

ニンニクに見出される2種のひも状ウイルス,ニンニク潜在ウイルス(garlic latent virus) ならびにニンニクモザイクウイルス(garlic mosaic virus)

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	季,龍雨 山崎,昇三 尾崎,武司 井上,忠男
発行元	日本植物病理學會
巻/号	45巻5号
巻号補足	
掲載ページ	p. 727-734
発行年月	1979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



ニンニクに見出される2種のひも状ウイルス、 ニンニク潜在ウイルス (garlic latent virus) ならびに ニンニクモザイクウイルス (garlic mosaic virus)*

李 龍雨**・山崎昇三***・尾崎武司**・井上忠男**

Yong Woo, LEE**, Shozo YAMAZAKI***, Takeshi OSAKI** and
Tadao INOUE**: Two Elongated Viruses in Garlic, Garlic
Latent Virus and Garlic Mosaic Virus

Abstract

Two sap-transmissible elongated viruses from garlic plants were described and named garlic latent virus (GLV) and garlic mosaic virus (GMV) based on the symptoms produced in infected garlic plants. These names were given anew to avoid the existing and unresolved confusions on the nomenclature of garlic viruses. Garlic plants inoculated with GLV produced no visible symptoms, whereas infected broad beans produced systemic necrotic spots. *Chenopodium amaranticolor* and *C. quinoa*, and *Tetragonia expansa* infected with GLV produced local necrotic and chlorotic lesions, respectively. Particles of GLV were flexuous rods, 650-700 nm long, and existed either randomly or as small aggregates in the cytoplasm of the infected plant cells. GLV has a thermal inactivation point between 55 and 60 C, dilution end point of 10^{-4} - 10^{-5} and longevity *in vitro* of 2-4 days. No serological relationships were found between GLV and GMV, carnation latent virus or chrysanthemum virus B. Symptoms due to the infection of GMV was mosaic in garlic plants, and local necrotic lesions in *Gomphrena globosa*, whereas latent infection was detected in the inoculated leaves of *C. amaranticolor*, *C. quinoa* and *T. expansa*. Particles of GMV were flexuous rods about 750 nm long. Pinwheel-type cytoplasmic inclusions were found in the infected garlic plant cells. Mixed infection of GLV and GMV were found in most of the garlic plants showing mosaic symptoms collected from various parts of Japan, although only GMV was detected in a few varieties.
(Received October 27, 1979)

緒 言

近年各地のニンニク栽培地でモザイク病による生産力低下が問題になり、地方によっては組織培養によるウイルスフリー株の導入などの対策が試みられている。ニンニクモザイク病の病原ウイルスとして、国内では佐古^{10,11)}がニンニクモザイクウイルス (garlic mosaic virus) と仮称してひも状粒子を報告し、農林水産省野菜試験場⁷⁾でもこれと同様のウイルスがニン

ニクモザイク病に関与することを報告している。国外では onion yellow dwarf²⁾, onion mosaic⁹⁾, tobacco rattle⁴⁾の各ウイルスのほかに、1種の carlavirus を含めて garlic mosaic virus が記録されている。これら既報のウイルスのうち、garlic mosaic virus と称されるものは、研究者によって必ずしも同一ウイルスをさしているとはいえず、また、多くはニンニクに対する接種試験を含めて、ウイルス性状の記載は必ずしも十分とはいえない。

* 昭和53年4月の本学会大会において概要を発表した。

** 大阪府立大学農学部 College of Agriculture, University of Osaka Prefecture, Sakai, Osaka 591, Japan

*** 大阪府立長吉高等学校 Nagayoshi High School, Hirano-Ku, Osaka 547, Japan

筆者らは各地から集めた標本について調べたところ、ニンニクモザイク病には2種のひも状ウイルスが関与していることを認めた。本報はこれら両ウイルスのニンニクに対する病原性から、従来若干の混乱があったウイルス名を整理し、あらためてニンニクモザイクウイルス (garlic mosaic virus, GMV) およびニンニク潜在ウイルス (garlic latent virus, GLV) と命名して記載したものである。

