

特集：植物ウイルス病最近の話題

# 食用ユリのウイルス病と ウイルスフリー化事業による防除対策

北海道立中央農業試験場 佐々木 純<sup>じゅん</sup>

## はじめに

食用ユリは、コオニユリの1種で球根が食用とされ、「ゆりね（百合根）」として販売されている。全国生産量のうち北海道において95%を生産しており、主に関西方面で高級食材として用いられている。

北海道では大正時代から食用ユリが栽培されているが、ウイルス病および土壌病害の被害が当初から問題となり十年輪作と頻繁な品種の交替で対応してきた。しかし、それでもなお生産性が徐々に悪化するため産地の変遷を繰り返している。加えて、1991年に北海道の食用ユリの代表的品種‘白銀’の葉や茎にえそを起こして枯死するという症状が大発生し、大きな問題となった。当初は原因がウイルスによるものか土壌病害によるものか原因不明のため葉枯れ症と呼ばれていたが、後に2種類のウイルスの混合感染によることが明らかとなった。

北海道においては、ウイルス病対策として組織培養によるウイルスフリー化が1981年からスタートした。これにあわせて、83年から「組織培養によるウイルスフリー化対策試験」としてウイルス病に対する取り組みが始まった。

本稿では、北海道立中央農業試験場を中心に道内の農業改良普及センター・農協等関係機関の協力のもとに取り組んだ、食用ユリのウイルス病の病原と発生生態の解明および防除対策について紹介したい。

## I 病 徴

道内各地の食用ユリおよびユリ類からウイルスを分離したところ、3種類のひも状ウイルスと1種類の球状ウイルスが検出された。それぞれの単独感染での病徴は、‘白銀’で不明瞭なモザイク症状～無病徴となるが、着蕾期以降は健全株との判別は困難となる。しかし、混合感染した場合には症状が激しくなり、葉や茎にえそを起こして枯死するという激しいえそ症状を示す（口絵①）。

本症状の発病初期には葉にかすり状の斑紋が現れ、発病中期には葉はわん曲し、茎や葉にえそ症状が認められるようになる。最終的にえそは株全体に広がり立ち枯れ症状に至る。生産物として出荷されるリン茎の肥大は、えそ症状を示した場合には50%程度の収量となり、枯死した場合は収量が望めない場合も多い。

## II 発生実態

道内の主産地における食用ユリのえそ症状について1992年に行われた発生実態調査では、主産地である後志、上川、石狩、空知等の全域で認められ、一般圃での発病株率は平均30%程度、採種圃では2%であった（表-1）。一般圃の中には99.3%と全面発生となり収穫が全くできない圃場も認められた。

個々の農家で発生率の差が非常に大きく、栽培体系の管理の程度により発生が明らかに異なっていた。高齢化のため収穫作業に労力がかかる食用ユリは敬遠され、他の作物へ比重が移り栽培意欲が低下すると、ますます被害が大きくなるという悪循環に陥る場合が見受けられる。

## III 病原となるウイルス

### 1 ウイルスの同定

分離された3種類のひも状ウイルスと1種類の球状ウイルスについて分離・同定を行ったところ、それぞれユリモットルウイルス *Lily mottle virus* (LMoV)、オオバコモザイクウイルス *Plantago asiatica mosaic virus* (PIAMV)、ユリ潜在ウイルス *Lily symptomless virus* (LSV)、キュウリモザイクウイルス *Cucumber mosaic virus* (CMV) であることが明らかとなった。さらに、LMoVとPIAMVが混合感染したときのみ茎および葉のえそ症状が再現され、リン茎による次代感染も認められた（表-2）。共に単独感染ではほとんど病徴を出さないが、混合感染で枯死を引き起こして生産現場で大きな被害をもたらしていることから、えそ病として記載された。LMoVとPIAMVについて後述する。

### 2 ユリモットルウイルス (LMoV)

えそ病の病原の一つであり、北海道分離株の寄主範囲は狭くユリ類にのみ感染する。*Nicotiana benthamiana*

Virus Diseases of Edible Lily and Disease Control by Virus Free Plants. By Jun SASAKI

(キーワード：食用ユリ，ウイルス病，えそ病，ウイルスフリー化)

