



| | |
|------------------|---|
| Title | オオムギ斑葉モザイク病の簡易診断法 |
| Author(s) | 村山, 大記; MURAYAMA, Daiki; 横山, 竜夫 他 |
| Citation | 北海道大学農学部邦文紀要, 5(3), 151-155 |
| Issue Date | 1965-10-08 |
| Doc URL | https://hdl.handle.net/2115/11744 |
| Type | departmental bulletin paper |
| File Information | 5(3)_p151-155.pdf |



オオムギ斑葉モザイク病の簡易診断法

村山大記・横山竜夫

(北大農学部植物学教室)

A rapid diagnosis method for barley stripe mosaic disease

By

DAIKI MURAYAMA and TATSUO YOKOYAMA

(Laboratory of Plant Pathology, Faculty of
Agriculture, Hokkaido University)

I. 緒 言

オオムギ斑葉モザイク病は種子伝染性のウイルス病で、わが国では主としてビールムギにその発生が知られている。^{7,12,20} 本病は圃場で種子伝染、花粉伝染および接触伝染が認められており、虫媒伝染や土壌伝染は否定されている。^{1-3,5-7,9-11,14} したがって本病の防除対策としては健全種子の播種および発病株の抜き取りなどが必要である。このために2,3の検定法がすでに報告されているが、血清学的方法による検定法に関する報告は少ないようである。^{4,8,13,15,16,19} 著者らはオオムギ斑葉モザイクウイルス (BSMV) に対する抗血清¹⁸を用いスライド法を試みて若干の結果を得たのでここに報告する。

本研究を行なうに当り、オオムギ種子を分譲頂いた北海道農業試験場大島信行技官、元北海道立農業試験場北見支場長楠隆氏に衷心より感謝する次第である。

II. 材料と方法

検定に用いたオオムギはモラビアの保毒ならびに健全種子、札幌六角の保毒種子、六条皮ムギ (9品種)、二条皮ムギ (4品種) およびハルピン二条不稔系統 (10系統50個体) の健病種子を播種したものである。各種子はいずれも素焼4寸鉢に10粒ずつ播種し、第3葉の抽出しはじめたものを供試した。血清検定にはスライド法と沈降反応混合法を合わせ行なったが、スライド法の場合は滅菌乳鉢中で莖葉を圧搾し、ガーゼまたは脱脂綿を用いて搾汁したものを、混合法では搾汁液を一夜凍結させ、融解後遠心分離 (5,500×g, 5 min) した上清を生理食塩水で5倍に稀釈して抗原とした。供試抗血清は分画遠心法に

よる部分純化ウイルスを免疫原とし、adjuvant法により家兎の脾肉に注射して得たもので、混合法による抗体価は1:32,000であった。スライド法では生理食塩水で1:16稀釈し、混合法では同じく1:16から1:256に2倍段階稀釈したものをを用いた。

III. 実験結果

実験第1

BSMV保毒オオムギ (札幌六角およびモラビア) ならびに健全オオムギ (モラビア) の種子を播き、第1葉に現われた病徴を観察して病徴発現程度の顕著なもの、不明瞭なもの、および無病徴のものをそれぞれ選び、第3葉が抽出した時に第1葉を切りとって血清検定に用いた。対照としては健全オオムギ (モラビア) の同時期の第1葉を用いた。結果は第1表および第2表に示したように外観上病徴の顕著なものでは両品種とも、スライド法および混合法による血清検定の結果、全てに反応が認められた。また病徴の不明瞭なものや、あるいはまったく病徴が認められない株からも血清診断によりウイルスが検出された。病徴と血清反応の強さとはかならずしも一致しなかった。この検定結果から混合法およびスライド法の検定は一致し、スライド法による検定は信頼性の高いものと考えられる。