本研究を行なうにあたり、ニンニク病植物標本を送っていただいた宮城県農業センター及川俊雄、長野県農業総合試験場飯島章彦、静岡県農業試験場森田儔、徳島県農業試験場柏木弥太郎、高知県農林技術センター古谷真二、長崎県総合農林試験場新須利則の各位、ニンニクのウイルスフリー株作出についてお世話になった PL 短期大学植物研究所佐野朋慶氏に謝意をあらわす。

材料と方法

実験に用いたニンニクモザイク病標本は宮城 (品種：福地、七ヶ浜在来)、長野 (福地)、静岡 (遠州極早生)、奈良 (荏州早生)、和歌山 (中国産、品種名不詳)、徳島 (上海、秋田ホワイト、香川ホワイト)、高知 (遠州極早生)、長崎 (荏州早生) の各県産のものである。

ニンニクのウイルスフリー株はモザイク病株 (品種：上海、秋田ホワイト、香川ホワイト) から切り出した生長点組織 (0.1~0.5 mm) を 10^{-5} M ベンジルアデニン添加 Murashige-Skoog 培地で培養して作出したもので、ウイルス粒子を含まないことを電子顕微鏡観察で確かめて供試した。

各種植物への汁液接種はカーボラシダムを用いる常法により、アブラムシ伝搬試験にはモモアカアブラムシ、マメアブラムシおよびネギアブラムシを用いた。

同定実験に用いたウイルス分離株は、主として徳島県産の品種、上海 (GLV, GMV 混合感染株) から得たものである。GLV はニンニク病植物から汁液接種で発病させたソラマメ上葉から分離し、ソラマメに継代接種して増殖維持した。GMV はニンニク病植物汁液から GLV 抗血清により GLV を吸収除去し、ソルナに接種して分離した。

GLV の部分純化は、接種後10~20日の病徴明瞭なソラマメ (一寸) から Langenberg⁶⁾の方法に準じて (蔗糖密度勾配遠心操作を省く) 行なった。部分純化試料約 4 mg を Freund's complete adjuvant とともに3回に分けて家兎に筋肉注射して GLV 抗血清を作成し、血清反応試験はミクロプレシピンテストによった。

ウイルス粒子の電子顕微鏡観察 (JEM 100U) には PTA による通常の negative stain 試料を用い、また GLV 抗血清を用いて leaf dip serology も行なった。感染植物の超薄切片試料は、病葉組織片をグルタールアルデヒドと四酸化オスミウムで二重固定し、エタノール系列脱水後、エポキシ樹脂に包埋して薄切したものであり、酢酸ウランとクエン酸鉛で二重染色して電顕観察した。

実験結果

ニンニクのモザイク病徴 各地から集めたニンニクの球根をガラス室および畑に植付けたところ、萌芽直後から明瞭なモザイク症状の認められるものが多かった。症状は植物体の生育につれて進展し、程度の差はあるがいずれも全身のかすり模様のモザイク病斑が見られ、株によっては葉先から枯れるものもあった。ニンニクの産地別にみると、暖地産のもので比較的症

Table 1. Host range of garlic latent virus

Plants susceptible
<i>Allium sativum</i> , <i>Chenopodium amaranticolor</i> ^{a)} , <i>C. quinoa</i> ^{a)} , <i>Tetragonia expansa</i> ^{a)} , <i>Vicia faba</i>
Plants insusceptible
<i>Allium cepa</i> , <i>A. fistulosum</i> , <i>A. odora</i> , <i>Calendula arvensis</i> , <i>Callistephus chinensis</i> , <i>Centaurea cyanus</i> , <i>Chenopodium murale</i> , <i>Datura stramonium</i> , <i>Gomphrena globosa</i> , <i>Lycopersicon esculentum</i> , <i>Nicotiana debneyi</i> , <i>N. tabacum</i> , <i>Petunia hybrida</i> , <i>Phaseolus vulgaris</i> , <i>Pisum sativum</i> , <i>Raphanus sativus</i> , <i>Spinacia oleracea</i> , <i>Vigna angularis</i> , <i>V. sesquipedalis</i>

a) Local infection only.

