

タイ国でのカンキツトリステザウイルス弱毒, 強毒 系統の探索・収集

果樹試験場 保護部
病原機能研究室

家城 洋之

Exploration and collection of Citrus tristeza virus in Thailand

Hiroyuki IEKI

Laboratory of Molecular Plant Pathology, Department of Plant Protection,
National Institute of Fruit Tree Science, 2-1 Fujimoto, Tsukuba, Ibaraki 305-8605, Japan

1. 目的

わが国で栽培されているカンキツの大部分はカンキツトリステザウイルス (CTV) 強毒系統を保毒しており、耐病性品種であるウンシュウミカン以外の大部分の中晩柑類は感受性品種で、ハッサク、イヨカン、ネーブルオレンジ、ユズ、セミノール等では樹勢衰弱、生産性の低下などを生じている。そのため、同種ウイルスの弱毒系統が強毒系統に示す干渉効果の利用に関する研究が行なわれている^{1~4)}。現在までに、干渉効果がある数系統の弱毒ウイルスが選抜されたが、それらの弱毒系統は完全な防除効果を示していない。そこで、より優れた弱毒系統を得るため、検定植物であるライムが経済栽培され、自然の高温により熱処理されて弱毒化していると推測されるタイ国で、ライムの病徵観察により弱毒、強毒系統を採取して、より干渉効果の優れた弱毒系統を得る。

2. 探索の概要

1997年8月27日から9月11日の日程（表1）でタイ国を訪問し、タイ国農業局植物病理・微生物部植物ウイルスセクション・チーフのMr. Maitree Prommintara 及び果樹病害セクション・チーフのMr. Suchat Vichitranandaとの共同研究として微生物遺伝資源の探索・収集を行った。

探索は、カンキツトリステザウイルスの検定植物であるライム（タイ語でマナオ）が栽培されているカンキツ園を主体に、バンコック周辺、東海岸地帯、マレー半島北部で実施した。探索隊は、日本側1名とタイ側は前述の両氏とアシスタント1~2名、運転手で行った。収集微生物は、検定植物であるライムでの症状が軽い穂木を主に採取した。

3. 収集の成果

1) 方法

カンキツ栽培地帯のバンコック周辺部、東海岸地帯並びにマレー半島北部の Prachinburi, Chanthaburi, Trat, Rayong, Nonthaburi, Suphanaburi, Nakhon pathom, Rachaburi, Phechaburi, Prachuap khirikhan の10県20園で、主にライム園で行った（表2）。収集は、ライムの葉の症状を観察し、vein clearing 及び軽微な vein soaking 症状が観察され、樹の生育が良好な樹及び激しい vein soaking 症状ならびに生育が悪い樹から穂木を採取し、クーラーボックスに入れて持ち帰った。これら穂木をユズ実生苗木に接ぎ木接種すると共に、メキシカンライム穂木を接ぎ木して、ユズとメキシカンライムに現われる病徵調査を行った。また、持ち帰った穂木の樹皮を ELISA 検定により CTV の保毒を確認した。

表1 カンキツリストザウイルスの探索・収集日程

月 日	行 程	宿泊地	行動内容
8月27日 (水)	つくば→本省→成田	成田	打ち合わせ
28日 (木)	成田 (TG643, 10.00発) →バンコック (14.40着)	バンコック	移動（空路）
29日 (金)	バンコック	バンコック	タイ国農業局表敬、 収集について打ち合わせ 及び収集準備
30日 (土)	バンコック←→プラチンブリ	バンコック	移動・収集
31日 (日)	バンコック	バンコック	収集したサンプルの整理 及び準備
9月1日 (月)	バンコック→チャンタブリ	チャンタブリ	移動・収集
2日 (火)	チャンタブリ←→トート	チャンタブリ	移動・収集
3日 (水)	チャンタブリ→ライオン→バンコック	バンコック	移動・収集
4日 (木)	バンコック←→ノンタブリ	バンコック	移動・収集
5日 (金)	バンコック←→スハンブリ	バンコック	移動・収集
6日 (土)	バンコック	バンコック	収集したサンプルの整理 及び準備
7日 (日)	バンコック←→ラチャブリ	バンコック	移動・収集
8日 (月)	バンコック→ペプリ→ホアヒン	ホアヒン	移動・収集
9日 (火)	ホアヒン→プラチャップキリカン →バンコック	バンコック	移動・収集
10日 (水)	バンコック	バンコック	タイ国農業局訪問及び採 取サンプルの整理
11日 (木)	バンコック発 (TG640, 10.45発) →成田 (19.00着) →つくば		移動（空路）

