グラジオラスから分離された4種のウイルス*

福本文良**・伊藤善文***・栃原比呂志**

Fumiyoshi FUKUMOTO**, Yoshifumi ITO*** and Hiroshi TOCHIHARA**:
Viruses Isolated from Gladiolus in Japan*

Abstract

In 1975, four viruses, bean yellow mosaic virus, cucumber mosaic virus, tobacco mosaic virus and tobacco ringspot virus were isolated from field-grown gladiolus plants or gladiolus bulbs sold in the market, in Japan. Bean yellow mosaic virus was the most prevalent virus, and the other viruses were isolated in the low frequency. Tobacco ringspot virus was isolated for the first time from plants in Japan.

Key Word: Tobacco ringspot virus.

グラジオラスに発生している病原ウイルスとして、外国ではインゲン黄斑モザイクウイルス (BYMV), キュウリモザイクウイルス (CMV), タバコ輪点ウイルス (TobRSV), トマト輪点ウイルス (TomRSV), トマト黄化えそウイルス, タバコ茎えそウイルス, タバコモザイクウイルス (TMV)¹⁻⁹⁾等が知られている。しかし、わが国では1品種から BYMV と CMV を分離した報告があるにすぎない¹⁰⁾。本報告はわが国のグラジオラスに発生している病原ウイルスの種類を明らかにしたものである。

供試グラジオラスは、1975年茨城県で採集した8品種20株および同年種苗会社3社から購入した13品種52株(産地は茨城県、千葉県、一部は不詳)である。グラジオラス原株の病徴は主としてモザイク、退緑条斑、白斑症状で、葉および花芽の奇型も認められた。ヘクター、ブルーラブ、トラベラ等の品種では花弁

にかすり状の斑入りが認められた。汁液接種は新葉に0.02% KCN を添加した50mM リン酸緩衝液 (P.B.) pH 7.0 を20~30倍量加えて磨砕し、カーボランダムを用いる常法によって行った。ウイルス粒子の電顕観察は1~2% PTA (pH 6.5) で逆染色して行った。

BYMV: 数種植物に汁液接種した結果、*Chenopodium amaranticolor* の接種葉に退緑~えそ斑を生じ、インゲン(マスターピース)とソラマメに全身感染するが、キュウリ(落合系)とタバコ(Bright Yellow)に感染しないウイルスが分離された。本ウイルスは長さ約750nmのひも状粒子で、モモアカアブラムシによりソラマメからソラマメへ伝染し、その伝染は非連続型であった。沈降反応混合法による血清試験では、罹病ソラマメ葉汁の遠心上清液はBYMV¹¹⁾抗血清と反応し、健全ソラマメを抗原とした場合には反応は認められなかった。これらのことから本ウイルスを

* 本報告の概要は日本植物病理学会51年度大会で発表した。

** 植物ウイルス研究所 Institute for Plant Virus Research, Tsukuba Science City, Yatabe, Ibaraki 305, Japan

*** 静岡県中部病害虫防除所 Shizuoka Prefectural Chubu Plant Disease and Insect Control Station, Sunpu-cho Shizuoka City, Shizuoka 420, Japan

1) Berkeley, G. H. (1951). *Phytopathology* 41: 3-4. 2) Berkeley, G. H. (1953). *Ibid.* 43: 112-115. 3) Beute, M. K., Milholland, R. D. and Gooding, G. V. (1970). *Plant Dis. Repr.* 54: 125-127. 4) Bridgmon, G. H. and Walker, J. C. (1952). *Phytopathology* 42: 65-70. 5) Brierley, P. (1952). *Plant Dis. Repr.* 36: 48-50. 6) Cremer, M. C. and Schenk, P. K. (1967). *Neth. J. Pl. Path.* 73: 33-48. 7) Fry, P. R. (1953). *N. Z. J. Sci. Tech. Sect. A.* 34: 460-464. 8) Lee, T. C., Francki, R. I. B. and Hatt, T. (1979). *Plant Dis. Repr.* 63: 345-348. 9) Zetter, F. W. and Abo El-Nil, M. M. (1977). *Ibid.* 61: 243-247. 10) 高橋 実・大石親男・井上有正・反町 徳 (1965). *日植病報* 30: 301-302. 11) 小室康雄・栃原比呂志 (1964). *日植病報* 29: 80.

