ソラマメえそモザイクウイルス*

井上忠男**・麻谷正義**

Tadao INOUE** and Masayoshi ASATANI**: Broadbean Necrosis Virus

Abstract

Only a little has been known about the causal virus of the soil-borne broadbean necrosis of Japan, although the disease has long been investigated. This paper deals with the description of the characteristics of the causal virus, broadbean necrosis virus (BNV), especially its host range, physical properties, and electron microscopy.

BNV is transmitted by plant juice. It causes systemic mild mottling and necrotic symptoms on a few species of *Leguminosae*, such as broadbean, pea and sweetpea. Local chlorotic lesions or quasi-necrotic ring lesions are formed on several varieties of bean, *Nicotiana rustica*, *N. clevelandii*, *Chenopodium amaranticolor*, and *Tetragonia expansa*. Other plant species tested were not susceptible to BNV. BNV in expressed juice is inactivated at temperatures of 50–55°C in 10 minutes exposure, at dilutions of 10^{-3} to 10^{-4} , and in 8 to 17 days aging at 20°C. Under the electron microscope, BNV particles appear to be straight rods about 25 m μ in diameter. Two distinct peaks of the distribution of particle length are observed at the lengths of 150 and 250 m μ . Only partial protective effect of BNV against tobacco rattle virus was observed in a cross immunity test on sweetpea. From the host range, properties, cross immunity, and particle morphology, it is concluded that BNV is distinct from tobacco rattle virus and also pea early-browning virus, which are infectious to legumes and belong to the TRV-group according to Brandes' classification of elongated viruses.

(Received February 6, 1968)

I. 緒 言

ソラマメのえそモザイク病は1951年に深野、横山⁹⁾によつて記述され、その後、深野、横山¹⁰⁾や藤川⁴⁻⁸⁾によつて研究されてきた土壌伝染性のウイルス病である。本病の発生は九州地方で確認されているが、藤川⁹⁾によると、類似病徴のソラマメが九州地方以外でも若干認められるとのことである。藤川は一連の本病に関する研究において、土壌伝染の実態、発生要因、ならびに防除法につき多くの報告を発表した。また、汁液接種が可能なことやウイルスの物理性についても報告している^{5,9)}。しかしながら、病原ウイルスの寄生性やウイルス粒子の形態などについては明らかでなく、

他のウイルスとの関連についても全く知られていない。著者らは1965年4月に大分県農業試験場藤川隆氏よりソラマメのえそモザイク病植物生標本の分与を受けて、病原ウイルスを分離し、ウイルス粒子の形態、寄主範囲その他について実験を行なつた。実験の結果から、ソラマメえそモザイクウイルス（以下 BNV と略記する）は Brandes²⁾ の桿状ウィルスの分類による tobacco rattle virus 群に属するものであるが、ヨーロッパでマメ類に発生する tobacco rattle virus や pea early-browning virus など既報のものとは異なるウイルスと考えられた。抗血清の作成がおくれているため、血清学的実験は別の機会にゆずり、本報では主として BNV の寄生性や粒子の形態を中心に記述する。

本研究を行なうにあたり、えそモザイク病植物標本を提供された大分県農業試験場藤川隆氏、tobacco rattle virus を分譲された秦野たばこ試験場都敬丸一氏、実験に協力された当研究所光畑興二氏の各位に深

