

## オオムギ網斑病による穂の褐変と感染子実の検出法

菊原 賢次・中村 利宣  
(福岡県農業総合試験場)

**Kernel infection with *Pyrenophora teres* in barley and a method for detection of infected kernels.** Kenji Kikuhashi and Toshinobu Nakamura(Fukuoka Prefectural Agricultural Research Center, Chikushino, Fukuoka 818-8549, Japan)

**Key words :** *Pyrenophora teres*, kernel infection, barley

### 緒 言

オオムギ網斑病は、糸状菌の一種である *Pyrenophora teres* Drechs. の感染によって葉身や葉鞘等に網目状の病斑を生じ、子実の登熟低下による減収と品質低下をもたらす被害の大きな病害である (Piening and Kaufmann, 1969; Jordan, 1981)。本病害は世界各地のオオムギ栽培地帯のうち主として温暖・湿潤な地域に分布しており (Shipton et al., 1973), 我が国においても従来からその存在が確認されていたが (西門・三宅, 1928; Ito and Kuribayashi, 1931), 登熟後期の活性の衰えた葉に生じる病害として重要性は認識されていなかった。近年, 北海道や鳥取県のビールオオムギ栽培地帯で局所的な多発事例が確認され (佐藤・吉良, 1989; 長谷川ら, 1992), 福岡県でも1997年から頻繁に多発している。2001年4月下旬頃から福岡県の本病多発圃場で褐色斑を呈する穂が多数見られ (第1図), この様な圃場からの収穫物中に褐色の子実 (褐変粒) の混入が認められたことから, 網斑病による褐変の可能性が考えら



第1図 オオムギ網斑病による穂の病徵



第2図 オオムギ網斑病による子実の病徵  
れた (第2図)。そこで、この褐変粒が網斑病菌に起因するものであることを確認することとした。

さらに、本病は罹病植物残さや罹病種子により一次伝染するが、水田裏作でオオムギが栽培されることが多い西日本では罹病種子が重要な一次伝染源であることから、子実の感染の有無を簡易に判別する方法の開発が必要と考えられた。本論文では網斑病に感染した子実の簡易検定法についても報告する。

### 材 料 及 び 方 法

#### 1. 発病調査

網斑病が多発した福岡県朝倉郡夜須町の現地農家の2圃場と、福岡県農業総合試験場（福岡県筑紫野市）の網斑病中発生圃場において発病調査を行った。現地圃場Aでは、うね幅1.6mで8条播きの密植で、現地圃場Bでは、うね幅1.0mで2条播きの疎植で、試験場内圃場では、うね幅0.75mで2条1粒播きの疎植で、いずれの圃場もオオムギ（品種：アサカゴールド）を播種し、慣行栽培を行った。現地圃場では2000年11月20日頃に、場内

圃場では2000年12月5日に種子消毒を行わずに播種した。調査は1圃場につき3カ所で行った。現地圃場では出穂期頃の4月13日と5月10日に各区任意の50茎の上位2葉について下記の発病程度別基準で調査し、葉の発病度を算出した。また、5月15日に各区任意の100穂について下記の発病程度別基準で調査し、発病率、穂の発病度を算出した。場内圃場では出穂期頃の4月16日に発病株率を調査し、5月11日に現地圃場と同様に葉の発病程度を調査した。また、収穫子実の病徵観察を行った。

#### 葉の発病程度別基準

##### 発病指数：発病程度

4：調査葉の網目状病斑の面積が76%以上

3：調査葉の網目状病斑の面積が51～75%

2：調査葉の網目状病斑の面積が26～50%

1：調査葉の網目状病斑の面積が25%以内

0.5：調査葉に褐点が見られる

0：発病なし

葉の被害度 =  $[\Sigma (\text{発病指数} \times \text{該当葉数}) / (4 \times \text{調査葉数})] \times 100$

#### 穂の発病程度別基準

##### 発病指数：発病程度

4：調査穂の発病粒数が穂全体の51%以上

3：調査穂の発病粒数が6粒～穂全体の50%

2：調査穂の発病粒数が2～5粒

1：調査穂の発病粒数が1粒

0：発病なし

穂の発病度 =  $[\Sigma (\text{発病指数} \times \text{該当穂数}) / (4 \times \text{調査穂数})] \times 100$

## 2. 病原菌の分離・同定

2001年5月、網斑病が多発している夜須町の圃場から、褐色斑を呈するオオムギ（品種：アサカゴールド）の子実を採取し、定法によりPDA培地で分離した。分離された糸状菌（FUPT0101菌株）をV8ジュース培地で23℃、BLBランプ照射と暗黒を12時間ずつ繰り返し7日間培養して分生子を形成させた。分生子の形態を観察するとともに、接種試験を行った。接種試験では分生子を40倍の顕微鏡1視野当たり数個の濃度に調整し、25℃のガラス室で栽培した鉢植えの出穂直後のオオムギ（品種：アサカゴールド）に噴霧接種した。また、同様な接種試験を1999年に福岡県内の網斑病感染葉から分離した菌株（FUPT9901）で行った。接種後のオオムギは25℃、24時間ビニール被覆した後、25℃のガラス室に移し、発病を調査した。

