

我が国におけるカンキツトリステザウイルスに関する研究の現状と課題

前果樹研究所 **いえ** **き** **ひろ** **ゆき**
家 城 洋 之

はじめに

カンキツトリステザウイルス (*Citrus tristeza virus*: CTV) は当初、南アフリカに分布していたようである。サワーオレンジ台スイートオレンジが南アフリカでは生育しなかったこと、1930年代にブラジルなどが南アフリカからラフレモン台オレンジ苗木を輸入した際に、本ウイルスと媒介昆虫が侵入しサワーオレンジ台スイートオレンジが大量枯死したことから明らかである。南アフリカだけでなくブラジル、アルゼンチン、米国カリフォルニア州、スペイン等で数千万本のカンキツ樹が枯死した。その主原因は、本ウイルスに弱いサワーオレンジが台木として使用され、また、媒介昆虫のミカンクロアブラムシ (*Toxoptera citricidus*) などがこれらの国では生息し、容易に伝搬されたためである (家城, 1979)。

一方、我が国では第2次世界大戦後、ハッサクの主産地である広島県で樹勢衰弱により大被害を生じた。1960年にウイルス性病害であると確認され“ハッサク萎縮病” (図-1) と命名された (佐々木, 1974)。1964年に、本病はCTVの強毒系統によるものであることが確認された (田中・山田, 1964)。その後の調査で、イヨカン、ナツミカン、オレンジ類、ユズ、ブンタン、‘セミノール’等でも被害が大きく、本病をカンキツステムピットティング病と称した。

I 発生樹および被害状況

我が国では前述のようにハッサクでの被害が最初である。その後、ユズ (宮川, 1976) の衰弱症状、イヨカン (重田・安楽, 1988) での樹勢衰弱、果実表面でのかいよう虎斑病 (図-2) の発生、収量の低下がみられた。かいよう性虎斑症はCTV seedling yellows系の強毒系統が原因であることが明らかにされ (大森ら, 1985)、か



図-1 ハッサク萎縮病



図-2 イヨカンのCTVによるかいよう虎斑病

いよう虎斑病と命名された。同様にユズ果実の虎斑症は、枝のステムピットティング (SP) の発生程度が高いほど発生が多い傾向がみられた (村本・中田, 1991)。その他、‘川野なつだいだい’ (大森ら, 1979a), ネーブルオレンジ (SASAKI, 1981a), ‘セミノール’, ブンタン等の中晩柑類でも被害がみられた (牛山ら, 1977)。

筆者らは、1970年代に農林水産省果樹試験場興津支場内の約2,400樹のSPを調査し、SPの発生がないか軽

The Current Situation and Subject Matters on Research Works of *Citrus tristeza virus* in Japan. By Hiroyuki Ieki

(キーワード: カンキツトリステザウイルス, ステムピットティング病, 弱毒系統, 干渉効果, カンキツ)



図-3 'メキシカンライム'による CTV 弱毒系統の選抜
左：弱毒，中：強毒，右：健全。

微な樹について，'メキシカンライム (ML)' および 'ユーレカレモン (YL)' 実生苗木で検定を行った結果，ウンシュウミカンは CTV seedling yellows 系の強毒系統を保毒しているにもかかわらず SP の発生が全くみられないか極めて軽微で CTV に耐病性であった。その他の品種で SP の発生がみられないか軽微な代表的品種は，レモン，ナルト，サンボウカン，タンカン，スダチ，クレメンティン，キシウウ，サンキツ，シークワーシャー，カラタチ等であった。一方，SP の発生が多く弱い代表的品種として，ブンタン，グレープフルーツ，ハッサク，スイートオレンジ，イヨカン，ユズ，'セミノール'，'清見' 等であった。SP の発生調査と ML と YL による木本検定 (図-3) を行い 30 の弱毒系統を得た (山田・田中，1969；山田ら，1979；山田ら，1981；山田・家城，1982)。台木として使用されているカラタチは CTV に免疫といわれてきたが，一部系統では感染して SP を生じるものが報告された (吉田ら，1983；吉田，1985)。

