

# ブドウリーフロール病およびGrapevine leafroll-associated virus 3の自然伝搬

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	那須, 英夫 今田, 準 井上, 幸次 中畝, 良二 島根, 孝典 中野, 正明
発行元	日本植物病理學會
巻/号	72巻3号
掲載ページ	p. 143-145
発行年月	2006年8月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## ブドウリーフロール病および *Grapevine leafroll-associated virus 3* の自然伝搬

那須 英夫<sup>1</sup>・今田 準<sup>2</sup>・井上 幸次<sup>1\*</sup>・中畝 良二<sup>3</sup>・島根 孝典<sup>4</sup>・中野 正明<sup>3</sup>

### ABSTRACT

NASU, H.<sup>1</sup>, IMADA, J.<sup>2</sup>, INOUE, K.<sup>1</sup>, NAKAUNE, R.<sup>3</sup>, SHIMANE, T.<sup>4</sup> and NAKANO, M.<sup>3</sup> (2006). Natural spread of grapevine leafroll disease and *Grapevine leafroll-associated virus 3*. Jpn. J. Phytopathol. 72: 143-145.

In Okayama Prefecture, natural spread of grapevine leafroll disease was suspected in a field where a woody indicator, grapevine cv. Cabernet Franc (CF) was used to index for this disease. After leafroll- and *Grapevine leafroll-associated virus 3* (GLRaV-3)-free nursery vines of grape cvs. CF and Cabernet Sauvignon had been transplanted to the field in July 1999, the incidence of leafroll disease reached 82% and 20%, respectively, in autumn 2001. GLRaV-3 was detected from all symptomatic vines by ELISA. These results suggest that leafroll disease and GLRaV-3 naturally spread in the field.

(Received July 29, 2005; Accepted January 16, 2006)

**Key words:** grapevine, leafroll, *Grapevine leafroll-associated virus 3*, natural spread

ブドウリーフロール病は、葉巻症状や葉の赤変（有色品種のみ）を伴うウイルス性病害で、世界的に広く分布している。欧州系の赤ワイン醸造用品種で被害が大きく、果実の低糖度や着色不良、収穫量の減少の原因となることが知られている (Krake *et al.*, 1999)。発病樹から検出されたクロステロウイルス属とアンペロウイルス属に分類されるひも状ウイルスは *Grapevine leafroll-associated virus* (GLRaV, ブドウ葉巻随伴ウイルス) と呼ばれ、現在 9 種類 (GLRaV-1~9) が確認されている。いずれの GLRaV も接ぎ木で容易に伝染するが、汁液接種によるブドウへの戻し接種は成功しておらず、病原としては未確認である。これらの GLRaV のうち、我が国のブドウリーフロール病発病樹からは GLRaV-1, -2 および -3 が検出されている (今田・家城, 1990; 中畝ら, 2001; Nakaune and Nakano, 2003)。海外では、圃場におけるリーフロール病および GLRaV-3 の自然伝搬が確認されており (Cabaleiro

and Segura, 1997; Habili *et al.*, 1995), GLRaV-1, -3, -5, -9 がコナカイガラムシ類 (*Heliococcus bohemicus*, *Phenacoccus aceris*, *Pseudococcus longispinus*, *Ps. affinis*, *Ps. calceolariae*, *Ps. martimus*, *Ps. viburni*, *Planococcus ficus*, *Pl. citri*), カタカイガラムシ類 (*Parthenolecanium corni*, *Neopulvinaria innumerabilis*, *Pulvinaria vitis*) のいずれかで伝搬されることが報告されている (Golino *et al.*, 1998; Krake *et al.*, 1999; Martelli, 1993; Sforza *et al.*, 2003; Sim *et al.*, 2003)。しかし、我が国ではリーフロール病および GLRaV-3 の自然伝搬の報告はない。筆者らは、岡山県農業総合センター農業試験場 (以下、岡山農試) 内のブドウウイルス検定試験圃場において、リーフロール病の発生が拡大しているのを見だし (那須ら, 2001)、本病および GLRaV-3 の自然伝搬を確認することができたので報告する。

