クワ輪紋ウイルスの *Longidorus martini*

Merny による伝搬

八木田秀幸*・小室康雄**

Hideyuki YAGITA* and Yasuo KOMURO**: Transmission of Mulberry
Ringspot Virus by *Longidorus martini* Merny

Abstract

When mulberry seedlings were planted in soils brought from mulberry fields where mosaic disease was severe, the seedlings showed ringspot and enation symptoms on the leaves 6 to 17 months after planting, reconfirming Okabe's conclusion (1959) that mosaic is a soil-borne disease.

From the leaves showing enation and/or ringspot symptoms of these experimentally infected seedling, a virus was isolated by juice inoculation to cowpea, *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, and *C. murale*. In electronmicroscopy, the virus was found to be spherical, about 22 m μ in diameter. The virus reacted with antiserum to mulberry ringspot virus prepared by Dr. T. Tsuchizaki, but not with antiserum to tomato black ring virus sent from Dr. B. D. Harrison, Scotland. The virus was identified as mulberry ringspot virus reported by Tsuchizaki *et al.* (1970).

The infected soil lost its transmissibility when dried for 7 days. Many nematodes belonging to *Longidorus* were collected by sieving technique from soil around roots of infected mulberry trees in the fields. The species was identified as *L. martini* Merny by Mr. Y. Oshima.

Lots of 10 to 56 *L. martini* sieved from soil in which diseased mulberry trees had been growing were placed near the roots of 31 potted healthy mulberry plants. After 3 to 12 months, 10 of these plants showed symptoms, and the virus was detected from these 10 plants by juice inoculation to test plants. No infection occurred in 8 control mulberry plants grown in soil free from *L. martini*.

Transmission tests using *Xiphinema* sp. sieved from soil in which diseased mulberry had been growing gave negative results.

The symptoms on mulberry plants incited by the nematode transmission were ringspots, enations and some vein necrosis, and no fern-leaf and yellow leaf symptoms were observed.

(Received November 2, 1971)

I. 緒 言

クワ・モザイク病の発生は、1921年頃より知られ¹⁰⁾、1937年に遠藤・倉沢⁴⁾が、その病徴をひだ葉など9つの項目に分けて記載したのが最初である。その後同氏

らの記載とは異なった病徴がいくつか報告^{5,8,11,16,17)}され、現在では一般にクワ・モザイク病と呼ばれるものには、ひだ葉、糸葉、黄葉、輪紋の4つの病徴が知られている。最近土崎ら^{12,13)}は、クワのモザイク株からクワ輪紋ウイルスを分離同定した。しかしこの輪紋

* 埼玉県蚕業試験場 Saitama Sericultural Experiment Station, Kumagaya, Saitama, Japan.

** 植物ウイルス研究所 Institute for Plant Virus Research, Chiba, Japan.

ウイルスが上記4つの各病徴を示すものと、どのような関係にあるのか十分明らかではなく、また野外での伝搬機構などについては不明のまま残されている。

クワのモザイク病のうちひだ葉および輪紋症状を現わすものは、すでに土壤伝染することが明らかにされている(岡部⁹⁾)。そしてその発生は、従来から河川の流域に多く、発生地土壤は砂土もしくは砂壤土にほぼ限定されること^{5,7)}、虫媒伝染は否定されており^{5,9)}、圃場における発病伝搬状況およびクワのひだ葉についての種子伝染の確認¹⁾などいくつかの点でひだ葉、輪紋症状をおこすウイルスの土壤伝染は、線虫によって伝搬されているのではないかと考えられた。そこでこの点を明らかにする目的で試験を行なった。

その結果、まず土壤伝染することが確認され、クワに輪紋、ひだ葉などの病徴を示すこと、それらの罹病クワから汁液接種によりクワ輪紋ウイルスが検出されること、また発病地土壤から高い頻度で *Longidorus martini* Merny が分離され、本線虫によって同ウイルスが伝搬されることなどが明らかになった。以下その大要を報告する。なお本報告の一部は、さきに日本植物病理学会^{14,15)}で発表した。