II ウイルスの無毒化

無毒化方法として，当初は熱処理法 (大森ら，1979b；IEKI and YAMADA，1980) が用いられていたが，CTV や温州萎縮ウイルスは容易に無毒化されるが，接木部異常病の病原ウイルスの *Apple stem grooving virus* (CTLV: Citrus tatter leaf virus #) やウイロイドは困難であり，現在は熱処理法と茎頂接ぎ木法を併用した処理方法 (KOIZUMI，1984) によって無毒化が行われている (図-4)。

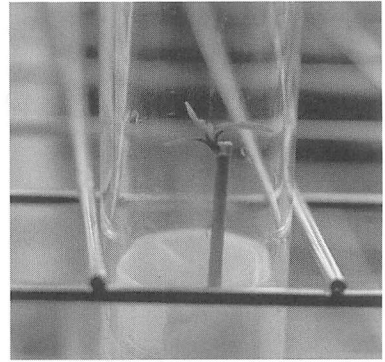


図-4 茎頂接ぎ木後の新梢の展開

III 検定法の開発

従来，検定には ML，YL，サワーオレンジ，ユズ実生苗木等が用いられているが，検定には数か月ないし 1 年間の必要とする。木本検定植物の短期育成法として UC 土壌の一部改良などがなされ，従来の 1/2 (検定植物のは種から 8 か月以内) の短期間で検定に使用することが可能となった (小泉・加納，1991)。一方，ポリクローナル抗体が作製され，これを用いた蛍光抗体法 (TSUCHIZAKI et al., 1979) と酵素結合抗体法 (ELISA) (久原，1980) が開発された。ELISA 法は簡易かつ検出感度が高く，2 日間で検定ができるので現在広く使用されている。しかし，本法は CTV の強毒と弱毒系統，seedling yellows と stem pitting 系との判別ができない欠点がある。海外で開発されたモノクローナル抗体の MCA13 および 3DF1 に対して，筆者らが探索・収集し '森田ネーブル' で干渉効果が認められた弱毒系統 M-16A は，特異的に反応せず，ポリクローナル抗体のみに反応した。この性質を利用して，弱毒系統 M-16A の干渉効果の判定を行った (KANO et al., 1992)。最近，ウイルスの遺伝子解析が進み (KANO et al., 1998)，RT-PCR-RFLP による遺伝子診断法が開発された (加納ら，2000)。

IV 媒介昆虫

本ウイルスは，ミカンクロアブラムシ，ワタアブラムシ (*Aphis gossypii*) によって容易に伝搬される。特に前者の伝搬力は強く 1 頭でも伝搬可能で，我が国のカンキツ園では普遍的に生息している (佐々木，1974)。後者



図-5 CTV弱毒系統(M-16A)接種樹にアブラムシで強毒系統を接種した‘森田ネーブル’の結果状態

については、ミカンクロアブラムシが生息していないイスラエルなど地中海沿岸諸国では主要な媒介者となっている。筆者が本虫の伝搬試験を行った結果、5～500頭で約4%と極めて伝搬率が低かった(家城, 1986a)。海外で試験的に伝搬が確認されたものとして、ユキヤナギアブラムシ(*A. spiraeicola*)、コミカンアブラムシ(*Toxoptera aurantii*)、マメアブラムシ(*A. craccivora*)、モモアカアブラムシ(*Myzus persicae*)、*Dactynotus jaceae*がある。

V 弱毒ウイルス利用による被害回避

CTV無毒の苗木を圃場に植え付けると短期間で再感染してしまう。そこで同じウイルスで、病原性が極めて弱く、樹の生育、生産性、品質等に影響がないか少ない弱毒系統の強毒系統に対する干渉効果によって被害回避をはかる必要がある。このような研究は、ブラジルで1950年代初めに弱毒系統の存在が確認され、1960～70年代にブラジル、オーストラリア、アメリカ等で干渉効果の高い弱毒系統が選抜され、スイートオレンジ、グレープフルーツなどでCTVの被害回避に利用し効果を上げた。

我が国では、第2次大戦後ハッサク萎縮病の被害を回避するため、広島県内に栽培されている樹の中から生育が良好、果実が大玉、品質がよく、生産量が多い樹を探し優良母樹とし、ウイルス検定を行った結果、CTV

