# グラジオラス栽培ほ場におけるインゲンマメ黄斑モザイクウイルスと キュウリモザイクウイルスの伝搬

長岡(中薗)栄子」・眞部 徹\*・小坂能尚\*\*

(中央農業総合研究センター・\*茨城県農業総合センター生物工学研究所・\*\*京都府農業資源研究センター)

Transmission of *Bean Yellow Mosaic Virus* and *Cucumber Mosaic Virus* in a Field of Gladiolus

Eiko N.-NAGAOKA<sup>2</sup>, Toru MANABE and Yoshitaka Kosaka

#### 摘 要

グラジオラス栽培は場におけるウイルスの発生を調査したところ,殆どのグラジオラスがBYMVやCMVに感染していた。ウイルスフリーの実生苗を使った暴露試験により,これらウイルスのグラジオラス間における伝搬は非常に少ないことが示された。一方,栄養繁殖によるウイルスの伝搬は高率であった。これよりグラジオラスにおけるウイルスの伝搬は主に垂直伝搬であると考えられた。

グラジオラスは主要な花き園芸植物のひとつである が, ウイルス病の発生により生産力・商品性の低下が 甚だしく 農業生産において大きな問題となっている。 国内のグラジオラスに発生する主なウイルスとして は,インゲンマメ黄班モザイクウイルス(BYMV), キュウリモザイクウイルス (CMV), タバコ輪点ウイ ルス (TRSV), タバコモザイクウイルス (TMV), 及 びソテツえそ萎縮ウイルス(CNSV)がある(大木, 1997)が、これらのうちBYMVとCMVが重要な病原ウ イルスであり,栽培ほ場での発生程度は非常に高いこ とが報告されている(福本ら,1982;高津ら,1998;和 田ら、2000)。 しかしながら, これらの報告ではウイル スの種類や病徴などの発生実態を明らかにしたに過ぎ ず、これらウイルスのほ場外部からの侵入、ほ場内に おけるグラジオラス個体間の伝搬,拡大の程を調査し た報告はない。本報告は,グラジオラスにおけるウイ ルスの発生実態を調査した上で、ウイルスフリーの実 生苗を使った暴露試験を行い,グラジオラスほ場にお けるBYMVとCMVの水平伝搬と垂直伝搬の程度を比較 したものである。

## 材料および方法

# 1.発生実態の調査

ポット栽培した市販球茎及び京都府内のほ場で栽培されているグラジオラスから葉をランダムに回収した。また,京都府内の栽培ほ場については,グラジオラス葉の病徴が軽いものと激しいものをそれぞれ分けて回収した。これらについて ELISA法を行い, BYMVとCMVの感染を調べた。

グラジオラス葉からのウイルスの単離は,キノア(Chenopodium quinoa)を用いて2回の単病斑分離を行い,BYMVはソラマメ(品種:ミンポー)で,CMVはNicotiana rusticaで増殖した。単離したBYMV分離株は,インゲンマメの4品種(本金時,ケンタッキーワンダー,マスターピース,トップクロップ)における病原性の違いによって4つのpathotype( ~ ; Sasaya et al., 1998)に類別した。CMVについては,血清型とササゲ(黒種三尺)での病徴を調べた。

- 2. ほ場における伝搬
- 1)グラジオラス間の伝搬

2001年5月28日から7月2日にかけて, ウイルスが

<sup>1</sup> 元京都府農業資源研究センター

<sup>2</sup> Address: National Agricultural Research Center, Kan-nondai, Tsukuba, Ibaraki, 305-8666, Japan 2004年 4 月28日受領

多発しているグラジオラス栽培ほ場(京都府農業資源研究センター内ほ場,茨城県生物工学研究所内ほ場)に隣接してプランター植えの実生苗を配置し,BYMVとCMVの感染をELISA法とRT-PCR法(中薗ら、1998; Nakazono-Nagaoka et al., 2004)により調べた。以下,グラジオラスからのウイルスの検出はこれら2法を用いた。実生苗はグラジオラス種子から生じた幼苗であり,試験開始前にBYMVとCMVが検出されないことを確認した。試験終了後,一部は球茎を回収し,休眠打破した次代の苗についてもウイルスの感染を調べた。両ほ場について,それぞれ240株と451株の苗を調べた。

#### 2) グラジオラス ソラマメ間の伝搬

グラジオラス発病ほ場(京都府農業資源研究センター内)に隣接して,健全ソラマメ(品種:ミンポー)幼苗を24株ずつ5~9日間隔で計5回配置し,ソラマメ幼苗におけるアプラムシの寄生数及びELISA法によりBYMVの感染株数を調べた。さらに,グラジオラス由来のBYMV分離株(pathotype)をソラマメに機械接種し,これに隣接してグラジオラスの実生苗40株を2ヶ月以上栽培し,試験終了後にBYMVの感染の有無を検定した。

#### 3. 栄養繁殖による伝搬

ウイルス感染が確認されたグラジオラスの次代球茎および木子へのウイルスの伝搬を調べた。BYMV単独感染及びCMVと重複感染が確認された計7株のグラジオラスから,次代の球茎と木子を採取した。これらを休眠打破させた後,発芽してきた葉についてウイルスの検定を行った。

