

国際農林水産業研究センター 研究会報告集

No.1

■ 開発途上国における作物病害研究の現状と今後の展開方策

平成6年3月

農林水産省
国際農林水産業研究センター

開発途上国における作物病害研究の現状と今後の展開方策

はじめに

本書は、平成4年度「熱帯農業」試験研究推進会議、作物生産利用部会において当日発表・討議された内容をほぼそのまま、あるいは一部書き改めて取りまとめたものである。

なお、当部会は平成5年2月24日、熱帯農業研究センターにおいて開催された。

当日の会議次第に従い、本書では、全体を三つの課題に区分した。すなわち、1. 雲南省の稲いもち病 2. 東南アジアにおける稲白葉枯病 3. 熱帯野菜・果樹のウイルス病である。

雲南は低地から高地までの様々な気候条件がそろっているが、いもち病が稲病害の中で共通して最も被害が大きく、コメの安定生産阻害の最大要因となっている。このため現地において多数のいもち病菌を採集し、日本と中国のレース判別体系を利用して病原性検定を行った。また、それらのインディカ型稲およびジャポニカ型稲との相互関係を検討し、未知抵抗性遺伝子の存在を明らかにした。本病防除には抵抗性品種の開発が不可欠で、今後、真性抵抗性の利用と同時に、広範なレースに対して安定した抵抗性を発現する圃場抵抗性の積極的な利用を進める必要がある。なお、いもち病菌レースの多様性、病原性の変動に関しては、交配試験を利用した遺伝子解析が待たれている。

稲白葉枯病は、アジアの稲作地帯に広く分布する重要病害であるが、本病には確実に防除できる薬剤がなく、抵抗性品種の栽培が最も効果的、経済的で環境汚染のない防除と考えられている。しかし、本病原菌にも、いもち病菌と同様に様々なレースが存在し、抵抗性品種を栽培しても分布するレースの種類によっては全く抵抗性が発現されない場合がある。そのため各国別、地域別に分布するレースの実態解明が急がれている。また、RFLPを利用したレースの類別やレース変動要因の解明が進められており、その成果が期待される。

東南アジアの途上国など熱帯地域では、野菜・果実の需要が高まり、大都市近郊を中心に産地が形成されつつあるが、病原不明あるいは病原は判明してもその予防・治療の困難な病害が、これら途上国に多数存在する。特に柑橘、バナナ、パパイヤ等の主要な果樹や、ピーマン、トウガラシ、サツマイモ等の野菜・根菜類のウイルス病は現地における代表的な難防除病害であり、病原菌の検定・検出法および農薬を多用しない防除法の開発が、いずれの地域においても強く求められており、今後、我々が取り組まねばならない課題となっている。

本書を刊行するに当たり、会議への参加者、会議の場でご意見を発表された研究者、貴重なコメントを提供頂いたコメンテーターの方々を始め関係各位に対し、深く感謝申し上げる。

1994年3月

国際農林水産業研究センター

生産利用部長 川 嶋 浩 二

開発途上国における作物病害研究の現状と今後の展開方策

目 次

I. 雲南省におけるイネいもち病

1. 粳稻（ジャポニカ型稻）栽培地帯におけるイネいもち病菌のレース

九州農業試験場 流行機構研究室長 岩野 正敬…………… 1

2. 中国雲南省におけるイネ品種のいもち病圃場抵抗性検定と真性抵抗性遺伝子の推定

北陸農業試験場 病害研究室 主研 藤田 佳克……………11

3. 雲南省産イネいもち病菌の交配能力とその菌株の利用

農業研究センター 水田病害研究室 主研 林 長生……………22

コメンテーター 神戸大学農学部 教授 加藤 肇……………34

〃 農業環境技術研究所 環境生物部長 吉野 嶺一……………34

〃 農業研究センター 水田病害研究室長 内藤 秀樹……………35

II. 東南アジアにおけるイネ白葉枯病

1. アジア地域のレース

北陸農業試験場 病害研究室長 山元 剛……………38

2. 病原細菌のRFLP解析

農業生物資源研究所 微生物探索評価研究チーム長 加来 久敏……………40

コメンテーター 東京農業大学 教授 脇本 哲……………47

III. 熱帯野菜・果樹のウイルス病

1. タイの果樹

果樹試験場安芸津支場 病害研究室長 今田 準……………48

2. 沖縄のパパイヤおよび上海市のピーマン・トウガラシに発生するウイルス病

熱帯農業研究センター沖縄支所 作物保護研究室長 宇杉 富雄……………51

3. 野菜

農業研究センター ウイルス病診断研究室長 藤澤 一郎……………56

4. 中南米及び東南アジアの熱帯地域で検出されたサツマイモのウイルス病

熱帯農業研究センター 基盤技術研究部 主研 中野 正明

Segundo Fuentes and Luis F. Salazar (CIP)……………58

コメンテーター 東京大学農学部 教授 土崎 常男……………66

〃 岡山大学資源生物科学研究所 教授 井上 成信……………66

〃 山口大学農学部 教授 亀谷 満朗……………67

〃 南九州大学園芸学部 教授 宮川 経邦……………69

〃 果樹試験場興津支場 病害研究室長 家城 洋之……………71

**Present Situation and Future Development of Research
Activities Concerning Crop Plant Diseases
in the Developing Countries**

Contents

I . Rice blast disease in Yunnan Province, China

- 1 . Distribution of pathogenic races and changes in virulence of rice blast fungus, *Pyricularia oryzae* Cav., in Japonica rice cultivated area of Yunnan Province, China
Masataka IWANO 1
- 2 . Procedure for evaluating field resistance and predicting genotype for true resistance of rice varieties to blast disease in Yunnan Province, China
Yoshikatu FUJITA11
- 3 . Distribution and use of fertile rice blast fungus isolated from Yunnan province in China
Nagao HAYASHI22

II . Bacterial leaf blight of rice in Southeast Asia

- 1 . Races in Asian countries
Tsuyosi YAMAMOTO38
- 2 . RFLP analysis of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*
Hisatoshi KAKU40

III . Virus diseases of vegetables and fruit trees in tropical countries

- 1 . Fruit tree diseases in Thailand
Jun IMADA48
- 2 . Virus diseases of papaya, bell pepper and chili in Okinawa and Shanghai
Tomio USUGI51
- 3 . Virus diseases of vegetables
Ichiro FUJISAWA56
- 4 . Sweet potato virus diseases detected in the tropics of South
and Central America and Southeast Asia
Masaaki NAKANO, Segundo Fuentes and Luis F. Salazar58

I . 雲南省におけるイネいもち病

1 . 粳稻（ジャポニカ型稻）栽培地帯における イネいもち病菌のレース

岩 野 正 敬

九州農業試験場地域基盤研究部流行機構研究室

Rice Blast Disease in Yunnan Province, China

1. Distribution of pathogenic races and changes in virulence of rice blast fungus, *Pyricularia oryzae* Cav., in Japonica rice cultivated area of Yunnan Province, China

Masataka IWANO

Kyushu National Agricultural Experiment Station

Suya, Nishigoshi, Kumamoto 861-11, Japan

Blast disease is the most destructive disease for cultivated rice in Yunnan Province, China. In order to develop an effective breeding program for stable resistance to blast disease, it is important to analyse in more detail the pathogenic specialization of the blast fungus. This report deals with studies on the pathogenic specialization and changes in the virulence of the blast fungus in Yunnan Province. Rice samples, including leaves and panicles, infected with rice blast were collected in various districts of Yunnan. To differentiate blast races, Japanese differential varieties were used.

(1) Race distribution in the area cultivated with the Japonica rice varieties.

One hundred and sixty-four isolates were collected in various districts in 1988. The isolates tested were divided into 21 races. Among the 21 races, race 001 predominated, the relative frequency of which was 25.6%, followed by race 117 with a frequency of 11.6%, and races 003 (9.8%), 007 (9.1%), 013 (7.3%), 005 (6.5%), 017 (6.1%), 011 (4.3%), 031 (3.7%) and 037 (3.7%). With a view to identifying the composition of pathogenic races in a paddy field, a number of diseased panicles were collected from 8 fields in the area in 1988. Two races were isolated from 2 fields, 4 races from 2 fields, 5 races from 2 fields, 6 races and 7 races were isolated from one field, respectively. One race predominated in each field, although it was likely that multiple races coexisted in a field. Race composition in a field of Yunnan Academy of Agricultural Science varied from year to year.

(2) Change in virulence of some isolates in Yunnan Province

A survey was carried out to analyze the variation in virulence of the blast fungus. Thirty-five isolates collected from different locations in Yunnan Province were identified for races in 1984. In 1986, the race of each isolate was reidentified. Among the 35 isolates tested, 13 isolates showed the same reaction pattern to the differentials in those two years, while the other 22 isolates showed different reactions. Out of the 22 isolates, 10 isolates were avirulent

and three were virulent to Kanto 51, respectively. Four isolates were avirulent to Tsuyuake. Seven isolates were avirulent and one was virulent to Yashimochi. It is worth noting that the changes in the virulence of the isolates under testing affected exclusively the following 3 rice varieties; Kanto 51, Tsuyuake and Yashimochi. The isolates classified into such races as 013,017,031,033 or 037, which were virulent to Kanto 51 or Tsuyuake, were divided into 2 groups in relation to the formation of the susceptible type of lesions. One group formed a number of lesions on each of Shin 2, Kanto 51 or Tsuyuake, while the other group formed fewer lesions on Kanto 51 or Tsuyuake as compared with those on Shin 2. When a large quantity of spores avirulent to Yashimochi was inoculated to spindly growing plants of Yashimochi, susceptible-like type of lesions was formed on the rice plants. It is therefore assumed that the results of race identification may vary due to the differences in the number of spores inoculated and physiological status of rice plants, as well as in the environmental conditions after inoculation. These results indicate that different races may be associated with the unstable nature of the reaction of rice varieties such as Kanto 51, Tsuyuake and Yashimochi.

Key words: Rice blast disease, pathogenic race, change of virulence, Yunnan, China

キーワード: イネいもち病, レース, 病原性変異, 中国

1. はじめに

雲南省の稲作で安定生産を阻害している最も重要な病害はいもち病である。同省はアジア栽培稲の多様性の中心地の一角を占め、豊富な遺伝資源に恵まれている。標高100mから2,600mの地帯に籼稻（インディカ型稲）、粳稻（ジャポニカ型稲）、陸稻が栽培され、その栽培体系、品種構成も複雑である。これら稲栽培地帯のいずれにもいもち病が多発生しているために、抵抗性品種の育成が強く要請されている。

いもち病に対する抵抗性は真性抵抗性と圃場抵抗性に大別される。真性抵抗性は1～数個の主働遺伝子によって支配され、レース特異的抵抗性とも呼ばれている。一方、圃場抵抗性は多数の微動遺伝子によって支配され、レース非特異的抵抗性とも呼ばれている。真性抵抗性遺伝子を持った、いわゆる高度抵抗性品種の抵抗性の崩壊 (Break down) が起って以来、圃場抵抗性を利用した抵抗性育種の重要性が再認識されているが、いずれの抵抗性を利用するにしてもいもち病菌の病原性分化、換言すればレースに関する正確な情報を把握し、それに基づいた抵抗性品種の育成を進める必要がある。この観点に立って本研究は実施された。

本研究は1982～1992年に雲南省農業科学院と共同で行われた「遺伝資源の利用による水稻の耐冷・耐病・多収性品種の育成に関する研究」の一環として実施されたものであり、本報告では筆者が長期在外研究員と

して1987～1989年に派遣された時に行った粳稻栽培地帯におけるレース分布、いもち病菌の病原性の変化について主として述べる。本研究の遂行にあたり雲南省農業科学院日中共同研究グループの蔣志農、李家端、孔平ならびに李成雲各位に多大な御協力・御助言をいただいた。ここに感謝の意を表する。

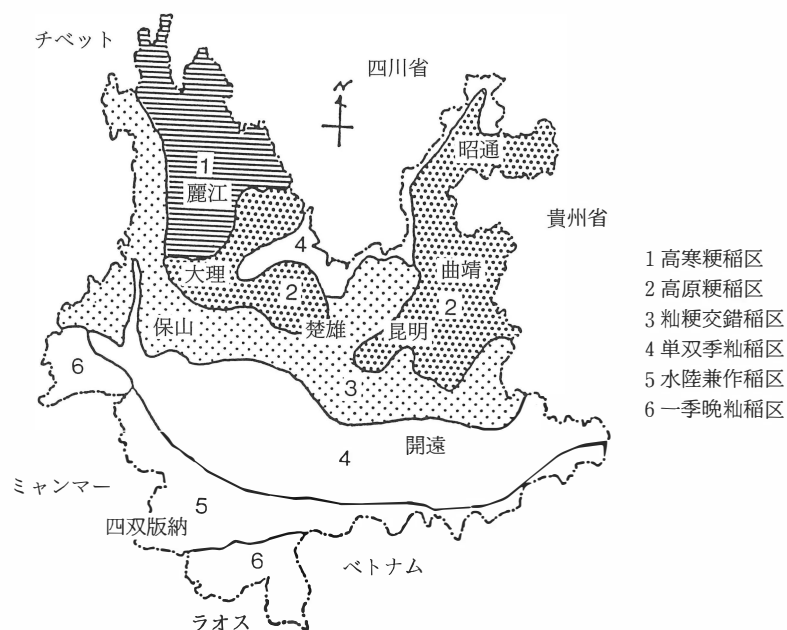
2. 粳稻栽培地帯におけるレース分布

1) 広範な地域におけるレース分布

(1) 材料および方法

雲南省の稲作は稲の栽培型および普及品種の分布から6つの稲作区に大別される (第1図)¹⁾。第1図に示した高寒粳稻区 (標高2,200m以上)、高原粳稻区 (1,800～2,200m) および籼粳交錯稲区 (1,500～1,800m) から1988年に葉、穂いもち罹病標本を採取した。単一病斑を20～24時間ペトリ皿湿室内に保持して胞子を形成させた後、1病斑から1個の分生胞子を分離して単胞子分離菌株を得、P S A培地に移植後室温で保存した。

レースの検定はYamada *et al.*⁵⁾が提案した判別体系で、9つの日本判別品種を用いて行った。日本判別品種の中には含まれていない抵抗性遺伝子 *Pi-t*, *Pi-b* を持つ品種に対して病原性を示すレースの有無を知るために参考品種として K59 (*Pi-t*), BL1 (*Pi-b*) を加え、接種したいいもち病菌がそれぞれの品種に病原性を示し



第1図 中国雲南省における稲作区分

た場合にはレース番号の次に t⁺, b⁺と付記した。

前述した11品種をプラスチック製育苗箱（5×15×深さ10cm）に1品種5粒宛播種し、ガラス室内で多肥条件下で育苗した。4葉期にオートミール寒天培地で培養し、形成させた分生孢子懸濁液を噴霧接種して温室に約20時間保持後再びガラス室に置き、7～8日後に調査を行った。懸濁液の分生孢子濃度の調整はとくには行わなかった。以下記述するレース検定の試験は全てこの方法にしたがった。

(2) 結果および考察

検定に供した164菌株は21レースに類別された(第1表)。また、分離頻度の高かったレースと最も病原性範囲の広がったレース137(以下、レース略)の判別品種に対する反応を第2表に示した。001の分離頻度が最も高く25.6%であった。次いで117, 003, 007, 013, 005, 017, 011, 031, 037の順であり、この10レースで全体の約88%を占めた。BL1に病原性を示す菌株は曲靖市から1菌株採取された。1980年に日本で行われた分布調査結果によれば全国から採取された2,376菌株は22レースに類別されている⁶⁾。本調査では検定菌株数がこれよりはるかに少ないにもかかわらず、ほぼ同数のレースが分離され、日本では未報告のレースがあったことは、検定菌株数を多くすれば更に多くのレースが分離される可能性があることを示唆している。粳稻栽培地帯は日本よりもレース構成が複雑と考えられる。関東51号に病原性を示す日本産菌株のほとんどはツユアケにも

第1表 1988年に雲南省粳稻栽培地帯に発生したイネいもち病菌のレース

レース	分離 菌株数	分離頻 度(%)	レース	分離 菌株数	分離頻 度(%)
001	41	42 (25.6)	017t ⁺	10	(6.1)
001t ⁺	1		031	5	6 (3.7)
002		1 (0.6)	031t ⁺	1	
003	13	16 (9.8)	033	3	(1.8)
003t ⁺	2		037t ⁺	6	(3.7)
003b ⁺	1		101	3	4 (2.4)
005	10	11 (6.7)	101t ⁺	1	
005t ⁺	1		103	1	(0.6)
007	10	15 (9.1)	105t ⁺	1	(0.6)
007t ⁺	5		107t ⁺	4	(2.4)
011		7 (4.3)	115t ⁺	1	(0.6)
013	8	12 (7.3)	116t ⁺	1	(0.6)
013t ⁺	4		117t ⁺	19	(11.6)
015	2	3 (1.8)	131t ⁺	1	(0.6)
015t ⁺	1		137t ⁺	1	(0.6)
			計	164	(100.5)

a) 罹病性反応 b) 抵抗性反応

病原性を示す⁶⁾が雲南省産菌株では67%がツユアケに対して病原性を示さなかった。日本においては K59に病原性を示すいもち病菌の分布状態は不明である。清沢⁴⁾は1,223番目に接種した菌株が病原性を示したと報告し

第2表 日本レース判別品種に対する粳稻栽培地帯のいもち病菌レースの反応

判別品種	抵抗性 遺伝子	コード 番 号	レ ー ス											
			001	003	005	007	011	013	017	031	037	107	117	137
新 2 号	<i>Pi-k^s</i>	1	S ^{a)}	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
愛 知 旭	<i>Pi-a</i>	2	— ^{b)}	S	S	S	—	S	S	—	S	S	S	S
石狩白毛	<i>Pi-i</i>	4	—	—	S	S	—	—	S	—	S	S	S	S
関東51号	<i>Pi-k</i>	10	—	—	—	—	S	S	S	S	S	—	S	S
ツユアケ	<i>Pi-k^m</i>	20	—	—	—	—	—	—	—	S	S	—	—	S
フクニシキ	<i>Pi-z</i>	40	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ヤシロモチ	<i>Pi-ta</i>	100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	S	S	S
<i>Pi</i> No. 4	<i>Pi-ta²</i>	200	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
とりで1号	<i>Pi-z^t</i>	400	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

a) 罹病性反応 b) 抵抗性反応

ており、これ以外の報告がないことから恐らく日本には分布していないのではないかと考えられる。雲南省ではK59に対して病原性を示すいもち病菌は普遍的に分布しており、今回の粳稻栽培地帯の調査では分離頻度は37%であった。

2) 麗江地区(高寒粳稻区)におけるイネいもち病菌のレース分布

(1) 材料および方法

麗江県はチベット自治区に近い位置にあり、標高2,400~2,600mの地帯に稲が栽培されている。低気温であるため黒色の穂を持った、耐冷性強の麗江新団黒谷から系統選抜された品種が栽培されている。麗江新団黒谷は抵抗性遺伝子を持たず、同省の菌株に対して全て罹病性反応を示す。同地区は抵抗性遺伝子の面からみれば単一品種栽培地帯といえる。1984年と1988年に罹病標本を採取してレースの検定を行った。

(2) 調査結果および考察

調査結果を第3表に示した。1984年に採取した15菌株は013, 017, 033, 037の5レースに類別され、1988年の8菌株は001, 002, 013, 017, 107の4レースに類別

された。日本では遺伝子構成が単純な地帯では分布するレースも単純である²⁾が、本結果は日本とは異なる傾向であった。日本との差異は総合考察で詳しく述べる。

3) 1筆圃場内のレース分布

(1) 材料および方法

1988年に第4表に示した地域の8圃場から罹病標本を採取した。圃場の面積は約2~6aと様々であったが、圃場全面から均一に採取するように心がけた。また、1987, 1988年には雲南省農業科学院(昆明市)の多数の品種・系統が栽培されているいもち病抵抗性検定圃場に新2号の幼苗を暴露して(暴露期間:1987年8月18~22日, 1988年8月4~12日)病斑を形成させた後、

第3表 麗江地区におけるイネいもち病菌のレース分布

調査年	レ ー ス						
	001	002	013	017	033	037	107
1984			10 ^{a)}	1	1	3	
1988	1	1	4	1			1

a) 分離菌株数

第4表 1筆圃場内のいもち病菌レース分布調査場所

圃場	場 所	品 種	発病程度	採取年月日	分離部位
A	昆明市	不 明	多	1988.9.6	穂
B	大理市	〃	中	1988.9.1	〃
C	昆明市	〃	多	1988.9.6	〃
D	通海県	8126	多	1988.9.12	〃
E	宜良県	不 明	甚	1988.9.15	〃
F	陸良県	不 明	多	1988.9.26	〃
G	昭通市	京糯1号	多	1988.9.27	〃
H	楚雄県	楚粳3号	甚	1988.9.2	〃

個々の病斑から菌を分離してレース検定を行った。

(2) 結果および考察

1筆内圃場のレース分布結果を第5表に示した。単一レースだけが分離された圃場はなく、各圃場からは2～7レースが分離され、いずれの圃場においても優勢レースとみなされるレースが存在していた。1筆内に複数のレースが分布することは一般的な現象のようである。圃場C, D, E, F, GおよびHの6圃場からは001が分離されたので、これらの圃場の栽培品種は抵抗性遺伝子を持たないか、または *Pi-k^s* を持つ品種と考えられる。

複数のレースが分布する原因として圃場に分布するレースの中で病原性の変異が生じて別のレースが発生した場合と他圃場からの飛来侵入が考えられる。圃場A, Bのように2レースだけが分離され、一方のレースの分離頻度が圧倒的に高く、しかもその病原性範囲が類似している場合には前者の可能性が、多数のレースが分離された場合は他圃場からの侵入が考えられる。

雲南省農業科学院圃場における調査結果を第6表に示した。1987年には8レース、1988年には4レースが分離された。*Pi-a* 品種に病原性を示す菌株の分離頻度は1987年が33%, 1988年は2%であった。*Pi-i* 品種に病原性を示す菌株の分離頻度は1987年が38%, 1988年が5%であった。このように、圃場のレース構成は年次によって変動することが明らかになった。いもち病抵抗性検定圃場でレース構成が年次によって変動した場合には、真性抵抗性による類別ができていなければ、真の抵抗性評価を行うことは不可能である。

3. イネいもち病菌の病原性の変動

圃場におけるレース分布調査を行った結果から、多数のレースが分布していることが明らかになった。この原因を解明することと、いもち病抵抗性検定を行う場合に必要な病原性の安定した標準菌株の選抜が可能か否かを明らかにする目的で試験を行った。

第5表 粳稻栽培地帯の1筆圃場内におけるイネいもち病菌のレース分布

圃場A	レース			
	117t ⁺	137t ⁺		
	52 ^{a)} (96.3) ^{b)}	2 (3.7)		
圃場B	レース			
	007	107		
	25 (96.2)	1 (3.8)		
圃場C	レース			
	001	003	007	005
	42 (80.8)	5 (9.6)	4 (7.7)	1 (1.9)
圃場D	レース			
	005	007	001	103
	37 (68.4)	13 (24.1)	2 (3.7)	2 (3.7)

圃場E	レース						
	001	003	103	101	303		
	28 (52.8)	11 (20.8)	8 (15.1)	4 (7.5)	2 (3.8)		
圃場F	レース						
	033	137t ⁺	005	037t ⁺	117t ⁺		
	42 (77.8)	9 (16.7)	1 (1.9)	1 (1.9)	1 (1.9)		
圃場G	レース						
	001	003	011	013	005	007	
	43 (84.4)	2 (3.9)	2 (3.9)	2 (3.9)	1 (2.0)	1 (2.0)	
圃場H	レース						
	005	007	001	115	117t ⁺	015	017t ⁺
	25 (54.3)	8 (17.4)	6 (13.0)	3 (6.5)	2 (4.3)	1 (2.2)	1 (2.2)

a) 分離菌株数 b) 分離頻度(%)

第6表 雲南省農業科学院いもち病抵抗性検定圃場におけるイネいもち病菌のレース分布

分離品種	調査年	レース								
		001	001b ⁺	003	005	015	101t ⁺	105t ⁺	131t ⁺	317t ⁺
新2号 (<i>Pi-k^s</i>)	1987	9 ^{a)}	2	2	1	2	2	3		3
	1988	40		1	2				1	

a) 分離菌株数

(1) 材料および方法

1984年に採取し、レース検定を行った後、室温下で農業科学院に保存されていた35菌株のレースを1986年に再検定した。同様に、1986年に採取、レース検定を行った9菌株を1988年に再検定した。また、単一病斑の異なる部位から単孢子分離を行って得た菌株の病原性の変動、継代培養を繰り返し、その都度レース検定を行って、継代培養中の病原性の変動も調査した。1984、1987年のレース検定は筆者が、1984年のレース検定は藤田佳克（現北陸農試）が行った。

(2) 結果および考察

1984年と1986年のレース検定結果の比較を第7表に示した。供試した35菌株のうち13菌株は同一のレースに判定され、22菌株は異なるレースに判定された。レースが異なった原因は関東51号、ツユアケおよびヤシ

ロモチに病原性を示したか、否かに依っていた。1986年の検定では22菌株中10菌株が関東51号に病原性を示さず、その結果013が003になった。ツユアケに対しては4菌株が病原性を示さず、033が013に、ヤシロモチに同時に病原性を示さなかった菌株は137から017にそれぞれなった。ヤシロモチに対しては7菌株が病原性を示さなかった。病原性を示さなかった場合の方が多く、病原性を示すようになったのは3菌株だけであった。

1986年と1987年の検定結果の比較を第8表に示した。前試験と同じ様な結果が得られたが、愛知旭に病原性を示さなかった菌株が1菌株あった。第9表には1984年に単一病斑から分離して保存してあった菌株の検定結果を示した。病斑Aでは供試3菌株は1986年には117と判定され、関東51号に対する反応だけが異なっていた。病斑Bではツユアケに対する反応が、病斑Cでは

第7表 粳稻栽培地帯から採取したイネいもち病菌の病原性変動 (1)

菌 株	レース		異なった反応を示した判別品種		
	1984	1986	関東51号	ツユアケ	ヤシロモチ
雲84- 01	107	117	+ ^{a)}		
- 16	037	017	- ^{b)}		
- 29	107	117	+		
- 37	117	007	-		-
- 40	013	003	-		
- 41	013	003	-		
- 42	013	003	-		
- 44	013	003	-		
- 45	013	003	-		
- 46	037	017	-		
- 48	013	003	-		
- 52	033	013		-	
- 55	013	113			+
- 93	107	007			-
- 94	137	017		-	-
- 95	037	017		-	
- 96	105	115	+		
-101	107	007			-
-102	137	017		-	-
-104	107	007			-
-105	107	007			-
-106	013	003	-		
1984年と1986年のレース 検定結果が一致した菌株	雲84-09(007)		-26(007)	-27(007)	-28(007)
			-36(003)	-39(007)	-43(013)
			-51(013)	-53(017)	-57(007)
				-49(037)	-50(013)

a) 1984年に抵抗性反応, 1986年に罹病性反応

b) 1984年に罹病性反応, 1986年に抵抗性反応

第8表 粳稻栽培地帯から採取したイネいもち病菌の病原性変動 (2)

菌 株	レース		異なった反応を示した判別品種			
	1986	1987	愛知旭	関東51号	ツユアケ	ヤシロモチ
雲86- 07	013	033			+	
- 42	017	007		- ^{b)}		
-258	007	017		+		
-272	017	137			+	+
-284	037	017			-	
-289	007	017		+		
-334	007	037		+	+	
-377	003	001	-			
-380	003	013		+		
1986年と1987年のレース		雲86-	-35(115)	- 37(007)	-144(007)	-228(033)
検定結果が一致した菌株			-243(033)	-253(033)	-262(016)	-324(017)
			-339(136)	-394(013)		

a) 1986年に抵抗性反応, 1987年に罹病性反応

b) 1986年に罹病性反応, 1987年に抵抗性反応

第9表 単一病斑から分離したイネいもち病菌の病原性変動

病斑一分離菌株		レース		異なった反応を示した判別品種		
		1984	1986	関東51号	ツユアケ	ヤシロモチ
A	-1	107	117	+ ^{a)}		
	-2	107	117	+		
	-3	107	117			
B	-1	037	017		— ^{b)}	
	-2	037	017		—	
	-3	037	017		—	
	-4	037	017		—	
C	-1	007	017	+		
	-2	007	007			
	-3	107	007			—

a) 1984年に抵抗性反応, 1986年に罹病性反応

b) 1984年に罹病性反応, 1986年に抵抗性反応

関東51号, ヤシロモチに対する反応が異なっていた菌株が2菌株, 同一反応を示した菌株が1菌株あった。

以上の結果をまとめると, レース検定結果が異なった原因は関東51号, ツユアケ, ヤシロモチでの反応が異なったために起こる場合がほとんどで, 他の判別品種では愛知旭があり, この品種に対する反応が異なっていたために別のレースに判定されたのは1菌株だけであった。関東51号, ツユアケに多数の病斑を形成する菌株と明瞭な罹病型病斑を形成するにもかかわらず, 少数の病斑しか形成しない菌株があった。このことが,

異なったレースに判定された原因でないかと考えられたので, 同一レースに属する菌株を新2号, 関東51号, ツユアケに接種して病斑数の比較を行った。その結果を第10表に示した。

031, 017に属する菌株は関東51号に多数の病斑を形成する群とそうでない群に分かれ, 031, 033および037に属する菌株は関東51号, ツユアケに多数の病斑を形成する群とそうでない群に分かれた。この結果から, 接種孢子濃度が異なっていた場合や, 検定時期の違いによって稲の感受性が異なっていた場合にはいもち病

第10表 粳稻栽培地帯から採取されたイネいもち病菌の新2号、関東51号
およびツユアケに形成された病斑数

レース	菌 種	判別品種		
		新2号	関東51号	ツユアケ
013	雲88-172 -237-240	+++ ^{a)}	+++	
	雲88-128 -138 -231	+++	± ^{c)}	
017	雲88-101 -1274	+++	+++	
	雲88-260 -1265	+++	+ ^{b)}	
031	雲88-142 -150 420	+++	+++	+++
	雲88-288 -1316	+++	+++	±
	雲88-1363 -1364	+++	±	±
033	雲88-181 -1354	+++	+++	+++
	雲88-176 -1362	+++	+++	±
	雲88-1365	+++	+	±
037	雲88-57 -61 -210	+++	+++	+++
	雲88-1352	+++	+++	+

a) 20個以上の罹病型病斑/個体

b) 5～10個/個体

c) 4病斑以下/個体

菌の病原性そのものが変化していなくとも病斑が形成されたり、形成されなかったりするのではないかと考えられた。病原性を示さなかったという表現は、正しくは病斑が形成されなかったとすべきなのかもしれない。

日本産菌株のうち関東51号やツユアケに病原性を示す菌株は新2号に多数の病斑を形成した場合には、関東51号、ツユアケにも多数の病斑が形成され雲南省産菌株のような傾向は認められない。関東51号、ツユアケの中に非特異的に作用する主働遺伝子があると仮定すれば前述した現象は説明できるので、今後遺伝子分析が必要である。

ヤシロモチは高濃度の孢子懸濁液を接種したり、軟弱に徒長した時には抵抗性反応を示す組合せでも罹病型病斑に近い病斑を形成する場合があり反応が不安定な品種として知られている。このことが検定結果を一致させなかった原因の一つになっている可能性がある。

