

施肥がチューリップ微斑モザイクウイルスおよびチューリップ条斑ウイルスの感染率に与える影響

森 脇 丈 治^{1*}・桃 井 千 春¹・守 川 俊 幸²

Jouji MORIWAKI, Kazumi MOMONOI and Toshiyuki MORIKAWA

Suppression of *Tulip mild mottle mosaic virus* and *Tulip streak virus* infections by fertilization method

チューリップ微斑モザイク病および条斑病に対し、施肥条件の違いがウイルス感染率に与える影響を調査した。球根専用高度化成肥料（フミンホスカ）の慣行施用と比べ、被覆尿素30日タイプ（LP30）を含む配合肥料（バルブクイーン）施用は約半分の感染率であった。単肥を混合して慣行施肥と同量の窒素、リン酸、カリを施用しても、両ウイルスの感染率は同等であったが、窒素を施用しないと明らかに減少した。また、窒素形態を変えて施用しても、感染率に違いはなかった。さらに、基肥と追肥では、基肥の感染率に与える影響が大きかった。以上のことから、施肥法の違いがオルピディウム菌を介した両ウイルスの感染率に影響を与えることが明らかになった。特に窒素成分の初期の肥効を抑制することで、両ウイルスの感染を制御できると考えられた。

Key words : チューリップ, 耕種的防除, 基肥, 窒素施肥, Tissue blot immunoassay (TBIA)

緒 言

富山県のチューリップ球根の生産現場において、チューリップ微斑モザイク病および条斑病が発生し、深刻な問題を引き起こしている^{7,8,12)}。両病害とも生産した球根の商品価値が低下し、微斑モザイク病では早枯れによって球根収量が約10~30%低下する場合もある^{6,7,8)}。それぞれチューリップ微斑モザイクウイルス (*Tulip mild mottle mosaic virus*, TMMMV) およびチューリップ条斑ウイルス (*Tulip streak virus*, TuSV) が病原で、いずれもツボカビ類の *Olpidium virulentus* によって媒介され、保毒した休眠胞子が土壤に残ることで被害が長期化する^{7,8,9,11)}。また、両ウイルスとも保毒した球根が第一次伝染源となり、次代の球根に伝染する⁸⁾。

したがって両病害を防除するには、いかに土壤伝染と球根伝染を抑制するかが重要である⁸⁾。これまでに、抵抗性品種の栽培、健全な種球根の厳選、フルアジナム剤

の土壤混和、発病株の抜き取り、遅植え栽培の有効性が証明されている^{7,8,9,11,12,14)}。

さらに富山県産チューリップの健全ロットの選定に、Tissue blot immunoassay : TBIAによるウイルス検定が約10万の検体で実施されている^{10,13)}。その際、生産者間で微斑モザイク病の発生に顕著な差があり、その理由の一つとして施肥の違いが考えられた。富山県の球根栽培では、球根専用の高度化成肥料（商品名フミンホスカ、N-P-K : 9-12-18, 以下、慣行肥料）が用いられてきたが、2002年に省力化と環境負荷低減を目的に施肥窒素利用率が高い被覆尿素30日タイプ（LP30）を含む配合肥料（商品名バルブクイーン、N-P-K : 15-9-17, 以下、肥効調節型肥料）が開発された⁴⁾。そこで施肥法の違いがTMMMVやTuSVのチューリップへの感染に与える影響について調査したところ、新たな知見を得たので報告する。

本研究は、農林水産省の農林水産業・食品産業科学技

¹富山県農林水産総合技術センター園芸研究所 Horticultural Research Institute, Toyama Prefectural Agricultural, Forestry & Fisheries Research Center, Goromaru, Tonami 939-1327

²富山県農林水産総合技術センター農業研究所 Agricultural Research Institute, Toyama Prefectural Agricultural, Forestry & Fisheries Research Center, Yoshioka, Toyama 939-8153

*現在：農研機構九州沖縄農業研究センター Present address : NARO Kyushu Okinawa Agricultural Research Center, Miimachi, Kurume, Fukuoka 839-8503