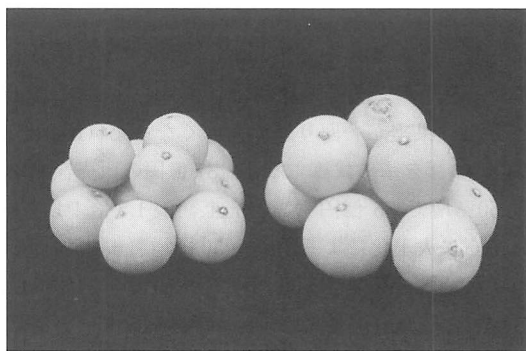


図-6 ‘森田ネーブル’へCTV弱毒系統接種による果実の大玉化
左：強毒、右：弱毒。

弱毒系統を保毒していることが確認された。この弱毒系統は“HM-55”と命名された。このHM-55を接種したハッサクは、育苗9年目で発病個体が8.6%に対し、強毒保毒苗は76.5%であった(佐々木, 1974)。それ以後多くの研究者により弱毒系統の探索・収集(家城・山口, 1986b; 小泉・久原, 1985; 野崎ら, 1995; 山田ら, 1981), および熱処理(家城・山口, 1986; 橘ら, 1990)により弱毒系統が得られた。収集した弱毒系統を用い、‘森田ネーブル’で干渉効果の確認を行った結果、弱毒系統M-16A, M-15Aが優れた干渉効果を示した(Ieki et al., 1997)(図-5, 6)。なお、現在M-16Aは果樹研究所で育成した新品種に接種して一般に配布を行っている。ユズでは、徳島県(宮川ら, 1983)で弱毒系統接種樹が自然条件下で、また、山口県(野崎ら, 1995)ではユズ樹から選抜した弱毒系統YH-23は干渉効果を示し有望とされた。イヨカンでは、愛媛県(橘ら, 1991)で、弱毒系統接種でかいよう虎斑病の発病が抑制されるとともに、SPの発生が少なくなり、樹の生育、果実肥大、収量が優れていた。一方、干渉効果がみられる異種ウイルスとしてカンキツバインエネーションウイルス(Sasaki, 1981b)および未同定のKSP-12(小泉・久原, 1985)が報告された。

VI 弱毒系統の干渉効果利用による経済的効果の試算

弱毒ウイルス利用によりCTVの被害が回避あるいは軽減されたときの経済的効果を試算すると以下のようになる。2001(平成13)年度果樹統計による2000(平成

12) 年度産ネーブルオレンジの生産量 19,100 t, 四大市場価格は kg 当たり 195 円である。筆者らの‘森田ネーブル’での試験で弱毒系統利用により生産量は約 50% 増, さらに果実が一回り以上大きくなった (IEKI et al., 1997)。これを基に試算すると, 37 億円の販売額が, 生産量 50% 増で 56 億円 (当初売上額の 1.5 倍: 以下同) に, さらに大玉化による単価が 50 円増 (+25%) であれば 70 億円 (1.9 倍), 100 円増 (+50%) では 85 億円 (2.3 倍) となり経済効果は極めて大きい。これと同じように CTV の被害がネーブルオレンジよりも大きいハッサク (67,100 t, kg 当たり 167 円) およびイヨカン (188,400 t, kg 当たり 170 円) でも, 生産量の増加と果実が大玉化することにより収益の増加に大きく貢献することは明らかである。

VII 分子生物学的研究

近年, 分子生物学的解析手法の発展により, カンキツのウイルスでも遺伝子解析が精力的に行われている。我が国の CTV について, 宇都宮大学と筆者らとの共同研究で, 干渉効果が優れている弱毒系統 M-15A (照井ら, 1997; SUASTIKA et al., 2001) (特許申請中) および強毒系統 NUagA (SUASTIKA et al., 1998) の全配列が解読され一部機能解析が行われた。また, 弱毒および強毒系統を識別する RT-PCR-RFLP が開発され, 干渉効果の検定に適用された (KANO et al., 1998; 加納ら, 2000)。

おわりに

戦後, CTV に関する研究は数多くなされ成果をあげ一応の防除対策を確立するまでになっている。しかし, 本病の防除を難しくしているのは, ①我が国のカンキツの半分以上を占めるウンシュウミカンが耐病性である反面強毒ウイルスを, また, ほかの品種も同様に強毒ウイルスを保毒している。②媒介昆虫のミカンクローブラムシがカンキツ園内に普遍的に生息, 分布している。③現在利用されている弱毒系統の干渉効果は完全な効果を発揮できない。④弱毒系統を接種した健全苗木を育成, 販売するシステムが広く確立されていない。⑤行政担当者, 技術員, 苗木業者, 栽培者等がウイルスの樹の生育, 生産量, 果実品質に与える影響について十分理解していないなどの理由である。

