

Studies on the Pathotypes of Japanese Isolates of Wheat Yellow Mosaic Virus and Their Distribution in Japan

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2019-03-22 キーワード (Ja): キーワード (En): Wheat yellow mosaic disease, Resistance, WYMV, Virus strains with different pathogenicity, Differential cultivar 作成者: 大藤, 泰雄 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24514/00001193

日本におけるコムギ縞萎縮ウイルスの病原性の分化と判別条件

大 藤 泰 雄^{*1)}

抄 録：コムギ縞萎縮病は、土壌生息性の原生動物 *Polymyxa graminis* により媒介される土壌伝染性のウイルス病害である。国内の主要なコムギ産地に発生し被害を及ぼしてきた。1990年代には突発的な大発生が各地で認められ、抵抗性品種の罹病化も問題となり、解決が求められた。本病の防除の主体は、耕種的防除技術と抵抗性品種の利用に限られる。しかし、抵抗性品種の育成と利用に必須な情報であるコムギ縞萎縮病ウイルス (WYMV) の病原型とその分布、各病原型に対する抵抗性遺伝資源は示されていなかった。本研究は、コムギ縞萎縮病に対する抵抗性品種の育成と利用に資するために、① WYMV における病原性分化の確認、② 抵抗性の接種検定に適した温度条件の設定、③ 判別品種の設定と病原型の類別、④ 各病原型の日本国内の発生状況の解明、の4点について研究を行った。その結果、WYMV-T 株と WYMV-M 株の二つのウイルス株の病原性が異なることを同一条件下での比較により示すことで、WYMV における病原性の分化を証明した。次いで、いくつかの品種では温度により抵抗性の程度が異なり、抵抗性の評価には、5℃が適することを明らかにした。この温度条件下で、WYMV-T 株と WYMV-M 株を区別できる品種「ナンプコムギ」、「フクホコムギ」と「北海 240 号」を判別品種として設定し、これら判別品種に対する病原性の違いにより国内主要産地から採取した WYMV 株を、「ナンプコムギ」、「フクホコムギ」をおかし「北海 240 号」をおかさないⅠ型と、「ナンプコムギ」のみをおかすⅡ型、および、すべての判別品種をおかすⅢ型の三つに類別した。さらに、宮城県以南ではⅠ型が優占し、岩手県以北はⅡ型が優占することを明らかにした。宮城県以南では、かつて栽培された品種がⅡ型に抵抗性であったため、この地域ではⅠ型が優占するに至ったことが示唆された。

キーワード：コムギ縞萎縮病、抵抗性、WYMV、病原型、判別品種

Studies on the Pathotypes of Japanese Isolates of *Wheat Yellow Mosaic Virus* and Their Distribution in Japan : Yasuo OHTO^{*1)}

Abstract : Wheat yellow mosaic is a soil-borne virus disease caused by *Wheat yellow mosaic virus* that is transmitted by a soil inhabitant *Polymyxa graminis*. Outbreaks of this disease occurred in 1990's in some wheat production area. The breakdown of resistance also occurred and the disease has become an obstacle to increased wheat production in Japan. The countermeasure to this disease restricted to the changes in cultural practices by themselves and the use of resistant cultivars. However, the information about the distribution of WYMV strains with different pathogenicity and the relationship between WYMV strains and resistance of wheat cultivars to the virus had been unclear. These information are essential for the breeding program of resistant cultivars.

This study was conducted to contribute to the development of resistant cultivars to control wheat yellow mosaic disease. For this purpose, the existence of WYMV strains with different pathogenicity to wheat cultivars was confirmed in two WYMV isolates (WYMV-T and WYMV-M). Then, it was demonstrated that the resistant reactions of some wheat cultivars to these WYMV isolates varied under different temperature conditions, and high inoculation efficiency was constantly provided when wheat plants were grown at 5°C after inoculated with WYMV. Under this temperature condition, three cultivars, 'Nanbukomugi', 'Fukuhokomugi' and 'Hokkai 240', were selected as the differential cultivars based on the reaction of these wheat cultivars against two Japanese virus isolates of WYMV (WYMV-M and WYMV-T, respectively). 'Nanbukomugi' is susceptible to both WYMV-M and WYMV-T. 'Fukuhokomugi' is susceptible to WYMV-T and resistant to WYMV-M. 'Hokkai 240' is resistant to both isolates. WYMV isolated from wheat-cultivated fields in Japan, and the virus-infested experimental fields for wheat breeding programs were grouped into three pathotypes based on the

^{*1)} 東北農業研究センター (National Agricultural Research Center for Tohoku Region, Morioka, Iwate 020-0198, Japan) 2005 年 12 月 28 日受付, 2006 年 2 月 9 日受理

infectivity on the differential cultivars: type I, represented by WYMV-T and mainly distributed in west and central part of Japan, infects 'Fukuhokomugi' and 'Nanbukomugi'; type II, represented by WYMV-M and mainly distributed in northern part of Japan, infects 'Nanbukomugi'; and type III, distributed in a field of west part of Japan, infects all three differential cultivars. It was suggested that because all wheat cultivars which had been cropped in south of Miyagi prefecture in the past showed resistance to type II, type I or III are dominant in this area.

Key Words: Wheat yellow mosaic disease, Resistance, WYMV, Virus strains with different pathogenicity, Differential cultivar

目 次

I 緒 言	74	IV 日本国内の WYMV の病原型の発生実態	87
II WYMV の病原性分化の確認と検定条件の 確立	75	V 総合考察	89
III WYMV の病原性を類別する判別品種の検索	80	VI 摘 要	92
		引用文献	93
		Summary	95

緒 言

コムギ縞萎縮病は秋播きコムギに発生する土壤伝染性のウイルス病害である。病原のコムギ縞萎縮ウイルス (*Wheat yellow mosaic virus*, 以下「WYMV」という。) は、土壤中の原生生物 *Polymyxa graminis* Ledingham により媒介される。

コムギ縞萎縮病は、大正年間に我が国で初めて発生が報告された。その後、昭和初期には我が国の麦作振興に伴い全国各地で本病の発生が報告された。麦作の衰退とともに一時発生が少なくなったが、抵抗性品種の罹病化が進み、水田転換畑での麦作が増加した東北地方や中部地域で大規模に発生が認められるようになり、1990年代にはコムギの一大産地である北海道で発生が確認されるなど、その対策が望まれた。

コムギ縞萎縮病の防除法として古くから抵抗性品種が注目されている (沢田 1927, 和田・深野 1935a, 1935c, 1937, 石川ら 1935, 三宅 1938, 鑄方・河合 1940, 斉藤・岡本 1964, 千葉ら 1987)。これまで抵抗性品種はそれぞれの育種場所において縞萎縮ウイルスに汚染された特性検定圃場の自然発病下で主に外観病徴に基づいて選抜されている。ところで、コムギ縞萎縮病の発病には、地域間差や品種間差が認められることが古くから知られており、この原因として WYMV の病原性の分化が指摘され

ている (和田・深野 1936, 鑄方・河合 1940, 三宅 1938, 斉藤・岡本 1964, Kusume *et al.* 1997)。一方で、斉藤・岡本 (1964) は、同じ伝染源を用いても、試験を実施した年、場所の違いにより同じ品種であっても抵抗性の程度が異なるとし、何らかの環境要因が抵抗性反応に影響を及ぼしていると報告している。このため、圃場での試験ではウイルスの病原性の違いを明瞭に示すことが困難視された。そのために、これまでに WYMV 分離株間の同一環境条件下での病原性の比較と類別は行われてこなかった。

これまで各育成場所の特性検定圃場での自然発病下で行われてきた遺伝資源の評価や抵抗性品種の選抜には、以下の問題点がある。まず、北海道や東北地域といった寒冷地では、耐寒性の低い遺伝資源の評価は出来ないために、利用できる抵抗性遺伝資源の範囲が制限される。次に、各発生地の WYMV 株と検定圃場の株の病原性の比較が出来ないために、検定圃場の結果が常にそれ以外の一般の生産圃場に適用できるという保証が無い。さらに、発病の年次変動により抵抗性の評価が安定しないため、1, 2年間の圃場試験では検定精度が不十分な場合もある。抵抗性品種として期待された品種が生産圃場で罹病性を示した場合、それが特性検定圃場と生産圃場の間の WYMV の病原性の違いによるのか、検定時の環境条件により抵抗性の検討が不十分であった

のが不明なために、生産現場では混乱する。さらに、短期間の圃場試験で外観上発病を見ない普及品種でも、その根で伝染源が生産されて病原ウイルス密度が増加する可能性がある。このために、気象変動や品種の変更に伴い圃場の汚染実態や品種の罹病性が顕在化することも考えられる。こうした背景の下、それぞれの発生地での抵抗性品種としての有効性を十分に検証できないまま品種が導入されたために、導入直後から縞萎縮病が広範囲に発生するなどの問題が起きている。その対策として、あらかじめ個々の汚染圃場で長期間栽培して、ある抵抗性品種がある地域で有効か否かを予測してから品種として実際に普及に移すことも考えられるが、このような試験は非現実的である。

以上の問題点を踏まえると、栽培地の WYMV の病原性に応じた抵抗性を品種に導入するためには、まず、コムギ品種・系統の抵抗性評価において、品種反応に影響を及ぼす環境要因を明らかにし、安定した評価が得られる検定条件を設定した上で、標準となる方法を確立する必要がある。つぎに、この評価法を用いて、WYMV の病原性を判別品種により病原型として類別し、各発生圃場の WYMV の病原型を明らかにする。さらに、それぞれの病原型に抵抗性を示す判別品種と同じ抵抗性遺伝子あるいは同じ遺伝資源由来の抵抗性を導入した品種を育成する。この手順を経て、初めて、発生地の WYMV の病原性に対応した抵抗性品種の導入が可能になる。

著者らは、以上の抵抗性品種育成への手順をふまえて、①これまで明確に示されなかった WYMV における病原性の分化を確認する、②抵抗性反応に及ぼす環境条件の中で温度条件に注目し、その影響を解明して抵抗性の接種検定に適した温度条件を確定する、③接種検定により判別品種を設定して病原型の類別を行う、④各病原型の日本国内の分布状況を明らかにする、という 4 点について研究を行った。

本報告をとりまとめるにあたり、北海道大学大学院農学研究科内藤繁男教授には終始懇篤なるご指導を賜った。北海道大学大学院農学研究科上田一郎教授、幸田泰則教授、近藤則夫助教授には、論文の御校閲を賜った。元北海道農業研究センター柏崎哲博士（故人）には、WYMV の標準株、抗血清の分譲、数々の御助言等を賜った。（独）農業・生物系特定産業技術研究機構九州沖縄農業研究センター麦類育種研究室八田浩一氏には、コムギ種子の分譲、御助

言を賜った。元農林水産省農業研究センター小麦育種研究室長山口勲氏には、コムギ種子を分譲いただいた。北海道立中央農業試験場竹内徹氏、長浜恵氏には、コムギ種子の分譲、WYMV 株の収集で数々の便宜を図っていただいた。岩手県、宮城県、群馬県、滋賀県の各病害虫防除所、並びに茨城県農業総合センター渡邊健氏、三重県科学技術振興センター黒田克利氏、（独）農業・生物系特定産業技術研究機構九州沖縄農業研究センター上田重文氏には、WYMV 株の収集に当たり特段のご協力をいただいた。元東北農業研究センター地域基盤研究部病害管理研究室長石黒潔氏には、懇篤なご指導を賜った。ここに記して、各位に謝意を表する。なお、本報告は、北海道大学審査学位論文の一部を改変したものである。

WYMV の病原性分化の確認と検定条件の確立

1. WYMV の病原性分化の確認

小田・柏崎（1989）は、茨城県つくば市の作物研究所（旧：農業研究センター）圃場において、コムギ品種の WYMV 抵抗性の系譜調査を行い、「ナンブコムギ」で WYMV が検出されなかったと報告している。しかし「ナンブコムギ」は岩手県盛岡市の東北農業研究センター圃場を始め岩手県内で縞萎縮病に罹病性であることが確認されている。こうしたことから、岩手県と茨城県での WYMV の病原性の違いが示唆された。そこで、茨城県石岡市で宇杉・斉藤（1976）が分離した日本の標準株である WYMV-T 株（以下、「T 株」という。）と東北農業研究センター圃場（岩手県盛岡市）から分離した WYMV-M 株（以下、「M 株」という。）との間で、病原性に違いがあるかを接種試験により確認した。

