

## 富山県で発生したトマト黄化えそウイルス (Tomato spotted wilt virus : TSWV) による レタス黄化えそ病 (新称) とキクえそ病

守川 俊幸\*・堀井 香織\*\*・築尾 嘉章

Toshiyuki MORIKAWA\*, Kaori HORII\*\* and Yoshiaki CHIKUO :  
Occurrence of virus diseases of lettuce and chrysanthemum caused  
by tomato spotted wilt virus in Toyama prefecture.

### Summary

Novel diseases on lettuce and chrysanthemum have occurred in a greenhouse in Toyama Prefecture since 1994. The diseased lettuce showed yellowish necrotic mosaic on leaves. The diseased chrysanthemum developed necrotic spots surrounded by chlorosis on leaves, and necrotic streaks on stems. The causal viruses from diseased plants gave same symptoms on diagnostic plants. Dip preparations of the infected leaves of *Nicotiana glutinosa* with each viral isolates contained enveloped quasi-isometric or pleomorphic particles, 76–100nm in diameter. Furthermore, TSWV-O antibody reacted with both infected plants. So, we determined that these diseases were both caused by tomato spotted wilt virus (TSWV). This is the first occurrence of TSWV on lettuce in Japan.

1994年10月に富山県内のキク圃場で、茎にえそを、葉に退緑斑を形成する病害が発生した。このような、病徴を示す病害はわが国では未報告であったことから、その病原について調査を開始した。その後、1995年、加藤らによって静岡県で発生した類似の病害がトマト黄化えそウイルス (Tomato spotted wilt virus : TSWV) に起因することが報告され、「キクえそ病」と呼称することが提案された<sup>9)</sup>。そこで、富山県で採集した標本を加藤氏に送付して診断を依頼したところ、キクえそ病であるとの結果を得た。翌1995年10月には、再び同一圃場において同様な病害の発生が認められ、発生程度は拡大傾向にあったことから、現地での発生状況を再度調査したところ、キクと同じ圃場内で栽培されていたレタスに、黄化やえそを伴うモザイクを生じる病害が発生しているのが確認された。そこで、キクとレタスの発病株から各々ウイルスを分離し、その性状を調査した結果、両者とも TSWV と同定された。北陸地域における本ウイルスによる病害発生に関する報告は見あたらない。また、

本ウイルスのレタスでの発生はわが国では報告されていないことから、ここにその結果をまとめて報告する。

なお、本研究を行うにあたり、キクえそ病の同定と有益なご助言を頂いた静岡県農業試験場加藤公彦氏、貴重な TSWV 抗体を分譲して下さいた農業研究センター本多要八郎博士、県内でのアザミウマ類発生状況についてご教授下さった富山県病害虫防除所村崎信明氏、現地での発病調査にご協力頂いた富山県庁普及技術課稲葉忠之氏、砺波農業改良普及センター金森松夫氏、富山農業改良普及センター仲俣成昭氏および富山県農業技術センター野菜花き試験場島嘉輝氏に感謝の意を表す。

### 材料および方法

#### 1. 発生状況調査

1995年11月に富山県東部の発生圃場において、キクとレタスでの病徴や発生状況について調査を行った。なお、キクの品種ごとの発病株率は遠観によって、1994年のキクでの発生は生産者からの聞き取り調査によった。

#### 2. ウイルスの病原性

キクとレタスの発病株からそれぞれ分離したウイルス分離株 (キク分離株, レタス分離株) を *Nicotiana glutinosa* に接種し、モザイクを生じた上位葉を 10mM 亜硫酸ナトリウムを含む 0.1M リン酸緩衝液 (pH7.1) 中で磨砕して接種源とした。第1表に示した 23 種の植物にカーボランダムを用いて接種し、ガラス温室内で約

富山県農業技術センター野菜花き試験場 Toyama Vegetable and Ornamental Crops Experiment Station, Agricultural Research Center, Tonami, Toyama 939-13

\* 現在 同農業試験場 Present address : Toyama Agricultural Experiment Station, Agricultural Research Center, Toyama, Toyama 939

