

レタスビッグベイン病に関連する2種ウイルス,Mirafiori lettuce virusとLettuce big-vein virusの血清学的検出,病徴発現および生育温度の関連

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	前川,和正 笹谷,孝英 藤井,寛也 石川,浩一 神頭,武嗣 岩本,豊 相野,公孝
発行元	日本植物病理學會
巻/号	70巻4号
巻号補足	
掲載ページ	p. 320-322
発行年月	2004年11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



レタスビッグベイン病に関連する2種ウイルス, Mirafiori lettuce virus と *Lettuce big-vein virus* の血清学的検出, 病徴発現および生育温度の関連

前川 和正^{1*}・笹谷 孝英²・藤井 寛也³・石川 浩一²・神頭 武嗣¹・岩本 豊¹・相野 公孝¹

ABSTRACT

MAEKAWA, K.^{1*}, SASAYA, T.², FUJII, H.³, ISHIKAWA, K.², KANTO, T.¹, IWAMOTO, Y.¹ and AINO, M.¹ (2004). The effect of growth temperature, on big-vein symptom and serological detection of Mirafiori lettuce virus and *Lettuce big-vein virus* in lettuce. Jpn. J. Phytopathol. 70: 320-322.

From lettuce (*Lactuca sativa*) leaves with big-vein symptoms, two viruses associated with lettuce big-vein, Mirafiori lettuce virus (MiLV) and *Lettuce big-vein virus* (LBVV), were isolated. To make clear which virus is really associated with big-vein symptoms expression, the effect of the growth temperature for lettuce, on the serological detection of the two viruses and symptom expression was analyzed. At 27°C, LBVV was detected in the leaves, but neither the big-vein symptoms nor MiLV were observed. When the growth temperature was decreased to 18°C, big-vein symptoms appeared and MiLV was detected in the leaves.

(Received May 14, 2004; Accepted June 30, 2004)

Key words: Mirafiori lettuce virus, *Lettuce big-vein virus*, lettuce, temperature, serological detection.

レタスビッグベイン病は *Olpidium brassicae* によって伝播される土壌伝染性のウイルス病である (Grogan *et al.*, 1958). 病原ウイルスはレタスビッグベインウイルス (*Lettuce big-vein virus*, LBVV) が有力とされてきたが (Kuwata *et al.*, 1983), 近年, 罹病株から LBVV と共に Mirafiori lettuce virus (MiLV) が分離され, その病徴への関連が示唆された (Roggero *et al.*, 2000). ビッグベイン症状のレタスには MiLV と LBVV が絶えず存在するため, 両ウイルスの関わりおよびビッグベイン病に対する両ウイルスの役割は不明である (Roggero *et al.*, 2000; 夏秋ほか, 2002; Roggero *et al.*, 2003).

本病は晩秋から冬期に発病するが, 気温が上昇する春先には病徴がマスキングすることが知られている (家村・中野, 1979). しかしマスキングしたレタスでの両ウイルスの消長は不明な点が多い. そこで両ウイルス重複汚染土壌に移植したレタスを異なる温度で栽培し, 病徴発現を観察するとともに MiLV と LBVV の消長を血清学的手法を用

いて検出した.

病徴発現前の温度が病徴発現と MiLV および LBVV の検出に及ぼす影響 試験は兵庫県加西市の場内で行った. 園芸培土 (花と野菜の土, タキイ種苗) に苦土石灰を加え, pH 6.7 にした土を 15 cm ポリポットに充填し, さらに汚染土 (罹病株の粉碎根 1 g を滅菌土 100 g に混和したもの) をポット中央部に 100 ml 加えた. 滅菌パーミキュライトを充填したセルトレイで育苗した 1 葉期のレタス苗 (品種 JT31, ロジック) を前述のポットの汚染土部分にそれぞれに 1 株ずつ移植し, 18°C, 日長 12L-12D, 高土壌水分条件で栽培した. 移植15日後に根内の *O. brassicae* の遊走子のう, 休眠胞子を観察し, 両品種とも *O. brassicae* が根へ感染したことを確認した (データ省略). その後, 27°C, 日長 12L-12D の人工気象器に移した区と 18°C のまま栽培した区を設けた. 1 品種当たり各温度4株供試した. 変温60日後 (接種75日後) に葉脈周辺の退緑, 葉脈の網目症状等の病徴を肉眼観察し, 結球葉は球を広げて透過

