

ダイズモザイク病の抵抗性育種  
に関する研究

重 盛 勲

ダイズモザイク病の抵抗性育種に関する研究

Studies on the breeding of soybeans  
for the resistance to soybean mosaic virus (SMV)

重盛 勲

(長野県中信農業試験場)

目次

I	緒言	1
II	モザイク病の発生実態とSMVの系統に対する品種反応	5
	1. 褐斑粒と罹病葉から分離したSMV系統の類別	6
	2. 自然発病による品種間差異	11
	3. SMV系統に対する品種反応	18
	4. 日本国内のSMV系統と外国の系統の比較	28
III	血清診断による抵抗性の検定	32
	1. SMVの純化、抗血清の作製および各系統の血清学的関係	32
	2. ラテックス凝集反応によるSMVの診断	36
	3. 画像解析によるラテックス凝集反応の定量化	43
	4. ELISAによるSMVの診断	46
IV	切葉検定による抵抗性の検定	52
	1. 小葉の齢の差の検討	53
	2. 温度条件の検討	55
	3. 品種の抵抗性の有無との関係	58
	4. F <sub>2</sub> 集団での切葉と個体接種検定との関係	60
V	抵抗性の遺伝様式	63
	1. SMVのC系統に対する抵抗性の遺伝	63
	2. SMVのD系統に対する抵抗性の遺伝	86
	3. SMVのE系統に対する抵抗性の遺伝	90
	4. SMVのA、B系統に対する抵抗性の遺伝	100
	5. 抵抗性遺伝子と他の形質との関係	101
	6. SMVの各系統に対する抵抗性遺伝子間の連鎖関係	101
VI	抵抗性品種の作出	108
	1. 育成系統の特性	108
	2. 複合抵抗性品種の育成について	112
VII	総合考察	121
VIII	摘要	126
	謝辞	128
	引用文献	129
	参考資料	133

## I 緒言

日本で栽培されているダイズには11種類のウイルスが発生しており(土崎(1984))、中でもダイズモザイクウイルス; soybean mosaic virus (SMV) によるダイズモザイク病は最も被害が大きく、発生面積の広い病害である(高橋ら(1980))。SMVは長さ約750nmのひも状ウイルスでPotyvirus groupに属し、汁液、アブラムシ、接木、種子のいずれでも伝染する(BOS(1972))。しかし、寄主範囲はほぼマメ科植物に限られ、自然感染植物はダイズのみである。したがって、第1次伝染源は罹病種子より発生した幼植物で、それからアブラムシにより次々と伝染して行くものと考えられる。本病は生育初期に発生すると大きな減収要因になるほか(高橋ら(1980), HARTWIG and KEELING(1982))、成熟後の種皮にはアントシアン系色素の異常生成にともなう褐斑(図1)が生じるため(越水・飯塚(1963))、品質におよぼす被害も著しい。日本国内では現在のところ、収量低下による被害よりも、品質低下に伴う価格の下落による被害のほうが大きい。たとえば、長野県における過去10年間の食糧事務所による交付金大豆の検査結果を見ると、褐斑粒に起因する規格外数量が全体の半数以上を占めており、褐斑粒の被害が極めて大きいことが指摘できる(長野食糧事務所検査資料(1980-1989))。

現在の奨励品種の多くは、育成当初にはSMVの被害はほとんど認められなかった。しかし、水田再編対策の本格化した昭和50年台前半より次第に被害が目立つようになり、防除対策が必要となってきた(大豆新品種育成試験成績書(1965-1989))。たとえば、エンレイの場合、昭和45年に育成されてから約10年間はダイズモザイク病の被害を受けなかったが、同55年頃より発病が著しくなり、褐斑が多発するようになった。この背景には、エンレイの作付面積が増大

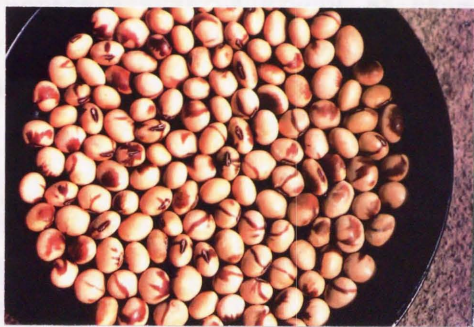


図1 SMVによるダイズ子実の褐斑粒。  
 褐斑の色調は臍色の遺伝子に影響され、臍色が黄色または淡褐ならば淡褐色、  
 褐色ならば褐色、黒色ならば黒色となる。上：白毛1号、下：革新1号。



したために、この品種を侵すSMV系統が次第に増加したことで、媒介昆虫のアブラムシが多発したことが原因として考えられる。現在行われている防除対策は、無病種子の使用と種子伝染個体の抜取り、およびアブラムシ防除に重点をおく方法によるが、その効果は完全ではない。とくに、アブラムシの発生密度の高い地域においては、短期間にウイルスが蔓延するために、抜取りと農業散布による防除では効果が追いつかない状態にある。ダイズ栽培は果樹や野菜などに比べて収益性の点で劣り、稲作に比べても栽培技術やコスト面で劣るため、全国的にまだ定着が遅れている。褐斑防除に経費と労力のかかる状態が続けば、栽培意欲は次第に減退するであろうし、また、現に減退しつつある。

これらの問題を解決する有効な手段は、SMV抵抗性品種の育種であり、育成期間が長いことを除けば、抵抗性品種のメリットは費用や効果の点で非常に優れたものである。国内でのSMV抵抗性育種の取り組みは、東北農試において長く、すでにいくつかの新品種が育成されている（松本ら(1974)、橋本・長沢(1987)）。最初に育成された実用品種はデウムスメで、次いでスズユタカが育成され、のちに中信農業試験場からもホウレイが育成され（宮崎ら(1987)）、SMVによるモザイク病の常発地帯を中心に普及面積を拡大しつつある。

このように、SMV抵抗性育種の基本的な手法はすでに確立されていて、SMV抵抗性品種も続々と登場しつつある現状であるが、病理的、遺伝的な基礎的知見については必ずしも十分ではない。SMVに対する品種抵抗性とその遺伝に関する初めての体系的な研究としては、わが国では越水・飯塚(1963)の報告がある。彼らは、免疫性の品種間差異を認めるとともに、抵抗性の遺伝がおおむね単一の優性遺伝によることを報告した。一方、SMVの系統についての体系的な報告は、

高橋ら(1980)に詳しく、日本国内の系統はダイズ品種に対する反応からA, B, C, D, Eの5系統に分類されることが報告された。それによると、A~Cはダイズにモザイク斑紋を示し、アブラムシ伝染と種子伝染率が高いが、D, Eはダイズに激しい萎縮、頂部えそを生じ、アブラムシ伝染と種子伝染率が低い。この分類体系によれば、越水・飯塚の研究に用いた系統はAであると考えられる。その後も、遺伝様式についての検討はB, D系統を用いて行われてきており、いずれも少数の優性遺伝子が関与していることが報告されている(長沢・飯塚(1977), 重盛(1986))。しかし、供試した品種により結果がまちまちであることから、特定の遺伝様式を想定し遺伝子を提案するまでには至っていない。とくに、比較的被害が多いと考えられるC系統についてはまだ検討がなされていなかった。また、海外では、アメリカ、韓国を中心に日本とは異なった分類によるSMV系統のもとに(CHO and GOODMAN (1979))、抵抗性の遺伝と遺伝子の分類の研究が進行しており、日本国内と同様に抵抗性は多くの事例で単一の優性遺伝子に支配されることが明らかにされている(KIIHL and HARTWIG(1979), ROANE et al.(1983), KWON and OH(1980), BUZZELL and TU(1984), LIM(1985), BUZZELL and TU(1989), BUSS et al.(1989))。また、抵抗性遺伝子記号として、これまでに海外からRsv1, Rsv2, Rsv3, rsv<sup>t</sup>の4種類が報告されているが、これまでに国内と海外の事例を詳細に比較した研究は認められない。

本研究では、以上のような経過をふまえ、主として長野県下のモザイク病の発生実態と品種間差異を最初に検討し、SMV系統に対する抵抗性の品種間差異や国内外のSMV系統の比較を行った。つぎに、抵抗性の有無をより確実に判断するために、血清学的診断法を取り入れ、SMVの純化、抗血清の作製および日本

に発生する5系統の血清学的関係を試験し、さらに検出法としてラテックス凝集反応と酵素結合抗体法；enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) をとりあげ、そのSMV検定への利用の可否を検討した。また、育種の効率化を図る一環として、迅速で精度の高い室内検定を行うために、切除した小葉を用いた切葉検定を検討し、それを用いて複数のSMV系統間の抵抗性遺伝子の連鎖、独立関係を検討した。つぎに、現在の多くの奨励品種に導入が必要とされるC、D、E系統に対する抵抗性の遺伝様式を詳細に検討し、これまで主として海外から報告されてきた抵抗性遺伝子との関連を考察した。最後に、これまで中信農業試験場でやってきた抵抗性育種の中の有望系統の諸特性を検討し、さらに、今後に予想される抵抗性品種の罹病化に対応するため、長期にわたり安定した抵抗性を発揮しうる素材としての複合抵抗性新系統の作出を試み、今後の育種計画を検討した。

## II モザイク病の発生実態とSMVの系統に対する品種反応

中信農業試験場（以下、中信農試とする）とその近隣の地域で発生しているモザイク病の実態を知るために、SMV系統と品種間差異を調査した。SMV系統は高橋ら(1980)の分類によるA～E系統のいずれに該当するのかを知ろうとした。ここでは、褐斑粒を収集してその種子伝染株の検討を行うとともに、中信農試やその近隣地域で発病している個体から罹病葉を採取し、同様に検討した。

## 1. 褐斑粒と罹病葉から分離したSMV系統の類別

### 1) 材料と方法

褐斑粒は、1985年に県内外より主として奨励品種を収集したものである。これらを川砂中に播種して発芽させ、本葉2～3枚程度の時期に各個体の病徴の有無を調べ、モザイク病徴の認められるものを種子伝染個体とみなした。病徴の観察された個体の一部を用いて判別品種に接種し、接種後2週間以上経過した時の反応を観察して系統の類別を行った。実験は1985年と1986年の2回行い、1986年では種子伝染率を調べた。判別品種は、表1に示す6品種の中から1985年にはHillとエンレイの2品種のみ、1986年では6品種を組合わせて供試した。

罹病葉は1986年8月に長野県下29市町村、地区から52圃場、各圃場ともに3個体以上（各個体から1サンプル）を収集し、中信農試場内でも品種見本と生産力検定試験圃場から7月下旬から8月中旬にかけてモザイク病徴の罹病葉を47点採取した。これらのサンプルから、モザイク、黄化モザイク、縮葉モザイクのそれぞれ病徴の異なる90サンプルを適当に抽出し、ELISA検定（実験方法はⅢ-4で述べる）を行った。また、中信農試場内のサンプルから34点を供試し、I-3で述べる方法により判別品種に接種して系統の類別を行った。

### 2) 結果

褐斑粒の結果は、表2(1985)と表3(1986)に示した。1985年の調査では、県内の奨励品種からHillとエンレイ両品種に病徴を示すサンプルが比較的多



く分離された。エンレイの病徴がモザイク病ではなくモザイクであったことから（II-3参照）、分離されたのはCまたはD系統であると推定した。しかし、県外からのサンプルは病徴を認めたが、多くの場合Hillまたはエンレイに接種しても病徴を示さなかった。一方、1986年では、A、B、C、D各系統が認められ、さらに従来の判別品種組合せには無い系統も若干認められた。奨励品種のエンレイなどからは、C、D系統のみが分離された。種子伝染率の最高は中信農試場内で採取したHarosoyの21%であったが、エンレイやナカセンナリなどの奨励品種は一般に6%程度以下と低く、褐斑の色調や発生病積と種子伝染率との間には特定の関連は認められなかった。

長野県下と中信農試場内から採取した罹病葉のELISA検定結果は表4に示した。モザイク症状の81%はELISA反応が認められ、比較的高率にSMVの反応が認められたのに対し、縮葉モザイク症状は59%、黄化モザイク症状は22%と低率であった。なお、中信農試場内より採取したモザイク症状の10サンプルからはすべてELISA反応が認められた。

つぎに、中信農試場内より採取した罹病葉よりSMVの系統類別を試みた結果、A、B、C系統が確認されたが、D、E系統は認められなかった（表5）。最も発生の多い系統は、Bで全体の38%にのぼり、次いでCの21%であった。これら以外にも、褐斑粒からの結果と同様に、従来の判別群に入らない系統が全体の24%程度認められた。

### 3) 考察

長野県や近隣の諸県から収集した褐斑粒を播種して種子伝染率や病原系統

表1 判別品種とSMV系統の反応

判別 品種名	SMV 系 統				
	A	B	C	D	E
農林4号	+	+	+	+	+
H i l l	+	+	+	+	+
Harosoy	-	+	-	-	+
白豆	-	+	-	+	+
エンレイ	-	-	+	+	+
タマホマレ	-	-	+	+	+

注) 1) + : 発病, - : 健全。

2) A, B, C, D, Eは高橋ら(1980)の分類による。

3) 判別品種は本研究で一般的に用いた品種を示した。

4) 奨励品種は一般にC, D, E系統に感受性であり、  
A, B系統には抵抗性である(I-3参照)。

表2 各地より取り寄せたダイズ褐斑粒より分離されたSMVの系統類別(1985)

場所名	品種名	推定される SMVの系統
新潟農試	エンレイ	-
水原	〃	-
見附	〃	?
北陸農試	〃	-
富山農試	〃	-
石川農試	〃	-
群馬農試	青豆	-
山梨農試 八ヶ岳	エンレイ	?
〃	ナカセンナリ	-
山梨農試	ナカセンナリ	-
〃	タマホマレ	-
愛知農総試	赤莢	-
〃	タマホマレ	-
静岡農試	エンレイ	-
埼玉農試	エンレイ	-
〃	ナカセンナリ	-
京都農研	タマホマレ	-
兵庫農試 但馬	丹波黒	AまたはB
長野県大町市	(エンレイ)	-
〃 池田町	(エンレイ)	-
〃 白馬村	ナカセンナリ	-
〃 明科町	(エンレイ)	-
〃 坂北村	ナカセンナリ	CまたはD
〃 生坂村	(エンレイ)	-
〃 波田町	エンレイ	CまたはD
〃 佐久市	ミスズダイズ	-
〃 小諸市	(エンレイ)	CまたはD
〃 南木曾町	(エンレイ)	-
〃 中条村	小倉大豆	AまたはB
〃 〃	ミスズダイズ	-
〃 東部町	エンレイ	-
〃 高森町	ミスズダイズ	CまたはD
〃 南安曇郡	エンレイ	E
〃 塩尻市(中信農試)	ミスズダイズ	CまたはD

注) 1) 判別品種はHillとエンレイを用いた。

2) - : 反応の無かったもの。

? : 既知の反応と異なる場合。

3) 奨励品種はカタカナで表記されている。( )は推定品種名。

表3 各地より取り寄せたダイズ褐斑粒の種子伝染調査とそれらより分離されたSMVの系統類別(1986)

場所名	品種名	褐斑の程度	供試粒数	発病粒数	種子伝染率%	推定されるSMVの系統
新潟見附	エンレイ	甚	64	0	0	
新潟農場内	エンレイ	甚	131	0	0	
〃 現地	エンレイ	甚	227	0	0	
愛知山間分場	在来黒豆	—	147	21	14	A
〃	赤英	微~少	110	3	3	?
石川農試	エンレイ	甚	224	0	0	
〃	東山142号	多	191	1	0.5	—
兵庫但馬分場	フジミジロ	中~多	279	16	6	—
〃	エンレイ	中~多	75	0	0	
埼玉農試	ナカセンナリ	中	109	0	0	
〃	鬼裸埼1号	多	260	4	2	?
長野県波田町	エンレイ	多~甚	222	7	3	C?
〃 池田町	エンレイ	多	97	0	0	
〃 明科町	エンレイ	中~多	209	0	0	
〃 白馬村	ナカセンナリ	多	176	1?	0.5	—
〃 坂北村	ナカセンナリ?	多	290	8	3	A
〃 佐久市	ミスズダイズ	多	118	4	3	C
〃 小諸市	エンレイ	甚	214	8	4	C、D
中信農業試験場	Harosoy	多~甚	195	41	21	B
合計および平均種子伝染率%			3,338	114	3.4	

注) ? は高橋ら(1980)の分類に該当しない系統であることを示す。— は判別品種のいずれにも病徴が発生しなかった場合を示す。

表4 長野県内から採取されたウイルス病葉の病徴別のSMVのELISA検定結果(1986)

病徴	検定数	ELISA		ELISA 陽性割合%
		+	—	
モザイク症状	47	38	9	81
黄化モザイク症状	9	2	7	22
縮葉その他モザイク症状	34	20	14	59
合計および平均	90	60	30	67

注) ELISAはⅢ-4で示す方法で、SMV-D系統の抗血清を用いて検定した。

表5 中信農業試験場内の発病個体より分離されたSMVの系統類別数(1986)

供試全体数	A	B	{B}	C	{C}	D	{D}	E	その他	無反応
34 (分離頻度%)	2 (6)	13 (38)	1 (3)	7 (21)	1 (3)	0 (0)	1 (3)	0 (0)	8 (24)	1 (3)

注) { } は判別品種の反応が一部異なり、当該系統に近いことを示す。

の類別を行った結果、エンレイ、ナカセンナリなどの奨励品種から分離されるウイルスはほとんどCまたはD系統であることがわかった。また種子伝染率の調査では、奨励品種以外の品種で最大21%の値を得たが、奨励品種のそれは一般には0~6%程度と低いものであることがわかった。長野県下の罹病葉より90サンプルを抽出してELISA検定したところ、モザイク症状を示すものの80%程度が反応を示し、その他モザイク症状を加えた全体でも70%近くが反応を示した。このことは、SMVが広く県下に蔓延していることを示すものである。しかし、反応の無いものも30%程度あったことから、SMV以外のウイルスも無視できない程度に広がっていることが予想される。とくに、縮葉症状を示す病徴は、ラッカセイわい化ウイルス；peanut stunt virus (PSV) によるものであることが確認され(本田私信(1987))、これがSMVと同様に褐斑粒の大きな原因になっていることが知られた。

高橋ら(1980)は1963, 1964年に長野県下の3地点でダイズに発生するウイルスの種類と系統について調査し、SMVのA系統を1地点から、B, C, E系統はそれぞれ2地点から、D系統は3地点から分離した。その他ダイズ萎縮ウイルス；soybean stunt virus (SSV), アルファルファモザイクウイルス；alfalfa mosaic virus (AMV), インゲンマメ黄斑モザイクウイルス；bean yellow mosaic virus (BYMV) の発生も認めているが、本県ではSMVの発生が最も多かったという。当時と現在とは栽培品種が異なるため直接の比較はできないが、少なくともダイズではSMVが最も重要なウイルスのひとつであることには変わりはない。

今回の調査の結果、奨励品種の多くがA, B系統に抵抗性であることから



みて、現在問題となっている褐斑粒の原因は主としてC系統であると考えられる。しかし、中信農試場内の罹病葉から従来の品種反応に該当しない系統も比較的多く分離されたことから、これら未知の系統も褐斑の原因となる可能性が大きい。SMVの系統分類では、今後判別品種を増やせばさらに多くの系統に分化することが予想されるので、体系的な調査が新たに必要と考えられる。このことは、今後の抵抗性育種を進める上でも極めて重要なことである。

## 2. 自然発病による品種間差異

中信農試では、1980年（昭和55年）前後から場内の品種育成圃場でモザイク病が目立つようになり、生育初期からの頻繁な防除にも関わらず、1985年頃には発病程度がピークに達した。ここでは、自然発病の多かった1984年と1987年に立毛時の発病程度と褐斑粒発生の品種間差異を調査したので、その結果を述べる。

### 1) 材料と方法

1984年：70の品種または系統を1区10～13個体、2反復で栽培した。播種期は6月1日、畦幅75cm、株間16.7cmの1本立て、生育中の発病調査は7月下旬に行い、発病株率を求めた。成熟後は脱粒し、褐斑の発生粒割合を大豆調査基準（1974）に従い無，微，少，中，多，甚の6段階で調査した。

1987年：中信農試で育成した品種または系統を中心に284の品種または系統を1区45個体、1反復で栽培した。播種期は7月1日、畝幅50cm、株間10cmの2本立て、生育中の発病調査は9月中旬に行った。発病程度は大豆調査基準に

従い、無、微、少、中、多、甚の6段階で示した。褐斑粒の調査は収穫後に脱粒して行い、前回と同様の6段階で示した。

## 2)結果

1984年：発病は生育初期から圃場のほぼ全面にわたっており、典型的なモザイク病徴(図2, 3)が認められた。結果は表6に示した。生育中の調査では、東山124号にまったく病徴が認められず、また褐斑も認められなかった。生育中の病徴の多少と褐斑の多少は多くの品種で一致したが、いくつかの品種では一致せず、モザイクが多発したにもかかわらず褐斑がほとんど認められないものがあつた。金元1号やタマホマレ、東山136号などがそれに該当した。しかし、これとは逆の品種、すなわちモザイクが発生しないのに褐斑の発生するものは認められなかった。東山133号や138号は、最初は病徴が認められなかったが、のちにネクロシスを生じて生長点付近が枯死する個体が目立った(図4)。これらの系統には褐斑粒はまったく認められなかった。

1987年：発病程度は8月上旬までは比較的軽く、SMVの全系統に感受性の品種をのそいてほとんど病徴が認められなかった。しかし、9月以降は病徴が目立つようになった。結果は表7に示した。

前回(1984年)の試験で生育中、種子ともに病徴の認められなかった東山124号は、同年にモザイク病抵抗性新品種「ホウレイ」として普及されたが、この品種は1987年の試験においても病徴が認められなかった。このほかにも、病徴のほとんど認められないものが34の品種または系統で認められた。前回と同様、生育中に発病が多かつたにもかかわらず褐斑の少ないものが全体の14%程度認



図2 品種エンレイに発生した生育中期のモザイク病徴。

表6 発病株率と褐斑粒の程度別にみたダイズの品種または系統間の差異(1984)

発病株率%	褐斑程度	品種または系統名
0	無	東山124号
1~10	無~微	東山122号, 140号, Adams
	少~	なし
11~20	無~微	東山138号
	少~	なし
21~49	無~微	房成, ふくせんなり, あぜみのり
	少~	東山61号, 142号, 143号
50~	無~微	東山93号, 128号, 135号, 136号, 141号, 144号, タマホマレ, タマヒカリ, ナカセンナリ, T207, 金元1号, 大鹿大豆, ヤマベダイズ
	少~	東山94号, 117号, 126号, 127号, 130号, 131号, 132号, 134号, 137号, 139号, 145号, タンレイ, コケシジロ, シロセンナリ, 農林2号, シンメジロ, ワセシロゲ, ボンミノリ, タチスズナリ, ワセシロゲ, フジミジロ, ハツカリ, コガネダイズ, エンレイ, ナスシロメ, 革新1号, ミヤギシロメ, ミヤギオオジロ, 新4号, 赤莢, シロメユタカ, 小倉大豆, シロタエ, 中鉄砲, 納豆小粒, ミスズダイズ, ライデン, 長葉裸1号, はつこがね, 陸羽27号, Harosoy, 奥羽13号, 東吉, 水原75号, 浄法寺在来, 東山系NA16

注) 褐斑程度は、無：褐斑の発生を認めない、微：5%未満の子実に褐斑を認める  
少~：同5%以上の子実に褐斑を認める。



図3 品種エンレイに発生した生育の中～後期のモザイク病徴。



図4 生育の初～中期に発生したネクロシス症状（東山133号）。



表7 発病程度と褐斑粒の程度別にみたダイズの品種または系統間の差異 (1987)

発病程度	褐斑程度	品種または系統名
無～微	無～微	東山66号, 109号, 55号, 65号, 69号, 76号, 93号, 94号 <sup>1)</sup> , 104号, 122号, 138号, 140号, 147号, 149号, 150号, 151号, 152号, 154号, タチカ, コナタ <sup>2)</sup> , ウレイ, 小糸在来, 房成, スズメ, デウス, NC1-2-2, Dorchsoy31, Jackson, Marshall, ふくせんなり, 新3号鉄嶺19号, あぜみのり, 北相木在来3, とうろくすん
	少～	東山101号, 87号, 88号, 112号, スズメ, キタマチ, Bonus, Rokusun
少～	無～微	東山72号, 78号, 83号, 84号, 75号, 136号, 137号, ヲビメ, 革新1号, ナンカ, シロイ, 改良革新, ヤマタ <sup>2)</sup> , Davis, Steele, Prize, Adams, Beeson, KirinN0.5, 金元1号, 水原75号, S-100, Hill, Dorchsoy67, OCB, Piomeria, 光教, 東山系NA793, ヲビメ, ナカハジメ, 信濃緑, 逸四軒, 白八石, 吉岡大粒, 農林5号, 旱生裸, 金剛
	少～	東山50号, 51号, 52号, 53号, 54号, 56号, 58号, 62号, 63号, 67号, 68号, 70号, 71号, 73号, 74号, 77号, 79号, 85号, 89号, 90号, 91号, 92号, 96号, 97号, 98号, 99号, 100号, 102号, 110号, 111号, 113号, 114号, 115号, 119号, 59号, 61号, 64号, 80号, 81号, 82号, 116号, 118号, 120号, 128号, 0887, 144号, 145号, 146号, 127号, 153号, ヤマメ, フクメ <sup>2)</sup> , オクメ <sup>2)</sup> , オク <sup>2)</sup> , アヤマリ, アヤマメ, フジヤマ, アキシ <sup>2)</sup> , アソオカリ, ヒコヤマ, ヒュウカ, フクシカ, トヨシメ, コナタ <sup>2)</sup> , ネマシラ <sup>2)</sup> , ヤマメ <sup>2)</sup> , ワセシメ, ナンカ <sup>2)</sup> , タチカ <sup>2)</sup> , ケス <sup>2)</sup> , フクシカ, コス <sup>2)</sup> , オヤマシメ, ヲビメ, フクナカ <sup>2)</sup> , ヤマメ, ナカハジメ, ナカハジメ <sup>2)</sup> , シンビ, コナタ <sup>2)</sup> , カルマイ, ナカハジメ, オウライ, トヨメ <sup>2)</sup> , キタメ, ヒメコカ, キタメ <sup>2)</sup> , トヨメ, 千代姫, アキシ, タノイ, コナタ <sup>2)</sup> , タチカ <sup>2)</sup> , 農林2号, シンメ <sup>2)</sup> , ワセシカ <sup>2)</sup> , 茂茂在来, 東吉, ハナカ, イノイ, ヤマメ <sup>2)</sup> , ナシメ, タチカ <sup>2)</sup> , ミヤ <sup>2)</sup> , ミヤ <sup>2)</sup> , 新4号, 赤英, シロメ <sup>2)</sup> , 小倉大豆, 中鉄砲 <sup>2)</sup> , ミス <sup>2)</sup> , 佐渡豆, Harosoy, Traverse, Harwood, Amsoy, 黒農26号, Calland, Williams, Dorman, Lee, Arksoy, Ralson, 集体2号, 奉天白眉, Rokusun, White biloxi, Clark, PI90406, 信濃平豆, 東山系NA144, 1号旱生, 河田白, 赤英1号, 細英1号, 白英1号, はつこがね, 北相木在来4, 白豆, 納豆小粒, 新2号, かたざや, 生娘茨城1号, 十勝長葉, ライ <sup>2)</sup> , 大谷地2号, コナ <sup>2)</sup> , 長葉裸1号, タ <sup>2)</sup> , 日高黒英, 茨城豆, 農林1号, 農林3号, 農林4号, ライ <sup>2)</sup> , 高柿在来, 陸羽27号, ナ <sup>2)</sup> , 岩手野起1号, オシメ, 白毛9号, 地塚, 出来過1号, 東吉, ヲシメ <sup>2)</sup> , 兄, 奥羽3号, しなのめじろ, 旱生朝白, 玉揃, 北相木在来1, アイ

注) 1) 発病程度は、無：発病個体を認めない、微：5%未満の個体に発病を認める  
少～：5%以上の個体が発病。

2) 褐斑程度は表6の脚注と同様。

められたが、発病が少なかったにも関わらず褐斑の多発したものが東山101号、  
ｽｽﾞｶ, Bonusなど8の品種または系統で認められた。

### 3)考察

生育中の発病率と褐斑の発生程度には大きな品種間差異が認められた。両方  
ともに発生の無かった東山124号は、のちに新品種「ホウレイ」と命名され、福  
島、長野の両県で普及されたが、普及された1987年やそれ以降も長野県内の普  
及地帯ではSMVによると考えられる発病が認められていないので、当面は褐  
斑粒対策には有効と考えられる。この系統の他にも、生育中、褐斑粒ともに発  
病程度の少ないものとして、東山122号、140号、149号などが認められた。なか  
でも東山149号は、収量、品質などの実用形質も優れた有望系統である。

