

スイセンおよびチューリップから分離された タバコ萎えそウイルス (Tobacco Rattle Virus)

山本孝彜・守川俊幸*・稲垣佳世子*

Takashi YAMAMOTO, Toshiyuki MORIKAWA* and Kayoko INAGAKI* :
Some properties of two isolates of tobacco rattle virus
isolated from narcissus and tulip

Summary

Two viruses were isolated from narcissus and tulip plants showing yellow mosaic and necrotic streaks symptoms on their leaves respectively. The viruses were identified as the isolates of tobacco rattle virus on the basis of particle morphology and host range. The length of virus particles in both isolates were predominantly of two modal length, the isolate from narcissus had 190~210 nm in long particles and 80~90 nm in short particles and the isolate from tulip had 160~180 nm and 50~60 nm respectively. Both isolates caused systemic infection in *Spinacia oleracea*, *Tetragonia expansa* and local lesions were produced on *Nicotiana tabacum*, *N. rustica*, *N. glutinosa*, *Vigna sesquipedalis*, *Cucumis sativus*. No serological relationships were found between two isolates.

1988年4月、富山県下の輸入球根隔離圃場内で黄斑モザイク症状を示したスイセン（品種：ヴァイキング）および1989年2月、富山県農業技術センター野菜花き試験場温室内で葉にえそ症状を示したチューリップ（品種：フライヤー）を採取した。病葉汁液を電子顕微鏡観察するとともにタバコ、ツルナなど数種植物に接種を行なったところ、いずれの試料からも長さ50~200 nm、幅約25 nmの短桿状粒子が多数認められ、接種植物では接種葉にえそ病斑を生じた。この結果から、これらはいずれもTobravirus群に属するウイルスと考えて、原寄主からウイルスを分離して、粒子長の測定、各種植物への汁液接種、ウイルスの純化、抗血清の作製などを行なって、病原ウイルスを明らかにするとともにその緒性質を検討したので報告する。

試験方法

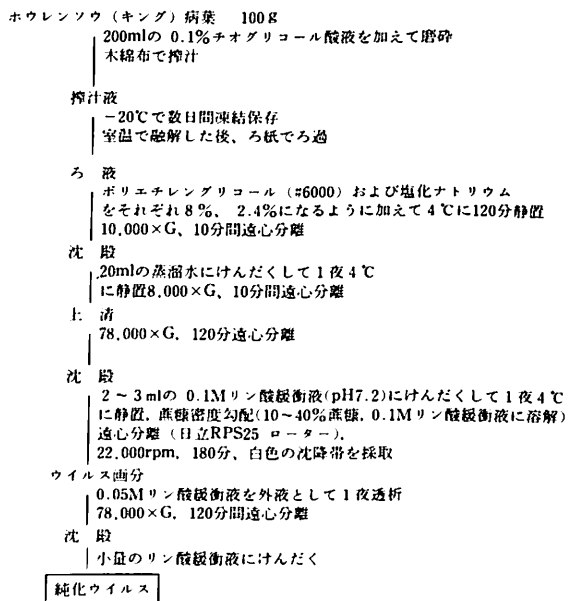
スイセンおよびチューリップの原株からのウイルスの分離は、汁液接種によって局部感染したツルナの接種葉から、単一局部病斑分離を2回繰り返して行なった。分離したウイルスはツルナに接種して増殖させたのち、病葉を小分けしてビニール袋に入れ-80°Cの冷凍庫で保存し、接種源として以後の実験に供試した。

実験植物の育成および接種試験はすべて20~30°Cのガラス温室で行なった。温室内はアブラムシなどの発生

農林水産省四国農業試験場 Shikoku National Agricultural Experiment Station, Zentsuji, Kagawa 765

*富山県農業技術センター野菜花き試験場 Toyama Vegetable and Ornamental Crops Research Station, Toyama Agricultural Research Center, Tonami, Toyama 939-13