1) 材料および方法

コムギの品種は、小田・柏崎（1989）により、作物研究所の特性検定圃場で抵抗性と報告された「Velvet」、「農林 10 号」、「ナンブコムギ」、「早熟赤毛」、および、罹病性とされた「フクホコムギ」を用いた。病原性の比較に用いたウイルス株は、東北農業研究センターで保存している M 株と旧農業研究センター（現中央農業総合研究センター）で継代接種により保存されていた T 株である。M 株と T 株はそれぞれ「ナンブコムギ」と「小麦農林 61 号」（以下「農林 61 号」という。）で増殖し、接種源と

した。T株またはM株に感染した罹病葉の生重1gに少量のカーボランダムと0.1Mリン酸緩衝液(pH7.0)10mlを加えて乳鉢と乳棒ですりつぶして得られた汁液を接種源とした。供試品種の種子を直径9cmのプラスチックポットに詰めた園芸用培土(クレハ園芸培土)に播き、20℃で3葉期まで育てた。この幼植物に、カーボランダムと共に接種源を指で擦りつけることで、WYMVを接種した。その後、幼植物は、直ちに散水して付着した接種源を洗い流し、接種による傷を回復させるため、遮風して7℃で7~10日間暗所に置いた。その後、接種した植物は、人工気象器(トミー精工製CU-350A)内で、栽培温度5℃、12時間日長(有効光合成放射量 $190\mu\text{mol}\cdot\text{photon}/\text{m}^2/\text{sec.}$)で育てた。栽培温度を5℃としたのは、東北農業研究センター圃場において「ナンブコムギ」でコムギ萎縮病の病勢進展が最も盛んな期間の日平均気温がおおよそ5℃であるという観察に基づく。M株、T株を接種したコムギは、それぞれ、92日後および87日後に地上部を採取し、ウイルス増殖の有無を調べた。接種個体数は3個体/鉢とし、1品種につき5鉢計15個体に接種した。接種時は、すべての供試品種1鉢ずつを含む組を1ブロックとし、各ブロックの中で接種する品種の順番を無作為化した。WYMVの検出は、DAS-ELISA(Clerk and Adams 1977)によりおこなった。採取した葉は生重の20倍量のTPBS(PBS(リン酸緩衝生理食塩水:NaCl 8.0g, KCl 0.2g, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 2.9g, KH_2PO_4 0.2gを蒸留水1ℓに溶かしたもの(pH7.4))にTween20を0.05%(v/v)となるよう加えたもの)を加えて乳鉢ですりつぶした。得られた磨砕液を1.5ml容のマイクロテストチューブに移し、次の作業工程までは氷上におくか、一旦-40℃で凍結保存した。この磨砕液を小型卓上遠心器(日立製, HIMA SCT15B)により8000rpmで2分間遠心分離して得られた上清をELISAの被検液として使用した。96穴のアッセイプレート(FALCON社製)の所定のウエルに800倍に希釈したWYMV抗体液(γ -グロブリン濃度 約 $1.25\mu\text{g}/\text{ml}$)を0.2mlずつ分注して37℃湿室に2時間静置後、TPBSで6回洗浄した。以下プレートの洗浄はすべて6回ずつおこなった。その後、各ウエルに被検液を0.2mlずつ分注し、4℃湿室に静置した。18時間後にプレートを洗浄し、アルカリフォスファターゼで標識した

WYMV抗体液を800倍に希釈したものを各ウエルに0.2mlずつ分注し37℃湿室に静置した。3.5時間後、プレートを洗浄し、基質液(p-ニトロフェニルリン酸二ナトリウムをジエタノールアミン溶液(10%(w/v))に1mg/mlとなるように溶かしたもの)を0.3mlずつ各ウエルに分注し約20℃で1時間反応させた。反応は、405nmの波長での吸光値をプレートリーダー(BIORAD社製, Model 3550)で測定した。緩衝液のみの区の吸光値を各試料の吸光値から引いたものを A_{405} とした。さらに、各試料区の A_{405} からプレート毎の無接種植物汁液による対照区の A_{405} の平均値を引いた値をELISA値とし、この値が0.1以上のものを陽性とした。以降、ELISAにおける判定基準は、特に記述しない限りここに記したとおりとした。使用した抗血清は、旧農業研究センター(現中央農業総合研究センター)より分譲されたものである。酵素標識抗体は、同血清より精製した γ -グロブリンにアルカリフォスファターゼをグルタルアルデヒドにより結合させて作成した。

2) 結 果

小田・柏崎(1989)がウイルスの増殖を認めず抵抗性とした「Velvet」,「農林10号」,「早熟赤毛」,「ナンブコムギ」は、5回の試験のいずれかの試験においてWYMVへの感染と発病が確認され、すべてT株に対して罹病性であった(表1)。T株に対する陽性個体の頻度は、「フクホコムギ」で最も高かった。「Velvet」,「農林10号」,「ナンブコムギ」はM株にも罹病性であり、WYMV陽性個体の頻度は「ナンブコムギ」で最も高かった。「早熟赤毛」,「フクホコムギ」では全ての試験においてM株への感染が認められず、M株に対して抵抗性であった。

3) 考 察

本試験の結果から、WYMVの病原性の分化が明示された。すなわち、①M株とT株でいくつかの品種に対して明らかに病原性が異なること、②その違いは「フクホコムギ」,「早熟赤毛」で顕著であり、この2品種はM株に対してウイルスの増殖を認めない強度の抵抗性をもつこと、が明らかとなった。

2. コムギ品種のWYMVに対する抵抗性反応に及ぼす気温の影響

前節で、東北農業研究センター圃場から分離したM株と標準株であるT株とで病原性が異なること、両株は「ナンブコムギ」をおかすことが明らかと

表1 コムギ縞萎縮ウイルスの WYMV-M 株と WYMV-T 株に対するコムギ 5 品種の反応の違い

品種名	WYMV-M					WYMV-T				
	反復1	反復2	反復3	反復4	反復5	反復1	反復2	反復3	反復4	反復5
Velvet	1/3 ^{a)}	1/3	2/3	2/3	2/3	1/3	2/3	1/3	2/3	2/3
農林10号	2/3	2/3	0/3	0/3	2/3	1/3	2/3	0/3	0/3	1/2 ^{b)}
早熟赤毛	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	1/3	0/3	0/3	2/3
ナンブコムギ	0/3	2/3	3/3	3/3	3/3	1/3	1/3	2/3	0/3	0/3
フクホコムギ	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	1/3	2/3	2/3	1/3

a) ELISAでWYMV陽性の個体数/供試個体数

b) 不発芽のため1個体欠株

WYMV-M株とWYMV-T株は、それぞれ、岩手県盛岡市東北農業研究センター圃場と茨城県石岡市で分離された。

なった。一方, Kusume *et al.* (1997) は, 接種した植物を 15℃で栽培し, T 株が「フクホコムギ」はおかすが「ナンブコムギ」はおかさない, という著者と異なる結果を得ている。WYMV の接種試験と温度条件について, 斉藤ら (1964) は, 気温 10℃以上のときは WYMV の接種試験が困難であること, また斉藤・岡本 (1964) は「ナンブコムギ」は同じ病土を用いた露地試験でも比較的温暖な姫路市と寒冷地の盛岡市とでは反応が異なること, をそれぞれ指摘している。こうしたことから, 「ナンブコムギ」の T 株に対する反応は温度条件により異なるために, 接種後の温度管理や圃場試験実施場所により抵抗性の評価が変わることが考えられた。このことを明らかにする目的で, 5℃と 10℃の両温度条件下で, T 株に対する「ナンブコムギ」と「フクホコムギ」の反応を比較し, ①「ナンブコムギ」は, 温度の影響により T 株に対する抵抗性反応が変わる可能性があるか, ②「ナンブコムギ」と「フクホコムギ」との間に T 株に対する抵抗性反応への温度の影響の違いはあるのか, の 2 点について検証した。

1) 材料および方法

コムギ品種は「ナンブコムギ」, 「フクホコムギ」を用いた。T 株は, Kusume *et al.* (1997) が用いたものと同じの株を譲り受け, 「農林 61 号」に汁液接種して継代したものを接種源として用いた。被検植物の準備, 接種, ELISA の手順は前節と同じである。「ナンブコムギ」40 鉢合計 200 個体に T 株を接種した。同時に本ウイルス株の陽性対照区として, 「フクホコムギ」10 鉢 50 個体に接種した。接種後, 両品種を 2 つの集団に分けて, それぞれを, 5℃と 10℃の人工気象器 (トミー精工製 CU-350A) に移し, 12 時間日長 (有効光合成放射量 190 μ

mol.photon/m²/sec.) で育てた。7 日おきに肉眼観察により発病を調査した。接種約 2 か月後に発病個体の頻度が安定した時点で地上部を採取し, ELISA により感染の有無を確認した。「ナンブコムギ」では, 接種後, およそ 10 日おきに発病状況を調査し, 接種 72 日後と 128 日後に各温度処理区ごとに 10 鉢ずつ地上部を収穫し, ELISA によって WYMV 感染頻度を調べた。このとき, 同時接種した「フクホコムギ」も同様に調査した。これとは別に「フクホコムギ」の T 株に対する反応に温度が及ぼす影響を調べる試験では, 4 個体/鉢播種し, 40 鉢に接種した。「ナンブコムギ」と同じ人工気象下で接種 30 日後より 7 日おきに発病状況を調査し, 接種 30, 44, 58, 72 日後に 5 鉢ずつ採取し, ELISA によりウイルス検出頻度の変化を調べた。発病は, 病徴観察により, 発病個体の頻度と指数 (DI) で評価した。発病指数は以下の通りである。0: 無病徴, 1: 最上位の 1 葉にのみ軽いモザイクが認められる, 2: 複数の上位葉にモザイク症状が認められる, 3: 株全体にモザイク症状と萎縮症状が認められる, 4: 株全体に激しい萎縮症状が認められ, 新葉の壊死が認められる。

2) 結 果

陽性対照品種として用いた「フクホコムギ」では 5℃栽培区で 25 個体中 19 個体, 10℃栽培区でも 25 個体中 10 個体で発病し, 無病徴感染個体 2 個体を含む 12 個体から WYMV が検出された (表 2)。ただし, 10℃では生育が進み, 人工気象器内での生育が困難になったため接種 71 日後で発病調査を終了した。「ナンブコムギ」では, 5℃栽培区と 10℃栽培区で接種 72 日後に採取した試料で, それぞれ 50 個体中 26 個体, 50 個体中 1 個体から WYMV が検出された (表 2)。接種 128 日後では,

表2 WYMV-T株汁液接種後の栽培温度が品種「ナンプコムギ」の葉でのWYMVの増殖に及ぼす影響

栽培温度	品種名	接種後日数	
		72日	128日
5℃	ナンプコムギ	26/50 ^{a)}	32/50
	フクホコムギ (陽性対照)	NT ^{b)}	19/25
10℃	ナンプコムギ	1/50	7/50
	フクホコムギ (陽性対照)	12/25	NT ^{c)}

a) ELISAでWYMV陽性の個体数/供試個体数

b) 調査なし

c) フクホコムギ10℃区は、72日目まで調査終了した。

5℃栽培区と10℃栽培区では、それぞれ50個体中32個体と50個体中7個体であった。「ナンプコムギ」で、128日後にELISAに供試した50個体について、発病個体数とその発病指数 (DI) の構成の推移をみると、5℃では、接種51日目以降に発病

が認められ、128日後には感染が認められたすべての個体で発病し、DIも3～4の重症個体の割合が高かった (図1)。これに対して、10℃では、接種30日後に1個体で発病が確認され、127日後まででは、通算3個体で発病したにすぎない。このとき発病株のDIは、2個体で1、別の1個体で3であった。「ナンプコムギ」、「フクホコムギ」両品種間で接種72日後および128日後にELISAに供試した個体の発病個体頻度および発病指数の推移を比較すると、いずれの温度でも「フクホコムギ」の発病個体頻度とDIは「ナンプコムギ」を上回り、その差は5℃区より10℃区で大きかった (図1)。また、「フクホコムギ」では、5℃と10℃で発病個体数が接種72日後と41日後に、それぞれ最大に達し、病勢進展は「ナンプコムギ」より速かった。

