を明らかにする。

### 材料および方法

#### 1. 感受性の検定

病原菌の分布調査において収集した菌株から、1989年に8支庁20市町村および9支庁20市町村から分離した *O. yallundae* および *O. acuformis* をそれぞれ20菌株、1992年に10支庁20市町村および8支庁20市町村から分離した *O. yallundae* および *O. acuformis* をそれぞれ20菌株、合計80菌株を選定し、単孢子分離して感受性検定に供試した（第6-2-1表）。

DMI 剤に対する感受性検定は Leroux *et al.* (1988) の方法によって行った。DMI 剤はプロピコナゾール乳剤（有効成分25.0%、商品名：チルト乳剤）およびプロクロラズ乳剤（有効成分25.0%、商品名：スボルタック乳剤）を供試し、それぞれ0, 0.0316, 0.10, 0.316, 1.0, 3.16, 10.0ppm (w/v) の濃度になるように添加した合成培地 (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.5g, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.5g, グルコース10g, 酵母エキス2g,

第6-2-1表 供試菌株

分離年次	<i>O. yallundae</i>				<i>O. acuformis</i>			
	菌株名	地域	市町村	ベンゾイミダゾール耐性	菌株名	地域	市町村	ベンゾイミダゾール耐性
1989	9-1	石狩	当別町	S	19-4	石狩	千歳町	S
	52-2	空知	沼田町	S	71-1	留萌	苫前町	S
	74-1	留萌	羽幌町	S	125-2	空知	滝川市	S
	119-1	留萌	遠別町	S	164-5	上川	士別市	S
	145-1	空知	月形町	S	185-5	胆振	厚真町	S
	243-3	後志	共和町	S	248-4	後志	留寿都村	S
	245-3	後志	京極町	S	187-2	日高	平取町	R
	303-2	上川	旭川市	S	227-1	網走	常呂町	R
	403-1	桧山	今金町	S	53-1	上川	美瑛町	R
	409-1	胆振	伊達市	S	109-1	上川	下川町	R
	427-2	空知	美瑛市	S	206-1	網走	美幌町	R
	W1	桧山	北桧山町	S	209-2	網走	斜里町	R
	10-2	空知	奈井江町	R	217-1	網走	北見市	R
	110-2	空知	長沼町	R	230-1	網走	白滝村	R
	89-4	胆振	穂別町	R	232-1	網走	佐呂間町	R
	157-3	石狩	江別市	R	250-2	後志	真狩村	R
	13-1	石狩	新篠津村	R	307-3	上川	東川町	R
	113-4	空知	南幌町	R	316-1	上川	上富良野町	R
	176-2	日高	平取町	R	436-1	十勝	新得町	R
	196-4	胆振	厚真町	R	439-1	十勝	池田町	R
1992	92187	石狩	千歳市	S	9211	石狩	当別町	R
	9207	石狩	新篠津村	R	92251	空知	美瑛市	S
	92120	空知	栗山町	S	92256	空知	栗沢町	R
	92262	空知	岩見沢市	R	92318	空知	奈井江町	R
	92202	空知	芦別市	S	92133	後志	倶知安町	S
	92278	空知	妹背牛町	R	92240	胆振	穂別町	R
	9215	空知	雨竜町	R	KF1-1	上川	上富良野町	R
	92173	後志	真狩村	S	92166	上川	旭川市	S
	92130	後志	共和町	S	92287	上川	士別市	R
	92238	胆振	厚真町	R	9224	留萌	羽幌町	S
	92231	胆振	伊達市	S	92106	網走	清里町	S
	92241	日高	平取町	R	92103	網走	小清水町	R
	92228	桧山	今金町	R	9283	網走	網走市	R
	92159	上川	旭川市	R	9270	網走	訓子府町	R
	92178	上川	当麻町	S	9287	網走	佐呂間町	R
	92154	上川	名寄市	S	92107	十勝	音更町	R
	92290	上川	剣淵町	R	92258	十勝	清水町	R
	92127	留萌	小平市	S	9248	十勝	芽室町	R
	92283	網走	網走市	R	9256	十勝	中札内村	R
	92249	十勝	池田町	S	9251	十勝	更別村	R

寒天15g, 蒸留水1l) を用いた。各供試菌株をPDA 平板培地上で20°C1週間培養し、直径5mmのコルクボーラーで菌叢を打ち抜き、薬剤添加平板培地に置床した。培養は20°Cで行い、生育した菌叢の直径を7日間おきに3~4週間計測し、0 ppm の培地で伸長した菌糸長の50%となる薬剤濃度 (EC<sub>50</sub>値) を各薬剤濃度の対数値と菌糸伸長の阻害率から求めた。試験はそれぞれ3 反復で行った。

2. プロピコナゾール乳剤およびプロクロラズ乳剤の散布による防除効果

試験は1989~1995年に岩見沢市、長沼町、美瑛町お

よび訓子府町の36ほ場で行った。供試品種は岩見沢市Bほ場の「ホロシリコムギ」以外は「チホクコムギ」であった。薬剤はプロピコナゾール乳剤の1000または2000倍液およびプロクロラズ乳剤の600倍液を10a当たり100~120Lを1または2回散布した。試験は3反復で行った。試験条件の概要は第6-2-2表および第6-2-3表に示したとおりである。

プロピコナゾール乳剤では、1989年岩見沢市C、1989年岩見沢市D、1989年美瑛町、1991年岩見沢市および1992年岩見沢市で1および2回散布を行い、1990年岩見沢市で1000および2000倍液散布を行った。プロク

第6-2-2表 コムギ眼紋病に対するプロピコナゾール乳剤散布の試験条件の概要

試験年次	試験ほ場	供試品種	散布回数	薬剤希釈倍数	散布月日		発病調査日
1989	岩見沢市A	チホクコムギ	2	1000	4月24日	5月1日	7月11日
	岩見沢市B	ホロシリコムギ	2	1000	4月24日	5月1日	7月11日
	岩見沢市C	チホクコムギ	2	1000	5月8日	5月15日	7月11日
			1		5月8日		
	岩見沢市D	チホクコムギ	2	1000	5月8日	5月15日	7月11日
			1		5月8日		
	長沼町A	チホクコムギ	2	1000	4月21日	4月28日	7月13日
	長沼町B	チホクコムギ	2	1000	4月21日	4月28日	7月13日
	美瑛町	チホクコムギ	2	1000	4月28日	5月8日	6月15日
			1		4月28日		
訓子府町	チホクコムギ	2	1000	5月8日	5月29日	8月1日	
1990	岩見沢市	チホクコムギ	2	1000 2000	5月2日	5月16日	7月4日
	長沼町	チホクコムギ	2	2000	5月1日	5月11日	7月5日
	美瑛町	チホクコムギ	2	2000	5月7日	5月18日	6月30日
	訓子府町	チホクコムギ	2	2000	5月17日	5月30日	7月5日
1991	岩見沢市	チホクコムギ	2 1	1000	5月7日	5月17日	7月1日
			1		5月7日		
	長沼町	チホクコムギ	2	1000	5月3日	5月11日	7月2日
	美瑛町	チホクコムギ	2	1000	5月9日	5月17日	7月1日
訓子府町	チホクコムギ	2	1000	5月9日	5月28日	6月27日	
1992	岩見沢市	チホクコムギ	2 1	1000	5月6日	5月16日	7月6日
			1		5月6日		
	長沼町	チホクコムギ	2	1000	5月6日	5月13日	7月9日
	美瑛町	チホクコムギ	2	1000	4月28日	5月7日	7月7日
訓子府町	チホクコムギ	2	1000	5月7日	5月19日	7月6日	
1993	岩見沢市	チホクコムギ	1	1000	5月14日		7月6日
	長沼町	チホクコムギ	1	1000	5月11日		7月8日
	美瑛町	チホクコムギ	1	1000	5月14日		7月15日
	訓子府町	チホクコムギ	1	1000	5月17日		7月2日
1994	岩見沢市	チホクコムギ	1	1000	5月19日		7月12日
	長沼町	チホクコムギ	1	1000	5月13日		7月12日
1995	岩見沢市	チホクコムギ	1	1000	5月8日		7月10日
	千歳市	チホクコムギ	1	1000	5月18日		7月5日

第6-2-3表 コムギ眼紋病に対するプロクロラズ乳剤600倍液散布の試験条件の概要

試験年次	試験ほ場	供試品種	散布回数	散布月日		発病調査日
1990	岩見沢市	チホクコムギ	2	5月2日	5月16日	7月4日
	長沼町	チホクコムギ	2	5月1日	5月11日	7月5日
	美瑛町	チホクコムギ	2	5月7日	5月18日	6月30日
	訓子府町	チホクコムギ	2	5月17日	5月30日	7月5日
1991	岩見沢市	チホクコムギ	2	5月7日	5月17日	7月1日
			1	5月7日		
	長沼町	チホクコムギ	2	5月3日	5月11日	7月2日
	訓子府町	チホクコムギ	2	5月9日	5月28日	6月27日
1992	岩見沢市	チホクコムギ	2	5月6日	5月16日	7月6日
			1	5月6日		
1993	岩見沢市	チホクコムギ	1	5月14日		7月6日
1994	岩見沢市	チホクコムギ	1	5月19日		7月12日
1995	岩見沢市	チホクコムギ	1	5月8日		7月10日
2007	美瑛町	ホクシン	1	5月11日		7月9日
2009	美瑛市	ホクシン	2	4月20日	5月5日	6月10日
2010	美瑛市	きたほなみ	2	5月6日	5月14日	7月7日
	美瑛町	きたほなみ	2	5月6日	5月14日	7月13日
2011	美瑛市	きたほなみ	2	4月27日	5月6日	7月7日
	美瑛町	きたほなみ	2	5月3日	5月11日	7月12日
2012	美瑛町	きたほなみ	2	5月2日	5月9日	7月10日
2013	美瑛市	きたほなみ	2	5月9日	5月16日	7月8日

ロラズ乳剤では、1991年岩見沢市および1992年岩見沢市で1および2回散布を行った。

発病調査は、各区より無作為に50茎採取し、葉鞘を取り除いた稈について発病茎率および発病度を既述の方法で調査した。防除価は発病度より既述の式で算出した。

また、一部の試験において発病調査後に無防除区の罹病茎の病斑部から病原菌を分離し、既述の方法によって菌種の判別を行い、各ほ場における構成割合を求めた。

## 結果

### 1. 感受性の検定

北海道で1989年および1992年に分離されたコムギ眼紋病菌80菌株のプロピコナゾールおよびプロクロラズに対する感受性の検定結果を第6-2-4表に示し、感受性頻度分布を第6-2-5表に示した。*O. yallundae*と*O. acuformis*とは感受性が異なり、プロピコナゾールに対する $EC_{50}$ 値が*O. yallundae*で0.16~0.32 ppm、*O. acuformis*で1.0~4.5 ppmであった。プロクロラズに対する $EC_{50}$ 値は*O. yallundae*で0.03~0.09 ppm、*O. acuformis*で0.04~0.18 ppmであった。*O. yallundae*に

比べ*O. acuformis*は感受性が低く、その差はプロピコナゾールで大きかった。年次間で感受性に違いは認められなかった。

### 2. プロピコナゾール乳剤およびプロクロラズ乳剤の散布による防除効果

コムギ眼紋病に対するプロピコナゾール乳剤およびプロクロラズ乳剤の効果はそれぞれ第6-2-6表および第6-2-7表に示した。

プロピコナゾール乳剤の効果は試験によって大きく異なり、防除効果が高い試験例がある一方で、ほとんど効果が認められない試験例もあった。2回散布と1回散布では効果の差はなかった。1000倍液散布と2000倍液散布では効果の差はなかった。

プロクロラズ乳剤はいずれの試験においても安定した効果が得られた。2回散布と1回散布では効果の差はなかった。

菌種を調査した試験の結果を*O. acuformis*の割合が高い順に試験を並べて第6-2-8表および第6-2-9表にまとめた。試験ほ場の*O. acuformis*の割合は5.0~100%と異なった菌種構成を示した。プロピコナゾール乳剤散布による効果は、防除価が0~48.5と試験によって大きく異なり、*O. yallundae*が優占するほ場では効果が

第6-2-4表 コムギ眼紋病菌のフロピコナゾールおよびプロクロラズに対する感受性

分離年次	<i>O. yallundae</i>			<i>O. acuformis</i>		
	菌株名	EC <sub>50</sub> (ppm)		菌株名	EC <sub>50</sub> (ppm)	
		フロピコナゾール	プロクロラズ		フロピコナゾール	プロクロラズ
1989	9-1	0.16	0.03	248-4	1.0	0.06
	243-3	0.16	0.04	232-1	1.5	0.05
	427-2	0.16	0.04	217-1	1.6	0.04
	13-1	0.17	0.04	125-2	2.0	0.07
	52-2	0.17	0.04	227-1	2.1	0.06
	176-2	0.17	0.05	250-2	2.1	0.08
	74-1	0.17	0.04	53-1	2.2	0.04
	409-1	0.18	0.05	109-1	2.2	0.10
	89-4	0.18	0.06	439-1	2.2	0.07
	145-1	0.18	0.04	209-2	2.5	0.08
	303-2	0.19	0.06	230-1	2.5	0.12
	113-4	0.19	0.05	19-4	2.5	0.09
	10-2	0.20	0.06	307-3	2.5	0.13
	403-1	0.21	0.06	316-1	2.5	0.11
	157-3	0.25	0.05	71-1	2.5	0.06
	196-4	0.27	0.07	206-1	2.8	0.14
	245-3	0.27	0.07	164-5	3.4	0.10
	110-2	0.29	0.08	436-1	3.4	0.15
	W1	0.32	0.07	187-2	4.4	0.18
	119-1	0.32	0.08	185-5	4.5	0.16
	平均	0.21	0.05	平均	2.5	0.09
1992	92202	0.16	0.03	9270	1.4	0.07
	92231	0.16	0.04	92107	1.4	0.06
	92187	0.17	0.04	9248	1.5	0.06
	92127	0.17	0.03	92240	1.7	0.04
	92120	0.18	0.03	92251	1.8	0.09
	92130	0.18	0.04	92287	1.9	0.11
	92238	0.19	0.04	92256	2.0	0.06
	92262	0.21	0.04	9287	2.0	0.06
	92241	0.21	0.05	9224	2.2	0.09
	92178	0.21	0.05	92106	2.3	0.10
	9207	0.22	0.04	92258	2.5	0.07
	92290	0.22	0.06	92318	2.7	0.11
	92228	0.23	0.05	KF1-1	2.8	0.15
	92249	0.23	0.05	9256	2.8	0.12
	92278	0.24	0.07	9211	2.9	0.18
	92154	0.24	0.05	9283	2.9	0.14
	9215	0.26	0.06	92133	3.6	0.13
	92173	0.27	0.06	92103	3.7	0.16
	92283	0.27	0.06	92166	3.9	0.18
	92159	0.32	0.09	9251	4.0	0.17
	平均	0.22	0.05	平均	2.5	0.11

第6-2-5表 コムギ眼紋病菌のプロピコナゾールおよびプロクロラズに対する感受性

薬剤	菌種	年次	EC <sub>50</sub> (ppm)								
			≤0.05	>0.05	>0.1	>0.2	>0.4	>0.8	>1.6	>3.2	>6.4
プロピコナゾール	<i>O. yallundae</i>	1989	0 <sup>a)</sup>	0	12	8	0	0	0	0	0
		1992	0	0	7	13	0	0	0	0	0
	<i>O. acuformis</i>	1989	0	0	0	0	0	3	13	4	0
		1992	0	0	0	0	0	3	13	4	0
プロクロラズ	<i>O. yallundae</i>	1989	11	9	0	0	0	0	0	0	0
		1992	14	6	0	0	0	0	0	0	0
	<i>O. acuformis</i>	1989	3	10	7	0	0	0	0	0	0
		1992	1	9	10	0	0	0	0	0	0

a) 菌株数

認められたが、*O. acuformis* が優占するほ場ではほとんど効果が認められなかった。*O. acuformis* の割合が高まるとプロピコナゾール乳剤の防除効果が低下する傾向にあった。プロクロラズ乳剤散布は、菌種構成に関わらず、防除価が 33.9~78.7 と安定した効果が認められた。

### 考察

コムギ眼紋病に対する薬剤による防除法は、ベンゾイミダゾール系薬剤であるチオファネートメチル水和剤に替わる防除薬剤として、DMI剤であるプロピコナゾール乳剤が本病に対して有効であることが明らかとなって、1990年に農薬登録され、北海道内で広く使用されるようになった。しかし、コムギ眼紋病菌のDMI剤に対する感受性は、菌種によって異なることが1980年代にすでにヨーロッパで明らかにされており、*O. yallundae*に比べ*O. acuformis*は感受性が低いことが報告されている (Gallimore *et al.*, 1987; Leroux *et al.*, 1988)。北海道内から分離された*O. yallundae*および*O. acuformis*に対するDMI剤に対する感受性の調査においても*O. yallundae*に比べ*O. acuformis*は感受性が低く、その差はプロピコナゾールで顕著であった。菌種間の感受性を比較すると、プロピコナゾールはEC<sub>50</sub>値で12倍程度の顕著な差があるのに対し、プロクロラズでは2倍程度の差しかなかった。ヨーロッパにおけるプロピコナゾールおよびプロクロラズの感受性は北海道より低い傾向で、低感受性菌の発生が認められており、EC<sub>50</sub>値の分布域も広い。プロピコナゾールに対する感受性はEC<sub>50</sub>値で*O. yallundae*は0.2~14 ppm、*O. acuformis*は10 ppm、プロクロラズに対しては*O. yallundae*は0.05~30 ppm、*O. acuformis*は0.04~25 ppmと報告されている (Leroux *et al.*, 1988; Leroux and Gredt, 1997)。プロクロ

ラズに対する感受性の低下は、本病に対して本剤が広く使われていることによる選択圧によるとされている (Leroux and Gredt, 1997; Leroux *et al.*, 2013)。

*O. acuformis*の割合が5.0~100%と異なるほ場におけるプロピコナゾール乳剤の防除効果は*O. acuformis*が優占するほ場では効果が認められなかったことから、*O. acuformis*のプロピコナゾールに対する感受性は防除効果が得られないレベルにあると言える。一方、プロクロラズ乳剤ではいずれのほ場においても安定した効果が認められた。効果が認められた試験における優占菌種と薬剤の組み合わせから、EC<sub>50</sub>値で0.3ppm以下の活性の薬剤が本病に対する防除効果をもつと推察される。

第3章第3節において明らかにされたように、北海道内に*O. acuformis*が広く分布している。したがって、北海道においてプロピコナゾール乳剤を本病に対する防除薬剤として使用するのには難しいと判断される。一方、同じDMI剤であるプロクロラズ乳剤は、菌種にかかわらず安定した防除効果が得られた。本剤はヨーロッパでは眼紋病の防除に広く使用されており (Leroux and Gredt, 1997; Parnell *et al.*, 2008)、北海道においてもプロピコナゾール乳剤に替わる薬剤として1998年に農薬登録となった。しかしながら、本剤は我が国において薬剤単価が高いことから使用は限定的である。また、ヨーロッパではプロクロラズに対する低感受性菌による防除効果の低下が問題になっている (Leroux *et al.*, 2013)。これらのことから、特定の系統剤にのみ依存しない薬剤防除が重要である。