このような状況を打破するには, より効果が高い弱毒系統の探索・収集および人為的作出を行うとともに, さ

らに収集した弱毒系統の干渉効果を短期間に確認するための手法, 例えば遺伝子解析手法を用いた方法などの開発を行うことである。また, 天敵の導入などによる媒介昆虫の防除, 根絶法の開発も望まれる。さらに, 被害を回避する点から, 弱毒系統を接種した苗木を広い面積に植えるとか, 周囲にカンキツがない地帯に植え付けることである。

今後, 我が国の CTV 強毒系統に汚染されたカンキツ園を少しでも健全な園に近づけるため, 新しく植え付ける苗木は弱毒系統を接種した健全苗木を使用することが一番重要である。また, 高品質果実の安定的生産のため, 行政部局, 試験研究機関, 苗木生産者, 生産者団体, 栽培者が一体となって意識向上と一致した取り組みが強く望まれる。

参 考 文 献

- 1) 家城洋之 (1979): 農及園 54(8): 40~44.
- 2) IEKI, H. and S. YAMADA (1980): Pro. 8th IOC: 20~24.
- 3) ——— (1984): Ann. Phytopath. Soc. Jpn. 50: 656~658.
- 4) 家城洋之 (1986a): 日植病報 52: 511 (講演要旨).
- 5) ———・山口 昭 (1986b): 果樹試報 B13: 71~79.
- 6) IEKI, H. et al. (1997): Ann. Phytopath. Soc. Jpn. 63: 170~175.
- 7) KANO, T. et al. (1992): Bull. Fruit Tree Res. Stn. 23: 169~177.
- 8) ——— et al. (1998): Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 64: 270~275.
- 9) 加納 健ら (2000): 日植病報 66: 144.
- 10) KOIZUMI, M. (1984): Proc. 9th IOC: 229~233.
- 11) 小泉銘册ら (1985): 果樹試報 D7: 89~108.
- 12) ———・加納 健 (1991): 果樹試報 20: 79~91.
- 13) 久原重松 (1980): 植物防疫 34: 129~135.
- 14) 宮川経邦 (1976): 徳島果試研報 5: 31~41.
- 15) ———ら (1983): 同上 11: 9~13.
- 16) 村本和之・中田榮一郎 (1991): 山口農試研報 43: 68~74.
- 17) 野崎 匠ら (1995): 同上 46: 106~113.
- 18) 大森尚典ら (1979a): 愛媛果樹試報 7: 45~49.
- 19) ———ら (1979b): 同上 7: 39~44.
- 20) ———ら (1985): 日植病報 51: 81 (講演要旨).
- 21) 佐々木篤 (1974): 広島県果樹試特別報告 2: 1~106.
- 22) SASAKI, A. (1981a): Proc. Int. Soc. Citriculture.: 439~440.
- 23) ——— (1981b): Bull. Hiroshima Fruit Tree Expt. Sta. 7: 19~24.
- 24) 重田 進・安楽又純 (1988): 山口農試研報 40: 74~79.
- 25) SUASTIKA, G. et al. (1998): Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 64: 413.
- 26) ——— et al. (2001): Proc. 1st Asian Conf. Plant Pathology: 113.
- 27) 橘 泰宣ら (1990): 日植病報 56: 427 (講演要旨).
- 28) ———ら (1991): 愛媛果樹研報 10: 45~56.
- 29) 田中彰一・山田駿一 (1964): 園試報 B3: 67~79.
- 30) 照井裕次ら (1997): 日植病報 63: 273.
- 31) TSUCHIZAKI, T. et al. (1979): Phytopathology 68: 139~142.
- 32) 山田駿一・田中寛康 (1969): 園試報 B9: 145~160.
- 33) ———ら (1979): 果樹試報 B6: 109~1979.
- 34) ———ら (1981): 同上 B8: 147~173.
- 35) ———・家城洋之 (1982): 同上 B9: 23~33.
- 36) 吉田俊雄ら (1983): 同上 B10: 51~68.
- 37) ——— (1985): 同上 B12: 17~25.
- 38) 牛山欽司ら (1977): 神奈川園試研報 24: 9~15.