「フクホコムギ」にT株を汁液接種したときのウイルス検出頻度の推移および発病指数の推移を5℃と10℃で比較すると、ウイルス検出頻度は

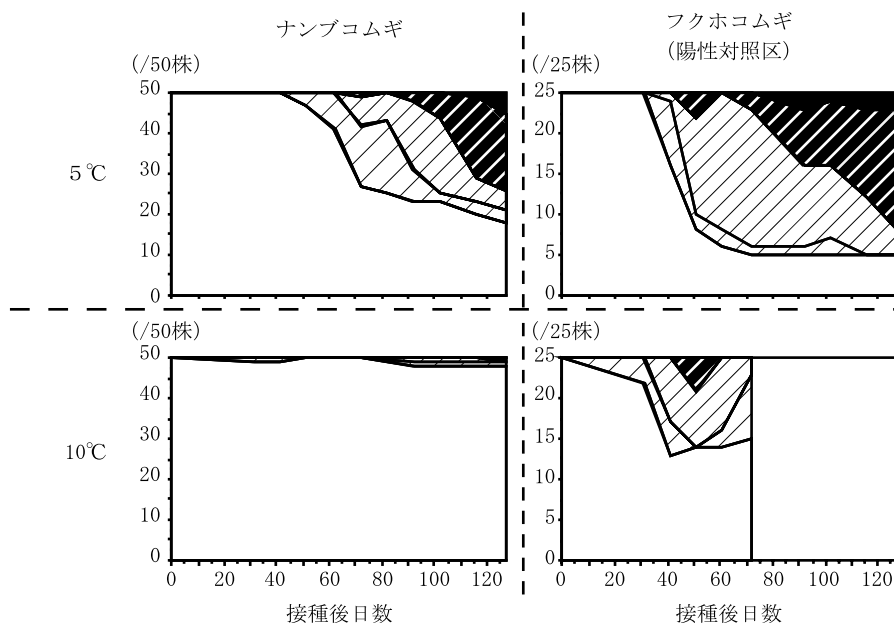


図1 WYMV-T株を接種後5℃と10℃で育てた「ナンプコムギ」における発病指数別個体数の経時的変化の比較

T株罹病性の陽性対照品種としてフクホコムギを用いた。

発病指数 (DI)

- 4: 全身の激しいモザイク症状と一部上位葉のえ死を呈する
- ▨ 3: 全身モザイク症状と萎縮症状を呈する
- ▧ 2: 上位葉に明瞭なモザイク症状を呈する
- ▩ 1: 上位1ないし2葉に微かなモザイク症状
- 0: 無病徴

表3 WYMV-T 株汁液接種後の栽培温度が品種「フクホコムギ」の葉での WYMV 増殖に及ぼす影響

栽培温度	接種後日数			
	30日	44日	58日	72日
5℃	a) 1/20	9/20	13/19	13/19
10℃	9/20	8/19	10/20	11/19

a) ELISA陽性個体数/供試個体数

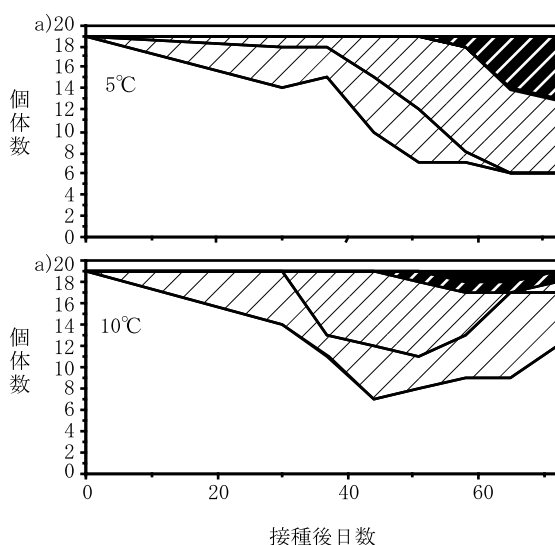


図2 WYMV-T 株を接種後 5℃ と 10℃ で育てた「フクホコムギ」の発病指数別発病個体数の経時変化

a) 5℃区, 10℃区各19個体供試した。

発病指数 (DI)

- 4: 全身の激しいモザイク症状と一部上位葉のえ死を呈する
- 3: 全身モザイク症状と萎縮症状を呈する
- 2: 上位葉に明瞭なモザイク症状を呈する
- 1: 上位1ないし2葉に微かなモザイク症状
- 0: 無病徴

5℃区より10℃区で早い時期に高まった(表3)。しかし、最終的な検出頻度は5℃区より10℃区でやや低い同等であった。5℃区と10℃区で72日後にELISAに供試した各19個体について、発病指数の推移をみると、10℃では指数が4の重症個体が出現したものの、多くは1, 2に留まり、試験後半のマスクングによる発病個体数の減少も顕著であった(図2)。一方、5℃では発病指数は漸増し発病個体の多くは指数2, 3となった。また、マス

キングも認められなかった。以上をまとめると、T株に対する「ナンブコムギ」の反応は「フクホコムギ」に比較して、①発病株数の増加時期は遅く、②5℃区に比べて10℃区では軽症に留まり、③5℃区と10℃区の両者の間における発病個体頻度および指数の違いが大きい、ことが特徴であった。

3. 「畠田小麦」の反応に及ぼす気温の影響

楠目ら(Kusume *et al.* 1997)は、北海道内で採取したWYMV株を接種後15℃で栽培したときに「畠田小麦」は発病しなかったという彼らを得た結果と、斉藤・岡本(1964)による東北農業試験場(現東北農業研究センター)圃場で「畠田小麦」が発病したという報告から、北海道のWYMV株の病原性が東北農業研究センターのWYMV株と異なる可能性を指摘している。しかし、一方は圃場試験、一方は15℃というやや高い温度での接種試験であることから、それらの結果を直接比較することは難しいと考えられた。そこで、北海道の分離株と東北農業研究センター圃場の分離株が「畠田小麦」の反応により明確に分けられるか否かを確かめるために、北海道伊達市の特性検定圃場から採取したWYMV-Dm株(以下Dm株とする)について、M株との「畠田小麦」に対する病原性を同一の温度条件下で直接比較した。

1) 材料および方法

楠目ら(Kusume *et al.* 1997)の結果との比較のために、接種後被検植物を育てる温度を、楠目らがおこなった15℃と、前節で安定した発病が得られた5℃の2段階設定して発病を比較した。それ以外の試験条件・方法は、前節と同じである。

2) 結果

「畠田小麦」は、5℃では、M株とDm株両方に低い頻度で感染した。一方、15℃では、M株に低頻度で感染したがDm株には感染しなかった(表4)。

3) 考察

本章における試験の結果から、①「ナンブコムギ」、②「フクホコムギ」のT株に対する反応は温度の影響を受け、③温度の影響は「フクホコムギ」より「ナンブコムギ」で大きい、ことが明らかとなった。すなわち、品種により抵抗性反応に及ぼす温度の影響の大きさが異なることが示された。「ナンブコムギ」は、T株に罹病性であるものの、気温が10℃の時は、ほとんど発病せずWYMV検出頻度も低い、いわば抵抗性のような反応を示すことが明らかとな

表4 品種「畠田小麦」の WYMV-M 株と-Dm 株に対する抵抗性反応の異同

接種後の 栽培気温	品種名	WYMV-M株		WYMV-Dm株	
		試験1	試験2	試験1	試験2
5℃	ナンブコムギ	a) 6/7	5/7	7/8	3/4
	畠田小麦	2/14	3/14	4/14	2/14
15℃	ナンブコムギ	1/8	6/6	4/8	6/7
	畠田小麦	0/14	2/14	0/14	0/14

a) ELISAでWYMV陽性個体数/接種個体数
Dm株は北海道伊達市で採取された。

り, Kusume *et al.* (1997) が報告した 15℃では、発病個体の頻度とウイルスの検出個体頻度はさらに低くなることが予想された。「フクホコムギ」の T 株に対する反応も温度による影響を受けていたが、「フクホコムギ」は「ナンブコムギ」より温度の影響を受けにくいことが明らかとなった。また、試験をおこなったいずれの温度でも「ナンブコムギ」は「フクホコムギ」より病勢進展および WYMV 検出頻度の増加が遅かった。以上から、「ナンブコムギ」と「フクホコムギ」の T 株に対する抵抗性反応は気温によって大きく変動すると考えられる。

Kusume *et al.* (1997) が示した、北海道の WYMV 株と東北農業研究センターの WYMV 株とが「畠田小麦」に対する病原性の有無により類別される可能性を Dm 株と M 株で検討した結果から、両 WYMV 株の間の病原性の違いは判然とせず、従って、少なくとも Dm 株と M 株について、「畠田小麦」を判別品種として病原性を区別する合理性はないと判断した。「畠田小麦」の M 株と Dm 株に対する反応においても、温度条件による抵抗性反応の違いが観察された。

以上の「ナンブコムギ」、「フクホコムギ」、「畠田小麦」の試験の結果は、汚染圃場での自然発病下での抵抗性検定において、同じウイルス株に対して、比較的温暖な土地で抵抗性を示したにも関わらず寒冷地では罹病性と評価される品種が存在することを示唆した。また、より低温の 5℃で長期間経過する方が病徴発現と WYMV の増殖が安定していると考えられた。斉藤・岡本 (1964) は、盛岡市の東北農業研究センター内の病土と姫路市の農林省中国農業試験場 (福山市に移転。現在は、近畿中国四国農業研究センター) 内の病土を交換し、それぞれの試験場内に設置したコンクリート枠内の両病土で同一の

品種を用いて発病の比較をおこなったところ、いずれの病土でも、供試品種全般に盛岡での発病が激しく、なかでも「ナンブコムギ」をはじめ数品種では、姫路病土に対して姫路では発病が認められなかったにも関わらず、盛岡では 90%以上の個体で発病が認められたことを報告している。姫路では冬期に日平均気温が 5℃以下で経過する期間がほとんどないのに対して、盛岡では、11 月中旬から 4 月中旬まで日平均気温 5℃以下の低温条件が長期にわたることから、「ナンブコムギ」の温度に対する抵抗性反応の変動が原因で、このような発病程度の地域間差が生じたと考えられ、品種に依存する現象であると考えられた。また、同じ斉藤・岡本 (1964) の報告で供試した品種全般に盛岡で発病が激しいのは、本試験で示されたように感染後に長期間低温で経過することにより病徴が安定して進展したためと考えられた。実用品種には様々な条件で安定して発現される抵抗性が求められることから、「ナンブコムギ」での T 株に対する反応を考えると、温度により罹病性が変化するものを抵抗性品種とした場合、栽培地や年次間の温度条件の違いにより安定した発病軽減効果を期待できず、コムギ生産現場での混乱が予想される。したがって、品種育成や交配母本の評価に当たっては、こうした品種は罹病性として扱う方がよいといえる。

本節の結果から、抵抗性品種の評価法として、汁液接種を行ったのち、①接種 2 か月後を目途に発病個体の頻度が安定するまで 5℃で育生する、②この時点で発病せずウイルスが検出されない品種を抵抗性として評価する、③検定しようとする WYMV 株に罹病性の判別品種にも陽性対照区として同時に接種し、その品種で高率に発病することで試験が成立していることも確認する、という手順を経ることにより、抵抗性が確実に評価できると考えられた。接種後の栽培管理を屋外で行うと、汚染圃場における試験と同様に、抵抗性検定のための期間が限られ、また温度条件が不安定になるので、接種試験はその利点を最大限に活かすうえからも、人工気象条件下で行う必要がある。

WYMV の病原性を類別する判別品種の検索

前章で、WYMV の病原性の分化を確認し、コムギ縮萎病の汁液接種を安定かつ効率的に行うための条件を明らかにした。そこで、本章では、汁液接

種による検定を基本として、①判別品種の選定と WYMV の病原型の決定、②主要検定圃場から採取した WYMV 株の病原型の類別とそれら病原型に対する抵抗性遺伝資源の提示、を試みた。そのために、小田・柏崎（1989）が示した品種群を中心とした品種の中から M 株と T 株に対する抵抗性反応の違いを基に判別品種を選び、その判別品種を用いて日本各地の主要なコムギ縞萎縮病抵抗性検定圃場における WYMV の病原型を類別した。

1. 判別品種の選定

1) 材料および方法

判別品種の選定は、以下の手順でおこなった。まず、判別品種の候補となるコムギ品種・系統（以下、「品種」という。）を東北農業研究センター内のコムギ縞萎縮病汚染圃場に作付けし、それら品種の地上

部での発病とウイルス増殖の有無、さらに、地下部におけるウイルスの増殖の有無に基づいて一次選抜をおこなった。次に、一次選抜された品種の T 株に対する反応を、汁液接種により調べ、病徴の発現とウイルスの増殖の有無が一致したものを二次選抜した。二次選抜した品種に対して、M 株を汁液接種し、圃場での反応と同じかどうかを確かめ、一致したものを判別品種として採択した。この際、判別品種の選定には、栽培の容易さ、採種性、母本としての利用の可能性も考慮した。初めに圃場試験で一次選抜したのは、圃場で候補品種を絞り込むことで、多数の品種から選定するための作業効率を高めることをねらったためである。判別品種の候補となるコムギの品種は、小田・柏崎（1989）の報告と東北農業研究センター圃場における予備調査（表5）に基