第6-2-6表 コムギ眼紋病に対するプロピコナゾール乳剤散布の効果

試験年次	試験ほ場	散布回数	希釈倍数	無防除		防除		防除価	菌種構成 Oa <sup>a)</sup> (%)
				発病基率 (%)	発病度	発病基率 (%)	発病度		
1989	岩見沢市A	2	1000	100.0	94.2	100.0	74.0	21.4	50.0
	岩見沢市B	2	1000	97.8	82.0	84.0	66.5	18.9	60.0
	岩見沢市C	2	1000	100.0	92.8	91.2	63.8	31.3	50.0
		1		100.0	92.8	98.7	76.0	18.1	
	岩見沢市D	2	1000	96.7	81.7	92.7	70.4	13.8	60.0
		1		96.7	81.7	94.4	65.4	20.0	
	長沼町A	2	1000	100.0	85.8	74.7	49.3	42.5	5.0
	長沼町B	2	1000	100.0	97.3	100.0	88.0	9.6	
	美瑛町	2	1000	87.7	41.0	94.0	46.7	0.0	100.0
		1		87.7	41.0	99.3	48.3	0.0	
訓子府町	2	1000	97.6	58.1	99.0	65.3	0.0		
1990	岩見沢市	2	1000	96.7	49.3	80.0	34.7	29.6	22.4
			2000	96.7	49.3	96.5	32.9	33.3	
	長沼町	2	2000	99.3	89.4	85.0	46.0	48.5	14.0
	美瑛町	2	2000	100.0	85.8	98.9	77.5	9.7	100.0
	訓子府町	2	2000	95.4	61.3	99.3	62.4	0.0	
1991	岩見沢市	2	1000	95.3	63.9	58.7	36.9	42.3	35.2
		1		95.3	63.9	66.8	35.2	44.9	
	長沼町	2	1000	100.0	97.1	100.0	63.8	34.3	
	美瑛町	2	1000		81.3		76.3	6.2	
訓子府町	2	1000	94.7	59.9	88.5	50.2	16.2		
1992	岩見沢市	2	1000	99.0	78.1	100.0	60.0	23.2	33.0
		1		99.0	78.1	99.3	63.1	19.2	
	長沼町	2	1000		86.5		64.5	25.4	
	美瑛町	2	1000	92.0	41.0	72.0	21.0	48.8	
訓子府町	2	1000	57.4	25.0	45.1	18.9	24.4		
1993	岩見沢市	1	1000	96.0	42.2	88.0	29.0	31.3	10.8
	長沼町	1	1000	97.3	51.2	83.6	35.8	30.1	
	美瑛町	1	1000	85.0	35.0	72.0	30.0	14.3	
	訓子府町	1	1000		43.1		27.0	37.4	
1994	岩見沢市	1	1000	82.3	33.6	76.0	28.7	14.6	83.3
	長沼町	1	1000	28.8	10.9	4.5	1.3	88.1	
1995	岩見沢市	1	1000	98.7	40.7	91.3	31.5	22.6	43.8
	千歳市	1	1000	91.3	54.3	51.2	18.3	66.3	

a) *O. acufomis* の割合



第6-2-7表 コムギ眼紋病に対するプロクロラズ乳剤600倍液散布の効果

試験年次	試験ほ場	散布回数	無防除		防除		防除価	菌種構成 Oa <sup>a)</sup> (%)
			発病茎率 (%)	発病度	発病茎率 (%)	発病度		
1990	岩見沢市	2	96.7	49.3	43.3	18.0	63.5	22.4
	長沼町	2	99.3	89.4	83.5	42.9	52.0	14.0
	美瑛町	2	100.0	85.8	52.2	18.3	78.7	100.0
	訓子府町	2	95.4	61.3	59.0	22.8	62.8	
1991	岩見沢市	2	95.3	63.9	43.9	30.4	52.4	35.2
		1	95.3	63.9	60.7	34.7	45.7	
	長沼町	2	100.0	97.1	91.2	56.1	42.2	
	訓子府町	2	94.7	59.9	48.0	17.5	70.8	
1992	岩見沢市	2	99.0	78.1	95.3	51.6	33.9	33.0
		1	99.0	78.1	95.3	54.2	30.6	
1993	岩見沢市	1	96.0	42.2	52.0	16.2	61.6	10.8
1994	岩見沢市	1	82.3	33.6	36.0	13.3	60.4	83.3
1995	岩見沢市	1	98.7	40.7	63.3	17.7	56.5	43.8
2007	美瑛町	1	100.0	84.0	100.0	54.1	35.6	
2009	美瑛市	2	99.0	72.0	85.0	37.0	48.6	
2010	美瑛市	2	98.5	63.5	89.0	36.6	42.4	
	美瑛町	2	100.0	66.2	78.0	22.7	65.7	
2011	美瑛市	2	97.0	73.9	81.0	44.1	40.3	
	美瑛町	2	97.3	49.7	65.3	19.0	61.8	
2012	美瑛町	2	100.0	55.5	54.7	16.3	70.6	
2013	美瑛市	2	55.3	21.4	26.0	7.8	63.6	

a) *O. acufornis* の割合

第6-2-8表 コムギ眼紋病に対するプロピコナゾール乳剤散布の効果と菌種構成との関係

試験年次	試験ほ場	散布回数	希釈倍数	無防除		防除		防除価	菌種構成 Oa <sup>a)</sup> (%)
				発病茎率 (%)	発病度	発病茎率 (%)	発病度		
1989	長沼町A	2	1000	100.0	85.8	74.7	49.3	42.5	5.0
1993	岩見沢市	1	1000	96.0	42.2	88.0	29.0	31.3	10.8
1990	長沼町	2	2000	99.3	89.4	85.0	46.0	48.5	14.0
1990	岩見沢市	2	1000	96.7	49.3	80.0	34.7	29.6	22.4
1990	岩見沢市	2	2000	96.7	49.3	96.5	32.9	33.3	22.4
1992	岩見沢市	2	1000	99.0	78.1	100.0	60.0	23.2	33.0
1992	岩見沢市	1	1000	99.0	78.1	99.3	63.1	19.2	33.0
1991	岩見沢市	2	1000	95.3	63.9	58.7	36.9	42.3	35.2
1991	岩見沢市	1	1000	95.3	63.9	66.8	35.2	44.9	35.2
1995	岩見沢市	1	1000	98.7	40.7	91.3	31.5	22.6	43.8
1989	岩見沢市A	2	1000	100.0	94.2	100.0	74.0	21.4	50.0
1989	岩見沢市C	2	1000	100.0	92.8	91.2	63.8	31.3	50.0
1989	岩見沢市C	1	1000	100.0	92.8	98.7	76.0	18.1	50.0
1989	岩見沢市B	2	1000	97.8	82.0	84.0	66.5	18.9	60.0
1989	岩見沢市D	2	1000	96.7	81.7	92.7	70.4	13.8	60.0
1989	岩見沢市D	1	1000	96.7	81.7	94.4	65.4	20.0	60.0
1994	岩見沢市	1	1000	82.3	33.6	76.0	28.7	14.6	83.3
1990	美瑛町	2	2000	100.0	85.8	98.9	77.5	9.7	100.0
1989	美瑛町	2	1000	87.7	41.0	94.0	46.7	0.0	100.0
1989	美瑛町	1	1000	87.7	41.0	99.3	48.3	0.0	100.0

a) *O. acufiformis* の割合が高い順に試験を並べて記載した

第6-2-9表 コムギ眼紋病に対するプロクロラズ乳剤600倍液散布の効果と菌種構成との関係

試験年次	試験ほ場	散布回数	無防除		防除		防除価	菌種構成 Oa <sup>a)</sup> (%)
			発病茎率 (%)	発病度	発病茎率 (%)	発病度		
1993	岩見沢市	1	96.0	42.2	52.0	16.2	61.6	10.8
1990	長沼町	2	99.3	89.4	83.5	42.9	52.0	14.0
1990	岩見沢市	2	96.7	49.3	43.3	18.0	63.5	22.4
1992	岩見沢市	2	99.0	78.1	95.3	51.6	33.9	33.0
1992	岩見沢市	1	99.0	78.1	95.3	54.2	30.6	33.0
1991	岩見沢市	2	95.3	63.9	43.9	30.4	52.4	35.2
1991	岩見沢市	1	95.3	63.9	60.7	34.7	45.7	35.2
1995	岩見沢市	1	98.7	40.7	63.3	17.7	56.5	43.8
1994	岩見沢市	1	82.3	33.6	36.0	13.3	60.4	83.3
1990	美瑛町	2	100.0	85.8	52.2	18.3	78.7	100.0

a) *O. acufiformis* の割合が高い順に試験を並べて記載した

### 第3節 シプロジニル剤の効果

#### 目的

コムギ眼紋病に対するアニリノピリミジン系薬剤であるシプロジニル水和剤による防除効果を明らかにする。

#### 材料および方法

試験は1994～1995年に岩見沢市、長沼町、千歳市および訓子府町の7ほ場で行った。供試品種は1995年千歳市の「ホロシリコムギ」以外は「チホクコムギ」であった。薬剤はシプロジニル水和剤（商品名：ユニックス顆粒水和剤、有効成分47.0%）の500または700倍液を10a当たり100～120Lを散布した。試験は3反復で行った。試験条件の概要は第6-3-1表に示したとおりである。発病調査は、各区より無作為に50茎採取し、葉鞘を取り除いた程について発病茎率および既述の方法で発病度を調査した。防除価は発病度より既述の式で算出した。

1994年および1995年の岩見沢市および2009年の美唄市の試験において発病調査後に無防除区の罹病茎の病斑部から病原菌を分離し、既述の方法によって菌種の判別を行い、各ほ場における構成割合を求めた。また、2009年美唄市における試験では、試験ほ場におけるシプロジニル耐性菌をLeroux *et al.* (1988)の方法によって調査した。

#### 結果

2カ年の試験結果を第6-3-2表に示した。シプロジニル水和剤の500～700倍液散布は、1995年までの試験

では病原菌の菌種に関係なく安定した効果が認められ、500倍液および700倍液で効果の差はなかった。しかし、2007年以降の試験では効果が認められなかった。2009年美唄市の試験では、試験ほ場のコムギ病斑からシプロジニル耐性菌が検出され、耐性菌の割合は14.2%であった。

#### 考察

北海道におけるコムギ眼紋病の対する薬剤防除に関して、第1節においてベンゾイミダゾール系薬剤による防除が困難であること、第2節においてDMI剤に依存しない薬剤防除が必要であることが示された。そこで、これらに替わる本病に対する防除薬剤としてアニリノピリミジン系薬剤であるシプロジニル水和剤の効果を検討した。その結果、1994年および1995年の試験においてシプロジニル水和剤は、菌種に関わらず安定した効果が認められ、北海道では1999年から本剤防除に広く使用されるようになった。

しかし、本剤についても2008年に耐性菌の出現が確認され（小松ら、2010）、防除効果が低下する事例が報告された。本試験においても、シプロジニル耐性菌が検出された2009年美唄市の試験で明らかな防除効果の低下が認められた。Babij *et al.* (2000)は、シプロジニルの連続使用によってコムギ眼紋病菌のシプロジニル感受性が低下し、耐性化は1因子によるものであり、本剤の耐性菌出現による防除効果の低下のリスクを報告している。

第1節、第2節および本節の結果とあわせて、コムギ眼紋病に対しては薬剤にのみ依存した防除対策には限界があることが示された。

第6-3-1表 コムギ眼紋病に対するシプロジニル水和剤散布の試験条件の概要

試験年次	試験ほ場	供試品種	散布回数	薬剤希釈倍数	散布月日	発病調査日
1994	岩見沢市	チホクコムギ	1	500 700	5月19日	7月12日
	長沼町	チホクコムギ	1	500 700	5月13日	7月12日
	訓子府町	チホクコムギ	1	500 700	5月19日	6月20日
1995	岩見沢市	チホクコムギ	1	500 700	5月8日	7月10日
	千歳市	ホロシリコムギ	1	500 700	5月18日	7月5日
2007	美瑛町	ホクシン	1	500	5月11日	7月9日
2009	美唄市	ホクシン	2	500	4月20日 5月5日	6月10日

第6-3-2表 コムギ眼紋病に対するシプロジニル水和剤散布の効果

試験年次	試験ほ場	散布回数	希釈倍数	無防除		防除		防除価	菌種構成 Oa <sup>a)</sup> (%)	耐性菌割合 (%)
				発病茎率 (%)	発病度	発病茎率 (%)	発病度			
1994	岩見沢市	1	500	82.3	33.6	24.6	8.2	75.6	83.3	
			700	82.3	33.6	54.0	20.2	39.9		
	長沼町	1	500	28.8	10.9	13.4	3.4	68.8		
			700	28.8	10.9	14.9	4.8	56.0		
	訓子府町	1	500	80.0	37.6	31.5	9.2	75.5		
			700	80.0	37.6	33.8	10.4	72.3		
1995	岩見沢市	1	500	98.7	40.7	66.0	17.7	56.5	43.8	
			700	98.7	40.7	62.7	17.0	58.2		
	千歳市	1	500	91.3	54.3	24.1	9.5	82.5		
			700	91.3	54.3	41.2	14.4	73.5		
2007	美瑛町	1	500	100.0	84.0	100.0	75.5	10.1		
2009	美瑛市	2	500	99.0	72.0	98.0	68.0	5.6	100.0	14.2

a) *O. acufiformis* の割合

#### 第4節 散布時期

##### 目的

コムギ眼紋病に対する薬剤散布時期と防除効果の関係を検討し、薬剤防除適期を明らかにする。

##### 材料および方法

試験は1990年、1991年および1993年に岩見沢市のほ場で行った。供試品種は「チホクコムギ」で、播種は1989年9月18日、1990年9月7日および1992年9月7日にそれぞれ行った。

薬剤散布時期のコムギの生育ステージはZadoks *et al.* (1974) によった。薬剤は1990年および1991年はチオファネートメチル水和剤（商品名：トップジンM水和剤、有効成分70.0%）の1000倍液、1993年はプロクロラズ乳剤（商品名：スポルタック乳剤、有効成分25.0%）の600倍液をそれぞれ10a当たり100~120Lを散布した。試験は1区20㎡3反復で行った。発病調査は1990年7月4日、1991年7月2日および1992年7月6日に行った。各区より無作為に50茎採取し、葉鞘を取り除いた程について既述の方法で発病を調査し、発病茎率および発病度を既述の方法で求めるとともに、指数3以上の発病茎を重症茎として重症茎の発生割合を求めた。コムギの倒伏面積割合は記述の方法で調査した。発病茎の病斑部から病原菌を分離し、既述の方法によって菌種の判別を行い、ほ場における病原菌の菌種構成を求めた。

得られた各試験の結果について4月上旬から6月上

旬の散布の効果差をライアン法による多重比較検定で判定するとともに、メタ・アナリシスによるデータ統合をDerSimonian-Laird method(丹後, 2002; 増井, 2003) によって行い、薬剤散布区と無散布区との重症茎の割合(リスク比)を求めて薬剤散布時期の効果を評価した。

##### 結果

1990年、1991年および1993年の試験ほ場における病原菌の菌種構成は、*Oculimacula yallundae* がそれぞれ77.6%、64.8%および89.2%であった。

試験結果は第6-4-1表、第6-4-2表および第6-4-3表に示した。根雪前の11月中旬~12月上旬散布の効果は明らかに低かった。

4月上旬~6月上旬の散布時期別のコムギ眼紋病に対する防除効果を第6-4-1図に示した。これらの試験では無散布区の重症茎の発生割合が大きく異なったため、メタ・アナリシスによる統合評価を行った(第6-4-2図)。その結果、最も効果が優れていたのは5月上旬散布で、4月上旬散布、5月下旬散布および6月上旬散布に優った。4月下旬散布の効果は4月中旬散布に対して、5月中旬散布は5月下旬散布に対して、統合リスク比の値には差がみられ、効果が優る傾向を示した。4月下旬散布、5月上旬散布および5月中旬散布の効果差は有意ではなかったが、5月上旬散布が他の時期に比べて優る傾向を示した。6月上旬散布の効果は他のすべての散布時期に劣った。

第6-4-1表 コムギ眼紋病に対する薬剤散布時期別の防除効果 (1989-1990年) <sup>a)</sup>

散布年月日	GS	発病茎率 (%)	発病度	(95%信頼区間)	防除価	倒伏面積割合 (%)
1989年 11月15日	nd <sup>b)</sup>	88.7	45.7	(40.6~51.2)	10.9	5.0
11月24日	nd	87.3	44.8	(39.3~50.4)	12.6	5.0
12月5日	nd	84.7	44.3	(36.1~52.5)	13.6	3.3
1990年 4月6日	26	77.3	31.8	(25.6~37.7)	38.0	0.0
4月15日	27	76.3	31.0	(27.3~34.7)	39.6	0.0
4月27日	30	75.3	30.7	(26.0~35.3)	40.2	0.0
5月7日	31	69.3	28.5	(23.8~33.2)	44.4	0.0
5月16日	33	79.3	34.8	(30.0~39.3)	32.2	0.0
5月25日	37	78.0	36.0	(30.4~41.6)	29.8	0.0
6月5日	45	86.0	43.7	(39.3~48.0)	14.8	6.7
無散布		96.7	51.3	(45.0~57.6)		14.2

a) チオファネートメチル水和剤1000倍液を100~120 l /10a散布

b) 未調査

第6-4-2表 コムギ眼紋病に対する薬剤散布時期別の防除効果 (1990-1991年) <sup>a)</sup>

散布年月日	GS	発病茎率 (%)	発病度	(95%信頼区間)	防除価	倒伏面積割合 (%)
1990年 11月15日	nd <sup>b)</sup>	87.3	56.2	(47.2~65.1)	20.3	5.0
11月26日	nd	89.3	58.5	(50.8~66.2)	17.0	5.8
12月5日	nd	86.7	55.2	(46.5~63.8)	21.7	3.3
1991年 4月8日	26	74.0	44.3	(37.2~51.1)	37.2	3.0
4月16日	27	73.3	40.7	(32.4~48.9)	42.3	1.7
4月24日	30	75.7	37.3	(30.8~43.8)	47.1	1.7
5月5日	31	75.0	36.0	(27.5~44.5)	48.9	0.0
5月18日	33	76.7	38.0	(31.6~44.4)	46.1	0.8
5月27日	37	74.7	43.8	(37.9~49.8)	37.8	1.7
6月6日	45	87.3	56.9	(50.9~63.1)	19.3	5.0
無散布		96.7	70.5	(62.6~78.4)		20.0

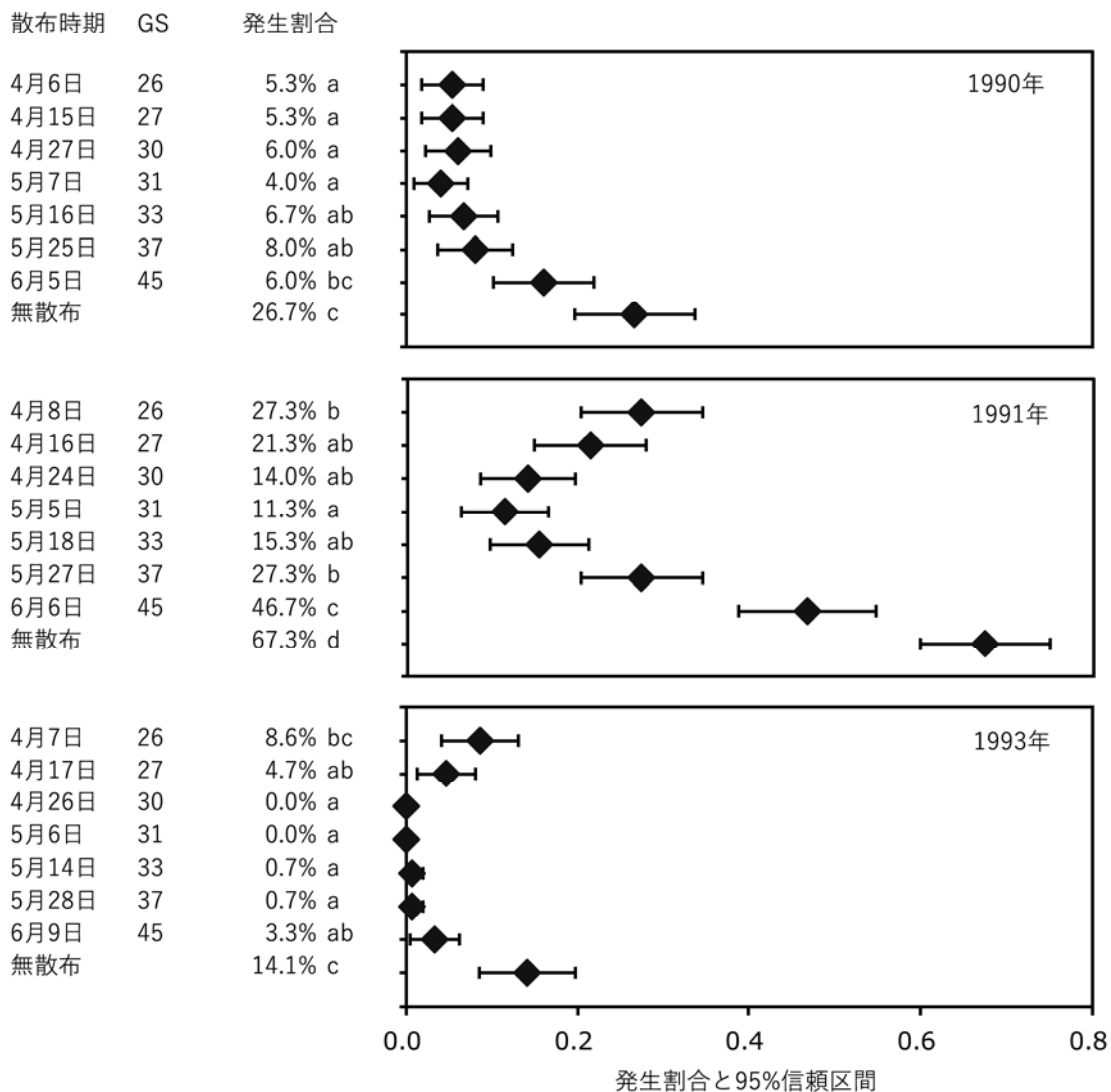
a) チオファネートメチル水和剤1000倍液を100~120 l /10a散布

b) 未調査

第6-4-3表 コムギ眼紋病に対する薬剤散布時期別の防除効果 (1993年) <sup>a)</sup>

散布年月日	GS	発病茎率 (%)	発病度	(95%信頼区間)	防除価	倒伏面積割合 (%)
1993年 4月7日	26	94.0	38.1	(33.5~42.6)	9.7	0.0
4月17日	27	92.0	34.0	(30.1~37.9)	19.4	0.0
4月26日	30	64.7	18.3	(15.3~21.3)	56.6	0.0
5月6日	31	46.0	13.5	(11.4~15.6)	68.0	0.0
5月14日	33	52.0	16.2	(13.8~18.9)	61.6	0.0
5月28日	37	74.7	23.8	(21.0~26.7)	43.6	0.0
6月9日	45	76.7	30.7	(26.9~34.4)	27.3	0.0
無散布		96.0	42.2	(37.7~46.9)		0.0

a) プロクロラズ乳剤600倍液を100~120 l /10a散布



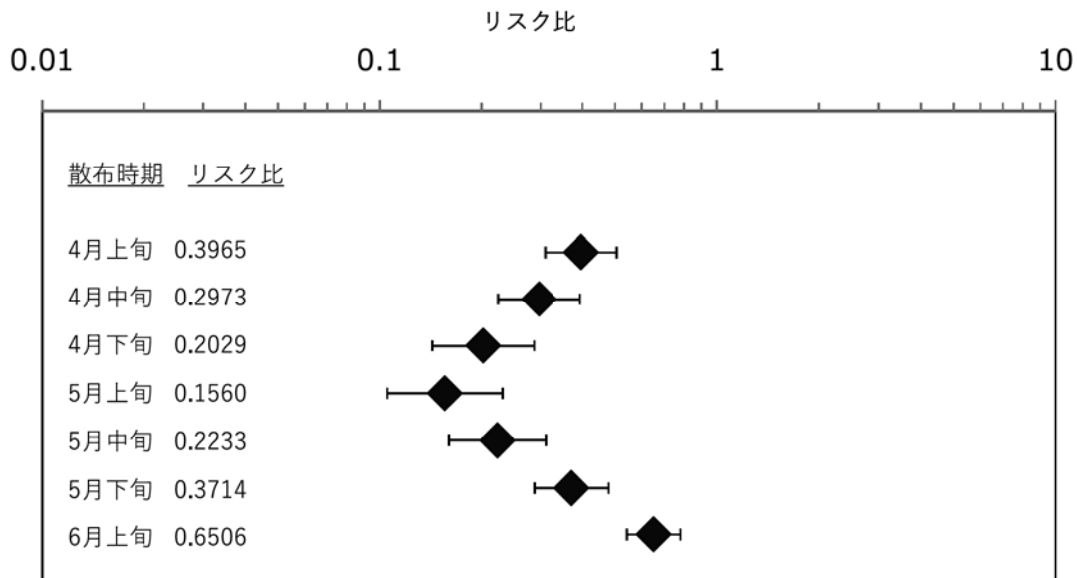
第6-4-1図 コムギ眼紋病に対する薬剤散布時期別の防除効果

図中の発生割合の数字は実用上の被害を及ぼす発病指数3以上の重症茎の発生割合(%)、小文字アルファベットはライアン法による多重比較結果を示し、同一文字間の差は有意ではない、エラーバーは重症茎発生割合の95%信頼区間、1990年および1991年はチオファネートメチル水和剤1000倍液を100~120 l/10a散布、1993年はプロクロラズ乳剤600倍液を100~120 l/10a散布

