

各地土壌からのOlpidium brassicaeの検出と分離菌の チューリップ微斑モザイクウイルス媒介能

誌名	土と微生物
ISSN	09122184
著者	守川, 俊幸 多賀, 由美子
巻/号	58巻1号
掲載ページ	p. 43-52
発行年月	2004年4月

報 文

各地土壌からの *Olpidium brassicae* の検出と
分離菌のチューリップ微斑モザイクウイルス媒介能

守川俊幸・多賀由美子

富山県農業技術センター野菜花き試験場
(農林水産省持続型農業技術開発指定試験地)
〒939-1327 富山県砺波市五郎丸 288**Detection of *Olpidium brassicae* by a baiting plant method from field soils in Japan, and their transmissibility of *Tulip mild mottle mosaic virus*.**

Toshiyuki Morikawa and Yumiko Taga

Vegetable and Ornamental Crops Experiment Station, Toyama Agricultural Research Center,
Goromaru 288, Tonami, Toyama 939-1327, Japan

The distribution of *Olpidium brassicae* in Japan was examined using a baiting plant method and the abilities of *O. brassicae* isolates to transmit *Tulip mild mottle mosaic virus* (TMMMV) were evaluated. Seventy-three soil samples were collected from different areas in Japan. The soil samples, or root debris from selected sampling points, were inoculated onto the surface of soil in pots, to which cowpea (*Vigna unguiculata* 'Kurodane Sanjaku'), oriental melon (*Cucumis melo* 'Ginsen'), lettuce (*Lactuca sativa* 'Cisco'), tobacco (*Nicotiana tabacum* 'White Barley'), oat (*Avena fatua* 'Hay Oat') or cabbage (*Brassica oleracea* 'Shutoku') was planted as bait. *O. brassicae* was detected in the roots of at least one of these baiting plants grown in the 58 pots. The most successful plants in the recovery and propagation of *O. brassicae* from the soil were cowpea and oriental melon. However, oat, cabbage and tobacco were not good baiting plants because only a few *O. brassicae* could be recovered and propagated in these plants. All isolates trapped on cowpea or oriental melon propagated well, but some isolates differed in host specificity to lettuce and cabbage. Forty-nine isolates in total, including 11 single sporangial isolates, obtained from the soil or root debris were tested for their transmissibility of TMMMV. Nine isolates failed to transmit TMMMV, while the rest of the 40 succeeded in transmitting the virus from infected tulip to healthy tulip. The results show that *O. brassicae* inhabits in many field soils in Japan, and the majority of *O. brassicae* isolates can transmit TMMMV.

Key Words: *Olpidium brassicae*, detection, baiting plants, *Tulip mild mottle mosaic virus*, virus transmission.

はじめに

近年国内のチューリップ球根生産地において、微斑モザイク病の発生が拡大して問題となっている

る^{18,20)}。本病は *Ophiiovirus* に属するチューリップ微斑モザイクウイルス (*Tulip mild mottle mosaic virus*: TMMMV)^{17,19)}に起因し、土壌中に生息する *Olpidium brassicae* によって媒介される²¹⁾。本ウイルスは球根伝染するため、罹病球根を植え付けた圃場では、そこに生息する *O.*

brassicae がチューリップ根に寄生してウイルスを獲得し、その休眠孢子が圃場に残存することによりウイルス汚染土壌となる。

露地作物で土壌伝染性のウイルス病を薬剤で制御しているという例は少ない。よって、本病の防除についても耕種的な防除対策が基本となる²²⁾。今後、望ましい輪作体系や圃場管理技術を確立し、持続的な安定生産を実現するには、圃場に生育する植物と *O. brassicae* 個体群の質的・量的な構造や動態を、そして *O. brassicae* 系統の多様性とその地理的分布、植物寄生性、ウイルスの媒介能、温度反応などの生理生態的特性について理解を深める必要がある。本菌は、世界各地に分布し²⁷⁾、その寄生性の広さから国内においても広く分布するものと推察されるが、実際に本菌の分布を調査した例はない。そこで、数種捕捉植物を用いた土壌からの *O. brassicae* の検出・分離を試みるとともに、分離菌の植物寄生性や TMMMV 媒介能の有無について調査した。

材料および方法

1. *O. brassicae* の検出

土壌から *O. brassicae* を捕捉する植物として、ササゲ (*Vigna unguiculata*) ‘黒種三尺’、マクワウリ (*Cucumis melo*) ‘銀泉’、レタス (*Lactuca sativa*) ‘シスコ’、タバコ (*Nicotiana tabacum*) ‘White Barley’ を選定した。試験は 2 回に分けて実施し、試験 1 では野生エンバク (*Avena fatua*) ‘ハイオーツ’ を、試験 2 ではキャベツ (*Brassica oleracea*) ‘秋徳’ を追加した。これら捕捉植物の種子を滅菌した粒状加工培土 (クレハ園芸培土) を

