

麦斑葉モザイク病ウイルス保毒種子の幼苗検定法

井 上 忠 男

北海道で過去に栽培されたビール大麦の中、シバリー、北大1号、ハルビン二条、モロビヤなどの品種は、栽培を続けている間に年々不稔の発生が著しくなり、つぎつぎに品種を更新せざるを得なかったと云われる（山本，1942）。——すでに著者ら（高橋・赤木・井上，1957）が明らかにした知見により、この不稔の大部分は麦斑葉モザイク病によるものであると考えられる。——これら栽培品種更新の事実、麦斑葉モザイク病保毒種子の混在する品種の栽培を続けると、年を追って種子の保毒率が増加し、本病による減収は次第に重大なものとなり、ついにはその品種は栽培不能になることもあることを示している。また、麦斑葉モザイク病保毒種子からの病植物は、たんにその個体の生産力が低くだけでなく、接触伝染源となつて被害を増大することも考えられる。したがつて、保毒粒混在種子を翌年度の栽培に用いないようにすることは、本病防除法の1つとして消極的ながら有効な方法である。このためには、まず保毒種子の幼苗検定法を確立して、実際防除にそなえる必要がある。

麦斑葉モザイク病の種子伝染による大麦幼苗の病徴は、Mckinney (1953) も指摘したように、麦の品種、温度、光量などの条件によつては、まったくあらわれないか、あるいは非常に不明瞭であり、相当熟練していても病徴の有無を判定できない場合がある。Hampton, Sill and Hansing (1957) は、本病種子伝染の病徴が発現するには温度および光量の影響が大きく、最適条件には 10,000 F. C. の明るさと、70~80°F の温度を保つ必要があるとしている。

温度や光量などの環境を自由に調節できる設備を用い、保毒麦粒からのすべての幼苗に病徴があらわれるような条件で試験するのが最良の策と思われるが、このような設備はどこでも簡単に利用するわけにゆかない。また、たとえ利用できたにしても、多数の種子標本を一時に調べるにはかなり広い場所が必要なので、実行には種々の困難が伴う。そこで著者は普通のガラス室あるいは温室内で、比較的多数の種子標本でも処理できる方法（接種判定法と呼ぶことにする）をとつた。接種判定法は或程度接種に手間がかかり、かならずしも最良の方法とは云えないかもしれぬが、確実に保毒種子を検出できて、好成績が得られている。本報は接種判定法の実技と、応用範囲および実際の幼苗保毒検定実施例について述べたものである。

種子伝染病徴の初発葉位

麦斑葉モザイク病ウイルス（以後 BSMV と略記）種子伝染の病徴はかならずしもすべて第1葉からあらわれるとは限らない。多数の大麦品種の保毒種子（前年度 BSMV を接種して発病させた個体に生じた種子）を播いて、種子伝染病徴の発現を第3葉まで観察した。第1表に調査結果の一部を示す。

六条大麦（稈麦を含む）はどの品種でも、種子伝染病徴をあらわす幼苗のすべてに第1葉から病徴がみられ、第2、3葉に病徴が初発する例はなかった。また2条大麦の多くの品種でも大多数の保毒株は第1葉で検出できたが、かならずしも全部の保毒株が第1葉から病徴をあらわすとは限らず、第2、3葉あるいはそれ以後になつて初発病徴のあらわれる例が普通にみうけられた。これら種子

第 1 表 麦斑葉モザイク病種子伝染病徴の初発葉位

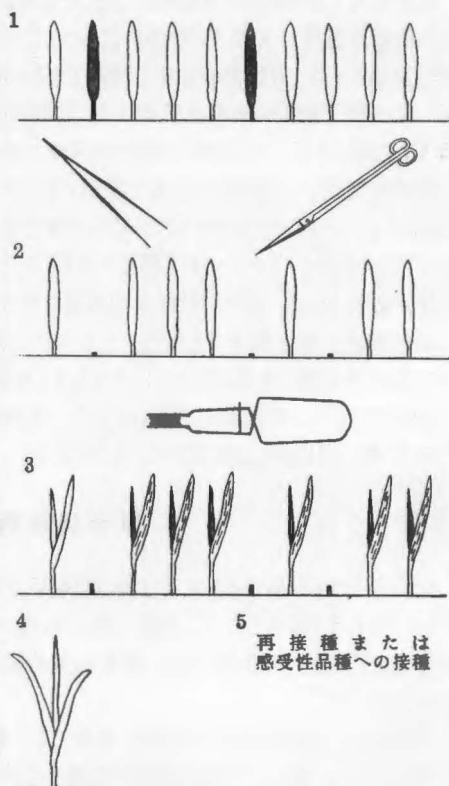
品 種	条性、皮稈	調査株数	種子伝染病徴初発株数			保毒率 %	第1葉で の保毒検 出率 %
			第1葉	第2葉	第3葉		
赤 神 力	6 稈	790	494	0	0	62.5	100
大 麦 2 号	6 皮	861	406	0	0	47.2	100
Atlas	〃	664	465	0	0	70.0	100
ハ ル ビ ン二条	2 皮	791	458	10	0	59.2	97.8
春 星	〃	1171	705	52	1	64.8	93.0
シ バ リ ー	〃	1492	940	12	2	64.0	98.5

