

【短報】

アブラムシ接種によるインゲン黄化病抵抗性検定法

小野寺鶴将*¹ 江部 成彦*²

インゲン黄化病抵抗性系統の選抜を目的として、本病の媒介種であるジャガイモヒゲナガアブラムシを用いた接種検定法を考案した。本検定法は、従来実施されてきた圃場検定の結果とほぼ矛盾がなく、かつ安定した結果が得られることから、抵抗性系統の効率的な選抜手法として有効と考えられた。

緒言

北海道で栽培されているインゲンマメのうち、わい性品種群である金時類はインゲン黄化病に対する感受性が高く、しばしば多発による減収被害が認められる¹⁾。そのため、近年は本病に対する抵抗性が育種の重要目標に掲げられ、抵抗性母本の探索や交配、選抜が進められている。現在のところ、これらの作業は多発圃場における圃場検定の結果をもとに進められているが、自然感染に頼る圃場検定では、検定が年1回に限られる上、発生量が少ない年では、選抜に支障をきたす場合がある。そこで、本試験では、選抜が効率的に進むことを期待し、本病の媒介種であるジャガイモヒゲナガアブラムシ (*Aulacorthum solani*) を用いた接種検定法を検討した。

方法

1 接種条件の検討

品種は、圃場検定において抵抗性の指標品種としている「大正金時」(抵抗性弱)、「北海金時」(やや弱)、「姫手亡」(やや強)、「北原紅長」(強)を供試した。

接種ウイルスは1999年7月に十勝農試圃場のダイズわい化病罹病個体から採集したダイズわい化ウイルス黄化系統 (SbDV-Y, 以下ウイルスと省略) で、ポット栽培したダイズ「トヨムスメ」で継代したものを供試した。

アブラムシは1997年4月、十勝農試内に自生するエゾノギンギシから採集したジャガイモヒゲナガアブラムシ (以下アブラムシと省略) の黄緑色個体で、ダイズ「トヨムスメ」の切離葉上において20℃長日 (1日16時間照明) 条件下で増殖したクローンを供試した。

(1) 検定植物への接種時期

検定植物は素焼鉢には種後、温室で栽培し、は種後4日 (初生葉展開期)、17日 (初生葉期)、32日 (第1本葉展開期)、36日 (第2本葉展開期)、46日 (第2本葉期)、50日 (第3本葉展開・着蕾期) に生育期を揃えた。接種アブラムシは1~2令幼虫で、罹病ダイズ切離葉上で3日間ウイルスを獲得させた個体を検定植物あたり1頭ずつ3日間放飼した。その後、シフルトリン乳剤2000倍液で殺虫し、接種41日後に葉の黄化や株のわい化などの病徴から発病個体率を調査した。

(2) 接種に用いるアブラムシの令期

アブラムシは1~2令幼虫および成虫を供試した。ウイルスの獲得・接種方法は上記と同じで、検定植物のステージは初生葉期とした。その後のアブラムシ殺虫方法は上記と同じで、約2カ月後に病徴から発病個体率を調査した。

(3) 接種期間

アブラムシは1~2令幼虫を供試した。ウイルスの獲得方法は上記と同じで、接種期間は1~3日間の3処理とした。その後の殺虫方法、発病個体率の調査方法は上記と同じである。

2 検定植物の栽培法

品種は「大正金時」、「北海金時」、「姫手亡」、「北原紅長」を供試した。

検定植物は紙筒 (日本甜菜製糖製 No. 5-91 口径50mm×高さ75mm×91本/冊) あるいは素焼鉢 (5号) には種し、25℃で3日間催芽した。ウイルスの獲得方法は上記と同じで、その後、初生葉展開期の検定植物に個体あたり1頭を接種し、直ちにガラス製植物培養管 (長さ130mm×径40mm) を植物個体毎にかぶせ、2日間室温に静置した。接種終了後、アブラムシは上記の方法で処理し、紙筒処理の場合は十勝農試圃場で、鉢処理の場合は温室で栽培した。発病個体率は接種2~3か月後に見とり調査した。

