

北海道で発生したサンダーソニア条斑モザイク病

誌名	北農
ISSN	00183490
著者名	堀田, 治邦
発行元	北海道農事試験場北農會
巻/号	87巻3号
巻号補足	
掲載ページ	p. 213-215
発行年月	2020年7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



<試験成績・研究成果>

北海道で発生したサンダーソニア条斑モザイク病

堀 田 治 邦*

要 旨

2007年7月に岩見沢市のサンダーソニアで葉にモザイク症状や退緑した条斑を呈する株を認めた。キュウリモザイクウイルス (CMV) の抗血清を用いてELISAを行ったところ、陽性反応が認められた。発病株からウイルスを単離し、生物検定やRT-PCRを行い、CMVと同定された。また、単離株をサンダーソニアに接種したところ、原病徴が再現された。CMVによるサンダーソニアの病害は北海道で未報告であることから、北海道における条斑モザイク病の発生を報告する。

1. はじめに

サンダーソニアは冷涼な環境を好む花きであることから北海道での栽培が有利な品目と考えられ、作付面積は2000年に5.8haまで増加した。しかし、種球は輸入に頼っていることや増殖効率が悪く、単価も高いなどの影響で2016年には約1.4haまで減少している。(北海道フラワーガイド, 2018)。

筆者は2007年に北海道で発生するサンダーソニアの病害調査を実施し、実際の生産圃場でさまざまなウイルス病に類似した症状を認めた。その中で、葉が条斑状に退緑し、葉が淡褐色に変色する症状等からキュウリモザイクウイルス (Cucumber mosaic virus, 以下, CMV) が検出された。同ウイルスは北海道におけるサンダーソニアでの発生記録がなく、ウイルスの同定と病原性の確認試験を実施した結果について報告する。

2. 材料および方法

1) 発病株に対するELISA

2007年7月に岩見沢市のサンダーソニアで生育抑制が認められる株を採取し、これらについて、ELISA (酵素結合抗体法, Enzyme Linked

Immunosolvent Assay) でウイルス検定を行った。ELISA は日本植物防疫協会製のキットを用い、CMV および Bean yellow mosaic virus (以下, BYMV) の検定を行った。検定時の陽性コントロールは中央農試保存罹病葉を用いた。検定はキットに添付されている手順に従った。

2) 汁液接種によるウイルス株の単離と検定植物接種による判別

発病株からウイルス株の単離を行った。接種植物は素焼き鉢 (4号) で栽培して供試した。接種液の作製は罹病葉に5倍量の0.1Mリン酸緩衝液 (pH7.0) を加えて磨砕した汁液を用いた。接種は葉にカーボランダムを振りかけ、これにコットンシーガルに染み込ませた接種液を1回なぞって実施した。はじめサンダーソニア罹病葉の汁液を *Chenopodium amaranticolor* に接種し、接種葉の単病斑を採取して磨砕し、再び *C. amaranticolor* へ接種した。再接種の *C. amaranticolor* に形成された単病斑を同じく *Nicotiana glutinosa* に接種してウイルス単離株とし、以降の試験に用いた。検定植物への接種は18種の植物 (各5株) に実施した (表2)。約1ヶ月後に接種葉および上葉の病徴を調査し、ELISA 検定も実施した。

3) CMV特異プライマーを用いた検出

単離したウイルス株の罹病葉 (*N. glutinosa* 接種葉) からRNAを抽出し、SuperScript II でcDNAを作製した。cDNAの作製はRandomプライマーを用いた。CMVの特異検出プライマー

Streak mosaic on *Sandersonia aurantiaca* caused by Cucumber mosaic virus in Hokkaido

* 道総研 中央農業試験場 (現在 花・野菜技術センター)
Harukuni HORITA

ペアおよびSubgroup I, IIを特異検出するプライマーペア (Geetanjali ら, 2011) を用いてPCRを行い, 特異的に増幅するバンドの検出を行った。対照としてグラジオラスおよびストック由来のCMVとスターチス由来のClover yellow vein virus (以下, CIYVV) も供試した。

表1 ウイルス症状株のELISA検定結果

サンプル	吸光値(405nm)	
	CMV	BYMV
サンダーソニアサンプル	3.540	0.104
陽性サンプル	3.615	1.451
陰性サンプル	0.132	0.101
PBST buffer	0.102	0.099

注) 陰性サンプル値の2倍を陽性と判定

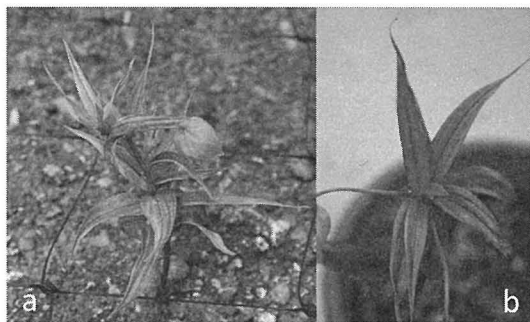


図1 サンダーソニアに現れた病徴

a 自然発生株, b 接種株

表2 サンダーソニアから単離したウイルス株の各種検定植物における病徴

植物名 (品種)	病徴 ^{a)}
	(接種葉/上位葉)
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	CS/-
<i>Chenopodium quinoa</i>	CS/-
<i>Nicotiana tabacum</i> (White barley)	+/-M
<i>Nicotiana tabacum</i> (Xanti NC)	+/-M
<i>Nicotiana glutinosa</i>	+/-M
<i>Nicotiana rustica</i>	+/-M
<i>Nicotiana sylvestris</i>	+/-M
<i>Nicotiana clevelandii</i>	+/-M
<i>Physalis floridana</i>	NS/CS, M
ベチュニア	M, RSc/-M
ソラマメ (早生蚕豆)	NS/-
インゲンマメ (本金時)	-/-
ササゲ (黒種三尺)	NS/-
トマト (桃太郎)	+/-M, Ma
ピーマン (エース)	+/-M
キュウリ (夏すずみ)	+/-M
センニチコウ	-/-
ツルナ	+/-CS