#### 結 果

#### 1.発生実態の調査

市販球茎及び京都府内のほ場で栽培されているグラジオラスはほぼ全てがBYMVに感染しており,CMVに

関してはBYMVと重複感染するものが多かった(第1表)。また,同様にTMVについても調べたが,ウイルスは検出されなかった。グラジオラス葉の病徴が軽いものと激しいものについてそれぞれBYMVとCMVの感染を調べたところ,症状の激しい葉の多くは両ウイルスが重複感染していた(第2表)。このことから,グラジオラスではBYMV単独感染の場合よりもCMVとの重複感染により病徴が激化すると考えられた。

グラジオラス葉から単離したBYMVの50分離株は, Sasaya et al. (1998) と和田ら (2000) が報告したpathotype とpathotype 以外に,グラジオラスでは初めてpathotype とpathotype に類別できた(第3表)。CMVについては,69株全てサブグループ であり,ササゲの接種葉に壊疽斑点を示したが全身感染は認められなかった。

## 2. ほ場における伝搬

#### 1)グラジオラス間の伝搬

ウイルスが多発しているグラジオラスほ場に隣接して栽培したグラジオラス実生苗へのBYMVとCMVの感染率は極めて低く,次代の苗でもその感染数が増えることは無かった(第4表)。

## 2) グラジオラス ソラマメ間の伝搬

ウイルスが多発しているグラジオラスほ場に隣接して5~9日間栽培したソラマメ幼苗は,アブラムシの寄生株率が50%以上あった時期に,BYMVの感染率が25%であった(第1図)。また,BYMV感染ソラマメに隣接して2ヶ月間以上栽培したグラジオラス実生苗は,40株のうち7株がBYMVに感染した。

以上の結果から、BYMVとCMVについてグラジオラス 個体間のウイルス伝搬は非常に少ないことが示唆され た。また、BYMVについては低率ではあるがグラジオ ラスとソラマメの間で伝搬が起こりうると考えられ

| 第1表 平成8年産市販グラジオラス球茎から検出されたウイルス | <b>ζ</b> <sup>a)</sup> |
|--------------------------------|------------------------|
|--------------------------------|------------------------|

| 品種      | 生産地  | 検定株数 — | 各ウイルスの感染個体数 |     |             |     |  |
|---------|------|--------|-------------|-----|-------------|-----|--|
|         |      |        | BYMV        | CMV | $B + C_{p}$ | 未検出 |  |
| マスカーニ   | オランダ | 161    | 155         | 0   | 0           | 6   |  |
| トラベラ    | 茨城県  | 100    | 98          | 0   | 2           | 0   |  |
| ガリレイ    | 茨城県  | 93     | 6           | 0   | 87          | 0   |  |
| _ スノーマス | 千葉県  | 44     | 43(9)°)     | 0   | 1           | 0   |  |

- a) 各ウイルスは展開したグラジオラス葉からELISA法により検出した
- b) BYMVとCMVの重複感染を示す
- c)( )内の値は判定が不明瞭な個体数を示す

|         | 病徴 <sup>a)</sup> | 検定 | Ť    | 各ウイルスの感染個体数 |                      |     |  |  |
|---------|------------------|----|------|-------------|----------------------|-----|--|--|
| 品種      | (葉)              | 株数 | BYMV | CMV         | B + C <sub>p</sub> ) | 未検出 |  |  |
| 41147   | М                | 23 | 2    | 5           | 15                   | 1   |  |  |
| オリガミ    | m                | 22 | 20   | 0           | 1                    | 1   |  |  |
| トラベラ    | M                | 22 | 13   | 0           | 9                    | 0   |  |  |
|         | m                | 27 | 26   | 0           | 1                    | 0   |  |  |
| マスカーニ   | M                | 6  | 1    | 0           | 5                    | 0   |  |  |
|         | m                | 21 | 20   | 0           | 0                    | 1   |  |  |
| グリーンアイル | M                | 3  | 1    | 0           | 2                    | 0   |  |  |
|         | m                | 20 | 20   | 0           | 0                    | 0   |  |  |
| 富士の雪    | M                | 20 | 0    | 8           | 12                   | 0   |  |  |
|         | m                | 20 | 20   | 0           | 0                    | 0   |  |  |

第2表 京都府内グラジオラス栽培圃場から分離されたウイルス

- a) M=明瞭なモザイク症状, m=軽いモザイク症状
- b) BYMVとCMVの重複感染を示す

第3表 グラジオラスから分離されたBYMVのpathotype<sup>al</sup> pathotype

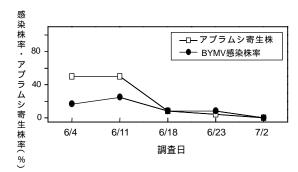
| 由来       | 検定株数 — | pathotype |   |   |    |  |
|----------|--------|-----------|---|---|----|--|
| 四个       |        |           |   |   |    |  |
| 京都府内栽培ほ場 | 26     | 11        | 5 | 3 | 7  |  |
| 市販球茎     | 24     | 7         | 2 | 2 | 13 |  |