詰めたイチゴパック (500 g 用) に播種し、播種 4~14 日後に表 1 と 2 に示した 1 道, 1 府, 12 県 73 地点から収集した耕地土壌 (栽培作物: チューリップ, 水稻, 牧草, 野菜類ほか), あるいは植物根を地際部に散布 (生土 50~70 g または根生重 0.1 g / イチゴパック) し, 18~23°C のグロスキャビネットまたは 20°C 陽光恒温機内で栽培した (図 1)。土壌を接種して約 2 ヶ月後に、各植物の根を約 50~100 cm 回収し、顕微鏡下で *O. brassicae* の寄生の有無を調査した (休眠孢子や遊走子嚢等の形態を基に種を同定)。なお、以降の試験を含め、培土は 90°C 45 分間または 110°C 15 分間処理により滅菌したものをを用いた。また、試験中は乾燥しないよう適時、脱イオン水または水道水で灌水した。

2. *O. brassicae* の分離と増殖

O. brassicae の寄生が認められたササゲまたはマクワウリの根を水道水の流水中で洗浄後、顕微鏡下で寄生部位を確認して約 1 cm の断片を摘出し、これを滅菌土で育成した健全なササゲの地際部に置床し、滅菌土を覆土して 20°C 陽光恒温機内で栽培した。ここで寄生が認められたササゲの根を約 1 cm の長さの断片にし、同様な接種を再度行って分離菌とした。以上の分離菌は複数の遊走子嚢に由来することから、一部の菌株については単遊走子嚢を分離した。すなわち、分離菌をマクワウリ苗に接種し、接種 6 日後 (遊走子が分化する前) に根をカミソリにて細断、適量の滅菌水に懸濁して素寒天上に少量滴下し、単独の遊走子嚢を寒天ごと切り出してマクワウリ苗の根に触れるように接種した。その後マクワウリ上で約 1 ヶ月増殖したものを単遊走子嚢分離株とした。以上の

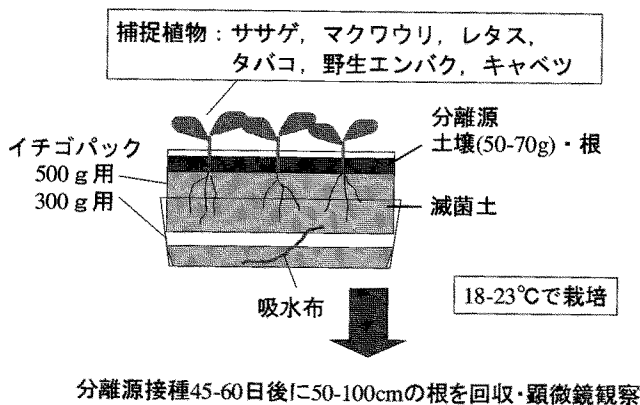


図 1 土壌と植物根からの捕捉植物を用いた *O. brassicae* の検出

分離菌はいずれもササゲに接種し、接種約1ヶ月後に根を回収して風乾した後、紙袋に入れて4°Cまたは-80°Cで保存した。

3. 分離菌の植物寄生性およびTMMMV保毒の有無

本研究で分離した49菌株および研究室保存菌株2菌株(砺波市チューリップ圃場分離株 Byoums-1, block)の計51菌株(うち13菌株は9圃場由来の単遊走子囊分離株)について、チューリップ、ササゲ、マクワウリへの寄生性を調査した。すなわち、チューリップでは11月に球根‘Lucky Strike’を滅菌土に植え付け(3球/径12 cmポット)、同時にササゲで増殖させた各*O. brassicae*分離株の寄生根を接種した(0.1 g/ポット)。接種したポットは15°Cで3週間および5°Cで2ヶ月間の温度処理を行った後、最低温度10°Cに設定したガラス温室内で栽培し、翌4月の開花期にチューリップの根を一部回収して*O. brassicae*の感染の有無を調査するとともに、花茎断面を検出部位とするTissue blot immunoassay: TBIA法^{15,20)}によってTMMMVの感染の有無を判定した。ササゲとマクワウリについては先の土壌からの検出法と同様な条件で栽培した植物体の地際部に寄生根を接種し(約0.1 g/イチゴパック)、約1ヶ月後に各植物の根を回収して、*O. brassicae*の寄生の有無を調査した。なお、表3に示した10圃場由来の15菌株(2菌株を除き単遊走子囊分離株)については、レタス、キャベツに対する寄生性についても同様に調査した。

4. 分離菌によるTMMMV媒介試験

本研究で分離した菌株のうち、チューリップに接種してTMMMVの保毒が確認されなかった48菌株に当場の保存菌株1菌株を加えてTMMMV媒介能を調査した。なお、ウイルス媒介試験は以下の通り2回に分けて実施した。(媒介試験1)