生育中の発病程度と褐斑の程度はほぼ一致したが、例外も若干認められた。  
金元1号は生育中の病徴が多いにもかかわらず褐斑の発生しないもののひとつ  
であり、越水・飯塚(1963)、高橋ら(1980)の報告と一致した。本品種は室内  
(ガラス室)での検定でD系統を接種した場合には褐斑を認めていることから、  
褐斑が質的に発生しないのではなく、通常は色素代謝が少なめであるが、環境  
条件やSMVの系統によっては褐斑を発生する特性を持っているものと思われ  
る。褐斑発生の品種変異について、WILCOX and LAVIOLETTE(1968)は、種皮色や  
臍色の濃淡、花色などの遺伝子型の交互作用により褐斑発生率が左右されるこ  
とを報告している。その報告によれば、臍が淡く着色している品種は比較的褐  
斑が少なく、金元1号はこれに該当する。このほかに、同様の品種はAdams,  
Hillなどが、日本国内の品種系統としてはサヨヒメ、コガネダイズ、東山93号、

72号などがある。褐斑の発生しにくいものは、これら臍色の淡色品種の他に、タマホマレ、東山128号、136号などのいわゆる白目品種でも認められた。褐斑は、また気温によっても発生程度が異なり、開花期から着莢初期にかけての平均気温が20℃の場合には発生が多く、30℃では少なくなることをROSS(1970)が報告している。この他に、COOPER(1966)は、品種Meritが褐斑の発生を抑える不完全または完全優性の単一遺伝子Imを持つことを報告している。

以上のように、モザイク病に感受性のダイズ品種には、褐斑の発生程度において大きな品種間差異のあることがわかった。今回の調査では、褐斑が量的に少ないものや色調の薄いものも含めると、全体の約10~30%の品種、系統がウイルスには感受性でありながら、褐斑の少ない群に相当した。褐斑の発生しにくい特性の遺伝様式は本研究では解明できなかったが、これまでの観察や海外からの報告を含めると遺伝することは明らかである。この特性は、生育の中へ後期感染による減収程度が比較的軽いモザイク病においては、ウイルス増殖を阻害する「抵抗性」と同等に実用的なものであると考えられる。

したがって、これら褐斑を発生しない特性は、今後の抵抗性育種の中でも大きな位置を占めるものと考えられる。本研究では、これらの品種を以後褐斑抵抗性品種と呼ぶことにする。

褐斑抵抗性品種とは異なるが、以上のような遺伝的に褐斑が生じない品種とは別に、ネクロシスを生じた東山122号や133号なども褐斑が生じなかった。これらの系統は、宇都宮ら(1984)が指摘するように、金元1号やタマホマレなどの感受性品種とは異なる機作によって褐斑が生じなかったものと思われる。これらの系統は、後述するように過敏感反応による抵抗性を持つものと考えられ、

病原ウイルスを一定の細胞内にとどめることにより種子の表皮細胞にウイルスが移行するのを阻止し、褐斑が発生しなかった可能性がある。このようなネクロシスを示す品種または系統は、これまでのところ例外なく褐斑が生じないので、褐斑対策に有効なもののひとつと考えられる。

### 3. SMV系統に対する品種反応

自然条件下ではSMV以外の病原ウイルスも蔓延している可能性があるため、品種の特性を確実につかむためには純粋なSMV系統を用いる必要がある。ここでは、前述の自然条件における品種間差異の調査と前後して、SMVの系統ごとの反応を隔離温室の人工接種で検討した。

#### 1) 材料と方法

供試品種、系統は、中信農試育成系統を中心としたものである。栽培方法は、川砂中で発芽させたのち、子葉展開期に60cmプランターに20～30個体ずつ移植し、1品種当りSMV1系統につき9～12個体を供試した。実験期間は、おおむね4月から10月までの盛夏を除く間（平均最低気温17℃、同最高気温32℃）で、実験はすべて隔離温室（網室）内で行った。供試系統は、北海道農業試験場の飯塚典男氏より分譲されたA、B、C、D、Eの5系統である。SMV系統はあらかじめ感受性の品種に接種しておき、病徴の鮮明な病葉を採取して接種に用いた。接種源は、病葉1に対して約10倍量の0.1M磷酸緩衝液(pH7.0)を加えて乳鉢ですりつぶし、600メッシュのカーボランダムを接種源に加えてこれを脱脂綿にふくませ、初生葉の展開初期～完全展開期に初生葉を軽く2～3回こ



すって接種した。接種後は水をかけて接種源を洗い流し、以後は適当に土壤水分を保って栽培した。調査は、接種後約8日目から経時的に接種葉の病徴と上位葉の病徴を観察し、30～40日目まで観察した。以上の実験方法は以降常法と呼ぶことにする。

## 2) 結果

接種葉の反応には、局部病斑(L L)、葉脈えそ(V N)、健全または無病徴(H)の大別して3種類が認められ、上位葉の反応も、ネクロティクス<sup>\*</sup>ノット(N S)、モザイク(M)、健全または無病徴(H)の3種類が認められた(図5, 6)。N SとMは明瞭に識別できる病徴で、同一個体に同時に発生することはなかった。接種葉と上位葉の病徴には多くの品種で一定の規則性が認められ、接種葉がHのものは上位葉もH、接種葉がL Lのものは上位葉はN S、接種葉がV Nの場合はMであった(表8、図7-1)。しかし、金元1号のように、接種葉がやや黄変するのみで明瞭な病徴が出ないにもかかわらず、上位葉がモザイクを示す品種や、C系統を接種すると接種葉にL LとV Nが混在するエンレイなどの例外もあった(図7-2)。

上位葉のMは接種後8～10日で新たに分化してくる小葉のほぼ全個体に発生したのに対し、N Sを示す品種はMの場合よりもやや遅れて病徴が始め、展開の終了した小葉に最初黄ないし褐色の小さな球形のN Sが葉面に発生し、次第にそれらが拡大融合して大型のN Sを生じた。これらの個体の中には、やがて莖の頂端部分の生育が停止して枯死し、ネクロシス症状になるものが多かった。これら一連のN S症状には、品種と接種後の時間の長短、接種時期(季

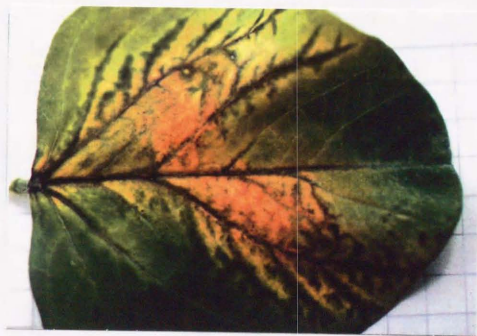


図5 SMVを汁液接種したときに見られる接種葉の病徴。  
上：局部病斑（LL），下：葉脈えそ（VN）。

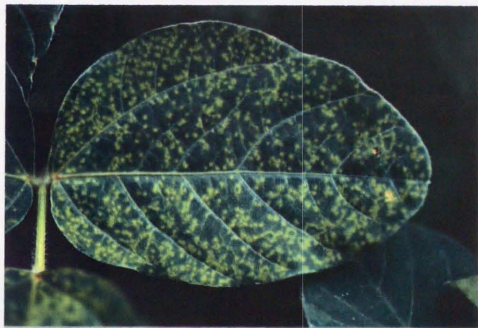


図6 SMVを汁液接種したときに見られる上位葉の病徴。  
上：展開終了後の葉に発生したネクロティクススポット（NS），下：展開中の葉に発生したモザイク（M）。展開中にNSは生じない。

表8 SMVの5系統におけるダイズの接種葉と上位葉の病徴関係

品種または 系統名	A		B		C		D		E	
	PL	SI	PL	SI	PL	SI	PL	SI	PL	SI
農林4号	VN	M	VN	M	VN	M	VN	M	LL, VN	M
十勝長葉	VN	M	VN	M	VN	M	VN	M	LL, VN	M
NC1-2-2	VN	M	VN	M	VN	M	VN	M	VN	M
金元1号	-	M	-	M	-	M	-	M	-	M
Harosoy	-	-	LL, VN	M	-	-	-	-	LL, VN	M
白目長葉	(VN)	-	LL	M	(VN)	-	(VN)	M	LL, VN	M
エンレイ	(LL)	-	(LL)	-	LL, VN	M	(VN)	M	LL	NS
ホウレイ	-	-	-	-	-	-	-	-	LL, VN	NS
スズユタカ	(LL)	-	-	-	(LL)	-	(LL)	-	LL, VN	NS
東山140号	-	-	(LL)	-	-	-	-	-	-	M
デウムスメ	(LL)	-	(LL)	-	(LL)	-	(LL)	-	LL	NS
東山122号	LL	NS	LL	NS	LL	NS	LL	NS	-	-
東山138号	LL	NS	LL	NS	LL	NS	LL	NS	-	-
Peking	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

注) 1) PL: 接種葉の病徴、SI: 上位葉の病徴。VN: 葉脈えそ、LL: 局部病斑、M: モザイク、NS: ネクロティクス病斑、( ): ごくわずかに認められる (以上、図5、6参照)。  
- : 健全または無病徴。

2) 農林4号、十勝長葉、NC1-2-2の上位葉の病徴は、気温が高い場合や生育ステージが進んだ場合に軽くなる場合がある。

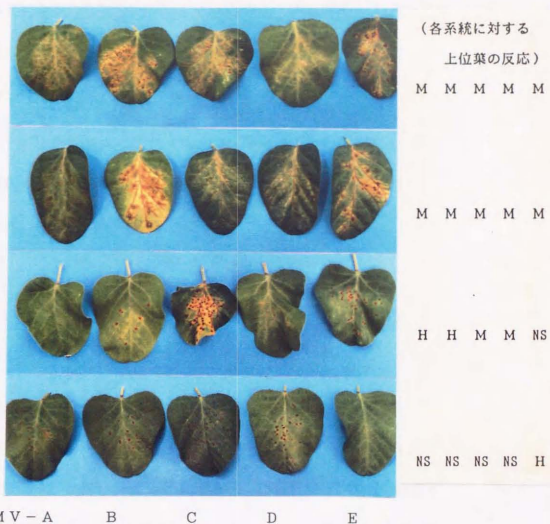


図7-1 SMVの各系統に対するダイズ4品種の接種葉の病徴。  
品種名は、上から、農林4号、十勝長葉、エンレイ、東山138号。



図7-2 エンレイの接種葉の病徴(図7-1の部分拡大)。左: C系統、右: D系統。



節)、葉位などによる大きな差異が認められ(図8)、東山65号や138号などは接種後10日頃からネクロシス症状が全個体に始まるのに対し、ふくせんなりや房成などは30日以上経過してもネクロシス症状が軽く、また出現率も低かった。また、一般に接種時期が夏期に近い場合ほど病徴が激しくなり、早春または秋期の実験では軽い傾向にあった。後期に発生したネクロシス個体には、図9のように莢に斑点の生じる場合が多かったが、褐斑は全く認められなかった。

表9-1と表9-2は各系統に対する上位葉の反応別の品種一覧表である。上位葉でNSを示す品種は、A, B, C, D系統のすべてまたは一部にNSでEにはHであった。また、エンレイやタチナガハなどの現在の主力奨励品種は、C, Dに対してM, Eに対してはNS反応を示した。このように、品種と系統との間には病徴において一定の関係が認められた。なお、CとD系統を区別するための判別品種に白豆と白目長葉が用いられているが、白豆の病徴は不安定であり、白目長葉はD系統の病徴発現が遅い傾向にあった。

中農農試育成の系統では、A, B, C, D系統にHのものとして東山69号, 75号, 94号, 140号, 149号, 150号, 151号, 154号が認められた。これらは今後の新品種に要求されているスズユタカ、デウムスメ程度の抵抗性を満たしていることがわかった。また、5系統全部にHの品種として、これまで知られていたPekingの他に、あぜみのり、コガネダイズなど日本の3品種、韓国から導入した八達Kong (Suwon136) など3品種、および米国より導入した系統L78-379を新たに見いだした。



図8 SMVのC系統を接種したときの同一個体に認められるNS病徴の差異（左から上位、中位、下位葉）。

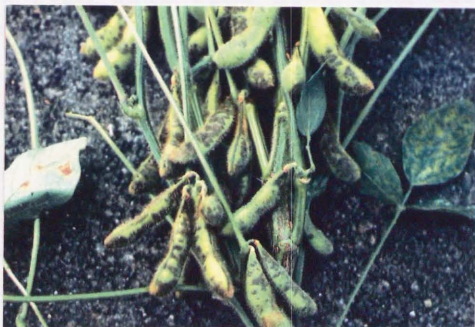


図9 SMVのC系統を接種したときの生育後期の莢に発生したNS病徴。

表9-1 SMVの5系統に対するダイズの上位葉の反応別にみた品種間差異

SMV系統 A, B, C, D, E					品種または系統名
-	-	-	-	-	Peking, あぜみのり, コガネダイズ, 新3号, 八達Kong(Suwon 136), 徳裕Kong(Suwon132), 普廣Kong, L78-379
-	-	-	-	NS	スズユタカ, デウムスメ, ホウレイ, 東山69号, 140号, 147号, 149号, 150号, 151号, 154号, 黄金Kong(Suwon97)
-	-	M	M	NS	エンレイ, タチナガハ, ナカセンナリ, ミスズダイズ, フジミジロ, シロタエ, ナスシロメ, タンレイ, ミヤギオオジロ, オオツル, タマホマレ, ボンミノリ, 信濃鞍掛, 赤英, 淨法寺在来, Ralsoy, 青畑, 北相木在来1, ほうじゃく, 東山87号, 93号, 142号, 145号, 156号, 東山系NA257, NA3, 光教, L88-8431, L85-2308
-	-	M	M	M	パリNo.3
M	M	M	M	M	小倉大豆, Hill, カリカチ, 金元1号, くらかけ, Chippewa, NC1-2-2, 東山系NA16, 放射Kong, 短葉Kong, 農林4号, 十勝長葉
NS	NS	NS	NS	-	白鳳(6), 東山65号, 122号, 133号, 138号, Dorchsoy31, 七里コウバシ
-	NS	NS	NS	-	房成
-	-	NS	NS	-	ふくせんなり
-	-	-	NS	-	PI96983
-	M	-	M	M	白目長葉, Merit
-	M	-	-	M	Harosoy
-	-	M	-	-	長葉Kong(Suwon86)

- 注) 1)-: 健全または無病徴, M: モザイク, NS: ネクロティックスポット。  
 2) 高橋ら(1980)、長沢ら(1989)で判別品種を中心にすでに検定済みの品種を含む。  
 3) 八達Kong, 徳裕Kong, 普廣Kong, 黄金Kong, 放射Kong, 短葉Kong, 長葉Kong, 光教, PI96983は韓国作物試験場のE.H.Hong氏より導入、L78-379, L88-8431, L85-2308は米国; NCSUのT.E.Carter氏より導入した。

表9-2 SMV-C, D系統に対するダイズの上位葉の反応別にみた品種間差異

SMV系統 C, D		品種または系統名
-	-	東山系NA793, NA614, NA621, Adams, 東北53号
N	N	Jackson, 東山系E896
M	M	東山系NA257, NA3, NA41, NA144, NA325, ボンミノリ, Piomeria, Dorchsoy 67, ヤマダイズ, 東山75号, 120号, 128号, 137号, 奉天白眉, 信濃黒

注) C, D系統以外は未検定。

### 3) 考察

接種しても接種葉、上位葉ともに健全な品種は、無病徴感染の例外を除いて、一般にウイルスの感染または増殖は起こらないと考えられる。上位葉が健全な品種の中には、接種葉にわずかに局部病斑の生じる場合もあったが、上位葉の健全な品種はここでは一括して抵抗性品種と考えた。NSとMはウイルスの増殖にともなって生じた病徴と考えられるから、感受性品種と考えられるが、NSとMの両者は明瞭に区別できる病徴であるため、感受性の性質に2種類あるものと考えられる。NSはMよりも2～3日以上遅れて発生し、褐斑が発生しない特徴があった。このことは前述の圃場観察の結果と同様である。また、NS病徴は、実験条件が高温の時期に激しく、低温になると軽くなることから、温度に依存しやすいものと考えられる。また、品種によって著しい症状の軽重が認められた。このように、NSには様々な差異が認められたが、いずれもいわゆる過敏感死による斑点の集合と考えられ、モザイク品種のように葉全体に病徴が拡大するのとは対照的であった。

これらの特徴から見て、NSはMよりもウイルスの増殖を抑える反応、すなわち感受性と抵抗性の間に位置する反応であろうと考えられる。本研究では以後、NSの病徴を示す品種を感受性および抵抗性と区別するために、仮に部分抵抗性品種と呼ぶことにする。

長野県内で主として蔓延しているC系統に対する抵抗性品種は、スズユタカやハウレイ、東山140号、Pekingなどで、部分抵抗性品種としては、東山122号、138号、白鳳(6)などが、また感受性品種はエンレイ、タマホマレなどの品種であった。C系統とD系統の反応はほとんどの品種で一致しているが、エンレイ

やタチナガハなどはD系統で萎縮する傾向にあり、病徴の強弱に違いがあった。

C, Dを区別する判別品種の白豆と白目長葉は、病徴発現が不安定であったり病徴が遅発するなど他の判別品種とは異質であることから、A, B, E系統間の違いと比べてC, D系統間の違いは別の遺伝的機作によることが示唆される。

E系統に対する抵抗性品種は、東山122号, 138号, Peking, あぜみのりなどが、また部分抵抗性品種はエンレイやタマホマレなど、また感受性品種は農林4号や金元1号などが認められた。E系統は最も多くの品種を侵す系統で(長沢・渡辺(1988))、これに対する抵抗性母本はPekingなどのごく一部の品種に限られていたが、今回の調査ではA~D系統にNSを示す部分抵抗性品種の白鳳(6)や東山138号などの品種系統がE系統に共通して抵抗性を示すことが明らかとなったほか、韓国や米国から導入した4品種系統がEを含む全系統に抵抗性であることがわかった。中でもL78-379は、KIIHL and HARTWIG(1979)の報告した抵抗性遺伝子Rsv1を有すると言われているが、日本のSMV系統との関連についてはI-4で考察する。

#### 4. 日本国内のSMV系統と外国の系統の比較

日本国内のSMV系統と外国の系統の関係を知ることにより、解明される抵抗性遺伝子が外国から報告のある遺伝子とどのような関係にあるのか知ることができ。現在のところ、外国の系統を導入して国内系統と直接比較するのは植物検疫上の制約で難しいので、CHO and GOODMAN(1979)の報告した8つの判別品種のほか、反応の明らかにされている2~3の品種を導入し、日本のSMV系統を接種して



検討した。

## 1)材料と方法

USDAのDr.R.L.BERNARDからCHO and GOODMAN(1979)に記載のある8つの判別品種(Clark,Marshall,Rampage,Kwanggyo,Davis,Ogden,York,Buffalo)の分譲を受け、また、CHO and GOODMAN(1982)に記載のあるPI96983とSuwon86,97を韓国作物試験場のDr.E.H.HONG から、L78-379をNCSUのDr.T.E.CARTER,Jr. より分譲を受けた。各品種とも1系統に対し9個体を供試し、国内のSMV5系統を常法で接種して病徴を観察した。品種とSMV系統の反応を外国からの報告と比較し、日本と外国の系統および品種抵抗性の相互の関係を推察しようとした。

## 2)結果

結果は表10-1に示した。エンレイやタチナガハなどの奨励品種と同等の反応を示す品種はKwanggyo(光教)とDavisであり、東山122号やDorchsoy31などの品種と同等の品種はMarshallとOgdenであった。スズユタカやホウレイなどの抵抗性品種と同等な反応を示す品種はSuwon97(PI483084)のみであった。

日本のA、B系統は、外国の品種に対し同じ反応の組合わせとなった。日本と外国の系統の異同関係を知るために、品種の反応別の集計を行い、表10-2に示すような一致程度による比較を行ったところ、A、B系統はG3と一致した。一致程度は、品種の数が一致しても内容に違いのある場合があるが、B系統とG3は完全に一致した。一方、C、D、E系統と一致する系統は外国品種には無かった。CHO and GOODMAN(1982)によれば、Buffalo,PI96983,L78-

表 10-1 日本産SMV系統(A,B,C,D,E)の接種による日本および外国のダイズ品種の上位葉の反応の比較

品種名	日本産SMV系統					外国産SMV系統 <sup>1)</sup>						
	A	B	C	D	E	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7
Clark *	M <sup>2)</sup>	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
Rampage *	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
Marshall *	NS	NS	NS	NS	-	-	NS	NS	NS	-	NS	NS
Ogden *	NS	NS	NS	NS	-	-	-	NS	NS	-	-	NS
Kwanggyo *	-	-	M	M	NS	-	-	-	-	NS	NS	NS
Davis *	-	-	M	M	NS	-	-	-	M, NS	M	M	M
York *	-	-	M	M	NS	-	-	-	M, NS	M	M	M
Buffalo *	-	-	NS	NS	-	-	-	-	-	-	-	NS
PI96983	-	-	-	NS	-	-	-	-	-	-	-	NS
L78-379	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NS
Suwon 97	-	-	-	-	NS	-	-	-	-	-	-	-
Suwon 86	-	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-
農林4号	M	M	M	M	M							
金元1号	M	M	M	M	M							
エンレイ	-	-	M	M	NS							
クナナガハ	-	-	M	M	NS							
ホウレイ	-	-	-	-	NS							
スズユタカ	-	-	-	-	NS							
東山140号	-	-	-	-	NS							
東山122号	NS	NS	NS	NS	-							
Dorchsoy31	NS	NS	NS	NS	-							

注) 1) G1 ~ G7 の外国品種反応はCHO and GOODMAN(1979, 1982)によった。

2) 外国品種のうち、\*印の品種はCHO and GOODMAN(1979)で用いた判別品種。

3) 病徴は表9-1の脚注と同様。

表 10-2 SMVの日本産および外国産系統のダイズ12品種に対する反応から見た一致程度

外国系統 (反応)	SMV-G1			G2			G3			G4			G5			G6			G7		
	M	NS	-	M	NS	-	M	NS	-	M	NS	-	M	NS	-	M	NS	-	M	NS	-
日本系統																					
SMV-A	2	0	8	2	1	8	2	2	8	2	2	5	2	0	5	2	1	5	2	2	2
B	2	0	8	2	1	8	2	2	8	2	2	5	2	0	5	2	1	5	2	2	2
C	2	0	3	2	1	3	2	2	3	4	2	3	4	0	3	4	1	3	4	3	1
D	2	0	3	2	1	3	2	2	3	4	2	3	4	0	3	4	1	3	4	4	2
E	2	0	4	2	0	5	2	0	4	2	2	4	2	1	6	2	1	5	2	1	1

注) 反応の一致する品種数が多いほど一致程度が高いことを示す。ここでは、12品種とも一致した部分にアンダーライン \_\_\_\_\_ を付けた。

379は外国のウイルス系統には同一の反応であるが、今回の調査では日本の系統にはいずれも異なる反応を示し、Suwon97とSuwon86も同様な関係であった。

### 3)考察

外国の品種反応と日本の品種反応を比較した結果、日本のA、B系統と同じものはG3であり、飯塚(1987)の結果と同様になったが、そのほかの系統は異同関係が不十分であった。しかし、CHO and GOODMAN(1979)による8つの判別品種を用いた比較を行えば、日本のC、D系統はG7に近く、Kwanggyoの反応のみが異なった。Kwanggyoは日本系統に対しMを示し、外国系統に対してはNSである点が異なった。

品種反応からみると、全ての系統に感受性反応(モザイク)を示したのは、ClarkとRampageで、これらは農林4号、金元1号などと同様にSMVに対する抵抗性が無い品種であろうと考えられる。エンレイやタチナガハなどと同様な反応はKwanggyo, Davis, Yorkで、東山122号や白鳳(6)などと同じものはMarshallとOgden、スズタカやホウレイと同等のものはSuwon97(PI483084)であった。Harosoyや白目長葉などと同等のものは外国の品種には無かった。スズタカの有するC、D系統抵抗性遺伝子はHarosoy由来であるが、Harosoyと同等の反応を示すものが外国品種にはない。しかし、品種反応が一致することから、Suwon97(PI486084)と抵抗性が同等である可能性はある。また、Suwon97(PI486084)は日本の品種ライデンに由来する抵抗性遺伝子Rsv2と同等の遺伝子を持つのではないかとLIM(1985)が報告している。

### III 血清診断による抵抗性の検定

ウイルスの血清診断は、特異性や感度が高く、比較的少量のサンプルでも診断しうる利点があり、ウイルス診断方法として広く用いられている。そこで、SMVを純化し抗血清を作製してSMVの5系統間の血清学的関係を調べるとともに、ラテックス凝集反応とELISAについて、SMVへの利用の可否を検討し、また抵抗性の異なる品種の抵抗性の診断に用いようとした。

#### 1. SMVの純化、抗血清の作製および各系統の血清学的関係

SMVのCとD系統につき純化し、それらを家兎に注射し作製したCとD系統の抗血清、および農業研究センターの土崎常男氏（現、東京大学農学部）が作製したA系統の抗血清を用い、5系統間の血清学的関係を調べた（土崎・重盛（1985））。

#### 1) 材料と方法

実験に用いたSMVの5系統はA, B, Eが北海道農試の飯塚典男氏より、C, Dは東北農試の長沢次男氏よりそれぞれ分譲されたものである。CとD系統の純化は図10に示した方法で行った。得られた純化ウイルスを家兎の筋肉に3回注射し、抗血清を作製した。筋肉注射は純化ウイルスに等量のフット・コソフリート・アジュバント(Freund's complete adjuvant)を加え乳化したものを3週間間隔で行った。最後の筋肉注射1か月後に採血し、抗血清を得た。

得られた抗血清の力価はC, D系統とも重層法で640倍であった。また、A系統の抗血清の力価も640倍であった。5系統間の血清学的関係は寒天ゲル内沈降

凍結したダイズ感染葉

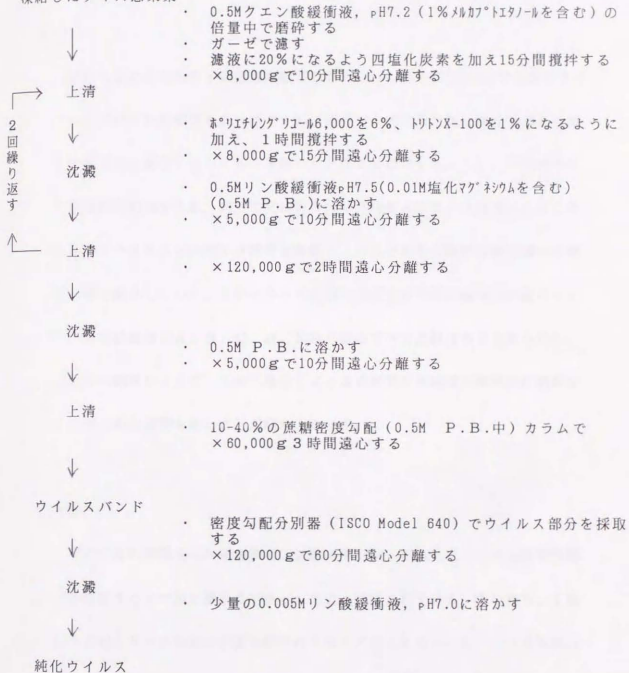


図10 ダイズモザイクウイルス (SMV) の純化法。



法により行った。用いた寒天ゲルは蒸留水に0.75%寒天、0.85%塩化マグネシウム、0.5%3,5-ジヨード・リザル酸リウム、0.05%7% 化ナトリウムを加え溶かして作製した。

## 2) 結果

純化したC系統を電子顕微鏡で観察したところ、長さ約750nmのひも状のウイルス粒子が多数観察された(図11)。寒天ゲル内沈降試験には5系統とも図10の方法で純化したウイルスを用いた。図12に示したように、中央の穴にC系統の抗血清を入れ、周りの穴に各SMV系統を入れ2~3日置いたところ、抗血清とウイルスとの間に沈降帯を形成し、形成された沈降帯の端は隣の沈降帯の端と融合していた。このような沈降帯の形成と沈降帯の端同士の融合はA, C, D各抗血清とA, B, C, D, E各系統のすべての組合わせで見られた。これらの結果によって、日本に発生しているSMV5系統は血清学的に差がなく、同一の血清型を持つことが明かとなった。

