

日本産チューリップに発生した ウイルス様症状について

西尾 健・長尾 記 明
後藤 正昭・木村 茂

横浜植物防疫所

尾崎 勝美・藤井 伸 泰

名古屋植物防疫所伏木支所

今尾 恭子

東京農業大学

Occurrence of Viruslike Disorders of Tulip in the Field of Japan. Takeshi NISHIO, Noriaki NAGAO, Masaaki GOTO, Shigeru KIMURA (Yokohama Plant Protection Station), Katsumi OZAKI, Nobuhiro FUJII (Fushiki Branch, Nagoya Plant Protection Station) and Kyoko IMAO (Tokyo University of Agriculture). *Res. Bull. Pl. Prot. Japan* 24: 63-67 (1988).

Abstract: The disorders of tulip have been found in Toyama prefecture at field inspection since several years ago. The disorders could be divided into 3 groups by symptom type, leaf white streak (L-WS), flower-bud chlorotic spot (B-CS) and flower-petal fine streak (P-FS). It is not postulated that tulip breaking virus (TBV), lily symptomless virus (LSV), tobacco necrosis virus (TNV) and tobacco rattle virus (TRV) are the cause of the disorders from results of ELISA. However, sap-transmissible virus was frequently isolated to *Chenopodium quinoa* from tulips showing the symptoms.

はじめに

数年前より、富山県の輸出チューリップ栽培ほ場で、従来知られていないウイルス様症状を示す異常株が発生して問題となっている(西脇, 1986)。そこで、この症状の原因を明らかにするため、富山、新潟両県下で採集したウイルス様症状株を含むチューリップ延べ75品種266株(富山県産60品種243株、新潟県産15品種23株)について、病徴タイプ別にウイルスの保毒状況を調査したのでその結果を報告する。

本報告を行うに当たり、貴重な抗血清を分譲下さった農業環境技術研究所亀谷満朗氏、富山県農業技術センター野菜花き試験場名畑清信氏、新潟県園芸試験場環境課宮川正通氏、ならびに試料の採取に際して御協力頂いた名古屋植物防疫所伏木支所および富山県花卉球根農業協同組合の関係者に対して心よりお礼申しあげる。

材料および方法

1. 病徴観察および試料採集

1986年5月に富山県氷見市、砺波市、高岡市、入善町、宇奈月町、朝日町および新潟県園芸試験場の圃場で開花期のチューリップの病徴を観察するとともに、富山県産については葉を、新潟県産については球根を含む株全体を採集した。葉を採集した富山県産の球根については、慣行の掘り取り時期まで十分に肥大させた後に採集した。採集した球根は乾燥後、同年秋に横浜植物防疫所調査研究部病菌課圃場(横浜市中区)に植え付け、1987年春に再度病徴観察を行った。採集した葉は凍結保存してELISAおよび汁液接種試験に供した。なお、同一品種の同一病徴株は通常5株ずつ(1~10株)採集した。

2. ELISAによるウイルス保毒調査

4種ウイルス抗血清、すなわち tulip breaking virus

(TBV) 抗血清(名畑氏作製), lily symptomless virus (LSV) 抗血清(宮川氏作製), tobacco necrosis virus (TNV) 抗血清(西尾ら作製) および tobacco rattle virus (TRV) 抗血清(亀谷氏作製) より, IgG を純化後, アルカリ性リン酸分解酵素を標識したコンジュゲートを作製し, CLARK と ADAMS (1977) の方法に準じて ELISA を実施した。チューリップ葉は, PBS-Tween にチオグリコール酸 0.05%, ポリビニールピロリドン 2% およびアルブミン 0.2% を加えた溶液を, 葉重量の 10 倍量加えて磨砕し ELISA 用試料とした。ELISA は採集したすべてのチューリップ葉について実施した。

3. 汁液接種試験

同一品種の同一病徴株から 2 試料(株)を選び, 1 試料あたり 2 本の *Chenopodium quinoa* に常法によって汁液接種を行った。接種後の *C. quinoa* は 20~23°C の恒温室で管理し, 約 3 週間病徴観察を続けた。

結 果

1. 病徴タイプの類別

採集したチューリップは, 花卉および葉の病徴から, おおむね以下の 6 種の病徴タイプに類別できた。

- ① 花卉に明瞭なブレイキングまたは葉にモザイクが認められ, 一見して TBV 感染株の症状(ASJES and ELBERTSEN, 1982) と思われたもの(病徴タイプ略号; F-BK)。
- ② 葉に白~黄色の退緑条斑が認められたもの, 通常

