

## 新弱毒ウイルスL11A237

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者	大島, 信行 大沢, 高志 森田, 儔 森, 喜作
巻/号	44巻4号
掲載ページ	p. 504-508
発行年月	1978年9月

## 新弱毒ウイルス L<sub>11</sub>A 237

大島信行\*・大沢高志\*\*・森田 儔\*\*・森 喜作\*\*

Nobuyuki OSHIMA\*\*, Takashi OSAWA \*\*, Hitoshi MORITA\*\*  
and Kisaku MORI\*\*, A new attenuated Virus L<sub>11</sub> A237

### Abstract

L<sub>11</sub>A, an attenuated tomato strain of TMV which has been efficiently used for the protection of tomato plants against mosaic disease, proved to be ineffective for protecting the existing TMV-resistant tomato cultivars having *Tm-1* gene, possibly because the strain hardly multiplies in these cultivars, consequently the plants are readily infected by a virulent strain, e.g., CH2. For the purpose of obtaining another attenuated strain enough effective for protecting these cultivars, a new attenuated strain of TMV, L<sub>11</sub>A 237, was isolated by successive passages of L<sub>11</sub>A through TMV-resistant GCR 237 tomato (*Tm-1/Tm-1*). The new strain, like L<sub>11</sub>A, causes no symptoms in tomato and Samsun tobacco, but differs in that it multiplies much faster than L<sub>11</sub>A in the existing TMV-resistant tomato cultivars (*Tm-1/+*) and sometimes causes necrotic rings on Xanthi nc in the environment in which L<sub>11</sub>A causes necrotic spots.

In cross protection tests in resistant tomato cultivars, L<sub>11</sub>A 237 interfered more strongly with the multiplication of CH2, a virulent tomato strain of TMV infective to resistant tomato cultivars (*Tm/+*), than L<sub>11</sub>A did.

In the experiment in a plastic greenhouse the inoculation of resistant tomato seedlings (cv. Tanomo, *Tm-1/+*) by L<sub>11</sub>A 237 resulted the good control of mosaic disease, and an higher yield than the yield of a plot which had not been inoculated with this attenuated virus.

In the plastic greenhouse of a tomato grower the effectiveness of L<sub>11</sub>A 237 and L<sub>11</sub>A was compared using Tanomo tomato plants. The hundred-times diluted saps of L<sub>11</sub>A 237 and L<sub>11</sub>A-infected tomato leaves were mixed with 1 per cent 800 mesh carborundum and inoculated to tomato seedlings at the distance of 10 cm by working pressure of 5 kg per cm<sup>2</sup> with a motive sprayer. About 10 days later L<sub>11</sub>A 237 and L<sub>11</sub>A guaranteed 67 and 7 per cent infections and tomato plants inoculated showed mosaic symptoms of wild virus by 1 and 25 per cent after 5 months respectively.

These results indicate that L<sub>11</sub>A 237 is very effective for the protection of the ordinary TMV-resistant tomato cultivars (*Tm-1/+*) from the infection by a virulent strain like CH2.

(Received July 13, 1978)

### 緒 言

最近、トマト系TMVの弱毒ウイルスL<sub>11</sub>A<sup>1)</sup>の干渉作用を利用したトマトモザイク病の防除法の実用化が進められ<sup>5)</sup>、この方法による防除を希望する農家が増加している。また、一方においてはTMV抵抗性トマ

ト品種も次第に市販されるようになった。然し、既にトマトのTMV抵抗性遺伝子の1つ、*Tm-1*をもつ品種にはモザイク病を起すTMVの系統も現われており<sup>4)</sup>、これらの品種に利用出来る弱毒ウイルスが要望されるようになった。L<sub>11</sub>Aは*Tm-1*をもつトマトでは増殖が遅いので、TMV感受性トマトにおけるよ

