

## 小麦の縞萎縮病迅速診断技術の開発と本技術を活用した発生動態の解析

村元靖典

Development of the rapid diagnosis method of Wheat Yellow Mosaic Disease and analysis of the developmental dynamics using this method

Yasunori Muramoto

**要約** 小麦の減収被害などを引き起こす縞萎縮病や萎縮病の原因であるコムギ縞萎縮ウイルス(WYMV)と麦類萎縮ウイルス(SBWMV)の感染を検出できるマルチプレックス RT-PCR 法を開発した。本手法により 2 ヶ年に渡って発生状況の調査を行ったところ、県内の小麦産地のうち、罹病性品種を作付けする地域の全域に渡って感染が確認された。現地での汚染ほ場を用いた調査の結果、ウイルスが検出される時期は、根では播種約 40 日後（12 月中旬）、葉では播種約 90 日後（1 月下旬）以降であった。また、抵抗性の強い品種「イワイノダイチ」や、ほ場内に発生した数種の雑草からもウイルスが検出された。汚染土壌を用いた接種試験の結果、湿潤な条件では接種 2 週間後には小麦の根にウイルスが感染することが分かった。

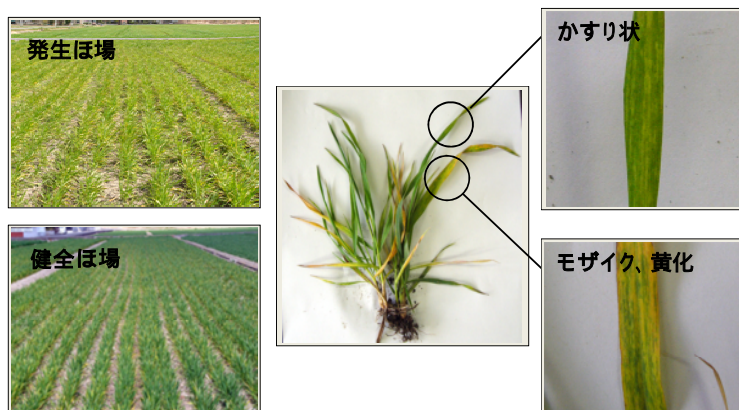
**キーワード：**小麦，コムギ縞萎縮病，麦類萎縮病，遺伝子診断技術，マルチプレックス RT-PCR

## 緒言

小麦の縞萎縮病、萎縮病は全国的に被害が報告され、県内各地の小麦現地栽培ほ場でも発生が確認されている。本病はコムギ縞萎縮ウイルス（以下、WYMV；*Wheat Yellow Mosaic Virus*）または麦類萎縮ウイルス（以下、SBWMV；*Soil-Borne Wheat Mosaic Virus*）によって引き起こされる土壌伝染性の難防除病害のウイルス病で、土壌中のポリミキサ菌（*Polymyxa graminis*）によって媒介される。この 2 つの病害の症状は酷似しているため見分けは困難であり、広義の意味で両者とも小麦の

「縞萎縮病」とする場合が多い。病徴は、かすり状の退色斑、下葉の黄化、分げつ数の減少、株の萎縮などであり、収量の減少を引き起こすとされている（第 1 図）。

現在、本県で栽培されている小麦品種は基幹品種である「農林 61 号」の他、「イワイノダイチ」、「タマイズミ」があり、そのうち「農林 61 号」と「タマイズミ」が本病に対して罹病性である。現地において本病と症状が類似する湿害などの生理障害と区別し、さらには農業機械などを介した汚染土壌の拡散を未然に防ぐための指導を行うためにも、本病の高感度な診断技術の開発が現場



第1図 コムギ縞萎縮病発生ほ場と発症株

から強く要望されてきた。そこで、RT-PCR 法を用いて本病を高感度で判定できる遺伝子診断技術を開発した。また、本診断技術を用いて、媒介菌およびウイルスの発生動態を調査したので併せて報告する。

