

# スイカのウイルス病の発生と果実異常症

鳥取県経営指導課専門技術員室 **佐 古 いさむ 勇**

## はじめに

鳥取県において、スイカのウイルス病による被害は少ない。なかでも緑斑モザイク病、えそ斑点病(佐古ら, 1996)による果実異常症状による被害は大きかった。我が国における緑斑モザイク病の発生は、1968年のことであったが、鳥取県では過去に1975年および1989年の2回の発生と被害が見られた。突発的に発生し、第一次伝染は種子伝染、土壌伝染によるが、汁液伝染、接触伝染が容易で二次伝染によるまん延拡大と被害が大きいため早急な防除対策が必要であった。また、果実内部の異常症状の原因としてえそ斑点病による被害も明らかになり、生産現場では果実の被害を防止するために苦慮している。

これまで、産地の風評被害に配慮し、発生実態調査、防除等について筆者らの対応した試験データの詳細は、公表されることはなかったが、ここで経過を記して種子伝染性と考えられ、突然に発生して問題となる病害に対する対応策の参考として紹介する。

## I 緑斑モザイク病の発生と防除

### 1 発生実態

鳥取県内で1975年の初発生以来、まったく発生をみなかったスイカ緑斑モザイク病の発生が再び確認されたのは、1989年のことであった。4月下旬、1枚のスイカ葉が試験場に持ち込まれた。葉の斑紋、モザイク症状を見るや、緑斑モザイク病ではないかと直感した。電子顕微鏡による診断によりウイルス粒子が確認され、抗血清による診断、生物検定等によりキュウリ緑斑モザイクウイルス(Cucumber green mottle mosaic tobamovirus=CGMMV)であると同定した。

この時期にはスイカのすべての作型で定植が完了していた。ただちに対策会議が設けられ、本圃での防除対策が検討された。的確な防除対策には、正確で迅速な診断

法が求められたことから、毎日持ち込まれる診断依頼試料について、トラップ法による免疫電頭法が有効なことから(四方ら, 1978)、すべて本法による診断を行った。ウイルス抗血清は、日本植物防疫協会から購入したCGMMV-スイカ系のポリクローナル抗体を用いた。

その結果を表-1に示した。再発の当年、1989年には338個体のうち35.3%に当たる120個体からCGMMVが検出された。検定部位別に見ると、葉の101検定試料からは44試料、43.6%の高率の検出率であった。果実は6月から8月まで収穫期の試料が、選果場で打音異常のある果実として237個の診断試料が持ち込まれ、76個、32.1%の果実からCGMMVが検出された。

1990年の発生は前年に比べて減少したが、5月から7月までに葉および果実の検定数は187個体に達した。このうち、39個体、20.9%からCGMMVが検出された。再発2年目にもCGMMVの発生は引き続いて見られ、依然として産地スイカの重要病害となっていた。

発生2年目においても第一次伝染源として種子の汚染が示唆され、感染苗が本圃へ植え付けられたと考えられた。すなわち、初発生を確認したハウス栽培スイカでは、前年本病未発生圃場であり、前作にハウレンソウの

表-1 スイカ診断依頼試料のキュウリ緑斑モザイクウイルス検定結果

年次別	月別	検定数	CGMMV 検出数	葉		果実	
				検定数	CGMMV 検出数	検定数	CGMMV 検出数
1989	5	22	16(72.7)	21	16(76.2)	1	0(0)
	6	69	24(34.8)	40	14(35.0)	29	10(34.5)
	7	232	72(31.0)	40	14(35.0)	192	58(30.2)
	8	15	8(53.3)	0	0(0)	15	8(53.3)
合計		338	120(35.5)	101	44(43.6)	237	76(32.1)
1990	5	103	23(22.3)	103	23(22.3)	0	0(0)
	6	15	2(13.3)	1	0(0.0)	14	2(14.3)
	7	69	14(20.3)	4	0(0.0)	65	14(21.5)
合計		187	39(20.9)	108	23(21.3)	79	16(20.3)
1991	5	4	1(25.0)	4	1(25.0)	0	0(0.0)
	6	12	3(25.0)	0	0(0.0)	12	3(25.0)
	7	17	1(5.9)	0	0(0.0)	17	1(5.9)
合計		33	5(15.2)	4	1(25.0)	29	4(13.8)

注) 表中( )内の数字は検出比率(%)を示す。

Virus Diseases and Fruit Deterioration of Watermelon Caused by Cucumber Green Mottle Mosaic Virus-Watermelon Strain and Melon Nectotic Spot Virus. By Isamu SAKO