実験第2

同様にして北海道立北見農試産のオオムギ各品種あるいは系統について血清検定を行なった。

第3表に示したごとく、供試63品種あるいは系統個体中、六条皮ムギ9品種、二条皮ムギ4品種およびハルピン二条不稔系統*のうちの21~25系統の各個体では、病

* 北海道立北見農試でハルピン二条の集団から不稔の多い個体を選び、以後系統として維持されてきているもの。BSMVの保毒率が高い系統群と低い系統群がある。

第1表 モラビアの保毒検定

| 検定 番号 | 病徴発現 の程度 | スライド法 | 混合法 | | | | | 対照 |
|----------|-------------|-------|---------|----|----|-----|-----|----|
| | | | 抗血清希釈倍数 | | | | | |
| | | | 16 | 32 | 64 | 128 | 256 | |
| 1 | 顕著 | + | + | + | + | ± | - | |
| 2 | | + | + | + | + | ± | - | |
| 3 | | + | + | + | ± | - | - | |
| 4 | | + | + | + | + | + | - | |
| 5 | | + | + | + | + | ± | - | |
| 6 | | + | + | + | + | + | - | |
| 7 | | + | + | + | + | + | - | |
| 8 | | + | + | + | + | + | - | |
| 9 | | + | + | + | + | + | - | |
| 10 | | + | + | + | + | + | - | |
| 11 | 不明瞭 | + | + | ± | - | - | - | |
| 12 | | - | - | - | - | - | - | |
| 13 | | + | + | + | ± | - | - | |
| 14 | | ± | ± | - | - | - | - | |
| 15 | | + | + | ± | - | - | - | |
| 16 | | - | - | - | - | - | - | |
| 17 | | + | + | + | + | + | - | |
| 18 | | + | + | + | + | + | - | |
| 19 | | + | + | + | + | + | - | |
| 20 | | + | + | + | + | ± | - | |
| 21 | 無病徴 | + | + | ± | - | - | - | |
| 22 | | + | + | + | ± | - | - | |
| 23 | | - | - | - | - | - | - | |
| 24 | | - | - | - | - | - | - | |
| 25 | | - | - | - | - | - | - | |
| 26 | | + | + | + | ± | - | - | |
| 27 | | - | - | - | - | - | - | |
| 28 | | ± | ± | - | - | - | - | |
| 29 | | + | + | + | + | + | - | |
| 30 | | + | + | + | + | + | - | |
| 31 | | + | + | + | + | + | - | |
| 32 | | + | + | + | + | ± | - | |
| 33 | | + | + | + | + | + | - | |
| 34 | 対照 (健全株) | - | - | - | - | - | - | |
| 35 | | - | - | - | - | - | - | |
| 36 | | - | - | - | - | - | - | |
| 37 | | - | - | - | - | - | - | |
| 38 | | - | - | - | - | - | - | |
| 39 | | - | - | - | - | - | - | |
| 40 | | - | - | - | - | - | - | |