富山県、高知県、兵庫県の7地点の耕地土壌や根から分離された12分離株(うち11菌株は単遊走子囊分離株)を用いて媒介試験を実施した。11月にTMMMV感染チューリップ球根‘Negrita’を滅菌土に植え付け(1球/径12 cmポット)、同時に各*O. brassicae*分離株のササゲ寄生根を接種した(0.1 g/ポット)。接種したポットは15°C下に2週間置いた後、それぞれのポットにオランダ産の健全球根(検定株)‘Bastogne’を4球ずつ植え付け(4~6ポット/分離株)、さらに、15°Cで

2週間置いた。次に5°Cで2ヶ月間低温処理を行った後、最低温度10°Cに設定したガラス温室内で栽培した。なお、対照には*O. brassicae*無接種区を設け、植え付け翌春の4月開花期に花茎断面を検出部位とするTBIA法によってTMMMV感染の有無を判定した。

(媒介試験2)

1道1府7県の37地点の耕地土壌から分離した37菌株についてTMMMV媒介能を調査した。試験1とほぼ同様であるが、以下の点で異なった。すなわち、11月にウイルス感染球根‘Negrita’を1ポット当たり3球植え付け、1週間後にササゲ寄生根を蒸留水に浸して放出された各分離株の遊走子(約 5×10^2 個/ポット)を灌注接種した(2ポット/菌株)。その1週間後に健全球根(検定株)‘Merry Widow’と‘Lucky Strike’を3球ずつ植え付け15°Cで2週間置いた。以降、ガラス温室に移して(50日間無加温、その後最低温度10°Cに加温)、開花期にウイルス検定を実施した。なお、検定株のうち1個体でも感染が認められれば接種した*O. brassicae*がTMMMV媒介能を有すると判定した。

結果

1. *O. brassicae*の検出

計73地点の土壌(または植物根)から*O. brassicae*の検出を試みた結果、試験1と2で用いたいずれかの捕捉植物で本菌が検出されたのは全体の79%にあたる58地点の試料であった(表1, 2)。なお、試験1と2を合わせた検出地点数/供試地点数は、北海道が6/9、宮城県が2/3、福島県が1/3、茨城県が0/1、新潟県が1/3、富山県が36/41、三重県が2/2、京都府が1/1、兵庫県が1/1、山口県が2/3、香川県が1/1、高知県が1/1、福岡県が3/3、鹿児島県が1/1であり、本菌は全国各地の耕地土壌から検出された。なお、富山県のチューリップ圃場から採集した土壌は35地点中32地点、他の土壌では38地点中26地点で本菌が検出され、富山県のチューリップ圃場は他の土壌に比べて検出頻度が高い傾向が認められた。

検出された計58地点のうち、ササゲでは55地点、マクワウリでは50地点の土壌で本菌が検出され、ササゲとマクワウリでの検出頻度が最も高く、根における増殖量も多い傾向が認められた。一方、レタスでは17地点のみの検出にとどまった。その

表1 各地から採集した土壌からの O. brassicae の検出 (試験1)

採集年	試料の来歴		分離源	捕捉植物					O. brassicae 分離株名 ¹⁾
	採集地	栽培作物		ササゲ	マクワウリ	レタス	タバコ	野生エンバク	
2000	北海道札幌市	ジャガイモ	土壌	+++ ²⁾	+	++	-	+-	
2000	北海道札幌市	イネ	土壌	+++	+++	+-	-	-	
2000	北海道札幌市	トウモロコシ	土壌	-	-	-	-	-	
2000	北海道札幌市	ダイズ	土壌	++	++	+	-	-	00-9
2000	北海道札幌市	コムギ	土壌	-	-	-	-	-	
2000	北海道札幌市	芝	土壌	+++	+++	+++	-	-	00-12
2000	北海道札幌市	牧草	土壌	+++	+-	-	-	-	00-13
2000	北海道札幌市	イネ	土壌	-	+	-	-	-	00-3
2000	北海道札幌市	牧草	土壌	-	-	-	-	-	
2000	新潟県	チューリップ	土壌	+++	+++	NT	NT	NT	00-8
2000	富山県魚津市	ユリ	土壌	-	+	-	-	-	
2000	富山県魚津市	ユリ	土壌	+++	+++	-	-	-	00-15
2000	富山県魚津市	ユリ	土壌	-	-	-	-	-	
2000	富山県魚津市	チューリップ	土壌	+++	+++	-	-	-	00-6
2000	富山県高岡市	チューリップ	土壌	-	-	-	-	-	
2000	富山県高岡市	チューリップ	土壌	++	+++	-	-	-	00-17
1996	富山県砺波市	チューリップ	土壌	+++	+++	-	-	-	ES-5ms-1
2000	富山県砺波市	チューリップ	土壌	+++	+++	++	-	-	7ms-1
2000	富山県砺波市	チューリップ	根	+++	+++	+++	NT	NT	7ms-1 Sibams-2 Sibams-4
2000	富山県砺波市	チューリップ	土壌	+++	+++	-	-	-	
2000	富山県砺波市	チューリップ	土壌	-	-	-	-	-	
2000	富山県砺波市	チューリップ	土壌	+++	+++	-	-	-	00-4
2000	富山県砺波市	チューリップ	土壌	++	+	-	-	NT	
2000	富山県砺波市	チューリップ	土壌	-	-	-	-	-	
2000	富山県砺波市	チューリップ	土壌	+	+++	-	-	-	
2000	富山県福野市	チューリップ	土壌	+++	+++	-	-	-	00-1
1998	富山県氷見市	ネギ	根	+++	+++	+++	-	-	WOMs-1 WOMs-2
2000	富山県福光町	ニラ	土壌	-	-	-	-	-	
2000	富山県福光町	ユリ	土壌	+-	-	-	-	-	
2000	兵庫県	レタス	根	+++	+++	+++	-	-	LBms-3 LBms-4
1997	高知県	インゲン	土壌	+++	+++	+++	-	-	Koums-1 Koums-4
2000	福岡県久留米市	ナス	土壌	+++	+++	+++	-	-	00-5
2000	福岡県久留米市	イチゴ	土壌	+++	+++	-	-	-	00-7
2000	福岡県久留米市	メロン	土壌	+	-	-	-	-	
2000	鹿児島県山川町	ユリ	土壌	+++	+++	-	-	-	
	無処理区			-	-	-	-	-	

