

ジャガイモにおける軽微なウイルス様症状と これに関与するウイルスについて

及川 巖・夏井 勉*・大谷 朋男
塚本 貴敬・馬場 忠二・大門 輝男
横浜植物防疫所業務部国内課

Studies on the Viruses Detected from Potato Plants Showing Mild Virus-like Symptoms. Iwao OIKAWA, Tsutomu NATSUI, Tomoo OTANI, Takanori TSUKAMOTO, Chuji BABA and Teruo DAIMON (Yokohama Plant Protection Station, 6-64, Kitanaka-dori, Naka-ku, Yokohama 231, Japan).
Res. Bull. Pl. Prot. Japan 26: 73-77 (1990)

Key words: potato virus diseases, ELISA, PVY-T

ま え が き

ジャガイモ Y ウイルスえそ系統(PVY-T)に感染したジャガイモの病徴については、夏井ら(1988)および山崎ら(1988)の報告があるが、マークイン、トヨシロなど一部の品種を除いて一般にれん葉、葉脈えそなどの症状は軽く、品種によっては無病徴のものがある。特に種馬鈴しょとして最も流通量の多い品種“男爵薯”においては、PVY-Tを接種しても病徴はほとんど現われないが、栽培ほ場では軽いれん葉症状あるいは健全株に比べてやや生育が悪い株などから、PVY-Tが検出されている(夏井ら1988)。

そこで、ジャガイモ、特に男爵薯におけるPVY-Tの病徴をさらに明らかにするため、ほ場で軽微なモザイクやれん葉症状を呈する株からどのような種類のウイルスが検出されるかに重点をおき調査した。

本報告は、当課が実施している種馬鈴しょの次代検定株およびほ場検査時に採集した試料を用いて昭和61～63年の3年間調査した結果を取りまとめたものである。

報告するに当たり、PVY-T抗血清(モノクローナル抗体)を分譲頂いた日本たばこ産業(株)生命科学研究所高浪洋一博士、試料の採集にご協力頂いた当所札幌、塩釜両支所および関係出張所担当官並びに検定および取りまとめなどで終始ご指導頂いた当所調査研究部後藤正昭病菌課長、業務部長尾記明国内課長に厚く御礼申

し上げる。

材料および方法

1. 検定用試料

(1) 次代検定株

種馬鈴しょの資質を調査するため、各年度のは場検査に合格したほ場の中から環境および病害虫の発生状況、産地などを考慮に入れて生産者および品種を指定し、1ほ場につき1株から1塊茎、計60個を1ロットとして各年度20～25ロットを採集し、翌年3月に大和ほ場にロットごとに各50個を植付け病徴調査(次代検定)を実施している。

昭和61～63年産種馬鈴しょの次代検定においては、個体ごとに整理番号を付し生育期間中の病徴調査を行い、さらに5月上旬に各株の頂葉2～3枚を採集して、ELISA検定試料とした。

なお、病徴の記録は①明瞭なれん葉症状、②軽いれん葉症状、③不明瞭(健全株に比べてやや生育が悪い、退緑、小葉化などの症状がみられるもの)、④無病徴、の4区分とした。

(2) ほ場検査時の採集株

62年および63年の第2期および第3期ほ場検査時に、ウイルス病株としては判定できないが軽いウイルス様症状が認められる株を採集し、それらを1)微斑モザイク、2)れん葉症状、とに分け、立毛中の病徴として記録した。

なお、(1)および(2)で採集した試料は、ELISA検

* 現在、横浜植物防疫所塩釜支所

第1表 供試した ELISA 検定用抗血清

抗 血 清	作 製 又 は 購 入 先
PVY-T (吸収抗体)	(社)日本植物防疫協会
PVY-T (モノクローナル抗体)	日本たばこ産業株式会社
P V S	横浜植物防疫所・ペーリンガーマンハイム社
P V X	ペーリンガーマンハイム社
P V M	〃

定を行うまで個体ごとにビニール袋に入れて -80°C で保存した。

2. ELISA 検定

凍結保存した試料約 0.5 g に 5 ml の磨砕液 (PBS-Tween 20+2% ポリビニールピロリドン+0.05% チオグリコール酸)を加えてすり鉢で磨砕し、ELISA 検定試料とした。

ELISA 検定は、ジャガイモ Y ウイルス (PVY)、ジャガイモ S ウイルス (PVS)、ジャガイモ X ウイルス (PVX) およびジャガイモ M ウイルス (PVM) の 4 種ウイルス抗血清を用いて CLARK and ADAMS (1977) の方法に準じて行った。供試した ELISA 検定用抗血清は、第 1 表に示したとおりである。