2002年12月6日受理

*¹ 北海道立十勝農業試験場, 082-0071 河西郡芽室町
E-mail: onoderkm@agri.pref.hokkaido.jp*² 同上

3 接種検定の妥当性と評価法

品種は、圃場検定、接種検定ともに「大正金時」、「北海金時」、「姫手亡」、「北原紅長」および十勝農試育成系統8系統を供試した。

圃場検定は1992年～2001年にかけて、鹿追町および十勝農試場内の多発圃場で実施した。発病最盛期の7月下旬～8月上旬に、葉の黄化や株のわい化などの病徴から自然感染による発病個体率を調査した。

接種検定は1999年～2001年にかけて実施した。検定植物は素焼鉢密播による室内栽培または紙筒播種による移植栽培とし、後者は十勝農試圃場へ移植した。

結果および考察

1 接種条件の検討

(1) 検定植物への接種時期

検定植物への接種時期と発病についての調査結果は図1に示した。感受性の「大正金時」では、接種時期が早いほど罹病性が高い傾向にあった。接種作業上の取り扱い易さも考慮すると接種時期は初生葉展開期が適当と考えられた。

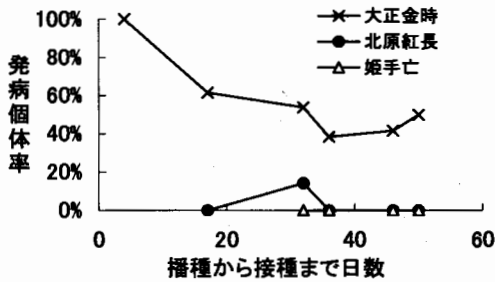


図1 検定植物への接種時期とインゲン黄化病の発病個体率

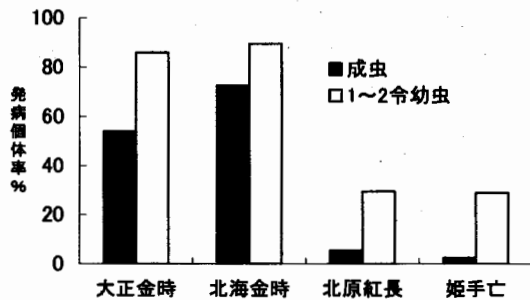


図2 接種アブラムシの令期とインゲン黄化病の発病個体率

(2) 接種に用いるアブラムシの令期

ウイルス接種に供するアブラムシの令期について1～2令幼虫と成虫を比較した結果は図2に示した。成虫よりも1～2令幼虫の媒介効率が高かった。したがって、接種に供試するアブラムシの令期は1～2令幼虫が適当と考えられた。

(3) 接種期間

接種期間について検討した結果は図3に示した。1日

間の接種日数では、抵抗性弱の「大正金時」でも発病個体率は2試験の平均で52%と検定には不十分な発病であった。また、3日間の接種日数では「大正金時」の発病個体率は82%と高かったが、抵抗性強の「北原紅長」の発病個体率も38%と高くなり、かつ処理間の変動幅が大きいため指標品種間の差が明瞭とならない場合があった。一方、2日間の接種日数では「大正金時」の発病個体率が78%であったのに対し、「北原紅長」が10%、「姫手亡」が5%と指標品種の発病個体率が最も分散し、分離程度も明確であった。以上のことから、接種期間は2日間が適当と考えられた。

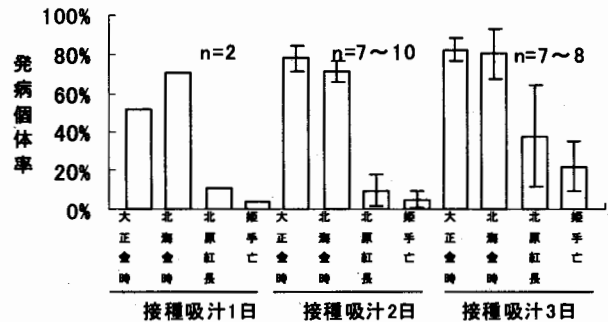


図3 接種期間の違いによる指標品種の発病状況

2 検定植物の栽培法

素焼鉢密播による室内栽培および紙筒播種による圃場移植栽培、それぞれの方法による指標品種の発病個体率を図4に示した。後者は少発圃場に移植した場合であるが、供試品種の発病個体率およびその序列は両者で同様の傾向であり、栽培法の違いは検定結果に影響を与えないと考えられた。したがって、栽培法はいずれの方法を選択してもよいと考えられる。

