

弱毒ウイルスを用いたユウガオモザイク病の防除

大野義文・中山喜一*

摘要：ユウガオモザイク病防除のため，本病の病原ウイルスのひとつであるキュウリ緑斑モザイクウイルス（CGMMV）の弱毒株No.24を作出した．本弱毒ウイルスは，ユウガオに対して顕著なモザイク症状を示さず，強毒株の二次感染に対して高い緩衝効果を示した．本弱毒ウイルスをカボチャモザイクウイルス（WMV 2）弱毒株WI-9と共にユウガオ苗に混合接種することで本病の防除が可能であった．

キーワード：ユウガオモザイク病，弱毒株，キュウリ緑斑モザイクウイルス，カボチャモザイク混合接種

Control of Mosaic Disease of Bottle Gourd by Attenuated viruses

Yoshibumi OHNO, Kiichi NAKAYAMA*

Summary: In order to control mosaic disease of bottle gourd, we selected an attenuated isolate of Cucumber Green Mottle Mosaic Virus (CGMMV) strain No.24. This attenuated strain is able to multiply in bottle gourd without inducing any remarkable symptoms, but to protect them from later infection with virulent CGMMV strain. In field examination, simultaneous inoculation with No.24 and WI-9 (attenuated isolate of Water Melon Mosaic Virus presented by National Agriculture Research Center) was effective for control of mosaic disease.

Key Words: mosaic disease of bottle gourd, attenuated isolate, Cucumber Green Mottle Mosaic Virus, Water Melon Mosaic Virus, simultaneous inoculation

*：現栃木県農務部普及教育課

(1998.6.30受理)

I 緒言

栃木県におけるユウガオ栽培の歴史は古く、正徳2年(1712)に壬生町で栽培されたのが発端とされている¹⁾。現在では本県が国内生産量のほとんどを占め、栃木県の代表的な地域特産物となっている。

しかし、ユウガオでは従来からモザイク病の発生が多く、生産上の阻害要因となっている。手塚らの調査により、本病の病原はキュウリ緑斑モザイクウイルス(CGMMV)であることが明らかにされた²⁾。さらに、中山らの調査により本病の病原がCGMMVのみではなく、キュウリモザイクウイルス(CMV)、カボチャモザイクウイルス(WMV2)及びズッキーニ黄斑モザイクウイルス(ZYMV)も関与していることが示され、中でもCGMMV及びWMV2の感染が多く、それぞれの単独感染よりも2種の複合感染により症状が著しく激しくなることが明らかにされた³⁾。

作物のウイルス病は農業による防除が困難なため、耕種的防除、ベクターとなる害虫の防除及び弱毒ウイルスを用いた防除が一般的な防除方法となっている。ユウガオにおいても、種子消毒、土壌・資材消毒等が普及してきたが、十分な効果が発揮されていない現状である。

そこで本病を弱毒ウイルスを用いて防除する目的で、CGMMV弱毒株の作出に取り組んだ。その結果、ユウガオ及び他のウリ科作物に対して病原性が低く、ユウガオにおいて強毒株の二次接種に対して高い干渉効果を発揮する最優良弱毒株No.24の作出に成功した。また、本弱毒株をWMV2弱毒株WI-9⁴⁾と混合利用することで、ユウガオモザイク病による減収を回避することができた。

II 材料及び方法

1. CGMMV弱毒株の作出

1) 熱処理

ウイルス感染葉の磨砕液(リン酸緩衝液)をユウガオ葉に接種し、25℃で2日経過した後、35℃で22日処理した感染葉の磨砕液をカーボランダム法で*Chenopodium amaranticolor*に接種した。形成された局部病斑1病斑を切り取り、ユウガオに戻し接種して病徴を調査した。

2) 紫外線処理

ウイルス感染葉をリン酸緩衝液で磨砕してガーゼ濾過したあと、低速及び高速遠心分離で部分純化し、それに紫外線(ランプ:15W, 30cm)を60~300秒照射することによって行った。その後の処理は熱処理に準じた。

3) 亜硝酸ナトリウム処理

ウイルス感染葉をリン酸緩衝液で磨砕して二重ガーゼ濾液を低速遠心分離し、その上清を供試した。4M亜硝酸ナトリウム液を加えて22℃で30分または60分処理した。その後の処理は熱処理に準じた。

2. CGMMV弱毒株及びWMV2弱毒株がユウガオ及び主要ウリ科作物におよぼす影響

CGMMV弱毒株としてNo.12及びNo.24を、WMV2弱毒株としてWII-5及びWI-9(両菌株とも農業研究センターより分譲)をそれぞれ供試した。

対象作物として、ユウガオでは「しもつけしろ」、カボチャでは、「そうめん」、「えびす」、「みやこ」及び「つるなしやっこ」、キュウリでは「シャープワン」、「北宝1号」、「南極1号」、「南極2号」及び「霜不知地這」、スイカでは「金山」、「こだま」及び「紅こだま」をそれぞれ供試した。