表-1 一般圃における食用ユリえそ症状の発生状況

場所	調査株数	発病株数 (率)	場所	調査株数	発病株数 (率)		
檜山支庁管内	A	400	164 (41.0)	上川支庁	D	400	118 (29.5)
	B	400	277 (69.3)		E	400	247 (61.8)
	C	400	118 (29.5)		F	400	195 (48.8)
石狩支庁	A	200	38 (19.0)		G	400	13 (3.3)
	B	200	111 (55.5)		H	400	23 (5.8)
	C	400	294 (73.5)		I	400	124 (31.0)
	D	400	39 (9.8)		J	400	63 (15.8)
後志支庁	A	400	46 (11.5)		K	400	44 (11.0)
	B	400	76 (19.0)		L	400	0 (0)
	C	400	128 (32.0)		M	400	1 (0.3)
	D	400	98 (24.5)		N	400	26 (6.5)
	E	400	267 (66.8)		O	400	397 (99.3)
上川支庁	A	400	143 (35.8)		P	400	87 (20.5)
	B	400	1 (0.3)		Q	400	12 (3.0)
	C	400	144 (36.0)		総計	11,200	3,287 (29.3)

表-2 ウイルス感染とユリの病徴との関係

ウイルス感染		病徴
LMoV	PIAMV	
+	-	軽いモザイク
-	+	無病徴
+	+	激しいえそ (えそ病)

への寄生性でオランダ分離株 (LANGVELD et al., 1991), *Chenopodium amaranticolor* 等への寄生性で福岡・三重で発生したユリ分離株 (前田ら, 1984) と異なる。単独感染での食用ユリの病徴は、無病徴から弱いモザイク症状である。しかし、生育後期には病徴は判然とせず、外観症状での抜き取りは困難である。食用ユリのウイルス単独感染では本ウイルスが収量に最も影響があり、ウイルスフリー株に比べ8割程度に減少する。伝搬の主要因は汚染球を母球として使用することと、アブラムシによる媒介である (表-3)。ユリ類へアブラムシが寄生している状態を栽培現場で目にするのはまれであるが、モモアアブラムシなどで高率に媒介される (表-4)。

本病原ウイルスは当初、寄主範囲の検討からチューリップモザイクウイルス *Tulip breaking virus* (TBV) と考えられていたが、外被タンパク質 (CP) の遺伝子配列を比較したところ、アミノ酸配列相同性では TBV とは 64% であるにもかかわらず、LMoV とは 90% と高い値を示した。このことから、本ウイルスは LMoV であることが明らかとなった。守川・野村 (1993) は、TBV ウイルス粒子は不安定で有機溶媒などにより分解しやす

いため、チューリップ分離株を有機溶媒を用いずに精製・抗体作成を行い成功しており、LMoV 北海道分離株を用いて同様に抗体を作成しようと試みた。しかし、食用ユリのウイルスフリー球の確保が難しく、ウイルスの増殖も少ないうえにウイルスの増殖に適当な他の寄主もないなど困難を極めた。また、局部病斑を形成する植物もないため、単一病斑からウイルス単独感染株を確実に維持するのも困難であった。少量でも抗原を精製し、モノクローナル抗体を作成しようと試みたが、これもうまくはいかなかった。そこで、コムギ萎縮ウイルスの抗体作成 (上田ら, 1998) にならい、CP 領域遺伝子を大腸菌に導入して発現させ、Maltose binding protein と CP の融合タンパク質を抗原として抗体を作成した (佐々木ら, 2003)。この方法であれば単独抗原からの抗体を得られる。この抗体により ELISA 法で LMoV を検出することが可能となった。

### 3 オオバコモザイクウイルス (PIAMV)

えそ病の病原の一つであり、本ウイルスの粒子の形状は 470 ~ 500 nm のひも状で、物理的性質は保存限界 15 日 (20℃)、不活化温度が 55 ~ 60℃ (10 分)、希釈限界が  $10^{-5}$  ~  $10^{-6}$  であった。また、CP の分子量は 24 ~ 25 kDa であった。我が国においてこれまでユリ類に発生する病原ウイルス (TBV, LMoV, LSV, CMV, ASGV) と諸性質が異なり、保存限界が比較的長いこと、粒子の長さなどから *Potexvirus* に相当するものと考えられた。ツルナ罹病葉を用いてウイルス粒子を純化・精製し、これをウサギに免疫して本ウイルスに対する抗血清を得た。この抗体を用いて、ELISA 法により本ウイル