## 3) 考察

寒天ゲル内沈降法は各種血清反応試験の中でウイルス系統相互の血清学的関係を分析する上で最も優れた方法としてよく使用されている。すなわち、1抗血清に対し2つの系統の抗原を隣り合わせた穴に入れると、もし2つの系統の抗原の間で血清学的に差がある場合は各沈降帯の端と端が交わる点で分岐を生ずるのに対し、血清学的に差がない場合は融合し、分岐を生じないで連続する。本実験では、SMV5系統のすべての間で沈降帯の端は融合し、血清学的に差がないことが明かとなった。日本に発生するSMV5系統間の血清学的関係を



図11 ダイズモザイクウイルス (SMV) C系統の純化試料の電子顕微鏡像。  
(土崎原図)

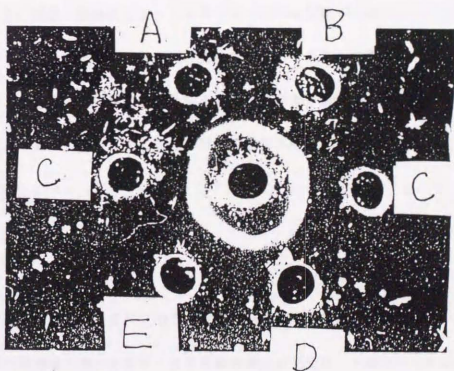


図12 ダイズモザイクウイルス (SMV) の寒天ゲル内沈降試験。  
注) 中央の穴: SMV-C系統の抗血清, 周りの穴: A, B, C, D, E  
はそれぞれSMVのA~E系統の純化試料。(土崎原図)

調べた報告はこれまでなく、本実験の結果は今後SMVの系統につき研究を進める上で貴重な情報を提供すると考えられる。

ウイルスの検定に血清学的方法を用いる場合、ウイルス系統間で血清学的に差があるときそれを利用して系統の区別を行うことができるという利点もあるが、反面、酵素結合抗体法（ELISA）等では異種抗原を持つ系統の検出は困難であるという問題も起こる（KASHIWAZAKI, SHIMAZU and TSUCHIZAKI(1990)）。SMVの場合、5系統間で血清学的に差がなかったことから、系統の判別に抗血清を用いることはできないが、その反面どの系統の抗血清を用いてもSMVの検出が可能であることが明かとなった。

## 2. ラテックス凝集反応によるSMVの診断

ラテックス凝集反応は、抗体の担体としてポリスチレンラテックスを用いることにより、抗原-抗体反応をウイルスと比べ巨大な物質であるラテックスの凝集物として認めることができるため、極めて微量のウイルスの検出が可能である。しかも、ウイルス感染植物の粗汁液あるいは葉片より簡単な方法で検出できるという利点もあることから、これをSMVの診断に用いることを試みた（重盛・土崎(1986)）。

### 1) 材料と方法

上記実験により、SMVの5系統は同一の血清型を持つことから、いずれの系統の抗血清を用いてもすべての系統の検出が可能なが分かったので、AまたはD系統の抗血清を供試した。抗血清からのγグロブリンの調整と感作

ラテックスの作成は宇杉(1980)の方法に従った。γ-グロブリンの最適希釈倍率は予備実験で800~1,200倍に決定し、ラテックスの感作を行った。

供試品種は、罹病葉への適用をSMVの5系統全部で共通して検討するために、全系統に感受性の農林4号と十勝長葉を用い、そのほかに奨励品種への適応を検討するためエンレイも用いた。栽培方法は、60cmプランターに畑土を入れて、1品種6個体ずつ計12個体を栽培し、常法により1プランター当たり1SMV系統を接種した。調査は本葉2~3枚時以降に行った。実験は粗汁液を用いる場合と葉片を用いる場合(接種後23日または39日)の2種類行い、それぞれ以下の通り処理した。

a) 粗汁液の場合

3個体の葉より計0.5gの生葉を採取し、20ml(40倍)のトリス緩衝液(pH 7.2)を加えて乳鉢ですりつぶし、6000rpm、10分間の遠沈を行った。上清0.1mlを採取してこれにラテックス0.1mlを加え、30℃で1分間120回の往復振とうを行い、30分後に検鏡した。

b) 葉片の場合

3個体の葉の中央からカミソリで4,8,16,32mm<sup>2</sup>の葉片を切りとり、小型試験管内でトリス緩衝液を0.1ml加えてガラス棒ですりつぶし、さらにラテックス0.1mlを加えて30℃で1分間120回の振とうを行い、30分後に検鏡した。なお、葉片で反応が認められなかったサンプルについては、粗汁液の場合に準じてトリス緩衝液の量を1/20~1/10にして再検討し、それでも検出されない場合には飽和硫酸溶液を用いてウイルス濃度を2~3倍に高める処理を行い、同様に検定した。

## 2) 結果

### a) 粗汁液の結果

結果は表 1 1 に示し、凝集程度の例を図 1 3 に示した。反応は全系統ともに現れ、A 系統の凝集程度が比較的大きかった。

### b) 葉片の結果

実験結果を表 1 2 に示した。サンプル面積で見ると、 $4\sim 8\text{mm}^2$ では反応の出ない場合があり、 $16, 32\text{mm}^2$ となるに従って次第に凝集が大きくなり、反応が安定した。系統間の違いでは、A、B、C、D 系統はほぼ同程度の凝集を示したが、E 系統の場合は病徴が認められるサンプルにも関わらず反応が小さい傾向にあった。表 1 3-1, 2 では、葉位別に 2 品種の全体の集計を行った。その結果、最頂葉を入れて下 2 枚程度は検出率が低く、そのほかはほぼ同等であった。また、病徴が認められるにもかかわらず反応が無かったものについて、緩衝液量を少なくしたり硫酸による濃縮を行ってさらに検討した結果、ほぼ検出できるようになった(表 1 3-3)。

表 1 4 は A、B 系統に抵抗性のエンレイを用いて行った結果である。A、B 系統では反応が認められなかったが、C、D、E 系統では病徴とほぼ一致した反応が認められた。

## 3) 考察

粗汁液での実験結果から、発病した小葉 1 枚をすりつぶしてラテックス凝集反応で検定すれば、ほぼ確実にウイルスの検出が可能であることがわかった。



表 1 1 S M V のラテックス凝集反応による農林 4 号と十勝長葉の  
罹病葉の粗汁液を用いた診断

S M V 系統	農林 4 号	十勝長葉
A	+++	+++
B	++	+
C	++	++
D	++	++
E	++	+++
対照	-	-

注) - : 凝集が認められない, + : 数十個程度までの凝集,  
++ : 数百個程度までの凝集, +++ : 極めて大きな凝集 (図 1 5 参照)。

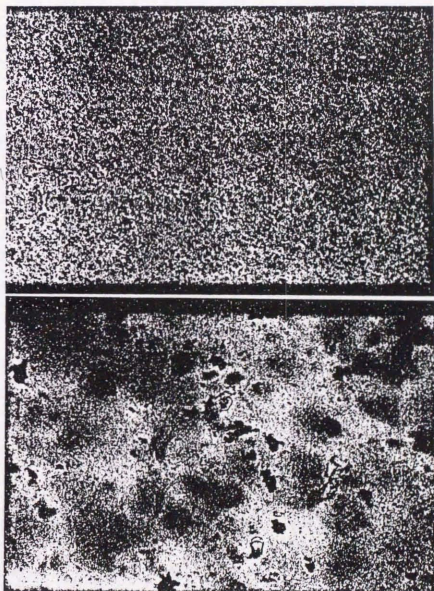


図 1 3 ラテックス凝集反応による S M V の診断。  
上: 健全葉 (-), 下: 罹病葉 (+)。

表12 ラテックス凝集反応による農林4号と十勝長葉の第1, 第2本葉の葉片においてサンプル面積を変えた場合の検診 (各品種ともに3個体(1,2,3)供試)

SMV 系統	サンプル 面積 (mm <sup>2</sup> )	第1本葉						第2本葉					
		農林4号			十勝長葉			農林4号			十勝長葉		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
A	4	+	+	+	+	+-	+	+-	+	+-	-	-	+-
	8	++	++	++	+	++	++	+	+	+	-	+-	+-
	16	+++	+++	+++	++	++	++	+	++	++	++	+	+
	32	+++	+++	+++	++	++	+++	+	++	++	++	+	+
	病徴	+	+	+	+	+	+	++	+	+	++	++	++
B	4	+	+-	+-	+-	+-	+-	-	+-	+-	-	-	-
	8	++	+	+	+	+	+	+-	+	+-	-	+-	+-
	16	+	++	++	+	++	+	+	+	+	+	+	+
	32	++	++	++	++	++	++	+	+-	++	+	+	++
	病徴	+	+	-	+-	+-	+	++	+	++	+	+-	+
C	4	++	++	+	+	+	++	+	+	+	+-	+	+
	8	++	++	++	++	+	+	+	++	++	+	++	+
	16	++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++
	32	++	+++	++	++	++	++	+++	++	++	++	++	++
	病徴	+	+	+	+-	+-	+	+++	+	++	+	+	+
D	4	+	+	++	+	+	+	-	+	+-	+-	-	+-
	8	++	+	++	++	++	++	+	++	+	+-	+	+
	16	++	++	++	++	++	+++	++	++	+	++	+	++
	32	++	++	++	++	++	+++	++	++	++	++	++	++
	病徴	+	+	+-	+	+	+	+	+	+	+-	+	+-
E	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8	-	+-	+-	-	-	+-	-	-	-	-	-	-
	16	+-	+-	+	+-	+	+	-	-	-	-	-	-
	32	+-	+	+-	+	+	++	-	-	+-	-	-	-
	病徴	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
対照	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	病徴	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

注) 病徴は、-: 無病徴, +-: わずかなモザイク, +: モザイク, ++: 明瞭なモザイク。

表13-1 ラテックス凝集反応による農林4号の葉片(32mm<sup>2</sup>)を用いた場合の葉位別の検出程度

SHV 系統	供試 個体数	接種後 日数	葉 位						S M V 系統別の 平均検出率%
			I	II	III	IV	V	VI	
A	6	23	3/3	3/3	3/3				94
		39	3/6	6/6	6/6	6/6	5/6	2/2	
B	4	23	3/3	2/3	1/3				69
		39	4/4	4/4	4/4	3/4	1/4	0/2	
C	3	23	3/3	3/3	3/3				100
		39	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3		
D	3	23	3/3	3/3	3/3				100
		39	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	2/3	
E	9	23	1/3	0/3	0/3				30
		39	4/9	0/9	2/9	9/9	6/8	4/7	
葉位別の平均検出率%			75	87	70	96	75	57	

注) 葉位 I: 第1本葉, II: 第2本葉, 以下同様。

表13-2 ラテックス凝集反応による十勝長葉の葉片(32mm<sup>2</sup>)を用いての検出程度

SHV 系統	供試 個体数	接種後 日数	葉 位						S M V 系統別の 平均検出率%
			I	II	III	IV	V	VI	
A	10	23	3/3	3/3					97
		39	8/10	10/10	9/9	1/1			
B	6	23	3/3	3/3					83
		39	6/6	6/6	4/6	0/6			
C	7	23	3/3						90
		39	7/7	7/7	7/7	3/7	0/2		
D	4	23	3/3						89
		39	4/4	4/4	3/4	2/4	2/3		
E	13	23	3/3	0/3					53
		39	6/13	4/13	9/13	7/12	5/5	1/2	
葉位別の平均検出率%			84	76	82	43	70	50	

表13-3 ラテックス凝集反応のダイズ葉片で検出されなかったサンプルについて再検討のために緩衝液で2~4倍に希釈した粗汁液または硫酸濃縮による検出試験

SMV 系統	供試数	濃縮処理		
		4倍希釈 検出/検定	2倍希釈 検出/検定	1/2~1/3濃縮 検出/検定
B	8	0/4	7/8	1/1
C	3		3/3	
D	3		2/3	
E	21	1/7	15/21	1/4

注) 濃縮処理は2倍希釈で反応の認められなかったものについて行った。

表 1 4 エンレイの葉片によるラテックス凝集反応 (2 個体供試)

S M V 系統	面積 (mm <sup>2</sup> )	第 1 本葉		第 2 本葉	
		個体1	個体2	個体1	個体2
C	4	+	+	+ <sup>-</sup> ++	+
	8	+	+ <sup>-</sup> ++	++	+
	16	+ <sup>-</sup> ++	++	++	+ <sup>-</sup> ++
	32	++	++	++	++
<hr/>					
D	4	+		+	
	8	++		+	
	16	++		+ <sup>-</sup> ++	
	32	++ <sup>-</sup> +++		+ <sup>-</sup> ++	
<hr/>					
E	4	-	-	++	+
	8	-	-	++	++
	16	+	-	++ <sup>-</sup> +++	+
	32	+	-	++ <sup>-</sup> +++	++

注) A, B 系統および無接種区では反応が認められなかった。



図 1 4 農林 4 号の新展開葉に見られる病徴の軽いモザイク。肉眼ではモザイクはほとんど認められないが血清反応は陽性となる。

葉片を用いた結果では、E系統以外は葉片面積が $16\text{mm}^2$ 程度以上あれば反応が出るが、全ての系統に安定して使用するためには $32\text{mm}^2$ 以上が必要と思われる。最上位葉は一般に反応が弱かったので、サンプリングに当たっては最頂葉から数えて2～3枚の葉位から取る必要がある。また、E系統は比較的検出感度が劣る結果となったが、これはE系統が他の系統に比べて葉中のウイルス濃度が低いことによる可能性が考えられる。また、場合によっては、病徴が認められないサンプルでも凝集が認められたが、これは葉位によっては無病徴感染の状態（図14）にあることを示すものである。

以上、ラテックス凝集反応は粗汁液でも葉片でもSMVの診断に用いることができることが明かとなった。

### 3. 画像解析によるラテックス凝集反応の定量化

ラテックス凝集反応の凝集程度はこれまで肉眼観察によりー、+などの離散量として表記してきた。しかし、この方法では連続的に変化する凝集程度を大まかにしかとらえることができず、ウイルスの増殖程度や時間的な経過などの定量化ができなかった。

ここでは、画像解析による凝集の定量化を図り、ウイルス検出の客観化や検定の自動化の基礎にしようとした。

#### 1) 材料と方法

用いた画像解析装置は、1画面 $256 \times 256$ ドット（64KB）の解像度を持ち、ドット当たり256階調（8ビット）処理ができる白黒画像メモリー（エデック



ED1181)である。画像解析プログラムはPC-SCOPE(ゼネラルリサーチ)を用い、コンピューターはPC9801VM0(NEC)を用いた。

凝集反応は35mmカメラで顕微鏡画面を写真撮影し、ビデオカメラ(ビクターGXS11)を用いてフィルムより凝集反応を解析装置に取り込み、一連の解析に供した。処理手順は、画像取り込み→画像切りとり→2値化→凝集面積の測定→凝集粒子数の測定→凝集粒子1個当たりの面積算出である。

## 2)結果と考察

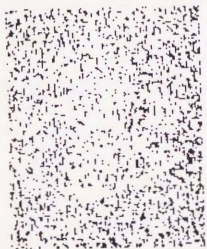
結果は表15に示し、解析経過を図15に示した。2値化した後のラテックス粒子全体の面積を測定すると、凝集程度が大きくなるに従って凝集面積率(5点平均または全体平均)は増大する傾向にあった。1画面内に散在するラテックス粒子総数は同じと考えることができることから、この違いは画像解析装置の解像度の粗さによるものであると考えられる。したがって、解析から得られる凝集面積データ(粒子面積率)は定量化に用いることができないと考えられる。

つぎに、連続した粒子の総数を測定した結果、凝集程度が大きくなるほど全体の粒子数は少なくなり、反対に粒子当たり面積(平均粒子面積)は大きくなった。具体的には、凝集の無い状態(肉眼観察では-)で粒子当たり面積が4.8ドットであるのに対し、+で15.7ドット、++で20.5ドット、+++で65.2ドットと次第に増加した。このことは、肉眼で行ってきたこれまでの評価と傾向が一致することから、平均粒子面積を測定することによって凝集の定量化が可能と考えられる。この手法により、今後は反応の有無の境界値を適当に

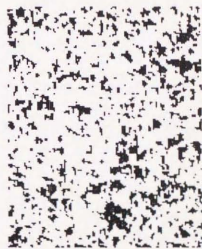
表15 画像解析によるラテックス凝集反応の定量化

凝集反応 (肉眼判定)	粒子面積率%		粒子数	平均 粒子面積 (ドット)
	5点平均	全体平均		
—	10.7	16.6	864	4.8
+	23.4	20.4	333	15.7
++	17.6	20.4	192	20.5
+++	25.0	26.6	86	65.2

注) 5点平均: 4331ドットからなる小区画で画像をランダムに5回サンプリングして処理した場合。



粒子数=864 面積=4.8ドット



粒子数=333 面積=15.7ドット



粒子数=192 面積=20.5ドット



粒子数=86 面積=65.2ドット

図15 2値化されたラテックス凝集反応の凝集パターン。  
反応は、上左: —, 上右: +, 下左: ++, 下右: +++。

設定することにより、ウイルスの感染の有無を簡便に判定できるであろうし、また、凝集面積の大小を用いてウイルス濃度の大小関係を定量的に客観的にとらえることが可能と考えられる。

ウイルスの定量法は、これまで生物検定による局部病斑数の測定や後述するELISAの比色定量法などが用いられてきたが、ラテックス凝集反応については的確な定量法がなかった。ここで用いた画像解析による定量法は今後比色定量法に準ずる客観的手法になるものと考えられる。なお、今回用いた画像解析装置は解像度が低いことによる制約が大きいため、今後は解像度の高い機器による分析を試みる必要がある。また、顕微鏡の画像を撮影するときの照明条件の変動が粒子面積の測定の誤差になりやすいので、サンプル量を一定にして画像の照度を一定にしたり、標準面積板を画像に挿入するなどの工夫が必要である。

#### 4. ELISAによるSMVの診断

ELISAは酵素反応を利用した血清試験法であり、ラテックス凝集反応よりも手法が複雑であるが、ウイルス検出感度は非常に高い。ここではSMV系統に対して反応の異なるいくつかの品種を供試して、ELISAによる品種の抵抗性の確認と抵抗性検定のための基礎資料を得ようとした。

##### 1) 材料と方法

実験は2回に分けて行った。1回目は各系統に反応を異にする16品種を用いて各品種1サンプル供試して接種葉、第2、第3本葉の検定を行い、2回目は同12品種を用いて各品種3個体3サンプルを供試して接種葉と上位葉(第

2, 3 本葉) の検定を行った。

ELISA法は二重抗体法で行い、酵素としてアロカリファターゼを用いた。抗血清はD系統で作製したものを用いた。酵素結合抗体(コングリガート)の作成と処理方法は佐古(1983)に従った。サンプルは約50倍量の生理リン酸緩衝液(PBS)を用いて乳鉢ですりつぶし、0.2mlずつ分注して4℃で1夜静置した。こののち0.05%の Tween20を含むPBSで2回洗浄し、800倍に希釈したコングリガートを0.2mlずつ分注して37℃で4時間静置した後2回洗浄した。酵素基質の p-ニトロフェニル酸(10%イタノールH9.8で1mg/1mlに希釈)を0.3mlずつ分注し、1~2時間後に観察した。発色程度は肉眼で無接種区と比較して-, +-, +の分級を行い、感染の有無を判断した。

## 2) 結果

実験1: 結果は表16-1, 2, 3, 4に示した。接種葉では、健全(H)または局部病斑(LL)のものは一般に反応が現れず、葉脈えそ(VN)では確実に反応が認められた。一方、PekingやNC1-2-2、タマホマレなどの一部の品種では、病徴が見られないにもかかわらず反応の出る場合があった。第2第3本葉の場合は、モザイク(M)の現れたものはほぼ確実に反応がみられ、初回感染(NS)の場合は認められるものとそうでないもの(特に、第3本葉)があった。Pekingは、接種葉とは異なり、上位葉では反応が認められなかったが、NC1-2-2では接種葉でも上位葉でも、病徴が無くても反応が認められた。

実験2: 結果は表17に示した。各品種、系統ともに3枚づつの葉を用いて検討した。その結果、接種葉がLLまたはLL, VNのものは実験1とほぼ同

表16-1 SMV5系統を接種したときの抵抗性の異なるダイズ16品種の  
接種葉のELISA検定結果

品種名	A		B		C		D		E	
	病徴	ELISA	病徴	ELISA	病徴	ELISA	病徴	ELISA	病徴	ELISA
農林4号	VN	+	VN	+	VN	+	VN	+	VN	+
十勝長葉	VN	+	VN	+	VN	+	VN	+	VN	+
NCI-2-2	-	+	VN	+	VN	+	VN	+	VN	+
金元1号	VN	+	VN	+	VN	+	VN	+	VN	+
Harosoy	LL	-	VN	+	-	-	-	-	VN	+
白目長葉	LL	+-	VN	+	-	-	LL	-	VN	+
白豆	LL	-	VN	+	LL	-	-	-	LL, VN	+
エンレイ	LL	-	LL	-	LL, VN	+	LL, VN	+	LL, VN	+
タマホマレ	-	-	LL	-	-	+	-	+	LL, VN	+
光教	LL	-	LL	-	VN	+	-	+	LL, VN	+
スズユタカ	-	-	LL	-	-	-	LL	-	LL, VN	+
ホウレイ	LL	-	LL	-	-	-	LL	-	LL, VN	+
東山140号	-	-	LL	-	LL	-	LL	-	LL, VN	+
東山122号	LL	-	LL, VN	+	LL, VN	+	LL, VN	+	-	-
Dorchsoy31	LL, VN	+	LL, VN	+	LL, VN	+	LL, VN	+	-	-
Peking	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+

注) ELISA反応は、-：無反応、+-：少し反応する、+：反応する。

病徴の略号は、表8の脚注参照。

表16-2 SMV5系統を接種したときの抵抗性の異なるダイズ16品種の  
第2本葉のELISA検定結果

品種名	A		B		C		D		E	
	病徴	ELISA	病徴	ELISA	病徴	ELISA	病徴	ELISA	病徴	ELISA
農林4号	M	+	M	+	M	+	M	+	-	+-
十勝長葉	M	+	M	+	M	+	-	+	-	+-
NCI-2-2	M	+	M	+	M	+	-	+	M	+
金元1号	M	+	M	+	-	-	-	-	M	+
Harosoy	-	-	M	+	-	-	-	-	M	+
白目長葉	-	-	M	+	-	-	-	-	M	+
白豆	-	-	M	+	-	-	-	-	M	+-
エンレイ	-	-	-	-	M	+	M	+	NS	+
タマホマレ	-	-	-	-	NS	+	M	+	NS	+
光教	-	-	-	-	M	+	M	+	NS	+
スズユタカ	-	-	-	-	-	-	-	-	NS	+
ホウレイ	-	-	-	-	-	-	-	-	NS	+
東山140号	-	-	-	-	-	-	-	-	NS	+
東山122号	NS	+	NS	+	NS	+	NS	+	-	-
Dorchsoy31	NS	+	NS	+	NS	+	-	+	-	-
Peking	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-



表 16-3 SMV5 系統を接種したときの抵抗性の異なるダイズ16品種の  
第3本葉のELISA検定結果

品種名	A		B		C		D		E	
	病徴	ELISA	病徴	ELISA	病徴	ELISA	病徴	ELISA	病徴	ELISA
農林4号	M	+	M	+	M	+	M	+	-	+
十勝長葉	-	+	M	+	-	-	-	+	-	+
NCI-2-2	-	+	-	+	-	+	M	+	-	+-
金元1号	-	-	M	-	-	-	-	-	M	+
Harosoy	-	-	-	+	-	-	-	-	M	+-
白目長葉	-	-	M	+	-	-	-	-	-	+
白豆	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
エンレイ	-	-	NS	-	-	+	-	+	NS	+
タマホマレ	-	-	-	-	M	+	M	+	NS	+
光教	-	-	-	-	-	+-	-	+	NS	-
スズユタカ	-	-	-	-	-	-	-	-	NS	+
ホウレイ	-	-	-	-	-	-	-	-	NS	-
東山140号	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
東山122号	NS	+	-	+	-	+	NS	+	-	-
Dorchsoy31	NS	-	NS	+	NS	-	NS	+	-	-
Peking	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

表 16-4 SMV5 系統を接種したときのダイズの16品種または系統の接種葉と  
上位葉の病徴とELISA反応の対応関係 (表16-1, 2, 3のとりまとめ)

葉位	葉位別の 病徴	A		B		C		D		E		検出率 %
		+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	
接種 葉	VN	3	0	7	0	5	0	4	0	6	0	100
	LL	1	6	0	6	0	2	0	4	0	0	5
	LL, VN	1	0	2	0	3	0	3	0	7	0	100
	-	2	3	0	1	2	4	3	2	1	2	40
第2 本葉	M	4	0	7	0	5	0	4	0	5	0	100
	NS	2	0	2	0	3	0	1	0	5	0	100
	-	0	10	0	7	0	8	0	11	2	3	5
第3 本葉	M	1	0	3	1	2	0	3	0	2	0	92
	NS	1	1	1	1	0	1	2	0	3	2	58
	-	2	11	4	6	4	9	3	8	6	3	34

注) ELISA反応 (+-) は+として集計した。

表17 SMVの5系統を接種したときのダイズの抵抗性の異なる12品種において  
接種後12日以上経過したときの接種葉(下段)と上位葉(上段)の病徴と  
ELISAによるウイルス検出(各品種3個体を供試)

品種名	A		B		C		D		E	
	病徴	ELISA	病徴	ELISA	病徴	ELISA	病徴	ELISA	病徴	ELISA
農林4号	M 3/3 VN 3/3		M 3/3 VN 3/3		M 3/3 VN 3/3		M 3/3 (VN) 3/3		M 3/3 VN 3/3	
Hill	M 3/3 VN 3/3		M 3/3 VN 3/3		M 3/3 VN 3/3		M 3/3 VN 3/3		M 3/3 VN 3/3	
金元1号	M 3/3 - 3/3		M 3/3 - 3/3		M 3/3 (VN) 3/3		M 3/3 - 3/3		M 3/3 VN 3/3	
Harosoy	- 0/3 - 0/3		M 3/3 VN 3/3		- 0/3 - 0/3		- 0/3 - 0/3		M 3/3 VN 3/3	
白豆	- 0/3 LL 1/3		M 3/3 VN 3/3		- 0/3 - 0/3		- 0/3 LL 0/3		M 3/3 LL, VN 3/3	
エンレイ	- 0/3 - 0/3		- 0/3 - 0/3		M 3/3 LL, VN 3/3		M 3/3 LL, VN 3/3		NS 3/3 LL 1/3	
タマホマレ	- 0/3 - 0/3		- 0/3 - 0/3		M 3/3 LL 3/3		M 3/3 (LL) 3/3		NS 2/3 LL 0/3	
ホウレイ	- 0/3 - 0/3		- 0/3 - 0/3		- 0/3 - 0/3		- 0/3 - 0/3		N 3/3 LL, VN 1/3	
スズユタカ	- 0/3 - 0/3		- 0/3 - 0/3		- 0/3 - 0/3		- 0/3 - 0/3		NS 3/3 LL 1/3	
東山138号	NS 3/3 LL, VN 2/3		N 3/3 LL, VN 3/3		- 1/3 (VN) 1/3		NS 3/3 LL, VN 0/3		- 0/3 - 0/3	
東山122号	NS 2/3 LL, VN 3/3		NS 3/3 LL, VN 2/3		NS 0/3 LL, VN 0/3		NS 2/3 LL, VN 0/3		- 0/3 - 0/3	
Peking	- 0/3 - 3/3		- 0/3 - 0/3		- 0/3 - 1/3		- 0/3 - 2/3		- 0/3 - 1/3	

注) ELISA結果は、検出数/検定数で示した。( )は、極く僅かに認められる場合を示す。

様に反応の現われない場合があり、VNでは確実に反応が認められた。Pekingや金元1号などの接種葉は実験1と同様に病徴が認められないにもかかわらず反応が認められる場合があり、上位葉ではPekingは反応がなく、金元1号では認められた。

### 3) 考察

ELISA反応が確実に現われるのは、接種葉と上位葉の病徴がともに鮮明で、それぞれ葉脈えそ(VN)とモザイク(M)を示す感受性品種の場合であった。これら感受性品種は、いずれの部位でも葉中のウイルス濃度が高いことを示すものである。これに対し、接種葉でLLを示す品種や上位葉でNSを示す品種は、病斑があってもしばしば反応が出ない場合があった。これは過敏反応によるウイルスの極在のため、葉中のウイルス濃度が少ないことによるものと思われる。