## 1. マルチプレックス RT-PCR による WYMV、SBWMV の同時検出法の開発

### [目的]

黄化やかすり状退色斑の症状を示す小麦株が、両ウイルスに感染しているか否かを 1 回で診断できる、マルチプレックス RT-PCR 法を開発する。

### [材料および方法]

小麦の葉（約 1 cm x 1 cm）または根（約 3 cm）から、CTAB 改変法によって全 RNA を抽出した。磨碎する緩衝液には還元剤として  $\beta$ -メルカプトエタノールを最終濃度 5 % で加えた。抽出した全 RNA 溶液 50  $\mu$ l 中の 2  $\mu$ l を用いて、cDNA を合成した（逆転写反応）。反応時間等は使用した逆転写酵素の使用説明書に準じた。合成した cDNA 溶液 20  $\mu$ l 中の 1  $\mu$ l を用いてマルチプレックス PCR 反応を行った。用いたウイルス遺伝子のプライマーは、GeneBank に登録されている WYMV および SBWMV の外殻タンパク質の遺伝子配列から独自に設計した。なお、予想される増幅産物の長さは、WYMV が約 370bp、SBWMV が約 485bp である。プライマー配列および PCR 反応条件を第 2 図に示す。1 % アガロースゲル電気泳動で陽性反応の確認を行った。

### [PCR プライマー配列]

WYMV 検出用  
WYMV-F2; TGCCGCCACCAAGAGAAATG  
WYMV-R2; ATCCGTCTCAAGCCACCATTC

SBWMV 検出用  
SBWMV-F; CAAGGAGTTGAATTTGATGGC  
SBWMV-R; CCACCTTCAGATTGAACCTTAGC

### [PCR 反応条件]

94 10分  $\rightarrow$   $\left[ \begin{array}{l} 94 \quad 30秒 \\ 57 \quad 30秒 \\ 72 \quad 30秒 \end{array} \right] \rightarrow 72 \quad 5分$   
x 35 サイクル

### [PCR 反応液組成]

1xPCR buffer (with 1.5mM MgCl<sub>2</sub>)  
0.2mM dNTPs  
0.2mM WYMV 検出用プライマー  
0.2mM SBWMV 検出用プライマー  
0.5U AmpliTaq Gold DNA Polymerase (反応液量 20  $\mu$ l)

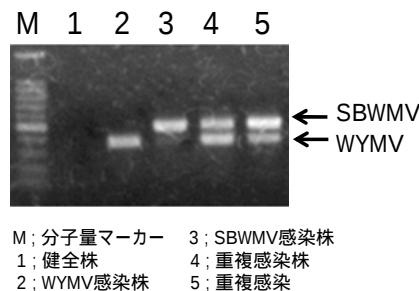
第 2 図 マルチプレックス PCR のプライマー配列と反応条件

### [結果]

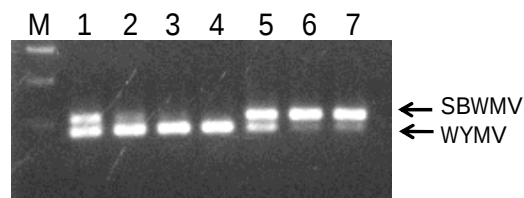
かすり状の退色や黄化症状を示した現地的小麦サンプル（「農林 61 号」または「タマイズミ」）を用いて、マルチプレックス PCR を行ったところ、両ウイルスを個別に検出することができた（第 3 図）。

PCR 反応で陽性となった増幅産物の塩基配列を決定したところ、GeneBank に登録されている WYMV、SBWMV の遺伝子配列とそれぞれ 99% の相同性があった（データ不掲載）。

WYMV および SBWMV の DNA 量比を変化させたサンプルを疑似重複感染サンプルとし、マルチプレックス PCR の検出限界を検討した。その結果、両ウイルス遺伝子量比が 1:10 でも両者を検出することができた（第 4 図）。



第 3 図 マルチプレックス PCR による WYMV と SBWMV の同時検出



| レーン No. | 1 | 2   | 3    | 4    | 5   | 6    | 7    |
|---------|---|-----|------|------|-----|------|------|
| SBWMV   | 1 | 1/5 | 1/10 | 1/50 | 1   | 1    | 1    |
| WYMV    | 1 | 1   | 1    | 1    | 1/5 | 1/10 | 1/50 |