表-3 えそ病多発生圃場からウイルスフリー球へのウイルス伝搬

圃場	調査対象 <sup>a)</sup>	調査株数	病株率 (%)	感染率 (%)	
				LMoV	PIAMV
中央農試	伝染源		100	100	100
	ウイルスフリー球 当代 <sup>b)</sup>	233	0	56.3	0
	次代 <sup>c)</sup>	212	0	95.3	0
上川支庁管内	伝染源		17.0	47.0	55.5
	ウイルスフリー球 当代	200	0	4.0	0
	次代	200	0	57.5	0

<sup>a)</sup> えそ病発生圃場を伝染源とし、その隣畦にウイルスフリー球を無被覆で植付け。<sup>b)</sup> 初年目 8 月中旬に ELISA 検定。<sup>c)</sup> 次年度網室内に隔離栽培し、8 月上旬に ELISA 検定。

表-4 食用ユリのえそ病の病原ウイルスの伝染様式

伝染様式		伝染率 (%)	
		LMoV	PIAMV
虫媒伝染	ジャガイモヒゲナガアブラムシ	71 ~ 92	0
	モモアカアブラムシ	73 ~ 100	0
	ワタアブラムシ	98 ~ 100	0
接触伝染	種球の植付	NT	6
	病株との隣接	NT	7
	リン片繁殖	0 ~ 3	1 ~ 31
	摘蓄作業	NT	19

NT: 未調査。

スを検出することが可能となった。

本ウイルスは、当初は *Potexvirus* のユリの病原として海外で報告されていたユリ X ウイルス *Lily virus X* (LVX) と思われていたが (萩田ら, 2000), CP 遺伝子および TGB3 について遺伝子配列解析を行ったところ, CP 遺伝子のアミノ酸配列相同性では PIAMV ロシア分離株と 89.4% と相同性が高く, チューリップ X ウイルス *Tulip virus X* (TVX-J) とは 79.2%, LVX では 37.4% となりその相同性は低かった。このことから, 本ウイルスは *Lily virus X* ではなく PIAMV の一系統と考えられた (竹内・佐々木, 2003)。また, 青森県ではユリ, サクラソウ, オオバコ等から PIAMV が分離されている (山下ら, 2003)。北海道分離株をオオバコに接種を行ったところ, 接種葉に局部病斑を示したが, 全身感染には至っていない。

本ウイルスは単独感染では無病徴で, 収量にほとんど影響がない。汚染球を母球として使用することに加え, 汁液伝染が容易なためリン片繁殖などの管理作業で感染が急激に拡大する (表-4, 5)。汚染球を栽培体系の中に持ち込まないこと, 特にリン片繁殖の段階で混入させ

ないことが重要である。

#### IV 診断方法

食用ユリのウイルスフリー化に必要な, 大量かつ簡易な検定方法として, ELISA 検定の確立が必要である。これまで明らかになった食用ユリに発生している 4 種のウイルスのうち, LMoV と PIAMV については北海道立中央農業試験場で抗血清を作成した。LSV と CMV については, 日本植物防疫協会製抗血清を用いて ELISA 検定が可能である。これにより 4 種類のウイルスは ELISA 法により検出が可能となったが, 実際の検定を行う場合, 「いつ」, 「どの部位」の調査を行えば確実にウイルスを検出できるかが問題である。そこで, 汚染球を定植し, 萌芽 16 日から収穫期にかけて経時的に上位葉～下位葉をサンプリングし, ELISA 法を行ってウイルスの検出を行ったところ, 着蕾期以降では罹病個体にもかかわらずウイルスが検出できない場合が認められたことから, 萌芽 2 ~ 6 週間後の中～下位葉を用いるのが適当と考えられた (図-1)。これにより ELISA 法による検出法が確立され, 現在は食用ユリの種苗生産のウイルスフリー検査などに利用されている。

#### V 防除対策

ウイルスフリー化による防除対策は, 原々種から生産現場までいかにウイルスフリーを維持できるかにかかっている。食用ユリにおいては, ウイルスフリー球を母球として使用し, 物理的にウイルスを媒介するアブラムシを遮断する以外に防除の方法はないに等しい。

現在の北海道における食用ユリの栽培体系は, 以下のとおりである (図-2)。

ホクレン種苗生産センターにおいて, 北海道から移管を受けた食用ユリ品種 '白銀' の原々種生産が行われてい

表-5 リン片繁殖前後でのウイルス感染株率の推移

調査地	調査時期	調査株数	えそ病 病株率	感染率 (%)				
				LMoV	PIAMV	LSV	CMV	
後志支庁管内	A	繁殖前	103	0	0	16.5	0	0
		繁殖後	100	0	0	32.0	0	0
同	B	繁殖前	10	0	0	10.0	0	0
		繁殖後	102	0	2	45.1	0	0