術研究推進事業「根圈環境制御による土壌菌媒介性ウイルス病害の発病抑制技術の開発（2011～2013年度）」および持続型農業技術開発指定試験「難防除土壌伝染性ウイルスの耕種的・生物的制御技術の開発（2006～2010年度）」において実施した。

材料および方法

1. 園場

富山県砺波市の現地生産者園場において試験を行った。園場は同一生産者の所有で、試験年度によって園場を変えたが、2008年と2011年の植付けは同一園場であった。

2. ウィルス感染率の調査

両ウィルスの感染率は、守川ら¹⁰の方法（TBIA：Tissue blot immunoassay）に準じて調査した。開花期に花茎を採取し、ニトロセルロース膜（東洋漉紙社）にスタンプして汁液を付着させ、風乾した。これを3%スキムミルク含有TBS（pH7.4）でブロッキング処理し、抗体液（20,000倍抗血清、10,000倍抗ウサギIgG抗体—アルカリホスファターゼ標識ヤギ宿主抗体（Sigma社、A-3687）および0.3%スキムミルク含有TBS）に4℃で一晩浸漬した。TBSTで2回、TBSで1回洗浄したのち、NBT／BCIP基質で発色させた。ウィルス抗血清は、本研究所保存のTMMMV抗血清およびTuSV抗血清を用いた。

調査データの統計処理にはkyplot（カイエンス社）を用い、処理間の比較にTukey検定あるいはTukey-Kramer検定を用いた。

3. 施肥法の比較

慣行施肥と肥効調節型肥料によるウィルス感染率への影響を比較するため、以下のように試験を行った。2008年10月16日および2010年10月18日に、あらかじめ炭酸苦土石灰100kg/10aを園場全面に施用し、慣行肥料60kg/10aまたは肥効調節型肥料30kg/10aを施用し、耕起した。1試験区当り3m×5m、3反復とし、施肥翌日に品種「ラッキーストライク」（オランダ産）を、2008年は90球、2010年は60球を株間9cm、6条（66球/m²）で植付けた。

慣行施肥区のみ追肥として慣行肥料を2008年は12月12日に30kg/10a、2010年は12月6日に20kg/10aを施用した。

4. 肥料成分の比較

ウィルスの感染に影響する肥料成分を明らかにするため、窒素（N）、リン酸（P）、カリ（K）の3要素が慣行肥料と同量（N：基肥5.4kg/10a、追肥1.8kg/10a、P：7.2kg/10a、2.4kg/10a、K：10.8kg/10a、3.6kg/10a）となるよう、硫安、過石、塩化カリの各単肥を混合して施用した。すなわち、植付け前日の2010年10月18日に硫安25.7kg/10a、過石41.1kg/10a、塩化カリ18kg/10aを施用し、12月6日に硫安8.6kg/10a、過石13.7kg/10a、塩化カリ6kg/10aを施用した。対照として慣行施肥と無施肥の区を設けた。1区当り3m×5m、3反復とし、施肥翌日に品種「ラッキーストライク」（オランダ産）60球を株間9cm、6条（66球/m²）で植付けた。

5. 窒素形態の比較

慣行施肥の窒素形態はアンモニア態であり、一方で肥効調節型肥料は尿素で、その違いがウィルスの感染に影響することが考えられた。そこで硫安、尿素、硝酸カルシウムを慣行の窒素施用量（基肥5.4kg/10a、追肥1.8kg/10a）と同量となるよう施用し、両ウィルスの感染に与える影響を比較した。すなわち、植付け前日の2011年10月19日に硫安25.7kg/10a、尿素11.7kg/10aあるいは硝酸カルシウム49.1kg/10aを、過石41.1kg/10a、塩化カリ18kg/10aとともに施用し、11月30日に硫安8.6kg/10a、尿素3.9kg/10aあるいは硝酸カルシウム16.4kg/10aを過石13.7kg/10a、塩化カリ6kg/10aとともに施用した。対照として慣行施肥と無施肥の区を設けた。1区当り3m×5m、3反復とし、施肥翌日に品種「ラッキーストライク」（オランダ産）48球を株間9cm、6条（66球/m²）で植付けた。