\* 植物ウイルス研究所 Institute for Plant Virus Research, Ibaraki 300-21, Japan

\*\* 静岡県農業試験場 Shizuoka Agricultural Experiment Station, Shizuoka 420, Japan

うな防除効果は期待出来ない。著者らは *Tm-1* 遺伝子をもつトマトに容易に増殖出来るように *L11A* を改良し、これを用いて行なった圃場試験においても、トマトモザイク病の防除に有効であることが分かったので、ここにこの弱毒ウイルス、*L11A 237* の若干の性質と圃場試験の結果を報告する。なお、ここに報告する結果の概略についてはすでに講演<sup>6)</sup>で、また、圃場試験については静岡県農業試験場の資料<sup>7)</sup>で報告した。この研究に使用したトマト種子を分譲して戴いた千葉県農試の萩原佐太郎、青木宏史両氏に感謝の意を表す。また、*L11A* はもと北海道農試の後藤忠則氏から分譲をうけたものである。ここに記して感謝の意を表す。

### 実験材料及び方法

***L11A 237* の作出** *TMV* 感受性トマト品種、福寿2号で継代した *L11A* を *TMV* 抵抗性トマト、*GCR237* (*Tm-1/Tm-1*) の本葉 2~3 枚の幼苗にカーボランダム法で接種し、一定期間毎にキサンチ *nc* (*Nicotiana tabacum* cv. *Xanthi nc*) を用いて接種株からウイルスの回収を行うと接種1週間後には0~40%位の株からウイルスが回収され、日数の経過と共に、次第に保毒株が増加する。これらの中で早期にウイルスが増殖した株から更に *GCR237* に接種し、同様にして3~4回継代を続けると、接種1週間後に100%の株からウイルスが回収出来る系統を分離することが出来る。本報告の実験にはこの様にして4回 *GCR237* を継代したウイルスを使用した。また、この系統を *L11A237* と名付けた<sup>5)</sup>。

**室内における試験方法** 使用トマトはすべて4~5号鉢を用い、パーミキュライトに播種し、播種後20日~1ヶ月の幼苗を1株づつ3号鉢に移植して実験に供した。タバコ類は播種後1~2ヶ月の苗を用いた。

弱毒ウイルス *L11A* および *L11A237* は夫々、トマト福寿2号および *GCR237*、雷電 (*Tm-1/+*) などに増殖し、保毒葉を凍結保存しておき使用した。強毒 *TMV* の系統、*CH 2*<sup>4, 2)</sup> は *GCR237* に接種、発病した葉を同様に保存しておき使用した。

接種源はすべて上記トマトの保毒葉に生体重の10倍量の1/100M 磷酸緩衝液 pH 7 を加えて磨碎し、その搾汁液を用いた。ウイルスの回収試験においても、同様の方法で接種源をつくり試験した。

弱毒ウイルスの強毒ウイルスに対する干渉効果をみるためには本葉1~2枚期のトマト幼苗に弱毒ウイル

スを接種し、12日後に弱毒ウイルスを接種しなかった上葉1枚に *CH 2* を接種し、病徴観察を行ない効果の有無、程度などを調べた。

### 圃場における試験方法

(1) 静岡県農業試験場におけるハウス内試験 作型は半促成栽培、トマト品種「たのも」を使用した。9月1日播種、同月16日 *L11A237* および強毒 *TMV*、*S-4*<sup>3)</sup> を接種した。*S-4* は *FTVR-50* から分離されたトマト系 *TMV* で、*Tm-1* 遺伝子をもつトマトにモザイク病を発生する。接種源は上記各ウイルス系統に感染したトマト品種、「はごろも」の保毒葉に0.1M 磷酸緩衝液 pH 7.2 を加えて10倍希釈になるようにした搾汁液を用い、カーボランダム法でなすりつけ接種した。これらの苗は9月29日に鉢上げし、11月1日に定植した。接種苗は *N. glutinosa* で検定し、感染苗のみを使用した。

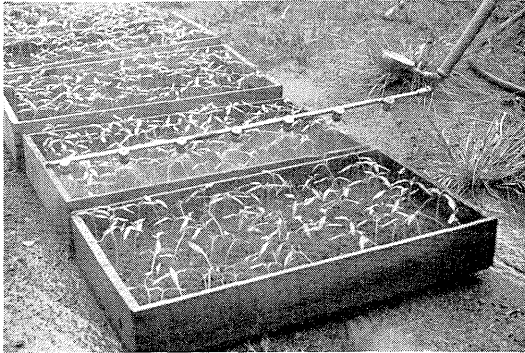
施肥量は1a 当たり、化成肥料として N, P, K 各 2.5Kg, 1区16株、2連制で行った。(各試験区については第5表参照)

