

## チューリップの微斑モザイク症状——発生生態と防除——

富山県農業技術センター農業試験場 <sup>もり</sup>守 <sup>かわ</sup>川 <sup>とし</sup>俊 <sup>ゆき</sup>幸

## はじめに

1979年ごろから富山県内のチューリップ球根栽培地帯において、原因不明のウイルス病様の病害（以下、ウイルス様症状）が発生し問題となっている（山本ら、1989；守川ら、1995 a）。この病害は既往のチューリップのウイルス病とは異なった病徴を示すことから、生産者の間では‘新型バイラス’とも呼ばれている。当初は、発生が特定の圃場や品種に限られ、しかも、DN法による電子顕微鏡観察ではウイルスと思われる粒子が観察されなかったことから、生理的な障害と考えられたこともあった。しかし、これらの症状の発生が、その後県内の栽培地帯に急速に拡大し、現在では最も重要な病害となっている。本県では、1986年から球根病害指定試験地である当センター野菜花き試験場において、その発生原因の究明と防除方法の確立を目的に試験を開始した。その結果、ウイルス様症状は「微斑モザイク症状」と「条斑症状」の二つに分類され、両者とも土壌で伝染することが明らかとなった（守川ら、1995 a）。また、微斑モザイク症状については、ウイルス様粒子の純化に成功し、血清学的診断方法が確立された（MORIKAWA et al., 1995；守川ら、1995 c）。

本稿では、比較的その詳細が明らかになった微斑モザイク症状を中心に、その発病要因、発病株から検出されるウイルス様粒子と発病の関係、そして防除を行うにあたっての問題点を紹介する。なお、対比のために条斑症状についても随時触れたい。

なお、本研究を行うにあたり宇都宮大学農学部教授夏秋知英博士には終始有益なご助言をいただいた、ここに厚く感謝の意を表する。

## I 病 徴

本病は、花色が赤～紫色の品種では蕾に楕円形～紡錘形の退色斑を形成するのが特徴で、この退色斑は開花に伴って不明りょうとなる場合が多い。また、品種によっては花被に増色型の条斑を生じる。白色や黄色の品種では、上述のような症状は認められないが、黄色品種で赤色の縞が生ずる品種ではその部分に斑紋を生じる場合がある。

Etiological and Ecological Study of Tulip Mild Mottle Mosaic. By Toshiyuki MORIKAWA

(キーワード：微斑モザイク、チューリップ、発生生態、防除、診断、病原ウイルス)

ある。葉では、楕円形の退緑斑紋を葉脈に沿って生じ、それらが集まって淡いモザイクを呈するが、多くの品種は葉の症状が軽微で、見分けるのが困難である。一方、条斑症状は花にはほとんど症状を現さず、葉に黄色～退緑色の明りょうな条斑が葉脈に沿って生じる点で、本病とは明らかに異なる（守川ら、1995 a）。

## II 発生状況

1979年ごろの発生当初は、砺波市や高岡市のごく限られた圃場での発生であったが、1990年ごろには県下全域で発生が認められるようになった。これまでに発生が確認された品種は46品種にのぼり、ほぼすべての品種群で認められた、Triumph, Single late, Double lateの各系統で発生が多く、Fosteriana系統の発生はまれであった。なお、白・黄色系の品種では花に病徴が現れないことが多いため、発生が確認された品種の大部分は赤・紫色系の品種である。

## III 汁液接種試験

微斑モザイク症状と条斑症状の各発病株を接種源に、カーボラダム法により *Chenopodium quinoa* に汁液接種したところ、微斑モザイク症状は径2～5 mmの退緑斑を形成したのに対し、条斑症状は径1～2 mmのえそ斑点を形成した。その後、多数発病株の試料を検定した結果、これら *C. quinoa* 上に生じた局部病斑の差異は、チューリップの病徴差異と一致し、両者は異なるウイルス性病害である可能性が示唆された。