DNA 量 = 1 は 1  $\mu$ g に相当する

第 4 図 マルチプレックス PCR の検出限界の検討

## 2. 県内小麦栽培全域におけるコムギ縞萎縮病の検定

### [目的]

県内の小麦栽培産地において、本病の感染がどの程度広がっているかを、開発したマルチプレックス RT-PCR 法により確認する。

第1表 県内現地サンプルのウイルス検定結果

| 品種    | 地域 | 市町村   | 2010年播種 |              |               |      | 2011年播種 |              |               |      |
|-------|----|-------|---------|--------------|---------------|------|---------|--------------|---------------|------|
|       |    |       | 検定数     | WYMV<br>単独感染 | SBWMV<br>単独感染 | 重複感染 | 検定数     | WYMV<br>単独感染 | SBWMV<br>単独感染 | 重複感染 |
| 農林61号 | 西濃 | 海津市   | 26      | 21           | 0             | 0    | 12      | 1            | 0             | 0    |
|       |    | 養老町   | 21      | 18           | 0             | 0    | 13      | 0            | 0             | 0    |
|       |    | 輪之内町  | 5       | 5            | 0             | 0    | 5       | 5            | 0             | 0    |
|       |    | 安八町   | 3       | 2            | 0             | 0    | 2       | 2            | 0             | 0    |
|       |    | 大垣市   | 7       | 7            | 0             | 0    | 9       | 7            | 0             | 0    |
|       |    | 神戸町   | 1       | 1            | 0             | 0    | 2       | 2            | 0             | 0    |
|       | 岐阜 | 岐阜市   | nt      |              |               |      | 5       | 2            | 0             | 1    |
|       |    | 羽島市   | 6       | 5            | 0             | 1    | nt      |              |               |      |
|       |    | 山県市   | 2       | 1            | 0             | 1    | nt      |              |               |      |
|       | 中濃 | 関市    | 3       | 3            | 0             | 0    | 6       | 6            | 0             | 0    |
|       |    | 美濃加茂町 | nt      |              |               |      | 1       | 1            | 0             | 0    |
|       | 加茂 | 富加町   | nt      |              |               |      | 1       | 1            | 0             | 0    |
| タマイズミ | 岐阜 | 羽島市   | nt      |              |               |      | 6       | 5            | 0             | 0    |
|       |    | 北方町   | 2       | 1            | 0             | 1    | 1       | 0            | 0             | 0    |
|       |    | 本巣市   | 5       | 4            | 0             | 1    | 4       | 3            | 0             | 0    |
|       |    | 瑞穂市   | nt      |              |               |      | 2       | 2            | 0             | 0    |

nt；未検定

## [材料および方法]

農林 61 号またはタマイズミを作付けする，2010 年および 2011 年播種の現地ほ場において，黄化症状を示すなど発症が疑われる小麦サンプルを用いて，1. の項の手法に準じて行った．

## [結果]

県内の小麦産地のうち，罹病性品種である「農林 61 号」または「タマイズミ」を作付けする地域の小麦サンプルを開発したマルチプレックス RT-PCR 法で 2 年に渡って検定を行ったところ，WYMV 単独または WYMV と SBWMV の両方で陽性となったサンプルがあり，これらの品種を作付けする地域の全域に渡って感染が確認された（第 1 表）．その大部分が WYMV によるものであり，SBWMV が陽性となった 5 サンプルは WYMV でも陽性となっており，重複感染していると考えられた．SBWMV 単独感染のサンプルは確認されなかった．

## 3. 現地汚染ほ場におけるコムギ縮萎ウイルスおよび媒介菌の発生動態

## [目的]

本病に対する予測技術や対策技術を開発するためには，ウイルスおよび媒介菌の発生動態を把握しておくことが重要である．そこで，現地の汚染ほ場を用いてウイルスと媒介菌の調査を行った．

## [材料および方法]

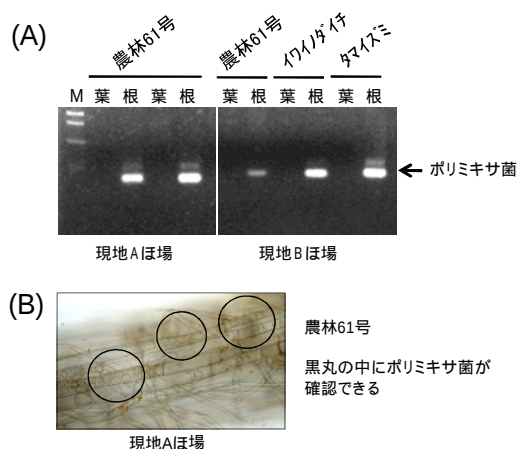
コムギ縮萎病が発生した 2011 年 11 月播種のほ場 A（品種：「農林 61 号」と，ほ場 B（品種：「農林 61 号」，「タマイズミ」，「イワイノダイチ」）で調査を行った．小麦の根（約 3 cm）から，簡易 CTAB 法によって