(2) 焼津市上小田における現地ハウス内試験 使用トマトは接木栽培で、台木トマトは *KNVF*、穂木は「たのも」で夫々8月5日および8月10日にばら播きした。8月25日、「たのも」に弱毒ウイルス *L11A* 及び *L11A237* を接種し、9月1~5日、*KNVF* に挿接ぎして鉢上げし、10月20日に定植した。試験区は *L11A* 接種区と *L11A237* 接種区で1区3~4a, 2連制で試験を行なった。また弱毒ウイルスは接種約10日後保毒検定した。

使用した弱毒 *L11A* 及び *L11A237* は各ウイルス保毒「はごろも」葉の100倍希釈汁液に800メッシュカーボランダム1%を添加したもので、霧先を狭めた噴



第1図 弱毒ウイルス接種に使用された動力噴霧機(静岡農試)。真中のタンクは弱毒ウイルス保毒汁液を入れる。噴口は7個あり、右端のコックのある方をもち噴霧しながら移動する。そのため長いホースがリールに巻かれている。



第2図 トマト幼苗に接種中の噴霧機噴口部と圧力メーター。

口(噴板穴径0.5mm)を7個つけた接種装置をもつ動力噴霧機を用い、圧力5Kg/cm<sup>2</sup>、速さ8cm/sec、苗からの距離10cmで噴霧接種した(第1, 2図参照)。

実験結果

**L<sub>11</sub>A237の性質** この弱毒ウイルスとL<sub>11</sub>AをGCR237トマトに接種して比較すると明らかに前者の増殖が早かった(第1表参照)。また、Tm-1遺伝

第1表 TMV抵抗性トマトGCR237からのL<sub>11</sub>AとL<sub>11</sub>A237の回収

株番号	ウイルス <sup>a)</sup> 調査月日	L <sub>11</sub> A			L <sub>11</sub> A237		
		2.9	2.16	2.23	2.9	2.16	2.23
1	- <sup>b)</sup>	-	+	+	+	-	
2	-	-	+	+	-	-	
3	+	+	-	+	-	-	
4	+	+	-	+	-	-	
5	-	+	-	+	-	-	

a) 接種月日: 2月2日

a) -~+は Xanthi nc 上の局所病斑の有無と多寡を示す

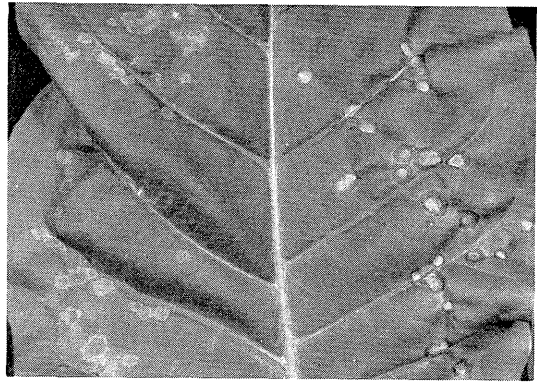
第2表 TMV抵抗性トマト品種からのL<sub>11</sub>AとL<sub>11</sub>A237の回収

トマト品種	株番号	調査月日	L <sub>11</sub> A		L <sub>11</sub> A237	
			2.24	3.2	2.24	3.2
雷電	1	- <sup>b)</sup>	+	+	-	
	2	-	+	+	-	
	3	-	+	+	-	
	4	-	+	+	-	
	5	-	+	+	-	
若潮	1	+	-	+	-	
	2	+	-	+	-	
	3	+	-	+	-	
	4	+	-	+	-	
	5	+	-	+	-	

