

温州萎縮病に関する研究 (第2報)

高接更新時の保毒穂木混入による拡散例

牛 山 欽 司

K. USHIYAMA

Studies on Satsuma dwarf disease. II.
Spread of the disease through contaminated scions
by topworking Satsuma mandarin trees.

I 緒 言

温州萎縮病が、ウイルス病であることが証明されたのは1952年(9)であり、わが国のカンキツウイルス病として最初に報告された。その発病状況などから、土壤伝染する可能性が高い(1, 6, 11)とされているが、証明するための実験上の困難性から、土壤伝染の媒介者や伝染機構などいまだに明らかにされず、根本的な対策が確立されていない。このような状況の中で、ウンシュウミカンの生産過剰が続き、優良系統への更新が盛んに行なわれているが、穂木採取園に保毒樹が存在したため、発病園を人為的に拡散させた事例が発生したため、今後このようなことが起らないための配慮を喚起する必要があると考え、その実状をここに取りまとめて報告する。

なお、本調査は昭和52年度より総合助成試験(中核)のカンキツ高接更新技術改善試験の中の高接更新樹のウイルス病発生実態調査として行なったものである。本調査研究に有益な御指導、御助言および検定用ウイルス抗血清を分譲いただいた農林水産省植物ウイルス研究所宇杉富雄技官、農林水産省果樹試験場口之津支場久原重松室長、ならびに調査に御協力いただいた関係機関および調査園主の各位に厚く御礼を申し上げる。

II 材料および方法

1. 発病園の穂木移動経過調査

1978年6月29日、小田原市萩窪H i氏(以下H i園)の青島系普通温州高接3年目の発病園を調査し、園主より穂木入手経路を聞き取り、7月11日に穂木供給元の小田原市穴部T氏園(以下T園)と同園からの穂木を高接した小田原市前川H o氏園(以下H o園)および小田原市小竹K氏園(以下K園)の発病状況を調査した。その後T園から1年遅れて穂木が供給された小田原市前川I氏の中井町遠藤の作出園(以下I園)にも発病がみられたため、'80年8月1日および'81年5月13日にその状況を調査した。

2. 温州萎縮ウイルス(SDV)の検定

(1) 草本検定 T園およびH i園より'78年6月29日、7月11日、7月22日に幼果、8月29日と9月18日に夏芽を採取し、1/15Mリン酸緩衝液(pH7.00)で摩砕し、カーボランダム法で白ゴマ、ササゲ(ブラックアイ)および一部キノアあるいはフィザリスに常法で汁液接種し25°C前後の冷房室内で反応を調査した。

(2) 抗血清による検定 H i園の発病樹より'78年9月19日に採取した秋芽について、植物ウイルス研究所作製のSDV抗血清感作ラテックスによりラテックス凝集

反応テスト(7)でSDV保毒の有無を調査した。'81年5月13日にはI園の全樹の春芽を採取し、財団法人日本植物防疫協会作製のSDV抗血清を用い、ELISA法(2)によってSDV保毒の有無を検定した。

(3) カンキツ実生苗での接木検定 '78年6月30日にT園の原母樹と病樹、Hi園の病樹およびHo園病樹より採取し、各種カンキツの実生苗に腹接して接種し、28℃以下の冷房室内で'80年5月まで伸長芽の状況や反応を調査した。

3. ウンシュウミカン苗木での病徴再現試験

'78年9月22日にHi園病樹の組織を10号素焼鉢植えのカラタチ台藤中系普通温州2年生苗および青島系普通温州2年生苗木各2本ずつに2カ所ずつ腹接して接種した。また、Ho園病樹組織も青島系普通温州苗木2本に同様に接種し、'81年6月30日まで病徴発現状況を観察した。対照としては、小田原市田島の温州萎縮病樹組織を'74年4月に腹接して接種した藤中系普通温州苗木について、病徴の発現程度を調査した。

4. 病穂接木樹の外観健全枝からのSDVの検出

(1) 実験1 Ho園の高接3年目の樹について、'78年7月11日に各部位の幼果を採取し、1/15Mリン酸緩衝液で摩砕し、カーボランダム法で白ゴマに汁液接種し、28℃以下に冷房した室内で発病状況を調査した。

(2) 実験2 I園の高接3年目の樹について、'80年8月1日に各部位から夏芽を採取し、果樹試験場口之津支場作製SDV抗血清を用いてELISA法で保毒の有無を検定した。