を防ぐため、適宜殺虫剤を散布した。汁液接種は接種源



第1図 ウイルスの純化方法

に5~10倍量の水道水を加えて磨砕し、カーボランダムと綿球を用いる常法によった。

ウイルス粒子長の測定は、ツルナの局部病斑を供試して、DN法により電子顕微鏡観察を行ない、カーボングレードを標準として、写真撮影して行なった。

ウイルスの精製は全身感染したホウレンソウを用い

第1表 スイセンおよびチューリップから分離したウイルスの各種植物に対する反応

接種植物 (品種)	病 徴 ¹⁾			
	スイセン分離株		チューリップ分離株	
	接種葉	全身葉	接種葉	全身葉
ナス科				
<i>Nicotiana tabacum</i> Ky57	Ns	—(—)	Ns	—(—)
<i>N. tabacum</i> Xanthi	Ns	—		
<i>N. tabacum</i> White Burley	Ns	—		
<i>N. tabacum</i> Bright Yellow	Ns	—		
<i>N. debney</i>	Ns	—		
<i>N. rustica</i>	Ns	—(—)	Ns	—(—)
<i>N. glutinosa</i>	Ns	—		
<i>N. clevelandii</i>	—(—)	—(—)	—(—)	—(—)
トマト (福寿)	Ns	—	Ns	—
マメ科				
インゲン (トップクローブ)	—	—(—)	Vn	—(—)
ササゲ (三尺ササゲ)	Ns	—(—)	Ns	—(—)
アカザ科				
<i>Chenopodium quinoa</i>	Ns	—	Ns	Ns, Vn
ホウレンソウ (キング)	Cs	Cs, Ns	Ns	Cs, Mo
フダンソウ	Ns	—	Ns	—
その他				
ツルナ	Ns	Ns, Cs	Ns	Ns
センニチコウ	Ns	—		
キュウリ (四葉)	Ns	—	Ns	—

1) Ns: えそ斑点, Cs: 黄色斑点, Vn: 葉脈えそ, Mo: モザイク, —: 無病徴, (—): ツルナへの戻し接種結果, 感染しなかった

て, 第1図に示した方法に従った。

抗血清は精製ウイルス(約20 mg)を家兎に静脈注射を1回, 次に Freund's complete adjuvant を用いた筋肉注射を2回行ない作成した。抗血清を用いた二重拡散法はジュランガムを用いる大木ら(1987)¹²⁾の方法に従った。ELISAの手技は Clark and Adams (1977)²⁾の方法に準

じた。

結 果

1. 原寄種の病徴

スイセンでは, 葉に黄斑モザイク症状を示し, 葉身の中央部は凹凸状となり, 葉全体が波打ったような症状を呈した。チューリップでは, 株全体が萎縮し, 葉には黄色の条斑が入り, えそ症状を現した。花卉にも軽い条斑が認められた(図版1, 2)。

2. 寄主範囲

第1表に示したように, 6科16種の植物に汁液接種したところ, スイセンからの分離株とチューリップからの分離株では寄主範囲および病徴で若干の違いがみられた。両分離株ともにタバコ類には接種葉にはえそ斑点を形成したが, 全身感染は認められなかった。インゲンではスイセン分離株は感染しなかったが, チューリップ分離株では接種葉に葉脈えそを現した。ホウレンソウには両分離株とも接種葉に退色斑点を生じ上葉にも同様の症状を現した(図版3~6)。

3. ウィルス粒子長

第2図に示したように, スイセン分離株では長粒子は200~210 nm, 短粒子は90~100 nm にピークがあった。同様にチューリップ分離株では170~180 nm と50~60 nm にピークが認められた。長粒子, 短粒子共にスイセン分離株の方が長かった。

4. 純化ウィルス

純化ウィルス標品(図版7)の紫外吸収曲線は第3図に示したように, 両分離株とも255 nm 付近および265 nm 付近にそれぞれ極小および極大吸収があり, A255/A265が1.03であった。

5. 血清学的性質

スイセン分離株を用いて作成した抗血清は重層法で1.024倍の力価があった。本抗血清は二重拡散法では, ス

図版説明

- 1 スイセン(原寄主: ヴァイキング)の病徴
- 2 チューリップ(原寄主: フライヤー)の病徴
- 3 ホウレンソウ(キング)接種葉の病徴(チューリップ分離株)
- 4 ツルナ接種葉の病徴(チューリップ分離株)
- 5 *Nicotiana rustica* 接種葉の病徴(チューリップ分離株)
- 6 フダンソウ接種葉の病徴(チューリップ分離株)
- 7 純化ウィルス粒子の電顕像(バーの長さは200nm)
- 8 二重拡散法によるウィルス分離株の血清反応試験