ELISA 値の測定は、東洋曹達工業 (株) 製マイクロプレートリーダ MPR-4 型を用いて行った。

なお、61 および 62 年産種馬鈴しょに対する PVX の検定は、当所が作製した PVX 抗血清を用いてスライド凝集反応法により行った。

結果および考察

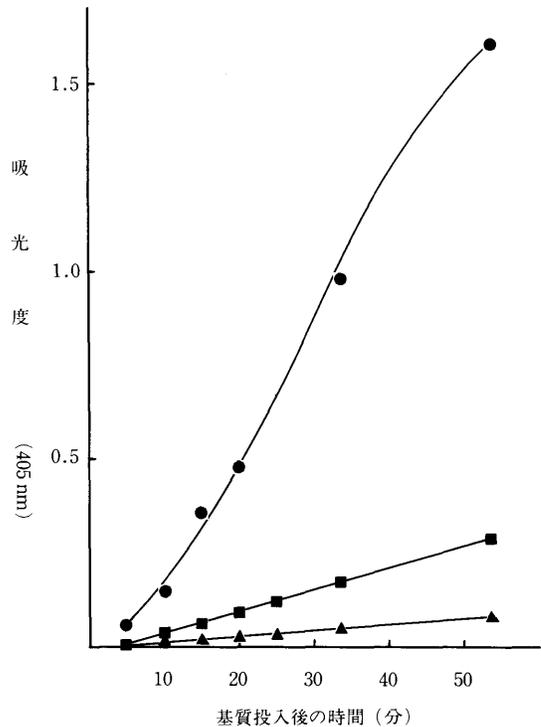
1. ELISA 検定における PVY の簡易系統判別

(注) 日本植物防疫協会作製の PVY-T 抗血清 (吸収抗体) は PVY-O (普通系) にも弱く反応することから、凍結乾燥した PVY-T および PVY-O のり病タバコ葉を用いて両系統に対する ELISA 値の経時変化を比較した。その結果は第 1 図に示したとおりである。

本抗血清は、PVY-T に対して基質投入後約 5 分で発色が始まり、10 分後には明瞭となるが PVY-O に対しては 10~20 分後に発色が確認できる程度であった。

30 分後の PVY-T の ELISA 値は、PVY-O の値に比べ 5 倍以上高く、両者の間に顕著な差異が認められた。

また、本抗血清 (吸収抗体) と PVY-T モノクローナル抗体とを用いて ELISA 検定を行ったとき、検定結果にどの程度差異が生ずるかを 61 年産種馬鈴しょ



第1図 PVY-T 抗血清 (吸収) を用いた ELISA 検定における PVY えそ系統及び普通系の反応

●—● PVY えそ系統 ■—■ PVY 普通系 ▲—▲ 健全

次代検定株について調査した。その結果は第 2 表に示したとおりである。

モノクローナル抗体を用いた ELISA 検定では、181 検体が陽性であったが、吸収抗体を用いた場合は、基質投入後 10 分で 187 検体、30 分後で 203 検体が陽性であった。

吸収抗体を用いた場合、10 分後の判定で陽性のものを PVY-T と判定した場合、男爵薯の 6 検体を除くとすべてモノクローナル抗体を用いた検定結果と一致した。

第2表 PVY-T に対するモノクローナル抗体と吸収抗体^{a)}を用いた場合の ELISA 検定結果の比較

品 種 ^{b)}	検体数	PVY-T 抗血清		
		モノクローナル抗体	吸 収 抗 体 ^{a)}	
			10 分 ^{c)}	30 分 ^{c)}
男 爵 薯	347	166	172	187
トヨシロ	96	14	14	14
メークイン	35	0	0	1
ワセシロ	33	1	1	1
そ の 他	33	0	0	0
計	544	181	187	203

注 a) (株) 日本植物防疫協会作製 PVY-T 抗血清 (吸収抗体)

b) 昭和 61 年産次代検定種馬鈴しょ

c) 基質投入後の時間

また、10 分以上経過して発色した 16 検体はすべてモノクローナル抗体では陰性であった。

これらのことから、PVY の両系統に対する検定には、PVY-T (吸収) 抗血清を用いることとし、基質投入後 10 分で発色するものを PVY-T、それ以後に弱く発色するものを PVY-O として便宜的に区別して取り扱うこととした。