1) ms- 番号を付した菌株は単遊走子囊分離株。

2) -~+++は O. brassicae の寄生程度を示す。-：寄生認められず, +-：根 1 m あたり 10 個程度の寄生が認められる。+：根 1 m あたり 100 個程度の寄生が認められる。++：根 1 m あたり 1000 個程度の寄生が認められる。+++：根の表皮細胞の半数以上に寄生を認める部位が多数ある。

他野生エンパク、キャベツ、タバコでの検出例は極めて少なかった(表1, 2)。

2. 分離菌の植物寄生性およびTMMMV保毒の有無

各地土壌からササゲまたはマクワウリで捕捉・分離した49菌株および当场保存菌株2菌株をササゲで増殖させた後、チューリップ、ササゲおよびマクワウリに接種したところ、いずれの植物の根でも良好に増殖(寄生程度++~++++, 表1脚注参照)した(データ略)。また、10圃場由来の

15菌株(うち13菌株は単遊走子嚢分離株)についてレタスおよびキャベツに対する寄生性を調査した結果、レタスには10菌株が、キャベツには3菌株が寄生し、菌株間に明らかな寄生性の差が認められた(表3)。なお、同一圃場由来の菌株間に明らかな寄生性の差を認めなかった。

分離菌を接種したチューリップからTMMMVの検出を試みた結果、本病汚染土壌から分離された1菌株(00-8株)を接種した区でのみTMMMVの感染が認められ、その他の分離株を

表2 各地から採集した土壌からの *O. brassicae* の検出(試験2)

採集年	試料の来歴		分離源	捕捉植物					<i>O. brassicae</i> 分離株名 ¹⁾
	採集地	栽培作物		ササゲ	マクワウリ	レタス	タバコ	キャンベツ	
2001	宮城県名取市	野菜	土壌	++ ²⁾	++	-	-	-	123
2000	宮城県名取市	徳用作物	土壌	++	+	-	+-	-	121
2000	宮城県名取市	畑地	土壌	-	-	-	-	-	
2001	福島県郡山市	イチゴ	土壌	+++	+++	+	+	-	
2000	福島県福島市	畑地	土壌	-	-	-	-	-	
2000	福島県福島市	畑地	土壌	-	-	-	-	-	
2001	茨城県つくば市	畑地	土壌	-	-	-	-	-	
2000	新潟県清里村	ダイコン	土壌	-	-	-	-	-	
2000	新潟県上越市	キャベツ	土壌	-	-	-	-	-	
2001	富山県朝日町	チューリップ	土壌	+++	+++	-	-	+-	218
2001	富山県井波町	チューリップ	土壌	+++	+++	+-	-	-	205
2001	富山県井波町	チューリップ	土壌	-	+-	-	-	-	
2001	富山県魚津市	チューリップ	土壌	+++	++	-	-	-	220
2001	富山県黒部市	チューリップ	土壌	++	+++	-	-	-	219
2001	富山県庄川町	チューリップ	土壌	+++	+++	-	-	-	203
2001	富山県高岡市	チューリップ	土壌	++	+-	-	-	-	210
2001	富山県高岡市	チューリップ	土壌	+	-	-	-	-	209
2001	富山県高岡市	チューリップ	土壌	+	-	-	-	-	214
2001	富山県高岡市	チューリップ	土壌	+++	+++	+	-	-	211
2001	富山県立山町	チューリップ	土壌	+++	+++	-	-	+-	222 ms-1
2001	富山県砺波市	チューリップ	土壌	+-	-	-	-	-	
2001	富山県砺波市	チューリップ	土壌	++	-	-	+-	-	201
2001	富山県砺波市	チューリップ	土壌	++	+++	+-	-	-	215
2001	富山県砺波市	チューリップ	土壌	++	+++	+-	-	-	213
2001	富山県砺波市	チューリップ	土壌	+++	+++	-	-	-	212
2001	富山県滑川市	チューリップ	土壌	+	+++	-	-	-	
2001	富山県入善町	チューリップ	土壌	+++	+	-	-	-	
2001	富山県入善町	チューリップ	土壌	++	+++	-	-	-	217
2001	富山県福野町	チューリップ	土壌	++	+++	-	-	++	207
2001	富山県福野町	チューリップ	土壌	++	++	-	-	-	206
2001	富山県福野町	チューリップ	土壌	+	++	-	-	-	208
2000	三重県安濃町	畑地	土壌	++	+++	-	-	-	111
2000	三重県安濃町	イネ	土壌	++	-	-	-	-	109
2001	京都府	ナス	土壌	+	++	-	-	-	129
2001	香川県善通寺市	レタス	土壌	+++	+++	++	+	-	107
2001	山口県山口市	トマト	土壌	-	-	-	-	NT	
2001	山口県山口市	ハウレンソウ	土壌	++	++	+	-	-	103
2001	山口県山口市	キャベツ	土壌	+++	NT	NT	-	NT	101
	無処理区			-	-	-	-	-	