状の明瞭な場合が多く、宮城県、長野県産のものでは一般に病徴の軽い傾向がみられた。

病原ウイルスの性質 宿主範囲 GLV: GLV 感染ソラマメ葉を接種源とし、8科23種の植物に接種試験を行なったところ、Table 1 に示すように、GLV はニンニク (ウイルスフリー株)、ソラマメに全身感染し、*Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa* およびツルナに局部感染し、センニチコウ、タマネギなどその他の植物には感染しなかった。ニンニクでは供試3品種のいずれにもほとんど病徴をあらわさず、無病徴感染と認められた。ソラマメでは接種葉に黒褐色局部えそ斑点を生じたのち、上葉にも接種葉とはほぼ同様のえそ斑点、茎にはえそ条斑病徴を生じた (Plate I, 1)。*C. quinoa* やツルナには黄色局部斑点を生じた。

GMV: 供試したニンニク (ウイルスフリー株、ならびにあらかじめ GLV に全身感染させたもの) のどの品種にも全身感染し、接種後10~20日で明瞭なモザイク病徴をあらわした (Plate I, 2)。センニチコウの接種葉には局部えそ病斑を生じ、*C. amaranticolor*, *C. quinoa* およびツルナの接種葉に無病徴感染したが、いずれにも全身感染しなかった。上記以外の供試植物への感染は認められなかった。

粗汁液中での物理性 ソラマメ感染葉をウイルス源とし、ソラマメを検定植物に用いて調べた粗汁液中での GLV の不活化温度は55~60°C (10分)、希釈限度は 10^{-4} ~ 10^{-5} 、保存限度は2~4日であった。

アブラムシ伝搬 マメアブラムシおよびモモアカアブラムシを用い、ソラマメ病葉から健全ソラマメ

へ、ネギアブラムシを用いてニンニク病植物からウイルスフリー苗へ GLV の伝搬試験を行なったが、結果はいずれも陰性であった。モモアカアブラムシによる GMV 感染ツルナからツルナおよびセンニチコウへの伝搬試験、さらに GLV, GMV 混合感染ニンニクからウイルスフリー苗へのネギアブラムシによる伝搬試験でも陽性の結果を得るにいたらなかった。

GLV の部分純化と抗血清の作成 GLV に全身感染させたソラマメ病葉の凍結材料から Langenberg の方法 (蔗糖密度勾配遠心操作を除く) によりウイルスを部分純化した。得られた純化ウイルス標品の紫外線吸収スペクトルは245nmに吸収極小値、260nmに極大値をもち、 $A_{260}/A_{280}=1.37$, $A_{max}/min=1.10$ であった。純化ウイルス液を家兎に注射して、ミクロプレシピンテストで純化ウイルス ($OD_{260}=2.4$) と1024倍、ソラマメおよびニンニクの病葉粗汁液とそれぞれ64および64~128倍まで反応する抗血清が得られた。本抗血清はソラマメ健全葉粗汁液および純化したキクウイルス B とは反応しなかった。また、GLV はカーネーション潜在ウイルス抗血清 (植物ウイルス研究所 栃原比呂志氏より分与された) と反応しなかった。

ウイルス粒子 GLV 粒子は屈曲の少ないひも状であり、長さ650~700nmのものが多かった (Plate I, 4)。GMV 粒子は GLV に比べると屈曲したひも状であり、長さは約750nmであった (Plate I, 5)。各地産のニンニクモザイク病株についてウイルス粒子を検出すると、屈曲の少ない GLV 粒子と屈曲した GMV 粒子の両方がしばしば観察された (Plate I, 3)。こ