15菌株を供試し、ほぼ一か月間隔で継代培養を行い、レース検定した結果を第11表に示した。8菌株は6回の継代培養でも同じレースに判定されたが、残りの7菌株では同一の検定結果が得られなかった。雲-9、-13、-14、-15は前述した関東51号、ツユアケおよびヤシロモチの反応の不安定さに起因するものと考えられる。雲-10では新2号、雲-11では愛知旭に対する反応が異なったために異なるレースに判定されたが、最終調査ではいずれの菌株でも原菌と同じレースに判定された。これらの結果から供試した菌株では継代培養中

に病原性の変動が起きたとは考え難い。

4. 総合考察

雲南省の粳稻栽培地帯から採取した164菌株は21レースに類別された。日本で1980年に実施された全国調査では約2,400の菌株が22レースに類別されたことや今回の調査で日本では未報告のレースがあったことなどから粳稻栽培地帯のレース構成は日本より複雑であると考えられる。この原因として①同省粳稻栽培地帯のいもち病菌の病原性に変異性に富んでいる、②粳稻栽培地帯の栽培品種の遺伝子構成が複雑である、の2点が考えられる。

まず、①の点については病原性の変異そのものは否定できないが、粳稻栽培地帯のレース構成の多様性を説明できるほど変異性に富んでいるとは本調査結果から考え難い。②の点について、粳稻栽培地帯の品種・系統を真性抵抗性に基づいて類別した結果³⁾から日本判別品種の持つ9遺伝子のうち $Pi-z$ 、 $Pi-ta^2$ を除く7遺伝子および $Pi-b$ の遺伝子の存在が確認され、さらに未知の抵抗性遺伝子のあることが推定されている。粳稻栽培地帯の遺伝子構成は複雑と考えられ、このことが分布するレースの数を多くしていると推察される。同省の稲栽培面積は約100万 ha であり、これは日本のほぼ半分の面積である。この中に粳稻、粳稻、陸稻の遺伝子組成を異にする多数の品種が栽培されており、これら品種に発生したいもち病菌が飛来、侵入してレー

第11表 粳稻栽培地帯から採取したいもち病菌の継代培養による病原性変動

原菌株	原菌株の レース	継 代 培 養 回 次							
		1	2	3	4	5	6	7	
V 1	001	001	001	001	001	001	001	— ^{b)}	* ^{a)}
2	001	001	001	001	001	001	001	—	*
3	001	001	001	001	001	001	001	—	*
4	003	003	003	003	003	003	003	—	*
5	007	007	007	007	007	007	007	—	*
6	007	007	007	007	007	007	007	—	*
7	007	007	007	007	007	—	007	—	*
8	101	101	101	101	101	101	101	—	*
9	017	017	007	007	007	017	007	—	
10	017	017	017	016	016	—	017	—	
11	011	011	011	011	013	011	013	011	
12	017	017	007	007	107	107	107	—	
13	013	033	013	033	033	013	033	013	
14	115	115	105	101	115	105	115	—	
15	115	115	115	—	115	105	115	—	

a) 継代培養期間を通じて病原性の変動しなかった菌株

b) レース検定未実施

ス構成を複雑にしていることも考えらる。

いもち病菌レースの分布を支配する最大要因は抵抗性品種の栽培面積の変動にあると考えられている。van der Plank⁷⁾は単純な抵抗性遺伝子型の品種上では病原性範囲の広い複雑なレースよりも単純なレースの方が生存に適していると述べ、この効果を安定化選択(stabilizing selection)と呼んだ。いもち病菌レースの分布変動にもこれと同じ現象のあることが知られている。しかし、麗江地区におけるレース分布状態は安定化選択では説明ができない。すなわち、長年にわたって抵抗性遺伝子組成に変化のない条件下では分布するレースも単純化してよいはずであるが、実際には多数のレースが分布している。先に、①の点で述べた病原性の変異とは同一レベルで扱えないが、今後、同省のレース分布とその変動要因を解明するうえで興味深い現象である。

5. 要 約

日本レース判別体系を用いて、雲南省粳稻栽培地帯のレース分布を調査した。広範な地域、1筆圃場から多数のレースが分離され、レース分布は日本よりも複雑であると考えられた。同地帯から採取したいもち病菌の病原性の変動を分離直後と一定期間後のレース検

定結果を比較して検討した。検定結果が一致しない菌株があった。これは判別品種関東51号、ツユアケおよびヤシロモチの反応が不安定なためであり、いもち病菌の病原性そのものが変動したためでないと考えられた。

引用文献

- 1) 程侃声ら(1986). 中国稻作学(中国農業科学院編). 農業出版社, 北 京. p. 85-122.
- 2) 岩野正敬・浅賀宏一・井上 徹・本蔵良三(1984). 栽培品種の真性抵抗性遺伝子型が単純な地域におけるイネいもち病菌のレース分布. 北日本病害虫研報 35: 29-31.
- 3) Iwano. M. and P. Kong (1990). Classification of Japonica rice varieties in Yunnan Province, China, based on reaction patterns to several isolates of blast fungus. JARQ 24: 156-162.
- 4) 清沢茂久(1980). イネのいもち病と抵抗性育種(高坂卓爾・山崎義人編著). 博友社, 東京. p. 175-186.
- 5) Yamada, M. et al (1976). Proposal of a new method for differentiating races of *Pyricularia oryzae* Cavara in Japan. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn., 42: 216-219.

6) Yamada, M. (1985) . Pathogenic specialization
of rice blast fungus in Japan. JARQ 19 : 175-183.

7) van der Plank, J.E. (1968) . Disease resistance
in Plant. Academic Press, New York. p. 71-73.

I. 雲南省におけるイネいもち病

2. 中国雲南省におけるイネ品種のいもち病圃場抵抗性検定と 真性抵抗性遺伝子の推定

藤 田 佳 克

北陸農業試験場水田利用部病害研究室

Rice Blast Disease in Yunnan Province, China

2. Procedure for evaluating field resistance and predicting genotype for true resistance of rice varieties to blast disease in Yunnan Province, China.

Yoshikatsu HUJITA

Hokuriku National Agricultural Experiment Station

Inada, Joetsu, Niigata 943-01, Japan

Rice blast disease is very severe in the area cultivated with japonica rice in Yunnan Province, China. The most reliable measure to control this disease has been considered to be the development and use of resistant varieties. Varietal resistance to blast disease is divided into true resistance and field resistance. The former is determined by all-or-none disease response of a certain variety to a certain race of the fungus, and the latter by the severity of a disease on a certain variety caused by the compatible race of fungus. Use and development of resistant varieties harbouring true resistance genes and a high level of field resistance are the most effective measures to control blast. Field resistance of rice varieties with true resistance genes can not be assessed in the test field in the absence of compatible races. Japonica rice varieties were inoculated at the fourth stage by spraying with a spore suspension of compatible races. Inoculated seedlings were warmed with an electric heater at night in the greenhouse. These inoculation and heating techniques resulted in such successful infection that the relative resistance of japonica rice varieties to blast disease could be determined accurately.

Out of eighty-one indica rice varieties tested, nineteen varieties were resistant to all the isolates collected in the japonica rice-growing area in Yunnan Province. These indica varieties were divided into nine groups, on the basis of the reaction patterns to the Japanese isolates or the Yunnan isolates collected in the indica rice-growing area in Yunnan Province. It is assumed that these indica varieties harbour at least five true resistance genes that have not been identified yet.

Key words: Rice blast disease, *Pyricularia oryzae*, Resistant variety, China.

キーワード: イネいもち病, イネいもち病菌, 抵抗性品種, 中国

I. はじめに

雲南省の標高1,500m以下の地域では主にインディカ稻が、それ以上の地域ではジャポニカ稻が栽培されている。ジャポニカ稻栽培地帯では、ほぼ全域にわたっていもち病が発生し大きな被害をもたらしており、抵抗性品種の育成・利用が望まれている。いもち病に対するイネ品種の抵抗性は、病斑形成を阻止する真性抵抗性と、病斑数や病斑拡大を抑制する圃場抵抗性とに分けられる。抵抗性品種の育成には、その両方の利用が有効である。そこで、圃場抵抗性検定法を開発し、それによってジャポニカ稻の抵抗性を判定するとともに、インディカ稻の抵抗性遺伝子を解析し、その利用について検討した。ここではその概要を報告する。本研究を行うに当たり、李成雲、李家瑞氏を初め、雲南省農業科学院の方々にご協力、ご助言を頂いた。ここに記して感謝の意を表する。

II. 実験方法

ガラス室：いもち病菌の分離は、罹病葉または罹病穂を25°Cの高湿度条件下に24時間静置して形成させた胞子を顕微鏡下でガラス針によってつり上げる方法で行った。レース検定には、日本判別品種9品種に参考品種としてBL1とK59を加えた11品種を、圃場抵抗性検定には日本品種17、雲南ジャポニカ稻153品種・系統、および共同研究育成の17系統を供試した。プラスチック製育苗箱(15×5×5cm)に1品種10粒ずつ、4品種を播種した。肥料は、Nを箱当り基肥として0.4g、追肥として0.3g施用した。接種はショ糖加用オートミール寒天培地で形成させた胞子を水に懸濁させ、4葉期の苗に噴霧する方法で行った。接種イネは26°Cの高湿度条件下に18時間静置した後ガラス室に移した。圃場抵抗性検定では、さらに夜間のみビニール被覆と加温を行い、二次感染を起こさせた。加温は、育苗箱の下に電熱線を敷いて行った。

圃場試験：葉いもち圃場抵抗性検定では、折衷苗代に1品種5gずつ播種した。条長は30cm、条間は10cmである。1990年には6月15日と7月12日、1991年には6月5日と18日に播種した。肥料は、m²当り基肥としてP₂O₅およびNをそれぞれ3.0g、追肥としてNを7月上旬と8月上旬にそれぞれ7gずつ施用した。1990年には、いもち病菌TH81-02-3(レース137b⁺)の接種によって得た罹病葉を8月3日に散布するとともに、感

染源として周囲に栽培した蒙古稻の病斑からいもち病菌を分離し(8月16日)、レースを検定した。8月上旬および中旬に病斑面積率を調査した。

穂いもち圃場抵抗性検定では、3月中旬に播種して育てた苗を5月上旬に移植した。畝間17cm、株間10cmで、1株1本植えとし、区当り20株(10株×2列)を供試した。肥料は、10a当り基肥としてP₂O₅およびNをそれぞれ7.5kgおよび5.0kg、追肥としてNを移植1ヶ月後と2ヶ月後の2回それぞれ6kgと4kgずつ施した。出穂30日後および40日後に発病程度を調査した。以上の実験はいずれも3反復で行った。

III. 結果および考察

1. 雲南ジャポニカ稻および育成系統の真性抵抗性遺伝子型の推定

雲南ジャポニカ稻16品種・系統および日中共同研究育成の15系統に、日本菌4菌株と雲南省のジャポニカ稻栽培地帯から採集した7菌株(以下ジャポニカ菌とする)ならびにインディカ稻栽培地帯から採集した5菌株(以下インディカ菌とする)のいもち病菌胞子を接種し、真性抵抗性遺伝子型を推定した。ジャポニカ菌6レースに対する反応型から、雲南ジャポニカ稻は+型(自選24, 早粳842, 麗江782, 麗江957), *Pi-a*型(84-22, 大理50-701, 農黎12号), *Pi-i*型(躍進中32, 04-108, 科永5号, 87-144, 紅12), *Pi-k*型(紀念稻, 雲粳22号), および *Pi-km*型(科昌5号, 京無11)の5群に分けられた。このうち87-144はY88-278(レース137t⁺)に抵抗性を示し、*Pi-i*の他に未知の抵抗性遺伝子を持っていると推察された。農黎12号, 04-108, 科永5号, 紅12, 雲粳22号, 京無11の6品種・系統は, TH81-02-3(137b⁺), TH74-9(177)またはTH81-04(437)のいずれかに抵抗性反応を示し、推定された遺伝子の他に未知の抵抗性遺伝子をもっていると推察された(第1表)。

育成系統はジャポニカ菌7レースに対する反応型から *Pi-i*型(合系22-2, 合系33号, 合系26号, 合系28号, 合系35号), *Pi-k*型(合系27号), *Pi-i*, *Pi-km*型(合系24号, 合系30号, 合系32号, 92区9), *Pi-b*型(合系31号), および全供試菌株に抵抗性を示す型(合系25号, 合系29号, 合系34号, 92区8)の5群に分けられた(第2表)。このうち *Pi-i*型と推定された合系26号, 合系28号, 合系35号ならびに *Pi-i*, *Pi-km*型と推定された合系32号, 92区9はY88-278(037t⁺), Y88-45(137t⁺),

第1表 雲南ジャポニカ稻のいもち病真性抵抗性遺伝子型の推定

品種名	推定抵抗性遺伝子型	供試菌株名（レース）								
		ジャポニカ菌						日 本 菌		
		Y34 (001)	Y90-31 (003)	Y88-12 (007)	Y88-14 (017t ⁺)	Y88-278 (037t ⁺)	Y88-45 (137t ⁺)	TH81-02 -3(137b ⁺)	TH74-9 (177)	TH81-04 (437)
自選24	+	S	S	S	S	S	S	S	S	S
早粳842		S	S	S	S	S	S	S	S	S
麗江782		S	S	S	S	S	S	S	S	S
麗江957		S	S	S	S	S	S	S	S	S
84-22	<i>Pi-a</i>	—	S	S	S	S	S	S	S	S
大理50-701		—	S	S	S	S	S	S	S	S
農黎12号*		—	S	S	S	S	S	S	—	S
躍進中32	<i>Pi-i</i>	—	—	S	S	S	S	S	S	S
04-108*		—	—	S	S	S	S	—	S	S
科永5号*		—	—	S	S	S	S	—	—	—
87-144*		—	—	S	S	—	S	S	S	S
紅12*		—	—	S	S	S	S	—	S	S
紀念稻	<i>Pi-k</i>	—	—	—	S	S	S	S	S	S
雲粳22号*		—	—	—	S	S	S	—	S	S
科昌5号	<i>Pi-km</i>	—	—	—	—	S	S	S	S	S
京無11*		—	—	—	—	S	S	—	S	S

注）＊：未知の真性抵抗性遺伝子を保有する可能性がある。

S：罹病性反応，—：抵抗性反応。

第2表 育成系統のいもち病真性抵抗性遺伝子型の推定

系統 番号	推定抵抗性遺 伝子型	菌株名（レース）										
		ジャポニカ菌							日 本 菌			
		Y 34 (001)	Y 90-31 (003)	Y 88-12 (007)	Y 88-14 (017t ⁺)	Y 88-278 (137t ⁺)	Y 88-45 (137t ⁺)	Y 69 (137b ⁺)	TH81-02 -3(137b ⁺)	TH74-9 (177)	88A (433)	TH81-04 (437)
合系22-2	<i>Pi-i</i>	—	—	S	S	S	S	S	S	S	—	S
〃 33号		—	—	S	S	S	S	S	S	S		S
〃 26号*		—	—	S	S	S	S	—	—	S	—	S
〃 28号*		—	—	S	S	—	S	S	—	S	—	S
〃 35号*		—	—	S	S	S	—	S	S	S		S
合系27号	<i>Pi-k</i>	—	—	—	S	S	S	S	S	S	S	S
合系24号	<i>Pi-i</i> , <i>Pi-km</i>	—	—	—	—	S	S	S	S	S	—	S
〃 30号		—	—	—	—	S	S	S	S	S	—	S
〃 32号*		—	—	—	—	—	S	S	S	S	—	S
92区9*		—	—	—	S	S	S	S	—	S	—	S
合系31号	<i>Pi-b</i>	—	—	—	—	—	—	S	S	—	—	—
合系25号	R**	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
〃 29号		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
〃 34号		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
92区8		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

注）＊：未知の抵抗性遺伝子をもつ，**：全供試菌株に抵抗性反応を示す。

S：罹病性反応，—：抵抗性反応，空欄は実験を行わなかった。

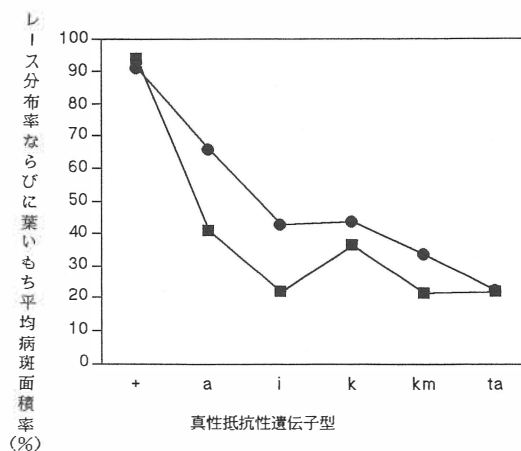
Y69 (137b⁺) または TH81-02-3 (137b⁺) のいずれかに抵抗性反応を示し、それぞれ未知の抵抗性遺伝子をもっていると推定された。

このように雲南ジャポニカ稲および育成系統の多くは、既知の抵抗性遺伝子の他に未知の抵抗性遺伝子をもっていると推定される。とりわけ育成系統には、ジャポニカ稲栽培地帯の主要レースすべてに抵抗性反応を示すか、または *Pi-i*, *Pi-k*, *Pi-km*, *Pi-b* 等の真性抵抗性遺伝子をもつものが多かった。共同研究の主要な試験地である昆明、宜良等では、+型または *Pi-a* 型品種を侵すレース分布率が高く、それ以外の遺伝子型品種を侵すレースは少ない。とくに *Pi-b* を侵すレースはほとんどない。このため、現在の共同研究の品種育成は真性抵抗性の利用に主眼が置かれているといえる。しかし、単一の真性抵抗性遺伝子を有する品種では、これを侵す新レースが発生し、壊滅的被害を被る恐れがあり、今後圃場抵抗性あるいは複数の真性抵抗性をあわせもつ品種の育成・利用が望まれる。

2. 葉いもち圃場抵抗性検定

1990年に葉いもち検定圃場のレースを調べた。分離された27菌株のレースは、001(37.0%), 003(11.1%), 007(7.4%), 013(3.7%), 030(3.7%), 031(14.0%), 101(3.7%), 103(3.7%), 117t⁺(11.1%), および337t⁺(3.7%)の10種類であり、接種菌 (TH81-02-3) は全く分離されなかった。圃場では自然菌の影響が大きく、接種菌の影響が相対的に低下するものと考えられる。分離されたレースに侵される抵抗性遺伝子 *Pi-k*^s, *Pi-a*, *Pi-i*, *Pi-k*, *Pi-km*, *Pi-ta*, *Pi-ta*² および *Pi-t* のうち、雲南ジャポニカ稲にはほとんどないと考えられる³⁾ *Pi-ta*² と *Pi-t* を除く6個の遺伝子型別に、それを侵すレース分布率と品種の発病率を調べた。各遺伝子型品種の平均病斑面積率は、その遺伝子を侵すレース分布率に比例していた(第1図)。このことから圃場では、真性抵抗性遺伝子型の異なる品種、未知の遺伝子を有する品種、あるいは親和性レースが分布していない品種等の圃場抵抗性を比較することは困難と考えられた。

そこでガラス室における圃場抵抗性検定法を検討した。圃場抵抗性は、菌の感染、孢子形成、病斑拡大、再感染などの一連の過程の総合されたものとして発現される。一回の接種によって生じる発病を調査する方法は、再感染に対する抵抗性を無視するうえに、接種むら等による精度低下を引き起こす。このためガラス室において、いもち病菌3菌株: TH81-02-3, Y69およびY88-45の孢子を混合接種して二次感染を生じさせ、



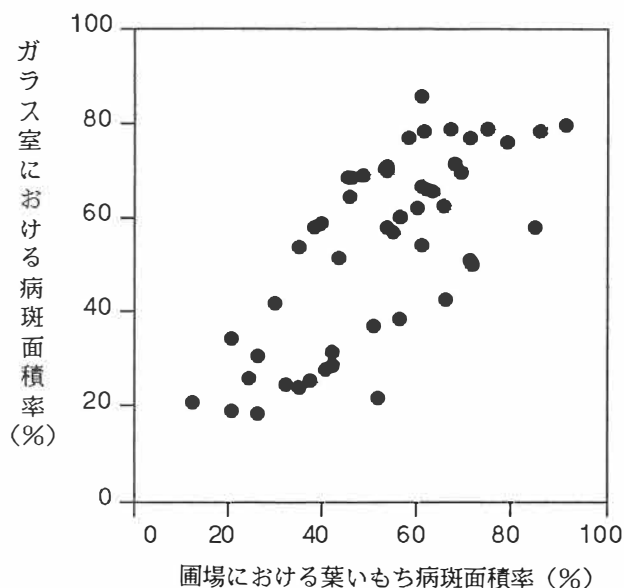
第1図 真性抵抗性遺伝子型別の異なる品種の葉いもち発病率とレース分布率との関係

●—●: 各抵抗性遺伝子型品種の葉いもち平均病斑面積率

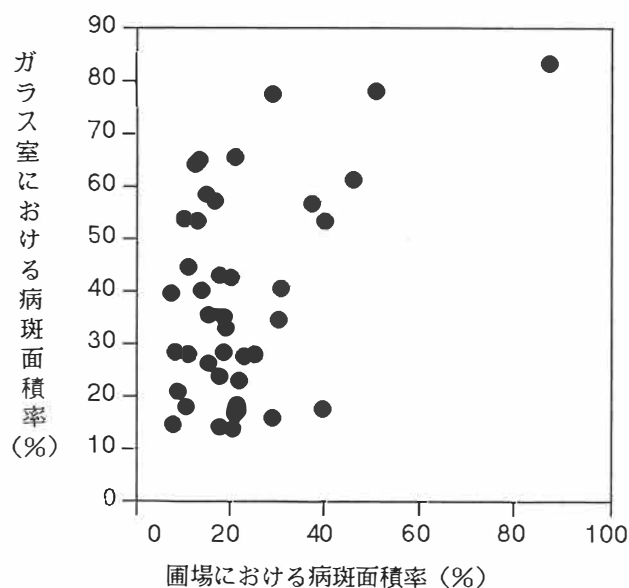
■—■: 各抵抗性遺伝子を侵すレース分布率

圃場抵抗性の検定を試みた。実験には、3菌株のいずれにも明らかな罹病性反応を示す品種を供試した。実験を行った1990年と1991年の10月～12月、および1991年と1992年の2月～4月のガラス室内温度は、日中は10～35℃、ビニール被覆と加温を行った夜間は14～28℃であった。接種による病斑形成ならびに病斑上の孢子形成は接種5～7日後に、二次感染は10～14日後に始まった。発病の品種間差が明らかになった接種25日後および35日後に病斑面積率を調べ、圃場のそれと比較した。結果は第2, 3, 4, 5図である。+型および *Pi-a* 型品種では、ガラス室検定と圃場検定による品種間差の相関が高かった。これに対し、*Pi-i* 型および *Pi-k* 型品種には、発病率が圃場検定で低く、ガラス室検定で高くなる品種が認められた。これらの品種は、*Pi-i*, *Pi-k* 以外の抵抗性遺伝子をもち、それによって圃場における発病が低下している可能性が考えられる。

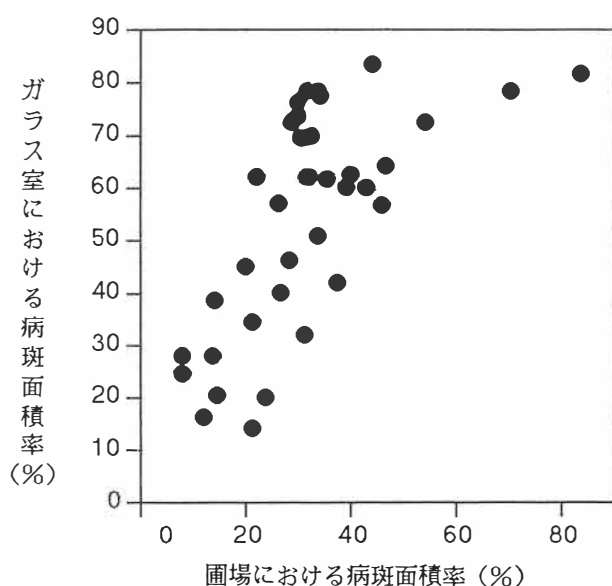
このように、ガラス室検定では、真性抵抗性遺伝子型の異なる品種や抵抗性遺伝子を持っている品種でも、ある程度圃場抵抗性を比較できると考えられた。雲南ジャポニカ稲には真性抵抗性をもつ品種が多いと推察されることから、圃場抵抗性の検定は、圃場だけでなくガラス室でも併せて行うことが望まれる。以上の検定結果に基づいて、供試品種の圃場抵抗性を5段階に区分した。ガラス室検定においては、いずれの遺伝子型品種についても病斑面積率10.1～25%, 25.1～40.0,



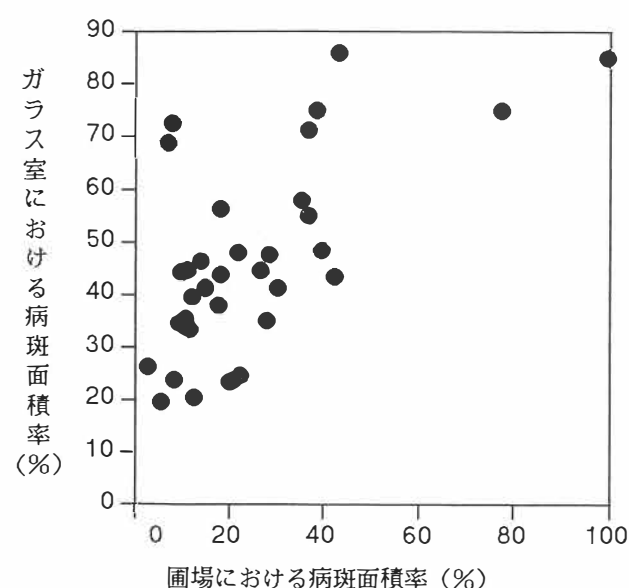
第2図 ガラス室と圃場における葉いもち発病率の品種間差 (+型品種)



第4図 ガラス室と圃場における葉いもち発病率の品種間差 ($Pi-i$ 型品種)



第3図 ガラス室と圃場における葉いもち発病率の品種間差 ($Pi-a$ 型品種)



第5図 ガラス室と圃場における葉いもち発病率の品種間差 ($Pi-k$ 型品種)

40.1~55.0, 55.1~70.0, 70.1~100 の品種をそれぞれ抵抗性強, やや強, 中, やや弱, 弱と判定した。圃場検定における抵抗性程度の判定は遺伝子型別に行った。圃場抵抗性程度の判定が圃場とガラス室とで異なる場合には, ガラス室の結果を優先した。結果は第3表-1 および第3表-2 に示すとおりである。雲南ジャポニカ稲には日本品種より相対的に強い抵抗性を示す品種が多かった。真性抵抗性には, 温度によって反応型の異なるものがあるが¹⁾, 雲南ジャポニカ稲にも接種時期によって反応型の異なるものがあり, 環境条件に

よって反応型が変動する抵抗性遺伝子の存在が示唆される。また, 圃場抵抗性には作用力の大きい少数の遺伝子によって支配されるものもある。したがって, 本実験で著しく発病率の低かった品種については, その抵抗性機構を明らかにする必要がある。

圃場抵抗性は基準品種に対する相対的なものとして判定される。そこで, 真性抵抗性遺伝子型別に圃場抵抗性比較基準品種を選定した(第4表)。基準品種には未知の抵抗性が関与する可能性のある著しく発病率が低い品種でなく, 圃場とガラス室の両方で安定した発

第3表—1 雲南ジャポニカ稻の葉いもち圃場抵抗性

真性抵抗性遺伝子型	抵抗性程度	病斑面積率(%)		品 種 名
		圃場	ガラス室	
+	強	10.1-30.0	10.1-25.0	雲2117, 合系10号, 晋寧26-11-4, 雲二天01, 雲二天02
	やや強	30.1-45.0	25.1-40.0	雲129, 雲粳9号, 合系11号, 澄江65-113, 靖粳1号, 滇花4号, 04-108-14, 靖粳2号
	中	45.1-60.0	40.1-55.0	合系12号, 滇花5-3, 自選24, 麗江957, 楚粳11号, 昆粳3号, (日本晴, ハヤニシキ)
	やや弱	60.1-70.0	55.1-70.0	雲粳5号, 晋寧65-36, 晋糯1号, 04-1984, 鶴良1号, 86-6, 86-22, 77糯, 黒選2号, 麗江782, 西南175, 楚粳2号, 楚粳3号, 台幅4号, 江選2号, 京国9-2, 6562, (染分, 中母42, 黄金錦, 農林24号)
	弱	70.1-100	70.1-100	04-1984-1, 86-7, 早粳841, 麗江2号, 麗江942, 麗江新団黒谷, 昭通麻線谷, 京国9-3, (新2号)
Pi-a	強	5.1-15.0	10.1-25.0	大粒粳2号, 大理50-701, 大理635-781, 770-56, 77056-13, 晋寧277
	やや強	15.1-25.0	25.1-40.0	卡九玉, 73-44
	中	25.1-35.0	40.1-55.0	雲粳20号, 雲粳79-635, 雲広1号, 合系21号, 水雲1号, 86-1糯, 雲玉1号
	やや弱	35.1-45.0	55.1-70.0	晋紅1号, 84-22, 滇花3号, 04-453-10, 86-65, 84-82, 84-343, 84-360, 85-144, 85-787, 85-788, 86-70, 植282, (チヨニシキ, 奥羽319号, ニホンマサリ)
	弱	45.1-100	70.1-100	04-2342-1, 沾粳5号, 280糯, (愛知旭)

() 内は日本品種

病を示す品種を選定した。

3. 穂いもち圃場抵抗性検定

穂いもち発病は、出穂期の早晩に伴う気象条件の変化や、飛散孢子数の差異などに影響されることから、1989年から1991年までの3年間、出穂期の異なる品種を圃場に栽培し、出穂期と穂いもち発病の関係を調べた。新2号型(+)品種では、1989年には7月22日から8月31日までのいずれの出穂期においても発病程度の高い品種から低い品種まで認められたが、1990年および1991年には8月20日および8月11日以降に出穂した品種に発病程度の高い品種が認められなかった(第6, 7, 8図)。このような8月中旬以降に出穂する晩生種の発病低下は+型だけでなく、Pi-a型, Pi-i型, Pi-k型, Pi-km型のいずれの品種でも認められる一定の傾向であった。

晩生種の穂いもち発病低下要因を明らかにするために、早生種, 中生種および晩生種をポットに植え付け、ガラス室で栽培していもち病菌を接種し、発病程度を比較した。早~中生種では、圃場とガラス室における発病程度の差が小さかったのに対し、晩生種では圃場に比べガラス室における発病率程度が高くなった。圃

場における晩生種の発病程度の低さは、品種の抵抗性によるものではなく、出穂期の遅延による発病回避によると考えられる。

次に1989年から1991年までの3年間の気象条件と穂いもち発病程度との関係を調べた。穂いもち発病は、出穂期の気温および降雨とは無関係であったが、出穂後30日間の平均気温と密接に関連していた。すなわち、出穂後30日間の平均気温は、1989年には、供試品種間でほぼ一定であったが、1990年および1991年には、8月中~下旬以降に出穂した品種で急速に低下した。特に、すべての遺伝子型で発病程度の高い品種がなくなった1990年の8月20日以降および1991年の8月14日以降の30日間の平均気温は、それぞれ18.5℃および18.6℃以下であった(第9図)。穂いもち病斑進展は19℃以下で低下すると考えられていることから⁴⁾、晩生種の穂いもち発病低下の主因は、出穂後の気温低下による病斑の伸展抑制にあると考えられた。従って、穂いもち圃場抵抗性検定は、出穂後30日間の平均気温が18.5~18.6℃以上の時に発病する早~中生種と、それ以下の時に発病する晩生種の2群に分けて行うことにした。