1~2) 表1脚注参照。

接種した区からは TMMMV は検出されなかった (データ略)。

3. 分離菌のウイルス媒介能

媒介試験 1 では菌株によって感染率に差はあるものの、7 地点の土壌または根から分離された 12 菌株の全てが TMMMV を媒介した (表 4)。媒介試験 2 では 37 地点の土壌から分離された 37 菌株のうち 28 菌株が TMMMV を媒介した (表 5)。両試験を合わせた土壌採集地ごとのウイルス媒介確

認菌株数/供試菌株数は、北海道が 4/4、宮城県が 2/2、富山県が 25/31、三重県 1/2 が、京都府が 0/1、兵庫県が 2/2、香川県が 1/1、高知県が 2/2、山口県が 1/2、福岡県が 2/2 で、供試した計 49 菌株のうち少なくとも 40 菌株が TMMMV を媒介することが確認された。なお、表 3 に示したレタスやキャベツに対する寄生性が異なる菌株はいずれも TMMMV を媒介し (表 4, 5)、寄生性の差異とウイルス媒介能の間には明確な関係は認められな

表 3 O. brassicae の数種植物に対する寄生性

供試菌株 ¹⁾	各種植物に対する寄生性				
	ササゲ	マクワウリ	レタス	キャベツ	チューリップ
ES-5ms-1	+++ ²⁾	+++	-	-	++
Byoums-1 ³⁾	+++	+++	-	-	++
7ms-1	+++	+++	+	-	++
7ms-2	+++	+++	+	-	++
block ³⁾	+++	+++	-	-	++
Sibams-2	+++	+++	++	-	++
Sibams-4	+++	+++	+++	-	++
WOms-1	+++	+++	+++	+ -	++
WOms-2	+++	+++	+++	-	++
Koums-1	+++	+++	++	-	++
Koums-4	+++	+++	++	-	++
LBms-3	+++	+++	++	-	++
LBms-4	+++	+++	++	-	++
222ms-1	+++	+++	-	+	++
207	+++	+++	-	+++	++

1, 2) 表 1 脚注参照。

3) 研究室保存菌株。

表 4 O. brassicae による TMMMV の媒介試験 (媒介試験 1)

供試菌株 ¹⁾	供試 ポット数 ²⁾	伝染 ポット数	感染株数 ³⁾ /検定株数
ES-5ms-1	6	6	22/22
7ms-1	5	4	13/20
7ms-2	6	6	12/23
block ⁴⁾	5	5	18/19
Sibams-2	6	2	5/24
Sibams-4	6	5	14/22
WOms-1	6	5	12/24
WOms-2	6	5	11/24
Koums-1	6	4	12/22
Koums-4	4	4	13/15
LBms-3	6	4	15/23
LBms-4	4	3	7/16
無接種	12	0	0/48

1) ms-番号を付した菌株は単遊走子嚢分離株。

2) 1 ポットあたり健全チューリップ球根 4 球使用した。

3) TMMMV の感染の有無は TBIA 法によって行った。

4) 研究室保存菌株。

表5 *O. brassicae* による TMMMV の媒介試験 (媒介試験 2)

供試菌株 ¹⁾	菌株数	TMMMV 媒介能
00-1, 00-3, 00-4, 00-5, 00-6, 00-7, 00-9, 00-12, 00-13, 00-15, 00-17, 101, 107, 109, 121, 123, 201, 205, 206, 207, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 220, 222 ms-1	28	+
103, 111, 129, 203, 208, 209, 217, 218, 219	9	-