本稿を草するに当たり、線虫の同定をして下さった農事試験場大島康臣氏、有益な助言とクワ輪紋ウイルスの抗血清および tomato black ring virus (Tom BRV) 抗血清をそれぞれ提供された植物ウイルス研究所土崎常男氏、岩木満朗氏、線虫の分離法について助言いただいた埼玉県園芸試験場吉野正義氏、また本研究に際し、種々の御援助とはげましをいただいた植物ウイルス研究所明日山秀文所長、飯田俊武部長、栃原比呂志氏・埼玉果菜試験場小沢昇場長の各位に対し、衷心からお礼を申し上げる。

II. 実験材料および方法

本報告で、クワ・モザイク株と記したものは、クワにひだ葉またはひだ葉と輪紋を併発した株である。それらの根部周辺の土壤を以下病土と記すことにする。供試した病土は、おもにクワ・モザイク株が広い範囲で発生している荒川中流域の堤外桑園(埼玉県大里郡)で採取した。

土壤伝染の確認試験は、1968年4月、1969年3月の2回にそれぞれ病土をポットに詰めて現地より持ち帰り、直ちにクワ実生苗(1968年には1年生苗、無病地で育苗; 1969年には大きさ20cm程度の幼苗、殺菌土壤で播種育苗)をそこに植付けた。また対照には、両年とも供試した苗を無病地から採取した土壤に同様

に植付ける区を設けた。

土壤線虫の調査を行なった圃場は、おもに前記の堤外桑園で2km以上離れた2箇所のそれぞれ数圃場と、さらに2km以上離れた熊谷市熊谷の発病地で行なった。線虫の分離法、線虫による伝搬試験などの方法についてはその項で記す。線虫の伝搬試験に用いたクワ苗は、殺菌土壤に播種した大きさ5~7cmの幼苗で、あらかじめ十分に蒸気消毒した病土を入れた小鉢(直径5~9cm)に移植して供試した。

汁液接種は、常法によるカーボランダム法で、磨碎汁液は茎葉または根部の生体重に対し10倍量の0.1Mりん酸緩衝液(pH 7.0)を加えて作製した。被接種植物は、すべて殺菌土壤で育てたものを用い、接種後は温室、ガラス室内に保ち病徴発現の有無を調べた。

tomato black ring virus の抗血清は Dr. B. D. Harrison から岩木満朗氏に譲渡されたものであり、またクワ輪紋ウイルスの抗血清は土崎常男氏から譲渡を受け、寒天ゲル内拡散法で血清反応を調べた。

III. 実験結果

1. クワ・モザイク病の土壤伝染の確認

クワ・モザイク病の発病地土壤を無病地に運搬して、それに健全クワを栽植し、それらの苗での病徴発現の有無を調べた。

病土の採取は、1968年4月27日のものはつぎの2圃場からそれぞれ採取した。1)圃場で、すでに多数の枯死株がみられる中央部附近の病株の土壤(病土A)と、2)病株の発生がほぼ同心円状に進展している圃場で、その周辺部の病株(病土B)から、また1969年3月24日の試験では、2)と同様な発病状況を示した別の圃場(病土C)からそれぞれ採取した。採取した土壤をポットに詰め、そこに健全クワ苗を植付けた。植付時は、いずれも基部を2~3芽残して一度切り戻し、その後は春に伸長した枝を、夏期から初秋に上部を伐採して再び発芽伸長させ、なるべく病徴が出やすい栽植法をとった。

病徴発現の有無は、1968年のものは植付後29カ月まで、1969年のものは植付後19カ月まで経時的に観察を行なった。

その結果は第1表のようであった。病土Aのように、すでに枯死株が多数みられた発病圃場から病土を採取したにもかかわらず、病徴が観察されなかったものもあったが、病土Bでは植付けた22本のうち7本に、病土Cでは植付けた8本のいずれもが、明瞭な輪紋あるいはひだ葉症状を現わし、土壤伝染すること