第2表 札幌六角の保毒検定

| 検定 番号 | 病徴発現 の程度 | スライド法 | 混合法 | | | | | 対照 |
|----------|-------------|-------|---------|----|----|-----|-----|----|
| | | | 抗血清希釈倍数 | | | | | |
| | | | 16 | 32 | 64 | 128 | 256 | |
| 1 | 顕著 | + | + | + | ± | - | - | |
| 2 | | + | + | ± | - | - | - | |
| 3 | | + | + | + | + | + | - | |
| 4 | | + | + | + | ± | - | - | |
| 5 | | + | + | + | - | - | - | |
| 6 | | + | + | + | - | - | - | |
| 7 | | + | + | + | + | + | - | |
| 8 | | + | + | + | + | + | - | |
| 9 | | + | + | + | + | + | - | |
| 10 | | + | + | + | + | + | - | |
| 11 | | + | + | + | + | + | - | |
| 12 | | + | + | + | + | + | - | |
| 13 | | + | + | + | - | - | - | |
| 14 | | + | + | + | + | + | - | |
| 15 | | + | + | + | + | - | - | |
| 16 | | + | + | + | + | - | - | |
| 17 | 不明瞭 | + | + | + | + | + | - | |
| 18 | | + | + | + | + | + | - | |
| 19 | | + | + | + | + | ± | - | |
| 20 | | - | - | - | - | - | - | |
| 21 | | + | + | + | + | ± | - | |
| 22 | | + | + | + | + | ± | - | |
| 23 | | + | + | + | ± | - | - | |
| 24 | | + | + | + | ± | - | - | |
| 25 | 無病徴 | - | - | - | - | - | - | |
| 26 | | + | + | ± | - | - | - | |
| 27 | | - | - | - | - | - | - | |
| 28 | | ± | - | - | - | - | - | |
| 29 | | - | - | - | - | - | - | |
| 30 | | - | - | - | - | - | - | |
| 31 | | + | + | ± | - | - | - | |
| 32 | | + | + | - | - | - | - | |
| 33 | | + | + | ± | - | - | - | |
| 34 | | - | - | - | - | - | - | |
| 35 | | - | - | - | - | - | - | |
| 36 | | + | + | ± | - | - | - | |
| 37 | | - | - | - | - | - | - | |
| 38 | | - | - | - | - | - | - | |
| 39 | | - | - | - | - | - | - | |
| 40 | | + | + | ± | - | - | - | |

第3表 北見産オオムギ種子の保毒検定

| 品種・系統名 | 播種 粒数 | 発芽 粒数 | 病徴 発現 株数 | 血清検定結果 (検出株数) | |
|---------------------------|----------|------------|----------------|------------------|-----|
| | | | | スライド 法 | 混合法 |
| 六条皮麦 | 札幌六角 | 10 | 8 | 0 | 0 |
| | 大樹大 | 10 | 8 | 1 | 1 |
| | 伊達 | 10 | 7 | 0 | 0 |
| | 十支7174 | 10 | 10 | 2 | 2 |
| | 谷地麦 | 10 | 4 | 0 | 0 |
| | 判利在来 | 10 | 8 | 0 | 0 |
| | 豊山在来 | 10 | 6 | 0 | 0 |
| | 米国八号 | 10 | 8 | 0 | 0 |
| | テネシー冬大麦 | 10 | 8 | 0 | 0 |
| | 二条皮麦 | ダニッシュ・シバリー | 10 | 9 | 0 |
| 本台14471 | | 10 | 7 | 2 | 2 |
| 22~1 | | 10 | 2 | 0 | 0 |
| Slovakische Gerste | | 10 | 6 | 0 | 0 |
| ハルピン二条不稔系統 (保毒率の高い系統群) | 21~6 | 10 | 8 | 0 | 0 |
| | 21~7 | 10 | 7 | 0 | 0 |
| | 21~8 | 10 | 8 | 2 | 2 |
| | 21~9 | 10 | 7 | 0 | 0 |
| | 21~10 | 10 | 6 | 1 | 1 |
| | 22~6 | 10 | 7 | 0 | 0 |
| | 22~7 | 10 | 6 | 0 | 0 |
| | 22~8 | 10 | 8 | 0 | 0 |
| | 22~9 | 10 | 9 | 0 | 0 |
| | 22~10 | 10 | 3 | 0 | 0 |
| | 23~6 | 10 | 1 | 0 | 0 |
| | 23~7 | 10 | 6 | 0 | 0 |
| | 23~8 | 10 | 6 | 0 | 0 |
| | 23~9 | 10 | 5 | 0 | 0 |
| | 23~10 | 10 | 5 | 0 | 0 |
| | 24~6 | 10 | 8 | 0 | 0 |
| | 24~7 | 10 | 8 | 0 | 0 |
| | 24~8 | 10 | 5 | 1 | 1 |
| | 24~9 | 10 | 1 | 0 | 0 |
| | 24~10 | 10 | 3 | 0 | 0 |
| ハルピン二条不稔系統 (保毒率の低い系統群) | 25~6 | 10 | 3 | 0 | 0 |
| | 25~7 | 10 | 7 | 0 | 0 |
| | 25~8 | 10 | 9 | 0 | 0 |
| | 25~9 | 10 | 6 | 0 | 0 |
| | 25~10 | 10 | 6 | 0 | 0 |

