

伊豆大島のブーバルジア (*Bouvardia × hybrida* hort.) に発生するモザイク病の 病原ウイルス並びに弱毒ウイルスによる防除の試み

栄 森 弘 己

緒 言

伊豆大島は東京から南に約112km離れた洋上に位置し、海洋性の温暖な気象条件を生かした花卉園芸の盛んなところであり、主に切花類を栽培し、関東をはじめ関西、東北方面へも出荷している。伊豆大島で生産、出荷されている切花類の品目数は百種類を越えるが、そのなかでブーバルジアは生産出荷量第1位の品目であり、大島では特に重要な基幹作物となっている。

ブーバルジア (*Bouvardia × hybrida* hort.) はアカネ科ブーバルジア属に属し、メキシコから中南米原産の半耐寒性低木類の仲間である。用途は主に切花としてブーケ、花束、盛り花などに幅広く利用されている。伊豆大島でブーバルジアの栽培が始まったのは1933年頃であり、1970年頃に花卉生産の柱となった。生産量は1980年代初めに頂点に達し、以後長年の連作による病害虫や生理障害の発生、相場の低迷などとともにウイルス病による汚染が深刻化し、生産は横ばいから下降に向いつつある状況となっているが、依然大島を代表する基幹品目の地位を維持している（伊豆大島農業の変遷；1993）。現在大島では施設、露地で周年出荷されており、1992年度における栽培面積は約1256a、栽培農家戸数が70戸、年間出荷数量が約684万9千本、生産額が推定で2億9450万円となっており、大島での年間農業粗生産額の約20%を占めている（花卉生産出荷実績調査；1993年東京都総務局大島支庁調べ）。

伊豆大島をはじめ我が国では、ロンギフローラ種を中心とした大輪とターニフォリア種、ロンギフローラ種、レイアンサ種などから育成されたと考えられているハイブリッド系品種群の2系統が主に栽培されている。ブーバルジアは挿し穂で増殖する栄養繁殖性の作物であり、一度本圃に定植すると年2~3回は切花の収穫ができ、また株は定植後2~3年程度据置き栽培される。ブーバルジアの栽培体系の概略は次のとおりである。苗は通常春頃親株から芽を採穂し、これを挿し床に挿す。そして2~3週間後には発根しているので、これを本圃に定植する。ブーバルジアは短日日長で花芽分化するので、伸長してきた芽は、短日期には夜間電照などで茎葉を十分に伸ばし、長日期に出荷する場合は夕方からのシェード処理を行うなどの開花調節を適宜行いながら、出荷時期

に合わせた花芽の誘導を行い、生産、出荷している。収穫後の切り戻した株からは、また新芽がふいてくるので、これを適当な芽数（普通は1株2~3本に揃える）に整枝し、前述の栽培管理を繰り返し、切花の生産を行う。本圃を更新する際は、据置株から芽を取り、これを育苗して次作に使用するというのが一般的である。

ところが1980年頃より葉にモザイクなどウイルス症状の発生が認められるようになり、1985年頃にはその発生が島内各地で顕著になった。ブーバルジアは栄養繁殖性であることから、挿し穂をとる親株自体がかなりの割合でウイルスに汚染されている可能性が指摘され、ウイルス汚染苗は生育不良から収量や品質の低下を招き、生産阻害要因の一つとして、現地からウイルス病対策が強く求められた。これを受け東京都農業試験場では、1988年よりブーバルジアのウイルスフリー苗を現地に普及するため、都庁、農業改良普及センター、大島支庁などと一緒に大島特産花卉原々種苗増殖配布事業に取り組み、ブーバルジアウイルスフリー苗の増殖配布事業がスタートした。事業開始早々の1989年度、原種苗の遺伝的形質に起因すると推定された奇形花が、フリー苗の配布を受けた現地農家の一部で多発するというトラブルが発生したもの、その後の原種苗の選抜を徹底することにより、1993年度現在ほぼ安定的に現地にフリー苗を供給している。本事業体系は第1図のとおりであり、本配布事業はウイルス病対策を含めた安定生産の一環としてその役割を担っている。筆者は本配布事業と併行し、病害防除面からこの課題に取り組んできた。

本報告は、伊豆大島のブーバルジアに発生するウイルス病の発生状況、病原ウイルスの種類、弱毒ウイルスによる防除などについて得られた知見をまとめたものである。なお本研究の一部は1989年6~8月に農水省農業研究センターの依頼研究員として行った。本研究を進めるにあたり、山口大学農学部教授亀谷満朗博士（元農水省農業研究センター）、農水省九州農業試験場花田 薫博士（元農業研究センター）には、病原ウイルスの同定とキュウリモザイクウイルス（以下CMV）弱毒株によるモザイク病防除等の試験を実施するにあたり、終始懇切なる御指導と御援助をいただいた。さらにCMV弱毒株、CMV強毒株の純化ウイルスを分譲していただいた。ここに記して深謝の意を表する。

現地調査や罹病株の採集にあたっては、東京都中央農業改良普及センター大島支所前田 稔氏、田中邦雄氏（現北多摩農業改良普及センター）、農業試験場大島園芸技術センター小菅悦男氏（現江戸川分場）、高尾保之氏（現江戸川分場）、大島支庁産業課高橋祥友氏（当時）、伊豆大島農協菊地・武氏に御協力いただいた。農業試験場園芸部小林直恵氏（現八丈島園芸技術センター）にはブーバルジアのウイルスフリー苗を提供していただき、同環境部病理昆虫研究単位の各位には実験を進めるにあたり種々援助していただいた。同大島園芸技術センター増山盛正氏には圃場試験等で終始協力していただいた。また農水省農業研究センター藤澤一郎博士にはウイルスの純化、電顕観察の際に便宜を図っていただいた。農業試験場場長飯嶋 勉博士には本論文の校閲を賜った。これらの方々に厚く御礼申し上げる。

I. ウィルス病の発生状況および病徴

本病の伊豆大島における発生状況を調査し、また症状を記載した。

1. 伊豆大島における発生状況

1989年1月以降適宜栽培圃場の巡回調査を行い、ウイルス病様症状の発生状況を調査した。その結果、調査農家30戸中19戸（約63%）で発生が認められ、また施設、露地を問わず発生していた。さらに地区別の発生分布には差はほとんどなく、程度の差は認められるもののほぼ島内全域で発生が確認された（第1表）。畑での発生分布については、全体の傾向として施設、露地ともに施設入口付近、もしくは圃場の隅の方である場合が多く見受けられた。

またブーバルジアの栽培地周辺作物などについてウイルス病の発生調査を行った結果、ユリ、フリージア、アマクリナム、オーニソガラムなどの球根切花でウイルス病が発生しているが、他の作物では認められていない。なおブーバルジアのウイルス病病原がCMVと判明したのち、電顕観察でこれら作物にはひも状のウイルス粒子が感染していることが判明したが、ブーバルジアのウイルス病との関連はほとんどないものと考えられた。

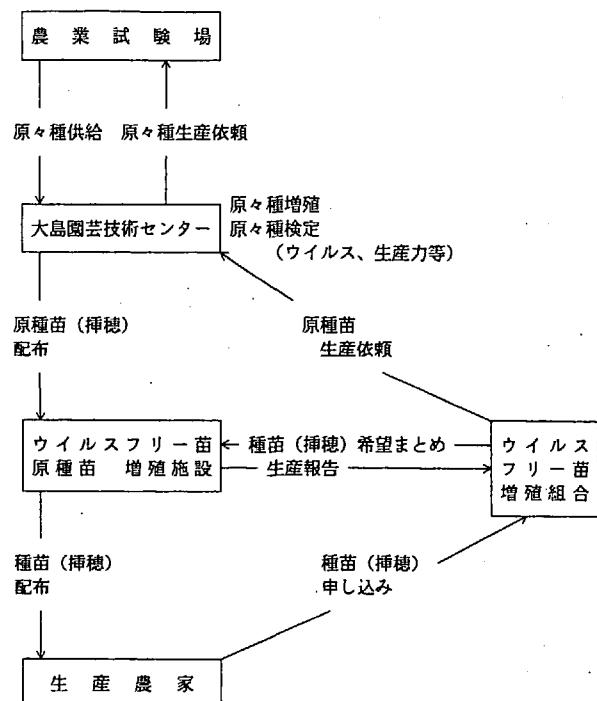
ブーバルジア栽培地周辺で栽培されていた作物でウイルス病の発生が認められなかった主な作物は、ハラン、ストレリチア、チドリソウ、スイートピー、トルコギキョウ、ガーベラ、リアトリス、センリョウ、クチナシ、キヌサヤエンドウ、アシタバなどであった。

2. 病徴

罹病株は葉にモザイク、退緑斑紋、輪紋、縮葉などの症状が現れ、病徴の激しい株では生育が著しく抑制され、

わい化症状を示す（図版I-1～5）。花には、ピンク系や赤系の品種では時折花弁の退色が認められる。病徴の軽い個体の花は収穫・出荷が可能と思われるが、病徴が目立つものは外観上見た目が悪くなり、商品性を損なう。

また時期により病徴はマスキングされる傾向があり、



第1図 ブーバルジアウイルスフリー苗
増殖配布事業体系図

第1表 伊豆大島におけるブーバルジアの
ウイルス病の発生状況

地区	調査農家数	発生数	発生程度
岡田	5	2	軽～微
北の山	7	6	軽～微
元町	8	5	軽～微
間伏	4	2	軽
差木地	2	1	微
下地	3	3	軽～微
波浮	1	0	無
合計	30	19	

注) : 調査は1989年1月～1994年6月までを集計したもの。発生程度は多～無の5段階で調査。

- ・多 — 1圃場（施設）内 30%以上罹病
- ・中 — “ 10～30%未満罹病
- ・軽 — “ 2～10%未満罹病
- ・微 — “ 2%未満罹病
- ・無 — “ 発生なし

特に夏の高温期にその傾向が強い。株から萌芽する段階からモザイク症状などの病徴を示すものもあれば、生育途中から病徴を発現する場合も認められる。また罹病株において萌芽したすべての芽が発病しているとは限らず、同一株からの芽で肉眼的には発病しているものとしているものが混在している場合も見受けられる。

ブーバルジアでは、ウイルス病に類似した症状として各種の要素欠乏などによる葉の退色や脈間の線条斑があるので、診断を見誤らないよう注意が必要である。

なお白系の品種などに発生する上葉の退色や黄斑、奇形花となる一連の症状(図版I-6、7)は、現地ではウイルス病による症状と誤認されていたが、本症状は品種または系統の遺伝的形質や温度などの環境要因が深く係わっており、ウイルス病とは何の関係もないことが明らかとなっている(II. 10の項参照)。

II. 病原ウイルスの同定

1989年1月と5月に島内栽培圃場延べ4地区9圃場を調査し、病原同定用に計31株を採集した(第2表)。これらの採集株を中心に本病の病原ウイルスの検出、同定など以下の試験を実施した。

1. 汁液接種によるウイルスの検出

方 法

汁液接種は、採集株のウイルス病症状を認めた葉などを用いて、5~10倍量の0.1Mリン酸緩衝液(pH 7.2)を加えて磨碎し、カーボランダムと綿球を用いた常法により行った。実験植物の育成及び接種試験は20~25°Cの温度制御温室内で行った。接種結果の判定は接種後20~30日頃まで病徴の有無を観察した。またすべての接種植物に病徴の現れないものについては、後日 *Chenopodium amaranticolor* 及び *Nicotiana glutinosa* の2種類の検

第2表 ブーバルジア採集株の採集地、症状等

採集株	採集圃場	品種・その他	作型	採集時の症状等
1	間伏1A	赤茎種	施設	退緑斑紋
2	"	不明	"	モザイク
3	"	赤茎種	"	モザイク
4	"	"	"	退緑斑紋
5	"	"	"	モザイク
6	"	不明	"	モザイク
7	"	赤茎種	"	モザイク
8	"	"	"	退緑斑紋、下葉葉脈透化
9	元町1	白茎種	施設	モザイク
10	岡田	セミダブル	施設	脈間線状斑、葉緑斑点
11	"	"	"	脈間線状斑、葉脈透化
12	北の山1	チエリーピンク	施設	黄色アザミ葉状
13	"	ハイブリッドホワイト	"	葉脈透化、線状斑
14	"	"	"	上葉黄斑
15	"	"	"	上葉黄斑
16	"	"	"	葉脈透化、退緑輪紋
17	北の山2	チエリーピンク	露地	モザイク
18	"	"	"	モザイク、退緑輪紋
19	北の山3	パールピンク	施設	退緑輪紋、縮葉
20	"	"	"	退緑輪紋、線状斑
21	"	"	"	退緑輪紋、線状斑、縮葉
22	北の山4	白茎種	露地	激モザイク、縮葉
23	"	赤茎種	"	激モザイク、線状斑
24	"	白茎種	"	激モザイク
25	"	赤茎種	"	外見上健全
26	"	白茎種	"	外見上健全
27	元町2	ハイブリッドホワイト	施設	黄化
28	"	"	"	激モザイク、縮葉
29	"	"	"	黄化斑点、黄化輪紋
30	間伏1B	不明	施設	軽い黄斑
31	間伏2	不明	施設	線状斑

注) No.1~9: 1989年1月採集、No.10~31: 1989年5月採集。

定植物を用いて上記と同様の方法にて、当日採取葉を接種源として追試験を行った。なお温室内はアブラムシなどの発生を防ぐため、適宜殺虫剤を散布した。

結果

4科8種の検定植物に汁液接種を行った結果、31採集株中28株の試料は接種による各検定植物の病徴がほぼ同一であり、検出されたウイルスは1種類と考えられた(第3表)。すなわち、本ウイルスは*C. amaranticolor*、ササゲ(黒種三尺)、ソラマメ(早生長さや)の接種葉に局部病斑を生じ、タバコ(Bright Yellow)、*N. glutinosa*、*P. edulis*、キュウリ(落合二号節成)に全身感染し、モザイク、退緑斑点、葉脈透化、糸葉などの病徴を示した(図版II-1~7)。インゲンマメ(本金時)には病徴は現れなかった。

なお1回目で反応の全く認められなかったNo.25、26は2回目の追試験においては2種接種植物とも上記と同様の反応を示し、*C. amaranticolor*の接種葉に局部病斑を生じ、*N. glutinosa*の上葉にモザイク症状が現れた。しかしNo.11、14、15の3検体については、2回の試験において上記8種の検定植物に反応が全く認められなかった。

なお1回目で反応の全く認められなかったNo.25、26は2回目の追試験においては2種接種植物とも上記と同様の反応を示し、*C. amaranticolor*の接種葉に局部病斑を生じ、*N. glutinosa*の上葉にモザイク症状が現れた。しかしNo.11、14、15の3検体については、2回の試験において上記8種の検定植物に反応が全く認められなかった。

