

石垣島のハウス栽培キュウリにおけるトマト黄化えそウイルス (TSWV) の発生生態

眞岡 哲夫・宇杉 富雄 (熱帯農業研究センター沖縄支所)

Epidemiology of tomato spotted wilt virus of cucumber in vinyl house culture in Ishigaki Island. Tetsuo MAOKA and Tomio USUGI (Okinawa Branch of Tropical Agriculture Research Center, Ishigaki, Okinawa 907)

An isolate of tomato spotted wilt virus which was obtained from *Cucumis sativus* in vinyl house culture in Ishigaki Island, Okinawa seemed to be the same as TSWV-W. The percentage of infection of TSWV estimated by ELISA in the field was 64%. Cucumbers infected with TSWV showed star- or mesh-like chlorosis, chlorosis at the leaf edge and chlorotic spots. Masking of symptoms was observed after flowering stage of the host plant.

沖縄県のキュウリ栽培は、1988年の作付面積が114ha、出荷量はカボチャ、サヤインゲンにつぐ3,025tで、野菜栽培に重要な位置を占めている。沖縄のキュウリに発生するウイルス病はこれまでトマト黄化えそウイルス (TSWV)、カボチャモザイクウイルス (PRV-W, WMV-2)、ズッキーニ黄斑モザイクウイルス (ZYMV) およびキュウリモザイクウイルス (CMV) が報告されている¹⁾。このうち TSWV は沖縄のウリ科野菜の重要ウイルスであり、1982年にスイカに灰白色斑紋病を起こして、大きな被害をもたらしている²⁾。しかしキュウリでは感染後病徴を現さなくなることが多いため³⁾、詳しい発生状況は調査されていない。そこで著者らは TSWV のキュウリでの発生生態を明らかにするため、石垣島におけるハウス栽培キュウリの ELISA 検定を行い、病徴および発病株率の推移を調査したのでその結果を報告する。

本研究を行うにあたり、抗 TSWV-W 血清より精製した γ -グロブリンおよび conjugate を分譲して頂いた農業研究センターウイルス病診断研究室の亀谷満朗博士、有益なご助言を頂いた沖縄県農業試験場病理研究室の河野伸二博士並びに圃場調査にご協力頂いた沖縄県農業試験場八重山支場園芸研究室の鈴木寛氏に深謝申し上げる。

試 験 方 法

1. 病原および病徴

1988年の7月から10月にかけて、沖縄県石垣市の栽培キュウリからウイルス病と思われる5株を採集し、温室

内のキュウリに汁液接種または接木接種した。このうち、通常の Dip 法による電顕観察でひも状粒子が確認された2株を除き、残る3株を検定植物に汁液接種するとともに、電顕観察を行った。汁液接種はカーボランダム法により、接種源には原株、原株を接種したキュウリの病葉、*Chenopodium quinoa* および *Nicotiana glutinosa* の病葉を用いた。緩衝液は0.1%亜硫酸ナトリウムおよび0.1%システインを添加した0.05M 磷酸緩衝液 (pH7.0) を用いた。電顕観察は *Tetragonia expansa* (ツルナ) 病葉を1.25%グルタルアルデヒドで固定し、2% PTA で染色して行った。

2. ELISA 検定

1990年12月6日に石垣市於茂登 (おもと) の大型ハウスで栽培されていた収穫初期のキュウリ (品種 'りつりん4号', 久留米原種育成会) 50株について ELISA 検定を行い、病徴との比較を行った。ELISA 検定は沖縄のスイカから分離された抗 TSWV-W 血清より精製した γ -グロブリンおよび conjugate を用いて³⁾、CLARK and ADAMS¹⁾ の方法に従って行い、 γ -グロブリン濃度は2.5 μ g/ml, conjugate は600倍とし、試料は20倍の PBS-T で磨砕した。吸光度の測定は基質添加1時間後に波長405nm のオートリーダー (Model 450, BIO RAD 社) で行った。

3. 病徴および発病株率調査

病徴および発病株率調査は石垣市明石 (あかいし) および於茂登において1988年9月21日から10月27日までほぼ1週間毎に行った。調査圃場はいずれも、鉄骨大型ハ