DNA を抽出した．磨碎する緩衝液には還元剤として  $\beta$ -メルカプトエタノールを最終濃度 5 % で加えた．抽出した DNA 溶液 50  $\mu$ l 中の 1  $\mu$ l を用いて，PCR 反応を行った．用いたポリミキサ菌遺伝子のプライマーおよび PCR 反応条件は，既報の手法（Ward E, Adams MJ (1998)）<sup>1)</sup> に準じて行った．小麦からのウイルス検出は，1. の項の手法に準じて行った．

## [結果]

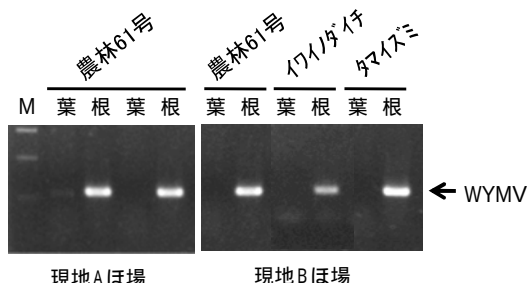
2011 年 12 月 14 日（播種後 39 日または 43 日）の調査時期で，A，B 両ほ場の全ての品種の根で，ポリミキサ菌およびウイルスの感染が確認された（第 5，6 図）が，葉からはウイルスは検出されず，この時点ではウイルスは地上部へ移行していないことが分かった．

また，抵抗性品種である「イワイノダイチ」でも，根には媒介菌およびウイルスが感染することが分かった．2012 年 1 月 30 日（播種後 86 日または 90 日）の調査

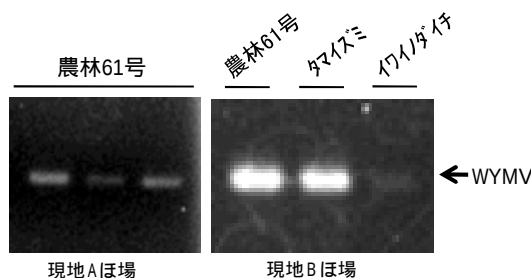


第5図 播種約40日後におけるポリミキサ菌の検出(A)と播種70日後の根の顕微鏡写真(B)

時期では、「イワイノダイチ」の葉でもわずかに検出されるなど、両ほ場の全ての品種の葉で WYMV が検出された（第7図）。



第6図 播種約40日後におけるWYMVの検出



第7図 播種約90日後の葉におけるWYMVの検出

#### 4. 汚染ほ場内に発生した雑草からのウイルスの検出

##### [目的]

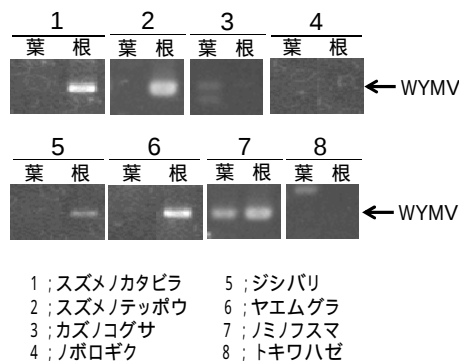
WYMV は小麦とライ麦に、SBWMV は小麦、大麦、ライ麦に感染することが分かっているが、その他の植物への感染は SBWMV のスズメノカタビラへの感染が報告されているのみである。そこで、現地ほ場内に発生している雑草を回収し、ウイルスの検出を試みた。

##### [材料および方法]

3.の項と同一の汚染ほ場で調査を行った。ほ場内に発生したヤエムグラ（アカネ科）、ノボロギク（キク科）、ジシバリ（キク科）、スズメノカタビラ（イネ科）、スズメノテッポウ（イネ科）、ノミノフスマ（ナデシコ科）、トキワハゼ（ゴマノハグサ科）、カズノコグサ（イネ科）を、2011 年 12 月～2012 年 3 月にサンプリングし、試験に供試した。雑草の根からのウイルス検出は、1.の項の手法に準じて行った。