第3表 ブーバルジア採集株の植物検定結果

検定植物	<i>C. amaranti-</i>	インゲン	ササゲ	ソラマメ	タバコ	<i>N. glutini-</i>	ペチュニア	キュウリ
	<i>color</i>	マメ		(BY)		<i>nosa</i>		
株番号	接種葉	接種葉	接種葉	接種葉	接種葉	接種葉	接種葉	接種葉
1	L	-	-	L	-	* *	-	CS
2	L	-	-	L	-	* *	-	-
3	L	-	-	-	-	* *	-	-
4	L	-	-	L	-	* *	-	-
5	L	-	-	L	-	* *	-	M
6	L	-	-	L	-	* *	-	-
7	L	-	-	L	-	* *	-	-
8	L	-	-	L	-	* *	-	-
9	L	-	*	L	-	* *	-	*
10	L	-	-	L	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-
12	L	-	-	L	-	-	M, VC, f1	M
13	L	-	-	L	-	-	VC, M	VC
14	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-
16	L	-	-	-	-	-	VC, M	M
17	L	-	-	L	-	-	VC, M	CS
18	L	-	-	L	-	-	VC, M	CS
19	L	-	-	L	-	-	VC, M, Y	M
20	L	-	-	L	-	-	VC	-
21	L	-	-	L	-	-	VC, M	CS
22	L	-	-	L	-	-	M, f1	M
23	L	-	-	L	-	-	VC, M, f1	L
24	L	-	-	L	-	-	M	M
25	L	-	-	-	-	-	-	-
26	L	-	-	-	-	-	-	-
27	L	-	-	-	-	-	VC, Y, M	-
28	L	-	-	L	-	-	M	M
29	-	-	-	-	-	-	CS	-
30	L	-	*	L	-	* *	-	*
31	L	-	*	L	-	* *	-	*

注) 表は1回目と追試験の結果を併せて掲載した。L:local lesion(局部病斑) ; M:mosaic(モザイク)
; VC:vein clear(葉脈透化) ; CS:chlorotic spot(退緑斑点) ; NR:necrotic spot(えぞ輪紋) ;
Y:chlorosis(クロロシス) ; fl:fern leaf(糸葉) ; -:no symptom(無病徴) ; *:未検定。

ので、これらの症状はウイルスに起因するものではないと考えられた（II. 10の項参照）。

なお本実験でブーバルジア採集株より分離されたウイルス28分離株を次項以降の各試験に順次用いた。各分離株はそれぞれ現地で採集したブーバルジアの株番号に対応しているものとし、本報ではそれぞれブバ1（No.1の分離株）、ブバ2（No.2の分離株）、ブバ31（No.31の分離株）などと呼称した。

2. 血清反応

前項の汁液接種試験において検出されたウイルスは、各検定植物の反応からCMVと推定されたので、CMV抗血清に対する反応を調べた。

方法

前項で分離された本ウイルス28分離株の各*N. glutinosa*感染葉を用い、それぞれを以下の方法で濃縮し、花田（1983-a）の方法に従い寒天ゲル内拡散法によりCMV抗血清との反応を調べた。濃縮の方法はウイルス感染葉に等量の0.5Mクエン酸緩衝液（pH6.5、0.1%チオグリコール酸、10mM EDTA含む）と等量のクロロホルムを加えて磨碎し、これを10,000rpmで10分間遠心した後、この上清を38,000rpmで90分間遠心する。そしてその沈殿を10mMリン酸緩衝液（pH7.2、2mM EDTA含む）にて再懸濁した。この濃縮ウイルス液を血清試験に供試した。抗血清はCMV黄斑系（CMV-Y）を用いた。

結果

本試験の結果、本ウイルス28分離株のすべてがCMV抗血清との間に白色沈降帯を生じ、CMV抗血清との反応が認められた。また分離株同士で白色沈降帯の融合部にスパーが生じるケースが認められたので、以下の試験で各分離株の血清型について検討した。

3. 分離されたCMVの血清型

（1）各分離株の血清型の判別

CMV抗血清と反応した本ウイルス28分離株について、それらの血清型を調査した。

方法

CMV-Y及びP（フキ分離株）の2種類の抗血清を用い、寒天ゲル内拡散法により血清試験を行った。抗原試料は前項2の濃縮ウイルスを供試した。

結果

ブーバルジアから分離されたCMV28分離株のうち、血清型のY型が19分離株、P型が6分離株、スパー不明瞭なため判定不能なものが1分離株（ブバ30）であった（第4表、図版III-1）。また2分離株（ブバ22、ブバ28）の沈降帯は、Y抗血清側ではYの沈降帯と融合し、Pとの間にスパーを生じ、あたかもY型であるかの反応を示し、逆にP抗血清側ではPと融合し、Yとの間にス

パーを生じ、あたかもP型であるかの反応を示した（図版III-2、3）。このような特異な反応を示したブバ22とブバ28の2分離株については、更に下記のとおり検討した。

（2）2種類の血清型反応を示した分離株からの各血清型株の分離とその血清型の判別方法

ブバ22とブバ28の2分離株について*C. quinoa*を用いた単一病斑分離により、第2図の手順に従い多数の分離株を得て、その各分離株の血清型を前記と同様の方法で寒天ゲル内拡散法により調べた。また対照として血清型がY型と判明しているブバ16についても同様に試験した。

第4表 ブーバルジアから分離されたウイルスのCMV抗血清との反応とその血清型

供試株	血清反応	血清型
ブバ1	+	Y
ブバ2	+	Y
ブバ3	+	Y
ブバ4	+	P
ブバ5	+	P
ブバ6	+	P
ブバ7	+	Y
ブバ8	+	Y
ブバ9	+	Y
ブバ10	+	P
ブバ12	+	Y
ブバ13	+	Y
ブバ16	+	Y
ブバ17	+	Y
ブバ18	+	Y
ブバ19	+	Y
ブバ20	+	Y
ブバ21	+	Y
ブバ22	+	Y + Pa)
ブバ23	+	Y
ブバ24	+	Y
ブバ25	+	Y
ブバ26	+	Y
ブバ27	+	Y
ブバ28	+	Y + Pa)
ブバ29	+	P
ブバ30	+	不明b)
ブバ31	+	P

注) +は陽性反応を示す。

a) : Y + PはY型とP型の両方の血清型の反応を示したことを表す。

b) : スパー不明瞭なため判定できなかったもの。

結果

供試したブバ22とブバ28の2分離株は、単一病斑分離によりY型、P型の各血清型を示す分離株がそれぞれ分離された。すなわちブバ22は30個の单一病斑分離を行い、28の分離株を得た。そのうちY型が27、P型が1であった。またブバ28は20個の单一病斑分離を行い、18の分離株を得た。そのうちY型が10、P型が8であった。対照のブバ16は20個の单一病斑分離を行い、20の分離株を得た。分離株の血清型はすべてY型であった。また各单一病斑分離株中に前記のような特異な反応を示すものは全くなかった。

したがって单一病斑分離により二つの血清型を示す分離株の存在が示されたことにより、この2分離株の感染していたブーバルジアの元株No.22と28は、それぞれY型とP型の2種類の血清型のCMVが重複感染していたことが明らかとなった(第5表)。

4. ウィルスの純化と形態

ブーバルジアから分離されたウィルスを純化し、その形態を観察した。また31採集株についてCMV以外の棒状やひも状ウイルスの感染の有無を検討した。

方法

*C. quinoa*を用いて单一病斑分離を2回繰り返した分離株ブバ1感染*N. glutinosa*の病葉を用い、花田(1983-b)の方法に準じてウィルスの純化・精製を行った。また得られた純化ウイルス試料を用いて、ホルマリン固定の2%リソタングステン酸(PTA)液で染色し、電顕によりウイルス粒子の観察を行った。また31採集株については、葉の汁液をdip法により2%PTA液で染色し、電顕観察を行った。

結果

上記方法により本ウイルスは純化・精製された。分光光度計により本ウイルスの純化液のOD値を測定した結果、得られた純化ウイルス試料はA₂₆₀/A₂₈₀=1.63であり、病葉100g当り約7.5mgのウイルス収量であった。

本純化ウイルスを電顕観察した結果、径約30nmの均一な球状粒子が観察された(図版III-4)。

また31採集株について電顕観察を行った結果、棒状やひも状のウイルス粒子はすべての採集株で全く観察されなかった。その結果、ブーバルジアには棒状またはひも状ウイルスの感染はないものと判断された。

5. 電気泳動による分離ウイルスの核酸と外被タンパク質の検定

ブーバルジアから分離されたウイルスの核酸と外被タンパク質について、電気泳動により検討した。

(1) 分離ウイルスの核酸の検定

方法

ブバ22、ブバ28のタバコ感染葉を
*C. quinoa*に汁液接種



接種葉にlocal lesion(局部病斑)
生じる



单一病斑を個々にタバコ(BY)に
接種



ウイルス感染タバコの血清型を
CMV抗血清を用いた寒天ゲル拡散
法により調査

第2図 2種の血清型反応を示した
分離株からの各血清型株の分離手順

第5表 2種類の血清型反応を示した分離株からの
各血清型株の分離

供試株	CMV分離数/単病斑分離数	血清型別分離数	
		Y型株	P型株
ブバ22	29/30	28	1
ブバ28	18/20	10	8
(対照)			
ブバ16	20/20	20	0

前記試験で得られた本ウイルスの濃縮ウイルス(17分離株供試)を用い、花田(1993)の方法に従い1.5%アガロースゲル電気泳動により本ウイルスの核酸の泳動度を検討した。対照としてCMV-OY2の純化ウイルスを供試した。

結果

供試ウイルスが濃縮ウイルスであったため泳動されたバンドは鮮明でなかったものの、本ウイルス17分離株の核酸は全て4成分から成り、それらの泳動度は対照のCMV-OY2の泳動度とほぼ一致した(第6表、図版III-5)。また本試験ではサテライトRNAは検出されなかつたが、1.5%アガロースゲルでの泳動では低分子核酸の部分が不明瞭となりやすいので、さらに5%アクリルアミドゲルを用いて検討した(II. 5(3)の項参照)。

(2) 分離ウイルスの外被タンパク質の検定

方法

前記と同様の濃縮ウイルス(6分離株供試)を用いて、花田(1982)の方法に従い12.5%ポリアクリルアミドゲル電気泳動により本ウイルスの外被タンパク質の泳動度

を検討した。対照としてCMV-OY2の純化ウイルスを供試した。

結果

供試ウイルスが濃縮ウイルスであったため、ホスト植物の成分と思われるバンドも見いだされたが、本ウイルス6分離株の外被タンパク質はすべて1成分であり、血清型がY型であるブバ12、ブバ20、ブバ21の3分離株は分子量約25,000付近で、対照として用いたCMV-OY2の泳動度とほぼ一致した(第6表)。また血清型がP型であるブバ10、ブバ29の2分離株は泳動度が他と若干異なり、分子量約24,000付近であった。さらにY型、P型の2種血清型の混合株ブバ22(II. 3(2)の項参照)についてはバンドが二重になっていた(図版III-6)。

(3) 分離ウイルスからのサテライトRNAの検出

方法

前記と同様の濃縮ウイルス(10分離株供試)を用いて、

第6表 ブーバルジアから分離されたCMVの電気泳動による各ウイルス成分の検出

分離株	核酸(RNA)	外被タンパク質の分子量	サテライトRNA
ブバ1	対照CMVとほぼ一致		-
ブバ3	"		-
ブバ10	"	24K	+
ブバ12	"	25K	-
ブバ13	"		-
ブバ16	"		-
ブバ17	"		-
ブバ18	"		-
ブバ19	"		-
ブバ20	"	25K	-
ブバ21	"	25K	-
ブバ22	"	25K, 24K	-
ブバ23	"		-
ブバ24	"		-
ブバ27	"		+
ブバ28	"		-
ブバ29	"	24K	-

注) +は検出されたもの。-は検出されず。空欄は未実施。

第7表 ブーバルジアから分離されたCMVのモモアカアブラムシによる伝搬試験

試験	接種株数	発病株数	発病株率
1	10	5	50%
2	10	5	50%

注) 獲得吸汁前絶食時間: 1~1.5時間。

獲得吸汁時間: 5~10分間。

接種吸汁時間: 24時間。

接種植物株あたりアブラムシ頭数: 10頭。

5%ポリアクリルアミドゲルを用いた電気泳動により本ウイルスのサテライトRNAの有無を検討した。対照としてCMV-YE(サテライト有)の純化ウイルスを供試した。

結果

供試した10分離株のうち2分離株(ブバ10、ブバ27)で対照のCMV-YEのサテライトRNAと同じ位置にバンドが認められ、サテライトRNAと考えられる核酸成分が検出された(第6表)。

本試験の結果、ブーバルジアから分離されたCMVの中には、サテライトRNAを有する分離株のあることが判明した。

6. アブラムシ伝搬

ブーバルジアから分離されたCMVについて、アブラムシ伝搬性を検討した。

方法

健全コカブ上で飼育した無翅のモモアカアブラムシ(*Myzus persicae*)を1~1.5時間絶食後、本ウイルス感染*N. glutinosa*(ブバ1)で5~10分間獲得吸汁させ、健全な*N. glutinosa*に株当たり約10頭を移し、24時間接種吸汁させた後、殺虫剤を散布し供試虫を殺した。試験は計2回行い、1試験当たり各10株に接種吸汁させ、接種植物は隔離温室内で管理した。

結果

2回の試験とも、接種した*N. glutinosa*は接種5~7日後には上葉にモザイク症状が現れ、接種株の50%が発病した(第7表)。

以上の結果、ブーバルジアから分離されたCMVがモモアカアブラムシにより非永続伝搬されることが明らかとなった。

7. CMV分離株の寄生性による系統判別

ブーバルジアから分離されたCMVの2分離株について、寄生性による系統判別を行った。

方法

血清型の異なるブバ10(P型)、ブバ12(Y型)の2分離株を用いて、5科16種の植物に*N. glutinosa*の各ウイルス感染葉粗汁液を常法により接種し、その寄生性を検討した。試験方法、その他はウイルス検出の試験に準じて行った。

結果

分離株ブバ10は*C. amaranticolor*、*C. quinoa*、エンドウ(仏国大さや)、ソラマメの接種葉に局部病斑を生じ、またタバコ、*N. glutinosa*は全身感染し、上葉にモザイク症状が現れた。しかしインゲンマメ、ササゲ、ダイコン(亀井戸)、コカブ(金町)、フダンソウ(白茎)、キュウリ、カボチャ(芳香青皮)、スイカ(旭都)、ユ

ウガオ(しもつけしろ)、メロン(プリンスマロン)には病徴を示さなかった(第8表)。これらの結果よりブバ10は全体的に病徴は軽く、病原性が弱く、ウリ類への感染性が認められなかったことから普通系に近いと考えられた。

