インパチエンスネクロティックスポットウイルス (INSV) による リンドウえそ斑紋病 (新称)

猫塚 修一^{1*}・浜田 博幸²・勝部 和則^{1,3}

ABSTRACT

NEKODUKA, S.^{1*}, HAMADA, H.² and KATSUBE, K.^{1,3} (2005). Necrotic mottle disease of gentian caused by *Impatiens necrotic spot virus* (INSV). Jpn. J. Phytopathol. 71: 183-184.

In April 2004, dwarf gentian (*Gentiana* sp.) with chlorotic mottle and necrotic spot was found in Iwate Prefecture, Japan. The isolated virus infected six plant species of four families after mechanical inoculation. This is the first report of *Impatiens necrotic spot virus* (INSV) on gentian and we propose the name necrotic mottle disease of gentian.

(Received February 14, 2005; Accepted April 27, 2005)

Key words: gentian, necrotic mottle disease, *Impatiens necrotic spot virus*.

リンドウ (*Gentiana* spp.) は、花卉が主に青紫色を呈するリンドウ科の多年生草本である。岩手県では切り花用として露地栽培されているが、近年栄養繁殖性のわい性鉢物の生産も増加している。2004年4月、岩手県北上市のハウスで鉢物わい性リンドウ品種‘あおこりん’と‘ももこりん’にえそを伴うウイルスによると思われる病害が発生した。このリンドウから分離されたウイルスの諸性質を検討した結果、本病害がインパチエンスネクロティックスポットウイルス (*Impatiens necrotic spot virus*, INSV) によることが明らかになったので報告する。

罹病株の病徴 病徴は、はじめ葉に退緑斑紋を生じ、後にえそ斑紋を形成した。発病は下位葉から発生し、草丈の伸長とともに上位葉へと進展した。症状は茎立ちした数本の茎葉に現れ、株全体で発病することは稀であった。また、発病茎の伸長は著しく抑制された (Fig. 1A, B)。

病原ウイルスの検索 罹病株の病勢進展の特徴から *Tospovirus* が病原ウイルスであると考えられたので、遺伝子工学的に検索する目的で罹病株と外観健全株の葉から全 RNA を RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen 製) を用いて抽出した。抽出した全 RNA を鋳型として、トマト黄化えそウイ

ルス (TSWV) と INSV を検出することが可能な degenerate primer (Weekes *et al.*, 1996) を generate に改良した 2 種類の primer、即ち TospoUF (5'-TGTAGTGGTCCATTGCA-3') と TospoUR (5'-AGAGCAATCGTGTCA-3')、および RNA PCR Kit (Takara 製) を用いて RT-PCR を行い、nucleocapsid protein 遺伝子の一部を含む領域を増幅した。その結果、罹病株のサンプルから約 870 塩基対の目的とする cDNA の増幅が認められた。得られた cDNA を pSTBlue-1 Vector (Novagen 製) にクローニング後、塩基配列を決定したところ、既報の INSV NL-07 (de Haan *et al.*, 1992) と塩基配列で 98.2%、推定アミノ酸配列で 100% の相同性が認められた (Accession No. AB207803)。また、罹病株について他のウイルス感染の有無を明らかにするため、罹病葉の粗汁液を抗原とし、リンドウの既知の病原ウイルスであるキュウリモザイクウイルス (CMV)、ソラマメウイルトウイルス (BBWV-2)、クローバ葉脈黄化ウイルス (CIYVV)、および TSWV と INSV に対する抗血清 (日本植物防疫協会製) を用いた DAS-ELISA に供試した。その結果、CMV、BBWV-2、CIYVV および TSWV の抗血清とは反応せず、INSV のみ陽性反応を示した (データ省略)。

¹ 岩手県農業研究センター (〒024-0003 岩手県北上市成田20-1) Iwate Agricultural Research Center, Narita, Kitakami, Iwate 024-0003, Japan

² 岩手県生物工学研究センター (〒024-0003 岩手県北上市成田22-174-4) Iwate Biotechnology Research Center, Narita, Kitakami, Iwate 024-0003, Japan

³ 現在: 岩手県生物工学研究センター

* Corresponding author (E-mail: s-nekoduka@pref.iwate.jp)

Fig. 1. A, B: Natural symptoms of chlorotic mottle and necrotic spot on gentian. C: Necrotic spots on the leaves of gentian 10 days after inoculation.