接種源は、それぞれのウイルス感染ユウガオ葉を10倍容のリン酸緩衝液中で磨砕して調整し、接種はカーボランダムを用いた汁液接種で行った。

3. CGMMV及びWMV2弱毒株の混合接種がユウガオ及び他のウリ科作物に対する病原性

CGMMV弱毒株としてNo.12及びNo.24を、WMV2弱毒株としてWII-5及びWI-9(両菌株とも農業研究センターより分譲)をそれぞれ供試した。

対象作物として、ユウガオでは「しもつけしろ」、カボチャでは、「そうめん」、「えびす」、「みやこ」及び「つるなしやっこ」、キュウリでは「シャープワン」、「北宝1号」、「南極1号」、「南極2号」及び「霜不知地這」、スイカでは「金山」、「こだま」及び「紅こだま」をそれぞれ供試した。

接種源は、それぞれのウイルス感染ユウガオ葉(CGMMV及びWMV2)を同時に10倍容のリン酸緩衝液中で磨砕して調整し、接種はカーボランダムを用いた汁液接種で行った。

それぞれのウイルス感染ユウガオ葉を10倍容のリン酸緩衝液中で磨砕して調整し、接種はカーボランダムを用いた汁液接種で行った。

4. 弱毒ウイルスの効率的な接種方法

1) 接種源調整法の検討

リン酸緩衝液または滅菌水を用いて弱毒株感染ユウガオ葉を磨砕した。磨砕液をユウガオ第一本葉にカーボランダム法で接種した。ユウガオへの感染率はELISA法により調査した。

2) 接種方法及び接種濃度の検討

リン酸緩衝液で弱毒株感染ユウガオ葉を磨砕し、ユウガオ苗の第一葉にカーボランダム法による汁液接種、ま

たはハンドスプレーを用いた噴霧接種を行った。リン酸緩衝液での希釈倍率は300, 600, 1000倍とした。なお、噴霧接種ではカーボランダムを3%となるように磨砕液に加えた。ユウガオへの感染率はELISA法により調査した。

3) 混合弱毒ウイルスの接種濃度がユウガオ体内ウイルス濃度におよぼす影響

CGMMV及びWMV-2両弱毒ウイルスの接種濃度を変えてユウガオ体内のウイルス濃度の推移を調査した。接種はカーボランダム法を用いて、ユウガオ苗の第一本葉に汁液接種で行った。接種後にユウガオの第3, 4, 5, 7及び9葉をそれぞれ完全展開時に採取してELISA法でウイルス濃度を調査した。

5. 混合弱毒株の混合強毒株に対する干渉効果

CGMMV弱毒株としてNo.12, No.24を、WMV 2弱毒株としてWI-9を供試した。試験は農試場内ガラスハウスの鉢試験、場内圃場及び現地農家圃場で行った。弱毒株の接種は、供試株感染葉をリン酸緩衝液中で摩砕し、ユウガオ第一本葉にカーボランダム法で行った。混合弱毒株及び混合強毒株とも一次接種は10倍液、混合強毒株の二次接種は1000倍液を用いた。品種は「しもつけしろ」を用いた。