a) CS: 退緑斑点, M: モザイク, NS: えそ斑点, RSc: 退緑輪紋, Ma: 奇形, +: 潜在感染, -: 感染せず

4) サンダーソニアへの接種試験

N. glutinosa に接種された罹病葉をサンダーソニアに接種し, 病原性を確認した。接種は3株を供試し, 前出の方法で接種した。対照区は0.1Mリン酸緩衝液 (pH7.0) を行った。約1ヶ月後に接種葉および上葉を採取し, 病徴の調査とCMVのELISA検定を行った。

3. 結 果

1) 発病株に対するELISA

ELISA検定の結果, サンダーソニアの岩見沢株からCMVが検出された (表1)。症状は著しい生育抑制が認められ, 葉がモザイクや条状に退緑し, 一部が褐色となる株であった (図1a)。BYMVは陰性であった。

2) 汁液接種によるウイルス株の単離と検定植物による判別

罹病葉からウイルスを単離し, CMV株を得た。単離株の検定植物に対する反応は*C. amaranticolor*および*Chenopodium quinoa*の接種葉に退緑斑点を生じたほか, *Nicotiana*属植物では上葉にモザイク症状が現れた。ソラマメおよびササゲの接種葉にえそ斑点を生じた (表2)。これら反応はCMVの特徴 (塩田・植松, 1998) と一致した。その他, トマトでは上葉にモザイクや奇形を生じた。

3) CMV特異プライマーを用いた検出

CMV関連の検出プライマーを用いてPCRを行った結果, CMV検出プライマーおよびCMVのSubgroup II検出プライマーで特異バンドが検出された。対照のグラジオラスCMV罹病葉およびCMVストック株P-1 *N. glutinosa* 罹病葉からも同様の特異バンドが検出された (図2)。CIYVV F-1株のソラマメ罹病葉からは検出されなかった。

4) サンダーソニアへの接種試験

単離株を接種したサンダーソニアではモザイク症状が現れたほか, 時間の経過とともに条状の退緑症状が認められ, 一部接種植物では淡褐色に変色する症状が現れた。 (図1b)。これら発病株についてCMVのELISA検定を行ったところ, すべて陽性であった (表3)。

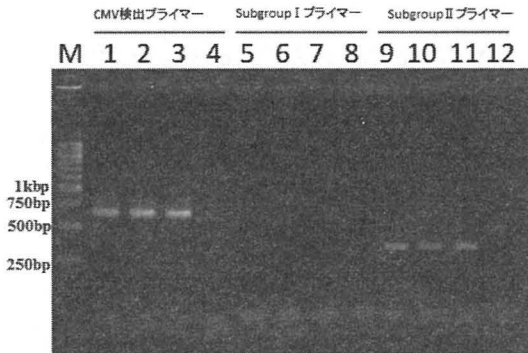


図2 CMVの特異プライマーおよびSubgroup判別プライマーを用いたPCRによる検出

M：サイズマーカー（250bp ladder）
 1,5,9：スターチス株（*N. glutinosa*罹病葉）
 2,6,10：CMVグラジオラス罹病葉
 3,7,11：CMVストック株P-1（*N. glutinosa*罹病葉）
 4,8,12：CIYVV F-1（ソラマメ罹病葉）
 cDNAの作成はRandomプライマーで実施

表3 接種試験による発病とELISA検定結果

処理区	発病（症状）	ELISA
接種区	3/3（M, N） ^{a)}	3/3
無接種区	0/3（-）	0/3

a) 発病株数（陽性数）/接種株数（検定数），M：モザイク，N：えそ，-：症状なし

4. 考 察

サンダーソニアから単離したウイルス株はCMV抗血清によるELISA，検定植物に対する接種試験，CMVの各種PCRプライマーによる検出結果から，CMVと同定された。サンダーソニアに対する接種試験で病徴も再現されたことから，

塩田・植松（1998）が報告した条斑モザイク病であることを確認した。

CMVはアブラムシ（モモアカアブラムシなど）で媒介されることから，サンダーソニアの栽培でアブラムシの防除を実施する必要があるが，岩見沢市における発生状況はそれほど多くなく，耕種的な対策で十分である。すなわち，媒介アブラムシはウイルスを保毒した周辺雑草に生息して，サンダーソニアに飛来してくることから，栽培ハウス周辺の雑草管理を十分実施するとともに，発病株が認められたら，早期に抜き取るなどの対策が必要である。

5. 引用文献

- 1) Geetanjali, A. S., Kumar, R., Srivastava, P. S. Mandal, B. (2011) : Biological and molecular characterization of two distinct tomato strains of Cucumber mosaic virus based on complete RNA-3 genome and subgroup specific diagnosis. Indian J Virol 22 : 117-126
- 2) 北海道農業協同組合中央会・ホクレン農業協同組合連合会編（2018）：北海道フラワーガイド その26. 北海道農業協同組合中央会・ホクレン農業協同組合連合会，札幌，pp. 1-7
- 3) 塩田あづさ，植松清次（1998）：キュウリモザイクウイルス（CMV）によるサンダーソニア条斑モザイク病（新称）. 関東東山病害虫研報 45 : 99-100