Table 2. Detection of viruses in garlic samples collected from different part of Japan^{a)}

Prefecture	Variety	Sample examined	Sample infected with	
			GMV	GLV
Miyagi	Fukuchi	5	4	1
"	Shichigahama Zairai	5	5	5
Nagano	Fukuchi	5	5	0
Shizuoka	Enshu Gokuwase	5	5	5
Nara	Ishu Wase	4	4	4
Wakayama	Unknown	5	5	5
Tokushima	Shanghai	20	20	20
"	Kagawa White	20	20	20
"	Akita White	20	20	20
Kochi	Enshu Gokuwase	5	5	5
Nagasaki	Ishu Wase	15	15	11

a) Results obtained from bioassay and leaf dip serology.

のような混合感染材料につき、GLV 抗血清を用いて leaf dip serology を行なうと、GLV 粒子には抗体が付着した血清反応が認められたが、屈曲の多い GMV 粒子にはなんら変化が認められなかった。(Plate I, 6)。

超薄切片像 GLV 感染ソラマメおよびニンニク葉では細胞質内にひも状粒子が散在または小集塊をなして存在し、封入体など異常生成物は認められなかった (Plate II, 8, 9)。一方、GMV に単独感染したニンニク葉では、細胞質内に pinwheel や bundle など、potyvirus 群ウイルス特有の細胞質内封入体が観察されたが、ウイルス粒子の大集塊は認められなかった (Plate II, 10, 11)。圃場でのモザイク病株など GLV, GMV の混合感染ニンニクでは、細胞質内封入体とともに細胞質内にかなり多量のひも状粒子が認められることが多かった (Plate II, 7)。

各地産ニンニクにおけるウイルスの分布 各地から集めた ニンニクモザイク病標本につき、検定植物 (ソラマメ、センニチコウ) に対する接種試験、ならびに GLV 抗血清を用いた leaf dip serology によって保毒ウイルスの種類の判別を行なった。調査結果を Table 2 に示した。大多数のニンニク標本は GLV, GMV の混合感染株であり、両ウイルスともほぼ全国的に分布していることが明らかになった。しかし、標本の中には、長野県、宮城県産の品種福地、長崎県産の老州早生には GLV が検出されず、GMV 単独感染株とみられるものもあった。

考 察

ニンニクに発生するウイルスとして、国外では onion yellow dwarf virus²⁾, onion mosaic virus⁹⁾ の記録もあるが、本報の両ウイルスはネギ、タマネギに感染性のない所から、これらウイルスとは異なるものとみられる。ニンニクに広く発生するウイルスとして、近年、Brcák¹⁾ は $640 \times 14\text{nm}$ のひも状粒子を、また、La⁵⁾ は粒子長 $1200 \sim 1250\text{nm}$ で4種のアカザ科植物に感染性をもつひも状ウイルスを garlic mosaic virus とした。Brigitte³⁾ はモザイク病ニンニクに carlavirus ならびに potyvirus とみられる粒子長 600nm と 740nm の2種のウイルスを検出し、前者の方がニンニクに普通に見出されることから、これを garlic mosaic virus としている。国内では、佐古^{10, 11)} はニンニク病葉細胞に potyvirus 特有の細胞質内封入体を形成し、*C. amaranticolor*, *C. quinoa*. ラッキョウに感染性をもつ粒子長 $700 \sim 800\text{nm}$ のひも

状ウイルスを garlic mosaic virus と仮称し、農林水産省野菜試験場の報告⁷⁾ でも佐古のものと似たウイルスが病原とされている。これら既往のほとんどの研究報告で、ニンニクのウイルスフリー株に対する病原性試験は行なわれていない。また、明らかに異なるウイルスに対して garlic mosaic virus という同じ名称が用いられている場合もあって混乱がみられるので、ウイルス名の整理が必要と考えられる。