圃場におけるリーフロール病の発病経過 1992~1994年にかけて、茎頂培養処理して得られたブドウ品種・系統(原

<sup>1</sup> 岡山県農業総合センター農業試験場 (〒709-0801 岡山県赤磐市神田沖1174-1) Agricultural Experimental Station, Okayama Prefectural General Agriculture Center, Kouda-oki, Akaiwa, Okayama, 709-0801, Japan

<sup>2</sup> 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構果樹研究所カンキツ研究口之津拠点 (〒859-2501 長崎県南高来郡口之津町乙954) Department of Citrus Research, Kuchinotsu, National Institute of Fruit Tree Science, National Agriculture and Food Research Organization, Kuchinotsu, Minamitakagi, Nagasaki 859-2501, Japan

<sup>3</sup> 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構果樹研究所ブドウ・カキ研究拠点 (〒729-2494 広島県東広島市安芸津町三津301-2) Department of Grape and Persimmon Research, National Institute of Fruit Tree Science, National Agriculture and Food Research Organization, Akitsu, Hiroshima 729-2494, Japan

<sup>4</sup> 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構果樹研究所 (〒305-8605 茨城県つくば市藤本2-1) National Institute of Fruit Tree Science, National Agriculture and Food Research Organization, Tsukuba, Ibaraki 305-8605, Japan

\* Corresponding author (E-mail: kouji\_inoue3@pref.okayama.lg.jp)

母樹などを含む)の約120個体を、岡山農試内の試験圃場に2条の垣根仕立て(条間140 cm, 株間20 cm)で生育させたリーフロール病の病徴が認められない指標植物の2~3年生カベルネ・フラン(CF)265本に接ぎ木し(1検体当たりCF約2本供試),リーフロール病の生物検定を行った。すなわち,1992年6月,CF各個体の新梢数本に被検個体から採取した4~8枝を緑枝接ぎし,活着不良であった場合には1993,1994年にさらに同様に接ぎ木した。接ぎ木部の活着を確認した後,冬期に地際からせん定する栽培管理を行い,以降,1999年までの毎年10月にリーフロール病の特徴的な病徴である葉巻と葉脈間の赤変を調査した。

その結果,陽性対照樹として用いたリーフロール罹病樹を接ぎ木した23本のCF全てで接ぎ木した当年あるいは翌年から毎年葉巻や葉の赤変が確認されたのに対し(全CF樹に対する発病率8.7%),原母樹など陽性対照樹以外の個体を接ぎ木した残りの242本のCFでは,接ぎ木4年後の1996年まではリーフロール病の病徴は全く確認できなかった。しかし,接ぎ木5年後には,これら未発病のCFのうち2本にリーフロール病の病徴が観察され始め,さらに接ぎ木6年後には,急激な発病樹数の増加が認められた。すなわち,陽性対照樹を接ぎ木したCFに近接する,原母樹および原原母樹を接ぎ木したCFにおいて新たに61本の発病が確認され,発病率率は32%となった。接ぎ木7年後にはさらに9本の発病を認め,発病率率は36%となった。生物検定開始から6年後の1998年11月に,これらのうち多くの発病樹および数本の陽性対照樹についてGLRaV-1,-3のELISA検定(BIOREBA社製キットを使用)を行ったところ,GLRaV-3が全ての供試樹から検出された。一方,発病樹への接ぎ穂を採取した岡山農試内で保存(網室で隔離栽培)している原母樹など42検体についても同様にELISA検定を行ったところ,全て陰性であった。また,本生物検定に供試したCFの母樹(別の圃場で隔離栽培)にはリーフロール病の病徴が認められず,ELISA検定でGLRaV-3も検出されなかった。これらのことから,新たな発病樹数増加の原因として,リーフロール病が接ぎ木ではなく,発病樹から健全樹へ自然伝搬していると考えられ,発病はGLRaV-3と関連していることが示唆された。なお,ブドウへの汁液伝染が認められていないことから,せん定や管理作業による伝搬の可能性は低いと考えられる。