表5 東北農業センター特性検定圃場におけるコムギ縞萎縮病に対するコムギ品種・系統の反応

品種名	a) 病 徴	b) ELISA	品種名	病 徴	ELISA
ナンブコムギ	+	+	タクネコムギ	+	+
<i>A. speltooides</i>	—	—	ホロシリコムギ	+	+
ペトクーザ（ライ麦）	—	—	チホクコムギ	+	+
Triticale	—	—	タイセツコムギ	+	+
Avalon	—	—	東北195号	—	—
Bezostayal	+	+	東北196号	—	+
Gains	+	+	東北198号	+	+
西海178号	—	—	東北199号	+	—
西海179号	—	—	東北200号	—	+
東山30号	—	—	東北201号	+	+
東山31号	+	+	東北202号	+	+
北海251号	+	+	東北203号	+	—
北海252号	+	+	東北204号	—	—
北見71号	+	+	中間母本農1さび	+	+
北見72号	+	+	中間母本農2さび	+	+
東北205号	—	—	中間母本農3さび	+	+
東北207号	—	+	中間母本農5さび	—	+
東北206号	—	—	オクコムギ	+	+
東北208号	—	—	シモフサコムギ	+	+
しゅんよう（東山25号）	—	—	ハチマンコムギ	+	+
あきたっこ	—	+	ハナガサコムギ	+	+
ホクシン（北見66号）	+	+	ヒツミコムギ	+	+
江島神力	±	—	フルツマサリ	+	+
埼玉27号	—	+	ミクニコムギ	+	+
資選	+	+	ミヤギノコムギ	—	+
シラネコムギ	+	+	ユキチャボ	—	+
農林10号	—	+	ワカマツコムギ	+	+
キタカミコムギ	—	+			
アオバコムギ	+	+			
コユキコムギ	+	+			

1996年5月28日に調査した。

a) + 病徴あり，— 病徴無し，± 擬わしい

b) ELISAにて，+（陽性），—（陰性）

づき、合計54品種・系統を供試した(表6-1, 2)。これらのうち、(独)農業生物資源研究所のジーンバンク保存種子には、Accession number が示してある。それ以外の品種の種子は、表に示した研究機関より分譲されたもの、または東北農業研究センター地域基盤研究部病害管理研究室保存のものを用了。それぞれの品種は、温室で袋かけ採種により種子を増殖してから用いた。

WYMV 検定の ELISA は、II 章 1 節と同じ方法で行った。ただし、地下部の試料の磨砕用緩衝液には、宇杉ら(1984)の報告に従い、0.05%となるよう Tween20 を添加した 0.1M クエン酸緩衝液 (pH7.0) を用いた。

(1) 圃場試験

圃場での自然感染による一次選抜は、東北農業研

究センター内圃場で行った。この圃場は、湿性腐植質の黒ボク土 (pH 5.0) で、コムギを7年連作し、圃場全体に縞萎縮病発病が認められた。地上部からの WYMV の検出は、1996 年～1997 年 (1996 年 9 月 28 日播種, 1997 年 4 月 8 日調査), および 1997 年～1998 年 (1997 年 9 月 27 日播種, 1998 年 4 月 20 日調査) の 2 か年、地下部からの WYMV の検出については、1998 年～1999 年 (1998 年 9 月 28 日播種, 1999 年 4 月 14 日調査) の 1 か年おこなった。1996 年に播種した試験には 17 品種供試し、1997 年に播種した試験には、前年の試験で WYMV が検出されなかった 13 品種を含む 50 品種を供試した。さらに、1998 年に播種した試験には、前年の試験で発病の有無および地上部からのウイルス検出の有無が明瞭であった品種を中心に 24 品種を選び

表6-1 圃場での自然感染下での判別品種候補一次選抜試験で供試した品種の発病と地上部・地下部における WYMV 検出

品種名	1996年播種 地上部		1997年播種 地上部		1998年播種 地下部		種子の由来 (Accession number) ^{d)}
	発病率	WYMV検出	発病率	WYMV検出	発病率	WYMV検出	
農林16号			35/79 ^{a)}	10/10 ^{b)}	34/39	+ ^{c)}	(00023010)
農林20号	0/23	0/5	0/15	0/10	0/10	—	(00023573)
農林26号			0/54	0/10			(00023283)
農林30号	0/8	0/5	0/22	1/10			(00023232)
農林42号			0/1	0/1			(00023012)
農林43号			0/18	0/10	0/7	—	(00023285)
農林59号			8/75	10/10			(00023287)
農林61号	0/21	0/5	0/54	0/10	0/18	—	東北農業研究センター
農林74号			4/46	2/10			(00023387)
北海240号			0/83	0/10	0/40	—	(00022294)
東北83号	0/34	5/5	6/81	10/10	7/45	+	(00022521)
東北101号	0/43	0/5	1/90	4/10	1/35	+	東北農業研究センター
関東88号	0/22	0/5					(00023084)
関東102号	0/35	0/5	0/22	0/10			(00023204)
関東107号			0/72	0/10	0/41	—	(00023215)
北見18号			17/87	10/10			(00022253)
北見19号			67/73	10/10			(00022254)
北系1693			3/67	2/10			北海道立中央農業試験場
北系1651			4/79	8/10			北海道立中央農業試験場
北見71号			69/72	10/10			北海道立中央農業試験場
北見72号			77/77	10/10	20/22	+	北海道立中央農業試験場
北見73号			54/85	10/10			北海道立中央農業試験場
北関東44号			10/73	10/10	10/46	+	(00022928)
埼玉27号	0/13	0/5	0/11	0/10	0/7	—	(00022967)
埼玉29号			3/80	10/10	3/46	+	(00022968)
赤坊主			12/54	10/10			(00022195)
赤達磨			46/66	9/10			(00022865)
赤皮赤1号			0/84	10/10	1/38	+	(00022342)
アサカゼコムギ	0/27	0/5	0/4	0/4			(00023700)

供試した。

試験は、いずれの年も2反復乱塊法で行った。試験圃場内に75 cm間隔で長さ22mの畦を設置し、1畦おきに試験畦とした。各試験畦の両側の畦および各試験畦両端50 cmには、この圃場で明瞭な罹病性を示す品種「ナンプコムギ」を罹病性対照品種として播種した。試験区は、1反復2 mの長さとした。播種は、8 cm間隔の点播とした。各品種は試験畦内に無作為に配置した。供試1品種につき25粒/反復として1996年には2反復計50粒、1997年には4反復計100粒を播種した。越冬後に全ての個体について発病調査をおこなった。その後、1996年に播種した試験では1品種につき2つの反復から無作為に合計5個体、1997年に播種した試験では1品種につき各反復につき2、3個体ずつ4反復合計10

個体の地上部を採取し、ELISAによりWYMV感染の有無を調べた。越冬個体数が採取予定数に満たない品種は、全ての個体を採取した。1998年に播種した試験では、越冬後の1999年4月14日に全個体の発病調査を行い、前年同様に各品種ごとに10個体を無作為に選び、掘り取った。一品種当たり10個体分の地下部を混合して1試料としてELISAによりWYMV検出の有無を調べた。越冬個体数が10個体に満たない反復は全個体を用いた。以上の圃場試験の結果から、東北農業研究センター圃場で地上部と地下部でのウイルスの増殖の有無および病徴発現の有無が明瞭な品種を一次選抜した。

(2) 人工気象下での接種試験

汁液接種試験により、一次選抜した品種からのT株に対する反応による二次選抜、およびその後

表6-2

品種名	1996年播種 地上部		1997年播種 地上部		1998年播種 地下部		種子の由来 (Accession number) ^{d)}
	発病率	WYMV検出	発病率	WYMV検出	発病率	WYMV検出	
伊賀筑後			0/29	1/10			(00023536)
江島神力			0/40	0/10	0/21	—	(00023526)
キタカミコムギ	0/42	6/6					東北農業研究センター
資選1号			0/4	4/4			(00022471)
シラサギコムギ	0/5	0/5	0/58	0/10	0/39	—	(00023389)
シロガネコムギ			0/61	0/10	0/34	—	(00023708)
白達磨			0/63	10/10			(00022981)
白チャボ			0/63	10/10			(00023276)
新中長	0/21	0/5	17/63	5/10			(00023274)
ゼンコウジコムギ			0/37	0/10	2/18	—	(00023006)
早熟赤毛	0/39	0/5	0/64	0/9	0/41	—	作物研究所
達磨			0/73	10/10			(00022877)
チクシコムギ			14/61	6/10	0/8	—	(00023698)
チホクコムギ			72/90	10/10	33/35	+	東北農業研究センター
ニシカゼコムギ	0/24	0/5					九州沖縄農業研究センター
白火			16/76	7/10			(00023952)
畠田小麦	0/14	0/5	2/35	2/5	0/8	—	九州沖縄農業研究センター
ハルヒカリ			10/54	5/10			(00022244)
広島シプレー			3/89	2/10			(00023368)
ホクシン			77/77	10/10	33/36	+	北海道立中央農業試験場
ホロシリコムギ			8/69	8/10	29/36	+	東北農業研究センター
優勝旗			0/20	8/10			(00023377)
EINKORN	0/13	0/5	0/13	0/10			(00027482)
Turkey red			64/67	10/10	31/33	+	九州沖縄農業研究センター
velvet	6/40	5/5					作物研究所
(対照)							
ナンプコムギ	82/96	20/20	48/113	20/20	4/47	+	東北農業研究センター

試験は東北農業研究センター内のコムギ縮萎病汚染圃場で自然感染下で行った。

a) 発病株頻度 (発病個体数/調査個体数)。空欄は供試しなかった。

b) WYMV検出頻度 (ELISAでWYMV陽性個体数/調査個体数)。空欄は供試しなかった。

c) 地下部でのWYMV検出の有無。+ : ELISAでWYMV陽性, - : ELISAでWYMV陰性, 空欄は供試しなかった。

d) (独)農業生物資源研究所ジーンバンク保存種子のAccession number

のM株に対する反応と圃場試験の結果が一致するかの確認をおこなった。汁液接種の方法はI章2節と同様で、接種後の植物の育生は、I章2節と同じ人工気象下で気温5℃で行った。

2) 結 果

(1) 圃場での自然発病環境下での一次選抜
供試品種と3か年の試験結果を表6にまとめた。

1996年播種の圃場試験では、罹病性対照品種のナンブコムギで検出頻度は100%であったが、発病期間中の気温が3月中旬から平年よりやや高めに推移したが4月に入り5℃から10℃で経過したため発病個体は96個体中82個体となった。この条件下でWYMVが検出されなかった品種は、「農林20号」、「農林30号」、「農林61号」、「東北101号」、「関東88号」、「関東102号」、「埼玉27号」、「アサカゼコムギ」、「シラサギコムギ」、「新中長」、「早熟赤毛」、「ニシカゼコムギ」、「畠田小麦」(以上 *T. aestivum*)、「EINKORN」(*T. monococcum*)であった。ただし、「シラサギコムギ」は、発芽歩合が低かったため調査個体数が少なかった。「キタカミコムギ」は病徴は示さなかったが、調査個体すべてでWYMVが検出された。

1997年播種の圃場試験では、発病期間の気温が平年より高めに推移したために陽性対照品種「ナンブコムギ」では、検出頻度は前年同様100%であったが発病は113個体中48個体に留まった。この条件下でWYMVが検出されなかった品種は、「農林20号」、「農林26号」、「農林43号」、「農林61号」、「北海240号」、「関東102号」、「関東107号」、「埼玉27号」、「アサカゼコムギ」、「江島神力」、「シラサギコムギ」、「シロガネコムギ」、「ゼンコウジコムギ」、「早熟赤毛」、「EINKORN」であった。一方、症状が明らかで発病個体頻度とWYMV感染個体頻度が高かったのは、「農林16号」、「北見19号」、「北見71号」、「北見72号」、「北見73号」、「赤達磨」、「チホクコムギ」、「ホクシン」、「Turkey Red」であった。

1998年播種は、前年の試験で地上部での抵抗性および罹病性反応が明瞭であったものを中心に、地下部からWYMVの検出をおこなった。この年の発病期間全般に気温は平年を上回ったため、発病は全般に軽微であった。この条件下で発病が認められずWYMVが検出されなかった品種は「農林20号」、「農林43号」、「農林61号」、「北海240号」、「関東

107号」、「埼玉27号」、「江島神力」、「シラサギコムギ」、「シロガネコムギ」、「早熟赤毛」、であった。一方、病徴が明らかでWYMVが検出されたものは、「農林16号」、「北見72号」、「北関東44号」、「チホクコムギ」、「ホクシン」、「Turkey Red」であった。