##### [結果]

スズメノカタビラ、スズメノテッポウ、カズノコグサ、ジシバリ、ヤエムグラ、ノミノフスマの根から WYMV が検出され、カズノコグサ、ノミノフスマは葉からも検出された（第8図）。これら WYMV が検出された雑草の地上部にはウイルス病の症状は出ていないものの感染はしており、ウイルスの増殖源になることが示唆された。



第8図 現地ほ場に発生した雑草からのWYMVの検出

#### 5. 接種試験によるコムギ縞萎縮ウイルスおよび媒介菌の感染

##### [目的]

本病に対する発生予測技術や対策技術を開発するためには、ウイルスおよび媒介菌の発生動態を把握しておくことが重要である。そこで、現地汚染土壌を用いて接種試験を行い、ウイルスおよび媒介菌が検出され始める時期をより詳細に検討した。

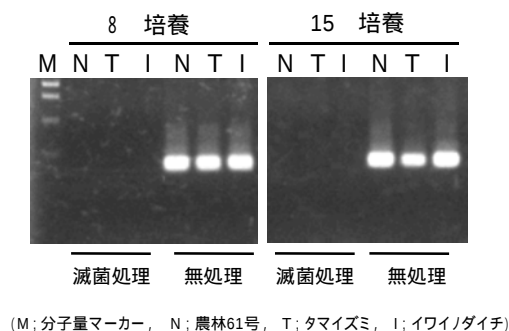
##### [材料および方法]

3.の項と同一の汚染ほ場の土壌を用いた。土壌 20mL を 50mL プラスチックチューブに入れ、出芽させた小麦（「農林 61 号」、「タマイズミ」、「イワイノダイチ」）を植えて湿潤状態にし、8 または 15 日、明期 12 時間、暗期 12 時間の人工気象器内で生育させた。

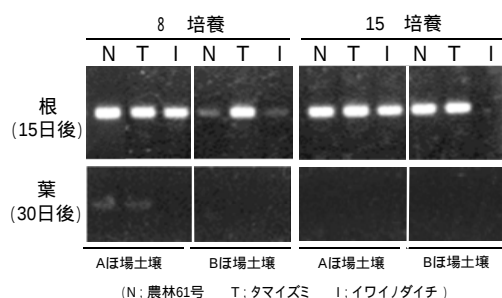
##### [結果]

培養温度に関わらず、接種 15 日後にはいずれの品種の根にもポリミキサ菌の感染と、コムギ縞萎縮ウイルスの感染が確認された（第9、10図）。接種 30 日後には、A ほ場汚染土の 8 培養の試験区で、「農林 61 号」と「タマイズミ」の葉からわずかにコムギ縞萎縮ウイルスが検出された（第9図）。

人工気象器内の試験においても、抵抗性品種である「イワイノダイチ」で、根には媒介菌およびウイルスの感染が認められた。



第9図 現地汚染土壌接種試験15日後の根におけるポリミキサ菌の検出



第10図 現地汚染土壌接種試験15日後の根におけるウイルスの検出

### 総合考察

県内でのコムギ縞萎縮病の発生は、近年では2003年に一地域の「タマイズミ」で発症の疑わしいほ場が確認されており、翌年以降も当該地域およびその周辺において、ELISA検定により発生が確認されていた。「タマイズミ」は硬質小麦であり、穂肥の増肥あるいは実肥の施用によって黄化症状や分げつ数減少をある程度回復させることができたため、甚大な被害には至っていなかった。しかし、2009年頃から、他地域の「農林61号」でも本病の発生が疑われるほ場が散見し始め、外部研究機関へELISA検定を依頼したところ、全て陽性と判断された。本病害が土壌伝染によって拡散することから、さらなる被害の拡大を防ぐ現場指導を行うためにも、汚染地域の特定や湿害等の症状との区別の必要があった。そのため、現場からは県内でも本病を早期に診断できる技術開発および診断体制の構築が強く求められていた。

### コムギ縞萎縮病の診断技術の開発

ELISA診断法はウイルスに対する抗体を用いて、抗原抗体反応を利用して診断する方法である。恒温器があれば、その他の特別な機器を必要としないため、比較的簡易に診断できる手法であるが、抗体を作製する煩雑な作業が必要であること、検出感度は作製した抗体の反応性の善し悪しに大きく左右されること、感染はしているが未発症のサンプルでは検出できないことが多いなどの短所がある。そのため、本研究において新たに開発する技術として、専用の機器・試薬が必要であるが、比較的簡易に高感度でウイルスを検出することができるRT-PCR法による遺伝子診断法を選択した。