金元1号とPeking、タマホマレ、NC1-2-2などの接種葉は病徴が認められない場合でも反応が出る場合があり、通常の感受性品種とは異なった特性を持っていることが分かった。この現象はいわゆる無病徴感染に属するものであろう。金元1号やNC1-2-2などの品種は、実験環境によって病徴が見えたり見えなかったりするので純然たる無病徴感染とは言い難いが、Pekingは病徴がまったく生じない。また、金元1号などは上位葉でもウイルスが増殖してモザイクを示すのに対し、Pekingは上位葉からはまったく反応が認められなかった。したがって、Pekingは接種葉では無病徴感染であるが、上位葉へはウイルスが移行しない特性を持っているものと考えられる。このことは、飯塚・柚木(1983)の結果

とも一致する。本研究では、Pekingのような抵抗性品種を以後無病徴感染型抵抗性品種と呼ぶことにする。

金元1号は全ての系統に感受性反応を示すにも関わらず病徴が軽く、場合によっては無病徴の場合があることはこれまでも経験してきた。このことは金元1号に褐斑が発現しにくいことと関わりがあるように思われる。この品種と似た特性を持つものは他にタマホマレ、タチナガハ、NC1-2-2があり、褐斑の色調が薄いかまたはほとんど生じない。NC1-2-2はPekingとLeeの交配により育成された品種であるが、このような無病徴感染に近い特性はLeeに由来したと考えの方が妥当であろう。また、NC1-2-2は強度のシストセンチュウ抵抗性があるために、東山72号、83号、93号などの抵抗性母本として用いられている。これらの系統は前述したように褐斑の発生が少ないが、この特性はいずれもNC1-2-2に由来したものと考えられる。

#### IV 切葉検定による抵抗性の検定

SMVの接種検定は1個体ずつ展開した初生葉に行うのが一般的である。この方法は特定の病原系統に対する個体の反応はわかるが、1個体から同時に複数の病原系統に対する反応を知ろうとするには重複接種ができないことからこれまで判断できなかった。この点を解決するために、各個体から小葉を切除してそれぞれに異なった病原系統を接種し、適当な培養を行って反応を観察することにより、同時に複数のウイルス系統に対する抵抗性の有無を知る方法を確立しようとした(重盛ら(1990))。

## 1. 小葉の齡の差の検討

### 1) 材料と方法

供試品種はSMV系統に対して抵抗性の異なる12品種、系統である。常法により栽培し、本葉4~5枚時に上位の新展開葉(若い葉)と下位の葉(少し硬化の進んだ老葉)を6枚ずつ採取して用いた。小葉それぞれに対しSMV5系統を常法で接種し、残りの1枚を無接種区とした。接種後直径9cmのシャーレに水道水を数ミリの深さにみだし、これに葉を浮かべ、25℃、蛍光灯による連続照明下で14日間インキュベートした。1品種当り3枚の葉を供試した。調査は肉眼による病徴の有無とELISA検定を併用した。

### 2) 結果と考察

結果は表18に示した。切葉の病徴は、個体に対する接種時の接種葉にみられるような葉脈えそ(VN)または健全(H)であり、局部病斑(LL)はほとんど認められなかった。農林4号やエンレイなどは、本来病徴の現れるべきSMV系統の場合でも病徴の出ない場合があり、ほとんどの場合には健全かやや黄変した状態であった。したがって、このような品種の場合、肉眼での病徴観察では抵抗性の有無の判定が困難な場合が多かった。しかし、ELISAでは一見健全に見える葉でも反応が認められ、その反応の有無は各品種の既知の抵抗性反応とほぼ一致した。

供試葉の老若と接種効果については、一般に若い葉の方が既知の反応と一致し、検出率も高いのに対し、古い葉では検出率が低く、とくに上位葉でNSを



表18 葉令を異にした場合の切葉検定によるSMV各系統接種による病徴およびELISA検定(上段:病徴、下段:ELISA、各SMV系統ごとに各品種3小葉(1,2,3)を供試)

品種または 系統名	葉令	A			B			C			D			E		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
農林4号	若	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	VN	-
	老	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Hill	若	VN	VN	VN	H	H	H	VN	VN	VN	H	H	H	VN	VN	VN
	老	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
金元1号	若	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
	老	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Harosoy	若	H	H	H	VN	H	H	H	H	VN	H	H	H	VN	VN	VN
	老	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
白豆	若	H	H	H	VN	VN	VN	H	H	H	H	H	H	VN	VN	VN
	老	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
エンレイ	若	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	VN	VN	H
	老	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
タマホマレ	若	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	VN	H	-
	老	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
ハウレイ	若	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	VN	VN	VN
	老	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
スズタカ	若	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	VN	VN	VN
	老	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
東山122号	若	VN	VN	VN	VN	VN	VN	H	H	H	VN	H	VN	H	H	H
	老	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
東山138号	若	VN	VN	VN	H	VN	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
	老	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
Peking	若	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
	老	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-

注) 病徴は、H: 健全または無病徴, VN: 葉脈えそ, LL: 局部病斑。

ELISA反応は、表16-1脚注参照。

示す品種やE系統での反応が見にくかった。このことは、若い葉の方が未分化の細胞が多く、ウイルスの増殖に好適なことによるものと思われる。

なお、切葉の寿命は適当な水の補給により1カ月以上は充分に保つことができた。

## 2. 温度条件の検討

### 1) 材料と方法

供試品種は十勝長葉、エンレイなど10品種(表19)を用いた。第2本葉展開期頃に葉を採取し、A～E系統を接種した。温度条件は20、25、30℃の3段階で、約1,000ルクスの蛍光灯連続照明下でインキュベートした。培養液は1株10mlを蒸留水で1,000倍に希釈したものを用いた。調査は、接種後5日目から経時的に肉眼で病徴の変化を観察した。

### 2) 結果

接種後12日目の結果を表19に示した。通常の検定と同様に、接種後10～12日の時点で病徴が最も明瞭に現われた温度水準は25℃で、30℃では多くの場合病徴が現れず、また葉の黄変が著しく腐敗するものも多かった(図16)。一方20℃では、病徴の発現が比較的遅く、接種後14日以降で初めて病徴が観察され、同20日頃に病徴の発現がほぼ完了した。20、25℃ともに、品種間差異はほぼ個体接種の場合と同等の傾向となった。なお、VN病徴は30℃ではほとんど発生しなかったのに対し、LLを示す品種の場合は30℃でもLLが認められた。

表19 ダイズの10品種を用いて切葉検定を行ったときのSMV系統接種での温度別(20, 25, 30℃)の病徴の変化

品種名	A 20 25 30℃			B 20 25 30℃			C 20 25 30℃			D 20 25 30℃			E 20 25 30℃		
	(VN)	VN	F	(VN)	VN	(VN)	VN	VN	-	VN	VN	-	VN	VN	F
十勝長葉	(VN)	VN	F	(VN)	VN	(VN)	VN	VN	-	VN	VN	-	VN	VN	F
Harosoy	-	-	-	VN	VN	F	-	-	-	-	-	-	(VN)	VN	-
白目長葉	-	-	-	(VN)	VN	-	-	-	-	-	-	F	(VN)	VN	F
エンレイ	-	-	-	LL	LL	LL	-	VN	-	-	(VN)	(VN)	(LL)	LLVN	(LL)
タマホマレ	-	-	-	LL	LL	-	-	-	-	-	VN	F	(LL)	LLVN	-
ホウレイ	-	-	-	(LL)	LL	(LL)	-	-	-	(LL)	(LL)	-	(LL)	LLVN(LLVN)	-
東山140号	-	-	-	-	-	F	-	-	-	-	-	-	-	-	-
東山122号	-	-	-	(LL)	LLVN	LLVN	(LL)	(LL)	(LL)	LL	LLVN	LLVN	-	-	-
東山138号	-	(LL)	-	(LL)	LLVN	LLVN	(LL)	(LL)	(LL)	(VN)	VN	-	-	-	-
Peking	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

注) 1) VN: 葉脈えそ、LL: 局部病斑、LLVN: LLとVNの複合した病徴、-: 健全または無病徴、F: 腐敗、( ): 程度が軽い場合。  
2) 各品種の各温度水準に小葉3枚ずつ供試した。  
3) 接種後12~14日目の結果を示した。

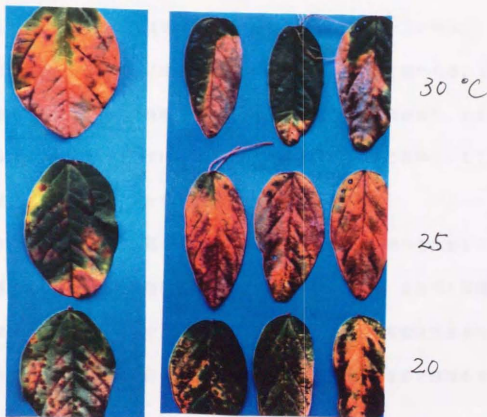


図16 SMVの切葉検定による温度反応(左: 東山138号、右: 十勝長葉)  
注) 縦方向に同一個体から採取した葉を並べた。

切葉検定すると、小葉の基部から発根する場合があるが、20℃では10～20%程度の小葉の発根率であるのに対し、30℃ではほぼ100%近く発根し、また根長も長かった。発根程度には特定の品種間差異は認められなかった。

なお、本実験においてPekingの小葉は、通常の個体接種では見られない濃い斑紋を生じたが、ウイルス増殖によるものかどうか不明であったのでここでは病徴が無いものと判断した。

### 3) 考察

切葉検定の温度条件は、感受性品種の反応であるVNで見える限り、25℃が最も適しており、30℃では不適当であることが明らかとなった。30℃では、高温により病徴がマスクされることや、葉の老化が急速なことによるものと思われる。しかし、LL病徴は30℃でも発現が抑制されなかったことから、LL（過敏感反応）はVNに比べて温度に影響されにくいものと思われる。I-3で見たように、NSは高温になるほど症状が著しくなる傾向があり、LLとNSは局部病斑という点では同様の抵抗性反応と考えられることから、LLは高温ほど症状が出やすいとも考えられる。

20℃は、病徴の発現が遅く、調査までに時間を要したが、葉の老化が少なく病徴発現もガラス室での個体接種とほぼ同一であることから、25℃と同様に切葉実験に用いることができると考えられる。なお、今回の実験は恒温条件で行っているため、自然条件に近い変温条件下では別の結果となる可能性もある。

### 3. 品種の抵抗性の有無との関係

培養液は、水道水よりもH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>1,000倍液のほうが葉の寿命を長くし（2～3ヶ月生存）、発現病徴も個体接種の場合とほぼ一致することから、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>を用いることにした。また、小葉をさらにカミソリなどで2～3に分割して培養した結果では、切口からの腐敗が多く、本来の病徴と区別しにくい場合が多かった。したがって、切葉接種検定では、小葉を1枚ずつ用いて接種し、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>1000倍液で培養すればよいと考えられた（図17）。この方法を用いて、以下に抵抗性反応の異なる17品種を用いた切葉検定を行い、通常の個体接種の場合との比較を行った。

#### 1) 材料と方法

抵抗性反応の異なる17品種を用いて切葉検定を行い、切葉の病徴と従来の個体接種検定の病徴の比較を行った。切葉検定方法は、展開して間もない新しい小葉を試し、常法により接種したのち直ちに蒸留水で洗浄した。9cmシヤーレにH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>1000倍液を入れてこれに3～4枚の接種葉を浮かべ、25℃で12時間照明下においた。ときどき培養液を補給し、接種後8～10日から経時的に病徴を調査した。

#### 2) 結果と考察

結果は表20に示した。農林4号や金元1号、タマホマレなどの品種では、個体の反応がモザイクであるにも関わらず、病徴の認められない場合があった。これらの品種は、個体レベルでも病徴が軽く、これまでもしばしば検定時





図 17 SMV 接種後約 20 日目のシャーレを用いた切葉検定の状況。  
切葉検定を行うと小葉の基部から根を発生するものとそうでないものがあるが、葉の寿命には影響しない。

表 20 ダイズ品種における SMV の 5 系統を用いた切葉検定の病徴と個体の病徴の比較  
(接種後 23 日目)

品種名	A		B		C		D		E	
	切葉	個体	切葉	個体	切葉	個体	切葉	個体	切葉	個体
農林 4 号	VN	Y	VN	LL, VN	-	Y	-	Y	-	VN
十勝長葉	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN
金元 1 号	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Barosoy	-	-	VN	VN	-	-	-	-	VN	VN
白目長葉	-	-	VN	VN	-	-	-	-	VN	LL, VN
白豆	-	LL	VN	LL, VN	-	-	-	LL	VN	LL, VN
エンレイ	-	LL	-	LL	VN	VN	VN	VN	LL, VN	LL, VN
タマホマレ	(LL)	LL	LL	LL	-	(VN)	-	(LL)	-	LL
ホウレイ	(LL)	(LL)	LL	(LL)	LL	(LL)	-	(LL)	(LL)	LL
スズユタカ	-	LL	LL	LL	-	-	-	LL	LL, VN	LL, VN
東山 140 号	-	LL	LL	LL	-	-	-	-	-	LL, VN
デウムスメ	-	LL	LL	LL	-	-	-	LL	(LL)	LL, VN
東山 69 号	-	-	-	LL	-	-	-	(LL)	-	LL, VN
ふくせんり	LL, VN	LL	LL, VN	LL	VN	LL	LL, VN	LL	(VN)	-
東山 122 号	(LL, VN)	LL	(LL, VN)	LL	LL, VN	(LL, VN)	LL, VN	LL	-	-
東山 138 号	LL, VN	LL	LL, VN	LL	LL, VN	LL	LL, VN	LL	-	-
Peking	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

注) Y: 黄変するのみで明瞭な病徴を示さないもの。  
病徴などは表 19 の脚注参照。

の病徴が現れていなくても血清反応が陽性になっていた。したがって、肉眼観察を前提とした切葉検定にはこれらの品種は適さないものと考えられる。しかし、その他のPekingを除く品種の場合は、接種後約2週間での切葉の病徴がおおむね個体の病徴と一致したことから、この方法は個体接種と同様に抵抗性の検定方法として用いることができると考えられる。とくに、十勝長葉やHarosoy, エンレイなどでは、病徴の一致状態が良かった。

切葉検定法はTMVを用いたタバコの抵抗性検定で報告があるが(REBECA et al.(1987))、SMVについては今回が最初であろう。この方法は、抵抗性検定ばかりでなく、温度や培養液、照明などの条件をさらに工夫することにより、感染、増殖、抵抗性発現などの遺伝子発現の組織レベルでの実験環境を提供するものになると考えられる。また、SMVばかりでなく、他のウイルスや細菌、糸状菌などの検定にも適用できる可能性があり、それらは今後の課題である。

#### 4. F<sub>2</sub>集団での切葉検定と個体接種検定との関係

品種での切葉検定と個体の反応の関係は、品種によって合うものとそうでないものがあることが明らかとなった。ここでは、F<sub>2</sub>個体を用いて同様に検討した。

##### 1) 材料と方法

供試集団は、農林4号×ふくせんりのF<sub>2</sub>集団である。40個体前後から本葉を採取し、その3つの小葉を分割してA, C, EのSMV系統をそれぞれ接種し、切葉検定した。また、本葉を採取した後の個体には、常法によりA, C,

E系統を接種した。個体接種はガラス室内で行い、最低18℃、最高28℃程度の気温条件下で栽培した。調査は、切葉と個体の双方の病徴を17日以上経過した時点で比較し、その対応関係を検討した。

## 2) 結果と考察

切葉検定の病徴と個体の病徴の対応関係を表21に示した。A系統では切葉の病徴と個体の病徴が一致し、切葉検定により個体の表現型をよく評価できることが明らかとなった。これに対しE系統では、切葉と個体で若干の食い違いが認められたが、おおむね双方の病徴は一致した。E系統での若干の差は、遺伝子型やウイルス系統、温度条件などの交互作用によるものと思われるが、E系統特有のものである可能性が高い。これらA、E系統が切葉と個体とでほぼ反応が一致したのに対し、C系統の場合はVNであっても個体でVNにならず、食い違いが大きかった。この原因は、ふくせんなりがC系統に部分抵抗性であることによるものであり、また、個体接種の温度条件が切葉検定に比べ比較的低温であったために病徴の発現が少なかったためであろうと考えられる。

以上のように、F<sub>2</sub>集団における切葉検定と個体検定の比較は1組合わせのみの検討であるが、抵抗性と感受性の組合わせを行えば他の組合わせにおいてもほぼ切葉と個体で一致した結果が得られるものと考えられる。

表21 SMVのA, C, E系統を用いて農林4号×ふくせんなりF<sub>2</sub>集団の切葉検定を行ったときの切葉の病徴と個体の病徴の対応関係

切葉病徴	個 体 の 病 徴								
	SMV-A			C			E		
	VN	LL	H	VN	LL	H	VN	LL	H
VN	1	0	0	0	3	18	4	1	0
LL	0	7	0	0	0	0	0	7	0
H	0	0	30	0	0	19	2	0	26

注) 病徴は表19の脚注参照。

## V 抵抗性の遺伝様式

現在の主要な奨励品種は、SMVのC、D、E系統に感受性である。したがって、ここではC、D、E系統に対する抵抗性の遺伝様式を最初に系統ごとに検討し、つぎに、A、B系統についても若干の検討を行った。交雑後代における表現型が品種の場合よりも複雑に変化するので、種々の品種組合わせの比較を行いつつ、C系統の事例を中心に、 $F_1$ 、 $F_2$ 世代の表現型の経時的变化と遺伝様式、海外事例との比較と抵抗性遺伝子の考察を行った。遺伝様式の検討に当たっては、①スズユタカやホウレイなどの抵抗性(H)品種、②東山122号、138号などの部分抵抗性(NS)品種、③Pekingに代表される無病徴感染型抵抗性(H)品種の3種類に小区分して考察した(重盛(1986, 1988), 重盛ら(1990))。

遺伝解析ののち、抵抗性遺伝子と主要な質的形質(葉型、胚軸色など)との関係を調べ、また切葉検定を用いてウイルス系統ごとの抵抗性遺伝子の連鎖、独立関係を調査した。

### 1. SMVのC系統に対する抵抗性の遺伝

#### 1) 材料と方法

C系統に対する抵抗性品種として、スズユタカ、ホウレイ、東山140号を供試し、部分抵抗性品種として東山138号、122号、Dorchsoy31を、無病徴感染型品種としてPekingを供試した。抵抗性の遺伝分析に供試した組合わせは、感受性×感受性、抵抗性×感受性、抵抗性×部分抵抗性、部分抵抗性×感受性、抵抗性×抵抗性の大別して5組合わせである。供試集団は $F_1$ 、 $F_2$ のほか、感受性品種を戻し交配した $B_1F_1$ 集団、 $F_2$ におけるヘテロ接合体の次代 $F_3$ 集団な



どを用いた。接種は常法により行い、接種後約8日から経時的に20~40日まで接種葉と上位葉の病徴を観察した。実験は4~7月または9~10月の年2回、網室中で行った。

## 2) 結果

### a) $F_1$ , $F_2$ 集団の表現型の経時的变化

感受性と感受性の組合わせ  $F_1$  集団は、両親品種の場合と同様に接種後8~10日で全ての個体がモザイク(M)となった。抵抗性または部分抵抗性と感受性の組合わせ  $F_1$  の場合は、接種後8~10日でNSが生じ始め、東山140号を抵抗性親に用いたときには17日後ですべての  $F_1$  個体がNSとなった(表22)。しかし、スズユタカやホウレイを用いたときにはNS個体が比較的少なかった。Pekingと抵抗性または部分抵抗性品種の  $F_1$  は、すべて健全であったが、感受性の農林4号との組合わせでは、接種後約20日以降から全個体にモザイクが生じた(表23)。この種のモザイクはPekingの組合わせに特有のものであり、すでに展開を完了した葉にNSに類似した斑点が多数発生し、次第に激しいモザイク症状に変化した(図18)。このモザイクは通常のモザイクよりも遅れて発生するので、以後は後発モザイク(M')と呼ぶことにする。

$F_2$  集団の接種後の表現型の変化は品種および抵抗性の組合わせごとに図19~23に示した。抵抗性×感受性では、品種の場合と同様に、一般にモザイク病徴は接種後8~10日で現われるのに対し、NSはやや遅れて発生した。NS個体は徐々に増加し、それまで健全であった個体の中から生じた。初期に発生したNS個体はやがて茎頂端がネクロシスとなって枯死したが、後期になっ

表22 抵抗性と感受性の組合わせF<sub>1</sub>にSMV-C系統を接種したときの表現型の経時的变化(個体数)

組合わせ No.	組合わせ (反応組合わせ)	供試 個体数	接種後 日数	F <sub>1</sub> 表現型		
				H	NS	M
12	スズユタカ×タチナガハ (H-M)	16	8日	16	0	0
			17	9	7	0
			21	9	7	0
15	東山140号×タチナガハ (H-M)	5	8日	5	0	0
			15	0	5	0
			24	0	5	0
16	タマホマレ×東山140号 (H-M)	5	8日	5	0	0
			17	0	5	0
			22	0	5	0

注) 反応組合わせは、(H-M): 抵抗性×感受性、(M-H): 感受性×抵抗性を示す。  
F<sub>1</sub>表現型は、H: 健全、NS: ネクロティクス<sup>\*</sup>、M: モザイク。

表23 Peking×農林4号のF<sub>1</sub>集団にSMV-C, E系統を接種したときの病徴の経時的变化(個体数)

接種後 日数	C系統			E系統		
	H	NS'	M'	H	NS'	M'
9	13	0	0	14	0	0
14	13	0	0	14	0	0
23	0	13	0	0	14	0
30	0	0	13	0	0	14

注) NS': 通常のNSとは異なるNS状病斑、M': 通常のモザイクとは異なる後発モザイク。  
(図18参照)。



図18 Peking×農林4号のF<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>集団にみられる通常のモザイクよりも遅れて発生する後発モザイク。上：葉全体に広がった後発モザイク、下：初期のNS状病徴。

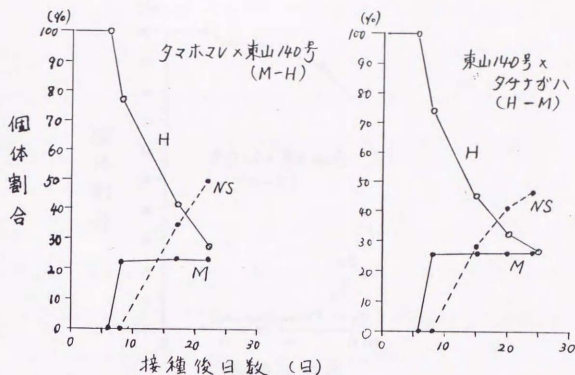


図 19 東山140号を抵抗性親として組合わせた  $F_2$  に SMV-C 系統を接種したときの表現型の経時的变化。

注) (M-H)は感受性×抵抗性の組合わせであることを示す。

H: 健全または無病徴、M: モザイク、NS: ネクロティクス病。

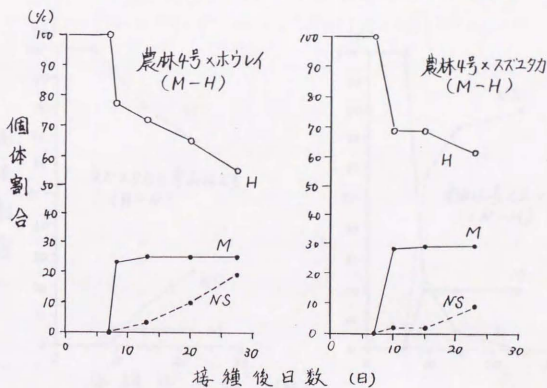


図 20 ホウレイとスズユタカを抵抗性親として組合わせた (M-H)  $F_2$  集団に SMV-C 系統を接種したときの表現型の経時的变化。

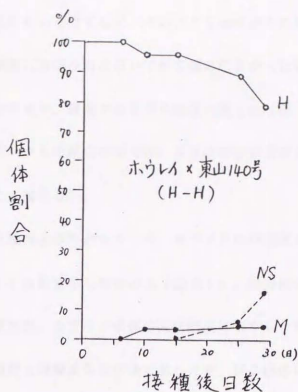


図 2 1 SMV-C系統に抵抗性同士(H-H)の組合せにおけるF<sub>2</sub>の表現型の変化。

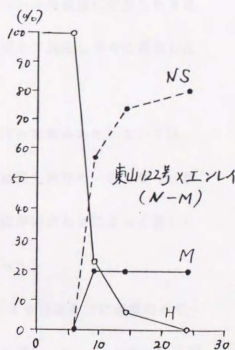
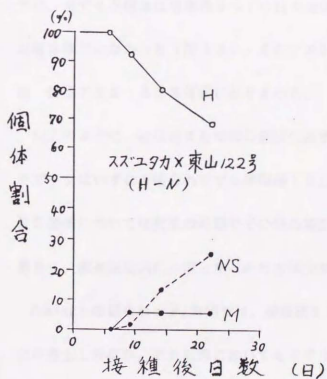


図 2 2 SMV-C系統に抵抗性と部分抵抗性(H-NS)、および部分抵抗性と感受性(NS-M)の組合せにおけるF<sub>2</sub>集団の表現型の変化。



て発生した個体は枯死にまで至るものは少なかった。接種葉は接種後約30日程度で老化のため落葉するが、そのような個体からは以後NS個体は発生しなかった。調査打ち切り時においてNS個体の多かった組合わせは、東山140号を用いた組合わせで、最高では50%程度に達した(図19)。これに対しホウレイやスズユタカの組合わせでは、NSの増加速度が遅く、最高でも20%程度であった(図20)。

抵抗性品種同士の組合わせでは、モザイクは接種後8~10日で全体の5%程度に達して以後変化しなかった(図21)。部分抵抗性品種と感受性品種との組合わせでは、モザイク個体の発生頻度はホウレイやスズユタカなどの抵抗性品種の場合と同様25%前後であったが、NS個体はモザイクと同様に8~10日で早期に発生した後高い増加率を示し、最高では東山122号×エンレイの組合わせで80%に達した。一方、部分抵抗性品種と抵抗性品種との組合わせでは、モザイク個体は接種後8~10日で全体の5~7%程度に発生したまま以後は増加しなかった(図22)。また、NSは遅れて発生し徐々に増加したが、最高で25~30%程度にとどまった。

以上のように、抵抗性または部分抵抗性品種を用いた組合わせにおいては、モザイクはいずれの組合わせでも接種後10日には発生頻度が一定となったが、NS個体については発生の時期やその後の増加速度が組合わせによって著しく異なり、調査期間内に一定となったものは少なかった。

Pekingとの組合わせF<sub>2</sub>集団では、接種後12~14日頃までに通常のモザイクが発生したほか、それ以降においてもモザイクが増加した。F<sub>2</sub>における各組合わせの表現型の経時変化は図23に示した。Pekingの交雑後代では、これま

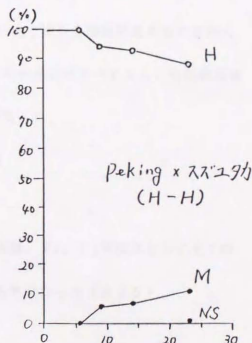
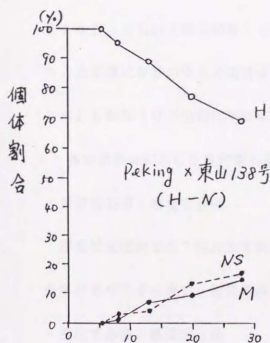
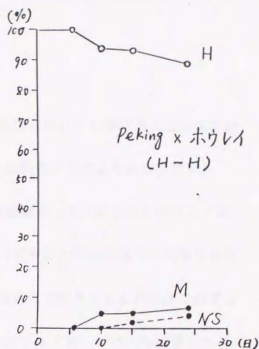
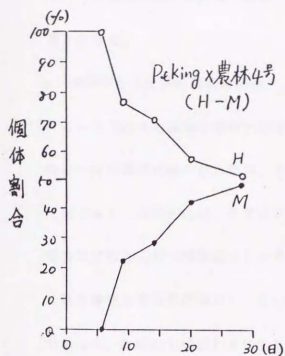


図23 Pekingとの組合わせF<sub>2</sub>集団にSMV-C系統を接種したときの表現型の変化。

でに述べてきた抵抗性や部分抵抗性品種の組合わせとは異なり、モザイク個体が接種後10～14日を過ぎても増加傾向にあることが最大の特徴であった。モザイク個体の発生頻度は、最高では農林4号を片親に用いたときに50%程度となった。

#### b) 接種葉と上位葉の病徴の関係

II-3で述べた品種の場合と同様に、 $F_2$ 集団においても接種葉と上位葉の病徴に一定の関係が認められたが、その関係は抵抗性母本により異なっていた(表24)。具体的には、モザイク個体の接種葉は、スズユタカとホウレイの場合にはほとんど(98%以上)がVN、東山140号とPekingの場合にはVNかH(Hの発生比率は平均39%)、東山122号の場合にはVNとLLがほぼ半数ずつであった。Pekingの組合わせに生じた後発モザイク( $M'$ )は、接種葉のほとんどが健全であった。一方、健全個体の接種葉は抵抗性品種の場合ほとんどLLかH(LLの比率は63%)であり、PekingではLL個体は認められなかった。上位葉にNSの生じる個体は、東山122号の場合にはすべてLL、抵抗性品種ではLLかH(Hの出現比率は平均9%)であった。