¹ 兵庫県立農林水産技術総合センター (〒679-0198 兵庫県加西市別府町南ノ岡甲1533) Hyogo Prefectural Technology Center for Agriculture, Forestry and Fisheries, Bifu, Kasai, Hyogo 679-0198, Japan

² 近畿中国四国農業研究センター (〒765-8505 香川県善通寺市仙遊町1-3-1) National Agricultural Research Center for Western Region, Zenntuui, Kagawa 765-8505, Japan

³ 元近畿中国四国農業研究センター (〒765-8505 香川県善通寺市仙遊町1-3-1) Previous Address: National Agricultural Research Center for Western Region, Zenntuui, Kagawa 765-8505, Japan

* Corresponding author (E-mail: Kazumasa_Maekawa@pref.hyogo.jp)

光下で観察した。MiLV と LBVV の検出は共に血清学的診断法で行った。MiLV の検定は MiLV に対するポリクローナル抗体を用いたウェスタンブロット法 (Fujii *et al.*, 2003) で、LBVV の検定はタバコ矮化ウイルスのポリクローナル抗体と近畿中国四国農業研究センターで作製された LBVV のモノクローナル抗体を用いた TAS-ELISA 法 (前川ほか, 2002) で実施した。変温60日後 (接種75日後) に両品種1株ごとに株の頂葉から5枚目まで葉、茎の地際、細根の各一部を取り検定した。

18°C のままで栽培すると、JT31、ロジックの両品種とも全株で病徴が発現し、MiLV と LBVV の両ウイルスが葉、地際部、根の各部から検出された (第1表)。27°C に上げて栽培すると両品種とも全株が無病徴で、高温によりビッグベイン症状が発現されなかった。27°C 条件下で JT31 では、4株全てにおいて葉、地際茎、根から LBVV が検出されたが、MiLV は葉から全く検出されなかった。ロジックでも LBVV は4株中3株の葉から検出されたが、MiLV は根から1株、地際茎から2株で検出されるものの、葉からは全く検出されなかった。

温度低下処理による病徴発現と MiLV および LBVV の検出 第2表に示した16品種の苗を先の試験と同様に汚染土に移植し、18°C で2週間栽培した。その後、レタスを

を27°Cに移し、3週間後に病徴観察し、各品種2株より先の試験と同様の方法で葉から両ウイルスを検定した。次にレタスの上位から4枚目の葉を葉柄基部から切断して水道水を入れた試験管で1本ずつ水耕栽培し、葉を切除した元のレタス株と切断した葉をそれぞれ再び18°Cに戻し、3週間後にレタス株で病徴観察と葉から両ウイルスを検定