以上の圃場試験から、地上部と地下部からのウイルス検出の有無が一致した以下の品種を判別品種の一次候補とした。すなわち、東北農業研究センター圃場での抵抗性品種として、「農林20号」、「農林43号」、「農林61号」、「北海240号」、「関東107号」、「早熟赤毛」、「ゼンコウジコムギ」、「シラサギコムギ」、「シロガネコムギ」、「江島神力」、およびⅡ-1でT株に罹病性でM株に抵抗性を示すことを報告した「フクホコムギ」の合計11品種を選定した。東北農業研究センター圃場で罹病性を示した品種としては、「ナンブコムギ」、「農林16号」、「東北83号」、「北見72号」、「赤皮赤」、「ホクシン」、「Turkey Red」、「北関東44号」、「埼玉29号」の9品種を選んだ。

(2) 人工気象下の接種試験による判別品種の選定

圃場の自然発病下でM株に対して抵抗性を示した11品種と罹病性を示した9品種の合計20品種のT株に対する汁液接種試験における反応は、表7のようになった。供試した品種は「北海240号」を除きすべての品種・系統で、圃場での抵抗性・罹病性に関わらず病徴が確認されWYMVが検出された。「関東107号」、「シラサギコムギ」も、T株の検出頻度が低かったが、罹病性を示した。この結果に、採種性、栽培しやすさも加味してT株に抵抗性をしめす判別品種として「北海240号」を、また、T株に対してウイルス検出頻度が高く病徴が明瞭であった「フクホコムギ」をT株とM株との病原性を分ける判別品種として、それぞれ選定した。T株、M株の両方に罹病性と考えられる品種として、「ナンブコムギ」を選んだ。これは、「ナンブコムギ」が岩手県内で安定して罹病性を示すこと、人工気象下での栽培が容易であることなどを考慮した。これら品種について、M株を接種し同株を採取した圃場での反応との整合性を確認したところ、一致していた(表7)。以上から、「フクホコムギ」、「北海240号」、「ナンブコムギ」を判別品種とし、「北海240号」を侵さず「フクホコムギ」、「ナンブコムギ」を侵すT株を代表株とするI型と、「北海240号」、

表7 人工気象下での汁液接種試験における判別品種候補品種の WYMV-T 株、-M 株に対する反応

東北農研センター圃場で抵抗性			東北農研センター圃場で罹病性		
品種・系統名	検出頻度 ^{a)}		品種・系統名	検出頻度 ^{a)}	
	(WYMV株名)			(WYMV株名)	
	T株	M株		T株	M株
フクホコムギ	7/10	0/15	ナンプコムギ	4/15	11/15
農林20号	7/10		農林16号	3/10	
農林43号	5/10		東北83号	3/10	
農林61号	5/10		北見72号	7/10	
北海240号	0/10	0/15	赤皮赤	9/10	
関東107号	4/10		ホクシン	5/10	
江島神力	4/6		Turky Red	3/10	
早熟赤毛	8/10	0/15	北関東44号	6/10	
ゼンコウジコムギ	7/9		埼玉29号	4/9	
シラサギコムギ	3/8				
シロガネコムギ	7/10				

接種した植物は、人工気象下（5℃，12時間日長（有効光合成放射量 $190\mu\text{mol photon/s/m}^2$ ）で約2ヶ月間育てた。

WYMVが検出された個体の全てにおいて発病が認められた。

a) ELISAでWYMV陽性の個体数/供試個体数

表8 主要な縮萎病抵抗性検定圃場より分離した WYMV の判別品種に対する反応

ウイルス株	採取地	判別品種名			病原型
		フクホコムギ	北海240号	ナンプコムギ	
WYMV-Dm	北海道伊達市	a) 0/17	0/19	10/15	II
WYMV-NC	茨城県つくば市（作物研究所）	9/12	0/14	7/12	I
WYMV-K	福岡県筑後市（九州沖縄農業研究センター）	16/24	0/23	9/21	I

a) ELISAでWYMV陽性の個体数/供試個体数

WYMV陽性個体の全てで発病が認められた。

「フクホコムギ」をおかさず「ナンプコムギ」をおかすM株を代表株とする「型」の二つの病原型を設定した。

2. 主要検定圃場から採取した WYMV 株の病原型の類別

1) 材料および方法

東北農業研究センター以外の北海道伊達市，作物研究所，九州沖縄農業研究センターの各検定圃場から採取した分離株の一覧を表8に示した。各WYMV株は，採取した品種で増殖後，電子顕微鏡でダイレクトネガティブ法（DN法）により粒子形態を確認するとともに，ELISAにより，WYMV抗血清との反応性およびSBWMVの混合感染の有無を確認した。作物研究所および九州沖縄農業研究センターの分離株では，電子顕微鏡観察および

ELISAでSBWMVによる麦類萎縮病の混合感染が明らかとなった。そこで，SBWMVの増殖適温がWYMVより高いことを利用して，SBWMVが増えにくいと思われる5℃での継代接種を数回繰り返し，ELISAでSBWMVが検出されなかった罹病植物を接種源として供試した。判別品種（「北海240号」，「フクホコムギ」，「ナンプコムギ」）の種子を5～7粒ずつ直径9cmのプラスチックポットに詰めた園芸用培土（クレハ園芸培土）に播種し，20～25℃で3葉期まで育て，前述したのと同じ条件で接種，発病調査，WYMV検出をおこなった。

2) 結果

北海道伊達市，茨城県つくば市作物研究所，福岡県筑後市九州沖縄農業研究センターの各特性検定圃場から採取した罹病葉には，いずれも長さ約

570nm と約 275nm の二つのひも状粒子からなる典型的な WYMV 粒子が確認され、ELISA で WYMV が検出された。判別品種に対する病原性は、北海道伊達市で分離した Dm 株は M 株と同様に「北海 240 号」, 「フクホコムギ」をおかさず「ナンプコムギ」をおかしⅡ型と類別された。一方、作物研究所の株(WYMV-NC 株, 以下 NC 株という。)と九州・沖縄農業研究センター圃場の株(WYMV-K 株, 以下 K 株という。)は、「北海 240 号」をおかさず, 「フクホコムギ」, 「ナンプコムギ」をおかしⅠ型と類別された(表 8)。

3) 考 察

品種反応が発病地により異なることから、病原ウイルス系統の存在が古くから指摘されていた。和田・深野(和田・深野, 1935b, 1936)は、九州各地および国内の主要なコムギ品種育成場所の汚染土壌を当時の農事試験場九州小麦試験地に集め、圃場試験により品種反応を比較し、「西国穂摘」, 「新中長」, 「農林 4 号」の反応により病土をいくつかのタイプにわけ、病原性分化の可能性を示した。斉藤・岡本(1964)も、当時姫路市にあった中国農業試験場の圃場に同様に病土を集め、品種反応を比較すると同時に、盛岡市の当時の東北農業試験場との間で土壌を交換し品種反応を比較した。その結果、発病は試験場所・試験年次により様々で、発生地により発病に品種間差が認められるのは、単にウイルスの病原性の違いや土壌の違いによるものではないと結論した。こうしたことから、圃場試験による WYMV の病原性の類別は困難視された。また、接種試験が困難であったために、各地で発生している WYMV 株の接種試験による比較にも到らず、特性検定圃場間での抵抗性遺伝資源の異同も実質的に比較できなかった。本節では、接種後の気温を 5℃に保つ汁液接種試験により、環境による反応の違いを排除して、①判別品種と病原型の決定、②主要特性検定圃場からの分離株の病原型の類別を試みた。

WYMV 系統類別のための判別品種を選ぶにあたり、まず、罹病性ないし抵抗性の反応が明瞭に差別できるものを判別品種とすることが重要と考えた。小田・柏崎(1989)は、ELISA を用いて農林登録品種およびその系譜上の 168 品種の汚染圃場における WYMV 感染の検定を行い、いくつかの品種を WYMV が検出されないことにより抵抗性遺伝資源と推定した。そこで、最初の手がかりとして、小

田・柏崎(1989)の抵抗性の系譜に関する情報を基として、東北農業研究センター圃場におけるいくつかの品種の反応も参考にして、ELISA による判定を基本に判別品種の選定をおこなった。その結果、WYMV は「フクホコムギ」に対する病原性の有無により、2つの病原型に類別することとした。さらに、「北海 240 号」は、いずれの病原型に対しても抵抗性遺伝資源となりうる事が明らかになった。そこで、宇杉ら(1985)の BaYMV の系統の類別を参考にして、T 株を代表株とする「フクホコムギ」をおかし「北海 240 号」をおかさないⅠ型と、M 株を代表株とする「フクホコムギ」, 「北海 240 号」を共におかさないⅡ型を設定した。

上記の判別品種を用いて、主要育種場所の特性検定圃場から採取した WYMV 株の病原性を類別したところ、北海道伊達市の検定圃場の Dm 株は M 株と同じⅡ型に、作物研究所の検定圃場の NC 株と九州沖縄農業研究センター検定圃場の K 株は T 株と同じⅠ型に、それぞれ類別された。

判別品種の他に、「関東 107 号」と「シラサギコムギ」は、Ⅱ型に対して「フクホコムギ」同様の抵抗性を有することが明らかとなった。さらに、両品種の T 株に対する反応は、ELISA では抵抗性は判然としないものの、被接種個体数に占める発病個体数の割合が「フクホコムギ」より低い。このことから、両品種は、Ⅰ型に対しても何らかの抵抗性因子を持つと考えられた。実際に、両品種の後代で、いずれかの品種から抵抗性を引き継いだと推定される「シロガネコムギ」, 「チクゴイズミ」, 「ネバリゴシ」といった品種は、九州沖縄農業研究センター(Ⅰ型)、東北農業研究センター(Ⅱ型)の各検定圃場で抵抗性品種として選抜され、Ⅰ型、Ⅱ型のそれぞれの汚染地域で抵抗性品種として実用化されている。

一方で、「キタカミコムギ」のように、高頻度に WYMV に感染しても病徴が認められないか軽微である品種の存在が明らかとなった。「キタカミコムギ」は、反応としては広義の抵抗性ではあるが、その栽培により伝染源の生産と拡散が起っていると考えられる。こうした品種の後に罹病性の品種が普及すると、発病が広域にわたり一度に顕在化すると考えられる。今後、被害の拡大防止に向けて、既存品種も含めた抵抗性の評価に注意する必要がある。

表9 日本国内主要コムギ縞萎縮病発生地から採取した WYMV 株の病原型

WYMV株名	採種地	WYMV 検出頻度 ^{a)}			病原型
		フクホコムギ	北海240号	ナンプコムギ	
WYMV-Tn2	北海道端野町	0/14	2 ^{b)} /14	10/14	II
WYMV-Kw3	北海道共和町	0/14	2 ^{b)} /13	13/13	II
WYMV-Ng	青森県三戸郡南郷村	0/19	0/18	15/19	II
WYMV-Yb2	岩手県紫波郡矢巾町	0/12	0/12	9/14	II
WYMV-Sw	岩手県紫波郡紫波町	0/14	1 ^{b)} /14	6/14	II
WYMV-Hm3	岩手県花巻市	0/14	0/14	7/14	II
WYMV-K k 2	岩手県北上市	0/21	1 ^{b)} /18	7/10	II
WYMV-K k	岩手県北上市和賀	0/14	3 ^{b)} /12	10/12	II
WYMV-Ic	岩手県一関市	0/17	0/21	10/18	II
WYMV-Fs	岩手県藤沢町	0/14	0/14	13/14	II
WYMV-Hz	宮城県登米郡迫町	11/24	5 ^{b)} /24	7/23	I
WYMV-Ka	群馬県粕川村	9/14	0/14	7/14	I
WYMV-Yk	茨城県結城市	4/17	0/19	3/13	I
WYMV-Hy	茨城県東町	6/11	0/14	8/14	I
WYMV-Ku	茨城県河内町	9/11	1 ^{b)} /11	14/14	I
WYMV-Tu	三重県津市	19/20	0/21	8/14	I
WYMV-Un	三重県一志郡嬉野町	14/14	1 ^{b)} /14	14/15	I
WYMV-Ht	滋賀県愛知郡秦荘町	19/19	0/21	9/20	I
WYMV-Kt	滋賀県愛知郡湖東町	9/14	0/13	1/12	I
WYMV-Yt	福岡県山門郡	14/14	3/14	13/14	III

a) ELISAでWYMV陽性の個体数/供試個体数

b) 無病徴感染

b) を除く全てのWYMV陽性個体で発病が認められた。

日本国内の WYMV の病原型の発生実態

1. 国内の主要なコムギ縞萎縮病発生地で採取した WYMV 株の病原型の判別

前章までで、判別品種と主要育種場所の特性検定圃場における WYMV の病原型の対応関係を明らかにした。

本章では、日本各地で発生している WYMV 株について、各特性検定圃場の WYMV と共通の抵抗性遺伝資源により整理して病原型を明らかにし、各病原型の分布状況を明らかにするために、コムギ縞萎縮病発生地から罹病植物を収集し、判別品種に対する反応を調べた。