ウス (10m×50m) を利用し、7月中旬は種、8月中旬定植、9～10月に収穫する普通栽培を行っていた。キュウリの品種は両調査地とも普通栽培の主要品種である‘りつりん4号’で、生育程度は調査開始時に本葉5葉期、調査終了時は収穫後期であった。調査株数は明石が684株 (畝幅150cm, 株間35cm, 1条植)、於茂登では678株 (畝幅200cm, 株間70cm, 2条植) で、調査期間中於茂登ではほとんど株数に変動はなかったが、明石では10月に入って株数が減少し、調査終了時には533株になった。調査は全株に対しすべての病徴を記録する方式で行い、そのうち退緑斑点、葉脈間の細かい星状あるいは網目状退緑斑 (星状網目状退緑斑と略す) および葉縁からの退緑斑 (葉縁退緑斑と略す) を生じた株を発病株と判定し、発病株率を求めた。

結 果

1. 病原および病徴

供試した接種源は極めて不安定で、接種源のウイルス濃度、磨砕時の温度、磨砕から接種までの時間などが不適当な場合には容易に病原性を失い、その取扱いには注意を要した。汁液接種を行った3株のうちの1株 (No. 12) の結果を第1表に示した。*C. quinoa* および *C. amaranticolor* は接種葉に退緑～え死斑点を生じ、*N. glutinosa* は接種葉に輪点、上葉にモザイクを生じた (第1図)。ツルナでは接種葉に退緑斑点または輪点、上葉に輪紋およびモザイクを生じ、*N. clelandii* および *Petunia hybrida* には全身感染した。キュウリの感染率は低かったが、上葉に葉縁退緑斑を生じた。接木接種では、退緑斑点、輪紋および星状網目状退緑斑が現れた。ツルナ病葉を電顕観察したところ、被膜を有する直径70～100nmのウイルス様粒子が観察された (第2図)。

2. ELISA 検定

採集葉の病徴と ELISA 検定の結果を第2表に示した。

Table 1. Symptoms of several plants infected with tomato spotted wilt virus

Family	Species	Symptoms ^{*)}	
		Inoculated leaves	Upper leaves
Aizoaceae	<i>Tetragonia expansa</i>	CS, RS	RS, M
Chenopodiaceae	<i>Chenopodium quinoa</i>	CS, NS	—
	<i>C. amaranticolor</i>	CS, NS	—
Cucubitaceae	<i>Cucumis sativus</i>	—	CE
Solanaceae	<i>Nicotiana glutinosa</i>	RS	M, N
	<i>N. clelandii</i>	—	M
	<i>Petunia hybrida</i>	CS	N

*) CE : chlorosis at the leaf edge, CS : chlorotic spot, M : mosaic, N : necrosis, NS : necrotic spot, RS : ring spot, — : no symptoms

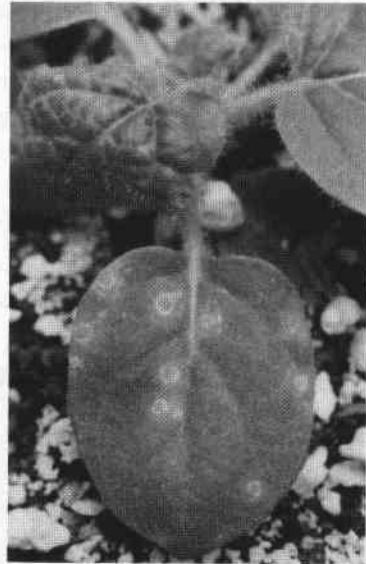


Fig. 1. Ring spots and systemic mosaic caused by TSWV on *Nicotiana glutinosa*.

Table 2. Detection of TSWV in the leaves of cucumber collected from a vinyl house in Ishigaki Island by ELISA.

Symptoms ^{*)}	SMC	CE	CS	O	Other	Total
Number of plants	1	2	14	29	4	50
Number of infected plants ^{**)}	1	2	13	14	2	32
Percentage of infected plants	100	100	93	48	50	64

*) SMC : star- or mesh-like chlorosis, CE : chlorosis at the leaf edge, CS : chlorotic spot, O : no symptoms, Other : other symptoms.
**) ELISA-positive.