繁殖前：1998年8月12日に現地リン片繁殖母球の葉を採取しELISA検定。繁殖後：1999年7月23日にリン片繁殖母球由来の養成球の葉を採取しELISA検定。

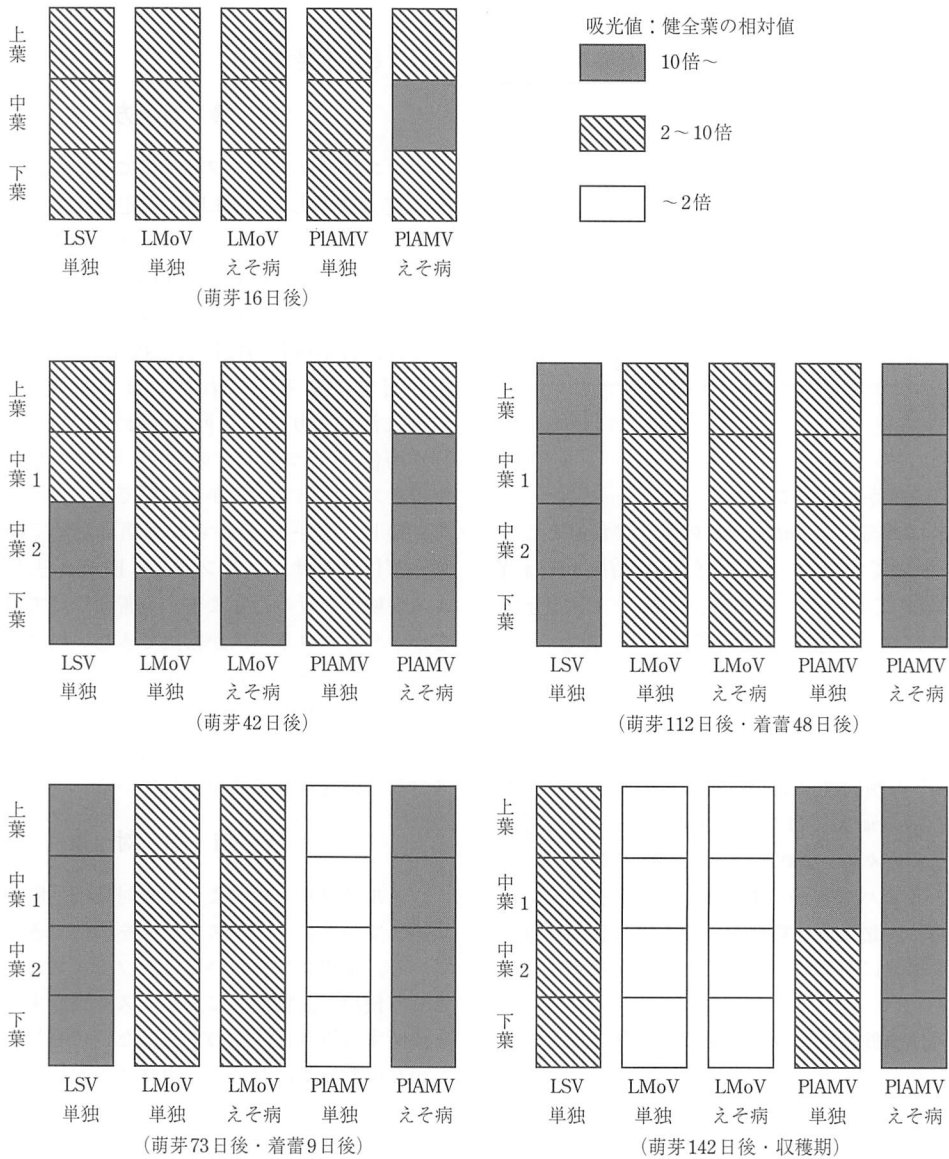


図-1 食用ユリ各部位のウイルス濃度の変化 (ELISA検定吸光値, 検定葉は100倍希釈)

