

静岡県のトルコギキョウに発生しているウイルス病

土井 誠¹・古木孝典¹
(静岡県農業試験場)

Virus Diseases Occurring on Lisianthus in Shizuoka Prefecture

Makoto DOI² and Takanori FURUKI

摘 要

1998～2002年に静岡県内の施設栽培トルコギキョウに発生したウイルス病の病原を調査した。この結果、4種類のウイルスが確認され、これと既報の2種と合わせ、6種類のウイルスが静岡県内で発生していることが確認された。このうち、アイリスイエロースポットウイルス (IYSV) を主としたアザミウマ媒介性ウイルスが、静岡県内のトルコギキョウに発生しているウイルス病の主要原因となっていることが明らかとなった。

トルコギキョウ (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn) はリンドウ科の花き作物で、最近10年間で栽培面積が倍増している。これに伴い、多種類のウイルス病害の発生が報告されている(日本植物病理学会編, 2000; 日本植物病名目録; 内川ら, 2002; 山下ら, 2002; 土井ら, 2003; 土井・加藤, 2003)。今回、静岡県内のトルコギキョウに発生しているウイルスの種類について調査したので報告する。貴重なトルコギキョウえそウイルス (LNV) 抗体を分譲いただいた亀谷満朗博士 (山口大学) に深謝申し上げる。

材料および方法

1. 供試植物

1998年5月～2002年11月に静岡県内各地から、葉や茎に黄化等のウイルス様症状を示した施設栽培トルコギキョウ株21サンプルを採集し供試した(第1表)。

2. 詳細調査

21サンプルのうち5サンプルについて *Chenopodium quinoa* を用いて単病斑分離を行い5分離株 (T4, T5, T6, T7, T8) を得た。これらを5科13種～11科23種の検定植物に汁液接種し宿主範囲について調査するとともにトルコギキョウへの戻し接種による病徴再現を行った。

電子顕微鏡観察は、病徴再現されたトルコギキョウ発病葉を供試してdip法により行った。本法で粒子が確認できなかった場合は0.1Mリン酸緩衝液 (pH7.0) で発病葉を磨砕し、2%グルタルアルデヒドで固定後、再度観察した。

ウイルス抗血清を用いた検定には、宿主範囲と電子顕微鏡観察の結果をもとに供試する抗体を選定し、次に示す方法で行った。すなわち、T4分離株についてはトマト黄化えそウイルス (TSWV) 抗体 (日本植物防疫協会)、インパチエンスネクロティックスポットウイルス (INSV) 抗体およびアイリスイエロースポットウイルス (IYSV) 抗体 (Agdia社) を用いたDAS-ELISA法により、T6分離株についてはカブモザイクウイルス (TuMV) 抗体 (日本植物防疫協会) を用いたDIBA法および金コロイド免疫電顕法により行った。T7分離株についてはLNV抗体 (亀谷博士から分譲) を用いた間接ELISA法および金コロイド免疫電顕法により、T8分離株については、キュウリモザイクウイルス (CMV) 抗体 (日本植物防疫協会) を用いたDIBA法およびトラップデコレーション免疫電顕法により反応を確認した。

また、T4分離株については、TSWV特異的プライマ

1 現在、静岡県西部農林事務所

2 Address: Seibu Agriculture and Forestry Office, Higashitamachi 87, Hamamatsu, Shizuoka 430-0915, Japan
2003年5月10日受領

ー (AおよびB) (加藤・花田, 2000), IYSV特異的プライマー (IY-NP-Vおよび3'T12) (土井ら, 2003) およびINSV特異的プライマー (S1INSVおよびS2INSV) (Weeks et al., 1996) を用いてそれぞれRT-PCRによるウイルスの確認を行った。

3. 簡易診断

詳細調査の結果に基づき 残りのサンプルについて、発病葉の電子顕微鏡観察と *C. quinoa*, *Nicotiana benthamiana* への汁液接種および血清反応により感染ウイルスの種類を特定した。また、電顕観察でトスポウイルス様の大型球状粒子が認められた場合は、3組のプライマーを用いたRT-PCRによる確認も行った。

結果及び考察

1. 詳細調査

1) 宿主範囲と病徴

トルコギキョウから得た5ウイルス分離株の宿主範囲と病徴を第2表に示した。T4分離株は、キク科、ナス科、マメ科など5科9種の植物に全身感染し、このうちの多くでえそ症状を示した。T5分離株は、他の分離株と比べ宿主範囲が狭く、全身感染した植物はトルコギキョウ以外ではナス科の *N. benthamiana* のみ