第1表 発病地土壌によるクワの発病経過と病徴

植 付 年月日	土 壤 区 分	植付 本数	発病 本数	株番号	植 付 後 月 数									
					4	6	13	15	17	19	25	27	29	
'68.4.27	病土A	26-0	1-26	○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○								
	病土B	22-7	1	○ ○	○ ○ ● ●	⊗ ● ●								
			2	○ ○	○ ○ ● ●	⊗ ● 枯								
			3	○ ○	○ ○ ○ ○	⊗ ● ○								
			4	○ ○	○ ○ ○ ○	⊗ ● ○								
			5	○ ○	○ ○ ○ ○	⊗ ● ○								
			6	○ ○	○ ○ ○ ○	⊗ ● ○								
			7	○ ○	○ ○ ○ ○	⊗ ● ○								
			8-22	○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○								
	無病土	47-0	1-47	○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○								
'69.3.24	病土C	8-8	1	○ ●	⊗ ● ● ●	●								
			2	○ ○	⊗ ● ● ●	●								
			3	○ ○	⊗ ● 枯 枯									
			4	○ ○	⊗ ● ● ●									
			5	○ ○	⊗ ● ● ●									
			6	○ ○	⊗ ● ● ●									
			7	○ ○	⊗ ● ● ●	●								
			8	○ ○	⊗ ● ● ●									
	無病土	8-0	1-8	○ ○	○ ○ ○ ○									

注 ○:外観正常, ⊗:モザイク, ●:輪紋, ●:ひだ葉, ⊗:ひだ葉・モザイク枯, 枯死

が確認された。

クワにみられた病徴は、おもに輪紋、ひだ葉（第1図）、葉脈突出の奇形葉であり、このほか春発芽の遅延、開葉間もない幼葉における葉脈透化、葉の退緑などもみられた。本実験では病徴を現わした計15本のうち5本は輪紋のみで、ひだ葉は観察されなかった。しかし他の10本は第1表のように観察時期によって輪紋とひだ葉の病徴がほぼ交互に観察された。ひだ葉症状

第1図 土壌伝染したクワの葉状突起(ひだ葉)症状

は、いずれも枝条を伐採した後に再発芽した新葉に観察された。

2. 土壌伝染した罹病クワからのウイルスの検出

病土によって発病した罹病クワを用いて、以下ウイルスの検出を試みた。まず1970年5~6月に明瞭な輪紋症状を呈した若い葉から、dip法で電子顕微鏡観察を行なった。その結果、1視野に数個の球状ウイルス様粒子が観察された。本粒子はさきに土崎ら¹²⁾がクワ・モザイク病株に広く分布すると報告したササゲなどに汁液伝染可能な球状ウイルスに酷似しているものと思われた。罹病葉を0.1Mりん酸緩衝液で磨砕し、カウピー (Black Eye) に対し、汁液接種を行なった。接種源としたものは、1) 5~6月に前記病土Cで発病した輪紋症状を現わした罹病葉と、2) 7月にそれらの株を切り戻した後に発現したひだ葉症状の茎葉を用いた。その結果いずれを接種源とした場合も、カウピーの接種葉に褐色の凹みのある病斑、ときには褐色複輪紋状の病斑も生じその後特徴のあるtop necrosis症状を起こして全身感染した。またそれらのカウピーの感染葉(上葉)からも球状ウイルス様粒子が観察された。

以上の結果から、病土の株に発現した輪紋、ひだ葉症状を呈した葉からは、いずれもカウピーに汁液伝染可能な球状ウイルスが含まれていることが明らかになった。このウイルスは上記諸性質と6.の項で記すクワ輪紋ウイルス抗血清と陽性の反応を示すことから、土崎らのクワ輪紋ウイルスと同一または近縁のものと思われる。以後線虫による伝搬試験結果などを記すに当ってこのウイルスをクワ輪紋ウイルスとして記すこととする。

3. 病土を乾燥した場合の土壌伝染の有無

線虫によって伝搬されるウイルスは、病土を乾燥さ

せることによって病原性が失われるという³⁾。この点を確かめるため、1970年4月20日に発病地数圃場から採取した病土をよく混合して、つぎのような実験を行なった。なお採取当時、病土200g中には、*Longidorus martini* が20頭検出された。

混合した病土は2分し、1つは直ちに1/5000aポットに詰め、それに計8本の健全クワ苗(高さ20cm)を植付けた(非乾燥病土区)。他はガラス室で木枠内に病土を薄く拡げて7日間陰干しした後、同様に計8本を植付けた(乾燥病土区)。その結果は第2表に示した。第1回の検定を行なった植付後67日~74日目の1970

第2表 病土の乾燥による土壌伝染の有無

土 壌 区	植付本数	ウイルスの検出結果 ^{a)} (調査本数—発病本数)	
		第1回 (1970. 7. 3) 根 葉	第2回 (1971. 9. 10) 葉
乾燥病土 ^{b)}	8	4 — 0 4 — 0	8 — 0
非乾燥病土 ^{c)}	8	4 — 0 4 — 0	8 — 8