### 考察

チオファネートメチル水和剤およびプロクロラズ乳剤を用いて薬剤散布時期別の防除効果を検討した。その結果、最も効果が高い時期は5月上旬(GS31)で、その前後の4月下旬(GS30)と5月中旬(GS33)の効果も高い傾向にあることが明らかになった。散布適期は4月下旬(GS30)から5月中旬(GS33)、なかでも5月上旬(GS31)が望ましいと判断された。GS30はコムギの幼穂形成期、GS31~GS33はコムギの節間伸長前期にあたる。第4章2節で示したように、この期間の

発病経過は、葉鞘の病斑が増加し、葉鞘に形成された病斑から稈に感染する時期に相当する(第4-2-3図、第4-2-4図)。本病は上位葉鞘にまで発病が進展することはほとんどなく、下位葉鞘は発病の如何に関わらず枯死するため、葉鞘の発病は伝染源としては重要であるが、直接被害をもたらすことはない。最終的な発病程度を決め、被害に影響を及ぼすのは稈の発病であることから、この期間に稈への感染を抑える防除の効果が高いと推察された。5月下旬(GS37)以降では防除効果が劣る傾向がみられたが、発病経過から見てこの時



第6-4-2図 コムギ眼紋病に対する薬剤散布時期別の防除効果のメタ・アナリシスによる評価

第6-4-1図に示す3試験事例のメタ・アナリシスの結果，図中の数字は実用上の被害を及ぼす発病指数3以上の重症茎発生割合（%）についての無散布に対するリスク比の値，エラーバーはリスク比の95%信頼区間

期はすでに稈への感染が進んでいるためであると考えられた。

Jones (1995) によるプロクロラズ剤による試験によると，GS30～GS31の期間の散布で最も効果が高く，その後のGS33の期間でも効果が認められているが，GS37～GS39の期間では効果の低下が見られている。また，プロクロラズ剤とカルベンダジム剤（チオファネートメチル水和剤と同じベンゾイミダゾール系薬剤）の混合散布によるGoulds and Fitt (1990a) による試験では，GS30～GS31の散布で高い効果が認められている。さらに，篠田 (1988) によるベンゾイミダゾール系薬剤のベノミル水和剤による試験ではGS31～GS32に相当する期間で効果が高いが，その前後の期間も年次によって効果が認められている。このように本病は防除効果が認められる薬剤散布期間が比較的広い。

コムギステージのGS30～GS31の時期は幼穂形成期から節間伸長前期（止葉から2～3枚下の葉が展開した時期）に相当する。散布適期の幅は比較的広く，2～3週間程度の幅の中では防除効果の差は大きくなかったことから，薬剤によっては，コムギうどんこ病やコムギ赤さび病との同時防除も可能である。

第4章第3節で示したように，コムギ眼紋病は11月上旬の降水日数が多く，5月上旬の最低気温が低いと発病

程度が高くなる。また，本病は防除効果が認められる薬剤散布時期が比較的広く，5月中旬においても効果が得られた。これらの結果から，5月上旬の薬剤散布が最も効果は高いが，5月中旬の防除でも一定の効果が確認できたため，5月上旬までの気象要因をもとに本病の多発を予測し，5月中旬に防除を行うことで効率的に本病の被害を軽減できる可能性が示唆された。本研究では伝染源密度が高いコムギ連作ほ場で試験を行ったが，本病の発病は第7章で示すようにコムギ連作や栽培環境によって影響を受けるため，過去の発病状況などを踏まえて発病の多発を判断する必要がある。

## 第7章 耕種的防除

### 第1節 非寄主作物の栽培

#### 目的

本病の第一次伝染源はほ場における前作の罹病残渣であるため、コムギの連作によって発病は増加する (Fitt *et al.*, 1988; Lucas *et al.*, 2000)。そのため、連作ほ場での被害が大きい。そこで、輪作による本病の対策を確立する目的で、非寄主作物の栽培による発病抑制効果を検討した。

#### 材料および方法

試験は1989年までコムギを連作した北海道岩見沢市のコムギ眼紋病発生ほ場を用い、1990～1994年に実施した。コムギ品種は「チホクコムギ」を供試し、播種は1989年9月18日、1990年9月7日、1991年9月11日、1992年9月14日、1993年9月9日にうね幅30cmで㎡あたり340粒を手播きした。施肥量は基肥として化成肥料を10aあたり窒素4kg、リン酸12.5kg、カリウム5kg、追肥として硫酸を10aあたり窒素6kgとなるように施用した。その他の栽培条件は慣行に従った。非寄主作物は、ジャガイモおよびアズキを栽培し、品種はそれぞれ「男爵薯」および「エリモショウズ」を供試した。ジャガイモは1990年5月7日、1991年5月7日、1992年5月6日に植え付け、枯凋期の1990年8月21日、1991年8月26日、1992年9月4日に収穫した。アズキは1990年5月17日、1991年5月15日、1992年5月18日に播種し、成熟期の1990年8月31日、1991年9月2日、1992年9月7日に収穫した。試験は1区25㎡、3反復で行った。

発病調査は1989年7月11日、1990年7月5日、1991年7月1日、1992年7月6日、1993年7月13日、1994年7月12日に各区より無作為に50茎採取し、葉鞘を取り除いた稈について発病茎率および発病度を既述の方法で調査した。発病茎率および発病度の減少割合は以下の式で算出した。

発病茎率の減少割合 =  $100 - \{ (\text{非寄主作物栽培後の試験区の発病茎率}) / (\text{連作区の発病茎率}) \} \times 100$

発病度の減少割合 =  $100 - \{ (\text{非寄主作物栽培後の試験区の発病度}) / (\text{連作区の発病度}) \} \times 100$

#### 結果

試験結果を第7-1-1表に示した。非寄主作物を栽培する前年の1989年における発病茎率は100%、発病度は93.5で、甚発生条件であった。試験を実施した1990

～1994年におけるコムギ連作区の発病茎率は73.0～100.0%、発病度は37.0～52.0であった。

非寄主作物であるジャガイモおよびアズキを1年、2年および3年栽培すると発病茎率で連作区に対してそれぞれ4.6～22.3%、8.1～25.5%および43.1～50.7%減少した。

発病抑制効果は連作区に対する発病度の減少割合で評価した。ジャガイモを1年栽培することによる抑制効果は1991年の試験で23.8～37.5%、1992年の試験で38.7%、1993年の試験で31.0%であった。アズキを1年栽培することによる抑制効果は1991年の試験で22.2～33.3%、1992年の試験で35.6%、1993年の試験で25.5%であった。ジャガイモを2年栽培することによる効果は1992年の試験で54.2%、1993年の試験で56.3%であった。アズキを2年栽培することによる効果は1992年の試験で48.2%、1993年の試験で50.9%であった。ジャガイモを3年栽培することによる効果は1993年の試験で73.1%であった。アズキを3年栽培することによる効果は1993年の試験で69.0%であった。発病抑制効果はジャガイモとアズキで差はなかった。

#### 考察

非寄主作物であるジャガイモおよびアズキの栽培によってコムギ眼紋病の発病度は減少し、発病は抑制された。その効果はジャガイモとアズキで差はなく、栽培年数によって異なった。1、2および3年間の栽培でそれぞれ22.2～38.7%、48.2～56.3%および69.0～73.1%の発病抑制効果が認められた。

第4章で示したように、本病によってコムギの被害が生じるのは、発病茎率で90%以上、発病度で40以上であることから (竹内, 2018a)、多発条件においても2年以上の非寄主作物の栽培で実質的な被害を回避できると考えられる。また、多発条件ではない場合には、1年の非寄主作物の栽培でも実質的な効果が期待できる。一方、寄主作物を1～3年間栽培して本病の発病を抑制しても、その後に連作すると長期連作区と同様の発病程度となり、発病抑制効果は認められなくなった (第7-1-1表)。したがって、発生条件によって2年または3年以上の輪作を行うとともに、連作を行わないことが本病の対策として重要である。

北海道のコムギで発生している土壌伝染性のコムギ条斑病では、発病茎率20%以上で減収が認められるが、非寄主作物を1年間栽培するだけで連作に比べて



第7-1-1表 ジャガイモおよびアズキの栽培によるコムギ眼紋病の発病抑制効果<sup>a)</sup>

非寄主作物	発病基率(%) <sup>b)</sup>					発病度 <sup>b)</sup>				
	1990 <sup>c)</sup>	1991	1992	1993	1994	1990	1991	1992	1993	1994
ジャガイモ	p <sup>d)</sup>	p	p	49.3 (50.7) <sup>e)</sup>	94.0	p	p	p	12.3 (73.1) <sup>e)</sup>	40.5
	p	p	74.0 (25.5)	96.0	90.0	p	p	23.7 (54.2)	43.0	36.0
	88.7	p	p	76.7 (23.3)	98.0	51.2	p	p	20.0 (56.3)	38.5
	p	59.3 (18.8)	99.3	100.0	82.0	p	32.3 (23.8)	51.0	47.4	33.7
	90.0	p	91.3 (8.1)	99.3	92.7	54.0	p	31.7 (38.7)	43.9	38.2
	85.3	72.3	p	90.7 (9.3)	97.3	50.3	44.3	p	31.6 (31.0)	41.5
アズキ	p	56.7 (22.3)	p	89.8 (10.2)	90.7	p	26.5 (37.5)	p	30.7 (33.0)	39.5
	a <sup>d)</sup>	a	a	56.9 (43.1)	93.3	a	a	a	14.2 (69.0)	40.3
	a	a	91.3 (8.1)	96.6	81.3	a	a	26.8 (48.2)	40.1	35.2
	86.7	a	a	83.3 (16.7)	91.3	54.0	a	a	22.5 (50.9)	37.0
	a	69.3 (5.1)	100.0	100.0	90.7	a	33.0 (22.2)	53.5	49.7	36.0
	85.3	a	94.7 (4.6)	99.3	87.3	48.7	a	33.3 (35.6)	48.5	36.3
コムギ連作	87.3	73.7	a	92.7 (7.3)	100.0	51.7	41.8	a	34.1 (25.5)	39.0
	a	62.2 (14.8)	a	86.7 (13.3)	91.4	a	28.3 (33.3)	a	30.5 (33.4)	37.3
	86.7	73.0	99.3	100.0	92.0	52.0	42.4	51.7	45.8	37.0

a) 試験はコムギ眼紋病発生ほ場(1989年の発病基率100%, 発病度93.5)で実施した

b) 数値が記載されている箇所はコムギの栽培があったことを示す

c) 試験および調査年次

d) pはジャガイモ, aはアズキの栽培があったことを示す

e) ( )の数値はコムギ連作区に対する発病基率および発病度の減少割合(%)

83.3%以上の発病茎率の減少が認められている(尾崎, 1994)。コムギ眼紋病では、非寄主作物を1年間栽培するだけでは4.6~22.3%しか発病茎率は減少しないが、減収が認められるのは発病茎率で90%以上であることから、許容できる発病レベルは高い。コムギ眼紋病およびコムギ条斑病はいずれも連作によって被害が大きくなる土壌伝染性の病害であるが、適切な輪作体系を組むことで同時に両病害の被害を回避することは可能である。

英国の報告では、非寄主作物を2年以上栽培することにより本病による被害を減らすことができるが、1年ではほとんど効果がないとされる(Fitt *et al.*, 1990; Glynne, 1963; Glynne and Slope, 1959)。英国を含むヨーロッパでは、北海道に比べコムギの生育期間が長い(柳沢, 2004)、コムギ眼紋病の発病がコムギの生育前半から影響を及ぼし、かつその影響も長期間となり、発病程度も高い(Scott and Hollins, 1978)。そのため、非寄主作物の栽培による発病抑制効果が北海道に比べ低いものと考えられる。

本研究で示したように、コムギ眼紋病は、非寄主作物の栽培によって実質的な被害を防ぐことができる。北海道では薬剤防除に依存しない輪作体系の維持を基本とした対策が指導されており、現在は一部のコムギ過作地帯を除いて大きな問題となっていない。今後も本病対策には被害を回避できる発病レベルに抑えるために適正な輪作体系を維持することが重要である。

## 第2節 栽培管理

### 目的

コムギ眼紋病の発病と被害を軽減するための栽培方法による耕種的防除法を確立するため、コムギの播種法(播種時期、播種量およびうね幅)および窒素施肥法が発病および被害に及ぼす影響を明らかにする。

### 材料および方法

#### 1. 播種法と発病の関係

試験は1989年までコムギを連作した北海道岩見沢市のコムギ眼紋病発生ほ場で行った。コムギ品種「チホクコムギ」を手播きし、施肥量は基肥として化成肥料を10aあたり窒素4kg、リン酸12.5kg、カリウム5kg、追肥として硫酸を10aあたり窒素6kgとなるように施用した。その他の栽培条件は慣行に従った。

試験処理は以下のとおりであった。

試験Aは、播種時期を1992年8月31日、9月14

日、9月24日、9月30日および10月15日とした。その他は全区共通で、うね幅は30cm、播種量は340粒/m<sup>2</sup>、1区5m<sup>2</sup>、4反復で試験を行った。発病調査は1993年7月6日に行った。

試験Bは、播種時期を1993年8月31日、9月9日、9月17日、9月28日および10月8日、播種量を255粒、340粒および425粒/m<sup>2</sup>とした。その他は全区共通で、うね幅は30cm、1区12m<sup>2</sup>、4反復で試験を行った。発病調査は1994年7月12日に行った。

試験Cは、うね幅を30cmおよび15cm、播種量を170粒、340粒および680粒/m<sup>2</sup>とした。その他は全区共通で、播種日は1992年9月14日、1区5m<sup>2</sup>、4反復で試験を行った。発病調査は1993年7月6日に行った。

試験Dは、うね幅を50cm、25cmおよび13cm、播種量を340粒および680粒/m<sup>2</sup>とした。その他は全区共通で、播種日は1990年9月13日、1区12m<sup>2</sup>、6反復とした。発病調査は1991年6月29日に行った。

試験A、BおよびCでは止葉期に茎数、試験A、B、CおよびDでは収穫期に穂数を1区あたり2うねまたは1うね2カ所について1うね25cm幅で調査し、m<sup>2</sup>あたりの本数に換算した。

発病調査は、各区より無作為に50茎採取し、葉鞘を取り除いた稈について発病茎率および発病度を既述の方法で調査した。

指数3以上の発病茎を重症茎とし、重症茎率は調査茎のうちの重症茎の割合を百分率で表した。

試験Dでは、試験区内でコムギが倒伏した面積の割合を遠視で調査して百分率で表し、倒伏面積割合とした。

#### 2. 窒素追肥と発病の関係

試験は1991年までコムギを連作した北海道岩見沢市のコムギ眼紋病発生ほ場で行った。1992年9月7日にコムギ品種「チホクコムギ」をうね幅21cmでドリル播種機を使ってm<sup>2</sup>あたり340粒播種した。施肥量は基肥として化成肥料を10aあたり窒素4kg、リン酸12.5kg、カリウム5kgとなるように播種時に施用した。起生期の追肥は1993年4月14日、止葉期の追肥は6月2日、硫酸で10aあたりそれぞれ窒素6、9または12kgとなるように施用した。起生期追肥区は全量を起生期に施用し、分肥区は起生期および止葉期に10aあたりそれぞれ窒素3kgおよび3kg、6kgおよび3kg、6kgおよび6kgを施用した。その他の栽培条件は慣行に従った。試験は1区20m<sup>2</sup>、4反復で行った。

発病調査は、1993年7月6日に各区より無作為に50茎を採取し、葉鞘を取り除いた稈について発病茎率、

発病度および重症茎率を既述の方法で調査した。

1993年7月20日(成熟期)に各区0.25 m<sup>2</sup> 4カ所を刈り取って子実収量を調査した。また、穂数を1区あたり1うね25cm幅で2カ所調査するとともに、既述の方法で倒伏面積割合を調査した。千粒重およびリットル重は収穫したコムギから調査した。

分散分析は、統計解析ソフト JMP<sup>®</sup> 14 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)を用いて行った。

## 結果

### 1. 播種時期と発病

試験 A および試験 B では、播種時期が早いほど発病が増える傾向が認められた(第7-2-1表, 第7-2-2表)。

### 2. 播種量と発病

試験 B, 試験 C および試験 D では、播種量が多いほど発病が増える傾向が認められた(第7-2-2表, 第7-2-3

第7-2-1表 播種時期とコムギ眼紋病の発病との関係(試験A)

播種時期	止葉期茎数 (本/m <sup>2</sup> )	穂数 (本/m <sup>2</sup> )	発病茎率 (%)	発病茎率の 95%信頼区間	発病度	重症茎率 <sup>a)</sup> (%)
8月31日	1,142	561	98.0	96.1 ~ 99.9	47.3	25.0
9月14日	1,028	556	98.0	96.1 ~ 99.9	42.3	14.0
9月24日	975	548	92.0	88.2 ~ 95.8	30.3	7.0
9月30日	621	389	65.0	58.4 ~ 71.6	17.5	0
10月15日	435	276	30.0	23.6 ~ 36.4	7.5	0
分散分析 <sup>b)</sup>	*	*	*			ns

a) 重症茎率は発病指数3以上の発病茎割合。

b) 発病茎率および重症茎率はアークサイン変換値を分散分析した。

\*: 5%水準で有意差あり, ns: 有意差なし。

第7-2-2表 播種時期, 播種量とコムギ眼紋病の発病との関係(試験B)