\*\* 砺波農業改良普及センター Tonami Agricultural Extension Center, Tonami, Toyama 939-13

1カ月間にわたり病徴の有無を観察した。なお、無病徴のものについては *Chenopodium quinoa* に接種して感染の有無を確認した。

### 3. ウイルスの汁液中の安定性

各ウイルス分離株の *Nicotiana glutinosa* 感染葉を5倍量の0.1Mリン酸緩衝液(pH7.0)中で磨砕した後、2重のガーゼで濾過して得られた粗汁液を供試した。耐熱性の試験は粗汁液を有検試験管に入れて、常法どおり所定の温水に10分間浸漬した。耐保存性の試験は粗汁液を有検試験管に小分けして20℃で保存し、一定時間の経過毎に取り出して用いた。なお、各試験区の感染性の検定には *C. quinoa* 上の、局部病斑形成の有無によった。

### 4. 電顕観察

各ウイルス分離株の *Nicotiana glutinosa* 感染葉を10mM亜硫酸ナトリウムを含む0.1Mリン酸緩衝液(pH7.1)中で磨砕し、得られた粗汁液を数分間グリッドにのせた後、蒸留水で洗浄し、1%グルタルアルデヒドで数分間固定した。さらに、蒸留水で洗浄した後、2%リタングステン酸溶液(pH6.4)で染色して、透過型電子顕微鏡下でウイルス粒子の観察を行った。

### 5. 血清試験

各ウイルス分離株の *Nicotiana glutinosa* 感染葉を検定材料に用い、TSWV-O抗体(農研センターウイルス病診断研究室から供与)との反応を dot-immunobinding assay (DIBA法)<sup>9)</sup>によって検定した。なお、DIBA法は以下のような簡略化した方法でおこなった。すなわち、TBSで磨砕した植物磨砕液をニトロセルロース膜に滴下し、風乾後、3%スキムミルクを含むTBSに30分間浸漬し、次に、抗体(0.5 $\mu$ g/ml)、ALP標識抗ウサギIgG-ヤギIgG(2000倍希釈, Sigma, A8025)、2%PVPと1%BSAを含むTBSに室温で1時間浸漬した。TBSで3回、AP9.5で1回洗浄した後、基質で発色させた。

## 結 果

### 1. 病 徴

キクでは葉に退緑斑を生じ、その部分から黄化し、次第に枯れ上がる(図版1, 2)。これら発病葉の付近の茎にはえそを生じる(図版3)。また、茎の症状が激しい株ほど草丈が低くなる。なお、生育ステージによっては茎にえそを生じない場合が認められた。

レタスでは葉に黄化やえそを伴うモザイクを生じて奇形になるとともに、株全体が萎縮する。重症株では、頂部が壊死して枯死する(図版4)。また、上述壊死部に灰色かび病菌が2次感染する例が認められた。

### 2. 発生状況

レタスでは1995年の10月中下旬に発生が認められ、発病率は20%程度であった。その後は、レタスの栽培を取りやめたため発生は認められない。

キクでは1994年以降毎年発生が認められ、秋ギクの電照抑制栽培においては10月中下旬(消灯後約10日目にあたる)、草丈70~80cmの頃に茎えそをともなう顕著な症状が発生し、その親株および夏ギクのハウス促成栽培では2~3月、草丈30cm程度の頃に葉に退緑斑や黄化を生じて萎縮する症状が発生した。なお、1994年には発生品種は2品種のみで、それぞれ数%の発病であったのに対して、翌年には4品種で発生が認められ、発病率は10~70%と増加した。

### 3. 病原性

キク分離株とレタス分離株の寄主範囲とその反応は全く同一であり、*Nicotiana tabacum* (White Burley)、*N. glutinosa*、*Physalis floridana*、*Datura stramonium*、ササゲ(黒種三尺)、センニチコウに全身感染し、ペチュニア、インゲン、キュウリ(四葉)、*Chenopodium quinoa*、*C. amaranticolor*、ツルナには局部感染した(第1表)。ハウレンソウには全身感染したが、株全体がわい化する以外は無病徴であった。また、両分離株ともレタスに(図版5)、キク分離株はキクに、感染して原病徴を再現した。