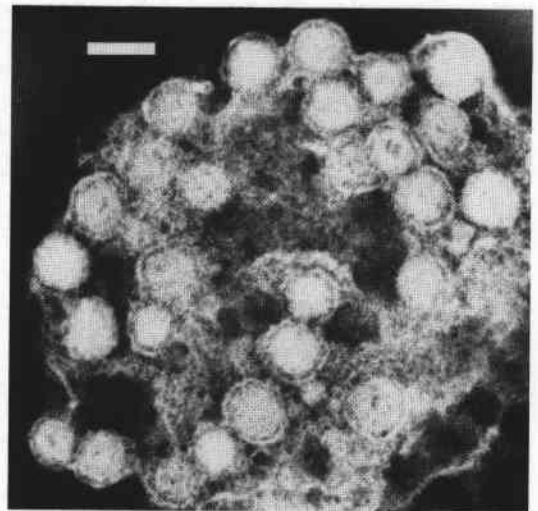


Fig. 2. Virus particles in sap preparation of infected *Tetragonia expansa* fixed with glutaraldehyde and stained with phosphotungstate. Bar marker represents 100 nm.

50株中32株から TSWV が検出され、感染率は64%であった。これを病徴別にみると、TSWV の病徴と思われる星状網目状退緑斑を生じた葉および葉縁退緑斑を示す葉からはすべて TSWV が検出されたが、退緑斑点葉の中には非感染株が1株含まれていた。無病徴株の48%は TSWV に感染していた。

3. 病徴および発病株率調査

調査地の大型ハウスはいずれも、2棟が連結した形式で間仕切りがなく隣接圃場には TSWV の媒介虫である

ミナミキイロアザミウマが多数存在していた。発病株の分布は、両調査地ともほぼ同様な傾向を示した。第3図は於茂登における発病株の分布で、図の下方が入口、右方が隣接のニガウリ圃場であった。

9月21日および9月29日の調査ではほぼ均一に発病株の分布がみられ、10月7日および10月14日にはやや右方入口側に分布が片寄り、10月27日に病株は1株だけになった。

発病株の病徴は、明石でははじめ星状網目状退緑斑が多く、その後葉縁退緑斑がやや増加し、やがて退緑斑点が急増した。於茂登では TSWV の3つの病徴がほぼ同程度にみられたが、生育後期には星状網目状退緑斑が減少した(第4図)。

第3図の左から2列目および右から2列目は、9月21日から10月14日までの4回の調査で株数が変動せず、個々の株の病徴の変化が観察された。その推移を示したのが第5図である。発病株の多くは病徴発現後数週間で病徴を隠べいし、隠べいは10月7日から10月14日にかけて特に多く起きた。

発病株率の推移をみると、両調査地ともキュウリの生育に伴って増加し、その後減少する傾向を示した(第6図)。発病株率の最高値は、明石では16.4%(10月13日)、於茂登では6.8%(10月7日)で、発病株率が増加から減少に転ずる時期は明石では収穫期以降、於茂登では本葉17葉期以降であった。

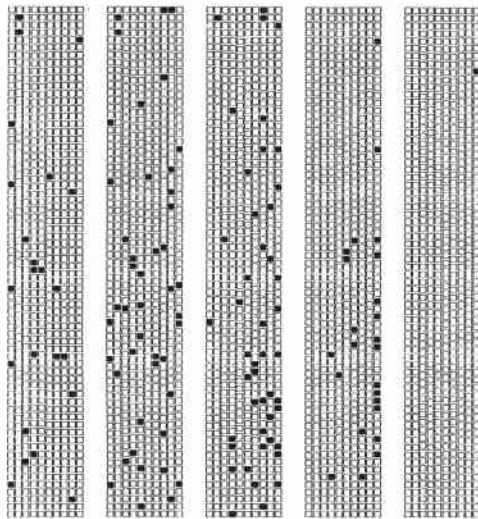


Fig. 3. Distributions of cucumber plants showing TSWV symptoms in vinyl houses.
 ■ : Plant showing TSWV symptoms,
 □ : Plant not showing TSWV symptoms.