BYMV と同定した。BYMV 2 分離株を実生グラジオラスに戻し接種したところ接種 2 週間後からモザイク症状が現われ(第 1 図)、これらの株からウイルスが回収された。掘り上げた球根を翌年植えつけた場合、発芽時から全株(22株)にモザイクないし退緑条斑が認められた。紫および桃色の花には斑入りが認められ、花卉からもウイルスが回収された。

C. amaranticolor に局部病斑を生じ、ソラマメとインゲンに全身感染し、そしてキュウリとタバコに感染しないウイルスは、供試 72 株全株から分離された。そのうち 24 株を dip 法で電顕観察したが、すべてに長さ約 750nm のひも状粒子が認められた。これらソラマメに全身感染するウイルスは以上の結果からすべて BYMV であろうと推察された。

CMV: ササゲの接種葉に接種 1～2 日後えそ斑点を、*C. amaranticolor* の接種葉に BYMV によるよりも小型の病斑を生じ、タバコ(Bright Yellow)、*Nicotiana glutinosa* およびキュウリ(落合系)にモザイクを生ずるウイルスが分離された。本ウイルスを純化し CMV-Y (黄斑系、1967 年桐山氏から分譲) 抗血清¹²⁾を用いて寒天ゲル内拡散法による血清試験を行った。その結果、1 本の沈降帯を形成し、グラジオラスの分離株と CMV-Y との間に spur は認められなかった。これらのことから本ウイルスを CMV と同定した。グラジオラスからの 1 分離株、ダイコンから分離した CMV および CMV-Y を実生グラジオラスに接種した。接種源は並行してササゲの初生葉に接種し多数の局部病斑が全面に生ずる濃度であることを確認した。その結果、グラジオラスとダイコンからの CMV はいずれも接種 16 株中 3 株から回収されたが、CMV-Y を接種した 25 株は病徴を示さずウイルスも回収されなかった。感染株は生育が悪く、葉鞘にえそ症状、本葉には黄色条斑、輪紋およびモザイク等が認められた。ダイコンからの CMV を接種した 1 株のみ開花し、桃色花に斑入りが認められた(第 2 図)。

寄生性から CMV と推察されるウイルスは供試 72 株中 5 株から分離された。

TMV: タバコ(Bright Yellow)とペチュニアにモザイク、*C. amaranticolor* と *N. glutinosa* に局部病斑を生じ、ササゲ、インゲンおよびキュウリに感染しないウイルスが分離された。Dip 法による電顕観察でタバコのモザイク葉には約 300×15nm の桿状粒子が多数認められた。TMV-OM (普通系)と TMV-T 抗

血清を用いた寒天ゲル内拡散法による血清試験では、いずれの抗血清に対しても純化した本ウイルスは TMV-OM と 1 本の融合した沈降帯を生じ、TMV-T¹³⁾との間には spur を生じた。以上の結果から本ウイルスを TMV と同定した。実生グラジオラス 15 株に本ウイルスを汁液接種したところ、接種 62 日後にはウイルスは回収されなかったが、接種 74 日および 91 日後には葉と根のいずれからもウイルスが低濃度で回収された。しかし、接種した 15 株の新葉と花卉には病徴は認められなかった。寄生性と電顕観察から TMV と推察されるウイルスは 5 株から分離された。

TobRSV: ササゲの接種葉に大型のえそ斑を生じ、上葉に退緑斑を伴ったえそを生ずるウイルスが 1 株(茨城県笠間市で採集)から分離された。この分離株を 6 科 21 種の植物に汁液接種したところ、6 科 18 種の植物に全身感染が認められた。これらの植物は、キュウリ、ササゲ(黒種三尺)、ダイズ(奥羽 13 号、農林 2 号、刈羽 28 号、Harosoy)、タバコ(Xanthi nc, Ky 57, Bright Yellow)、*N. glutinosa*、*N. debneyi*、*N. rustica*、*N. clelandii*、*Datura stramonium*、*C. amaranticolor*、*C. quinoa*、ツルナ、インゲン(山城黒三度)、ペチュニア、カボチャ(黒皮甘栗、富津黒皮)、メロン(農林交配 1 号)、シロウリ(東京早生)、センニチコウであった(第 3～6 図)。感染の認められなかった植物は、ソラマメ(早生)、トマト(福寿 2 号、ポンテローザ)、ピーマン(栄光、瑞光)であった。

