

Olpidium 菌のチューリップ条斑ウイルス(TuSV)およびチューリップ 微斑モザイクウイルス(TMMMV)媒介能と植物寄生性

守川俊幸・堀井香織・望月知史*・大木健広*・津田新哉*・向井 環**

Toshiyuki MORIKAWA, Kaori HORII, Tomofumi MOCHIZUKI, Takehiro OHKI, Shinya TSUDA and Tamaki MUKAI:

Transmissibility with Tulip streak virus and *Tulip mild mottle mosaic virus*, and host specificity of *Olpidium* spp.

TuSVおよびTMMMVは*Olpidium virulentus*によって媒介されるが、菌株間のウイルス媒介能や植物寄生性の差異は十分に明らかになっていない。そこで、*O. virulentus* 25菌株と*O. brassicae* 2菌株を用いて、ウイルス媒介能を調査した結果、*O. virulentus*の全分離株がTuSVとTMMMVの両ウイルスを媒介することが確認された。一方、*O. brassicae*の2菌株は何れもチューリップに寄生せず、媒介試験が成立しなかった。次に、*O. virulentus* 27菌株の8科18種の植物に対する寄生性を調査した結果、*O. virulentus*の全ての分離株が、マクワウリ、ネギ、オクラ、ササゲ、インゲンなどで良好に増殖したが、レタス、タバコ、トマトなどでは、寄生する株としない株に分かれた。いずれもキャベツでの増殖は僅かか皆無であった。寄主範囲の特徴から明確なグループ分けは困難で、検定する植物の数を増やすほど多様性に富むものと推察された。なお、*O. brassicae*の2菌株は供試植物のうちキャベツのみで良好に増殖した。

Key words: *Olpidium*, TuSV, TMMMV, ウイルス媒介能, 植物寄生性, virus transmissibility, host range, tulip

緒 言

近年、国内のチューリップ球根生産地では条斑病と微斑モザイク病の被害が拡大し、大きな問題となっている^{9,13}。条斑病はTulip streak virus (TuSV)¹⁰、微斑モザイク病は*Tulip mild mottle mosaic virus* (TMMMV)⁵に起因し、両ウイルスとも土壌生息菌の一種である*Olpidium virulentus* (= *O. brassicae* 非アブラナ科系)^{2,12}によって媒介される^{6,7}。

*O. virulentus*は国内の耕地土壌に広く分布し、多種の植物の根に寄生するものの、単独では植物に明瞭な病徴を引き起こさない。一方では、TuSVやTMMMVのほかにレタスビッグベイン病の病原体である*Mirafiori lettuce virus* (MiLV)などの植物ウイルスを媒介し¹¹、各作物で深刻な被害をもたらしている。これらウイルス病の発生生態は媒介菌である*O. virulentus*の生態的特性と密接に関係していることから、効率的な防除法を確立するには*O. virulentus*の特性を十分に理解する必要がある。中

でも輪作等による被害軽減技術を確立する上で、本菌の土壌中での動態およびウイルスとの親和性を把握しておく必要がある。そこで、本研究では国内各地の耕地土壌から分離された*Olpidium*菌のTuSVとTMMMVの媒介能を調査するとともに、本菌の動態に強く影響する植物寄生性について調査した。

なお、本研究を行うにあたり、*Olpidium*菌の分離源である土壌の採集に協力頂いた国内の公的研究機関各位にはこの場を借りて厚くお礼申し上げる。

材料および方法

1. *Olpidium*菌の分離と保存

第1表に示した土壌からの*Olpidium*菌の分離は守川・多賀(2002)の方法⁸に従って行った。なお、土壌から分離するための捕捉植物として*O. virulentus*はササゲ(黒種三尺)を、*O. brassicae*はキャベツ(秋徳)を用い、単遊走子の分離を行った後、*O. virulentus*は風乾させた寄生根を4℃で保存し、*O. brassicae*はキャベツ

上で継代して維持した。

2. *Olipidium*菌のウイルス媒介能

滅菌土に植え付けたTuSVとTMMMVを保毒したチューリップ‘Pink Diamond’（4球/径12cmポット）に*O. virulentus* 25分離株（マクワウリ‘銀泉’で増殖）と*O. brassicae* 2分離株（キャベツで増殖）をそれぞれ接種し（約5×10⁶個遊走子/ポット）、最低温度13℃に維持した順化室で15日間栽培した。その後、灌水を行って放出された遊走子をそれぞれ5×10⁴個/mlに調整し、健全なチューリップ‘Lucky Strike’ 3株を植え付けたポットに90ml灌注接種した。接種後は最低温度13℃に3週間維持した後、無加温のガラス温室に搬出し、開花期にウイルスの感染の有無について花梗断面を検出部位とするTBIA法により調査した⁹⁾。なお、接種したチュー