であった。T6分離株は、ゴマ科のゴマ、アブラナ科のダイコン、アカザ科のホウレンソウなどに全身感染した。T7分離株は、7科11種の植物に感染が認められたが、このうちトルコギキョウ以外の全身感染植物は、ナス科の *N. benthamiana* と *N. glutinosa* およびヒコ科のセンニチコウのみであった。T8分離株はナス科、ウリ科、アカザ科植物に全身感染し、モザイク症状等を示した。

トルコギキョウへの接種では、5分離株いずれも元株と同様の症状を示した。

2) 電子顕微鏡観察

5分離株の電子顕微鏡による観察結果を第3表に示した。T6, T7分離株ではdip法によりウイルス粒子が観察された。残り3分離株のうちT4, T8分離株は、粗汁液をグルタルアルデヒドで固定することによってウイルス粒子が観察されたが、T5分離株ではウイルス粒子は確認できなかった。粒子の形態は、T6分離株は700~800nmのひも状粒子、T7分離株は約30nmの球状粒子、T4分離株は60~100nmの球状粒子 (第1図)、T8分離株は約30nmの球状粒子であった。

第1表 トルコギキョウ供試株の症状、発生株率、発生時期および発生場所

| No. (分離株) | 症状 | 発生株率 (%) | 発生時期 | 発生場所 |
|--------------|---------------|-------------|---------|------|
| 1 (T4) | 黄化, えそ斑点 | 70 | 1998. 5 | 島田市 |
| 2 | えそ斑点, えそ | 20 | 1998. 6 | 清水市 |
| 3 (T5) | 中位葉えそ斑点 | 50 | 1998. 9 | 島田市 |
| 4 (T6) | えそ斑点, 茎えそ | 5 | 1998.12 | 清水市 |
| 5 (T7) | 萎縮, 茎えそ | 10 | 1999. 5 | 浜松市 |
| 6 (T8) | えそ, 茎えそ | 5 | 1999.10 | 富士市 |
| 7 | えそ, 茎えそ | 1 | 2000. 6 | 清水市 |
| 8 | えそ斑点, 茎えそ, 萎縮 | 5 | 2001. 4 | 榛原町 |
| 9 | えそ, えそ斑点, 萎縮 | 5 | 2001. 5 | 榛原町 |
| 10 | えそ, えそ斑点 | 5 | 2001. 5 | 福田町 |
| 11 | 黄化, えそ斑点 | 10 | 2001. 7 | 袋井市 |
| 12 | えそ, えそ斑点 | 1 | 2002. 1 | 磐田市 |
| 13 | えそ, えそ斑点 | 10 | 2002. 1 | 岡部町 |
| 14 | えそ, えそ斑点, 茎えそ | 1 | 2002. 1 | 袋井市 |
| 15 | えそ, えそ斑点 | 10 | 2002. 2 | 岡部町 |
| 16 | えそ輪紋, 黄化 | 50 | 2002. 4 | 静岡市 |
| 17 | 黄化, 萎縮, えそ | 20 | 2002.10 | 三ヶ日町 |
| 18 | えそ斑点, 茎えそ | 1 | 2002.10 | 島田市 |
| 19 | 黄化, 萎縮 | 1 | 2002.10 | 島田市 |
| 20 | えそ斑点, えそ | 1 | 2002.11 | 大井川町 |
| 21 | 退緑輪紋, えそ輪紋 | 10 | 2002.11 | 大井川町 |