3 接種検定の妥当性と評価法

(1) 圃場検定における指標品種の発病状況

1992年～2001年の10年間に実施した延べ19例の圃場検定結果を、指標品種「大正金時」の発病個体率によって少～甚に区分して整理し、図5に示した。その結果、「大正金時」の発病個体率は甚発生1例を除き、18例が50%以下の範囲にあった。各指標品種間の発病個体率の差は、多発条件の7例では明瞭であったのに対し、35%以下の少・中発生条件12例では不明瞭となる傾向が見られ、特に少発生6例では抵抗性の判別は困難であった。したがって、圃場検定において、現在の育種目標である抵抗性やや強以上の系統を選抜するには、おおよそ35%以上の発病個体率となる多発生条件を確保することが望ましいと考えられる。しかし、圃場検定では年次による発生量の変動が大きく、必ずしも安定して選抜ができる状況にないといえる。

(2) 接種検定の妥当性

十勝農試育成系統と圃場検定における指標品種につい

て接種検定した結果は、2001年の圃場検定結果とあわせて図6に示した。圃場検定では、全体的に本病の発生量が少なかったため、供試した品種・系統間の発病個体率は明瞭な差とならなかったが、双方の検定における発病個体率の多少および序列について類似性が見られた。接種検定では、「北海金時」や「北原紅長」など一部の指標品種と育成系統において発病個体率が高まり、圃場検定の序列と差異が生じたものの、その変動は小さかった。したがって、接種検定により圃場検定の抵抗性程度に対応する育成系統の選別は可能であると考えられる。

なお、接種検定において一部の指標品種、育成系統で序列が乱れた原因は不明であるが、これは、圃場検定において、圃場外部から飛来する有翅虫が感染に関わっているのに対し、接種検定では幼虫を用いた強制接種であることから、自然感染に関わる様々な要因が排除されているためと推測される。すなわち、有翅虫による伝播は、アブラムシが植物に誘引され、吸汁・移動しつつ定着に至るという過程を経ており、圃場検定では有翅虫による品種間の嗜好性の差が反映している可能性がある。同種のアブラムシ、ウイルスが感染に関わっているダイズわい化病においても、自然感染による発病率に品種間差異が知られており⁴⁾、抵抗性とされる品種の中にはアブラムシの寄生密度を低く抑えるものが認められている²⁾。さらに、この内の1品種では、アブラムシの吸汁活動が阻害されることが判明しており³⁾、ダイズわい化病の抵抗性はアブラムシの嗜好性により影響を受けることが示唆されている。

本病の接種検定においては、幼虫を用いた強制接種であるため選択の余地はなく、主としてウイルス感染に対する植物の感受性が発病に反映しているものと推測される。

(3) 接種検定結果の評価法

接種検定では、抵抗性や強以上の育成系統を効率良く選別するのが目的であるため、抵抗性程度を客観的に判断できる評価基準の策定が望ましい。接種検定における指標品種の発病個体率は、検定毎に多少変動するため、検定結果は「判定指数」(=供試品種・系統の発病個体率/大正金時の発病個体率×100)に換算し、表1に示した弱～強に3区分された評価基準により抵抗性を判定するのが適当と考えられる。この基準により指標品種と育成系統を判定した結果は図7に示した。このうち、圃場