出穂期が8月10~20日以前の早~中生種とそれ以降

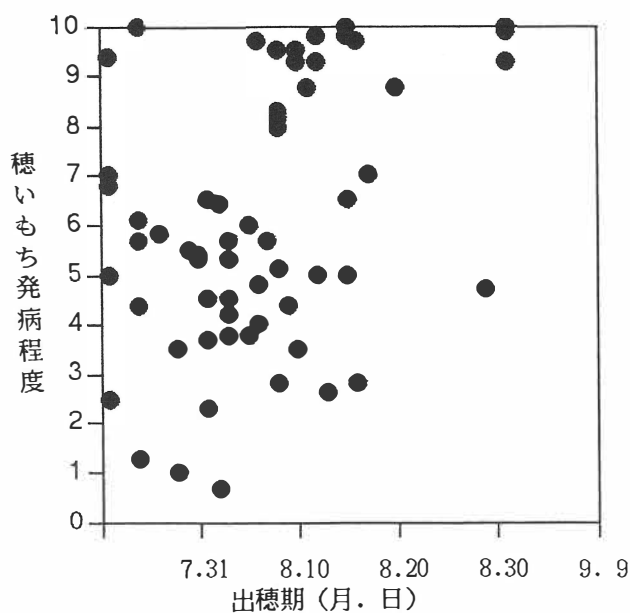
第3表—2 雲南ジャポニカ稻の葉いもち圃場抵抗性

真性抵抗性遺伝子型	抵抗性程度	病斑面積率(%)		品 種 名
		圃場	ガラス室	
<i>Pi-i</i>	強	5.1-10.0	10.1-25.0	逐浪高選雜, 78-185, 紅12 (Fn12)
	やや強	10.1-20.0	25.1-40.0	雲粳135, 合系1号, 合系3号, 合系5号, 合系14号, 昆粳4号, 雷4113, 岫榆1号, 7904, 大理75-64, 合系26号, 岫6-3
	中	20.1-30.0	40.1-55.0	雲粳136, 合系4号, 合系6号, 合系9号, 合系19号, 昆明108, 桂黄62, A210, 7907-1, 782, 8501, 合系23号, (中部46号)
	やや弱	30.1-40.0	55.1-70.0	雲粳133, 昆明80-2, 77-196, 科永5号, 86-167, 躍進中32, 8365-51, 岫2-13, 合系22-2, (中部45号, トドロキワセ)
	弱	40.1-100	70.1-100	86-168, 87-144, 攀農1号, (石狩白毛)
<i>Pi-k</i>	強	5.1-10.0	10.1-25.0	雲粳22号, 合系2号, 84-59, 岫1-1
	やや強	10.1-20.0	25.1-40.0	雲粳134, 晋寧768, 85-764, 楚粳8号, 84-7, 岫4-10, 岫4-10-1, 岫5-12, 岫18-1
	中	20.1-30.0	40.1-55.0	雲粳219, 紀念稻, 合系8号, 合系18号, 昆明217, 永立221, 西紅131, 86-42, 楚粳10号, 双京5号, 岫18-54
	やや弱	30.1-40.0	55.1-70.0	粳掉3号, 合系27号, 04-1916, 鶴16, 7613
	弱	40.1-100	70.1-100	合系7号, 玉溪8126, 昆明小白谷, 半節芒, 昆明揩子谷, (関東51号)
<i>Pi-km</i>	強	5.1-10.0	10.1-25.0	雲粳26号, 88-515, 合系24号
	やや強	10.1-20.0	25.1-40.0	雲粳24号, 雲粳25号, 科永12号
	中	20.1-30.0	40.1-55.0	楚粳7号
	やや弱	30.1-40.0	55.1-70.0	830, 遠晋2号, 78-258, 晋寧102, 合系22号, 0012, 038-2-1, 86-151, 86-153, 岫3-2, 京無11
	弱	40.1-100	70.1-100	85-5-20, 84-5-20, 86-152, 科昌5号, 双京4831, (ツユアケ)

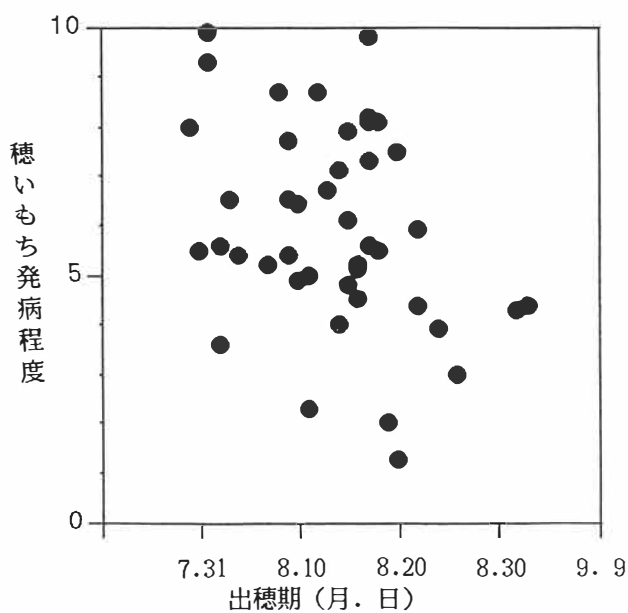
() 内は日本品種

第4表 葉いもち圃場抵抗性比較基準品種

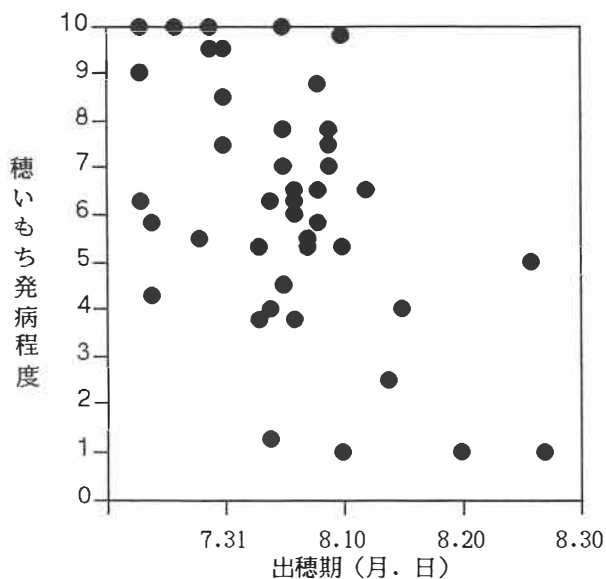
抵抗性程度	+	真性抵抗性遺伝子型			
		<i>Pi-a</i>	<i>Pi-i</i>	<i>Pi-k</i>	<i>Pi-km</i>
強	雲二天01 晋寧26-11-4	大理50-701 77056-13	逐浪高選雜 78-185	雲粳22号 岫1-1	雲粳26号 88-515
やや強	雲129 靖粳1号	73-44 卡九玉	滇榆1号 昆粳4号	雲粳134 岫4-10-1	雲粳24号 科永12号
中	昆粳3号 自選24	雲粳79-635 86-1粳	782 雲粳136	双京5号 86-42	楚粳7号 —
やや弱	台幅4号 楚粳2号	滇花3号 晋紅1号	科永5号 86-167	合系27号 粳掉3号	京無11 0012
弱	昭通麻線谷 早粳841	280糯 沾粳5号	攀農1号 87-144	昆明小白谷 昆明淖子谷	84-5-20 双京4831



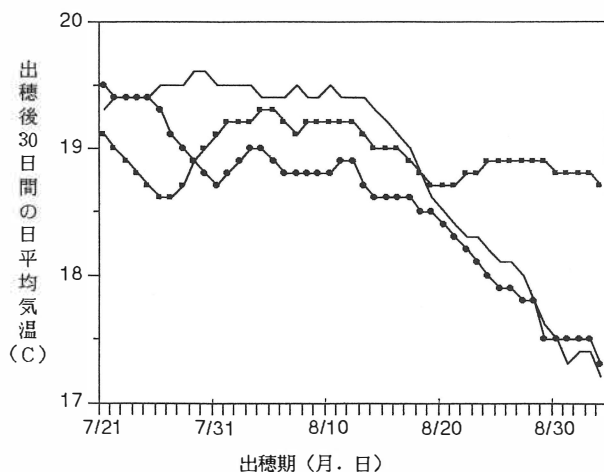
第6図 新2号型(+)品種の出穂期別穂いもち発病程度(1989年)



第7図 新2号型(+)品種の出穂期別穂いもち発病程度(1990年)



第8図 新2号型(+)品種の出穂期別穂いもち発病程度(1991年)



第9図 1989年, 1990年および1991年の出穂30日間の日平均気温
■-■: 1989年, —: 1990年, ●-●: 1991年

の晩生種とに分け, ジャポニカ稲と育成系統の穂いもち圃場抵抗性を3段階に区分した。早～中生種については1989年～1991年までの3年間の結果を, 晩生種については主として1989年の結果をもとに判定した。結果は第5表-1および第5表-2に示すとおりである。雲南ジャポニカ稲には日本品種に比べ著しく発病程度の低い品種が認められた。葉いもちの場合と同様に,

一部品種の発病率は, 圃場抵抗性以外の要因によって低下している可能性がある。

次に真性抵抗性遺伝子型別に穂いもち圃場抵抗性検定用基準品種を選定した(第6表) 晩生種は品種数が少なく各抵抗性程度に適合する品種がないこと, ならびに8月中旬以降に出穂する品種は実用的でないことから, 基準品種は早～中生種についてのみ選定した。更に基準品種は発病の年次差の少ないものを選定した。

第5表－1 雲南ジャポニカ稻の穂いもち圃場抵抗性

真性抵抗性 遺伝子型	抵抗性 程 度	発病程度	早～中生種	晩生種
+	強	3.1-5.0	雲粳5号, 雲粳9号, 晋粳1号, 晋粳1号, 85-632, 雲二天01, 靖粳2号	滇花4号,
	中	5.1-6.5	雲129, 雲2117, 合系10号, 昆粳3号, 靖粳1号, 04-108-14, 雲二天022, 86-6, 86-22, 77糯, 黒選5号, 麗粳2号, 麗江942, 楚粳11号	
	弱	6.6-8.0	合系11号, 合系12号, 65-113, 滇靖5-3, 04-1984, 04-1984-1, 鶴良1号, 86-7, 早粳841, 昭通麻線谷, 西南175, 楚粳2号, 楚粳3号, 江選2号, 6562, 自選24, (ハヤニシキ, 染分, 中母42, 新2号, 農林24号)	65-36, 台幅4号, 京国92, 京国93
<i>Pi-a</i>	強	2.1-3.5	84-82, 85-787, 大理50-701, 大理675-781	晋寧277, 農黎3-2, 77056-13, 84-360
	中	3.6-6.0	雲粳20号, 卡九玉, 合系21号, 水雲1号, 大粒粳21号, 農黎3-1, 雲玉1号, 85-144, 85-788, 86-70, 植282	770-56, 84-343
	弱	6.1-8.0	晋紅1号, 79-635, 滇花3号, 沾粳5号, 科永3号, 86-1, 86-65, 280糯, (アキヒカリ, ニホンマサリ, チヨニシキ, 愛知旭)	雲広1号, 麻切

注) 早～中生種は1989, 1990および1991年の3年間の, 晩生種は1989の結果による。

() 内は日本品種

第5表－2 雲南ジャポニカ稻の穂いもち圃場抵抗性

真性抵抗性 遺伝子型	抵抗性 程 度	発病程度	早～中生種	晩生種
<i>Pi-i</i>	強	1.1-2.5	雲粳133, 合系1号, 合系6号, 合系19号, 合系26号, 782	
	中	2.6-4.0	雲粳135, 雲粳136, 合系3号, 合系5号, 合系9号, 合系14号, 77-196, 逐浪高選雜, A210, 7907-1, 大理75-64, 合系23号, 78-185, 04-108	滇榆1号, 7904, 76012-21, 77057-22, 岫2-13,
	弱	4.1-8.0	合系4号, 昆粳4号, 昆明108, 昆明80-2, 雷4113, 桂黄62, 8501, 86-167, 86-168, 87-144, 攀農1号, (トドロキワセ, 石狩白毛)	
<i>Pi-k</i>	強	1.1-2.5	雲粳134, 雲粳219号, 雲粳22号, 合系2号	84-7
	中	2.6-4.0	1957, 合系18号, 晋寧768, 永立221, 西紅131, 岫18-54, 合系8号	岫1-1, 岫4-10, 岫4-10-1
	弱	4.1-8.0	粳掉3号, 合系27号, 昆明217, 85-1-27, 04-1916, 鶴16, 86-42, 半節芒, 楚粳8号, 楚粳10号, 合系7号, (関東51号)	双京5号, 岫5-12, 岫18-1, 岫18-54, 昆明小白谷
<i>Pi-m</i>	強	1.1-2.5	雲粳25号, 88-515, 合系22号, 合系24号, 86-153	岫3-2
	中	2.6-4.0	830, 遠普2号, 雲粳24号, 晋寧102, 85-511, 科永12号, 0012, 038-2-1, 86-151, 86-152	
	弱	4.1-8.0	78-258, 85-5-20, 84-5-20, 楚粳7号, (ツユアケ)	双京4831

注) 早～中生種は1989, 1990および1991年の3年間の, 晩生種は1989の結果による。

() 内は日本品種

第6表 穂いもち圃場抵抗性比較基準品種

抵抗性 程 度	+	真性抵抗性遺伝子型			
		<i>Pi-a</i>	<i>Pi-i</i>	<i>Pi-k</i>	<i>Pi-km</i>
強	晋粳1号	大理50-701	雲粳133	雲粳219	雲粳25号
中	雲2117	卡九玉	逐浪高選雜	合系18号	科永12号
弱	西南175	86-1糯	昆粳4号	04-1916	85-5-20

4. インディカ稻栽培地帯のいもち病菌レース分布

インディカ稻栽培地帯から採集した216菌株のレースを検定した。結果は第10図である。9判別品種に対する反応型では37種類、11品種に対する反応型では55種類のレースに分類された。9品種に対する反応型で分類した場合に、もっとも分布頻度の高いレースは、002(12%)であり、ついで006(10.2), 003(8.8), 114(7.9), 136(7.9), 036(5.1), 007(4.6)の順であった。このうちレース036, 136, 006, 002, 114はジャポニカ稻栽培地帯における分布率が1%以下であった²⁾。これに対し、ジャポニカ稻栽培地帯において分布率の高いレース001(19.1%), 007(9.4), 117(8.9), 005(8.1), 013(6.8)のインディカ稻栽培地帯における分布率は、それぞれ2.3%, 4.6%, 1.3%, 1.9%, 1.4%であり、ジャポニカ稻栽培地帯とインディカ稻栽培地帯とではレース構成が異なることが明らかになった。このようなレース構成の違いは、インディカ稻とジャポニカ稻の真性抵抗性遺伝子型の違いに起因する可能性がある。

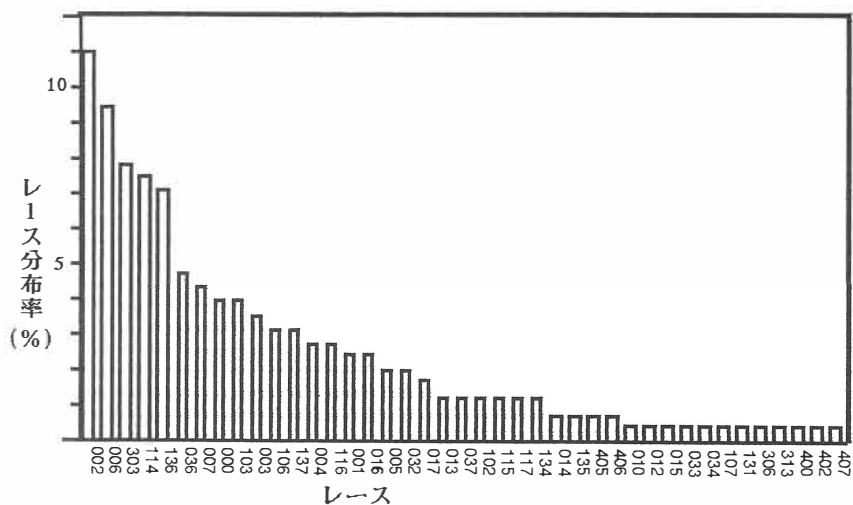
5. 真性抵抗性遺伝子型に基づく抵抗性反応によるインディカ稻の類別

インディカ稻には、ジャポニカ稻栽培地帯に分布する主要ないもち病菌レースに抵抗性反応を示す品種が

多いと考えられている⁵⁾。このため、インディカ稻の抵抗性遺伝子を解析し、ジャポニカ稻品種育成の遺伝資源としての利用を検討した。

日本菌4菌株、ジャポニカ菌7菌株、インディカ菌5菌株の合計16菌株をインディカ稻81品種・系統に接種し、反応型を調べた。19品種はジャポニカ菌すべてに、29品種は日本菌すべてに抵抗性反応を示し、未知の遺伝子の存在が示唆された。さらに中間型の反応を示すもの、あるいは反応型の異なる種子が混在しているものが34品種あり、既知の遺伝子型に基づく類別は困難であった。

すべてのジャポニカ菌に抵抗性反応を示した19品種は、インディカ菌および日本菌に対する反応型から9群に分けられた(第7表)。供試菌株には、既知の真性抵抗性遺伝子全てに病原性を示すレースがないことから、全菌株に抵抗性反応を示したI群品種(細紅谷)は、既知の真性抵抗性遺伝子を複数有する可能性もある。その他のII~IV群品種は、いずれも未知の抵抗性遺伝子を有すると推察され、その反応型からA~Eまでの少なくとも5個の未知の遺伝子の存在が示唆された。また、すべての日本菌に抵抗性反応を示した29品種は、ジャポニカ菌または日本菌に対する反応から16



第10図 インディカ稻栽培地帯のいもち病菌レース

第7表 真性抵抗性遺伝子に基づく反応型による雲南インディカ稲の類別

反 応 型	未知* の抵抗性 遺伝子	菌株名（レース）									品 種 名
		インディカ菌					日 本 菌				
		Y 90-48 (001)	Y 90-71 (102)	Y 90-73 (114t ⁺)	Y 90-9 (007)	Y 90-13 (037)	TH81-02 -3(137b ⁺)	TH74-9 (177)	88A (433)	TH81-04 (437)	
I .		—	—	—	—	—	—	—	—	—	細紅谷
II .	A	—	—	—	S	—	—	—	—	—	山羊谷，羅雜谷 九月黄皮谷，九月谷(-)
III .	A	—	—	S	S	—	—	—	—	—	山花谷
IV .	B・C	—	—	—	—	S	—	—	—	—	金赤谷，騾子谷(=)
V .	B	—	—	—	—	S	—	—	—	S	毫冬朗
VI .	C	—	—	—	—	S	—	S	—	—	夏酒白谷
VII .	E	—	—	—	S	S	—	—	—	—	元江白谷，堅持谷，羅平二 馬蹄谷，瀾堤谷，小芒種
VIII .	D	—	S	—	—	S	—	—	—	—	毫孟来，台選 1 号
IX .	E	—	S	—	S	S	—	—	—	—	紅早谷

注) 雲南ジャポニカ稲栽培地帯の主要レースに抵抗性反応を示す。

S：罹病性反応，—：抵抗性反応，*：保有すると考えられる未知の真性抵抗性遺伝子。

のタイプに分類された。I 群を除く15の品種群は未知の真性抵抗性遺伝子を有すると推察され、インディカ稲には多数の未知の遺伝子の存在が示唆された。

このように雲南インディカ稲には多数の未知の真性抵抗性遺伝子が存在する可能性がある。特にジャポニカ菌に抵抗性反応を示した品種は、ジャポニカ稲品種育成の遺伝資源として有用であると考えられる。

VI. 要 約

中国雲南省のジャポニカ稲栽培地帯では、いもち病の発生が激しく、抵抗性品種の育成・利用が望まれている。いもち病に対するイネ品種の抵抗性は、病斑形成を阻止する真性抵抗性と、病斑数や病斑拡大を抑制する圃場抵抗性とに分けられるが、抵抗性品種の育成には、その両方を利用することが望まれる。しかし、圃場では、未知の抵抗性遺伝子をもつ品種の抵抗性検定は困難である。ガラス室で育苗した4葉期の苗にいもち病菌を接種した後、夜間ビニール被覆と加温を行い二次感染を起こさせることによって葉いもち圃場抵抗性を検定できることが明らかになった。以上の結果に基づいてジャポニカ稲および育成系統のいもち圃場抵抗性を評価するとともに、真性抵抗性遺伝子型別に圃場抵抗性比較基準品種を選定した。

インディカ稲81品種・系統のうち、ジャポニカ稲栽培地帯の主要ないもち病菌レースに抵抗性反応を示した19品種は、雲南省のインディカ稲栽培地帯および日

本で採集したいもち病菌に対する反応型から9群に類別され、少なくとも5個の未知の真性抵抗性遺伝子を持つと推察された。

以上の結果によりジャポニカ稲の圃場抵抗性検定が可能になるとともに、ジャポニカ稲栽培地帯で有効な真性抵抗性遺伝子がインディカ稲に存在していることを明らかにした。

引用文献

- 1) 井辺時雄・松本省平 (1985). イネ品種レイホウに病原性のいもち病菌菌系に対するイネ品種の抵抗性の遺伝と新遺伝子の同定. 育種 35: 332-339.
- 2) Iwano, M., J. Lee, et al. (1990). Distribution of pathogenic races and changes in virulence of rice blast fungus, *Pyricularia oryzae* Cav., in Yunnan Province, China. JARQ 23: 241-248.
- 3) Iwano, M. and P. Kong (1990). Classification of japonica rice varieties in Yunnan Province, China, based on reaction patterns to several isolates with different pathogenicity of blast fungus, *Pyricularia oryzae* Cavara. JARQ 24: 156-162.
- 4) 中村啓二 (1972). 穂いもちの発病増加曲線と薬剤散布時期について. 広島県農試報 31: 11-30.
- 5) 遺伝子源の利用による水稻耐冷・耐病・多収性品種の育成に関する研究 (I). 熱帯農研集報 55: 1-74.

I. 雲南省におけるイネいもち病

3. 雲南省産イネいもち病菌の交配能力とその菌株の利用

林 長 生

農業研究センター病害虫防除部水田病害研究室

Rice Blast Disease in Yunnan Province, China

3. Distribution and use of fertile rice blast fungus isolated from Yunnan Province in China

Nagao HAYASHI

National Agricultural Research Center

Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan

A total of 308 isolates of *Magnaporthe grisea* collected from rice plants in Yunnan province, China were tested for their mating type and fertility. Of the 79 isolates for which a compatible mating type was identified, 9 isolates belonged to type A and 70 to type a. Isolates with an unknown mating type numbered 229. Mature perithecia and viable ascospores were formed in several cross-combinations by using two isolates pathogenic to rice that belonged to different mating groups. It is considered that the use of fertile rice blast isolates may enable to analyse genetically the characteristics of *M. grisea*.

Key words: Rice blast disease, *Pyricularia oryzae*, *Magnaporthe grisea*, mating type, China

キーワード: イネいもち病, イネいもち病菌, 交配型, 中国

いもち病菌有性世代形成の歴史的経過

1971年 Hebert はメヒシバいもち病菌を用いて有性交雑に成功した。その後牧草として導入が検討されていたシコクビエにいもち病をおこすシコクビエいもち病菌での交配が Kato *et al.*, Yaegashi *et al.*, Ueyama *et al.*により報告され、さらに、シコクビエいもち病菌を一方の交雑親に用いれば、イネいもち病菌とも交配できることが示された。しかし、シコクビエいもち病菌とイネいもち病菌の交配から形成される子のう穀は、未熟なものが多く遺伝解析は困難であった。1982年、Kato and Yamaguchi は、日本、インドネシア、アフリカ産のイネいもち病菌間の交配に世界ではじめて成

功した。しかし、有性世代を使った遺伝解析までは至らなかった。

Kato *et al.*は、いもち病菌の交配能力に基づいていもち病菌の寄生性分化機構を考察した。すなわち、他の植物を宿主とするいもち病菌と幅広く交配できるシコクビエいもち病菌に焦点をあて、いもち病菌が種子伝染性であること、シコクビエ種子の伝播、シコクビエの栽培地帯分布などから、シコクビエいもち病菌は、シコクビエ野生種の出発地、アフリカ東部からイネが栽培されていたインドに伝播し、イネと出会い寄主転換がおこり、イネいもち病菌が分化したとしている。

雲南はインド・アッサム地方と共にアジア栽培イネの起源地とされ、イネの作付状況も多様であることから、シコクビエいもち病菌のように、高い交配能力を

保持したイネいもち病菌が存在する可能性が高いと加藤により指摘され、交配能力の検定が期待されてきた。

1. 雲南省産イネいもち病菌の交配能力

雲南産イネいもち病菌の交配型及び交配能力を明らかにする。

試験方法

菌株：岩野氏により雲南省全域から採集されたいもち罹病葉から常法により単孢子分離した308菌株を供試した。

交配：イネいもち病菌をオートミール培地（オートミール3%，グルコース0.5%，寒天1.6%）に交配型標準菌株57-R-33（交配型A），57-R-28（交配型a，いずれもシコクビエいもち病菌）とそれぞれ対峙培養した。25℃で4～5日培養後ビニール袋に入れて蛍光灯下21℃におき，培養後20日～30日後に観察した。

調査：子のう殻形成の有無，形成位置，形成程度，成熟程度を調べた。

試験結果および考察

培養後15～20日すると対峙した菌叢の交接部に線状に子のう殻が形成された。供試した菌株の交配能力の結果を表1に示した。308菌株のうち交配能力をもつ菌株は79菌株で，交配型Aは9菌株，交配型aは70菌株で交配型aの方が多くみられた。西双版纳州及び曲靖地区では，両交配型の菌株が存在していた。また図1に示したように二列に子のう殻が形成される雌雄両性菌株も，交配型Aで6菌株，交配型aで3菌株得られ

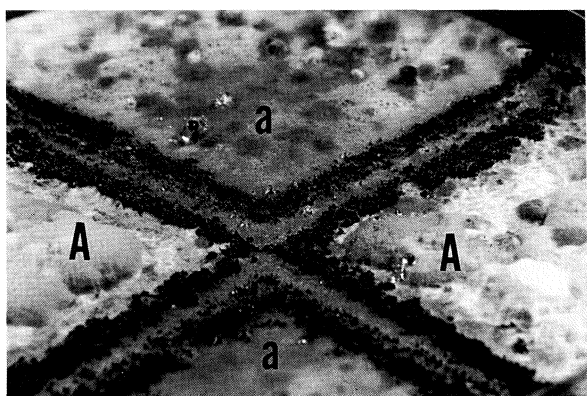


Fig. 1. Double row of perithecia produced in the mating of two hermaphrodites. This photograph shows the intersection of growth on oatmeal agar of a wild type *Magnaporthe grisea* strain (A) and a mating reference isolate (a).

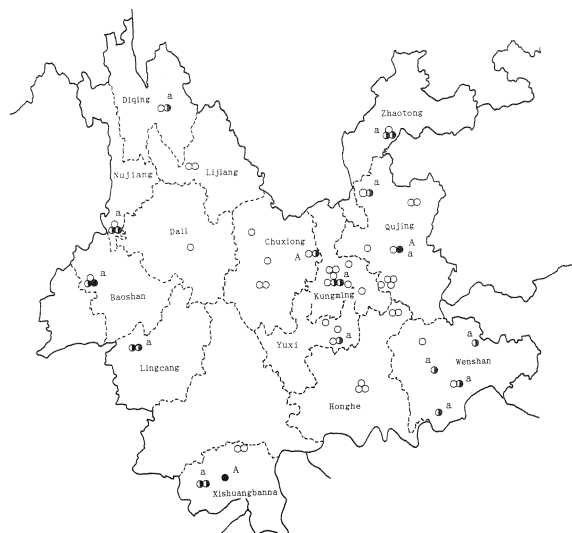


Fig. 2. Distribution of fertile isolates. Closed circle indicates hermaphrodite isolate. Half-closed circle indicates male isolate. Opened circle indicates sterile isolate. A and a indicate mating type A and a, respectively.