微斑モザイク症状発病株から *C. quinoa* 上に生じた局部病斑を接種源とし、13科36種の草本植物に汁液接種した結果、ナス科5種、マメ科3種、*C. quinoa* を含むアカザ科5種およびツルナに局部感染したが、全身感染する植物は見当たらなかった。チューリップに対しては、1991年度にチューリップの微斑モザイク症状発病葉を5% (w/v) 活性炭素を含むリン酸緩衝液 (pH 7.1) 中で磨砕し、開花期のチューリップの葉に汁液接種した場合、収穫した球根を植え付けて翌春に原病徴が再現された (12/12株) が、活性炭素を含まないリン酸緩衝液中で磨砕した場合や、*C. quinoa* 感染葉を接種源とした場合は原病徴は再現されなかった。1991年以外の1988～92年の年度でも同様な接種を行ったが、原病徴の再現は成功しなかった（守川ら、1995 a）。一方、条斑症状から分離した感染因子は一部の *Nicotiana*

属植物に全身感染し、上位葉に葉脈緑帯やえそを伴うモザイクを生じたが、汁液接種による伝染効率が悪く、継代維持が困難であった。

#### IV 純化されたウイルス様粒子と微斑モザイク症状の関係

本病から特異的に分離される感染因子の耐熱性は40～45℃、耐保存性は1～2時間(20℃)、耐希釈性は100～500倍であり、きわめて不安定な因子であった。このため、検定植物上での継代維持や純化材料の確保は困難を極めた。そこでまず、汁液への活性炭素や2-メルカプトエタノール等の添加が耐保存性を向上させることや、清澄化に用いる有機溶媒のなかで四塩化炭素が感染性低下を引き起こしにくいこと、純化に用いるべき緩衝液の種類やそのpHを明らかにした。そして、これらの結果をもとに、*C. quinoa*での感染因子の増殖をはかり、純化を試みたところ、幅4～8nmの複雑に屈曲したひも状のウイルス様粒子が純化された(図-1)。また、本粒子はチューリップ発病葉やツルナ、ホウレンソウなどの接種葉からも特異的に観察された(MORIKAWA et al., 1995)。

本粒子を抗原として作成した抗血清は、das-ELISA法でTBV, LSV, CMV, TNVなどの感染葉あるいは健全葉とは反応せず、本病発病葉や*C. quinoa*接種葉と反応した(守川ら, 1995c)。また、ウエスタンブロット解析ではウイルス様粒子のタンパク質分子量に相当する47kDタンパク質が特異的に検出された(守川ら, 1995b)。

部分純化試料中の感染性は本抗血清(IgG), RNase A, Proteinase KおよびSDSの各処理によって失活し、DNase Iの処理では失活しなかった。さらに、10～40%ショ糖密度勾配遠心後の感染性は広い範囲の分画で認められたが、分画を混合することにより高まった(守川ら, 1995b)。以上のことから、本ウイルス様粒子

の存在が微斑モザイク症状の発病と密接な関係にあるものと考えられ、本病の病原は分節したゲノム(おそらくRNA)および47kDタンパク質を有し、複雑に屈曲したひも状粒子を構成成分とする全く新しいグループに属する不安定なウイルスであると考えられた。

本ウイルスのように粒子あるいはその構成成分が複雑に屈曲したひも状であるウイルスとして、*Tenuivirus*, *Tospovirus*およびCitrus ringspot virus: CtRSV (NAVAS-CASTILLO and MORENO, 1993)などが知られている。いずれのウイルスも複数のRNAをゲノムに有することで共通するが、*Tenuivirus*や*Tospovirus*は虫媒伝染し、タンパク質の分子量がそれぞれ約32kDaと27kDaである点で本ウイルスとは異なった。一方、CtRSVのタンパク質分子量は48～50kDaであり、*C. quinoa*に局部感染することなど本ウイルスとの類似性は高い。当初、DERRICKら(1988)やNAVAS-CASTILLOら(1993)が報告したCtRSV粒子の形態は本粒子のものと類似しない点が多く、本ウイルスと同一種とするには疑問が持たれたが、GARCIAら(1994)が報告したCtRSV粒子は本ウイルスときわめて類似した。後に、MILNEら(1996)は、Citrus psorosis-ringspot virus: CPsRSV (syn. Citrus ringspot virus, Citrus psorosis virus), Ranunculus virus 3: RnV 3および筆者らがチューリップから分離した本ウイルス(Tulip mild mottle mosaic virusと呼称)をメンバーとする新ウイルス属●*phiovirus*を設けることを提案している。なお、GARCIAら(1994)は、CtRSVの形態が*Tenuivirus*に類似することから、節足動物によって媒介されるウイルスであろうと推測している。後にも述べるが、チューリップから分離された本ウイルスは、土壌中の菌類によって媒介される可能性が高い。このことはCPsRSVなど類似ウイルスの媒介者の解明に有力な示唆を与えるであろう。