2. ウイルス症状と検出されるウイルス

(1) 種馬鈴しょ次代検定株

男爵薯の次代検定株のうち、葉巻病および黒あざ病株を除いて検定は場における病徴と検出されるウイルスの種類との関係を調査した結果は第 3 表に示したとおりである。

調査株数に対するれん葉症状の明瞭な株 (中・重症株) は 63 年産では 2.4% であり、61 年産 (20.7%)、62 年産 (14.7%) に比べて大巾に減少した。これに伴って

第3表 次代検定株“男爵薯”から検出されるウイルス

年産 (昭和)	れん葉症状の程度	検定株数	検 出 ウ イ ル ス の 内 訳								検 出	
			PVY		PVS	PVX	PVY-T		PVS + PVX	その他	株数	率 (%)
			-T	-O			+PVS	+PVX				
61	中・重症株	86	16	3	5	4	22	15	1	15	81	94.2
	軽 症 株	51	28	1	3	2	6	1			41	80.4
	不明瞭株	61	30	4	4	1	1	4			44	72.1
	無病徴株	217	22	3	23	6		2		1	57	26.3
	計	415	96	11	35	13	29	22	1	16	223	53.7
62	中・重症株	90	3	3	27		23	3		11	70	77.8
	軽 症 株	73	9	23	22	2	2			1	59	80.8
	不明瞭株	58	11	9	12		2		5		39	67.2
	無病徴株	392	8	5	41	10			3	1	68	17.3
	計	613	31	40	102	12	27	3	8	13	236	38.5
63	中・重症株	15			2		7	2		3	14	93.3
	軽 症 株	51	12		4		29	1		5	51	100.0
	不明瞭株	24	10	1	2	1	2		1		17	70.8
	無病徴株	535	87	5	69	32		1	3	3	200	37.4
	計	625	109	6	77	33	38	4	4	11	282	45.1
合計	中・重症株	191	19	6	34	4	52	20	1	29	165	86.4
	軽 症 株	175	49	24	29	4	37	2	0	6	151	86.3
	不明瞭株	143	51	14	18	2	5	4	6	0	100	69.9
	無病徴株	1,144	117	13	133	48	0	3	6	5	325	28.4
	計	1,653	236	57	214	58	94	29	13	40*	741	44.8

* PVY-O+PVS (16), PVY-O+PVX (6), PVY-T+PVS+PVX (14), PVY-O+PVS+PVX (4)

63年産の無病徴株の占める割合は、85.6%と高くなったが、無病徴株からのウイルス検出率は逆に高くなった。

これらの次代検定株から検出されるウイルスは、PVY, PVS および PVX の3種類で PVM は全く検出されなかった。

れん葉症状の中・重症株において、PVY-T, PVY-O, PVS および PVX のうちの2種以上が同時に検出される割合は、61.8%を越え、なかでも PVY-T+PVS が検出される株は約31%を占め最も多かった。

また、これらの症状株のうち、61年産では86株中16株(18.6%)からPVY-T, 62年産においては90株中27株(30%)からPVSが単独で検出され、PVY-T又はPVSの単独感染によっても男爵薯に明瞭なれん葉症状が現われる場合があることが判った。

軽症株からは、3年間の合計でみるとPVY-Tが28%と最も多く、次いでPVY-T+PVSが21%、PVSが17%、PVY-Oが14%検出された。PVXの検出率は重複感染を含めても6.3%と少なかった。

しかし、年度別にみるとウイルスの種類別検出率には変動がみられ、63年産ではPVY-T+PVSが57%と最も高く、過去2年間の傾向と異なっていた。

病徴不明瞭株からは、PVY-Tの検出率が最も高く、3年間の合計で143株中51株、35.7%から検出された。しかし、62年産においてはPVSが重複感染を含めると32.8%検出され、最も多かった。

無病徴株からのウイルス検出率は、61年産では26.3%、62年産では17.3%、63年産は37.4%であった。各ウイルスの検出率を3年間の合計でみると、PVSが11.6%、PVY-Tが10.2%、PVXが4.2%、PVY-Oが1.1%、2種ウイルス重複が1.2%であった。

“マークイン”および“トヨシロ”の無病徴株の検定結果は第4表に示したとおりであるが、両品種からのウイルス検出率は男爵薯のそれに比べて低かった。特にPVY-Tの検出率は男爵薯の10.2%に比べマークイン、トヨシロでは重複検出を含めても0.8%および1.9%と低く、両品種と男爵薯との間に大きな差が認め

られた。マークインやトヨシロでPVY-Tの検出率が低くなっている理由としては、これらの品種にPVY-Tが感染した場合、モザイクやえそ症状が比較的明瞭に現われ、種馬鈴しょほ場でのり病株の抜取りが容易であることに起因していると思われる。