1) ms-番号を付した菌株は単遊走子囊分離株。

かった。

考 察

O. brassicae は土壤中に生息する絶対寄生菌の一種であり、極めて広い宿主範囲を持ち²⁾、筆者らも分離株の一つが14科26種の植物に寄生することを確認している(未発表)。一般に、本菌の寄生によって植物に顕著な病変を生じることはないが、TMMMVのほか、タバコ矮化ウイルス(TStV)¹⁰⁾、レタスビッグベインウイルス(LBVV)²⁸⁾、Mirafiori lettuce virus(MiLV)^{16,24)}、タバコネクロシスウイルス(TNV)¹³⁾ほか数種の植物ウイルス^{3,4,25)}を媒介することが知られており、作物によっては甚大な被害を与える^{9,11,12,23)}。これらウイルスの流行を制御するためには、媒介菌である*O. brassicae*の特性や分布を明らかにする必要があるが、本菌の国内における分布を調査した例はない。そこで、本研究では国内各地の耕地土壌から捕捉植物を用いて本菌の検出を試みた。

根に寄生する*Olpidium*属菌として*O. brassicae*の他に*O. bornovanus*(syn. *O. radiale*, *O. cucurbitacearum*)が知られている。*O. brassicae*の休眠孢子が凹凸のある星の光状で遊走子が球状であるのに対し、*O. bornovanus*の休眠孢子は平滑で遊走子が楕円形である点で大きく異なる^{5,14)}。本研究では全ての試料について遊走子の形態までは観察しなかったものの、休眠孢子が星の光状の形態であるものを*O. brassicae*として調査した。その結果、全体の79%の土壌から供試したいずれかの捕捉植物上に*O. brassicae*が検出された。供試した土壌の約半数が富山県内の水田転換畑チューリップ圃場由来であり、必ずしも国内の耕地土壌における本菌の分布を正確に反映しないが、北海道から鹿児島県までの各地から本菌が検

出されたことから、本菌は国内の耕地土壌の多くに分布していると考えられた。なお、本研究を通じて、捕捉植物の根には*O. brassicae*の他に*Physoderma*属菌や*Pythium*属菌の寄生がしばしば認められたが、*O. bornovanus*の寄生は確認できなかった。*O. bornovanus*は*O. brassicae*に比べて国内における分布圏が狭い可能性があるが、*O. bornovanus*の増殖適温が30°C付近であるのに対し²⁶⁾、本研究では捕捉植物を*O. brassicae*の増殖適温である20°C付近で栽培したことも*O. bornovanus*が検出されなかった大きな要因であると考えられた。

本菌の特性や分布を知る上で、供試する捕捉植物の種類は実験結果を決定づける最も重要な要素であると考えられる。本研究では検出感度の高い捕捉植物を選定するためにササゲ、マクワウリ、レタス、タバコ、キャベツおよび野生エンバクを供試した。ササゲとマクワウリは筆者らがこれまでもTMMMVの媒介試験を実施する過程²¹⁾で本菌の増殖に適した植物として常用してきた植物であり、その他の植物については既往の研究^{5,26,27)}において菌株間に植物寄生性の差が生じた植物である。以上の捕捉植物を用いて、各地土壌からの本菌の検出を試みた結果、用いた捕捉植物の中ではササゲとマクワウリが最も検出率が高かった。さらに、ササゲまたはマクワウリで捕捉・分離された菌株のすべてが両植物で良好に増殖したことから、これらの植物は本菌を捕捉検出し、増殖するのに汎用性の高い宿主で一つであると考えられた。なお、ササゲあるいはマクワウリの一方でのみ検出された土壌もあることから、本菌を土壌から検出するには両者を併用することが望ましいと考えられた。一方、レタスやタバコでの検出頻度は低かったが、両者に寄生を認めなかった土壌からササゲに捕捉された分離株の寄生性を調査してみると、レタスやタバコに寄生する分離株がいく

つか存在した(データ略)。このことから、本研究の結果はレタスやタバコに寄生性を有する *O. brassicae* の分布域が極端に狭いことを示すものではなく、レタスやタバコの捕捉植物としての検出感度がササゲやマクワウリに比べて低いことを示すものと考えられた。