(キーワード: スイカ, ウイルス病, 緑斑モザイク病, キュウリ緑斑モザイクウイルス, えそ斑点病, メロンえそ斑点ウイルス, 鳥取県, 発生実態)

栽培が行われ、ホウレンソウ播種直前に臭化メチルによる土壌消毒が行われていた圃場での発生であり、育苗床は徹底して防除されていた。

1991年5月から7月までのスイカの診断依頼件数は33個体と、過去2か年に比べて大幅に減少した。このうち葉の1個体、果実の4個体の合計5個体、15.2%からCGMMVが検出された。県内産地の発生は1町村だけとなり急激に減少した。そして、次年度以降から今日まで、緑斑モザイク病の発生を認めていない。

## 2 作型と病徴

鳥取県のスイカ栽培は、ハウスおよび大型トンネル栽培の促成栽培では3月上旬から下旬に定植、トンネル早熟栽培では中型トンネル栽培、小型トンネル栽培があり、3月下旬から4月中旬までの期間に定植する。ハウス栽培は全栽培面積体の30%を占め、6月上旬からの収穫となる。

ハウス、トンネル栽培において4月下旬頃から、展開後間もない若葉では、淡緑色～黄色の退色斑を生じ、モザイク症状となり、緑色部は表面に突出して、葉縁は上方に巻き上がり、葉片がやや細くなった。成葉でも淡緑色と緑色とのモザイク症状となり、緑色部分がやや表面に盛り上がり、葉縁がスプーン状に巻いていた(口絵参照)。

収穫期7月の高温期になると茎葉から症状を判定するのは困難となり、診断依頼試料も果実に集中した。果肉はコンニャク状に軟化し、にごって鈍い打音の異常として選別され、診断依頼に持ち込まれた。

果肉では種子の周辺が暗紫赤色の油浸状になり、種子のまわりが空洞となる(口絵参照)。果実の中心部では繊維質が黄色となって、果肉内にすじ状にかたまり、症状がすすむと、その変色した部分は軟化溶解した。

## 3 病原ウイルスの性質

1990年5月に鳥取県中部のスイカ圃場から採集したCGMMV病葉を接種源として用い、判別植物に汁液接種を行った。判別植物は7月から9月にかけてガラス室内で栽培を行い、接種葉と上葉の病徴を観察するとともに、試料を採取してメロンに接種あるいは免疫電顕法によってCGMMV粒子を確認した。

判別植物に対して、スイカ、ユウガオ、メロン、キュウリにはモザイク症状が現れ、ウイルス感染が確認された。*D. stramonium*に無病徴感染したことから、キュウリ系とは異なったが、*C. amaranticolor*に感染せず、接種葉に退緑性の局部病斑を生じなかったことから、スイカ系とは完全に一致する結果とはならなかった。

しかし、分離株に対する2種の抗血清、CGMMV-ス

イカ系(CGMMV-W)およびキュウリ系(CGMMV-C)の反応を調査した結果、キュウリ系抗血清に対する反応は弱く、スイカ系の抗血清にはよく反応した。さらに、外被タンパク質遺伝子の塩基配列の解析からは、既報(WANG, 1993)のCGMMV-Wの塩基配列と完全に一致していたことから(田平ら, 1997)、鳥取県で分離されたCGMMVはスイカ系であると考えられた。

## 4 ウイルス検定法

スイカCGMMV検定について検出精度の高い免疫電顕法による診断の他に、大量検定は困難であるが、生産現場での検定に適したスライド法、あるいは一度の大量検定に適し、効率的なDIBA法の実用化を図った。

### (1) ウイルス抗血清の作製とスライド法

スイカのCGMMVの簡易診断のためウイルスの純化・抗血清の作製を行い、抗血清利用による診断を試みた。ヒツジ(サホーク)から力価2,048倍の抗血清を230 mlと大量に得る機会が得られたので、多くの抗血清を必要とするものの、簡便であるスライド法の実用性について検討を行った。その結果、スイカの病葉または病果実の汁液を2~3滴、スライドガラス上に滴下し、作製抗血清の10倍希釈液2~3滴と混合して室温で1~2分後には粒状凝集物が肉眼で判別できた。特に、病葉に比べて病果実で判定が容易であった。

スライド法による簡易検定は実用可能と判断されたので、現地で適用した。また、今後の発生に対しても生産現場での本法の実用化を考えている。

### (2) DIBA法

比較的操作が簡単で検出精度の高いDIBA法による検出には、ヒツジから作製した抗血清の一次抗体2,000~3,000倍希釈液、二次抗体には抗ヒツジIgGウサギIgG(Jackson社製)2,000倍希釈液を用いるのが適していた。この条件下でスイカ病葉の $10^{-4}$ および病果実の $10^{-3}$ 倍希釈まで検出可能であった。