注 a) 検定植物: カウピー b) 植付年月日, 1970年4月27日

c) 植付年月日, 1970年4月20日

年7月3日での検定各区4本ではウイルスは検出されなかった。しかし第2回目の1971年9月10日にカウピーを用い検定したところ、非乾燥病土区の8本すべてからウイルスが回収された。これら8本はいずれもクワに輪紋の病徴を示していた。以上の結果から病土は乾燥することにより土壌伝染性が失われることが明らかになった。

4. 発病地土壌からの *L. martini* Merny の検出

前述のようにクワ・モザイク株の土壌伝搬には線虫が関与する疑いが持たれた。現在ウイルス伝搬の媒介者となり得る線虫は、いずれもドリライムス目線虫の3属(*Xiphinema Longidorus*, *Trichodorus*)に限られているので、発病地圃場から上記線虫が検出されるかどうかを調査した。すなわちクワ株の根部周辺の土壌(多くは深さ10~30cm)をビニール袋に採取して以下の方法で線虫を分離した。

Xiphinema および *Longidorus* については、つぎのフルイ分け法で行なった。採取土壌各200gをボール(容器)に入れ、約5倍量の水を加え、よく攪拌し、一度細根などの爽雑物を除くため、10メッシュのフルイでこしわけた。こしわけた土壌水は再びよく攪拌し、大きな土粒が沈澱するのをまって、上層に浮遊する線虫を50メッシュと100メッシュの2つのフルイ

を重ねたものでこしわけた。それらの操作を2回くり返し、線虫をそれらのフルイ上に採取した。フルイ上の線虫は水とともにビーカーに移しとり、線虫をビーカーの底に沈澱させ、静かに上層の水を取り除き、それらについて検鏡した。*Trichodorus* 線虫についてはザインホースト線虫分離器を用い、325メッシュのフルイ上に採取された線虫を上記と同じ方法でフラットシャーレにとり、検鏡調査した。

その結果、クワ株の根辺土壌から上記3属の *Xiphinema* spp. *Longidorus* sp., *Trichodorus* sp. が検出されることがわかり、とくに注目すべきことは、クワ・モザイク株の発病伝搬がみられる圃場からは、共通して *Longidorus* 属線虫の1種が高い頻度で検出された。第3表は、1968年~1970年まで逐次行なった調査結果をまとめたものである。第3表のように、発病地土壌からは調査株数計152点のうち、116点(76%)から本線虫が検出された。なお発病圃場A-4では、検出頻度、検出頭数が高く、最高115頭(土壌200g中)分離された例もあった。また本線虫は病株が発生した周辺部から多く検出される傾向がみられ、生息分布は、やや卵塊状になっているようであった。ところで本調査の範囲では、無病地土壌からは本線虫は検出されなかったが、この点についてはさらに調査圃場を多くと

第3表 クワ株の根部周辺土壌から検出された *L. martini* の調査結果

調 査 圃 場 ^{b)}		調 査 株 数	検 出 頭 数 ^{a)} ・ 検 出 株 数					
			0	1～10頭	11～20	21～30	30＜	
発 病 地	A {	1	8	5株	3	0	0	0
		2	19	3	3	3	4	6
		3	17	1	6	5	2	3
		4	54	9	17	14	10	4
	B {	1	4	2	2	0	0	0
		2	5	2	3	0	0	0
		3	7	0	5	2	0	0
		4	7	3	2	0	1	1
	C—1	31	11	12	6	2	0	
	計		152	36	53	30	19	14
(割 合)			(24%)	(76%)				
無 病 地	D {	1	10	0	0	0	0	0
		2	4	0	0	0	0	0
	E—1	5	0	0	0	0	0	
	計	19	0	0	0	0	0	

注 a) 土壌 200 g 中の検出頭数—フルイ分け法

b) A: 大里郡大里村大字小八ツ林, 荒川系沖積層, 砂土
 B: 大里郡大里村大字小泉, 荒川系沖積層, 砂土
 C: 熊谷市熊谷, 荒川系沖積層, 砂壤土
 D: 熊谷市肥塚, 荒川系沖積層, 埴土
 E: 大里郡江南村大字板井, 腐植質火山灰土, 埴壤土