またブバ12は *C. amaranticolor*、*C. quinoa*、ササゲ、ソラマメ、エンドウの接種葉に局部病斑を生じ、タバコ、*N. glutinosa*、キュウリ、カボチャ、スイカ、ユウガオ、メロンに全身感染し、モザイク、退緑斑点、萎縮などの病徴を示した(図版II-8~10)。インゲンマメ、ダイコン、コカブ、フダンソウには病徴を示さなかった。これらの結果より、ブバ12はラゲナリア系と考えられた。

以上のことより、ブーバルジアには最低でも寄生性の若干異なる2系統のCMVが感染していることが判明した。

8. 病徴再現試験

ブーバルジアから分離されたCMVによる病徴再現試験を行った。

方 法

分離株ブバ5(血清型P)、ブバ17(Y)、ブバ28(Y+P)の3分離株を供試した。*N. glutinosa*の各感染葉粗汁液をブーバルジア苗(鉢植)に常法により汁液接種し、病徴の再現を試みた。品種はハイブリッドホワイト(各1株接種)とチェリーピンク(各2株接種)の2品種を供試し、苗は当試験場バイテク研究単位が生長点培養により作出したウイルスフリー苗を用いた。試験方法その他は前記に準じて行った。

結 果

接種30~60日後には、ブバ5を接種したハイブリッドホワイトが上葉にモザイク、またチェリーピンクは接種した3分離株によりそれぞれモザイクや退緑輪紋症状が

第8表 ブーバルジアから分離されたCMVの寄生性

検定植物	<i>C. amaranticolor</i>		<i>C. quinoa</i>		タバコ		<i>N. glutinosa</i>		インゲンマメ		ササゲ		エンドウ		ソラマメ	
	接種	上葉	接種	上葉	接種	上葉	接種	上葉	接種	上葉	接種	上葉	接種	上葉	接種	上葉
分離株																
ブバ10	L	-	L	-	-	M	-	M	-	-	-	-	L	-	L	-
ブバ12	L	-	L	-	-	M	-	M	-	-	L	-	L	-	L	-
検定植物	ダイコン		コカブ		フダンソウ		キュウリ		カボチャ		スイカ		ユウガオ		メロン	
	接種	上葉	接種	上葉	接種	上葉	接種	上葉	接種	上葉	接種	上葉	接種	上葉	接種	上葉
分離株																
ブバ10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ブバ12	-	-	-	-	-	-	L	M	L	CS, D	L	NS	L	M	-	M

注) L: local lesion(局部病斑) ; M: mosaic(モザイク) ; CS: chlorotic spot(退緑斑点)
D: dwarf(萎縮) ; NS: necrotic spot(えそ斑点) ; -: no symptom(無病徴)

第9表 ブーバルジアから分離されたCMVによる病徴の再現

供試品種	接種ウイルス(血清型)	接種株数	発病株数	主な病徴
ハイブリッドホワイト	ブバ5(P)	1	1	上葉モザイク
	ブバ17(Y)	1	0	-
	ブバ28(Y+P)	1	0	-
チェリーピンク	ブバ5(P)	2	2	上葉モザイク
	ブバ17(Y)	2	2	上葉モザイク、輪紋
	ブバ28(Y+P)	2	2	上葉モザイク、退緑

注) 接種: 1989年8月。発病調査: 同年11月まで観察。

現れ、接種したCMV 3分離株により原病徵が再現された（第9表、図版I-8）。

また一部の発病株で開花した個体が認められたが、花に奇形症状は認められなかった。

9. 病原ウイルスの同定及び病名

伊豆大島で発生しているブーバルジアのウイルス病の病原ウイルスについて検討した結果、植物検定における接種植物の反応、CMV抗血清と反応すること、粒子の形態が30nmの球状であること、アブラムシにより非永続伝搬すること、また分離ウイルスにより原病徵が再現されたことなどから、病原ウイルスをCMVと同定し、典型的な病徵が葉のモザイク症状などであることから、病名をモザイク病と提案した（栄森ら、1990）。

なお病原同定用に現地より採集したブーバルジア31株のウイルス検出結果を第10表に示した。

10. ブーバルジア“ハイブリッドホワイト”的退色・奇形花症状からの病原ウイルスの検出

1989年にウイルスフリー苗増殖配布事業により配布されたブーバルジア（品種：ハイブリッドホワイト）に、現地の一般配布農家の一部で退色症状並びに奇形花が発生し問題となった。また1991年には原種苗増殖施設内のチエリーピンクに奇形花が発生した。また以前から現地では特にハイブリッドホワイトについて上葉の退色・奇形花の発生が知られており、これらの症状が現地ではウイルス病による症状と誤認されていた経緯があったので、これら症状株からCMVの検出を試みた。

方 法

現地発生圃場より採取したハイブリッドホワイトの退色葉、奇形花弁とチエリーピンクの奇形花弁を供試し、*C. amaranticolor* と *N. glutinosa* の2種検定植物を用い

第10表 ブーバルジア採集株のウイルス検出結果

採集株	採集圃場	品種・その他	作型	採集時の症状等	検出されたウイルスと血清型
1	間伏1A	赤茎種	施設	退緑斑紋	CMV-Y型
2	"	不明	"	モザイク	CMV-Y型
3	"	赤茎種	"	モザイク	CMV-Y型
4	"	"	"	退緑斑紋	CMV-P型
5	"	"	"	モザイク	CMV-P型
6	"	不明	"	モザイク	CMV-P型
7	"	赤茎種	"	モザイク	CMV-Y型
8	"	"	"	退緑斑紋、下葉葉脈透化	CMV-Y型
9	元町1	白茎種	施設	モザイク	CMV-Y型
10	岡田	セミダブル	施設	脈間線状斑、葉緑斑点	CMV-P型
11	"	"	"	脈間線状斑、葉脈透化	—
12	北の山1	チエリーピンク	施設	黄色アザミ葉状	CMV-Y型
13	"	ハイブリッドホワイト	"	葉脈透化、線状斑	CMV-Y型
14	"	"	"	上葉黄斑	—
15	"	"	"	上葉黄斑	—
16	"	"	"	葉脈透化、退緑輪紋	CMV-Y型
17	北の山2	チエリーピンク	露地	モザイク	CMV-Y型
18	"	"	"	モザイク、退緑輪紋	CMV-Y型
19	北の山3	パールピンク	施設	退緑輪紋、縮葉	CMV-Y型
20	"	"	"	退緑輪紋、線状斑	CMV-Y型
21	"	"	"	退緑輪紋、線状斑、縮葉	CMV-Y型
22	北の山4	白茎種	露地	激モザイク、縮葉	CMV-Y型+P型a)
23	"	赤茎種	"	激モザイク、線状斑	CMV-Y型
24	"	白茎種	"	激モザイク	CMV-Y型
25	"	赤茎種	"	外見上健全	CMV-Y型
26	"	白茎種	"	外見上健全	CMV-Y型
27	元町2	ハイブリッドホワイト	施設	黄化	CMV-Y型
28	"	"	"	激モザイク、縮葉	CMV-Y型+P型a)
29	"	"	"	黄化斑点、黄化輪紋	CMV-P型
30	間伏1B	不明	施設	軽い黄斑	CMV-不明b)
31	間伏2	不明	施設	線状斑	CMV-P型

注) №1~9: 1989年1月採集、№10~31: 1989年5月採集。

a) : Y型とP型の両血清型の重複感染を示す。

b) : スパー不明瞭のため判定不能。

第11表 ブーバルジア奇形花症状のウイルス検定

供試品種	検定植物 供試部位	<i>C. amaranticolor</i>		<i>N. glutinosa</i>	
		接種葉	上葉	接種葉	上葉
ハイブリッドホワイト	退色葉	—	—	—	—
	奇形花弁	—	—	—	—
チェリーピンク	奇形花弁	—	—	—	—

注) - : 無病徵(反応なし)

て、植物検定によるウイルスの検出を行った。なおハイブリッドホワイトは1989年10月、チェリーピンクは1991年10月にそれぞれ検定を行った。

結果

植物検定の結果、2種検定植物には病徵が全く認められなかったことから、これらの症状がCMVによるものでないことが判明した(第11表)。

一方1989年に病原同定用に採取した31株の中のNo.14、15は品種がハイブリッドホワイトであり、採取時の症状が上葉黄斑とあるが、これは本症状の退色と同一のものである(第2表)。そしてこれらの検体からは植物検定(第3表)、電顕観察(II. 4の項)等でウイルスが全く検出されなかったことからも上記の結果が裏付けられる。また病徵再現試験並びに後述の強毒CMVに対する干渉効果、CMV弱毒株の感染とブーバルジアの生育・収量の各試験においても、ウイルスによる病徵の中に上葉の退色や奇形花の症状が全く見いだされなかったことから考えて、これらの症状はCMVによるモザイク病とは無関係であることは明らかである。

なお奇形花等の症状の発生については、現地の聞き取り調査及び高尾らの報告(1990-b、1991)などから次のことが判明している。①苗の遺伝的な要因が強く関係している、②選抜を繰り返すことにより発生は軽減される、③発生しやすい条件として施設での夏季高温時のショート処理(資材により被覆されるので、被覆内では特に高温となりやすい)、また発生しにくい条件として露地栽培並びに自然咲が挙げられる。このように本症状は苗の遺伝的な要因と環境要因とが相互に関係し発生するものと考えられるが、未解明な部分もあり、更に検討を要する。

III. CMV弱毒株によるモザイク病の防除

伊豆大島のブーバルジアに発生するモザイク病はCMVに起因することが明らかとなった。本ウイルスは宿主範囲が広く、汁液伝染及びアブラムシ伝搬することから防除が極めて困難であり、ウイルスフリー苗増殖配布事

第12表 CMV弱毒株のブーバルジアにおける感染性

供試 ウイルス	接種 濃度	接種 株数	接種葉 感染株数1)	全身 感染株数2)	発病の 有無
S R	400 μ g/ml	2	0	0	—
	2000	1	0	0	—
S R O	400	3	2	1	無
S R K	400	3	2	1	無

注) 接種: 1989年8月。調査: 1)は接種10日後、2)は同年9月、10月に各1回ずつ調査した。

業により配布されたフリー苗も、現地農家によると一般圃場では3年程度で再汚染が起こっているとのことである。そこでウイルスフリー苗に弱毒CMVを予め感染させておくことにより強毒CMVによる再汚染を防止し、本病を防除することができないものか検討を行った。

1. ブーバルジアに対するCMV弱毒株の感染性

CMV弱毒株をブーバルジアに接種し、感染性の有無及びその病原性について検討した。

(1) 3種のCMV弱毒株の感染性

方法

CMV弱毒株はCMV-SR(ホウレンソウ縮葉系; 善林ら、1983)、SRO(SRのRNA3とCMV普通系CMV-0のRNA3を組換えた株; 花田ら、1986)、SRK(SRのRNA3と加工用トマトから分離したCMV-KのRNA3を組換えた株; 花田ら、1986)の3種類を供試した。CMV弱毒株を接種する供試植物は、当試験場バイテク研究単位で生長点培養により作出したウイルスフリー苗の鉢植苗(品種: チェリーピンク、草丈15~20cm程度)を用いた。接種は供試植物を24時間の暗処理後、各純化ウイルスを0.1Mリン酸緩衝液(pH7.2)にて400 μ g/mlの濃度に希釈し、株当たり25~30 μ lをカーボランダム法により接種し、接種後は20~28°C下のガラス室で管理した。接種は1989年8月に行い、感染の有無は接種10日後に接種葉の*C. amaranticolor*への戻し接種により、また接種1~2カ月後に接種個体の上葉について、*C. amaranticolor*への接種試験とELISAの併用によりそれぞれ検討した。

結果

接種した3種類のCMV弱毒株のうち、ブーバルジア

に全身感染が認められたのはS R O（3株接種し1株感染）とS R K（3株接種し1株感染）の2種類であり、試験期間中、S R O、S R Kの各感染個体は無病徴のままであった（第12表）。またこれらのうち接種葉の戻し接種では感染が認められた個体が、その後ウイルスの増殖・移行がうまく行われなかったためか、後日上葉の戻し接種並びにE L I S Aでは陰性の反応になり、最終的に感染が認められなくなった個体がS R O、S R Kとともに1株ずつあった。

一方弱毒株S R は上記2種と同濃度の $400\mu\text{g}/\text{ml}$ の接種で感染が認められなかつたほか、この5倍高濃度の $2000\mu\text{g}/\text{ml}$ の接種でもブーバルジアの接種葉にすら感染しなかつた。

(2) 2種のCMV弱毒株の接種濃度と感染率

ブーバルジアへの感染性が確認されたS R O、S R Kの2種類のCMV弱毒株について、接種濃度と感染率について検討した。

方 法

供試植物、接種方法等は前記（1）の試験と同様に行い、弱毒ウイルスの接種濃度は 200 、 $400\mu\text{g}/\text{ml}$ の2濃度とした。接種は1990年9月に行い、接種後はガラス温室内で管理した。感染の有無は接種3カ月後に接種個体の上葉を供試し、*C. amaranticolor*への接種試験により検討した。

結 果

$200\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で接種した場合、弱毒株S R Oは7株中3株（43%）、S R Kは8株中5株（63%）が全身感染した。また $400\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で接種した場合、S R Oは8株中5株（63%）、S R Kは8株中6株（75%）が全身感染した。以上の結果からS R O、S R Kとともに $200\mu\text{g}/\text{ml}$ より $400\mu\text{g}/\text{ml}$ の方が感染率の高い傾向が見られたが、その差はあまりなかつた（第13表）。また試験期間中、各感染個体は無病徴のままであった。

本接種試験で用いた苗の草丈は5～15cmとばらつきがあったが、両弱毒ウイルスともに接種時の草丈と感染との関係はないように思われた。

第13表 CMV弱毒株の純化ウイルス接種濃度と感染率

供試 ウイルス	接種 濃度	接種 株数	感染 株数	感染 率	発病 率
S R O	$200\mu\text{g}/\text{ml}$	7	3	43%	0%
	400	8	5	63	0
S R K	200	8	5	63	0
	400	8	6	75	0

注) 接種：1990年9月。感染調査：同年12月。

2. 強毒CMVに対する干渉効果

弱毒CMVに感染したブーバルジアの強毒CMVに対する干渉効果を検討した。

(1) 純化ウイルス接種に対する干渉効果

試験1. 鉢植苗における干渉効果

方 法

CMVの弱毒株S R O、S R Kが全身感染したブーバルジアを親株とし、これらの株より採穂し増殖したものを鉢上げし、弱毒ウイルス感染苗として本試験に供試した。強毒CMV純化ウイルスはCMV-K（花田ら、1986）を用いて、これを 0.1M リン酸緩衝液(pH7.2)で 10 、 100 、 $200\mu\text{g}/\text{ml}$ の3濃度に希釈後、カーボランダム法により株当たり約 $30\mu\text{l}$ 接種した。接種した苗は各濃度区とも草丈 20cm 以下程度のものを供試し、各区の接種株数は第14表のとおりであり、接種は1993年12月に行った。接種後は隔離ガラス温室内で管理し、接種18日後、34日後の2回、発病を程度別（多～無の5段階）に調査し、発病株率と発病度を算出した。またウイルスは当代で感染してもその世代では発病せず、次世代において発病することが考えられるので、調査終了後の1994年2月に全区地上部茎葉をピンチし、その後萌芽した次世代の新芽についてその発病状況を3月に前記同様に調査した。