#### V 血清学的診断

われわれはELISA法(CLARK and ADAMS, 1977)あるいはTBIA法(LIN et al., 1990)による本病の血清学的診断法を確立した(守川ら, 1995c)。現在、本県ではTBIA法の手順を一部簡便化した方法(図-2)を用いて、本ウイルスおよびその他のウイルス(TBV, LSV, CMV)の検出診断を行っている。

ELISA法やTBIA法で球根からの検出を行ったところ、一部の球根類ウイルスで知られている球根におけるウイルスの偏在性(VAN DER VLUGT et al., 1993; ROSNER et al., 1992; HSU et al., 1995)が本ウイルスの場合でも認められた。したがって、球根から組織片を採取する場合、部位によっては本来は陽性であるはずの球根が陰性と診断される可能性があることに十分に留意して診断す

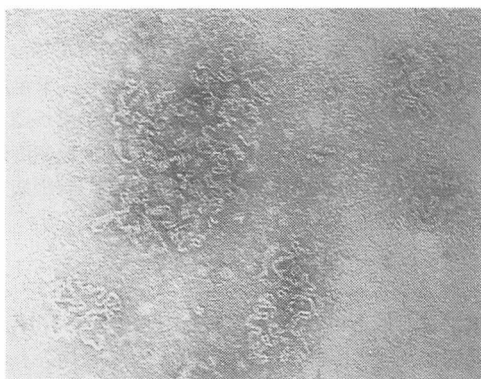


図-1 純化されたウイルス様粒子

1. ニトロセルロース膜に植物断面を押しつける
2. 3%スキムミルクを含むTBS (pH 7.4) に30分間浸漬
3. 1/5000~10,000 抗血清, 1/2000 AL 標識抗ウサギ IgG-ヤギ IgG (Sigma, A 8025), 0.5% BSA, 2% PVP を含むTBS に1~3時間浸漬
4. TBST で2回, TBS で1回洗浄 (各5分間)
5. 基質で発色
6. 脱イオン水で洗浄後, 必要であれば1% Triton X-100 で脱色

注) 以上の操作は室温で行う。3. は4℃一晩の処理でもよい。

図-2 簡便化したTBIA法の手順

る必要があると考えられた。

TBIA法で花被や葉からの検出を行った場合、発病株でも部位によっては、検出されない場合があった。一方、茎では発病株であれば100%の個体で検出されたことから、診断部位として茎横断面が適しているものと考えられた。また、TBVやLSVは茎の表皮組織でも強く発色する場合があるのに対し、本ウイルスは維管束とその周辺部のみであり(守川ら, 1995c), TBVやLSVに比べて、本ウイルスの細胞間移行は緩慢であるものと推察された。また、個体ごとに検出部位を整理してみると、抗原は垂直的に連続分布しており、例えば茎の半分(維管束の半数)が発色した場合、それに連なる約半数の葉や花卉で反応が陽性であり、かつ、そこには病徴が認められた(未発表)。

## VI 発 生 生 態

### 1 伝染方法

本病は、球根を無病土壌に植え付けた場合、全く発病は認められなかったのに対し、発生圃場から採集した土壌(以下、病土)に植え付けた場合、翌春もしくは翌々春以降に発病が認められ、本病が土壌伝染することが明らかとなった。なお、病徴を指標とした球根伝染率は、供試した品種や年次によって大きな差が認められ、2~100%であった。一方、条斑症状も同様に土壌伝染したが、植え付けた翌々春になって初めて発病する場合が多い点で本病とは異なり、球根伝染率は品種を問わずほぼ100%であった(守川ら, 1995a)。

### 2 土壌消毒と発病

病土のクロルピクリン剤、ダゾメット剤および高圧滅菌処理によって本病の発生が抑制された。一方、土壌の乾燥処理には発病抑制効果が認められなかったことから、土壌中に線虫以外の媒介者が存在する可能性が示唆された(守川ら, 1995a)。