1) 材料および方法

収集した WYMV 株の一覧を表9に示した。各地より採取した WYMV 罹病葉は、DN 法による電子顕微鏡下でのウイルス粒子の確認、および ELISA での WYMV の感染の確認と SBWMV の混合感染の確認をおこなった。SBWMV 混合感染株は、前節同様に継代処理をした。その後、採取した品種に接種して発病させたものを接種源として直ちに判別

品種へ接種した。感染葉を - 80℃ で保存した場合は、採取した品種へ一旦接種し発病させたものを接種源として判別品種へ接種した。接種方法および判定方法はⅡ章2節と同じである。

2) 結果

各地の分離株の中、北海道内2株、青森県1株、岩手県7株はすべて、「フクホコムギ」をおかさず、「ナンプコムギ」をおかした。一方、宮城県以南から採集した WYMV 株は、すべて「フクホコムギ」をおかした。また、いくつかの WYMV 株では、接種した「北海240号」から WYMV が検出されたが、福岡県で採取された Yt 株以外で同品種を発病させた株はなかった(表9)。

Yt 株は、抵抗性品種である「シロガネコムギ」の発病株から分離された。「シロガネコムギ」の抵抗性は、「シラサギコムギ」に由来すると推定され、また、現在九州を中心に普及する「チクゴイズミ」の抵抗性は、「関東107号」に由来すると推定される。そこで、T 株を I 型の対照として、おなじ九州の I 型株である K 株と Yt 株の間で「シラサギコムギ」と「関東107号」に対する病原性の異同を調

表 10 品種「シラサギコムギ」「関東 107 号」の福岡県で採取された WYMV 株に対する反応

(WYMV株名)	シラサギコムギ			関東107号			フクホコムギ		
	WYMV検出	発病	病徴	WYMV検出	発病	病徴	WYMV検出	発病	病徴
WYMV-Yt	5/6, 5/6	5/6, 5/6	D, YM, N	6/6, 5/6	6/6, 5/6	D, YM, N	5/6, 4/6	5/6, 4/6	D, YM
WYMV-K	6/6, 5/6	6/6, 5/6	D, YM	3/5, 5/5	3/5, 5/5	D, YM	5/6, 5/6	4/6, 5/6	D, YM
WYMV-T (I型対照株)	4/6, 3/6	4/6, 2/6	D, YM	1/5, 2/5	0/5, 2/5	D, YM	4/6, 6/6	4/6, 6/6	D, YM

試験は 2 回行った。数値は、各回の WYMV 検出 (WYMV 陽性個体数/ELISA 検定個体数)、発病 (発病個体数/接種個体数) を表す。病徴の記号は、以下、YM: モザイク状の黄化症状、N: 壊死斑、D: 萎縮症状が認められたことをあらわす。

「フクホコムギ」は I 型に対する罹病性の対照品種である。

WYMV-Yt 株は福岡県山門郡、WYMV-K 株は福岡県筑後市九州沖縄農業研究センターにて、それぞれ採取された。

表 11 「北海 240 号」に対する福岡県から採取された WYMV 株の病原性

(WYMV株名)	北海240号		フクホコムギ(陽性対照)	
	WYMV検出 ^{a)}	発病 ^{b)}	WYMV検出	発病
WYMV-Yt	5/6, 3/7	1/6, 2/7	5/6, 6/6	5/6, 4/6
WYMV-K	0/7, 0/8	0/7, 0/8	5/5, 5/6	4/5, 4/6

WYMV-Yt 株は福岡県山門郡、WYMV-K 株は福岡県筑後市九州沖縄農業研究センターにて、それぞれ採取された。

a) ELISA で陽性の個体数/供試個体数

b) 発病個体数/接種個体数

べた。さらに、K 株を対照として、改めて「北海 240 号」に対する病原性を調べた。その結果、Yt 株は「シラサギコムギ」と「関東 107 号」に対して、T 株や K 株では見られない壊死斑を伴う激しい病徴を生じさせて高率に検出され、これら 2 品種に対する病原力が異なることが示された (表 10)。また、Yt 株は、「北海 240 号」から高率に検出され、同品種に明瞭な病徴を生じさせることから、K 株をはじめ他の分離株とは病原性が異なることが改めて確認された (表 11)。

3) 考 察

本試験で、日本各地の主要な縞萎縮病発生地から採取した WYMV 株は、検定圃場の WYMV 株同様に、「フクホコムギ」に対する病原性の有無により、I 型、II 型に類別することができた。さらに、福岡県において、抵抗性の「シロガネコムギ」の発病株から採取された Yt 株は、本試験で供試した株で唯一「北海 240 号」を発病させたことから、III 型として類別した。以上、現時点で日本国内の WYMV の病原性は、「フクホコムギ」と「北海 240 号」に対する病原性の有無により三つのタイプに分けられることが明らかとなった (表 12)。「北海 240 号」は、主要検定圃場の株でこれをおかすものはなかった。

表 12 判別品種の反応を基にしたコムギ縞萎縮ウイルス (WYMV) 病原型類別体系

	判別品種名		
	ナンブコムギ	フクホコムギ	北海240号
I 型 (WYMV-T 株タイプ)	a) S	S	b) R
II 型 (WYMV-M 株タイプ)	S	R	R
III 型 (WYMV-Yt 株タイプ)	S	S	S

a) S: 罹病性 (WYMV に感染し、かつ、明瞭な病徴を生じる)

b) R: 抵抗性 (WYMV に感染しないもの、および発病しない)

しかし、一般圃場からの分離株の中には、北海 240 号が感染する株も存在した。ただし、Yt 株以外では、ELISA で陽性であっても発病を認めなかったことから、広い地域で抵抗性遺伝資源として利用可能と考えられた。

「シラサギコムギ」に由来すると推定される抵抗性を有する「シロガネコムギ」の一般農家圃場における縞萎縮病の発生報告は今回が初めてである。「シラサギコムギ」は T 株に感染し、I 型に対して完全な抵抗性ではないことが接種試験で確認された。本試験では、「シラサギコムギ」と「関東 107 号」は Yt 株と K 株にも感染した。しかし、「シラサギコムギ」と「関東 107 号」は Yt 株に高頻度に感染し、壊死斑を伴う激しい全身のモザイク症状を呈し、T 株、K 株に対する反応とは異なった。したがって、Yt 株は他の I 型に比べて、これらの品種に対してより強い病原力を有することが示唆された。

2. WYMV 型汚染地域の主要作付け品種の抵抗性

柏崎 (2000) によれば、BaYMV の病原型と過去の作付け品種の抵抗性の間に関係が認められるという。前節で、コムギ縞萎縮病の場合、I 型が採取された地域は、現在までの作付け品種の主体が「農林

表 13 過去に北海道において作付けされた主要品種の WYMV-T 株, M 株に対する反応

(感染の有無)									
品種名	WYMV-T株				WYMV-M株				
	反復1	反復2	反復3	反復4	反復1	反復2	反復3	反復4	
タクネコムギ	a) 1/2	1/1	3/3	2/2	3/3	0/4	3/3	1/4	
ホロシリコムギ	2/4	2/4	2/3	3/4	3/4	2/2	0/1	0/3	
タイセツコムギ	2/4	2/4	1/4	2/4	2/4	1/4	3/4	2/4	
チホクコムギ	2/4	4/4	3/4	1/4	1/3	2/3	2/3	3/4	
フクホコムギ (T株感受性対照)	3/3	3/2	4/4	0/3	—	—	—	—	
ナンブコムギ (M株感受性対照)	—	—	—	—	3/4	2/4	2/4	3/4	
(発病の有無)									
品種名	WYMV-T株				WYMV-M株				
	反復1	反復2	反復3	反復4	反復1	反復2	反復3	反復4	
タクネコムギ	b) 1/2	1/1	3/3	2/2	3/3	0/4	3/3	1/4	
ホロシリコムギ	2/4	2/4	2/3	3/4	0/4	2/2	0/1	0/3	
タイセツコムギ	2/4	1/4	2/4	3/4	2/4	1/4	3/4	2/4	
チホクコムギ	2/4	4/4	2/4	1/4	1/3	2/3	2/3	3/4	
フクホコムギ (T株感受性対照)	2/3	2/3	4/4	0/3	—	—	—	—	
ナンブコムギ (M株感受性対照)	—	—	—	—	3/4	2/4	2/4	3/4	

a) ELISAでWYMV陽性個体数/供試個体数, —は試験無し

b) 発病個体数/調査個体数, —は試験無し

一鉢4粒ずつ播種したが、発芽の不揃いにより接種個体数に違いを生じた。

61号」あるいは「フクホコムギ」であることからⅡ型が採取されなかったと説明できる。一方で、岩手県以北からはⅠ型、Ⅱ型双方に罹病性の「ナンブコムギ」, 「ホクシン」からⅡ型の WYMV 株のみが採取されている。岩手県および青森県南部のⅡ型を採取した地域では、数十年に渡り「ナンブコムギ」が作付けされているが、北海道では、数品種の変遷がある。これらの品種のⅠ型とⅡ型に対する反応は不明である。Ⅱ型汚染地域の作付け品種と病原型の関係を調べるために、北海道の過去の作付け品種のⅠ型、Ⅱ型に対する反応を調べた。

1) 材料および方法

供試した品種は、過去に北海道で大規模に作付けされていた「タクネコムギ」, 「ホロシリコムギ」, 「タイセツコムギ」, 「チホクコムギ」である。Ⅰ型、Ⅱ型に対する罹病性対照品種として「フクホコムギ」, 「ナンブコムギ」をそれぞれに用いた。接種した WYMV 株は、Ⅰ型として T 株、Ⅱ型として M 株を用いた。各品種を1鉢当たり4粒ずつ播種し、3葉期まで育てた。この幼植物に各株を汁液接種し、7日おきに発病を調査し、発病株率が安定した段階で地上部からの WYMV の検出を試みた。接種方法、調査時期は、本章3節と同様の方法でおこなった。

感染の確認の ELISA も本章3節と同様におこなった。試験は4反復で行い、各反復内では接種する品種の順番を無作為化した。

2) 結 果

供試した「タクネコムギ」, 「ホロシリコムギ」, 「タイセツコムギ」, 「チホクコムギ」は、いずれもⅠ型 (T 株)、Ⅱ型 (M 株) に罹病性であった (表 13)。

3) 考 察

日本各地の BaYMV の病原型の分布について、柏崎 (2000) は、それぞれの地域で長年栽培された麦種・品種に対する病原性を有する系統が分布していると指摘している。岩手県以北および北海道からは、いずれもⅡ型のみが採取された。この地域で過去に作付けされていた品種は、汁液接種による抵抗性検定の結果、すべてⅠ、Ⅱの両型に罹病性であった。したがって、この結果からは、Ⅰ型が採取されてもよいはずである。Ⅰ型が採取されない原因としては、①これらの地域にⅠ型の移入が起っていない、あるいは、②Ⅰ型が出現したが何らかの理由により定着、優占しなかったことが考えられる。

V 総 合 考 察

コムギ縮萎病は、土壌中の原生生物 *Polymyxa*

*graminis*により媒介されるが、媒介者の薬剤による駆除が容易でないこと、田畑輪換や輪作等では防除できないことから、防除法としては、抵抗性品種と耕種的防除法が主体とならざるをえない状況にある。しかし、抵抗性品種の利用に当たって、WYMVの病原性の分化や有効と考えられる抵抗性品種との関係は明らかではなかった。日本国内のWYMVについては、和田・深野(1936)や斉藤・岡本(1964)によるWYMVの病原性類別の試みがあったが、抵抗性反応の不安定さから抵抗性品種の育成に利用されるに到らなかった。中華人民共和国では、Chen *et al.* (2000)は、病徴とELISAによる診断により、病原性の異なる分離株の存在を報告し、さらにそれぞれのWYMV株の遺伝子の全塩基配列を比較した。しかし、この報告も圃場での自然発病によるものであり、1作期だけの試験であるため、斉藤・岡本(1964)が指摘した年次間や試験地間の環境条件の違いによる品種反応の不安定さという要素は排除されていない。接種試験の導入により自然発病試験における評価の不安定要素を排除し、ウイルスの検出頻度も検討した病原性の類別の試みは、Kusume *et al.* (1997)が北海道千歳市で分離したWYMV株について病原性が異なるとした報告が最初であった。

こうした中、本研究において、著者は、温度条件を5℃にすることによる効率的接種試験条件を明らかにした。その条件下で、初めて、接種試験により判別品種により病原性を病原型として整理し、同一の環境下で日本各地のWYMV株を比較することに成功した。本章では、抵抗性品種の育成に向け、WYMVの病原性の類別とWYMVの病原性分化について包括的に論ずる。