中央抗体槽

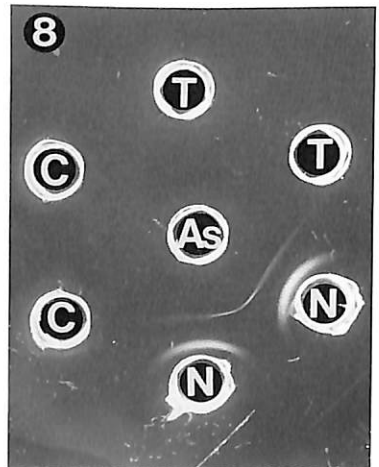
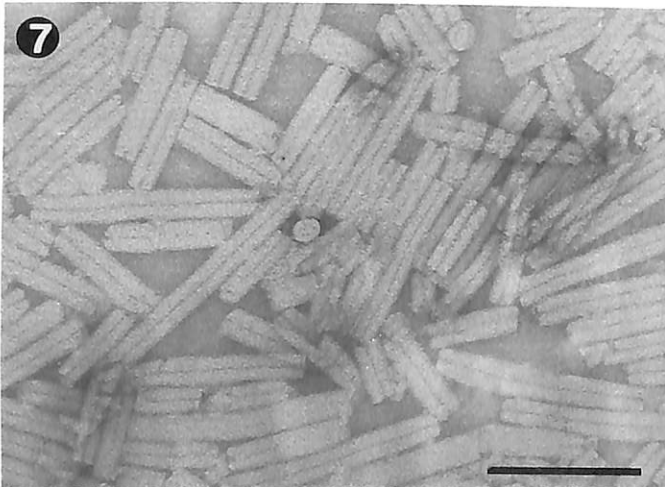
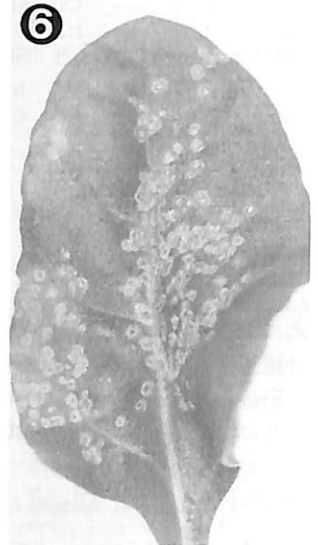
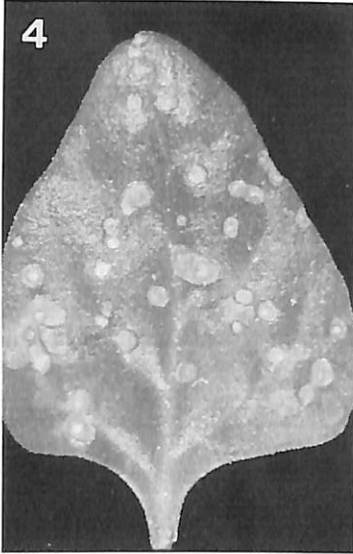
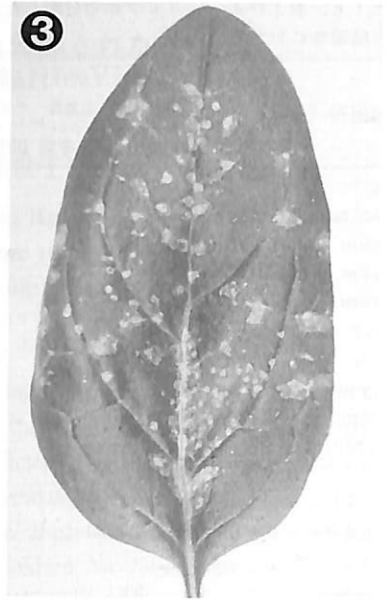
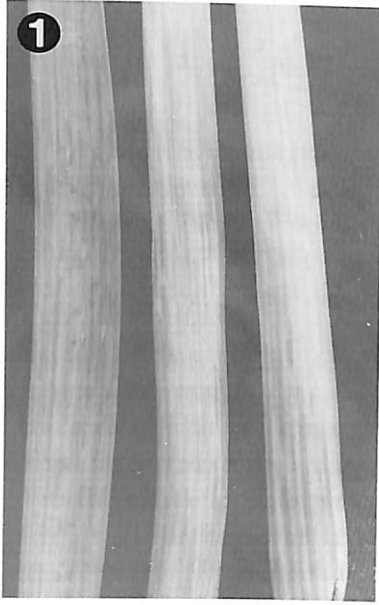
A S : スイセン分離株抗血清