* 文部省科学研究費（試験研究，昭和40年度）による業績

** 岡山大学農業生物研究所 Ohara Institute for Agricultural Biology, Okayama University, Kurashiki, Okayama, Japan.

く感謝する。

II. 実験材料と方法

大分県農業試験場藤川隆氏より送付された典型的なえそモザイク病徴をあらわしているソラマメ生植物 (Fig. 1. A) から、汁液接種によつてソラマメ、エンドウなどに移してウイルスを分離した。ウイルスの増殖には主として卅日絹英エンドウ、スイートピー、ソラマメを用い、検定植物にはこれらのほかに *Chenopodium amaranticolor* を用いた。汁液接種はすべてカーボランダムを用いる常法によつて行ない。接種植物感染の有無は上記検定植物への戻し接種や dip 法試料についての電子顕微鏡下のウイルス粒子観察で確かめた。接種実験はおもに10月下旬から翌春4月の間にガラス室内で行ない、高温時のウイルス保存は凍結病植物によつた。物理性試験のウイルス原には卅日絹英エンドウの病葉を、検定植物には *C. amaranticolor* を用い、常法によつて行なつた。ウイルス粒子の測定は dip 法試料中の粒子につき TMV 粒子を基準にして行なつた。BNV と tobacco rattle virus (TRV) との間のウイルス干渉の有無についてはスイートピーを試験植物に用いて実験した。1次ウイルスに BNV を用いて接種し、全身病徴をあらわした葉に2次ウイルスとして TRV を接種し、TRV による local lesion の数を調べて干渉効果を判定した。

III. 実験結果

1. 寄主範囲および病徴

BNV 寄主範囲は第1表に示すようにいくつかのマメ科植物やその他の数種の植物に限られている。20℃以下の比較的低温条件下では多くの植物で病徴があらわれやすいが、比較的高温条件下では感受性植物でも病徴が消失し、また接種も成功しにくい。おもな感受性植物上での病徴は下記のとおりである。

ソラマメ：接種後5—10日で接種葉に赤褐色の local lesion を生じる。のちに、この病斑から葉脈にかけてえそが広がり、さらに接種葉の葉柄から茎に至る。接種後3週間前後で上葉に赤褐色のえそ斑点やえそ輪紋を生じ、葉脈もえそとなる。葉片全面に変色が広がって落葉する場合もある。茎には赤褐色の長いえそ条斑を生じ、主茎の頂葉や腋芽の若い葉には退色斑点や主脈沿いの退色斑紋がみられることも多い。これらの退色斑の周縁にはしばしばえそ輪紋をとまなう。病葉裏面の表皮細胞中にはX体が認められる。

エンドウ：接種葉には淡褐色拡大性で葉脈に入りやすい local lesion を少数生じる。接種後10日～2週間後に上葉にはかすかな退色斑をとまなう淡褐色の葉脈えそがみられる。その後の上葉の病徴は不明確となり、えそやモザイク病徴がみられない場合も多いが、品種によつては (例えば Perfected Wales など) え

Table 1. Host range of broadbean necrosis virus (BNV)

Susceptible plant species	Infection
<i>Chenopodium amaranticolor</i> Coste & Reyn.	L
<i>Lathyrus odoratus</i> L.	S
<i>Melilotus alba</i> L.	L
<i>Nicotiana clelandii</i> A. Gray	L
<i>N. rustica</i> L.	L
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	L
(山城黒三度, マスターピース, トップクローブ)	
<i>Pisum sativum</i> L.	S
(仏国大莢, ウスイ, New Season, Perfected Wales)	
<i>Tetragonia expansa</i> Desr.	L
<i>Vicia faba</i> L.	S
Nonsusceptible plant species	
<i>Astragalus sinicus</i> L., <i>Cassia tora</i> L., <i>Crotalaria spectabilis</i> Roth, <i>Cucumis sativus</i> L., <i>Cucurbita maxima</i> Dcne., <i>Glycine max</i> (L.) Merr., <i>Gomphrena globosa</i> L., <i>Hordeum vulgare</i> L., <i>Lactuca sativa</i> L., <i>Medicago sativa</i> L., <i>Nicotiana glutinosa</i> L., <i>N. tabacum</i> L. (Samsun, White Burley), <i>Petunia hybrida</i> Vilm., <i>Phaseolus angularis</i> (Willd.) W.F. Wright, <i>P. aureus</i> Roxb., <i>P. vulgaris</i> L. (衣笠, つるなし金時), <i>Raphanus sativus</i> L., <i>Spinacia oleracea</i> L., <i>Trifolium hybridum</i> L., <i>T. incarnatum</i> L., <i>T. pratense</i> L., <i>T. repens</i> L., <i>T. subterraneum</i> L., <i>Triticum aestivum</i> L., <i>Vicia sativa</i> L., <i>V. villosa</i> Roth, <i>Vigna sesquipedalis</i> (L.) Fruwirth, <i>V. sinensis</i> (Torner) Savi, <i>Zinnia elegans</i> Jacq.	