6. 施肥時期の比較

施肥時期の違いが両ウィルスの感染率に与える影響を明らかにするため、慣行施肥を基肥60kg/10aのみ施用した区と追肥時期の12月に20kg/10aのみを施用した区を比較した。基肥は植付け前日の2009年10月14日に、追肥は12月10日に行った。1区当り3m×5m、3反復とし、10月15日に品種「ラッキーストライク」（オランダ産）72球を株間9cm、6条（66球/m²）で植付けた。

結果および考察

1. 施肥法の比較

球根を植付けた翌年の開花期に花茎を採取し、TBIA検定により両ウイルスの感染率を求めた。不出芽やモザイク病等の罹病株の抜き取りにより、2009年は1区当たり72株、2011年は51株を検定に供して感染率を調査した。

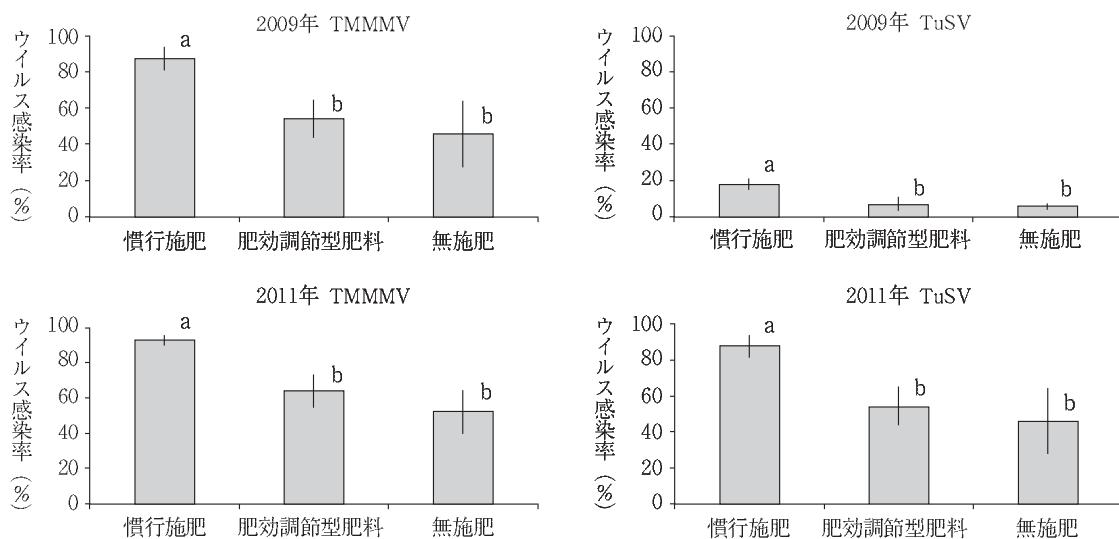
その結果、2カ年とも慣行施肥と比較して、肥効調節型肥料を施用した場合は、両ウイルスとも明らかに感染率が低下していた（第1図）。つまり肥効調節型肥料を施用して無病球を植付けた場合、慣行施肥と比較してTMMMVで31～50%、TuSVで38%～61%感染率が減少しており、これは土壌からの両ウイルスの感染が抑制さ