リップ3株のうち、1株でも感染が認められたら、ウイルスを媒介するものと判断した。

3. *Olipidium*菌の植物寄生性

滅菌土に育成した8科18種の植物苗に上記*Olipidium*分離株の他に*O. virulentus* 2分離株を加えた計29菌株をそれぞれ接種し（約2.5×10⁶個遊走子/ポット）、20℃の陽光恒温室で管理した。接種15~25日後に各植物の根を回収し、菌の寄生程度を光学顕微鏡下で観察した。

結 果

1. ウイルス媒介試験

媒介試験に供試した*O. virulentus*の全分離株がTuSVとTMMMVの両ウイルスを媒介することが確認された（第1表）。一方、*O. brassicae*の2菌株は何れもチュー

第1表 各地土壌から分離された*Olipidium*菌のウイルス媒介能と植物寄生性

土壌試料				植物寄生性																			
				ウイルス媒介能		ユリ科		イネ科		ウリ科		アオイ科		アブラナ科		キク科		マメ科		ナス科			
採集年	採集地	作物	菌株名	TuSV	TMMMV	チューリップ	ネギ	ソルゴー	エゴ	マクワウリ	オクラ	キャベツ	レタス	クロタラシア	ササゲ	インゲン	<i>N. benthamiana</i>	<i>N. laucum</i>	トマト	ピーマン	ゴシキキウガガラシ	ナス	ダチヤウ
2001	宮城県名取市	特用作物	121	+	+	++	+++	+	±	+++	+++	±	+	+	+++	+++	+	+	±	++	++	+++	+
2001	宮城県名取市	野菜	123	+	+	++	+++	+	-	+++	+++	±	++	++	+++	+++	-	±	+	++	++	+++	+
2001	富山県朝日町	チューリップ	218	+	+	++	+++	-	-	+++	+++	-	-	±	+++	+++	-	-	-	++	++	+++	+
2001	富山県魚津市	チューリップ	220	+	+	++	+++	++	+	+++	++	-	-	+	+++	+	-	-	-	++	+++	+++	±
2001	富山県黒部市	チューリップ	219	+	+	++	+++	-	-	+++	++	-	-	-	++	+++	-	-	-	-	+++	++	-
2001	富山県高岡市	チューリップ	209	+	+	++	+++	-	-	+++	+++	-	-	+	++	++	-	-	-	+++	++	+++	-
2001	富山県高岡市	チューリップ	210	+	+	++	+++	+	-	++	++	-	-	+	++	++	-	±	-	-	+++	++	+++
2001	富山県立山町	チューリップ	222	+	+	++	+++	-	-	+++	++	-	-	-	++	++	-	-	-	+++	++	+++	-
2001	富山県砺波市	チューリップ	201	+	+	++	+++	-	-	+++	++	-	+++	±	+++	+++	-	-	-	+	+	++	-
2001	富山県砺波市	チューリップ	203	+	+	++	+++	-	++	+++	+++	-	+++	+	+++	++	-	-	-	+	+	+++	-
2001	富山県砺波市	チューリップ	212	+	+	++	+++	±	±	+++	++	-	+++	-	+++	+++	-	±	-	-	+++	+++	+
2001	富山県砺波市	チューリップ	213	+	+	++	+++	-	-	+++	++	-	-	-	+++	+++	-	-	-	-	-	+++	+++
2000	富山県砺波市	チューリップ	7ms-1	+	+	++	+++	-	-	+++	+++	-	++	-	+++	+++	-	-	-	-	-	+++	+++
1995	富山県砺波市	チューリップ	ES5ms-1	+	+	++	+++	-	-	+++	+++	-	-	+	+++	+++	-	-	-	++	+++	+++	-
2001	富山県南砺市	チューリップ	205	+	+	++	+++	-	-	+++	+++	-	-	+	+++	+++	-	-	-	-	++	+++	+++
2001	富山県南砺市	チューリップ	208	+	+	++	+++	+	-	+++	+++	+	-	++	++	+++	++	++	-	++	+	+++	-
2001	富山県入善町	チューリップ	217	+	+	++	+++	±	-	+++	+++	-	-	±	+++	++	-	-	+++	+	++	++	-
1998	富山県水見市	ネギ	Woms-1	+	+	++	+++	-	-	+++	+++	-	+++	±	+++	+++	-	-	-	-	-	+++	+++
2001	三重県安濃町	イネ	109	+	+	++	+++	-	-	+++	++	+	-	+++	+++	+++	-	-	-	++	++	+++	-
2001	三重県安濃町		111	+	+	++	+++	+++	±	+++	+++	-	-	±	+++	++	-	-	-	+++	+++	+++	-
2001	京都府	ナス	129	+	+	++	+++	++	±	+++	++	-	++	++	+++	+++	-	-	+	+	+++	++	-
2000	兵庫県	レタス	LBms-2	+	+	++	+++	-	-	+++	++	-	+++	+	++	++	-	-	-	-	+	+++	++
2001	山口県山口市	キャベツ	101	+	+	++	+++	±	-	+++	+++	-	-	±	+++	++	-	-	-	+++	+++	+++	-
2001	山口県山口市	ホウレンソウ	103	+	+	++	+++	-	-	+++	+++	-	-	-	+++	+	-	-	-	+	+++	+++	-
2002	香川県高松市	タバコ	No.1-1	NT	NT	++	+++	++	±	+++	+++	+	++	-	+++	+++	++	+++	-	-	-	+++	++
2002	香川県高松市	タバコ	No.2-1	NT	NT	++	+++	++	-	+++	+++	+	+++	-	+++	+++	+	+++	±	+	+	+++	+
1996	高知県	インゲン	Koums-1	+	+	++	+++	-	-	+++	+++	-	+++	±	+++	+++	-	±	-	+++	+++	+++	+
2005	富山県南砺市	キャベツ	Cab2-1	-*	-*	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
2005	富山県南砺市	カブ	Tur3-1	-*	-*	-	±	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-