試験区の構成は第1表に示す。

第1表 試験区の構成

区No.	一次ウイルス	二次ウイルス
I	—	—
II	○	—
III	○	●
IV	●	—
V	—	●

○：混合弱毒ウイルス
●：混合強毒ウイルス
—：無接種

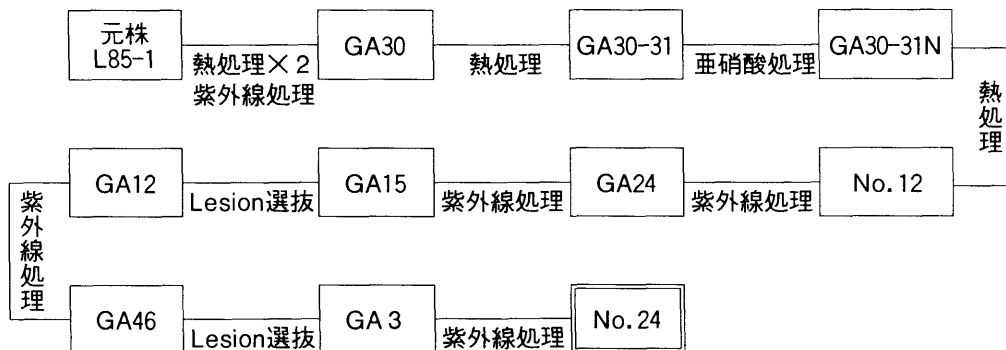
III 結果

1. CGMMV弱毒株の作出

親株L85-1に熱処理4回、紫外線処理5回及び亜硝酸処理1回を行いNo.24を作出した(第1図)。

2. CGMMV弱毒株及びWMV 2弱毒株がユウガオ及び他のウリ科作物におよぼす影響

CGMMVについては、No.12株、及びNo.24株を供試した。これらの株は強毒株と比較してユウガオや他のウリ科作物に対して病原性がきわめて低かった(第2表)。WMV 2についても既述の方法で弱毒株の作出を行ったが、有望な株の作出には至らなかった。そこで、農業研究センターよりWII-5株及びWI-9株の分譲を受けて試験を行った。その結果、両菌株ともユウガオやその他のウリ科作物に対して病原性が低いことが確認された(第2表)。



第1図 CGMMV弱毒株No.24の作出過程

第2表 CGMMV及びWMV 2弱毒株の接種によるウリ科作物の発病程度

ウイルス名	供給菌株	発病度											
		①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨	⑩	⑪	⑫
	無接種	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CGMMV	No.12	48	*	0	0	0	28	0	6	0	0	12	*
	No.24	(20)	0	0	19	0	0	*	13	31	16	*	10
WMV 2	W II-5	32	0	0	0	5	*	0	0	*	*	*	*
	W I-9	23	0	0	5	0	*	0	0	*	*	*	*

() : 1997年の圃場試験 (No.24単独接種) による
注) ①~⑫はウリ科作物

- | | | | |
|---|---------------|---|-------------|
| ① | ユウガオ (しもつけしろ) | ⑦ | キュウリ (南極1号) |
| ② | カボチャ (アラジン) | ⑧ | キュウリ (南極2号) |
| ③ | カボチャ (えびす) | ⑨ | キュウリ (北宝1号) |
| ④ | カボチャ (そうめん) | ⑩ | スイカ (金山) |
| ⑤ | カボチャ (みやこ) | ⑪ | スイカ (紅こだま) |
| ⑥ | キュウリ (シャープワン) | ⑫ | スイカ (こだま) |

発病度 = Σ (程度別発病指数 × 同子づる数) / (4 × 調査子づる数) × 100

発病指数; 0 : 無病徴

3 : モザイク

1 : 葉脈透過, 退緑斑点

4 : 奇形をともなう激しいモザイク

2 : 軽いモザイク

3. CGMMV弱毒株及びWMV 2弱毒株の混合接種がユウガオ及び他のウリ科作物におよぼす影響

CGMMV弱毒株No.12とWMV 2弱毒株W II-5の混合接種は、両ウイルスの強毒株の混合接種と比較してユウガオの生育抑制程度も低く(第3表)、病徴も著しく低かった。しかし、無接種と比較すると若干の生育抑制が認められた(第4表)。CGMMV弱毒株No.12とWMV 2弱毒株W I-9との混合接種は、両強毒株の混合接種と比較して、ユウガオやその他のウリ科作物に対して病徴が著しく軽度で、ユウガオの生育抑制程度も低かった(第3、4表)。CGMMV弱毒株No.24とWMV 2弱毒株W I-9の混合接種はユウガオに対する生育抑制程度が最も低く(第3表)、他のウリ科作物に対する病原性も軽度であった(第4表)。

4. 弱毒ウイルスの効率的な接種方法

1) 接種源の調整法及び接種技術の検討

滅菌水を弱毒ウイルス感染葉の摩砕液に用いて混合弱毒ウイルスを接種した場合、CGMMV弱毒株のユウガオへの感染率は高いが、WMV 2弱毒株の感染が極端に低下した(第5表)。一方、リン酸緩衝液を用いて摩砕し

た場合は、両弱毒ウイルス共に高率に感染した(第5表)。

ハンドスプレーを用いた混合接種では、WMV 2弱毒株のユウガオへの感染率が極端に低下した(第6表)。

以上より、二種の弱毒ウイルスを高率にユウガオに感染させるためには、10倍容のリン酸緩衝液でウイルス感染ユウガオ葉を摩砕し、カーボランダムを用いた汁液接種が適していると考えられた。

2) 混合弱毒ウイルスの接種濃度がユウガオ体内ウイルス濃度におよぼす影響

混合弱毒ウイルス接種濃度と体内濃度の関係を調査した結果、WMV 2弱毒株については、接種濃度が高いほど体内濃度が高く推移し、100倍希釈及び1000倍希釈では無接種区とほぼ同様なELISA値を示した(第2図)。一方、CGMMV弱毒株は第3葉においては接種濃度が低いほど体内濃度も低い値を示したが、上位葉では100倍希釈、1000倍希釈接種区においても、10倍希釈接種区と同等の濃度を示した(第3図)。このことから、植物体内の弱毒ウイルス濃度を早い時期から高めるためには、弱毒ウイルス感染葉の10倍希釈液が適していると考えられた。