a) インゲンマメ4品種における病原性により類別した

第4表 ウイルス多発ほ場におけるウイルスフリー実生苗からのBYMVとCMVの検出

|           | BYN                  | ЛV    | CMV   |       |  |
|-----------|----------------------|-------|-------|-------|--|
| i         | 当代                   | 次代    | 当代    | 次代    |  |
| 京都府農資センター | 1/240 <sup>a</sup> ) | 1/210 | 0/240 | 0/210 |  |
| 茨城生工研     | 8/451                | 8/221 | 3/451 | 2/221 |  |

a)検出株数/検定株数を示す



第1図 グラジオラス発病株に隣接して暴露したソラマ メ幼苗におけるBYMV感染率とアプラムシ寄生 株率の推移.

## 3. 栄養繁殖による伝搬

次代球茎へのウイルスの伝搬はBYMV, CMVとも 100%であり, 木子についてはBYMVでは50 - 100%, CMVでは24 - 100%の伝搬率であった(第5表)。これらのことから,グラジオラスでは栄養繁殖によって高率にウイルスが伝搬する可能性が示された。

#### 老 察

発生実態の調査では、BYMVやCMVはグラジオラスから高率に検出されたが、ウイルスフリーの実生苗を用いた暴露試験では、これらウイルスのグラジオラスにおける水平伝搬は非常に少ないことが示された。一方、次代球茎や木子へのBYMVとCMVの伝搬率は高かった。これらのことより、グラジオラスにおけるウイルス伝搬は、主に栄養繁殖によって垂直伝搬すると考えられた。

グラジオラスとソラマメとの間におけるBYMVの移動について和田ら(2000)は,鹿児島県で分離したグラジオラス分離株とソラマメ分離株ではpathotypeが

| グラジオラス | 検出ウ   | イルス   | 木子 | 各ウイルスの感染個体数 |     |                      |     |
|--------|-------|-------|----|-------------|-----|----------------------|-----|
| 個体番号   | 当代    | 次代    | 数  | BYMV        | CMV | B + C <sub>p</sub> ) | 未検出 |
| GB8    | B + C | B + C | 2  | 0           | 1   | 1                    | 0   |
| GB52   | B + C | B + C | 14 | 6           | 0   | 7                    | 1   |
| GB61   | B + C | B + C | 17 | 1           | 3   | 13                   | 0   |
| GB91   | B + C | B + C | 21 | 15          | 0   | 5                    | 1   |
| TB9    | B + C | B + C | 1  | 0           | 0   | 1                    | 0   |
| TB14   | BYMV  | BYMV  | 5  | 4           | 0   | 0                    | 1   |
| TB47   | BYMV  | BYMV  | 5  | 5           | 0   | 0                    | 0   |

第5表 グラジオラスの栄養繁殖によるBYMVとCMVの伝搬

出芽した葉についてELISA法とRT-PCR法によってウイルスを検出した

a) BYMVとCMVの重複感染を示す

異なり、両植物にそれぞれ限定されることから、両植物間の移動は少ないと考察している。今回の調査では、低率ではあるがBYMVはグラジオラスとソラマメの間で伝搬することが示された。これは、暴露試験にウイルス感受性の高い実生苗(第2、3葉期)を用いたことが原因の一つと考えられる。グラジオラスのウイルス感受性は植物体が大きくなるに連れて低くなる(中薗ら、1998)ため、このような感受性の高い時期を除けばグラジオラスとソラマメとの間のBYMVの移動は極めて少ないと考えられる。

グラジオラスは,実生苗から少なくとも4世代を経て花芽形成する個体に成長するが,優良な品種に関してはその後も栽培を繰り返し,栄養繁殖によって木子を増殖する。このような栽培体系の中で,いったん感染したウイルスは栄養繁殖によって保持され続けると考えられる。栄養繁殖による伝搬はBYMVとCMVとも高率であった(第5表)のに対し,発生実態の調査ではCMVの感染株数がBYMVより少なかった(第1表)これは,病徴の激しいグラジオラスではBYMVとCMV

の重複感染が多かった(第2表)ことから、CMVにより病徴が激化したグラジオラスが、栽培期間中に抜き取られたからかもしれない。

グラジオラス栽培においてその商品価値を下げる病原ウイルスは,主に垂直伝搬によって広がっていることが強く示唆された。このことは,グラジオラスにおけるウイルス防除は,育種の初期段階がもっとも重要であることを示している。

# 引用文献

福本文良ら(1982)日植病報 48:68-71.

中薗栄子ら(1998)日植病報 64:427.(講要)

中薗栄子ら(1998)日植病報 64:626.(講要)

Nakazono-nagaoka, E. et al. (2004) JGPP (accepted).

大木理(1997)植物ウイルス同定のテクニックとデザ

イン.日本植物防疫協会,東京.pp.165.

Sasaya, T. et al. (1998) Phytopathol Soc Jpn 64:24-33. 高津康正ら (1998) 茨城県農業総合センター生物工学 研究所研究報告 2:91-98.

\_\_\_\_\_

和田行央ら(2000)日植病報 66:44-48.