北海道のジャガイモ採種ほにおける病徴と病原ウイルスを調査した萩田ら(1988)は、えそ、モザイク症状のいずれにおいてもPVYの単独感染かPVYとPVSの重複感染が多く、病徴のない男爵薯からもPVYが多く検出されることを報告している。彼らの調査においては、PVYの系統判別は行われていないので明らかでないが、本調査ではPVY-OよりもPVY-Tの検出率が高く、また、PVSがPVY-Tとほぼ同率で検出されている。

PVSの検出率が全体的に高くなっている主な理由としては、62年産および63年産において東北および関東々山の一部ロットからPVSが高率に検出されたことがあげられる。

(2) ほ場検査時の採集株

ほ場検査時に採集した延べ9品種、131株についてELISA検定を行った結果は第5表のとおりである。

微斑モザイク又は軽いれん葉症状株からのウイルス検出率は、それぞれ61.4%、65.6%であった。

採集株からの各ウイルスの検出率は、次代検定株の結果におおむね類似しており、PVY-TとPVSの検出率が高く、次いでPVY-O, PVXの順であった。

全体的にみると微斑モザイク株からはPVY-Tが、軽いれん葉症状株からはPVSが多く検出される傾向が認められた。特に男爵薯の軽いれん葉症状株からはPVSが重複感染を含めると28株中16株(57%)検出され、PVSの関与が高いように思われた。この点については、さらに採集個体数を増やして調査することが必要であろう。

以上の調査を通じて次のようなことが明らかになった。

① PVY-T又はPVSの単独感染によっても男爵薯にれん葉症状又は微斑モザイク症状が現われること

第4表 マークイン及びトヨシロの無病徴株から検出されるウイルス
(昭和61~63年産種馬鈴しょ次代検定)

品 種	検体数	検 出 ウ イ ル ス 内 訳					検 出		
		PVY-T	PVS	PVX	PVY-T +PVX	PVY-O +PVX	PVS +PVX	株数	率(%)
マークイン	260	1	4	8	1	1		15	5.8
トヨシロ	422	4	72	2	4		1	83	19.7

第5表 採種ほにおける軽微なウイルス症状^{a)}と検出されるウイルス

病徴	品 種	検定 株数	検 出 ウ イ ル ス 内 訳							検 出		
			PVY-T	PVY-O	PVS	PVX	PVY-T		PVY-O +PVS	PVS +PVX	株数	率(%)
							+PVS	+PVX				
微 斑	男 爵 薯	37	6	3	5	2	1		1	18	48.6	
	メークイン	1								0	0.0	
	紅 丸	17	7	4					2	13	76.5	
	トヨシロ	9	6	1					1	8	88.9	
	そ の 他 ^{b)}	6		1		1	2			4	66.7	
	計	70	19	9	5	3	3		2	2	43	61.4
軽 い れん葉	男 爵 薯	28	3	2	7	1	3		5	1	22	78.6
	メークイン	8	1		3					1	5	62.5
	紅 丸	7		3		1		1			5	71.4
	トヨシロ	6	1		2	1					4	66.7
	そ の 他 ^{b)}	12			2				2		4	33.6
	計	61	5	5	14	3	3	1	7	2	40	65.6

^{a)} 昭和62・63年第2期及び第3期ほ場検査時に採集

^{b)} 農一，ワセシロ，ホッカイコガネ，コナフブキ，トヨアカリ

があり、両者の重複感染によって症状がより明瞭になる傾向が認められること。

② 生育のやや悪い株（不明瞭株）のウイルス保毒率は健全株に比べて2～4倍高いこと。

③ 次代検定における病徴調査においては、れん葉又はえそなどのウイルス病株は年々減少しているが、この傾向とウイルス保毒率は一致していないこと。

このため、今後の種馬鈴しょ（特に男爵薯）生産におけるウイルス病対策においては、健全株に比べてやや生育が悪い株も含めて早朝に抜き取りを行うとともに生育後期までアブラムシの防除を更に徹底することが重要である。

引用文献

- 夏井 勉ら（1988） ジャガイモの主要品種におけるジャガイモYウイルスえそ系統の病徴（1）関東、北海道における調査。植防研報 24：27-31。
- 山崎英明ら（1988） ジャガイモの主要品種におけるジャガイモYウイルスえそ系統の病徴（2）西南暖地（九州）における調査。植防研報 24：69-71。
- 萩田孝志ら（1988） 北海道におけるジャガイモウイルス病および媒介アブラムシ類の発生実態。北農 55（11）：30-39。