播種時期	m <sup>2</sup> あたり 播種量	止葉期茎数 (本/m <sup>2</sup> )	穂数 (本/m <sup>2</sup> )	発病茎率 (%)	発病茎率の 95%信頼区間	発病度	重症茎率 <sup>a)</sup> (%)
8月31日	255粒	939	470	83.0	77.8 ~ 88.2	49.3	37.0
	340粒	1,074	550	82.5	77.2 ~ 87.8	56.0	50.5
	425粒	1,255	613	92.5	88.8 ~ 96.2	64.8	57.5
9月9日	255粒	894	458	73.0	66.8 ~ 79.2	43.8	33.5
	340粒	902	454	74.5	68.5 ~ 80.5	43.0	31.0
	425粒	929	479	76.0	70.1 ~ 81.9	47.3	36.0
9月17日	255粒	591	365	49.5	42.6 ~ 56.4	12.5	0
	340粒	581	350	49.0	42.1 ~ 55.9	12.3	0
	425粒	679	385	64.0	57.3 ~ 70.7	16.3	0
9月28日	255粒	571	317	27.0	20.8 ~ 33.2	6.8	0
	340粒	563	325	27.5	21.3 ~ 33.7	7.0	0
	425粒	579	337	46.0	39.1 ~ 52.9	12.0	0
10月8日	255粒	543	313	21.0	15.4 ~ 26.6	5.3	0
	340粒	537	297	24.0	18.1 ~ 29.9	6.0	0
	425粒	551	340	44.0	37.1 ~ 50.9	11.0	0
分散分析 <sup>b)</sup>	播種時期	*	*	*			*
	播種量	*	ns	*			ns
	交互作用	ns	ns	ns			ns

a) 重症茎率は発病指数3以上の発病茎割合。

b) 発病茎率および重症茎率はアークサイン変換値を分散分析した。

\*: 5%水準で有意差あり, ns: 有意差なし。

第7-2-3表 うね幅、播種量とコムギ眼紋病の発病との関係（試験C）

うね幅	m <sup>2</sup> あたり 播種量	止葉期茎数 (本/m <sup>2</sup> )	穂数 (本/m <sup>2</sup> )	発病茎率 (%)	発病度	重症茎率 <sup>a)</sup> (%)	重症茎率の 95%信頼区間
30cm	170粒	901	529	94.0	31.3	3.0	0.6 ~ 5.4
	340粒	1,028	556	98.0	42.3	14.0	9.2 ~ 18.8
	680粒	1,236	610	100.0	47.0	15.0	10.1 ~ 19.9
15cm	170粒	915	539	97.0	30.6	2.0	0.1 ~ 3.9
	340粒	1,108	591	97.0	38.8	15.0	10.1 ~ 19.9
	680粒	1,329	649	100.0	45.0	15.5	10.5 ~ 20.5
分散分析 <sup>b)</sup>	うね幅	ns	ns	ns		ns	
	播種量	*	ns	ns		*	
	交互作用	ns	ns	ns		ns	

a) 重症茎率は発病指数3以上の発病茎割合。

b) 発病茎率および重症茎率はアークサイン変換値を分散分析した。

\* : 5%水準で有意差あり, ns : 有意差なし。

第7-2-4表 うね幅、播種量とコムギ眼紋病の発病との関係（試験D）

うね幅	m <sup>2</sup> あたり 播種量	穂数 (本/m <sup>2</sup> )	発病茎率 (%)	発病度	重症茎率 <sup>a)</sup> (%)	重症茎率の 95%信頼区間	倒伏面積割合 (%)	
							6月29日	7月19日
50cm	340粒	415	98.3	79.4	75.7	70.8 ~ 80.5	2.5	35.0
	680粒	450	99.3	75.8	70.3	65.2 ~ 75.5	1.7	35.0
25cm	340粒	753	99.7	85.1	85.0	81.0 ~ 89.0	11.7	65.0
	680粒	783	99.7	88.6	87.3	83.6 ~ 91.1	17.5	58.3
13cm	340粒	693	100.0	84.0	81.3	76.9 ~ 85.7	9.2	57.5
	680粒	770	100.0	91.7	92.3	89.3 ~ 95.3	23.3	66.7
分散分析 <sup>b)</sup>	うね幅	*	ns		*		ns	ns
	播種量	ns	ns		ns		ns	ns
	交互作用	ns	ns		ns		ns	ns

a) 重症茎率は発病指数3以上の発病茎割合。

b) 発病茎率および重症茎率はアークサイン変換値を分散分析した。

\* : 5%水準で有意差あり, ns : 有意差なし。

表, 第7-2-4表)。

### 3. うね幅と発病

試験Cではうね幅15cmと30cmとの間で発病の差は認められなかった(第7-2-3表)。試験Dでは, うね幅25cm以下では発病の差は認められなかったが, うね幅50cmでは発病およびコムギの倒伏面積が減少する傾向が認められた(第7-2-4表)。

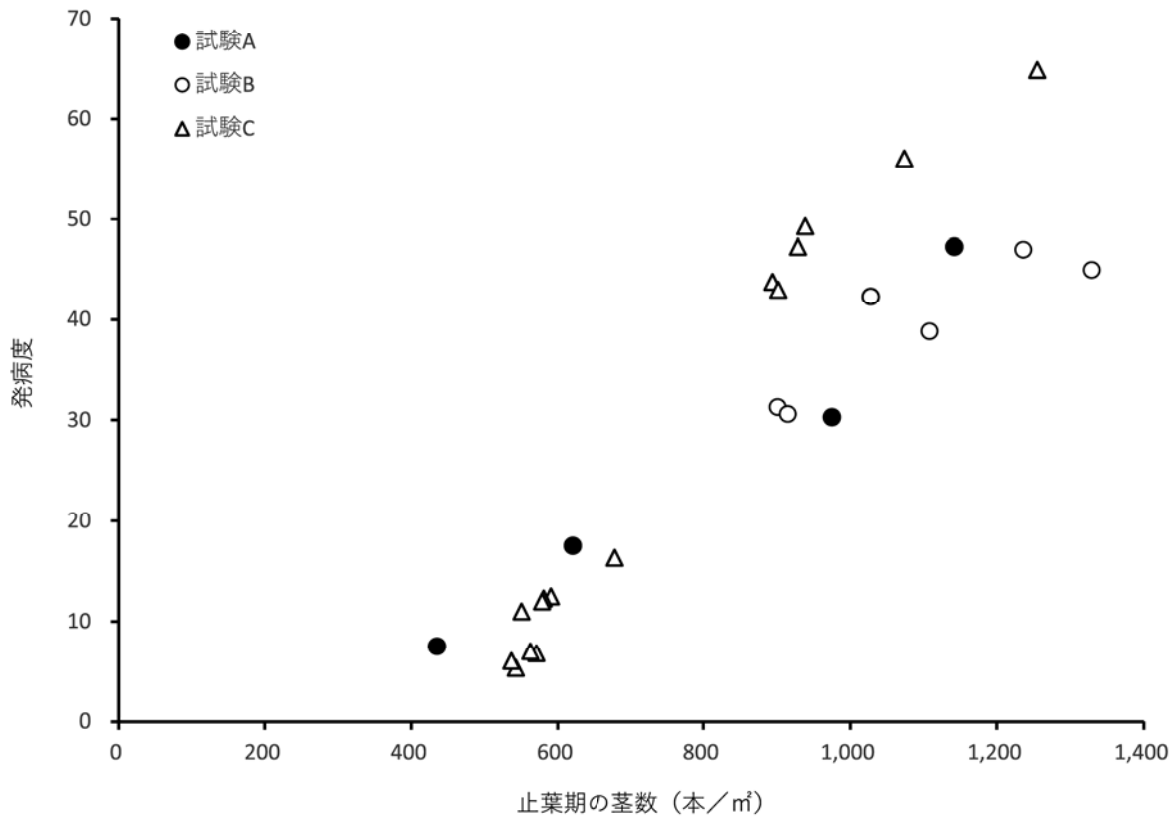
### 4. 止葉期茎数と発病

試験A, 試験Bおよび試験Cにおけるコムギの止葉期茎数と発病度との関係を第7-2-1図に示した。止葉期の茎数が多いほど発病度が高くなる傾向が認められ

た。

### 5. 窒素追肥と発病

窒素追肥と発病の関係に関する試験の結果は第7-2-5表に示した。窒素追肥量と発病の関係は明らかではなかった。同一窒素追肥量と比較すると, 全量を起生期に追肥した場合, 起生期と止葉期に分肥する場合に比べて穂数は増え, 子実収量が同等レベルにあっても, コムギの倒伏面積は増加した。起生期と止葉期に分肥すると千粒重は増え, リットル重も増える傾向が認められた。



第7-2-1図 コムギの止葉期の茎数とコムギ眼紋病の発病との関係

第7-2-5表 窒素の追肥とコムギ眼紋病の発病およびコムギの収量との関係

合計	窒素追肥量 (kg/10a)		発病茎率 (%)	発病度	重症茎率 <sup>a)</sup> (%)	倒伏面積割合 (%)	穂数 (本/m <sup>2</sup> )	収量 (kg/10a)	千粒重 (g)	リットル重 (g)
	分肥量									
	起生期	止葉期								
6	6	0	100	48.5	15.5	0	572	420	36.0	751
	3	3	100	41.9	8.5	0	530	412	38.3	747
9	9	0	100	48.8	13.0	10.0	623	463	33.9	718
	6	3	100	49.1	11.0	3.8	581	453	35.6	736
12	12	0	100	51.5	20.5	67.5	656	475	33.2	727
	6	6	100	48.1	17.0	10.0	585	482	38.6	750
分散分析 <sup>b)</sup>			ns		ns	*	*	ns	*	ns

a) 重症茎率は発病指数3以上の発病茎割合。

b) 発病茎率および重症茎率はアークサイン変換値を分散分析した。

\*: 5%水準で有意差あり, ns: 有意差なし。

### 考察

コムギ眼紋病の発病に対するコムギの栽培方法の影響を調査した。播種法では、播種時期が早いほど、播種量が多いほど発病は増加した。うね幅は30cm以下であれば影響は認められなかった。これら播種法によってコムギの生育に差が生じ、その差はコムギの茎数および穂数で認められる。そのため、本試験において、コムギの茎数および穂数は、播種時期が早いほど増え、播種量が多いほど増えた。

本病の第一次伝染源は発病ほ場における前作の罹病残渣で (Soleimani *et al.*, 1996), 分生子は10℃以下で形成され, (Higgins and Fitt, 1984; Fitt *et al.*, 1988), 感染の適温は6~10℃である (Lange de la Camp, 1966b; Schrödter and Fehrmann, 1971; Clarkson, 1981)。第4章第2節で示したように、融雪後のコムギ起生期以降の4月中旬から5月上旬までは平均気温が5~10℃と感染に適した温度条件となるため (竹内, 2019), 発病は進行する。この期間にコムギの茎数が多いと、コムギ葉鞘が地表面と接している部分が増えるため、新たな感染が起きやすくなると推察される。また、すでに病斑を形成している茎からの同じ株の茎への感染も起きやすくなると考えられる。さらに、コムギ地際部が感染に十分な湿度に保たれやすいことも考えられる。

窒素追肥の本病の発病に対する影響は認められなかった。しかし、本病は同じ発病程度であっても倒伏を伴うと減収割合が増加し、コムギの品質も低下する (竹内, 2018a)。同じ追肥量であれば、発病程度に大きな差はなく、収量も同等であっても、分肥でコムギの倒伏は減少した。穂数が多いとコムギは倒伏しやすくなる。分肥では起生期の窒素施肥が減少する分、穂数が減少したが、止葉期の窒素追肥で千粒重が増加するため、減収することなく穂数を減らすことができたためと考えられる。

コムギ眼紋病の発病と被害を軽減するためには、適正な播種量、適正な播種時期を厳守し、茎数に合わせた適正な起生期追肥を行い、茎数過剰とならない栽培を行うことが重要であることが示された。ただし、穂数不足となると減収となるので、適正な茎数にコントロールすることにより、収量増につながらない過剰な茎数増加を避ける必要がある。北海道のコムギは茎数が増えやすい穂数型の品種が栽培されているため (下野, 1986), 注意を要する。

## 第3節 抵抗性遺伝資源の探索と抵抗性系統の作出

### 目的

コムギ眼紋病に対する抵抗性の検定方法を確立し、国内外の品種・系統のコムギ眼紋病に対する抵抗性を明らかにするとともに、抵抗性品種・系統を探索して本病の抵抗性品種開発のための基礎的知見を得る。さらに得られた抵抗性遺伝資源を利用してコムギ眼紋病抵抗性系統を作出する。

### 試験方法

#### 1. 抵抗性検定

1989年にコムギ眼紋病の発生が認められた北海道岩見沢市のコムギ連作ほ場で1990~1991年に行った。アメリカ合衆国、英国などの海外および日本国内から収集した108品種・系統を供試した。

播種は1990年9月7日に手播きで行った。施肥量は基肥として化成肥料を10aあたり窒素4kg、リン酸12.5kg、カリウム5kg、追肥としてコムギ起生期に硫酸を10aあたり窒素6kgとなるように施用した。試験区は1区0.1m<sup>2</sup> (うね幅25cm×40cm)に20粒条播 (20粒/m<sup>2</sup>相当)の2反復で行った。均一な発病を促すため、1うねごとに品種「チホクコムギ」を交互に播種した。発病を助長させるため、1990年11月21日にコムギ眼紋病の罹病麦稈を1m<sup>2</sup>あたり100gコムギの株上から散布した。

発病調査は1991年6月24日に各区全茎を採取し、葉鞘を取り除いた各稈について既述の方法で発病指数を調査し、品種・系統ごとの発病指数の平均値を求めた。

発病調査時に全穂数を調査し、m<sup>2</sup>あたりの穂数を求めた。

#### 2. DNAマーカー選抜による抵抗性系統の作出

##### (1) DNAマーカー選抜

コムギ眼紋病抵抗性遺伝子 *Pch1* に連鎖したDNAマーカー *XustSSR2001-7DL* (Groenewald *et al.*, 2003) を用いて遺伝子型を調査した。プライマーの塩基配列は以下のとおりである。

フォワードプライマー: CATCGTGTGGCCAACTTG  
TT

リバースプライマー: TTCCTCGTGTCTAGTGTCTC

1系統当たり3個体から葉身をサンプリングし、DNA抽出は以下に示す簡易CTAB法によった。2.2mlチューブに5mmのスチレンスビーズを1粒入れ、

2%CTAB液(2%CTAB, 0.1MTris-HCl pH8.0, 20mMEDTA pH8.0, 1.4M NaCl)を800 $\mu$ l加えた。この2.2mlチューブにコムギ葉片を約1cm長さで入れ、シェイクマスターで1~2分間処理して破碎し、62°C~65°Cのインキュベーターに30分~1時間入れた。インキュベート後、クロロホルム:イソアミルアルコール(24:1)溶液を600 $\mu$ l加えて転倒混和後、10000gで15分間遠心した。上清600 $\mu$ lをあらかじめイソプロパノール400 $\mu$ lを入れた1.5mlチューブに移し転倒混和後、10000gで15分間遠心した。上清をデカンターで捨て、室温で乾燥し、TE 400 $\mu$ lに溶解し、1 $\mu$ lをPCRに使用した。

PCR反応は1 $\times$ PCRバッファー、200 $\mu$ M各dNTP、0.4 $\mu$ Mプライマー、AmpliTaq Gold (Applied Biosystems) 2.5ユニット、DNAテンプレート約40ng/20 $\mu$ l反応液で行った。反応条件は95°Cで7分間反応後、94°C1分間、56°C1分間、72°C1分間を35回繰り返した後、72°C7分間反応させた。PCR増幅産物は8%アクリルアミドゲルで電気泳動後、サイバーゴールドで染色した。

#### (2) 戻し交配による抵抗性系統の作出

北海道立北見農業試験場(当時、以下北見農試と略)において2008年9月に「訓交4196」(Madsen/北見81号//北見81号(北見81号:後の「きたほなみ」))BC<sub>1</sub>F<sub>5</sub>世代92系統を播種し、DNAマーカー選抜に供試した。

戻し交配は2009年以降、北見農試において行った。DNAマーカーを利用して遺伝子型が「Madsen」型を示したF<sub>1</sub>個体を選抜し、「きたほなみ」を母、F<sub>1</sub>個体を父として戻し交配を実施した。供試材料の交配組合せは第7-3-1表に示した。交配集団は一部を連続戻し交配に供するとともに自殖して世代を進めた。

連続戻し交配によって得られた準同質遺伝子系統の特性を評価した。試験は道総研北見農業試験場、道総

研中央農業試験場(中央農試)、道総研十勝農業試験場(十勝農試)、道総研上川農業試験場(上川農試)の試験ほ場において、2016年播種、2017年収穫の生産力検定予備試験において行った。

## 結果

### 1. 抵抗性検定

試験結果は第7-3-2表に示した。抵抗性の判定は発病指数の最大値から0.5刻みに区分した。「VPM-1」、「Madsen」、「Cappelle-Desprez」、「Cercro」が“強”判定で抵抗性を示した。「タクネコムギ」、「ホロシロコムギ」、「チホクコムギ」などの北海道で育成されたコムギ品種の他、北海道で育成された北見系統および北系系統、さらには本州で育成されたコムギ品種、在来種のいずれも本病に弱く、「チホクコムギ」は特に弱かった。

本試験の結果をMurray and Bruehl (1983)によるアメリカ合衆国ワシントン州で行った試験と比較した(第7-3-3表)。両試験で共通に供試している品種の抵抗性の序列に違いはなかったが、本試験の結果の方が抵抗性の品種・系統間差が明確であった。

穂数が多い品種・系統は発病程度が高い傾向があった(第7-3-4表)。

### 2. DNAマーカー選抜による抵抗性系統の作出

供試92系統からのPchl遺伝子に連鎖したDNAマーカーの遺伝子型が「Madsen」型を示した「訓交4196-228」を選抜した。

戻し交配に供試した150系統の戻し交配(BC)世代、自殖世代およびDNAマーカー検定の結果を第7-3-5表に示した。自殖世代で農業特性等の選抜を行っているため、分離比は理論値と異なったが、BC<sub>5</sub>世代以降の自殖後代でPchl遺伝子を保持する系統が得られた。Pchl遺伝子を持つ「きたほなみ」準同質遺伝子系統

第7-3-1表 戻し交配系統<sup>a)</sup>の交配組合せとBC世代

交配番号	交配年	組合せ	BC世代
訓交4196	2006	Madsen/北見81号 <sup>b)</sup> //北見81号	BC <sub>1</sub>
訓交4687	2009	訓交4196-228/きたほなみ	BC <sub>2</sub>
訓交4701	2010	きたほなみ//訓交4196-228/きたほなみ	BC <sub>3</sub>
訓交4829	2011	きたほなみ*3//訓交4196-228/きたほなみ	BC <sub>5</sub>
訓交4971	2012 <sup>c)</sup>	きたほなみ/訓交4829-53	BC <sub>6</sub>
訓交4972	2012 <sup>c)</sup>	きたほなみ/訓交4832-19	BC <sub>6</sub>
訓交4987	2012	きたほなみ/訓交4972	BC <sub>7</sub>

a) 1回親「Madsen」、戻し親「きたほなみ」

b) 後の「きたほなみ」

c) 冬季温室交配

第7-3-2表 コムギ眼紋病に対する品種・系統の抵抗性

品種・系統	発病 指数	穂数 (本/㎡)	判定	品種・系統	発病 指数	穂数 (本/㎡)	判定
VPM-1	1.18	660	強	Fulton	3.09	850	やや弱
Madsen	1.58	560		露~57	3.10	450	
Cappelle-Desprez	1.76	415		Wichita(2A)	3.11	285	
Cerco	1.86	400		北系8	3.11	645	
Vahart	1.94	550	Norstar	3.12	405		
Feng Kang 15	2.00	470	Stephens	3.12	705		
Hyak	2.03	515	U-11	3.14	560		
WA7627	2.04	680	U-16	3.18	670		
CSA8055	2.12	480	やや強	Roughrider	3.18	490	
Mardler	2.24	500	北見46号	3.18	490		
Maris Niomared	2.29	455	Iohardi	3.20	880		
Renard	2.30	320	米13号	3.20	725		
Saw Mont	2.36	520	Paha	3.21	325		
Red Coat	2.45	680	北系1093	3.21	480		
北海231号	2.46	715	北海115号	3.23	430		
Zenta	2.48	420	Golden50	3.25	500		
西網走農協導入品種	2.48	440	Moscovskaja2460	3.25	875		
コボレ八石	2.55	605	Itana	3.29	450		
Wichita	2.59	425	北系779	3.29	320		
北成8号	2.61	895	NB10185	3.31	670		
Martonvasari 12	2.63	310	Moscovskaja2471	3.32	565		
Turkey Red II	2.64	505	北見29号	3.32	770		
Barbee	2.69	330	Luke	3.32	750		
西独栽培品種	2.69	405	中	Nebred	3.36	610	
Martonvasari 8	2.73	555	北系361	3.36	585		
Wester	2.76	675	U-13	3.37	965		
Odin	2.78	535	Turkish Amber	3.37	670		
Recital	2.82	595	KS72296	3.37	580		
Minturki	2.82	620	5102	3.38	680		
農林8号	2.83	590	Logen	3.39	660		
Eiger	2.84	550	Austro Bankut	3.41	575		
YG64-Riete	2.87	365	Ando Nox	3.41	365		
Chanute	2.87	490	アオバコムギ	3.42	610		
Odesskaja 16	2.88	690	Agent	3.43	520		
Wisconsin Pedigree No.2	2.90	515	KS71095	3.43	950		
北系983	2.91	380	ナンブコムギ	3.43	720		
Wzonovka	2.92	465	Apache	3.44	915		
S68R7164	2.93	515	Tim win	3.44	885		
Omaha	2.94	520	Alton	3.44	725		
ホロシリコムギ	2.94	680	8101 C12-2	3.44	465		
4710-H-7	2.97	585	Stadler	3.46	935		
Nemcinovskaja	2.98	500	北見32号	3.47	565		
Brill	2.99	690	Pala Duro	3.48	515		
カチミノリ	3.00	805	やや弱	北系487	3.50	645	
北見50号	3.01	745	北系811	3.53	595		
マーチン8号	3.02	505	北見44号	3.55	535		
Satanta	3.03	725	Gage	3.56	715		
ムカコムギ	3.03	785	Commanche	3.56	465		
十系13号	3.05	635	タクネコムギ	3.56	735		
赤錆不知1号	3.06	820	Yukon	3.58	575		
Fulvo	3.08	290	チホクコムギ	3.63	900		
北見48号	3.08	660	東北118号	3.73	835		
Ponca	3.09	390	北京冬小麦(畑農78)	3.78	660		
Champion White	3.09	765	モスコ-5	3.87	600		