り検討する必要があると思う。

本線虫は、発病地である砂土もしくは砂壤土で、表層が浅くすぐ下に礫層がみられる土壌から高い頻度で検出されたことは、わが国での本属線虫に関して他の作物から検出例が報告されていないことから、その生息分布はおそらく地域性があるものと考えられる。

一方、クワの根辺土壌から *Xiphinema* spp. および *Trichodorus* sp. も検出されたが、それらは発病地と無病地のいずれからも検出されたので、これらの線虫については十分な調査を行っていない。

分離された *Longidorus* 属線虫の雌 15 頭を農事試験場大島康臣氏に送付し同定を依頼した結果、本種は *Longidorus martini* Merny と同定された (第2図)。

本線虫は Merny によって Rhodesia および Zambia から検出例が報告されており、寄主植物としては vine, tobacco, sugarcane などが挙げられている。本線虫の形態的特徴は、近縁の *Xiphinema* 属線虫とは口針の延長部で区別され、また guide ring の位置も口針の前方部に位置している。著者らが雌成虫 20 頭につ

第2図 *Longidorus martini* の頭部
約 330 倍

いて形態の計測を行なった結果はつぎのようである。
 L (体長)=4.3 mm a (体長/最大体幅)=92.6 b (体長/食道長)=9.7 c (体長/尾長)=114.8 V (頭端から陰門までの距離/体長 $\times 100$)=49.7 ρ 針長 (延長部を含む)=180 μ 。

5. クワ輪紋ウイルスの *L. martini* による伝搬

L. martini はその検出頻度、検出頭数からみてクワ・モザイク病 (クワ輪紋ウイルス) の伝搬に関与する可能性が高いと思われた。そこで病土から前記のフルイ分け法で線虫をフラットシャーレに集め、検鏡しながら、細いガラス管に1頭ずつ吸いとり、それをクワ実生苗 (5~7 cm) の根元に小さな穴をあけて、その土壤中に水と共に注入した。実験1, 2に大別して試験した。

実験 1.

1969年7~10月に病土を採取し、土壌採取後1~3日以内に線虫を分離して供試した。注入接種した頭数は、クワ実生苗1本当たり20頭である。また9~10月の実験では、熊谷市熊谷の発病地から高い頻度で *Xiphinema* sp. (形態から *X. bakeri* とみられるが未同定) が分離されたので同線虫もクワ実生苗1本当たり11~35頭を注入接種した。

線虫放飼後は翌年5月まで実験室の陽の当る場所に置き、虫媒伝染などによる他の伝染が起らないよう十

分に注意した。5月上旬からは23°C前後のグロース・キャビネット内に保って試験した。ウイルス伝搬の有無は、1970年6月3日および7月7日にクワの茎葉の一部をとり、0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) による磨砕汁液でカウピーに汁液接種し、それにウイルスが回収されるかどうかを確かめた。

その結果は第4表に示したように *L. martini* を接種した9本のうち4本からウイルスを回収することができた。またその感染葉から dip 法によって球状ウイルス様粒子が観察されることを確認した。なおウイルスが検出された4本は、戻し接種を行なった際 (1970年6月3日および7月7日) は、茎葉にはとくに異常がみられなかった。しかし、その後ウイルスの検出された4本にはいずれも病徴が発現した。その病徴はひだ葉、輪紋あるいは若干のえそなどで、株によって発現の時期、型、程度などに差がみられた。ウイルスの検出されなかった株では病徴がまったく観察されなかった。

Xiphinema sp. 接種株の5本 (株番号7~11) からはウイルスが検出されなかった。また対照とした線虫無接種クワ5株 (株番号15~19) も結果は陰性であった。

実験 2.