第3表 混合弱毒ウイルス接種がユウガオの生育及び発病におよぼす影響

処理区	親づるの長さ cm	葉数枚	最大葉 縦×横	発病度
No.12+WII-5	116.9(87)	12.4(91)	232.6(97)	50
1992 混合強毒株	108.1(81)	11.8(87)	202.1(85)	100
無接種	133.7	13.5	237.7	0
No.12+W I-9	123.7(83)	12.5(93)	306.9(97)	48
1993 混合強毒株	148.2(76)	11.5(86)	250.6(79)	100
無接種	148.2	13.4	316.0	0
No.24+W I-9	190.3(97)	18.8(99)	316.7(89)	48
1994 混合強毒株	170.6(85)	18.2(96)	284.2(80)	100
無接種	198.9	18.9	356.4	0

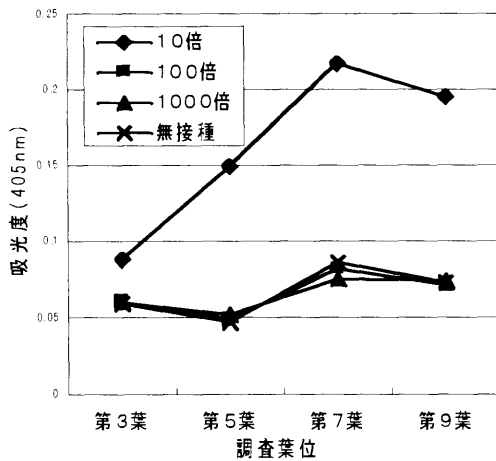
(): 無接種区を100としたときの指数
発病度の算出は第4表にしたがった

第4表 混合弱毒ウイルス接種がウリ科作物におよぼす影響

試験 年度	供試菌株	ウリ科作物 発病数										
		①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨	⑩	⑪
1993	No.12+W I-9	70	0	50	0	35	40	20	*	50	*	40
	混合強毒	100	100	100	100	85	90	90	*	100	*	100
	無接種	0	0	0	0	0	0	0	*	0	*	0
1994	No.24+W I-9	34	9	31	5	*	9	45	16	31	65	*
	混合強毒	98	100	100	100	*	100	72	72	93	75	*
	無接種	0	0	0	0	*	0	0	0	0	0	*

注) ①~⑫はウリ科作物

- ① カボチャ (アラジン)
- ② カボチャ (えびす)
- ③ カボチャ (そうめん)
- ④ カボチャ (みやこ)
- ⑤ カボチャ (落合2号節成)
- ⑥ キュウリ (シャープワン)
- ⑦ キュウリ (南極2号)
- ⑧ キュウリ (北宝1号)
- ⑨ スイカ (金山)
- ⑩ スイカ (紅こだま)
- ⑪ スイカ (こだま)



第2図 WI-9のユウガオ体内濃度推移

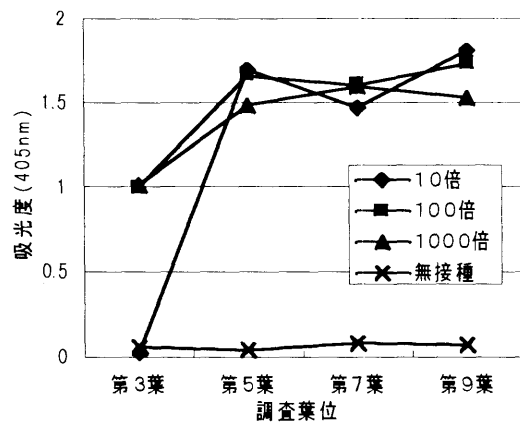
第5表 リン酸緩衝液及び滅菌水を用いた混合弱毒ウイルスのユウガオへの感染率

摩砕液	感染ウイルス名	感染率 (%)
リン酸緩衝液	CGMMVのみ	9.1
	WMV2のみ	0.0
	2種重複	90.9
滅菌水	CGMMVのみ	54.5
	WMV2のみ	0.0
	2種重複	36.4

注) 希釈濃度は10倍

第6表 混合弱毒株の噴霧接種によるユウガオへの感染率

接種方法	接種源 濃度	CGM MV感 確立(%)	WMV 2感染 率(%)
噴霧接種	300倍	93.3	20.0
	600倍	100.0	47.7
	1000倍	100.0	0.0
汁液接種	300倍	100.0	40.0
	600倍	90.0	40.0
	1000倍	90.0	50.0