## 3. 子実の網斑病感染簡易検定法

網斑病多発圃場から収穫した子実から褐変した子実

（褐変粒）のみを選び、1区当たり60粒を試験に供試した。0.5%素寒天培地を流し込んだ9cmのペトリ皿一枚につき、湿润状態に保つため水道水で洗浄した子実を20粒埋め込むように並べ、ふたを取りはずし、ラップで覆った。過湿による結露を防ぐため、ラップに針で穴を開け、BLB照射と暗黒を12時間ずつ繰り返して培養した。培養温度は30, 25, 20, 15, 10℃の5段階に設定し、最長1週間培養した。10～60倍の実体顕微鏡で随時子実表面の胞子形成の有無を子実発芽により観察ができなくなるまで調査を行った。さらに簡便な方法を確立するため、水道水で洗浄した後に供試した区と子実を乾燥状態のまま供試した区を設定し、同様な試験方法で比較した。

## 4. 褐変の有無と子実の感染

現地圃場Aから収穫した子実300粒について褐変の有無を調査し、褐変粒と外觀健全粒に分け、温度23℃、培養日数3日間、水洗なしの条件で網斑病感染簡易検定法を用いてそれぞれの感染粒数を調査した。

## 結果

### 1. 発病調査

オオムギ網斑病の発病調査結果を第1表に示した。現地圃場Aは葉色が濃く、他の圃場より生育が旺盛であった。出穂期頃の現地圃場では、ほぼすべての下葉に発病が認められ、上位2葉にも発病が認められた。場内圃場では下葉に発病が認められるものの、上位2葉では発病がほとんど認められなかった。現地圃場では5月中旬には止葉まで枯れあがり、ほとんどの穂に外穎が褐変した子実が認められた。場内圃場では止葉まで発病が進展するものの、前述のような褐変粒が認められることはなく、褐変粒は網斑病多発圃場のみで認められた。

5月中旬頃、穂に見られた病徵は次の通りであった。すなわち、子実の芒の基部から外穎にかけて不定形の褐色斑を呈し、芒にも褐点がみられた（第1図）。収穫子実ではこの褐色斑と穂軸側が褐変するものがみられ、全体が褐変するものもみられた（第2図）。

第1表 オオムギ網斑病発病調査結果

発病株率 4/13-16	葉の発病度		発病穂率 5/10-11	穂の発病度 5/15
	4/13	5/10-11		
現地圃場 A	100.0	13.0	95.0	98.3
現地圃場 B	100.0	4.5	95.3	95.3
場内圃場	56.9	- <sup>a)</sup>	16.4	0

a) -は未調査。

### 2. 病原菌の分離・同定

褐変粒の褐色部位からは糸状菌が分離され、この分離

菌株(FUPT0101)から形成させた分生子は両端が丸い円筒状で隔膜が数個の*Pyrenophora*属菌特有の形態を有した。また、この分生子を接種したオムギ葉には網斑病の典型的な症状である網目状の褐色斑が生じたため、FUPT0101菌株を網斑病菌と同定した。

FUPT0101菌株の分生子を穂に接種したところ、接種3日後から外穎に褐色斑が確認された。その後、褐色斑が広がり、穂の病徵が再現された(第3図)。一方、葉身病斑から分離された網斑病菌保存菌株FUPT9901の分生子を接種した穂にも、FUPT0101菌株を接種した穂と同様の褐色斑が形成された(第3図)。



第3図 オムギ網斑病菌の接種による穂の病徵  
a) FUPT0101の分生胞子を接種後、11日後の病徵  
b) FUPT9901の分生胞子を接種後、11日後の病徵

接種試験で生じた褐変粒の褐色部をV8ジュース培地上でBLB照射と暗黒を12時間ずつ繰り返し23℃で静置したところ、褐色斑上や培地上に*Pyrenophora*属菌特有の形態を有した分生子が形成され、網斑病菌により褐変粒が生じることが確認された。