L. martini が多数分離される土壌を1970年4月27日に3カ所から採取し、それを1/2000 a ポットに詰め、そこに典型的なひだ葉を現わした罹病クワを移植し、それらの土壌から適宜線虫を分離して、前回と同様な方法で土壌に注入接種した。

本実験では、クワ実生苗1本当たり幼虫および成虫を合わせて10~56頭を接種した。第5表のように *L. martini* によってウイルスの伝搬試験を行ない、そのクワから検定植物に戻し接種してウイルスの有無を調べるまでの日数が株によって区々ではあったが (株1~9では約2~3カ月、株10~22では約5~7カ月)、これらの結果を総計すると *L. martini* によって計22本中6本のクワにクワ輪紋ウイルスが伝搬されたことになる。

またこの実験では、線虫をとり除いた残液を適宜カウピーに汁液接種し、残液によるウイルスの混入がないことを確かめた。すなわち計7回51本のカウピーに汁液接種したが、いずれも病徴を現わさなかった。

この伝搬試験でクワに現われた病徴はいずれも輪紋症状であった。

以上実験1および2の結果、*L. martini* を注入接種することによって計31本のうち10本 (32%) に伝搬が確認されたことになる。

第4表 クワ輪紋ウイルスの *Longidorus martini* および *Xiphinema* sp. による伝搬試験 (I)

株番号	線虫の種類および 接種頭数		接種 年月日	カウピー に対する 戻し接種 ^{a)}
	<i>L. martini</i>	<i>X. sp.</i>		
1	20	..	'69. 7. 7	—
2	20	..	7. 7	—
3	20	..	9. 25	+
4	20	..	9. 25	+
5	20	..	9. 29	+
6	20	..	9. 29	+
7	..	35	9. 30	—
8	..	35	9. 30	—
9	..	20	10. 13	—
10	..	20	10. 13	—
11	..	11	10. 18	—
12	20	..	10. 28	—
13	20	..	10. 28	—
14	20	..	10. 28	—
15~19	..	..	..	—

注 a) 戻し接種年月日

株番号 1~11...1970年6月3日

株番号 12~19...1970年7月7日

第5表 クワ輪紋ウイルスの *Longidorus martini* による伝搬試験 (II)

株番号	接種年月日	接種線虫数			カウビーなどに対する 戻し接種
		幼虫	成虫	計	
1	'70. 5. 11	2	19	21	—
2	5. 11	3	14	17	—
3	5. 12	9	39	48	—
4	5. 18	26	25	51	+
5	5. 19	24	24	48	+
6	5. 21	14	16	30	—
7	5. 26	30	11	41	—
8	5. 26	19	12	31	—
9	6. 24	17	7	24	—
10	5. 11	18	14	32	—
11	5. 12	33	17	50	+
12	5. 13	31	19	50	—
13	5. 14	8	17	25	—
14	5. 23	7	3	10	—
15	6. 5	31	21	52	—
16	6. 8	32	24	56	+
17	6. 25	9	7	16	—
18	6. 26	27	15	42	+
19	6. 27	12	5	17	—
20	6. 27	13	0	13	—
21	6. 29	15	0	15	+
22	6. 29	0	15	15	—
対照 1~3	..	..	..	..	—

注 株番号1~9...1970年8月19日; 10~22...1970年12月11日; 対照1~3...1970年8月20日に戻し接種を行なった。なお1~9, 対照1~3の株はカウビーに, 10~22の株はカウビーと *C. amaranticolor* の両者に戻し接種した。

6. クワ輪紋ウイルスのクワにおける病徴および tomato black ring virus との類縁関係

クワ輪紋ウイルスは土崎ら¹²⁾によってササゲ, ダイズ, インゲン, エンドウ, *N. clelandii* ゴマ(白), *Chenopodium quinoa* などに感染する球状ウイルスであることがわかっている。本実験で *L. martini* により伝搬の認められたウイルスも球状ウイルスでカウビーに寄生性がみられた。そこでクワのひだ葉株・輪紋症状株からカウビー, *C. quinoa* *C. amaranticolor* に感染させた罹病葉を, 等量の 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) で磨砕したものを用い, 寒天ゲル内拡散法で調べた。対照にはそれらの健全葉を同様に磨砕した粗汁液を用いた。クワ輪紋ウイルス抗血清と罹病葉磨砕汁とは陽性の反応が認められた (第3図)。すなわち, 供試ウイルスはクワ輪紋ウイルスと同定された。

第3図 供試ウイルスとクワ輪紋ウイルスの寒天ゲル拡散法による血清反応

MRV: 抗クワ輪紋ウイルス血清

V1, V2: 供試ウイルス (*C. quinoa* 感染葉粗汁液)