第2表 変温処理による病徴発現と葉からの MiLV, LBVV の検出^{a)}

品 種	株 No.	18 から 27°C に 移し 3 週間後 ^{b)}			27 から 18°C に 移し 3 週間後 ^{c)}		
		病徴		Mi ^{d)} LB ^{e)}	レタス株 ^{f)}		切断葉 ^{g)} Mi ^{d)}
		病徴	Mi ^{d)}	LB ^{e)}	病徴	Mi ^{d)} LB ^{e)}	
サントス2号	1	—	+	+	+	+	+
	2	—	—	+	+	+	+
シスコ	1	—	+	+	+	+	+
	2	—	—	+	+	+	—
アントレー	1	—	+	+	+	+	+
	2	—	—	—	+	+	—
ロジック	1	—	—	+	+	+	—
	2	—	—	+	+	+	—
99LE10	1	—	—	+	+	+	+
	2	—	—	+	+	+	+
01LE31	1	—	—	—	+	+	—
	2	—	—	+	+	+	—
LE2232	1	—	—	+	+	+	+
	2	—	—	+	+	+	+
Warrior	1	—	—	—	+	+	+
	2	—	—	+	+	+	—
Patriot	1	—	—	+	+	+	+
	2	—	—	+	+	+	+
LE2101	1	—	—	—	+	+	+
	2	—	—	+	—	—	—
Bay View	1	—	—	—	—	—	—
	2	—	—	+	—	—	—
Corsaro	1	—	—	+	—	—	—
	2	—	—	+	—	—	—
BV-1	1	—	—	+	—	—	—
	2	—	—	+	—	—	—
BV-2	1	—	—	+	—	—	—
	2	—	—	—	—	—	—
BV-6	1	—	—	—	—	—	—
	2	—	—	+	—	—	—
BV-8	1	—	—	+	—	—	—
	2	—	—	+	+	+	+

a) 表中の+は病徴発現有り、ウイルス検出陽性、—は病徴発現無し、ウイルス検出陰性を示す。

b) 汚染土に移植し、18°C・2週間栽培後、27°C・3週間栽培した後に調査。

c) b) の検定後、18°C に気温を下げ、3週間栽培後調査。

d) MiLV e) LBVV f) 葉を切除した元の株。

g) 切断して水耕栽培した葉。

第1表 異なる気温で栽培したレタスの病徴発現と葉からの MiLV, LBVV の検出^{a)}

気温 (°C)	品 種	株 No.	病徴	MiLV			LBVV		
				葉	地際	根	葉	地際	根
18 ^{b)}	JT31	1	+	+	+	+	+	+	+
		2	+	+	+	+	+	+	+
		3	+	+	+	+	+	+	+
		4	+	+	+	+	+	+	+
	ロジック	1	+	+	+	+	+	+	+
		2	+	+	+	+	+	+	+
		3	+	+	+	+	+	+	+
		4	+	+	+	+	+	+	+
27 ^{c)}	JT31	1	—	—	+	+	+	+	+
		2	—	—	—	+	+	+	+
		3	—	—	+	+	+	+	+
		4	—	—	—	+	+	+	+
	ロジック	1	—	—	+	—	—	—	+
		2	—	—	+	+	+	+	+
		3	—	—	—	—	+	—	—
		4	—	—	—	—	+	+	+

a) 表中の+は病徴発現有り、ウイルス検出陽性、—は病徴発現無し、ウイルス検出陰性を示す。

b) 18°C で75日栽培後調査。

c) 18°C で15日栽培後、27°C に移し60日後 (接種75日後) 調査。

し、切断葉から MiLV を検定した。

ウイルス汚染土に苗を移植し、病徴が発現する前に 27°C で栽培すると、病徴は計32株全株で発現しなかったが (第2表)、32株中3株でのみ葉から MiLV が検出された。一方、LBVV は32株中25株の葉から検出された。次に 27°C の無病徴状態から 18°C に温度を下げ、病徴発現の可能な温度にしたレタス株でウイルス検定した。病徴の有無にかかわらず、27°C で LBVV が検出された株を 18°C に下げても葉から LBVV が検出され、温度の低下によって LBVV はその検出に変化がなかった。一方、MiLV は 18°C に下げると検出率が上昇し、20株の葉から検出されるようになり、それらの株は全て病徴が発現した。逆に MiLV が検出されない12株は、病徴が全く発現しなかった。水耕栽培した切断葉では32葉中13葉から MiLV が検出された。また、汚染土移植21日後に16品種全ての根内の *O. brassicae* の遊走子のう、休眠胞子を観察したところ、全品種とも *O. brassicae* が根へ感染していたことを確認した (データ省略)。

