

わが国に発生したiris severe mosaic virus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	井上,成信 宮地,邦明 光畑,興二
発行元	日本植物病理學會
巻/号	47巻2号
掲載ページ	p. 182-188
発行年月	1981年4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



わが国に発生した Iris Severe Mosaic Virus の性質*

井上成信**・宮地邦明**・光畑興二**

Narinobu INOUE**, Kuniaki MIYAJI** and Koji MITSUHATA**:
Host Range and Some Properties of Iris Severe
Mosaic Virus found in Japan*

Abstract

Pronounced mosaic symptoms are commonly observed in many cultivars of bulbous iris in Japan. The causal virus was transmitted readily by aphids (*Aphis gossypii* and *Myzus persicae*) in the non-persistent manner. It was also transmitted by sap-inoculation to 6 of 44 plant species in 13 families. Bulbous iris (Dutch iris) was infected systemically and exhibited pronounced mosaic symptoms. Local lesions were produced on *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, *Tetragonia expansa*, *Gomphrena globosa* and *Nicotiana clelandii*, but *G. globosa* was infected with difficulty while *N. clelandii* was infected without visible symptoms. The presence of the virus in these plants was confirmed by immuno-electron microscopy with antiserum against iris severe mosaic virus (ISMV). Sap from the diseased *T. expansa* was infective after 10 min at 60 C but not 65 C, after dilution to 10^{-3} but not 10^{-4} , or 3-4 days at 20 C. The virus particles were filamentous, about 750×13 nm. In ultrathin sections of diseased plant leaf tissue, pinwheel and laminated aggregate inclusions were observed in the cytoplasm in the cells. The inclusions found in negatively stained dip-preparations exhibited fine striations with a periodicity of 5.3 nm. In immuno-electron microscopy, the virus particles reacted with ISMV antiserum, but not with iris mild mosaic virus antiserum. The virus did not react with antisera against turnip mosaic virus, potato virus Y and bean yellow mosaic virus, in micro-precipitin test. Based on the result mentioned above, the virus was identified as iris severe mosaic virus.

(Received October 31, 1980)

緒 言

わが国で栽培される球根アイリスにはモザイク病の発生が著しく多く、ハウス・露地両栽培とも健全な株がみられないほどである。しかるにその病原ウイルスについてわが国では turnip mosaic virus についての記載¹⁾がある以外詳しい同定実験はなされていない。そこで各地から採集した球根アイリスのモザイク病の病原ウイルスについて調べたところ、いずれの病株にも電顕観察により粒子の長さ 750nm と 650nm の2種

のウイルスが混合感染していることが認められた。両ウイルスをそれぞれ単離して同定実験を行ったところ、粒子の長さ 750nm のウイルスは iris severe mosaic virus (ISMV) であることが判明した。本報は得られた ISMV の諸性質について記載するとともに、免疫電顕法の結果についても記述したものである。

本研究を行うにあたり、実験材料の採集に協力戴いた富山農試草葉敏彦氏、抗血清を分譲して戴いたイギリス Glasshouse Crops Research Institute の Brunt, A. A. 氏、植物ウイルス研究所栃原比呂志氏ならびに

* 本研究の一部は文部省科学研究費によった(課題番号 448041)。本研究成績の一部は日本植物病理学会関西西部会(1976年11月)において講演した。

** 岡山大学農業生物研究所 Institute for Agricultural and Biological Sciences, Okayama University, Kurashiki 710, Japan

北海道中央馬鈴薯原種農場青木文夫氏の各位に謝意を表す。

実験材料および方法

供試ウイルス 球根アイリスのモザイク病株は1975年3月倉敷市で採集した株（品種若紫とアイデアル），ならびに富山県砺波市で採集した株（品種ウエッジウッド）であり，その病原ウイルスはいずれも汁液接種とアブラムシによって *Chenopodium quinoa* とツルナに分離し，継代保存して実験に供試した。

汁液接種 汁液接種は病葉に0.1Mりん酸緩衝液を加えて磨砕し，カーボラナムを用いた常法によって行った。接種結果の判定は接種後20～30日までの病徴観察および *C. quinoa* とツルナへの戻し接種で確かめた。さらに一部の植物では必要に応じてDN法によりウイルス粒子および細胞質内封入体の破片 (Plate I. 6, 7) を確認することによって確かめた。