L : Local infection, S: Systemic infection.

Fig. 1. Reaction of host plants to broadbean necrosis virus (BNV).

- A) Systemic necrotic symptoms on broadbean.
 B) Local necrotic lesions on *Phaseolus vulgaris* var. Yamashiro-Kurosando.
 C) Local semi-necrotic lesions on *Nicotiana clevelandii*.
 D) Local chroloitic and semi-necrotic concentric ring lesions on *Chenopodium amaranticolor*.

そ斑をともなう軽いモザイク病徴や退色斑点がみられるものもある。茎の基部から上方へ淡褐色の条斑がみられることが多い。供試したエンドウ品種はいずれも感受性であった。

スィートピー：接種葉に少数の灰褐色えそ斑点を生じ、のち、上葉には不鮮明な退緑斑紋を生じて軽いモザイク病徴をあらわす。茎や葉片に灰褐色のえそ条斑や斑点を生じることもある。

インゲン：少数の品種にときにつぎのような病徴が観察された。山城黒三度種の接種葉に赤褐色輪紋状の local lesion が形成され、これは次第に葉脈にも伝わる (Fig. 1. B)。トップクロップ種での local lesion は比較的大形の退緑斑点となる。マスターピース種では少数の同心円状の白色輪紋斑を生じ、この local

lesion はのちに淡褐色えそ斑となる。いずれの品種でも全身感染は認められない。他の供試インゲン品種は実験の範囲ではウイルスに感染しなかつた。

C. amaranticolor：接種後4日～1週間で接種葉に退緑斑点を生じる。これはその後、特徴的な同心円状の白色輪紋斑となつて拡大し (Fig. 1. D)、病斑数の多い場合には葉全面が病斑でおおわれるようになる。淡褐色～赤褐色の輪紋斑点になる場合もある。これらの病斑からウイルスは比較的容易に回収される。全身感染はおこらない。

ツルナ：同心円状灰白色のえそ輪紋斑点を接種葉に生じ、全身感染しない。

Nicotiana clevelandii：淡緑～褐色の local lesion を生じ、全身感染はおこらない (Fig. 1. C)。

Table 2. Properties of BNV in expressed juice

Heat inactivation point	Room temp.	50	55	60	65	70 (°C)
	> 300	0.5	0.25	0	0	0
Dilution end point	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	
	> 300	39.8	2.25	0	0	
Aging <i>in vitro</i> at 20°C	0	2	5	8	17 (days)	
	> 200	54.0	1.0	1.75	0	

Average number of local lesions formed on 3 to 5 inoculated leaves of *C. amaranticolor*.

N. rustica: 灰白～淡褐色で拡大性のえそ輪紋斑を接種葉に生じる。病斑がえそにならず淡緑色円形斑点に終る場合も多い。全身感染しない。

第1表に示したレンゲその他8科29種の植物には感染が認められなかった。

2. 粗汁液中における物理性

卅日絹英エンドウをウイルス原とし、*C. amaranticolor* を検定植物に用いて BNV の物理性を調べた。第2表に結果を示すように、BNV は比較的不安定なウイルスであり、耐熱性は 55～60°C 10分、希釈限度は 10^{-3} ～ 10^{-4} 倍、20°Cにおける保存限度は 8～17日であつた。

3. ウイルス粒子の形態

病植物から dip 法で作成した試料について電子顕微鏡観察すると、短桿状のウイルス粒子が認められる (Fig. 2)。この方法で観察される粒子の量は一般に比較的少ない。TMV 粒子の長さを 300m μ として BNV 粒子の長さを測定したのが Fig. 3 である。粒子の長さの分布は 150m μ に最大ピークが認められ、さら