花卉には病徴が認められなかった(同上; L-WS)(Fig. 1)。

- ③ 開花前の蕾に, 花卉の正常色とは異なる褪色した(または緑色)斑点が認められたもの, 葉にもモザイク症状の認められるものがあった(同上; B-CS)(Fig. 2)。
- ④ 花卉に細い濃色の条線が認められたもの, この症状は LSV に感染したピンク系品種の花卉に認められる症状(DERKS and ASJES, 1975) に類似していた(同上; P-FS)(Fig. 3)。
- ⑤ 葉にえそ症状の認められたもの, この中には一見して TNV 感染株の症状(松濤ら, 1977) と判定できるものがあった(同上; L-N)。
- ⑥ その他, 上記の各症状とは異なる葉の軽いモザイク症状などの認められたもの。

以上の各病徴を示した採集チューリップの品種名は Table 1 に示したとおりである。富山県下で問題となっているウイルス様症状は, L-WS, B-CS, および P-FS の 3 タイプに分類できるものと思われた。なお, これらの症状は, 1986 年に採集した子球を植え付けた病菌課圃場でも 1987 年春に観察され, 球根伝染することが確認された。

2. 4 種抗血清による ELISA の結果

採集した全株(266 株)の葉を -20°C で凍結保存後, TBV, LSV, TNV および TRV 抗血清による ELISA を実施した。その結果を病徴タイプ別に分けて Table 2 に示した。

F-BK タイプの病徴を示した 33 品種 100 株のうち

Table 1. Grouping of tulip cultivars by symptom types

Symptom type	Name of cultivars
1. Flower breaking; F-BK	All Gold, Asta Nielsen, Axel Munthe, Blue Parrot, Cassini, Eichleri Clare Benedict, Electra, Elmus, Fantasy, Gander, Golden Harvest, Hibernia, Humming Bird, Joan Cruickshank, Malta, Mamasa*, Margaret Herbst, Merry Widow (3)**, Modern Times, Pandion, Pink Beauty, Preludium, Prince of Nippon, Renown, Shiunkaku, Sigrio Undset, Tambour Maitre, Virtuoso, Not-identified (3)
2. Leaf white streak: L-WS	Golden Harvest, Lucky Strike, Malta, Preludium (2), Red Matador, Renown
3. Flower-bud chlorotic spot; B-CS	Allegretto, Cassini, Eichleri Clare Benedict (2), Elmus, Flying Dutchman, Merry Widow, Murasakisuisho, Pandion, Pink Beauty, Queen of Night
4. Flower-petal fine streak; P-FS	Aladdin, Golden Oxford, Frankfurt, Fringed LiLac, Pink Supreme, Renown, Not-identified
5. Leaf necrosis; L-N	Aladdin, Angelique, Gerbrand Kieft, Eminent, Flaming Torch
6. Others	Carlton, Cassini, Gander (2), Eichleri Clare Benedict, Hibernia, Humming Bird, Paul Richter, Shiunkaku, Sigrio Undset

* Symptomless, but artificially inoculated with tulip breaking virus as control of ELISA.

** Samples of same cultivar were taken from 3 different fields.

Table 2. Incidence of tulip breaking virus (TBV), lily symptomless virus (LSV), tobacco necrosis virus (TNV) and tobacco rattle virus (TRV) in field growing tulips of different symptom types as determined by ELISA.

Symptom type	No. of samples	Detection of viruses by ELISA			
		TBV	LSV	TNV	TRV
F-BK	100(33)	52(26)	1(1)	0	0
L-WS	30(8)	1(1)	0	0	0
B-CS	58(11)	0	1(1)	0	0
P-FS	32(8)	0	3(2)	0	0
L-N	13(5)	0	0	6(2)	0
Others	33(10)	0	1(1)	0	0
Total	266(75)	53(27)	6(5)	6(2)	0

(): No. of cultivars

26品種52株からTBVが検出されたが、それ以外の病徴を示した42品種166株では、1品種1株(L-WSタイプ)からのみTBVが検出された。

LSVは、F-BK, B-CS, P-FSおよびその他に分類された病徴タイプの5品種6株から検出されたが、P-FSタイプの病徴を示したものから多く検出された。

TNVは葉にえそ症状を示した2品種6株から検出された。TRVは今回の調査の限りでは全く検出されなかった。

3. *C. quinoa* への汁液接種試験結果

59品種より各2試料(株)ずつ計118試料のチューリップ葉を-20°Cで凍結保存した後、1試料当たり2

本の *C. quinoa* に汁液接種した。1品種あたりに使用した4本の *C. quinoa* のうち1本以上に局部病斑等の症状が認められたものを、ウイルスの検出された品種とした。その結果はTable 3に示したとおりである。