伝染病徴の観察は盛夏を除き温室内で色々な時期（平均気温約 18～27℃）に行なつたものであり、Hampton らの云う最適条件にかなわぬ場合が多く、したがつて保毒幼苗でありながら無病徴のものを或程度見落しているかもしれない。なお、実験に用いた品種は第 1 表にあげたものを含めて次のとおりである。

稈 麦 改良坊主麦、愛媛稈 2 号、白トウ、赤神力、コピンカタギ

六条皮麦 畿内 42 号、早生細稈、剣吉 3 号、二本三、三月、会系 44 号、細麦、細稈 1 号、ドイツ春播、宮城 123 号、百足麦、黒麦 148 号、会津 5 号、会津 6 号、中泉在来、伊達 2 号、勝関、大麦 2 号、Chevron、Treb I, Atlas, Peruvian, Vaga, Abyssinia, Arlington, Nepal

二条大麦 北大 1 号、北大 4 号、北大 9 号、口 8 号、口 12 号、口 50 号、口 59 号、独 17 号、独 61 号、モラビヤ、ハルビン二条、旗風、日星、春星、エビス、サルトン、シドニー、ゼクサンデル、アサヒ 5 号、京大中生、シバリー、二角シバリー、秋播シバリー、フレデリクソン、ゴールドメロン 1 号、香川ゴール、博多 2 号、Victorie, Nigrinudum, Goldfoil



感受性品種での接種判定法

BSMV 感受性品種を用い接種判定法で種子の保毒検定を行なうには、第 1 葉の発病調査、汁液接種による発病調査（健全株の判定）、無病徴株の検討、の 3 段階にわけて順次に調べて

第 1 図 接種判定法による大麦種子の BSMV 保毒検査法

ゆく。なお、斑葉病 (*Pyrenophora graminea* (RABH.) ITO et KURIB.) の種子伝染病徴は、環境条件によつては BSMV の種子伝染病徴との区別が非常に困難なので、斑葉病保菌のおそれのある種子はあらかじめ種子消毒してから BSMV 保毒の有無を調べる。第 1 図に接種判定法の手順を図示した。

第 1 葉の発病調査 あらかじめ少数 (約 30~50 粒) の種子を播いて、第 1 葉の種子伝染病徴からその種子標本の大よその保毒率を調べておく。保毒率が比較的高いもの (例えば約 20 % 以上) では 50~100 粒の種子を用いれば十分であるが、保毒率の極めて低いものではさらに多数の種子を用いなくてはならない。用いる種子標本の大きさが大きいほど真の値に近い保毒率が求められるが、実際的にはあまり大きな種子標本について調査するのは困難である*。

まず、ガラス室あるいは温室内に催芽種子を播きつける。播種間隔は 2×3cm 程度でよく、とくに既報 (1957) のように広い間隔をとる必要はない。ただし、接触伝染による調査結果の混乱をさけるため (接触伝染の起る機会は稀であり、また起つたとしても多くの場合容易にそれと判定できるが)、室内にはあまり外界の風を強く入れぬようにすることがのぞましい。第 1 葉が伸長して十分に展開するまでの間に、少なくとも 2 回以上調査して、その都度種子伝染による発病株をとり除く。発病株の葉先をピンセットでつまみ、細長い缺で地際から摘みとればよい。この際周囲の健全個体に強く触れないように注意する。