a) 2月17日接種, b) -~+は Xanthi nc 上の局所病斑の有無と多寡を示す。

子をもつ市販のトマト品種、雷電や若潮においてもL<sub>11</sub>A237は同様の行動を示した(第2表参照)。

L<sub>11</sub>A237はGCR237は勿論、福寿2号や上記のTMV抵抗性トマト品種やサムスタバコ(*N. tabacum* cv. Samsun)などには殆んど病徴を現わさないが、キサンチnc葉に接種した時に環紋状の局所病斑を生ずる傾向があり、この場合えそ環紋の内部は長く緑色にとどまっている(第3図参照)。この病徴からL<sub>11</sub>A237はL<sub>11</sub>Aとは異なる性質をもつようになったことが推察された。このような環紋に混って普通のえそ斑点も生ずるが、これはウイルス感染時における葉



第3図 *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi nc 葉上のL<sub>11</sub>A237(左半)とL<sub>11</sub>A(右半)の局所病斑。

の各部位の生理的条件によるものかも知れない。環紋状の病斑と斑点状の病斑を別々に切り抜いて再接種を試みても同じように再び両形の病斑を生ずる。また、一般に若い葉では普通のえそ斑点を生ずることが多い。一方、L<sub>11</sub>Aは同じ条件で接種してもこのような環紋状病斑をつくることはなく、極く希に病斑の発現初期に環紋状の病斑が出来ても、間もなくえそ斑点に変わる。

**温室内鉢試験におけるL<sub>11</sub>A237の干渉効果** 強毒TMV系統、CH2を単独接種した抵抗性トマトは接種後7日位で上葉に褪色が起り、次第にモザイク斑紋が現われるが、この病徴は次第に不明瞭となり、そのかわり、葉や草丈が萎縮、植物全体が褪色して、上葉が狭小となり、小葉の先端が鋭くとがる傾向が残った。L<sub>11</sub>A237単独接種区ははっきりした病徴なく、対照無接種区と殆んど変らなかつた。L<sub>11</sub>A237接種後CH2を接種した区でも少数の発病株を生じたが、発病は遅延し病徴は最初上葉の小緑斑として現われ、次第にこれらが連結してモザイク斑紋となった。然し、茶葉の萎縮、褪色は少なく、これに反して葉の小緑斑はむしろはっきり見られた。

L<sub>11</sub>A接種後CH2を接種した抵抗性トマト区でも発病株はCH2単独接種区に比較すると病徴は軽かったが、L<sub>11</sub>A237の接種区に比較すると発病株も多く、病徴も強い場合が多かった。これは第1および第2表に

示した如く、抵抗性トマトにおけるL<sub>11</sub>Aの増殖が遅れるためと思われる。ただ感受性の福寿2号においてはL<sub>11</sub>Aの方が幾分干渉効果が優るように思われた。試験は数回行ったが、代表的な結果を第3表と第4表

に示した。

この干渉効果をみる試験には5種のTMV抵抗性品種(何れもTm-1/+ )を用いたが、CH2単独接種に対しては雷電の病徴が最も軽く、抵抗性が一番強い様に思われた。

圃場試験結果

(1) 静岡農試ハウス内試験  
結果を第5表に示した。

L<sub>11</sub>A237接種の注意管理区とその慣行管理区では発病がみられず、無接種慣行および注意管理区では3月に入って夫々95%と25%の発病がみられた。S-4系統接種区では12月中旬の調査時に100%の株に強いモザイク斑紋が発生していた。無接種慣行管理区の発病は供試品種「たのも」が感染すれば発病する状況にあった事を示し、また無接種注意管理区の発病は充分注意を払って管理したにもかかわらず、かなりのウイルス感染が起ったことを示している。従ってL<sub>11</sub>A237接種はこの圃場においてモザイク病防除に効果があった事をはっきり示した。L<sub>11</sub>A237接種区は草丈で無接種よりやや劣ったが、摘心をした2月下旬には無接種注意管理区と殆んど差がなかった。また、開花期、収穫期などには差がみられなかった。L<sub>11</sub>A237接種区の収

みても、L<sub>11</sub>A237接種がL<sub>11</sub>A接種より明らかにすぐれた効果を示した(第7表参照)。これはL<sub>11</sub>Aが抵抗性の「たのも」に感染しにくかったことによるものと考えられる。