アブラムシ伝播 アブラムシはモモアカアブラムシ (*Myzus persicae*) およびワタアブラムシ (*Aphis gossypii*) を用いた。アブラムシを1時間絶食させたのち，局部病斑を生じた *C. quinoa* の接種病葉上にはなち，30秒間ウイルスを獲得吸汁させたのち，健全な *C. quinoa* 葉上に1葉当り30匹ずつ移し，1時間接種吸汁を行った。

物理性 粗汁液中でのウイルスの物理性試験にはツルナの接種病葉をウイルス源に，検定植物には *C. amaranticolor* を用いた。

血清学的関係 1) 微凝集反応法 実験には栃原比呂志氏より分譲された turnip mosaic virus (TuMV) の抗血清，青木文夫氏より分譲された potato virus Y (PVY) の抗血清および当研究室作成の bean yellow mosaic virus (BYMV) の抗血清を用いた。血清反応試験は微凝集反応法によって行った。抗原にはツルナまたは *C. quinoa* の病葉を10倍量比の0.01Mりん酸緩衝液で磨砕し，3,000rpm 10分間遠心した上清液を用いた。2) 免疫電顕法 本ウイルスと Brunt, A. A. 氏より分譲された iris mild mosaic virus (IMMV) の抗血清および iris severe mosaic virus (ISMV) の抗血清との血清学的関係を免疫電顕法によって調べた。*C. quinoa* に生じた局部病斑1個の小細片をスライドグラス上に滴下した8倍希釈抗血清中でおしつぶし，25°C 15～20分間反応させたのち，この液をコロジオン膜をはったメッシュにのせ，かるく洗浄後，2%リンタングステン酸をのせて逆染色し，余分の液滴をろ紙ですいとったのち，電顕観察した。比較のため，

cymbidium mosaic virus (CyMV) 罹病ツルナの病組織片を同時に混入してつぶした試料についても試験した。

電顕観察 ウィルス粒子は2%リンタングステン酸を用いた通常のDN法により作成した試料につき，電顕(日立HU-12)で観察した。感染植物の超薄切片試料は，病葉組織片を6%グルタルアルデヒドと1%四酸化オスミウムで二重固定し，エタノール脱水後，エポキシ樹脂に包埋して薄切りしたものであり，酢酸ウラニルとクエン酸鉛で二重染色して電顕観察した。

実験結果

原株アイリスの病徴

品種ウエッジウッド：葉に明瞭なモザイクを生じ，その退色部には灰白色の小えそ斑の形成がみられた (Plate I. 1)。また古い成熟葉には灰白色の小えそ斑点とともに葉脈間に灰白色の細いえそ斑の形成もみられた。原株の球根を保存し，9月に植付けて生育した苗では初め淡緑色の細い条斑を生じ，葉が伸長して成葉になるに従い，退色部が黄緑化して濃淡の明瞭なモザイク斑となった。

品種若紫およびアイデアル：葉に明瞭なモザイク斑がみられた。下葉の古い成葉には退色斑部の一部に淡い灰白色のえそ斑がみられた。とくに病状の激しい株では矮化し，普通生育株の半分程度の草丈で開花するものもみられた。

ウイルスの分離

原株病葉にはいずれもDN法試料の電顕観察により粒子の長さ750nmと650nmの2種のウイルスが混合感染していることが認められたので，粒子の長さ750nmの本報のウイルスの分離を次のような方法によって行った。原株病葉汁液を *C. quinoa* に接種して生じた退色斑点の病斑部を接種源に，*C. quinoa* を用いて数回継代接種を行ったのち，単一局部病斑からの継代接種を3回繰返した。さらにその1個の退色斑点からワタアブラムシの短時間獲得吸汁(約20秒間)によってウイルスを *C. quinoa* に移し，生じた退色斑点の1個を用いて *C. quinoa* に接種した。生じた *C. quinoa* の接種病葉には粒子の長さ750nmのウイルスのみ認められ，ウイルスを単独分離することができた (Fig. 1)。

寄主範囲と病徴

本ウイルスの寄主範囲を Table 1 に示した。13科44種の植物に汁液接種を行ったところ，球根アイリス (Dutch iris) の実生苗に全身感染，*C. amaranticolor*，*C. quinoa*，ツルナ，センニチコウおよび *Nicotiana*