### 3 植え付け時期と発病

9月~2月の異なる時期に球根を植え付けた場合、10

月中旬の球根の植え付け適期で発病率が最も高く、植え付けが遅れるに伴い発病率は低下した。また、植え付け後、15℃に保った区では発病が認められたのに対し、5℃に保った区では発病が認められず、さらに、12月上旬に植え付けた場合(戸外)には発病が認められないが、同時期に植えて15℃以上に置くことによって、発病が認められた(守川ら, 1995a)。以上のことから、植え付け後の地温が低いと本病の媒介者の活動あるいは病原ウイルスの感染・増殖が抑制されるものと推察された。

### 4 土壌 pH と発病

病土を硫黄を用いてpH 5以下に酸性化することによって発病が抑制された(守川ら, 1995a)。ただし、この処理によってチューリップの生育が著しく抑制されたことから、硫黄を用いた土壌の酸性化は防除に用いることはできないと考えられた。なお、この防除効果が、pHによるものか硫黄そのものの効果であるかは不明である。

### 5 土壌湿度と発病

病土に球根を植え付け、土壌の湿度が多湿(朝夕十分に灌水)、中湿(朝に灌水)、少湿(乾燥したら灌水)となるよう灌水した結果、土壌湿度を多湿条件に保った区でのみ発病が認められた(守川・築尾, 1996)。また、現地圃場における本病の発生は、排水不良の部分に坪状にかたまって発生する傾向が認められたことから、媒介者の活動に土壌の多湿条件が好適であるものと考えられた。水田跡地にチューリップを作付けする本県では、圃場が排水不良になりやすく、このことが本病の発生を助長しているものと考えられた。

### 6 輪作と発病

春にチューリップを収穫し、秋に球根を植え付けるまでの間、作付けする作物の種類が発病に及ぼす影響を調査した結果、クロタラリアを作付けした場合に発病抑制効果が認められたが、ソルゴー、ギニアグラス、エンバク、イタリアンライグラス、イネ、ダイズ、セソバニア、ヒマワリ、モロヘイヤ、カブ、ゴマ、フダンソウなどの作付けおよび湛水処理には発病抑制効果が認められなかった(守川・築尾, 1996)。少なくとも、単年度のイネ(水稲作)や夏季湛水処理に発病抑制効果が認められなかったことから、水田との輪作による病原密度低下効果は他の病害(球根腐敗病、褐色斑点病、白絹病)に見られるものほど高くはないと考えられた。

## VII 媒 介 者

土壌消毒、植え付け時期、土壌温度、湿度、pHが本病の発病に及ぼす影響は菌類媒介性ウイルス病のものと共通する点が多い。すなわち、*Polymyxa betae*が媒介

者であるテンサイそう根病では、硫黄による土壌 pH の酸性化、ダゾメット剤、クロルピクリン剤、D-D 剤、フルアジナム剤による土壌消毒が発病を抑制する (阿部, 1987)。また、*Olpidium brassicae* によって媒介されるチューリップえそ病の場合もダゾメット剤などの土壌消毒、遅植えなどが発病を抑制し、土壌の多湿条件が発病を助長することが知られている (名畑ら, 1988)。本病の場合、アゾキシストルビン剤、フルアジナム剤などの殺菌剤を土壌混和することによって発病が抑制され、かつ根中の *Olpidium* 属菌の休眠孢子数も低下させたことから (守川・築尾, 1996)、*Olpidium* 属菌またはその近縁菌が媒介者である可能性がきわめて高いものと考えられた。

### VIII 発生拡大の要因

本病の発生拡大の要因として、本病の発生生態が水田との輪作環境に適応していることのほか、病徴が不鮮明な品種が多く、特に白や黄色の品種ではほとんど病徴を生じないことがあげられる。すなわち、このような潜在感染型チューリップを輪作しながら作付けることが、汚染圃場を広げることになり、また、種球根として県下を移動することによって広範囲な発生地域の拡大をもたらしたものと推察される。したがって、病徴を生じにくい品種については、無病徴感染の疑いを常に念頭において、種球根の移動や栽培圃場の選定を行う必要があると考えられた。また、血清学的な診断を併用した厳密な種苗管理による原種圃場の設置なども、本病のまん延防止に大きく役立つと考えられた。