第3表 TMV抵抗性品種におけるL<sub>11</sub>A237の干渉効果

ウイルス <sup>a)</sup> トマト品種	L <sub>11</sub> A	L <sub>11</sub> A237	L <sub>11</sub> A + CH2	L <sub>11</sub> A237 + CH2	CH2	無接種
福寿2号	0/5 - <sup>b) c)</sup>	0/5 -	1/5 sp	1/5 sp	5/5 m	0/5 -
雷電	0/5 -	0/5 -	5/5 m	2/5 m	5/5 m	0/5 -
若潮	0/5 -	0/5 -	4/5 sp	1/5 sp	5/5M,Dw	0/5 -

- a) L<sub>11</sub>A及びL<sub>11</sub>A237, 9月20日接種; CH2, 10月1日接種, 10月13日調査
- b) 分母: 接種株数, 分子: 発病株数
- c) -: 無病徴, M: モザイク斑紋, m: 軽微なモザイク斑紋, sp: 縦緑斑, Dw: 萎縮

第4表 TMV抵抗性品種におけるL<sub>11</sub>A237の干渉効果

ウイルス <sup>a)</sup> トマト品種	L <sub>11</sub> A	L <sub>11</sub> A237	L <sub>11</sub> A + CH2	L <sub>11</sub> A237 + CH2	CH2	無接種
福寿2号	0/5 -	0/5 -	1/5 sp	3/5 sp	5/5 <sup>Chl, Dw</sup>	0/5 -
つかま	0/5 -	0/5 -	5/5 M	0/5 -	5/5 "	0/5 -
たのも	0/5 -	0/5 -	5/5 M	0/5 -	5/5 "	0/5 -
はつぼう	0/5 -	0/5 -	5/5m,sp	1/5 sp	5/5 "	0/5 -
雷電	0/5 -	0/5 -	5/5 M	0/5 -	5/5 m	0/5 -

- a) L<sub>11</sub>A及びL<sub>11</sub>A237, 10月8日接種; CH2, 10月20日接種, 11月1日調査
- b) Chl: 縦緑, 他の略号は第3表に同じ

第5表 L<sub>11</sub>A237のモザイク病防除効果<sup>a)</sup> (農試ハウス)

区名	調査 株数	モザイク程度別株率								草丈 12.16 (cm)	株当り <sup>a)</sup> 収量 (kg)
		12.16				3.1					
		±	+	++	+++	±	+	++	+++		
(1) L <sub>11</sub> A237接種 注意管理 <sup>b)</sup>	10	0	0	0	0	0	0	0	0	83	2.24
(2) L <sub>11</sub> A237接種 慣行管理	10	0	0	0	0	0	0	0	0	85	2.47
(3) 強毒ウイルス接種 (S-4) <sup>c)</sup>	10	0	0	0	100	0	0	100	0	68	1.13
(4) 無接種 慣行管理	10	0	0	0	0	5	90	0	0	92	1.81
(5) 無接種 注意管理	10	0	0	0	0	25	0	0	0	97	2.55

- a) 使用品種: たのも, このハウスの管理は(3), (4), (2)の順に行ない, (2)区は2畦からなる区の端にS-4感染株を1株づつ植え, これに触ってから他の株の管理を行なった。(1), (5)区は他の区からの感染が起らぬようにポリ手袋をはめて注意して管理した。
- b) L<sub>11</sub>A237, 9月16日接種, c) S-4, 9月16日接種
- d) 収量は1区10株につき80g以上の果実を調査した。

量は無接種注意管理区に比べれば若干少ない傾向があったが、強毒ウイルス接種区や無接種慣行管理区に比べれば明らかに多く、強毒TMVによる減収を防ぐことが出来た。

(2) 現地ハウス内試験 L<sub>11</sub>A237噴霧接種による感染率は約70%で(第6表参照)、実際の使用上に問題は無いと判断された。また、モザイク病発生率から