ブドウ苗でのリーフロール病およびGLRaV-3の自然伝搬の確認 リーフロール病の自然伝搬を確認するため,1999年7月に前項の試験圃場のリーフロール病の発病CF樹の一部を伐採し,果樹研究所ブドウ・カキ研究拠点で保存していた11本のCFおよび20本のカベルネ・ソービニヨ

ン(CS)の1年生苗(あらかじめELISAでGLRaV-3が陰性であることを確認した苗)に改植した。その後,移植苗木におけるリーフロール病の発病の有無と病徴の程度を2001年11月まで毎年観察するとともに,本圃場の発病樹から高率に検出されていたGLRaV-3について全ての移植苗木のELISA検定を行った。両品種における3年間の発病の推移とELISAの検定結果をTable 1に示した。1999年の秋には,CFのうち2本にリーフロール病の病徴が認められ,そのうち1本からGLRaV-3が検出された。2000年の秋には,前年の2本を含む6本のCFにリーフロール病の病徴(2本が明瞭な葉巻と赤変,4本が軽微な葉巻と赤変)が確認され,これらのCF全てからGLRaV-3が検出された。一方,CSでは,移植当年の発病は認められなかったが,1本からGLRaV-3が検出された。2000年には前年のELISA陽性樹を含む4本でリーフロール病の病徴(1本が明瞭な葉巻と赤変,3本が軽微な葉巻と赤変)が確認され,これら全ての発病樹からGLRaV-3が検出された。さらに2001年には,新たに3本のCFで病徴が認められ,これら全ての発病樹からGLRaV-3が検出された。

土壌伝染の有無の検討 1999年7月にCFおよびCSの1年生苗(前項で用いたものと同じ,それぞれ5本および10本供試)を,滅菌したクレハ園芸培土を入れたプラスチックコンテナ(50×40×40 cm,底に水抜き穴あり)に1ないし2本ずつ定植した。土壌伝染の可能性を排除するため,前項の試験圃場の発病樹が混在したCFの畝間にコンクリートブロックを置き,その上に上記コンテナを配置することにより,地面から約20 cmの高さに隔離した。その後,

Table 1. Natural spread over time of leafroll disease and *Grapevine leafroll-associated virus 3* (GLRaV-3) to leafroll- and GLRaV-3-free nursery vines of grape cvs. Cabernet Franc (CF) and Cabernet Sauvignon (CS) transplanted to a GLRaV-3-infested field

Date	No. vines			
	Cabernet Franc <sup>a)</sup>		Cabernet Sauvignon <sup>a)</sup>	
	Leafroll symptom	GLRaV-3	Leafroll symptom	GLRaV-3
Nov. 1999	2/11 <sup>b)</sup>	1/11 <sup>c)</sup>	0/20	1/20
Nov. 2000	2(4)/11	6/11	1(3)/20	4/20
Nov. 2001	9/11	9/11	4/20	4/20

a) Eleven and 20 nursery trees (leafroll and GLRaV-3-free) of cvs. CF and CS were transplanted in July 1999.

b) No. of nursery trees positive and mild-positive (in parentheses)/No. observed.

c) No. of nursery trees positive/No. tested. GLRaV-3 was assayed by ELISA.