第3図 No.24のユウガオ体内濃度推移

第7表 混合弱毒ウイルスの同時接種がユウガオ体内濃度におよぼす影響 (WMV2)

験 区	第3葉	第5葉	第7葉	第9葉
混合弱毒株接種	0.114	0.159	0.485	0.345
混合弱毒株接種	0.164	0.384	0.875	0.532
無接種	0.035	0.019	0.028	0.035

注) 表内の数値はELISA値 (405nm)

C G M M V弱毒株及びWMV 2弱毒株をユウガオに同時接種した場合、WMV 2弱毒株の体内濃度は、対照とした強毒株の体内濃度よりも低い濃度で推移した(第7表)。一方、C G M M V弱毒株の体内濃度は、対照とした強毒株と比較して第5, 7葉で若干低い傾向がみられたが、第9葉ではほとんど同程度の濃度であった(第8表)

5. 混合弱毒ウイルスの混合強毒株に対する干渉効果

1) 鉢試験

C G M M V弱毒株No.12及びWMV 2弱毒株WI-9の混合接種区は、無接種区と比較して若干の生育抑制及び軽いモザイク症状が見られたものの、混合強毒株を二次接種しても病徴は進展しなかった(第9表)。C G M M V弱毒株No.24及びWMV 2弱毒株WI-9株の混合接種も同様に、混合強毒株の接種に対して高い干渉効果を示した(第9表)。

2) 圃場試験

試験区は第1表にしたがって設置し、各試験の耕種概要は第10表に示した。

農試場内及び現地農家において、No.12とWI-9の組み合わせ(以後12+9)の最終発病度が49~52であるのに対し、No.24とWI-9の組み合わせ(以後24+9)は26~40であり、発病度を低く抑えた(第11表)。24+9

第8表 混合弱毒ウイルスの同時接種がユウガオ体内濃度におよぼす影響 (CGMMV)

験 区	第3葉	第5葉	第7葉	第9葉
混合弱毒株接種	0.975	0.832	0.845	1.023
混合弱毒株接種	0.942	1.035	1.213	1.077
無接種	0.032	0.021	0.024	0.028

注) 表内の数値はELISA値 (405nm)

の収量に関しては、1995年の農試場内圃場で行った無接種区に対して71%の増収を得たのを最高に、現地農家圃場においても無接種区と同等以上の収量を得た(第11表)。農試場内圃場においてこのように高い増収を得た原因として、本圃場がユウガオの連作圃場であるため、早い時期からユウガオがC G M M Vに感染し(第4図)、このことが弱毒株の干渉効果をより顕在化させたためであると考えられる。一方、1996年の上三川町坂上の試験では、無接種区での発病開始時期が遅れたため、混合弱毒株接種区は無接種区と同等の収量にとどまったものと考えられる(第5図)。12+9の収量は農試場内圃場では無処理区よりも9%減収したが、強毒株接種区と比較すると95%の増収であり、現地農家圃場においても無接種区よりも増収を得ている。以上より、24+9は12+9と比較して、強毒株に対する干渉効果はやや優ると判断できる。

さらに、1996年の上三川町梁で行った現地試験及び試験規模を拡大して行った1996年の石橋町における試験結果では、混合弱毒ウイルス接種区の収量は収穫前期までは無接種区と同様な推移を示しているが収穫中後期には無接種区を上回り、最終的にそれぞれ18%、12%の増収を得ている(第6, 7図)ことから、弱毒ウイルスの干渉効果はユウガオの生育期間を通して持続されていることが明らかになった。

第9表 鉢試験における混合弱毒株の混合強毒株に対する干渉効果及びユウガオの生育におよぼす影響

実施年	使用弱毒株		試験区No.	親づるの長さ cm	葉数	発病度	最大葉縦×横
	CGMMV	WMV2					
1993 ¹	No.12	WI-9*	I	149.2	13.4	0.0	316.0
			II	123.7	12.5	48.0	306.9
			III	130.3	12.6	49.0	310.4
			IV	113.2	11.5	100.0	250.6
			V	111.5	12.0	73.6	269.4
1994 ²	No.12	WI-9*	I	352.4	37.8	0.0	254.8
			II	336.8	40.8	30.0	220.6
			III	337.8	41.3	30.0	227.5
			IV	348.0	41.9	100.0	204.4
			V	307.8	38.3	100.0	190.7

