

わが国における Potato mop top virus の発生とその2, 3の性質

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	井本, 征史 岩木, 満朗 栃原, 比呂志 中村, 啓二 花田, 薫
発行元	日本植物病理學會
巻/号	52巻5号
巻号補足	
掲載ページ	p. 752-757
発行年月	1986年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



わが国における Potato mop top virus の発生とその 2, 3 の性質

井本征史*・岩木満朗**・栃原比呂志***・中村啓二*・花田 薫***

Masashi IMOTO*, Mitsuro IWAKI**, Hiroshi TOCHIHARA***, Keiji NAKAMURA*

and Kaoru HANADA***: The Occurrence of Potato Mop Top

Virus in Japan and Its Some Properties

Abstract

Brown rings on the tuber surface and internal brown arc symptoms were observed on potatoes harvested in November-December of 1980 in Hiroshima Prefecture. A virus isolated from these tubers was identified as potato mop top virus (PMTV) based on host range, symptoms induced, soil-transmissibility, particle morphology, stability in crude sap and serological relationships. PMTV-infected potato "Norin No. 1" grown at a temperature of 15 C showed yellowing or necrosis beside the leaf veins and also necrosis in netted veins. Infected tubers exhibited brown ring symptoms after twice treatments of the storage for 15 days at 18 C and 10 days at 9 C, respectively. The virus infected mechanically 13 plant species in three families (Chenopodiaceae, Aizoaceae and Solanaceae) among 45 species in 11 families. Diagnostic symptoms were produced on inoculated leaves of *Chenopodium amaranticolor* and *Nicotiana debneyi*. Soil transmission of the virus was confirmed by two different methods as follows. Potato plants "Norin No. 1" and *N. debneyi* grown in the soil from the fields infested with PMTV showed characteristic symptoms. *N. debneyi* plants were also infected through soil when planted in soil where powdery scab-infected plants to which PMTV had been mechanically inoculated were grown. Thermal inactivation point, dilution end point and longevity *in vitro* of the virus ranged between 65 and 70 C for 10 min, 10^{-2} and 2×10^{-3} , and 5 and 7 days at 20 C, respectively. The particles were rod-shaped about 20 nm in width and exhibited two peaks of 140-150 and 270-300 nm in length. Antiserum obtained from rabbit immunized with the injections of the partially purified virus showed a titer of 1,024 in immuno-electron microscopy tests. The virus also reacted positively with antiserum against PMTV from England.

(Received May 16, 1986)

Key words: potato mop top virus, serology, *Solanum tuberosum*.

緒 言

1980年広島県竹原市で11~12月掘取りのジャガイモ(農林1号)の塊茎に収穫後褐色輪紋を生ずるものが発見され、調査の結果かなり広く発生していることが明らかとなり、大きな問題となった。

わが国のジャガイモにはジャガイモXウイルス、ジャガイモ葉巻ウイルスなど9種ウイルスの発生が知られている^{1,2,7-12)}。これらのウイルスは多くの場合葉に病徴を生ずるが、塊茎には普通病徴を生じない。

上記病徴の原因を明らかにするため、この塊茎からの新葉を用いて数種植物に対する接種試験、電顕観察などを行ったところ、potato mop top virus (PMTV)

* 広島県農業試験場 Hiroshima Agricultural Experimental Station, Hachihonmatsu, Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-01, Japan

** 農業環境技術研究所 National Institute of Agro-Environmental Sciences, Yatabe, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan

*** 農業研究センター National Agriculture Research Center, Yatabe, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan

による病害であると考えられる結果が得られた。

本稿はわが国に発生した PMTV の性状に関する試験結果をとりまとめたものである。

本研究を行うにあたり、孺恋馬鈴薯原々種農場堀尾英弘博士にはウイルスフリージャガイモや粉状そうか病罹病塊茎を分譲していただいた。また、Dr. R. T. Plumb (Rothamsted Experimental Station, England) には PMTV の抗血清を分譲していただいた。ここに記して深謝の意を表する。

実験材料および方法

ウイルス 1980年広島県竹原市で採集した褐色輪紋症状を生じているジャガイモ（農林1号）の塊茎を殺菌土に植付け、萌芽した新葉を接種源として *Nicotiana debneyi* に汁液接種し、増殖したウイルスを寄生性試験の一部に供した。その他の各種試験には病土に植付け、発病した *N. debneyi* からのウイルスを供した。

