

2種ウイルスのラッキョウに及ぼす影響

長田龍太郎・轟 篤・菓子野利浩
(宮崎県総合農業試験場)

Influence of two kinds of viruses on *Allium chinense* G. Don. Ryuutaro NAGATA, Atusi TODOROKI, Toshihiro KASINO (Miyazaki Agricultural Experiment Station, Sadowara, Miyazaki 880-02)

近年、宮崎県都城地区を中心としたラッキョウ(品種らくだ)の産地において、葉枯れ症状、黄化症状、萎縮症状などの各種症状が多発し、収量及び品質の低下をもたらした、大きな問題となっている。そのため、電子顕微鏡によるウイルスの調査を試みたところ、Tabacco mosaic virus (TMV) 及び Garlic latent virus (GLV) と思われるひも状ウイルス粒子を観察した。次いでこれらウイルスを除去する目的でラッキョウの茎頂培養を試み、ウイルスフリー株を得て、その効果並びに各ウイルスのラッキョウに及ぼす影響についていくつかの知見を得たので報告する。

材料及び方法

ウイルス調査：圃場で生育中のラッキョウ葉を試料とし、2%リンタンングステン酸(PTA, pH 7.0)を用いたDN法により電子顕微鏡観察を行った。GLVの調査はプロテインA・金コロイド法を用いた免疫電子顕微鏡法を試みた。試料は圃場で生育中のラッキョウ葉を用い、0.02 M PBS (pH 7.4) 中で摩砕後、グリッド上に取り、余分な水分を除去した後0.02 M TBS (pH 7.5) で1,000倍に希釈した抗 GLV IgG に20分間作用させ、0.05% Tween 20を含んだ0.02 M TBS (TTBS, pH 7.5) で洗浄した。その後グリッドを1%牛血清アルブミンを含む0.02 M TBS で25倍希釈したプロテインA・金コロイド(Janssen 社)に10分間作用させ、TTBS 及び蒸留水で洗浄後2% PTA で染色、観察した。なお、試験に用いた抗 GLV IgG は千葉農試より分譲を受けた。

茎頂培養法：茎頂培養用培地組成を第1表に示す。まずラッキョウ茎頂部を約0.3mmの大ききで摘出し、発芽用培地で培養した。次ぎに発生した植物体を発根用培地に移植し、発根後鉢上げ及び馴化を行った。培養はすべて25℃、約1,600 lux・24時間照明の環境下で行った。鉢上げされた植物体は隔離ガラス温室内で育苗後、電顕

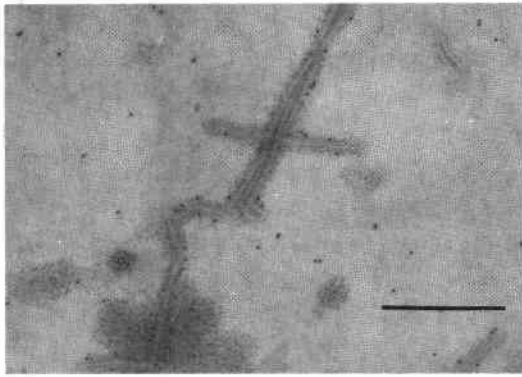
観察によるウイルス検定を行い、ウイルスフリー化が確認された株について鉢内で球根の育成を行い、圃場試験の材料とした。