れたためと考えられた。

2. 肥料成分の比較

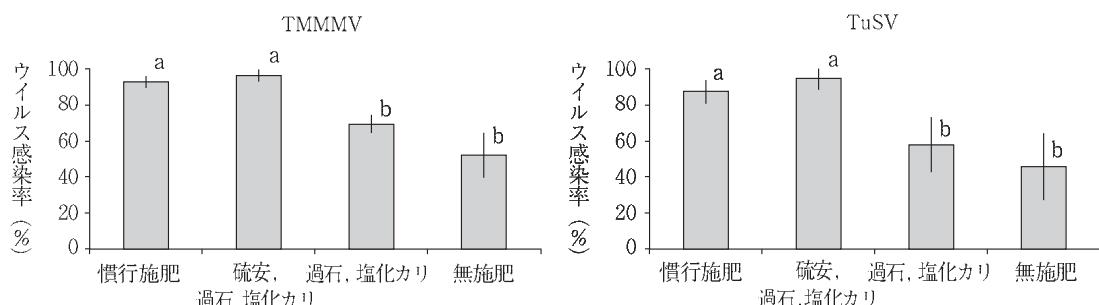
施肥法によって、両ウイルスの感染率に違いがあることが明らかになったが、具体的に肥料のどの成分が影響しているのか、NPKが慣行施肥と同量となるように硫安、過石、塩化カリの各单肥を混合して施用し、試験を行った。開花期に1区当たり51株の花茎を無作為に採取し、TBIA検定に供し両ウイルスの感染率を調査した。

その結果、单肥を混合してNPKが同量となるよう施用しても慣行施肥と比べて両ウイルスの感染率に違いはなかったが、Nを加えずPKが同量となるよう施用すると明らかに両ウイルスの感染率が低下した（第2図）。つ



第1図 肥料の種類がチューリップ微斑モザイクウイルス (TMMMV) および条斑ウイルス (TuSV) の感染率に与える影響^{a)}

a) 2009年検定 (n=72), 2011年検定 (n=51), エラーバーは標準偏差, 同一英字はTukey法 (5 %) で有意差なし。



第2図 肥料成分がチューリップ微斑モザイクウイルス (TMMMV) および条斑ウイルス (TuSV) の感染率に与える影響^{a)}

a) n=51, エラーバーは標準偏差, 同一英字はTukey法 (5 %) で有意差なし。

まり、過石および塩化カリのみ施用して球根を植付けると、慣行施肥と比較して感染率がTMMMVで25%, TuSVで34%減少した。このことは、慣行肥料の成分のうち、窒素成分が土壤からのウイルス感染に影響していると考えられた。

3. 窒素形態の比較

施用する窒素の形態が発病に影響することが、いくつのかの作物で報告されている。例えばコムギ立枯病では、硫安は発病を抑制し、硝酸態窒素および尿素は促進する³⁾。そこでチューリップ微斑モザイク病および条斑病においても、施用する窒素形態が両ウイルスの感染に与える影響について試験を行った。開花期に1区当たり42株～48株の花茎を採集し、TBIA検定に供して両ウイルス感染率を調査した。

その結果、両ウイルスの感染率に明らかな差はなかった（第3図）。慣行肥料はアンモニア態窒素を配合しているが、硫安だけでなく尿素や硝酸カルシウムを施用した場合もほぼ同様の感染率を示した。このことは、施用する窒素の形態がチューリップ微斑モザイクウイルスや

条斑ウイルスの感染に影響しないと考えられた。

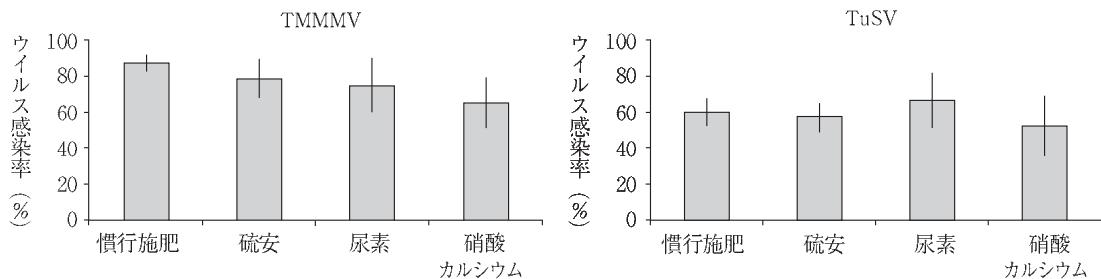
4. 施肥時期の比較

慣行施肥では、肥効調節型肥料の基肥30kg/10a施用よりも両ウイルスの感染率が高まることが明らかであった。慣行施肥では基肥と追肥を行っていることから、どちらがより感染に影響しているのかを調べた。開花期に1区当たり27株の花茎を無作為に採集し、TBIA検定に供して両ウイルス感染率を調査した。