Table 1. Host range of iris severe mosaic virus

Plants susceptible
<i>Iris xyphum</i> (Dutch iris), <i>Chenopodium amaranticolor</i> ^{a)} , <i>C. quinoa</i> ^{a)} <i>Tetragonia expansa</i> ^{a)} , <i>Gomphrena globosa</i> ^{a)} , <i>Nicotiana clelandii</i> ^{a, b)}
Plants insusceptible
<i>Capsicum annum</i> , <i>Datura stramonium</i> , <i>Hyoscyamus niger</i> , <i>Lycopersicon esculentum</i> , <i>Nicotiana glutinosa</i> , <i>N. rustica</i> , <i>N. tabacum</i> (White Burley; Samsun), <i>Petunia hybrida</i> , <i>Solanum melongena</i> , <i>Citrullus vulgaris</i> , <i>Cucumis sativus</i> , <i>C. melo</i> var. <i>conomon</i> , <i>Cucurbita maxima</i> , <i>C. moschata</i> , <i>C. pepo</i> , <i>Phaseolus vulgaris</i> , <i>Pisum sativum</i> , <i>Trifolium pratense</i> , <i>Vicia faba</i> , <i>Vigna angularis</i> , <i>V. sesquipedalis</i> , <i>V. radiata</i> , <i>Beta vulgaris</i> var. <i>ciela</i> , <i>Spinacia oleracea</i> , <i>Brassica rapa</i> , <i>B. rapa</i> var. <i>komatsuna</i> , <i>B. oleracea</i> var. <i>capitata</i> , <i>Raphanus sativus</i> , <i>Iris ensata</i> var. <i>hortensis</i> , <i>Iris nertschinsis</i> , <i>Vallota speciosa</i> , <i>Allium fistulosum</i> , <i>Calendula arvensis</i> , <i>Helianthus annuus</i> , <i>Lactuca scariola</i> , <i>Zinnia elegans</i> , <i>Sesamum indicum</i> , <i>Zea mays</i>

a) only local infection, b) symptomless

clelandii (無病徴) に局部感染し、他の11科38種には感染しなかった。おもな植物での病徴は次のとおりである。

Dutch iris では全身感染してモザイクを生じた。初めには軽い濃淡斑であったが、のち明瞭なモザイク斑となった (Plate I. 2)。 *C. amaranticolor* と *C. quinoa* (Plate I. 3) では接種後 9~14日目に退色局部病斑を生じ、のちにはその中心に灰白色の小えそ斑点を生じた。ツルナでは接種後 7~14日目に接種葉に径 2~3mm 大の淡い退色斑点を生じ、のち拡大して 5~6mm 大となった。退色斑の周りは淡く、濃淡の境がぼけて不明瞭であった (Plate I. 4)。センニチコウでは感染しにくかったが、ときに接種後 14~20日目に径 3~5mm 大の淡い退色~赤色の局部病斑を生じた。以上のウイルス感染は電顕観察および免疫電顕法によって確認された。

アブラムシ伝搬

本ウイルスはモモアカアブラムシおよびワタアブラムシにより非永続的に伝搬された。

物理性

罹病ツルナ葉粗汁液中での本ウイルスの不活化温度は 60~65°C (10分)、希釈限度は 10^{-3} ~ 10^{-4} 、保存限度は 3~4日 (20°C) であった。

血清反応試験

1) 微凝集反応法: Potyvirus 群に属する PVY, TuMV および BYMV に対する抗血清はいずれも微凝集反応法で本ウイルスと反応しなかった。

2) 免疫電顕法: 血清反応を免疫電顕法により調べた結果、本ウイルスは ISMV の抗血清とよく反応し、粒子の周りに抗体の付着 (halo 現象) がみられた (Plate II. 8)。試料に混入した CyMV 粒子は反応しなかった。また IMMV の抗血清に対し本ウイルスは反

応しなかった。

寄主範囲の試験で感染がみられた局部病斑中のウイルスの同定を ISMV 抗血清および IMMV 抗血清を用い、免疫電顕法によって行った。全身感染した Dutch iris の病葉、局部感染した *C. quinoa*、ツルナ、センニチコウおよび *N. clelandii* の病斑内のウイルス粒子はいずれも ISMV 抗血清と反応し、IMMV 抗血清とは反応しなかった。その結果上記植物への感染は ISMV によるものであることが確かめられた。