結 果

強毒CMVの $10\mu\text{g}/\text{ml}$ の接種に対しては、接種18日後では弱毒ウイルス無接種区のみ8.3%発病した。しかし34日後にはS R K区でも30.4%の発病が認められ、弱毒ウイルス無接種区よりも発病株率、発病度が高くなつた。一方S R O区は16株に接種したが、試験期間を通して発病は認められなかつた（第14表）。

強毒CMVの $100\mu\text{g}/\text{ml}$ の接種に対しては、接種18日後に弱毒ウイルス無接種区のみが25%の発病が認められた。34日後には弱毒ウイルス無接種区が100%発病し、S R K区でも26.1%発病が認められた。一方S R O区は29株に接種したが、試験期間を通して発病は認められなかつた。

強毒CMVの $200\mu\text{g}/\text{ml}$ の接種に対しては、接種18日後に全区発病が認められ、34日後に弱毒ウイルス無接種区>S R K区>S R O区の順に発病株率、発病度が高かつた。

ピンチ後の萌芽の発病状況については、弱毒ウイルス無接種区とS R K区が全接種濃度区で発病が認められ、また高濃度区では高率に発病した。一方S R O区は各区強毒CMV接種時に極めて発病が少ないか全く発病を認めなかつたのと同様、次世代の新芽において全接種区とも全く発病を認めなかつた（第15表）。

以上の結果、各弱毒ウイルスに感染した鉢植苗に強毒

第14表 弱毒ウイルス感染株の強毒CMV接種に対する干渉効果(鉢植苗)

弱毒ウイルス の種類	強毒ウイルス		接種18日後		接種34日後	
	接種濃度	接種株数	発病株率	発病度a)	発病株率	発病度a)
無接種	10μg/ml	24	8.3%	1.0	12.5%	8.3
S R O	10	16	0	0	0	0
S R K	10	23	0	0	30.4	22.8
無接種	100	12	25.0	4.2	100.0	58.3
S R O	100	29	0	0	0	0
S R K	100	23	0	0	26.1	16.7
無接種	200	27	51.8	17.6	63.0	46.3
S R O	200	19	5.3	1.3	5.3	2.6
S R K	200	24	37.5	9.4	45.8	42.7
無接種	無接種	5	0	0	0	0
S R O	無接種	5	0	0	0	0
S R K	無接種	5	0	0	0	0

注) 接種: 1993年12月。

a) : 発病度は多~無の5段階で程度別に調査し、次式により算出した。

Σ (程度別発病株数 × 指数)

$$\text{発病度} = \frac{\Sigma (\text{程度別発病株数} \times \text{指数})}{\text{調査株数} \times 4} \times 100$$

- ・多(4) 一激しいモザイクや縮葉症状あり。
- ・中(3) 一明瞭なモザイク症状あり。
- ・軽(2) 一軽度のモザイクや退緑斑あり。
- ・微(1) 一わずかに退緑斑などの症状あり。
- ・無(0) 一病徴なし。

CMVの純化ウイルスを接種した場合、S R Kは10μg/mlの接種に対して対照の弱毒ウイルス無接種以上に発病したことや他の濃度での接種に対しても高率に発病したことなどから、その干渉効果は低いと判断された。一方 S R Oは、10、100 μg/mlの接種に対しては全く発病を認めず、また200μg/mlの接種に対してもS R Kや対照の弱毒ウイルス無接種に比べ発病が低率であったことなどから、その干渉効果は強いと判断された(図版III-8)。

試験2. ハウス内定植株における干渉効果

方法

供試植物は、ウイルスフリー苗及びS R O、S R Kの各弱毒ウイルス感染株から採芽し増殖した苗を用い、パイプハウス内に定植し、約1年間養成した株を供試した。なお、パイプハウスは定植前に出入り口と両サイドに寒冷紗を張り、アブラムシなどの侵入を防ぎ、また定期的に薬剤散布を行った。強毒CMVの純化ウイルスにはCMV-Kを用い、接種濃度や接種方法などは前記の試験1に準じて行った。接種は1株2本立ちに整枝済みの株について1区12本を供試し、60~70cmに伸長した茎葉の

第15表 弱毒ウイルス感染株における強毒CMV接種個体のピンチ後萌芽した新芽の発病状況(鉢植苗)

弱毒ウイルス の種類	強毒CMV 接種濃度a)	調査 株数	発病 株数	発病 率	発病b) 度
無接種	10μg/ml	21	2	9.5%	6.0
S R O	10	12	0	0	0
S R K	10	19	5	26.3	25.0
無接種	100	12	10	83.3	68.8
S R O	100	29	0	0	0
S R K	100	20	8	40.0	32.5
無接種	200	26	11	42.3	26.3
S R O	200	9	0	0	0
S R K	200	20	14	70.0	56.3
無接種	無接種	5	0	0	0
S R O	無接種	5	0	0	0
S R K	無接種	5	0	0	0

注) a) : ピンチ前の強毒CMV接種は1993年12月。ピンチは1994年2月、発病調査は3月にそれぞれ行った。

b) : 発病度は第14表に準じる。

上葉部に1本当り約50μlを接種した。なお接種は1993年12月に行った。接種14日後と28日後の2回、試験1と同様に発病調査を行い、発病率と発病度を算出した。また調査終了後の1994年2月に前記と同様に全区ピンチを行い、各区萌芽時の発病状況について3月に調査した。

第16表 弱毒ウイルス接種株の純化強毒CMV接種に対する干渉効果(ハウス内定植株)

弱毒ウイルス の種類	強毒ウイルス		接種14日後		接種28日後	
	接種濃度	接種本数	発病率	発病度a)	発病率	発病度a)
無接種	10μg/ml	12	100%	42	100%	52
S R O	10	12	0	0	0	0
S R K	10	12	92	35	100	75
無接種	100	12	100	54	100	94
S R O	100	12	33	13	33	19
S R K	100	12	100	48	100	88
無接種	200	12	100	53	100	77
S R O	200	12	0	0	25	8
S R K	200	12	100	43	100	88
無接種	無接種	12	0	0	0	0
S R O	無接種	12	0	0	0	0
S R K	無接種	12	0	0	0	0

注) 接種: 1993年12月。a): 発病度は第14表に準じる。

第17表

弱毒ウイルス接種株における強毒CMV接種個体の
ピンチ後萌芽した新芽の発病状況(ハウス内定植株)

弱毒ウイルス の種類	強毒CMV a) 接種濃度	調査 株数	発病 株数	発病 株率
無接種	10μg/ml	8	2	25%
S R O	10	9	0	0
S R K	10	7	4	57
無接種	100	7	5	71
S R O	100	6	0	0
S R K	100	6	0	0
無接種	200	8	4	50
S R O	200	6	0	0
S R K	200	6	2	33
無接種	無接種	6	0	0
S R O	無接種	6	0	0
S R K	無接種	6	0	0

注) a): ピンチ前の強毒CMV接種は1993年12月。

ピンチは1994年2月、発病調査は3月にそれぞれ行った。

b): 発病度は第14表に準じる。

(2) 粗汁液接種に対する干渉効果

方 法

供試植物は、ウイルスフリー苗及びS R O、S R Kの各ウイルス感染株から採芽し増殖した鉢植苗を用いた。強毒CMVにはブーバルジアより分離したブバ16(血清型Y)の*N. glutinosa*感染葉を0.1Mリン酸緩衝液(pH7.2)で5~10倍量に磨碎した粗汁液を接種源として用いた。接種はカーボランダム法で行い、また試験は3回行った。各区の接種株数は第18、20、22表のとおりであり、また接種する鉢植苗は大きさ別に草丈20cm程度の大苗と10cm

結 果

強毒CMVの10μg/mlの接種に対しては接種14日後には弱毒ウイルス無接種区がすでに100%発病し、S R K区も28日後には100%発病した。一方S R O区は試験期間を通して、発病は全く認められなかった(第16表)。

強毒CMVの100、200μg/mlの接種に対しては全区ともに発病が認められた。すなわち100μg/mlの接種に対しては接種28日後において弱毒ウイルス無接種区> S R K区> S R O区の順に発病率、発病度が高かった。また200μg/mlの接種に対しては接種28日後においてS R K区>弱毒ウイルス無接種区> S R O区の順に発病率、発病度が高かった。

ピンチ後に萌芽した新芽の発病状況は、弱毒ウイルス無接種区が全接種濃度区で、またS R K区が10、200μg/mlの接種濃度区で発病が認められた。これに対しS R O区は全接種濃度区で全く発病を認めなかった(第17表、図版IV-3)。

以上のように、各弱毒ウイルスに感染したハウス内定植株の干渉効果についても前記の鉢植苗と同様な結果となった。すなわち強毒CMVの純化ウイルスを接種した場合、S R Kは各強毒CMV接種濃度とも対照の弱毒ウイルス無接種区と同程度に発病したことなどから、その干渉効果は低いと判断された。一方S R Oは強毒CMVの純化ウイルス各濃度の接種に対してS R Kや対照の弱毒ウイルス無接種区と比較し発病を著しく抑制したことから、その干渉効果は強いと判断された(図版IV-1、2)。

程度の小苗の2区を設け、各区1993年11月下旬～12月上旬に接種を行った。接種後は隔離ガラス温室内で管理し、発病調査は接種25～30日後、40～51日後の計2回、程度別(多～無の5段階)に調査を行い、発病株率、発病度を算出した。また調査終了後の1994年2月に全区ピンチを行い、その後萌芽した新芽について3月に発病状況を調査した。

結果

1回目の試験は接種25日後、40日後の2回の調査において大苗、小苗ともに弱毒ウイルス無接種区≥SRK区>SRO区の順に発病株率、発病度が高かった(第18表)。特に40日後においてSRK区が対照の弱毒ウイルス無接種区と同程度に発病したのに対し、SRO区は発病株率、

発病度ともこれらの1/4程度にとどまった。またピンチ後萌芽した新芽での発病状況は、大苗で弱毒ウイルス無接種区が16.7%、SRO区が5.7%発病したのに対し、SRK区は全く発病を認めなかった(第19表)。小苗では弱毒ウイルス無接種区18.2%、SRK区で77.8%発病したが、SRO区は全く発病しなかった。

2回目の試験では接種27日後、46日後の2回の調査において大苗、小苗ともに弱毒ウイルス無接種区≥SRK区>SRO区の順に発病株率、発病度が高かった(第20表)。特にSRO区は27日後では大苗、小苗とも発病が認められず、46日後においても大苗で弱毒ウイルス無接種区やSRK区が30～50%台の割合で発病したのに対し、SRO区は10%未満の発病にとどまり、小苗でも弱毒ウ

第18表 弱毒ウイルス接種株における強毒CMVの粗汁液接種に対する干渉効果(鉢植苗-1)

弱毒ウイルス の種類	強毒CMV 接種の有無	苗の 種類	接種 株数	接種25日後		接種40日後	
				発病株率	発病度a)	発病株率	発病度a)
無接種	有	大苗	6	33.3%	5.5	33.3%	20.8
SRO	有	大苗	38	7.9	1.6	7.9	4.6
SRK	有	大苗	15	20.0	10.7	33.3	16.7
無接種	有	小苗	12	100.0	32.3	100.0	60.4
SRO	有	小苗	22	4.5	1.8	22.7	12.5
SRK	有	小苗	18	44.4	21.1	83.3	45.8
無接種	無	大苗	5	0	0	0	0
SRO	無	大苗	5	0	0	0	0
SRK	無	大苗	5	0	0	0	0

注) 接種: 1993年11月。a): 発病度は第14表に準じる。

第19表 弱毒ウイルス接種株における強毒CMVの粗汁液接種個体の
ピンチ後萌芽した新芽の発病状況(鉢植苗-1)

弱毒ウイルス の種類	強毒CMV 接種の有無	苗の 種類	萌芽 株数	発病 株数	発病株率	発病度a)
無接種	有	大苗	6	1	16.7%	8.3
SRO	有	大苗	35	2	5.7	2.9
SRK	有	大苗	15	0	0	0
無接種	有	小苗	11	2	18.2	9.1
SRO	有	小苗	13	0	0	0
SRK	有	小苗	18	14	77.8	52.8
無接種	無	大苗	3	0	0	0
SRO	無	大苗	4	0	0	0
SRK	無	大苗	3	0	0	0

注) ピンチ前の強毒CMV接種は1993年11月。ピンチは1994年2月、発病調査は3月にそれぞれ行った。a): 発病度は第14表に準じる。

イルス無接種区やS R K 区が20%以上発病したのに対し、S R O 区はその半分以下の発病にとどまった。また S R O 区は発病程度も極めて軽微であった。ピンチ後萌芽した新芽の発病状況は大苗ではS R K 区のみ発病した。またS R O 区が発病しなかったのはもちろんのこと対照の弱毒ウイルス無接種区でも新芽での発病は認められなかった（第21表）。小苗では弱毒ウイルス無接種区で16.7%、S R K 区で30%発病が認められたが、S R O 区は発病が認められなかった。

3回目の試験は、大苗では接種51日後においてS R O 区が10.5%、S R K 区が25%発病したのに対し、対照の弱毒ウイルス無接種区は発病を認めなかった（第22表）。しかし小苗では接種51日後において弱毒ウイルス無接種

区が90%、S R K 区も40%発病したが、S R O 区は発病を認めなかった。ピンチ後の萌芽した新芽の発病状況は、大苗ではS R K 区のみ18.2%の発病が認められ、また小苗は弱毒ウイルス無接種区で60%、S R K 区で20%の発病が認められた。しかしS R O 区は大苗、小苗ともに全く発病は認められなかった（第23表）。

以上の結果、弱毒C M Vが予め感染しているブーバルジア鉢植苗における強毒C M Vの粗汁液接種に対する干渉効果は、前項の純化ウイルス接種とほぼ同様な結果となった。すなわちS R K は対照の弱毒ウイルス無接種区としばしば同程度に発病したので、その干渉効果は低いと判断された。一方C M V弱毒株のS R O は、対照の弱毒ウイルス無接種区やC M V弱毒株のS R K に比べ強毒

第20表 弱毒ウイルス接種株における強毒C M Vの粗汁液接種に対する干渉効果（鉢植苗－2）

弱毒ウイルス の種類	強毒C M V 接種の有無	苗の 種類	接種 株数	接種27日後		接種46日後	
				発病株率	発病度a)	発病株率	発病度a)
無接種	有	大苗	13	30.8%	15.4	53.8%	34.6
S R O	有	大苗	15	0	0	6.7	3.3
S R K	有	大苗	13	23.0	9.2	30.8	23.1
無接種	有	小苗	12	16.7	6.7	25.0	16.7
S R O	有	小苗	11	0	0	9.1	6.8
S R K	有	小苗	10	10.0	6.0	20.0	17.5
無接種	無	大苗	5	0	0	0	0
S R O	無	大苗	5	0	0	0	0
S R K	無	大苗	5	0	0	0	0