### 4. ウイルスの汁液中の安定性

キクとレタスから分離されたウイルスは、ともに耐熱性が45~50℃、耐保存性が8~10時間(20℃)であった。

### 5. 電顕観察

キク分離株、レタス分離株とも *N. glutinosa* の上位葉から径76~100nmの皮膜を有する球形~亜球形のウイルス粒子が検出された(図版6)。

### 6. 血清反応

DIBA法によって両分離株の接種植物に陽性反応が認められた。なお、本試験では抗体とALP標識-抗ウサギIgG:ヤギIgGを同時に加えて反応させたが、感染 *N. glutinosa* 葉では1000倍希釈液でも十分な発色が認められた(図版7)。

## 考 察

キクとレタスから分離されたウイルスは、互いに検定植物の反応が一致し、検出されたウイルス粒子は皮膜を有する独特な形状を有することから、*Tospovirus* に属する同一のウイルスと考えられた。*Tospovirus* に属するウイルスとして、1996年刊行の「*Virus of Plants*」<sup>1)</sup>では、Definitive speciesとしてTomato spotted wilt virus (TSWV)、Impatiens necrotic spot virus

第1表 TSWV (キク分離株とレタス分離株) に対する検定植物の反応

接種植物	キク分離株		レタス分離株	
	接種葉	上位葉	接種葉	上位葉
<i>Nicotiana tabacum</i> (White Burley)	NS	Mo	NS	Mo
<i>N. rustica</i>	CS	Mo, Vn	CS	Mo, Vn
<i>N. bentamiana</i>	CS	Mo	CS	Mo
<i>N. glutinosa</i>	NS	Mo, Vn	NS	Mo, Vn
<i>Physalis floridana</i>	NS	Mo	NS	Mo
<i>Datura stramonium</i>	NS	Mo, Vn	NS	Mo, Vn
ペチュニア	NS	O	NS	O
トマト (桃太郎)	CS	Mo	CS	Mo
ササゲ (黒種三尺)	NS	Mo, TN	NS	Mo, TN
インゲン (トックロップ)	CS	O	CS	O
エンドウ (スナック)	CS	O	CS	O
ダイズ (エンレイ)	CS	O	CS	O
キュウリ (四葉)	CS	O	CS	O
センニチコウ	NS	Mo	NS	Mo
<i>Chenopodium quinoa</i>	CS	O	CS	O
<i>C. amaranticolor</i>	NS	O	NS	O
ハウレンソウ (キング)	O	O, (+)	O	O, (+)
フダンソウ	O, CS	O	O, CS	O
ツルナ	CS	O	CS	O
カブ	CS	O	CS	O
キンセンカ	CS	CS, Mo	CS	CS, Mo
レタス (サマーグリーン他)	O, CS	Vn, Mo	O, CS	Vn, Mo
キク	O, CS	CS, NS	O, CS	-