両ウイルスは *O. brassicae* によりレタス根から侵入し、地上部に移行する。病徴発現にはウイルスが病徴発現部位である葉に移行・増殖することが必要である。罹病性と耐病性の両品種においても *O. brassicae* の感染は認められることから、病徴発現の抑制には植物体内でのウイルス移行・増殖の抑制が関与する可能性がある。本試験でビッグベイン症状が発現しなかった 27°C の高温下では、LBVV は32株中25株で検出され、しかも 27°C と 18°C 間で ELISA の反応に差がなかったが (データ省略)、MiLV は葉でほとんど検出されなかった。しかし、27°C でも地際部で MiLV が検出される場合や、27°C から 18°C にした切断葉からは MiLV が検出される場合があるので、27°C・3週間で地上部の MiLV が完全に消失するわけではない。これらの結果より、MiLV は LBVV と異なり、27°C の高温下では葉へ移行しにくい、あるいは葉で増殖しにくいと考えられる。

高温条件では LBVV は葉から検出され、MiLV が全く検出されなかった。27°C から 18°C に温度を下げた場合、病徴が発現しはじめ、また MiLV も検出されたが、LBVV の検出は両温度間で変化がなかった。病徴発現には MiLV が関与するとの報告があり (Lot *et al.*, 2002), ま

た、Roggero *et al.* (2003) は、MiLV の単独感染、あるいは両ウイルスが重複感染したレタスは、ほとんどビッグベイン症状が発現しているが、LBVV 単独感染株の病徴発現はまれであると報告している。本試験の結果からも、両ウイルスの温度感受性から、病徴発現には MiLV の葉への移行あるいは葉での増殖が関連していることが推察された。

本研究を行うに当たり、MiLV 抗血清を分譲して頂いたドイツ BBA の H. J. Vetten 博士、タバコ矮化ウイルス抗血清を分譲して頂いた明治大学桑田 茂博士に厚くお礼申し上げます。

引用文献

- Fujii, H., Sasaya, T., Takezaki, A., Ishikawa, K. and Fujino, M. (2003). Resistance to lettuce big-vein disease in lettuce cultivars. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 72: 315-317.
- Grogan, R. G., Zink, F. W., Hewitt, W. B. and Kimbel, K. A. (1958). The association of *Olpidium brassicae* with the big-vein disease of lettuce. *Phytopathology* 48: 292-296.
- 家村浩海・中野昭信 (1979). レタスビッグベイン病の発生病態と防除. *植物防疫* 33: 249-252.
- Kuwata, S., Kubo, S., Yamashita, S. and Doi, Y. (1983). Rod-shaped particles, a probable entity of lettuce big vein virus. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn* 49: 246-251.
- Lot, H., Campbell, R. N., Souche, S., Milne, R. G. and Roggero, P. (2002). Transmission by *Olpidium brassicae* of Mirafiori lettuce virus and *Lettuce big-vein virus*, and their roles in lettuce big-vein etiology. *Phytopathology* 92: 288-293.
- 前川和正・笹谷孝英・石川浩一・鐘江保忠・十河和博・岩本豊・神頭武嗣・相野公孝 (2002). モノクローナル抗体を用いた三重抗体 (TAS) ELISA によるレタスビッグベインウイルス (LBVV) の検出. *日植病報* 68: 96 (講要).
- 夏秋啓子・守川俊幸・夏秋知英・奥田誠一 (2002). わが国のビッグベイン症状を示すレタスから検出された Mirafiori lettuce virus. *日植病報* 68: 309-312.
- Roggero, P., Ciuffo, M., Vaira, A. M., Accotto, G. P., Masenga, V. and Milne, R. G. (2000). An *Ophiiovirus* isolated from lettuce with big-vein symptoms. *Arch. Virol.* 145: 2629-2642.
- Roggero, P., Lot, H., Souche, S., Lenzi, R. and Milne, R. G. (2003). Occurrence of Mirafiori lettuce virus and *Lettuce big-vein virus* in relation to development of big-vein symptoms in lettuce crops. *Eur. J. Plant Pathol.* 109: 261-267.