注) 強毒C M V接種：1993年12月。a)：発病度は第14表に準じる。

第21表 弱毒ウイルス接種株における強毒C M Vの粗汁液接種個体の
ピンチ後萌芽した新芽の発病状況（鉢植苗－2）

弱毒ウイルス の種類	強毒C M V 接種の有無	苗の 種類	萌芽 株数	発病 株数	発病株率	発病度a)
無接種	有	大苗	13	0	0 %	0
S R O	有	大苗	10	0	0	0
S R K	有	大苗	13	2	15.4	3.8
無接種	有	小苗	12	2	16.7	10.4
S R O	有	小苗	9	0	0	0
S R K	有	小苗	10	3	30.0	10.0
無接種	無	大苗	4	0	0	0
S R O	無	大苗	4	0	0	0
S R K	無	大苗	5	0	0	0

注) ピンチ前の強毒C M V接種は1993年12月。ピンチは1994年2月、発病調査は3月にそれぞれ行った。a)：発病度は第14表に準じる。

CMVによる発病を低率に抑えるか、もしくは全く発病しなかったことなどから、その干渉効果は強いと判断された(図版III-7)。

3. CMV弱毒株の感染とブーバルジアの生育・収量

ブーバルジアにCMV弱毒株が感染することにより、その生育や切花収量に及ぼす影響を検討した。

(1) ハウス栽培における生育・収量

方 法

供試植物は、ウイルスフリー苗及びS R O、S R Kの各ウイルス感染株から採芽し増殖した苗を用いた。試験は当園芸技術センター内のパイプハウス(アラムシ等の侵入を阻止するため出入り口と両サイドに寒冷紗を張る)で行い、1992年4月に定植した。試験区は1区5.0

m²(約180株)とし、反復区は設けなかった。収穫調査は1992年7月～1994年4月まで計7回、適宜シェード処理を行い、または自然開花させ、切花評価や切花長など6項目について調査を行った。

結 果

1992年7月～1994年4月まで計7回収穫調査を行った結果、S R K区は切花評価、切花長、茎径、花房ボリューム度ともに弱毒ウイルス無接種区と比較しほぼ同程度かもしくはそれ以上の生育・収量を示した。またS R Kの感染による花の奇形やウイルス症状は試験期間中を通して認められなかった(第24表)。S R O区も切花評価、茎径、花房ボリューム度は弱毒ウイルス無接種区とほぼ同程度の値を示し、またS R Oの感染による花の奇形、

第22表 弱毒ウイルス接種株における強毒CMVの粗汁液接種に対する干渉効果(鉢植苗-3)

弱毒ウイルス の種類	強毒CMV 接種の有無	苗の 種類	接種 株数	接種30日後		接種51日後	
				発病株率	発病度a)	発病株率	発病度a)
無接種	有	大苗	11	0 %	0	0 %	0
S R O	有	大苗	19	0	0	10.5	6.6
S R K	有	大苗	20	15.0	6.0	25.0	11.3
無接種	有	小苗	10	50.0	16.0	90.0	77.5
S R O	有	小苗	9	0	0	0	0
S R K	有	小苗	10	20.0	4.0	40.0	27.5
無接種	無	大苗	5	0	0	0	0
S R O	無	大苗	5	0	0	0	0
S R K	無	大苗	5	0	0	0	0

注) 強毒CMV接種: 1993年12月。a): 発病度は第14表に準じる。

第23表 弱毒ウイルス接種株における強毒CMVの粗汁液接種個体の
ピンチ後萌芽した新芽の発病状況(鉢植苗-3)

弱毒ウイルス の種類	強毒CMV 接種の有無	苗の 種類	萌芽 株数	発病 株数	発病株率	発病度a)
無接種	有	大苗	6	0	0 %	0
S R O	有	大苗	9	0	0	0
S R K	有	大苗	11	2	18.2	4.5
無接種	有	小苗	10	6	60.0	42.5
S R O	有	小苗	8	0	0	0
S R K	有	小苗	10	2	20.0	12.5
無接種	無	大苗	5	0	0	0
S R O	無	大苗	4	0	0	0
S R K	無	大苗	4	0	0	0

注) ピンチ前の強毒CMV接種は1993年12月。ピンチは1994年2月、発病調査は3月にそれぞれ行った。a): 発病度は第14表に準じる。

ウイルス症状は試験期間中を通して認められなかった。なおS R O区については1993年6月、1993年9月、1994年4月のように切花長が他に比べ低下することがまれに認められた。また1992年10月、1993年9月のように夏季の高温を経由する作において上葉～中間葉の位置に軽微な葉枯症状が発生した。ただし本症状は一時的なもので上位または下位葉に進展、拡大することなく、茎の伸長に伴い中間葉～下位葉に位置し、外観上特に問題はなかった。以上の結果、ハウス栽培においてCMV弱毒株のS R O、S R Kの感染は対照の弱毒ウイルス無接種区と比較し切花収量などがほぼ同等であり、ブーバルジアの生育・収量に与える影響は少なく、害はないものと判断された(図版IV-4、5)。

(2) 露地栽培における生育・収量

方法

供試植物は、ウイルスフリー苗及びS R O、S R Kの各ウイルス感染株から採芽し増殖した苗を用いた。試験は当園芸技術センター内圃場で行い、1992年7月に定植した。試験区は1区5.4m²(約196株)、反復区は設けなかった。調査は1992年12月、1993年7月の計2回、自然開花したものについて切花評価、切花長など6項目につ

いて収穫調査を行った。

結果

2回の収穫調査の結果、S R O区、S R K区はともに弱毒ウイルス無接種区と比較し同程度の生育・収量を示した(第25表)。また両弱毒ウイルスの感染による花の奇形等も観察されず、ウイルス病症状も認められなかった。また高温時を経由するハウス栽培でS R O区の一部に発生した葉枯症状は、露地栽培においては全く観察されなかった。

なお本試験期間中、アブラムシの発生は皆無であり、また適宜アブラムシ防除のため薬剤散布を行ったことから、外部からの強毒CMV保毒アブラムシの飛び込み並びに各試験区間のアブラムシによる相互感染は起こらなかっただと考えられる。

(3) CMVの感染・発病がブーバルジアの生育・収量に及ぼす影響

強毒CMV並びに弱毒CMVのS R O、S R Kがウイルスフリーのブーバルジアに感染した場合の生育や切花収量に及ぼす影響を調査した。

方法

前項の干渉効果試験において強毒株CMV-Kの純化

第24表 CMV弱毒株の感染がブーバルジアの生育・収量に及ぼす影響(ハウス)

弱毒ウイルス の種類	収 穫 年 月	調査 本数	切花a) 評価	切花長 (cm)	茎径b) (mm)	花房c) ボリューム度	花の 奇形	発病	開花 方法	備考
無接種	1992年7月	20	4.7	90.6	4.6	4.8	—	—	6月シェード	
S R O		20	4.5	84.5	5.3	4.4	—	—	処理	
S R K		20	4.8	89.9	5.5	4.4	—	—		
無接種	1992年10月	40	4.9	97.4	4.4	4.6	—	—	9月シェード	
S R O		40	4.9	98.6	4.1	4.6	—	—	処理	希に軽微な葉枯
S R K		40	4.9	97.8	4.0	4.7	—	—		
無接種	1993年3月	30	4.1	59.6	3.7	4.0	—	—	自然開花	
S R O		26	3.7	59.8	3.4	4.0	—	—		
S R K		30	4.2	62.3	3.5	4.3	—	—		
無接種	1993年6月	40	4.8	89.1	5.4	4.5	—	—	5月シェード	
S R O		40	4.8	81.9	4.5	4.9	—	—	処理	
S R K		40	4.8	95.0	5.5	4.9	—	—		
無接種	1993年9月	40	5.0	106.5	4.9	4.8	—	—	7月シェード	
S R O		40	4.7	89.9	4.0	4.7	—	—	処理	希に軽微な葉枯
S R K		40	4.9	108.9	4.6	4.7	—	—		
無接種	1994年1月	30	4.7	77.3	4.0	4.4	—	—	11月シェード	
S R O		30	4.5	71.1	3.6	4.3	—	—	処理	
S R K		30	4.7	76.2	3.5	4.4	—	—		
無接種	1994年4月	30	4.3	89.4	4.5	4.1	—	—	3月シェード	
S R O		30	4.1	83.8	4.4	3.9	—	—	処理	
S R K		30	4.6	95.7	4.5	4.1	—	—		

注) a) : 5(優)～1(不良)の5段階で評価。b) : 切花の中間部を測定。c) : 5(小花多)～1(小花極少)の5段階で評価。

ウイルスを接種したハウス内定植株の試験区の一部について、ピンチ後に萌芽したものの発病及び生育調査を行った。ピンチは1994年2月に実施し、3月に第26表に示した区分で各区無作為に10本を抽出し草丈、節数等計6項目について生育調査を行った。

また1994年4月に萌芽～開花に至った各強毒CMVの純化ウイルス接種濃度別に、同試験区について発病及び収穫調査を行った。なお収穫調査は肉眼での病徴の有無別に行い、調査方法等は前記(1)(2)に準じて行った。

結果

発病調査の結果、ウイルスフリーに強毒CMVが感染するとピンチ後の萌芽についても高率に発病することが再確認された(第26表)。また弱毒ウイルスSROとSRKの感染株については、病徴は観察されなかった。

生育調査の結果、草丈、葉身長等の生育状況はウイルスフリーと比べSRO、SRKの感染がブーバルジアの生育を特に抑制するようなことはなかった。しかしウイルスフリー株に強毒CMVが感染すると発病に伴い草丈等の生育が著しく抑制され、生育不良となることが再確認された。

各区ピンチ後に萌芽～開花に至った花について病徴の有無別に収穫調査を行った結果、弱毒ウイルス無接種、SRO、SRKの3区は強毒CMV各接種濃度ともその収穫切花は、病徴の有無による品質差が歴然としていた(第27表)。すなわち病徴の認められない花の品質は、弱毒ウイルス無接種、SRO、SRKの3区ともに強毒CMV接種濃度に関係なく、良質の花が収穫された。

第25表 CMV弱毒株の感染がブーバルジアの生育・収量に及ぼす影響(露地)

弱毒ウイルス の種類	収穫 年月	調査 本数	切花 評価	切花長 (cm)	茎径 (mm)	花房 ボリューム度	花の 奇形	発病	開花 方法
無接種	1992年12月	30	—	43.9	2.9	2.8	—	—	自然開花
S RO		30	—	40.7	2.6	2.5	—	—	
SRK		30	—	41.8	2.8	2.5	—	—	
無接種	1993年7月	35	2.9	52.0	3.7	3.8	—	—	自然開花
S RO		35	3.1	53.9	4.0	2.5	—	—	
SRK		35	3.4	56.5	4.0	4.2	—	—	

注) 各項目の調査方法は第24表に準じる。

第26表 強毒CMV並びに弱毒CMVの感染がウイルスフリーブーバルジアの生育に及ぼす影響(ハウス)

試験区	調査 本数	発病 株率	発病a) 度	草丈 (cm)	節数	最大 葉身長(cm)	最大 葉幅(cm)
ウイルスフリー	10	0%	0	63.0	6.9	8.5	4.5
強毒CMV接種	10	100	92.5	46.3	6.4	5.9	3.3
CMV-SRO接種	10	0	0	65.4	7.7	7.8	4.3
CMV-SRK接種	10	0	0	74.2	8.2	9.6	5.1

注) 強毒CMVの接種は1993年12月。調査は1994年3月。a) : 発病度は第14表に準じる。

発病が認められた弱毒ウイルス無接種区、SRK区は、切花評価が低下し、切花長が短かった。また茎も細くなり、花房の小花数も少なく花着きが悪かった。しかし花の奇形は認められなかった。

以上の結果、強毒CMVの感染・発病により切花品質や収量性が低下することが再確認された。

4. CMV弱毒株の感染維持

ブーバルジアは挿し芽で増殖する栄養繁殖性の作物であることから、一度CMVの弱毒ウイルスを感染させれば長期間強毒CMVの感染を防止できる可能性がある。そこでCMV弱毒株の感染が長期間にわたり維持されるか否か検討した。

方法

1989年8月にウイルスフリー株にSRO、SRKのCMV弱毒株を接種し感染させた個体、もしくはそれら感染個体から採芽し増殖したものを作成し、それらの上位葉を無作為に*C. amaranticolor*へ接種することにより、SRO、SRKの2種弱毒ウイルスの感染状況をそれぞれ調査した。

結果

1989年12月～1994年3月まで計10回の検定を行った結果、*C. amaranticolor*の接種葉には全て局部病斑が生じ、SRO、SRKともに感染は試験期間中を通して確認された(第28表)。

以上の結果、CMV弱毒株SRO、SRKの感染は接種後約4年7ヶ月を経過しても認められ、一度全身感染すると長期間感染が維持されることが確かめられた。

第27表 弱毒ウイルス接種株における強毒CMV接種個体のピンチ後b)の病徴有無別の切花収量(ハウス内定植株)

弱毒ウイルス の種類	強毒CMV 接種濃度a)	病徴の有無	調査本数	切花評価	切花長	茎径	花房ボリューム度	花の奇形
無接種	10μg/ml	有	2	1.0	82.7cm	3.0mm	1.0	なし
		無	10	4.5	89.1	4.7	4.5	なし
S R O	10	有	0	—	—	—	—	—
		無	13	3.5	71.2	3.7	4.0	なし
S R K	10	有	7	1.1	80.4	3.6	2.1	なし
		無	8	4.1	88.7	4.3	4.4	なし
無接種	100	有	9	1.0	72.6	3.5	2.8	なし
		無	4	4.5	81.7	4.6	5.0	なし
S R O	100	有	0	—	—	—	—	—
		無	12	4.2	80.7	4.2	4.6	なし
S R K	100	有	0	—	—	—	—	—
		無	12	4.4	85.1	4.4	4.8	なし
無接種	200	有	7	1.0	72.7	3.9	2.0	なし
		無	7	4.7	91.2	5.1	4.8	なし
S R O	200	有	0	—	—	—	—	—
		無	13	4.1	88.7	4.3	4.5	なし
S R K	200	有	4	1.0	79.6	3.6	3.0	なし
		無	9	4.7	86.3	4.2	4.9	なし
無接種	無接種	無	30	4.3	89.4	4.5	4.1	なし
S R O	無接種	無	30	4.1	83.8	4.4	3.9	なし
S R K	無接種	無	30	4.6	95.7	4.5	4.1	なし