考 察

本研究においてキュウリから分離されたウイルスは寄主範囲等の諸性質が TSWV の報告と一致することか

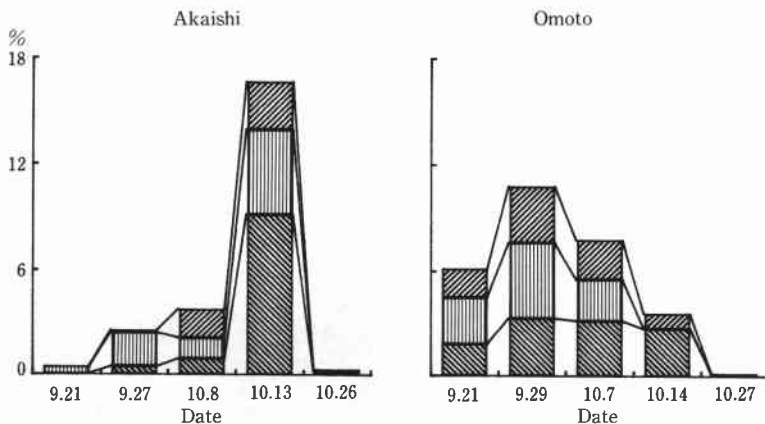


Fig. 4. Transition of symptoms in TSWV-infected cucumber in two fields.
 ▨ : Chlorotic spot, ▩ : Star- or mesh-like chlorosis,
 ▮ : Chlorosis at the leaf edge.

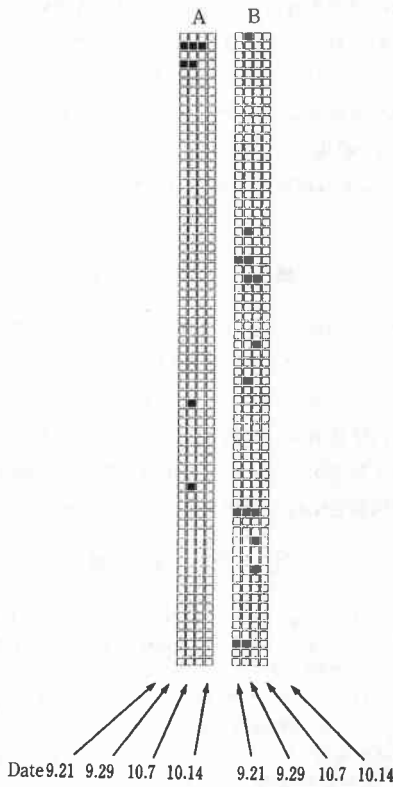


Fig. 5. Changes in proportion of the plants showing symptoms of TSWV in Omoto.

A : The second lane from the left of fig. 3

B : The second lane from the right of fig. 3

ら^{7,8)}, TSWV と同定された。また、本ウイルスは接種試験によりキュウリに退緑斑点、葉脈間の細かい星状あるいは網目状退緑斑および葉縁からの退緑斑を生じることが確認された。

わが国における TSWV 分離株は、沖縄のタバコより分離された TSWV-O、奈良県のトマトから分離された TSWV-N および沖縄のスイカに発生した TSWV-W などがあり、核酸や蛋白質の分子量、血清学的類縁関係、ウリ科植物に対する感染性などから、TSWV-O と TSWV-W はほぼ同一のグループ、TSWV-N はやや異なるグループに入るものと考えられている²⁾。本ウイルスのキュウリに対する感染性は TSWV-O とは明らかに異なり TSWV-W と一致したことから、核酸や蛋白質の分子量、血清学的類縁関係は明かでないが、本ウイルスは TSWV-W と同一のグループに属するものと推測された。

本ウイルスの病徴を示すキュウリ葉を ELISA 検定した結果、星状網目状退緑斑葉および葉縁退緑斑葉からはすべて TSWV が検出された。しかし、退緑斑点葉の中には ELISA に反応しないものが含まれており、これらは ZYMV 等他ウイルスによる病徴と考えられた。しかしながらその数はごく少数であることから、退緑斑点葉を TSWV 発病株とみて差し支えないと判断した。したがって TSWV の発病調査は、退緑斑点、星状網目状退緑斑および葉縁退緑斑の 3 病徴を指標にして行うことにした。

ELISA 検定では多数の無病徴感染株が検出され、これらを含む TSWV 感染率は 64% であった。これに対し、上記 3 病徴から発病株率を求めると 34% になり、両者に