た。菌株の雌雄性は，子のう殻が2列に形成されることから推定されている特性で，雌雄性に対応した器官は特定されていない。雲南省は北部にジャポニカ，南部にインディカ種が栽培され，また陸稲やハイブリッド種も広く栽培され多様な栽培地帯が分布している。栽培地帯といもち病菌の交配能力との関係を調べたところ，雲南省のほぼ全域から交配能力の高い菌株が得られたが，特に南部（西双版纳州，臨滄地区）からの分離率が高かった（図2）。岩野氏が行ったレース検定結果と交配能力との関連をみると，特に際だった関係はみられなかったが，日本に多くみられる003，007，001の各レースを示す菌株には交配能力をもつものは少なかった（表1）。

2. 雲南産イネいもち病菌間の交配

交配型が明らかになったイネいもち病菌株について，その菌株間で交配し，遺伝解析などに供試できる菌株を選ぶことを目的とする。

試験方法

菌株：シコクビエいもち病菌との交配型検定で交配能力が認められた雌雄性株を含む，交配型A 8菌株，交配型a 20株を供試した。

交配：オートミール培地に交配型の異なるイネいもち病菌を対峙培養した。1と同様にして交配させ，調査した。

表 1 雲南省産イネいもち病菌の交配能力検定結果

分離菌株名	採集地	品種名	交配型	性	子のう殻 形成	熟度	検定番号	レース
CHNOS 3-1-1	西双版纳普文	大南特	—					
CHNOS 3-1-2	西双版纳普文	大南特	—					
CHNOS 3-1-3	西双版纳普文	大南特	—					
CHNOS 3-1-4	西双版纳普文	大南特	—					
CHNOS 3-1-5	西双版纳普文	大南特	—					
CHNOS 3-2-1	西双版纳普文	汕优63F ₁	—					* 303b ⁺
CHNOS 3-2-2	西双版纳普文	汕优63F ₁	—					
CHNOS 3-2-3	西双版纳普文	汕优63F ₁	—					
CHNOS 3-2-4	西双版纳普文	汕优63F ₁	—					
CHNOS 3-2-5	西双版纳普文	汕优63F ₁	—					
CHNOS 4-1-1	紅河州建水	西南175	—					* 001
CHNOS 4-1-2	紅河州建水	西南175	—					
CHNOS 4-1-3	紅河州建水	西南175	—					
CHNOS 4-1-4	紅河州建水	西南175	—					
CHNOS 4-1-5	紅河州建水	西南175	—					
CHNOS 4-2-1	紅河州建水	尋雜29	—					* 005t ⁺
CHNOS 4-2-2	紅河州建水	尋雜29	—					
CHNOS 4-2-3	紅河州建水	尋雜29	—					
CHNOS 4-2-4	紅河州建水	尋雜29	—					
CHNOS 4-2-5	紅河州建水	尋雜29	—					
CHNOS 5-1-1	曲靖地区曲靖	楚粳3号	A	♂	++++	++	1371	
CHNOS 5-1-2	曲靖地区曲靖	楚粳3号	A	♀♂	++++	—	1373	
CHNOS 5-1-3	曲靖地区曲靖	楚粳3号	A	♂	++++	++	1375	
CHNOS 5-1-4	曲靖地区曲靖	楚粳3号	—					
CHNOS 5-1-5	曲靖地区曲靖	楚粳3号	a	♀♂	+++	++	1378	006.4
CHNOS 5-2-1	曲靖地区曲靖	沾益04系統	—					* 101
CHNOS 5-2-2	曲靖地区曲靖	沾益04系統	—					
CHNOS 5-2-3	曲靖地区曲靖	沾益04系統	—					
CHNOS 5-2-4	曲靖地区曲靖	沾益04系統	—					
CHNOS 5-2-5	曲靖地区曲靖	沾益04系統	—					
CHNOS 6-1-1	昆明地区双龍	麻掉	—					* 031
CHNOS 6-1-2	昆明地区双龍	麻掉	—					
CHNOS 6-1-3	昆明地区双龍	麻掉	—					
CHNOS 6-1-4	昆明地区双龍	麻掉	—					
CHNOS 6-1-5	昆明地区双龍	麻掉	—					
CHNOS 7-1-1	昆明地区飛行場		a	♂	++++	++	1720	* 117t ⁺
CHNOS 7-1-2	昆明地区飛行場		a	♂	++++	++	1722	
CHNOS 7-1-3	昆明地区飛行場		a	♂	++++	++	1724	
CHNOS 7-1-4	昆明地区飛行場		a	♂	t	++	1726	
CHNOS 7-1-5	昆明地区飛行場		a	♂	++++	++	1728	
CHNOS 8-1-1	昆明地区昆明		a	♂	++	—	1200	* 117t ⁺
CHNOS 8-1-2	昆明地区昆明		a	♂	++	—	1202	
CHNOS 8-1-3	昆明地区昆明		a	♂	++	—	1204	
CHNOS 8-1-4	昆明地区昆明		a	♂	++++	—	1206	

分離菌株名	採集地	品種名	交配型	性	子のう殻 形成	熟度	検定番号	レース
CHNOS 8-1-5	昆明地区昆明		a	♂	++	++	1208	
CHNOS 9-1-1	昆明地区農大前		—					* 005
CHNOS 9-1-2	昆明地区農大前		—					
CHNOS 9-1-3	昆明地区農大前		—					
CHNOS 9-1-4	昆明地区農大前		—					
CHNOS 9-1-5	昆明地区農大前		—					
CHNOS 10-1-1	曲靖地区陸良		—					* 013
CHNOS 10-1-2	曲靖地区陸良		—					
CHNOS 10-1-3	曲靖地区陸良		—					
CHNOS 10-1-4	曲靖地区陸良		—					
CHNOS 10-1-5	曲靖地区陸良		—					
CHNOS 10-2-1	曲靖地区陸良		—					* 001
CHNOS 10-2-2	曲靖地区陸良		—					
CHNOS 10-2-3	曲靖地区陸良		—					
CHNOS 10-2-4	曲靖地区陸良		—					
CHNOS 10-2-5	曲靖地区陸良		—					
CHNOS 11-1-1	保山地区騰冲	74-35	a	♀♂	+++	—	1210	106.4
CHNOS 11-1-2	保山地区騰冲	74-35	a	♀♂	++++	++	1212	
CHNOS 11-1-3	保山地区騰冲	74-35	a	♂	++++	—	1214	
CHNOS 11-1-4	保山地区騰冲	74-35	a	♂	++++	++	1216	
CHNOS 11-2-1	保山地区騰冲	562	—					* 117t ⁺
CHNOS 11-2-2	保山地区騰冲	562	—					
CHNOS 11-2-3	保山地区騰冲	562	—					
CHNOS 11-2-4	保山地区騰冲	562	—					
CHNOS 11-2-5	保山地区騰冲	562	—					
CHNOS 11-3-1	保山地区騰冲	562	a	♂	++	—	2339	
CHNOS 11-3-2	保山地区騰冲	562	a	♂	++	—	2341	
CHNOS 11-3-3	保山地区騰冲	562	a	♂	++	—	2343	
CHNOS 11-3-4	保山地区騰冲	562	—					
CHNOS 12-1-1	怒江州六庫	糯谷	a	♂	++++	++	1540	* 037t ⁺
CHNOS 12-1-2	怒江州六庫	糯谷	a	♂	++	++	1542	
CHNOS 12-1-3	怒江州六庫	糯谷	—					
CHNOS 12-1-4	怒江州六庫	糯谷	a	♀	++++	++	1546	
CHNOS 12-1-5	怒江州六庫	糯谷	a	♀	++++	++	1548	
CHNOS 12-2-1	怒江州六庫	糯谷	a	♂	++++	++	1180	137.4
CHNOS 12-2-2	怒江州六庫	糯谷	a	♂	t	—	1182	
CHNOS 12-2-3	怒江州六庫	糯谷	a	♀	++	—	1184	
CHNOS 12-2-4	怒江州六庫	糯谷	a	♀	t	++	1186	
CHNOS 12-2-5	怒江州六庫	糯谷	a	♀	+++	++	1188	
CHNOS 13-1-1	曲靖地区会澤	8102	—					* 017t ⁺
CHNOS 13-1-2	曲靖地区会澤	8102	a	♂	++++	++	1672	
CHNOS 13-1-3	曲靖地区会澤	8102	a	♂	t	—	1674	
CHNOS 13-1-4	曲靖地区会澤	8102	a	♂	+++	++	1676	
CHNOS 13-1-5	曲靖地区会澤	8102	—					
CHNOS 13-2-1	曲靖地区会澤	8102	—					* 001

分離菌株名	採集地	品種名	交配型	性	子のう殻 形成	熟度	検定番号	レース
CHNOS 13-2-2	曲靖地区会澤	8102	—					
CHNOS 13-2-3	曲靖地区会澤	8102	—					
CHNOS 13-2-4	曲靖地区会澤	8102	—					
CHNOS 13-2-5	曲靖地区会澤	8102	—					
CHNOS 14-1-1	楚雄州大姚	城五	—					* 011
CHNOS 14-1-2	楚雄州大姚	城五	—					
CHNOS 14-1-3	楚雄州大姚	城五	—					
CHNOS 14-1-4	楚雄州大姚	城五	—					
CHNOS 14-1-5	楚雄州大姚	城五	—					
CHNOS 15-1-1	楚雄州楚雄	楚粳	—					* 007
CHNOS 15-1-2	楚雄州楚雄	楚粳	—					
CHNOS 15-1-3	楚雄州楚雄	楚粳	—					
CHNOS 15-1-4	楚雄州楚雄	楚粳	—					
CHNOS 15-1-5	楚雄州楚雄	楚粳	—					
CHNOS 16-1-1	大理州	04-252(沽益)	—					* 117t ⁺
CHNOS 16-1-2	大理州	04-252(沽益)	—					
CHNOS 16-1-3	大理州	04-252(沽益)	—					
CHNOS 16-1-4	大理州	04-252(沽益)	—					
CHNOS 16-1-5	大理州	04-252(沽益)	—					
CHNOS 20-1-1	楚雄州牟定	楚粳2号	—					* 031
CHNOS 20-1-2	楚雄州牟定	楚粳2号	—					
CHNOS 20-1-3	楚雄州牟定	楚粳2号	—					
CHNOS 20-1-4	楚雄州牟定	楚粳2号	—					
CHNOS 20-1-5	楚雄州牟定	楚粳2号	—					
CHNOS 20-2-1	楚雄州牟定	楚粳2号	—					
CHNOS 20-2-2	楚雄州牟定	楚粳2号	—					
CHNOS 20-2-3	楚雄州牟定	楚粳2号	—					
CHNOS 21-1-1	楚雄州武定	雲二天02	—					* 001
CHNOS 21-1-2	楚雄州武定	雲二天02	—					
CHNOS 21-1-3	楚雄州武定	雲二天02	—					
CHNOS 21-1-4	楚雄州武定	雲二天02	A	♂	+++	++	1157	
CHNOS 21-1-5	楚雄州武定	雲二天02	—					
CHNOS 21-2-1	楚雄州武定	雲二天02	—					
CHNOS 21-2-2	楚雄州武定	雲二天02	—					
CHNOS 21-2-3	楚雄州武定	雲二天02	—					
CHNOS 21-2-4	楚雄州武定	雲二天02	—					
CHNOS 21-2-5	楚雄州武定	雲二天02	—					
CHNOS 21-3-1	楚雄州武定	雲二天02	—					* 101
CHNOS 21-3-2	楚雄州武定	雲二天02	—					
CHNOS 21-3-3	楚雄州武定	雲二天02	—					
CHNOS 21-3-4	楚雄州武定	雲二天02	—					
CHNOS 21-3-5	楚雄州武定	雲二天02	—					
CHNOS 22-1-1	昆明地区嵩明	麻線吊	—					* 031
CHNOS 22-1-2	昆明地区嵩明	麻線吊	—					
CHNOS 22-1-3	昆明地区嵩明	麻線吊	—					

分離菌株名	採集地	品種名	交配型	性	子のう殻 形成	熟度	検定番号	レース
CHNOS 22-1-4	昆明地区嵩明	麻線吊	—					
CHNOS 22-1-5	昆明地区嵩明	麻線吊	—					
CHNOS 23-1-1	玉溪地区通海	矮8126	a	♂	+++	++	1710	117.5
CHNOS 23-1-2	玉溪地区通海	矮8126	a	♂	++++	++	1712	
CHNOS 23-1-3	玉溪地区通海	矮8126	a	♂	++++	++	1714	
CHNOS 23-1-4	玉溪地区通海	矮8126	—					
CHNOS 23-1-5	玉溪地区通海	矮8126	—					
CHNOS 23-2-1	玉溪地区通海	矮8126	—					* 115t ⁺
CHNOS 23-2-2	玉溪地区通海	矮8126	—					
CHNOS 23-2-3	玉溪地区通海	矮8126	—					
CHNOS 23-2-4	玉溪地区通海	矮8126	—					
CHNOS 23-2-5	玉溪地区通海	矮8126	—					
CHNOS 24-1-1	昆明地区宣良		—					* 005
CHNOS 24-1-2	昆明地区宣良		—					
CHNOS 24-1-3	昆明地区宣良		—					
CHNOS 24-1-4	昆明地区宣良		—					
CHNOS 24-1-5	昆明地区宣良		—					
CHNOS 25-1-1	昆明地区宣良	楚粳8号	—					* 001
CHNOS 25-1-2	昆明地区宣良	楚粳8号	—					
CHNOS 25-1-3	昆明地区宣良	楚粳8号	—					
CHNOS 25-1-4	昆明地区宣良	楚粳8号	—					
CHNOS 25-1-5	昆明地区宣良	楚粳8号	—					
CHNOS 26-1-1	文山州西畴	大粒糯	—					* 137t ⁺
CHNOS 26-1-2	文山州西畴	大粒糯	—					
CHNOS 26-1-3	文山州西畴	大粒糯	—					
CHNOS 26-1-4	文山州西畴	大粒糯	—					
CHNOS 26-1-5	文山州西畴	大粒糯	—					
CHNOS 27-1-1	文山州馬関	D 优63	—					013t ⁺
CHNOS 27-1-2	文山州馬関	D 优63	a	♂	++++	—	1312	
CHNOS 27-1-3	文山州馬関	D 优63	a	♂	++++	—	1314	
CHNOS 27-1-4	文山州馬関	D 优63	a	♀	+++	++	1316	
CHNOS 27-1-5	文山州馬関	D 优63	a	♀	+++	++	1318	
CHNOS 28-1-1	文山州広南	科沙	—					* 107t ⁺
CHNOS 28-1-2	文山州広南	科沙	a	♂	t	—	1292	
CHNOS 28-1-3	文山州広南	科沙	—					
CHNOS 28-1-4	文山州広南	科沙	—					
CHNOS 28-1-5	文山州広南	科沙	—					
CHNOS 29-1-1	文山州硯山	本地白谷	a	♂	+++	—	1230	000.0
CHNOS 29-1-2	文山州硯山	本地白谷	a	♂	++++	—	1232	
CHNOS 29-1-3	文山州硯山	本地白谷	a	♂	++++	++	1234	
CHNOS 29-1-4	文山州硯山	本地白谷	a	♂	+++	++	1236	
CHNOS 29-1-5	文山州硯山	本地白谷	a	♂	++++	—	1238	
CHNOS 30-1-1	文山州丘北	本地糯谷	—					* 007
CHNOS 30-1-2	文山州丘北	本地糯谷	—					
CHNOS 30-1-3	文山州丘北	本地糯谷	—					

分離菌株名	採集地	品種名	交配型	性	子のう殻 形成	熟度	検定番号	レース
CHNOS 30-1-4	文山州丘北	本地糯谷	—					
CHNOS 30-1-5	文山州丘北	本地糯谷	—					
CHNOS 31-1-1	玉溪地区江川	台輻4号	—					* 001
CHNOS 31-1-2	玉溪地区江川	台輻4号	—					
CHNOS 31-1-3	玉溪地区江川	台輻4号	—					
CHNOS 31-1-4	玉溪地区江川	台輻4号	—					
CHNOS 31-1-5	玉溪地区江川	台輻4号	—					
CHNOS 32-1-1	昭通地区(緑荫郷)	早錦	—					* 013
CHNOS 32-1-2	昭通地区(緑荫郷)	早錦	—					
CHNOS 32-1-3	昭通地区(緑荫郷)	早錦	—					
CHNOS 32-1-4	昭通地区(緑荫郷)	早錦	—					
CHNOS 32-1-5	昭通地区(緑荫郷)	早錦	—					
CHNOS 32-2-1	昭通地区(緑荫郷)		—					
CHNOS 32-2-2	昭通地区(緑荫郷)		—					
CHNOS 32-2-3	昭通地区(緑荫郷)		—					
CHNOS 32-2-4	昭通地区(緑荫郷)		a	♂	++++	++	1266	017.5
CHNOS 32-2-5	昭通地区(緑荫郷)			—				
CHNOS 33-1-1	迪慶州中甸	雑交115	—					* 007
CHNOS 33-1-2	迪慶州中甸	雑交115	—					
CHNOS 33-1-3	迪慶州中甸	雑交115	—					
CHNOS 33-1-4	迪慶州中甸	雑交115	—					
CHNOS 33-1-5	迪慶州中甸	雑交115	—					
CHNOS 33-2-1	迪慶州中甸	紅吊	—					006.0
CHNOS 33-2-2	迪慶州中甸	紅吊	a	♂	++	++	1402	
CHNOS 33-2-3	迪慶州中甸	紅吊	—					
CHNOS 33-2-4	迪慶州中甸	紅吊	a	♂	+++	++	1406	
CHNOS 33-2-5	迪慶州中甸	紅吊	—					
CHNOS 34-1-1	臨滄地区永徳		—					102.0
CHNOS 34-1-2	臨滄地区永徳		a	♂	+	++	1572	
CHNOS 34-1-3	臨滄地区永徳		a	♂	++++	++	1574	
CHNOS 34-1-4	臨滄地区永徳		a	♂	++++	++	1576	
CHNOS 34-1-5	臨滄地区永徳		a	♂	++++	++	1578	
CHNOS 34-2-1	臨滄地区永徳		a	♀	++++	++	1560	102.0
CHNOS 34-2-2	臨滄地区永徳		a	♀	t	++	1562	
CHNOS 34-2-3	臨滄地区永徳		a	♀	++++	—	1564	
CHNOS 34-2-4	臨滄地区永徳		a	♀	+++	++	1566	
CHNOS 34-2-5	臨滄地区永徳		a	♀	++++	++	1568	
CHNOS 35-1-1	保山地区地臣	京国332	—					* 003
CHNOS 35-1-2	保山地区地臣	京国332	—					
CHNOS 35-1-3	保山地区地臣	京国332	—					
CHNOS 35-1-4	保山地区地臣	京国332	—					
CHNOS 35-1-5	保山地区地臣	京国332	—					
CHNOS 36-1-1	曲靖地区陸良		—					* 013
CHNOS 36-1-2	曲靖地区陸良		—					
CHNOS 36-1-3	曲靖地区陸良		—					

分離菌株名	採集地	品種名	交配型	性	子のう殻 形成	熟度	検定番号	レース
CHNOS 36-1-4	曲靖地区陸良		—					
CHNOS 36-1-5	曲靖地区陸良		—					
CHNOS 37-1-1	西双版纳州景洪	略稀(陸稻)	A	♀♂	++++	++	1391	126.0
CHNOS 37-1-2	西双版纳州景洪	略稀(陸稻)	A	♀♂	++++	++	1393	
CHNOS 37-1-3	西双版纳州景洪	略稀(陸稻)	A	♀♂	++++	++	1395	
CHNOS 37-1-4	西双版纳州景洪	略稀(陸稻)	A	♀♂	++++	++	1397	
CHNOS 37-1-5	西双版纳州景洪	略稀(陸稻)	A	♀♂	++++	++	1399	
CHNOS 38-1-1	西双版纳州勐海	干慄4号	a	♂	++	++	1380	
CHNOS 38-1-2	西双版纳州勐海	干慄4号	a	♂	+	++	1382	
CHNOS 38-1-3	西双版纳州勐海	干慄4号	a	♂	+	++	1384	
CHNOS 38-1-4	西双版纳州勐海	干慄4号	a	♂	+++	++	1386	
CHNOS 38-1-5	西双版纳州勐海	干慄4号	a	♂	++	++	1388	
CHNOS 38-2-1	西双版纳州勐海	童紫11号	a	♀	+++	++	1480	026
CHNOS 38-2-2	西双版纳州勐海	童紫11号	a	♀	+++	++	1482	
CHNOS 38-2-3	西双版纳州勐海	童紫11号	a	♀	++	++	1484	
CHNOS 38-2-4	西双版纳州勐海	童紫11号	a	♀	+++	++	1486	
CHNOS 38-2-5	西双版纳州勐海	童紫11号	a	♀	++++	++	1488	
CHNOS 39-1-1	曲靖地区尋甸	靖粳1号	—					* 001
CHNOS 39-1-2	曲靖地区尋甸	靖粳1号	—					
CHNOS 39-1-3	曲靖地区尋甸	靖粳1号	—					
CHNOS 39-1-4	曲靖地区尋甸	靖粳1号	—					
CHNOS 39-1-5	曲靖地区尋甸	靖粳1号	—					
CHNOS 40-1-1	玉溪地区北城	雲玉1号	—					* 003
CHNOS 40-1-2	玉溪地区北城	雲玉1号	—					
CHNOS 40-1-3	玉溪地区北城	雲玉1号	—					
CHNOS 40-1-4	玉溪地区北城	雲玉1号	—					
CHNOS 40-1-5	玉溪地区北城	雲玉1号	—					
CHNOS 41-1-1	麗江地区麗江坝	942	—					* 013
CHNOS 41-1-2	麗江地区麗江坝	942	—					
CHNOS 41-1-3	麗江地区麗江坝	942	—					
CHNOS 41-1-4	麗江地区麗江坝	942	—					
CHNOS 41-1-5	麗江地区麗江坝	942	—					
CHNOS 41-2-1	麗江地区麗江坝	942	—					* 013
CHNOS 41-2-2	麗江地区麗江坝	942	—					
CHNOS 41-2-3	麗江地区麗江坝	942	—					
CHNOS 41-2-4	麗江地区麗江坝	942	—					
CHNOS 41-2-5	麗江地区麗江坝	942	—					
CHNOS 42-1-1	楚雄州楚雄農科所	城五28	—					* 013
CHNOS 42-1-2	楚雄州楚雄農科所	城五28	—					
CHNOS 42-1-3	楚雄州楚雄農科所	城五28	—					
CHNOS 42-1-4	楚雄州楚雄農科所	城五28	—					
CHNOS 42-1-5	楚雄州楚雄農科所	城五28	—					
CHNOS 43-1-1	曲靖地区宣威	8126	—					* 001
CHNOS 43-1-2	曲靖地区宣威	8126	—					
CHNOS 43-1-3	曲靖地区宣威	8126	—					

分離菌株名	採集地	品種名	交配型	性	子のう殻 形成	熟度	検定番号	レース
CHNOS 43-1-4	曲靖地区宣威	8126	—					
CHNOS 43-1-5	曲靖地区宣威	8126	—					
CHNOS 43-2-1	曲靖地区宣威	65-36	—					* 001
CHNOS 43-2-2	曲靖地区宣威	65-36	—					
CHNOS 43-2-3	曲靖地区宣威	65-36	—					
CHNOS 43-2-4	曲靖地区宣威	65-36	—					
CHNOS 43-2-5	曲靖地区宣威	65-36	—					
CHNOS 44-1-1	紅河州泸西		—					* 011
CHNOS 44-1-2	紅河州泸西		—					
CHNOS 44-1-3	紅河州泸西		—					
CHNOS 44-1-4	紅河州泸西		—					
CHNOS 44-1-5	紅河州泸西		—					
CHNOS 44-2-1	紅河州泸西		—					* 001
CHNOS 44-2-2	紅河州泸西		—					
CHNOS 44-2-3	紅河州泸西		—					
CHNOS 44-2-4	紅河州泸西		—					
CHNOS 44-2-5	紅河州泸西		—					
CHNOS 45-1-1	昆明地区福海		—					* 031t ⁺
CHNOS 45-1-2	昆明地区福海		—					
CHNOS 45-1-3	昆明地区福海		—					
CHNOS 45-1-4	昆明地区福海		—					
CHNOS 45-1-5	昆明地区福海		—					
CHNOS 47-1-1	紅河州建水	尋雑29	—					
CHNOS 47-1-2	紅河州建水	尋雑29	—					
CHNOS 48-1-1	昆明地区双龍	麻掉	—					* 031
CHNOS 48-1-2	昆明地区双龍	麻掉	—					
CHNOS 48-1-3	昆明地区双龍	麻掉	—					
CHNOS 48-1-4	昆明地区双龍	麻掉	—					
CHNOS 49-1-1	怒江州六庫	雲粳134	—					* 007
CHNOS 49-1-2	怒江州六庫	雲粳134	—					
CHNOS 50-1-1	曲靖地区陸良	合系5号	—					* 007
CHNOS 51-1-1	文山州西畴	桂朝	—					106.4
CHNOS 51-1-2	文山州西畴	桂朝	—					
CHNOS 51-1-3	文山州西畴	桂朝	a	♂	t	++	2357	
CHNOS 51-1-4	文山州西畴	桂朝	—					
CHNOS 52-1-1	昭通地区(緑蔭郷)		a	♂	++++	—	2361	106.4
CHNOS 52-1-2	昭通地区(緑蔭郷)		a	♂	++	—	2363	
CHNOS 52-1-3	昭通地区(緑蔭郷)		a	♂	+	++	2365	
CHNOS 52-1-4	昭通地区(緑蔭郷)		a	♂	++++	—	2367	

交配型—は交配不能

性は♀♂：両性，♀：雌性，♂：雄性

子のう殻形成はt：極少～++++多

熟度は—：子のう形成しない，+：不完全な子のう胞子の形成，++：子のうに8個の子のう胞子の形成

小数点以下のレースは清沢の方法による。b+，t+はそれぞれ BL1，K59に病原性であることを示す。

*は岩野氏によるレース検定結果を示す。

試験結果および考察

交配型の異なる菌株の組合せのうちいくつかの組合せで子のう殻を形成した（表2，図3-A）。特に交配型A菌株 CHNOS37-1-1は，多くの交配型a菌株との組合せで子のう殻を形成した。子のう殻は図3-Bに示すように，球形の黒い体部と数本に枝分かれした太い頸部からなっていた。子のう殻には，多数の子のうがはいっており，子のうには，多くの場合折り重なるように8個の子のう胞子が詰まっていた（図3-C）。一部，成熟した子のう胞子は子のうから放出されているのがみとめられた。子のう胞子は3つの隔壁があり4胞で，やや湾曲した肉厚の三日月形をしていた。子のう胞子は，素寒天培地に置くと，2—3時間で両端の細胞から発芽した（図3-D）。交配菌株の組合せのなかでは，未熟な子のうや子のう胞子を形成するものや，未熟なものと成熟したものとが，混じって存在する場合もみられた。

イネいもち病菌の交配能力が急激に失われる事例も

認められた。菌株 CHNOS37-1-2×CHNOS11-1-1（交配番号2121）に使用した菌株 CHNOS11-1-1は，当初雌雄性を示したが，P S A斜面培地に15℃下で約45日保持した後は，イネいもち病菌との交配能力を失っていた。菌株によっては，交配能力はすみやかに低下するため，罹病葉から分離直後に長期保存する必要があると考えられた。

3. 有性世代を利用したいもち病菌の解析

有性世代が知られている糸状菌は少ないが，有性世代は糸状菌の特性解析の有用な手段となる。いもち病菌の場合，イネのいもち病抵抗性遺伝子の解析が進んでいること，また，イネいもち病菌のレースやメヒシバいもち病菌やイネいもち病菌など，いもち病をおこす宿主域が異なる菌群が存在するなど寄生性分化が進んだ病原菌であることから，有性世代という分析手段を加えたいもち病菌は，植物-病原菌の関係を解析する

Table 2. Perithecia formation between rice blast fungus

a Mating type isolates	A mating type isolates							
	CHNOS 5-1-1	CHNOS 5-1-2	CHNOS 21-1-4	CHNOS 37-1-1	CHNOS 37-1-2	CHNOS 37-1-3	CHNOS 37-1-4	CHNOS 37-1-5
CHNOS 5-1-5	—	—	—	++++	++++	++++	S++++S	++++
CHNOS 7-1-1	—		—	—				
CHNOS 8-1-4				—				
CHNOS 11-1-1		—		+++	t	—	++++	t
CHNOS 11-1-2		—		—	—	—	—	—
CHNOS 12-1-1	—		—	—				
CHNOS 12-2-1	—		—	++++				
CHNOS 13-1-2	—		—	++				
CHNOS 19-1-3	—		—	—				
CHNOS 23-1-2			—	++				
CHNOS 27-1-2			—	t				
CHNOS 28-1-2				—				
CHNOS 29-1-2			—	++++				
CHNOS 32-2-4				++++				
CHNOS 33-2-2				t				
CHNOS 33-2-4			—	—				
CHNOS 34-1-3	—			—				
CHNOS 34-2-1	—			—				
CHNOS 38-1-4				t				
CHNOS 38-2-5	—			—				

+, ++, +++, ++++ indicate perithecia formation at one, two, three, four sides out of four intersections of both isolates, respectively. t indicates moderate formation and s indicates abundant formation

Blank indicates the absence of test

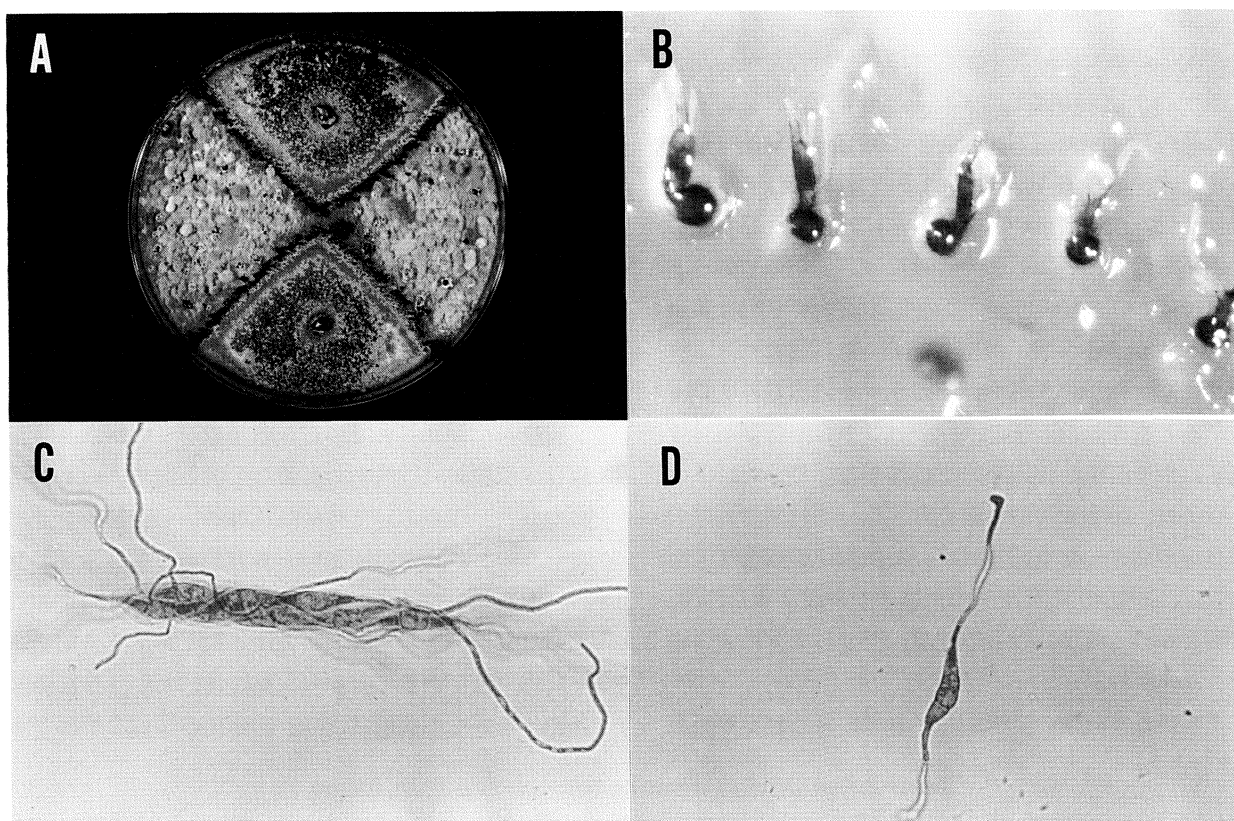


Fig. 3. Perfect stage in a cross of *Magnaporthe grisea* pathogenic to rice. A. Perithecia formation in oatmeal agar ; B. Perithecia formation in Sach's agar ; C, Viable ascus and ascospores ; D, Germinated ascospore.

優れた系になったといえる。今後、有性世代を利用して次のような解析が可能となると考えられる。①レースにみられるような病原性の特異性を支配する非病原性遺伝子の解析。②イネいもち病真性抵抗性遺伝子の解析。③制限酵素断片長多型 (RFLPs) を利用したいもち病菌ゲノムの分子地図の作成。④有用なレースの育成。⑤いもち病菌の寄生性分化機構の解明。

①レースにみられるような病原性の特異性を支配する非病原性遺伝子の解析。

抵抗性イネ品種の抵抗性崩壊の機構としては、菌の突然変異、DNAの組換えによる変異、胞子の長距離飛散による新しいレースのによる発病などが考えられている。このうちDNAの組換えによる変異の原因として、非病原性遺伝子の関与がある。例えば、CHNOS37-1-1×CHNOS32-2-4の交配組合せでは、ヤシロモチに対してCHNOS37-1-1は親和性反応、CHNOS32-2-4は非親和性反応を示す。この交配組合せから得られた子のう胞子菌株をヤシロモチに接種すると非親和性と親和性の菌株は1:1に分離した。このことからCHNOS37-1-1はヤシロモチに対して作用する非病原性

遺伝子をもつことが明らかになった。(図4)この非病原性遺伝子を *Avr1-YM* と名づけた。

②イネいもち病真性抵抗性遺伝子の解析。

これまで、イネ品種の交配と主に清沢の7菌系に対する病斑型の分離による解析で14個のいもち病真性抵抗性遺伝子が同定されている。Florの遺伝子対遺伝子説によれば、宿主側の抵抗性遺伝子と病原菌側の非病原性遺伝子が存在する場合、抵抗反応が生じる。イネ品種のいもち病真性抵抗性遺伝子を同定するには、遺伝子対遺伝子説で示されている非病原性遺伝子が必要となる。すなわちいもち病菌側の非病原性遺伝子の解析が進めばイネのいもち病抵抗性遺伝子の解析も進展することになる。

③制限酵素断片長多型(RFLPs)を利用したいもち病菌ゲノムの分子地図の作成。

ゲノム分子地図の作成は、ヒトゲノムやイネゲノムにみられるように特定の遺伝子の構造解析やマッピングに非常に有用な手段となっている。いもち病菌においても、イネといもち病菌との間で生じている抵抗性反応に密接に関係している非病原性遺伝子や病原性に

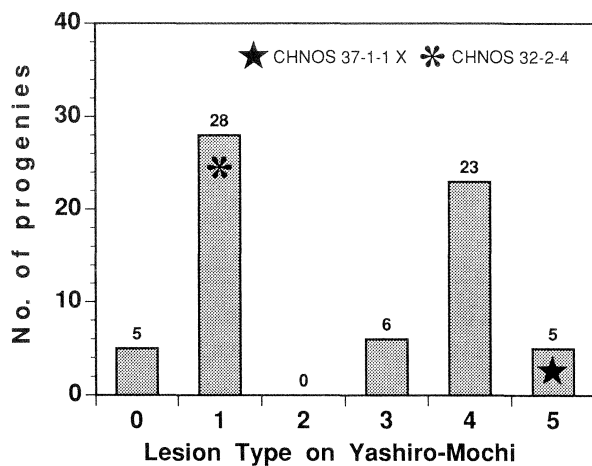


Fig. 4. Segregation of lesion types on rice in random ascospore progenies from crosses of *Magnaporthe grisea*. * refers to lesion types of parental isolates.