第7-3-3表 コムギ眼紋病に対する抵抗性検定結果の比較

品種・系統	北海道 <sup>a)</sup>		ワシントン州 <sup>b)</sup>		
	(1991)	判定	(1978)	(1979)	判定
VPM-1	1.18	強	1.7	1.6	HR <sup>c)</sup>
Madsen	1.58	強	nt	nt	
Cappelle-Desprez	1.76	強	2.4	nt	R
Cerco	1.86	強	2.6	2.1	R
ホロシリコムギ	2.94	やや弱	nt	nt	
Stephens	3.12	やや弱	nt	2.6	S
Luke	3.32	やや弱	nt	nt	
Sprague	nt <sup>d)</sup>		3.3	2.6	S
Daws	nt		3.1	2.8	S
Selection 101	nt		3.3	2.8	S
タクネコムギ	3.56	弱	nt	nt	
チホクコムギ	3.63	弱	nt	nt	

a) 本試験, 数字は発病指数

b) Murray and Bruehl (1983), 数字は発病指数 (0-4)

c) HR: 高度抵抗性, R: 抵抗性, S: 感受性

d) 未試験

第7-3-4表 品種・系統のコムギ眼紋病の抵抗性と穂数

抵抗性	品種・系統数	穂数の平均 (本/m <sup>2</sup> )	(95%信頼区間)
強	4	509	(404~614)
やや強	9	499	(441~557)
中	20	535	(473~597)
やや弱	49	599	(553~645)
弱	26	667	(607~727)

第7-3-5表 連続戻し交配系統<sup>a)</sup>のDNAマーカー検定

交配番号	BC世代	播種年	自殖世代	系統数			
				抵抗性	分離	感受性	合計
訓交4687	BC <sub>2</sub>	2013	F <sub>5</sub>	1	1	1	3
		2014	F <sub>6</sub>	1	0	1	2
訓交4701	BC <sub>3</sub>	2013	F <sub>4</sub>	0	0	30	30
訓交4829	BC <sub>5</sub>	2013	F <sub>3</sub>	5	5	6	16
		2014	F <sub>4</sub>	5	0	5	10
訓交4971	BC <sub>6</sub>	2013	F <sub>3</sub>	27	36	29	92
		2014	F <sub>4</sub>	17	1	9	27
		2015	F <sub>5</sub>	5	0	1	6
		2016	F <sub>6</sub>	1	0	1	2
訓交4972	BC <sub>6</sub>	2013	F <sub>3</sub>	48	86	44	178
		2014	F <sub>4</sub>	40	17	18	75
		2015	F <sub>5</sub>	12	9	14	35
		2016	F <sub>6</sub>	2	0	1	3
訓交4987	BC <sub>7</sub>	2014	F <sub>3</sub>	43	51	56	150

a) 1回親「Madsen」, 戻し親「きたほなみ」

第7-3-6表 *Pch1* を保持する「きたほなみ」準同質遺伝子系統の特性 (2017年)

試験場所	品種・系統名	出穂期	成熟期	稈長	穂長	穂数	倒伏程度	子実重	指数	千粒重	容積重	原粒蛋白
		月日	月日	cm	cm	本/m <sup>2</sup>	0-5	kg/10a		g	g	%
北見農試	北系1948 <sup>a)</sup>	6/8	7/23	78	8.5	678	0.0	840	104	37.8	838	11.1
	北系1960 <sup>a)</sup>	6/10	7/24	80	8.6	679	0.0	802	99	38.7	838	11.5
	北系1963 <sup>b)</sup>	6/8	7/24	81	8.6	630	0.0	818	101	39.0	835	11.5
	きたほなみ	6/8	7/24	82	8.6	633	0.0	811	100	41.1	842	11.3
中央農試	北系1948	6/1	7/18	90	9.6	808	0.0	861	99	37.3	831	10.3
	北系1960	6/2	7/19	89	9.3	683	0.3	930	107	37.6	828	10.0
	北系1963	6/2	7/18	89	9.1	776	0.5	865	100	37.6	828	10.1
	きたほなみ	6/2	7/19	92	9.3	653	0.0	868	100	39.2	837	9.9
十勝農試	北系1948	6/1	7/21	87	8.6	777	0.3	858	121	36.0	846	10.9
	北系1960	6/4	7/21	86	8.7	653	0.0	761	107	34.8	827	11.1
	北系1963	6/2	7/22	85	8.6	677	0.0	817	115	35.9	834	11.1
	きたほなみ	6/1	7/21	88	8.9	747	0.5	711	100	39.9	858	10.8
上川農試	北系1948	6/6	7/17	68	8.5	328	0.0	489	96	40.2	832	8.7
	北系1960	6/7	7/18	71	8.6	312	0.0	498	98	40.5	834	8.7
	北系1963	6/8	7/18	70	8.8	330	0.0	466	91	41.6	839	9.0
	きたほなみ	6/7	7/19	71	8.6	301	0.0	509	100	43.3	844	9.2
4場平均	北系1948	6/4	7/20	81	8.8	648	0.1	762	105	37.8	837	10.3
	北系1960	6/6	7/21	81	8.8	582	0.1	748	103	37.9	832	10.3
	北系1963	6/5	7/21	81	8.8	603	0.1	742	102	38.5	834	10.4
	きたほなみ	6/5	7/21	83	8.9	584	0.1	725	100	40.9	845	10.3

a) BC<sub>6</sub>F<sub>6</sub>世代, 訓交4972b) BC<sub>6</sub>F<sub>6</sub>世代, 訓交4971

BC<sub>6</sub>F<sub>6</sub>世代の「北系1948」, 「北系1960」, 「北系1963」の農業特性は千粒重がやや軽いことを除いてほぼ「きたほなみ」と同等であった(第7-3-6表).

### 考察

国内外の108品種・系統のコムギ眼紋病に対する抵抗性を明らかにした. 北海道および国内の品種・系統はアメリカ合衆国で本病に感受性とされる「Stephens」(Murrey and Bruel, 1983)と同程度の感受性とみられ, 耐病性の品種・系統として有望なものはなかった(第7-3-2表).

明らかな抵抗性を示した“強”判定の品種・系統以外では穂数が多い品種・系統で発病程度が高くなる傾向がみられた(第7-3-4表). 第7章第2節で示したように, 本病は茎数が増える栽培で発病が助長される傾向が認められていることから, コムギの茎数が発病に影響しているものと推察される. 本病による被害を軽減するためには, 茎数過剰になりやすい品種の栽培を避けることが有効であると考えられる.

本試験の結果は, Murray and Bruehl (1983)によるアメリカ合衆国ワシントン州で行った試験と比較すると, 共通に供試している品種の抵抗性の序列に違いはなかったが, 本試験の結果の方が抵抗性の品種・系統間差が明確であった(第7-3-3表). ワシントン州で行った試験では病原菌の分生子の接種によって発病させているに対し, 本試験は発病ほ場で行ったのに加え, 前年の罹病麦稈を散布するとともに, 本病に弱い「チホクコムギ」を1うねごとに植え, 発病を助長させるための処理を行った. そのため, 試験ほ場の発病レベルが高まり, 品種間差が出やすい条件になったものと推察される. 以上の結果から, 本試験法はコムギ眼紋病に対する抵抗性を評価できるほ場検定法として利用できることが示された.

北海道および国内で育成された品種・系統の中には抵抗性を示すコムギはなかったが, 「VPM-1」, 「Madsen」, 「Cappelle-Desprez」, 「Cerco」が本試験において抵抗性を示し, これらは北海道における抵抗性品種開発のための母本となりうることが示された.

「VPM-1」(Murrey and Bruel, 1983; Murrey and Bruel, 1986), 「Cappelle-Desprez」(Murrey and Bruel, 1983; Murrey and Bruel, 1986), 「Cercu」(Murrey and Bruel, 1983), 「Madsen」(Cadle and Murray, 1997) はアメリカ合衆国ワシントン州における試験においても抵抗性が認められている。「VPM-1」は *Aegilops ventricosa* を起源とする抵抗性遺伝子 *Pch1* をもち (Doussinault *et al.*, 1983; Delibes *et al.*, 1988), 「Madsen」の抵抗性は「VPM-1」由来の *Pch1* によることが示されている (Allan *et al.*, 1989)。「Cappelle-Desprez」は別の抵抗性遺伝子 *Pch2* をもつことが明らかにされている (de la Peña *et al.*, 1996)。「VPM-1」由来の *Pch1* および「Cappelle-Desprez」はコムギ眼紋病の抵抗性育種に広く使われている (Wei *et al.*, 2011)。

抵抗性が示された品種・系統のうち、「Madsen」はコムギ縞萎縮病に対する抵抗性遺伝子をもつことが明らかにされており (竹内ら, 2010), 北海道のコムギ育種でも交配母本として使われている品種で, コムギ眼紋病の抵抗性品種を開発するにあたって有望な遺伝資源である。

コムギ眼紋病抵抗性遺伝子 *Pch1* に連鎖した DNA マーカーは海外で報告があり (Groenewald *et al.*, 2003; Leonard *et al.*, 2008; Chapman *et al.*, 2008), 本研究で用いた DNA マーカー *XustSSR2001-7DL* は *Aegilops ventricosa* 由来のエンドペプチダーゼ遺伝子 *Ep-D1b* と強連鎖している (Groenewald *et al.*, 2003)。Meyer *et al.* (2011) は, ドイツにおける 104 品種について, 抵抗性の評価と *Ep-D1b* の有無を調査し, *Ep-D1b* を持つ品種が抵抗性を示すことを報告している。これらのことから, DNA マーカーを用いて「Madsen」由来の抵抗性を持つコムギを選抜することで, ほ場での検定を省略しても抵抗性系統が得られると考えられる。

近年, 北海道では DNA マーカーを利用した病害抵抗性品種の開発が積極的に行われている (竹内, 2008; 鈴木, 2012; 鈴木, 2014)。DNA マーカー検定は後代検定を必要とせず, 当代で判定できるため, 戻し交配に使う個体の選抜には極めて有効である。また, 系統の選抜においても, 鈴木ら (2007) はコムギの顆粒性澱粉合成酵素遺伝子 (*Wx-B1*) の有無を調査する際に 3 個体を混合して摩砕し簡易 CTAB 法で抽出した DNA を利用すると, 育種現場で効率的に DNA マーカー検定ができることを示している。本研究においても, 自殖世代の系統における *Pch1* 遺伝子の有無を判定する際に, 個体ごとの検定を行わない場合はコムギ葉 3 個体を混合して抽出した DNA を用いて遺伝子型を判

別することができた (第 7-3-5 表)。

本研究において DNA マーカー選抜を利用した連続戻し交配によって *Pch1* 遺伝子を持つ「きたほなみ」準同質遺伝子系統を 3 系統得ることができた。これらの準同質遺伝子系統は, 2DL, 3BS 染色体上のコムギ縞萎縮病抵抗性 QTL も同時に導入されているが, コムギ縞萎縮病抵抗性 QTL の 2DL 領域を導入した系統は千粒重が軽くなることが報告されている (粕谷ら, 2015)。得られた系統が「きたほなみ」と比較すると千粒重がやや軽いのは 2DL 領域の影響であり, 7DL に座乗する *Pch1* 遺伝子 (Groenewald *et al.*, 2003) の影響ではないと考えられる。

「きたほなみ」は優れた農業特性をもつ現在の北海道における基幹品種であることから, これらの準同質遺伝子系統は, 今後, コムギ眼紋病の抵抗性品種の育成に利用できる。

## 第8章 総合考察

コムギ眼紋病は*Oculimacula yallundae*および*Oculimacula acuformis*によって引き起こされる病害で、世界各地のコムギ栽培地帯で発生している。我が国では、1983年秋田県八郎潟において（古屋，1984），また時期をほぼ同じにして北海道でも美唄市および滝上町で発生が確認された（宮島・斉藤，1984）。その後、北海道における本病の発生は拡大し、1988年にはコムギ栽培地帯のほぼ全域の10支庁管内の99市町村で発生が確認された（尾崎，1990）。

本病はコムギの地際葉鞘や茎に眼紋状の病斑を形成し、病斑が進展すると茎基部が腐敗して早期倒伏の原因となるため被害は著しいことから、北海道のコムギ栽培において大きな問題となった。そのため、北海道立中央農業試験場（当時）を中心とした研究チームによって防除対策が検討された。

本病が北海道で発生した背景には、1970年に始まった水田転換政策が関係している。水田転換畑では使用する作業機械や栽培の省力性からコムギの栽培が急増し、コムギを連作するほ場も増えた。また、畑作地帯においても経営規模の拡大に伴い、省力栽培が可能なコムギの過作傾向が進んだ。このようなコムギの連作または過作が増加する状況で、土壌伝染性であるコムギ眼紋病の発生および被害が拡大していった。

わが国で最初に分離されたコムギ眼紋病菌は*Pseudocercospora herpotrichoides*と同定された（古屋，1984；宮島・斉藤，1984）。本病の病原菌の分類は第2章の研究史に示したような幾多の変遷を経ている。コムギ眼紋病菌は、培養形態からPDA平板上で生育が速く菌叢の先端が全縁平滑の菌群（fast-growing, even-edged type：FE型）、生育が遅く菌叢の先端が不定形羽毛状の菌群（slow-growing, feathery-edged type：SF型）の2菌群がある。これら2菌群はライムギに対する病原性の強弱を基本的な類別基準としてWタイプとRタイプに分けることができるとされた（Lange de la Camp, 1966a; Scott *et al.*, 1975）。その後、Nirenberg（1981）は主に分生子の形態的な差異に基づいて*P. herpotrichoides*を2つの変種とし、分生子の形状が直線状からややカーブするものを*P. herpotrichoides* var. *herpotrichoides*、直線状のものを*P. herpotrichoides* var. *acuformis*とした。Nirenberg（1981）による2変種は、培養上の性質からそれぞれWタイプとRタイプに対応していると考えられるが（King and Griffin, 1985; Priestley *et al.*, 1992）、より多くの菌株を調査した報告

では、変種と病原性によるタイプの関係が一致しない菌株も認められている（Lucas *et al.*, 2000）。北海道から分離されたコムギ眼紋病菌もこれら2菌群に相当するが、ライムギに対する病原性および分生子の形状では両者を明瞭に区別することはできなかった。

そこで、これら2菌群の関係を世界各地から収集したムギ類眼紋病菌を対象にしてDNA類縁性（Takeuchi and Kuninaga, 1994）およびミトコンドリアDNA（mtDNA）の制限酵素断片長多型（Takeuchi and Kuninaga, 1996）による解析によって調査した。その結果、2菌群は遺伝的に明瞭に独立した別種に相当する関係であることが明らかになった。そこで、コムギ眼紋病菌の2菌群をCrous *et al.*（2003）にしたがって2種の別種として*Oculimacula yallundae*および*Oculimacula acuformis*とすることが妥当であると結論した。

これらコムギ眼紋病菌2種の北海道内における分布を調査した結果、菌種によって地理的分布が異なり、道南および道央地方では*O. yallundae*、道東および道北地方には*O. acuformis*がそれぞれ優占した。そこで、この要因について検討した。2種のコムギ眼紋病菌*O. yallundae*および*O. acuformis*はDMI剤であるプロピコナゾール乳剤に対する感受性は明らかな差が認められる。しかし、プロピコナゾール乳剤が使用される前後の調査で*O. yallundae*および*O. acuformis*の比率と分布に大きな差異は認められていないことから、本剤の使用による選択圧が菌種の分布に影響を及ぼした可能性は低い。*O. acuformis*が優占したほ場は、冷涼な気候条件の地域に多かったことから、4月の平均気温との関係を解析したところ、*O. acuformis*が優占する地域は平均気温が低い傾向が認められ、北海道において菌種の地理的分布の差異を生み出している要因は、気象条件の違いによる可能性が示唆された（竹内ら，2018c）。これまで*O. yallundae*と*O. acuformis*のほ場における発病の進展の違いを示した報告はあるが（Goulds and Fitt, 1990b; Bateman, 1993; Bock *et al.*, 2009）、本菌の地理的分布の違いに言及した報告はない。気象条件の違いが2種の分布に影響を及ぼす要因については、2種の発病適温の違いなどの生態的な差異（Hollins *et al.*, 1985; Fitt *et al.*, 1987; Creighton *et al.*, 1989）によるものと推察された。

コムギ連作ほ場においてコムギ眼紋病の発病程度の年次変動を調査し、各年次の気象要因が発病程度に及

ぼす影響を解析した。コムギ眼紋病の感染と発病には降雨と気温との関係に関する多くの報告がある (Fitt *et al.*, 1988)。そこで、発病程度と気象要因との関係を気温と降水日数を対象として解析を行った結果、秋期に降水日が多く、春期に低温に推移した年に本病の発病程度が増える傾向が認められた。特に11月上旬の降水日数と5月上旬の最低気温が本病の発病程度に大きく影響していた。

本病の第一次伝染である罹病残渣上の分生子の形成適温は低く、10°C以下の5°Cとされている (Higgins and Fitt, 1984; Fitt *et al.*, 1988)。また、感染の適温は6~10°Cと比較的低い (Lange de la Camp, 1966b; Schrödter and Fehrmann, 1971; Clarkson, 1981)。コムギのは種後の約1ヶ月となる10月中旬以降は、気温はおおむね10°C以下となる期間が増加し、本病の分生子形成および感染に十分な条件にあるため、本病の罹病残渣からの第一次感染が起きる時期と考えられる。積雪前の期間は、発病の進展は認められないが、この期間の降水日が多いと、地表面の罹病残渣からの第一次感染の機会が増え、融雪後の発病の進行にも影響を及ぼす。11月上旬は降水日数が他の期間に比べても多く、気温も2~10°Cと分生子形成に最適な期間となるため、本病の重要な一次感染期間であると考えられた。

融雪後の起生期以降、根雪前の感染による病斑上に形成された分生子も重要な感染源となる。さらに4月中旬から4月下旬にかけて感染に適した温度条件となるため、4月下旬以降に発病は進行する。その後の5月上旬は平均気温が10°C以上となる期間であるが、この期間に最低気温が低いと感染適温である10°Cを下回る期間が長くなり、感染期間が長期化するため、5月の最低気温が発病程度に影響するものと推察された (竹内, 2019)。

発病程度に対する影響が大きかった5月上旬の最低気温と11月上旬の降水日数の2要因に対して多変量ロジスティック回帰分析を行った結果、これらの要因の間に交互作用が認められたことから、11月上旬の降雨日数が多いと一次感染が増加して感染率が高まり、それが5月上旬の最低気温の効果に影響し、発病程度を高める効果をもたらすことが示唆された。

以上のように、本病の発病程度に及ぼす時期別の気象要因は、北海道における発病経過とこれまでに報告されている本病の発生生態でよく説明することができた。

コムギ初作ほ場でコムギを連作したところ、連作2年目において隣接するコムギ連作ほ場と同程度の発病

となったことから、コムギ眼紋病菌は汚染された作業機によって容易にほ場に侵入、定着し、短時間で蔓延する病害であることが明らかとなった。コムギ栽培地域では、収穫時など共通の機械で作業する機会が多く、ある地域内でひとたび本病が発生するとその地域内の未発生ほ場への伝搬を防ぐことは極めて困難である。コムギ眼紋病が北海道で発生が確認されて以降、発生と被害が短期間に拡大したのは (尾崎, 1990)、このような伝搬方法によって容易に未発生ほ場に侵入、定着、蔓延したことによるものと考えられた。

コムギ眼紋病はコムギの茎基部で病斑を形成し、上位に進展することはほとんどないため、コムギが倒伏して初めて発病を認識することが多い。発病程度別に茎単位の減収および品質低下の程度を調査したところ、倒伏に至らなくても、病斑が茎を完全に取り囲むようになると、減収および品質低下が認められた。その一方で、コムギ眼紋病は水平進展の後垂直進展が起こるため、ある程度の発病茎率に達して病斑が茎を取り囲む重症茎が生じないと減収と品質低下とはならない。そのため、コムギ眼紋病によって被害が生じる発病水準は発病茎率で90%と推定され (竹内, 2018a)、土壤伝染性の病害であるが許容できる発病レベルは高い。したがって、本病は発病を防止するのではなく、実質的な被害が生じる発病レベルに達しない対策を講じることが効率的である。

本病に対する薬剤防除は、ベンゾイミダゾール剤、DMI 剤 (ステロール脱メチル阻害剤) に関する報告が数多くある。本研究においても、ベンゾイミダゾール系薬剤であるチオファネートメチル水和剤、DMI 剤であるプロピコナゾール乳剤、プロクロラズ乳剤、アニリノピリミジン系薬剤であるシプロジニル水和剤の効果を確認された。しかし、ベンゾイミダゾール系薬剤に対する耐性菌が道内に広く分布し、DMI 剤であるプロピコナゾール乳剤は道東および道北地方を中心に北海道内に広く分布している *O. acuformis* が優占するほ場では効果が低い。同じ DMI 剤であるプロクロラズ乳剤は、菌種にかかわらず安定した防除効果が得られたが、ヨーロッパでは低感受性菌による防除効果の低下が問題になっている (Leroux *et al.*, 2013)。また、シプロジニル水和剤についても 2008 年に耐性菌の出現が確認され、防除効果が低下する事例が報告されており (小松ら, 2010)、本研究においても、シプロジニル耐性菌が検出されたほ場では明らかな防除効果の低下が認められている。これらのことから、薬剤にのみ依存した防除対策には限界があることは明白である。