バンコックの宿泊ホテル

Maruay Garden Hotel (Tel : 66-2-561-0510, Fax : 66-2-561-0549)

2) 結果

(1) CTV 探索・収集

病徵調査および穂木の採取は、前述の10県下、20カンキツ園の64樹から採取した。さらに、タイ国農業局保存6株の分譲を受けた。

表2 タイ国でのCTV探索・収集

探索・採取県名	カンキツ園数	採取樹数
Prachinburi	2	5
Chanthaburi	2	3
Trat	1	3
Rayong	1	3
Nonthaburi	2	6
Suphanaburi	2	9
Nakhon pathom	2	5
Rachaburi	3	8
Phechaburi	2	12
Prachuap khirikhan	3	10
タイ農業局保存株	6	6

(2) ライムの症状

弱毒保毒樹と推定されるものとして、葉に軽微な vein clearing, vein soaking 症状を呈しており健全樹の葉とほとんど変わりなく、樹勢が旺盛である園が、特にライムの産地であるマレー半島北部の Rachaburi, Phechaburi, Prachuap khirikhan 県で多く見られた。一方、かってはカンキツ地帯であったが現在はグリーニング病の発生により衰退している東海岸部の Prachinburi, Chanthaburi, Trat, Rayong 県では、激しい vein soaking 症状と葉の cupping 及びグリーニングによる葉の黄化、枝枯れ症状などが見られると共に、樹の生育が悪く強毒保毒と推定される樹が多くった。

(3) 産地での苗木増殖

苗木産地でのカンキツ苗木の増殖法は、3～5年生母樹からの取り木で行なわれていた。一般的には外観健全な母樹から取り木されていたが、東海岸部では、既に母樹、苗木に CTV およびグリーニングの症状が認められるものが多かった。

(4) CTV-ELISA 検定

持ち帰った穂木の樹皮を検定用試料として ELISA 検定を行なったところ、70樹全てが陽性で、CTV の保毒が確認された（表3）。

(5) ユズ実生苗木の接ぎ木接種

探索・採取し持ち帰った70樹の穂木を、1樹当たりユズ実生苗木1本に3～4か所接ぎ木接種し、25℃の隔離温室において49樹で活着に成功した。その後枯死したもの及びウイルス感染しなかったものを除いた43樹で CTV の保毒が ELISA で確認された。

(6) CTV 検定結果（中間）

タイ国で採取した穂木をユズ実生苗木に接ぎ木接種し、ユズと接木したメキシカンライムに出現した病徵観察、樹の生育調査及び枝のステムピッティング発生調査を行なったところ、中間的なとり

まとめであるが表3のような結果であった。43樹で総合判定が可能で、弱毒(M)及び弱毒と考えられるもの(M?)が25樹、強毒系統(S)が5樹、グリーニング(Gr)保毒が18樹であった。なお、CTVとグリーニングの複合感染樹をも含む。このように得られた弱毒及び強毒株の中から数樹を選び、これらからミカンクロアブラムシで単離し、純粋な単独株を得る試験を行つている。