C1, C2: *C. quinoa* 健全葉粗汁液

土崎ら¹³⁾はクワに輪紋症状を示すものからクワ輪紋ウイルスを分離し, それをクワに戻し接種して輪紋症状の発現を確認したが, ひだ葉との関連は不明であると述べている。本試験では輪紋症状とともにひだ葉症状株からもクワ輪紋ウイルスが分離され, また土壌伝染試験, *L. martini* による伝搬試験でクワに発現する病徴も輪紋, ひだ葉であり, 時には輪紋からひだ葉に病徴が推移する株もみられた。さらにクワの輪紋, ひだ葉症状のいずれからも電子顕微鏡により球状ウイルスが観察でき, とともに汁液接種でカウビー, *Chenopodium amaranticolor* などに伝染可能なことも, 輪紋, ひだ葉に含まれているウイルスが同一, または近縁なものであることを示しているものと思う。

クワ輪紋ウイルスにより *C. quinoa* が感染することがわかっていたが, さらに *C. amaranticolor*, *C. murale* も感染することが確認された。すなわち *C. amaranticolor* では接種後8~14日目に上葉に chlorotic spot, ときには3~7日後に接種葉に chlorotic local lesion がみられ, *C. murale* では8~15日目に上葉に chlorotic spot, 5~8日目にときには接種葉に necrotic local lesion がみられた。

現在 *Longidorus* 属線虫によって伝搬されるウイルスは, raspberry ring spot virus と tomato black ring virus の2つが知られている。そこで, それらのうち Tom BRV の抗血清 (Dr. B. D. Harrison より岩木満朗氏に譲られたもの) と本クワ輪紋ウイルス汁液とで寒天ゲル内拡散法によって反応を調べたが結果は陰性であった。

IV. 考 察

本実験で扱ったのはクワ・モザイク病のうちひだ葉, 輪紋の病徴を示すものであり, これら両者はともに土

壤伝染し、それは土壌中に生息する *Longidorus martini* により伝搬されることが確認された。その伝搬率は本試験の結果では32%であった。クワ輪紋ウイルスは植物組織内における存在様式から NEPO ウィルス群に入るであろうということはすでに土崎ら¹³⁾ によって推察されていたが、ここに直接証明されたことになる。

線虫の幼虫、成虫別の伝搬試験、一旦保毒した線虫のウイルス保有期間をきめる試験など、このクワ輪紋ウイルスの *Longidorus martini* により伝搬される場合の諸条件については、まだほとんど明らかになっておらず、今後の検討を要する問題として残されている。

クワ輪紋ウイルスが NEPO ウィルス群に属するものであれば、他の NEPO ウィルスのように広い寄主範囲をもつものかも知れない。すでにササゲ、ダイズ、インゲン、エンドウ、*N. clevelandii*、ゴマ(白)、*C. quinoa* が汁液接種によって感染することが明らかになっており、本報告でも *C. amaranticolor*、*C. murale* などに感染することが示されたが、今後の研究によって上記以外の植物で感染するものがみつき、中には実際に圃場において伝染源の役割を果しているものがあるかも知れない。

一方、*Longidorus* の存在、分布についてわが国ではまだほとんど研究がない点から、今後クワ輪紋ウイルス病の発生、分布などと関連して、研究、調査が進められることを切望する。

クワ輪紋ウイルスは、すでに *Longidorus* 属線虫によって媒介することがわかっている tomato black ring virus の抗血清とは反応しないところから、別種のものと思われるが、raspberry ring spot virus (RRSV) との異同については現在不明である。RRSV との異同については今後検討する必要がある。

クワ・モザイク病のうち、輪紋、ひだ葉症状を示すものは、本報告によってともに *L. martini* によって伝搬されることが明らかになり、それらの病徴を示すものからクワ輪紋ウイルスが分離されることから、クワに輪紋、ひだ葉を生ずるものは、クワ輪紋ウイルスによるものと考えられるが、この試験の範囲では輪紋とひだ葉とはまったく同一のウイルスによっておきるものか、多少異なる系統によっておきるかなどの点は明らかになっていない。