本報で明らかになった2種のウイルスは、粒子形態、感染細胞の切片所見などから、屈曲の少ないひも状ウイルスは carlavirus、屈曲したひも状ウイルスは potyvirus グループ所属のものとみられる。これら両ウイルスのニンニクに対する病原性が本研究によって明らかになったのを機会に、それぞれをニンニク潜在ウイルス (garlic latent virus, GLV) ニンニクモザイクウイルス (garlic mosaic virus, GMV)、と称することにしたい。最近、ラッキョウのモザイク病株に見出されるひも状ウイルスがニンニクに寄生性をもつとされているが、まだウイルス性状の詳細が不明の点も多いので、本報のニンニクのウイルスとの関連については今後の課題である。

各地産のニンニク標本を調べた本報の結果から、GLV, GMV ともに各地に広く分布し、しかも、両者混合感染の多いことが明らかになったが、中には GMV 単独感染の品種または個体もあることが示唆された。調査の範囲では、GLV 単独感染株は見出されていないが、これは、標本をモザイク病株として集めたために、潜在感染する GLV 単独感染が実際にはあるにしても、今回の採集対象から除外された可能性も考えられる。ただ、GLV 保毒の有無にかかわらず、実際に栽培されているニンニクでまったく症状を示さないものがどの程度あるのか、今後の調査を要するところであろう。

外観健全株として送られてきた長野県産のニンニク球根を筆者らのガラス室内に植付けたところ、顕著なモザイク症状の発現をみたが、これらが前年の生育期間中に感染していながら症状発現までに至らず、次年度に至って発病するようになったものかどうかは明らかでない。小川⁸⁾ は寒地栽培のものほどウイルス病による被害は問題でないが、これらの種球を九州などの暖地で栽培すると2～3年で被害が大きくなると述べている。これは暖地でウイルス感染の機会が増大することを意味しているのかもしれないが、病徴発現に気温の影響が大きく作用している可能性も否定できないであろう。この点も今後さらに検討されなければならない

ない。

ニンニクウイルスの検定植物として、本報の結果から GLV に対してはソラマメ(一寸), *C. amaranticolor*, *C. quinoa* が適当であり, GMV にはセンニチコウを用いることができる。ただし, センニチコウに生じる GMV による局部病斑は数が少ないので, つねに有効であるとはいえないかもしれない。しかし, モザイク病徴の発現には GMV が関与することから, モザイク症状の明らかなニンニクは少なくとも GMV に感染していると判定してよいと考えられる。

本報の実験の範囲では, GLV, GMV とともにアブラムシ伝搬性の確認には至らなかった。従来の報告では, モザイク症状がモモアカアブラムシ, ワタアブラムシ, ネギアブラムシでうつるといわれており, 筆者らもウイルスフリーのニンニク株が畑で発病することを観察しているので, ウイルス媒介者についてはさらに検討の必要がある。

摘 要

本報はニンニクに見出される 2 種のひも状ウイルスを記載し, これらウイルスの各地のニンニクにおける分布を調べたものである。各ウイルスのニンニクにおける病徴にもとづき, 従来の報告にみられたウイルス名についての若干の混乱を整理し, それぞれニンニク潜在ウイルス (garlic latent virus, GLV) および

ニンニクモザイクウイルス (garlic mosaic virus, GMV) とあらためて命名した。

GLV は汁液接種でニンニクに無病徴全身感染し, ソラマメに全身えそ斑点病徴をあらわした。 *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa* およびツルナには局部病斑を生じて全身感染しなかった。ウイルス粒子は長さ 650~700nm で屈曲の少ないひも状で, 感染組織の細胞質内に散在または小集塊として認められた。粗汁液中での不活化温度は 55~60°C (10分), 希釈限度は 10^{-4} ~ 10^{-5} , 保存限度は 2~4 日であった。純化ウイルスを兎に筋肉注射して得た GLV 抗血清につき血清試験を行なったところ, GLV は GMV, キクウイルス B, carnation latent viurs との間に陽性の血清反応は得られなかった。