非寄主作物の栽培による輪作では、ジャガイモおよびアズキを1年栽培すると発病度が22.2~38.7%減少し、2年以上栽培すると発病度が48.2%以上減少した(竹内, 2018b)。本病によってコムギの被害が生じるのは、発病率で90%以上、発病度が40以上であることから(竹内, 2018a)、多発条件においても2年以上の非寄主作物の栽培で被害が生じないレベルまで発病を抑制することができる。また、多発条件ではない場合には、1年の非寄主作物の栽培でも実用的な効果が期待できる。一方、寄主作物を1~3年間栽培して本病の発病を抑制しても、その後に連作すると長期連作区と同等の発病程度となり、発病抑制効果は認められなくなった。本病はある程度の発病を許容できることから、連作は避けることを最優先とし、発病状況によって2年または3年以上の輪作体系を維持することで本病による実質的な被害を回避することができる。そのため、本病多発ほ場でやむを得ず連作する場合以外は薬剤防除を行う必要はない。

北海道のコムギで発生している土壌伝染性のコムギ条斑病では、発病率20%以上で減収が認められるが、非寄主作物を1年間栽培するだけで連作に比べて83.3%以上の発病率の減少が認められている(尾崎, 1994)。コムギ眼紋病では、非寄主作物を1年間栽培するだけでは発病率は4.6~22.3%減少するに過ぎないが、減収が認められるのは発病率が90%以上であることから、許容できる発病レベルは高い。コムギ眼紋病およびコムギ条斑病はいずれも連作によって被害が大きくなる土壌伝染性の病害であるが、適切な輪作体系を組むことで同時にこれら病害による被害を回避することは可能である。

コムギ眼紋病の発病に対するコムギの栽培方法の影響を調査した。播種時期が早いほど、播種量が多いほどコムギの茎数が増え、発病が増加する傾向が認められたことから、コムギ眼紋病の発病と被害を軽減するためには、適正な播種量、適正な播種時期を厳守し、茎数に合わせた適正な起生期追肥を行い、茎数過剰とならない栽培を行うことが重要である。

国内外の108品種・系統のコムギ眼紋病に対する抵抗性を調査し、抵抗性遺伝資源の探索を行った結果、北海道および国内で育成された品種・系統の中には抵抗性を示すコムギはなかったが、「VPM-1」、「Madsen」、「Cappelle-Desprez」、「Cercio」が抵抗性を示し、これらは北海道における抵抗性品種開発のための母本となりうることを示された。これらのうち、「VPM-1」は *Aegilops ventricosa* を起源とする抵抗性遺伝子 *Pch1* を

もち(Doussinault *et al.*, 1983; Delibes *et al.*, 1988), 「Madsen」の抵抗性は「VPM-1」由来の *Pch1* であることが示されている(Allan *et al.*, 1989)。「Madsen」はコムギ縞萎縮病に対する抵抗性遺伝子をもつことが明らかにされており(竹内ら, 2010)、北海道のコムギ育種でも交配母本として使われている品種で、コムギ眼紋病の抵抗性品種を開発するにあたって有望な遺伝資源である。

近年、北海道ではDNAマーカーを利用した病害抵抗性品種の開発が積極的に行われている(竹内, 2008; 鈴木, 2012; 鈴木, 2014)。DNAマーカー検定は後代検定を必要とせず、当代で判定できるため、戻し交配に使う個体の選抜には極めて有効である。本研究においてDNAマーカー選抜を利用した連続戻し交配によって *Pch1* 遺伝子を持つ「きたほなみ」準同質遺伝子系統を3系統得ることができた。「きたほなみ」は優れた農業特性をもつ現在の北海道における基幹品種であることから、これらの準同質遺伝子系統は、今後、コムギ眼紋病の抵抗性品種の育成に利用できる。

本病は北海道で発生が確認された1983年以降、発生と被害が拡大したが、近年になって発病が大きく減少している。この要因について以下のことが考えられる。

第一に1990年代後半から国による大豆振興策が取られるようになり、特に転換畑での大豆の作付けが増え、長期連作を含む過剰なコムギ作付けが減少した影響が考えられる。本研究によって明らかにされたとおり、本病は連作によって発病は著しく助長されるが、第1-1-1図に示したように1990年代以降コムギの栽培面積は減少していて、統計による数字はないがコムギ連作ほ場は減少したものと推察される。

第二に本病に対する防除薬剤として1999年からシプロロジニル水和剤が本病多発ほ場を対象に広く使用されるようになった影響が考えられる。

第三にコムギの栽培法の変化の影響が考えられる。㎡当たりの播種量がそれまでの340粒から1999年に255粒(深瀬ら, 1998; 土屋, 1999)、2008年に170粒、2011年に140粒(沢口ら, 2014; 中道ら, 2014)と減らした栽培法が指導されるようになった。本研究によって明らかにされたようにコムギの播種量を減らし茎数過剰とならない栽培法は本病の発病と被害を軽減する。

第四に気象要因の影響が考えられる。本研究で本病の発病にもっとも影響が大きいことが明らかとなった5月上旬の最低気温を本研究の試験を主体的に行った岩見沢市の観測値と比較してみると、本病の初発が確認されてから発生が拡大した1983~1992年では4.53℃

であるのに対し、近年の2008～2017年では5.93℃と1.4℃も上昇している。このことから、近年は本病が多発しにくい気象条件に移行していると言える。

本研究によって、コムギ眼紋病は未発生ほ場に容易に進入、蔓延、定着し、非寄主作物による輪作を行っても発病率の減少は小さく、2年連作するだけでも発病程度が顕著に増えることが明らかとなり、防除は極めて困難であることが示された。しかし、その一方で被害解析によって、ある程度の発病レベルに達しないと被害は生じないことが示された。本病は連作によって発病が助長されるが、適正な輪作によって実質的な被害を受けない発病レベルにまで抑えることは可能である。現在は一部のコムギ過作地帯を除いて本病は大きな問題となっていない。今後も被害を受けない発病は許容し、被害を受けない発病レベルに抑えるため、輪作体系の維持と栽培管理を基本とした実用的な対策を講じることが重要である。

## 第9章 要約

1983年に北海道で発生が確認され、その後道内で発生と被害が拡大してコムギ栽培上の大きな問題となったコムギ眼紋病について、病原菌の性状とその分類学的関係を解明するとともに、発生生態、被害解析および防除対策に関する研究を行った。

### 1. 病原菌

北海道から分離されたコムギ眼紋病菌は、培養形態からPDA平板上で生育が速く菌叢の先端が全縁平滑の菌群（fast-growing, even-edged type : FE型）、生育が遅く菌叢の先端が不定形羽毛状の菌群

（slow-growing, feathery-edged type : SF型）の2菌群が存在した。これらは、海外では病原型とする分類、変種とする分類、別種とする分類が報告されていることから、2菌群の分類学的関係を解明した。

北海道から分離された2菌群は、分生子の形状およびライムギに対する病原性では明瞭に区別できなかった。核DNAの再会合速度解析によるDNA類縁性およびミトコンドリアDNAの制限酵素断片長多型の解析結果から、両者は遺伝的に独立した別種に相当する関係であることを明らかにした。そこで、コムギ眼紋病菌の2菌群をCrous *et al.* (2003) にしたがって2種の別種として *Oculimacula yallundae* および *Oculimacula aciformis* とすることが妥当であると結論した。

北海道内のコムギほ場から1989年に1017菌株、1992年に1931菌株のコムギ眼紋病菌 *O. yallundae* および *O. aciformis* を分離してその分布を調査した。調査した2カ年の *O. aciformis* の割合はそれぞれ52.3%および43.7%であった。道南および道央地域では *O. yallundae*、道東および道北地域には *O. aciformis* がそれぞれ優占した。調査した市町村ごとの *O. aciformis* の分離割合と4月の平均気温との関係をロジスティック回帰分析で解析したところ、*O. aciformis* が優占する地域は平均気温が低い傾向があることが明らかとなった。コムギ眼紋病菌の2種は世界各地に分布するが、気象条件の違いによる地理的分布の要因に言及したのは本報告が初めてである。

### 2. 発生生態

発病ほ場に隣接した水田を転換畑としてコムギを栽培すると、1作目で発病が認められ、連作わずか2年目で発病ほ場と同等の発病が認められた。コムギ眼紋病の高い伝染性と蔓延力が明らかとなった。

1987年から1996年までの10年間、コムギの連作ほ場においてコムギ眼紋病の発病を調査し、気象要因との関係をロジスティック回帰分析によって解析した。その結果、秋期に降水日が多く、低温に推移した年に本病の発病程度が高まる傾向が認められた。特に5月上旬の最低気温は負の効果、11月上旬の1mm以上の降水日数は正の効果が大きかった。11月上旬の降雨は一次感染に影響し、5月上旬の最低気温は感染期間の長期化に影響しているものと推察された。

### 3. 被害解析

コムギ眼紋病による被害は、倒伏に至らなくても、病斑が茎を完全に取り囲む発病指数3以上の発病で減収および品質低下が認められた。コムギの収量構成要素に対しては、穂数および1穂粒数にはほとんど影響しないが、千粒重の減少が認められた。品質では、リットル重、整粒歩合、等級およびアミログラム特性値が低下した。

コムギ眼紋病によって被害が生じる発病水準は、発病茎率で90%、発病度で40と推定された。本病は発病程度が高まると顕著な被害が生じるが、許容できる発病レベルは高いことを明らかにした。

### 4. 薬剤防除

コムギ眼紋病に対して、ベンゾイミダゾール系薬剤であるチオファネートメチル水和剤、DMI剤（ステロール脱メチル阻害剤）であるプロピコナゾール乳剤およびプロクロラズ乳剤、アニリノピリミジン系薬剤であるシプロジニル水和剤による防除効果を検討した。

ベンゾイミダゾール系薬剤に対する耐性菌は道内に広く分布し、特に太平洋側の網走、十勝および日高管内ではすべてのほ場で耐性菌が検出され、耐性菌の割合も高かった。チオファネートメチル水和剤は耐性菌が優占するほ場では防除効果が認められなかった。

DMI剤に対する *O. yallundae* および *O. aciformis* の感受性は、プロピコナゾールでは *O. aciformis* は *O. yallundae* に比べて低かったが、プロクロラズでは菌種間差は小さかった。プロピコナゾール乳剤は *O. yallundae* が優占するほ場では効果が認められたのに対し、*O. aciformis* が優占するほ場では効果が認められなかった。一方、プロクロラズ乳剤はいずれのほ場においても安定した効果が認められた。

シプロジニル水和剤は、菌種に関わらず安定した効



果が得られたが、シプロジニル耐性菌が検出されたほ場では明らかな防除効果の低下が認められた。

薬剤の散布時期別の防除効果を検討した結果、最も効果が高いのは5月上旬(GS31) (GS:生育ステージ)で、その前後の4月下旬(GS30)と5月中旬(GS33)の効果も高い傾向が認められた。GS30はコムギの幼穂形成期、GS31~GS33はコムギの節間伸長前期にあたる。防除効果が認められた期間が比較的広いことから、5月上旬までの気象要因から本病の多発を予測し、5月中旬に薬剤散布を行うことで効率的に薬剤防除を行うことができる可能性が示唆された。

#### 5. 耕種的防除

非寄主作物であるジャガイモおよびアズキを1年、2年および3年栽培すると発病度でそれぞれ22.2~38.7%、48.2~56.3%および69.0~73.1%減少した。しかしながら、この効果は連作2年目で認められなくなった。本病はある程度の発病を許容できることから、連作は避けることを最優先とし、発病状況によって2年または3年以上の輪作体系を維持することが重要である。

播種時期が早いほど、播種量が多いほどコムギの茎数が増え、発病が増加する傾向が認められたことから、適正な播種量、播種時期、窒素追肥を行い、茎数過剰とならない栽培を行うことが重要である。これら耕種的防除により、コムギ眼紋病による実質的な被害を回避できることを示した。

国内外から収集した108品種・系統を供試してコムギ眼紋病に対する抵抗性を検定した結果、「VPM-1」, 「Madsen」, 「Cappelle-Desprez」, 「Cerco」が抵抗性を示し、これらは抵抗性品種開発のための母本として有望であることが明らかとなった。コムギ眼紋病抵抗性遺伝子 *Pch1* に連鎖したDNAマーカーを用い、「Madsen」を1回親、「きたほなみ」を戻し親として連続戻し交配とDNAマーカー選抜によって準同質遺伝子系統(NILs)を作成した。NILsは農業特性が「きたほなみ」とほぼ同等で、抵抗性系統として有望であった。

# Studies on Fungal Pathogens and Control of Eyespot Disease in Winter Wheat

Toru Takeuchi

## Summary

Eyespot disease of wheat has been observed and widespread in Hokkaido since 1983. The purpose of the present study was to identify the pathogens, and to develop the measures to control eyespot disease by investigating the ecology, the damage, and the effect of fungicides and cultural control.

### 1. Identification of the pathogens

Isolates of the eyespot pathogen of cereals were divided into two groups based on colony morphology on PDA: fast-growing, even-edged (FE) and slow-growing, feathery or uneven-edged (SF). These two groups of the pathogens could not be clearly distinguished by conidial morphology and the pathogenicity to rye. Genetic relationships between isolates of *Oculimacula yallundae* and *Oculimacula acuformis*, from diverse geographical origins including Japan, Europe, North America, South Africa and New Zealand, were determined by DNA relatedness on the basis of nDNA reassociation kinetics and a quantitative analysis of restriction fragment length polymorphisms of mitochondrial DNAs. This study suggested that isolates of *O. yallundae* and *O. acuformis* consist of two genetically distinct taxonomic groups, corresponding to separate species.

We collected 1017 and 1931 isolates of wheat eye spot pathogen from 555 fields in various regions of Hokkaido in 1989 and 1992, respectively. Of these, 52.3% in 1989 and 43.7% in 1992 were identified as *Oculimacula acuformis* based on mycelial growth and culture morphology. The others (47.7% in 1989 and 56.7% in 1992) were *O. yallundae*. The two-year data showed that *O. acuformis* was widely distributed in Hokkaido, and was the dominant species in northern and eastern regions.

### 2. Ecology of eyespot disease

Eyespot disease of wheat occurred in previously pathogen-free-soil that was even slightly mixed with infested soil. When wheat was grown in a field newly converted from a paddy field located next to a diseased continuous wheat-cropping field, eyespot disease was found during the first wheat growing season, and disease occurrence in the second season was almost equal to that in the diseased continuous wheat-cropping field. This suggests that the eyespot pathogen easily invades and establishes itself in non-infested fields.

Influence of climatic factors on eyespot disease of winter wheat was investigated in Hokkaido from 1987 to 1996. The disease severity was associated negatively with the lowest temperature in early May and positively with the number of days with precipitation above 1mm in early November. The development of eyespot disease was examined for two years. Initial occurrence of the lesions was observed in late October, and incidence rate increased sharply after late April. We considered that rainfall in early November promoted primary infection, and the low temperature in early May extended the infection period.

### 3. Estimating disease losses

We estimated yield and quality losses in winter wheat due to eyespot disease based on field experiments over three years in Hokkaido. The yield and quality of wheat decreased when the stems were completely girdled by lesions but no lodging occurred. Eyespot infection did not affect ear number per m<sup>2</sup> or grain number per ear, but

reduced 1,000-grain dry weight under severe infection, resulting in a decrease in the yield. The yield did not decrease significantly when less than 90% of stems were covered with lesions and disease severity index was less than 40.

#### 4. Chemical control

The effects of benzimidazole fungicide thiophanate-methyl, propiconazole and prochloraz of DMIs, and anilinopyrimidine fungicide cyprodinil on eyespot disease were examined.

Surveys in 1989 and 1992 showed that benzimidazole resistant strains were common and widespread in Hokkaido, and especially in the eastern region, most of the strains were resistant to benzimidazole. Experiments in the fields of varying resistant isolate frequencies suggested that thiophanate-methyl was able to control eyespot only in fields whose frequency of resistant isolates was low.

The susceptibility of *O. yallundae* and *O. acuformis* to demethylation inhibitor (DMI) fungicides was tested. The two-year results indicated that the susceptibility of *O. acuformis* to propiconazole was lower than *O. yallundae*, whereas there was little difference in susceptibility to prochloraz between the two pathogens. Efficacy of propiconazole and prochloraz on wheat eyespot was investigated in the fields where the proportion of *O. acuformis* was different from 5.0 to 100%. Propiconazole was effective in the fields dominated by *O. yallundae*, whereas effect was not observed in those dominated by *O. acuformis*. Prochloraz showed a stable effect in all the fields tested.

Cyprodinil could control eyespot except for fields where the resistant strains were isolated.

The control effects of thiophanate-methyl and prochloraz were examined in different growth stages of winter wheat for three years. Early May (GS 31) was the most effective, followed by late April (GS30) and mid- May (GS 33). This study suggested that disease severity of eyespot disease could be predicted from climatic factors to determine the necessity of control.

#### 5. Cultural control

Crop rotation effects on eyespot disease severity in winter wheat were investigated in Hokkaido. Cultivating non-host crops for one, two and three years reduced disease severity by 22.2%~38.7%, 48.2%~56.3% and 69.0%~73.1%, respectively. This effect was lost after the first cropping of wheat. There was no difference in effects between the tested non-host crop species: potato and adzuki bean.

Eyespot disease severity was higher when wheat stem number/m<sup>2</sup> was greater, which resulted from higher seeding rates and earlier sowing dates. This indicated that disease losses could be reduced by proper sowing and nitrogen application to prevent excessive tillering in wheat.

A total of 108 wheat varieties collected from Japan and other countries were examined for resistance to eyespot disease. All of the varieties bred in Japan were susceptible, whereas four foreign varieties, "VPM-1", "Madsen", "Cappelle-Desprez", and "Cerco", showed resistance, and could be used as parents in the development of resistant varieties in Hokkaido. Near-isogenic lines (NILs) was developed by backcrossing between the non-recurrent parent "Madsen" with eyespot resistance and the recurrent parent "Kitahonami", followed by DNA marker-assisted selection. Agricultural characteristics, such as maturity, culm length and yield, of the NILs were similar to those of "Kitahonami".