2種ウイルスの影響：各試験区の供試材料として各々ウイルスフリー株、TMV 単独感染株、ひも状ウイルス単独感染株、2種ウイルス重複感染株を用いた。TMV 単独感染株は、ラッキョウから得られた純化ウイルス(佐賀大学より分譲)をウイルスフリー株に接種することにより、またひも状ウイルス単独感染株は、露地圃場に作付けたウイルスフリー株からひも状ウイルスに単独感染した株を選別することにより得た。2種ウイルス重複感染株は、本県都城支場より分譲された2種ウイルスに重複感染している在来株を用いた。試験に用いた株は1区10㎡の寒冷紗(白#300)で被覆された網室内で栽培し、栽植密度は株間15cm、条間20cmの2条植えて畝間60cmの2畝とした。基肥として、苦土石灰40kg/a, N 0.8, P₂O₅ 0.8, K₂O 0.8kg/a を1987年9月21日に、追肥として、N 0.63, P₂O₅ 0.63, K₂O 0.63kg/a を1988年3月13日に施用した。植え付けは1987年9月26日に行い、11月18日と3月13日に中耕・土寄せをした。生育期の調査は、11月16日、12月18日、2月2日、3月11日、5月24日に生葉数、枯死葉数、草丈、葉幅、分けつ数、葉先枯れ葉数について、また収量調査は1988年5月24日に全重、全球重、分球数、1球重について行った。

ウイルス再感染の影響：試験区の供試材料はウイルスフリー株、前年度2種ウイルスに重複感染したウイルス

第1表 培養条件

| | |
|----------|-------------------------------|
| 基本培地 | Murashige & Skoog 培地 |
| 植物ホルモン類 | 発芽用：NAA 0.05mg/ℓ, BA 0.5mg/ℓ |
| 添加量 | 発根用：NAA 0.5mg/ℓ, アデニン10.0mg/ℓ |
| その他添加物 | ショ糖 30g/ℓ, 寒天 8g/ℓ |
| pH, 培養温度 | 5.8~5.9, 25℃ |
| 照明 | 1,600~1,800 lux, 24 hr. 照明 |



第1図 ラッキョウに認められるひも状ウイルス粒子
抗GLV IgGを用いたプロテインA・金コロイド免疫電顕法で検定。
スケールは500nmを示す。

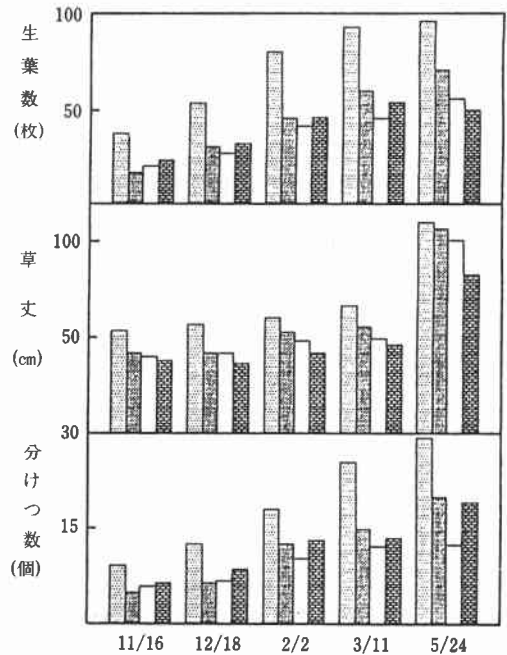
再感染株及び2種ウイルスに重複感染している在来株を用い、露地で栽培した。栽植密度、施肥量、植え付け日、中耕・土寄せは前の試験と同様に行った。生育期の調査は1988年4月25日に、収量調査は5月31日に前の試験と同じ項目について行った。

なお、収量調査後のウイルス検定はDN法を用いた電子顕微鏡観察により行った。

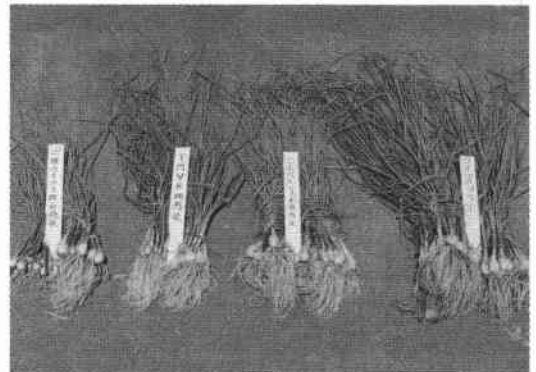
結 果

ウイルス調査：DN法を用いた電顕観察によりウイルスを調査した結果、佐古ら²⁾が報告したTMV及びひも状ウイルス粒子（長さ約650nm）に重複感染しているのが認められた。このひも状ウイルス粒子はプロテインA・金コロイド免疫電顕法により抗GLV IgGとの反応を調査した結果、明らかな抗体の結合が観察された（第1図）。