III 成績

1. 穂木の移動経過と発病状況

穂木の移動経過を追跡調査した結果を第1図に示した。穂木採取園T園の中間台木は、長橋系普通温州として購入した25年生カラタチ台ウンシュウミカンであり、小葉や果実にキメラを生ずるなど品質が悪かったため、

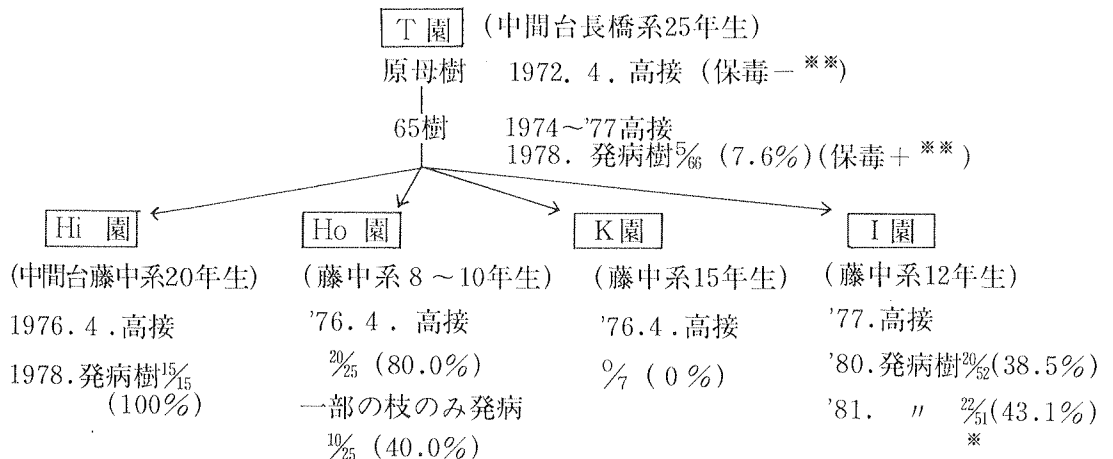
'72年4月に1樹のみに大津式一挙更新法で青島系普通温州を高接し、これを原母樹として'74~'77年に全園の65樹を青島系普通温州に高接更新したものであった。

'78年7月11日の調査においては、穂木を採取した母樹園には、舟型葉の甚しい樹3本、高接2年目で軽い舟型葉がみられる樹2本もあった。

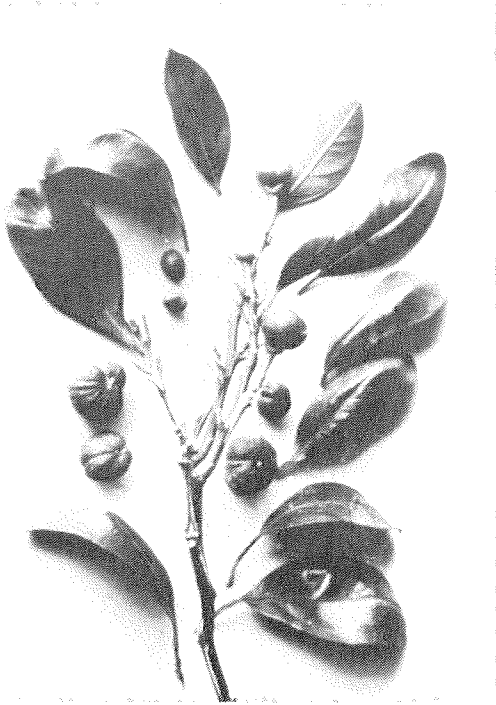
この園から穂木が供給されたHi園の発病枝の春葉は舟型葉が甚しく、果実の奇形も著しかった(第2、第3図)。このような枝でも、高接初年目の葉は全く正常で、2年目の春葉には軽い舟型葉がみられた。ただし、接口によっては、3年目でも全く正常の葉のみの枝もあった。1枝でも発病枝があった樹は、Hi園15/15(100%)、Ho園20/25(80.0%)、I園20/52樹(38.5%)であった。K園は、同一の母樹園からの穂木を7樹に高接したが、発病枝は全くみられなかった。