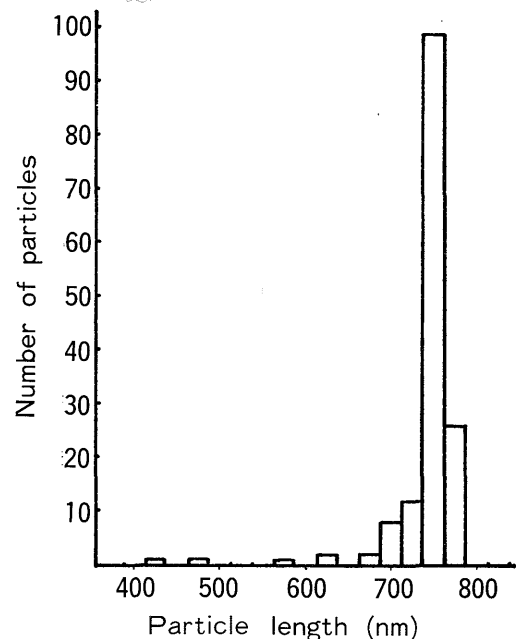


Fig. 1. Particle length distribution of iris severe mosaic virus in crude sap of *Chenopodium quinoa*.

ウイルス粒子

DN 法試料について調べたところ、本ウイルス粒子は長さ 750nm、幅約 13nm の屈曲のあるひも状であった (Fig. 1, Plate I. 5)。

DN 法試料中にみられる封入体

C. amaranticolor, *C. quinoa*, ツルナなどの局部病斑からの DN 法試料中には電顕観察により、ウイルス粒子とともに細胞質内封入体が観察された。それらの封入体は平板状のものと管状のものが認められた。封入体の面には小波状の平行直線微細構造が認められ、その線間隔は約 5.3nm であった (Plate I. 6, 7)。

超薄切片像

感染植物葉の超薄切片像には、細胞質内に散在、または小集塊となったウイルス粒子、および pinwheel, laminated aggregates, bundle などの細胞質内封入体が認められた (Plate II. 9, 10)。原株アイリス病葉切片では pinwheel の翼片間あるいは翼片の外側に付着して配列する径約 12~13nm のウイルス粒子横断面と思われる像がみられた (Plate II. 9, 10)。全身感染罹病 Dutch iris の病葉切片には pinwheel および laminated aggregates 封入体のみがみられた。また *C. quinoa* の病葉細胞にはウイルス粒子の集塊がみられた (Plate II. 11)。

考 察

本報のウイルスは 750nm のひも状粒子であり、感染植物細胞内に pinwheel や bundle などの細胞質内封入体を形成し、アブラムシで非永続的に伝搬されることなどから、Potyvirus 群に属するとみられる。今までアヤマ科に発生し、Potyvirus 群に属すると思われるウイルスとしては bearded iris mosaic virus^{3,4,6}, beardless iris mosaic virus¹⁰, bean yellow mosaic virus (BYMV)¹², iris fulva mosaic virus² iris mild mosaic virus (IMMV)^{1,7,8,9,10,15,16,17}, iris severe mosaic virus (ISMV)^{1,8,9,15,16,17} および turnip mosaic virus (TuMV)^{11,13} が記録されているが、そのうち球根アイリスに発生するウイルスは BYMV, IMMV, ISMV および TuMV の 4 種である。わが国では球根アイリスにモザイク病の発生が著しく多く、各地で採集したモザイク病株について調べてみると、粒子の長さ 750nm と 650nm のひも状で、寄生性の狭い 2 種のウイルスが普通に検出された。前者のウイルスはわが国で報告された TuMV¹³ や BYMV¹² と異なり、寄生性や粒子の形態などの点で IMMV^{1,5,7,10} および ISMV^{1,8,9} に近い。

IMMV と ISMV は世界に広く分布し、球根アイリスに常に混合感染しているといわれる^{5,7,8,9,10}。両ウイルスは粒子の形態が類似するが、血清学的に異なることによって判別され^{2,4,9,15,17}、また寄生性についても差異がみられる。IMMV は *N. clevelandii* や *N. megalosiphon* に全身感染して軽い chlorosis を生じ、ツルナに局部病斑を形成する¹⁰が、ISMV は IMMV によって感染しない *C. quinoa* に特徴的な退色の局部病斑を生ずる⁹。本報で明らかにした粒子長 750nm のウイルスは *N. clevelandii* の接種葉に無病徴感染したが、全身感染せず、*C. quinoa* では明瞭な退色局部病斑を生じ、ツルナでは淡い退色局部病斑を生ずるなどの点で IMMV と異なり、*C. quinoa* での症状は ISMV⁹ に類似する。また粒子の長さの分布 (Fig. 1) は 750nm のみにピークがあり、650nm の粒子がみられなかったことから、ウイルス分離後の供試標本には、前述原株に含まれていた 650nm の混在がなく、750nm のウイルスのみの単独と考えた。さらに本ウイルスは ISMV の抗血清とよく反応したが、IMMV の抗血清とは反応しなかった。以上の所見から本報ウイルスは iris severe mosaic virus と同定された。