その結果、TMMMVにおいては基肥のみ施用した場合でも慣行施肥（基肥および追肥）と同様の感染率であったが、追肥のみでは明らかに感染率が低下し、施肥しない場合と同様の感染率であった（第4図）。

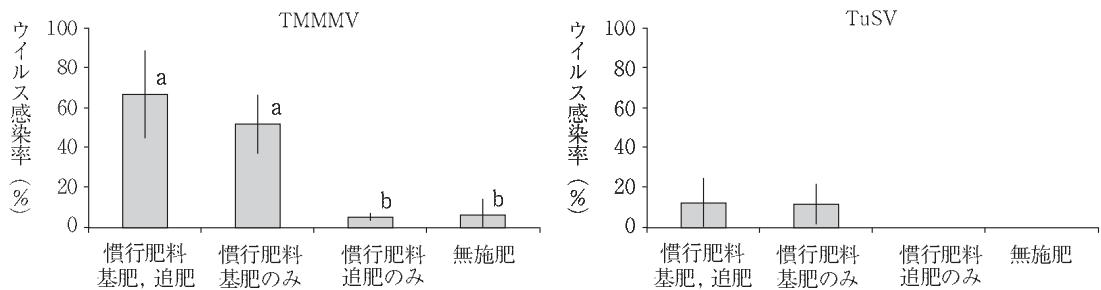
一方で、TuSVにおいては、慣行施肥の場合の感染率が12.3%と低く、施肥時期の違いで感染率に明らかな違いはなかった。ただし、追肥のみや無施肥の場合は、TuSVの感染は確認できなかった。少なくともTMMMVでは、植付け初期の窒素の肥効が感染に強く影響していた。

以上のように、施肥法の違いがオルビディウム菌を介



第3図 窒素成分がチューリップ微斑モザイクウイルス (TMMMV) および条斑ウイルス (TuSV) の感染率に与える影響^{a)}

a) n=42, エラーバーは標準偏差。



第4図 施肥時期がチューリップ微斑モザイクウイルス (TMMMV) および条斑ウイルス (TuSV) の感染率に与える影響^{a)}

a) n=27, エラーバーは標準偏差, 同一英字はTukey法 (5 %) で有意差なし。

した両ウイルスの感染率に影響を与えることが明らかになった。特に窒素成分の初期の肥効を制御することで、両ウイルスの感染を抑制できる。

桃井ら⁵⁾は施肥条件を変えてチューリップ球根を植付け、一ヵ月後の根に寄生している *O. virulentus* の菌量をリアルタイムPCRを使って調べ、慣行肥料 (60kg/10a, 5.4Nkg/10a) を施用した場合は無施肥の場合の約10倍、肥効調節型肥料を施用した場合 (30kg/10a, 4.5Nkg/10a) の約4倍増加していた。このことは基肥の窒素成分が *O. virulentus* のチューリップ根への寄生を促し、両病害の被害を大きくする理由のひとつと考えられる。

O. virulentus は絶対寄生菌のため、他の土壤病害で用いられている手法を使った発生生態解明は困難である。しかし網羅的なタンパク質解析手法であるプロテオーム法を使って、窒素施肥のチューリップや *O. virulentus* への影響を解析すれば、キーとなる物質が特定できるかもしれない。本病害の新しい防除法の開発につながるであろう。

窒素肥料の過剰によって引き起こされる病害には、イネいもち病、紋枯病や白葉枯病、麦類うどんこ病、ジャガイモ疫病、キュウリ斑点細菌病など多くの糸状菌病や細菌病が報告されている¹⁶⁾。さらに虫媒伝染性ウイルス病であるイネ縞葉枯病や萎縮病などでは、窒素肥料の過剰が宿主作物の抵抗性を低下させるとともに媒介虫の増殖・活動を助長して、発病を増大させる¹⁶⁾。本病でも、同様の現象が起きているのか、解明することで新たな防除法につながるであろう。