1. WYMVの病原型に基づく抵抗性品種育成の有効性

コムギ縞萎縮病抵抗性品種の育成において、病原ウイルスの病原性の違いとそれに対応する抵抗性遺伝資源の関係の整理が必要であるという問題は、古くから認識されていた(和田・深野 1936, 1937, 斉藤・岡本 1964)。

この問題は、WYMVと同じ *Baymovirus* 属のBaYMVで、まず整理された(宇杉ら 1985)。宇杉ら(1985)は、いくつかの判別品種の反応の違いから「病原型」という表現を用いBaYMVの病原性の類別をおこなった。そこで、本研究でも、こう

したBaYMVの研究例に倣い、抵抗性品種の育成のためにWYMV分離株の病原性を、判別品種の反応の違いに基づいて病原型として類別することとした。結果として「フクホコムギ」と「北海240号」を判別品種に選定し、国内の主要なコムギ産地から分離したWYMV株をこの判別品種により類別し、供試したすべてのWYMV株は「フクホコムギ」に対する病原性の有無から二つに分けられることを示し、これらをⅠ型、Ⅱ型とした。さらに、「北海240号」をおかす株が一部得られ、これを代表株として、「北海240号」を判別品種としてⅢ型を設け、合計3個の病原型に分けた。抵抗性の評価時の混乱を避けるために、抵抗性の定義としては、ウイルスが検出されないことを基本とした。ただし、Ⅰ型に対してWYMVが検出されない抵抗性遺伝資源が得られていない現状から、「北海240号」における無病徴感染は抵抗性反応として病原型を類別することとした。病原型は、自然分類とは異なり、あくまで抵抗性育種のための便宜的類別基準であり、ある病原型は、それに対して有効な抵抗性遺伝子(群)の違いにより類別されたウイルス系統の集合である。したがって、ある品種の反応により類別された一つの病原型の中にさらに他の品種に対する反応の違いにより分けられるグループが存在する可能性は高く、宇杉ら(1985)により最初に3つ分けられたBaYMVの病原型は、さらに6個の型に細分化されている(柏崎 2000)。コムギにおけるWYMVについても、BaYMVと状況は同じである。今後、新たな抵抗性遺伝資源が見つけれられたり、抵抗性遺伝子の解析が進むことで、これら病原型を整理し直す必要もあるが、現時点では明確な類別ができたと考ええる。

BaYMVの病原型とオオムギが持つ縞萎縮病抵抗性遺伝子との関係については、これまで詳しく研究されており(Kashiwazaki *et al.* 1989, 小川ら 1995)、オオムギ縞萎縮病では、それぞれのウイルスの病原型に対応した抵抗性品種の育成、抵抗性遺伝子の解析も進んでいる(飯田ら 1992, Konishi *et al.* 1997, 2002)。一方、WYMVに関しては、ようやく研究が緒についたところである。WYMVのⅠ型とⅡ型をウイルスの増殖の有無により分けることができる「フクホコムギ」の抵抗性遺伝子について、八田ら(Hatta *et al.* 1997)は、「フクホコムギ」と「ナンブコムギ」の交配によりF₂染色体倍加系統

(DHLs) を作成し解析した結果、少なくとも 3 ないし 4 個の劣性の抵抗性遺伝子が関与することを明らかにした。この DHLs の中には、東北農業研究センター圃場で様々な強さの抵抗性を示す系統が含まれていた。このことは、抵抗性遺伝子の集積が縮萎病抵抗性育種において有効な育種戦略であることを表し、さらに、作用の小さな抵抗性遺伝子であっても、その種類と集積によっては ELISA でウイルスが検出できない高度な抵抗性をもたらす可能性を示した。一方、「北海 240 号」をはじめ他の抵抗性品種が持つ抵抗性遺伝子については、その数や遺伝様式は不明なままであり、その解析が待たれる。

抵抗性遺伝子の解析と集積のためには、抵抗性の違いを定量的に評価する方法も必要となる。今後、抵抗性を効率よく新品種に取り込むためには、抵抗性遺伝子の特定とマーカーの開発と同時に、抵抗性の評価法の改良も必要であると考えられる。

2. WYMV の病原性分化と抵抗性品種との関係

抵抗性とウイルスの病原性の関係で最も問題となるのは、抵抗性の崩壊である。これは、ウイルス遺伝子の変異により新たな系統が出現したり、既にウイルス集団の中で潜在的な存在だった系統が抵抗性品種の変遷により顕在化する正の淘汰により起こると考えられる。BaYMV においては、作付されてきた品種や麦種の抵抗性の変遷によると考えられるウイルスの病原性の分化について報告されている例がいくつかある（柏崎 2000）。しかし、ある病原型の BaYMV に汚染されている圃場にその病原型に対する抵抗性品種を導入したところ、同じ作期にすでにその抵抗性品種をおかす新たな病原型の発生が認められた例があり（小川ら 1995）、オオムギ縮萎病に関しても抵抗性の崩壊と品種・麦種の変遷との関係にはまだ不明な点が多い。

コムギ縮萎病については、病原型の分布と品種の関係について、本研究において初めて議論が可能な結果が得られた。本研究において、WYMV の病原型の分布で特徴的なのは、宮城県から南のほとんどの地域からは「フクホコムギ」を侵すことの出来る I 型と III 型が採取され、岩手県以北からは主に II 型が採取されていることである。関東以西は、採取した品種が主に「フクホコムギ」と同程度に II 型抵抗性の「農林 61 号」であったため、II 型は採取されなかったと考えられる。唯一、宮城県で I 型、II 型の両方に罹病性の「シラネコムギ」から採取した

Hz 株は、I 型であった。ただし、この地区ではかつて「フクホコムギ」が作付けされていたことが、現地農家からの聞き取りによりわかっている。したがって、宮城県以南の I 型地域は、過去に、あるいは現在も、II 型に抵抗性の「農林 61 号」か「フクホコムギ」が栽培されており、このために、それをおかす I 型が主である可能性がある。

福岡県で分離された III 型の病原性を示す Yt 株は、「シラサギコムギ」に強い病原性を示した。この地方では、「シラサギコムギ」の後代に当たる「シロガネコムギ」が早くから抵抗性品種として栽培されており、そのために、これをおかす系統が優占しつつある可能性が疑われる。今後、「シロガネコムギ」が栽培されている地域での縮萎病の発生動向に注意が必要である。

一方、岩手県以北の II 型のみ採取された地域の過去の主要品種は、「タクネコムギ」、「ホロシリコムギ」、「タイセツコムギ」、「チホクコムギ」、「ナンプコムギ」であった。これらの品種は、汁液接種試験においては、I 型と II 型の双方に罹病性であるから、I 型が存在してもよいはずである。ところで、II 章 2 節で明らかにしたように、「ナンプコムギ」は「フクホコムギ」に比べて、I 型である T 株に対する罹病性が、5℃よりも 10℃で極端に低くなる傾向がある。「ナンプコムギ」は、II 型の病原性を示す M 株を接種したときも、10℃での罹病性の低下は認められるが、T 株に対するほど大きな低下ではないと考えられた。*P. graminis* のコムギ根への侵入は、13℃～15℃で最も盛んであり 6℃ではほとんど認められない（大藤・石黒 2004）ことを考え合わせると、*P. graminis* の活動が最も活発な温度範囲でウイルスの増殖が不活発であることは、自然発病下では、M 株に比べて T 株で「ナンプコムギ」における感染効率が低くなることを想像させる。したがって、こうした「ナンプコムギ」に認められる一種の抵抗性反応は、I 型と II 型の共存下では、I 型の病原性を示す株の圃場における生存を II 型の病原性を示す株に比べて不利にしている可能性がある。北海道や岩手県の歴代の主要品種が I 型の病原性を示す株に対して同様の反応を示すために、I 型が優占し難い状況がある可能性もある。

品種抵抗性に関与する WYMV 側の要因についても、研究が緒についたばかりである。抵抗性品種の罹病化の機作を探る上でも、抵抗性の機作とともに、

ウイルスの病原性の分化機構の解明は、今後の重要な課題と考えられる。

今後、WYMVの病原性分化機構の解明や、圃場におけるWYMVの個体群の動態に関する研究が進めば、効率的で実効性のある抵抗性品種の導入が可能となる。さらに、作付け圃場の縞萎縮病の発病歴や、作付け品種の抵抗性などの情報を把握することにより発病のリスクを予想でき、播種時期の移動などの耕種的防除技術を組み合わせた総合的な防除が可能となる。

摘 要

コムギ縞萎縮病は、土壌伝染性のウイルス病害である。本病は、90年以上前に我が国で初めて報告された。これまで、主に抵抗性品種の導入や国内の作付けの減少により小康状態にあった。しかし、近年国内の作付けが促進される一方で、新たな抵抗性品種の普及は遅れている。50年以上前に抵抗性品種として育成された「農林61号」は、現在では罹病化しているにもかかわらず、依然として西日本の主要品種である。このようなコムギ生産を取り巻く環境のもと、縞萎縮病は我が国のコムギ生産の障害となっている。病原であるコムギ縞萎縮ウイルス(WYMV)自体や基本的な発生生態については研究されてきたが、抵抗性の品種を育成するうえで必須となるウイルスの病原型の整理は行われていなかった。結果として、WYMVの病原型を考慮した品種育成は行われてこなかった。

本研究は、コムギ縞萎縮病に対する抵抗性品種の開発に資するためにおこなった。そのために、はじめに、WYMV抵抗性の接種検定の条件を検討し、これまで明らかでなかった病原性系統の存在を明らかにした。ついで、抵抗性遺伝資源を明らかにして、判別品種による分類を行った。最後に、主要なコムギ品種育成場所の検定圃場および国内の主要な縞萎縮発生地から採取したWYMV分離株の病原型を類別し、各病原型の分布状況を明らかにした。

1. WYMV 系統存在の確認

宇杉・斉藤(1976)が茨城県石岡市で分離した日本の標準株であるWYMV-T株と東北農業研究センター圃場から分離したWYMV-M株との間で、病原性に違いがあるかを接種試験により確認した。その結果、T株は、品種「フクホコムギ」、「早熟赤毛」を侵すが、M株は両品種を侵さず、系統の分

化が確認された。

2. WYMV に対するコムギ品種の抵抗性反応に及ぼす気温の影響

「ナンプコムギ」と「フクホコムギ」のT株とM株に対する抵抗性反応が、10℃と5℃で異なるかを調べた。「フクホコムギ」はT株に対して5℃と10℃で罹病性であった。「ナンプコムギ」は5℃では罹病性、10℃では抵抗性であった。「フクホコムギ」はM株に対して5℃と10℃で全くウイルスが検出されず免疫性を示したが、「ナンプコムギ」はM株に対して両温度で罹病性であった。これら品種がいずれの分離株に感染しても、感染株率、発病株率、発病程度はいずれも5℃下の方が10℃下に比べて高かった。この結果から、気温が品種の抵抗性反応に影響を及ぼすこと、またその影響の受け易さは品種により異なることが示唆された。また、本試験からは、5℃の低温条件の持続が、高いウイルス検出率と病徴発現の促進をもたらすことが示唆された。

3. 抵抗性遺伝資源を用いた WYMV 病原型の判別品種体系の確立

汁液接種による検定を基本として、①判別品種体系と病原型の決定、②主要検定圃場から分離したWYMV株の病原型の決定とそれらに対する抵抗性遺伝資源の提示、を試みた。

はじめに、54品種から、判別品種を選抜した。WYMVの病原型は、「フクホコムギ」または「早熟赤毛」に対する病原性の有無により、2つの系統に類別が可能と考えられた。さらに、「北海240号」は、いずれの系統にも抵抗性遺伝資源となりうることが明らかになった。

ついで、国内の主要な3か所のWYMV抵抗性検定圃場から採取したWYMV株の病原型の判別を、これらの判別品種を用いておこなったところ、「フクホコムギ」を侵すが「北海240号」を侵さないⅠ型、「フクホコムギ」および「北海240号」両品種を侵さないⅡ型の二つに類別された。

4. 判別品種体系に基づく日本各地の WYMV 株の病原型の類別

日本各地のコムギ縞萎縮病発生地からWYMV株22株を収集し、判別品種に対する反応を調べた。その結果、岩手県以北からは、Ⅱ型のみが採取された。宮城県以南は、ほとんどⅠ型が採取された。唯一、福岡県から、「北海240号」を侵す株(Yt株)

が採取され、これをⅢ型とした。Ⅲ型株である Yt 株は、「シロガネコムギ」を含む西日本向けの抵抗性品種の遺伝資源と推定される「関東 107 号」と「シラサギコムギ」を激しく侵した。