注) 上段27菌は*O. virulentus*、下段2菌株は*O. brassicae*、*：チューリップに寄生しないため媒介試験成立せず。植物寄生性の程度は-：寄生認められず、±：僅かだが寄生が認められる、+：根1mあたり100個程度、++：根1mあたり1000個程度、+++：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。NT：試験なし。

リップに寄生せず、媒介試験が成立しなかった。

2. *Olpidium*菌の植物寄生性

O. virulentus 29分離株の8科18種の植物に対する寄生性を調査した結果、供試した全ての分離株が、ユリ科のチューリップの他、ウリ科マクワウリ、ユリ科ネギ、アオイ科オクラ、マメ科ササゲ、インゲンなどで良好に増殖する一方、アブラナ科のキャベツでの増殖は僅かか皆無であった。全分離株について調査していないものの、ナス科のゴシキトウガラシやナスにおいても良好な増殖が認められた。一方、キク科のレタスおよびナス科のタバコ、トマトなどでは、寄生する株としない株に分かれたが、これらの寄主範囲の特徴から明確なグループ分けは困難であった。*O. brassicae*の2菌株は供試植物のうちキャベツのみで良好に増殖した(第1表)。なお、*O. virulentus*の単遊走子の分離株は休眠胞子を形成したが、*O. brassicae*の単遊走子の分離株は休眠胞子を形成せず、小金澤ら(2004)の記載²⁾と一致した。

考 察

TMMMVを保毒した*O. virulentus*の休眠胞子を塩酸で処理してもウイルスの保毒が維持される⁹⁾ことから、本ウイルスは*Olpidium*の菌体内部に取り込まれて伝搬されると考えられる。また、TuSVは非常に不安定で汁液中の感染性が容易に消失する(耐保存性20℃30分以内)⁹⁾ことから、TMMMVと同様に*Olpidium*の菌体内部に取り込まれて伝搬されているものと考えられる。このように、両ウイルスとも休眠胞子内部に安定して保持されるため、圃場の汚染が長期間継続するものと推察される。実際に、TMMMVに汚染された土壌は、6年間水稲を作付けしても汚染が継続することが明らかになっており(未発表)、この長期間の圃場の汚染がこれらウイルス病の防除を困難なものとしている。以上のような理由から、クリーニングクロープ等を利用して圃場の汚染程度を軽減する技術の開発が強く求められている。また、この輪作技術を実用的なものとするには、媒介菌の植物寄生性やウイルス媒介能などを十分に理解しておく必要がある。

*O. virulentus*は多くの種類の植物種に寄生するものの、分離株によって寄生する植物の範囲が異なることが知られている^{1,3)}。本研究においても*O. virulentus*の全ての菌株が広い宿主範囲を持ち、いずれの分離株もチューリップの他、ネギ、ササゲ、マクワウリなどで良好に増