チューリップにおいても窒素成分は収量に強く影響し、単純に窒素を減量すると収量の低下を招く^{1,15)}。したがって必要な時期に必要なだけ窒素を供給することが重要である⁴⁾。荻屋ら²⁾はチューリップの窒素吸収量は植付け直後の根系発達の初期である11月～12月にやや高まり、一旦低下した後、萌芽期から再び上昇して茎葉生育期から球根肥大期の4月中旬～5月頃にかけて高まることを報告している。また、慣行施肥は基肥を中心に行っているが、窒素利用率が29%と低いことが明らかになっている⁴⁾。さらに、窒素の流亡といった環境負荷を低減しつつ、切花のボリュームを得るために球根窒素含量が高い球根を生産する上でも、新しい施肥体系の構築は重要である。

富山県では、緩効性でチューリップの窒素利用率の高い被覆尿素30日タイプを窒素源とした球根専用配合肥料が球根生産に有効であることを証明し⁴⁾、2002年から肥

効調節型肥料が利用できるようになった。今回、肥効調節型肥料の微斑モザイク病および条斑病の発病抑制効果が明らかになり、より普及がすすむと考えられる。また、慣行肥料を適切な時期に施用することによって、両病害の発病を抑制しながら従来どおりの収量を得られる技術の開発が期待される。

引用文献

- 1) 雨木若橘・荻屋 薫 (1960) チューリップの施肥に関する研究 (第1報) 肥料3要素の施肥量が生育ならびに球根の収量に及ぼす影響. 園学雑29: 157～162.
- 2) 荻屋 薫・雨木若橘 (1966) チューリップの施肥に関する研究 (第3報) 肥料3要素および水分の吸収量の季節的消長. 園学雑36: 82～88.
- 3) Huber, D. M. and R. D. Watson (1974) Nitrogen form and plant disease. Annu. Rev. Phytopathol. 12: 139～165.
- 4) 井上徹彦 (2010) チューリップ球根専用肥料「バルブクイーン」の開発. 農耕と園芸65(1): 39～43.
- 5) 桃井千巳・森脇丈治・守川俊幸 (2012) 基肥の窒素成分は *Olpidium virulentus* のチューリップ根への寄生を促す. 日植病報78: 271 (講要).
- 6) 森井 環・守川俊幸・多賀由美子 (2003) チューリップ微斑モザイク病の葉における病徵と球根収量に及ぼす影響. 北陸病虫研報52: 53 (講要).
- 7) 守川俊幸 (2002) チューリップ微斑モザイク病と条斑病 (北陸地域における病害虫研究の状況－過去、現在、未来). 北陸病虫研報50: 179～182.
- 8) 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.
- 9) 守川俊幸・堀井香織・望月知史・大木健広・津田新哉・向井 環 (2007) *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. 北陸病虫研報56: 37～40.
- 10) 守川俊幸・野村良邦・築尾嘉章 (1995) 血清学的手法によるチューリップ微斑モザイク症状の診断. 北陸病虫研報43: 17～24.
- 11) 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.
- 12) 守川俊幸・大浦佳世子・山本孝し・野村良邦・松本美枝子・名畑清信 (1995) 富山県で発生の認められたチューリップのウイルス様症状について. 富山農技セ研報16 : 55~66.
- 13) 守川俊幸・島田史織・森井 環・多賀由美子 (2004) 省力的なチューリップ各種ウイルス病の多検体診断法. 日植病報70 : 264~265 (講要).
- 14) Morikawa, T., Taga, Y. and Morii, T. (2005) Resistance of tulip cultivars to mild mottle mosaic disease. Acta Hort. 673(2), 549~553.
- 15) 西井謙治・筒井 澄 (1963) チューリップの窒素栄養に関する研究 (第1報) 窒素供給時期が3要素の吸収と生育収量に及ぼす影響. 園芸学雑32 : 65~73.
- 16) 大畠貫一 (1995) 4. 環境制御による防除. 植物病理学事典 (日本植物病理学会編), 747~764, 養賢堂, 東京.

(2014年10月18日受理)