病塊茎や接種した植物はすべて15Cに設定した屋外のグロースキャビネットに入れた。ただし、好天日の日中の室内は下部14~16C、上部17~21Cであった。汁液接種の際には接種源の磨砕用緩衝液として0.2%亜硫酸ソーダ加用0.05Mリン酸緩衝液(PB)(pH 7.0)を用いた。汁液接種はカーボランダム(800メッシュ)を用いる常法によった。

寄主範囲 接種源に *N. debneyi* の接種葉を用い、11科45種の植物に汁液接種した。無病徴の植物については接種約10日後に接種葉の磨砕汁液を *Chenopodium amaranticolor* に戻し接種して、感染の有無を調べた。また、上葉については約3~4週間後にその磨砕汁液を *C. amaranticolor* に戻し接種して、感染の有無を調べた。各植物については少なくとも2回試験した。

土壌伝染 本病の発生した圃場の土壌を採取し、20日間風乾した後ジャガイモや *N. debneyi* を植付け、病徴を観察した。また、PMTV に感染していない粉状そうか病罹病ジャガイモ（農林1号、男爵薯）を30cm鉢の殺菌土に植え込み、地上部に本ウイルスを汁液接種した。そして、このジャガイモを掘取った土壌で、本ウイルスが土壌伝染するか否かを調べた。

粗汁液中の安定性 不活化温度、希釈限度および保存限度について調べた。*N. debneyi* の接種葉8gを40mlの0.5%亜硫酸ソーダ加用0.05M PBとともに磨砕し、ガーゼでろ過した粗汁液を用い、希釈限度の試験ではこれを5倍液とした。検定植物としては

C. amaranticolor を用いた。

ウイルス粒子の形態 *N. debneyi* の病葉からのダイレクトネガティブ染色法(DN法)試料および部分純化標品のネガティブ染色法試料について電顕観察した。両方法ともウイルス液をコロジオンメッシュにのせ、乾燥した後2%リンタングステン酸(pH 6.5)を用いて染色を行った。

ウイルスの純化 接種2~3週間後の *N. debneyi* の接種葉を採取し、-70Cで凍結した後材料として用いた。磨砕用緩衝液として0.5%亜硫酸ソーダ加用0.1M PB(pH 7.0)を用いた。病葉100gに磨砕用緩衝液300mlと四塩化炭素300mlを加え、磨砕し、6,000×g 15分間遠心分離後、水層を採取した。水層に1% Triton X-100を加えて混合し、80,000×g 150分間遠心分離して得られた沈殿を純水に懸濁させた。さらに分画遠心分離(4,000×g 10分間, 120,000×g 120分間)し、その沈殿を純水に懸濁し、4,000×g 10分間遠心分離して得られた上清を10~40%蔗糖密度勾配にのせ、日立RPS 25ローターで70,000×g 150分間遠心分離した。ウイルスを含むバンドを注射器で取り出し、100,000×g 120分間遠心分離して部分純化標品を得た。

血清試験 部分純化標品を等量の Freund's complete adjuvant で乳化させ、3週間間隔で4回家兎に筋肉注射し、最終注射後4週間目に全採血し、常法により抗血清を得た。

得られた抗血清の力価とイギリスに発生している PMTV との血清学的類縁関係は免疫電顕法により調べた。イギリス産 PMTV の抗血清は Dr. Plumb (Rothamsted Experimental Station, England) より分譲を受けた。

実験結果

ジャガイモにおける病徴と発生状況

畑においては地上部、地下部ともに明瞭な病徴が見られなかったが、収穫後貯蔵中の塊茎の表面に褐色の輪紋を生じた(Plate I A)。罹病塊茎は褐色部分がやや盛り上った感じであったが、とくに奇形は見られなかった。この塊茎を切断したところ、褐色輪紋部から内部に円弧状の褐変が見られた(Plate I B)。

発病土壌にウイルスフリーのジャガイモ（農林1号）を植付け、15Cに保ったところ、葉脈に沿って両側に黄化あるいはえそを生じ、小葉脈にもえそを生じた(Plate I C)。時には下葉にアザミ葉状えそや退緑

斑紋が見られた。これらの株の塊茎は収穫直後には何ら病徴が見られなかったが、18℃15日間と9℃10日間の変温処理を2回繰返し行ったところ、褐色輪紋を生じ、内部にも円弧状の褐変が見られた。