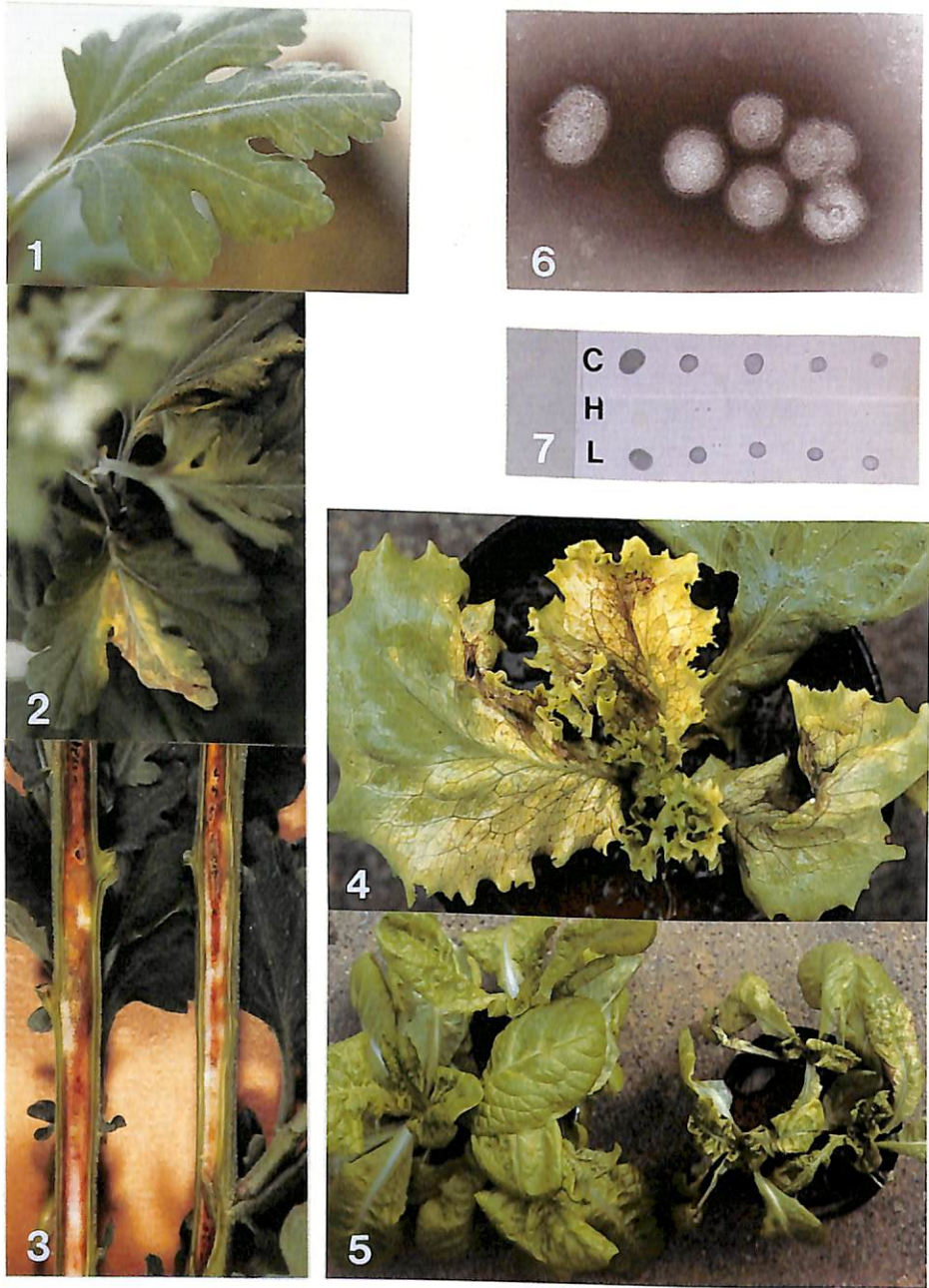
注) NS: えそ斑, CS: 退緑斑, Mo: モザイク, Vn: 葉脈えそ, TN: 頂部えそ, O: 無病徴,  
(+): 潜在感染, -: 調査していない

(INSV), Peanut yellow spot virus (PYSV) を, Tentative species として Groundnut ringspot virus (GRSV), Tomato chlorotic spot virus (TCSV) を採用している。このほかに, Watermelon silver mottle virus (WSMV)<sup>5,17)</sup>, Bud necrosis virus (BNV)<sup>12)</sup>, Melon spotted wilt virus (MSWV)<sup>9)</sup> が *Tospovirus* として報告されている。本ウイルスは TSWV-O 抗体と反応したことから, TSWV あるいは TSWV と血清学的に近縁なウイルスであると考えられた。TSWV 以外の *Tospovirus* のうち, PYSV, BNV, MSWV は TSWV 抗体とほとんど反応しないのに対し, INSV, WSMV は TSWV 抗体とわずかに反応する場合があることが知られている<sup>1,3,12,15)</sup>。ただし, INSV はトマト, タバコ (White Burley), *Datura stramonium* に全身感染せず, ペチュニアに全身感染すること<sup>15)</sup>, WSMV はキュウリに全身感染し, ハウレンソウ, レタス, ササゲに感染しない<sup>5)</sup> 点でそれぞれ本ウイルスとは異なった。また, 本ウイルスはキュウリ, ペチュニアには全身感染