1999～2002年の秋に病徴の確認と GLRaV-3 の ELISA 検定を行った。その結果、1999年、2000年の秋には両品種ともリーフロール病の発病は確認されなかったが、2000年には CS の 1 本から GLRaV-3 が検出され、2001年にはこの苗木だけに病徴（軽微な葉の赤変）が認められた。さらに2002年には新たに軽微な病徴を示す 5 本の CS から GLRaV-3 が検出された。地面から隔離した CS 苗に GLRaV-3 の伝搬やリーフロール病の発病が認められたことから、本病の伝搬には地上部由来のベクターが関与していることが示唆された。

以上の試験結果から、リーフロール病および GLRaV-3 が圃場内において自然伝搬することが明らかとなった。本報は我が国でのリーフロール病および GLRaV-3 の自然伝搬に関する最初の報告である。本試験圃場の発病樹からは、ELISA で GLRaV-3 が高率に検出されたことから、リーフロール病には GLRaV-3 が関与している可能性が高いと考えられた。海外での報告と同様に、最近、我が国においても、GLRaV-3 およびブドウ A ウイルスが国内に生息するクワコナカイガラムシにより伝搬されることが実験的に証明されている（中野ら、2003; Nakano *et al.*, 2003）。これらのことから、我が国のブドウ栽培圃場においてもリーフロール病および GLRaV-3 等のウイルスの自然伝搬が懸念され、コナカイガラムシ類を含めたベクターの探索が必要である。

#### 引用文献

- Cabaleiro, C. and Segura, A. (1997). Field transmission of grapevine leafroll associated virus 3 (GLRaV-3) by the mealybug *Planococcus citri*. *Plant Disease* 81: 283-287.
- Golino, D. A., Sim, S. T., Gill, R. and Rowhani, A. (1998). Transmission studies of grapevine closteroviruses by four species of mealybugs. *Phytopathology* 88: S32 (Abstr.).
- 今田 準・家城洋之(1990). Grapevine leafroll associated closterovirus 抗血清に対するリーフロール症状発現樹の反応. *日植病報* 56: 426-427 (講要).
- Habili, N., Fazeli, C. F., Ewart, A., Hamilton, R., Cirami, R., Saldarelli, P., Minafra, A. and Rezaian, M. A. (1995). Natural spread and molecular analysis of grapevine leafroll-associated virus 3 in Australia. *Phytopathology* 85: 1418-1422.
- Krake, L. R., Scott, N. S. and Rezaian, M. A. (1999). Graft-transmitted diseases of the grapevine. pp. 8-36, CSIRO, Collingwood, Australia.
- Martelli, G. P. (1993). Leafroll, *In* Graft-transmissible disease of grapevines, Handbook for detection and diagnosis (Martelli, G. P., ed.). pp. 37-44, FAO, Rome, Italy.
- Nakaune, R. and Nakano, M. (2003). RT-PCR diagnosis and diversity of grapevine viruses in Japan. *In* Extended Abstracts 14<sup>th</sup> ICVG, pp. 199-200, Locorotondo, Italy.
- 中畝良二・島根孝典・中野正明 (2002). RT-PCR による 9 種ブドウウイルスの検出限界と塩基配列解析. *日植病報* 68: 237 (講要).
- 中野正明・中畝良二・駒崎進吉 (2003). クワコナカイガラムシによるブドウ葉巻随伴ウイルス 3 及びブドウ A ウイルスの伝搬. *日植病報* 69: 318-319 (講要).
- Nakano, M., Nakaune, R. and Komazaki, S. (2003). Mealybug transmission of grapevine viruses in Japan. *In* Extended Abstracts 14<sup>th</sup> ICVG, p. 218, Locorotondo, Italy.
- 那須英夫・井上幸次・中畝良二・島根孝典・今田 準 (2001). ブドウリーフロール病の自然伝搬について. *日植病報* 67: 159 (講要).
- Sforza, R., Boudon-Padieu, E. and Greif, C. (2003). New mealybug species vectoring grapevine leafroll-associated virus-1 and -3 (GLRaV-1 and -3). *Eur. J. Plant Pathol.* 109: 975-981.
- Sim, S. T., Rowhani, A., Alkowni, R. and Golino, D. A. (2003). Experimental transmission of grapevine leafroll associated viruses types 5 and 9 by longtailed mealybugs. *In* Extended Abstracts 14<sup>th</sup> ICVG, pp. 211-212, Locorotondo, Italy.