に、250m μ にも顕著なピークがみられる。粒子の直径は約 25m μ である。

4. BNV の tobacco rattle virus に対する干涉

スイートピーに1次ウイルス (BNV) を接種し、モザイク病徴を生じた上葉に2次ウイルス (TRV) を接種した。ウイルス干涉効果は1対の2枚の小葉上に生じた2次ウイルスによる local lesion 数によつて調べた。2次ウイルスだけを接種した20本の対照植物の46対葉での平均病斑数が52.4であつたのに比べて、1次ウイルスによる病徴を生じた葉に2次ウイルスを接種した22本の植物の43対葉での平均病斑数は14.5であつた。平均病斑数の差は統計的に有意であつたが、これらの数値から算出された干涉効果は72%であり、きわめて不完全な干涉効果しかないものと判定された。

IV. 考 察

BNV は本報に記載された粒子の形態からみて Brandes の桿状ウイルス分類による TRV 群に属するものと考えられる。TRV群のウイルスには、tobacco

Fig. 2. Electron micrograph of broadbean necrosis virus (BNV). Leaf-dip preparation from infected sweet-pea.

Fig. 3. Particle length distribution of broadbean necrosis virus (BNV) in leaf-dip preparation.

Table 3. Comparisons among BNV and four viruses of TRV group according to Brandes' classification of elongated viruses

	TRV	PEBV	BSMV	SWMV	BNV
Particle length (μ)	180,190 ^{a)}	105,210 ^{b)}	111,148,128 ^{c)}	160,300 ^{d)}	150,250
Heat inactivation point	80-85°C	65-70°C	60-65°C	55-60°C	50-55°C (55-60°C) ^{e)}
Dilution end point	10 ⁻⁶	10 ⁻⁴ -10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴ -10 ⁻⁵	10 ⁻³ -10 ⁻⁴ (10 ⁻³ -2×10 ⁻³) ^{e)}
Aging <i>in vitro</i>	2 months	6-8 months	20-25 days	1-2 days	8-17 days (1-2 days) ^{e)}
Seed transmission	+	+	+	-	-
Soil transmission	+	+	-	+	+
Vector	Nematode	Nematode	-	<i>Polymixa</i> ?	?
Host range	Wide host range		Mainly in <i>Gramineae</i>	Wheat, Barley	Several species in <i>Leguminosae</i> and other genera

^{a)} The data from Tomaru (1964), ^{b)} Bos & van der Want (1962), ^{c)} Harrison et al (1964),

^{d)} Brandes et al (1964), and ^{e)} Fujikawa (1959).

rattle (TRV), pea early-browning (PEBV), barley stripe mosaic (BSMV), soil-borne wheat mosaic (SWMV) の諸ウイルスが含まれる。第3表に TRV 群の各ウイルスの性状を比較して示したが、BSMV 以外はすべて土壌伝染性である。PEBV はヨーロッパに分布するウイルスで、TRV とはきわめて近縁のものであるといわれる。TRV、PEBV とともにウイルス粒子の長さに二つのピークが認められ、TRV で 80 および 190 μ ¹³⁾、または 70 および 180 μ ²⁾、PEBV で 105 および 210 μ ¹⁾ と報告されている。本報の BNV 粒子の長さは、時期を変えて異なる試料について3回測定したところ、いずれの場合にも 150 および 250 μ の長さに分布のピークが認められ、TRV や PEBV とは明らかに長さの異なるウイルスと考えられた。寄生性の面からみると、BNV の寄主範囲は 2, 3 のマメ科植物のほかは *C. amaranticolor*, ツルナ, *N. rustica*, *N. clevelandii* など少数の植物に限られており、マメ科、ナス科、ウリ科、イネ科などに広く病原性がある TRV や PEBV とは対照的である。さらに TRV や PEBV が比較的安定なウイルスといえるのにくらべ、BNV は植物体内でのウイルス濃度は低く、耐熱性、保存限度などで不安定なウイルスと考えられる。