注) 発病度の算出は第3表にしたがった

1. 品種は「しもつけしろ」、5月21日播種、一次接種6月7日、二次接種6月17日、調査7月12日

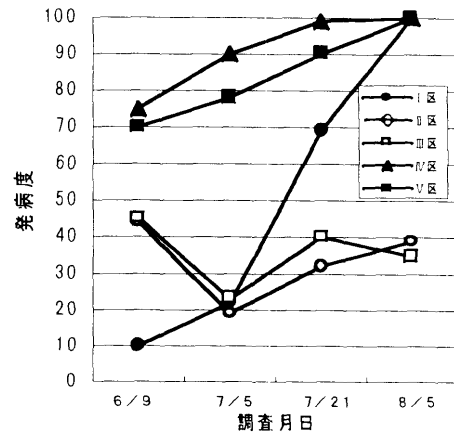
2. 品種は「しもつけしろ」、6月16日播種、一次接種7月6日、二次接種7月18日、調査8月18日

* 農業研究センターより分譲

第10表 圃場試験における各試験の耕種概要

実施年	実施圃場	播種日	定植日	一次接種	二次接種
1994	農試	4月7日	5月11日	4月22日	5月17日
	上三川町 梁	3月19日	4月20日	4月7日	-
	上三川町 坂上	3月16日	4月20日	4月7日	-
1995	農試	4月18日	5月20日	5月10日	6月1日
	上三川町 梁	3月19日	4月21日	4月7日	-
	上三川町 坂上	3月16日	4月24日	4月7日	-
1996	農試	3月9日	4月20日	4月4日	6月2日
	上三川町 梁	3月19日	4月18日	4月7日	-
	上三川町 坂上	3月9日	4月18日	4月4日	-
	石橋町 橋本	4月1日	5月3日	4月20日	-

注) 農試圃場は1区5株, 石橋圃場は1区80株, その他の圃場は1区10株供試した



第4図 場内圃場における発病後の推移 (1995年)

第11表 CGMMV弱毒株及びWMV2弱毒株の混合接種がユウガオの収量及び発病度におよぼす影響

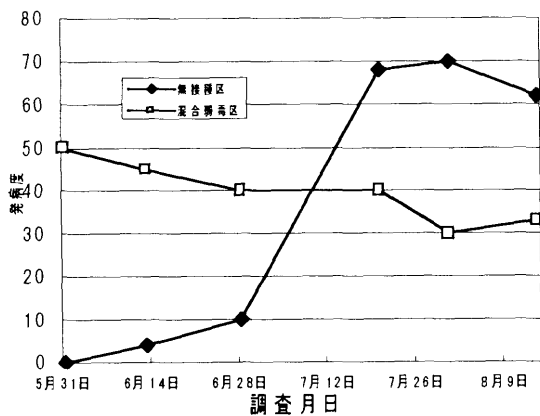
実施年	使用弱毒株		実施圃場	収量		最終発病度 ³	
	CGMMV	WMV2		対無接 ¹	対強毒 ²	弱毒接種 ⁴	無接種
1994	No.12	WI-9*	農試	91	195	52	73
			上三川町 梁	114	-	50	63
			上三川町 坂上	126	-	49	100
1995	No.24	WI-9*	農試	171	304	39	100
			上三川町 梁	107	-	30	80
			上三川町 坂上	103	-	38	100
1996	No.24	WI-9*	農試	138	261	40	100
			上三川町 梁	118	-	33	63
			上三川町 坂上	100	-	32	61
			石橋町 橋本	112	-	26	77

