

熊本県のキクから検出されたトマト黄化そえウイルス

森山 美穂・花田 薫¹⁾・古家 忠・鶴田 伸二²⁾
 (熊本県農業研究センター農産園芸研究所・¹⁾九州農業試験場・²⁾熊本県病害虫防除所)

Miho MORIYAMA, Kaoru HANADA, Tadashi HURUIE and Shinji TSURUTA :
 Detection of Tomato Spotted Wilt Virus on Chrysanthemum in Kumamoto Prefecture

1998年4月、熊本県のスプレーギク(品種不明)および輪ギク(品種:秀芳の力)で茎にえそ斑や葉の黄化といったトマト黄化えそウイルス(Tomato Spotted Wilt Virus; TSWV)による病徴と類似した症状が発生した。そこで、これらの株の症状の原因について検討した結果、TSWVによることが判明したので報告する。

また、今後キクにおけるTSWV発生調査の際に問題となる採集部位についても検討を行ったので併せて報告する。

1. 材料および方法

採集したキクの罹病葉を用いて *Nicotiana glutinosa* と *Chenopodium amaranticolor* に汁液接種したところ、前者では全身感染、後者では局部病斑を生じ、秀芳の力に戻し接種を行うと病徴が再現された。次に、採集した両品種の罹病葉とこれらの葉の搾汁液を接種した *N. glutinosa* の葉から、大貫・花田らの方法に準じて核酸を抽出し、既報のTSWVの配列を基にしたプライマーを使いRT-PCRを行った。RT-PCR法の反応条件は、cDNA合成に42℃で30分、アニーリングに50℃で1分、DNA鎖の伸長に72℃で1分間処理し、これを40サイクル実施した。

次に、採集した両品種の宿主範囲について、6科19品種の植物を用いて調べた。さらに、日本植物防疫協会より入手したモノクローナル抗体を用い、高橋らの方法に準じてDAS-ELISAを行った。

また、キクではTSWVが局在化し、発生調査の際のサンプリング部分が特定しにくい。そこで、キクを器官別あるいは葉位別に分類し、TSWVの局在性と病徴との関係について調査した。さらに、既報のDAS-ELISA法は結果判定までに長時間を要するため、それらの反応時間の短縮についても検討した。

2. 結果および考察

採集した両品種の罹病葉とこれらの搾汁液を接種した *N. glutinosa* の葉を用いたRT-PCRの結果、スプレーギクの罹病葉を用いると、スプレーギクの罹病葉からもこの罹病葉を接種した *N. glutinosa* の葉からもTSWVとはほぼ同じ増幅断片が得られたが、秀芳の力の罹病葉を用いると、接種した *N. glutinosa* の葉からしか検出できなかった(第1図)。

そこで、両品種の宿主範囲を調べると、両品種における6科19品種での病徴は、いずれも同じであり、これは、既報のTSWVの病徴とはほぼ同じであった。次に、両品種の罹病葉と両品種の罹病葉を接種した *N. glutinosa* お

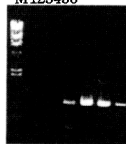
よび両品種を接種した秀芳の力の葉から、DAS-ELISA法でウイルスの検出を行った結果、供試した全ての葉からはTSWVは検出できなかった。そこで、検出できなかった秀芳の力の罹病葉を、えそ斑の生じている葉と生じていない葉に分け、かつ、それぞれの葉を茎盤状に7つに細分してDAS-ELISA法に供試した。その結果、幾つかの葉および葉片からTSWVが検出され、この株がTSWVに感染していることは確認できたが、TSWVの感染と、えそ斑の有無、或いは葉の部分との関係は明らかではなかった。さらに、株の全葉毎にDAS-ELISA法を行ったが、株の全葉を用いても、えそ斑の有無や葉位とTSWVの検出との関係は認められなかった。

次にDAS-ELISA法での反応時間の短縮について検討した。その結果、健全葉の値を比較的好く押さえ、かつ罹病葉の値が高かった時間条件は、コーティング2時間-サンプル2時間-コンジュゲート2時間であった。この反応時間を用いて、TSWV発生圃場より採集した輪ギク(品種:セイサム)を各部位別に分けて、それぞれの部位からのTSWVの検出を試みた。供試した輪ギクでは、葉よりも茎の方が比較的TSWVの検出率が高い傾向にあり、株全体では、中～上位節の検出率が高かった。根からは全く検出されなかった(第1表)。今後は、キクの生育ステージと株での局在部位について検討していく必要がある。

引用文献

- 1) 大貫正俊ら: 日植病報 60, 793-740, 1994.
- 2) 高橋義行: 植物防疫 42, 88-92, 1988.

M123456



- 1: 健全キク
- 2: 秀芳の力凍結葉
- 3: スプレーギク生葉
- 4: 秀芳の力接種グルチノーゼ生葉
- 5: スプレーギク接種グルチノーゼ生葉
- 6: TSWV

第1図 RT-PCR法を用いた(供試株での)TSWVの検出

第1表 DAS-ELISAによるTSWVの検出

| | 葉 | 茎 | 根 | 蕾 | |
|-----|------|------|------|-----|------|
| 病徴有 | (全体) | 29.2 | 44.9 | 0.0 | 19.2 |
| | 上位節 | 35.3 | 37.1 | | |
| | 中位節 | 41.3 | 40.6 | | |
| | 下位節 | 10.2 | 22.1 | | |
| | (全体) | 24.5 | 28.8 | 0.0 | 22.2 |
| 病徴無 | 上位節 | 12.2 | 33.3 | | |
| | 中位節 | 28.9 | 42.5 | | |
| | 下位節 | 33.3 | 17.9 | | |
| | (全体) | | | | |

注) 数字は検定した葉数に対する陽性反応を示した葉数の割合(%)