| 品種・系統名 | 播種 粒数 | 発芽 粒数 | 病徴 発現 株数 | 血清検定結果 (検出株数) | |
|---------------------------|----------|----------|----------------|------------------|-----|
| | | | | スライド 法 | 混合法 |
| ハルピン二条不稔系統 (保毒率の高い系統群) | 36~6 | 10 | 3 | 2 | 2 |
| | 36~7 | 10 | 8 | 3 | 3 |
| | 36~8 | 10 | 2 | 0 | 0 |
| | 36~9 | 10 | 7 | 1 | 1 |
| | 36~10 | 10 | 5 | 2 | 2 |
| | 37~6 | 10 | 4 | 1 | 0 |
| | 37~7 | 10 | 9 | 5 | 5 |
| | 37~8 | 10 | 7 | 4 | 4 |
| | 37~9 | 10 | 3 | 2 | 2 |
| | 37~10 | 10 | 6 | 4 | 3 |
| ハルピン二条不稔系統 (保毒率の低い系統群) | 38~6 | 10 | 6 | 4 | 3 |
| | 38~7 | 10 | 7 | 3 | 3 |
| | 38~8 | 10 | 6 | 4 | 4 |
| | 38~9 | 10 | 6 | 4 | 3 |
| | 38~10 | 10 | 6 | 3 | 2 |
| | 39~6 | 10 | 4 | 4 | 4 |
| | 39~7 | 10 | 6 | 6 | 6 |
| | 39~8 | 10 | 6 | 4 | 4 |
| | 39~9 | 10 | 7 | 6 | 5 |
| | 39~10 | 10 | 7 | 7 | 7 |
| ハルピン二条不稔系統 (保毒率の低い系統群) | 40~6 | 10 | 4 | 2 | 2 |
| | 40~7 | 10 | 7 | 5 | 3 |
| | 40~8 | 10 | 4 | 4 | 3 |
| | 40~9 | 10 | 5 | 4 | 3 |
| | 40~10 | 10 | 6 | 5 | 5 |

第4表 罹病オオムギ根部からのウイルス検出

| 実験 番号 | 病徴発現 の程度 | 被検 部位 | スラ イド 法 | 血清反応 | | | | | 抗原 対照 |
|----------|-------------|----------|---------------|---------|----|----|-----|-----|----------|
| | | | | 混 合 法 | | | | | |
| | | | | 抗血清希釈倍数 | | | | | |
| | | | | 16 | 32 | 64 | 128 | 256 | |
| 1 | 明 瞭 | 茎葉 | + | + | + | + | + | + | - |
| | | 根 | - | - | - | - | - | - | - |
| 2 | やや明瞭 | 茎葉 | + | + | + | + | + | - | - |
| | | 根 | - | - | - | - | - | - | - |
| 3 | 不明瞭 | 茎葉 | + | + | + | + | + | - | - |
| | | 根 | - | - | - | - | - | - | - |
| 4 | 健 全 | 茎葉 | - | - | - | - | - | - | - |
| | | 根 | - | - | - | - | - | - | - |

徴の認められた全個体から血清検定によりウイルスの検出ができた。また 36~40 系統の各個体では同様に病徴の認められた個体の全てからウイルスが検出されたが、病徴の認められない個体からもかなりのウイルス保毒株が検出された。一般に前記品種あるいは系統では保毒株の検出数は少なかったが、この 36~40 系統の各個体では検出数がかなり多かった。すなわち 63 品種あるいは系統個体中、前者では 3 品種 (5 株) および 3 系統個体 (4 株) にウイルスが検出されたのに対し、後者では 24 系統個体 (90 株) に検出された。