既報の ISMV はツルナ、センニチコウおよび *N. clevelandii* には感染しない⁹が、本報 ISMV は *C. quinoa* や *C. amaranticolor* の他にツルナ、センニチコウおよび *N. clevelandii* に局部感染した。これらの植物に対する感染性は免疫電顕法により病斑内のウイルスがいずれも ISMV の抗血清とよく反応し、IMMV の抗血清と反応しなかったことから確かめられた。以上のことから本報 ISMV の寄生性は既報の ISMV と若干異なるもののようである。また ISMV は調査を行った新潟、富山両県を始め、近畿、中・四国、九州地方の各地の球根アイリスから検出され、日本各地に広く分布していることが認められた。

摘 要

本報はモザイク病を発生する球根アイリスから最も普通に検出される病原ウイルスについて調べ、これを iris severe mosaic virus と同定し、その諸性状について記載したものである。

本ウイルスは汁液接種を行った 13 科 44 種の植物のうち、球根アイリスに全身感染し、*C. amaranticolor*, *C. quinoa*, ツルナ, センニチコウに局部感染、*N. clevelandii* の接種葉に無病徴感染した。これらの植物への感染性は免疫電顕法により再確認できた。本ウイルスはモモアカアブラムシおよびワタアブラムシによって非永続

的に伝搬された。汁液中での不活化温度は60~65°C, 希釈限度は 10^{-3} ~ 10^{-4} , 保存限度は3~4日(20°C)であった。ウイルス粒子の形態は750×13nmのひも状である。病葉のDN法試料の電顕観察では平板状または管状の細胞質内封入体が認められ, その面には線間隔約5.3nmの平行微細構造がみられた。感染植物細胞の超薄切片像で, 細胞質内に散在するウイルス粒子が認められ, また pinwheel, laminated aggregates,

bundle などの細胞質内封入体が観察された。

本ウイルスは ISMV の抗血清と免疫電顕法により粒子の表面に特異抗体が付着し, 反応陽性と認められた。同試料に混入した CyMV は同抗血清と反応しなかった。また本ウイルスは IMMV, PVY, BYMV および TuMV の抗血清とは微凝集反応法で反応が認められなかった。

引用文献

1. Asjes, C. J. (1979). Neth. J. Pl. Path. 85: 269-279.
2. Barnett, O. W. and Alper, M. (1977). Phytopathology 67: 448-454.
3. Barnett, O. W. and Brunt, A. A. (1975). CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses No. 147.
4. Barnett, O. W., Zoeten, G. A. de and Gaard, G. (1971). Phytopathology 61: 926-932.
5. Brierley, P. and McWhorter, F. P. (1936). J. Agr. Res. 53: 621-635.
6. Brierley, P. and Smith, F. E. (1948). Phytopathology 38: 574-575.
7. Brunt, A. A. (1968). Ann. appl. Biol. 61: 187-194.
8. Brunt, A. A. (1972). Rep. Glasshouse Crops Res. Inst. 1971: 119.
9. Brunt, A. A. (1973). Rep. Glasshouse Crops Res. Inst. 1972: 103-104.
10. Brunt, A. A. (1973). CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses No. 116.
11. Brunt, A. A. (1976). J. Hor. Sci. 51: 99-104.
12. 井上成信・前田幸憲・光畑興二 (1978). 日植病報 44: 397.
13. 井上成信・光畑興二 (1978). 農学研究 57: 1-16.
14. 井上成信・宮地邦明・光畑興二 (1977). 日植病報 43: 99.
15. Lawson, R. H. (1967). Plant Dis. Repr. 51: 952-956.
16. Loebenstein, G. and Alper, M. (1963). Phytopathology 53: 349-350.
17. Slogteren, D. H. M. van (1963). Virusziekten Jversl. Lab. Bloemboll Onderz. 1962: 80.
18. Travis, R. V. (1975). Phytopathology 47: 454.

Explanation of Plates

Plate I.

1. Symptoms in bulbous iris (cv. Wedgwood) naturally infected with iris severe mosaic virus (ISMV).
2. Dutch iris systemically infected with ISMV, showing mosaic symptoms.
3. Chlorotic local lesions induced by ISMV in *Chenopodium quinoa*.
4. Faint chlorotic local lesions induced by ISMV in *Tetragonia expansa*.
5. ISMV particles in leaf dip preparation. Bar represents 200 nm.
- 6-7. Pieces of inclusions in leaf dip preparations. Bar represents 6: 200 nm, 7: 50 nm.