Lesion type 0–2 : resistant reaction

Lesion type 3–5 : susceptible reaction

関係する病原性遺伝子のクローニング，構造解析，機能解析に向けて研究が進められている。

④有用なレースの育成。

レースの育成という点と奇異に思えるが，イネのいもち

病真性抵抗性遺伝子の推定に適した菌系や圃場抵抗性の検定に適した広範囲の抵抗性遺伝子を侵す菌系は，実際に，いもち病真性抵抗性遺伝子や圃場抵抗性の推定を行う場合，判別能力の点で優れている。この判別能力に優れた菌株を自然界から選び出すには，多大な労力を要する。一方，レースの異なるいもち病菌を交配すると，さまざまなレースが生じる。例えば，CHNOS37-1-3×CHNOS32-3-4の交配組合せ（交配番号3926）で37の子のう胞子株を検定したところ23のレースが出現した（表3）。

⑤いもち病菌の寄生性分化機構の解明。

いもち病菌には，宿主範囲を異にする，例えば畦畔にふつうにみられるメヒシバのいもち病菌，雑穀のアワ，キビ，シコクビエのいもち病菌，牧草のウィーピングラブグラスのいもち病菌，コムギのいもち病菌などが知られている。これらの菌はシコクビエいもち病菌やイネいもち病菌と交配することができ，種としては同一種と考えられる。有性世代名としては，*Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr と命名されており，その祖先は同一と考えられる。イネいもち病菌がどのようにして出現したのかの解明にイネいもち病菌の有性世代が寄与することが期待される。

Table 3. Races of random ascospores derived from cross of CHNOS 37-1-3 and CHNOS 32-3-4 in *Magnaporthe grisea*.

Race	No. of ascospores	Race	No. of ascospores	Race	No. of ascospores
006.4	1	106.0	4	406.0	1
006.5	1	106.4	4	437.1	1
007.5	2	116.0	1	437.4	1
026.0	1	126.0	2	437.5	1
026.4	1	126.4	6	506.0	2
036.0	1	127.0	1	517.0	1
036.5	1	137.0	1	717.5	1
037.4	1				
037.5	1				

Race numbers of CHNOS 37-1-3 and CHNOS 32-3-4 are 126.0 and 017.5, respectively.

コメント

雲南省における稲いもち病に関するコメント

加藤 肇（神戸大学農学部） 中華人民共和国雲南省農業科学院との「稲育種プロジェクト」がスタートして以来、雲南省および周辺の各省における、イネいもち病抵抗性品種の育成、本病防除の重要性が指摘されてきた。この点については、雲南農科院長呉自強氏を初め中国側の認識も高かった。

①発表に示されたように、高所でのジャポニカ栽培、低所でのインディカ栽培は、いもち病菌のレース分化を追求する上で貴重な立地と考えられた。それと同時に新しい抵抗性遺伝子の存在にも期待がよせられた。

（丁穎氏の論文で雲南では、1600m以下の地帯ではインディカ、1800m以上ではジャポニカが作られていることは知られていたが、ここで研究が出来るなど、一昔前の研究者にとっては夢のような話であった。）

②低緯度地帯ではあるが、高度差による気温の変動は、いもち病発生適温帯を形づくっているものと推察された。

③稲栽培の起源地帯に包含されるとの説もあることから、稲には多様性が、分布するいもち病菌には、交配能力の高い菌糸の存在が予測された。

などの理由から、植物病理学上、貴重な知見と材料が得られるものと期待された。

幸い農林水産省で、長年いもち病菌のレース研究を続けてきた中堅層の研究者が、本プロジェクトに参加したため、現在望み得る最善の結果を得たものと信じる。また、世界中が鎬を削ってきたイネいもち病菌の交配問題に関しては、予想どおり交配能力の高いイネ菌が採集されており、中国側研究者との共同研究も進んでいる。結果が公表されれば世界中の研究者が関心をよせ、菌株の譲渡依頼も多数くるものと予想される。互いの信頼関係を得て、菌株が譲渡されるまでには十年の歳月を要した。この間の、関係者のご努力に改めて感謝を申しあげたい。

育成された品種を有効に利用するためには、本病の流行病学的研究、これに基づく発生予察法の開発なども今後実施する必要がある。研究の協力関係は勿論、研究の立地としても大切に、早急に実態を明らかにしておきたいと考える。

吉野嶺一（農業環境技術研究所） 岩野、藤田両氏の中国雲南省におけるいもち病及び病原菌レースに関する研究発表について、いもち病の疫学を専門とする立場から、次の二つの点に関心を抱いた。

第一は雲南省ではいもち病菌レースが日本に比べて多様性が大きく、しかも、年によってレース構成の変動が大きい点である。発表された図によると、雲南省で発生しているレース数は27種になっており、その中にはレース002, 005, 006, 106等の日本ではほとんど見出されないレースも含まれている。わが国でのレース分布は、その地域に主として栽培されている品種の持つ真性抵抗性遺伝子を侵しうるレースが支配的になり、分布するレースも比較的限られた数になっているものと理解しているが、雲南省でのこのようなレースの多様性及び変動が大きいことの原因が①主要栽培品種の持ついもち病抵抗性遺伝子の多様性によるものか、②5000種以上と言われる在来種等品種構成の複雑さに由来するものか、あるいは、③他地域からの飛散によるものかを明らかにすることは、非常に興味深い課題であるように考える。

①については、現在確立されている中国でのレース判別品種体系及び日本の判別体系の研究をさらに進めていくことで、徐々に中国稲の抵抗性遺伝子構成が明らかにされると考えられる。②については、葉いもち初発期以降レース構成が経時的にどのように変化しているかを追跡することが望ましいように考える。また、主要栽培品種から分離された菌株の在来品種、野生稲、雑穀、イネ科雑草に対する病原性あるいは上記各植物のいもち病病斑から分離された菌株の栽培品種に対する病原性を検討することによって、分布するレースの起源と相互関係を明らかにできるのではないかと考える。③については、雲南省では標高と栽培種の違いにより、稲作地域を標高1200m以下の区から2200m以上の区まで6稲作区に大別できるとのことであるが、それらの区の間でいもち病菌胞子がどのように移動しているかを解明できれば、いもち病蔓延予測及び伝染源解明の点で大きな意義があるものと考えている。日中共同研究が研究対象としている地区は、標高1500m以上の地区とすることであるが、それより低い地区においては、

温度条件から判断して、当然、早期に葉いもちが発生していると想定され、空中に飛散した胞子が大気の流れ拡散現象によって、標高の高い地区へ運ばれている可能性は否定できない。研究対象地区の葉いもち初発期以前から、幼苗 Trap 等を用いて胞子を経時的に捕捉し、その時期及びレース判定結果から地区間の胞子移動が証明できないだろうか。また、気象分野では、近年、大気乱流拡散モデルが開発されているので、その利用を考えるのも有効であろう。

第二はレース検定に際して、判別品種である関東51号、ツウアケ、ヤシロモチの反応が不安定で、病原性の変動すると報告されている点である。その原因として接種胞子濃度、苗の生育状況とともに環境条件が関与していると推測されているが、温度条件と病斑型反応との関係については、わが国においてもまだ未解明の点が多い。圃場抵抗性の変動に関しては、昭和63年の東北地域におけるいもち病多発時に、福島県及び栃木県でそれまで比較的抵抗性が強いと考えられていた「初星」に葉及び穂いもちが激しく発生し、冷害環境下では本品種が必ずしも強品種とは言えないことが示された発病事例、木村・小林（北海道農試研報128号、1980）接種試験によって、「ユーカラ」の抵抗性が低温処理で低下することが報告されているに過ぎない。また、真性抵抗性の発現に関しても、「レイホウ」から分離された菌株に対する判別品種 Pi No 4 の反応が接種後20℃に5日間保つことによって親和性反応 S となるのに対し、28℃の高温に保持した場合には抵抗性反応 M~R となることが報告されたのみである。冷害発生の危険性が高い雲南省における、病斑型反応の不安定性にも低温環境が関与している可能性が大きいものと考えられ、この点を是非解明してもらいたいと考える。わが国でも冷害発生の周辺地域でいもち病が多発となる事例が多いことから、上記の点を明らかにすることは、疫学研究面への貢献も大きいと言える。

林氏の発表された、いもち病菌交配型についての研究は大変興味深く、世界的にも評価される結果を得ていると思う。重要な研究課題であるので、野生稲・在来稲が豊富な雲南省の利点を生かして、いもち病菌の完全世代及び寄生性分化に関する先導的研究をさらに進めるよう期待したい。

内藤秀樹（農研センター） 中国雲南省を含む一帯は稲の発祥地と考えられており、このことからまたこの地帯は稲のいもち病の発祥地とも考えられている。こ

のような歴史的自然環境を持つ地域でいもち病の病理的研究、抵抗性育種研究を実施することは極めて有意義で、また効率的の研究が実施できると考えられ、この意味で雲南地域は貴重な研究の場所である。

特にいもち病菌の有性世代とそれを利用したいもち病菌の病原性に関与する遺伝子解析についての研究は雲南に分布するいもち病菌を使用することによって大きく進展した。すなわちいもち病菌の遺伝子解析のため世界各地から集めた菌株で交配能を検定した結果、交配能を持つ菌株は雲南省産のもので最も多く、これらの菌株の交配によりいもち病菌の持つ病原性関連遺伝子の解析研究に有用な菌株の作出ができ、遺伝子の同定、連鎖関係の解析が進んでいることは極めて顕著な成果といえる。高度な抵抗性品種の育成には稲の側だけでなくもう一方の主役であるいもち病菌側の遺伝子解析が重要であり本研究の早急な進展、今後の成果が期待される。

また雲南において交配能を持つ菌が多く存在することは当地がいもち病菌の起源地であることと密接な関係にあるのではなかろうか。そうであるとすれば稲で行われたようにいもち病菌においても交配によりいもち病菌の系統発生の過程が追えないだろうか。系統進化の過程が明確になればそれにより病原性の分化の方向性が解明できないか。これにより変異の方向が予測できれば防除対策、品種の育成に極めて強力な知見を提供できると考えられるのでこの面への研究の進化も期待したい。

雲南のいもち病研究においてみると、現在最もかけている研究はいもち病の生態的研究である。これまでの研究で雲南における分布レースの多様性や一圃場における複数レースの分布実態が明らかにされ、また栽培品種の持つ真性抵抗性遺伝子の多様性も明らかにされてきている。これをいもち病菌の病原性変異の点から考えるとこの地域はなんらかの方法で圃場における変異がおき易いのではないかと考えられる。変異は突然変異、有性・無性的交雑による変異があるが、真性抵抗性を持つ品種における分布レースの推移についての繊細な観察がまず必要である。また当地域のいもち病菌には交配能を持つものが多いことから圃場や圃場周辺における有性器官である子のう殻形成の実態を明らかにする必要がある。さらに圃場で複数レースの存在が明らかにされていることから無性的交雑による変異も考えられる。特に圃場の稲体上で子のう殻の形成が認められない結果となれば、当地での病原性変異の

機作として無性的交雑は重要性が増す。筆者らは日本で人為的に複数レースを接種した圃場から接種両レースの病原性を併せ持つ多数の新レース株の発生を認めている。この結果は雲南の様ないもち病の発生し易い環境条件下においては無性的交雑による新レースの生成がより容易であることを示すかもしれない。さらにこれらの変異が起これば稲体のどの部位で起き易いかも明らかにする必要がある。このいもち病菌の変異の研究を変異機作の基礎研究とともに圃場における生態的面からの研究も併せ進めることにより解明することは抵抗性品種育成にも大きく貢献すると考えるので、環境条件が最適と考えられる当地域でこの分野での研究進展も切望したい。

次に雲南地域で、また雲南分布菌を利用し、今後研究が実施されることが望まれる。また研究可能な課題として挙げられている病理分野の研究課題を日中共同研究の基本計画にそって紹介する。

いもち病抵抗性の遺伝分析と病原菌レース分化の解析

1. 特殊な真性抵抗性を持つ品種の作付けに伴ういもち病菌レース変化の解析

1) 発病稲におけるレースの変動

葉いもち、穂いもちを経時的に採取し、レースの動態を検定する。

2) 真性抵抗性品種の抵抗性崩壊機作の解明

真性抵抗性を発現しない葉舌、葉耳の毛じでのいもち病菌の感染は無い。穂部（もみ、穂首、枝梗等の節部にある毛等）でのいもち病菌の感染は無い。これらの部位で感染が起きたとすればそのレースの動態を明らかにする。

3) 新レースの発生機作の解明（無性的交雑による新レースの生成）

圃場における準有性的生活環による新レース生成の実証。稲体のどの部位でこの現象が起きるか。有性的交雑による生成レースと無性的交雑による生成レースの比較。

2. 雲南省いもち病菌の病原性の遺伝分析

1) 稲いもち病菌の完全世代形成能に関する研究

(1) いもち病菌完全世代形成能の地域的変動実態の解明

(2) 完全世代形成率と寄生品種、寄主との関係

(3) 交配能簡易検定法の開発

無性的菌糸融合との相関は無い等。

(4) 高交配能菌株育成技術の開発

高交配能を持たいもち病菌の育種。

(5) 稲の伝播、進化といもち病菌の進化の関連 いもち病菌の系統進化の解明。

2) いもち病菌の病原性分化機構の解明

(1) 有性的交配により出現する菌株の病原性の範囲の解明

子のう胞子菌株の病原性検定、交配両親菌株（分生胞子菌株）の病原性検定。

(2) 品種の圃場抵抗性検定に有効な菌株の作出、選定

種々な真性抵抗性を持つ品種の圃場抵抗性を容易に検定できる菌株を育種、選出する。

(3) 品種抵抗性検定法の確立

(4) 病原性変動予測法の確立

次に余談ではあるが昨年（1992年）ジーンバンク事業の海外探索収集で9月19日～29日に雲南省へいもち病菌の探索収集に行く機会を得たのでその概要を紹介する。これには熱研の諸氏に多大のお世話になった。今回の収集地域は主に西双版纳を対象として行った。西双版纳へ行く前に昆明、陸良地域の採集を行った。この地域の当年の気象はほとんど雨が降らず大干ばつで、畑作のとうもろこし等はほとんど枯れ上がり、水稻でも灌漑水の不足で枯れ上がっている所があった。しかし多くの水田では被害が無く、雨がほとんど降らなかったにもかかわらず穂いもちが多く認められた。これは昼夜の温度格差による結露が発病を助長したと考えられる。陸良では以前から雑穀のシコクピエが栽培されており、それにいもち病が発病していることが知られている。そこでシコクピエのいもち病菌を採集しようとしたが当年の大干ばつで多くは枯死し、刈り取られた後であった。陸良農科所の方々のお世話になり栽培場所を探してもらったがいもち病の発生は認められなかった。最近シコクピエの栽培は減少してきているとのことで、このことはおそらく稲の収量が順調に伸び、シコクピエを食用としなくてもよくなっていることを示すものと思われる。西双版纳には5日間滞在し、その間西双版纳農科院で情報交換等も行ったので採集調査は4日間実施となった。陸稲の採集は2ヶ所しか実施できなかったが短稈と長稈のものがあ、景洪東方山岳地域の基諾山地区では2種類の陸稲が認められ、ごま葉枯病と穂いもちが混発していた。また谷添い（水田）では白葉枯病の激発田が散見された。基諾山地区の陸稲では比較的にいもち病の発生が多かったが景洪からのモン海へ行く途中の短稈陸稲では少なかった。景洪からメコン川に添って南下、西双

版納植物園までの地域は広大な水田地帯が比較的多く分布し、山側にはゴムの栽培が行われていた。いもち病の発生は比較的少なく、品種間差が認められた。当地域でも山添いの谷田ではいもち病の激発田が認められた。植物園の稲育種圃場で葉いもちの発生が認められ採集させてもらった。景洪から西方のモン海へは川添いに山を登り、谷あいの水田で採集しながら登りきると突然広大な水田地帯が目前に現われる。そこがモン海を中心とする水田地帯である。ここまで来る途中の山岳地帯では山肌にお茶やサトウキビの栽培が多かったが谷あいの水田でのいもち病の発生は極めて少なかった。モン海を中心とするこの水田地帯はちょうど収穫作業の真っ只中で、一昔前の日本の農村地帯の風景を彷彿とさせた。病害の発生も多種で、いもち病、白葉枯病、稲こうじ病が混発しており、日本では見ら

れないことで珍しかった。ここでもいもち病の発病には品種間差が明確で、特に発病が多いのはハイブリッドであった。今回の採集行は短期間であったため山岳地帯に散在する陸稲地帯をもう少し調査したいと思いながら実現できず残念であった。この地域では竹も多く、もし今度来る機会が与えられるならば竹のいもちも調査したいと思っている。

最後に、雲南地域はいもち病の病理的研究とそれに関連する抵抗性育種研究にとってその基本的問題の解決となる菌の変異、抵抗性機作の解明研究にとって最適の地域と考えられる。ここで得られた成果は日中のみならず世界の稲作に大きな利益をもたらすものと考えられる。この日中共同研究で世界をリードするさらに顕著な成果が達成できることを期待したい。

II. 東南アジアにおけるイネ白葉枯病

1. アジア地域のレース

山 元 剛

北陸農業試験場水田利用部病害研究室

Bacterial leaf blight of rice in Southeast Asia

1. Races in Asian countries

Tsuyoshi YAMAMOTO

Hokuriku National Agricultural Experiment Station

Inada, Joetsu, Niigata 943-01 Japan

Variation in pathogenicity of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* collected from 7 tropical countries in South and south East Asia was examined. The isolates were divided into 26 races due to their pathogenicity on 12 differential rice varieties, Kinmaze, Kogyoku, Chugoku 45, IR 8, IR 20, IR 1545-339, DV 85, Java 14, Te-tep, Cas 209, PI 231129 and IR 24. Distribution of these races was quite characteristic by the countries. In general, isolates from Bangladesh and India had wide spectrum of pathogenicity, contrary, these from Thailand and Philippines showed narrow one. Resistance of DV 85 didn't operate to many of isolates from Bangladesh but it was resistant to most isolates from the other countries. Cas 209 was not resistant to any isolates other than Philippines. Kinmaze, IR 8 and IR 24 which had been known as the most susceptible varieties showed complete resistance to BM 8417 and BM 8429 isolates from Burma, suggesting existence of unknown resistance gene(s). All of 249 japonica varieties tested were resistant to the two isolates. In Bangladesh, India, Indonesia, Burma, Thailand, Nepal and Philippines, 12, 8, 8, 6, 6, 5 and 5 races were obtained respectively.

Key words: Bacterial leaf blight, *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*, Pathogenic races, Southeast Asia

キーワード: イネ白葉枯病菌, 白葉枯病菌, レース, 東南アジア

要 旨

国際稲研究所と協力して東南・南西アジアの8カ国からイネ白葉枯病菌を採集した。それらは抵抗性の異なる稲12品種に対する病原性の違いによって28系統(レース)に分類されたがその分布は、国によって明らかに異なっていた。即ち

1. 概してバングラデシュを中心としたインド、ネパ

ール、ビルマの大陸部諸国から病原性の広いレースが検出され、半島・島嶼部の諸国には病原性の狭い菌が分布している傾向があった。

2. バングラデシュでは、12品種すべてに病原性を示す菌が検出されたが、感受性品種として知られる IR8 に病原性を示さない菌も採配され、多様なレースが分布していた。

3. ビルマからは全品種に病原性を示す菌も検出され

たが、最も病原性範囲の狭い菌もこの国から採取された。

4. タイの菌には、IR20, IR1545-339, DV85, 中国45に対して病原性のないものが多かった。

5. Cas209に対して病原性のない菌はフィリピンだけに多数分布しており、他の国からは全く採取されなかった。

東南・南西アジアに分布するイネ白葉枯病菌の病原性変異*（確認試験継続中）

品種	レース	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28**
金 南 風		S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
黄 玉		S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
中 国 45		S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
IR8		S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R
IR20		S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S	R
IR 1545-339		S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
DV85		S	S	S	R	R	S	R	S	R	S	R	R	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Java 14		S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
Te-tep		S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S
Cas 209		S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	S	S	S
PI 231129		S	R	S	R	S	S	R	R	S	S	R	S	S	R	S	R	R	S	S	R	S	R	S	R	R	R	R	R
IR 24		S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
分 布																													
バングラデシュ		+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
イ ン ド		-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ネ パ ー ル		-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
ビ ル マ		+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+
タ イ		-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-
インドネシア		-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-
フィリピン		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
マレーシア***		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-

* R：抵抗性反応 S：感受性反応

** レースは仮の番号

***マレーシアはペナンの1ヵ所のみの調査

●熱帯農業主要研究成果 昭和63年度 p. 7 を参照をして下さい。

II. 東南アジアにおけるイネ白葉枯病

2. 病原細菌の RFLP 解析

加 来 久 敏

農業生物資源研究所微生物探索評価研究チーム

Bacterial Leaf Blight of Rice in Southeast Asia

2. RFLP analysis of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*

Hisatoshi KAKU

National Institute of Agrobiological Resources

Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan

RFLP analysis was used for the differentiation of races of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*. The strains representative of Japanese, Indonesian and Philippine races of *X. c.* pv. *oryzae* were differentiated by RFLP patterns using the probe pJEL101, a pUC18 plasmid containing a 2.4kb *Eco*R1-*Hind*III fragment derived from strain PXO86 of *X. c.* pv. *oryzae*. Japanese strains of *X. c.* pv. *oryzae* were grouped into certain categories by RFLP, and most of them coincided with races. Strains of the bacterium from different the geographic areas in South East Asia were also divided into some subgroups corresponding to geographic origin by RFLP patterns. RFLP patterns of chemically-induced mutants of *X. c.* pv. *oryzae* reflected the shift of the races. It is concluded that RFLP is a useful method for the differentiation of races and for genetic diversity analysis.

Key words: race, RFLP analysis, bacterial leaf blight, genetic diversity

キーワード: レース, RFLP 解析, イネ白葉枯病, 遺伝的多様性

はじめに

イネ白葉枯病はイネの最も重要な細菌病であり、アジアの稲作地帯だけでなく、西アフリカ、オーストラリア南部、アメリカ合衆国及び中南米において発生する。しかし、本病による被害が大きいのは依然として東南アジア各国である^{23,25)}。

イネ白葉枯病に対しては抵抗性品種の栽培が最も有効な防除手段とされている。したがって、品種抵抗性とともに関原細菌の病原性の分化についても多くの研究がなされてきた。その結果、イネ白葉枯病

菌のレースの分化は東南アジアのみならず、わが国においても、きわめて多様であることが明かとなった。

このレースは判別品種に対する病原性に基いて分類されるが、そのためには判別品種の栽培、接種、発病調査など多くの労力・時間を必要とする。したがって、レースの簡便で迅速な判別法の開発が求められている。そこで、RFLP によるレースの判別を試みるため、イネ白葉枯病菌をモデルとして RFLP 解析を行った。

RFLP とは restriction fragment length polymorphism の頭文字を取ったもので、制限酵素断片長と訳されている。すなわち、DNA を制限酵素によって切断

した場合、その断片の長さが多型を示すことをいう。近年、分子生物学的手法の急速な発展により、遺伝子レベルで直接解析することが可能となってきたが RFLP 解析もそのような遺伝子解析のひとつであり、新しい遺伝マーカーとして広く利用されている。植物病原細菌学の分野においても、pathovar やレースを分類する方法の一つとして RFLP 法が利用され始めている^{4,5,10,11,12,15,16,17,18,19}。

RFLP 解析は DNA の抽出・精製、制限酵素による消化(digestion)、アガロース電気泳動、サザンブロッティング、ハイブリダイゼーション、RFLP バンドの検出とデータの解析という手順で行う。

これらのうち、植物病原細菌の RFLP 解析において最も重要なことはどのようなプローブ(検出用 DNA)を用いるかということである。すなわち、細菌 DNA の特定の部位とハイブリダイズし、レースの識別が可能なプローブが必要である。植物病原細菌の RFLP 解析で、これまでに用いられてきたプローブはペクチン分解酵素遺伝子クローンや hrp 遺伝子群など病原性や過敏反応(HR)誘導に関連した遺伝子、染色体及びプラスミド DNA 断片、高頻度反復配列クローン、大腸菌 rRNA などである。本研究において用いたプローブは

pJEL101であるが、これはイネ白葉枯病菌の染色体 DNA 中の高頻度反復配列約2.4kbを pUC18に組み込んだプローブであり、Leach ら¹⁹⁾によって開発されたものである。高頻度反復配列は分類学上近縁であっても著しく異なる場合が多く、近年、多くの生物の RFLP による分類に用いられている。なお、これらのプローブは放射性同位³²Pや非放射性のビオチンなどで標識されて用いられる¹⁴⁾。

なお、本研究は農業生物資源研究所・微生物保存研究チーム、微生物機能利用研究室及び熱帯農業研究センターとの共同研究である。

イネ白葉枯病菌の RFLP 解析法

培養 供試細菌を液体培地(ペプトン10g, 蔗糖 5g, グルタミン酸ソーダ 1g, 水1,000ml)で28C, 16時間振とう培養した。

DNA の抽出・精製植物病原細菌からの DNA は大腸菌からの抽出法を若干改変した方法を用いた。DNA 抽出・精製に関して、特に *Xanthomonas* 属細菌は多量の細胞外多糖類(EPS)を産生するため、DNA の精製がかなり困難である。CTAB 処理によって多糖質を除

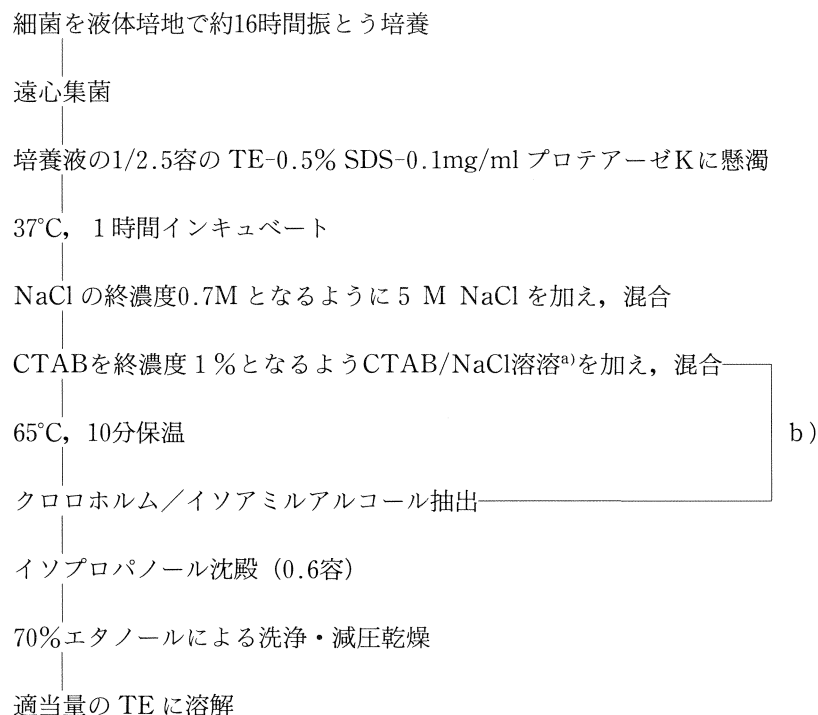


図1 *Xanthomonas* 属細菌からの DNA の抽出法

a) 10% CTAB-0.7M NaCl.

b) 必要に応じて数回繰り返す

去しているが、さらに効率的に抽出・精製するための改良が必要である。

サザンブロッティング精製した DNA を制限酵素 *Eco*RI, *Eco*RV, *Bam*HI, *Cla*I, *Hind* III で 37°C, 2 時間消化後、アガロース電気泳動 (12V, 16 時間) を行った。泳動後、ゲルを酸変性、アルカリ変性した後、各画分をナイロン膜 (Hibond-N, Amasham) に転写した。転写膜は 2XSSC で洗浄・風乾後、UV 照射を行った。ブリハイブリダイゼーション (42°C, 2 時間) 後、pJEL101 をプローブとしてハイブリダイゼーション (42°C, 16 時間) を行った。DNA・DNA ハイブリッドの検出は Blu-Gene の DNA 検出キットを用いて行った。

イネ白葉枯病菌の RFLP 解析

1. イネ白葉枯病菌と *Xanthomonas campestris* の各種 pathovar との比較

イネ白葉枯病菌 (*X. c. pv. oryzae*) と他の *Xanthomonas campestris* の 11 pathovar とを、pJEL101 及び大腸菌のリボゾーム RNA プローブとして、制限酵素 *Eco*RI を用いて RFLP パターンの比較を行った。その結果、プローブとして pJEL101 を供試したした場合、

各 pathovar は特有の RFLP パターンを示した。特に、イネの重要な病原細菌であり、病徴も似ているため混同されやすい *X. c. pv. oryzicola* はイネ白葉枯病菌とは明らかに異なる RFLP パターンを示した。しかしながら、他の pathovar と比較した場合、イネ白葉枯病菌との相同性は高かった。大腸菌の同制限酵素を用い、リボゾーム RNA をプローブとして、*X. c. pv. campestris*, *X. c. pv. citri*, *X. c. pv. oryzicola* 及びイネ白葉枯病菌の RFLP パターンの比較を行った結果、それらはたがいに識別可能であった。

堀田ら¹²⁾は *Xanthomonas campestris* に属する 19 の pathovar について、大腸菌のリボゾーム RNA をプローブとして、*Eco*RI 断片の RFLP 解析を行った。その結果、検出されるバンドの数は著しく減少したが、各 pathovar はそれぞれに特徴的な RFLP プロフィールを示し、各 pathovar の類別はきわめて容易であった。したがって、属、種、pathovar の分類・同定にはこのようなプローブが適当であると考えられた。

以上の結果から、さらに多数の pathovar、多数の菌株を用いたデータの蓄積が必要であるが、これら pathovar の識別、分類・同定の一手法として RFLP 法は有望であると考えられた。

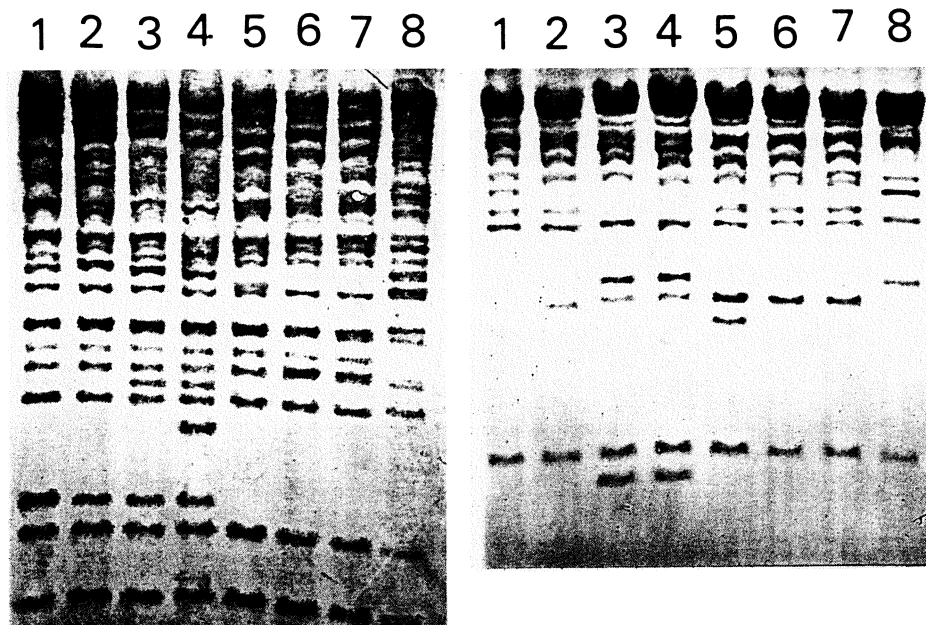


図2 pJEL 101 をプローブとしたイネ白葉枯病菌 (*X. c. pv. oryzae*) 各レースの RFLP プロフィール (制限酵素 左: *Eco*RI, 右: *Hind* III)