第2表 トルコギキョウから分離されたウイルス株の宿主範囲と病徴

| 科名 | 植物 | 病徴(接種葉/上葉) ⁹⁾ | | | | |
|-------|----------------------------------|--------------------------|----------|-----------|-----------------|-------------|
| | | T4 | T5 | T6 | T7 | T8 |
| アカザ科 | <i>Chenopodium amaranticolor</i> | | | CS,NS / - | NS / - | NS / - |
| | <i>C. quinoa</i> | NS / - | NS / - | CS,NS / - | NS / - | NS / - |
| | ホウレンソウ | | | NS / CS | - / - | - / M |
| アブラナ科 | ダイコン | | - / - | - / M | - / - | - / - |
| | ハクサイ | | - / - | - / - | - / - | - / - |
| | キャベツ | | - / - | - / - | - / - | |
| ウリ科 | キュウリ | NS / - | - / - | - / - | - / - | - / Y |
| | ペポカボチャ | | - / - | - / - | - / - | CS / M,CS |
| | メロン | NS / - | - / - | | | |
| | スイカ | | - / - | | | |
| キク科 | レタス | | | - / - | - / - | |
| | ヒャクニチソウ | NS / NS, Ma | - / - | | | |
| ゴマ科 | ゴマ | | | NS/N, M | NS / - | |
| シソ科 | シソ | | | - / - | NS / - | |
| セリ科 | ニンジン | | | - / - | - / - | |
| ナス科 | トマト | NS / Y, N, NS, Str | - / - | - / - | - / - | - / Ma |
| | ピーマン | NS / M, N | - / - | | | |
| | ペチュニア | NS / - | - / - | | | |
| | <i>Datura stramonium</i> | Rsn / M | - / - | - / - | - / - | - / - |
| | <i>Nicotiana benthamiana</i> | | (CS) / M | CS / M | CS / M | |
| | <i>N. glutinosa</i> | | - / - | | (NS) / (M) | - / M |
| | <i>N. rustica</i> | NS, CS / M | - / - | CS / - | - / - | CS / M |
| | <i>N. tabacum</i> | NS / N, Str | - / - | NS / - | - / - | CS / Y(M) |
| ヒユ科 | センニチコウ | NS / M, Ma | - / - | NS / - | NS / (NS, Str) | |
| マメ科 | ソラマメ | | | - / - | NS / - | |
| | ササゲ | NS / M, N | - / - | - / - | NS / - | |
| | エンドウ | | | | NS / - | |
| リンドウ科 | トルコギキョウ | NS / Y, NS, Str | CS / M | NS / NS | NS / N, NS, Str | NS / N, M |

a) CS=退緑斑点, Ma=奇形, M=モザイク, N=えそ, NS=えそ斑点, Y=黄化, Rsn=えそ輪紋, Str=茎えそ, Stu=萎縮 ()=時に見られる病徴, - =無病徴

第3表 トルコギキョウから分離されたウイルス株の電子顕微鏡観察, 血清反応およびRT-PCRの結果^{a)}

| 分離株 | 電子顕微鏡観察 ^{b)} | | 血清反応 ^{c)} | | | | | | RT-PCR ^{d)} | | |
|-----|-----------------------|-----|--------------------|------|------|--------------------|--------------------|--------------------|----------------------|------|------|
| | 大きさ(nm) | 形状 | TSWV | IYSV | INSV | TuMV | LNV | CMV | TSWV | IYSV | INSV |
| T4 | 60~100 | 球状 | + | - | - | - | - | - | + | - | - |
| T5 | 不明 | 不明 | | | | - | | - | | | |
| T6 | 700~800 | ひも状 | | | | +(+) ^{d)} | | - | | | |
| T7 | 30 | 球状 | | | | - | +(+) ^{d)} | - | | | |
| T8 | 30 | 球状 | | | | - | | +(+) ^{d)} | | | |

a) 表中の記号 + : 明瞭な反応有, - : 反応無

b) T6, T7分離株についてはdip法による観察, T4, T5, T8分離株は粗汁液をグルタルアルデヒドで固定後観察

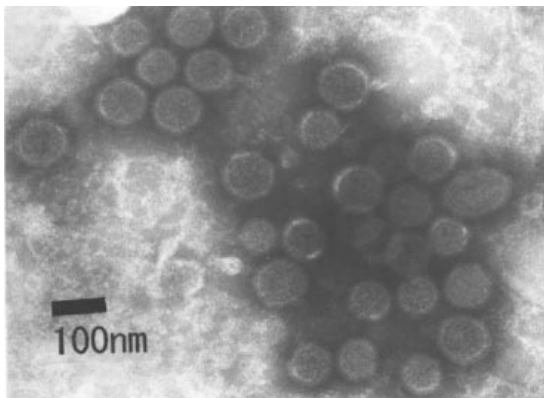
c) TSWV, IYSVおよびINSV抗体に対する反応はDSA - ELISA法で, LNV抗体は間接ELISA法で, TuMV, CMV抗体はDIBA法で検定

d) ()内は免疫電顕による観察結果

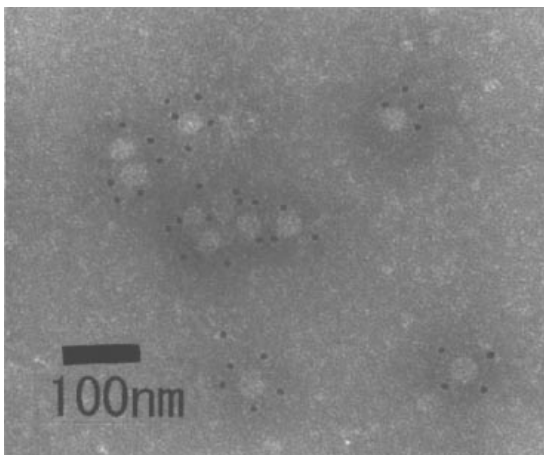
e) TSWV, IYSV, INSVそれぞれに特異的プライマーを用いたRT - PCRの結果