### IX 防除と問題点

クロルピクリン剤、ダゾメット剤による土壌消毒は、露地栽培を中心とする球根栽培には、技術的な面から見て直ちに適用し難い。そこで、ポット試験で土壌混和処理に防除効果を認めたいくつかの殺菌剤について、現地試験で実用性を検討した結果、無処理区に比べて本病の発病率を低下させるものの十分な防除効果は得られなかった (未発表)。水稻後作圃場の場合、排水が不良になりやすく、かつイネの切り株が存在するために、十分に薬剤が混和され難いこと、薬剤の効果が作土層に限定されることなどが、圃場での防除効果があがらない原因と考えられる。今後は、薬剤の施用法などについて検討を加え、実用的な土壌消毒方法を明らかにする必要がある。

チューリップを連作した場合は明らかに発病が増加す

ることから、輪作年限は長いほど発病回避には有効であると推察された。ただし、どの程度のチューリップの休裁期間が必要かは不明であり、また、病原の中間宿主になり得る植物の種類とその有無の関係からも、どのような輪作体系が望ましいのかを明らかにする必要がある。

以上のように、いまだ防除の決定打は見いだされていないが、当面は無病の種球根を確保し、品種の病徴特性を把握して発病株の抜き取りを徹底すること、輪作年限を可能な限り長く確保し、かつ汚染圃場を特定して汚染圃場での作付けを回避すること、植え付け時期を遅らせ、圃場の排水に努めること等々、総合的な対策を講じる必要があると考えられる。

### おわりに

本病の病原、媒介者、発生生態と防除のいずれについても、今後行うべき研究課題は多い。なかでも媒介者の特定と、その生態に基づいた防除方法の確立が急務である。また、抵抗性品種を選定して普及を図るほか、その抵抗性のメカニズムを解明するとともに、抵抗性品種を育成することも急がねばならない。

### 引用文献

- 1) 阿部秀夫 (1987) : 北海道立農試研報 60 : 1~99.
- 2) CLARK, M. F. and A. N. ADAMS (1977) : J. Gen. Virol. 34 : 475~483.
- 3) DERRICK, K. S. et al. (1988) : Phytopathology 78 : 1298~1301.
- 4) GARCIA, M. L. et al. (1994) : J. Gen. Virol. 75 : 3585~3590.
- 5) HSU, H. T. et al. (1995) : Plant Dis. 79 : 912~916.
- 6) LAKSHMAN, D. K. et al. (1985) : Phytopathology 75 : 751~757.
- 7) LEMAIRE, O. et al. (1988) : Virology 162 : 232~235.
- 8) LIN, N. S. et al. (1990) : Phytopathology 80 : 824~828.
- 9) MILNE, R. G. et al. (1996) : 5th. International Congress of Virology (abstract).
- 10) 守川俊幸ら (1995 a) : 富山農技セ研報 16 : 55~66.
- 11) ————ら (1995 b) : 日植病報 61 : 274 (講要).
- 12) ————ら (1995 c) : 北陸病虫研報 43 : 17~24.
- 13) MORIKAWA, T. et al. (1995) : Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 61 : 578~581.
- 14) ————・築尾嘉章 (1996) : 日植病報 62 : 630 (講要).
- 15) MOWAT, W. P. (1972) : Pl. Path. 21 : 171~174.
- 16) 向畑博行ら (1991) : 富山農技セ研報 9 : 1~116.
- 17) 名畑清信ら (1988) : 富山農技セ研報 2 : 1~132.
- 18) NAVAS-CASTILLO, J. and P. MORENO (1993) : Pl. Path. 42 : 347~357.
- 19) NAVAS-CASTILLO, J. et al. (1993) : Pl. Path. 42 : 339~346.
- 20) ROSNER, A. et al. (1992) : Ann. appl. Biol. 121 : 269~276.
- 21) VAN DER VLUGT, C. I. M. et al. (1993) : Ann. appl. Biol. 123 : 601~610.
- 22) 山本孝猪ら (1989) : 日植病報 55 : 101 (講要).