1: レース I (T 7174) 2: レース II (T 7147) 3: レース III (T 7133)
 4: レース IV (H 75373) 5: レース IV (Xo-7435) 6: レース V (H 75304)
 7: レース V (Xo-7306) 8: レース VII (H 85149)

2. イネ白葉枯病菌各種レースのRFLP解析

イネ白葉枯病菌には病原性を異にする多数のレースが存在する。これらレースの判定は判別品種に対する病原性に基いて行われるが、わが国では現在まで判別品種金南風、黄玉、Te-tep、中国45号、ジャワ No.14 に対する病原性から6レースが報告されている。また、フィリピンにおける6レースはじめ、外国ではさらに多数のレースの存在が明らかにされている。これらの判定は実際には判別品種に接種を行い、その発病程度によって判定され、多大な労力を必要とすることから、簡易判別システムの開発にRFLPの応用が期待されていた。

そこで、判別体系が確立している日本及びフィリピンのレースの代表菌株についてRFLP解析を行った。

最初に日本産5レースの代表菌株について、pJEL101をプローブとし、制限酵素 *EcoR*1を用いてRFLPパターンの比較を行った結果、日本産各レースの代表菌株は互いに異なるRFLPパターンを示した(図2)。制限酵素として *EcoR*Iを用いた場合、レースIVでは、特有のバンドが検出されたが、他のレースは類別が可能ではあったもののパターンはかなり類似していた。そこで、インドネシア産のレースIV菌株とレースVIIの菌株を加え、制限酵素を *Hind* IIIとしてRFLPパターンを比較した結果、これらの菌株は明らかに異なるRFLPパターンを示し、さらに判別が容易となった(図2)。*EcoR*Iでは互いによく似たパターンを示すインドネシア産レースIV菌株と、日本産及びインドネシア産レースV菌株も特異的なバンドにより判別が可能であった。しかしながら、日本産レースV菌株とインドネシア産レースV菌株はいずれの制限酵素を用いた場合でも判別は困難であった。

フィリピン産レース現在まで6レースが報告されている。そこで、それらのレースの代表菌株についてRFLPパターンの比較を行った。その結果、レース2とレース3は類似したRFLPパターンを示した。しかしながら、その他のレースは明らかに異なるRFLPパターンを示した。

次に同じプローブを用いて日本産レースの判別の可能性について検討した。レースI, II, III, IV, V及びVIIに属するの27菌株を供試し、制限酵素 *EcoR* I, *Cla* I及び *Hind* IIIとプローブ pJEL101の組合わせでRFLP解析を行った。その結果、レースIV及びVIIの菌株はいずれの制限酵素によってもそれらのレースに特異的なバンドにより判別が可能であった。その他のレ

ースの代表菌株もRFLPパターンにより判別可能であった。また、同じレースに属する菌株もさらにいくつかのグループに分れることが明らかとなった。今後、このようなパターンと病原性の関係についてさらに検討が必要である。

さらに、わが国に保存されているインドネシア産菌株についてRFLP解析を行った。インドネシア産菌株で病原性によりレースとして分類されている菌株はXo-7306を除き、5菌株ともレースIVに属する菌株であった。そこで、日本産レースIVの代表菌株とのRFLPパターンの比較を行った。

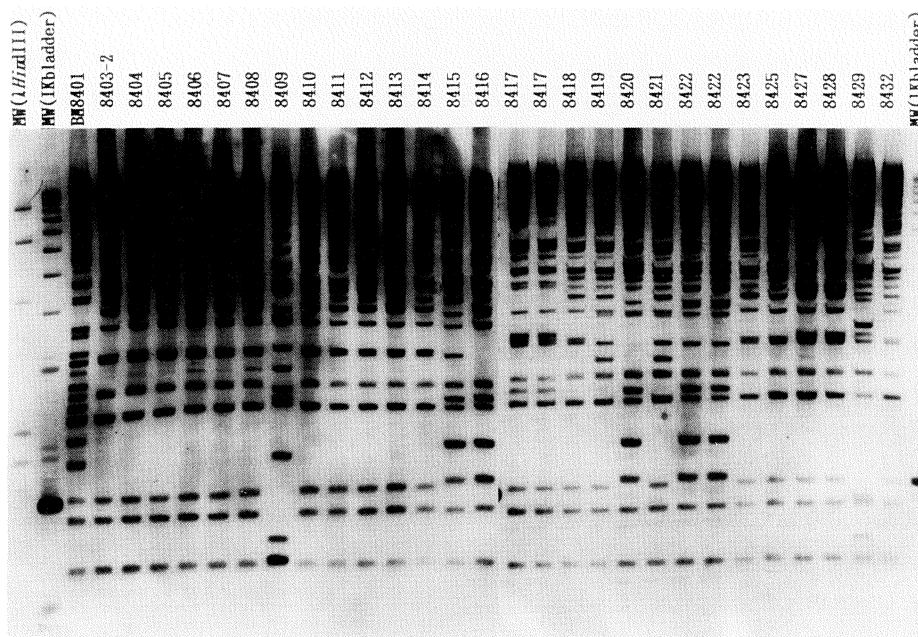
その結果、日本産レースIV菌株 H75373とインドネシア産5菌株 Xo-7435, Xo-7338, Xo-7439, Xo-7330, Xo-7403とは異なるRFLPパターンを示した。また、同じレースIVと判別されたインドネシア産菌株のRFLPパターンも必ずしも一致しなかった。これらは、レースの判別が極めて限られた数の判別品種に対する病原性に基いて行われること、pJEL101が病原性に関連したプローブではないことによると考えられる。一方、日本産レースVとインドネシア産レースVのRFLPパターンは一致した。

本研究においては *EcoR*Iを基本的な制限酵素として用いたが、プローブを pJEL101に固定し、制限酵素によるRFLPパターンの比較を行った。その結果、*Pst*Iでは消化できなかったが、*Bam*HI, *EcoR*V, *Cla*I及び *Hind* IIIのいずれの制限酵素によっても消化は可能であった。これらの制限酵素を用いた場合、RFLPパターンは *EcoR*Iよりもレース間のRFLPパターンの差がより明瞭に現われた。とくに、*Hind* IIIでは日本産の6レースの判別もきわめて容易であった。制限酵素 *EcoR*Iを用いた場合、日本産レースではレースIとレースIIの識別が困難であったが、*Hind* IIIや *Cla*Iでは容易に判別が可能であった。なお、制限酵素として *Cla*Iを用いた場合、検出されるバンドの数は他の制限酵素と比較して著しく増加した。

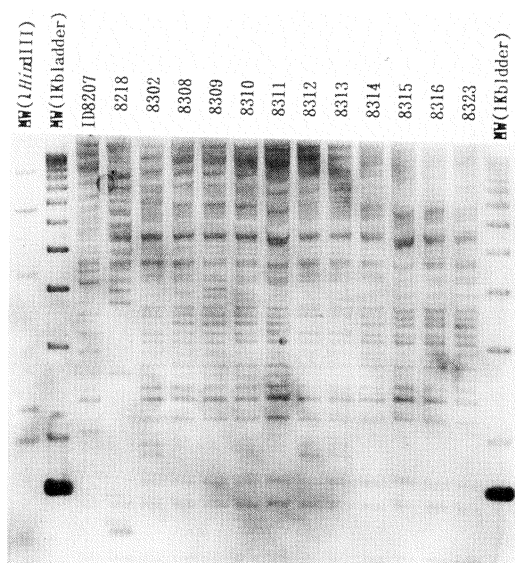
なお、レースの判別にプローブとして大腸菌のリボゾームRNA(16S+23S)を用い、各種制限酵素との組み合わせによってRFLPパターンの比較を行った。その結果、RFLPパターンに違いがみられることが多かったが、そのようなパターンとレースとの関係は明らかではなかった。

3. 各国産イネ白葉枯病菌々株の遺伝的多様性

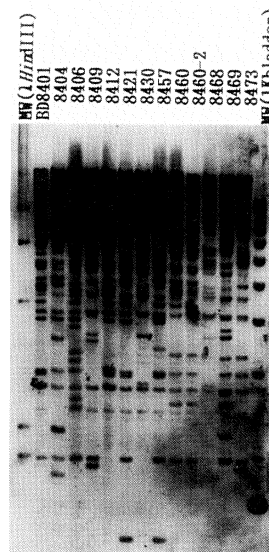
イネ白葉枯病は温帯から熱帯にかけて世界の稲作地帯に広く分布する病害である。したがって、これまで



(A)



(B)



(C)

図3 各国産イネ白葉枯病菌々株のRFLPパターン

A：ミャンマー産菌株，B：インド産菌株

C：バングラデシュ産菌株

各国から多数のレースが報告されていることが示すように、本病原細菌の遺伝的多様性は非常に大きいことが予想された。そこで、東南アジア各国産の菌株を供

試し、プローブ pJEL101と制限酵素 *Eco*RI, *Bam*HI 及び *Hind* IIIの組み合わせで RFLP 解析を行った。

その結果、同一国産菌株は概ね類似した RFLP パタ

ーンを示した。また、そのパターンは各国ごとに異なっており、産地により遺伝的に多様であることが明かとなった(図3)。すなわち、各国産菌株は大別してインド・ネパール産菌株グループ、バングラデッシュ産菌株グループ、フィリピン産菌株グループ、インドネシア・ミャンマー・タイ・マレーシア産菌株グループに分かれた²⁴⁾。日本産菌株は最後者のグループと類似していた。また、フィリピン産菌株は先に Leach ら²⁰⁾が発表した結果と一致していた。

以上のように、各国共通と考えられるバンド及び各国に特異的なバンドが存在することから、国、地域及びレースにより本病原細菌の遺伝的多様性がきわめて大きいことが推察された。また、各国産菌株のグルーピング結果は地域別とも概ね一致していた。今後、各国におけるレース分布など、各国産菌株の病原性との関連について検討していく予定である。

4. イネ白葉枯病菌各種変異株の RFLP 解析

フィリピン産イネ白葉枯病菌でレース 1 に属する PXO61 及びレース 2 菌株 PXO63-6 を供試し、ニトロソグアニジン処理によって誘発されたレース変異株、病原性喪失変異株及び病原性低下変異株について RFLP 解析を行った。なお、プローブとしては pJEL101 を供試し、制限酵素は *EcoRI*, *EcoRV*, *ClaI* 及び *Hind III* の4種類を用いた。

その結果、レース変異株(レース 1 → レース 2)は野生株とは明らかに異なり、レース 2 菌株とほぼ相同的パターンを示した¹³⁾。一方、両野生株由来の病原性変異株、病原性低下変異株及び色素非産生変異株は概ね野生株と同じ RFLP パターンを示した。

以上の結果から、フィリピンにおけるレース 2 に属する菌株の中には、突然変異によりレース 1 から分化したものが含まれていることが推定され、そのレース分化には点突然変異とともに、pJEL101 内のトランスポゾン様反復配列(Leach ら, 1992)の転位が関連していることが示唆された。

おわりに

以上の結果から、RFLP は、さらに有効なプローブの探索など改良の余地はあるが、イネ白葉枯病菌各種レースの判別に適用できる可能性が高いと考えられた。また、本病原細菌の遺伝的多様性及び病原性遺伝子の研究にも非常に有効であることが明かとなった。

RFLP によるレース判別のための標準システムを確

立するためには、さらに国内外の多数の菌株について RFLP パターンを調べる必要である。本実験においても、限られた数ではあるが、同一レースに属する菌株においても RFLP パターンが異なる場合もみられた。これは先に述べたように、レースの判別が極めて限られた数の判別品種に接種して行われ、判別品種の数を増やせば増やすほどレースの数は増える性格のものであることから当然のことと言えよう。

プローブ pJEL101 によって、ほとんどの場合、レース間の RFLP パターンの差は認められた。レース間の差が出にくい場合でも、さらに複数の制限酵素を組み合わせることによって類別される可能性が高い。しかし、判別をより簡便化するためには、さらに有効なプローブを探索する必要がある。また、pJEL101 のように、バンドが多数現われるプローブの場合、パターンの識別及びパターンのグルーピングが困難であるため、パソコンによるデーター処理を検討中である。さらに、DNA 抽出・精製に関して、細菌、特に *Xanthomonas* 属細菌は多量の細胞外多糖類(EPS)を産生するため、DNA の精製がかなり困難であり、本実験の効率化のための問題点である。この DNA 精製法の改良も重要な点である。

RFLP は遺伝的多様性(genetic diversity)の解析にも広く用いられており、それらと病原性、宿主範囲、血清型等との関連も種々の微生物で論じられている^{1,3,6,7,8,9,20)}。イネ白葉枯病は世界中の稲作地帯に広く分布する病害であることから、その病原細菌の遺伝的多様性が大きいことが予想された。これまで、国や地域ごとに特異的な RFLP パターンが存在することが明かとなり、その多様性が証明されたが、今後、さらに本細菌の生態や病原性の変異機構などとの関連を明らかにしていく必要がある。

さらに、RFLP は微生物の属、種、subspecies, pathovar などの分類・同定への利用が試みられている。また、*Pseudomonas solanacearum* では biovar の分類にも適用されている^{2,22)}。各種微生物でそれぞれの目的に適したプローブが得られれば、このような分類・同定への利用は期待されるところ大である。特に、従来の形態学や生理学的性質によって分類が困難な場合期待できるものと考えられる。

また、RFLP はイネ白葉枯病菌の病原性遺伝子の解析にも適用が可能と考えられる。本病原細菌の病原性遺伝子のクローニングは日本及び米国で試みられているが、これまでのところ成功していない。トランスポ

ゾンの挿入による病原性変異株の作出に関しては報告があるが、ベクター系及び形質転換系が確立していないことが問題と考えられる。さらに、本病原細菌の病原性遺伝子の発現のメカニズムが単純ではないことを示唆している。しかしながら、病原性遺伝子が解明されない限り、本病原細菌のレースなどの本質的な RFLP 解析もありえない。

したがって今後、非病原性変異株の作出とその遺伝子解析、酵素産生遺伝子などイネ白葉枯病菌の機能、病原性に関連した遺伝子の解析を進めてゆきたい。

引用文献

- 1) Boccara, M. et.al. (1991). *Mol. Plant-Microbe Interactions* 4 : 293-299.
- 2) Cook, D. et.al. (1989). *ibid.* 2 : 113-121.
- 3) Denny, T. P. et.al. (1988). *J. Gen. Microbiol.* 134 : 1949-1960.
- 4) — et.al. (1988). *Phytopatology* 78 : 1186-1193.
- 5) Gabriel, D. W. et. al. (1988). *Mol. Plant-Microbe Interactions* 1 : 59-65.
- 6) Gottawald, T. R. et.al. (1991) *Phytopathology* 81 : 749-753.
- 7) Graham, J. H. et.al. (1990). *ibid.* 80 : 829-836.
- 8) Hartung, J. S. and E. L. Civerolo (1987) *ibid.* 77 : 282-285.
- 9) — and — (1989). *ibid.* 79 : 793-799.
- 10) 平八重一之ら (1992). *日植病報*58 : 102.
- 11) —ら (1992). *植物防疫*46 : 320-325.
- 12) 堀田光生ら (1992). *日植病報*58 : 592.
- 13) —ら (1993). *日植病報*59 : 104.
- 14) 兼松誠司ら (1990). *植物防疫*44 : 549-556.
- 15) 加来久敏ら (1992). *日植病報*58 : 103
- 16) —ら (1992). *日植病報*58 : 592
- 17) Lazo, G. R. et.al. (1987). *Int. J. Syst. Bacteriol.* 37 : 214-221.
- 18) — and D. W. Gabriel (1987). *Phytopathology* 77 : 448-453.
- 19) Leach, J. E. et. al. (1990). *Mol. Plant-Microbe Interactions* 3 : 238-246.
- 20) — et. al. (1992). *Appl. Environment. Microbiol.* 58 : 2188-2195.
- 21) Mogen, B. D. et. al. (1990). *Phytopathology* 80 : 90-96.
- 22) 中村吉秀ら (1993). 日本植物病理学会平成5年度大会講演要旨集 p. 82.
- 23) 野田孝人 (1989). *植物防疫*43 : 152-156.
- 24) 落合弘和ら (1993). 日本植物病理学会平成5年度大会講演要旨集 p. 82.
- 25) Yamamoto, T. and T. Ogawa (1988). 5th *Int. Cong. Pl. Path. (Abstr.)* : 257.
- 26) 矢野博ら (1991). *日植病報*57 : 445.
- 27) —ら (1991). *日植病報*58 : 593.

コメント

東南アジアにおける稲白葉枯病について

東京農業大学 脇 本 哲

イネ白葉枯病菌の中に病原性の異なる系統が存在することは、1957年、九州農試で久原氏らによって最初に発見された。抵抗性イネ品種として育成されたアサカゼが福岡県で激しく侵され、その被害葉から分離した病原菌株の病原性が異常に強いことが実験的に証明されたのである。それ以後、菌株の病原性とイネ品種の抵抗性との関係が多くの実験によって検討され、特に、菌株の病原性が品種との組み合わせによって逆転する現象がインドネシアの菌株を使用した山元氏らの実験によって明らかにされた。そして、現在のところ、数種類の判別品種に対する病原性の有無によってイネ白葉枯病菌は我が国ではⅠ～Ⅶの病原性グループに分けられており、それらに対応する抵抗性遺伝子が推定されている。国際イネ研究所でも同様な研究が行われ、フィリピンには我が国の菌株と全く異なる病原性を示す菌株の存在することが明らかにされた。同様な実験はその後、インドネシア、タイ、バングラデシュ、インドなどの各国でも行われ、それぞれの国に分布する菌株の病原性が報告され、世界には多くの病原性グループの分布することが知られている。しかし、これらの研究は特定の限られたイネ品種に対する病原性の有無によって菌株を分類したものであり、判別品種の種類を増やせばそれにつれていくらかでも細かく分けることができるはずである。そのことは今までの研究経過から明らかである。山元氏の報告はその事実を率直に提示したものであり、判別品種の選び方によって病原性グループの分け方はいかようにでも変化する可能性のあることを示すものであろう。

イネ白葉枯病菌の病原性発現には、菌体多糖質、セルラーゼなどの酵素類、毒素など、多くの要因が関与しているものと考えられているが、未だに明らかでなく、また、イネ品種の抵抗性発現機構も明らかでない。菌株の病原性と品種の抵抗性は共に量的に変化すること、品種の抵抗性は生育時期によっても著しく変化する

ることなどは古くから知られており、また、接種部位によって異なる抵抗性を示す品種もある。葉に接種した場合には多くの病原性グループに対して抵抗性を示す品種 DV85 は、断根接種されると容易にクレセック症状を示すことがある(未発表)。これらはイネ白葉枯病菌の病原性とそれに対するイネの抵抗性の発現機作の複雑さを暗示しており、これらに関する基礎的な研究が未だに不足しているように思われる。

病原性と抵抗性に関する生理生化学的な研究の不十分なままこれらを分子生物的な方法で検討しようとする方向に進んでいるようである。

イネ白葉枯病菌の病原性遺伝子、または、非病原性遺伝子に関する研究は1988年頃から始まった。現在までに、特定のイネ白葉枯病菌レースを供試し、突然変異や遺伝子操作によってレースが変化することが報告されている。加来氏の報告は pathovar または病原性グループを RFLP の手法を利用して遺伝子のレベルで比較し、判別しようとするものであり、イネ白葉枯病菌では新しい試みである。病原細菌の DNA を各種の制限酵素で処理し、電気泳動後、特定のプローブを用いて検出する方法によって *X. campestris* に属する多くの pathovar を比較した結果、白葉枯病菌は他の pathovar とは異なる特異的な RFLP パターンを示すことを明らかにした。この場合、使用する制限酵素とプローブを選べばレース間でも区別できる可能性のあることを指摘している。

この種の研究を発展させるためにも病原性遺伝子または非病原性遺伝子の具体的な機能を知ることが重要であろう。

RFLP パターンが菌株の分離地域毎に共通性を示すことは、病原性グループの地域差とも関連し、イネ白葉枯病菌が地域的に隔離した状態で分化したことを示すものと考えられて興味深い。

III. 熱帯野菜・果樹のウイルス病

1. タイの果樹

今 田 準
果樹試験場安芸津支場

Virus Diseases of Vegetables and Fruit Trees in Tropical Countries

1. Fruit tree diseases in Thailand

Jun IMADA
Fruit Tree Research Station, Akitsu Branch
Akitsu, Hiroshima 729-24, Japan

1. 目 的

熱帯・亜熱帯では、近年食生活の向上にともない、各種の果実は需要が増大し、かつ農家換金作物として重要性が増している。熱帯・亜熱帯に栽培されている果樹は極めて多様で、それらに被害を与えている病害も多いと予想されるが、十分に明らかにされていない。しかしながら、カンキツ、パパイヤ等にはウイルス性病害による被害が顕在化しており、これが重要な生産阻害要因の一つとなっている。プロジェクト研究「カンキツ・パパイヤ等熱帯果樹ウイルス性病害の生態解明」では、これらウイルス性病害について被害発生の実態を把握するとともに、伝染様式及び発生生態の解明、抵抗性品種育成のための基礎的研究、弱毒ウイルス利用等による再感染防止技術の開発等を行って、生物的防除技術を主体とする総合防除技術の開発を図ることを目的としている。今回の出張では、カンキツの病害の中で最も重要な病害の一つで、南アフリカ、インド、中国本土、台湾、タイ、インドネシア、フィリピンなどで発生し、大きな被害を与えているカンキツグリーニング病について、タイ及びマレーシアにおける発生状況と被害実態の調査、本病の病原体 (GO) の収集と病原性の評価、GO 検出技術確立のための GO の単離・増殖、また重要なカンキツウイルスであるカンキツトリステザウイルス (CTV) についてタイのカン

キツの CTV 保毒状況調査及びバナナのウイルス病様症状からのウイルスの検出を行った。

2. 結果の概要

1) タイにおけるカンキツグリーニング病の発生状況

調査を行った16県のカンキツ園では、発生程度に差こそあったが、全ての県においてカンキツグリーニング病の発生が認められた。とくに主要栽培品種である Som Keowan にその発生が多く、激しい症状を呈していた。Khaoko Highland Research Station 及び Nan Horticultural Experimental Station の品種保存園で栽培されている外国からの導入品種への本病の発生は、媒介昆虫ミカンキジラミによる伝搬が急速に起こっていることを物語っている。また、タイ南部の Neck orange や Special mandarin の新植園では、本病の症状が出始めており、これは北部タイのナン県などで取木法により繁殖された汚染苗木による蔓延と推定された。一方、Som Keowan の多くが罹病しているのに対して、ほとんど全てのブンタンには本病の病徴は認められず、タイのブンタンがタイに発生する GO 系統に抵抗性を保持していることが明らかとなった。また、台湾やフィリピンで報告されているブンタンを侵す GO 系統がタイではまだ発生していないことが明らかとなった。

2) マレーシア・カメロンハイランドにおけるカンキツグリーニング病の発生状況

海拔1,450mの Tana Rata にある MARDI カメロンハイランド試験場のカンキツ園では、中国由来のマンダリンにグリーニング病の発生が認められた。しかしながら、日本から導入されたウンシュウミカンや森田ネーブル、アメリカ合衆国から導入されたトロピタオレンジにはグリーニング病の病徴はみられず、また、本病の媒介者であるミカンキジラミ (*Diaphorina citri*) も観察されなかったことから、本病の自然伝搬は起こっていないか、仮に起こっても極めて低率であることが推測された。これは定期的な殺虫剤散布や大量の降雨によるミカンキジラミの卵や幼虫の流亡によって媒介昆虫の生息数が低下しているためと思われる。

一方、海拔900~1100mの Bertam Valley にある一般農家のカンキツ園では、中国系のマンダリン、タンカン及び在来種のマンダリン (Limau Langkat) にグリーニング病の病徴がみられ、これらへの媒介昆虫の寄生も観察された。ある園では、17年生の Limau Langkat が激しく侵され、ほとんどの樹が枯死もしくは枯死寸前であった。別の園では、アメリカ合衆国から導入されたスイートオレンジや MARDI 由来のウィルスフリーのマンダリンが、隣接する本病罹病マンダリン園に近い樹から少しずつ症状を現わしており、隣接園のマンダリンが伝染源となって徐々に周囲に広がっていることが明らかになった。

3) カンキツグリーニング病株の収集と病原性の評価

同一園内で病徴の程度を異にする発病樹から相対的に病徴の程度の激しいもの、中程度のもの、軽いもの、また外観健全なものを選抜し、これらの緑枝を用いて感受性品種であるマンダリン実生苗 (Szinkom) に接木接種を行い、網室内で管理して病徴の種類やその程度を調べた。収集した32株のうち、接種が成功して病徴が発現した8株は採集樹の病徴の軽重にかかわらず Szinkom 実生苗に生育阻害と葉の黄化を生じ、それらの程度に差は見られなかった。

4) カンキツグリーニング病病原の簡易検出技術の確立

- ① GO 単離のための無毒ミカンキジラミの飼育を行った。タイ農業局構内に栽植されているゲッキツ樹より、卵及び1~3令幼虫を採集し、ゲッキツ実生苗上で飼育した。
- ② 無毒のミカンキジラミを用いて GO をカンキ

ツ苗に単離し、ネナシカズラを用いて増殖用植物であるニチニチソウへ移した。つづいてこれをニチニチソウへ接木接種して GO の増殖を図った。

- ③ 日本において GO の検出技術 (モノクローナル抗体法, ポリクローナル抗体法及び DNA プローブ法など) を確立するために、罹病植物 (罹病カンキツ穂木及び罹病ニチニチソウ) の輸入を行った。

5) カンキツトリステザウイルスの保毒状況

タイにおけるカンキツトリステザウイルス (CTV) の被害については明らかでなく、本ウイルスの検定植物にも利用されている manao (acid lime) が、媒介昆虫であるミカンクロアブラムシが生息しているにもかかわらず良好な生育を示している。しかしながら、本ウイルスがカンキツグリーニング病と重複感染するとそれぞれの単独感染に比べて病徴が激しくなることが報告されており、最近のカンキツグリーニング病の急速な蔓延に伴い、本ウイルスも看過できない状況である。そこで前述の調査園からグリーニング病罹病樹も含めた255樹の成葉を採集し、日本産の CTV 抗血清から Clark and Adams (1977) に従って作製した酵素結合抗体を用いてエライザ検定を行った。その結果、プンタン、Neck orange、実生樹を除いたカンキツ樹のほとんどが CTV を保毒しており、とくに Som Keowan が高い保毒率 (98%) を示していた。しかし、保毒率が manao : 2/12, プンタン : 1/145, Neck orange : 0/11, 実生樹 : 0/7 という結果から、CTV の自然伝搬の発生頻度が非常に低いことが推測された。

6) バナナのウイルス性病害について

タイにおけるバナナの菌類病については、既に詳細な調査が行われており、Fusarium wilt, Sigatoka leaf spot が重要病害であることが明らかにされている。しかしながらウイルス病についてはほとんど調査がなされておらず、諸外国で重要病害として報告されている Banana bunchy top についてもその発生の報告がない。そこで、バナナのウイルス病様症状の発生調査と banana bunchy top virus 及び banana infectious chlorosis の病原である cucumber mosaic virus の検出を行った。

調査を行った12県のバナナ園では、多くのバナナに葉脈の黄化や緑色条線、萎縮症状が観察されたが、Banana bunchy top の典型的な病徴はほとんど観察されなかった。台湾大学の Hong Ji Su 教授から分譲を受けた banana bunchy top virus のモノクローナル抗

体を用いて、罹病植物の部位別のウイルス濃度を比較したところ、第2葉、第3葉及び根が高いエライザ値を示し、検定にはこれらの部位が適していることが明らかになった。タイ国各地から収集したバナナの第2葉を供試して、検出を行ったところ、97検体中13検体が陽性となり、タイにおける banana bunchy top virus の発生が確認され、その分布も広いことが明らかになった。また、カンナや野生のショウガ及び banana bunchy top virus の媒介昆虫として報告されているバナナアブ

ラムシの寄主植物であるサトイモがエライザ検定陽性となり、今後、これらの植物の本ウイルスの蔓延に果たす役割を明らかにする必要がある。

cucumber mosaic virus 普通系のポリクローナル抗体を用いて間接エライサ法で Banana infectious chlorosis の病原である cucumber mosaic virus の検出を行ったところ、供試したバナナ29検体のうち9検体が陽性であり、タイ国のバナナが cucumber mosaic virus を保毒していることが明らかになった。

III. 熱帯野菜・果樹のウイルス病

2. 沖縄のパパイヤおよび上海市のピーマン・トウガラシに発生するウイルス病

宇 杉 富 雄

熱帯農業研究センター沖縄支所

Virus Diseases of Vegetables and Fruit Trees in Tropical Countries

2. Virus diseases of papaya, bell pepper and chili in Okinawa and Shanghai

Tomio USUGI

Okinawa Branch, Tropical Agriculture Research Center

Maezato-Kawarabaru, Ishigaki 907, Japan

In this study the viruses occurring on papaya, bell pepper and chili in Okinawa and Shanghai were examined. Papaya leaf-distortion mosaic virus (PLDMV), which has been reported in Okinawa, and papaya ringspot virus P strain (PRSV-P), which was discovered on Miyako Island in 1991, belong to the potyvirus group and induce the development of similar symptoms on papaya. Since the two diseases cannot be distinguished from their symptoms, a field survey system using a very sensitive ELISA (enzyme-linked immuno-sorbent assay) was developed to enable the detection of these viruses in crude extracts from infected papaya leaf at dilutions of 1000. Field survey using this system revealed the occurrence of PRSV-P on Ishigaki Island in addition to PLDMV although the frequency of occurrence of PRSV-P was low. The occurrence of virus diseases of bell pepper and chili in Shanghai was also investigated. Almost all the bell pepper plants were infected with viruses and showed more severe symptoms than those of chili. Electron microscopic observation, serological tests and sap-inoculation tests revealed a wide distribution of the pepper strain of tobacco mosaic virus and cucumber mosaic virus throughout Shanghai, suggesting the occurrence of a filamentous virus.