ELISA法では、前述のようにウイルス検出はほぼ外殻蛋白質に限られる。一方、遺伝子診断法では、ウイルス遺伝子上であれば、どの部位でも認識は可能であるが、本研究においては、ウイルス株間の変異が最も少ないと考えられる外殻蛋白質遺伝子上でプライマーの設計を行った。設計にあたっては、WYMVとSBWMV両者の感染を、1回のPCR反応と電気泳動で判定するために、それぞれのPCR増幅産物の大きさが異なるように設計した。両ウイルスを検出するプライマーをそれぞれ同濃度加えて反応させることで、両者の単独感染または重複感染を区別することが可能となった。重複感染の場合、両ウイルス遺伝子量比が1:10でも両者を検出することができた。

このような手順で、WYMVとSBWMVの感染を同時に検出するマルチプレックスRT-PCR法を独自に開発した。

### 県内栽培全域での発生状況

開発した本技術を用いて、2011年、2012年播種の県内小麦栽培全域において、黄化症状・かすり状を示すほ場サンプルの検定を行ったところ、全地域において縞萎縮病の発生が確認された。その多くはWYMVによるものであったが、一部地域においてSBWMVとの重複感染が確認された。重複感染しているほ場が岐阜地域のみ集中していることや、SBWMVの単独感染のほ場が確認されなかったことについての原因は不明である。抵抗性の強い品種である「イワイノダイチ」のみを栽培している損斐地域は検定を行っていないが、生育不良と黄化症状を示す1ほ場の検定を行ったところ、ウイルスは検出されなかった（データ不掲載）。陰性となったほ場の黄化症状は、湿害等による生理障害の可能性が大きいと考えられる。

### WYMV と媒介菌の動態

現地の汚染ほ場2ヶ所においてWYMVおよび媒介菌の調査を行った。媒介菌であるポリミキサ菌は、遺伝子診断では播種約40日後には根で検出され、約70日後には顕微鏡下でも遊走子嚢が観察された。一方、WYMVも遺伝子診断では播種約40日後には根で検出されており、小麦の生育初期段階ですでに媒介菌の感染とWYMVの感染・増殖が起こっていることが明らかとなった。ポリミキサ菌の活動地温は8～30℃、そのうち植物の根への感染・増殖の適温は13℃前後(10～17℃)と報告されている<sup>2)</sup>。2011年11月第1半旬から第6半旬までの平均地温(岐阜市又丸ほ場)が、それぞれ16.6, 14.8, 13.8, 12.8, 8.8, 10.5℃であったことから、11月初旬に播種したほ場では11月中旬までの早い段階でポリミキサ菌およびWYMVの感染が起こっていたと推察される。

しかし、この時期では葉ではWYMVが検出されておらず、WYMVは根で増殖しているものの、地上部へはまだ移行していないことも分かった。播種約90日後には葉でWYMVが検出されたが、播種後40～90日の間の検定を行っていないため、地上部で移行した詳細な時期は明らかではない。WYMVの増殖適温は10℃前後、病徴発現の適温は5℃前後と報告されている<sup>2)</sup>。2011年12月第1半旬から2012年1月第6半旬までの平均気温(岐阜市アメダス)が、それぞれ10.9, 7.7, 8.2, 8.7, 3.8, 3.1, 4.1, 4.0, 4.1, 5.0, 5.3, 1.9℃であったことから、12月中旬から1月下旬までの気温が低く、小麦の生育が停滞し始めた時期に地上部へ移行したと考えられる。

土壌を湿润状態に保った接種試験では、接種15日後には根でポリミキサ菌とWYMVの感染が確認された。土壌水分が高い状態では、媒介菌であるポリミキサ菌の遊走子が活発に移動できるため、感染リスクが早まると考えられる。これらのことから、明渠排水の整備を徹底することは、湿害対策のみならず、媒介菌およびウイルスの感染を少しでも遅延させることに対して有効であることを示唆している。