#### c) 各組合わせにおける表現型の遺伝的分離

##### ・感受性品種×感受性品種

感受性品種同士の7組合わせを検討した結果、 $F_1$ 、 $F_2$ 集団はともに全ての個体がモザイクを示し、抵抗性個体は認められなかった(表25)。

##### ・抵抗性品種×感受性品種

抵抗性と感受性の組合わせでは、 $F_1$ はNSまたは健全を示し、 $F_2$ では無病徴、NS、モザイクが分離した。 $F_2$ における表現型の分離比は、NSを健全個

表24 スズユタカ、ホウレイ、東山140号、東山122号、Pekingを感受性品種と組合わせたF<sub>2</sub>集団にSMV-C系統を接種したときの接種葉と上位葉の病徴の対応関係

抵抗性母本 (片親)	接種葉の 病徴	上位葉の病徴			
		モザイク (M)	後発モザイク (M')	ネクロティックスポット (NS)	無病徴 (H)
スズユタカ (タチナガハ)	葉脈えそ (VN)	142	0	0	1
	局部病斑 (LL)	0	0	108	152
	無病徴 (H)	2	0	17	144
ホウレイ (農林4号)	VN	58	0	1	0
	LL	2	0	38	74
	H	0	0	4	53
東山140号 (エンレイ, タチ ナガハ, タマホマレ)	VN	245	0	2	2
	LL	2	0	701	306
	H	141	0	64	116
東山122号 (エンレイ)	VN	14	0	0	0
	LL	12	0	104	0
	H	0	0	0	0
Peking (農林4号)	VN	26	3	0	1
	LL	0	0	0	0
	H	32	37	0	109

注) 後発モザイク(M')は図18参照。Pekingの組合わせは接種後14日の結果を示した。

表25 感受性と感受性の組合わせF<sub>2</sub>集団(一部F<sub>1</sub>を含む)にSMV-C系統を接種したときの表現型の分離

組合わせ No.	組合わせ (反応組合わせ)	供試 個体数	F <sub>2</sub> 表現型			χ <sup>2</sup> test	
			H	NS	M	χ <sup>2</sup>	P
1	エンレイ×タマホマレ(M-M) F <sub>2</sub>	206	0	0	206	—	—
2	タマホマレ×東山145号(M-M) F <sub>2</sub>	208	0	0	208	—	—
3	東山128号×東山145号(M-M) F <sub>2</sub>	209	0	0	209	—	—
4	東山128号×東山87号(M-M) F <sub>1</sub>	10	0	0	10	—	—
	F <sub>2</sub>	148	0	0	148	—	—
5	農林4号×エンレイ(M-M) F <sub>2</sub>	86	0	0	86	—	—
6	エンレイ×東山系NA16(M-M) F <sub>2</sub>	170	0	0	170	—	—
7	エンレイ×東山系NA16(M-M) F <sub>2</sub>	111	0	0	111	—	—

体と同様の抵抗性反応とみなせば、全ての組合わせで抵抗性反応と感受性が3:1の分離比に適合し、抵抗性が単因子で発現していることを示した(表26)。

一方、NSを抵抗性や感受性とは別の反応としてみなせば、東山140号を抵抗性親とし、タチナガハとタマホマレを片親として用いた組合わせでは $F_1$ はすべてNSを、 $F_2$ ではモザイク、NS、健全が1:2:1の分離比に適合し、不完全優性因子による分離を示した。しかし、スズユタカやホウレイを抵抗性親とした場合にはNS個体が相対的に少なく、特定の分離比傾向を認めることができなかった。戻し交配と $F_3$ の検定結果では、東山140号にタマホマレとタチナガハを交配した $F_1$ にそれぞれタマホマレとタチナガハの感受性品種を戻し交配したところ、NSとモザイクがそれぞれ1:1の単因子支配による分離比に適合した(表27)。得られたNS個体の次代種子を検定したところ、タマホマレとタチナガハを戻し交配した集団では抵抗性反応とモザイク個体がヘテロ接合個体の自殖後代の分離比に該当する3:1の分離比に適合した(表28)。一方、東山140号とタチナガハの $F_2$ 集団でNSを示した個体の次代では、抵抗性反応とモザイクがヘテロ接合個体の次代にあらわれる3:1の分離比に適合した(表29)。

・抵抗性品種×抵抗性品種

3組合わせを用いて検討した。ホウレイ×東山140号、東山140号×スズユタカの組合わせにおいては、抵抗性反応とモザイクが15:1に分離し、これら品種の抵抗性遺伝子が独立であることを示した。しかしスズユタカ×ホウレイの組合わせではモザイクが発生せず、これらの品種が同一の座位に抵抗性遺伝子を持っていることを示した(表30)。

・感受性品種×部分抵抗性品種



表26 SMV-C系統に抵抗性と感受性の組合わせF<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>集団の表現型の分離

組合わせ No.	組合わせ (反応組合わせ)	集団 名	供試 個体数	F <sub>2</sub> 表現型				$\chi^2$ test	
				H	NS (H+NS)	M		$\chi^2(3:1)$	P
8	ホウレイ×エンレイ(H-M)	F <sub>1</sub>	16	4	12	16	0		
		F <sub>2</sub>	180	106	26	132	48	0.26	>0.50
9	ホウレイ×信濃黒(H-M)	F <sub>1</sub>	5	0	5	5	0		
		F <sub>2</sub>	148	90	25	115	33	0.57	>0.25
10	農林4号×ホウレイ(M-H)	F <sub>1</sub>	4	2	2	4	0		
		F <sub>2</sub>	238	154	24	178	60	0.00	>0.90
11	スズユタカ×エンレイ(H-M)	F <sub>1</sub>	—						
		F <sub>2</sub>	215	153	19	172	43	2.86	>0.05
12	ワセシロゲ×スズユタカ(M-H)	F <sub>1</sub>	7	0	7	7	0		
		F <sub>2</sub>	181	121	11	132	49	0.41	>0.50
13	タマホマレ×スズユタカ(M-H)	F <sub>1</sub>	10	0	10	10	0		
		F <sub>2</sub>	191	128	13	141	50	0.14	>0.50
14	スズユタカ×タチナガハ(H-M)	F <sub>1</sub>	50	22	28	50	0		
		F <sub>2</sub>	570	300	127	427	143	0.00	>0.90
15	農林4号×スズユタカ(M-H)	F <sub>1</sub>	8	1	5	6	0		
		F <sub>2</sub>	148	92	14	106	42	0.90	>0.25
16	エンレイ×東山140号(M-H)	F <sub>1</sub>	—						
		F <sub>2</sub>	251	126	51	177	74	2.68	>0.10
17	東山140号×タチナガハ(H-M)	F <sub>1</sub>	5	0	5	5	0		
		F <sub>2</sub>	669	179	314	493	176	0.61	>0.25
18	タマホマレ×東山140号(M-H)	F <sub>1</sub>	7	0	7	7	0		
		F <sub>2</sub>	625	252	459	711	214	1.71	>0.10
合計(F <sub>2</sub> )			4,302	2,139	1,083	3,222	1,080	0.02	0.90

注) F<sub>2</sub>個体の反応は、H: 抵抗性または無病徴、NS: ネクロティックス病、(H+NS): HとNS個体数の合計値、M: モザイク。

表27 東山140号の交雑F<sub>1</sub>に感受性品種を戻し交配したB<sub>1</sub>F<sub>1</sub>集団にSMV-C系統を接種したときの表現型の経時的変動

組合わせ No.	組合わせ (反応組合わせ)	供試 個体数	接種後 日数	B <sub>1</sub> F <sub>1</sub> 表現型		
				H	NS	M
17	(東山140号×タチナガハ) ×タチナガハ (H-M)M)	49	8日	27	0	22
			18	2	24	23
			22	1	25	23
18	(タマホマレ×東山140号) ×タマホマレ (H-M)M)	50	8日	26	0	24
			18	7	19	24
			22	3	23	24

表28 SMV-C系統に感受性と抵抗性の組合わせB<sub>1</sub>F<sub>1</sub>集団の部分抵抗性集団(NS)における次代B<sub>1</sub>F<sub>2</sub>集団の表現型の分離

組合わせ No.	組合わせ (反応組合わせ)	供試 個体数	B <sub>1</sub> F <sub>2</sub> 表現型				$\chi^2$ test	
			H	NS	(H+NS)	M	$\chi^2(3:1)$	P
14	スズユタカ×タチナガハ(H-M)	958	712	0	712	246	0.23	>0.50
18	タマホマレ×東山140号(M-H)	764	579	0	579	185	0.25	>0.50

表29 SMV-C系統に感受性と抵抗性の組合わせF<sub>2</sub>集団の部分抵抗性集団(NS)における次代F<sub>3</sub>集団の表現型の分離

組合わせ No.	組合わせ (反応組合わせ)	供試 個体数	F <sub>3</sub> 表現型				$\chi^2$ test	
			H	NS	(H+NS)	M	$\chi^2(3:1)$	P
17	東山140号×タチナガハ(H-M)	428	275	36	311	117	1.246	>0.20

表30 SMV-C系統に抵抗性同士の組合わせにおけるF<sub>2</sub>集団の表現型の分離

組合わせ No.	組合わせ (反応組合わせ)	供試 個体数	F <sub>2</sub> 表現型				$\chi^2$ test	
			H	NS	(H+NS)	M	$\chi^2(15:1)$	P
19	ハウレイ×東山140号(H-H)	270	226	34	260	10	2.98	>0.05
20	スズタカ×ハウレイ(H-H)	298	298	0	298	0	-	-
21	東山140号×スズタカ(H-H)	296	282	0	282	14	1.16	>0.25
合計		566	508	34	542	24	1.71	>0.10

注) 合計データはスズタカ×ハウレイの組合わせを除いて示した。

表31 SMV-C系統に感受性と部分抵抗性の組合わせF<sub>2</sub>集団(一部F<sub>1</sub>集団を含む)における表現型の分離

組合わせ No.	組合わせ (反応組合わせ)	供試 個体数	F <sub>2</sub> 表現型				$\chi^2$ test	
			H	NS	(H+NS)	M	$\chi^2(3:1)$	P
22	金元1号×東山122号(M-N) F <sub>1</sub>	7	0	7	7	0	2.76	>0.05
		F <sub>2</sub> 174	118	22	140	34		
23	東山137号×Dorchsoy31(M-N) F <sub>2</sub>	295	46	162	208	87	3.17	>0.05
24	東山122号×エンレイ(N-M) F <sub>2</sub>	131	0	105	105	26	1.85	>0.10
合計		600	164	289	453	147	0.08	>0.75

3組合わせを用いて検討した。 $F_1$ はNSを示し、 $F_2$ ではモザイク、NS、健全の3種類が認められた。このうち東山122号×エンレイの組合わせでは、接種後20日以降で健全個体は認められなかった(図22)。いずれの組合わせにおいてもモザイクは初期に発生して一定になるが、NSも初期から急激に増加した。この組合わせでも抵抗性反応とモザイクは3:1に分離し、単因子優性遺伝子に支配される結果が得られた(表31)。

・抵抗性品種×部分抵抗性品種

3組合わせを用いて検討した。 $F_1$ はHまたはNSを示し、 $F_2$ では抵抗性反応とモザイクが15:1に分離した。抵抗性遺伝子と部分抵抗性遺伝子は独立に遺伝する結果となった(表32)。

・Pekingの組合わせの場合

Pekingに感受性、抵抗性、部分抵抗性のそれぞれの品種を組合わせた結果、いずれの組合わせにおいてもモザイク個体が常増加する傾向にあり、特定の分離比を検討することが困難であった。しかし、E系統の結果で後述するように、接種後10～14日程度の時期に見れば、通常のモザイク個体とヘテロである後発モザイク個体をほぼ分割できることが分かったため、接種後13日目の分離比を見た。その結果、感受性品種(エンレイ、農林4号、金元1号)との組合わせでPekingは単因子優性の遺伝子を有し、抵抗性または部分抵抗性品種との組合わせでは抵抗性反応と感受性が15:1となり、それぞれの抵抗性遺伝子が独立に遺伝する結果となった(表33)。

表32 SMV-C系統に抵抗性と部分抵抗性の組合わせF<sub>2</sub>集団（一部F<sub>1</sub>集団を含む）における表現型の分離

組合わせ No.	組合わせ (反応組合わせ)	供試 個体数	F <sub>2</sub> 表現型				$\chi^2$ test	
			H	NS	(H+NS)	M	$\chi^2$ (15:1)	P
25	ホウレイ×東山122号(H-N) F <sub>1</sub>	11	4	7	11	0		
	F <sub>2</sub>	150	101	38	139	11	0.30	>0.75
26	東山140号×東山122号(H-N) F <sub>2</sub>	227	150	66	216	11	0.76	>0.25
27	スズタカ×東山122号(H-N) F <sub>2</sub>	119	82	30	112	7	0.02	0.90
合計		496	333	134	467	29	0.13	>0.50

表33 Pekingとの組合わせでSMV-C系統を接種して13日目のF<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>集団の表現型の分離（一部組合わせでF<sub>1</sub>検定なし）

組合わせ No.	組合わせ (反応組合わせ) 集団	供試 個体数	F <sub>2</sub> 表現型				$\chi^2$ 検定	
			H	NS	(H+NS)	M	$\chi^2$	P
28	Peking×東山138号(H-N) F <sub>1</sub>	12	12	0	12	0		
	F <sub>2</sub>	270	240	11	251	19	0.28(15:1)	>0.50
29	Peking×ホウレイ (H-H) F <sub>2</sub>	176	163	4	167	9	0.38(15:1)	>0.50
30	Peking×エンレイ (H-H) F <sub>1</sub>	15	15	0	15	0		
	F <sub>2</sub>	192	134	1	135	57	2.25(3:1)	>0.10
31	Peking×スズタカ(H-H) F <sub>2</sub>	180	168	0	168	12	0.05(15:1)	>0.80
32	Peking×農林4号(H-H) F <sub>1</sub>	15	15	0	15	0		
	F <sub>2</sub>	212	151	1	152	60	1.23(3:1)	>0.20
33	金元1号×Peking (M-H) F <sub>1</sub>	9	9	0	9	0		
	F <sub>2</sub>	182	139	0	139	43	0.18(3:1)	>0.50

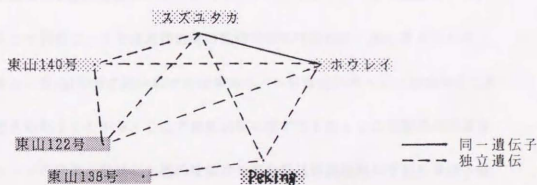


図24 SMV-C系統に対する3種類の抵抗性を有する品種間における遺伝子の連鎖、独立関係。

- 注) 1) 網掛け は抵抗性品種，網掛け は部分抵抗性品種，網掛け は無病徴感染型抵抗性品種を示す。  
2) 東山122号と138号は同一の部分抵抗性品種（東山65号：育成系統）を母本として育成された系統である。

### 3) 考察

抵抗性または部分抵抗性品種を用いた場合には、モザイクの発生する時期は接種後8～10日で一定なのに対し、NS個体は遅れて発生し、組合わせによりその発生頻度に著しい変異が認められた。モザイクは調査時期を接種後10日以降とすればよいと考えられるが、NSの場合は常に増加傾向にあるため、分離比の調査をいつにするかが問題となる。これまでの国内、国外の報告ではこの点に言及したものは見あたらず、調査時期も明確ではなかったので、ここではおおむね20日以降のデータを用いて分離比計算をすることにした。この時期は接種葉が黄変して脱落が始まる時期であり、観察によると接種葉の脱落後はNSの増加が止まることが分かったためである。

モザイクとNSはPekingの組合わせを除いて同一個体で混在することがなく、遺伝的に異なる表現型と考えられる。KIIHL and HARTWIG(1979)はNSを抵抗性反応の一種として考え、LIM(1985)はモザイクと同様の感受性として計算している。それぞれ供試した品種と病原系統が異なるため単純な比較はできないが、NSを感受性か抵抗性かのいずれに見なすかにより結果は大きく左右される。これまでの観察で、NSは局部病斑の集合で抵抗性反応の一種と考えられたこと、また、東山140号の組合わせの結果から、NSは抵抗性ヘテロの表現型であると考えられることから、ここでは抵抗性に準ずるものとして分離比の計算を行った。その結果、供試した抵抗性品種と部分抵抗性品種はいずれも単因子優性の抵抗性遺伝子を有することが明らかとなった。このうちホウレイとスズメタカの遺伝子は同一の座位に存在し、東山140号と部分抵抗性品種の遺伝子はこれらとは互いに独立の単一の優性遺伝子を有するものと考えられた(図24)。



一方、NS 個体を健全とモザイクの中間に位置する部分抵抗性反応としてとらえると、東山140号の組合わせにおける  $F_1$ 、 $F_2$ 、 $F_3$  の結果、あるいは戻し交配集団への結果などから、東山140号の抵抗性は単一の不完全優性遺伝子が関与しているものと考えられる。これに対しホウレイヤスズユタカでは、東山140号の組合わせよりもNS 個体の発生が少ないため、一定の傾向をとらえることができなかった。東山140号の結果からみて、NS はヘテロ接合体の表現型と思われるが、ホウレイヤスズユタカの因子を持つときにはNS が発現しにくくなるということは、これら品種の抵抗性レベルが東山140号よりも強いのか、あるいは抵抗性遺伝子以外の別の要因が関与している可能性がある。一般にウイルスの病徴発現は気温に影響され易いことが知られており、SMV の場合も同様のことと言えるものと考えられる。とくに、ネクロシスの発現は低温条件よりも高温で多いことが認められている (CHO and GOODMAN (1979))。したがって、ホウレイヤスズユタカの抵抗性遺伝子は、抵抗性の発現程度が東山140号よりも強いためにNS が現われにくい、温度条件を変えればNS が増加し、東山140号の場合と同様不完全優性の分離比に近づく可能性がある。

ホウレイヤスズユタカ、東山140号と感受性品種の組合わせの  $F_1$  がNS を示すものが多かったことは、これら品種の抵抗性遺伝子はヘテロの状態の部分抵抗性遺伝子のホモの状態と同等であることを示している。このことは、抵抗性品種の遺伝子は、ウイルスの増殖を抑制する効果が部分抵抗性遺伝子よりも強いことを示すものである。KIIHL and HARTWIG(1979)は、SMV-G3 に対する抵抗性遺伝子Rsv1が同一座位にある部分抵抗性遺伝子rsv<sup>1</sup>よりも優性であることを報告しており、遺伝子発現の優劣とウイルスの抑制効果の大小とが符合し

ている好例であろう。日本国内の抵抗性遺伝子は独立遺伝のため、遺伝子の優劣関係について現時点では明言できないが、外国の病徴との類似性から見て同様な遺伝子の発現傾向があるものと思われる。

Pekingの交雑後代では、モザイク個体が常増加傾向にあったために、特定の分離比を考察できなかった。しかし、初期に発生するモザイク頻度が一定になる接種後13日目の結果からみて、Pekingの遺伝子は単一の優性遺伝子であり、他の抵抗性や部分抵抗性遺伝子とは独立に遺伝することが明らかとなった(図24)。Pekingの抵抗性の遺伝様式についてはV-3でも述べるが、解明されたのはこれが初めてである。

SMVの抵抗性遺伝様式について、これまで報告されてきたことを今回得られた結果と比較すると、国内においては、越水・飯塚(1963)はA系統に対して奥羽13号と農林2号などの抵抗性品種は単一の優性遺伝子を持つと報告し、一部の品種では $F_1$ が感受性で $F_2$ で抵抗性と感受性が7:9に分離比したと報告している。しかし、これに該当する分離比は今回の実験では認められなかった。しかし、KIIHL and HARTWIG(1979)も指摘しているように、NSを感受性としてとらえれば説明がつく。長沢・飯塚(1977)は、B、D系統を用いてネマシラズとHarosoyの抵抗性遺伝様式を調べ、単因子優性による抵抗性遺伝の場合とともに、これに該当しない分離比もあることを報告している。これらの報告と今回の研究結果をまとめると、一般的に言って、日本国内のSMVに対するダイズ品種の抵抗性は単一の優性あるいは不完全優性の遺伝子によるものと考えられる。しかし、時として単因子優性の分離比に該当しない結果が得られるのは、多くの場合ヘテロ接合体のNSを感受性と見なしたり、あるいは実験中の温度条

件や接種後の観察時期の違いでNSが見えたり見えなかったりするためであろうと考えられる。このように、抵抗性が単因子優性であれば、SMVの抵抗性検定は分離世代初期で効率的にできるはずである。この点で橋本・長沢(1987)は、デウムスメとスズユタカの育成過程において抵抗性の固定に数年間を要していることを報告しているが、これは接種後の気温条件や母本による影響により、NSがあまり発生しなかったため、ヘテロ接合個体を淘汰できなかったためではないかと考えられる。

これら国内の報告に対して海外からの報告では、これまでにSMVのG1からG7、G7Aまでの系統を用いた結果が複数の研究者から報告されている。このうち、KIIHL and HARTWIG(1979)は、G2とG3系統を供試して、品種PI 96983とOgdenがそれぞれ単因子優性の同一遺伝子座に存在する抵抗性遺伝子Rsv1とrsv1を保有すると報告した。飯塚(1987)によれば、G2に該当する系統は日本国内にはないが、G3はA、B系統に該当するとしており、本研究(II-4)でも同様な結果となった。BUZZEL and TU(1984)は、G6、G7とG7A系統を供試して、G7に抵抗性の品種OX670をPI96983と比較し、本品種の保有する抵抗性はPI96983の遺伝子Rsv1とは独立に遺伝する別の優性遺伝子Rsv2によるものであると報告している。OX670は抵抗性をライデンから導入しているが、ライデンはC系統には感受性(モザイク)である。LIM(1985)は、G1からG7までの全系統に抵抗性のPI483.084(Suwon97)とPI486.355の抵抗性を調べ、それぞれ独立に遺伝する単一の優性遺伝子を持つことを報告している。これらの遺伝子はRsv1とは独立と考えられたが、新たな分離系統C14の反応からみて、PI 483.084の遺伝子はOX670の遺伝子Rsv2とほぼ同等のものであろうと考察してい

る。したがって、もうひとつの供試品種PI486.355の遺伝子は、これまで海外で報告された抵抗性遺伝子の中ではSMV系統に対する抵抗性の幅が最も広いという点で、最強の抵抗性遺伝子であると考えられる。さらに、ROANE et al. (1986), BUSS et al. (1987)らは、G1に抵抗性のYork, Marshall, Kwanggyo, Ogden, PI96983を用いて、F<sub>3</sub>系統にG1を接種し、これらの抵抗性が単一の優性遺伝子であること、また各品種の遺伝子は同一の座位か極めて近い位置に存在することを報告した。また、BUZZELL and TU(1989)は、品種Columbiaより導入したOX686の抵抗性がG4系統にNSを示し、これが単一の優性遺伝子Rsv3によると報告している。

以上、これまで報告された多くの事例からみて、SMVに対する抵抗性は、今回の実験と同様にいずれも単一の優性遺伝子によるものと思われ、その遺伝子は病原系統ごとに異なる複数の種類が存在することを示唆している。しかし若干の例外も報告され、KWON and OH(1980)はKwanggyoやタチスズナリにNSを示す韓国のSMV-N系統を用いて実験し、抵抗性が単一の劣性遺伝子である例を報告した。日本のE系統はこれらの品種にNSを示すが、本研究の中では抵抗性が劣性となる現象は認められなかった。したがって、SMV-Nは日本の系統とは病原性の点で全く異質なものであろう。

日本の抵抗性遺伝子と外国の遺伝子を比較する場合、遺伝子の比較は同じウイルス系統を供試して行われる必要がある。しかし、現状では海外のウイルス系統を直接供試して比較することができない。したがって、ここではSMV系統と品種の反応からさらに相互の関連を検討し、日本の品種の抵抗性遺伝子と外国のそれとの比較を以下に試みた。

今回供試した東山140号、ホウレイ、スズユタカの抵抗性品種は、いずれも A, B 系統に抵抗性であることから考えて、G 3 には抵抗性と思われる。したがって、A, B 系統に抵抗性の日本の品種はPI96983とL78-379のG 3 に対する抵抗性遺伝子Rsv1と同等の遺伝子を持つものと思われる。しかし、C 系統に対する抵抗性は、外国に同等の系統がないこと、また、PI96983とL78-379, Buffaloの3品種は外国の系統には同一の反応でありながら、日本の系統には異なる反応を示したこと、さらに、ライデンはG 7 系統に抵抗性の遺伝子Rsv2の遺伝子源とされているが、ライデンはC 系統には感受性(M)であることから、C 系統に対する抵抗性遺伝子は外国から報告のある遺伝子Rsv1, Rsv2とは異なるものと考えられる。しかし、Rsv2を保有すると推定されたPI483084 (Suwon97)は、日本の系統に対しスズユタカなどの抵抗性品種と同じ反応であったことから、その遺伝子は似ている可能性はある。また、G 4 系統については日本の系統に該当するものがないため、遺伝子Rsv3との関係は不明である。

以上のように、A, B 系統に対する抵抗性遺伝子はRsv1と同等であると考えられたが、日本の判別方式ではこれらの系統は区別されているので、遺伝子は異なると思われる。また、C 系統の遺伝子は海外で報告された遺伝子とは異なると考えられ、D, E についても後述するように、外国のものと異なると考えられる。したがって本研究では、日本国内の抵抗性遺伝子を現在のA ~ E 系統分類に基づいて特定するために、Soybean Genetics Committee (1987) の基準に従い、表3 4 のように各遺伝子の記号を付けることとしたい。たとえば、スズユタカやホウレイのC 系統に対する抵抗性遺伝子はRsv1-c、東山140号の抵抗性遺伝子はRsv2-c、また、Pekingの遺伝子はRsv4-cとするよう提案したい。な



表34 これまでに報告されたSMV抵抗性遺伝子と本研究で新たに見いだされた抵抗性遺伝子(上:外国系統による遺伝子、下:日本系統による遺伝子)

抵抗性品種名(病徴)	SMV系統	遺伝子記号	文献
PI96983 (H)	SMV-G2, G3	Rsv1	KIIHL and HARTWIG(1979)
Ogden (NS)	SMV-G3	rsv <sup>t</sup>	KIIHL and HARTWIG(1979)
OX870, ライデン(H)	SMV-G7	Rsv2	BUZZELL and TU(1984)
OX886 (NS)	SMV-G4	Rsv3	BUZZELL and TU(1989)
Suwon97(PI483084)(H)	SMV-G7	(Rsv2)	LIM(1985)
PI486355 (H)	"	-	LIM(1985)
York	SMV-G1	-	ROANE et al.(1983)
Marshall	"	-	BUSS et al.(1989)
Kwanggyo	"	-	BUSS et al.(1989)
<hr/>			
奥羽13号(H)	SMV-A	-	越水・飯塚(1963)
農林2号(H)	"	-	"
エンレイ(H)	"	Rsv1-a	
ネマシラズ(H)	SMV-B	-	長沢・飯塚(1977)
エンレイ(H)	"	Rsv1-b	
スズユタカ, ホウレイ(H)	SMV-C	Rsv1-c	
東山140号(H)	"	Rsv2-c	
東山122号, Dorchoy31(NS)	"	Rsv3-c	
Peking(H)	"	Rsv4-c	
Harosoy(H)	SMV-D	-	長沢・飯塚(1977)
スズユタカ, ホウレイ(H)	"	Rsv1-d	
東山140号(H)	"	-	
東山122号, 138号(NS)	"	-	
東山122号, Dorchoy31(H)	SMV-E	-	
イン4, 3044, 東山140号(NS)	"	Rsv1-e	
Peking(H)	"	-	

注) 1) 病徴は、H: 健全または無病徴、NS: 初ロフィックス<sup>®</sup>ット。

2) 下段は、これまでの報告を含め、今回検討した抵抗性品種の主要なものをSMVの系統ごとに列挙した。

3) 国内品種の遺伝子記号は、SMV-C系統に対する抵抗性遺伝子を中心に、連鎖、独立関係の明らかになったものに付けた。

4) SMV-A, B系統に対するエンレイの抵抗性遺伝子は、II-4の結果からG3に対する抵抗性遺伝子のRsv1と同等の可能性があるが、V-6の結果から連鎖した別遺伝子であることが明らかとなった。