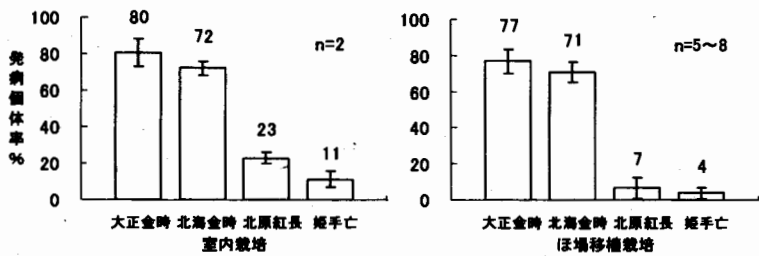


図4 室内栽培、圃場移植栽培における指標品種の発病状況

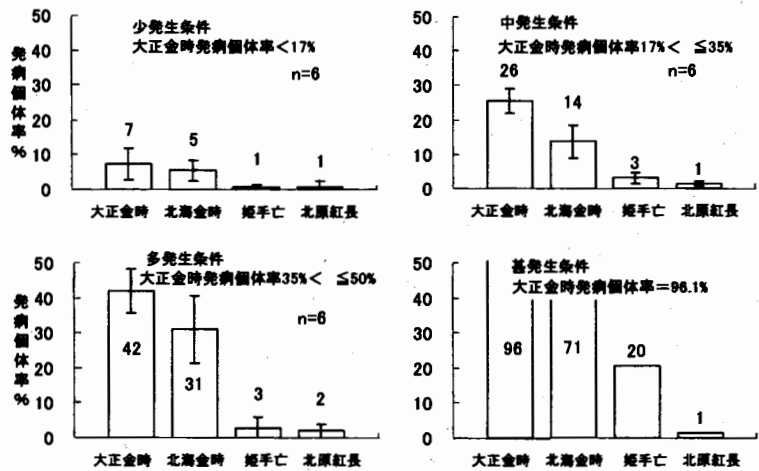


図5 ほ場検定における発病程度の違いと指標品種の発病

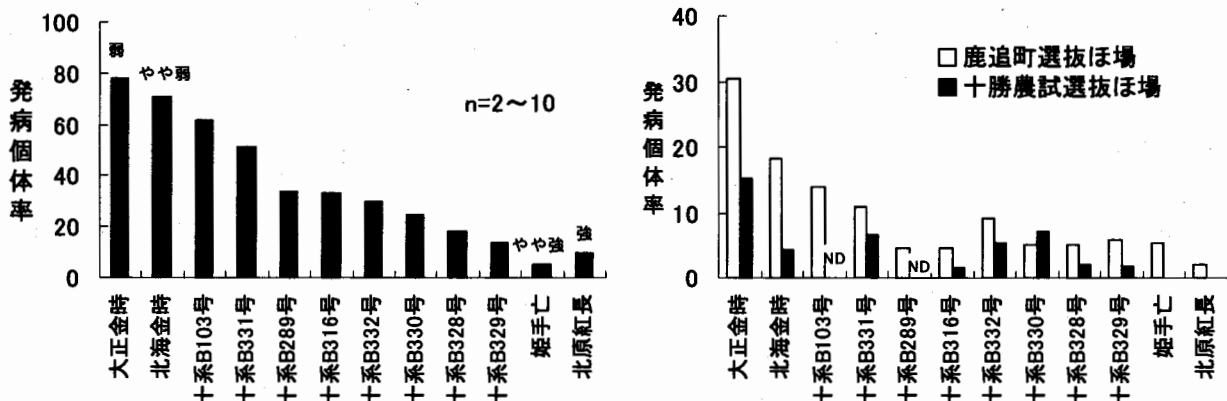


図6 育成系統の発病個体率と序列 (左：接種検定, 右：平成13年ほ場検定)

表1 接種検定における評価基準

判定指数	判定
0~30	強
31~80	中
81~100	弱

*判定指数 = $\frac{\text{供試系統の発病個体率}}{\text{大正金時の発病個体率}} \times 100$

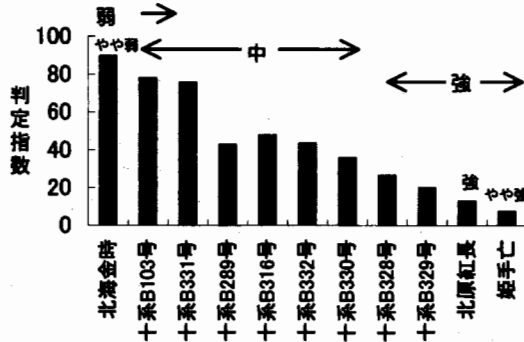


図7 評価基準による育成系統の抵抗性判定結果

検定においてやや強~強と判定されている「十系 B328号」「十系 B329号」は、共に判定指数が30以下で(強)と判定された。

4 接種検定法マニュアル

先に述べた検定植物の栽培法の2つについて、接種検定法の手順として別表のようにまとめた。これらのうち、素焼鉢密播による室内栽培法は、検定植物1000個体当たり約10㎡の温室面積が必要で、は種後およそ2~2.5ヶ月後に判定が可能である。冬季間の実施が可能なので、育成系統の後期世代検定への活用が考えられる。また、紙筒は種による圃場移植栽培法は、検定植物1000個体当たり約2㎡の温室面積と約120㎡の圃場面積が必要で、は種後およそ2~3.5ヶ月で判定が可能である。大量の個体を検定する場合に効率的なので、育成系統の中~後期世代の選抜および検定に利用できる。接種に要する時間は両栽培法ともにおよそ150個体/時間/人が目安である。検定個体数は精度を考慮し、育成系統当たり30個体以上が望ましい。