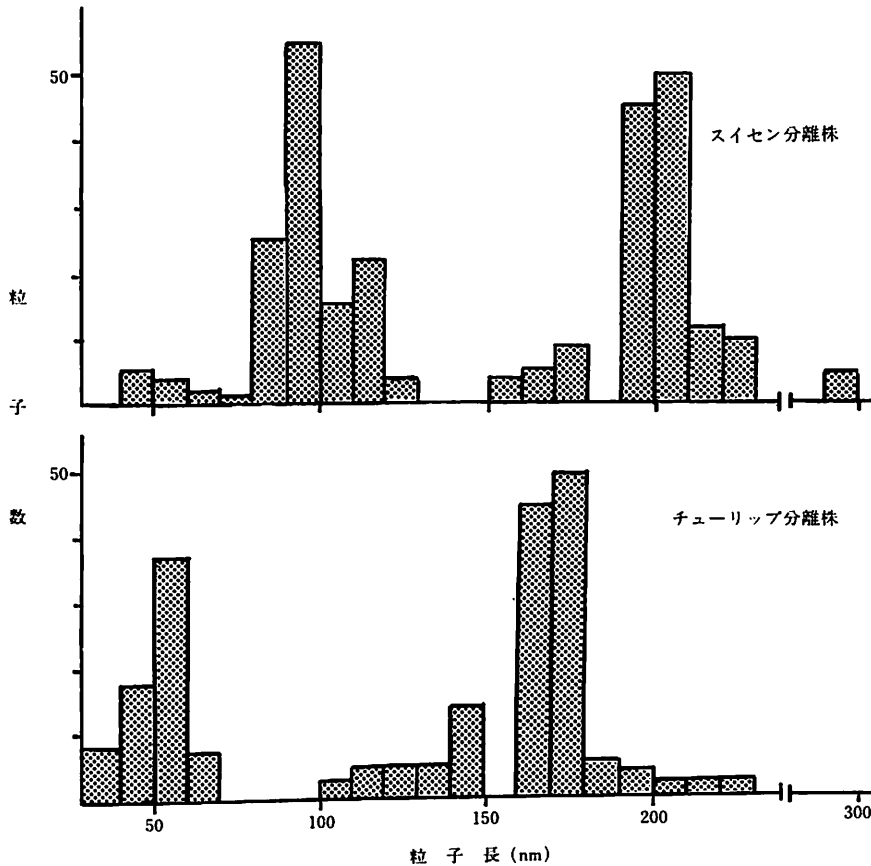
周囲抗原槽

T : チューリップ分離株純化ウィルス

N : スイセン分離株純化ウィルス

C : 緩衝液





第2図 ウィルス粒子長の分布
上：スイセン分離株
下：チューリップ分離株

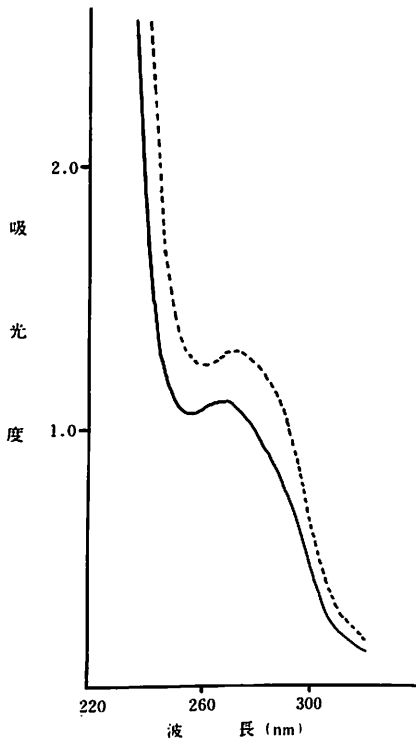
イセン分離株とは反応したが、チューリップ分離株とは反応しなかった(図版8)。本抗血清を用いたELISA法では、酵素結合抗体液1,000倍希釈でスイセン分離株からの純化ウィルスを0.01 ng/ml量まで検出できた。