お、品種OgdenはA, B, C, D系統にNSを示し、E系統に抵抗性であったことから、部分抵抗性品種と同じ遺伝的背景を有するものと考えられる。したがって、A, B系統に対する部分抵抗性品種の遺伝子はOgdenの有する $rsv^t$ と同種であると考えられるが、C系統については今のところ明言できない。ここでは、C系統に対する部分抵抗性品種の遺伝子を $Rsv3-c$ としたい。なお、東山122号や138号などの部分抵抗性(NS反応)は白鳳(6)(宮城県の在来種)に由来することが育成経過により判明したが、Ogdenに導入された遺伝子 $rsv^t$ の由来は品種Tokyoであると言われており、これら2品種のももとの遺伝的経路は今後の興味ある課題である。

遺伝子対遺伝子説(gene-for-gene theory)は、宿主の抵抗性または罹病性遺伝子と病原体の非病原性または病原性遺伝子の関係を説明したものである。抵抗性反応は、抵抗性遺伝子を持つ品種と非病原性遺伝子を持つウイルス系統が遭遇したときに起こるとされている。理想的な判別品種体系は、単一の抵抗性遺伝子を持つ品種の組合わせである(清沢(1985))が、現在のSMV判別品種体系は、抵抗性の反応の組合わせパターンによる類別であるため、特定の品種の抵抗性遺伝子が複数の系統に対し抵抗性を示す可能性もあり、一方、同一のSMV系統であっても、病原性の遺伝子型の異なる群が含まれる可能性もある。SMVの抵抗性遺伝子分析が進むに従って次第に判別品種体系も整理され、国際的に統一されるものと思われるが、現状では抵抗性遺伝子を特定するために、SMV系統ごとに遺伝子を記述しておく必要があろう。日本の抵抗性品種の遺伝子を外国のものと対比してゆくためには、最終的には外国の系統を用いた遺伝実験が不可欠である。

## 2. SMVのD系統に対する抵抗性の遺伝

### 1)材料と方法

D系統に対する供試品種は、C系統の場合とほぼ同様である。すなわち、ホウレイ、スズユタカ、東山140号を抵抗性母本とし、部分抵抗性には東山122号、138号を用いた。Pekingの片親には金元1号を用いた。遺伝分析は $F_1$ 、 $F_2$ 集団を用いて行った。

### 2)結果

抵抗性と感受性の組合わせの $F_1$ の表現型は、C系統の場合と同様経時的に変化し、HまたはNSを示した(表35)。また、 $F_2$ 集団の接種後の病徴の変化はC系統の場合とおおむね同様であったが、NS個体の頻度はC系統の場合よりも多かった。

#### ・感受性×感受性

3組合わせを行ったが、いずれの組合わせもすべての個体がモザイクとなった(表36)。

#### ・感受性×抵抗性

7組合わせを用いて行った結果、いずれも抵抗性反応とモザイクが3:1となり、抵抗性が単因子優性であることを示す結果となった(表37)。

#### ・抵抗性×抵抗性(表38)

2組合わせを用いた。スズユタカとホウレイの組合わせはすべて抵抗性反応となり、C系統の場合と同様な結果となった。しかし、ホウレイと東山140号で

表35 抵抗性と感受性の組合わせF<sub>1</sub>にSMV-D系統を接種したときの表現型の経時的变化

組合わせ No.	組合わせ (反応組合わせ)	供試 個体数	接種後 日数	F <sub>1</sub> 表現型		
				H	NS	M
9	ハウレイ×信濃黒 (H-M)	29	30日	2	27	0
			38	0	29	0
			75	0	29	0
12	ワセシログ×スズユタカ (M-H)	39	30日	39	0	0
			38	39	0	0
			75	13	26	0
13	タマホマレ×スズユタカ (H-H)	21	30日	21	0	0
			38	10	11	0
			75	0	21	0

注) 反応の組合わせと表現型の表示は表26の脚注参照。

表36 SMV-D系統に感受性と感受性の組合わせF<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>集団の表現型の分離

組合わせ No.	組合わせ (反応組合わせ)	供試 集団	供試 個体数	F <sub>2</sub> 表現型			χ <sup>2</sup> test	
				H	NS	M	χ <sup>2</sup>	P
1	エンレイ×タマホマレ(M-M) F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	40	0	0	40	—	—
			179	0	0	179		
2	タマホマレ×東山145号(M-M) F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	29	0	0	29	—	—
			181	0	0	181		
3	東山128号×東山145号(M-M) F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	25	0	0	25	—	—
			192	0	0	192		

表37 SMV-D系統に抵抗性と感受性の組合わせF<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>集団の表現型の分離  
(一部組合わせでF<sub>1</sub>検定なし)

組合わせ No.	組合わせ (反応組合わせ)	供試 集団	供試 個体数	F <sub>2</sub> 表現型				χ <sup>2</sup> test	
				H	NS	(H+NS)	M	χ <sup>2</sup> (3:1)	P
8	ハウレイ×エンレイ(H-M)	F <sub>1</sub>	12	0	12	12	0	0.13	>0.50
		F <sub>2</sub>	197	53	97	150	47		
9	ハウレイ×信濃黒(H-M)	F <sub>1</sub>	29	0	29	29	0	0.08	>0.75
		F <sub>2</sub>	146	27	81	108	38		
11	スズユタカ×エンレイ(H-M)	F <sub>1</sub>	280	188	14	202	78	1.21	>0.25
12	ワセシログ×スズユタカ (M-H)	F <sub>1</sub>	39	13	26	39	0		
		F <sub>2</sub>	156	112	11	123	33	1.23	>0.25
13	タマホマレ×スズユタカ (M-H)	F <sub>1</sub>	21	0	21	21	0	1.06	>0.25
		F <sub>2</sub>	180	84	45	129	51		
16	エンレイ×東山140号(M-H)	F <sub>2</sub>	85	59	10	69	16	1.72	>0.10
合計 (F <sub>2</sub> )			1,044	523	258	781	263	0.02	>0.80

表38 SMV-D系統に抵抗性同士の組合わせにおけるF<sub>2</sub>集団の表現型の分離

組合わせ No.	組合わせ (反応組合わせ)	供試 個体数	F <sub>2</sub> 表現型			$\chi^2$ test	
			H	NS	M	$\chi^2$	P
19	ホウレイ×東山140号(H-H)	90	78	9	3	—	—
20	スズユタカ×ホウレイ(H-H)	77	76	1	0	—	—

表39 SMV-D系統に部分抵抗性と感受性、および抵抗性と部分抵抗性の組合わせF<sub>2</sub>集団における表現型の分離

組合わせ No.	組合わせ (反応組合わせ)	供試 集団	供試 個体数	F <sub>2</sub> 表現型				$\chi^2$ test	
				H	NS	(H+NS)	M	$\chi^2$	P
22	金元1号×東山122号(M-N)	F <sub>1</sub>	6	0	6	6	0	1.34(3:1)	>0.20
		F <sub>2</sub>	155	19	91	110	45		
35	金元1号×東山138号(M-N)	F <sub>1</sub>	8	0	8	8	0	2.11(3:1)	>0.10
		F <sub>2</sub>	182	12	116	128	54		
25	ホウレイ×東山122号(H-N)	F <sub>1</sub>	8	0	8	8	0	0.01(15:1)	>0.90
		F <sub>2</sub>	199	76	111	187	12		

表40 SMV-D系統をPekingの組合わせF<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>集団に接種したときの表現型の分離

組合わせ No.	組合わせ (反応組合わせ)	供試 集団	供試 個体数	F <sub>2</sub> 表現型				$\chi^2$ test	
				H	NS	(H+NS)	M	$\chi^2$	P
33	金元1号×Peking (M-H)	F <sub>1</sub>	5	5	0	5	0	1.64(3:1)	>0.10
		F <sub>2</sub>	182	128	1	129	53		

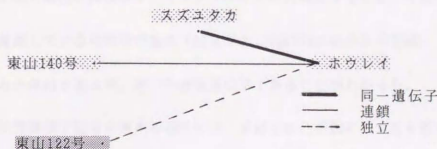


図25 SMV-D系統に対する2種類の抵抗性品種間における遺伝子の連鎖、独立関係。  
品種抵抗性の区別は図24と同様である。



は、抵抗性反応が87、モザイクが3となり、特定の分離比を当てはめられなかった。

・部分抵抗性×感受性（表39）

抵抗性反応とモザイクが3:1となり、単一の優性遺伝子である結果となった。

・抵抗性×部分抵抗性（表39）

1組合わせを用いた結果、抵抗性反応とモザイクが15:1となり、C系統と同様にそれぞれ単一の独立遺伝子である結果となった。

・Peking×金元1号

接種後約20日の分離比を表40に示した。抵抗性反応：感受性は3：1となり、抵抗性が単因子優性の結果となった。

### 3)考察

D系統に対する抵抗性の分離はC系統とほぼ同様な傾向であり、抵抗性と部分抵抗性遺伝子は単一の優性遺伝子であると考えられる。スズユタカとハウレイの組合わせではモザイクの分離がなかったことから、C系統と同様に同一の座位に遺伝子が存在するものと思われるが、ハウレイと東山140号の組合わせでは特定の分離比に該当せず、モザイクがわずかに発生することから抵抗性遺伝子が連鎖している可能性がある（図25）。Pekingの組合わせでは、1組合わせのみの検討であるが、単一の優性遺伝子であることがわかった。

抵抗性遺伝子記号を考える場合には、前述したC系統に対する4遺伝子との関連を考慮する必要がある。スズユタカ、ハウレイの遺伝子は、V-6で後述する切葉検定の結果、Rsv1-cと比較的強い連鎖で別遺伝子座に存在することが

示唆されたので、D系統に対する抵抗性遺伝子をRsv1-dとした。しかし、それ以外の品種の遺伝子については、現状では他の遺伝子との連鎖、独立関係が不明のため、特定できなかった(表34)。

一般に、D系統はCよりも病徴が明瞭で、同一組合わせでもモザイクの比率はほぼ同じであるが、NS個体の比率が明らかに大きく、本来C系統で健全であるものはD系統ではNSになるものが多いと考えられる。このことは、ウィルスの病原性(増殖力)がC系統よりも強いことを示すものと思われる。

なお、Pekingを用いた組合わせの検討結果は、接種時期が比較的高温の場合には明瞭に出るが、気温が低下する10月以降に実験すると病徴が見にくく、感受性か抵抗性かは肉眼ではほとんど判別不能であった。この点では、抵抗性または部分抵抗性を用いた組合わせにおけるモザイクは、気温が低下しても明瞭に判別できた。

### 3. SMVのE系統に対する抵抗性の遺伝

E系統は他の系統に比べて発病する品種が多く(長沢・渡辺(1988))、SMVの5系統の中では病原力が最も強い系統であると考えられている。これまでにE系統を用いた報告は無く、大きな課題であった。このことは、E系統に対する適当な抵抗性品種が無かったことと、抵抗性のPekingの性質が分かりにくかったことによるものと思われる。

#### 1) 材料と方法

E系統に対する抵抗性品種は、C、D系統に対してNSを示した東山122号や

138号などの品種、およびPekingである。スズユタカやホウレイなどのC、D系統に抵抗性であった品種はE系統に対してはNSを示した。そこで、E系統に対する抵抗性品種として東山122号、Dorchsoy31、東山138号およびPekingを、部分抵抗性品種としてスズユタカ、ホウレイ、東山140号、エンレイを用いた。また、感受性品種には農林4号を用いた。

Pekingの組合わせでは、片親に農林4号（感受性）、東山138号（抵抗性）、エンレイ、スズユタカ、ホウレイ（部分抵抗性）を用いて検討した。実験は2回行い、1回目では病徴が明瞭でなく、またモザイク個体がいつまでも漸増する状態であったため、2回目の実験では抵抗性の反応をより確実に類別するために、ELISA検定を各組合わせF<sub>2</sub>集団の約100個体ずつに2回実施し、また、これら検定したF<sub>2</sub>個体から各組合わせ200個体ずつ個体別に採種し、F<sub>3</sub>系統として1~7個体ずつ供試してE系統を接種検定した。接種法と調査はC、D系統の場合と同様である。

## 2) 結果

### ・ 部分抵抗性品種×部分抵抗性品種（表41）

ホウレイ×東山140号、エンレイ×東山140号の2組合わせの検討の結果、いずれもF<sub>2</sub>はNSとなり、ホウレイ、エンレイの部分抵抗性遺伝子は東山140号の遺伝子と同一である結果となった。

### ・ 感受性品種×部分抵抗性品種（表41）

農林4号×スズユタカ、農林4号×エンレイの2組合わせの検討の結果、抵抗性反応とモザイクが3:1に分離し、部分抵抗性が単一の優性遺伝子である

表 4 1 S M V - E 系統に部分抵抗性同士、感受性と部分抵抗性、抵抗性と部分抵抗性の組合わせ  $F_2$  (一部  $F_1$  を含む) 集団の表現型の分離

組合わせ No.	組合わせ (反応組合わせ)	供試 個体数	$F_2$ 表現型				$\chi^2$ test	
			H	NS	(H+NS)	M	$\chi^2(3:1)$	P
19	ホウレイ×東山140号(N-N)	$F_2$ 131	0	131	131	0	—	—
16	エンレイ×東山140号(N-N)	$F_2$ 163	0	163	163	0	—	—
15	農林4号×スズユタカ(H-N)	$F_1$ 8	0	8	8	0	—	—
		$F_2$ 118	10	78	88	30	0.01	>0.90
5	農林4号×エンレイ(H-N)	$F_2$ 242	2	182	184	58	0.13	>0.70
26	東山140号×東山122号(N-H)	$F_2$ 194	123	71	194	0	—	—
24	東山122号×エンレイ(H-N)	$F_2$ 134	85	49	144	0	—	—
23	東山137号×Dorchsoy31(N-H)	$F_2$ 284	152	131	283	1	—	—

表 4 2 Peking に対し抵抗性の異なる品種を組合わせ、S M V - E 系統を接種して 10 ~ 14 日後の  $F_1$ 、 $F_2$  集団の表現型の分離 (一部組合わせで  $F_1$  検定なし)

組合わせ No.	組合わせ (反応組合わせ)	供試 集団	供試 個体数	$F_2$ 表現型				$\chi^2$ test	
				H	NS	(H+NS)	M	$\chi^2(15:1)$	P
28	Peking×東山138号(H-H)	$F_1$	9	9	0	9	0	—	—
		$F_2$	502	436	36	472	30	0.06	>0.80
29	Peking×ホウレイ(H-N)	$F_2$	191	150	21	171	20	—	—
30	Peking×エンレイ(H-N)	$F_1$	12	12	0	12	0	—	—
		$F_2$	462	379	60	439	23	1.27	>0.20
31	Peking×スズユタカ(H-N)	$F_1$	8	8	0	8	0	—	—
		$F_2$	593	405	144	549	44	1.38	>0.20
31 逆	スズユタカ×Peking(N-H)	$F_2$	295	211	60	271	24	1.79	>0.10
32	Peking×農林4号(H-M)	$F_1$	18	18	0	18	0	—	—
		$F_2$	529	361	0	361	168	—(3:1)	—
合計 *			2,043	1,581	321	1,902	141	1.48	>0.20

注) 農林4号, スズユタカ, エンレイ, 東山138号の組合わせは2回の実験の合計値。

\* 農林4号の組合わせを除く。

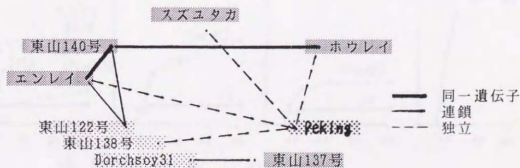


図 2 6 S M V - E 系統に対する3種類の抵抗性品種間における遺伝子の連鎖、独立関係。品種抵抗性反応は図 2 4 参照。

注) Dorchsoy31は S M V 系統に対して東山122号、138号と同一の反応を示す (表 9 - 1 参照)。

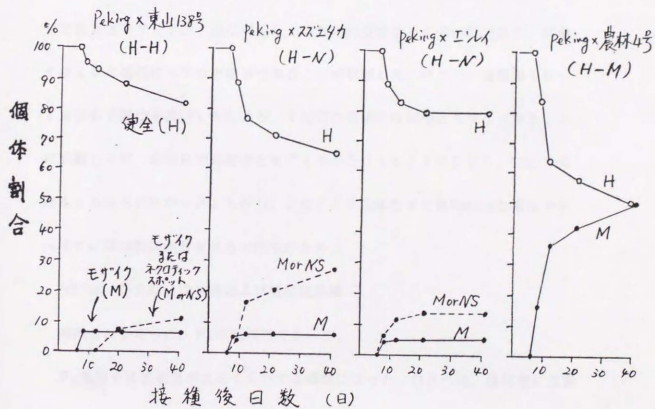


図 27 Peking との組合わせ Fe 集団に SMV-E 系統を接種したときの表現型の経時的变化。



結果となった。なお、農林4号×スズユタカのF<sub>1</sub>はNSを示した。

・抵抗性品種×部分抵抗性品種(表4 1)

3組合わせを用いて検討した結果、HとNSがほぼ9:7に分離し、M個体はほとんど認められなかった。このことは、抵抗性遺伝子と部分抵抗性遺伝子が強く連鎖している可能性を示す。

・Peking×感受性品種(表4 2)

F<sub>1</sub>では片親が農林4号の場合に、接種後約20日以降からモザイク(後発モザイク)となった(表2 3)。

F<sub>2</sub>では、モザイクのみが漸増し、接種後20日を過ぎても増加して最高で50%に達した(図2 7)。このため特定の調査時期を決めることができなかった。しかし、ELISA検定とF<sub>3</sub>検定を組合わせた調査の結果、接種後10~14日で現れるモザイクは、抵抗性遺伝子のない感受性ホモの個体群であり、後発モザイクは抵抗性ヘテロの個体であることが判明した。そこで、接種後10~14日の分離比を検討したところ、1回目の実験では健全とモザイクが3:1に分離したが、2回目では健全とモザイクが204:116になり、特定の傾向をとらえられなかった。しかし、この116個体の中にはPekingの遺伝子をヘテロに持つ個体が含まれる可能性がある。

・Peking×部分抵抗性品種および抵抗性品種

両組合わせともに、F<sub>1</sub>は抵抗性であった。

F<sub>2</sub>集団では表現型が大きく分けて3種類になった。ひとつは、接種葉に葉脈えそ(VN:図2 8)を示し、上位葉でモザイク(M)となる典型的な感受性個体群であり(M個体群とする)、これらは接種後10~14日の初期に現れ



図 2 8 Peking×農林 4 号の  $F_1$ ,  $F_2$  集団に SMV-E 系統を接種したときの接種葉にみられる病徴。いずれも左側は無接種葉。上：抵抗性ヘデロの個体におけるわずかな斑紋、下：抵抗性の無い個体における葉脈えそ。

て以後は増加しない個体群である。つぎは、接種葉では病徴が無いまたは極く僅かで（図28）、上位葉では遅れて発生するモザイクまたはネクロシスの個体群（MまたはNS個体群とする：図29）である。最後は、接種葉、上位葉ともに健全な無病徴個体群（H個体群とする）である。これら3種類の個体群に対しELISA検定を生育中に2回行った結果、M個体群はいずれの部位でもウイルスが増殖し、MまたはNS個体群では全部または一部で反応が認められ、種々のタイプが認められた。また、H個体群においてはほとんどの個体で反応が出なかったが、一部の個体では接種葉に反応が認められた。これら後代のF<sub>3</sub>を個体別に接種検定した結果、F<sub>2</sub>で生じたM個体群は感受性ホモ、MまたはNS個体群は抵抗性ヘテロであり、H個体群は抵抗性ヘテロと抵抗性ホモの2群が含まれることがわかった。以上のようなF<sub>2</sub>集団のELISA検定とF<sub>3</sub>系統の反応の結果は表43に組合わせごとにまとめた。

以上の結果から、F<sub>2</sub>の分離比を表現型から検討する場合には接種後10～14日程度の初期に分離比を見る必要があるものと判断した。検討の結果、M個体群とそれ以外の個体群の比率（M：（MまたはNS）+健全）はホウレイとの組合わせを除いて1：15に適合し、Pekingの遺伝子とそれ以外の品種の抵抗性または部分抵抗性遺伝子は独立に遺伝する結果となった。なお、ホウレイとの組合わせでは、M個体の中にPekingの遺伝子をヘテロに持つ個体が含まれている可能性がある。

### 3) 考察

ホウレイ、エンレイ、東山140号、スズユカカなどのE系統にNSを示す品種

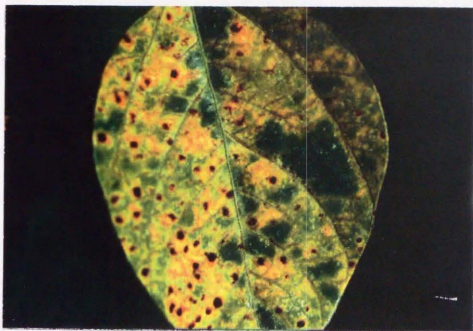


図29 SMV-E系統接種によるPekingの組合せに発生したMまたはNS病徴。Pekingの遺伝子に関与すると、このようにモザイク(M)かネクロティックスポット(NS)かが判然としない表現型が出現する。

表43 Pekingとの4組合せF<sub>2</sub>集団にSMV-E系統を接種したときの接種葉(PL)と上位葉(SI)の表現型の組合せとそれぞれの集団ごとのELISA反応別個体数およびF<sub>3</sub>遺伝子型別個体数

組合せ (反応組合せ)	F <sub>2</sub>		ELISA <sub>1</sub>			ELISA <sub>2</sub>		F <sub>3</sub> *1			F <sub>3</sub> *2		
	PL	SI	+/+	-/+	-/-	+	-	S	RS	R	S	RS	R
Peking×東山138号 (H-H)	VN M-M		6	0	0	4	2	6	0	0	9	1	0
	H H-M		4	4	3	9	2	0	11	0	0	21	0
	H H-H		0	5	76	2	79	0	37	44	0	62	105
Peking×スズタカ (H-N)	VN M-M		4	1	0	4	1	3	2	0	8	3	0
	H <sub>1</sub> VN H-M		4	5	4	11	3	(1)	10	(1)	(1)	21	(1)
	LL N-N, H-N		8	2	2	7	6	0	(14)	0	2	(24)	1
	H H-H		0	4	60	3	61	0	37	44	0	86	51
Peking×エンレイ (H-N)	VN M-M		5	0	0	4	0	5	0	0	-	-	-
	LL N-N		6	2	0	6	3	1	4	0	-	-	-
	H H-H		1	6	35	0	49	0	27	21	-	-	-
Peking×農林4号 (H-M)	VN M-M		5	0	0	1	4	5	0	0	-	-	-
	H H-M		7	5	3	8	7	4	10	1	-	-	-
	H H-H		1	3	15	1	18	0	15	4	-	-	-

- 注) 1) SIの表記中、M-Mは初期からモザイク、H-Mは初期は健全で後期にモザイク(後発モザイク)、H-Hは期間中健全であったことを示す。  
 2) ELISA<sub>1</sub>は接種後14日目、ELISA<sub>2</sub>は同40日目の結果を示す。+/+は上位葉/接種葉の反応組合せを示す。ELISA<sub>2</sub>は上位葉のみの結果を示した。  
 3) ELISA<sub>1</sub>には+/-という反応個体もあった。ELISA<sub>1</sub>とELISA<sub>2</sub>の合計個体数が一致しない理由はそこにある。  
 4) ( )はF<sub>3</sub>個体が少数のためホモかヘテロかが確実でない場合を示す。  
 5) F<sub>3</sub>表現型は、S:感受性ホモ、RS:抵抗性ヘテロ、R:抵抗性ホモを示す。F<sub>3</sub>\*1はELISA検定したF<sub>2</sub>約100個体の後代F<sub>3</sub>のデータ、F<sub>3</sub>\*2はこれらを含むF<sub>2</sub>約200個体分のF<sub>3</sub>データを示した。

の部分抵抗性遺伝子は、単一の優性遺伝子であり、ホウレイとエンレイの遺伝子は東山140号のそれと同じ遺伝子であることが明らかとなった（図26）。しかし、スズユタカの遺伝子との関係はここでは検討できなかった。これらの部分抵抗性遺伝子と東山122号、Dorchsoy31の抵抗性品種との交雑では、極く僅かにモザイクが発生するが、特定の分離比は認められなかった。したがって、これら両者の遺伝子は同一染色体上で連鎖しており、比較的連鎖が強いものと考えられる。抵抗性遺伝子記号は、C系統に対する遺伝子との関連でみると、東山122号やDorchsoy31の抵抗性遺伝子はRsv3-cと同一か否か不明であるが、ホウレイ、エンレイ、東山140号の遺伝子は、エンレイがC系統に感受性であることからみて、新たな遺伝子と考えられる。したがって、これら品種の抵抗性遺伝子をRsv1-eとするよう提案したい（表34）。

Pekingの抵抗性はこれまで最強のものと考えられてきた。しかし、Pekingとの組合わせで片親に農林4号を用いたときのF<sub>1</sub>では、潜伏期間は長いが激しいモザイクが生じたことから、抵抗性遺伝子がホモの場合には抵抗性で、ヘテロになると感受性になる特異なものであることが分かった。Pekingの接種葉では、Ⅲ-3で見てきたように、病徴は観察されないにもかかわらずELISA反応があったことから、ウイルスの増殖は起こっているものと考えられる。しかし上位葉では、病徴もELISA反応も認められなかった。したがって、Pekingの抵抗性はホモの時には無病徴感染でウイルスが他の葉位に移動しにくく、ヘテロではウイルスの葉位間の移動が徐々に生じ、感受性と同等にウイルスの増殖が起こるために病徴を発現するものと考えられる。このことは、スズユタカなどの抵抗性遺伝子がヘテロの場合には健全かNSを示してウイルス増殖を抑制することと



大きく異なる点である。

Pekingの抵抗性の遺伝様式を検討した結果、Pekingとの交雑後代 $F_2$ 集団では、モザイクやNS個体が漸増したが、それらには2種類の遺伝子型が含まれることが明らかとなった。すなわち、病徴で見ると、接種葉で葉脈えそ(VN)を示し、上位葉でモザイク(M)となる典型的な感受性個体群(M個体群)、それと接種葉では病徴が無いかまたは極く僅かで、上位葉ではやや遅れて発生するモザイクまたはネクロシスの個体群(MまたはNS個体群)の2種類である。ELISA検定と $F_3$ 後代検定の結果、M個体群は抵抗性遺伝子の無い個体群、MまたはNS個体群は抵抗性遺伝子がヘテロであると考えられた。また、健全(H)個体群はヘテロと抵抗性ホモの混合であると考えられる。このうちヘテロ群は、Peking由来の遺伝子とそれ以外からの遺伝子が複合しているので複雑な組合わせとなり、そのために種々の表現型の組合わせが生ずるものと思われる。接種後10~14日の $F_2$ 分離比や $F_3$ 系統分離比の結果などから、Pekingの持つ無病徴感染型抵抗性遺伝子は単一の優性遺伝子であり、他の品種の抵抗性または部分抵抗性遺伝子とは独立であると考えられる(図26)。なお、遺伝子記号はC系統に対するPekingの抵抗性遺伝子(Rsv4-c)との関連が現状では不明のため、言及できない。

これまで見てきたように、ダイズ品種のSMVに対する抵抗性遺伝子には、大きく分けて3つあり、ウイルス増殖や病徴発現を完全に抑える抵抗性、ネクロシス(過敏反応)を示す部分抵抗性、それにPekingのような無病徴感染型抵抗性の3種類のあることが明らかとなった。無病徴感染はタバコや果樹など

にも事例が多いが、Pekingに見られた無病徴感染は局部でのウイルス増殖のみで全身感染しない点が異なる。タバコなどの無病徴感染の事例は、むしろ金元1号やNC1-2-2などのように環境条件によっては病徴が発生する品種に近いと思われる。Pekingのような抵抗性が他の品種にもあるかどうかは今のところ不明であるが、今後血清診断を併用して探索する必要がある。無病徴感染型品種は接種部位でのウイルスの増殖は起こるが、他の部位へのウイルスの移行が無いことから、ウイルスの病原性の変異が少なくなると同時に、褐斑粒の発生の危険性が大幅に軽減される可能性がある。また、弱毒ウイルスと同様な干渉効果も考えられる。したがって、この遺伝子を導入することにより、抵抗性遺伝子の罹病化を未然に防止することが期待されるほか、収量や品質への被害も軽減できるものと考えられる。今後はこの抵抗性遺伝子を基礎にして、さらに抵抗性や部分抵抗性遺伝子を複合導入した複合抵抗性系統を育成することにより、長期にわたって安定した抵抗性を維持できる品種の登場が期待される。

#### 4. SMVのA, B系統に対する抵抗性の遺伝

A, B系統に対する抵抗性の遺伝は、越水・飯塚(1963)、長沢・飯塚(1977)により調査され、単因子優性であることが明らかとなっている。用いられた品種は、奥羽13号や農林2号、ネマシラズであるが、ここでは現在の奨励品種エンレイを用いて再検討した。