しかしながら、産地ニーズに対応した検定法は、毎日診断依頼に持ち込まれる数点の検定試料を迅速に判定し、結果に応じて圃場の対応を早急に決める必要があった。そのため、DIBA法等の方法は有用とはならなかった。これらの方法は、果実の異常症状の原因解明のために凍結保存試料について再度検定に用いる場合に極めて有用であった。

## 5 防除対策

防除にはこれまで明らかにされた防除対策を徹底したが(長井ら, 1974; 深津, 1969)、特徴的な産地の取り組みについて以下に記した。

### (1) 診断体制の整備

早期診断, 早期防除のために各地区のスイカ指導員を総動員して現地の発生実態を調査するとともに, すべての生産圃場の一筆ごとの発生調査を実施した。疑いのある茎葉, 果実はすべて免疫電顕法を用いて検定したことで, 毎日多大な労力を必要とした。そこで, 病害虫防除所, 農業改良普及所, 経済連, 農協等から試験場に補助人員を配置し診断体制が整えられた。

スイカ緑斑モザイク病は果実への被害が大きいため, 出荷を直前にした産地スイカに悪いイメージを与えないように情報発信源を試験場に一元化して風評被害への細心の注意が払われた。さらに, 圃場レベルでのウイルス診断の徹底と選果場において厳密な選果, 病果の診断と病果の徹底除去を行ったことで, 市場からのクレームもなく出荷の混乱は避けられた。

## (2) 種子消毒

第一次伝染は主にスイカおよび台木用ユウガオの種子ならびに土壌から起こる。種子伝染防止には種子を70°Cで3日間乾燥処理することを徹底するように要請し, 県内代表者が種苗業者の現地へ出向いて実施状況を確認した。

## (3) 耕種の防除

緑斑モザイク病は, 接触または汁液によって伝染する性質が強いので, 早期発見に努め, 罹病株はただちに取り除いて焼却することとなっている。しかし, 具体的に罹病株からどの程度の範囲までの株を除去する必要があるのか不明であった。

そこで, 5月上旬の交配, 整枝, 摘果作業等を終え, 果実肥大期を迎えたハウス栽培スイカにおいて, モザイク症状株に隣接した6株までの葉を採取し, ウイルス検定を行った。その結果, モザイク症状の見られた株に隣接した連続する3株からウイルスが検出された(表-2)。まん延を防ぐためには罹病株を中心に連続する7株を引き抜く必要があった。

その際, 罹病株をただちに取り除くと, 茎葉の繁茂した状態で健全株との接触により後日に発病が見られることが時折あった。そこで, 罹病株を引き抜き, そのまま

放置した後, 茎葉の枯死した状態で株を圃場から持ち出すことを指導した。

発病圃場の跡地対策には, 2年間はスイカ, メロンなどの作付けを禁止した。実際にはウリ類の連作を回避するために, 畜産農家の牧草地との土地利用交換を行った例が多かった。

## (4) 薬剤防除

1989年の発生では, 県内栽培面積808haのうち, スイカ連作予定圃場の約25haで臭化メチル剤による土壌消毒が実施された。また, 育苗ベット, ポットなども殺菌消毒した。これらの薬剤防除資材費等を生産者へ補助することが議決された地域もあった。

以上のような徹底防除により, 発生は3か年でまったく見られず, 難防除病害を短期間で鎮静化することができた。

## II その他の果実異常症状の原因究明

緑斑モザイク病が発生した1989年当初から, CGMMVが検出されないにもかかわらず, 果実の内部が異常なものが多く見られた。また, 緑斑モザイク病が根絶された後にも果肉劣変等の果実異常症状が見られた。

そこで, CGMMV非感染で, 果皮内部の黄褐色壊死, 果肉の水浸症状果実についてウイルス検定を行い, ウイルス感染の影響を調査した。

### 1 発生実態

果実の採集個体は1993, 95, 97, 98年および99年の5か年間のうちで, 6~8月に採集した果実異常症状個体を-20°Cで凍結保存して用いた。

ウイルス抗血清は, 作製したMNSV-W(メロンえそ斑点ウイルスのスイカ分離株)抗血清, および日本植物防疫協会から購入したCMV(キュウリモザイクウイルス)普通系, WMV2(カボチャモザイクウイルス), ZYMV(ズッキーニ黄斑モザイクウイルス)の各抗血清を用いた。

ウイルス検定は免疫電顕法を用い, CVC法(大木, 1997)により試料をあらかじめ調整した。さらに, CMVおよびMNSV-WはDIBA法により, WMV2およびZYMVはELISA法により検定した。