晩播栽培(岐阜県の「農林61号」の栽培では11月下旬以降の播種がこれに当たる)では感染株率は変わらないものの、発病株率が低下すると報告されている<sup>3)</sup>が、それはポリミキサ菌の感染・増殖の適温期間の短縮と、ウイルスの増殖・病徴発現の適温期間の短縮の相乗効果によるものと考えられる。

### ほ場内発生雑草からのWYMVの検出

WYMVは小麦、ライ麦のみを宿主とし、SBWMVは小麦、大麦、ライ麦を宿主とすることが分かっている。その他の作物への感染は報告されていないが、SBWMVはイネ科雑草であるスズメノカタビラへの感染が報告されている<sup>4)</sup>。栽培現場での除草剤処理は、播種時に土壌処理剤、生育期に茎葉処理剤を散布するのが一般的であるが、処理後の降雨が多い場合や除草剤の散布が不均一な箇所は、様々な雑草が発生することが多い。そこで、ほ場内に発生した雑草から、ウイルスが検出されるか検定を行ったところ、スズメノカタビラ、スズメノテッポウ、カズノコグサ、ジシバリ、ヤエムグラ、ノミノフスマの根からWYMVが検出され、カズノコグサ、ノミノフスマは葉からも検出された。ノボロギク、トキワハゼからはWYMVが検出されなかったが、雑草はほ場内に不均一に発生しており、またその発生時期もまばらであるため、土壌内のウイルス濃度が少ない箇所でも発生した個体や、雑草が発生した時期により、感染していなかった可能性もある。

本研究で新たにこれらの雑草もWYMVに感染することが明らかになった。このため、汚染ほ場においてこれらの雑草が発生・生育すればウイルスに感染し、感染した雑草は、たとえ生育期に除草剤を茎葉散布することによって大半が枯死しても、根は地中において残存したままとなり、かつその残さ中に媒介菌の休眠胞子もウイルスを保毒したまま残るため、ウイルスの増殖源となり得ることが示唆された。

### 抵抗性品種でのWYMVの感染・増殖

現在、本県で栽培されている小麦品種の栽培面積は、2010年播種において「農林61号」が1,519ha、「イワイノダイチ」が1,221ha、「タマイズミ」が154haであり、そのうち「農林61号」の約70%のほ場が本病に感染している疑いがある、という現場からの情報がある。2004年に奨励品種に採用された「イワイノダイチ」は本病に抵抗性であるとされているが、本研究の現地汚染ほ場での試験および人工気象器内の接種試験において、「イワイノダイチ」でもWYMVが感染・増殖することが明らかとなった。これは「イワイノダイチ」の抵抗性は、ウイルスの感染・増殖そのものを抑制するのではなく、感染しても発症しない「耐病性」の意味合いが強いことを示している。また、現地汚染ほ場の試験結果では、罹病性の「農林61号」、「タマイズミ」の葉でウイルスが高頻度で検出され始める時期に、「イワイノダイチ」ではまだわずかにしか検出されなかった。このことは、

「イワイノダイチ」では何らかのウイルス増殖抑制、または地上部へのウイルス移行抑制が働いている可能性を示唆しているが、3月以降には葉でも高頻度に検出されること（データ不掲載）から、その働きは強くはないと考えられる。しかし、WYMVの増殖・病徴発現の適期に、ウイルスの増殖または移行を抑えていることは、発症しないことに対して有利に働いていると推察される。一方で、栃木県では「イワイノダイチ」でも実害はないものの発病が確認されたと報告している<sup>5)</sup>。このことは、生育初期の気候条件や土壌内ウイルス濃度によっては、「イワイノダイチ」でも発症する可能性があることを示している。いずれにせよ、「農林61号」と「イワイノダイチ」の栽培が混在している地域においては、「イワイノダイチ」栽培ほ場も汚染ほ場となり得るという考えのもとに、現地指導を行う必要がある。

#### 今後の方向

現在のところ、コムギ縞萎縮病に対して確実かつ有効な対策技術はないのが現状である。本病に対して登録のある土壌消毒剤として、TPN剤とフルアジナム剤があるが、いずれもコスト的に実用性のあるものではない。耕種的防除としては、麦種転換、晩播栽培、反転プラウ耕などが有効とされているが、麦種転換は全ての栽培現場に適用できるものではなく、晩播栽培では晩播すること自体が減収や品質低下を起こす原因にもなる。ポリミキサ菌は地中15cm程まで存在していると言われ、反転プラウによる深耕は一時的な被害軽減に有効かもしれないが、長期的な効果は期待できない。