考 察

スイセンのモザイク症状株およびチューリップのえそ萎縮症状株から分離されたウィルスは粒子長がそれぞれ190~210 nmと80~90 nmおよび160~180 nmと50~60 nmとに分布の山をもつ長短2種からなる短桿状であった。このような長短2粒子からなるウィルス粒子の形態は、Tobravirus群に属するTobacco rattle virus (TRV)の特徴とよく一致している。

TRVは世界各地に広く分布し、粒子長、寄生性、血清学的性質などの異なった系統の存在が知られている^{1,4,5)}。わが国においても第2表に示したように多くの報告がある。これらのウィルスの粒子長を比較してみると、アスター⁸⁾、タバコ(I群)¹⁴⁾、スイセン⁷⁾、ヒヤシ

ス¹³⁾、チューリップ⁹⁾、ダイズ¹¹⁾から分離された長粒子170~200 nm、短粒子70~90 nmとタバコ(II群)¹⁴⁾、クロッカス⁶⁾、ハウレンソウ¹⁰⁾から分離された長粒子180~200 nm、短粒子40~50 nmの2つのグループに大分される。本報告のスイセンからのウィルスは前者、チューリップからのものは後者の粒子長とほぼ一致する。即ち、本報告のスイセンから分離したTRVは、岩木・小室(1972)⁷⁾がスイセンから、末次ら(1973)¹³⁾がヒヤシンスから、松濤・末次(1971)⁹⁾がチューリップから分離したTRVにほぼ一致しており、チューリップからのTRVは井上ら(1986)⁶⁾がクロッカスから分離して報告したTRVによく一致している。寄生性についても、本報告の両ウィルスはタバコ類、インゲン、キュウリ、センニチコウなどに局部感染し、ツルナ、ハウレンソウなどに全身感染するなどTRVの多くの分離株の特徴と一致する。しかしながら、タバコ類に対しては両ウィルスとも、局部感染は認められたものの全身感染はしなかった。また、*Nicotiana clelandii*には両ウィルスとも感染し



第3図 純化ウイルスの紫外外部吸収曲線
実線：スイセン分離株
破線：チューリップ分離株

第2表 わが国で報告されたタバコ茎えそウイルス

著者	原寄主	長粒子長 (nm)	短粒子長 (nm)
小室ら (1970)	アスター	170~180	70~80
Tomaru et al (1970)	タバコ I群	180~190	70~80
	〃 II群	180~190	40~60
松壽・末次 (1971)	チューリップ	190	90
岩木・小室 (1972)	スイセン	190~200	70~80
末次ら (1973)	ヒヤシンス	190	90
Natsuaki et al (1980)	ダイズ	200	90
井上ら (1986)	クロッカス	180~190	40~50
都澤ら (1987)	ハウレンソウ	200~50	

なかった。TRV 分離株の多くが *Nicotiana clevelandii* をはじめとしてタバコ類に全身感染することが報告されているが、この点、本報告の2つのウイルスは既報の分離株とは異なった。血清反応では、スイセン分離株の抗血清は homologous な組合せではよく反応したが、チューリップ分離株とは反応しなかった。両ウイルスの間には血清学的類縁関係はないものと判断された。以上のことから、スイセンおよびチューリップから分離されたウイルスは、いずれも TRV と判断して差し支えないものとする。また、両ウイルスは、粒子長の違いおよび血