さらにクワ・モザイク病と呼んでいる他の糸葉、黄葉については、クワ輪紋ウイルスとの異同、土壌伝染の有無などを中心に検討する必要がある。

V. 摘 要

1) クワ・モザイク病の発生の多い畑の土壌に健全クワ実生苗を植え付けたところ、植付後6~17カ月後に輪紋、ひだ葉の病徴が生じ、本病が土壌伝染することが確認された。これら病株からはカウピーに汁液伝染可能な球状ウイルスが検出された。本ウイルスは最近土崎らが報告したクワ輪紋ウイルスと同じものと考えられた。

2) 病土を7日間風乾すると土壌伝染性が失われた。一方、対照の非乾燥区では土壌伝染がみとめられた。輪紋、ひだ葉を現わすものは、従来からその発生に地域性がみられており、本病の土壌伝染には土壌線虫が関与するものと想定された。そこで発病地土壌から線虫(ドリライムス目3属)が検出されるかどうかを調べた。その結果、*Longidorus* 属線虫の1種が高い頻度で検出されることがわかった。

3) この線虫は農事試験場大島康臣氏によって *Longidorus martini* Merny と同定された。なおわが国では本線虫はクワ以外の作物から検出された例は知られていない。

4) 本線虫によるクワ輪紋ウイルスの伝搬の有無を知るため、病土から分離した線虫を直接健全クワ実生苗の根元に注入接種する試験と *L. martini* の密度の高い土壌に、ひだ葉症状のクワを植付け、その土壌から線虫を分離してクワ実生苗の根元に注入する試験を行った。伝搬の有無は実生クワにおける病徴の有無と線虫を放飼後3~12カ月後にそのクワから検定植物にウイルスの回収試験を行なって判定した。その結果、検定植物によるウイルスの回収試験から、供試31本中10本の実生クワにウイルスの伝搬が認められ、本線虫によってクワ輪紋ウイルスが伝搬されることが明らかになった。病土周辺から分離した *Xiphinema* sp. によるクワ輪紋ウイルスの伝搬試験の結果は陰性であった。

なおわが国でウイルスが *Longidorus* 属線虫によって伝搬されることが確認されたのは本論文が最初である。

5) 土壌伝染および *L. martini* の伝搬試験を行なったクワのうち、伝搬の認められたクワには輪紋、ひだ葉および葉脈えその各病徴を発現し、それらの罹病葉のいずれからもカウピーなどに汁液伝染する球状ウイルスが分離された。このウイルスはカウピー、*Chenopodium amaranticolor* に汁液伝染するほか *C. quinoa* *C. murale* にも汁液接種により感染がみられた。

またクワ輪紋ウイルスの抗血清と寒天ゲル内拡散法で陽性の結果を示した。クワ輪紋ウイルスは現在のところクワに輪紋とともにひだ葉症状も生ずるものと思われる。

なお、本ウイルスは tomato black ring virus とは血清反応が認められなかった。

引用文献

- 1) 秋谷寛藏 (1955). 日蚕関東講要 7: 8-9.
- 2) 青木 清・石家達爾 (1967). 日本植物ウイルス病総覧 (明日山秀文ほか編). 農業技術協会, 東京. pp 311-315.
- 3) Cadman, C. H. (1963). Ann. Rev. Phytopath. 1: 143-172.
- 4) 遠藤保太郎・倉沢恒夫 (1937). 蚕糸学雑誌 9: 115-172.
- 5) 石田恕夫 (1960). 滋賀県農林部蚕糸特産課特別報告 35: 1-79.
- 6) Merny, G. (1966). Nematologica 12: 385-395.
- 7) 岡部光波・金島康典 (1952). 群蚕要報 6: 9-16.
- 8) 岡部光波 (1954). 群蚕報告 30: 20-27.
- 9) 岡部光波 (1959). 同上 33: 17-30.
- 10) 岡部光波 (1960). 農及園 35: 1484-1486.
- 11) 岡部光波 (1961). 日蚕雑 30: 235.
- 12) 土崎常男・斎藤康夫 (1969). 日植病報 35: 359.
- 13) 土崎常男・日比野啓行・斎藤康夫 (1970). 同上 36: 373.
- 14) 八木田秀幸・小室康雄 (1970). 同上 36: 371.
- 15) 八木田秀幸・小室康雄 (1971). 同上 37: 199.
- 16) 柳沢新一 (1951). 埼玉蚕試研究要報 22: 1-6.
- 17) 矢藤修司・鈴木 銈 (1952). 豊川蚕報 2: 1-9.