##### 1)材料と方法

A, B系統に対する抵抗性品種のエンレイを用い、金元1号と農林4号を組

合わせた検討を行った。接種方法や調査方法はこれまでの調査と同様である。

## 2) 結果と考察

A系統の結果を表4 4に、B系統の結果を表4 5に示した。前述の報告と同様に、奨励品種エンレイにおいてもA、B両系統に対する抵抗性は単因子優性の結果となった。これらの抵抗性遺伝子は、V-1で述べたように、Rsv1と同等である可能性がある。

## 5. 抵抗性遺伝子と他の形質との関係

### 1) 材料と方法

これまで用いてきた組合わせにおいて、葉形、毛茸色、胚軸色、粒色（黒色）の異なる組合わせの個体比率を検討し、抵抗性遺伝子とこれら質的形質の独立または連鎖の関係を調べた。供試した系統はCまたはE系統である。

### 2) 結果と考察

葉形、毛茸色、胚軸色、粒色のいずれも、CまたはE系統に対する抵抗性遺伝子との特定の関連は認められず、それぞれ独立の関係にあった（表4 6-1, 2, 3, 4, 5）。したがって、育種に当たってはこれら形質とは独立に抵抗性系統の選抜が可能である。

## 6. SMVの各系統に対する抵抗性遺伝子間の連鎖関係

SMVに対するダイズの抵抗性遺伝子は単一の優性または不完全優性遺伝子で

表 4 4 S M V - A 系統に感受性と抵抗性の組合わせにおける F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub> 集団の表現型の分離

組合わせ No.	組合わせ (反応組合わせ)	供試 集団	供試 個体数	F <sub>2</sub> 表現型			$\chi^2$ test	
				H	NS (H+NS)	M	$\chi^2(3:1)$	P
3 3	金元 1 号 × エンレイ (M-H)	F <sub>1</sub>	14	12	2	14	0	
		F <sub>2</sub>	201	126	22	148	53	0.20 >0.60

表 4 5 S M V - B 系統に感受性と抵抗性の組合わせにおける F<sub>2</sub> 集団の表現型の分離

組合わせ No.	組合わせ (反応組合わせ)	供試 集団	供試 個体数	F <sub>2</sub> 表現型			$\chi^2$ test	
				H	NS (H+NS)	M	$\chi^2(3:1)$	P
5	農林 4 号 × エンレイ (M-H)	F <sub>2</sub>	115	84	5	89	27	0.19 >0.60

表4 6-1 葉形遺伝子と抵抗性遺伝子の関係 (C系統)

組合わせ (遺伝子組合わせ)	丸葉(Ln)		長葉(ln)		$\chi^2$ test(9:3:3:1)	
	抵抗性	モザイク	抵抗性	モザイク	$\chi^2$	P
東山140号×タチカハ(Ln-Ln)	371	137	121	39	0.20	>0.95
スズタカ×タチカハ(Ln-Ln)	325	104	92	39	0.27	>0.95

表4 6-2 胚軸色遺伝子と抵抗性遺伝子の関係 (C系統)

組合わせ (遺伝子組合わせ)	紫色(W <sub>1</sub> )		緑色(w <sub>1</sub> )		$\chi^2$ test(9:3:3:1)	
	抵抗性	モザイク	抵抗性	モザイク	$\chi^2$	P
エンレイ×東山140号(W <sub>1</sub> -W <sub>1</sub> )	107	47	27	11	5.70	>0.10
東山140号×タチカハ(W <sub>1</sub> -W <sub>1</sub> )	380	144	114	32	0.48	>0.90
タチカハ×東山140号(W <sub>1</sub> -W <sub>1</sub> )	519	162	192	52	0.27	>0.95
農林4号×ホウレイ(W <sub>1</sub> -W <sub>1</sub> )	144	37	46	12	2.64	>0.25
農林4号×エンレイ(W <sub>1</sub> -W <sub>1</sub> )	141	42	44	15	0.46	>0.90

注) W<sub>1</sub>, w<sub>1</sub>はそれぞれ花色の紫、白の遺伝子記号で、胚軸色の紫、緑と同等(多面発現)

表4 6-3 胚軸色遺伝子と種々の抵抗性遺伝子の関係 (E系統)

組合わせ (遺伝子組合わせ)	紫色(W <sub>1</sub> )		緑色(w <sub>1</sub> )		$\chi^2$ test(45:3:15:1)	
	抵抗性	モザイク	抵抗性	モザイク	$\chi^2$	P
Peking×東山138号(W <sub>1</sub> -W <sub>1</sub> )	326	22	94	8	1.71	>0.50
Peking×スズタカ(W <sub>1</sub> -W <sub>1</sub> )	266	17	84	4	0.76	>0.75
Peking×ホウレイ(W <sub>1</sub> -W <sub>1</sub> )	127	6	41	2	0.90	>0.75

表4 6-4 毛茸色遺伝子と種々の抵抗性遺伝子の関係 (C, E系統)

組合わせ (遺伝子組合わせ)	褐毛(T)		白毛(t)		$\chi^2$ test	
	抵抗性	モザイク	抵抗性	モザイク	$\chi^2$	P
十勝長葉×Harosoy(T-t)	103	30	24	16	5.19	>0.10
Peking×東山138号(T-t)	134	14	44	2	3.04	>0.30
Peking×スズタカ(T-t)	139	6	42	3	1.22	>0.70

注) 上段はC系統を用い、9:3:3:1の比率で計算した。下段はE系統を用い、45:3:15:1の比率で計算した。

表4 6-5 種皮色遺伝子と種々の抵抗性遺伝子の関係 (E系統)

組合わせ (遺伝子組合わせ)	黄色(I)		黒色(i)		$\chi^2$ test(45:3:15:1)	
	抵抗性	モザイク	抵抗性	モザイク	$\chi^2$	P
Peking×東山138号(i-I)	143	14	39	2	4.07	>0.20
Peking×スズタカ(i-I)	134	4	34	3	4.35	>0.20

注) 茶豆は黄色(種皮色抑制遺伝子(I)を保有)とした。



あることが前述までの結果で明らかとなった。ここでは、同一の抵抗性品種に注目した場合、SMVの系統別の抵抗性遺伝子は異なるのか、連鎖が独立なのか、その関係を知ろうとした。実験手法としてIVで考察した切葉検定法を用いた。

## 1) 材料と方法

供試組合わせは、十勝長葉×Harosoy (SMV-A, C, D系統間の検討), 農林4号×エンレイ (A, B系統間の検討), エンレイ×スズユタカ (C, D系統間の検討), 農林4号×ふくせんなり (A, E系統間の検討) の4組合わせF<sub>2</sub>集団である。各個体を本葉2枚程度まで養成してから小葉を採取し、SMVの各系統を常法により接種して切葉検定を行った。病徴観察は経時的に肉眼で行った。IV-3で検討したように、病徴のみえるサンプルを感受性個体とみなして、各F<sub>2</sub>個体のSMV系統に対する抵抗性の有無を調査した。これをもとに、SMVの2系統間の連鎖の有無と組換え価の計算を行った。組換え価の計算は最尤法によった。なお、農林4号×エンレイの組合わせの一部では、ラテックス凝集反応を併用した。

## 2) 結果

品種ふくせんなりを用いたSMV-A, E系統間の場合を除いて、切葉検定の病徴は明瞭で、感受性か否かの判定は容易であった。ほとんどの場合、一方のSMV系統に対して感受性(VN)であれば、他方も感受性であったが、一部の個体では感受性と健全の分離が認められた。農林4号×エンレイの組合わせでは、病徴の一致しなかった一方の健全葉をラテックス凝集反応で検定したとこ

ろ、70%程度の切葉からウイルスが検出され、健全であったものの多くが無  
病徴感染であることがわかった。他の組合わせでは、このような血清診断を行  
っていないが、経時的な病徴観察の結果、病徴が一致しない場合の一方の健全葉  
は、接種後13日前後では健全であっても、同22日頃には切葉の一部にVN病  
斑が拡大する個体が認められた。

このように、F<sub>2</sub>集団における切葉検定の病徴には若干の変動が観察されたが、  
ここでは通常の検定と同様に、接種後10～14日の病徴を基本として観察し  
た。各組合わせにおけるSMV系統間の抵抗性遺伝子の連鎖、独立関係を見た  
ところ、いずれの組合わせにおいても連鎖が検出されたので、組換え価の計算を  
行った(表47-1, 2, 3, 4, 5)。その結果、A-B系統間の関係を農  
林4号×エンレイの組合わせで検討した結果、組換え価が13.5%、A-C系統お  
よびA-D系統間の関係は、十勝長葉×Harosoyでみたところ、組換え価はそれぞ  
れ3.9%, 2.9%となった。A-E系統間の関係は、ふくせんりの組合わせを  
用いて検討したところ、組換え価は16.4%であった。また、C-D系統間の関係  
は、Harosoyとスズユタカの組合わせを用いて検討したところ、それぞれ2.3と  
7.7%となった。

### 3) 考察

抵抗性品種に存在する複数の病原系統に対する抵抗性遺伝子が同一なものな  
のか否か、また連鎖か独立かを検出する方法のひとつは、ここで用いた切葉検  
定である。この実験で連鎖の有無を見たところ、すべての例で連鎖が検出され、  
相引で2から最高で16%程度の組換え価が認められた。Harosoyが有する抵抗性

表4 7-1 SMVのA、B系統に対するエンレイの抵抗性遺伝子間の連鎖関係

組合わせ (反応組合わせ)	供試 個体数	F <sub>2</sub> 遺伝子型				組換え価(%)
		AB*	A	B	—	

農林4号×エンレイ(M-H) 254 180 22 9 43 13.5±2.3

注) 1) 切葉検定による分析結果である。

2) \* 遺伝子型の略記号で、実際の遺伝子型は次の通りである。

AB : AB両系統に抵抗性 (Rsv1-aRsv1-a Rsv1-bRsv1-b)

A : A系統にのみ抵抗性 (Rsv1-aRsv1-a rsv1-brsv1-b)

B : B系統にのみ抵抗性 (rsv1-arsv1-a Rsv1-bRsv1-b)

— : 抵抗性無 (rsv1-arsv1-a rsv1-brsv1-b)

以下、表3 4の遺伝子記号に従い、同様に表現する。

3) A系統にのみ抵抗性の22個体の中には、A系統に対して病徴は見えないがラテックス凝集反応には陽性のものが16個体含まれる。また、B系統にのみ抵抗性の9個体の中には、B系統に対して同様に5個体が陽性であった。

表4 7-2 SMVのA、C系統に抵抗性のHarosoyの抵抗性遺伝子間の連鎖関係

組合わせ (反応組合わせ)	供試 個体数	F <sub>2</sub> 遺伝子型			組換え価(%)
		AC	A	C	—

十勝長葉×Harosoy(M-H) 170 122 2 5 42 3.9±1.5

表4 7-3 SMVのA、D系統に抵抗性のHarosoyの抵抗性遺伝子間の連鎖関係

組合わせ (反応組合わせ)	供試 個体数	F <sub>2</sub> 遺伝子型			組換え価(%)
		AD	A	D	—

十勝長葉×Harosoy(M-H) 173 126 0 5 42 2.9±1.2

表4 7-4 SMVのA、E系統に抵抗性のふくせんりの抵抗性遺伝子間の連鎖関係

組合わせ (反応組合わせ)	供試 個体数	F <sub>2</sub> 遺伝子型				組換え価%
		AE	A	E	—	

農林4号×ふくせんり(M-H) 484 328 51 18 79 16.4±1.8

表4 7-5 SMVのC、D系統に抵抗性のHarosoyまたはスズユタカの抵抗性遺伝子間の連鎖関係

組合わせ	供試 個体数	F <sub>2</sub> 遺伝子型				組換え価(%)
		CD	C	D	—	

十勝長葉×Harosoy 173 126 1 3 43 2.3±1.1

エンレイ×スズユタカ 192 140 11 3 38 7.7±2.0

注) スズユタカのSMV-C、D系統抵抗性遺伝子はHarosoyに由来する。

遺伝子のうち、SMVのA-D系統間では2.9%、A-C, C-D系統間はそれぞれ3.9、2.3%で、これら3系統に対する抵抗性遺伝子は染色体上で比較的近距离に位置し、連鎖が強いことが明らかとなった。このことから、Harosoy由来するA, C, D系統抵抗性遺伝子の抵抗性選抜を行うに当たっては、いずれかのSMV系統を用いれば、3系統ともに抵抗性を持った系統が比較的容易に得られるものと考えられる。

A-B系統間の抵抗性遺伝子が、比較的強い連鎖関係にあったことは、外国の抵抗性遺伝子Rsv1と同等とみなされた日本のA, B系統抵抗性遺伝子が、さらに細分化されることを示している(II-4, V-1, V-4での結果と考察参照)。エンレイはC, D, E系統には感受性か部分抵抗性であるため、エンレイのA, B系統に対する抵抗性遺伝子はこれまでの遺伝子とは異なると考えられる。したがって、ここではそれぞれの遺伝子をRsv1-a, Rsv1-bとするよう提案したい(表3.4)。

なお、エンレイやHarosoyを用いた実験では、系統間で反応の異なる切葉の多くが、一見健全葉に見えてもウイルスが検出されたり、病徴が遅れて発現するなどの現象が認められた。このことは、抵抗性遺伝子の連鎖が比較強いことと関わりがあるように思われる。本研究では、これまでの一般的方法に準じて一定の調査時期や病徴に基づいた遺伝子型の類別を行ったが、もしウイルスの増殖の有無や長期にわたる病徴観察で類別を行うならば、計算される組換え価が今回よりも小さく、場合によっては同一遺伝子とみなされる場合も考えられる。これらの点は、実験条件を整えた上で今後再検討する必要がある。

## VI 抵抗性品種の作出

現在最も問題となっているC系統に対する抵抗性育種の結果、これまでに新品種ホウレイの育成を行い、現在は東山149号を極く有望視している。このほかに、育成中の系統として東山系VR9など8系統を有望視している。これらの抵抗性系統は、当面のモザイク病対策には十分対応できるものと考えられる。しかし、長期的視点で見た場合、これらの抵抗性系統はHarosoyなどに由来する抵抗性遺伝子を単独導入したものであるため、将来は抵抗性の罹病化が予想される。このような危険性を防ぐためには、抵抗性遺伝子の複合導入や部分抵抗性遺伝子と無病徴感染型抵抗性遺伝子を複合導入することにより、抵抗性品種の寿命を長期的に安定して維持する必要がある。ここでは、まず現在の有望系統の概要を述べ、次に複合抵抗性新系統の作出について考察した。

### 1. 育成系統の特性

#### 1) 材料と方法

現在までに、東山番号（長野県中信農業試験場育成の地方名）を付されたものの中から接種検定により抵抗性の確認されたものは7系統ある。その中から地域適応性や実用形質に優れるものを選抜し、現在までに有望なものとして東山149号を選抜してきた。

このほか新たにSMV抵抗性を育種目標にして毎年15～20組合わせの交配を行ってきた。このうち、接種検定を行い、SMV-Cに抵抗性の品種または系統を片親または両親に用いて組合わせたものをここでは報告する。交配組合わせと選抜系統の詳細は表48の通りである。接種検定は一般にF<sub>2</sub>または



F<sub>3</sub>世代で行ったが、一部の戻し交配育種組合せではB<sub>1</sub>F<sub>1</sub>世代ごとに接種検定を繰り返した。接種後約20日経過した時点で発病調査を行い、発病個体を淘汰して残りを個体別にまたは集団で採種し、翌年系統栽培または個体選抜に供試した。

## 2) 結果

有望系統東山149号の特性概要は表49-1, 2, 3に示した。本系統はII-3でも述べたように、SMVのA, B, C, D系統に抵抗性であり、成熟期はエンレイと同等である。したがって、今後加工適性や栽培適性などの実用性が加味されれば、長野県内のエンレイに置き換わる新品種になる可能性が高い。

このほかに、長交57より選抜育成した系統(表50)が現在検討中である。また、戻し交配による2集団からは、1988年に1515個体を個体選抜し、現在東山系S627~720の系統名を付して選抜中である。これらの系統は片親のタチナガハと東山116号に抵抗性を導入した準同質遺伝子系統であり、今後地域適応性が評価されれば速やかに普及される可能性がある。

しかし、部分抵抗性遺伝子を東山122号から導入しようとした組合せ(長交55-9, 55-10; 表48)は、片親が感受性であったため、すべての系統がMかNSを示し、系統選抜の過程で完全な抵抗性個体を得られなかったためすべて淘汰された。I-2, 3で考察したように、部分抵抗性遺伝子を保有し、またNSの発現程度が軽い場合には褐斑の発生しない実用品種になる可能性がある。しかし現状では、NS病徴に対する育種家の判断基準や品種登録時の条件などが整っていないため、このままでは新品種になる可能性は少ないと考えられる。

表 4 8 S M V の C または D 系統の接種検定によるモザイク病抵抗性個体選抜と以後の系統名

交配番号	組 合 わ せ		接種検定		選抜 個体数	系統名	
	母	父	世代	個体数		当初	1990年現在
長交56-3	東山127号	デウムスメ	F <sub>3</sub>	-	224	VR287~	VR307
" -4	エンレイ	"	"	-	183	VR245~	VR261
" -4	"	"	F <sub>3</sub>	282	192	MR3~	廃棄
" 57-1	東山124号	東山系L735	F <sub>2</sub>	188	108	VR1~	VR9
" -2	エンレイ	"	"	285	94	VR24~	VR49
" -8	東山系N739	スズユタカ	"	281	61	VR79~	VR102
" -9	" N802	"	"	240	101	VR122~	廃棄
" -14	スズユタカ	東山124号	"	218	141	VR161~	VR185-1,2
" -15	"	エンレイ	"	209	51	VR216~	廃棄
" 55-9	小倉大豆	東山122号	F <sub>3</sub>	150系統	45	VR329~	廃棄
" -10	東山87号	"	"	160系統	50	VR339~	廃棄
" 61-1	長交60-5	東山135号	B <sub>1</sub> F <sub>1</sub>	1085	811	S827~676	同左
" -4	長交60-7	東山116号	~B <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	938	704	S877~720	同左

注) 長交60-5 = (東山140号×東山135号)×東山135号。  
長交60-7 = 東山140号×東山116号。

表 4 9 - 1 S M V の A, B, C, D 系統に対する抵抗性の新品種候補「東山149号」の特性一覧表 (1)

品種名または 系統名	組 合 わ せ		葉 形	花 色	粒 形	粒 色	粒 の光沢
	母	父					
東山149号	エンレイ	東北53号	丸	紫	楕円	黄	中
エンレイ (比較)	農林2号	シロメユタカ	"	"	"	"	強
ホウレイ ( " )	シヅナリ	F <sub>1</sub> (44-5)	"	"	球	黄白	弱
タチナガハ ( " )	東山61号	東山系G627	長	"	楕円	黄	強

注) 東北53号 = ネマシラズ×Harosoy  
F<sub>1</sub> (44-5) = 東山系NA3×F<sub>1</sub>長交43-8 (東山系E896×東山系D806)  
特性表示は大豆調査基準による。

表 4 9 - 2 S M V の A, B, C, D 系統に対する抵抗性の新品種候補「東山149号」の特性一覧表 (2)

品種名または 系統名	開 花 期	成 熟 期	生育中の障害				主 茎 長	主 茎 節数	分 枝 数
			倒 伏	蔓 化	枝 折	刈 取			
東山149号	7.30	10.5	少	少	中	微	77	15.5	6.6
エンレイ (比較)	7.30	10.5	少	微	少	多	67	14.9	4.9
ホウレイ ( " )	7.27	9.29	微	微	少	微	56	15.0	5.0
タチナガハ ( " )	7.31	10.10	微	無	微	多	61	14.8	4.8

注) 昭和62~63年中信農試成績平均値。

表49-3 SMVのA, B, C, D系統に対する抵抗性の新品種候補「東山149号」の特性一覧表(3)

品種名または 系統名	子 実 kg 重 /a	標 準 比率 %	莖 kg 重 /a	百 粒 重 g	障害粒程度 紫斑 褐斑 裂皮	品質
東山149号	37.49	108	17.73	37.6	微 無 微	上中
エンレイ (比較)	34.47	100	14.66	33.7	微 多 無	中中
ホウレイ (〃)	37.66	109	12.52	34.9	微 無 少	上中
タチナガハ (〃)	38.83	112	13.08	34.5	無 少 微	上下

注) 昭和62~63年中信農試成績平均値。

表50 SMVのC系統に対する抵抗性の育成系統(F<sub>7</sub>)成績一覧表

品種名または 系統名	組合せ (母 × 父)	開花期 月日	成熟期 月日	ウイブス	褐斑	アール当り 子実重	対エンレイ 比率%	品質
東山系VR9	ホウレイ × 東山140号	8.7	10.20	無	無	28.51kg	94	上下
〃 VR49	エンレイ × 〃	8.1	10.9	微	〃	32.07	105	上中
〃 VR102	N739 × スズメタカ	8.6	10.20	〃	〃	33.94	111	上下
〃 VR185-1	スズメタカ × ホウレイ	8.6	10.13	無	〃	36.70	120	上下
〃 VR185-2	〃 × 〃	8.3	10.5	〃	〃	34.33	113	上下
〃 VR187	〃 × 〃	8.7	10.17	微	〃	30.53	100	上下
〃 VR261	エンレイ × ティナムス	8.4	10.8	〃	〃	36.18	119	上下
〃 VR307	東山127号 × 〃	8.4	10.17	無	〃	38.64	127	上中
エンレイ	—	8.3	10.4	少	中	30.48	100	中上

注) 平成元年度の中信農試における試験成績

### 3)考察

抵抗性系統の育成は、これまでの結果から、育成過程の適当な時期に接種検定を行うことにより効率的にできることが明らかとなった。しかし、新品種に求められる実用形質は抵抗性のみで満足されるのではなく、現実には、収量性、耐倒伏性、加工適性、センチュウ抵抗性などの諸特性がSMV抵抗性と同等またはそれ以上に重視されており、多くのSMV抵抗性系統は他の特性の不備で淘汰される状況にある。SMV抵抗性遺伝子と他の実用形質との遺伝的関係はまだほとんど解明されていないが、諸特性の導入、選抜を効率的に並行して行えるよう、これら形質の相互関係を調査すると同時に、育種の計画的な実行が強く望まれる。

これまでに育成された抵抗性系統は、いずれも抵抗性遺伝子を単独導入した系統で、当面はこれらの育種方法でモザイク病に対応できると考えられる。しかし、これらの単一の抵抗性遺伝子系統は将来のウイルスの系統の病原性変化により罹病化の可能性が十分考えられる。近年育成されたホウレイは、その栽培面積が少ないこともあり、現在のところ罹病化の現象はないが、近い将来に罹病化することは大いにありうる。したがって、今後は以後に述べるような複合抵抗性の導入が大きな課題になろう。

### 2. 複合抵抗性品種の育成について

複合抵抗性には、①複数のウイルス系統に抵抗性の品種、②複数の抵抗性遺伝子を同時に保有する複合品種、③抵抗性遺伝子や部分抵抗性遺伝子、無病徴感染

型抵抗性遺伝子などの性質の異なる抵抗性遺伝子の複合導入品種、の3種類が考えられる。ここではこれらを併せた品種の育成を検討した。

## 1) 材料と方法

スズユタカやホウレイなどの近年の抵抗性新品種はE系統にNSを示すことから、その抵抗性は充分ではないといえる。これら品種にさらにE系統の抵抗性を付与するためのひとつの方法は、東山138号などのE系統抵抗性系統の遺伝子を導入することである。そこで、供試組合わせには東山138号×ホウレイ、ホウレイ×東山122号、Peking×東山138号、Peking×スズユタカの4組合わせを用いた。これら各組合わせを150~240個体ずつ用いて、A, C, E系統に対する個体ごとの切葉検定を行った。前2組合わせについては、病徴のみによる選抜、後2組合わせについてはラテックス凝集反応を併用して抵抗性個体を選抜した。

複数のウイルス系統に抵抗性の個体を識別し選抜するために、切葉検定で全系統に抵抗性の個体を選抜した。この種の複合抵抗性の選抜は、いずれかの系統に感受性の個体を淘汰すれば良いので、最も簡単な方法である。しかし、異種抵抗性遺伝子の複合導入やその他の遺伝子の複合導入は、より複雑であるため、長期的な育種計画が必要である。ここでは、C系統にしばって考察することとし、抵抗性の組合わせ類型別にC系統抵抗性育種の今後の扱いを実際の育種規模を想定しながら図32~34の流れ図で考察した。



## 2) 結果と考察

切葉検定の病徴は、東山138号×ホウレイとホウレイ×東山122号の組合わせではL Lとそれが拡大したV Nとかなり、Pekingの組合わせの場合に比べて鮮明であった(図30)。これに対し、Pekingの組合わせでは片親が抵抗性の場合には病徴が不鮮明になる傾向があり、部分抵抗性の場合には鮮明になる傾向が認められた(図31)。また、切葉で健全であってもラテックス凝集反応の認められる場合が多く、Pekingを片親に用いた場合には切葉の病徴のみで抵抗性の判定ができないことがわかった。反面、病徴が認められても血清反応の出ない場合が若干あり、これらのサンプルのウイルス濃度が低い可能性や供試ラテックスの感度が充分でないことが考えられる(表51)。

各組合わせの各系統別抵抗性個体頻度は表52、53の通りとなった。いずれの組合わせでも、3系統ともに抵抗性の個体頻度は50%程度以上で高く、比較的容易に複合抵抗性系統が得られることがわかった。

つぎに、C系統に対する異種抵抗性遺伝子の複合導入の計画を図32～34に示した。スズユタカ×東山138号、すなわち部分抵抗性と抵抗性の組合わせでは(図32)、F<sub>2</sub>でモザイクとNS個体を淘汰すると、複合個体か抵抗性と同等の個体が残る。2～3世代を集団で養成したのち、F<sub>5</sub>で接種検定し、のち通常の系統選抜を2～3世代行つて、最終的に実用形質を備えた系統を5系統ほど選抜する。F<sub>9</sub>～F<sub>10</sub>で感受性品種を検定交配してそのF<sub>1</sub>が抵抗性であればその後の系統選抜に供試し、NSを示せば部分抵抗性遺伝子が無い可能性が大きいので淘汰する。実際の育種規模と操作に沿いながら、特性の優れた系統ならば、早ければほぼ11年程度で新品種になる想定である。



図 3 0 ホウレイ×東山122号の組合わせ  $F_2$  集団に対する SMV の A, C, E 系統の切葉検定。上下いずれも同一個体から採取した葉により、接種後約 20 日目の状態を示す。(左: A 系統、中: C 系統、右: E 系統)。

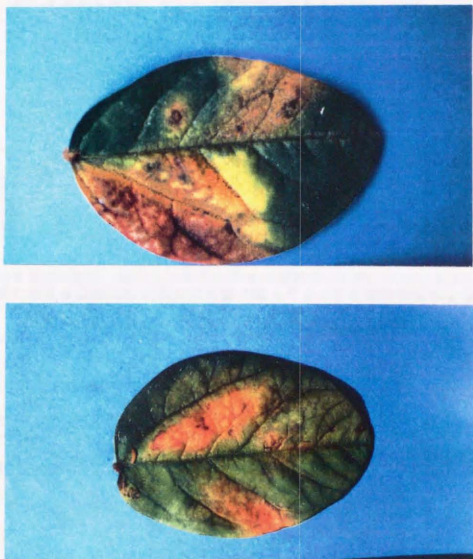


図 3 1 Peking×東山138号の組合わせ  $F_2$  集団における SMV の切葉検定による病徴。  
上は A, C 系統による病徴で一般に鮮明、下は E 系統による病徴で一般に  
不鮮明。抵抗性遺伝子の組合わせにより病徴の発現にも差がでる。

表 5 1 Pekingの組合わせにおける SMV の切葉検定による病徴とラテックス凝集反応

組合わせ (反応組合わせ)	切葉検定病徴	SMV- A		C		E	
		+	-	+	-	+	-
Peking×東山138号 (H-H)	VN	17	7	17	2	7	4
	H	30	135	53	118	13	165
Peking×スズタカ (H-N)	VN	7	2	2	0	21	3
	H	6	225	38	200	16	200

注) Peking×東山138号での E 系統、および Peking×スズタカの C 系統の病徴は VN か H  
かが判然としないものが多い。

表52 東山138号とホウレイ、ホウレイと東山122号の組合わせに切葉検定でSMVのA, C, E系統を接種したときの各抵抗性組合わせ別の個体数

組合わせ	供試個体数	A-C-E-	A-C-ee	A-ccE-	aaC-E-	A-ccee	aaC-ee	aaccE-	aaccee
東山138号 × ホウレイ	188	115 (61%)	18 (10)	12 (6)	18 (10)	1 (1)	0 (0)	24 (13)	0 (0)
ホウレイ × 東山122号	149	73 (49%)	9 (6)	17 (11)	12 (8)	14 (9)	19 (13)	1 (1)	4 (3)

注) A, C, Eはそれぞれ該当ウイルス系統に対する抵抗性遺伝子であることを示し、切葉検定病徴により抵抗性を判断した。( )は個体頻度。

表53 Pekingと東山138号, Pekingとスズユタカの交雑F<sub>2</sub>集団におけるSMVのA, C, E系統に対する抵抗性組合わせ別の個体数(ラテックス凝集反応による検定)

組合わせ	供試個体数	A-C-E-	A-C-ee	A-ccE-	aaC-E-	A-ccee	aaC-ee	aaccE-	aaccee
Peking × 東山138号	187	111 (59%)	0 (0)	26 (14)	5 (3)	3 (2)	2 (1)	26 (14)	14 (7)
Peking × スズユタカ	235	170 (72%)	25 (11)	25 (11)	2 (1)	2 (1)	0 (0)	3 (1)	8 (3)

注) A, C, Eはそれぞれ該当ウイルス系統に対する抵抗性遺伝子であることを示し、ラテックス凝集反応の有無(接種後20日以上経過)により抵抗性を判断した。( )は個体頻度。

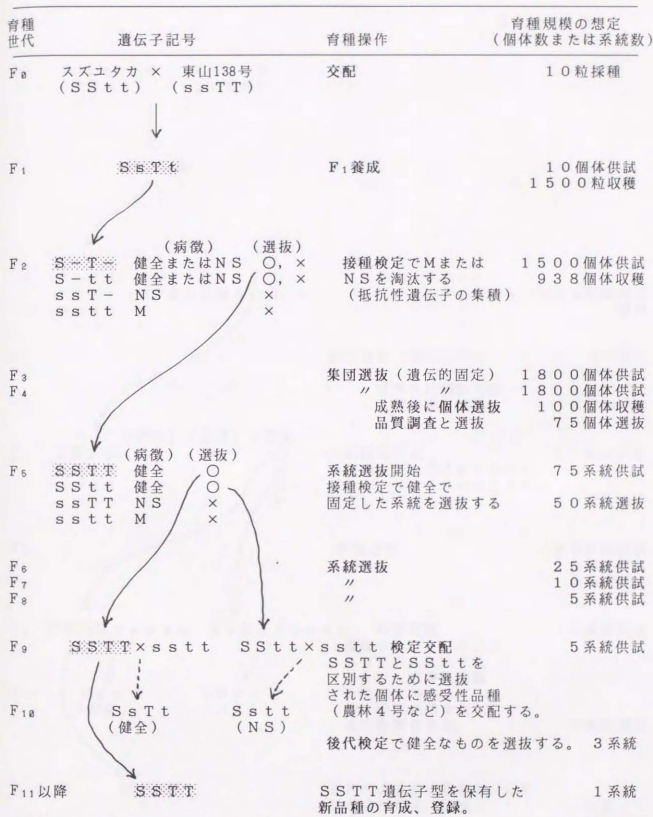


図32 スズユタカ (遺伝子型: S S t t) と東山138号 (s s T T) の遺伝子を複合導入し、SMV-C系統に抵抗性の系統を育成する計画の流れ図。

注) 1) 各品種の遺伝子型は簡略化のために表記したが、実際の遺伝子型は次のような対応関係になる。

スズユタカ (抵抗性品種) : S S t t : Rsv1-cRsv1-c rsv3-crsv3-c.