注) 各項目の調査方法は第24表に準じる。

a) : ピンチ前の強毒CMV接種は1993年12月。

b) : ピンチは1994年2月、3月に各区1株2~3本立ちに整枝し、シェード処理した。収穫調査は4月に行った。

第28表 ブーバルジアにおけるCMV弱毒株の感染維持状況

調査 年月	S R O 感染株	S R K 感染株	接種後 日数
1989年12月	+	+	4カ月
1990年3月	+	+	7カ月
	+	+	11カ月
	+	+	1年1カ月
	+	+	1年3カ月
1992年6月	+	+	2年10カ月
	+	+	3年3カ月
1993年6月	+	+	3年10カ月
	+	+	4年1カ月
1994年3月	+	+	4年7カ月

注) 接種は1989年8月。+は陽性(感染)を示す。

IV. 考 察

1. 病原ウイルス

伊豆大島のブーバルジアに発生するウイルス病の病原ウイルスは、汁液接種での植物検定の反応、血清反応、ウイルス粒子の形態、アブラムシ伝搬性、病徴再現などからCMVと同定された。これまで国内ではブーバルジアのウイルス病に関する発生の報告は皆無であり、筆者ら(1990)がCMVによるモザイク病を報告したのが最初である。その後、荒井ら(1992)により鹿児島県でウイルス病症状株から同じくCMVを検出した報告がなされている。しかし正式な発表ではないものの、埼玉県(昭和62年度関東東海農業試験研究成績・計画概要集－生産環境・病害－)で同症状のブーバルジアからCMVが検出されており、また静岡県などでも本病と同一と考えられるウイルス病症状の発生が認められ、本病は国内で伊豆大島以外の栽培地においても以前から普遍的に発生していたと考えられる。

一方、諸外国においてはブーバルジアのウイルス病病原ウイルスとして、Noordam(1957)がタバコネクロシスウイルス(TNV)、Hakkaart(1979)がCMV、Annaら(1992)がトマト黄化えそウイルス(TSWV)とソラマメウイルトウイルス(BBWV)を検出した報告などがある。これら病原ウイルスのうちTNV、TSWV、BBWVの3種については国内のブーバルジアには発生が認められていない。しかしこれら病原ウイルスによる他作物のウイルス病は日本でも発生しており、またこれらは宿主範囲の広いウイルスであることなどから今後の発生に注意する必要がある。また現地農家ではブーバルジアの種苗をオランダなどの外国から取り寄せる場合が少なくないので、今後これら苗による島内への持込みの可能性も考えられ、十分警戒する必要がある。

CMVは宿主範囲が非常に広いウイルスであり、汁液接種で双子葉・単子葉の草本・木本の45科190種以上の植物に感染が認められ、各種作物の病害がこれまで数多く報告されており、花卉類に発生するウイルス病の主要な病原ウイルスの一つでもある(与良ら、1983、土崎ら、1993)。CMVにはこれまで植物に対する病原性やその病徴という観点から、小室ら(1972)による数種検定植物の病徴に基づいた普通系、アブラナ科系、ヒュ・アカザ系など6系統群に分けたものや、都丸ら(1972)によるタバコの病徴を中心とし軽症系、黄斑系、黄色微斑系など5系統に分類したものが知られている。しかし実際には既知の系統や系統群に類別できない場合も多い(井上ら、1982、前田ら、1983)。ブーバルジアから分離されたCMVのうちブバ10、ブバ12の2分離株を供試しそ

の寄生性について接種試験を行った結果、小室らの分類によるとブバ10が普通系、ブバ12がラゲナリア系と考えられた。ところで分離株ブバ1はⅡの項で供試した接種植物以外にトマト(福寿2号)、センニチコウ、*N. rustica*、*N. hybrida*に全身感染し、またブバ10、ブバ12が病徴を示さなかったコカブもブバ1の接種により上葉がモザイクとなり全身感染した。このことからブーバルジアから分離されたCMVは分離株により植物の寄生性に差異が認められ、一概に寄生性による系統については言及できなかった。

またCMVはウイルスの血清反応の違いによりY型とP型の2種類の血清型が知られている(板原ら、1976、花田ら、1980、1982)。今回分離されたCMVについては血清型による類別を全分離株について行った。竹内ら(1994)は高知県のトウガラシ類で発生するCMVについて調査を行い、Y型とP型の2種類の発生を確認し、また両血清型が同一圃場内で混在していた場合も認めている。本試験においてもY型とP型の2種類が認められ、同一圃場内でY型とP型が混在していた例も確認されている。

さらに血清型を調査した結果、ブーバルジアの採集株No.22と28の2株については、Y型とP型の2種類の血清型のCMVが同一植物体に重複感染していたという新知見が得られた。またブバ22については単一病斑分離する前の*N. glutinosa*感染葉の濃縮ウイルスをポリアクリルアミドゲル電気泳動によりウイルス外被タンパク質を検出したところ、対照CMVと同位置にバンドが認められ、しかもブバ22のバンドは2重のバンドになっていた事実も認められている(図版III-6)。これはYとPの2種類のCMV外被タンパク質が検出され、この時すでにブバ22がYとPの2種CMVの混合株であることを示唆していたものと思われる。

これに似た事例として井上ら(1991)はスターチスで違った病徴を発現する2つのタイプのCMVが同一植物体に混合感染していたことを報告している。しかし分離された2系統はともに血清型がY型であった。Y型とP型の2種類の血清型のCMVが同一植物体に重複感染していたという報告は、国内でははじめてと思われる。またこの重複感染していたNo.22と28の2株のブーバルジアはともに採集時の病徴がくしくも「激モザイク・縮葉」であり、YとPの2種CMVの重複感染はブーバルジアの病徴を激しくさせる作用があるのかも知れないが、詳細については不明である。

一般にY型のCMVの方がP型よりも病徴が激しいと言われているが(花田、1990)、ブーバルジアから分離されたCMVについては、ブーバルジア採集株の病徴

(第10表) 及び各分離株による病徵再現試験(第9表)などの結果から判断してあまり大差はないようである。ただし感染や発病は病徵再現試験の結果から、Yの方が感染しやすく、発病もPより早かった。また現地での分離頻度もYの方が優勢であったことから、ブーバルジアのCMVは血清型についてはY型が主体と考えられた。

またポリアクリルアミドゲル電気泳動により、ブバ10やブバ27のようにサテライトRNAを有する分離株の存在が明らかとなった。トマトではサテライトRNAの存在によりえぞ症状を起こすことなどが知られている(Takanami, 1981)。ブーバルジアの場合、これらの感染していたNo.10や27は採集時の病徵が他と比べて特に特徴的なものではなかったことから判断して、サテライトRNAの有無とブーバルジアの病徵とはあまり関連性はないと考えられた。

ブーバルジアから分離されたCMVについては今回接種試験や電気泳動による解析などを体系的に行わなかったことから、系統やその他の諸性質については言及できなかった。しかしこれまで得られた知見から、ブーバルジアに発生しているCMVには1種類の系統ではなく、複数の系統が存在すると考えられる。

2. 伊豆大島での発生実態

伊豆大島におけるブーバルジアのウイルス病発生状況について、浜田(1987)が現地農家を対照にアンケート調査を行っている。それによるとウイルス病発生の有無については68.7%がその発生を認めていたが、発生程度はかなりひどいというものや全滅といった壊滅的な被害を受けた農家は全くなかった。これらは実際筆者らが現地調査した結果とほぼ一致していた。

またこのアンケート調査の結果を見ると、当時現地ではブーバルジアの奇形花症状(II. 10の項参照)をウイルス病による病徵と混同されていたことが伺える。すなわち発生しやすい品種でハイブリッドホワイトが上位で挙げられ(53.1%)、発生時期は夏が53.1%、また発生部位に花(25.0%)、発生するウイルス症状に奇形花が挙げられていた。これらは、本報で得られた知見と照合するとウイルス病によるものではなく、その品種の遺伝的な要因や温度などの環境要因に起因した症状と同一のものと考えられる。

またアンケート調査では、発生しやすい品種についてはハイブリッド系の全品種が37.5%なのに対し、在来系品種は極めてわずかであった。これは筆者らが実際現地でウイルス病症状株を採取する場合に、ほとんどハイブリッド系の品種であることが多かったのと一致していた。ブーバルジアにはCMVに対する感染・発病の品種間差異があるのかも知れないが、これについては各品種の栽

培される面積の多少によるとも考えられるので、今後検討を要する。

更にアンケート調査では苗の入手方法については自家増殖が大半であり、また島内の他の農家から手に入れるというのがこれに続いた。また自家増殖は3~5年使用するという農家が50%を占め、6~10年使用が37.8%であった。この場合ウイルス病症状株から挿し芽を取る農家はいないと思われるが、本病は時期によりCMVが感染していても発病せず病徵がマスキングされてしまうことがある、ウイルス感染株から採芽してしまうことも多々あると思われる。実際今回行った病原ウイルスの同定試験においても、採集時には外見上健全な2株(No.25、26)からともにCMVが検出されている(第10表)。最初この2株は植物検定で陰性の結果であったが、後日追試験を行いCMVの感染を確認した。またこれとは別に筆者は巡回調査の折り、外見健全な芽を採取しこれらの一部からCMVを検出している。これらの事実から、無病徵のウイルス感染株から挿し芽を取り増殖することにより、圃場内でのウイルス汚染密度が年々高まっていくことが予想される。ただし感染した植物体が1年中無病徵のままであるとは考えにくいので、防除にあたっては作業中などに少しでも怪しいものはその場で抜き取っていくことが重要である。今後はブーバルジアのCMV検出や診断法において、時期別・生育ステージ別・植物体部位別などのウイルス濃度や植物体内の動態を明らかにし、また温度などの環境条件と発病の関係についても検討する必要がある。

本病の伝染環については、今までのところ伝染源植物が明らかにされていないので、不明な点が多い。発生状況調査では、保毒有翅アブラムシの外部からの飛び込みによると考えられるハウス入り口付近や外側の敵での発生のケースが観察されることが多かったが、伝染源植物については明らかにできなかった。現在推定されるおおまかな伝染環は、マスキングされたウイルス感染株から採芽した苗が本圃定植後に1次伝染源となり、この保毒株からアブラムシなどにより周囲に伝搬していくものと考えられる。

3. 弱毒ウイルスによる防除

現在東京都ではウイルスフリー苗増殖配布事業によりチェリーピンクとハイブリッドホワイトの2品種の原種苗を現地に配布し(第1図)、一般栽培地でのウイルスフリー苗の効果も確認されており(高尾ら、1990-a)、現地における安定生産の一翼を担っている。しかしウイルスフリー苗は一般にイチゴ(橋本ら、1977)やサツマイモ(近藤ら、1990)など現地の実際栽培に移されると短期間でウイルスに再感染してしまい、またウイルスフ

リーア苗の方が感染すると在来のものより病徴が激しくなると言われている。本試験においてもウイルスフリー苗に強毒CMVを接種し発病させたところ、生育が極端に不良になることが確認された(第26表)。

また浜田(1989)はブーバルジアのウイルスフリー苗について再汚染のモデル実験を行った結果、近接したところにウイルス感染株がある場合にアブラムシ防除を一切行わないと、ウイルスフリー株は定植後半年以内にウイルスに感染し発病することを報告している。また現地のウイルスフリー苗栽培農家を対照とした聞き取り調査によると、栽培後3年程度でウイルスによる再汚染が起きているとのことである。ただし現地では適当な間隔で薬剤散布によるアブラムシ防除がなされているので、再汚染については深刻な状況とはなっていない。

現在CMVによるモザイク病に対して現地で取られている対策は、①ウイルスフリー苗の利用、②アブラムシの薬剤防除、③発病株の抜取り、④挿し芽は健全株から取り増殖するなどである。しかし②は農家の高齢化などにより労力面で、また③や④は時期などにより保毒植物でもマスキングされてしまうなどの理由で、これら全てを忠実に徹底しなすのは現実的にはなかなか困難である。そこで防除の一環として、弱毒ウイルスによるウイルスフリー苗の再汚染防止対策の可能性について検討を行った。観賞作物での弱毒ウイルスによる防除に関する研究は、国内ではこれまでわずかにホウズキでタバコモザイクウイルスが試験された例があるだけである(大沢ら、1986)。現在CMV弱毒ウイルスの研究は、トマト(吉田ら、1985、佐山ら、1991、清水ら、1992)、メロン(山川ら、1992)、ピーマン(後藤ら、1993)などにおいて進められている。またCMVを含めた2種以上の弱毒ウイルスの複合接種による利用法は、キュウリ(庄司ら、1992、小坂ら、1993)で試験が進められている。このように国内では弱毒CMVによる防除に関する研究は主に野菜類で試験されているが、栄養繁殖性花卉類では本報告がはじめてと思われる。本試験ではSR、SRO、SRKの3種類のCMV弱毒株を供試した。SRはホウレンソウの縮葉症状から分離された系統であり、トマトでその有効性が明らかとなっている(善林ら、1983、岩木ら、1986)。またSRO、SRKは、SRのRNA3をCMV普通系(CMV-O)、加工用トマトからの分離株(CMV-K)のRNA3とでそれぞれの核酸成分を組換えた弱毒株であり、これらもトマトでの有効性が確認されている(花田ら、1986、善林ら、1986、1987)。本試験ではブーバルジアにこれらCMV弱毒株が利用できるかどうか、無病徴で全身感染するか、強毒CMVに対し干渉効果を示すか、花の生育や収量に悪影響はない

か、ウイルスは長期にわたりその感染が維持されるかの以上4点について検討を行った。

CMV弱毒株3種のうち、SROとSRKはブーバルジアに全身感染したが、SRは感染せず接種葉についても感染が認められなかった。また追試験で最初の5倍の濃度(2000μg/ml)で接種しても接種葉にすら感染は認められなかった。以上のことからSRはブーバルジアには感染しないものと考えられた。またSROやSRKについても接種葉で感染が認められたものが、後日上葉での戻し接種やELISA検定でその感染が認められなくなった株があった。これら接種葉から上葉にウイルスの増殖・移行が進まなかった理由については明らかでない。

SROとSRKのトマトでの試験では、SROがSRKよりも干渉効果が優れていることが報告されている(花田ら、1986、善林ら、1986、1987)。ブーバルジアにおいてもSROやSRKのウイルス感染株に強毒CMVの純化ウイルスや粗汁液接種によりその干渉効果を検討した結果、SROは優れた干渉効果を発揮し、強毒CMVによる発病を抑制した。それに比べSRKは時にウイルスフリー株と同等の発病を起こし、その効果はSRKに比べかなり劣った。

なお試験例の一部に、粗汁液接種においてSRKよりSROが多く発病したり(第19表)、SROやSRKが発病し対照の弱毒ウイルス無接種が全く発病しない(第22表)といったように前記の傾向と反する結果があった。これらの理由は、接種源が粗汁液のため接種ウイルス量にばらつきがあり接種むらが生じたか、もしくは各区供試植物の生育状況にばらつきがあったので、弱毒ウイルスの濃度がたまたま減少していたものが含まれていたと考えられる。