せず, *Datura stramonium* やトマトに全身感染する点で MSWV, PYSV と異なった。一方, TSWV の寄主範囲やその反応は<sup>10)</sup>, 一部を除いて本ウイルスのものとよく一致した。以上のことから, 本ウイルスをトマト黄化えそウイルス Tomato spotted wilt virus (TSWV) と同定した。なお, わが国におけるレタスでの本ウイルスの発生はこれが最初であることから, 「レタス黄化えそ病」(新称) と呼称することを提案する。

TSWV を媒介する 9 種のアザミウマ類のうち, 富山県ではダイズウスイロアザミウマ, ネギアザミウマ, ヒラズハナアザミウマ, ミカンキイロアザミウマの発生が認められる。このうち, ミカンキイロアザミウマは他の種に比べて媒介能が高いことが知られており<sup>16)</sup>, 海外では本種の発生と TSWV の初発あるいは拡大と一致する例が報告されている<sup>2,13)</sup>。本県においても, 1995 年に本種の発生が初確認され, 該当圃場においては 1996 年に発生が確認されている (富山県病害虫防除所調査)。

キクでの TSWV の発生は静岡県, 富山県の他, 愛知



- 1 キクの病徴 (葉の退緑斑)
- 2 キクの病徴 (葉の黄化)
- 3 キクの病徴 (茎のえそ)
- 4 レタスの病徴 (黄化とえそを伴うモザイク)
- 5 レタスでの病徴再現 (左: 無接種, 右: レタス分離株接種)
- 6 検出されたウイルス粒子 (キク分離株)
- 7 DIBA法における TSWV-O抗体との反応

C: キク分離株感染 *N. glutinosa* 葉, H: 健全 *N. glutinosa* 葉, L: レタス分離株感染 *N. glutinosa* 葉, 左から葉磨砕液の 10, 50, 100, 500, 1000 倍希釈液

県等で、ピーマン、トマトなどでは奈良県、茨城県、神奈川県等々ですでに認められている<sup>14)</sup>。ミカンキイロアザミウマにあつてはすでに全国的に発生拡大傾向にあり<sup>7)</sup>、特に、キクでは種苗の移動とあいまって全国的な流行となる可能性があると考えられる。また、ミカンキイロアザミウマはTSWVのみならずTCSVやGRSVにおいても他のアザミウマ種に比べても媒介効率がよく、さらにINSVにおいては、媒介能を有するのはミカンキイロアザミウマのみである<sup>16)</sup>。よつて、ミカンキイロアザミウマの拡大定着によつて、これまで発生が認められていなかったTSWV以外のTospovirusが発生する条件が整つたものと考えられた。以上のことから、今後、わが国においてもTSWVを代表とするTospovirusによる病害の発生拡大が懸念される。

現在、本県ではキクえそ病の診断依頼があつた場合、DIBA法<sup>9)</sup>やTBIA法<sup>13)</sup>を用いて診断を行っているが、感染個体であっても検出部位によつてTSWVが検出されない例がしばしば認められた(未発表)。また、夏期の高湿時には病徴が現れないことなどから、現在までのところ血清学的な診断と病徴による診断を併用しても、感染株を完全に除去することは困難である。いずれにせよ、アザミウマ類の防除が困難であること、TSWVが広い宿主範囲を持つことなどから、今後本病がキクの重要病害となる可能性が高いものと考えられた。

TSWVによる病害の防除には、アザミウマ類の防除、伝染源になる感染株や越冬雑草<sup>6)</sup>の除去等の総合的な対策を講じる必要がある。これによつてレタスなどの種子繁殖性の作物では一定の防除効果が期待できる。しかし、キクなどの栄養繁殖性の作物においては、完全な伝染源の除去が困難であり、一旦、感染率が高まつた後では、圃場での蔓延を防ぐことが容易ではない。したがつて、精度の高い診断方法や健全種苗の維持と供給体制が早期に確立されることが望まれる。