*: 農業研究センターより分譲 1. II区の収量/I区の収量

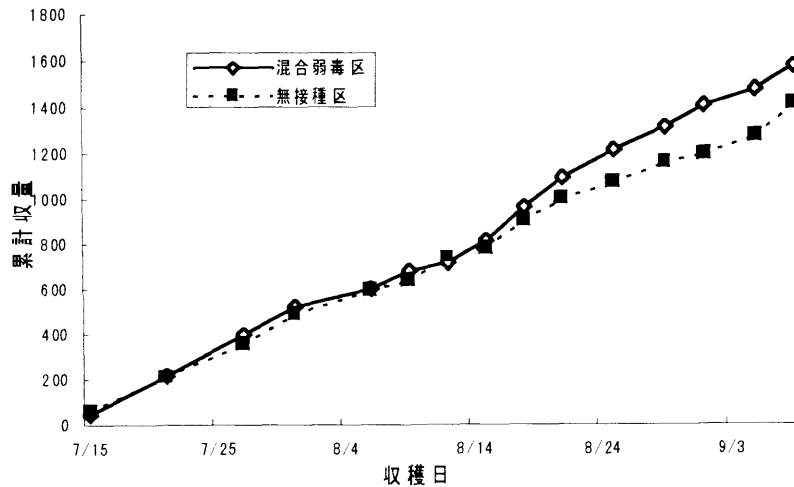
2. II区の収量/IV区の収量

3. 第4表にしたがった

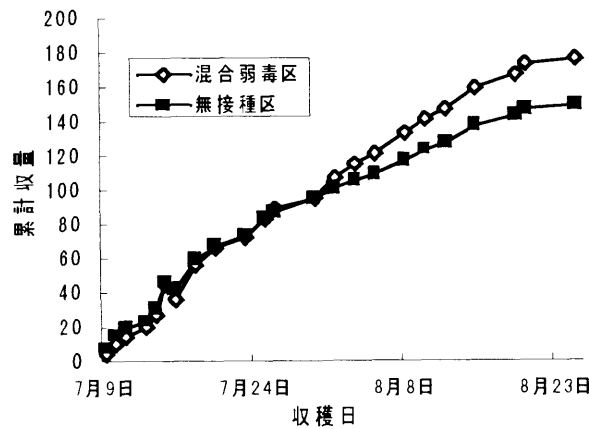
4. II区 of 最終発病度



第5図 現地圃場における発病度の推移 (上三川町坂上1996)



第6図 現地圃場における累計収量の推移 (1997石橋町)



第7図 現地圃場における累計収量の推移 (1997年上三川町梁)

Ⅳ 考察

C GMMVの属するTobamovirus属のタイプ種ウイルスのタバコモザイクウイルス (TMV) では、熱処理、紫外線処理及び亜硝酸処理などの方法で多くの弱毒株が作出されている⁵⁻⁹⁾。C GMMVにおいても吉本¹⁰⁾らが紫外線照射と亜硝酸ナトリウム処理で作出した弱毒株S H33 bは、メロンモザイク病防除に利用されている^{11, 12)}。本研究では、中山ら¹³⁾によってC GMMVによるユウガオモザイク病防除を目的に作出されたC GMMV弱毒株GA 3 0-3 1に、さらに熱処理 (1回)、亜硝酸処理 (1回)、紫外線処理 (4回) 及びC. quinoaにおけるLesion選抜を行い (第1図)、WMV 2弱毒株との混合利用が可能な弱毒株の作出を試みた結果、最優良株No24を作出した。

実用的な弱毒ウイルスの持つべき条件として花田¹⁴⁾

は、①対象とする作物に感染したとき、収量及び品質の低下を最低限にとどめること、②生育期間全体を通じて干渉効果を維持すること、③簡易にかつ大量に接種できること、④他のウイルスとの重複感染がおきても病徴を激化しないこと、⑤対象作物以外に感染しないか、たとえば感染しても実害を与えないこと、⑥突然変異によって強毒化したり干渉効果が低下したりしないことを挙げている。今回作出したNo24について、WMV 2弱毒株と混合利用した場合にこれらの条件を満足させるかどうかを検討した。

C GMMV及びWMV 2によるモザイク病はユウガオ栽培圃場に毎年恒常的に発生する病害であるため³⁾、①の弱毒ウイルスを接種した場合の品質、収量の低下はユウガオにおいて両弱毒株を使用する上で問題にならないと考えられる。

②については鉢試験 (第9表) 及び圃場試験 (第11表)

の結果から両強毒株の二次接種に対して高い干渉効果を示している。さらに、収量についても収穫後期に無接種区を上回り(図6, 7), ユウガオの生育期間全体を通して干渉効果が持続していることが明らかになった。

③の簡易にかつ大量に接種できることをめざし、効率的な接種法及び接種源の調整法について検討した。最も簡便と考えられる噴霧接種ではCGMMV弱毒株の感染率は高い水準であったのに対し、WMV 2弱毒株の感染率が極端に低下したため(第6表)、本法による2種の弱毒株を同時に接種することは困難であると考えられた。しかし、ユウガオは10a当たり100株前後の定植数であるため汁液接種でも十分対応できるものと考えられる。本法は接種するにあたり弱毒ウイルス感染葉の摩砕が必要であり、必ずしも簡便な方法であるとはいえない。しかし近年、キュウリモザイク病に対し防除効果を示すZYMV弱毒株については、その汁液凍結乾燥品の製剤化が進み、摩砕することなく接種できる方向で試験が進められている(現在日本植物防疫協会による生物農薬連絡試験中)。CGMMV及びWMV 2においても本法が適用されれば接種源の調整が容易になるばかりではなく、弱毒ウイルスの保存においても有望であると考えられる。

④については、圃場試験において栽培期間中の弱毒ウイルス無処理区におけるCMV及びZYMVの感染をELISA法を用い調査した。その結果、CMVは希に感染が認められたがZYMVの感染は確認されなかった。このことからユウガオに関してはこれら2種のウイルスによる病徴の激化はCGMMV及びWMV 2弱毒ウイルス利用において考慮すべき問題ではないと考えられた。

⑤については、主要ウリ科作物に混合弱毒ウイルスを接種することによってその病原性の程度を調査した。その結果24+9はキュウリ(南極二号)及びスイカ(紅ひだま)に対して若干のモザイク症状を示すが実用上問題にならない程度であった(第4表)。