ウイルスは当代で感染しても発病は次世代以降である可能性があるので、各干渉効果試験の鉢植苗やハウス内の定植株について接種時の調査終了後、地上部茎葉のピンチを行い、各試験区の萌芽する新芽についても発病調査を行った。その結果、萌芽する新芽の発病状況は接種時の発病状況と一致し、対照の弱毒ウイルス無接種やSRKが多く発病したのに対し、SROは発病が少ないと、全く発病しなかった。以上の結果、SROの干渉効果の有効性が再確認された。

弱毒ウイルスの干渉効果は同じウイルスでもその系統が違うと効果が劣るか、全く効果を発揮しないことが報告されている(長井ら、1986、清水ら、1992)。今回の試験で用いたSROは、粗汁液接種で供試した強毒株ブバ16に対し干渉効果を示したほか、純化ウイルス接種に用いた強毒株CMV-Kに対しても干渉効果を示した。CMV-Kはブーバルジアから分離されたCMVではなく

く、またその病原性は接種したブーバルジアの病徴が激しいことから判断して、ブーバルジアから分離されたCMVより強いと考えられた。その強毒株CMV-Kによる発病を抑制したことから、SROの干渉効果にはかなり期待できると思われた。

ウイルスフリーのブーバルジアにSROやSRKが感染した場合、その生育や収量はウイルスフリーと比較しほぼ同等であった。SROについてはハウス栽培において時折生育が抑制気味になることや、夏季の高温を経由する作で一部に軽微な葉枯症状が発生した。本症状はハウスでのみ観察され、露地では全く観察されなかった。ハウス内は寒冷紗で被覆されていたことから極めて換気不良の状態であり、夏季はハウス内の温度も50°C程度になることもあるので、その影響によるものと考えられた。本試験では防除効果と収量を同時に検討した試験が行われていないので、今後露地栽培で規模を拡大した試験を行い、これらを検討する予定である。

弱毒CMVのSROやSRKは、ブーバルジアに全身感染後長期間その感染が維持され、感染後4年7カ月経過してもその感染が確認されている。なおその間2種弱毒株は特に変異した様子も見受けられなかった。またブーバルジアは挿し芽で増殖するが、その際挿し床はビニール等で密封状態となり、挿し床内は高湿度に保たれる。また低温期には温床線で地温を確保したり、また高温期はそのままの状態でも挿し床内は日中40°C以上になるものと思われ、そのような環境下で10~20日程度育苗される。この挿し床内の高温状態はウイルスを失活させる熱療法やまたは変異させる高温処理に幾分類似しているが、このような環境条件で育苗されてもSROやSRKの感染したブーバルジアに特に変化は認められず、SROとSRKは消失しなかった。

弱毒ウイルスはその必要条件として、①対象作物に病徴を生じないか、生じても実害を与えないこと、②対象の強毒ウイルスに対し長期間強い干渉作用を示すこと、③突然変異などにより強毒性を回復しないこと、④大量に増殖でき、大量接種が可能であること、⑤対象作物以外の作物にも実害を与えないこと、⑥他のウイルスと重複感染しても病徴が激しくならないことの6条件が挙げられている(亀谷、1989)。現在までにブーバルジアでのSROの利用は①、②、③はとりあえずクリアーされたものと考えられる。④は今後検討することとして、⑤については現地で強毒CMVにおいても作物間で相互に伝染した事例が認められないこと、⑥についてはCMV以外に病原ウイルスが見つかっていないことなどから⑤と⑥については当面考慮する必要は少ないと考えられる。

また亀谷(1989)は弱毒ウイルスを積極的に活用でき

る場面として、①同じウイルスやその系統が毎年発生し大きな被害を起こしている病害に対して効果的である、②小面積で育苗し移植する作物に対して効果的である(接種が容易で接種源も少量で可)、③汁液接種の容易なウイルスに対して有効である、④栄養繁殖する作物において有効である(一度弱毒ウイルスを接種し感染させれば長期間干渉効果を発揮することが期待できる)の以上四つの場面を挙げている。伊豆大島のブーバルジアに発生するCMVによるモザイク病は前記の諸点が非常に良くあてはまり、今後も実用化に向けて検討していく予定である。

今後弱毒CMVによる防除法を実用技術としていくためには、効率的接種方法の確立、ハイブリッドホワイトなど他品種での適用性、現地における生産性や防除効果と効果の持続性の確認、アブラムシ伝搬に対する干渉効果やブーバルジアより分離された各CMV系統に対する干渉効果、弱毒CMVの時期別・生育ステージ別の植物体内での濃度変化・体内での動態の解明などを検討し、解決していく必要がある。

ブーバルジアのウイルスフリー苗に弱毒ウイルスを感染させ現地に配布できれば、長期間にわたり強毒ウイルスによる再汚染を防止することが可能となる。この方法はすでに果樹においてカンキツ類でカンキツトリスザウイルスについて、ハッサク類(広島県)、イヨカン(愛媛県)、ユズ・スダチなど(徳島県)で弱毒ウイルス保有苗木の現地配布や導入、検討が進められている(亀谷、1994)。ブーバルジアにおいても今後ウイルスフリー苗にSROをはじめとする有効なCMV弱毒株を感染させ、これら弱毒CMV感染苗を配布するようになれば、一般園場での強毒CMVによる再汚染を防止することが可能となるものと考えられる。

摘要

伊豆大島では1980年頃から特産花卉のブーバルジアに、葉のモザイクや縮葉などのウイルス病症状が発生し、切花の商品価値や生産性を低下させるため問題となっている。本病の防除対策を確立するため、現地での発生状況を調査し、病原ウイルスの同定を行った。また弱毒ウイルス接種によるブーバルジアウイルスフリー苗の再汚染防止対策の可能性について検討した。

1. 島内の本病の発生状況は、調査農家30戸中19戸(発生率63%)であり、発生の程度差はあるものの大島全域でその発生が確認された。また本病の病徴は、葉のモザイク、退緑斑紋、輪紋、縮葉などであり、病徴が激しい場合には著しい生育不良となり、わい化症状を示す。

また罹病株の花は小花数が少なく、花着きが悪くなる。

2. 本病の病原ウイルスは、検定植物での反応、血清反応でキュウリモザイクウイルス(CMV)抗血清と反応したこと、純化ウイルス粒子が約30nmの球状粒子であること、アブラムシにより伝搬されたことなどからCMVと同定された。また分離されたCMVにより原病徵が再現された。

3. ブーバルジアから分離されたCMVについて以下の知見が得られた。

(1) 寒天ゲル内拡散法により各分離CMVの血清型を調べた結果、血清型はY型とP型の2種類が認められた。また2分離株においてY型とP型を示すCMVが同一植物体に重複感染していたことが明らかとなった。その結果、同一植物体にY型とP型の2種類の異なった血清型のCMVが重複感染しているという新知見が得られた。

(2) ポリアクリルアミドゲル電気泳動により本ウイルス核酸を検出した結果、サテライトRNAと考えられる低分子の核酸を有する分離株が一部に認められた。

(3) CMV 2分離株について植物寄生性による系統を判別した結果、普通系統群に近いもの並びにラゲナリア系統群の2系統であった。

4. 上記の試験並びにDN法による電顕観察の結果、本病に関与する病原ウイルスはCMVのみであることが判明した。本病は病徵から「ブーバルジアモザイク病」と命名した。

5. 現地で発生するブーバルジアの品種ハイブリッドホワイトなどの上葉の退色症状や花の奇形について本病との関連を検討した結果、上記症状と本病との因果関係は認められず、これらの症状はCMVによるモザイク病とは無関係であることが判明した。

6. ブーバルジアウイルスフリー苗の再汚染防止対策として、弱毒ウイルスによる防除法について検討した。

(1) CMV弱毒株のSR、SRO、SRKの3種類をそれぞれブーバルジアのウイルスフリー苗に接種した結果、SROとSRKの2種が無病徵で全身感染した。なおSRは全く感染しなかった。

(2) CMV弱毒株SROとSRKの感染したブーバルジアに強毒CMVの純化ウイルスや粗汁液の接種を行い、その干渉効果を検討した。その結果、強毒CMV接種後の発病率並びに発病度は弱毒ウイルス無接種区 \geq SRK区 $>$ SRO区の順に高かった。SRKの干渉効果は不十分であったが、SROの干渉効果は強く、強毒CMVによる発病を著しく抑制した。

(3) CMV弱毒株SROとSRKの感染株とウイルスフリー株とで生育と切花収量について比較栽培を行った。隔離ハウスで2年間(切花7回収穫)、露地で1年

間(切花2回収穫)行った結果、各弱毒CMV感染株は試験期間中無病徵であり、生育や切花の収量・品質もウイルスフリー株とほぼ同程度であった。

(4) CMV弱毒株SROとSRKの感染株は接種後約4年を経過してもその感染を維持し続けていた。

(5) 以上の結果、CMVの弱毒株SROはブーバルジアモザイク病に対して有効と考えられた。

引用文献

- Anna Maria Vaira, Vittoria Lisa and Enrico Luisoni (1992). Spread of two strains of tomato spotted wilt virus in Liguria, North West Italy. Inf. tore Fito 42(2), 59-63.
- 荒井 啓・泊 信義・吉田健美・岩井 久(1992). アマゾンユリ(ユーチャリス)およびブルディアのモザイク症状について(講要). 九病虫研報 38, 204.
- 栄森弘己・花田 薫・亀谷満朗・飯嶋 勉(1990). 伊豆大島のブーバルジアに発生するモザイク病の病原ウイルス. 関東病虫研報 37, 131-133.
- 栄森弘己・亀谷満朗・花田 薫(1994). キュウリモザイクウイルス(CMV)弱毒株によるブーバルジアモザイク病防除の試み(講要). 日植病報 60, 401.
- 後藤英世・松尾和敏・清水時哉・花田 薫・亀谷満朗(1993). キュウリモザイクウイルス(CMV)ダイズ萎縮系に由来する弱毒株の作出(講要). 日植病報 59, 53.
- Hakkaart, F.A. (1979). Virus in bouvardias can be controlled by testing and selection. IPO, Wageningen, Netherlands From Horticultural Abstracts 50, 476.
- 浜田 豊(1987). 伊豆大島におけるブルディアのウイルス症状発生調査. 都農試速報, 51-52.
- 浜田 豊(1989). ウイルスフリー苗のウイルス症状の発生調査. 昭和62, 63年度花き試験成績書. 24-26.
- 花田 薫(1983-a). 寒天ゲル内拡散法. 植物病理学実験法(佐藤昭二ら編). 講談社、東京 pp. 195-197.
- 花田 薫(1983-b). キュウリモザイクウイルスの精製. 植物病理学実験法(佐藤昭二ら編). 講談社、東京 pp. 153-155.
- 花田 薫(1990). 弱毒ウイルス利用によるキュウリモザイクウイルス病の防除. 農及園 65, 949-955.
- 花田 薫(1993). ウィルス分節ゲノム研究法. 植物病原性微生物研究法(脇本 哲監修). ソフトサイエンス社, 東京 pp. 435-446.
- Hanada, K and Tochihara, H (1980). Genetic analysis

- of cucumber mosaic, peanut stunt and chrysanthemum mild mottle viruses. Ann. Phytopath. Soc. Japan 46, 159-168.
- Hanada, K and Tochihara, H (1982). Some properties of an isolate of the soybean stunt strain of cucumber mosaic virus. Phytopathology 72, 761-764.
- 花田 薫・柄原比呂志 (1986) . CMV-SRのRNA 3を組換えた株の干渉力 (講要) . 日植病報 52, 154.
- 橋本光司・吉野正義 (1977) . イチゴウイルスフリー株 利用の現状と問題点. 植物防疫 31, 145-150.
- 井上成信・前田孚憲・光畠興二 (1982) . エビネから分 離されたcucumber mosaic virus. 農学研究 60, 1-11.
- 井上成信・前田孚憲・Harm HUTTINGA・光畠興二(1991). スターチスの同一株から分離された違った病徴を発現 する2種のcucumber mosaic virusについて. 農学研 究 62, 209-223.
- 岩木満朗・善林六朗・花田 薫・渋川三郎・柄原比呂志 (1986) . キュウリモザイクウイルス(CMV)の弱 毒系統を用いたCMVによるトマトモザイク病の防除 日植病報 52(5), 745-751.
- 亀谷満朗 (1989) . 弱毒ウイルス利用によるウイルス病 の防除. 農及園 64, 159-164.
- 亀谷満朗 (1994) . 弱毒ウイルスによるウイルス病防除. 農及園 69, 137-142.
- 小室康雄 (1972) . TMVおよびCMVの系統とその判 別法. 植物防疫 26, 293-297.
- 近藤恵美子・佐藤光興・小林延子・橋本光司 (1990) . サツマイモ組織培養株のウイルス再感染. 関東病虫研 報 37, 43-45.
- 小坂能尚・福西 努・外間也子・藤澤一郎・亀谷満朗 (1993) 、キュウリモザイクウイルス(CMV)、カ ポチャモザイクウイルス(WMV-2)及びズッキー 二黄斑モザイクウイルス(ZYMV)弱毒株複合接種 の干渉効果 (講要) . 日植病報 59, 324.
- 前田孚憲・井上成信 (1983) . テッポウユリから分離さ れたキュウリモザイクウイルスの性質. 農学研究 60, 69-80.
- 長井雄治・深見正信 (1986) . ピーマンにおけるタバコ モザイク・ウイルストウガラシ系弱毒ウイルスC- 1421の特性と利用. 千葉農試研報 27, 153-168.
- Noordam (1957). Tobacco necrosis virus in associa- tion with a superficial infection of potato- tubers. Tijdschr. Plziekt., 63.5, pp. 237-241.
- 大沢高志・森田 儀・柏崎 哲・山下修一・土居養二 (1986) . タバコモザイクウイルス(TMV)による ホウズキモザイク病の新発生と弱毒ウイルス株の作出 (講要) . 日植病報 52, 562.
- 佐山春樹・佐藤貞一・小渕正幸・夏秋知英 (1991) . 弱 毒キュウリモザイクウイルス(CMV)によるトマト のCMV防除 (講要) . 日植病報 57, 461-462.
- 清水時哉・赤沼礼一・花田 薫 (1992) . CMV弱毒ウ イルスとサテライトRNAを組み合わせたトマトモザ イク病の防除. 関東病虫研報 39, 69-71.
- 庄司俊彦・善林六朗 (1992) CMV及びZYMVの弱毒 ウイルスの接種が萎ちよう症の発現に及ぼす影響. 関 東病虫研報 39, 95-96.
- Takanami, Y (1981). A striking change in symptoms on cucumber mosaic virus-infected tobacco plants induced by a satellite RNA. Virology 109, 120-126.
- 高尾保之・小菅悦男 (1990-a) . 現地におけるブーバル ジアウイルスフリー苗の生産力. 都農試速報, 89-90.
- 高尾保之・小菅悦男・栄森弘己 (1990-b) . ブーバルジ ア "ハイブリッドホワイト" における新葉のクロロフ ィルの退色について. 都農試速報, 91-92.
- 高尾保之・小菅悦男 (1991) . ブーバルジアの無病化苗 栽培試験(第4報) 苗質とシェード中の高温が生育及 び奇形花の発生に及ぼす影響. 都農試速報, 123-124.
- 竹内繁治・古谷眞二 (1994) . キュウリモザイクウイル ス血清型YおよびPのトウガラシ類における発生実態 (講要) . 日植病報 60, 399-400.
- 柄原比呂志・田村 実 (1976) . フキのウイルス. 日植 病報 42, 533-539.
- 都丸敬一・宇田川晃 (1972) . わが国のタバコに発生す るウイルスの種類・系統と判別法. 植物防疫 26, 251- 256.
- 土崎常男・柄原比呂志・亀谷満朗・柳瀬春夫編 (1993). 原色作物ウイルス病事典 738pp. 全国農村教育協会, 東京.
- 与良 清・斎藤康夫・土居養二・井上忠男・都丸敬一編 (1983) . 植物ウイルス事典 632pp. 朝倉書店, 東京.
- 山川隆平・田中 孝・菊地繁美・東海林久雄(1992). キ ュウリモザイクウイルス(CMV)の弱毒ウイルス株 (SH 208)によるメロンでの防除効果 (講要) . 日 植病報 58, 116.
- Yoshida, K, Goto, T and Iizuka, N (1985). Attenuated isolates of cucumber mosaic virus produced by satellite RNA and cross protection between attenuated isolates and virulent ones. Ann. Phytopath. Soc. Japan 51, 238-242.
- 善林六朗・花田 薫・岩木満朗・渋川三郎 (1983) . ホ