単離した弱毒・強毒系統についてはウイルス学的検討を行なうと共に、被害回避に利用きる優良な弱毒系統を選抜する予定である。

4. 所感

カンキツ栽培が盛んなタイ国では、多数の品種が栽培されている。特にCTVの検定植物であるライムが経済栽培されており、CTVと媒介昆虫のミカンクロアブラムシが生息するのにどうして栽培が可能であるかは興味のあるところであった。本ウイルスは高温によって無毒化あるいは弱毒化されることが明らかにされており、熱帯に属するタイ国の気象条件によって弱毒化されているのではと想像していた。今回の調査でも、地域によってはライムの生育が悪く、かつカンキツの経済栽培に悪影響を与えるグリーニングの症状がみられ、病徵だけでは弱毒とは判断しづらかった。しかし、明らかに生育が良好な地域では弱毒系統を保毒しているものと推定された。これらを持ち帰り検定した結果、二十数株の弱毒株が得られたので初期の目的を達しほっとしているところである。今後は、これらの株とわが国の株との違いを生物学的、分子生物学的に解明し、干渉効果の優れた優良弱毒株を選抜して被害回避に役立てるための研究を進める予定である。

今回の調査では、当初タイ国のほかにマレーシア国も予定していたが、生物多様性条約の関係でマレーシア国は断念しなければならなくなつたのは残念であった。

なお、今回探索、収集を実施するに当たり農業生物資源研究所遺伝資源調整官宮崎尚時博士、遺伝資源第一部長加藤邦彦博士には多大なご助力を頂いた。ここに記して深く感謝申し上げる。

5. 参考文献

- 1) 家城洋之他 (1997) カンキツトリステザウイルス弱毒系統の強毒系統に対する干渉効果利用によるネーブルオレンジのステムピッティング病被害回避。日植病報 63: 170-175.
- 2) 小泉銘冊他 (1985) カンキツトリステザウイルス (CTV) に対して干渉効果を示す弱毒ウイルスの探索。果樹試報 D7: 89-108.
- 3) 野崎 匠他 (1995) ユズのカンキツトリステザウイルス (CTV) に対して高い干渉効果を示す弱毒ウイルスの選抜。山口県農試研報 46: 106-113.
- 4) 橋 泰宣他 (1991) 弱毒ウイルスによるイヨ、宮内イヨのかいよう虎斑病及びステムピッティング病の防除。愛媛果試研報 10: 45-56.

Summary

Exploration and collection of Citrus tristeza virus (CTV) were conducted in Thailand from August 27 to September 11, 1997. Sixty-four citrus scions, which some symptoms appeared such as vein clearing, vein soaking, leaf cupping, dieback etc. caused by CTV, were collected from lime trees and other citrus trees at 20 citrus orchards located in 10 prefectures. Scions of six isolates of CTV preserved in Plant Virology Section, Department of Agriculture, Thailand were also collected.

These scions were grafted on Yuzu seedlings for CTV indexing and lime scions as index plant were also grafted and then they were kept in Isolated Phytotron at 25°C. Symptoms appearing on Yuzu and Lime were observed and the occurrence of stem pitting on twigs of Yuzu seedling was surveyed.

Intermediate results showed that 43 scions succeeded to graft on Yuzu seedlings and CTV infection was confirmed with CTV-ELISA test. Twenty-five mild and mild-like strains of CTV and five severe stains were obtained. Eighteen Yuzu seedlings showed yellowing and stunt symptoms caused by greening disease.