2. 温州萎縮ウイルス(SDV)の検出

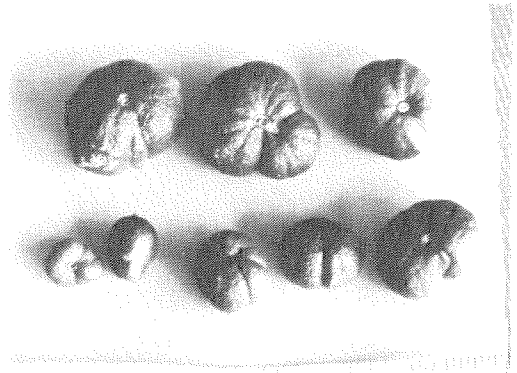
'78年6~9月に穂木採取母樹園および高接発病園の幼果および夏芽を草本植物に汁液接種した結果は第1表のとおりで、最初に高接した原母樹は、白ゴマに何の反



第1図 穂木の移動経過と発病状況 (**白ゴマ検定, *ELISA法検定 他は外観病徴判定)



第2図 発病枝の状況



第3図 発病枝にみられた果実の奇形

応もなく陰性であったが、高接2年目で春葉に軽い舟型葉のみられた樹および高接3年目の舟型葉の甚しい病樹では白ゴマに陽性反応があり、この病樹に隣接した高接初年目樹の中間台芽の検定でも白ゴマに陽性反応を示した。高接発病園のHi園の高接3年目の病樹の幼果および夏芽からも白ゴマに同様な陽性反応を示し、発病した

白ゴマからササゲ、キノア、フィザリスにも汁液伝染した。対照に供試した温州萎縮病樹の幼果および夏芽からも同様な陽性反応が白ゴマでみられた。SDV抗血清感作ラテックスを用いた凝集反応テストの結果、Hi園発病樹の夏芽および汁液接種により陽性反応を示した白ゴマとも陽性であり、温州萎縮病樹の夏芽も同じ凝集反応を示したことから、本病原ウイルスはSDVによるものと同定した。I園の高接3年目の外観調査では、舟型葉発現の多い樹が20/52本(38.5%)であった。高接4年目の5月に春葉をSDV抗血清でELISA法検定の結果、22/51本(43.1%)と保毒樹の割合が前年の外観調査よりも高かった(第1図)。

各種カンキツ実生苗に接種した2年目の結果は第2表のとおりで、T園の原母樹はウンシュウ実生苗に舟型葉

第1表 草本検定およびSDV抗血清テスト

調査園	被検樹	** (症状)	草 本 検 定				SDV抗血清 (ラテックス法)	
			白ゴマ	ササゲ	キノア	フィザリス		
T園	高接原母樹	(b-)	-(-)	-	-			
	高接2年目樹	(b±)	+(+)					
	高接3年目病樹	(b卍)	+	-				
	病樹隣接樹中間台 1		(±)	(±)				
	” 2		(±)	(-)				
Hi園	高接3年目病樹	(b卍)	+(+)	-(+*)	-(+*)	(+*)	(±~+)(+*)	
	病樹隣接樹中間台		(+)	(-)	(+)			
対 照	温州萎縮病樹 (田島株)	(b卍)	+(+)	-(+)	-(+)	(+)	(+) (+*)	

果実検定VI/29, VII/22 ()内夏秋葉検定 VIII/29, IX/18

** b春葉の舟型葉の程度 * 白ゴマよりのもとし検定

第2表 各種実生苗上での反応

検定実生苗	T 園 原母樹	T 園 病樹	H i 園 病樹	H o 園 病樹
ウンシュウ実生	b-	b+	b+	b+
川野なつだいだい	Y++S t++ Vco+Sp++	Y++S P+	C r++M++	Y++Vco++ S P-
福原オレンジ		S P+	Y++S P-	M±? S P-
グレープフルーツ		Y+S t+ S P+	Y++S P+	Y++S t+ S P+
トロイヤースイトレンジ	—	—	V Y+?	
カラタチ	—	M+	M++	

注)

b …舟型葉, Y…黄化
S t…スタント
Vco…葉脈コルク化
S P…ステムピッチェイグ
M…モットリング
C r…クリンクリング
V Y…葉脈黄化

の発現はみられなかったが、病樹では典型的な舟型葉がみられ、H i 園の病樹、H o 園の病樹でも同様な舟型葉が発現した。川野なつだいだい実生苗では新葉に Curl を伴った mottling, カラタチに mottling など温州萎縮病の病徴(4)が発現し、川野なつだいだい、福原オレンジ、グレープフルーツ実生苗などには、トリストエザウイルスの強い反応もみられた。なお、トロイヤースイトレンジには明らかな病徴の発現はみられなかった。