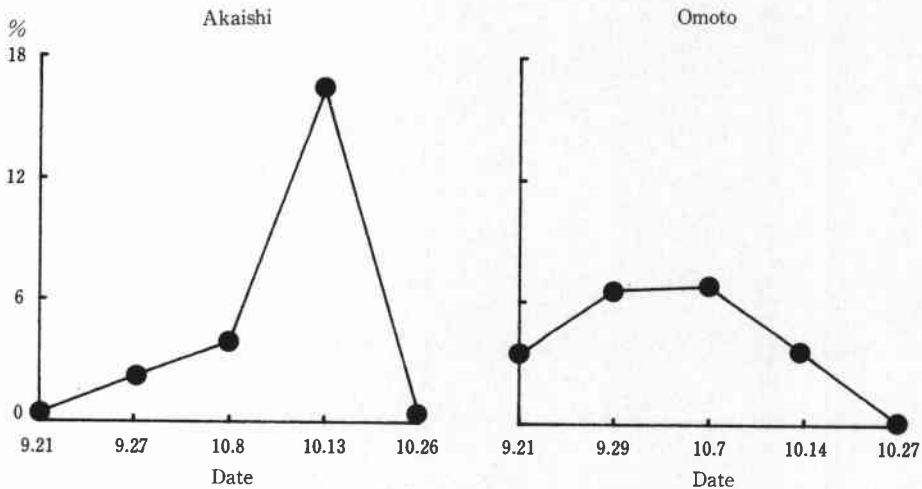


Fig. 6. Changes in percentages of cucumber plants showing symptoms in two fields.

大きな開きがあることがわかった。従来キュウリにおける TSWV の感染は被害が目立たないことからそれほど重要視されていなかったが、潜在感染を含む多くの感染株が圃場に存在することは、ウリ科野菜が周年栽培される沖縄では伝染源として軽視できない。そのため、収穫後は残さを速やかに除去する等の処置が今後必要と思われる。

於茂登および明石の両調査地における発病株の分布はおおむね分散的であった。これは、同一ハウス内の隣接圃場に伝染源が存在し、生育の初期から多数の媒介虫がハウス内に均一に分布していたためと思われる。

於茂登において発病株率が増加から減少に転じた時期(10月7日から10月14日)は個々の株において病徴の隠べいが多く観察されたことから、発病株率の減少は病徴の隠べいによって起こることが判明した。ELISA 検定で検出された無病徴感染株もこのような病徴の隠べいによって生じた可能性が高い。外間・渡嘉敷⁶⁾はキュウリの展開葉と病徴の関係を調べ、汁液接種による TSWV 発病株を圃場に定植すると、植付時の展開葉は病徴が激しいが、生育が進むに従い上位葉には病徴が発現しなくなることを報告している。本調査の結果はこの報告とよく一致し、自然感染でも汁液接種と同様の現象が起きることが明らかになった。病徴の隠べいはキュウリの生育後期に起きるようであるが、これらの詳しい機構は不明である。

TSWV の病徴は調査地で若干の違いがあったものの、感染後特定の病徴が順番に現れていくといった傾向は見られず、調査地には全ての病徴が存在することが多かつ

た。これは個々の株における病徴の推移でも同様で、病徴の出現に規則性はないようであった。

果実の被害調査は行わなかったが、感染株の果実に奇形などの外見上の被害は特にないようであった。しかし、外間・MONDAL⁵⁾は'りつりん4号'が TSWV に感染すると側枝数が著しく減少して総収量は36%低下するとしており、圃場での感染率が高いことを考えると、TSWV による総収量の減少は予想以上に大きいと思われる。

摘 要

石垣島のハウス栽培キュウリに発生する TSWV は W 系と同じグループに属し、ELISA 検定による感染率は64%と高率であった。キュウリでは、退緑斑点、葉脈間の細かい星状あるいは網目状退緑斑および葉縁からの退緑斑を生じるが、キュウリの生育後期には病徴が隠べいして無病徴感染株が増加することが明らかになった。

引 用 文 献

- 1) CLARK, M. F. and ADAMS, A. N. (1977) *J. gen. Virol.* **34** : 476-483.
- 2) 花田 薫・岩木満朗 (1984) *日植病報* **50** : 132.
- 3) 花田 薫・岩木満朗・栃原比呂志 (1985) *日植病報* **51** : 99.
- 4) 外間数男 (1987) *植物防疫* **41** : 574-577.
- 5) 外間数男・MONDAL, S. N. (1989) 沖縄県農業試験場研究報告 **13** : 87-94.
- 6) 外間数男・渡嘉敷唯助 (1987) *九病虫研究会報* **33** : 39-41.
- 7) Ie, T. S. (1970) *CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses*, No.39.
- 8) IWAKI, M., HONDA, Y., HANADA, K., TOCHIHARA, H., YONAHARA, T., HOKAMA, K. and YOKOYAMA, T. (1984) *Plant Disease* **68** : 1006-1008.

(1991年5月13日 受領)