2種ウイルスの影響：ウイルスフリー区を対照として、TMV、ひも状ウイルス、2種重複の各感染区の生育期における調査を行った。その結果、各ウイルス感染区ではモザイク症状などの明かな病徴は認められなかった。ウイルスフリー区の一部に黄化症発症株が観察されたが、ウイルス検定の結果ウイルスの感染は認められなかった。草丈は全生育期間を通してウイルスフリー区、ひも状ウイルス感染区、TMV感染区の順で生育が良く、2種ウイルス重複感染区が最も生育不良となった（第2図、第3図）。生葉数、分けつ数及び葉幅でもウイルスフリー区が最も生育がよく、生育後期では草丈と同様の傾向を示した。また、葉先枯れ葉数も明らかに各区间で差があり、2種ウイルス感染区が特に多い傾向を示した（第2表）。枯死葉数は、各区间で明確な差は認められなかつ



第2図 ウィルスフリー及びウイルス罹病ラッキョウ生育の経時的変化
 ウィルスフリー区 ひも状ウイルス単独感染区
 TMV単独感染区 2種ウイルス重複感染区



第3図 2種ウイルスのラッキョウに及ぼす影響
 右からウイルスフリー株、ひも状ウイルス単独感染株、TMV単独感染株、2種ウイルス重複感染株

たが（第3表）、各区间の生葉数に差があるため外観上の観察では、枯死葉数はウイルスフリー区が少なく、2種ウイルス感染区が多く認められた。収穫期における調査では、全重及び全球重において生育期と同様の傾向を示し、2種ウイルス感染区が最も大きく減収する結果となった（第4表）。

第2表 葉先枯れ葉数の経時的変化

| | 調 査 日 | | | | |
|--------------------|--------|--------|------|-------|-------|
| | 11月16日 | 12月18日 | 2月2日 | 3月11日 | 5月24日 |
| ウイルスフリー区 | — | 5.1枚 | 5.0 | 6.0 | — |
| ひも状ウイルス 単独感染区 | — | 4.6 | 3.3 | 4.9 | — |
| TMV単独感染区 | — | 4.3 | 7.0 | 7.7 | — |
| 2種ウイルス 重複感染区 | — | 5.6 | 7.2 | 9.7 | — |
| LSD値 ¹⁾ | — | 2.1 | 2.3 | 2.4 | — |

1) 5%水準

第3表 枯死葉数の経時的変化

| | 調 査 日 | | | | |
|--------------------|--------|--------|------|-------|-------|
| | 11月16日 | 12月18日 | 2月2日 | 3月11日 | 5月24日 |
| ウイルスフリー区 | 1.0枚 | 5.1 | 8.8 | 14.1 | — |
| ひも状ウイルス 単独感染区 | 1.0 | 3.8 | 6.8 | 6.9 | — |
| TMV単独感染区 | 1.8 | 5.1 | 4.9 | 9.6 | — |
| 2種ウイルス 重複感染区 | 3.0 | 6.9 | 8.4 | 12.5 | — |
| LSD値 ¹⁾ | 0.8 | 1.3 | 2.4 | 3.7 | — |

1) 5%水準

第4表 収量に及ぼす2種ウイルスの影響

| | 全 重 | 全 球 重 | 分 球 数 | 一 球 重 |
|--------------------|--------|-------|-------|-------|
| ウイルスフリー区 | 424.3g | 198.2 | 29.8 | 6.9 |
| ひも状ウイルス 単独感染区 | 333.8 | 157.4 | 19.5 | 8.2 |
| TMV単独感染区 | 271.7 | 127.2 | 12.2 | 10.5 |
| 2種ウイルス 重複感染区 | 192.1 | 110.1 | 18.9 | 5.6 |
| LSD値 ¹⁾ | 79.4 | 42.5 | 4.7 | 2.0 |