Plate II.

8. Electron micrograph of leaf dip preparation mixed with antiserum against ISMV. ISMV particles are combined and covered with antibodies, and cymbidium mosaic virus particle remains clear (arrow). Bar represents 200 nm.
- 9-10. Electron micrographs of thin sections of leaf cell of ISMV-infected bulbous iris. Bar represents 9: 500 nm, 10: 200 nm.
11. Electron micrograph of thin section of leaf cell of *C. quinoa* locally infected with ISMV. Bar represents 500 nm.

Plate I

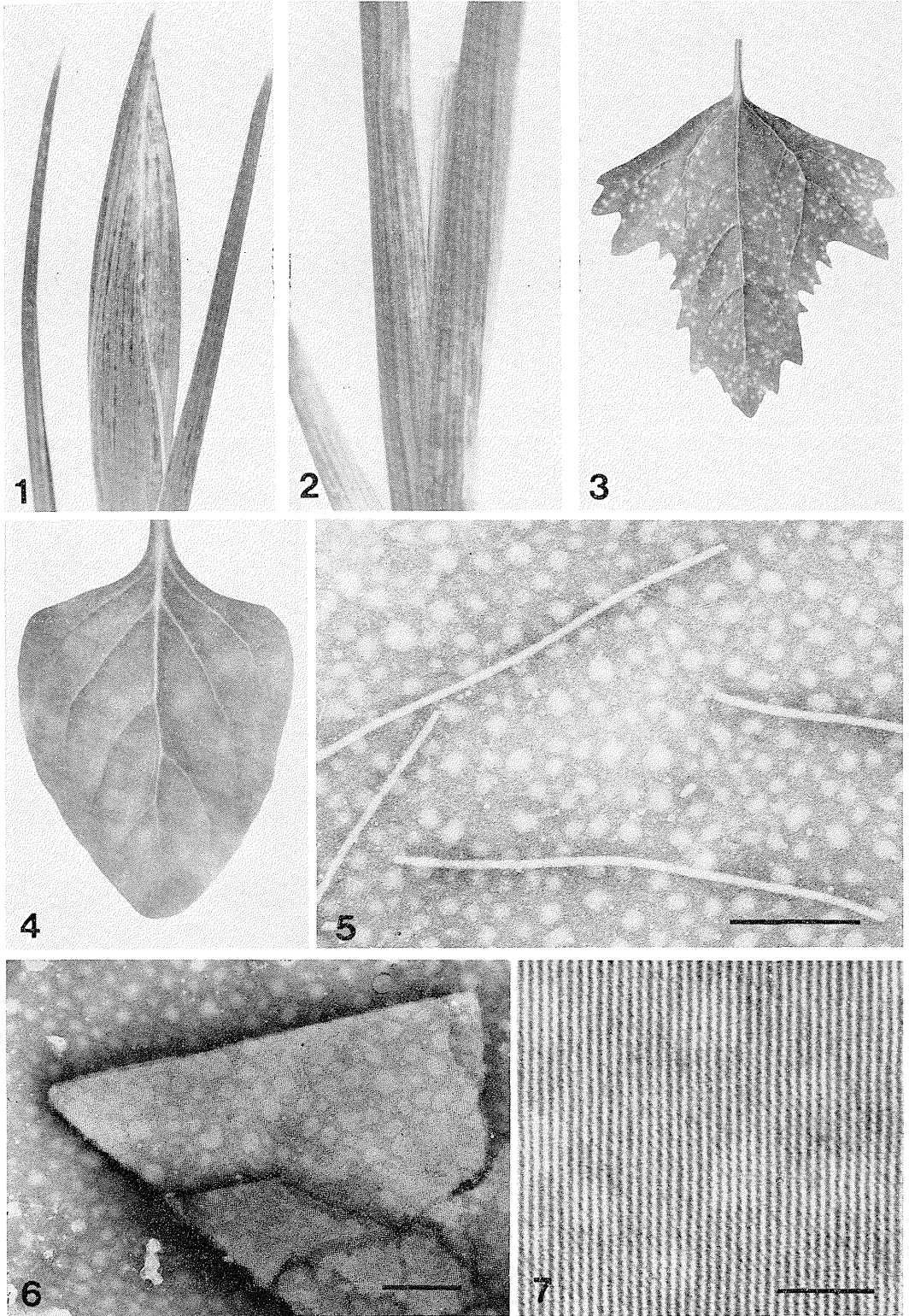


Plate II