F-BKタイプの病徴を示した23品種では、ウイルスの検出されたものはなかったが、それ以外の病徴タイプを示した36品種のうち16品種からは汁液伝染性のウイルスを検出することができた。

L-Nタイプの株から検出されたウイルスは局部病斑の形、数、出現時期がL-WS, B-CS, P-FSタイプの株から検出されたウイルスとは明らかに異なり、これらはELISAの結果より大部分がTNVと同定された。

Table 3. Detection of sap-transmissible viruses from field growing tulips of different symptom types*

Symptom type	No. of cultivars tested	Detection of viruses by sap inoculation**
F-BK	23	0
L-WS	4	2
B-CS	11	6
P-FS	8	3
L-N	4	4***
Others	9	1
Total	59	16

* Two samples showing same symptom type were taken from each one cultivar, and were inoculated to 4 seedling of *Chenopodium quinoa* (2 seedlings for each sample).

** Figures are numbers of cultivars in which sap-transmissible virus was detected.

*** Two cultivars out of 4 were confirmed to be infected with tobacco necrosis virus by symptoms on tulip and *C. quinoa*, and ELISA.

L-WS, B-CS, P-FS タイプの株から検出されたウイルスは、接種葉1葉当たり通常数個以下の少数の局部病斑を作った (Fig. 4)。ただ、局部病斑の形等は同一ではなく、検出されたウイルスが一種であるかどうかは不明である。

考 察

花卉、葉の病徴から TBV 感染株と考えられた F-BK タイプの株からは、ELISA によってその約半数 (52/100) から TBV が検出され、これらの株は TBV に感染していることが確認された。この ELISA による TBV の検出率は比較的低率と思われたが、TBV 感染チューリップ葉は長期間の凍結保存 (-20°C) によって、ELISA 価が著しく低下することが知られており (DERKS *et al.*, 1982)、本試験でも凍結による悪影響があったものと推定された。また、L-N タイプの株の大部分は、ELISA およびチューリップ葉の病徴から TNV に感染しているものと思われた。

一方、富山県下でウイルス様症状として問題となっている L-WS, B-CS, P-FS タイプの株からは、ELISA で1株 (品種“ゴールデンハーベスト”; 花色は黄色) から TBV が検出されたが、他からは全く TBV が検出されず、これらの病徴は TBV によるものとは考え難い。また、B-CS タイプで葉にも明瞭なモザイクを示す“紫水晶”の葉の DN 法による電顕観察でも、ひも状ウイルス粒子は全く検出されなかった。

C. *quinoa* への汁液接種試験では、F-BK タイプの病徴を示す品種からは全くウイルスが検出されず、L-

WS, B-CS, P-FS タイプの病徴を示す品種の約 48% (11/23) からウイルスが検出された。このことから、C. *quinoa* に汁液伝染するウイルスとこれら病徴とは何らかの関係があるものと思われた。

今のところウイルス粒子が確認できないので、今後、超薄切片法などによって粒子を確認すること、および分離ウイルスのチューリップへの戻し接種による病徴の再現試験などによって、本ウイルス様症状の原因を明らかにしたい。

引用文献

- ASJES, C.J. and E. ELBERTSEN (1982) Tulpe-zaiekvirus in tulpen—de symptomen en het ziekzoeken. pp. 40.
- CLARK, M.F. and A.N. ADAMS (1977) Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. gen. Virol.* **34**: 475-483.
- DERKS, A.F.L.M. and C.J. ASJES (1975) Lily symptomless virus in tulip. *Neth. J. Pl. Path.* **81**: 14-21.
- DERKS, A.F.L.M., JENNY L. Vink-van den ABEELE and A.R. Van SCHADEWIJK (1982) Purification of tulip breaking virus and production of antisera for use in ELISA. *Neth. J. Pl. Path.* **88**: 87-98.
- 松濤美文・西尾 健・木村 茂・藤井伸泰 (1977) 国内産チューリップより分離された tobacco necrosis virus. *植防研報* **14**: 17-23.
- 西脇義和 (1986) 輸出チューリップ栽培地検査終わる。名古屋植物防疫月報 **297**: 3.



Fig. 1. Symptoms in cultivar 'Lucky Strike'. (L-WS type).

Fig. 2. Symptoms in cultivar 'Murasakisuisho'. (B-CS type).

Fig. 3. Symptoms in cultivar 'Renown'. (P-FS type).

Fig. 4. Necrotic local lesions in *Chenopodium quinoa* causing by sap-transmissible virus from cultivar 'Murasakisuisho'.