3. 温州萎縮病症状の再現性

カラタチ台藤中系普通温州苗木および青島系普通温州苗木に、H i 園およびH o 園発病樹の組織を接種した3年目の結果は第3表に示すとおりで、2年目の新葉の若葉に明瞭な斑紋 (line pattern や zonation) が現われ、SDV 抗血清感作ラテックスでの検定で陽性の反応があった。春葉の舟型葉は、2年目に少しみられ、3年目には非常に多くなった。2年目に着果した幼果には奇形のものがみられ、3年目にはかなり多くの奇形果を生じるようになった。対照の温州萎縮病樹組織を接種した藤中系普通温州苗木でも、果実の奇形がみられた。H i 園の

同一病樹の組織を接種した場合、藤中系普通温州よりも青島系普通温州のほうが果実の奇形が多い傾向がみられた。

4. 病穂接木樹の外観健全枝からのSDVの検出

H o 園の高接3年目の樹について、同一樹内の病穂を接いだ発病枝および無毒穂木を接いだと思われる外観健全枝に着生した幼果を7月11日に採取し、白ゴマで検定した結果を第4表に示した。樹の下部に1枝のみ発病枝のある上部の外観健全枝のいずれの幼果からも、全枝発病樹の幼果および対照の温州萎縮病樹の夏芽と同様に、白ゴマに陽性反応があった。上部の1枝のみ外観健全な枝の幼果からも同様白ゴマ検定で陽性であったが、上部1枝のみ発病していた樹の下部の外観健全枝の幼果では、白ゴマの陽性反応がやや軽い傾向であった。

I 園の高接3年目の樹については8月1日に夏芽をSDV 抗血清でELISA法検定と一部白ゴマで検定した

第3表 温州萎縮病症状の再現

接種源	供試苗木	SDV 検定*	舟型葉	小葉	果奇 実形
H i 園	藤中系1	+	++	+	±
	普通温州2	+	++	+	±
病樹	青島系1	+	++	+	+
	普通温州2	+	+	±	+
H o 園	青島系1	+	++	±	++
	普通温州2	+	+++	+	+
田島	藤中系	+	++	+	+
S D	普通温州				

* 抗血清ラテックス凝集反応テスト

第4表 病穂接木樹の外観健全枝の検定—1

被検樹状況*	検定部位	白ゴマ検定
下部 1枝のみ b++	上枝	+
” ” b++	”	+
” 2枝のみ b+	”	+
上部 1枝のみ b-	”	+
” ” b-	”	±
上部 1枝のみ b++	下枝	±
” 1枝のみ b++	”	±
全枝		+
温州萎縮病	(夏芽)	+

H o 園 VII/11果実検定

* b ……舟型葉の程度

第5表 病穂接木樹の外観健全枝の検定—2

供試被検樹部位			ELISA検定
I 園	高接1枝病樹	病枝	+
	同上樹	健全枝	1
	〃	〃	2
	〃	〃	3
	〃	〃	4
	〃	〃	5
	高接1枝病樹	病枝	+(+)*
	高接	全枝健全樹	1
	〃	〃	2
	〃	〃	3
	病樹隣接	青島早生系	±
T 園	病樹組織接種	カラタチ	+(+)*
Hi 園	病汁液接種	フィザリス	+(+)*

VIII/1夏芽検定, *()内白ゴマ検定

結果は、第5表のとおりである。発病枝1枝のみで他の5本の枝は外観健全であった樹では、発病枝は明瞭に発色したが、外観健全枝の1枝では発色せず、他の4本の枝では淡い発色があった。また、全枝外観健全な樹3樹について検定した結果、1樹は明瞭に発色し、他の1樹は淡い発色があったが、1樹は全く発色しなかった。病樹に隣接した、青島系普通温州早生系からも淡い発色があった。発病樹は、T園病樹接種のカラタチおよびHi園病樹接種フィザリスと同程度の強い発色がELISA法検定であり、白ゴマ検定でも同様に陽性反応が認められた。