3) 血清反応およびRT-PCR

T4分離株はDAS-ELISA法において、TSWV抗体、IYSV抗体およびINSV抗体のうちTSWV抗体とのみ反応した。また、RT-PCRにおいてもTSWV特異的プライマーを用いた場合のみ予想されるサイズの特異的な増幅産物が確認された。T6分離株は、DIBA法においてTuMV抗体と明瞭に反応し、金コロイド免疫電顕法でもTuMV抗体と特異的に反応し金コロイド粒子が多数結合したひも状粒子が認められた。T7分離株は、間接ELISA法において、LNV抗体と強く反応し、金コロイド免疫電顕法でもLNV抗体と特異的に反応し金コロイド粒子が多数結合した球状粒子が認められた(第2図)。T8分離株は、DIBA法においてCMV抗体と明瞭に反応し、トラップデコレーション免疫電顕法でもCMV抗体と特異的の反応が認められた(第3表)。



第1図 T4分離株の電子顕微鏡写真



第2図 LNV抗体処理後、抗ウサギIgG-金コロイド粒子(Au:径10nm)が結合したT7分離株

以上の結果から、T4、T6、T7、T8分離株をそれぞれTSWV、TuMV、LNV、CMVと同定した。今回の詳細調査で発生が確認されたこれら4種類と既報のIYSV(土井ら, 2003)、INSV(土井・加藤, 2003)と合わせ、6種類のウイルスが静岡県内のトルコギキョウで発生していることが確認された。

2. 簡易診断

詳細調査の結果に基づき残り16サンプルについて病原ウイルスを調査したところ、IYSVによるもの9サンプル、TSWV 2サンプル、LNV 2サンプル、不明3サンプルであった。

今回調査した21サンプルと既報のIYSV(土井ら, 2003)、INSV(土井・加藤, 2003)とを合わせた24サンプルについて、病原ウイルスの比率をみるとIYSVが40%以上で最も多かった。これとTSWVおよびINSVを合わせたアザミウマ媒介性ウイルス3種で全体の60%以上を占めていた。一方、長野県における清水ら(1993)の調査で主として発生していたCMV等のアブラムシ媒介性ウイルスは少なかった(第4表)。

近年、TSWVの媒介虫であるミカンキロアザミウマに加え、IYSVの媒介虫であるネギアザミウマが多く、多くの作物で多発して問題となっており、今後、これらウイルスの更なる被害拡大が懸念される。また、今回の調査において発生が確認されたLNVは土壌伝染するため一度発生すると防除は容易ではない。今後は本ウイルスの発生動向に十分な注意を払う必要がある。なお、今回の調査で病原が特定できなかったサンプルについては、汁液接種の結果からウイルスによるものと考えられるため、今後はこれらについても明らかにしていく必要がある。

第4表 静岡県のトルコギキョウに発生しているウイルスの種類^{a)}

| ウイルス | 検出サンプル数(%) | 伝染方法 |
|------|-----------------------|----------|
| IYSV | 11 ^{b)} (46) | |
| TSWV | 3(13) | アザミウマ媒介 |
| INSV | 1 ^{c)} (4) | |
| CMV | 1(4) | アブラムシ媒介 |
| TuMV | 1(4) | |
| LNV | 3(13) | 土壌(菌類)媒介 |
| 不明 | 4(17) | |
| 計 | 24 | |

a) 1998年1月～2002年11月調査

b) 土井ら(2003)の2サンプルを加えた。

c) 土井・加藤(2003)の1サンプルを加えた。

引用文献

- 土井誠・加藤公彦 (2003) 関東病虫研報 50 : 83 - 87.
- 土井誠ら (2003) 日植病報 69 : 181 - 188.
- 加藤公彦・花田薫 (2000) 九病虫研会報 46 : 61 - 65.
- 日本植物病名目録 (2000) 日本植物病理学会編 . 日本植物防疫協会 . 東京 . 220 pp.
- 清水時哉ら (1993) 関東病虫研報 40 : 143 - 145.
- 内川敬介ら (2002) 日植病報 68 : 50 (講要).
- Weekes, R. J. et al. (1996) Acta Horticulture 431 : 159 - 166.
- 山下一夫・福井要子 (2002) 日植病報 68 : 235 (講要).