1) 5%水準

第5表 ウイルス再感染の生育期での影響 (株平均)

| | 生葉数 | 草 丈 | 葉 幅 | 分けつ数 | 葉先枯れ 葉 数 | 葉 先 枯れ率 ¹⁾ |
|--------------------|-------|--------|-------|-------|-------------|--------------------------|
| ウイルスフリー株 | 89.9枚 | 80.2cm | 7.2mm | 28.1個 | 14.8枚 | 16.5% |
| 再 感 染 株 | 69.9 | 74.8 | 7.6 | 21.3 | 20.7 | 30.0 |
| 在 来 株 | 61.3 | 65.7 | 6.3 | 20.4 | 28.1 | 46.7 |
| LSD値 ²⁾ | 18.6 | 5.3 | 0.7 | 5.1 | 5.4 | 5.3 |

1) 葉先枯れ率(%)=葉先枯れ葉数/生葉数×100

2) 5%水準

第6表 ウイルス再感染の収量に及ぼす影響(株平均)

| | 全球重 | 分球数 | 一球重 |
|--------------------|--------|-------|------|
| ウイルスフリー株 | 174.6g | 25.8個 | 6.7g |
| 再感染株 | 127.4 | 17.9 | 7.1 |
| 在来株 | 88.5 | 20.3 | 4.3 |
| LSD値 ¹⁾ | 34.7 | 3.7 | 1.0 |

1) 5%水準

ウイルス再感染の影響：ウイルスフリー株に対する2種ウイルスの重複再感染の影響を調査した(第5表, 第6表)。2種ウイルス再感染区は生葉数, 草丈, 分けつ数においてウイルスフリー区より明らかに劣るもののが在来区よりやや優っており, 同様の傾向は全球重でも認められた。それに反して葉先枯れ葉数, 葉先枯れ率では在来区が最も多く次いで再感染区の順となる逆の傾向が認められた。なお, 収穫期におけるウイルス調査では, 調査したウイルスフリー株全株が2種ウイルスに再感染しているのが認められた。

考 察

抗 GLV IgG を用いた免疫電顕法の結果, TMV 粒子と共に観察されたひも状粒子は, GLV の 1 系統と思われる。調査した全株に重複感染が認められることから都城地区のラッキョウの大部分が重複感染していることが考えられた。ラッキョウが感染するウイルスとして GLV は他地域からも報告¹⁾されているが, TMV については本県のみでの発生と思われ, 伝染経路の問題を含めて今後

の検討が必要と思われる。

ウイルスのラッキョウに対する影響としては, 単独感染及び重複感染でもモザイク症状などの明らかな病徴は認められなかったものの, 草丈, 生葉数などの生育量の低下及び収穫期での収量低下として現れ, その影響は GLV より TMV が大きく, 重複感染においてより激しくなった。これらのことは現地圃場における収量低下の一因としてウイルスの影響が大きいと考えられ, ウイルスフリー株の普及による収量面での改善効果は大きいと思われる。現地圃場でみられる各種症状のうち黄化症については隔離栽培のウイルスフリー株でも認められ, 調査の結果ウイルス再感染はないこと, また鉢植えの株には黄化症は認められないことからウイルス以外の土壌伝染性病害による可能性が考えられた。

ウイルスフリー株のウイルス再感染による被害は, 感染当年ではほとんど認められず, 感染2年目においてもまだ在来株より優っていた。以上からウイルスフリー効果はサトイモやサツマイモ³⁾と同様2年間は維持でき, このことはウイルスフリー株の普及に有利な点となるであろう。

引 用 文 献

- 1) 佐古 勇・尾崎武司・井上忠男 (1987) 日植病報 53: 108.
- 2) 佐古宣道・安藤干治 (1985) 日植病報 51: 353-354 (講要).
- 3) 長田龍太郎 (1987) 日本植物病理学会九州部会第12回シンポジウム: 1-14.

(1989年5月18日 受領)