殖したが、レタス、タバコ、トマトなどでは明らかな寄主特異性が認められた。ただし、この寄主範囲の特徴から明確なグループ分けは困難であり、検定する分離株や植物種の数を増やすほどその多様性は複雑になるものと考えられた。このように、*O. virulentus*は植物寄生性の点で実に多様な系統を含むが、いずれの分離株もTMMMVおよびTuSVの両ウイルスを媒介する能力を有する点で共通していた。*O. virulentus*は多くの耕地土壌から分離されることから、ウイルスを保毒した球根を植え付けることにより、多くの圃場は容易に汚染圃場になると考えられた。

クリーニングクロープに求められる特性として、*O. virulentus*休眠胞子の発芽を促すものの、*O. virulentus*の寄生(増殖)を許さない、あるいは仮に*O. virulentus*が寄生してもそこでウイルスが増えないことが求められ、これらの形質を指標にクリーニングクロープの選定をすすめる必要があると考えられる。本研究では*O. virulentus*の多くの菌株がキャベツやイネ科植物に寄生しないか、その寄生程度は低く、これら植物がクリーニングクロープとして利用できる可能性が示唆されたが、これら植物に寄生する菌株が少ないながらも存在した。また、クロタラリアを前作することによりTMMMVの感染が抑制されることが明らかになっているが⁹⁾、本研究において*O. virulentus*の約半数の菌株がクロタラリアに寄生できず、また寄生能を有する菌株においても全体的に菌の増殖も良好とは言えなかったものの、一部の菌株(菌株109)で良好な増殖が認められた。したがって、以上の植物を作付けすることによって、これら植物に寄生性を有する系統が速やかに圃場で優勢な系統となる可能性も示唆される。今後は、*O. virulentus*の寄生の有無ばかりでなく、根におけるウイルスの増殖の有無を調査しながら⁴⁾、クリーニングクロープを選定する必要がある。

引用文献

- 1) Campbell, R. N. and Sim, S. T. Host specificity and nomenclature of *Olpidium bornovanas* (= *Olpidium radicale*) and comparisons to *Olpidium brassicae*. Can. J. Bot. 72: 1136~1143.
- 2) 小金澤碩城・高山智光・笹谷孝英(2004) *Olpidium brassicae* sensu latoアブラナ科系統と非アブラナ科系統の休眠胞子形成の差異. 日植病報 70: 307~313.

- 3) Koganezawa, H., Inoue, H. and Sasaya, T. (2005) Host specificity and multiplication of eight isolates of *Olpidium brassicae* sensu lato and its related *Olpidium* sp. Bull. Natl. Agric. Res. Cent. West. 4 : 39~59.
- 4) 森井 環・守川俊幸・小林富成・多賀由美子・夏秋知英 (2004) RT-PCR法による各種植物根からのチューリップ微斑モザイクウイルス (TMMMV) とチューリップ条斑ウイルス (TuSV) の検出. 日植病報 70 : 265.
- 5) 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 : 578~581.
- 6) 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.
- 7) 守川俊幸・多賀由美子 (2002) *Olpidium brassicae* によるチューリップ条斑病 (新称) の伝搬. 日植病報 68 : 239.
- 8) 守川俊幸・多賀由美子 (2004) 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. 土と微生物 58 : 43~52.
- 9) 守川俊幸・築尾嘉章・野村良邦 (2004) チューリップ病害の病原及び発生生態に関する研究. 富山農技セ研報 21 : 1~141.
- 10) 守川俊幸・多賀由美子・森井 環・夏秋知英 (2004) チューリップ条斑病発病株から検出された未知ウイルス. 日植病報 70 : 77.
- 11) 夏秋啓子・守川俊幸・夏秋知英・奥田誠一 (2002) わが国のビッグ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 69 : 309~312.
- 12) Sasaya, T. and Koganezawa, H. (2006) Molecular analysis and virus transmission tests place *Olpidium virulentus*, a vector of *Mirafiori lettuce big-vein virus* and tobacco stunt virus, as a distinct species rather than a strain of *Olpidium brassicae*. J. Gen. Plant Pathol. 72 : 20~25.
- 13) 棚橋 恵・山口吉博・中野太佳司・小野長昭 (2004) 新潟県に発生したチューリップ微斑モザイク病の生態と防除に関する研究. 新潟農総研報 6 : 15~25.

(2007年12月21日受領)