## 引用文献

- Allan, R.E., Peterson, C. J. Jr, Rubenthaler, G. L., Line, R. F. and Roberts, D. E. (1989) Registration of 'Madsen' wheat. *Crop Sci.* 29: 1575-1576.
- Babji, J., Zhu, Q., Brain, P. and Hollomon, D. W. (2000) Resistance risk assessment of cereal eyespot, *Tapesia yallundae* and *Tapesia acuformis*, to the anilinopyrimidine fungicide, cyprodinil. *Eur. J. Plant Pathol.* 106: 895-905.
- Bateman, G. L. (1993) Development of disease symptoms and fungal pathogens on shoot bases in continuous winter wheat, and effects of fungicides. *Plant Pathol.* 42: 595-608.
- Bock, C. H., Wan, A. M. and Fitt, B. D. L. (2009) Development of *Oculimacula yallundae* and *O. acuformis* (eyespot) lesions on stems of winter wheat in relation to thermal time in the UK. *Plant Pathol.* 58: 12-22.
- Boerema, G. H., Pieters, R. and Hamers, M. E. C. (1992) Check-list for scientific names of common parasitic fungi. Supplement Series 2b (additions and corrections): Fungi on field crops: Cereals and grasses. *Neth. J. Plant Pathol.* 98: 1-32.
- Braun, U. (1995) A Monograph of *Cercospora*, *Ramularia* and Allied Genera (Phytopathogenic Hyphomycetes), Vol 1. IHW Verlag, Eching, Germany.
- Brown, M. C., Taylor, G. S. and Epton, H. A. S. (1984) Carbendazim resistance in the eyespot pathogen *Pseudocercospora herpotrichoides*. *Plant Pathol.* 33: 101-111.
- Bruehl, G. W. and Cunfer, B. (1972) Control of *Cercospora* footrot of wheat by benomyl. *Plant Dis. Repr.* 56: 20-23.
- Bruns, T., White, T. I. and Taylor, J. W. (1991) Fungal molecular systematics. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 22: 525-564.
- Cadle, M. M., Murray, T. D., and Jones, S. S. (1997) Identification of resistance to *Pseudocercospora herpotrichoides* in *Triticum monococcum*. *Plant Dis.* 81: 1181-1186.
- Carter, D. A., Archer, S. A., Buck, K. W., Shaw, D. S. and Shattock, R. C. (1990) Restriction fragment length polymorphisms of mitochondrial DNA of *Phytophthora infestans*. *Mycol. Res.* 94: 1123-1128.
- Chang, E.W. P. and Tyler, L. J. (1964) Sporulation by *Cercospora herpotrichoides* on artificial media. *Phytopathology* 54: 729-735.
- Chapman, N. H., Burt, C., Dong, H. and Nicholson, P. (2008) The development of PCR-based markers for the selection of eyespot resistance genes *Pch1* and *Pch2*. *Theor. Appl. Genet.* 117: 425-433.
- Clarkson, J. D. S. (1981) Relationship between eyespot severity and yield loss in winter wheat. *Plant Pathol.* 30: 125-131.
- Coskun, H., Bateman, G. L. and Hollomon, D. W. (1987) Changes in population structure of carbendazim-resistant eyespot in wheat and barley between spring and summer 1984. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 88: 117-119.
- Creighton, N. F., Cavelier, N. and Fitt, B. D. (1989) Pathogenicity to wheat and rye of *Pseudocercospora herpotrichoides* isolates from France and the U.K. *Mycol. Res.* 92: 113-117.
- Crous, P. W., Groenewald, J. Z. and Gams, W. (2003) Eyespot of cereals revisited: ITS phylogeny reveals new species relationships. *Eur. J. Plant Pathol.* 109: 841-850.
- Cunningham, P. C. (1965) *Cercospora herpotrichoides* Fr on graminaceous hosts in Ireland. *Nature* 207: 1414-1415.
- Cunningham, P. C. (1981) Occurrence, role and pathogenic traits of a distinct pathotype of *Pseudocercospora herpotrichoides*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 76: 3-15.
- Daniels, A., Lucas, J. A. and Peberdy, J. F. (1991) Morphology and ultrastructure of W and R pathotypes of *Pseudocercospora herpotrichoides* on wheat seedlings. *Mycol. Res.* 95: 385-397.
- Deighton, F. C. (1973) Studies on *Cercospora* and allied genera. IV. *Cercospora* Sacc., *Pseudocercospora* gen. nov. and *Pseudocercosporidium* gen. nov. *Mycol. Pap.* 133: 1-62.
- de la Peña, R. C., Murray, T. D., and Jones, S. S. (1996) Linkage relations among eyespot resistance gene *Pch2*, endopeptidase Ep-A1b, and RFLP marker Xpsr121 on chromosome 7A of wheat. *Plant Breed.* 115: 273-275.
- Delibes, A., Doussinault, G., Mena, M., Lopez-Braña, I. and García-Olmedo, F. (1988) Eyespot resistance gene *Pch-1* from *Aegilops ventricosa* is associated with a

- different chromosome in wheat line H-93-70 than the resistance factor in "Roazon" wheat. *Theor. Appl. Genet.* 76: 573-576.
- di San Lio Magnano, G., Hocart, M. J., Lucas, J. A. and Peberdy, J. F. (1994) Overcoming vegetative incompatibility within and between pathotypes of *Pseudocercospora herpotrichoides* by protoplast fusion. *Mycol. Res.* 98: 653-659.
- Doussinault, G., Delibes A., Sanchez-Monge R., García-Olmedo F (1983) Transfer of a dominant gene for resistance to eyespot disease from a wild grass to hexaploid wheat. *Nature* 303: 698-700.
- Dyer, P. S., Bateman, G. L., Lucas, J. A. and Peberdy, J. F. (1994a) Seasonal development of apothecia of the cereal eyespot pathogen *Tapesia yallundae* on straw stubble in the UK. *Ann. Appl. Biol.* 125: 489-500.
- Dyer, P. S., Papaikonomou, M., Lucas, J. A. and Peberdy, J. F. (1994b) Isolation of R-type progeny of *Tapesia yallundae* from apothecia on wheat stubble in England. *Plant Pathol.* 43: 1039-1044.
- Fehrmann, H. (1984) MBC-resistente Freilandpopulationen von *Pseudocercospora herpotrichoides* in langjährigem Überwachungsversuch. *Phytopath. Z.* 110: 82-86.
- Förster, H., Kinscherf, T. G., Leong, S. A. and Maxwell, D. P. (1988) Estimation of relatedness between *Phytophthora* species by analysis of mitochondrial DNA. *Mycologia* 80: 466-478.
- Fitt B.D.L (1985) Factors affecting the development of eyespot (*Pseudocercospora herpotrichoides*) lesions in wheat. *Z. Pflanzenkrank. Pflanzensch.* 92: 455-63.
- Fitt, B. D.L. and Bainbridge, A. (1983) Dispersal of *Pseudocercospora herpotrichoides* spores from infected wheat straw. *Phytopath. Z.* 106: 214-225.
- Fitt, B. D. L., Creighton, N. F. and Bateman, G. L. (1987) Pathogenicity to wheat seedlings of wheat-type and rye-type isolates of *Pseudocercospora herpotrichoides*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 88: 149-155.
- Fitt, B. D. L., Goulds, A., Hollins, T. W. and Jones, D. R. (1990) Strategies for control of eyespot (*Pseudocercospora herpotrichoides*) in UK winter wheat and winter barley. *Ann. appl. Biol.* 117: 473-486.
- Fitt, B. D. L., Goulds, A. and Polley, R. W. (1988) Eyespot (*Pseudocercospora herpotrichoides*) epidemiology in relation to prediction of disease severity and yield loss in winter wheat—a review. *Plant Pathol.* 37: 311-328.
- Fitt, B. D. L. and Lysandrou, M. (1984) Studies on mechanisms of splash dispersal of spores, using *Pseudocercospora herpotrichoides* spores. *Phytopath. Z.* 111: 323-331.
- Fitt, B. D. L. and Nijman, D. J. (1983) Quantitative studies on dispersal of *Pseudocercospora herpotrichoides* spores from infected wheat straw by simulated rain. *Neth. J. Plant Pathol.* 89: 198-202.
- Fitt B.D.L. and White R. P. (1988) Stages in the progress of eyespot epidemics in winter wheat crops. *Z. Pflanzenkrank. Pflanzensch.* 95: 35-45.
- Fron, G. (1912) Contribution à l'étude de la maladie de 'pied noir des cereales' ou 'maladie du pi'etin'. *Ann. Sci. Agro. Franc. Etrang.* 4(1): 3-29.
- 深瀬孝子・渡辺祐志・前野真司 (1998) 道東地方における秋播小麦「ホクシン」の栽培法 第1報 播種期と播種量について. *北農* 65: 256-260.
- 古屋廣光 (1984) わが国における *Pseudocercospora herpotrichoides* (Fron) Deighton によるコムギ眼紋病 (新称) の発生. *日植病報* 50: 77-81.
- 古屋廣光・松本 勤 (1996) コムギ眼紋病の本州北部日本海側 (秋田県) における発病の経過. *日植病報* 62: 194-198.
- 古屋廣光・高野仁孝・井上 悟・松本 勤 (1993) 我が国におけるムギ類眼紋病菌の fast-even タイプと slow-feathery タイプの発生. *北日本病虫研報* 44: 16-19.
- Gallimore, K., Knights, I. K. and Barnes, G. (1987) Sensitivity of *Pseudocercospora herpotrichoides* to the fungicide prochloraz. *Plant Pathol.* 36: 290-296.
- Garber, R. C. and Yoder, O. C. (1983) Isolation of DNA from filamentous fungi and separation into nuclear, mitochondrial ribosomal and plasmid components. *Anal. Biochem.* 135: 416-422.
- Glynne, M. D. (1963) Eyespot (*Cercospora herpotrichoides*) and other factors influencing yield of wheat in the six-course rotation experiment at Rothamsted (1930-60). *Ann. Appl. Biol.* 51: 189-214.
- Glynne, M. D. and Slope, D. B. (1959) Effects of previous wheat crops, seed-rate and nitrogen on eyespot, take-all, weeds and yields of two varieties of winter wheat: field experiment 1954-56. *Ann. Appl. Biol.* 47: 187-199.
- Goulds, A. and Fitt, B. D. L. (1990a) Effects of fungicide timing on the severity of eyespot on winter wheat or

- winter barley inoculated with W-type or R-type isolates of *Pseudocercospora herpotrichoides*. *Crop Prot.* 9: 265-270.
- Goulds, A. and Fitt, B. D. L. (1990b) The development of eyespot on seedling leaf sheaths in winter wheat and winter barley crops inoculated with W-type and R-type isolates of *Pseudocercospora herpotrichoides*. *J. Phytopathol.* 130: 161-73.
- Griffin, M. J. and King, J. E. (1985) Benzimidazole resistance in *Pseudocercospora herpotrichoides*: results of ADAS random surveys and fungicide trials in England and Wales, 1982-1984. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 15: 485-494.
- Groenewald, J. Z., Marais, A. S., and Marais, G. F. (2003) Amplified fragment polymorphism-derived microsatellite sequence linked to the *Pch1* and *Ep-D1* loci in common wheat. *Plant Breed.* 122: 83-85.
- Hawksworth, D. L. and David, J. C. (1989) Proposal to conserve *Mollisia* (E.M. Fries) P. Karsten over *Tapesia* (Pers.:E.M. Fries) Fuckel (Fungi). *Taxon* 38: 496.
- Higgins, S. and Fitt, B. D. L. (1984) Production and pathogenicity to wheat of *Pseudocercospora herpotrichoides* conidia. *J. Phytopathol.* 111: 222-231.
- Hocart, M. J., Lucas, J. A. and Peberdy, J. F. (1989) Vegetative incompatibility in *Pseudocercospora herpotrichoides*. *Plant Pathol.* 38: 478-483.
- Hollins, T. W., Scott, P. R. and Paine, J. R. (1985) Morphology, benomyl resistance and pathogenicity to wheat and rye of isolates of *Pseudocercospora herpotrichoides*. *Plant Pathol.* 34: 369-379.
- Hwang, B. K., Yun, J. H. & Kim, Z. S. (1987). Geographic variation of esterase isozymes in populations of *Alternaria mali* on apple leaves. *Journal of Phytopathol.* 119: 25-231.
- Johnson, J. L. (1984) Nucleic acids in bacterial classification. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* No. 1 (ed. N. R. Krieg & J. G. Holt), pp.9-11. Williams & Wilkins: Baltimore.
- Jones, D. R. (1995) Timing of fungicide application for control of eyespot disease of winter wheat. *Crop Prot.* 14: 247-256.
- Julian, A. M. and Lucas, J. A. (1990) Isozyme polymorphism in pathotypes of *Pseudocercospora herpotrichoides* and related species from cereals. *Plant Pathol.* 39: 178-190.
- 粕谷雅志・鈴木孝子・神野裕信・大西志全・其田達也・吉村康弘 (2015) 「Madsen」のコムギ縮萎縮病抵抗性 QTL を導入した秋まき小麦「きたほなみ」の準同質遺伝子系統の農業特性. 日本育種学会・日本作物学会北海道談話会会報 56: 12-13. (講要)
- King, A. C. (1990) First record of *Tapesia yallundae* as the teleomorph of *Pseudocercospora herpotrichoides* var. *acuformis*, and its occurrence in the field in the Federal Republic of Germany. *Plant Pathol.* 39: 44-49.
- King, J. E. and Griffin, M. J. (1985) Survey of benomyl resistance in *Pseudocercospora herpotrichoides* on winter wheat and barley in England and Wales in 1983. *Plant Pathol.* 34: 272-283.
- 国立天文台編 (1993). 理科年表. 丸善, 1042p.
- 小松 勉・田中文夫・美濃健一・清水基滋・立川重彦・林 敬介・杉山 稔 (2010) コムギ眼紋病菌のシプロジニル水和剤に対する感受性低下について. 北日本病虫研報 61: 261. (講要)
- Kuninaga, S. and Yokosawa, R. (1982a) DNA base sequence homology in *Rhizoctonia solani* Kühn. I. Genetic relatedness within anastomosis group 1. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 48: 659-667.
- Kuninaga, S. and Yokosawa, R. (1982b) DNA base sequence homology in *Rhizoctonia solani* Kühn. II. Genetic relatedness within anastomosis group 2. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 48: 668-73.
- Kuninaga, S. and Yokosawa, R. (1985) DNA base sequence homology in *Rhizoclonia solani* Kühn. VI. Genetic relatedness among seven anastomosis groups. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 51: 127-132.
- 国永史朗・横沢菱三 (1987) DNA 塩基配列の相同性比較による植物病原糸状菌の分類に関する研究 (第1報) *Alternaria* 属菌の遺伝的類縁性. 日植病報 53: 368-369. (講要)
- 国永史朗・横沢菱三 (1988) DNA 塩基配列の相同性比較による植物病原糸状菌の分類に関する研究 (第2報) *Verticillium* 属菌の遺伝的類縁性. 日植病報 54: 350. (講要)
- Kuninaga, S. and Yokosawa, R. (1989) Genetic relatedness within and between formae speciales of *Fusarium oxysporum* as measured by DNA-DNA reassociation kinetics. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 55: 216-223.
- Kuninaga, S. and Yokosawa, R. (1992) Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in restriction fragment length polymorphisms of mitochondrial DNA.

- Trans. Mycol. Soc. Jpn. 33: 449-459.
- Kurtzman, C. P. (1987) Impact of nucleic acid comparisons on the classification of fungi. Proceedings of the Indian Academy of Sciences (Plant Science) 97: 185-201.
- Lange-de la Camp, M. (1966a) Die Wirkungsweise von *Cercospora herpotrichoides* Fron, dem Erreger der Halmbruchkrankheit des Getreides. I. Feststellung der Krankheit, Beschaffenheit und Infektionsweise des Erregers. Phytopathol. Z. 55: 34-66.
- Lange-de la Camp, M. (1966b) Die Wirkungsweise von *Cercospora herpotrichoides* Fron, dem Erreger der Halmbruchkrankheit des Getreides. II. Aggressivität des Erregers. Phytopathol. Z. 56: 155-190.
- Leonard, J. M., Watson, C. J. W., Carter, A. H., Hansen, J. L., Zemetra, R. S., Santra, D. K., Campbell, K. G., Riera-Lizarazu, O. (2008) Identification of a candidate gene for the wheat endopeptidase *Ep-D1* locus and two other STS markers linked to the eyespot resistance gene *Pch1*. Theor. Appl. Genet. 116: 261-270.
- Leroux, P. and Gredt, M. (1997) Evolution of fungicide resistance in the cereal eyespot fungi *Tapesia yallundae* and *Tapesia acuformis* in France. Pestic. Sci. 51: 321-327.
- Leroux, P., Gredt, M. and Boeda, P. (1988) Resistance to inhibitors of sterol biosynthesis in field isolates or laboratory strains of the eyespot pathogen *Pseudocercospora herpotrichoides*. Pestic. Sci. 23: 119-129.
- Leroux, P., Gredt, M., Remuson, F., Micoud, A. and Walker, A. S. (2013) Fungicide resistance status in French populations of the wheat eyespot fungi *Oculimacula acuformis* and *Oculimacula yallundae*. Pest Manag. Sci. 69: 15-26.
- Lucas, J. A., Dyer, P. S. and Murray, T. D. (2000) Pathogenicity, host-specificity, and population biology of *Tapesia* spp., causal agents of eyespot disease of cereals. Adv. Bot. Res. 33: 225-258.
- Maniatis, T., Fritsch, E. F. and Sambrook, J. (1982) Molecular Cloning. A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory: Cold Spring Harbor, New York.
- Martin, F. N. (1990) Taxonomic classification of asexual isolates of *Pythium ultimum* based on cultural characteristics and mitochondrial DNA restriction patterns. Exp. Mycol. 14: 47-56.
- Martin, F. N. and Kistler, H. C. (1990) Species-specific banding patterns of restriction endonuclease-digested mitochondrial DNA from the genus *Pythium*. Exp. Mycol. 14: 32-46.
- 増井健一 (2003) ここからはじめるメタ・アナリシス. pp. 41-68, 真興交易 (株) 医書出版部, 東京.
- Matusinsky, P., Mikolasova, R., Klem, K. and Spitzer, T. (2009) Eyespot infection risks on wheat with respect to climatic conditions and soil management. J. Plant Pathol. 91: 93-101.
- Meijer, G., Megnegneau, B. and Linders, E. G. A. (1994) Variability for isozyme, vegetative compatibility and RAPD markers in natural populations of *Phomopsis subordinaria*. Mycol. Res. 98: 267-276.
- Meyer, N., Lind, V., Heindorf, M., Korzun, V., Friedt, W. and Ordon, F. (2011) Diagnostic value of molecular markers linked to the eyespot resistance gene *Pch1* in wheat. Euphytica 177: 267-275.
- 宮島邦之・斉藤 泉 (1984) *Pseudocercospora herpotrichoides* によるコムギの eyespot (仮称) の発生. 日植病報 50: 97-98. (講要)
- Murray, T. D. and Bruehl, G. W. (1983) Role of the hypodermis and secondary cell wall thickening in basal stem internodes in resistance to strawbreaker foot rot in winter wheat. Phytopathology 73: 261-268.
- Murray, T. D. and Bruehl, G. W. (1986) Effects of host resistance to *Pseudocercospora herpotrichoides* and foot rot severity on yield components in winter wheat. Plant Dis. 70: 851-856.
- 中道浩司・五十嵐俊成・高松 聡・佐藤三佳子・柳原 哲司 (2014) 秋まきコムギ品種「きたほなみ」の越冬前生育と播種後有効積算気温の関係. 日作紀 83: 267-272.
- 中津智史 (2000) 北海道における低アミロ小麦の発生とその要因に関する研究. 北海道立農業試験場報告 第 93 号, p.60.
- Nei, M. (1983) Genetic polymorphisms and the role of mutation in evolution. In Evolution of Genes and Proteins (ed. M. Nei & R. K. Koehn), pp.165-190. Sinauer Associates, Inc: Sunderland, MA.
- Nei, M. and Li, W. H. (1979) Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. PNAS, USA 76: 5269-5273.
- Nicholson, P., Hollins, T. W., Rezanoor, H. N. and Ananthawat-Jonsson, K. (1991) A comparison of cultural, morphological and DNA markers for the

- classification of *Pseudocercospora herpotrichoides*. Plant Pathol. 40: 584-594.
- Nicholson, P. and Rezanoor, H. N. (1994) The use of random amplified polymorphic DNA to identify pathotype and detect variation in *Pseudocercospora herpotrichoides*. Mycol. Res. 98: 13-21.
- Nicholson, P., Rezanoor, H. N. and Hollins, T. W. (1993) Classification of a world-wide collection of isolates of *Pseudocercospora herpotrichoides* by RFLP analysis of mitochondrial and ribosomal DNA and host range. Plant Pathol. 42: 58-66.
- Nicholson, P., Rezanoor, H. N., Lucas, J. A., Walkowiak-Cagara, I. and Hollins, T. W. (1995) Mating relationships between different pathotypes of *Tapesia yallundae*, the teleomorph of the eyespot pathogen *Pseudocercospora herpotrichoides*. Mycol. Res. 99: 457-465.
- Nirenberg, H. I. (1981) Differentiation of *Pseudocercospora* strains causing foot rot disease of cereals. I. Morphology. Z. Pflanzenkrank. Pflanzensch. 88: 241-248.
- Nirenberg, H. I. (1984) Differenzierung der Erreger der Halmbruchkrankheit. II. Physiologische Reaktionen in Kultur. Z. Pflanzenkrank. Pflanzensch. 91: 225-235.
- 尾崎政春 (1990) 北海道におけるコムギ眼紋病の発生の現状と当面の対策. 植物防疫 44: 210-213.
- 尾崎政春 (1994) 北海道におけるコムギ条斑病の発生生態と防除に関する研究. 北海道立農業試験場報告第 82 号, p.60.
- Panabieres, F., Marais, A., Trentin, F., Bonnet, P. and Ricci, P. (1989) Repetitive DNA polymorphism analysis as a tool for identifying *Phytophthora* species. Phytopathology 79: 1105-1109.
- Parnell, S., Gilligan, C. A., Lucas, J. A., Bock, C., H. and van den Bosch, F. (2008) Changes in fungicide sensitivity and relative species abundance in *Oculimacula yallundae* and *O. aciformis* populations (eyespot disease of cereals) in Western Europe. Plant Pathol. 57: 509-517.
- Pfeifer, T. A. and Khachatourians, G. G. (1989) Isolation and characterization of DNA from the entomopathogen *Beauveria bassiana*. Exp. Mycol. 13: 392-402.
- Priestley, R. A., Dewey, F. M., Nicholson, P. and Rezanoor, H. N. (1992) Comparison of isoenzyme and DNA markers for differentiating W-, R- and C-pathotypes of *Pseudocercospora herpotrichoides*. Plant Pathol. 41: 591-599.
- R Development Core Team (2018) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Robbertse, B., Campbell, G. F. and Crous, P. W. (1995) Revision of *Pseudocercospora*-like species causing eyespot disease of wheat. S. Afr. J. Bot. 61: 43-48.
- Robbertse, B., Crous, P. W. and Holz, G. (1994) *Tapesia yallundae* collected from wheat stubble in South Africa. Mycopathologia 125: 23-28
- 佐野慎亮・原本雅昇・西村 薫・橋本 章 (1989) コムギ眼紋病に関する研究 1. 微細構造と電気泳動パターン. 日植病報 55: 484. (講要)
- 沢口敦史・富田謙一・古川勝弘・竹内 徹・荒木和哉・中道浩司 (2014) 道東地域における秋まき小麦「きたほなみ」の適播種量と起生期施肥法の実証. 北農 81: 227-230.
- 沢崎 彬・佐藤久泰 (1988) 北海道におけるコムギ眼紋病の発生実態と薬剤防除. 北日本病虫研報 39: 102-104.
- Schrödter, H. and Fehrmann, H. (1971) Ökologische Untersuchungen zur Epidemiologie von *Cercospora herpotrichoides* II. Die Abhängigkeit des Infektionserfolges von einzelnen meteorologischen Faktoren. Phytopathol. Z. 71: 97-112.
- Scott P. R. (1971) The effect of temperature on eyespot (*Cercospora herpotrichoides*) in wheat seedlings. Ann. appl. Biol. 68, 169-175.
- Scott, P. R., Defosse, L., Vandam, J. and Doussinault, G. (1976) Infection of lines of *Triticum*, *Secale*, *Aegilops* and *Hordeum* by isolates of *Cercospora herpotrichoides*. Trans. Br. Mycol. Soc. 66: 205-210.
- Scott, P. R. and Hollins, T. W. (1974) Effect of eyespot on the yield of winter wheat. Ann. appl. Biol. 78: 269-279.
- Scott, P. R. and Hollins, T. W. (1977) Interactions between cultivars of wheat and isolates of *Cercospora herpotrichoides*. Trans. Br. Mycol. Soc. 69: 397-403.
- Scott, P. R. and Hollins, T. W. (1978) Prediction of yield loss due to eyespot in winter wheat. Plant Pathol. 27: 125-131.
- Scott, P. R., Hollins, T. W. and Muir, P. (1975) Pathogenicity of *Cercospora herpotrichoides* to wheat, barley, oats and rye. Trans. Br. Mycol. Soc. 65:



- 529-538.
- Seidler, R., Knittel, M. D. and Brown, C. (1975) Potential pathogens in the environment: Cultural reactions and nucleic acid studies on *Klebsiella pneumoniae* from clinical and environmental sources. *Appl. Microbiol.* 29: 819-825.
- Seidler, R. and Mandel, M. (1971) Quantitative aspects of deoxyribonucleic acid renaturation: Base composition, state of chromosome replication, and polynucleotide homologies. *J. Bacteriol.* 106: 608-614.
- 清水基滋・宮島邦之 (1989) 網走地方におけるコムギ眼紋病の発生と病原菌の MBC 感受性について. *日植病報* 55: 503. (講要)
- 下野勝昭 (1986) 秋播小麦の栄養生理と窒素肥培管理法に関する研究. 北海道立農業試験場報告第 57 号, p.80.
- 篠田信行 (1988) コムギ眼紋病に対するベノミル剤の散布時期と防除効果. *北日本病虫研報* 39: 105-107.
- Sneath, P. H. A. and Sokal, R. R. (1973) *Numerical Taxonomy*. W. H. Freeman & Company: San Francisco.
- Soleimani, M. J., Deadman, M. L. and McCartney, H. A. (1996) Splash dispersal of *Pseudocercospora herpotrichoides* spores in wheat monocrop and wheat-clover bicrop canopies from simulated rain. *Plant Pathol.* 45: 1065-1070.
- Stewart, E. L., Liu, Z., Crous, P. W. and Szabo, L. (1999) Phylogenetic relationships among some cercosporoid anamorphs of *Mycosphaerella* based on rDNA sequence analysis. *Mycol. Res.* 103: 1491-1499.
- 角野晶大・竹内 徹 (1994) コムギ眼紋病の接種量および接種時期と発病について. *日植病報* 60: 793. (講要)
- 鈴木孝子 (2012) DNA マーカーを利用した選抜 (MAS : Marker assisted selection) 育種の成果と展望. *北農* 79: 9-13.
- 鈴木孝子 (2014) アズキ落葉病抵抗性遺伝子と連鎖した DNA マーカーの開発とその有効性に関する研究. 北海道立農業試験場報告第 140 号, p.56.
- 鈴木孝子・神野裕信・中道浩司・佐藤奈奈・西村 努・小林 聡・池永充伸・吉村康弘・竹内 徹 (2007) 道立農試の小麦育種における DNA マーカーの利用. *日本育種学会・日本作物学会北海道談話会報* 39: 121-122. (講要)
- 竹内 徹 (2008) 北海道における分子マーカーを利用した病害虫抵抗性育種. *植物防疫* 62: 22-26.
- 竹内 徹 (2018a) コムギ眼紋病の発病とコムギの収量および品質の関係. *北日本病虫研報* 69: 35-38.
- 竹内 徹 (2018b) 非寄主作物栽培によるコムギ眼紋病の発病抑制効果. *北日本病虫研報* 69: 39-41.
- 竹内 徹 (2019) 北海道におけるコムギ眼紋病の発病と気象条件の関係と薬剤散布のタイミング. *日植病報* 85: 101-107.
- Takeuchi, T. and Kuninaga, S. (1994) Genetic relationship in *Pseudocercospora herpotrichoides* determined from DNA relatedness. *Mycol. Res.* 98: 1059-1064.
- Takeuchi, T. and Kuninaga, S. (1996) Determination of relationships in *Pseudocercospora herpotrichoides* by analysis of mitochondrial DNA. *Mycol. Res.* 100: 693-701.
- 竹内 徹・宗形信也・鈴木孝子・千田圭一・堀田治邦・荒木和哉・浅山 聡・佐藤導謙 (2010) コムギ縞萎縮病抵抗性系統の育成と「Madsen」由来の抵抗性遺伝子 *YmMD* の座乗領域の推定. *育種学研究* 12: 1-8.
- 竹内 徹・田村 修・児玉不二雄・田中文夫 (1990) 北海道におけるコムギ眼紋病菌 (*Pseudocercospora herpotrichoides* (Fron) Deighton) の benzimidazole 耐性. *北日本病虫研報* 41: 53-57.
- 竹内 徹・田村 修・児玉不二雄・角野晶大 (1992) コムギ眼紋病菌 *Pseudocercospora herpotrichoides* の W タイプと R タイプの培養的性質, 胞子の形態, 病原性および EBI 剤に対する感受性. *日植病報* 58: 543. (講要)
- 竹内 徹・角野晶大・田中文夫 (2018) コムギ眼紋病菌 *Oculimacula yallundae*, *Oculimacula acufiformis* の北海道における分布と DMI 剤に対する感受性および防除効果. *日植病報* 84: 275-281.
- 丹後俊郎 (2002) *メタ・アナリシス入門*. pp. 61-91, 朝倉書店, 東京.
- 手塚信夫・上杉康彦 (1983) *薬剤抵抗性, ソフトサイエンス社, 東京, p.277.*
- Thomas, D., Marathe, H. and Boutry, M. (1992) Identification of rye- and wheat-types of *Pseudocercospora herpotrichoides* with DNA probes. *J. G. Microbiol.* 138: 2305-2309.
- 富山宏平 (1955) 麦類雪腐病に関する研究. *北海道農試報告* 47: 1-234.
- 土屋俊雄 (1999) 道央道北地域における秋播小麦「ホクシン」の適栽培法 第 1 報 播種期と播種量について. *北農* 66: 390-394.

- 上杉康彦 (1981) 農薬実験法 (2) 殺菌剤編, ソフトサイエンス社, 東京, pp.1-55.
- Vanova, M., Klem, K., Matusinsky, P. and Spitzerova, D. (2005) Prediction of eyespot infection risks. Act. Agrobot. 58: 91- 96.
- von Arx J. A. (1983) *Mycosphaerella* and its anamorphs. Proceedings of the Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen, Series C 86(1): 15-54.
- Yamamoto, H., Kobayashi, K. and Ogoshi, A. (1992) Genetic relatedness between *Phialophora gregata* ff. spp. *adzukicola* and *sojae*. Trans. Mycol. Soc. Jpn. 33: 461-465.
- Yamamoto, H., Kobayashi, K. and Ogoshi, A. (1993) Restriction fragment length polymorphisms in *Phialophora gregata* in Japan. Trans. Mycol. Soc. Jpn. 34: 465-471.
- 柳沢 朗 (2004) 新しい小麦づくり 2004 年版 (吉田俊幸ほか編), 社団法人北海道米麦改良協会, 札幌, pp.35-48.
- Wallwork, H. (1987) A *Tapesia* teleomorph for *Pseudocercospora herpotrichoides*, the cause of eyespot of wheat. Aust. Plant Pathol. 16: 92-93.
- Wallwork, H. and Spooner, B. (1988) *Tapesia yallundae* - the teleomorph of *Pseudocercospora herpotrichoides*. Trans. Br. Mycol. Soc. 91: 703-705.
- Wayne, L. G., Brenner, D. J., Colwell, R. R., Grimont, P. A. D., Kandler, O., Krichevsky, M. I., Moore, L. H., Moore, W. E. C., Murray, R. G. E., Stackebrandt, E., Starr, M. P. and Triiper, H. G. (1987) Report of the ad hoc committee on the reconciliation of approaches to bacterial systematics. Int. J. Syst. Bacteriol. 37: 463-464.
- Wei, L., Helene Muranty, H and Huaigang Zhang, H. (2011) Advances and prospects in wheat eyespot research: contributions from genetics and molecular tools. J. Phytopathol. 159: 457-470.
- Witchalls, J.T. and Close, R. (1971) Control of eyespot lodging in wheat by benomyl. Plant Dis. Rep. 55: 45-47.
- Zadoks, J. C., Chang, T. T. and Konzack, C. F. (1974) A decimal code for the growth stages of cereals. Weed Res. 14: 415-421.

## 謝辞

本論文のご校閲を賜った北海道大学大学院農学研究院教授近藤則夫博士に衷心より感謝の意を表す。また、ご校閲を賜った北海道大学大学院農学研究院教授増田税博士、講師柏木純一博士、講師秋野聖之博士に深謝する。

本研究を遂行するに当たり、共同研究者として絶大な支援をいただいた元北海道立中央農業試験場（当時）角野晶大氏（現北海道立総合研究機構（道総研）道南農業試験場）、一部共同研究を実施し、適切なご助言とご指導をいただいた前北海道医療大学教授国永史朗博士、研究課題を与えていただくとともに、終始ご指導を賜った元北海道立中央農業試験場（当時）田村修博士、元北海道立中央農業試験場（当時）児玉不二雄博士には、心から感謝の意を表す。

本研究を行うにあたり、適切なご助言とご協力をいただいた元北海道立中央農業試験場（当時）尾崎政春博士、試験実施および本稿とりまとめに協力いただいた元北海道立北見農業試験場（当時）清水基滋氏（現道総研北見農業試験場）、元北海道立上川農業試験場（当時）田中文夫博士（現北海道植物防疫協会）、道総研中央農業試験場相馬潤博士、道総研農業研究本部小松勉博士、道総研上川農業試験場長浜恵氏、前道総研十勝農業試験場安岡眞二氏（現道総研北見農業試験場）、元道総研北見農業試験場吉村康宏氏（現道総研農業研究本部）、道総研中央農業試験場相馬ちひろ氏、道総研十勝農業試験場菅原彰氏、道総研上川農業試験場来嶋正朋氏、道総研北見農業試験場其田達也氏、道総研中央農業試験場山下陽子氏には厚く感謝を申し上げる。また、現地調査において多大なる協力をいただいた農業改良普及センターの各位に感謝の意を表す。

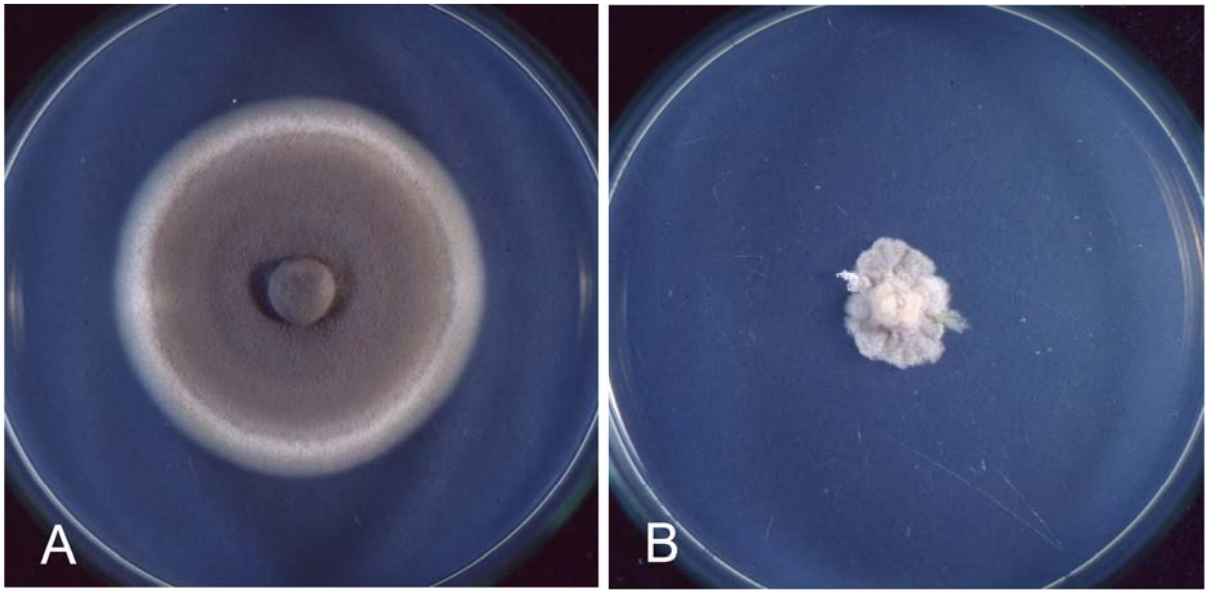
本稿とりまとめに際して終始ご助言と激励を賜った道総研中央農業試験場堀田治邦博士、本稿とりまとめのきっかけを作っていただいた道総研中央農業試験場鈴木孝子博士には心より感謝する。



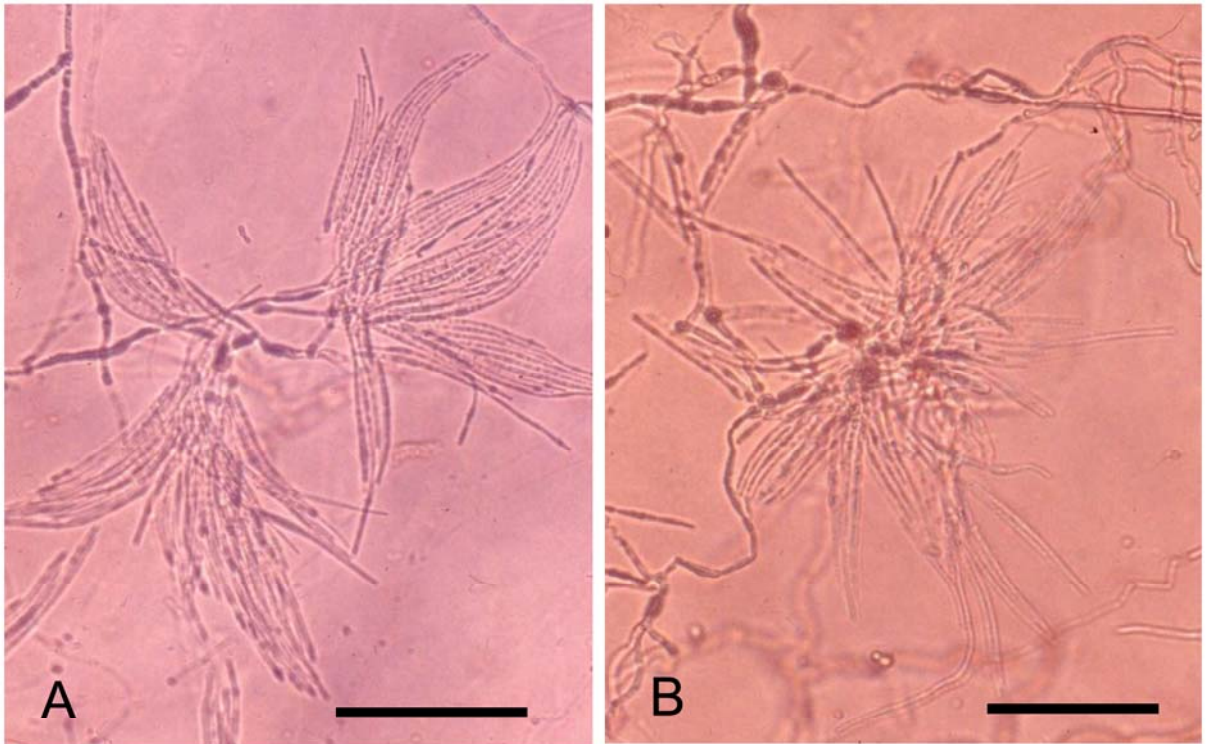
図版1 コムギ眼紋病の病徴  
 A. 葉鞘に形成された病斑  
 B. 稈に形成された病斑



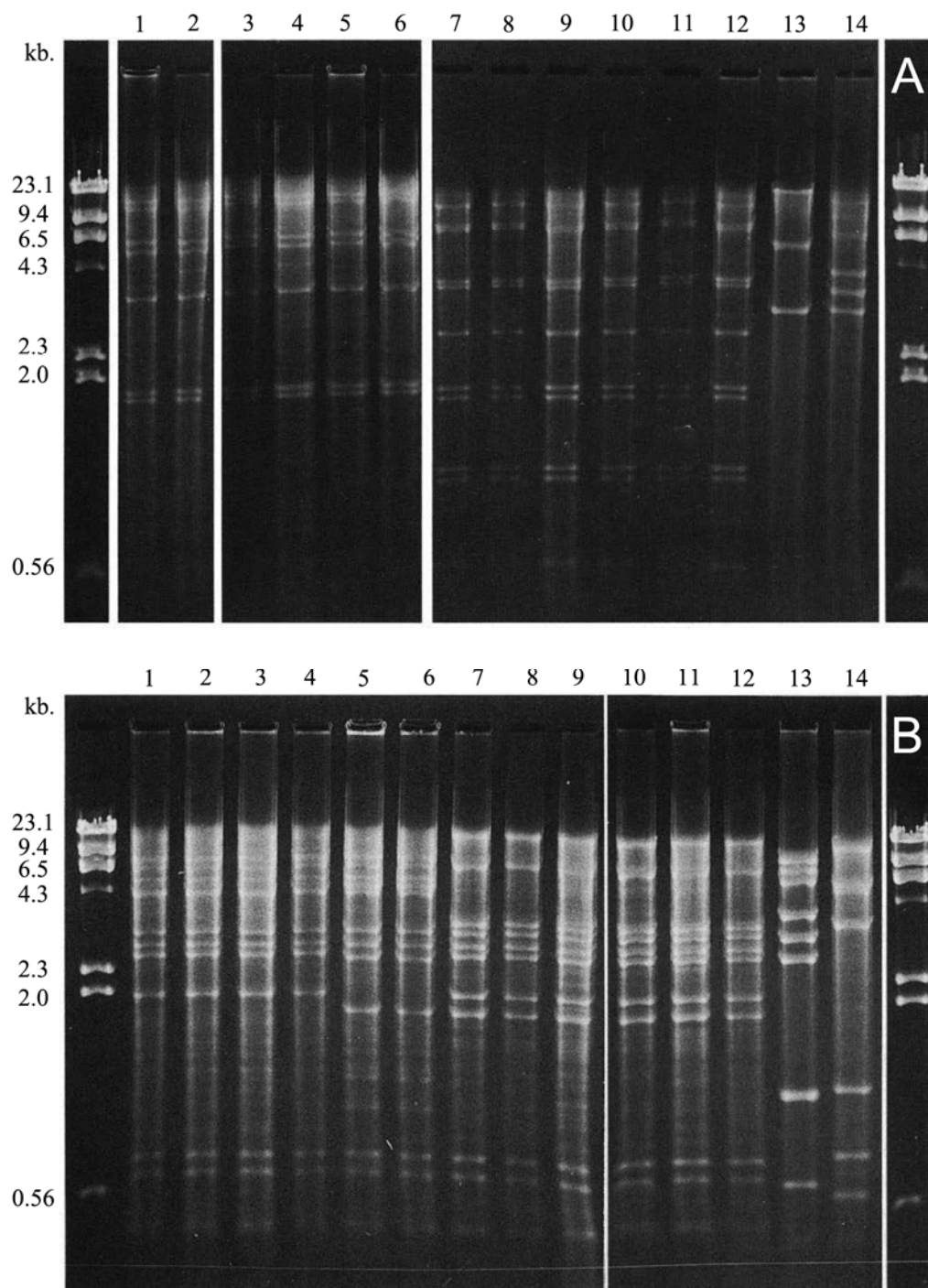
図版2 コムギ眼紋病によるコムギの倒伏



図版3 コムギ眼紋病菌の培養形態  
A. *Oculimacula yallundae*  
B. *Oculimacula aciformis*



図版4 コムギ眼紋病菌の分生子の形態  
バーは50 $\mu$ mを示す  
A. *Oculimacula yallundae*  
B. *Oculimacula aciformis*



図版5 コムギ眼紋病菌および類縁菌のミトコンドリアDNAの制限酵素消化断片の電気泳動パ  
 両端のレーンはサイズマーカー： $\lambda$ Hind III. 1-6, *Oculimacula yallundae*; 1, 56S; 2, 854/87; 3,  
 1337/91; 4, 421/88; 5, 63987; 6, D82. 7-12, *Oculimacula acuformis*, 7, 9283-3; 8, 28; 9, 63998; 10,  
 956/91; 11, 397/91; 12, 412/89. 13, *Helotiales anguioides*. 14, *Helotiales aestiva*.  
 A. 制限酵素EcoRI  
 B. 制限酵素EcoRV