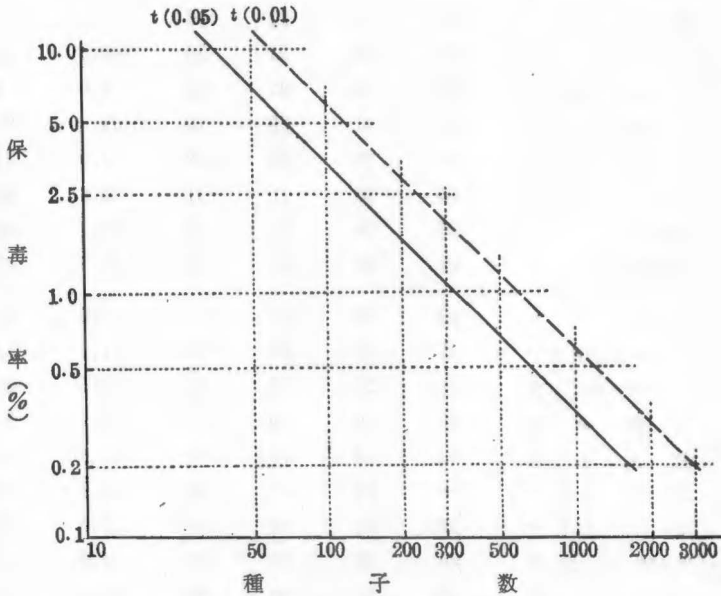
汁液接種による発病の調査 第 1 葉に種子伝染病徴のあらわれた個体を取り除いた後、残つた個体 (健全個体および無病徴の保毒個体) 全部に BSMV を汁液接種する。これはウイルスの植物体内での干渉を利用し、元来健全であつた個体だけに汁液接種による病徴を発現させるためである。接種成功率を高めるために、接種源には濃厚な病汁液 (5~10 倍) を用い、あらかじめ接種個体にカーボランダムをふりかけるとともに、汁液中にも少量加えておく。

* 保毒検査に用いる種子標本の大きさは右図によつて求めた。図は 0.2~10.0 % 保毒の各総数 3000 粒の種子から、30 粒ずつ 100 回任意抽出を行ない、種子の各保毒率に対してとるべき最小限の標本の大きさを次式により求めたものである。

$$n = \frac{s^2 t^2}{l^2}$$

s : 標準偏差
 l : 0.2 p
 (p : 保毒率)

図から明らかなように、保毒率 1 % の種子の幼苗検定では、危険率 5 % または 1 % で、少なくともそれぞれ約 350 あるいは 650 粒以上の種子を用いる必要がある。



保毒率幼苗検定のための種子標本の大きさ

汁液接種を手早く、かつ全個体にできるだけ斉一に行なうために、第1図中に示したような器具を作つて用いた。コルネットピンセットの先を平行に伸ばし、その両先端に約2×0.8cmのスポンジゴム片をとりつけ、力を加えない状態で両方のスポンジゴム片が軽く一樣に合わさるようにしたものである。接種の場合、病汁液にひたした両ゴム片の間に麦葉を軽くはさみ、葉の基部から先端に向つてしごく。この際ゴム片の面を葉面に対し少し傾けるようにしてしごとく葉全面に接種できる。さらに反対側の葉面に対しても同じように接種すれば、接種はいよいよ確実になる。

接種後4～7日すれば、展開中の第2葉あるいは第3葉に病徴があらわれはじめる。汁液接種による病徴は種子伝染による病徴とは明らかに区別できる。種子伝染による第2葉あるいは第3葉の病徴は、多くの場合モザイク症状が軽く、灰白～黄白色の細線あるいは比較的黄色の度合の少ないまばらな黄緑色斑点であり、一般に necrosis はみられない。これに比べ、汁液接種の病徴は、まず前述の部位に黄色の度合の強い黄緑色斑点があらわれ、その後数日間に展開する部位は黄色