O. brassicae の寄主範囲は広いものの、分離株によっては植物寄生性に差が認められることが知られている^{27,28)}。本研究においても、レタスあるいはキャベツに対する寄生性の分化が認められ、多数の分離株と植物種を組み合わせることで、さらに多様な寄生性の分化⁹⁾が明らかになると推察される。このような植物寄生性に関する特性は土壤中における本菌の動態を理解する上で有用な知見になるものと考えられた。一方、Temminckら(1970)は、植物寄生性が異なる *O. brassicae* と血清学的に異なる TNV 系統との間には特異性が認められるとしている^{1,27)}。また、レタスに寄生性が無い菌株には MiLV をレタスに媒介する能力が認められない²⁴⁾。さらに、同属の *O. bornovanus* には寄生性の異なる系統が存在し⁵⁾、それらは *Tombusvirus*, *Carmovirus*, *Dianthovirus* に属するウイルスに対する媒介能(媒介効率)がそれぞれ異なることが知られている⁹⁾。このような、媒介菌の系統間のウイルス媒介能を把握することは、今後、ウイルス病による被害を軽減するための輪作体系を確立する上で必須の項目である。本研究では、供試した 49 菌株の *O. brassicae* のうち、少なくとも 40 菌株に TMMMV 媒介能が認められた。また、媒介試験 1 において菌株によって TMMMV 伝染率に差が認められた(表 3)が、伝染源に用いた TMMMV 感染球根のウイルス保毒程度には差があると予想されること、菌株間のチューリップでの増殖程度の差を詳細に比較していないことなどから、菌株間にウイルス媒介効率の差がどの程度あるかを判断できなかった。今後はビートえそ性葉脈黄化ウイルス(BNYVV)を媒介する *Polymyxa betae* で Gerik and Duffus (1988)⁸⁾が実施したような、菌株間の量的なウイルス伝搬能の比較を行う必要があると考えられた。

本研究の結果から *O. brassicae* は国内の耕地土壤の多くに生息し、それらには植物寄生性に差は認められるものの、そのほとんどが TMMMV を媒介する能力を有することが明らかになった。このことは TMMMV 感染球根を植え付けること

によって、多くの圃場はウイルス汚染圃場になる可能性が高いことを示すものである。これが、近年、TMMMV 発生圃場が急速に拡大して慢性化した所以であり、制御の困難さを示すものでもある。本研究は土壤からの *O. brassicae* の検出の有無、そしてそれらが TMMMV を媒介するかしないかという側面でのみ評価したものであり、*O. brassicae* と TMMMV の発生生態の一断面を捉えたにすぎない。今後、望ましい輪作体系を確立するには土壤中での *O. brassicae* の動態を量的に捉えるとともに、各種植物における *O. brassicae* と TMMMV 両者の増殖を評価する必要がある。また、多くの耕地土壤から *O. brassicae* が検出されたものの、本菌が検出出来なかった土壤が存在することも事実であり、圃場の栽培歴や土壤の物理化学性などの項目を加えた詳細な調査を継続することにより、本菌を制御していくための重要なヒントが得られるものと期待される。

謝 辞

本研究を行うにあたり、供試土壤の収集にご協力頂いた旧北海道農業試験場 故岩崎真人氏、東北農業研究センター 芦澤武人氏、宮城県農業・園芸総合研究所 中村茂雄氏、福島県農業試験場 根本文宏氏、新潟県園芸研究センター 棚橋 恵氏、中央農業総合研究センター 野村良邦氏、辻本雅子氏、花き研究所 築尾嘉章氏、千葉県農業総合研究センター 植松清次氏、東京農業大学 夏秋啓子氏、京都府農業資源研究センター 小坂能尚氏、近畿中国四国農業研究センター 笹谷孝英氏、高知県農業技術センター 竹内繁治氏、山口県農業試験場 角田佳則氏、九州沖縄農業研究センター 小坂橋基夫氏、鹿児島県農業試験場 西 真司氏に篤くお礼申し上げます。

摘 要

O. brassicae の分布を明らかにするため、国内の 1 道、1 府、12 県から 73 地点の耕地土壤(一部は植物根)を収集し、捕捉植物(ササゲ、マクワウリ、レタス、タバコ、野生エンパクまたはキャベツ)に接種して、*O. brassicae* の寄生の有無を調査した。その結果、58 地点の試料(供試試料の 79%)において、いずれかの植物で *O. brassicae* の寄生が観察された。本菌が検出された 58 地点の

うち、ササゲでは55地点、マクワウリでは50地点の土壌で本菌が検出された。一方、レタスでは17地点の検出にとどまり、その他野生エンバク、キャベツ、タバコでの検出は極めて少なかった。なお、ササゲやマクワウリを用いて分離された菌の植物寄生性を調査したところ、レタスあるいはキャベツに対する寄生性の分化が認められた。次に、*O. brassicae* のTMMMV媒介能を調査するため、49菌株(うち11菌株は単遊走子囊分離株)をポットに植え付けたTMMMV感染チューリップにそれぞれ接種し、その周囲に健全チューリップ球根(検定株)を植え付けて、この検定株へのウイルス感染の有無を調査したところ、供試菌株の少なくとも40菌株が本ウイルスを媒介することが明らかになった。