### 3. 子実の網斑病感染簡易検定法

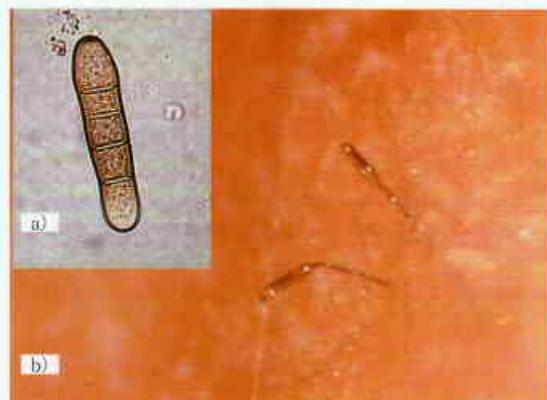
温度条件について調査した結果を第2表に示した。分

第2表 各温度における褐変子実の分生子形成率

培養温度	分生子形成子実粒率(%)			
	培養2日目	培養3日目	培養4日目	培養7日目
30℃	66.7 <sup>a)</sup>	61.7	— <sup>b)</sup>	—
25℃	98.3	98.3	—	—
20℃	76.7	98.3	98.3	—
15℃	75.0	95.0	95.0	95.0
10℃	—	95.0	98.3	98.3

a) 数値は、調査子実60粒中の分生子が形成された子実の割合を示す。

b) 未調査



第4図 オムギ網斑病菌の分生胞子

- a) *Pyrenophora teres* の分生胞子
- b) 子実表面に形成された分生胞子と分生胞子柄

生子柄の先端に*Pyrenophora*属に特有な隔膜を有する円筒形の分生子を形成したものを網斑病菌に感染した子実と判定した(第4図)。培養温度が高いほど子実の発芽が早くなり、伸長した子実の芽や根により調査が困難になるため、温度によって観察できる日数が限定された。30℃及び25℃では培養3日目、20℃では培養4日目、15℃では培養7日目には調査が困難になるほど芽と根が生育した。一部には*Alternaria*属の分生子を形成した子実も確認された。30℃では分生子の形成が認められるものの、隔膜の少ない小型の分生子が多く、子実当たりの分生子数も少ない傾向にあった。25℃では2日後、20～10℃では3日後にはほとんどの子実で分生子が形成された。培養日数が長いほど分生子が大きく、また形成数も多くなる傾向があり、感染の有無の調査が容易になった。

調査子実を水洗処理した場合は、無処理に比べ胞子形成子実率はほとんど変わらなかったものの、形成された分生子数は多い傾向にあった(第3表)。無処理では分生子が乾燥して観察しにくくなることがあったが、水洗処理した場合はなかった。

第3表 子実の処理が分生子形成に及ぼす影響

培養温度	子実の処理	分生子形成子実粒率(%)
25℃	水洗処理	100.0 <sup>a)</sup>
	無処理	91.7
20℃	水洗処理	96.7
	無処理	91.7

a) 数値は、調査子実60粒中の分生子が形成された子実の割合を示す。

#### 4. 褐変の有無と子実の感染

多発圃場からの収穫子実について、褐変の有無と子実感染の関係を調査した結果を第4表に示した。現地圃場Aの収穫子実の褐変粒率は28.3%であり、褐変粒の96.5%から網斑病菌が検出され、外観健全とみられた子実の56.7%からも検出された。調査子実全体の菌検出粒率は68.4%であった。

第4表 オオムギ網斑病菌による子実の感染と褐変粒

	褐変粒	外観健全粒	計
外観調査(粒数)	85	215	300
(粒率(%))	(28.3)	(71.3)	(100.0)
菌検出粒数 <sup>a)</sup>	82	122	204
(粒率(%))	(96.5)	(56.7)	(68.4)

a) 外観調査で選別した子実ごとに調査した。

第5表 オオムギ網斑病菌による種子伝染と褐変粒

	褐変粒	外観健全粒	計
外観調査(粒数)	80	220	300
(粒率(%))	(26.7)	(73.3)	(100.0)
出芽粒数 <sup>b)</sup>	60	204	264
(粒率(%))	(75.0)	(92.7)	(88.0)
発病株数 <sup>b)</sup>	35	56	91
(株率(%))	(58.3)	(27.5)	(34.5)

a) 外観調査で選別した子実ごとに調査した。

b) 外観調査で選別した子実から出芽したものについて調査した。

#### 考 察

オオムギ網斑病は西門(1925)により *Pyrenophora teres* による病害として報告される以前から日本国内でその存在が確認されていたが(吉野, 1905), 斑葉病や斑点病と混同されていた(西門・三宅, 1928)。網斑病により子実が黒ずみ、着色することが海外では古くから知られているが、その病徵からは他の病原菌による感染と区別がつかない(Shipton et al., 1973)。そのため、斑点病菌によるものとして誤認されていたと考えられる。さらに、網斑病による褐変粒は多発時に発生すると考えられることから、近年の多発事例が報告されるまでは、見過ごされていたと考えられる。本研究により、褐変粒の発生が本病菌に起因することが明らかとなった。褐変粒は調査圃場周辺の網斑病多発圃場でも頻繁に認められ、1999年に福岡県の網斑病多発圃場から収穫し、保存していたオオムギ種子(品種:アサカゴールド)からも確認された(菊原, 未発表)。西南暖地における本病の漸