第2表 接種判定法による麦斑葉モザイク病保毒種子の検査（感受性大麦）

品 種	調査株数	第 1 葉 発病株数	接種株数	接種に よる発 病株数	保 毒 率 (%)		第2葉後 期以 発病 株数	病徴判定 の 難 易	
					第1葉判定	接種判定			
6条稈麦	赤 神 力	96	75	21	21	78.2	78.2	0	易
	白 ト ウ	38	5	33	33	13.2	13.2	0	〃
	コビンカタギ	80	34	46	46	42.5	42.5	0	〃
	愛媛稈2号	96	4	92	92	4.2	4.2	0	〃
6条皮麦	細 稈 1 号	99	40	59	59	40.4	40.4	0	〃
	大 麦 2 号	89	41	48	48	46.1	46.1	0	〃
	百 足 麦	89	9	80	80	10.1	10.1	0	〃
	畿 内 42 号	98	2	96	96	2.0	2.0	0	〃
	二 本 三	97	64	33	33	66.0	66.0	0	〃
	宮 城 123 号	100	8	92	92	8.0	8.0	0	やや難
	伊 達 2 号	100	21	79	79	21.0	21.0	0	易
	会 津 5 号	95	36	59	59	37.9	37.9	0	〃
	剣 吉 3 号	99	88	11	11	88.8	88.8	0	〃
	Atlas	55	38	17	17	69.1	69.1	0	〃
Chevron	99	48	51	51	48.5	48.5	0	〃	
2条皮麦	サ ル ト ン	50	18	32	31	36.0	38.0	1	やや難
	ゴールデンメロン	95	20	75	73	21.1	23.2	2	難
	ハルビン二条	97	21	76	71	21.6	27.8	5	〃
	京 都 中 生	99	19	80	76	19.2	23.2	4	極 難
	北 大 1 号	84	13	71	69	15.5	17.9	2	難
	北 大 4 号	96	54	42	42	56.3	56.3	0	やや難
	モ ラ ビ ヤ	98	32	66	64	32.6	34.7	2	難
	ア サ ヒ 5 号	99	24	75	75	24.3	24.3	0	やや難
	旗 風	80	34	46	46	42.5	42.5	0	〃
	春 星	94	30	64	61	31.9	35.1	3	難

部の多いはげしいモザイク症状を呈する。病徴が最初にあらわれる部分の健全緑色部との境界にV字状の褐変帯のみられることが多い。比較的高温時には一般に病徴がはげしく、necrosisも強くあらわれる。このように汁液接種による幼苗の病徴は感染初期にとくに激しいモザイクおよびnecrosis症状となつてあらわれる外、接種葉にも褐色の壊死斑となつてあらわれる（品種によっては接種葉の病徴がはつきりしないものもある）。

このような病徴の観察から、汁液接種により発病した個体は、保毒検定の上では健全個体として記録する。

無病徴株についての検討 汁液接種しても発病しなかつた個体があれば、一応種子伝染による保毒個体とみなして、さらに詳しく種子伝染による病徴の有無を調べる。何等病徴の認められない個体は再度汁液接種して発病の有無を調べるか、あるいは第2葉以後の葉の汁液をとり、感受性大麦あるいは小麦に接種して保毒の有無を調べる。

以上の調査結果をまとめた上で、供試した種子標本の保毒率を決定する。

接種判定法による保毒率調査の実例 第2表に接種判定法を用いた保毒率調査の実験例を示す。第1表にあげた実験結果と同様に、稈麦および六条皮麦では第1葉観察による発病率と、接種判定法による保毒率とはまったく一致し、第2葉以後に種子伝染病徴の初発のないことが示されている。二条大麦では大部分の品種で第1葉発病率と接種判定法による保毒率とが一致せず、第2葉以後になつても種子伝染病徴のあらわれない個体のあることがわかる。六条大麦では種子伝染による病徴の判定は容易であるが、二条大麦では一般に病徴の不明瞭な個体がかかりあつて、判定が困難な場合がある。これらの事実から、ここに報告した接種判定法は種子伝染病徴の判定が困難な二条大麦に応用して、とくに有効な方法と云える。

抵抗性品種での接種判定法

抵抗性品種でもBSMVに感染し発病すると種子伝染が起る。抵抗性品種のBSMV保毒の有無の検査にも接種判定法を応用できる。感受性品種の場合と同じような操作手順に従えばよいが、接種源には病原性の強いウイルス系統を用いる。抵抗性品種幼苗の汁液接種による病徴は、感受性品種のあらわす病徴に比べて多少モザイク症状が軽く、necrosisが少ない。また、病徴の発現がおくれる。しかし、種子伝染による病徴とは明らかに区別できる。Imperial, 呼蘭, Modjo, トルコ産の幾つかの大麦などBSMV抵抗性品種での種子伝染病徴は、著者のこれまでの観察範囲では、すべて幼苗第1葉からあらわれ、第2葉以後に初発した例はまだ見ていない。このため、とくに接種判定法を用いて調べる必要はないようにも思われるが、種子に含まれるウイルス系統や実験環境によつては、かならずしも常にすべてのBSMV保毒株が第1葉から病徴をあらわすとは云えない。