寄主範囲と病徴

本ウイルスを11科45種の植物に汁液接種したところ、3科13種に感染が認められた。すなわち、アカザ科：*C. amaranticolor*、ハウレンソウ、フダンソウ；ツルナ科：ツルナ；ナス科：*Datura stramonium*、トマト、タバコ（5品種）、*Nicotiana clelandii*、*N. debneyi*、*N. glutinosa*、ホウズキ、*Physalis floridana*、ジャガイモであった。

C. amaranticolor では接種5～10日後に接種葉に退緑～えそ性の斑点または輪点を生じた後、その周りにえそ輪紋を幾重にも生じた（Plate I D）。全身感染は見られなかった。

N. debneyi では接種5～10日後に接種葉にえそ斑点を生じ、その後その斑点を中心にえそ輪紋を生じた（Plate I E）。さらにその後上葉に葉脈に沿って明瞭なアザミ葉状のえそ斑紋を生じた。

N. glutinosa では時に接種葉にえそ斑またはアザミ葉状えそを生じた。

タバコでは5品種（Bright Yellow, Samsun, Samsun NN, Xanthi, Xanthi nc）を供試したが、Bright Yellow と Xanthi nc の接種葉にえそ斑またはアザミ葉状えそを生じた以外は無病徴で全身感染した。

ジャガイモ（農林1号）では時に接種葉にえそ斑点を生ずることもあったが、上葉に土壤伝染によって生じた病徴と同じような症状が見られた。

その他の感染植物では接種葉に無病徴で感染し、*N. clelandii* と *P. floridana* では無病徴で全身感染した。

接種源としては病土に植付けて発病した *N. debneyi* のほか、褐色輪紋を生じているジャガイモ塊茎から萌芽した病葉も用いたが、寄生性と病徴に差異は認められなかった。

感染の認められなかった植物は以下のものであった。ビート、センニチコウ、カブ、ダイコン、インゲンマメ、エンドウ、ソラマメ、シロクロバ、アカクロバ、ルーサン、レンゲ、ササゲ、ハタササゲ、ピーマン、シシトウ、ナス、ペチュニア、キュウリ、セイヨウカボチャ、ニホンカボチャ、ユウガオ、ゴマ、アスター、チシャ、ハクニチソウ、ナデシコ、セキチク、オオムギ（六条皮ムギ、六条裸ムギ、二条皮ムギ）、コムギ、モロコシ、トウモロコシ、イネ。

土壤伝染

20日間日蔭で風乾した病土にジャガイモ（農林1号）のウイルスフリー塊茎と *N. debneyi* を植付け、15℃のグロースキャビネットに置いた。ジャガイモでは植付け後30日頃からジャガイモにおける病徴の項で記したような病徴を生じ、掘取り後塊茎に褐色輪紋を生じた。

N. debneyi は植付け後20日頃から葉脈に沿って明瞭なアザミ葉状のえそを生じた（Plate I F）。

また、これらの土壤に植付けたトマトの根を検鏡したところ、粉状そうか病菌（*Spongospora subterranea*）の存在が確認された。

次に、粉状そうか病罹病塊茎を殺菌土に植付け、その地上部に本ウイルスを汁液接種した。50日後にジャガイモを抜き取り、10メッシュの篩で大半の細根を除去した。その土壤に *N. debneyi* を20株植付けたところ、9株が発病した。対照として粉状そうか病無発病塊茎を用いたが、植付けた *N. debneyi* は発病しなかった。

粉状そうか病罹病塊茎を植付けた鉢では新塊茎にも発病が見られたが、これらの塊茎と根からの遊走子による伝搬の試みは成功しなかった。

粗汁液中の安定性

本ウイルスの不活化温度は65～70℃（10分間）、希釈限度は100～500倍、保存限度は20℃で5～7日であった。

ウイルス粒子の形態

N. debneyi の病葉を用いて DN 法により電顕観察したところ、幅約 20 nm で、長さが 140～150 と 270～300 nm にピークのある粒子が観察された（Fig. 1）。そして、粒子の一端の外被タンパクがゆるみ、崩壊しかけたような形の粒子も見られた。

ウイルスの部分純化

本ウイルスの部分純化において、蔗糖密度勾配遠心分離後、メニスカスから下 1/3～1/2 の位置にやや幅の広いバンドが見られた。この部分を取り、遠心分離して部分純化標品とした。これをリタングステン酸によるネガティブ染色法により電顕観察したところ、前述同様のウイルス粒子が観察された（Plate I G）