最も有効かつ根本的な対策は、抵抗性品種への切り換えであり、岐阜県でも抵抗性品種である「さとのそら」や「きぬあかり」の導入も検討されている。しかし、この2品種も「イワイノダイチ」と同様、WYMVが感染・増殖することが、現地汚染ほ場での栽培試験で明らかになっている（データ不掲載）。全ての栽培品種が抵抗性品種に置き換わる場合は問題ないと思われるが、汎用性の高い「農林61号」への実需者ニーズは依然高いままであり、新品種への切り換えは実需者の意向に即した形で慎重に行っていく必要がある。「農林61号」も一部残ったままとなる場合、前述のように新品種も汚染源となるため、耕種的対策を確立する必要がある。

本病の発症によって小麦が枯死まで至ることはほとんどなく、分げつ数の減少等に伴う収量低下が主な被害となる。コムギ縞萎縮病汚染ほ場において、窒素増肥によって減収被害が軽減されたという報告もある<sup>6)</sup>。ほ場の汚染が判明しており、かつ罹病性品種を栽培せざるを

えない地域において、本病発症による減収を回復させるためには、追肥施用を工夫することで、本病による被害を最小限に抑えることができる可能性がある。岐阜県的小麦栽培は元肥に被覆尿素肥料（セラコートR25）のみを施用し、追肥は3月の穂肥1回のみという特異な施肥体系をとっている。「農林61号」においては、追肥の施用量を変化させず、施用時期のみの違いだけでは、収量に対する効果はなかった<sup>7)</sup>。本施肥体系における本病発症による減収割合がどの程度かをまず明らかにし、品質低下を伴うことなく増収効果のある追肥施肥法を今後検討していく必要がある。

#### 謝辞

本研究における現地試験を実施するにあたり、吉田一昭技術課長補佐（農業経営課）、高橋幸蔵技術主査（西濃農林事務所農業普及課）、神田秀仁技術主査（岐阜農林事務所農業普及課）には、多大なる御協力を頂きました。ここに深く感謝申し上げます。

#### 引用文献

- 1) E. Ward and M. J. Adams (1998) Analysis of ribosomal DNA sequences of Polymyxa species and related fungi and the development of genus- and species-specific PCR primers. *Mycological Research* 102 : 965-974
- 2) 大藤泰雄(2005) コムギ縞萎縮病の発生生態に関する研究 東北農研研報 104 : 17-74
- 3) Ohto, Y. and S. Naito(1997) Propagation of wheat yellow mosaic virus in winter wheat under low temperature conditions. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn* 63 : 361-365
- 4) 稲葉忠興、斎藤康夫(1968) スズメノカタビラから検出されたムギ類萎縮病ウイルス 日植病報34: 40～45
- 5) 栃木県農業環境指導センター(2011) 植物防疫ニュース（速報No.13）
- 6) 鈴木啓史、増田欣也、黒田克利(2008) コムギ縞萎縮病に対する窒素肥料増施による減収軽減効果 日植病報 75:79（講要）
- 7) 村元靖典、吉田一昭(2010) 被覆尿素肥料を用いた小麦の高品質化技術に関する研究 岐阜農技センター研究報告 10 : 1-10

### **Abstract**

Wheat yellow mosaic disease which causes significant yield losses in wheat is occurring in Gifu Prefecture. We developed multiplex RT-PCR method to detect wheat yellow mosaic virus (WYMV) and soil-borne wheat mosaic virus (SBWMV) which caused this disease. By the diagnosis using this method, it was confirmed that this disease spread through all areas of cultivated susceptible varieties in Gifu. On closer investigation using the virus-infected fields, WYMV was detected about 40 days after sowing (in the middle of December) in wheat roots, about 90 days after (at the end of January) in leaves. WYMV was also detected in some weeds growing in infected fields. In inoculation test using the soils of the virus-infected fields, WYMV was detected about 2 weeks after inoculation under damp condition. WYMV was also detected in the resistant variety “Twainodaichi”.

### **Key words**

wheat, wheat yellow mosaic disease, soil-borne mosaic disease, genetic diagnosis technique, multiplex RT-PCR