前年度に接種し、発病させた抵抗性品種の発病個体からとつた種子について、BSMV保毒検査を接種判定法によつて行なつた結果が第3表である。表中のT101～T573はトルコ産大麦であるが、この中には抵抗性程度の低いものも含まれている（品種のBSMV抵抗性程度については、あらためて別報で検討する予定である）。

トルコ産大麦の大部分は第1回の接種で健全株を判定することができた。また、抵抗性程度の比較的高い呼蘭では、2回目の接種で全部の健全個体が発病し、保毒検査の目的が達せられた。

第 3 表 接種判定法による麦斑葉モザイク病保毒種子の検査（抵抗性大麦）

品 種	調査株数	第 1 葉 発病株数	第 1 回接 種による 病	第 2 回接 種による 病	接種に よる発 病株数*	保毒率 %	病 徴
T 101	60	16	48/48	—	48	26.7	M~S
T 121	86	40	46/46	—	46	46.5	S
T 169	88	46	42/42	—	42	52.3	M
T 239	50	30	20/20	—	20	60.0	M~S
T 245	113	18	95/95	—	95	15.9	M~S
T 251	115	56	59/59	—	59	48.7	M~S
T 433	115	19	96/96	—	96	16.5	M~S
T 434	105	34	71/71	—	71	32.4	M, S
T 462	90	26	64/64	—	64	28.9	S
T 508	65	23	42/42	—	42	35.4	F~M~S
T 567	28	8	22/22	—	22	28.6	M
T 573	87	17	69/70	1/1	70	19.6	S
Modjo	115	60	54/55	1/1	55	52.2	M~S
呼 蘭	229	3	221/226	5/5	226	1.3	M~S
Imperial	122	8	107/114	5/7**	112	6.6	M~S
						(114***)	

* 元来健全株数

** 無病徴の 2 個体は感受性大麦に接種して調べた結果健全個体であつた

*** (**) の 2 個体を含む

F, M, S は種子伝染病徴の程度で弱, 中, 強を示す

抵抗性程度の高い Imperial は第 2 回の接種でも, なお保毒の有無を判定できない無病徴個体があつたが, これらは感受性大麦への接種試験により, 無病健全個体と判定された。この結果から, 抵抗性品種での BSMV 保毒検査にも接種判定法は十分応用できることが明らかになった。しかし, 感受性品種の場合に比べるとかなり能率が落ちるので, ここに報告した接種判定法よりさらに有効な方法を考える必要があるかもしれない。

この実験には西門義一先生の御懇切な御指導をいただいた。ここに厚く感謝の意をあらわす。

また, 文献の便宜をはかつていただいた東京大学宮下真一氏に感謝する。

摘 要

麦斑葉モザイク病保毒大麦種子の幼苗検定のために, 接種判定法を考案し好成績を得た。この方法は病原ウイルスの植物体内での干渉を応用したもので, 温度, 光量などの実験条件にあまり影響されずに種子伝染株を検出できる。1) 第 1 葉の種子伝染病徴の調査, 2) 汁液接種による発病調査 (健全株の判定), 3) 無病徴株のウイルス保毒の有無の検討, と 3 段階を順次に調査して全種子伝染株を検出する方法である。

稈麦を含む六条大麦での麦斑葉モザイク病種子伝染病徴は, 接種判定法によらずとも幼苗第 1 葉の病徴観察で比較的容易に判定できる。しかし, 二条大麦では第 1 葉での病徴判定が困難な保

毒株があるので、接種判定法を用いるのが有効である。

感受性品種および抵抗性品種での種子保毒検査実施例をあげて、接種判定法の有用性を明らかにした。

文 献

Hampton, R. E., Sill, W. H., Jr. and Hansing, E. D. 1957. Barley stripe mosaic virus in Kansas and its control by a greenhouse seed-lot testing technic. *Plant Dis. Repr.* 41: 735—740.

McKinney, H. H. 1954. Culture method for detecting seed-borne virus in Glacier barley seedlings. *Plant Dis. Repr.* 38: 152—162.

高橋隆平, 赤木温郎, 井上忠男. 1957. ビール大麦の半不稔性(提灯穂)と麦斑葉モザイク病. *農学研究* 44: 147—159.

山本幸雄. 1942. 麦酒麦の提灯穂に関する研究報告. 第1報. *大日本ビール科研生物学業績* 1: 1—10.