血清試験

部分純化ウイルス標品を家兎に注射して得られた抗血清は免疫電顕法で本ウイルスを凝集することが認められ、その力価は1,024倍であった（Plate I H）。ただし、本抗血清は健全葉汁液とも反応することが認められたため、健全 *N. debneyi* 葉成分で吸収後使用した。

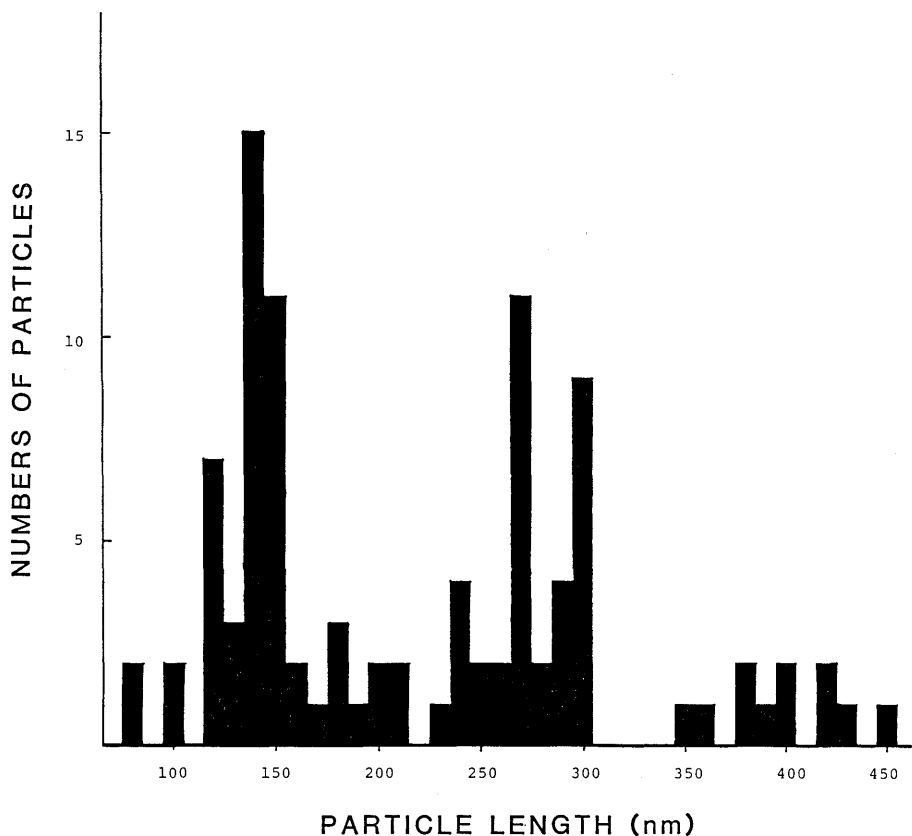


Fig. 1. Length distribution of PMTV particles in dip preparations.

また、本ウイルスはイギリスに発生している PMTV の抗血清（沈降反応混合法での力価：512）によっても同様に凝集することが免疫電顕法で認められ、その反応希釈限界は1,024倍であった。

考 察

PMTV はこれまで西ヨーロッパとペルーで発生していることが明らかにされているが、これらの地方のジャガイモの栽培時期は冷涼である^{3,6)}。本病の発生条件としては冷涼で多湿の年に多発し、5～15℃で地上部の病徴がよく発現するとされている。また、塊茎の褐色輪紋症状は生育後期または掘取り後、13℃前後の期間が長く続くと発現し、さらに18℃と5～13℃の変温があると一層明瞭になることが明らかにされている⁵⁾。

わが国では11～12月掘取りのものに塊茎褐色輪紋症状が発現したが、わが国での主なジャガイモの栽培時期は春から夏であり、通常は生育期間中に15℃以下の

気温が長く続くことは少ないと思われる。また、この作型では収穫前後に13℃以下の低温に長期間合うことも少ないと考えられるため、あまり問題にはならないと思われる。しかし、秋作の場合は生育期間中に低温に合うことはないものの、収穫前後に低温に合うことは十分ありうる。広島では貯蔵中の塊茎で褐色輪紋症状が発生し、農家によっては発病塊茎率50%以上のところも認められたので、多発する可能性があり、注意する必要がある。