GMV は汁液接種でニンニクにモザイク病徴をあらわし, センニチコウの接種葉に局部えそ斑点を生じた。 *C. amaranticolor*, *C. quinoa* およびツルナには無病徴局部感染であった。GMV 粒子は長さ約 750nm の屈曲したひも状であり, 感染植物細胞には pinwheel などの細胞質内封入体が観察された。GLV, GMV とともにアブラムシ伝搬性の確認に至らなかった。

各地から集めたニンニクのモザイク病標本の多くは GLV, GMV の混合感染であったが, 中には GMV 単独感染の品種や個体も見出された。

引 用 文 献

1. Brcák, J. (1975). Ochrana Rostlin 11 : 237-242. (Rev. Pl. Path. 55 : 4405)
2. Brierley, P. and Smith, F. F. (1946). Phytopathology 36 : 292-296.
3. Brigitte, C., Quiot, J. B., Marrow, J. and Leroux, J. P. (1976). Ann. Phytopath. 8 : 65-72.
4. Graichen, K. (1975). Arch. Phytopath. PflSch. 11 : 399-403. (Rev. Pl. Path. 55 : 2987)
5. La, Y. -J. (1973). Korean Jour. Plant Protect. 12 : 93-107.
6. Langenberg, W. G. (1973). Phytopathology 63 : 149-154.
7. 農林省野菜試験場 (1978). 病害に関する試験成績 昭和52年度 : 8-13.
8. 小川 勉 (1978). 農耕と園芸 33 : 92-95.
9. Rayvyazkina, G. M. (1973). All-Union Inst. Pl. Path., Moscow : 69-76. (Rev. Pl. Path. 52 : 1362)
10. 佐古宣道 (1976). 日植病報 42 : 101, 383.
11. 佐古宣道 (1978). 日植病報 43 : 114.

Explanation of Plates**Plate I**

1. *Vicia faba* infected with garlic latent virus, showing systemic necrotic spots and streaks.
2. Garlic leaves: (From right) naturally doubly infected with garlic latent virus (GLV) and garlic mosaic virus (GMV), artificially doubly infected with GLV and GMV, artificially infected with GMV, and artificially infected with GLV. Left leaf is healthy.
3. GLV (L) and GMV (M) particles in a dip preparation from naturally doubly infected garlic. Bar represents 500 nm.
4. GLV particles in a dip preparation from *V. faba*. Bar represents 500 nm.
5. GMV particles in a dip preparation from *Tetragonia expansa*. Bar represents 500 nm.
6. Electron micrograph of a preparation of leaf-dip serology using GLV antiserum from garlic naturally doubly infected with GLV and GMV. Note only GLV particles are covered with antibody. Bar represents 500 nm.

Plate II Ultrastructure of GLV and/or GMV infected plant cells. Bar represents 500 nm.

7. A section of a leaf cell naturally doubly infected with GLV and GMV, showing pinwheel-type inclusions and filamentous virus particles in the cytoplasm.
8. Particles of GLV in the cytoplasm of a leaf cell of *V. faba*.
9. Masses of GLV particles in the cytoplasm of a leaf cell of *V. faba*.
- 10, 11. Sections of leaf cell of garlic infected with GMV, showing typical pinwheel inclusions in the cytoplasm.