### 引用文献

- 1) Brunt, A. A., Crabtree, K., Dallwitz, M. J., Gibbs, A. J. and Watson, L. (eds) (1996) Virus of Plants-Descriptions and Lists from the VIDE Database. 1484pp. CAB International, U.K.
- 2) Dal Bó, E., La Plata, Ronco, L., Alippi, A. M., La Plata and Fernández, R. (1989) Tomato spotted wilt virus on chrysanthemum in Argentina. *Phytopathology* 79: 538 (abstract).
- 3) Hanada, K., Tsuda, S., Kameya-Iwaki, M. and Tochiwara, H. (1993) Distinct properties of nucleocapsid of a watermelon isolate of tomato spotted wilt virus. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan* 59: 500~506.
- 4) 日比忠明 (1984) DIBA 法による植物ウイルスの検出法. *植物防疫* 55: 1~8.
- 5) Iwaki, M., Honda, Y., Hanada, K., Tochiwara, H., Yonaha, T., Hokama, K. and Yokoyama, T. (1984) Silver mottle disease of watermelon caused by tomato spotted wilt virus. *Plant Dis.* 68: 1006~1008.
- 6) Johnson, R. R., Black, L. L., Hobbs, H. A., Valverde, R. A., Story, R. N. and Bond, W. P. (1995) Association of *Frankliniella fusca* and three winter weeds with tomato spotted wilt virus in Louisiana. *Plant Dis.* 79: 572~576.
- 7) 片山晴喜・多々良明夫 (1994) ミカンキイロアザミウマの最近における分布拡大. *植物防疫* 48: 502~504.
- 8) 加藤公彦・牧野孝宏・亀谷満朗・花田 薫 (1995) トマト黄化えそウイルス普通系統 (TSWV-O) によるキクえそ病 (新称). *日植病報* 61: 275 (講要).
- 9) 加藤公彦・花田 薫・亀谷満朗・津田新哉 (1996) メロン黄化えそウイルス (MSWV) のヌクレオキャプシドプロテインの血清学的性質およびアミノ酸シークエンス. *日植病報* 62: 342 (講要).
- 10) 小島博文・尾崎武司・芳岡昭夫・井上忠男 (1976) Tomato spotted wilt virus によるトマトの黄化えそ病. *日植病報* 42: 287~294.
- 11) 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* 80: 824~828.
- 12) Reddy, D. V. R., Ratna, A. S., Sudarshana, M. R., Poul, F. and Kiran Kumar, I. (1992) Serological relationships and purification of bud necrosis virus, a tospovirus occurring in peanut (*Arachis hypogaea* L.) in India. *Ann. appl. Biol.* 120: 279~286.
- 13) Roselló, S., Diez, M. J. and Nuez, F. (1996) Viral diseases causing the greatest economic losses to the tomato crop. I. The Tomato spotted wilt virus-a review. *Scientia Horticulturae* 67: 117~150.
- 14) 津田新哉 (1994) わが国に発生するトマト黄化えそウイルスとその特性. *植物防疫* 48: 497~501.
- 15) Vaira, A. M., Roggero, P., Luisoni, E., Masenga, V., Milne, R. G. and Lisa, V. (1993) Characteri-

- zation of two Tospoviruses in Italy : tomato spotted wilt and impatiens necrotic spot. *Plant Pathol.* 42 : 530~542.
- 16) Wijkamp, I., Almarza, M., Goldbach, R. and Peters, D. (1995) Distinct levels of specificity in thrips transmission of tospoviruses. *Phytopathology* 85 : 1069~1074.
- 17) Yeh, S.-D. and Chang, T.-F. (1995) Nucleotide sequence of the N gene of watermelon silver mottle virus, a proposed new member of the genus *Tospovirus*. *Phytopathology* 85 : 58~64.  
(1997年6月25日受領)
-