東山138号 (部分抵抗性品種) : s s T T : rsv1-cRsv1-c Rsv3-cRsv3-c.

2) 網掛け文字 (S s T t) は目的とする遺伝子型を示す。以下同様。

3) 育種規模の想定は、中信農試のこれまでの平均的な育種規模に従った。



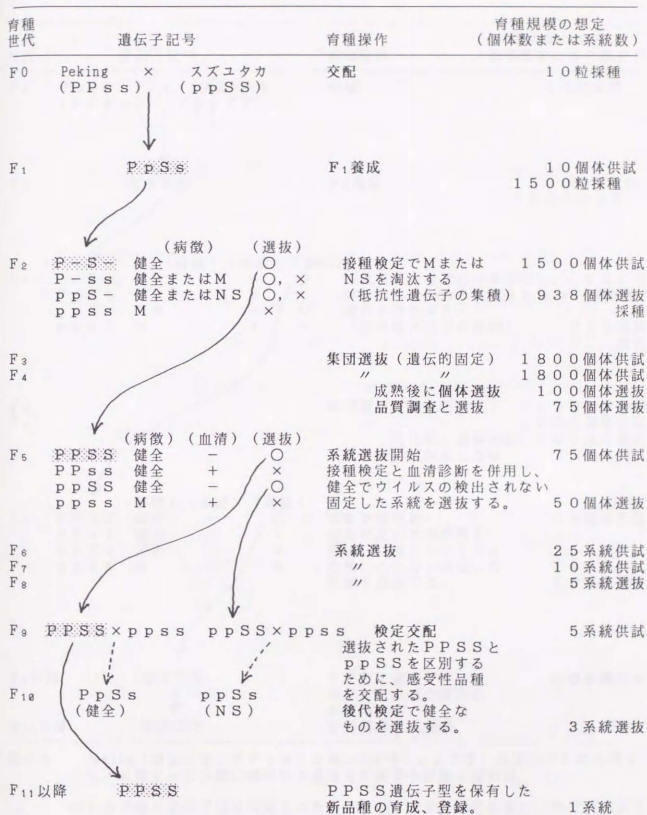


図33 Peking (遺伝子型: PPss) とスズユタカ (ppSS) の遺伝子を複合導入し、SMV-C系統に抵抗性の系統を育成する計画の流れ図。

注) 各品種の遺伝子型は簡略化のために表記したが、実際の遺伝子型は次のような対応関係になる。

スズユタカ (抵抗性品種) : SSpp : Rsv1-cRsv1-c rsv4-crsv4-c.  
 Peking (無病徴感染型品種) : ssPP : rsv1-crsv1-c Rsv4-crsv4-c.

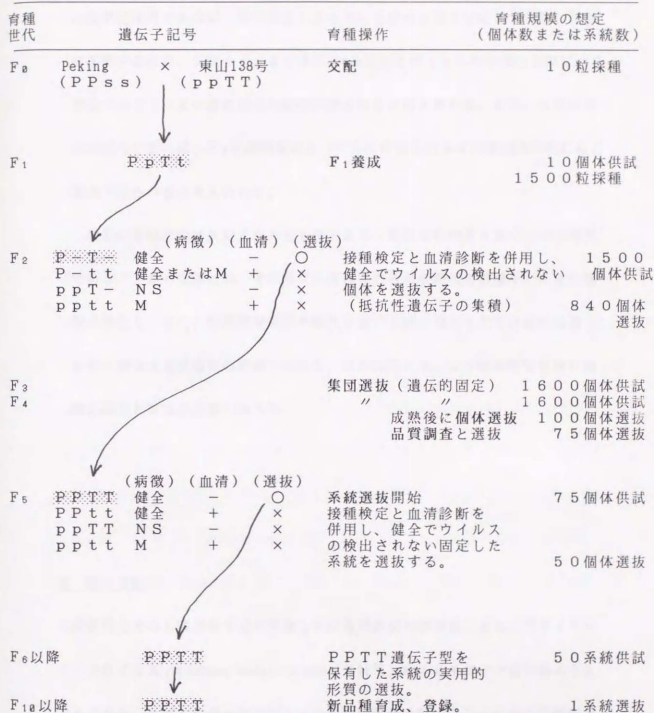


図34 Peking (遺伝子型: P P s s) と東山138号 (p p T T) の遺伝子を複合導入し、SMV-C系統に抵抗性の系統を育成する計画の流れ図

注) 各品種の遺伝子型は簡略化のために表記したが、実際の遺伝子型は次のような対応関係になる

東山138号 (部分抵抗性品種) : T T p p : Rsv3-cRsv3-c rsv4-crsv4-c.  
 Peking (無病微感染型品種) : t t P P : rsv3-crsv3-c Rsv4-cRsv4-c.

同様に、Pekingを片親に用いた組合わせについても図33、34で考察した。

片親が抵抗性であれば、集団選抜したのちに感受性品種を交配して前例と同様に接種するほか、ラテックスまたはELISAを用いてウイルスの増殖の有無により選抜することにより複合抵抗性個体が得られると考えられる。また、片親が部分抵抗性であれば、 $F_2$ で接種検定とウイルス検出を行えば比較的効率的に複合個体が得られると考えられる。

以上の育種計画は長期にわたるものであり、緻密な計画性と実行力が不可欠である。しかし実際には、その時々育種家の考えや時代の要請などにより状況が変化し、また、技術的な進歩や新たな遺伝子源の発見などで計画の見直しも有り得るのが現実の育種でもある。状況に応じた、より効率的な抵抗性育種の開発と実践が必要であろう。

## VII 総合考察

長野県とその近隣諸県で近年多発している褐斑粒の原因は、主としてダイズモザイクウイルス；soybean mosaic virus (SMV) によるモザイク病であろうと考えられる。モザイク病の被害は古くから記録はあるが、ここ10～15年程度の期間に被害が急増した背景には、奨励品種を侵す新たなSMV系統の増加や媒介昆虫の密度上昇、水田の高度利用に伴う大豆作付け面積の増大、アブラムシ防除と罹病個体の除去の不徹底などが原因として考えられる。モザイク病の発生程度は、長野県内で大きな地域差があり、一般に中信地区で多く東信では少ない。

また、標高がおおむね900m以上の地域では発生が少ない。防除対策や種子の流通などの人為的要因による地域差は小さいと考えられることから、これらの地域差はアブラムシの発生程度の地域差をそのまま反映しているように思われる。

中信農試での試作や現地試験、各県における奨励や系適試験などの品質の推移からみると、昭和50年代の前半までは奨励品種に褐斑粒の被害が生ずることはまれであった。これら奨励品種の多くはSMVのA、B系統にのみ抵抗性を示し、抵抗性程度はいずれの品種も同レベルにあったことから、これら品種を共通して侵すウイルスの系統が増加したことが考えられる。今回の調査で県内およびその周辺地域から収集した褐斑粒と罹病葉から分離したウイルスは、B、C系統が多く、現在の主要な奨励品種の抵抗性からみて、現在の褐斑粒の原因はC系統であることが明らかとなった。これら以外にも、A～Eに該当しない系統も若干認められたので、実際には国内のSMV系統は5系統以上になると考えられ、その中にはこれまで育成された抵抗性品種を侵すものもすでに含まれている可能性がある。特定の品種の栽培面積が増加すれば、それを侵す病原密度が増加しやすいことは多くの作物病害に共通の現象であるため、今後ダイズにおいてもC、D系統に抵抗性のスズユタカやホウレイなどの品種の作付面積が増加すれば再び問題となろう。この問題の育種的対策としては、①異なる抵抗性遺伝子を持った品種の混合栽培や交代栽培、②無病徴感染型品種または褐斑抵抗性品種の利用、③これら抵抗性を複合導入した品種の利用が考えられる。この他に、圃場抵抗性の利用が考えられるが、これまでのところモザイク病には圃場抵抗性に該当する現象を認めていない。

抵抗性遺伝子を利用するに当たっては、遺伝様式の解明が十分になされ、でき

るだけ多くの種類の遺伝子源を確保しておく必要がある。本研究においては、遺伝様式に重点をおいて検討してきた。その結果、SMVに対する抵抗性の種類は大きく分けて3つになり、それぞれ単一の優性遺伝子であることが明かとなった。ここでは、それぞれを抵抗性、部分抵抗性、無病徴感染型抵抗性と呼び、それぞれの特性と遺伝様式を詳細に考察した。病徴観察と血清診断を併用して調査した結果、

①抵抗性品種は接種しても病徴が現われず、ウイルスも増殖しない免疫性であり、その遺伝子はヘテロの場合にはネクロティックスポット(NS)を生ずる不完全優性遺伝子であることが明かとなった。遺伝子源としては、たとえば、C系統の場合、Harosoyの他に、あぜみのり、新3号、白目長葉などがあり、この他に韓国のSuwon97, 132, 136、USAのPI96983, L78-379などがある。これらの品種は、SMV系統に対する反応の違いからみて、これまで育種母本として偏重されてきたHarosoyとは異なる抵抗性遺伝子を持つものと思われるので、新たな母本として今後多に活用する必要がある。なお、本研究では、C系統に抵抗性のスズユタカやホウレイの遺伝子をRsv1-c、東山140号の遺伝子をRsv2-cとするよう提案した。

②部分抵抗性品種は、NSが生じ、症状の著しいものは成長点がネクロシスとなって枯死する場合もあった。部分抵抗性品種からはウイルスが検出されたが、感受性品種よりは少なく、その遺伝子は抵抗性品種の遺伝子と比較すると、ウイルスの増殖を抑える働きが約半分の優性遺伝子であることがわかった。遺伝子源としては、C系統の場合、宮城県の在来品種：白鳳系の遺伝子導入系統（東山65号、122号、133号、138号）のほか、Dorchsoy31やふくせんりなどがある。この



種の抵抗性品種は、NS症状の軽重に著しい差があるので、軽症のもの（東山122号、ふくせんり、房成など）の遺伝子を単独導入することで褐斑を防止できるものと思われる。遺伝子記号については、たとえばA系統の場合、外国から報告のある $rsv^1$ と同等であろうと考えられるが、C系統の場合は $Rsv3-c$ と提案した。

③無病徴感染型はPekingの抵抗性である。遺伝子は単一の優性遺伝子で、ホモの場合は接種してもまったく病徴が出ないが、接種部位ではウイルスが増殖するものである。遺伝子がヘテロになるとウイルスは徐々に移行し、激しいモザイクになることがわかった。本品種の遺伝子はすべての系統に多発現で同一の反応を示す可能性があるが、遺伝子の独立性の有無は未検討であるため、ここではC系統に対する遺伝子のみを $Rsv4-c$ とするよう提案した。

以上の3種類の遺伝子は多くの場合独立遺伝し、葉形や胚軸色、毛茸色、種皮色などの遺伝子とは独立であることがわかった。なお、感受性品種の中には、モザイクは発現するが褐斑粒の発生しにくい品種が相当数あることが判明したが、これらはウイルスの感染源としての問題は残るが、褐斑が発生しないことから流通上の問題は無くなる。したがって、今後の抵抗性育種においては、これら褐斑抵抗性品種の利用も大いに考える必要があろう。

抵抗性遺伝子は各SMV系統ごとにあると考えられ、それらが独立か連鎖しているのかについて切葉検定法で検討したところ、Harosoyより導入した抵抗性遺伝子はA、C、D系統抵抗性が同一の染色体上にあって、比較的連鎖が強いことが明らかとなった。したがって、被害の大きなC、D系統に対する抵抗性選抜は、A、C、Dのいずれかの系統を単独で用いることにより、比較的効率的に抵抗性個体を選抜できることがわかった。また、A、BまたはA、E系統間の連鎖もそ

れぞれエンレイとふくせんりを用いて検討したところ、13~16%程度の組換え価が得られ、比較的強い連鎖のあることがわかった。これら以外に、抵抗性と部分抵抗性や抵抗性とPeking、部分抵抗性とPekingの組合わせを供試してA, C, E系統に対する複合抵抗性の有無の検定を行い、いずれも50%程度以上の効率で3つの系統に同時に抵抗性となる複合抵抗性系統が得られることも判明した。本研究で用いた切葉検定と血清診断法は、従来の個体接種に比べ比較的手間のかかることが難点ではあるが、複数病原の検定を並行してできることや、再現性が高く同一個体の検定を生育期間中に繰り返して行えること、四季を通じた選抜作業が可能であること、などから従来の育種では得られなかった複合抵抗性系統の育成が効率よくできるものと考えられる。このことは、SMV抵抗性の選抜にとどまらず、他のウイルス病や糸状菌、細菌病、センチュウ害などにも適応できる可能性があり、その実用化は今後の課題である。

現在、中信農試で行っている抵抗性育種は、抵抗性遺伝子を単一導入するのが主体である。これまでの成果として、昭和62年育成のホウレイ、および現在最も有望な系統として東山149号を育成してきた。また、育成途上のものとして、東山系VR9などF<sub>7</sub>世代8系統、またタチナガハや東山116号に抵抗性遺伝子を戻し交配で導入したB<sub>3</sub>F<sub>4</sub>世代の東山系S627など94系統がある。これらはいずれも単一の抵抗性遺伝子を持ち、現状ではモザイクや褐斑粒の発生をほぼ完全に抑制している。しかし、将来的には、ウイルスの病原性の変化に伴う抵抗性品種の罹病化に備えて、抵抗性遺伝子の複合導入やこれらと部分抵抗性遺伝子や無病徴感染型抵抗性遺伝子の複合導入、さらには褐斑抵抗性遺伝子などの導入も合わせて行い、種々の抵抗性系統を準備しておく必要がある。本研究では、初期世代における

1～2回の接種検定を含めた今後の育種計画を異種の抵抗性の組合わせ別に考察した。これらの品種育成を成功させるためには、計画的、組織的な育種事業が不可欠であり、同時に、育種技術の進歩や新たな遺伝子源の開発などによる、より効率的な手法を開発し実践してゆくことも極めて重要である。これらの抵抗性育種が、ダイズの他の諸特性の育種の改良と有機的に効率的に結びつき、早期に新品種を育成することにより、ダイズの生産性向上と栽培振興に大きく寄与することが期待される。

## VII 摘要

- 1) ダイズモザイクウイルス (SMV) の A, B, C, D, E 5 系統の中で長野県内を中心に最も被害が大きなものは C 系統であった。
- 2) SMV の 5 系統間には血清学的な差はなく、SMV のいずれの系統の抗血清を用いても本ウイルスの診断が可能であった。
- 3) SMV の診断方法としてのラテックス凝集反応と ELISA は、サンプルの採取部位や面積に注意することにより、診断方法として有効であった。
- 4) SMV によるモザイク病に対する抵抗性は、抵抗性、部分抵抗性、無病徴感染型抵抗性の大別して 3 種類があることが明らかとなった。
- 5) これら各抵抗性遺伝子は、いずれの SMV 系統に対しても単一の完全または不完全優性遺伝子であり、ほとんどの例で独立に遺伝した。

- 6) C系統に対する抵抗性遺伝子のうち、スズユタカやホウレイの遺伝子を Rsv1-c、東山140号の遺伝子をRsv2-c、東山122号などの部分抵抗性遺伝子をRsv3-c、Pekingの有する無病徴感染型抵抗性遺伝子をRsv4-cとするよう提案したい。また、C系統以外のSMV系統に対する抵抗性遺伝子も、上記の遺伝子と区別できるものについては同様な表記法で記号を付けた。
- 7) C、E系統に対する抵抗性遺伝子と葉型、花色、毛茸色、種皮色などの遺伝子は独立に遺伝した。
- 8) 同一個体に対する複数のSMV系統の検定を可能とするために、小葉を利用した切葉検定法を確立した。
- 9) 抵抗性遺伝子の同一品種内での位置関係は、Harosoy由来のA、C、D系統抵抗性遺伝子が同一染色体上にあり、組換え価が2から7%程度と比較的連鎖が強いことが明らかとなった。
- 10) 抵抗性遺伝子を単一導入した抵抗性系統を現在育成中である。中でも東山149号は、SMVのA、B、C、D系統に抵抗性で、スズユタカやホウレイと同等の抵抗性を有する良質多収系統であり、現在最も有望視している。
- 11) 切葉検定によるA、C、E複数系統の同時検定の結果、抵抗性の種類の異なるいずれの組み合わせでもほぼ50%以上の確率で複合抵抗性系統の得られることがわかった。
- 12) 抵抗性遺伝子や部分抵抗性遺伝子、無病徴感染型抵抗性遺伝子を2~3複合して持つことにより、長期にわたり安定した抵抗性が保持されることが示唆された。ここではC系統に対する今後の複合抵抗性系統の育種方法を検討した。

## 謝辞

本研究の取りまとめに当たっては、東京大学農学部教授斎尾乾二郎博士には終始有益な御指導と本論文の校閲をいただいた。また、東京大学農学部教授土崎常男博士にはウイルスの血清診断方法の手ほどきとSMV抗血清の分譲をいただき、本論文の校閲の労をいただいた。また、東京大学農学部助教授上村賢治博士には本論文の校閲をいただいた。

本研究の実施に当たっては、北海道農業試験場飯塚典男博士にはSMVの系統の分譲をいただき、東北農業試験場の長沢次男氏（現九州農業試験場）にはSMVの系統の分譲をいただいたほか、ウイルスの接種検定方法について手ほどきをいただいた。農業研究センターの柏崎 哲氏には、ELISA手法について指導いただいた。長野県中信農業試験場大豆育種指定試験地主任（現、農業生物資源研究所）の宮崎尚時博士には多大な援助と示唆をいただいた。また、同試験地の高橋信夫氏（現主任）、矢ヶ崎和弘氏、小林 勉氏、宮澤佳枝氏の各氏には研究実施上での種々の御援助をいただき、とくに宮澤氏には血清診断において多大な協力をいただいた。SMV系統の調査に当たっては、長野県下の各農業改良普及所の作物担当者、新潟県農試を始めとする近県の各農業試験場担当者には褐斑粒の送付をいただき、また、長野県農事試験場武田和男氏には発病実態調査のご協力をいただいた。さらに、イリノイ州立大学のDR. R. L. BERNARD、ノースカロライナ州立大学のDR. T. E. CARTER, Jr.、韓国作物試験場のDR. E. H. HONGの各氏からはSMVの判別品種のほか、育成系統の分譲を受けた。

ここに、これらの方々に謹んで感謝の意を表します。



# 引用文献

- BOS, L. 1972. Soybean mosaic virus. Descriptions of plant viruses no.9.
- BUSS, G.R., P.CHEN, C.W.ROANE and S.A.TOLIN. 1987. Genetics of reaction to soybean mosaic virus(SMV) in cultivars exhibiting differential reaction to SMV strain. Soybean Genet. Newsl. 14:258-259.
- , C.W.ROANE, S.A.TOLIN, and P. CHEN. 1989. Inheritance of reaction to soybean mosaic virus in two soybean cultivars. Crop Sci. 29:1439-1441.
- BUZZELL, R.I. and J.C.TU. 1984. Inheritance of soybean resistance to soybean mosaic virus. J. of Heredity 75:82.
- , ———. 1989. Inheritance of a soybean stem-tip necrosis reaction to soybean mosaic virus. J. of Heredity 80(5) 399-401.
- CHEN P., G.R.BUSS and S.A.TOLIN. 1988. Inheritance of reaction to strains G5 and G6 of soybean mosaic virus(SMV) in differential soybean cultivars. Soybean Genet. Newsl. 15:130-134.
- CHO E.K. and R.M.GOODMAN. 1979. Strains of soybean mosaic virus: Classification based on virulence in resistant soybean cultivars. Phytopathology. 69:467-470.
- , ———. 1982. Evaluation of resistance in soybeans to soybean mosaic virus strains. Crop Sci. 22:1133-1136.
- COOPER R.L. 1966. A major gene for resistance to seed coat mottling in soybean. Crop sci. 6:290-292.

- HARTWIG E.E. and B.L.KEELING. 1982. Soybean mosaic virus investigations with susceptible and resistant soybeans. Crop sci. 22:955-957.
- 橋本鋼二・長沢次男. 1987. ウイルス病抵抗性育種. わが国における豆類の育種. 明文書房. 東京. 32-64.
- 本田要八郎. 1987. 私信.
- 飯塚典男・柚木利文. 1983. ダイズ品種のダイズモザイク及び萎縮ウイルス抵抗性の検討. 北日本病虫研報 34:115-117.
- . 1987. ダイズモザイクウイルスの系統の検討. 日植病報 53:76-77.
- KASHIWAZAKI S., K. SHIMAZU and T. TSUCHIZAKI. 1990. Serological properties of wasabi strain of tobacco mosaic virus. Ann. Phytopath. Soc. Japan 56:257-260.
- KIIHL, R.A.S. and E.E. HARTWIG. 1979. Inheritance of reaction to soybean mosaic virus in soybeans. Crop Sci. 19:372-375.
- 清沢茂久. 1985. 植物疫学. 博友社. 東京. 255-340.
- 越水幸男・飯塚典男. 1963. 大豆のウイルス病に関する研究. 東北農試研報. 27:1-104.
- KWON S.H. and J.H.OH. 1980. Resistance to a necrotic strain of soybean mosaic virus in soybean. Crop Sci. 20:403-404.
- LEE Y.H., E.H.HONG, S.D.KIM, Y.H.HWANG and Y.H.MOON. 1985. Studies on breeding of soybeans (Glycine max) for the resistance to soybean mosaic virus strains. Korean J. breed. 17(1):85-90. (English summary).

- LIM S.M. 1985. Resistance to soybean mosaic virus in soybeans. *Phytopathology*. 75:199-201.
- 松本重男・飯塚典男・長沢次男. 1974. 東北地方におけるダイズウイルス病への対応研究. *農業技術* 29(5):215-219.
- 宮崎尚時・高橋信夫・重盛 勲・矢崎和宏. 1987. 大豆新品種「ホウレイ」の育成. *農業技術* 42:422.
- 長沢次男・飯塚典男. 1977. ウイルス病抵抗性ダイズの育成について. *東北農試研報* 55:75-80.
- ・渡辺 巖. 1988. 大豆遺伝資源のダイズモザイクウイルス病原系統に対する抵抗性評価(II). *東北農業研究* 41:107-108.
- REBECA C. RUFTY, E.A.WERNSMAN, and G.V. GOODLING, Jr. 1987. Use of detached leaves to evaluate tobacco haploids and doubled haploids for resistance to tobacco mosaic virus, *Meloidogyne incognita*, and *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*. *Phytopathology*. 77:60-62.
- ROANE C.W., S.A.TOLIN and G.R.BUSS. 1983. Inheritance of reaction to two viruses in the soybean cross 'York' x 'Lee68'. *J. of Hered.* 74:289-291.
- , G.R.BUSS and S.A.TOLIN. 1986. Genetics of reaction to soybean mosaic virus(SMV) in the cultivars "Kwanggyo", "Marshall", and PI96983. *Soybean Genet. Newsl.* 13:134-135.
- ROSS J.P. 1970. Effect of temperature on mottling of soybean seed caused by soybean mosaic virus. *Phytopathology*. 60:1978-1800.
- 佐古宣道. 1983. 九州病害虫防除推進協議会編. 病害虫研修会テキスト 11-14.

- 重盛 勲 1986. ダイズモザイクウイルスのC,D系統に対する品種の反応およびD系統に対する抵抗性の遺伝. 育種 36(別1):228-229.
- ・土崎常男. 1986. ラテックス凝集反応によるダイズモザイクウイルスの簡易診断. 日植病報 52:98.
- . 1988. ダイズモザイクウイルスのC系統に対するダイズ品種の抵抗性の遺伝. 育種38:346-356.
- ・宮澤佳枝・小林 勉. 1990. ダイズモザイクウイルスの病原系統に対する抵抗性の遺伝. 育種 40(別1):294-295.
- Soybean Genetics Committee 1987. Rules for genetic symbols. Soybean Genet. Newsl. 14:7-9.
- 高橋幸吉・田中敏夫・飯田 格・津田保昭. 1980. 日本におけるダイズのウイルス病と病原ウイルスに関する研究. 東北農試研報 62:1-130.
- 土崎常男. 1984. ダイズに発生するウイルス病とその病原ウイルス. 野菜のウイルス病. 養賢堂. 東京. 347-356.
- ・重盛 勲. 1985. ダイズモザイクウイルス5系統の純化と血清学的関係. 日植病報 51:352.
- 宇都宮 隆・才木康義・武田正孝. 1984. ダイズにおける褐斑粒発生抵抗性の品種間差異について. 愛媛農試報告 23:16-21.
- 宇杉富雄. 1980. ラテックス凝集反応による温州萎縮病の診断. 植物防疫 34:125-128.

WILCOX J.R. and F.A.LAVIOLETTE. 1968. Seedcoat mottling response of soybean genotypes to infection with soybean mosaic virus. *Phytopathology*. 58:1446-1447.

柚木利文・長沢次男. 1978. ダイズのウイルス病と抵抗性育種. *植物防疫* 32:163-168.

#### 参考資料

大豆新品種育成試験成績書 1965-1989. 長野県中信農業試験場.

大豆調査基準 1974. 大豆調査基準検討委員会.

長野食糧事務所検査資料 1980-1989.

画像処理ソフトウェア PC-SCOPE (株)ゼネラルリサーチ.

機器取扱説明書 ED1181 (株)エデック.