第3表にあげた TRV 群のウイルスで、BNV と粒子の大きさでもつとも近いと考えられるのは土壌伝染性のムギ類萎縮ウイルス (SWMV) である。SWMV は Brandes⁹⁾ によれば長さが160および 300 μ であるといわれ、BNV の大きさに近いが寄生性の面では

全く共通性が認められない。

TRV、PEBV はともに線虫によつて伝搬されることが報告されているが、BNV の土壌伝染に線虫が関与しているかどうかは明らかでない。

TRV、PEBV のほかにマメ科植物にも発生し線虫で土壌伝染するものとして tobacco ringspot virus が知られているが、これは球状ウイルスであつて BNV とは明らかに異種のものであり、寄生性の点でも相異がいちじるしい。

本報で記述した BNV の寄生性、粒子の形態、物理性、ウイルス干渉試験などの結果を総合して、BNV は既報のウイルス (エンドウやソラマメに比較的似た病徴をあらわすとされている PEBV も含めて) とは異なるものと結論してよいであろう。本報では血清反応試験を行なっていないが、今後抗血清を作成し、BNV と TRV、BSMV、SWMV との血清学的類縁の有無について検討を加える予定である。

V. 摘 要

土壌伝染性のソラマメえそモザイクの病原ウイルス (BNV) の寄生性、粒子の形態などについて調べて同定を確立し、他のウイルスとの関連異同を明らかにした。

BNV はソラマメ、エンドウ、スィートピーなどのマメ科植物に全身感染してえそ病徴と不鮮明な軽いモザイク症状をあらわす。インゲンのいくつかの品種の接種葉に、時おり local lesion を生じるが全身感染しない。*C. amaranticolor* に白色～赤褐色の拡大性輪

紋状の local lesion を生じ、*N. rustica*, *N. cleve-landii* にも local lesion を生じるが、その他の植物には病原性が認められなかつた。エンドウをウイルス原とし、*C. amaranticolor* 上で調べた BNV の粗汁液中での耐熱性は 50~55°C, 希釈限度は 10^{-3} ~ 10^{-4} 倍、保存限度は 20°C で 8~17 日であつた。ウイルス粒子は径 25m μ で、150m μ に最大、250m μ にも長さの分布のピークが認められる。スィートピー上での BNV の tobacco rattle virus (TRV) に対する干渉効果はきわめて不完全と認められた。BNV は Brandes の粒子の形態による分類の TRV 群に入るとみられるが、粒子の形態、寄生性、病徴、物理性などの特徴から TRV や pea early-browning virus などとは別種のウイルスと考えられる。

引用文献

1. Bos, L. and van der Want, J.P.H. (1962). T. Pl. ziekte. 68 : 368-390.
2. Brandes, J. (1964). Mitt. biol. BdAnst. Berl. 110, pp. 130.
3. Brandes, J., Phillip, M.R. and Thornberry, H.H. (1964) Phytopath. Z. 50 : 181-190.
4. 藤川 隆 (1957). 日植病報 22 : 19.
5. 藤川 隆 (1958). 同上 23 : 27.
6. 藤川 隆 (1959). 同上 24 : 32.
7. 藤川 隆 (1962). 同上 27 : 83.
8. 藤川 隆 (1963). 農及園 38 : 73-77.
9. 深野 弘・横山佐太正 (1951). 九州農業研究 10 : 133-134.
10. 深野 弘・横山佐太正 (1956). 同上 17 : 102, 103.
11. Harrison, B.D., Nixon, H.L. and Woods, R.D. (1965). Virology 26 : 284-289.
12. 井上忠男・麻谷正義 (1967). 日植病報 33 : 94-95.
13. 都丸敬一 (1964). 植物防疫 18 : 350-354.