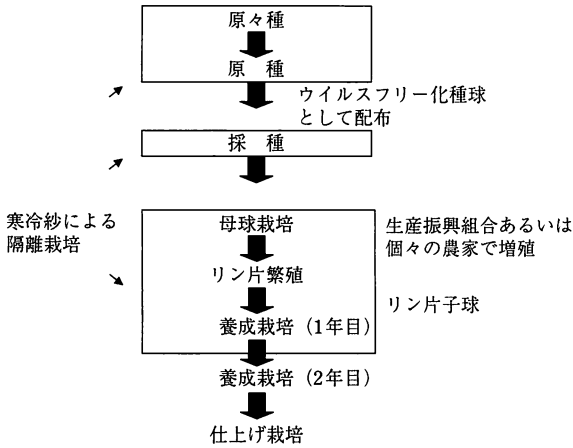


図-2 食用ユリの栽培体系

る。また、いくつかの団体でも、各生産団体から委託されて組織培養による母球生産が行われている。生育期間中は寒冷紗による被覆によって物理的にアブラムシを遮断し、ELISAによるウイルス検定が行われている。原種に相当する段階まで各施設で増殖を行い、生産地の採種体系へウイルスフリー化種球として出荷される。

生産現場においては、種球が配布されると、通常は1年間栽培してこれを母球とし、リン片繁殖→養成(1~2年)→仕上げ(販売球)と3~4年間かけてリン茎を増殖する。

以前は、ウイルスフリー球が高価であるため養成球をもう一度リン片繁殖の母球として使用するか、あるいは養成球が足りない場合は販売球を養成球として使用する例が少なからずあった。このように循環している場合は、特にPIAMVの汚染が始まると、伝染性が高く無病徴で抜き取りが難しいことから、ごく少量の汚染球の混入でも爆発的に広がってしまう。また、虫媒ウイルスのLMoV、CMV、LSVを抑制するため寒冷紗による隔離栽培を行うことが有効である。しかし、栽培面積の都合上、仕上げだけではなく養成段階でも露地栽培を行っている例が多い。この場合、汚染源のすぐそばに1年間置かれていることになり、次年度もう一度仕上げとして栽培したときには大きな被害となる。したがって、各生産者の体系全体からウイルスを排除した状態を維持してい

く必要がある。

現在の栽培体系が導入できた理由は、①種苗の供給体制が整っている、②技術普及・指導體制と関係者の尽力、③単価が高く、収益性があるため資材の導入が可能、④生産物となる球根はウイルスフリー球の使用により生産量が150~200%となるため、生産者のメリットが直接目に見える、⑤花きとは異なり市場性により品種を変更する必要がない等が考えられる。

今後の問題点は、①現地での発生がなくなっておらず、今後も対応が必要、②ウイルスフリー球の生産には、組織培養によるウイルスフリー化と検査体制をとらなくてはならず、コスト・労力がかかる、③1990年代に比べ価格がやや低く推移しており生産意欲の維持が必要等がある。

## おわりに

食用ユリのウイルスについての研究は、北海道立中央農試病理科長 萩田孝志博士(現 北海道立北見農業試験場生産研究部長)に始まり、元 北海道立中央農業試験場病理科 向原元美氏と同病理科長 竹内 徹氏(現 同農試基盤研究部副部長)と引き継がれ成果をあげてきたものである。CMVの北海道食用ユリ分離株については北海道大学大学院教授 増田 税博士らにより詳しく検討がなされている。ユリのウイルス病に関しては現在でも診断の持ち込みはあるが、一方で農業改良普及員の指導の元にウイルスフリー球の使用、栽培体系の見直しと徹底した管理で感染の悪循環から脱した地域もある。また、当面必要な種類のELISA抗体を確保できる目途がたち、ウイルスフリー化の確認およびウイルス診断に必要な量を使用する体制がようやく整った。これにより、一層の安定生産がはかられることを期待したい。

## 引用文献

- 1) 上田一郎(1998):日植病報 64:583(講要).
- 2) 萩田孝志ら(2000):北日本病虫研報 51:98~103.
- 3) LANGVELD, S. A. et al. (1991):J. Gen. Virology 72:1531~1541.
- 4) 前田宇憲ら(1984):農学研究 60:135~146.
- 5) MASUTA, C. et al. (2002):J. Gen. Plant Pathol. 68:163~168.
- 6) 守川俊幸・野村良邦(1993):北陸病虫研報 41:53~55.
- 7) 佐々木純ら(2003):日植病報 69:339~340(講要).
- 8) 竹内 徹・佐々木純(2003):同上 69:329(講要).
- 9) 山口直也ら(2005):同上 71:81~82(講要).
- 10) 山下一夫ら(2003):同上 69:33(講要).