表3 タイ国から採取したカンキツ穂木のCTV検定結果（中間）

採取樹 品種名 ^a No. (樹齢)	病 徴 ^b	採 取 地	採取穂木 ELISA (10/24)	検 定 (1998年)				備 考
				ユズ (SP)		ライム	ELISA	
				活着 ^c	病徵(7/17)	病徵(7/17)	(6/7)	
1 LP(3) VC++, VS++, Db		Maidet V.	0.275	×	A- ^d (-) ^e	VS+	-	F
2 LN(3) VS+		Muang D.	0.485	○	A+(-)	VS++	++	M
3 LP(3) VC+, VS++		Prachinburi P.	0.318	×				
4 LP(20) VS++		Nonphon V.	0.622	○				20年生で母樹としている
5 LP(3) VS+~++		Muang D.	0.631	×				
6 LK(6) VS+++, Gr++		Makarm V., Makaram D. Chantaburi P.	0.343	○	A+(-)	VS+	+	M
7 M(5) ?		Angkidi V., Nakorm D.	0.941	○	SL(+++)	VCo++	+++	S, Gr.
8 LP() VC++		Chantaburi P.	0.303	×				母樹がすぐ横にあり Greening++, マイトレー氏弱毒を採取
9 LK(3) VC+~++		Thakum V.	0.364	△?				
10 LK(3) VC+~++		Muang D.	0.657	△	A+(-)	-	-	F
11 LK(3) VC+~++		Trat P.	0.237	△				新しく開墾した土地に購入した苗木を植え付けた(カンボジア国境に近い隔離地)
12 LP(15) VS+++, Gr++		Songsallang V.	0.425	×	A+(-)	-	-	F
13 LP(15) VS+~++, Gr++		Kleang D.	0.542	○	C+++(+)	-	++	Gr.+++
14 LP(15) VS++, Gr++		Rayong P.	0.287	○	C+++V	VS+	++	Gr.+++
15 LP(15) VS+, Gr+		Plaibang V.	0.533	○	B+++-(-)	VS+	++	M?
16 LP(5) VS+, Gr-?		Bangkravy D.	0.716	○	A+ (+)	VS+	++	M
17 LP(5) VS+		Nonthaburi P.	0.259	○	A+ (+)	VS++	++	M
18 LP(3) VC+~++		Mahsawada V.	0.379	○				
19 LP(3) VC+~+		Bangkray D.	0.426	×	A+ (-)	VS+	-	F
20 LP(3) VC+~++		Nonthaburi P.	0.480	○	A+ (-)	VS+	++	M
21 LP(5) VC+		Donphathong V.	0.675	○	A+	VS+	+	M
22 LP(5) VC+		Muang D.	0.519	○	A~B+(-)	-	+	M
23 LP(5) VC+		Suphanburi P.	0.387	○	B+ (-)	VS+~++	++	M
24 LP(5) VC+			0.230	○	A+ (-)	VS+	++	M
25 LP(5) VS++, Db			0.446	○	A+ (-)	VS+	+	M?
26 LP(2) VS+		Donphathong V.	0.406	△	A+ (-)	-	-	F
27 LP(2) VS+		Muang D.	0.304	×	A+~++(-)	VS+	-	F
28 LP(2) VS+		Suphanburi P.	0.348	×	B+ (-)	-	-	F
29 LP(2) VS+			0.381	×	B+ (-)	-		F