ウレンソウに縮葉症状を起こすキュウリモザイクウイルスのI系統(CMV-SR)。日植病報 49, 716-719.
善林六朗・花田 薫・柄原比呂志・渋川三郎(1986)。
強毒CMVに対してCMV-SRの核酸を置換したウ

イルス(CMV-SRO)が示す露地トマトでの干渉効果(講要)。日植病報 52, 561-562.
善林六朗・亀谷満朗・柄原比呂志(1987)。キュウリモザイクウイルス弱毒株の噴霧接種によるトマトモザイク病の防除。関東病虫研報 34, 50-51.

The causal virus of mosaic diseases occurring on bouvardia,
Bouvardia × hybrida hort., in Izu Oshima Island and
attempts to control by attenuated virus

Koki EIMORI

Summary

The mosaic diseases of bouvardia, *Bouvardia × hybrida* hort., have been widely occurring in Izu Oshima Island, Tokyo, since early 1980s, and it caused large economical loss because its flower quality became low. In this paper, author reported the results of investigations on the causal virus of mosaic diseases of bouvardia and the control of the disease with the pre-inoculation of attenuated viruses.

1. In the field survey in Izu Oshima Island, the mosaic disaeases were observed in nineteen fields of thirty fields (the rate of disease occurrence :63%), and its occurrence were confirmed in the whole regions of Izu Oshima Island. The disease symptoms were mosaic, mottle, ringspot and rugose in leaves. When plants were affected severely with the disease, its groth was suppressed and became dwarf. Their flower was poor and became bad in quality.

2. The causal virus was identified as cucumber mosaic virus (CMV) based on host reaction, serorogical relationships, virus particles, aphid transmissibility and other properties, and these isolates of CMV were pathogenic in bouvardia.

3. The properties of CMV isolated from bouvardia were as follows.

(1) The investigation on the serotype of twenty eight isolates of CMV by agar gel diffusion method showed that nineteen isolates were Y serotype and six isolates were P serotype. One isolate was not distinguishable because its spur was not clear. Two plants were infected double with Y serotyoe isolate and P serotyoe isolate of CMV.

(2) In 1.5% agarose gel electrophoresis of viral nucleic acid, CMV contained 4 kinds of RNA and in 5% polyacrylamide gel electrophoresis of viral nucleic acid, some isolates showed to contain satellite RNA.

(3) These isolates were grouped to two strains owing to host reactions, namely one was ordinary strain and the other was Lagenaria strain.

4. In electron microscopy using DN method, diseased samples contained spherical particals, about 30nm in diameter and all samples were not observed rod-shaped virus ans fibrous virus at all. From these results, the causal virus was CMV.

5. Symptoms showing yellowing and malformation on top leaves were observed in hybrid white line of bouvardia, however, CMV or other virus was not detected from these plants, showing to be not realated with mosaic disease by CMV.

6. The control of mosaic disease by pre-inoculation of attenuated strain of CMV in virus-free bouvardia plants was investigated.

(1) Each attenuated strain of CMV-SR, -SRO, -SRK was inoculated to young virus-free bouvardia plants. SRO and SRK strains infected without symptom in bouvardia, but SR did not infect.

(2) When bouvardia plants infected with SRO or SRK were inoculated with challenge virus, severe strain of CMV, SRO provided excellent cross portection, and also SRK showed cross protection a little. This severe strain of CMV caused mosaic symptoms in virus-free bouvardia plants inoculated.

(3) The growth, yield and flower quality of SRO or SRK infected plants were almost equivalent with those of virus-free plants in isolated cultivation for two years and in field cultivation for one year tested.

(4) SRO and SRK had been maintained in vegetatively propagated plants for about four years after the inoculation although those plants were symptomless.

(5) These results showed that attenuated CMV, SRO, was effective to control mosaic disease in bouvardia plants.

図版説明

図版I

1. 葉のモザイク症状
2. 葉の黄色を伴ったモザイク症状
3. 激しいモザイク・縮葉症状
4. 葉の輪紋症状
5. モザイク病発病株の開花(葉にモザイクや脈間線条斑あり、花には病徴なし:品種チェリーピンク)
6. 上葉の退色症状(ウイルス症状ではない:品種ハイブリッドホワイト)
7. 奇形花症状(ウイルス症状ではない:品種ハイブリッドホワイト)
8. ブーバルジア分離CMVの接種による病徴再現

図版II

1. *C. amaranticolor* 接種葉の局部病斑
2. ササゲ接種葉の局部病斑
3. ソラマメ接種葉の局部病斑
4. *N. glutinosa* 上葉のモザイク症状
5. タバコ(B Y)上葉のモザイク症状
6. ペチュニア上葉の糸葉症状
7. キュウリ上葉のモザイク症状
8. カボチャ接種葉の局部病斑
9. カボチャ上葉の萎縮・退緑斑点
10. メロン上葉のモザイク症状

図版III

1. ブーバルジアから分離されたCMVの寒天ゲル内拡散法によるCMV抗血清との反応
Y: CMV-Y抗血清、P: CMV-P抗血清
Y: CMV-Y型株、L t: CMV-P型株
10: 分離株ブバ10(血清型P)、12: ブバ12(Y)
13: ブバ13(Y)、29: ブバ29(P)
2. ブーバルジアから分離されたCMVの血清型YとPの重複感染株(分離株ブバ28)における寒天ゲル内拡散法によるCMV抗血清との反応
Y: CMV-Y抗血清、P: CMV-P抗血清
Y: CMV-Y型株、L t: CMV-P型株
27: 分離株ブバ27(血清型Y)、28: ブバ28(Y+P)
3. ブーバルジアから分離されたCMVの血清型YとPの重複感染株(分離株ブバ22)における寒天ゲル内拡散法によるCMV抗血清との反応
Y: CMV-Y抗血清、P: CMV-P抗血清
Y: CMV-Y型株、L t: CMV-P型株
22: 分離株ブバ22(血清型Y+P)

4. ブーバルジアから分離されたCMVの純化ウイルス粒子(図中のバーは100nm)
5. ブーバルジアから分離されたCMVの核酸の電気泳動図
C: CMV-OY2(サテライトRNAあり)、H: 健全植物葉濃縮汁液、黒い数字0~4: ブーバルジア分離CMV、0: 分離株ブバ20、1: ブバ21、2: ブバ22、3: ブバ23、4: ブバ24、白い数字1~4: 核酸成分名、S: サテライトRNA
6. ブーバルジアから分離されたCMVの外被タンパク質の電気泳動図(矢印の箇所がCMV外被タンパク質のバンド部分)
C: CMV-OY2、H: 健全植物葉濃縮汁液、10: 分離株ブバ10(血清型P)、12: ブバ12(Y)、20: ブバ20(Y)、21: ブバ21(Y)、22: ブバ22(Y+P)、29: ブバ29(P)
7. 強毒CMVの粗汁液接種に対する干渉効果(鉢植苗)
左: 弱毒CMV無接種株(発病)、右: SRO接種株(無病徴)
8. 強毒CMVの純化ウイルス接種(100μg/ml)に対する干渉効果(鉢植苗)
左上: SKR接種株(強毒接種、発病)、右上: SRO接種株(強毒接種、無病徴)、左下: 弱毒CMV無接種株(強毒無接種、健全)、右下: 弱毒CMV無接種株(強毒接種、発病)

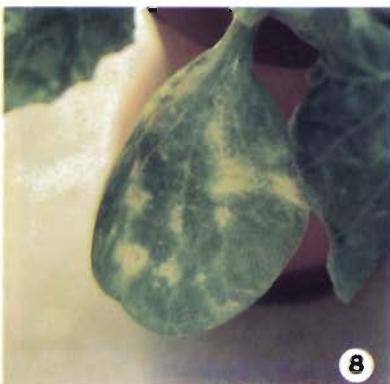
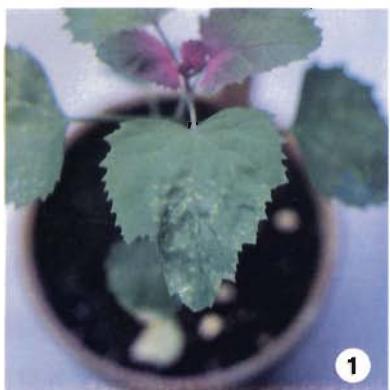
図版IV

1. 強毒CMVの純化ウイルス接種(100μg/ml)に対する干渉効果(SRO接種区、ハウス内定植株)
矢印は強毒CMVを接種した株(接種20日後、無病徴)
2. 同上(弱毒CMV無接種区、ハウス内定植株)
矢印は強毒CMVを接種した株(接種20日後、発病)
3. 強毒CMV接種株のピンチ後萌芽における新芽の発病の有無(ハウス内定植株)
手前: 弱毒CMV無接種株(強毒接種時発病、ピンチ後萌芽した新芽も同じく発病)、奥: SRO接種株(強毒接種時無病徴、ピンチ後萌芽した新芽も同じく無病徴)
4. 隔離栽培における比較栽培状況
左: 弱毒CMV無接種区(ウイルスフリー)、右: 弱毒CMV接種区(手前がSRO接種区、奥がSKR接種区)
5. 隔離栽培による各試験区の収穫切花(品種: チェリーピンク)

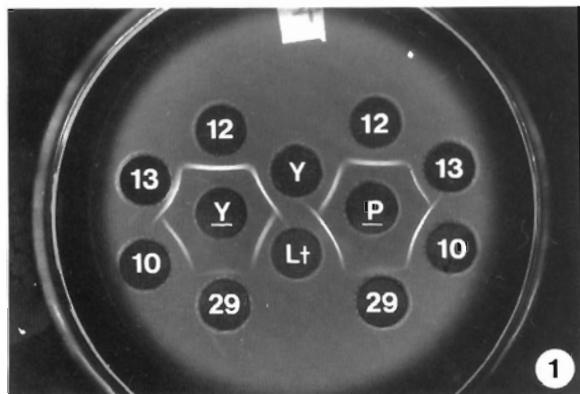
図版 I



図版 II



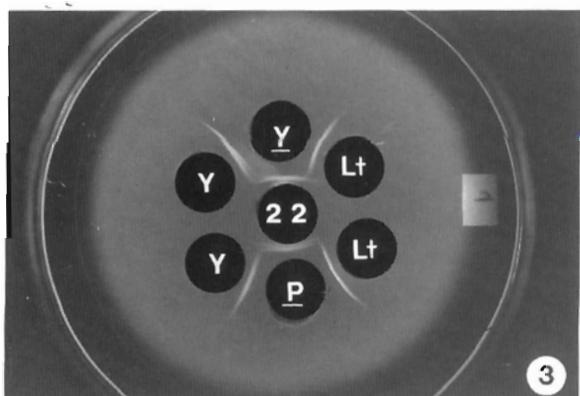
図版Ⅲ



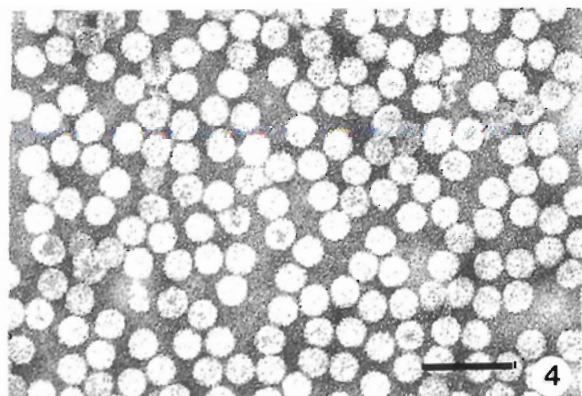
1



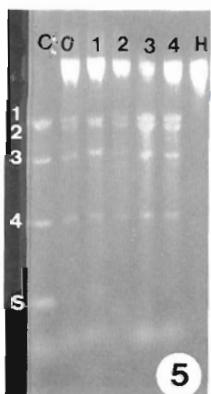
2



3



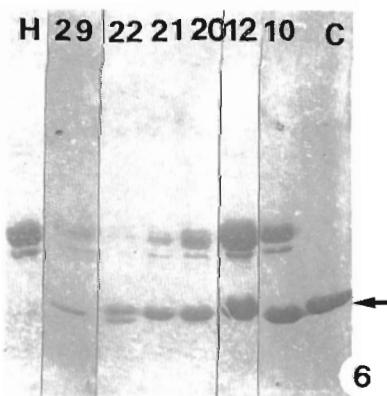
4



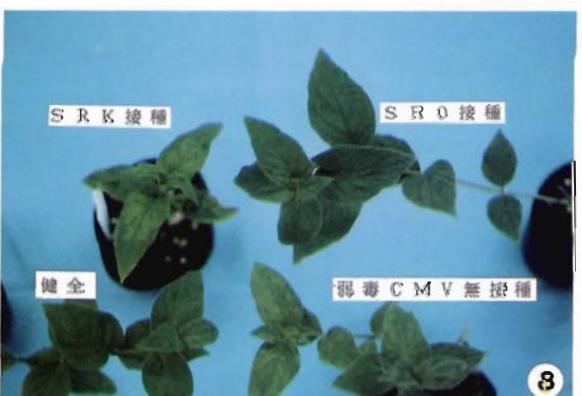
5



7



6



8

図版IV