⑥については、1995年、1996年の圃場試験の結果を見る限り24+9の強毒ウイルスへの変異は起きていないと考えられる。これまで我が国で作出された弱毒ウイルスはTMV-L11Aをはじめとして強毒性の復活という報告はない¹²⁾。一方、サテライトRNAを含むCMVでは継代接種を繰り返し行くと別の塩基数のサテライトRNAが出現することが報告されており、弱毒CMVで安定的にサテライトRNAを供給するにはサテライトRNAをクローニングし、cDNA化して長期間保存するのが望ましい¹⁵⁾とされている。本研究で用いたCGMMV弱毒株No.24は、強毒株に対して物理的・化学的な変異誘発処理を多数行って作出された株であるため、強毒性の

復活は起こりにくいと考えられる。しかし、ユウガオへの戻し接種による継代を繰り返し行くと、強毒性の復活が起こりうる可能性が残される。そのため、本弱毒株を安全に保存するには、全ゲノムRNAをクローニングし、cDNA化することが望ましい。

以上のように、今回作出・選抜されたCGMMV弱毒株No.24は、WMV 2弱毒株WI-9と混合利用することでユウガオモザイク病の症状を緩和するばかりか、増収を得ることが明らかになった。

弱毒ウイルスを用いたウイルス病の防除は、ウイルス病の発生がなければ対象作物の減収をまねくおそれがあるため保険的な防除法である。しかし、ウイルス病に対する特效薬が無い現在、弱毒ウイルスを用いたウイルス病防除は媒介昆虫の防除回数を減らすことや、土壤消毒剤の使用を削減する意味でも、今後重要な防除法となりうると考えられる。特にCGMMV及びWMV 2はユウガオ栽培圃場で毎年発生するウイルスであるため、本弱毒ウイルス利用による防除効果・増収は大きく、広くユウガオ栽培地域に普及することを望む。

謝 辞

本研究は、農林水産省の地域バイオテクノロジー実用化技術研究開発事業「複数のウイルスに対する高度防除技術の確立」の中で行われた。本研究の推進に当たり終始ご指導・ご助言を頂いた農業研究センター病害虫防除部上席研究官本田要八郎博士、WMV 2弱毒株の分譲を頂いた山口大学農学部教授亀谷満朗博士、ユウガオの栽培管理・調査にご尽力下さった病理昆虫部齋藤芳彦主任技術員に心より感謝の意を表します。

引用文献

- 1) 農業技術協会 野菜畑作技術辞典 169-173
- 2) 手塚徳弥ら(1970) 栃木県におけるキュウリ緑斑モザイクウイルスの分布と系統について. 関東東山病害虫研究会報17:49
- 3) 中山喜一ら(1987) 栃木県のユウガオに発生する病原ウイルスの種類とその発生状況. 栃木農試研報33:33-40
- 4) 亀谷満朗ら(1992) カボチャモザイクウイルス(WMV 2)の弱毒株作出とその干渉効果. 日植病報58:491-494
- 5) 後藤忠則ら(1971) 弱毒ウイルスによるウイルス病の防除—安定弱毒ウイルスの選出と各種植物に対する影響. 北海道農試彙報99:67-76
- 6) Gierer A. (1958) Production of mutants of tobacco mosaic virus by chemical alteration of its ribonucleic

acid in vitro. Nature 182:1457-1458

- 7) 大島信行ら (1978) 新弱毒ウイルスL11A237. 日植病報44:504-508
- 8) 長井雄治ら (1986) ピーマンにおけるタバコモザイクウイルスストウガラシ系弱毒ウイルスC-142の特性と利用. 千葉農試研報27:153-168
- 9) 長井雄治ら (1987) タバコモザイクウイルスストウガラシ系弱毒ウイルス, C-142の作出. 日植病報53:168-174
- 10) 本吉総男ら (1984) キュウリ緑斑モザイクウイルスの弱毒株の作出と干渉効果. 日植病報 (講要) 50:435
- 11) 大沢高志ら (1984) 温室メロンのC G M M V に対する弱毒ウイルスSH33bの効果. 日植病報 (講要) 50:436
- 12) 亀谷満朗 (1994) 弱毒ウイルスによるウイルス病防除. 69:137-143
- 13) 中山ら (1991) ユウガオにおけるC G M M V 弱毒株の作出及びその干渉効果. 日植病報 (講要) 51:74
- 14) 花田薫 (1990) 弱毒ウイルス利用によるキュウリモザイクウイルス病の防除. 農業及び園芸65:949-955
- 15) 小湊正幸ら (1992) in vitro で転写したサテライトRNAの弱毒キュウリモザイクウイルスへの利用. 日植病報 (講要) 58:625