実験第 3

モロビアを播種し、第 3 葉期に病徴の明瞭な株、やや明瞭な株、不明瞭な株および健全種子より得た株の 4 株につき、それぞれ茎葉部と根部とに分けて血清検定を試みた。結果は第 4 表に示した通りである。

すなわち、病徴の不明瞭な株においても茎葉部からはウイルスが検出されたが、根部からのウイルスの検出はどの株からも認められなかった。

IV. 考 察

オオムギ斑葉モザイク病は北海道産ビールムギに多発する種子伝染性のウイルス病であり、これの防除のためには種子の温度処理¹⁵⁾ や薬剤処理⁶⁾ もまったく効果が認められず、種子の保毒検定や幼苗検定が必要と考えられている。^{4, 8, 15)} 著者ら¹⁶⁾ はすでに BSMV について血清学的実験を行ってきたが、スライド法によっても本ウイルスの検出が可能なることを知った。それで本実験において保毒粒を含むオオムギ種子を播種し、得られた株の茎葉の一部を切りとって、スライド法によるウイルスの検出を行って罹病株の検定を試みた。保毒種子を播種した場合、幼苗に現われる病徴はオオムギの品種、温度や光量などの外圃条件が大きく影響し、70~80°F の温度と 10,000 F.C. の光量が病徴発現の最適条件と云われている。⁴⁾ したがって温度や光量がこれより多くとも少なくとも病徴の発現が弱まり、肉眼的観察による病徴の有無から、ただちに保毒の有無を判定できない。

肉眼で病徴が明瞭に認められた株のすべてから血清反応が明らかに認められた。しかるに病徴の弱い株、あるいは不明瞭な株からは混合法によりウイルスが検出されたにもかかわらず、スライド法により時にウイルスが検出できなかった場合があった。また病徴がまったく認められなかった株からも混合法によりかなりのウイルス保有株が検出できたが、これらのもののあるものではスライド法によるウイルス検出が不可能な場合があった。すな

わち、琴似産のモロビアおよび札幌六角、北見産の六条皮ムギ、二条皮ムギおよびハルビン二条不稔系統中の 21~25 系統の各系統個体のオオムギを用いた実験では、病徴の強弱に関係なくウイルス保有株では混合法およびスライド法のいずれによってもウイルスが検出されたが、北見産のハルビン二条不稔系統中の 36~40 系統の各系統個体のオオムギでは病徴がまったく認められない場合にも混合法により明らかにウイルスが検出されたが、スライド法によっては時にウイルスを検出することができず、鋭敏度の点からはスライド法は混合法に劣るが、このようにまったく病徴が認められない株や病徴不明瞭な株からもスライド法によりかなりのウイルス保毒株が検出されたことは重要である。また茎葉から血清学的にウイルスが検出された株の根部からは、両法いずれによっても反応が認められなかった。またウイルス濃度の低い場合、スライド法では時にウイルスを検出できなかった。

スライド法を行なう場合に茎葉を磨砕するよりもむしろ圧搾して汁液を得る方が反応結果を明瞭に区別でき、また搾汁液をガーゼや脱脂綿で濾過するか、低速遠心 (5,500×g, 5 min) した上清を用いればさらに良好な結果が得られた。スライド法では低温時の加温あるいは色素の添加により反応の識別が容易となる¹⁷⁾。

McKINNEY¹⁵⁾ はオオムギ (Glacier) を用いて、ウイルス保毒種子より得た幼苗の 1~3 葉に十分に病徴が現われる条件 (主として温度と光) を選ぶと、肉眼で観察して、接触伝染により隣接した健全株を犯さない前に、ウイルス保毒株を抜き取ることができ、健全オオムギの育成ができると主張した。井上⁸⁾ は病徴の現われない株のみに対して汁液接種を行ない、発病の見られない株を一応種子伝染によるウイルス保毒株とする「接種判定法」を報告した。