引用文献

- 1) Babos, P. and Kassanis, B. (1963) Serological relationships and properties of tobacco necrosis virus strains. *J. Gen. Microbiol.*, **32**, 135-144
- 2) Barr, D. J. S. (1980). *OLPIDIUM BRASSICAE. Fungi Canadenses* No. 176
- 3) Bouwen, I. (1994) Freesia leaf necrosis: Some of its mysteries revealed. *Acta Hort.*, **377**, 311-316
- 4) Bos, L. and Huijberts, N. (1996) Lettuce ring necrosis, caused by a chytrid-borne agent distinct from lettuce big-vein 'virus'. *Eur. J. Pl. Pathol.*, **102**, 867-873
- 5) Campbell, R. N. and Sim, S. T. (1994) Host specificity and nomenclature of *Olpidium bornovanus* (= *Olpidium radicale*) and comparisons to *Olpidium brassicae*. *Can. J. Bot.*, **72**, 1136-1143
- 6) Campbell, R. N., Sim, S. T. and Lecoq, H. (1995) Virus transmission by host-specific strains of *Olpidium bornovanus* and *Olpidium brassicae*. *Eur. J. Pl. Pathol.*, **101**, 274-282
- 7) Campbell, R. N. (1996) Fungal transmission of plant viruses. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **34**, 87-108
- 8) Gerik, J. S. and Duffus, J. E. (1988) Differences in vectoring ability and aggressiveness of isolates of *Polymyxa betae*. *Phytopathology*, **78**, 1340-1343
- 9) Hidaka, Z. (1956) Studies on the tobacco stunt disease. *Bull. Hatano Tobacco Expt. Sta.*, **40**, 1-80
- 10) 日高 醇・多川 閃 (1965) タバコ矮化病の *Olpidium brassicae* (Wor.) Dang. による媒介, 日植病報, **31**, 369~372
- 11) 家村浩海・中野昭信 (1979) レタスビッグベイン病の発生生態と防除, 植物防疫, **33**, 249~252
- 12) Kassanis, B. (1949) A necrotic disease of forced tulips caused by tobacco necrosis virus. *Ann. Appl. Biol.*, **36**, 14-17
- 13) Kassanis, B. and MacFarlane, I. (1964) Transmission of tobacco necrosis virus by zoospores of *Olpidium brassicae*. *J. Gen. Microbiol.*, **36**, 79-93
- 14) Lange, L. and Insunza, V. (1977) Root-inhabiting *Olpidium* species: the *O. radicale* complex. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, **69**, 377-384
- 15) Lin, N. S., Hsu, Y. H. and Hsu, H. T. (1990) Immunological detection of plant viruses and a mycoplasma-like organism by direct tissue blotting on nitrocellulose membranes. *Phytopathology*, **8**, 824-828
- 16) 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
- 17) Milne, R. G., Garcia, M. L. and Grau, O. (2000) Genus *Ophiiovirus*. In *Virus Taxonomy*, Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, pp. 627-631, Academic Press, New York
- 18) 守川俊幸・大浦佳世子・山本孝・野村良邦・松本美枝子・名畑清信 (1995) 富山県で発生の認められたチューリップのウイルス様症状について, 富山農技セ研報, **16**, 55~66
- 19) Morikawa, T., Nomura, Y., Yamamoto, T. and Natsuaki, T. (1995) Partial characterization of virus-like particles associated with tulip mild mottle mosaic. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.*, **61**, 587-581
- 20) 守川俊幸 (1997) チューリップの微斑モザイク症状-発生生態と防除-, 植物防疫, **51**, 420~423
- 21) 守川俊幸・築尾嘉章・夏秋知英 (1997) チューリップ微斑モザイク病(新称)の媒介者, 日植病報, **63**, 504 (講要)
- 22) 守川俊幸 (2002) チューリップ微斑モザイク病と条斑病(仮称), 植物ウイルス病研究会レポート, **6**, 21~30
- 23) 名畑清信・草葉敏彦・向畑博行 (1988) チューリップウイルス病の発生生態と防除に関する研究, 富山県農技セ研報, **2**, 1~132
- 24) 夏秋啓子・守川俊幸・夏秋知英・奥田誠一 (2002)

- わが国のビック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
- 25) Rast, A. Th. B. (1992) Host range comparison of the causal agents of pepper yellow vein and lettuce big vein. *Neth. J. Pl. Pathol.*, **98**, 325-328
- 26) Teakle, D. S. and Thomas, B. J. (1985) Effect of heat on zoospore motility and multiplication of *Olpidium radicale* and *O. brassicae*. *Ann. Appl. Biol.*, **107**, 11-15
- 27) Temmink, J. H. M., Campbell, R. N. and Smith, P. R. (1970) Specificity and site of in vitro acquisition of tobacco necrosis virus by zoospores of *Olpidium brassicae*. *J. Gen. Virol.*, **9**, 201-213
- 28) Tomlinson, J. A. and Garrett, R. G. (1964) Studies on the lettuce big-vein virus and its vector *Olpidium brassicae* (Wor.) Dang. *Ann. Appl. Biol.*, **54**, 45-61