清反応の違いから、全く異なった系統に属するものと判断される。

TRV は寄主範囲の広いウイルスで、380種以上の植物が知られており、タバコ、ジャガイモなどのほか、多種類の作物、野性植物に感染する¹⁾。花き球根類の病害としても、オランダでは、チューリップ、ヒヤシンス、スイセン、ユリ類³⁾などに発生し、最も恐れられているウイルスの一つである。わが国においてもスイセン⁷⁾、クロッカス⁶⁾、輸入検疫中の球根類^{8,13)}で検出されているが、現在のところ、一般の栽培圃場においてまとまって発生した報告ないようである。しかしながら、チューリップをはじめとして各種球根類の輸入が増加していることから、TRV のような新しいウイルス病の侵入、発生の危険性も高まっている。栽培地においては、今まで以上の防除対策の推進や病害虫発生動向を注視する必要がある。

摘 要

1988年4月、富山県の隔離圃場からのスイセンおよび1989年2月、富山県農技センター野菜花き試験場内で採集したチューリップから分離された二つのウイルスは、ウイルス粒子の形態、各種植物に対する接種試験からいづれもタバコ茎えそウイルス (Tobacco rattle virus, TRV) と同定された。スイセンからの分離株は粒子長190~210 nm と80~90 nm に分布の山をがあり、チューリップからの分離株は160~180 nm と50~60 nm に分布の山があった。両分離株とも、タバコ類、インゲン等に局部感染し、ハウレンソウ、ツルナなどに全身感染した。両分離株間には血清学的類縁関係は認められず、異なった系統の TRV と判断された。

引用文献

- 1) 明日山秀文・飯田俊武編 (1967) 日本作物ウイルス病総覧。農業技術協会、東京、371 pp.
- 2) Clark, M. F. and Adams, A. N. (1977) Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immuno-sorbent assay for the detection of plant viruses. J. Gen. Virol. 34: 475~483.
- 3) Derks, A. F. L. M. (1975) Tobacco rattle virus in lilies. Neth. J. Pl. Path. 81: 78~80.
- 4) Harrison, B. D. (1970) Tobacco rattle virus. CMI/AAB Descriptions of plant viruses No 12, 4 pp.
- 5) Harrison, B. D., Robinson, D. J., Mowat, W. P. and Duncan, G. H. (1983) Comparison of nucleic acid hybridisation and other tests for detecting tobacco rattle virus in narcissus plants and potato tubers. Ann. appl. Biol. 102: 331~338.
- 6) 井上成信・前田孚憲・光畑興二 (1986) クロッカス

- から分離された tobacco rattle virus の性質. 農業研究 61: 105~118.
- 7) 岩木満朗・小室康雄 (1972) スイセンから分離されたウイルス 第3報 Cucumber mosaic virus, tobacco rattle virus, broad bean wilt virus について. 日植病報 38: 137~145.
- 8) 小室康雄・吉野正義・一戸 稔 (1970) アスター黄色輪紋症状株からのタバコ・ラトル・ウイルスの分離と *Trichodorus minor* Coldran による伝搬. 日植病報 36: 17~26.
- 9) 松濤美文・末次哲雄 (1971) 輸入検疫中にチューリップから発見された tobacco rattle virus について. 植防研報 9: 39~44.
- 10) 都澤香織・夏秋知英・奥田誠一・寺中理明 (1987) えそ萎縮症状を示すハウレンソウおよびその周辺植物からのタバコ茎えそウイルスの検出. 日植病報 53: 421~422.
- 11) Natsuaki, K., Yamasita, S., Doi, Y. and Yora, K. (1980) Soybeanfleck, a newly recognized disease caused by tobacco rattle virus. Ann. Phytopath. Soc. Japan 46: 357~360.
- 12) Ohki, S. T. and Inouye, T. (1987) Use of gelrite as a gelling agent in immunodiffusion tests for identification of plant virus antigens. Ann. Phytopath. Soc. Japan 53: 557~561.
- 13) 末次哲雄・中元秀禧・及川 巖 (1973) 輸入検疫中にヒヤシンスから発見された tobacco rattle virus. 植防研報 11: 10~13.
- 14) Tomaru, K., Takanami, Y. and Udagawa, A. (1970) Strain of tobacco rattle virus isolated from tobacco plants in Japan. Ann. Phytopath. Soc. Japan 36: 275~282.

(1990年7月5日受領)