Key words: Virus disease, papaya, bell pepper, chili

キーワード: ウイルス病, パパイヤ, ピーマン, トウガラシ

I. パパイヤに発生するウイルス病

1) はじめに

パパイヤは熱帯アメリカ原産であるが、いまでは熱帯～亜熱帯における普遍的な果樹のひとつである。パパイヤは生育が極めて早く、しかも容易に結実するために、果樹園栽培のみならず、家庭果樹として広く栽培

されている。

亜熱帯地域である沖縄県においても古くから県内各地において栽培されてきた。しかし、パパイヤは長年にわたり果樹としての価値は認められず、単に豚の飼料として、あるいは青果を野菜として利用する程度にすぎなかった。このためその栽培は宅地利用の域をでず、なかば放任されてきた作物である。戦後米軍の進

駐によってパパイアの果樹としての価値が認識されるようになり、諸外国からの品種導入や独自の品種改良が行われ、優良種が普及されるようになった。果樹として高い価値を有するにもかかわらず沖縄県におけるパパイアの栽培面積、生産量は低迷している。パパイア生産不振の原因のひとつにウイルス病の発生が関与しており、パパイア栽培においてウイルス病の発生は重要な問題である。パパイアの安定生産のためには、パパイアウイルス病の生態解明と制御技術の開発が必要である。このため熱帯農業プロジェクト研究「熱帯果樹ウイルス性病害の生態解明と制御技術の開発」が平成2～6年度にわたり実施されている。ここに熱帯農業研究センター沖縄支所において実施したパパイアウイルスに関する研究を含めて研究の現状を紹介する。

2) 世界中で発生するパパイアのウイルス

世界中でパパイアに発生するウイルスとしては papaya ringspot virus P strain (PRSV-P), papaya leaf-distortion mosaic virus (PLDMV), papaya mosaic virus (PMV), tomato spotted wilt virus, papaya apical necrosis virus, papaya leaf curl virus, papaya yellow crinkle virus および tobacco ringspot virus が知られている³⁾。後述のように PLDMV は日本においてのみその発生が知られている。

これらのウイルスの中でパパイア栽培にとって最も問題になるのが PRSV-P および PLDMV である (PLDMV については後述するのでここでは省略する)。PRSV-P は potyvirus グループに属する長さ780-800 nm のひも状ウイルスで少なくとも6種のアブラムシ類によって非永続的に伝搬される²⁾。本ウイルスは熱帯・亜熱帯のほとんどのパパイア栽培地域で発生している。筆者は最近、タイのパパイア栽培地域を視察する機会を得たが、タイにおいても激しいウイルス病の発生が認められた。マレーシアでは数年まえまでは本ウイルスの発生は報告されていなかったが、最近その発生が報告された。沖縄県においても最近、宮古島および石垣島でその発生が確認された⁵⁾。本ウイルスに感染したパパイアは葉に斑紋や奇形を呈し、果実には輪紋や斑点を呈する。また、葉柄や茎には条斑が現れる。株全

体は萎縮し、着果数は減少し、果実は小型化する。冷涼期において激しい葉の奇形症状が現れ易い。このように本ウイルスによるパパイアの症状は激しく被害は激甚であり、良質の果実を得ることは困難となる。

PMV は potexvirus グループに属するひも状ウイルスであり、媒介生物は不明である。フロリダ、ハワイ、ベネズエラ、インド、東アフリカに分布する。本ウイルスによる被害は比較的軽微である⁷⁾。

その他のウイルスはパパイアに激しい症状を引き起こすものもあるが、分布がきわめて限られているのでここでは説明を省略する。

3) わが国で発生するパパイアのウイルス

わが国のパパイアに発生が確認されているウイルスは PLDMV および PRSV-P である。従来 PLDMV だけの発生が知られていたが¹⁰⁾、最近 PRSV-P の発生が確認された⁵⁾。

PLDMV は potyvirus グループに属するウイルスである。PRSV-P とは血清関係が認められず、また検定植物の反応に若干の差異が認められる。PLDMV には奇形葉モザイク系統のほかに黄斑モザイク、モザイク系統の存在が知られているが、奇形葉モザイク系統の発生が最も多い。PLDMV のパパイアにおける病徴は PRSV-P のそれとほとんど同じであり、識別することは困難である。PLDMV は南・北大東島を除く沖縄県各地 (奄美大島を含む) で発生が認められている¹⁰⁾。

PRSV-P は最近、宮古島のパパイアより初めて分離された。現在、宮古島のほかに石垣島でその発生が確認されている。

4) PLDMV および PRSV-P の血清学的検定法の開発

従来、わが国のパパイアに発生するウイルスは PLDMV だけ知られていたために、パパイアのウイルス病診断は病徴観察だけでも概ねその目的は達成された。しかし、病徴に差がない PLDMV と PRSV-P の2種ウイルスの存在が明らかになったことから病徴観察にかわる診断法の開発が必要になった。そこで PLDMV および PRSV-P の抗血清を作製し、ELISA 法による各ウイルスの検定法の開発を行った。その結果、ELISA 法

表一 1 石垣島のパパイアにおける PLDMV および PRSV-P の発生調査結果^{a)}

供試株数	PLDMV	PRSV-P	重複感染	他ウイルス ^{b)}	非ウイルス
100	88	7	1	3	1

a) ELISA 法による検定結果

b) ELISA 反応陰性であったが電子顕微鏡観察でひも状ウイルスが認められたもの

によりパパイヤ感染葉汁液の1,000倍希釈液においても両ウイルスは検出可能であった。PRSV-P 抗血清は PRSV-P とのみ反応し, PLDMV とは反応せず, また, PLDMV 抗血清は PLDMV とだけ反応し, PRSV-P とは反応しないことが確認され, ELISA 法による両ウイルスの検定法が確立された^{4,5)}。

5) パパイヤウイルスの発生分布調査

新たに開発した ELISA 法を用いて石垣島のパパイヤ 100株について各ウイルスの発生状況を調査したところ, 88株から PLDMV が, 7株から PRSV-P が検出され, 重複感染株も 1株検出された。以上のことから石垣島のパパイヤには両ウイルスが発生しており, 特に PLDMV の発生が多いことが明かになった。本法は一度に多量の試料の検定が可能であり, ウイルスの発生調査などには有効であることが示された (表-1)。

6) おわりに

わが国におけるパパイヤに発生するウイルスとして従来から PLDMV が知られていたが, 最近 PRSV-P の発生が確認された。PLDMV と PRSV-P はパパイヤにおける病徴がほとんど同じであり, 両ウイルスの識別は困難であった。新たに開発された ELISA 法により容易に両ウイルスの識別が可能となり, しかも多試料の検定も可能で両ウイルスの分布などの調査にはきわめて有効であることが示された。さらに石垣島におけるパパイヤには両ウイルス抗血清に対して ELISA 法では反応しない新しいウイルスも見出されている。今後, これらのウイルスの発生分布やパパイヤにおける被害について解析する必要がある。

II. 上海市のピーマンおよびトウガラシに発生するウイルス病

1) はじめに

中国における野菜類の安定生産のためには, 各種病害の発生を防除することがきわめて重要である。熱帯農業研究センターでは上海市農科院との共同研究で熱帯農業プロジェクト研究「中国における果菜類等の耐病性優良系統の育成」を実施している。上海地域ではキュウリ, ピーマン, イチゴについてウイルス病の発生が大きな問題になっているが, それらのウイルス病について, いまだその種類や複合感染の問題は明確になっていない。そのため, まず発生しているウイルス病の種類を同定する必要がある, それによつてはじめて耐病性系統の育種に着手することができる。そこで

表-2 調査地名, 地点数および野菜の種類

調査地名	地点数	野菜の種類
青浦県白鶴郷	1カ所	ピーマン
川砂県花本郷	1	ピーマン, トウガラシ
上海市虹橋郷	1	ピーマン, トウガラシ
嘉定県黄渡郷	1	ピーマン
嘉定県長征郷	2	ピーマン
上海市農科院	1	ピーマン, トウガラシ

まずウイルス病の被害が最も激しい上海市周辺のピーマンおよびトウガラシについてウイルスの種類とその分布状況を調査した。

2) 中国で発生が確認されているウイルス

ピーマンおよびトウガラシのウイルスにつき中国でその発生が確認されているものは tobacco mosaic virus トウガラシ系統 (TMV-P), cucumber mosaic virus (CMV), alfalfa mosaic virus, broad bean wilt virus, chili veinal mottle virus, potato virus X および potato virus Y である。さらに上海市周辺では TMV が多く検出されたことが報告されている¹⁾。

3) 上海市周辺のピーマンおよびトウガラシにおけるウイルス病の発生状況

1992年9月1～7日にかけて上海市周辺7カ所のピーマンおよびトウガラシにおけるウイルス病の発生状況を調査した。調査時におけるピーマンおよびトウガラシはいずれも生育後期でほとんど収穫を終えたものであった。調査地点は表-2に示した。

上海市周辺の7調査地点の内6調査地点でのピーマンには激しいウイルス症状が認められた。残る1地点 (長征郷) でのピーマンは比較的軽い症状であったが, 植物は濃緑色で葉には斑紋が認められた。いずれの地点においてもピーマンの発病率はほとんど100%であった。トウガラシの症状はピーマンのそれよりも軽かった。川砂県花本郷および上海市農科院のトウガラシには顕著なウイルス症状は認められなかった。ピーマンの葉における症状には新葉がやや黄化, 小型化し, モザイクを呈しているものや, 濃緑色部が盛り上がった凹凸状になったもの, 葉縁が上方に巻いたもの, 葉が縮れたもの, 葉にえそ斑が認められるものなど各種の症状が観察された。上海市農科院のピーマンの果実には黄色斑～条斑が認められ, また, 凹凸で激しい奇形で小型果が認められた。発病株では極端な萎縮を示すものはほとんど認められなかった。

表一 3 上海市各地で採取したピーマン、トウガラシの TMV および CMV 検定

調査地名	野菜の種類	TMV 検定 結果	CMV 検定 結果
青浦県白鶴郷	ピーマン	2/2 ^{a)}	3/3 ^{b)}
川砂県花本郷	ピーマン	3/4	0/6
	トウガラシ	2/2	4/4
上海市虹橋郷	ピーマン	0/2	0/3
嘉定県黄渡郷	ピーマン	1/2	4/4
嘉定県長征郷	ピーマン	2/2	4/4
	ピーマン	1/2	0/3
上海市農科院	ピーマン	5/5	0/5
	トウガラシ	0/2	1/2

a) TMV 粒子が観察された株数/供試株数 (電子顕微鏡観察による検定)

b) 血清反応陽性株数/供試株数 (簡易二重拡散法による検定)

4) 発病株の TMV および CMV 検定結果

ピーマンおよびトウガラシに発生の多い TMV および CMV の検定を行った。TMV 検定は電子顕微鏡観察により、CMV 検定は簡易二重拡散法 (SDD 法) による血清試験によった⁸⁾。各地点より採取した試料のウイルス検定をおこなった結果を表一 3 に示した。

その結果、供試試料が少なかったにもかかわらず多くの地域で TMV の発生が認められた。症状が軽かった長征郷のピーマンからは TMV が検出された。SDD 法により採取試料と TMV-トウガラシ系統 (P) および TMV-普通系統 (OM) 抗血清との血清試験を行ったところ、TMV-P 抗血清と明瞭な反応を示すものが多く、TMV-OM 抗血清との反応はかすかな反応にすぎなかった。花本郷ピーマン、トウガラシには TMV のほかにひも状のウイルス様粒子が観察された。

SDD 法による検定により、CMV も多く発生していることが確認された。上海市農科院で採取したトウガラシの内、1 本は無症状であったが、CMV に感染していることが確認された (表一 3)。鮮明な病徴を示すピーマンの新葉を 50 倍量の 0.1M リン酸緩衝液 (0.1% チオグリコール酸, pH7.3) で磨砕し、*Nicotiana glutinosa*, ササゲおよびピーマンに汁液接種したところ、*N. glutinosa* の上葉に退緑斑点、モザイク症状が認められたが、ササゲには感染が認められなかった。ピーマンでは上葉に明瞭な葉脈透化が認められた。*N. glutinosa*, ササゲおよびピーマンの感染率はそれぞれ 1/2, 0/2 および 10/10 であった。ササゲに感染が認められなかった

のはピーマンの感染阻害物質によるものと思われる。アブラムシ伝染性を確認するために 1 時間絶食したワタアブラムシをピーマンの病葉で 1 分間吸汁させた後、健全タバコ (ブライトイエロー) には 1 植物あたり 4 頭、*N. glutinosa* には 10 頭ずつ移し、1 夜吸汁させた。その結果、タバコおよび *N. glutinosa* はいずれも感染が認められ、感染率はそれぞれ 2/5 および 1/2 であり、CMV であることが確認された。

5) おわりに

上海市各地のピーマンおよびトウガラシには TMV および CMV が広範囲に発生しており、とくにピーマンの症状は激しいことが明らかになった。ピーマンおよびトウガラシに発生する TMV には数系統が知られている⁹⁾。TMV-P 抗血清に対する反応性、ピーマンにおける病徴から上海市には TMV-P 系統が多く発生しているものと思われる^{6,9)}。TMV-P および CMV はピーマンおよびトウガラシに対し激しい症状を示すことが知られており、これらのウイルスの防除は当面の重要な課題である。上海市において TMV の防除を目的とした種子の消毒は行われていないので、種子の乾熱処理は TMV 防除に有効であろう。しかし、CMV はアブラムシ伝染性のため通常の方法では防除困難であり、抵抗性品種の育成が望まれる。

引用文献

- 1) 藤沢一郎 (1989). 東南アジアに発生する野菜のウイルス病 植物防疫 43: 484-487.
- 2) Gonsalves, D. (1984). Papaya ringspot virus. CMI/AAB Descriptions of plant viruses, No. 292.
- 3) Litz, R. E. (1984) Handbook of plant cell culture, vol. 2. (Shaarp, W. R. et al. eds). Macmillan Publishing Co., New York, pp. 349-368.
- 4) 真岡哲夫・宇杉富雄 (1992). 南西諸島のパパイヤに発生するウイルスの品種反応と血清学的診断法 日植病報 58: 632.
- 5) 真岡哲夫・宇杉富雄 (1993) 南西諸島のパパイヤから分離されたパパイヤ輪点ウイルス P 系統 (PRSV-P) およびパパイヤ奇形葉モザイクウイルス (PLDMV). 日植病報 59: 335.
- 6) 長井雄治 (1981). タバコ・モザイク・ウイルス-トウガラシ系によるピーマンのモザイク病. 日植病報 47: 541-546.
- 7) Purcifull, D. E. and Hiebert, E. (1971).

Papaya mosaic virus. CMI/AAB Descriptions of plant viruses. No. 56.

8) 匠原監一郎 (1980). 寒天ゲル内拡散法による植物ウイルスの診断.

9) 山本 磐 (1984). 野菜のウイルス病 (植物ウイルス研究所学友会編). 養賢堂, 東京, p. 43-64.

10) 与那覇哲義 (1987). パパイヤのウイルス病植物防疫 41: 578-582.

III. 熱帯野菜・果樹のウイルス病

3. 野 菜

藤 澤 一 郎

農業研究センター病害虫防除部ウイルス病診断研究室

Virus Diseases of Vegetables and Fruit Trees in Tropical Countries

3. Virus diseases of vegetables

Ichiro FUJISAWA

National Agriculture Research Center

Kannondai, Tsukuba 305, Japan

トウガラシの病株から分離される病原ウイルスのうち、CVMV, TSWV, CMV, TLCV はいずれも虫媒伝染性のウイルスである。そこで、アブラムシ、スリップスに対して飛来防止効果のある各種の農業資材を用いてウイルス病の耕種的防除効果を検討した。

- (1) 育苗時の処理：トウガラシの育苗を白色寒冷紗のトンネル被覆下で行った場合（寒冷紗育苗）と露地の無被覆下で行った場合（露地育苗）を比較した。また、定植直前に各処理苗についてウイルス病の発生と媒介昆虫（アブラムシ、アザミウマ、コナジラミ）の寄生状況を比較調査した。
- (2) 定植後の処理：圃場における処理区はシルバーテープ展張区、シルバーマルチ区、トウモロコシ間作

区、ムシコンマルチとシルバーテープ展張の併用区、紫外線除去フィルム被覆区、殺虫剤散布区、寒冷紗被覆区、シルバーマルチ+寒冷紗囲い+紫外線除去フィルム被覆の複合区及び無処理（対照）区の計9処理区で、2反復を行った。

- (3) その結果、育苗を寒冷紗のトンネル被覆で行うことによって無病苗が生産でき、これらの苗を定植した場合露地育成苗に比べ圃場での発病は遅延し、被害は軽減した。また、圃場においては寒冷紗被覆あるいは紫外線除去フィルム被覆処理が著しい防除効果を上げたが、経済性の面からシルバーテープの展張、ムシコンマルチとシルバーテープ展張の併用、あるいは殺虫剤散布が最適な防除法と考えられる。

各種農業資材によるトウガラシウイルス病防除試験（12月13日調査）

処 理	育苗条件	症 状 別 株 数				発病株数	総株数	発病株率 (%)
		LC	TN	LC・M	M			
対 照	露 地	6	3	5	3	17	25	68.0
	寒冷紗	6	2	3	3	15	27	55.6
シ ル バ ー テ ー プ	露 地	5	1	0	2	8	26	30.1
	寒冷紗	5	1	1	0	7	25	28.0
シ ル バ ー マ ル チ	露 地	2	0	6	4	12	21	57.1
	寒冷紗	1	0	1	2	4	22	18.2
ト ウ モ ロ コ シ 間 作	露 地	1	0	4	12	17	27	63.0
	寒冷紗	6	0	3	4	13	27	48.1
ムシコンマルチ+シルバーテープ	露 地	1	0	3	5	9	25	36.0
	寒冷紗	1	0	2	4	7	23	30.4
紫 外 線 除 去 フ ィ ル ム 被 覆	露 地	0	0	0	2	2	24	8.3
	寒冷紗	0	0	1	1	2	25	8.0
殺 虫 剤 散 布	露 地	0	1	9	8	18	24	75.0
	寒冷紗	3	0	0	8	11	26	42.3
寒 冷 紗 被 覆	露 地	0	1	1	11	13	28	46.4
	寒冷紗	0	0	0	1	1	28	3.6
紫 外 線 除 去 フ ィ ル ム + 寒 冷 紗 + シ ル バ ー マ ル チ	露 地	0	0	0	0	0	17	0
	寒冷紗	0	0	0	1	1	20	5.0

注) LC：巻葉，TN：頂葉枯死，M：モザイク

●熱帯農研集報 No.60 (1988) p. 115-120を参照して下さい。

III. 熱帯野菜・果樹のウイルス病

4. 中南米及び東南アジアの熱帯地域で検出されたサツマイモのウイルス病

中 野 正 明, Segundo Fuentes* and Luis F. Salazar*

熱帯農業研究センター (現農林水産技術会議事務局), *国際ばれいしょセンター

Virus Diseases of Vegetables and Fruit Trees in Tropical Countries

4. Sweet potato virus diseases detected in the tropics of South and Central America and Southeast Asia.

Masaaki NAKANO, Segundo Fuentes* and Luis F. Salazar*

Tropical Agriculture Research Center

*International Poteto Center (CIP).

Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan, *Apartado 5969, Lima, Peru

We detected sweet potato viruses by NCM-ELISA in the tropics of South and Central America and Southeast Asia. Sweet potato feathery mottle virus was detected in Peru, Mexico, Dominican Republic, Indonesia, and Philippines. The C-2 virus which shows a serological relationship to the sweet potato symptomless virus was detected in Peru, Indonesia, and Philippines. Sweet potato mild mottle virus was detected in Indonesia. An unidentified isometric and aphid-transmitted virus which had been called C-4 was detected in Peru. Sweet potato leaves infected with the C-4 virus showed small whitish spots. *Ipomoea setosa* showed leaf curl, dwarf, and necrotic spots, and was a suitable diagnostic plant for C-4 by graft inoculation. *Macrosiphum euphorbiae* transmitted the C-4 in a persistent manner. C-4 was designated as sweet potato leaf speckling virus, tentatively.

Key words: Sweet potato, virus diseases, South and Central America, Southeast Asia

キーワード: サツマイモ, ウイルス病, 中南米, 東南アジア

サツマイモは中南米の熱帯地域原産であると考えられているが、その生産の約9割はアジア、特に中国に集中しており、他の地域での知見は少ない。近年、熱帯地域における基幹作物のひとつとしてその可能性が注目され、原産地に近いペルーの国際ばれいしょセンター (CIP) が中心となって遺伝資源の収集や発展途上地域への普及をめざした研究を行っている。サツマイモは、そのほとんどがウイルス病に感染しているが、

病徴は必ずしも明瞭ではなく、被害についても明らかでない場合が多い。しかし今後、これまで栽培の少なかった地域への普及に伴い、それまで顕在化していなかったウイルスや複数ウイルスの重複感染により収量、品質の低下が問題となることが考えられる¹⁰⁾。このようなことから、遺伝資源を世界各国に配布する役割を持つ CIP においては、病原ウイルスの同定と、苗が無病であることを証明するための手法の開発が重要な課題

となっている。このため CIP では、サツマイモに発生するウイルスの種類と性状の解明、確実な検定法の確立、ウイルス抵抗性遺伝資源の探索などをめざした研究が進められており、sweet potato feathery mottle virus (SPFMV) の russet crack (RC) 系統のほか、*Nicotiana benthamiana* に全身感染する SPFMV の C-1 系統などが見いだされている⁶⁾。また、汁液伝染性の紐状ウイルスで、アサガオに軽いモザイクを生じる C-2 も分離されている⁷⁾。その他数種の未同定ウイルスも分離されており、中でも C-4 と呼んでいるウイルスは、*I. setosa* に接木で激しい病徴が生じるものの不明な点が多い⁷⁾。そこで CIP の遺伝資源圃場での発生ウイルスの調査と C-4 の性状を明らかにするための試験を行ったので報告する。あわせて、ペルー各地の農家圃場での発生調査、メキシコ、ドミニカ共和国、インドネシア、フィリピンの遺伝資源圃場及び農家圃場での発生調査の結果について述べる。なお本研究は熱帯農業研究センターと CIP との共同研究として行われたものである。

材料及び方法

血清検定方法：血清検定に用いた抗血清は、sweet potato feathery mottle virus russet crack strain (RC)²⁾、同 C-1 strain (C-1)⁶⁾、C-2⁷⁾、sweet potato latent virus (SPLV)³⁾、sweet potato caulimo-like virus (SPCV)¹⁾、sweet potato mild mottle virus (SPMMV)⁵⁾ である。いずれもウサギ血清で、SPCV 抗血清は報告者から分譲されたもの、その他は CIP ならびにアメリカのノースカロライナ州立大学で作成されたものである。

検定はニトロセルロース膜を用いた酵素結合抗体法 (NCM-ELISA)⁷⁾ で行った。厚さ 0.15mm、縦横 10.5 cmX16cm のビニル袋に検定する葉を入れ、ビニルの上から内径 10mm の試験管の口を押しつけ葉のディスクを切り取る。葉ディスク 2 枚を袋に残し、これに 0.2% 亜硫酸ナトリウムを加えた TBS (0.02M トリス緩衝液に 0.5M 塩化ナトリウムを加え pH7.5 としたもの) 1.5 ml を加え、袋の上から太い試験管の口の部分を用いて葉を磨砕する。この葉汁液を乾燥したニトロセルロース膜上 (1cm 角の格子状に線を引いておく) のそれぞれの格子に 20 μ l ずつ滴下し約 1 時間乾燥させた。6 種の抗血清で処理するため、同じものを 6 枚作成した。現地調査などで実験設備のない場合等には数日から数週間乾燥状態で保存した後次の操作を行った。2% 脱脂

粉乳と 2% Triton X-100 を含む TBS 中に浸漬して 1 時間振とうし、続いて 2% 脱脂粉乳を含む TBS で 1000 倍に希釈したウイルス抗血清に浸し一晩ゆっくり振とうした。翌日、洗浄液 (0.05% Tween-20 を加えた TBS) で振とうしながら 3 回洗浄し、脱脂粉乳を含む TBS で希釈したアルカリフォスファターゼ標識ヤギ抗ウサギ抗体に浸し 1 時間ゆっくり振とうした。その後洗浄液で 4 回洗浄し、0.01% nitro blue tetrazolium と 0.005% 5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate (N,N-dimethylformamide に溶解してから用いる) を溶解した 0.1M トリス緩衝液 (pH9.5, 0.1M 塩化ナトリウムと 0.005M 塩化マグネシウムを含む) 中に移しゆっくり振とうし発色させた。その後水洗し発色を対照と比較しウイルスの有無を判定した。ウェスタンブロット法は SDS とメルカプトエタノールを加え沸騰水中で 3 分間処理した試料葉汁液を 1mm 厚の 10% ポリアクリルアミドゲルを用い、トリス-グリシン緩衝液で泳動⁹⁾ した後、セミドライ転写装置を用いニトロセルロース膜に 100mA、1 時間で転写し、上記と同様に抗体処理し発色させた。SSEM-PAG 法は Usugi et al. (1991) によった¹⁴⁾。

接木検定方法：接木検定は、*Ipomoea setosa* の第 2 本葉が出てきた時期に、片方の子葉を切り落とし、その腋芽にカミソリで切れ込みを入れ、そこに検定しようとするサツマイモ葉の葉柄部分をくさび型にそいだものをはさみこみ、接木クリップでおさえた。他の検定植物への接木も同様に行った。25 \pm 3 $^{\circ}$ C に制御した温室で、接木された植物の上にビニル袋をかぶせ、日陰に 1 週間置いた後ビニル袋をとり、温室のベッド上で接種後 1 カ月以上病徴を観察した。

汁液接種方法：検定しようとする葉を、0.1% チオグリコール酸を含む燐酸緩衝液 (pH8.0) または 0.1M ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウムを含む燐酸緩衝液 (pH7.2) で磨砕し、カーボランダムとともに脱脂綿を用いて検定植物に塗布した。接種後 1 カ月以上温室内で病徴を観察した。

昆虫伝搬試験：モモアカアブラムシ (*Myzus persicae*) は 20 $^{\circ}$ C の人工気象室で、ワタアブラムシ (*Aphis gossypii*)、チューリップヒゲナガアブラムシ (*Macrosiphum euphorbiae*) は屋外に置いたケージで飼育したものを用い、伝搬試験は、20 $^{\circ}$ C の人工気象室内で行った。タバココナジラミ (*Bemisia tabaci*) は網室内に置いたケージで飼育したもの、ならびにサツマイモ圃場で採集したコナジラミ類 (*B. tabaci*, *Trialeurodes* sp. 等) が含ま

れるが未同定)のいずれも成虫を供試し、伝搬試験は網室内で行った。

電子顕微鏡観察：カーボン膜を張った銅製グリッドを用い dip 法で行い、染色はリンタングステン酸(PTA)または PTA と酢酸ウランによる二重染色により、日本電子製100S 電子顕微鏡を用いて行った。なお、電子顕微鏡観察は、Mr. Miguel Cervantes, Mr. Ernesto Velito 両氏の協力を得て行った。

結 果

CIP の遺伝資源圃場の調査：CIP の遺伝資源圃場のサツマイモ79系統について接木検定を行った。ほとんどの試料で、*I. setosa* の葉に葉脈透明、退緑斑点、黄

色斑点、えそ斑点、モザイク、斑紋、巻葉、黄化、萎縮等の病徴が現れた。さらにそれらの *I. setosa* について血清検定と電子顕微鏡検定を行った。接木の1か月後に行った血清検定の結果(Fig. 1, Table 1)SPFMV が66点、C-2が10点から検出され、うち SPFMV, C-2の両ウイルスが重複して検出されたものが5点あった。これらのウイルスが検出された *I. setosa* からは電子顕微鏡により紐状のウイルス粒子が観察された。SPFMV については、RC, C-1両抗血清により検定を行ったが、RC 抗血清に強い反応を示す分離株はC-1抗血清との反応が弱く、逆にC-1抗血清に強い反応を示す分離株はRC 抗血清との反応が弱かった (Fig. 1)。

接木検定で病徴が認められず、血清検定、電子顕微鏡観察でもウイルスが検出されなかったサツマイモ系

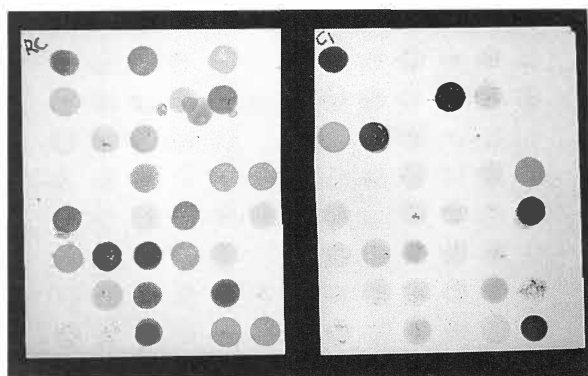


Fig. 1 Detection of SPFMV by NCM-ELISA. The sap was spotted at the same location of both membranes. Left: treated by RC-antiserum. Right: treated by C-1-antiserum.

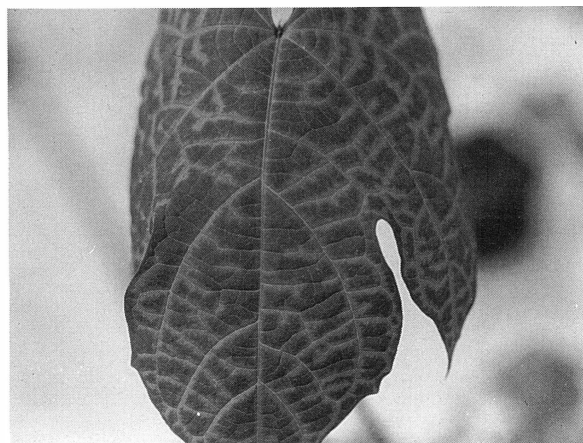


Fig. 2 Distinct vein clearing symptom on *I. setosa* infected with a SPFMV strain isolated from RCB35-IT.

Table 1 Detection of sweet potato viruses by NCM-ELISA and graft to *I. setosa* in South and Central America.

Country	Region	No. of samples	SPFMV	C-2	C-4 ^a
Peru	CIP (germplasm)	79	66	10	15
	Trujillo	27	17	1	4
	Chiclayo	18	17	0	7
Mexico	Cotaxtra (germplasm)	78	19	0	—
Dominican Republic	San Cristobal (germplasm)	80	33	0	—
	farmer's field	208	23	0	—

a : Graft to *I. setosa*. : Not tested.



Fig. 3 Coat proteins of SPFMV isolates detected by electro-blot immuno-assay. Arrow indicates the higher molecular weight band of the isolate from RCB35-IT. H : Healthy

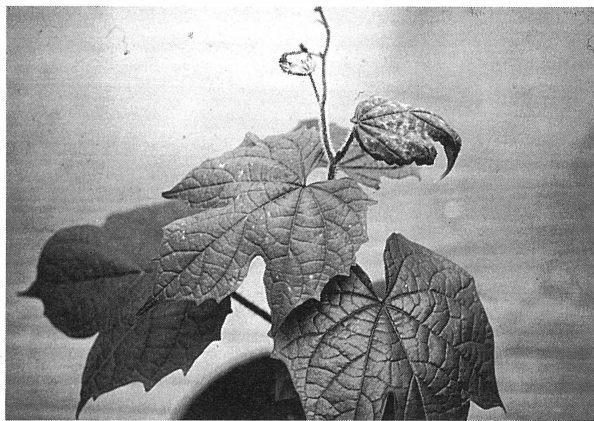


Fig. 5 Leaf curl, dwarf, and necrotic spots on *I. setosa* infected with C-4.