第6表 L<sub>11</sub>A237噴霧接種トマト苗(品種たのもの)のTMV感染率(現地ハウス)<sup>a)</sup>

区名	調査苗数	TMV検出率
L <sub>11</sub> A237噴霧	15	67%
L <sub>11</sub> A 噴霧	15	7

a) 弱毒ウイルス, 8月25日接種, 9月5日保毒検定

第7表 L<sub>11</sub>A237のモザイク病防除効果<sup>a)</sup>(現地ハウス)

区名	調査株数	程度別モザイク株率(1.26)					計
		± <sup>b)</sup>	+	++	+++	計	
L <sub>11</sub> A237	100	1	0	0	0	1%	
L <sub>11</sub> A	100	12	8.5	5	0.5	26	

a) 使用品種: たのも, 弱毒ウイルス接種, 8月25日。

b) モザイク病の病徴程度: ±→+++にモザイクの程度がひどくなる。

## 考 察

弱毒ウイルス L<sub>11</sub>A237 は L<sub>11</sub>A が十分に防除効果を発揮することが出来ないTMV抵抗性遺伝子 *Tm-1* をもつトマトにモザイク病防除効果を示すことが分った。然し, L<sub>11</sub>A237が福寿2号のような感受性品種に対して L<sub>11</sub>A よりやや防除効果が劣るように思われるので, TMV感受性トマトと *Tm-1* をもつトマトと両方を栽培している地方で L<sub>11</sub>A237 のみで両方のトマトのモザイク病防除に同じ効果を期待できるかどうか多少心配がある。別々に L<sub>11</sub>A237 と L<sub>11</sub>A を夫々抵抗性トマトと感受性トマトに区別して使用すればよいわけであるが, あまり TMV 汚染のひどくない圃場, 即ち激しい感染が起らないようなところでは両方のトマトに対して L<sub>11</sub>A237 のみで等しい防除効果を期待できるだろう。然し, 何れにせよこの点の改良の余地が残されている。

上記のような現象の原因については更に実験してみなければ分らないが, キサンチ nc 葉に出来る局所病斑が時にえそ斑点でなく, えそ環紋となること, しかもその場合に L<sub>11</sub>A の病斑に比べて微弱な病斑である

こと(第6図)を考えるとウイルスの性質も相当変化しており, L<sub>11</sub>A より更に弱毒化が進んだ可能性がある。

## 摘 要

1. 弱毒ウイルス L<sub>11</sub>A を GCR237 トマト (*Tm-1* / *Tm-1*) を 4 代継代して, *Tm-1* 遺伝子をもつトマトに容易に増殖する弱毒ウイルス L<sub>11</sub>A237 を得た。
2. L<sub>11</sub>A237 は トマト, サムスタバコなどに殆んど病徴を現わさず, キサンチ nc に時にえそ環紋を生ずる。
3. L<sub>11</sub>A237 は鉢試験で *Tm-1* をもつトマトで強毒 TMV, CH 2, に対しよい干渉効果を示し, L<sub>11</sub>A は部分的にしか干渉効果を示さなかった。
4. L<sub>11</sub>A237 はハウス内圃場試験において *Tm-1* をもつトマト品種「たのも」で強毒 TMV, S-4 に対してよい防除効果を示し, 減収を防止した。
5. 「たのも」の苗における噴霧接種率は L<sub>11</sub>A237 67%, L<sub>11</sub>A 7% で, L<sub>11</sub>A237 の感染率は高く実用上問題がなく, 定植後も顕著にモザイク病の発生を防止した。

## 引用文献

1. 後藤忠則・根本正康(1971). 北海道農試彙報99: 67-76.
2. Motoyoshi, F. and Oshima, N. (1977). J. gen. Virol. 34: 499-506.
3. 牧野秋雄・村松安男・森田儔・森喜作(1975). 連作障害対策に関するプロジェクト研究成績書(静岡農試資料第1349号)10-1-6.
4. 大島信行・荻原佐太郎・青木宏史(1971). 日植病報37: 401-402(講要).
5. 大島信行(1977). 農業及び園芸52(4)548-552.
6. 大島信行・大沢高志・森田儔・森喜作(1977). 日植病報44: 102(講要).
7. 大沢高志・森田儔(1978). 昭和52年度静岡農試試験成績(植防関係)概要集: 186-187.