増傾向とあわせ、子実の褐変による被害の拡大が懸念される。

感染子実上に分生子を形成させるには、長期間培養する方が、大型の分生子が多く形成される傾向にあったが、培養期間が長くなると、子実が発芽して調査が困難になった。そのため、本病原菌の子実への感染を検定する方法としては、20°C前後で3~4日間培養するのが適当と考えられた。培地上での分生子形成適温は21°Cであり、25°Cでは胞子形成が悪くなり、15°Cでは形成量が少ないとされる(Onesirosan and Banttari, 1969)が、今回のように子実の罹病組織上に胞子を形成させる場合には、培地上よりも分生子の形成温度に幅があるものと考えられる。培養中に子実表面が乾燥すると胞子形成が悪くなり、形成された胞子も調査が困難になったことから、子実を湿潤状態に保つため、0.5%素寒天培地に子実の半分程度まで埋め込むことが有効であった。さらに、このことにより子実が発芽後も固定され、観察が容易となった。また、培地に静置する前の水洗処理も子実を湿潤状態に保ち、胞子形成を促す効果があった。

子実の網斑病感染簡易検定法により外観健全粒の約6割から本菌を検出したことから、本法は無病徵感染した子実からの菌の検出も可能であった。本試験で収穫した子実を播種すると、外見健全粒の約3割が発病した(菊原, 未発表)。外見健全粒の菌検出粒率が発病株率より上回ることから、本法は健全種子を確保するための感染種子検定法として利用できると考えられる。既にイネいもち病では感染粉を調査する方法としてプロッターテスト法が開発されており、イネいもち病の発生予察のために使用されていることから、本法も網斑病の発生予察調査に利用できる可能性がある。

#### 摘 要

2001年5月、福岡県夜須町の網斑病多発圃場においてオオムギの穂の芒基部から外穎にかけて褐色斑を呈する症状(褐変粒)が多数見られた。褐変粒からは高率に *Pyrenophora* 属菌が分離され、分離菌株の分生子を葉に接種したところ、典型的な網斑病の病徵が確認されたことから、*Pyrenophora teres* と同定した。この分離菌株や葉身病斑から分離された網斑病菌株の分生子を出穂直後のオオムギ(品種:アサカゴールド)に噴霧接種したところ、穂に病徵が再現されるとともに *Pyrenophora* 属菌が再分離されたため、穂の病徵は *Pyrenophora teres* によるものと考えられた。さらに、供試して同様な接種試験を行ったところ、穂に同様な病徵が確認された。子実の感染の有無を簡易に判別する方法を確立した。すな

わち、0.5%素寒天培地上に子実を半分程度埋め込み、20℃前後、BLB照射と暗黒を12hr繰り返し3～4日程度培養し、子実上の網斑病の分生子の有無を実体顕微鏡観察により判定する方法である。本法により、現地圃場の収穫子実を調査したところ、褐変粒の96.5%から感染が確認され、外觀健全粒の56.7%から感染が確認された。本法は無病徵感染も判定することができ、種子の網斑病菌感染の有無を検定する方法として利用できる。

### 引用文献

- 長谷川優・山田剛・吉田浩之（1992）鳥取県におけるオオムギ網斑病の発生と薬剤防除。日本植物病理学会報 59：76-77（講要）。
- Ito, S. and K. Kurabayashi (1931) The ascigerous forms of some graminicolous species of *Helminthosporium* in Japan. Jour. Facul. Agr., Hokkaido Imp. Univ., Sapporo 19: 85-125.
- Jordan, V. W. L. (1981) Aetiology of barley net blotch caused by *Pyrenophora teres* and some effects on yield. Plant Pathology 30: 77-87.

西門義一（1925）禾穀類の「ヘルミントスコリウム」病に就きて。農学研究 7: 163-193。

西門義一・三宅忠一（1928）大麦の網斑病に就きて。農業及び園芸 3: 1003-1016。

Onesirosan, P. T. and E. E. Bantari (1969) The effect of light and temperature upon sporulation of *Helminthosporium teres* in culture. Phytopathology 59: 906-909.

Piening, L. and M. L. Kaufmann (1969) Comparison of the effects of net blotch and leaf removal on yield in barley. Can. J. Plant Sci. 49: 731-735.

佐藤和広・吉良賢二（1989）オオムギにおける網斑病抵抗性の品種変異と遺伝（予報）。育雑 39（別2）: 298-299。

Shipton, W. A., T. N. Khan and W. J. R. Boyd (1973) Net blotch barley. Review of Plant Pathology 52: 269-290.

吉野毅一（1905）肥後國產菌類。植物学雑誌 19: 190-222.

（2002年4月30日受領；8月3日受理）