IV 考 察

品種更新のための高接更新方法は優れた技術であるが、穂木あるいは中間台がウイルスに汚染していた場合、通常の伝搬ではそのウイルス病の拡散が非常に緩慢なものであっても、人為的に拡げられることになるので、十分な配慮が必要であることが強調されていた(5)。カンキツモザイクウイルスは、和歌山県の一地域にしか発生していなかったウイルス病であったが、優秀な極早生系温州がこのウイルス汚染地域内に高接され、穂木採取が行なわれたために、全国のカンキツ地域に急速に広がった例(10)である。久原(3)は、高接更新に伴うウイルス病の蔓延速度について、保毒率の増加経過を確率モデルで検討し、最も単純な場合の保毒樹率1%の園から穂木

を取り、1樹あたり20穂ずつ高接した園の保毒樹率は18.2%となり、さらにこの園から穂木を採取して無作為に同じように高接した場合には98.2%もの高率の保毒樹率になること、穂木と中間台木にそれぞれにウイルスが保毒された場合には、1回の高接更新によっても高率な保毒樹率に達することを指摘した。

本調査の穂木採取母樹園に最初に導入された穂木は、原母樹の発病が無いことから保毒していなかったものと思われるが、その後高接更新されたもので5樹の発病樹があったことは、中間台木に保毒樹があったためと思われる。園主からの聞き取りによると、中間台木の長橋系普通温州には小葉や果実のキメラなど奇形があったことから、SDVを保毒していたものがあったことが推察される。この園の発病樹率は7.6%であったが、この園から穂木を供給されたHi園では発病樹率100%、Ho園80%、I園38.5%およびK園0%の発病率を示し、4園平均の発病樹率は54.5%となり、久原(3)の確率モデルの計算で5%保毒率の穂木を10穂接いだ1回目で40%、20穂接いだ場合64.2%となるが、ほぼこれに等しい発病樹率になっていた。実際に穂木の採取および供給の際には、穂木全部を混ぜ合わせる事がなかったため4園の発病樹率に差を生じたものと思われる。

発病樹の葉の病徴についてみると、高接初年目ではほとんど異常は認められず、2年目に舟型の程度の軽い葉が少し発生し、3年目に典型的な舟型葉が多くなったことは、ウンシュウミカン苗木に接種した場合でもほぼ同様であり、保毒穂木が混入しても1~2年では気づきにくい状態であった。Hi園において果実の奇形が著しかったが、苗木に接種した場合でも青島系普通温州のほうが藤中系普通温州よりも奇形果の程度が多い傾向があった。しかしながら、正常健全樹で年によって奇形果の発生に差のあることが観察されていることから、青島系普通温州が奇形になり易いものかどうかは検討を要するが、SDVが奇形果を起す誘因になり得るものと思われる。

保毒穂木が高接された樹で、同時に保毒していない穂木を高接した枝の3年目の幼果および夏芽から、ほとんどの場合にSDVが回収され、ほぼ全樹体内にSDVが行きわたっていたものと思われる。渡辺(8)は、SDV保毒穂木を数カ所に高接接種し、他の部位からウイルスを回収した結果、2年目で大部分の部位の新梢からウイルスを検出し、3年目では総ての新梢から検出しており、SDVはかなりの速度で樹体内を移行することが示されている。

SDVは、土壤伝染の可能性がすでに指摘されているが(1, 6, 11), T園病樹の隣接樹で外観正常な高接樹2樹の中間台芽およびHi園病樹の隣接外観正常高接樹の中間台芽を白ゴマで検定した結果、いずれの樹からも陽性反応があったこと(第1表), また, I園の病樹隣接の外観正常な青島系普通温州早生系をELISA法で検定した場合にも陽性の発色反応があったことなど, 土壤伝染による保毒が考えられた。

以上のように, ウイルス汚染穂木が混入して高接され, これより穂木を採取して高接更新に供されると, ウイルス汚染の拡散が想像以上の速さで拡まることになる。また, 保毒穂木が高接されることにより, 数年にして樹全体にウイルスが行きわたり, 根部への移行は土壤汚染の原因ともなることから, 検定等によって無病樹であることを確認した母樹からのみ, 穂木を採取, 供給するような配慮が必要となる。