統は、S-24, DLP1912, DLP1959, SPS43-A の4点であった。いずれのサツマイモからも SPMV, SPLV, SPCV は全く検出されなかった。なお、接木検定で顕著な葉脈透明が認められた (Fig. 2) ものの血清検定でいずれのウイルスも検出されなかったもの (RCB35-IT はじめ3点) があった。しかしこの病葉をさらに *I. setosa* に接木し、2週間後わずかに病徴が現れたところで血清検定を行ったところ SPFMV が検出された。また、このウイルスをウエスタンブロット法による検定を行った結果を Fig. 3 に示した。SPFMV のコートプロテインと考えられる38Kと、それより大きい42K付近にも強い反応が認められ、通常の SPFMV とはやや異なっていた。

なお、C-2はわが国で分離同定された sweet potato symptomless virus (SPSV) 抗血清¹⁴⁾と NCM-ELISA 及び SSEM-PAG 法により強く反応した (Fig. 4)。

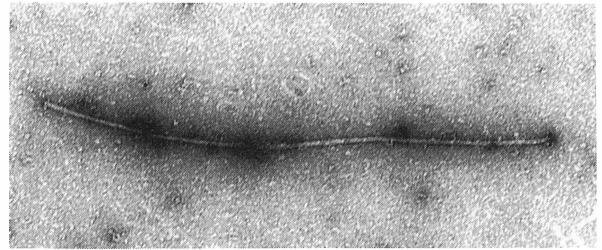


Fig. 4 C-2 decorated with SPSV antiserum and gold particles by SSEM-PAG.



Fig. 6 Leaf curl and dwarf on *I. nil* infected with C-4.

C-4の性状：接木検定で *I. setosa* にえそ斑点、巻葉、萎縮が認められた (Fig. 5) ものの血清検定でいずれのウイルスも検出されなかったもの (4点) があったのでこれらのうち DLP1541からの分離株 (C-4) について病原体の同定を行った。ヒルガオ科、ナス科、アカザ科、ヒユ科の13種の検定植物に汁液接種を行ったが、いずれの植物にも病徴は現れなかった。またヒルガオ科とナス科の7種の植物に接木接種を行ったところ、*I. setosa* では接種源と同様の病徴が生じ、本病の接木伝染性が確認された。このほかにも Ipomoea 属のアサガオ、サツマイモにも接木接種により病徴が生じたが、ナス科のトマト、*N. benthamiana*、*Nicandra physaroides*、*Physalis floridana* に病徴は認められなかった。アサガオでの病徴は退緑斑点、えそ斑点、巻葉、萎縮であった (Fig. 6)。サツマイモでの病徴は不整形の白色斑点で、斑点の中心部分にえそが認められる場合があった (Fig. 7)。いずれの植物でも、接種後出葉した

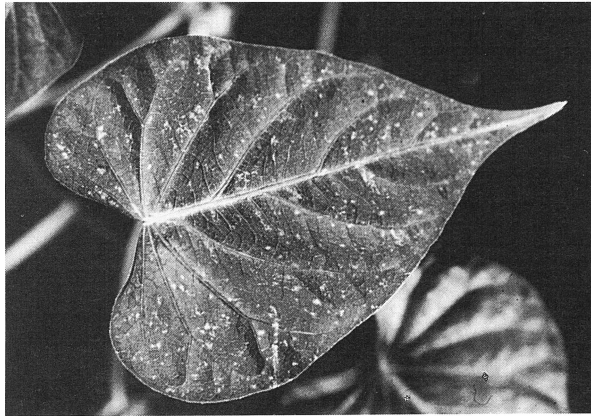


Fig. 7 Chlorotic spots on sweet potato (cv. DLP1531) infected with C-4.

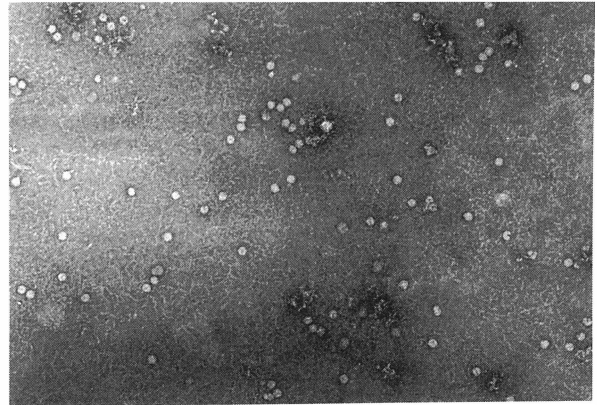


Fig. 8 C-4 virus particles in a partially purified preparation.

Table 2 Insect transmission tests of C-4.

No.	Source plant	Test plant	Acquisition feeding	Inoculation feeding	No. of aphids /test plant	Results ^a
Aphids						
<i>Myzus persicae</i>						
1	<i>I. setosa</i>	<i>I. setosa</i>	5min.	1day	5	0 / 10
2	<i>I. setosa</i>	<i>I. setosa</i>	1day	3days	5	0 / 5
3	<i>I. setosa</i>	<i>I. nil</i>	1day	3days	5	0 / 5
4	<i>I. batatas</i>	<i>I. setosa</i>	2days	2days	10	0 / 5
5	<i>I. batatas</i>	<i>I. nil</i>	2days	2days	10	0 / 5
<i>Aphis gossypii</i>						
1	<i>I. setosa</i>	<i>I. setosa</i>	5min.	1day	5	0 / 5
2	<i>I. setosa</i>	<i>I. setosa</i>	1day	2days	5	0 / 5
3	<i>I. setosa</i>	<i>I. nil</i>	1day	2days	5	0 / 5
4	<i>I. batatas</i>	<i>I. nil</i>	2days	4days	10	0 / 3
<i>Macrosiphum euphorbiae</i>						
1	<i>I. batatas</i>	<i>I. setosa</i>	2days	3days	10	0 / 5
2	<i>I. batatas</i>	<i>I. nil</i>	2days	3days	10	2 / 5
3	<i>I. batatas</i>	<i>I. setosa</i>	5min.	1day	10	0 / 5
4	<i>I. batatas</i>	<i>I. nil</i>	5min.	1day	10	0 / 5
White-flies						
<i>Bemisia tabaci</i>						
1	<i>I. setosa</i>	<i>I. setosa</i>	2days	2days	40	0 / 2
White-flies collected in sweet potato fields (<i>Bemisia tabaci</i> , <i>Triebulodes</i> sp. etc.)						
1	<i>I. setosa</i>	<i>I. setosa</i>	1day	1day	150	0 / 1
2	<i>I. setosa</i>	<i>I. setosa</i>	1day	1day	50	0 / 2
3	<i>I. setosa</i>	<i>I. setosa</i>	1day	3days	50	0 / 2

a : No. of plants infected / No. of inoculated plants

Table 3 Detection of sweet potato viruses by NCM-ELISA in Southeast Asia.

Country	Region No. of	samples	SPFMV	SPMMV	C-2
Philippines	Tarlac	60	31	0	2
	Tanauan	60	4	0	0
Indonesia	CIP (germplasm)	101	14	4	3
	CIP (test field)	30	9	4	0
	Leuwiliang	20	3	3	0
	Rangkasbitung	50	0	0	2



Fig 9. Dwarf and yellowing symptoms on sweet potato in Philippines.

数枚の葉の病徴は激しく、その後に出る葉の病徴は軽くなり、さらに後には無病徴となる傾向が認められた。電子顕微鏡観察の結果、病徴を生じた個体からは径約30nmの小球形のウイルス様粒子がごく少数認められた (Fig. 8)。アブラムシ伝搬試験、コナジラミ伝搬試験の結果を Table 2 に示した。低率ではあるがこのウイルスは *Macrosiphum euphorbiae* (チューリップヒゲナガアブラムシ) により伝搬された。

ペルーの農家圃場の調査：1990年10月、ペルーの北部海岸地帯の Trujillo, Chiclayo 周辺の農家圃場で採集したサツマイモを CIP に持ち帰り接木検定、血清検定、電子顕微鏡観察を行った。その結果血清検定により SPFMV, C-2両ウイルスが、接木検定により C-4が検出された (Table 1)。

メキシコの遺伝資源圃場の調査：1991年7月、メキシコの Cotaxtra 農業試験場がメキシコ各地から収集し保存しているサツマイモ遺伝資源のウイルスの血清検定を行った。現地ではニトロセルロース膜へのサンプル磨砕液の滴下まで行い、その後は CIP に持ち帰り検

定した。結果は Table 1 に示したとおりで、SPFMV のみが検出され、他の4種ウイルスは検出されなかった。

ドミニカ共和国の調査：1991年7月、ドミニカ共和国の San Cristobal 農業試験場がドミニカ共和国各地から収集し保存している遺伝資源圃場と同国中南部の農家圃場の、サツマイモウイルスの血清検定を行った。方法はメキシコの調査と同様に行った。結果は Table 1 に示したとおりで、SPFMV のみが検出され、他の4種ウイルスは検出されなかった。

インドネシアの遺伝資源圃場ならびに農家圃場の調査：1992年2月、インドネシアのボゴールの CIP 地域事務所がインドネシア各地から収集し保存している遺伝資源圃場とジャワ島西部の Leuwiliang, Rangkasbitung 周辺の農家圃場のサツマイモウイルスの血清検定を行った。方法はメキシコ調査と同様で、検出はわが国に持ち帰って行った。遺伝資源圃場においては、退緑斑点、紫斑点、紫輪点などの病徴のある個体が多数認められた。結果は Table 3 に示したとおりで、SPFMV, C-2, SPMMV が検出されたが、SPLV, SPCV は検出されなかった。

フィリピンの農家圃場の調査：1992年1月、フィリピンの Tarlac, Tanauan 周辺の農家圃場でサツマイモのウイルス病調査を行った。この地域では、前年、サツマイモが黄化、萎縮して、大幅な減収が見られたとのことで、今回の調査でも黄化、萎縮、モザイクが激しく生じている株がみられた (Fig. 9)。ウイルスの血清検定をインドネシア調査と同様に行ったところ、激しい病徴のある株からは SPFMV のみが検出された。ただし、無病徴株から SPFMV が検出される場合もあった。C-2も一部で検出されたが、その他の3種ウイルスは検出されなかった。 (Table 3)。

考 察

ペルーの調査でC-4と呼んだウイルスは、接木接種によるサツマイモ、アサガオ、*I. setosa* の病徴が既知のウイルスとは異なること、汁液伝染しないこと、アブラムシ伝染性の小球形粒子であることなどから、サツマイモで未報告のウイルスと考えられる。サツマイモの葉に小斑点が生じることから、sweet potato leaf speckling virus と仮称し、さらに性状の解明を行い同定したい。特にアブラムシ伝染性については永続伝染と考えられる結果であり、ルテオウイルスグループに属する可能性もある。しかし伝染率が低く、より好適な伝搬条件を見だしさらに詳細な試験を行う必要がある。なお現地調査中、ペルーの Trujillo の 1 圃場ではチューリップヒゲナガアブラムシの多発生が認められたが、これが本病の分布と関係があることも考えられる。一方 CIP の遺伝資源圃場での本病の発生率が必ずしも高くないことは、媒介アブラムシの密度が低い上に伝搬効率が低いことによると考えられる。本ウイルスは宿主での濃度が低く、純化法が確立されていないため、血清関係、核酸性状などの解析は今後の問題である。

SPFMV はいずれの国の調査でも検出された。ペルー以外の調査では検出率は高くないが、これはこれまでも報告されているように^{4,11)}、SPFMV を血清によりサツマイモから直接検定することが必ずしも確実ではないことによると考えられた。そこでペルーの調査については、より確実と考えられる接木による病徴観察と、発症部位の血清検定により判定した。しかし、RCB35-IT から分離された SPFMV のようにウイルスの系統によっては *I. setosa* の病徴の明瞭な部位からでも検出が難しい場合があった。ウエスタンプロット法により SPFMV のコートプロテインの分子量が通常の38K以外により大きなものが検出される場合があることはいくつか報告されており^{12,15)}、C-1系統やわが国の重症系統¹⁶⁾のように RC 系統との血清関係が弱い SPFMV もある。以上のように SPFMV には血清による検出が難しい上に多様性があると考えられることから、血清検定の際には注意を要する。

C-2はわが国で報告されている SPSV 抗血清と反応するためこの 1 系統と考えられる。ペルーのほかインドネシア、フィリピンでも検出されたがメキシコ、ドミニカ共和国では検出できなかった。中国での発生も認められている⁸⁾ので、さらに広範囲の調査が必要だが、

アジアに広く分布しているウイルスである可能性もある。C-4と同様CIPの遺伝資源圃場でも見いだされるものの SPFMV のように圃場全体には広がっていないことから、媒介様式の解明や品種の抵抗性などについて検討する必要がある。なお、CIP では本ウイルスを sweet potato chlorotic fleck virus と呼んでいる。

インドネシアでは、SPMMV が検出されたが、これはアジアでは初めてのことである。今回の検定は血清検定のみで行ったので接種試験、電子顕微鏡観察などでさらに確認する必要がある。SPMMV はアフリカで発生が認められるウイルスで、コナジラミ伝染性であるため熱帯地域では特に注意が必要である。インドネシアは CIP のアジア地域の遺伝資源センターとなることから、無病化、感染回避対策、検定システムの確立などが重要であると考えられた。

フィリピンで認められた激しい症状の病株からは SPFMV のみが検出されたが、通常の SPFMV では激しい萎縮症状は生じない。フィリピンの SPFMV はこれまで報告されている SPFMV とは異なる系統であるか、あるいはこの症状が SPFMV 単独ではなく、アフリカで報告されている sweet potato virus disease complex¹³⁾と同様にコナジラミ伝染性病原など他の未同定ウイルスとの重複感染による可能性も考えられるので、さらに詳細な検討が必要である。

引用文献

- 1) Atkey, P.T. and Brunt, A.A. (1987). Electron microscopy of an isometric caulimo-like virus from sweet potato (*Ipomoea batatas*). J. Phytopathol. 118 : 370-376.
- 2) Cali, B. B. and Moyer, J. W. (1981). Purification and serology and particle morphology of two russet crack strains of sweet potato feathery mottle virus. Phytopathology 71 : 302-305.
- 3) Chung, M.L. et al. (1986). Virus diseases of sweet potato in Taiwan. FFTC book series 33 : 84-90 (Food and Fertilizer Technology Center for the Asian and Pacific Region, Taipei, Taiwan, Republic of China).
- 4) Esbenshade, P.R. and Moyer, J.W. (1982). Indexing system for sweet potato feathery mottle virus in sweet potato using enzyme-linked immunosorbent assay. Plant Disease 66 : 911-913.

- 5) Hollings, M. et al. (1976). Purification and properties of sweet potato mild mottle, a white-fly borne virus from sweet potato (*Ipomoea batatas*) in East Africa. *Ann. Appl. Biol.* 82 : 511-528.
- 6) International Potato Center (1988). Control of virus and virus-like diseases. Annual Report CIP 1988. 79-91. Lima, Peru.
- 7) International Potato Center (1989). Control of virus and virus-like diseases. Annual Report CIP 1989. 51-63. Lima, Peru.
- 8) International Potato Center (1991). Control of virus and virus-like diseases. Annual Report CIP 1991. 51-61. Lima, Peru.
- 9) Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227 : 680-685.
- 10) Moyer, J.W. and Salazar, L.F. (1989) Viruses and virus-like diseases of sweet potato. *Plant Disease* 73 : 451-455.
- 11) 中野正明ら (1984). Sweet potato feathery mottle virus の健全葉汁液吸収抗血清を用いた ELISA, 九病虫研会報 30 : 30-32.
- 12) 中島一雄ら (1990). サツマイモのウイルスの多様性 (1) 沖縄のサツマイモに見いだされたひも状ウイルス, 日植病報 56 : 153-154 (講要).
- 13) Schaefer, G.A. and Terry, E.R. (1976). Insect transmission of sweet potato disease agents in Nigeria. *Phytopathology* 66 : 642-645.
- 14) Usugi, T. et al. (1991). Three filamentous viruses isolated from sweet potato in Japan. *Ann. Phytopath. Soc. Japan.* 57 : 512-521.
- 15) 宇杉富雄ら (1992). サツマイモ斑紋モザイクウイルス強毒系統 (SPFMV-S) の純化と血清学的性質, 日植病報 58 : 615-616 (講要).
- 16) Usugi, T. et al. (投稿中) A distinct strain of sweet potato feathery mottle virus which causes obizyo-sohi disease on fleshy roots of sweet potato in Japan. *Ann. phytopath. Soc. Japan.*

コメント

熱帯野菜・果樹のウイルス病について

土崎 常男（東京大学農学部） かつて植物ウイルス研究所と熱帯農業センターとの間で行われた東南アジアのイネおよびマメ科植物に発生するウイルスの分類・同定に関する研究プロジェクトでは、短期派遣で採集した感染植物を、日本に持ち帰って研究することにより、能率的に成果を挙げることができた。ウイルス研究においては、多くの精密機械・器具を必要とすることが多く、今後もプロジェクトによっては、この方式が有効と考えられる。

井上 成信（岡山大学資源生物科学研究所） 日本から派遣された研究者が短期間あるいは長期間現地に滞在し、東南アジア諸国の植物病害の防除を目的とした研究にかなり幅広く手がけられ、また活発に遂行されて大きな成果をあげておられることが伺えられた。一方東南アジア諸国では主要野菜・果樹に大きな被害をもたらす病害の発生も多く、植物保護上未解決の問題が非常に多くあるようにも伺えた。それも現地では、未確認の作物病害が発生した場合、病原体の同定や伝搬方法など、さらに防除対策といった問題の研究内容が要望されているようである。これらに答えるために、現在、当地国の研究者と日本の高度の知識を豊富に持つ研究者との共同研究が遂行されているようである。しかし、伺うところ現状では、日本から東南アジアへの派遣研究者数が少な過ぎるように思われる。それは今回の現地報告、及び私ども大学で企画された日本とインドネシア両国の共同研究のプロジェクトに2度参加してインドネシアを訪問し、現地では早急に解決しなくてはならない病害に関する問題が多すぎるように思われたからである。資金援助は勿論であるが、日本からの多くの高度技術者の派遣と当地国のある程度研究分担出来るよう学習したより多くの研究者の参加による共同研究の推進が必要であるように思われた。

東南アジア諸国の多数の大学から多くの学生が日本に留学している。これを大学の教官ばかりでなく、試験場などの多くの研究員を日本へ招聘留学させ、学習を終えて帰国したそれらの研究員を日本の派遣研究者との共同研究に専任してもらえるように出来ないだろうか。そのことによって、日本からの派遣研究者が現在のように少なく、また数か月の短期間の滞在であっても、現地の多くの研究者が共同研究に加わり、分担して常時研究に携わることができるようになれば、成果がより上がるのではないだろうか。このためには日本からの資金援助のうらづけが必要であることは言うまでもない。

私がインドネシアを訪問し感じたことであるが、各大学の教官と試験場の研究者間に密接な研究交流、特に共同研究あるいは共通の課題をもって取り組むといったことが少ないように感じられた。この点にも、幅広い植物保護の問題解決を遅延させる一つの原因になっているのではないだろうか。

病原ウイルスの種類の診断・同定には血清反応（微凝集反応、ELISA 法など）がよく用いられるが、この方法は抗血清の作製に関与したウイルスの診断には有益であるが、それ以外のウイルスの診断には殆ど不可能であることがよく知られている。またウイルス病には2つ以上のウイルスの混合感染も非常に多い。このようなウイルス病の診断・同定のためにも前述のように生物検定を含むウイルスの同定の基礎知識を学習した当地国の研究者と不足している電子顕微鏡の設備が必要であろう。電子顕微鏡のない地域では、検定したい試料をメッシュにのせ電顕のある現地研究機関あるいは日本の研究機関に送り、そこでウイルス粒子を検査するといった体制ができれば、ウイルスの診断の一助になるのではなかろうか。

コメント

東南アジアにおけるパパイヤ・野菜のウイルス病研究の問題点

山口大学農学部 亀谷 満 朗

パパイヤのウイルス病

最も重要なウイルスは papaya ringspot virus-P (PRSV-P) であるが、沖縄においては papaya leaf distortion mosaic virus が多く発生していると報告されている。PRSV-P には台湾では mild 系統, common mottle 系統, severe mottle 系統, severe 系統が知られており, severe 系統は葉の黄化が激しく, 萎ちよう枯死する傾向がある。台湾では severe 系統の発生が多くなり, 問題となっているとのことである (Dr. Su 私信)。ベトナムにおいてもこれら 4 種類の病徴が観察され, 被害の拡大が心配された。

PRSV-P の防除に弱毒ウイルスの利用が考えられ, ハワイで亜硝酸ナトリウム処理により弱毒株が作出され³⁾, 台湾, タイなどで圃場試験が行われた。これまでの試験結果ではこの弱毒株の前接種により, 発病を数か月遅らせ, 経済的には効果があるが, 感染を完全に抑えることはできない²⁾。この原因として PRSV に多くの系統が存在し, 系統によって干渉効果が十分でないため, 感染すると考えられている。そのため, PRSV 研究を推進する上ではこの系統に関する研究に重点を置く必要がある。さらに, 類似のウイルスの存在も示唆されている。

このほか台湾では最近 tobacco leaf curl virus (TLCV) によるパパイヤの leaf curl 病が発生しているとの情報があるが, ベトナムにおいても一部発生していた。これはすべての葉が巻き, 生育も悪くなり, 発病した株には果実がついていなかった。本病はタバココナジラミにより媒介されるが, コナジラミ媒介性ウイルス病は年により発生の変動が大きく, 大きな被害を起こすことがあり, 今後発生について注意する必要がある。

野菜類のウイルス病

野菜類のウイルス病としては, ナス科作物のスリップスやコナジラミ伝搬性ウイルスとササゲの cowpea stunt virus によるわい化病の被害が大きい。スリップス媒介ウイルスとしては tomato spotted wilt virus (TSWV) があるが, ピーマン・トマトなどに発生している。TSWV 普通系統による病徴は激しく, ピーマ

ンの top necrosis に見られるように, 芽の先端部がすべて枯死し, 生育も止まり, 収穫も激減する。トマトにも激しい症状を引き起こす。しかし, TSWV にもいろいろな系統があり, 沖縄地方で発生したスイカ系(W系)は各種植物上の病徴もかなり異なる。一般にナス科植物における病徴は軽い。しかし, 普通系統と異なっておりウリ科作物に全身感染してモザイク症状を引き起こす。また, この系統は熱帯地方に主に分布しているミナミキロアザミウマにより高率に媒介されるため, 熱帯にも発生している可能性はある。W系はトマト・ピーマンにはえそを生ぜず, 軽い退緑斑紋とトマトの葉裏の紫色化などを生じるだけで, 見過ごされたり, tobacco leaf curl virus によるものと混同されている可能性がある。

コナジラミ伝搬性ウイルスとしては, トマト・ピーマンにおける tobacco leaf curl virus, tomato yellow leaf curl virus, ナスにおける egg plant yellow mosaic virus (EYMV) などの発生が多い¹⁾。すべて *Bemisia tabaci* により媒介されるが, 寄生性などにおいて少しずつ異なっている。とくに EYMV は汁液伝染することが知られており, この点で大きく異なっている。タイのダイズに発生している soybean crinkle leaf virus はマメ科植物以外にナス科, キク科植物にも感染し, TLCV と同じような病徴を生じることが知られており, これら相互間の関係を明らかにすることが必要である。さらにこれらのウイルス病の生態を明らかにするためにも雑草を含めた幅広い寄生性を調べる必要がある。

東南アジア各国のダイズに cowpea mild mottle virus (CMMV) の発生していることが知られているが, CMMV はトマトやカウピー, インゲンマメなどにも発生することが知られており, 今後調査する必要がある。

ササゲにおいては blackeye cowpea mosaic virus の発生も多いが, 被害の大きいウイルス病は cowpea stunt virus によるわい化病である。東南アジア各国に発生しており, 発生率も非常に高い。圃場によっては全株発病し, 収穫皆無のところもある。本ウイルスは日本のレンゲ萎縮ウイルスに類似しているが, 寄生性などに

ついて詳しい報告はない。

参考文献

- 1) Honda, Y., Kameya-Iwaki, M., Srithongchai, W. and Kiratiya-angul, S. (1986). Virus diseases of Solanaceous plants transmitted by whitefly. FFTC Book Series No.33: 51-59.
- 2) Wang, H.-L., Yeh, S.-D., Chiu, R.-J. and Gonsalves, D. (1987). Effectiveness of cross-protection by mild mutants of papaya ringspot virus for control of ringspot disease of papaya in Taiwan. Plant Disease 71: 491-497.
- 3) Yeh, S.-D. and Gonsalves, D. (1984). Evaluation of induced mutants of papaya ringspot virus for control by cross protection. Phytopathology 74: 1086-1091.



コメント

東南アジアの果樹ウイルス病の現状と対策についての提言

南九州大学園芸学部 宮 川 経 邦

東南アジア地域に分布するカンキツのウイルスおよび類似病原による病害には2種類あり、いずれも虫媒伝染性である。そのなかで、近年とくにその発生域が拡大して被害が増大し、カンキツ栽培の将来におよぼす影響が懸念されてその対策が急がれるのがグリーン病である。この病害は篩管部組織細胞内寄生の原核生物に属する病原体によるもので、ミカンキジラミ (*Diaphorina citri* KUW.) によって媒介される。

グリーン病の発生は中国(本土南部および台湾)では1930年代より認められ、黄龍病 (yellow shoot)、または立枯病 (likubin) とよばれてきた。しかし、その病原体が確認されたのは、植物病原の一群にマイコプラズマ様微生物の存在が明らかにされた後である。1970年代に入って、まず北米カリフォルニアのカンキツスタボーン病の病原微生物 (*Spiroplasma citri*) が電顕によって確認され、ほぼ同時期に南アフリカのグリーン病とアジア地域の類似病害の一群とが同じグループに属することが明らかにされた。

この病原体は2種のミカンキジラミ (アジア地域の *Diaphorina citri* とアフリカの *Trioza erytreae*) によって媒介され、これらの媒介昆虫の生息分布とグリーン病の発生地域とは一致する。ミカンキジラミは日本では奄美群島以南の地域に発生するが、グリーン病の発生は沖縄最南端の西表島において確認されただけで、それより以北の沖縄諸島での発生は明らかでない。

A. アジア地域のグリーン病と対策の方向

アジア地域のグリーン病は古くからそれぞれの地域でその発生が知られており、黄龍病 (中国本土)、立枯病 (台湾)、leaf mottling (フィリピン)、CVPD (インドネシア)、citrus decline (インド)、とそれぞれ別名でよばれてきたが、病原体が明らかにされてからグリーン病として統一してよばれるようになった。

(1) 病原微生物 グリーン病の病原体は不定形、多形性で、人工培養不可能、膜構造、抗生物質感受性からマイコプラズマとは異なっている。テトラサイク

リン、ペニシリンに感受性があり、ストレプトマイシンには影響を受けない。

(2) カンキツ品種の罹病性と病徴 殆どすべてのカンキツ品種が感染し、発病するが、その病徴発現には多少の差異がみられる。病徴がとくに顕著に表われるのはポンカンなどのマンダリン系品種で、Zn 欠乏症類似の斑葉症状と黄化葉を不規則に発現する。ウンシュウの病徴はポンカンより不明瞭である。罹病樹は樹勢が衰弱し、着葉が少なくなり、不斉形、不稔種子果実を生じる。

(3) 病徴発現と環境 アジア系グリーン病は30°C付近の高温域で病徴発現がはやく、南ア系は20-24°C付近の比較的低温域で病徴を発現して、高温域では病徴が隠蔽される。病原の系統に差異があるものと考えられるが、電顕による形態的な区別はできないようである。グリーン病の病原微生物に弱毒系統の存在は知られていない。

(4) 媒介昆虫の習性と宿主範囲 ミカンキジラミ (*Diaphorina citri*) はアジア地域とモリシヤス、レ・ユニオン島に生息し、伝搬実験によるとアジア系グリーン病だけでなく、南ア系のグリーン病の媒介能力ももっている。カンキツ属のほか、ミカン科のゲンキツ (*Murraya paniculata*) にも好んで寄生し、むしろカンキツ上におけるよりも繁殖しやすい。しかし、この植物は自然条件下ではグリーン病病原を保毒しにくいようである。病原微生物はミカンキジラミの体内で増殖するが、伝染力が次世代に継代されることはないとされている。

(5) 対策 グリーン病を含めてウイルス類似病害の対策の出発点は健全苗木の栽植であり、その第一段階は無毒(無病)苗木の確保である。そのためには茎頂接木、高温処理等による無毒個体の作出育成とその維持が必要であるが、これは東南アジア地域の現状では技術的にかなり困難ではなからうか。しかし幸い、グリーン病の病原微生物はウイルスと異なりペニシリンその他2, 3の抗生物質に感受性があり、浸漬処理による感染個体の無毒化が可能である。抗生物質のなかではペニシリン (Gカリウム) は薬害もなく、

0.1~0.2%水溶液に穂木を24~48h 浸漬処理するだけ無毒化はほぼ確実である。したがって、この方法で無毒カンキツ苗木を育成することはきわめて容易である。採取した穂木を接木前に直接処理するのであるから、無毒母樹維持の必要もなく、東南アジア地域でのこの方法の試行を提案したい。無毒苗木栽植後の発生については、地域による媒介昆虫の発生密度、生息環境などに差異があり、それが発生蔓延に影響していると思われるので今後の調査研究が望まれる。

FAO ではこの病害対策のプロジェクトとして、1987年より中国福建省農業科学院を本拠地として Project (RAS/86/022) を実施してきた。このプロジェクトの目的は中国、フィリピン、タイ、インドネシア、マレーシアその他の東南アジア地域を対象にグリーンング病の実態調査と専門家の養成、技術向上による防除対策の推進であり、このプロジェクトでは無毒材料の育成と媒介昆虫であるミカンキジラミの天敵利用に主眼をおいている。

B. トリステザウイルス (CTV) による病害と対策

東南アジア地域のカンキツではグリーンング病に比べると CTV の被害様相は明らかでなく、年間を通して高温状態にある熱帯地域では、病徴発現が中温度域に

ある CTV の被害は比較的軽いのではないかと考えられている。しかし、今田氏の調査結果その他から、一部の品種には CTV-stem pitting 型の被害が軽視できないようである。タイにおいては、私自身も主要品種とされる som-keo-wahn にはげしい stem pitting と凹陷症状を観察したことがあり、これが CTV によるものかどうか明らかでないが、主要品種について CTV 感受性と被害を調査すべきであろう。その結果に基づいて、罹病性品種においては無毒化と弱毒ウイルスの利用が必要になるかも知れない。

CTV の被害は台木と関連があり、接木苗未使用の地域で現在の繁殖方法から台木利用へと移行する場合には、CTV 耐病性台木の選抜が必要になるであろう。上述のように、媒介昆虫生息条件下では CTV-seedling yellows 系の分布は明らかであるから、熱帯環境下での台木と病徴発現との関係、被害実態についての調査、あるいは実験が必要ではないかと考える。しかし、ミカンクロアブラムシ (*Toxoptera tritici*) の生息分布地域として、CTV-seedling yellows 系、stem pitting 強毒系の発生が一般的であるとしても、栽培面積の大部分を占めるマンダリン系品種が CTV 抵抗性であることは他地域に比べれば幸いである。

コメント

タイにおける果樹ウイルス病について

果樹試験場興津支場 家 城 洋 之

カンキツグリーニング病の研究を推進するには、従来の生物検定法では検出に時間がかかり又精度にも問題があるので、簡易で精度の高い検定法の確立が必要である。世界的には、モノクローナル抗体が作製されて検定に使用したが、全ての発生地病原体を検出できず、汎用性がなく使用には問題であった。そこで、

私どもの研究室では最近開発が進んでいる遺伝子診断法について、数ヵ所から収集した病原体に対して MLO のプライマーを用いて検出を試みたが、残念ながら検出できなかった。今後は数種類の細菌のプライマーを用いて検討を行う予定である。

国際農林水産業研究センター研究会報告集

No. 1

平成6年3月

●編集・発行●

農林水産省国際農林水産業研究センター

〒305 茨城県つくば市大わし1-2

事務局：企画調整部情報資料課 ☎ 0298-38-6340

●印刷●

財団法人 農林弘済会

〒100 東京都千代田区霞が関1-2-1

☎ 03(3501)4679 FAX 03(3502)2677