plate I

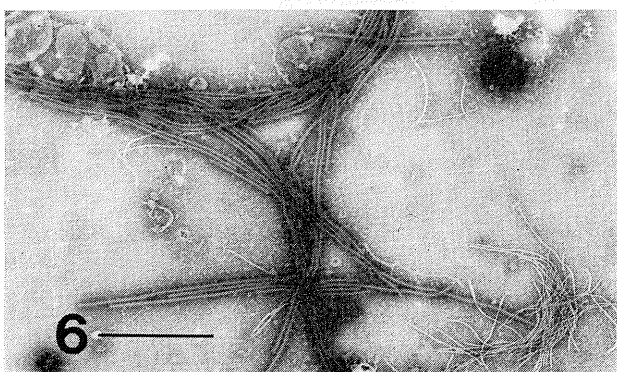
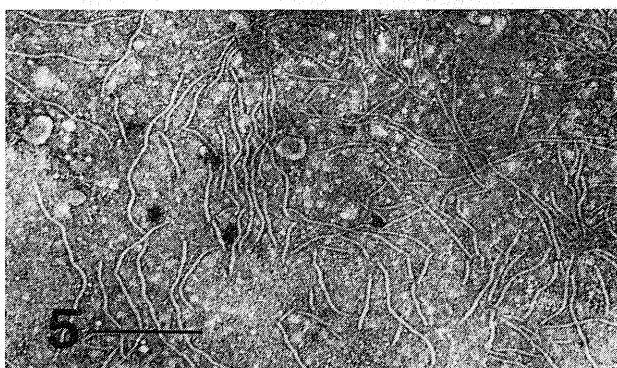
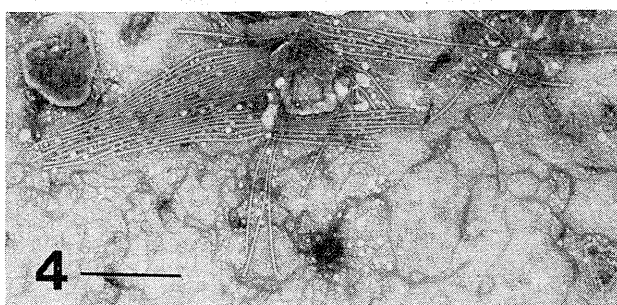
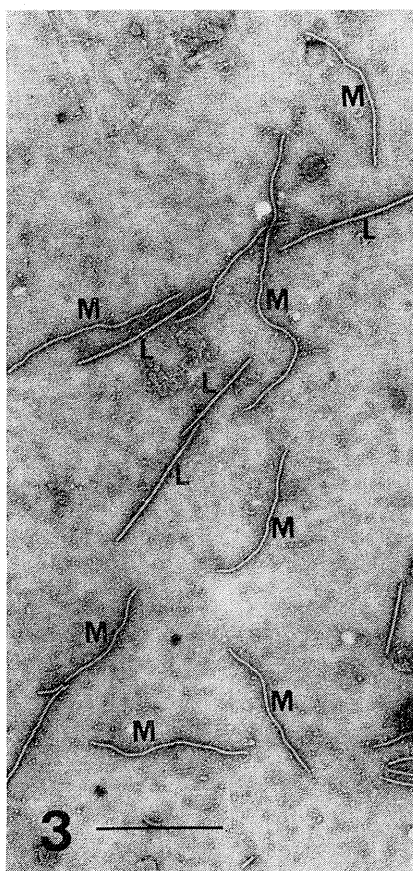
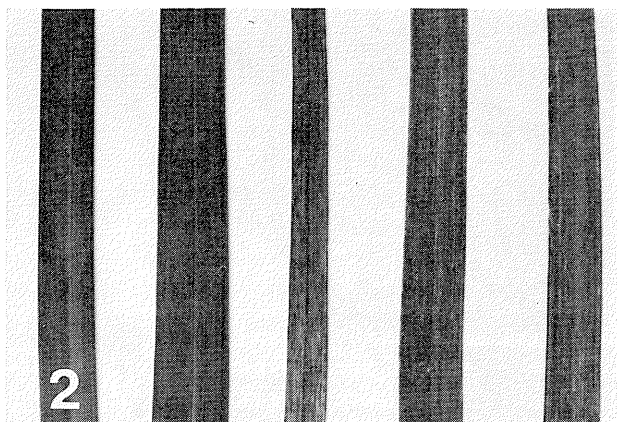


plate II