採取樹 品種名 ^a No. (樹齢)	病 徵 ^b	採取地	採取穂木 ELISA (10/24)	検 定 (1998年)				備 考
				ユズ (SP)		ライム	ELISA (6/7)	
				活着 ^c	病徵(7/17)	病徵(7/17)		
30 LP(6) VC- ?		Duannoensaduk V.	0.694	○	A+ (+)	VS+	++	M?Gr++
31 LP(6) VC- ?		Duannoensaduk D. Rachaburi P.	0.815	○	B+ (-)	VS+	++	M
32 LP(4) VC-		Thahung V.	0.531	×				
33 LP(4) VC+		Thahung D.	0.534	○	B++~+++	VS++~+++	++	Gr+?
34 LP(4) VC+		Rachaburi P.	0.459	×				
35 LP(4) VS++, Db			0.261	△				
36 LP(5) VS++, Gr++		Kokno V.	0.730	○	B++ (-)	VS+++	+	Gr+++.
37 LP(5) VS++, Gr++		Muang D. Rachaburi P.	0.454	○	Yel(-)	VS+++	+++	Gr+++
38 LP(6) VC+~++, Gr+		Tsakoy V.	0.462	△	B+ (-)	-	-	F
39 LP(6) VC+~++, Gr+		Thayang D.	0.556	○	C+++(-)	VS+++	++	Gr. ++
40 LP(6) VC+~++, Gr+		Phetchaburi P.	0.240	○				
41 LP(6) VC+~++, Gr+			0.578	○	B+ (-)	VS++	++	M?
42 LP(6) VC+~++, Gr+			0.651	×	B+ (-)	-	-	F
43 LP(6) VS++, Gr+			0.775	○	B+++(-)	VS+++	++	Gr. ++
44 LP(6) VS++, Gr+			0.365	○				
45 LP(3) VC+		Tsakoy V.	0.873	○	B++ (+)	VS++	+++	Gr. +
46 LP(3) VC+		Thayang D.	0.734	○	B++ (-)	VS++	+++	M
47 LP(3) VC+		Phetchaburi P.	0.784	○	B+ (-)	VS+	+++	M
48 LP(3) VS++			0.792	○	B++ (-)	VS++	+++	M?
49 LP(2) VS++			0.840	○	B+++(+)	VS+++	+++	Gr. ++
50 LP(3) VS+, Gr+ ?		Nongphub V.	0.519	○	C++	VS+~++	+++	M?
51 LP(3) VS+, Gr+ ?		Hua Hin D.	1.006	○	B++(-)	VS++	+++	M?
52 LP(3) VS+, Gr+ ?		Prachuap khirikhan P.,	0.360	○	B+(-)	VS+	+++	M?
53 LK(2) VC+		Chaan D.	0.157	○	B+(-)	VS+	+	Gr. + ?
54 LP(2) VC+		Prachuap khirikhan P.	0.603	○	B+~++(-)	VS+~++	+++	M
55 Lka(2) VS++, SP-		(Prachinburi Hort. Exp.)	1.444	○	A+(-)	VS+~++	+++	M?
56 LPh(2) VC+			0.369	○				
			Cont. 0.529					
			Free. 0.131					
57 LP(3) VS+		Chann. V.	0.376	○	C+++(+)	VCo++	+++	S,Gr. +++
58 LP(3) VS+		Chann D.	0.432	○	A+ (-)	-	++	M?
59 LP(3) VS++		Prachuap khirikhan P.	0.327	△	B+ (-)	-	-	F

採取樹 品種名 ^a No. (樹齢)	病徵 ^b	採取地	採取穂木 ELISA (10/24)	検定 (1998年)				備考
				ユズ (SP)		ライム	ELISA	
				活着 ^c	病徵(7/17)	病徵(7/17)	(6/7)	
60 LP(4) VS+ + ~ + + +		Dondeephon V.	0.591	○	C+++(-)	VS+++	++	Gr+++
61 LP(4) VS+ + ~ + + +		Muang D. Nakhon pathon P.	0.874	○	B+ (-)	VS++	++	Gr++
62 LP(4) VS+		Pardnom V.	0.498	×	A+ (-)	VS+	-	F
63 LP(4) VS+		Sanpan D.	0.560	△	A- (-)	-	-	F
64 LP(4) VS+		Nakhon pathon P.	0.775	○	B+++(-)	VS+++	++	Gr.+++
65 LP() mild (aphid)		Rantboon D. Nankornsithanmaarat P	0.256	○	A+ (-)	VS+	++	M
66 Or() mild (aphid)		Khoaosaning D. Trat P.	0.148	○	A+ (-)	VS+	-	F
67 LP() mild (aphid)		Bangkauy D. Nonthaburi P.	0.209	○	B+ (+)	VS++	+++	Gr.+, M?
68 LP() severe (aphid)		Thayang D. Petchaburi P.	0.496	○	B+(+++)	VS+	+++	S, Gr.++
69 Or() severe		Nongsua D. Pathontni P.	0.759	○	B++(+++)	VS+~++	+++	S
70 Or() severe		Muang D. Nan P.	0.573	○	B++(+++)	VS++~+++	+++	S
			Cont. 0.618, Free. 0.119					