タバコ(Ky 57)とキュウリの発病葉を用いてウイルスの純化を、有機溶媒(クロロホルム、ブタノール)処理、分画遠心、蔗糖密度勾配遠心で行った。10～40%蔗糖密度勾配遠心(日立 RPS25 ローター、59,000×g、3 時間)では、3 本の乳白色のバンドが認められた。それら 3 本のバンド部分を遠心で濃縮し、10mM K-P.B. pH 7.0 に溶解したものを純化ウイルスとした。キュウリを純化材料とした場合褐色の物質が残ったが、これはタバコの場合認められなかった。ウイルスの収量は病植物 100g 当り約 6mg であった。純化ウイルスを PTA で染色し電顕観察したところ径約 25～30nm の球状粒子が認められ、中空粒子も混在した(第 7 図)。抗血清はウイルスを 3 頭の家兎に静脈 1 回、アジュバントを用いた筋肉注射 3 回、1 頭当り 33 mg を注射して作成した。得られた抗血清は沈降反応混合法で罹病キュウリ葉汁の遠心上清液と約 2,000 倍まで、寒天ゲル内拡散法では約 250 倍まで反応帯が認

12) 栃原比呂志(1970). 日植病報 36: 1-10. 13) 栃原比呂志・小室康雄(1974). 日植病報 40: 52-58.

められた。本ウイルスは寒天ゲル内拡散法で高橋らの TobRSV 抗血清(高橋幸吉・桐山清が J. M. Dunleavy から分譲されたウイルスで作成)と明瞭な沈降帯を形成するが(第8図), arabis mosaic virus, tomato black ring virus, TomRSV の抗血清とは反応しなかった。Xiphinema americanum の生息する土壤に実生グラジオラス球根と本ウイルスによって発病したベチュニアとを植え付け土壤伝搬試験を行った。約1カ月後に4鉢(1鉢にグラジオラス2~3株植え付けた)中3鉢のグラジオラスの根からウイルスが回収され、そのうち1株は葉からもウイルスが回収された。しかし、グラジオラスに病徴は認められなかった。

これらの結果から本ウイルスを TobRSV と同定した。

グラジオラスへの戻し接種は '76 と '77 年に本ウイルスを各々27株の実生グラジオラスに汁液接種し個体検定を行ったが、ウイルスの回収はできなかった。'78年には葉および根の接種区を設け、各々7株と9株の実生グラジオラスに接種した。検定はいずれの区も2つの集団にわけて行った。その結果、葉に接種した区は約1.5カ月後に1集団の接種葉と新葉のいずれからも本ウイルスが回収された。根に接種した区は、接種した根ではなく伸長した新根から2集団ともにウイルスが回収されたが、葉の部分からはウイルスを回収できなかった。

以上の如くわが国のグラジオラスから、すでに分離

された BYMV と CMV のほか、本研究で TMV と TobRSV が分離された。これらの中で最も重要な病原ウイルスは、グラジオラスに激しい病徴を現わし、広く分布していることが示唆される BYMV であろう。従来 BYMV は花卉に斑入りを起こさせるとされている^{3,4)} が戻し接種で確認されていなかった。本実験で実生グラジオラスの紫と桃色の花に斑入りを再現することができた。CMV は外国では高率に感染している例が報告されているが³⁾ 今回の調査では低率にしか検出できず、戻し接種でも低率にしか発病させることができなかった。TMV と TobRSV は感染率も低く低濃度であり、病徴も現わさないことからグラジオラスには被害はないものと考えられる。しかし、TobRSV は寄主範囲が広く、国によっては、タバコ、キュウリ、ダイズ等に大きな被害を与えており¹⁴⁾、媒介者の *X. americanum* もわが国に生息していることから注意すべきウイルスと考えられる。TobRSV の発生がわが国で確認されたのは初めてである。

本研究を行うにあたり、病株採集に御援助いただいた茨城県園芸試験場米山伸吾氏、TobRSV 抗血清を御分譲下さった専売公社中央研究所桐山清氏、線虫伝搬試験の御指導をいただいた当研究所岩木満朗氏および本報告の御校閲をいただいた当研究所齊藤康夫部長の諸氏に深謝の意を表する。

(昭和56年6月26日受理)

図版説明

1. グラジオラスの病徴。左から健全葉, BYMV 感染葉, CMV 感染葉, CMV (ダイコンからの分離株) 感染葉。
2. CMV (ダイコンからの分離株) によるグラジオラスの花の斑入り。
3. TobRSV によるササゲ(黒種三尺)の病徴。左: 接種葉, 右2葉: 上葉。
- 4~6. TobRSV による全身病徴。4: ダイズ(農林2号), 5: タバコ(Xanthi nc), 6: キュウリ(はつかり)。
7. TobRSV (約90,000倍)。
8. 寒天ゲル内拡散法による血清反応試験。左: 高橋らの TobRSV 抗血清, 右: 本報で分離した TobRSV。