5年間の採集果実試料299個体の検定結果を表-3に示した。果実異常症状はウイルスの単独感染による割合が高く, そのなかでMNSV-Wは173個体, 57.9%の高率であった。ついで, CMVは79個体, 26.5%であった。WMV2は7個体, 2.3%の低率であった。ZYMVは検出されなかった。

表-2 緑斑モザイク病株に隣接する株のCGMMV保毒検定結果

圃場別	調査株の位置												
	6	5	4	3	2	1	罹病株	1	2	3	4	5	6
1	-	-	-	+	-	++	++	+++	-	-	-	-	-
2	-	-	-	+	++	++	++	+++	-	-	-	-	-
3	-	-	-	+	++	++	++	+	-	-	-	-	-

注) -: 陰性, +~++: 免疫電顕法による検出ウイルス数の少~多。

表-3 果実異常症状個体から分離されるウイルスの種類 (1993~99)

年次別	検定果数	MNSV	CMV	WMV 2	MNSV +CMV	MNSV +WMV 2	CMV +WMV 2	不明
1993年	18	11	5	0	0	0	0	2
1995年	47	37	3	2	1	1	0	3
1997年	52	19	23	0	0	2	3	5
1998年	62	43	10	1	1	2	1	4
1999年	120	63	38	4	2	3	3	7
合計	299	173	79	7	4	8	7	21
比率(%)		57.9	26.4	2.3	1.3	2.7	2.3	7.0

注) MNSV:メロンえそ斑点ウイルス-スイカ分離株, CMV:キュウリモザイクウイルス, WMV 2:カボチャモザイクウイルス。

MNSV-W, CMV, および WMV 2 の重複感染による果実被害は 1.3~2.7% の低率であった。

### 2 スイカえそ斑点病

葉に壊死斑点が見られ、打音の異常な果実のうち、果実内部は黄褐色のえ死塊が認められ、果肉が水浸状、スポンジ状および空洞となる(口絵参照)。その病原ウイルスは、これまでスイカでは未報告のメロンえそ斑点ウイルス(Melon necrotic spot carmovirus=MNSV)によるものであり、本病をスイカえそ斑点病と命名した(佐古ら, 1996)。

スイカから分離される MNSV は、メロン分離株とは寄生性と病徴を異にする 1 系統と考えられた。また、血清学的にもメロン系統とは明らかに異なる系統であった。

### 3 病原ウイルスと果実症状

果実病徴とウイルスの種類を見ると、MNSV 感染果実は果皮内部に黄褐色壊死塊が見られ、果肉がスポンジ状で水浸症状を呈するものが多く見られた。果皮に病徴が見られない MNSV 感染個体は、果肉がスポンジ状となり水浸症状を呈する個体が多かった。

一方、CMV あるいは WMV 2 の単独感染個体では果肉が水浸状となるだけであった。また、重複感染個体では空洞および水浸状症状が明瞭となる個体が多かった。果皮の黄褐色壊死塊を伴わない症状の的確な診断には、ウイルス抗血清を用いた検定によってウイルスの種類を

明らかにする必要があった。

### おわりに

スイカのウイルス病の防除には早期診断、早期防除が基本であり、簡易な診断法が必要となる。緑斑モザイク病、えそ斑点病に対して簡易 RIPA 法等の実用化も試みたが(佐古ら, 1998)、その後果実試料で判定困難な例が見られたことから、生産圃場、選果場での全面的な実用化には至っていない。簡易診断法の改善、実用化が必要である。

種子伝染性のウイルス病である緑斑モザイク病など、生産地で突発的に発生する病害については、第一次伝染源として種子の汚染が考えられる。種子生産における原種、原々種、採種など各段階での種子消毒の徹底、観察チェックが必要であり、クリーン種子生産技術の開発が望まれるところである。

### 参考文献

- 1) 長井雄治ら (1974): 千葉農試研報 15: 1~53.
- 2) 深津量栄 (1969): 植物防疫 23: 58~62.
- 3) 大木 理 (1997): 植物ウイルス同定のテクニックとデザイン、日植防、東京、pp. 24~25.
- 4) 佐古 勇ら (1996): 日植病報 62: 324.
- 5) ———ら (1998): 同上 64: 420.
- 6) 四方英四郎ら (1978): 北大農邦紀要 11(1): 119~128.
- 7) 田平弘基ら (1997): 平成 8 年度鳥園試業務年報: 118.
- 8) WANG, H. and G. STUBBS (1993): Acta crystallographica. Section A, Foundations of crystallography. 49(3): 504~513.