5. 型汚染地域の主要作付け品種の抵抗性

岩手県以北からⅠ型が採取されないこととこの地域での過去の作付け品種との関係を探る目的で、Ⅱ型汚染地域の主要な作付け品種のⅠ型株（T 株）に対する抵抗性を汁液接種により調べた。その結果、「ナンプコムギ」はもとより「タクネコムギ」、「ホロシリコムギ」、「チホクコムギ」、および「タイセツコムギ」はすべてⅠ型感受性であり、この結果からⅠ型がこの地域から採取されない理由は不明であった。

引用文献

- 1) Chen, J.; Chen, J.-P.; Yang, J.-P.; Cheng, Y.; Diao, A.; Adams, M. J.; Du, J. 2000. Differences in cultivar response and complete sequence analysis of two isolates of *wheat yellow mosaic bymovirus* in China. *Plant Pathology* 49 : 370-374.
- 2) 千葉恒夫, 小川奎, 渡辺健, 飯田幸彦. 1987. コムギ縞萎縮病に対する品種抵抗性の差違. 関東東山病虫研報 34 : 25-26.
- 3) Clark, M. F.; Adams, A. N. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34 : 475-483.
- 4) Hatta, K.; Ohto, Y.; Nakamura, K.; Ito, S.; Yoshikawa, R. 1997. Inheritance of resistance to *wheat yellow mosaic virus* (WYMV) in doubled haploid lines of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Proceedings of the 9th International Wheat Genetics Symposium* 3 : 276-278.
- 5) 飯田幸彦, 渡辺健, 戸嶋郁子, 小川奎. 1992. オオムギ縞萎縮ウイルス系統に対する大麦品種の抵抗性反応. *育種学雑誌* 42 : 863-877.
- 6) 鑄方末彦, 河合一郎. 1940. コムギ縞萎縮病に関する研究. *農事改良資料* 154 : 1-123.
- 7) 石川喜三郎, 野津原通, 西村春次. 1935. 小麦の育種試験に於けるモザイク病抵抗性の検定. *農業及び園芸* 10 : 2389-2396.
- 8) 柏崎 哲. 2000. オオムギ・コムギ縞萎縮病. *農業および園芸* 75 : 141-146.
- 9) Kashiwazaki, S.; Ogawa, K.; Usugi, T.; Omura, T.; Tsuchizaki, T. 1989. Characterization of several strains of *barley yellow mosaic virus*. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan* 55 : 16-25.
- 10) Konisi, T.; Ban, T.; Iida, Y.; Yoshimi, R. 1997. Genetic analysis of disease resistance to all strains of BaYMV in a chinese barley landrace, Mokusekko 3. *Theor. Appl. Genet.* 94 : 871-877.
- 11) Konishi, T.; Ordon, F.; Furusho, M. 2002. Reactions of barley accessions carrying different rym genes to BaYMV and BaMMV in Japan and Germany. *Barley Genetics Newsletter* 32 : 46-48.
- 12) Kusume, T.; Tamada, T.; Hattori, H.; Tsuchiya, T.; Kubo, K.; Abe, H.; Namba, S.; Tsuchizaki, T.; Kishi, K.; Kashiwazaki, S. 1997. Identification of a new *wheat yellow mosaic virus* strain with specific pathogenicity towards major wheat cultivars grown in Hokkaido. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan* 63 : 107-109.
- 13) 三宅瑞穂. 1938. 小麦品種の萎縮病抵抗性が土中病原体に及ぼす作用に就いて. *農業及び園芸* 13 : 2457-2464.
- 14) 小田俊介, 柏崎 哲. 1989. コムギ縞萎縮・ムギ類萎縮ウイルス抵抗性検定と抵抗性の系譜的考察. *NARC 研究速報* 6 : 1-6.
- 15) 小川奎, 渡辺健, 飯田幸彦, 千葉恒夫, 山崎郁子, 柏崎哲, 土崎常男. 1995. 茨城県におけるムギ類の土壤伝染性ウイルス病の発生生態と防除に関する研究. 第1報 病原ウイルスの系統と発生生態. *茨城農総セ農研研報* 2 : 1-52.
- 16) 大藤泰雄, 石黒潔. 2004. コムギ縞萎縮ウイルス (WYMV) を保毒する *Polymyxa graminis* 休眠胞子が圃場で増加する時期の推定. *北日本病虫研報* 55 : 59-63.
- 17) 斉藤康夫, 高梨和雄, 岩田吉人, 岡本 弘. 1964a. 土壤伝染性ムギウイルス病に関する研究. I 病原ウイルスの諸性質. *農技研報告* C17 : 1-22.
- 18) 斉藤康夫, 岡本 弘. 1964. 土壤伝染性ムギウイルス病に関する研究. V 品種抵抗性の検定. *農技研報告* C17 : 75-102.
- 19) 沢田栄寿. 1927. 小麦縞萎縮病予防に就いて.

- 病虫雑 14 : 444-449.
- 20) 宇杉富雄, 斉藤康夫. 1976. オオムギ縞萎縮ウイルスおよびコムギ縞萎縮ウイルスの純化と血清学的特徴. 日植病報 42 : 12-20.
- 21) 宇杉富雄, 桑原達雄, 土崎常男. 1984. 酵素結合抗体法 (ELISA) によるオオムギ縞萎縮病, コムギ縞萎縮病およびムギ類萎縮病の血清学的診断. 日植病報 50 : 63-68.
- 22) 宇杉富雄, 柏崎哲, 土崎常男. 1985. オオムギ縞萎縮ウイルスの系統について. 関東東山病虫研報 32 : 53-55.
- 23) 和田榮太郎, 深野 弘. 1935a. エローモザイクに対するコムギ品種の抵抗性. 農業及び園芸 10 : 153-164.
- 24) 和田榮太郎, 深野弘. 1935b. 本邦各地土壤に於けるコムギモザイク病原の分布. 農業及び園芸 10 : 1748-1752.
- 25) 和田榮太郎, 深野弘. 1935c. 小麦品種のグリーンモザイク抵抗性とエローモザイク抵抗性の差別に依る両病型の検定. 農業及び園芸 10 : 1738-1747.
- 26) 和田榮太郎, 深野弘. 1936. 小麦 yellow mosaic 病に於ける系統の存在. 農業及び園芸 11 : 2697-2702.
- 27) 和田榮太郎, 深野弘. 1937. 小麦モザイク病の種類と其差異並に判別法に就て. 農事試彙報 3 : 93-124.

Studies on the Pathotypes of Japanese Isolates of *Wheat Yellow Mosaic Virus* and Their Distribution in Japan

Yasuo OHTO

Summary

Wheat yellow mosaic is a soil-borne viral disease. This disease was first reported in Japan over 90 years ago. Though the area of land used for domestic wheat production has increased recently, the major cultivars being planted are still susceptible to the disease. For example, the cultivar “Norin 61,” which was developed as a resistant cultivar over 50 years ago and is still one of the leading varieties in most western prefectures, has become susceptible. Under such circumstances, yellow mosaic disease of wheat is an obstacle to increased wheat production in Japan. Resistant cultivars are the most effective countermeasure to wheat yellow mosaic disease. It has been speculated that there are strains of WYMV with different levels of pathogenicity. However the difficulty in comparing the pathogenicities of WYMV isolates has prevented breeders from investigating the problem. The pathogen *Wheat yellow mosaic virus* (WYMV) and the basic ecological aspects of the disease have been studied. However, the pathogenicities of different virus strains, which is essential knowledge for the breeding of resistant cultivars, has not been determined. Consequently, up until now, differences in the pathogenicities of viral strains have not been considered in breeding programs.

In this study, I first present details about the inoculation tests to check the resistance of wheat cultivars to WYMV. Secondly, I determined differences in the pathogenicity of Japanese WYMV isolates based on their ability to infect different cultivars selected from resistant gene resources. Finally, the pathogenicities of WYMV isolates from the principal areas infested with WYMV in Japan were determined using differential cultivars.

1) Confirmation of the presence of pathotypes in WYMV

The difference in pathogenicity between two WYMV isolates (WYMV-T from Ibaraki prefecture and WYMV-M from Iwate prefecture) was confirmed by determining the resistant reaction of some wheat cultivars employing mechanical inoculation under a controlled climate. WYMV-M did not infect cultivars “Fukuhokomugi” and “Soujyukuakage,” whereas WYMV-T did infect these cultivars. This showed the presence of WYMV strains with different pathogenicities.

2) The effects of temperature on the resistant reaction of wheat cultivars to WYMV

It has been reported that the resistant reaction of some wheat cultivars including “Nanbukomugi” in the infested soil taken from same field was different between northern and southern Japan. The winter climate, especially in terms of temperature, is very different between the two areas. The effects of temperature on the resistant reaction of wheat cultivars were investigated by using two wheat cultivars (“Nanbukomugi” and “Fukuhokomugi”) and two WYMV strains (WYMV-T, and -M). The reactions of those two cultivars to the two WYMV isolates were compared at 5 °C and 10 °C. “Fukuhokomugi” was susceptible to WYMV-T both at 5 and 10 °C, while “Nanbukomugi” was resistant to WYMV-T at 10 °C

but not at 5 °C. “Fukuhokomugi” showed immunity both at 5 and 10 °C to WYMV-M, while “Nanbukomugi” was susceptible both at 5 and 10 °C. When a cultivar showed susceptibility to any of the WYMV isolates, virus incidence and disease severity were higher at 5 °C than 10 °C. These results suggest that temperature affects the reaction of wheat cultivars to WYMV, and that the effect of temperature is different between cultivars. It was also suggested that continuous low temperature (5 °C) after mechanical inoculation could promote symptom expression in susceptible cultivars. Consequently, this temperature is recommended when the resistance of wheat cultivars to WYMV is assessed.

3) The establishment of a differential cultivars system using resistant gene resources to discriminate the pathogenicity of WYMV strains

Based on the resistant reaction to mechanically inoculated WYMV isolates, the three cultivars “Fukuhokomugi,” “Soujyukuakage,” and “Hokkai 240” were selected from 54 cultivars as differential cultivars that can discriminate the pathogenicity of two WYMV isolates (WYMV-T and WYMV-M). Cultivars “Fukuhokomugi” and “Soujyukuakage” showed resistance to WYMV-M, but were susceptible to WYMV-T. Cultivar “Hokkai 240” showed resistance to both isolates.

In the next part of the study, the pathogenicities of Japanese WYMV isolates from three principal test fields for WYMV resistance were tested against differential cultivars. A total of five isolates including WYMV-T and -M were divided into two types. Type I (which included isolate WYMV-T) can infect “Fukuhokomugi” and “Nanbukomugi” but “not Hokkai 240”. Type II (which included isolate WYMV-M) can infect “Nanbukomugi” but not infect “Fukuhokomugi” or “Hokkai240”.

4) Classification of Japanese WYMV isolates into three types based on the reaction of the differential cultivars

A total of 22 WYMV isolates were collected from Hokkaido to Kyushu. Their pathogenicities were classified into types based on their pathogenicity to the differential cultivars. All the isolates from the northern prefectures (Iwate, Hokkaido, Aomori) were classified as Type II. All the isolates from south of Miyagi prefecture were classified as Type I except isolate WYMV-Yt from Fukuoka prefecture. WYMV-Yt was collected from the resistant cultivar “Shiroganekomugi.” It was classified as Type III because it can infect “Hokkai 240.” This isolate can also severely infect “Kanto 107” and “Shirasagikomugi,” which are supposed to be resistant gene resources for resistant cultivars for western Japan.

5) The resistance of cultivars that had been cropped in the area where only WYMV Type II was isolated

It was reported in *Barley yellow mosaic virus* (BaYMV) that the dominant type of BaYMV in an area and the resistance of cultivars cropped in the area were closely related. In the case of WYMV, cultivars resistant to Type II (mainly “Norin 61” and “Fukuhokomugi”) were cropped in areas where only WYMV Type I was isolated. However, the resistance to Type I was not clear in cultivars which had been cropped in the area where only Type II was isolated. To clarify the relationship between the distribution of WYMV types and the resistance of cultivars cropped previously, four cultivars (“Takunekomugi,” “Horoshirikomugi,” “Chihokukomugi,” and “Taisetukomugi”) cropped in Hokkaido prefecture, and “Nanbukomugi” cropped in Aomori and Iwate prefectures were tested for their resistance to WYMV Type I (isolate WYMV-T) in mechanical inoculation tests. All cultivars tested were susceptible to Type I in the mechanical inoculation test. From this result, it is difficult to determine why WYMV Type I was not collected from Hokkaido, Aomori and Iwate prefectures.