今まで本病の発生した圃場は水田土壌が多く、畑土壌は少ない。これは土壌水分が媒介菌の感染に大きく影響しているためと考えられる。本研究において粉状そうか病菌による本ウイルスの伝搬には成功していないが、粉状そうか病罹病株に PMTV を汁液接種することで、その生育土壌が病土になることが明らかになり、また、発病地土壌にトマトなどを植付け、本菌の存在が確認された。畑土壌でも降雨量によっては粉状そうか病の発生も多くなると言われており、PMTV が発生する可能性はあると考えられる。

PMTV には病徴の異なる幾つかの分離株 (type strain, Maray B isolate, Angus B isolate など) が報告されており, type strain はタバコ類に病原性の強いことが知られている⁴⁾。本ウイルスはタバコ (*Xanthi nc*) や *Datura stramonium* などにおける病徴から, type strain とは異なり, Maray B や Angus B isolate に近いものと判断された。

摘 要

広島県下の秋作ジャガイモ (農林1号) に生じた塊茎の褐色輪紋症状はウイルスに起因することが証明され, その病原ウイルスは 寄主範囲, 病徴, 土壤伝染性, 粒子の形態, 粗汁液中の安定性, 血清学的類縁関係などから, potato mop top virus (PMTV) と同定された。本病をジャガイモ塊茎褐色輪紋病と呼ぶことにした。ジャガイモ (農林1号) では葉脈の両側に黄化あるいはえそが見られ, 細脈にえそを生じたが, 通

常の栽培条件下では明瞭でなかった。塊茎の褐色輪紋症状は収穫後18℃15日間と9℃10日間の変温処理を2回行ったところ発現した。寄主範囲は3科 (アカザ, ツルナ, ナス科) の13種に限られ, *C. amaranticolor* や *N. debneyi* に特徴的な病徴を生じた。発病地土壤に健全ジャガイモ (農林1号) と *N. debneyi* を植付けたところ発病し, また粉状そうか病罹病ジャガイモに PMTV を接種し, その土壤に *N. debneyi* を植付けたところ発病したことにより, 土壤伝染することが明らかとなった。不活化温度は65~70℃ (10分), 希釈限度は100~500倍, 保存限度は20℃で5~7日であった。粒子の形態はダイレクトネガティブ染色法で幅約20nmの棒状であり, 長さは140~150と270~300nmにピークが見られた。部分純化標品を家兎に注射して得られた抗血清は免疫電顕法で1,024倍の力価を示した。本ウイルスはイギリスに発生している PMTV の抗血清とも同様によく反応した。

引 用 文 献

1. 秋元喜弘・松沢運夫・栗原 実 (1958). 日植病報 23: 42 (講演要旨).
2. 明日山秀文・平井篤造 (1949). 同上 13: 29-32.
3. Cooper, J. I. and Harrison, B. D. (1973). Plant Path. 22: 73-78.
4. Harrison, B. D. and Jones, R. A. C. (1970). Ann. appl. Biol. 65: 393-402.
5. Harrison, B. D. and Jones, R. A. C. (1971). Ibid. 68: 281-289.
6. Hinostroza, Ana-Maria and French, E. R. (1972). American Potato Jour. 49: 234-239.
7. 堀尾英弘・矢野勇夫・江住和雄 (1968). 日植病報 35: 47-54.
8. Kasai, M. (1921). Ber. Ohara Inst. landw. Forsch 2: 47-77.
9. 小室康雄・川田 武・平野弥助・室木真澄 (1964). 日植病報 29: 199-205.
10. 松濤美文・末次哲雄 (1970). 植防研報 8: 13-20.
11. 松濤美文・末次哲雄・元島俊治 (1972). 同上 10: 17-22.
12. 内田正行・堀尾英弘・田中 智 (1980). 日植病報 46: 106 (講演要旨).

Explanation of plate

Plate I

- A. Brown ring symptoms on potato tuber surface.
- B. Internal brown arcs in potato tuber.
- C. Yellowing or necrosis beside the leaf veins of infected potato plant. Right: healthy plant.
- D. Concentric necrotic spot and ringspot lesions in inoculated leaf of *Chenopodium amaranticolor*.
- E. Necrotic spots or ringspots in inoculated leaf of *Nicotiana debneyi*.
- F. Thistle-leaf necrotic line patterns in leaf of systemically infected *Nicotiana debneyi* bait seedlings grown in infective soil.
- G. Virus particles of PMTV in partially purified preparation. Bar represents 200 nm.
- H. A clump of PMTV particles formed after incubation with homologous antiserum. Bar represents 200 nm.

Plate I