V 摘 要

ウンシュウミカンの優良系統への高接更新によって, 温州萎縮病が拡散した事例が生じたので, その実態について調査した。

1. 青島系普通温州を導入して高接し, 原母樹としてこれより採穂して65樹の園全樹に高接して母樹園とした。この園の中間台にウイルス保毒樹5樹(7.6%)があったため, これより穂木が供給された園では, 15/15(100%), 20/25(80.0%), 20/52(38.5%), 0/7(0%)の発病樹(発病樹率)を生じた。

2. 高接した発病樹では, 高接初年目の葉の病徴は不明瞭で, 2年目には春葉の病徴が軽く, 3年目で春葉に典型的な舟型葉の病徴が多くなり, 果実の奇形も認められた。この病樹の組織を, ウンシュウミカン苗木に接種したところ, 同様の葉の症状と果実の奇形を生じた。

3. 本病樹からは, 草本検定, 接木検定および温州萎縮ウイルス(SDV)抗血清による検定(ラテックス凝集反応テストおよびELISA法)で陽性反応を示し, SDVの保毒を確認した。

4. 同一樹に保毒穂木と無病穂木が高接された場合, 3年目には外観健全な枝からもSDVが検出された。

5. 保毒穂木を高接し, 3年目に発病した樹に隣接した外観健全樹からもSDVが検出され, 土壤伝染が推察された。

6. 以上の結果から, 高接更新用の穂木供給母樹は, ウイルス検定によって無病であることを確認してから選定する配慮が必要である。

引用文献

1. 伊沢房雄(1966). 温州萎縮病に関する調査 愛知県蒲郡附近における, 愛知県園試研報 5: 1~9.
2. 久原重松(1980). 酵素結合抗体法(ELISA)による植物ウイルス病の診断, 植物防疫 34(3): 129~135.
3. ———(1981). 高接ぎ更新に伴うウイルス病の蔓延—単純化した2, 3のモデルにおける保毒率の経過, 昭55常緑果樹試験研究打合会議病虫部会資料(病害) 220~223.
4. 宮川経邦(1969). 温州萎縮ウイルスに対するCitrus属および近縁植物の感受性と病徴, 日植病報 35(3): 224~233.
5. 田中寛康(1974). カンキツ類の品種更新とウイルス病, 植物防疫 28(4): 147~153.
6. 牛山欽司(1970). 温州萎縮病に関する研究(第1報) 神奈川県における発生状況と被害の実態, 園試研報 18: 57~65.
7. 宇杉富雄(1980). ラテックス凝集反応による温州萎縮病の診断, 植物防疫 34(3): 125~128.
8. 渡辺 豊(1980). 高接更新とウイルス病発生実態調査1) 高接による温州萎縮病の伝播に関する調査, 昭54常緑果樹試験研究打合会議病虫部会資料(病害) 178~179.
9. 山田峻一・沢村健三(1952). 温州密柑の萎縮病に関する研究予報, 東近農試研報 園芸 1: 61~71.
10. 山口 昭(1979). カンキツモザイク病の拡散, 植物防疫 33(12): 545~546.
11. ———・家城洋之・山田峻一・井上一男(1981). 温州萎縮病発病跡地に植えたウンシュウミカン樹の再感染, 日植病報 47(3): 414(講要),

Summary

Surveys were carried out to account for spread of Satsuma dwarf disease through topworking of a new mandarin strain of good quality on old satsuma mandarin trees.

At first the new mandarin strain was introduced for topworking scion on a old tree, and was propagated as many as 65 trees following years. When the survey was done, five diseased trees were discovered in this mother orchard without first topworking tree. So, these old trees might be infested the disease before topworking. The disease occurred in some orchards which were provided scions from this mother orchard as 100, 80.0, 38.5 and 0% of infected tree percent respectively.

The symptom on these topworked diseased trees did not appeared in the first year, but slight symptoms on leaves appeared in the second years, and many typical boat-shaped leaves occurred and

many abnormal fruits were produced in the third years. Thereafter, same symptoms of leaf and fruit occurred on satsuma mandarin young trees on trifoliolate orange rootstock which were inoculated tissues from diseased trees.

Satsuma dwarf virus (SDV) was detected from these diseased trees by indexing of inoculating method on a certain herbaceous plants and citrus seedlings, and also Latex agglutination test or Enzym linked immunosorbent assay using SDV antiserum. When scions were partially topworked, SDV were detected from another appearing-healthy branches three years later, and even from the neighbor trees to topworked diseased trees SDV were detected. Soil transmission was thought to be the cause.

As above mentioned, it is very important to check the mother trees.