a L: Mexican lime, LP: Pan Variety, LN: Nant V., LK: Kai V., LPu: Puthont V., LPe: Phechaburi V., LKa: Kantri V., M: Mandarin, Or: Orange

b VC: vein clearing, VS: vein soaking, VCo: vein corking, Db: dieback, Gr: Greening

c タイ国より採取した穂木のユズ実生苗木への活着有無 ○: 活着, ×: 不活着, △: 疑問

d 生育程度及び病徵 A: 良、B: 中、C: 悪い, SL: 婆縮, Yel: 黄化婆縮, vein soaking -: なし, +: 軽度~+++: 多い

e SP: stem pitting の発生程度, -: なし, +: 極少~+++: 多

f F: CTV free, M: CTV mild, S: CTV severe, Gr: greening

タイ採取穂木のELISA 検定 1997.10.23~24

生物検定: ユズ実生苗木への接種 第1回目 1997.9.12~16. 第2回目(不活着個体へ) 10.1~2.

ユズ実生苗木へのメキシカンライム穂木の接ぎ木 1997.10.21~22.



A



B



C



D



E



E

F

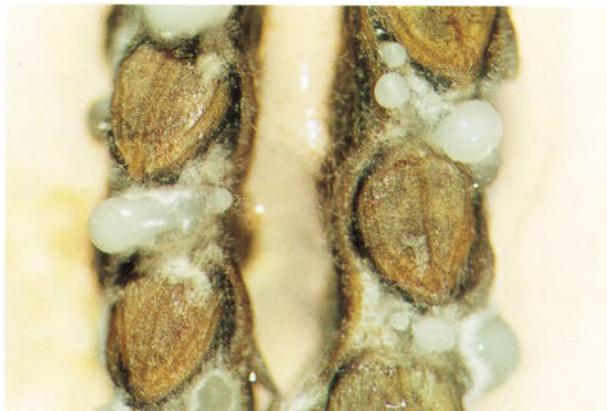
写真説明

- A 探索チームによる栽培者からの聞き取り調査
- B 生育良好なライム栽培園
- C 取り木による苗木増殖
- D CTV により生じたライム葉の vein clearing 症状
- E ライム葉の cupping 症状
- F 検定植物ユズでの収集株の症状
 - 左：収集 No.21, 生育良好, CTV 弱毒系統
 - 中央：収集 No.69, 生育悪い, CTV 強毒系統
 - 右：収集 No.37, 生育悪く, 葉が黄化, グリーニング保毒

微生物の探索収集プロフィール



石垣島でのスズメノコビエのミイラ穂病
(月星)



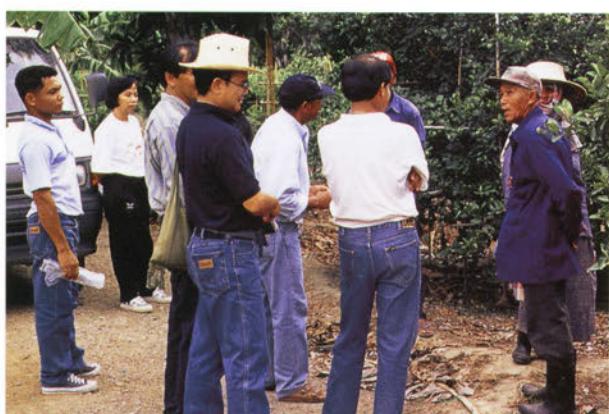
罹病果から溢沁した病原菌(*Ephelis* sp.)の分生子塊
(月星)



ウンシュウミカン園でのカンキツかいよう病菌の探索収集 (長崎県福江市)
(塩谷・尾崎)



ウンシュウミカンにおけるカンキツかいよう病の発生
(塩谷・尾崎)



探索チームによる栽培者からの聞き取り調査
(家城)



ライム葉のCupping症状
(家城)