著者らは病徴を現わさない株から保毒株を取り除き、健全株を育成して無毒種子の採種をするために、血清検定の有効なることを認めた。混合法でウイルスが検出されるにもかかわらず、スライド法では検出のできない場合はきわめて稀であり、大量の植物を検定するには簡単でかつ結果を得るに迅速な方法としてスライド法がきわめて有効であると認められる。

V. 摘 要

1. オオムギ斑葉モザイク病の保毒検定の血清学的方法として、スライド法による幼苗中のウイルス検出がきわめて有効なることが認められた。

2. 罹病オオムギ幼苗の搾汁液と抗 BSMV 血清をスライドガラス上で反応させた場合、混合直後に凝集反応が認められた。

3. 病徴のまったく認められない株からも、かなりのウイルス保毒株が検出できた。

4. 茎葉中ウイルス濃度が低い場合には混合法に比較して反応が弱く、混合法で反応が認められたものの中で、スライド法により検出できなかった場合も時にあった。

5. 罹病株の根部からは血清学的にウイルスを検出することはできなかった。

6. スライド法は手技がいちじるしく簡単で、結果判定が迅速にでき、その信頼度もきわめて高く、本病の検定法としてきわめて有効と考えられる。

VI. 引用文献

1. CROWLEY, N. C. (1959). *Virology* 8: 116-123.
2. ESLICK, R. F. and AFANASIEV, M. M. (1955). *Plant Dis. Repr.* 39: 722-724.
3. GOLD, A. H., SUNESONE, C. A., HOUSTON, B. R. and OSWALD, J. W. (1954). *Phytopath.* 44: 115-117.
4. HAMPTON, R. E., WILL, W. H., Jr. and HANSING, E. D. (1957). *Plant Dis. Repr.* 41: 735-740.
5. HAGBORG, W. A. F. (1951). *Proc. Conf. Man. Agronomists 1951*: 15-16.
6. ——— (1954). *Canad. J. Bot.* 32: 24-37.
7. 井上忠男 (1957). *植物防疫*, 11: 135-137.
8. ——— (1959). *農学研究*, 47: 65-71.
9. ——— (1960). *農学研究*, 48: 33-38.
10. ——— (1961). *農学研究*, 48: 117-122.
11. ———・岡本 博・西門義一 (1959). *農学研究*, 46: 142-149.
12. ———・大場景雄・高橋隆平 (1960). *農学研究*, 47: 189-194.
13. KASSANIS, B. and SLYKHUIS, J. T. (1959). *Ann. appl. Biol.* 47: 254-263.
14. MCKINNEY, H. H. (1951). *Phytopath.* 41: 563-564.
15. ——— (1954). *Plant Dis. Repr.* 38: 152-165.
16. MOORHEAD, E. L. (1956). *Phytopath.* 46: 498-501.
17. 村山大記・山田守英 (1951). *農及園*, 26: 775-778.
18. ———・横山竜夫 (1962). *日植病報*, 27: 37-43.
19. SCOTT, H. A. (1961). *Phytopath.* 51: 200-201.
20. 高橋隆平・赤木温郎・井上忠男 (1957). *農学研究*, 44: 147-158.

Summary

The serological methods, both flocculation and slide flocculation tests, were successfully applied to detect barley stripe mosaic virus (BSMV) in barley seedlings. It was shown that the slide flocculation test was appreciably reliable, though it was relatively insensitive as compared with the flocculation test.

The sap preparations extracted from barley seedlings infected with BSMV showed a positive reaction when applied to the anti-BSMV-serum on slide glasses. Serological reaction by means of the slide flocculation test was relatively obscure than that of the flocculation test when the virus concentration in the infected plants was low. Occasionally, serological reaction was not observed by the slide flocculation test with the extracted juice which gave positive reaction by the flocculation test.

Many of the symptomless barley plants showed the distinct serological reaction using the slide flocculation test. The viral antigen was not recognizable in the expressed juice of barley root, though the juice from the stem and leaves of the same plant gave positive reaction.