ウイルスの単離と接種植物の反応 リンドウ罹病株のえそ斑紋症状を呈した葉の粗汁液をペチュニアに接種し、接種葉の局部病斑から単一病斑分離を2回行い、*Nicotiana benthamiana* で増殖させ分離株 Gii0404 を得た。この分離株を DAS-ELISA に供試したところ、INSV が検出された。Gii0404 を *N. benthamiana* で増幅させた後、この感染葉を5倍量 (W/V) の 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.0, 0.2% 亜硫酸ナトリウム加用) で磨碎し、カーボランダム法によりリンドウ品種 ‘あおこりん’ に接種後、温室内 (18~25°C) で約1ヶ月にわたり病徴を観察した。その結果、接種7日後に接種葉にえそ斑紋を生じたが、全身感染は認められなかった (Fig. 1C)。また、この罹病葉をペチュニアに接種し、得られた分離株を DAS-ELISA に供試したところ、INSV が検出された。なお、Gii0404 を接種したリンドウの全身感染については、翌年以降の茎立ちした茎葉への発病を含め、引き続き検討する必要がある。本分離株についてリンドウを除く4科7種の検定植物の反応を検討した結果、*N. benthamiana* とインパチエンスでは全身感染し、*N. rustica*, ペチュニア, センニチコウでは局部感染であった (Table 1)。これら検定植物の反応は、本邦に発生した既報の INSV の所見 (藤・山本, 2000; 谷名ら, 2001) とほぼ一致した。

病名 以上のことから、リンドウに発生したえそ斑紋症状は INSV の感染によることが明らかになった。リンドウでは INSV をはじめ、*Tospovirus* による病害発生に関する報告は国内外に見当たらない。したがって、本病をリンドウ

Table 1. Host range and symptomatology of the virus isolated from gentian

Plant species	Symptoms ^{a)}
<i>Gentiana</i> sp. (cv. Aokorin)	NS/- ^{b)}
<i>Gomphrena globosa</i>	CS/-
<i>Impatiens sultani</i>	NS/NS
<i>Nicotiana benthamiana</i>	NS/NS, N
<i>N. rustica</i>	CS, NS/-
<i>Petunia</i> × <i>hybrida</i>	NS/-
<i>Phaseolus vulgaris</i>	-/-
<i>Vigna unguiculata</i>	-/-

a) CS, chlorotic spot; NS, necrotic spot; N, necrosis; -, no symptom.

b) Inoculated/upper leaves

ウえそ斑紋病 (Necrotic Mottle Disease of Gentian) と呼称することを提案する。

引用文献

- de Haan, P., de Avila, C., Kormelink, R., Westerbroek, A., Gielen, J. J. L., Peters, D. and Goldbach, R. (1992). The nucleotide sequence of the S RNA of *Impatiens* necrotic spot virus, a novel tospovirus. FEBS Letters 306: 27-32.
- 藤 晋一・山本英樹 (2000). 秋田県における *Impatiens necrotic spot virus* (INSV) の発生. 北日本病虫研報 51: 122-125.
- 谷名光治・井上幸次・伊達寛敬・奥田 充・花田 薫・那須英夫・粕山新二 (2001). インパチエンスネクロティックスポットウイルスによるシネラリアえそ斑紋病. 日植病報 67: 42-45.
- Weekes, R. J., Mumford, R. A., Barker, I. and Wood, K. R. (1996). Diagnosis of tospoviruses by reverse-transcription polymerase chain reaction. Acta Horticulturae 431: 159-166.