なお、圃場移植栽培法では、自然感染の危険性が高い時期にアブラムシを適切に防除すること、指標品種「大正金時」の無接種区を設け、自然感染による発病個体率を差し引いて評価することが必要である。

付表

1. 素焼鉢密播による室内栽培法

- ①素焼5寸鉢に通気性に優れた育苗培土をつめる。鉢の中心に種子を1粒、その周囲を取り巻くように各々5cmずつ離して6粒の計7粒をは種する。軽く覆土して十分に灌水した後、25℃で3日間催芽する。
- ②出芽揃いになったら、温室で3日間生育させる。出芽揃いにあわせ、1~2令幼虫を検定苗の数だけ採集し、ウイルスを獲得させる。保毒源は接種後1~2ヶ月の罹病ダイズ「トヨ

- ムスメ」の上位展開葉の切離葉とし、3日間吸汁させる。
- ③出芽揃いから3日間で初生葉展開期に生育する。ここに、保毒アブラムシを検定苗当たり1頭付着させ、植物培養管(長さ130mm×径40mm)をかぶせる。1鉢の作業が済んだら、7本の植物培養管を輪ゴムで束ね、2日間室温で吸汁させる。
- ④接種した苗から植物培養管を取り去り、殺虫剤でアブラムシを殺す。その後は温室で栽培する。
- ⑤は種後およそ2ヶ月で病徴が出現するので、発病個体率を調査し、判定指数を算出する。

2. 紙筒は種による圃場移植栽培法

- ①紙筒(日本甜菜製糖製 No.5-91 口径50mm×高さ75mm×91本/冊)にてん菜育苗土を半分までつめ、さらに通気性に優れた育苗培土で満たす。種子を筒あたり1粒ずつは種し軽く覆土する。十分に灌水した後、25℃で3日間催芽する。
- ②出芽揃いになったら、室内栽培法に準ずる方法でアブラムシにウイルスを獲得させ、その3日後に接種を行う。1冊の作業が済んだら、植物培養管が倒れないよう注意し、2日間室温で吸汁させる。
- ③室内栽培法と同様にアブラムシを処理後、圃場へ移植する。
- ④は種後およそ2~3ヶ月で黄化病徴が出現するので、発病個体率を調査し、判定指数を算出する。

引用文献

- 1) 北海道立十勝農業試験場. “インゲン黄化病の多発要因解明とその防除法確立に関する試験”. 平成元年度北海道農業試験会議資料. 1990. 92p.
- 2) 神野裕信, 荒木和哉, 吉良賢二, 品田裕二. “ダイズわい化病高度抵抗性育種素材の作出, 1. ジャガイモヒゲナガアブラムシ抵抗性”. 育種・作物学会北海道談話会会報. 38, 112-113(1997).
- 3) Takahashi, O., K. Honda, and S. Kawabe. “Analysis of the Feeding Behavior of *Aulacorthum solani* (Homoptera: Aphidae) on a Resistant Variety of Soybean (Leguminosae: *Glycine max*) ‘Adams’ Using a Computer-Based Electronic Monitoring System”. *Appl. Entomol. Zool.* 37, 577-581(2002).
- 4) 谷村吉光, 玉田哲男. “ダイズ矮化病抵抗性の育種的研究, I. 抵抗性の品種間差異”. 北海道立農試集報. 35, 8-17(1976).

Inoculation Method of Screening Kidney Bean Varieties for Resistance to Bean Yellows, Soybean Dwarf Virus (SbDV)

Kakumasa ONODERA*1, Shigehiko EBE*2

*1 Hokkaido Tokachi Agricultural Experiment Station, Memuro, Hokkaido, 082-0071 Japan
E-mail: onoderkm@agri.pref.hokkaido.jp

*2 ibid.