

タバコから分離された Tobacco Streak Virus (タバコ条斑ウイルス : 新称)

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	都丸,敬一 沢,幸男 久保,進 桑田,茂 鈴木,郁男
発行元	日本植物病理學會
巻/号	51巻4号
巻号補足	
掲載ページ	p. 486-489
発行年月	1985年10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



タバコから分離された Tobacco Streak Virus (タバコ条斑ウイルス：新称)

都丸敬一*,***・沢 幸男**・久保 進*・桑田 茂*・鈴木郁男**

Keiichi TOMARU*,***, Yukio SAWA**, Susumu KUBO*, Shigeru KUWATA* and Ikuo SUZUKI**:
Tobacco Streak Virus Isolated from Tobacco Plants in Japan

Abstract

Tobacco streak virus (TSV) was isolated from Burley tobacco plants showing yellowing and veinal necrosis of leaves. Plants of 21 species from 10 genera were infected by the virus. The virus had properties of thermal inactivation point 50–55 C, dilution end point 10^{-3} – 10^{-4} and longevity *in vitro* 12–24 hr, and positively reacted with TSV antisera. Virus particles were isometric with 27–35 nm in diameter. An isolate from symptomless dahlia plant was also identified as TSV. This is the first report of natural occurrence and isolation of TSV in Japan.

Key Words: tobacco streak virus, identification, tobacco, dahlia.

Illarvirus 群の代表ウイルスである tobacco streak virus (TSV)^{1,2)} は Johnson (1936)³⁾ によって、初めて米国のタバコから分離、報告された。以来、南北アメリカ、ヨーロッパ、ニュージーランド等、世界各地で各種の植物における発生が報告されている²⁾。主な発生植物として、タバコ^{2,3)}、ジャガイモ²⁾、トウガラシ⁶⁾、トマト²⁾、ダリア^{2,7)}、ヒマワリ^{2,8)}、エンドウ²⁾、インゲンマメ²⁾、ダイズ^{2,9)}、ササゲ類¹⁰⁾、アスパラガス¹¹⁾、イチゴ¹²⁾ など10科35種以上が知られ、汁液接

種によって感染する植物は21科87種以上が報告されている。これまで、わが国では輸入検疫中のダリアから本ウイルスが検出、分離された例⁷⁾はあるが、自然発生及びそれからのウイルス分離の報告はない。

1983年9月、盛岡たばこ試験場の畑のバーレー種タバコ育成系に、葉の黄化と葉脈のえそを示す病害が10数株発生した。これらの罹病株から1ウイルスが分離され、TSV と同定された。本報告はその研究結果の概要である¹³⁾。

* 日本たばこ中央研究所 Central Research Institute, Japan Tobacco Inc. Umegaoka, Yokohama 227, Japan

** 日本たばこ盛岡試験場 Morioka Experiment Station, Midorigaoka, Morioka 020-01, Japan

*** 現在；東京農業大学総合研究所 Present address; Nodai Research Institute, Tokyo University of Agriculture, Sakuragaoka, Setagayaku, Tokyo 156, Japan

1) Fulton, R. W. (1981). In Handbook of plant virus infections and comparative diagnosis. (Kurstak, E. ed.) Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam. pp. 377–413. 2) Fulton, R. W. (1971). CMI/AAB Descriptions of plant viruses No. 44. 3) Johnson, J. (1936). Phytopathology 26: 285–292. 4) Gooding, G. V. Jr. (1971). Ibid. 61: 1303–1304. 5) Salazar, L. F., Abad, J. A. and Hooker, W. J. (1982). Ibid. 72: 1550–1554. 6) Gracia, O. and Feldman, J. M. (1974). Phytopath. Z. 80: 313–322. 7) 松涛美文・剣持秀禧・及川 巖・西尾 健・木村 茂 (1976). 植物防疫所調査研究報告 13: 49–54. 8) Dijkstra, J. (1983). Neth. J. Pl. Path. 89: 155–169. 9) Fagbenle, H. H. and Ford, R. E. (1970). Phytopathology 60: 814–820. 10) Kaiser, W. J., Wyatt, S. D. and Pesho, G. R. (1982). Ibid. 72: 1503–1512. 11) Mink, G. I. and Uyeda, I. (1977). Plant Dis. Repr. 61: 398–401. 12) Stace-Smith, R. and Frazier, N. W. (1971). Phytopathology 61: 757–758. 13) 都丸敬一・沢 幸男・久保 進・桑田 茂・鈴木郁男 (1984). 日植病報 50: 444. (講要).

パーレー種タバコ育成系 (Burley 21-LBS-2, -18) の罹病葉からの分離株 T1, T2, また発生畑に隣接する民家の庭の無病徴のダリアからの分離株 D1 を供試した。汁液接種には主として亜硫酸ソーダ (0.01 M) を加用したりん酸緩衝液 (0.1 M, pH 7.0) とともに磨砕した罹病葉汁液を用い、接種実験はすべてガラス温室内 (温度23-25°C) で行った。

畑の罹病タバコ原株では、側芽の葉の黄化と葉脈 (支, 細脈) の条斑えそを伴う顕著な病徴を示した (Plate I-1)。汁液接種したタバコでは、初めに接種葉の輪状えそ斑を生じ、続いて頂葉及び上位葉の葉脈のえそ条斑を示し、葉は奇形となった。急性病徴期を過ぎると、上位葉は病徴がかくれ、正常に近い外観を呈した (Plate I-2, 5), 接種1-2か月後には上位葉の葉縁は鋸歯状となり、本ウイルス特有の病徴を示した。鋸歯状葉は Xanthi-nc などオリエント種タバコで特に顕著であった (Plate I-7)。病徴のかくれた葉及び鋸歯状葉の粗汁液にも高い感染性が認められたが、この事実も本ウイルスの特徴のひとつである。花も奇形を生じ、花卉の先端が異常に尖り、また花卉の裂開も時々観察された (Plate I-6)。その他各種植物の反応を Table 1 及び Plate I-3, 4, 8 に示した。これらのうち *Petunia hybrida* では病徴はほとんど現われず、遮光下で軽度の濃淡斑を示し、トマトは感染しなかった。また、キュウリの全身感染葉からの戻し接種は成功しなかった。判別植物としてはタバコ (Xanthi-nc 等) のほか、センニチコウ, guar などが適当である。guar は Fulton²⁾ によって推奨された局部病斑のみを示す宿主であるが、感受性は低かった。分離株 D1 についてもタバコのほか10数種の植物について T1 及び T2 と同時に検定した。供試した各分離株は、各種植物でいずれもほぼ同様な病徴を示したが、タバコでは T1 は T2 より病徴はやや軽く、D1 は両者の中間であった。また *Nicotiana glutinosa* では D1 のみが顕著な花の異常を生じた (Plate I-4)。

亜硫酸ソーダ加用りん酸緩衝液中の T1 及び T2 感染タバコ葉汁液は、いずれも耐熱性50-55°C (10分), 耐希釈性 10^{-3} - 10^{-4} , 耐保存在12-24時間 (25°C) を示した。タバコ (Burley 21, Xanthi-nc) を用い、T1, T2 及び D1 の各分離株相互間 (reciprocal) の cross protection test を行った。一次ウイルス接種後、病徴のかくれた葉に二次ウイルスを接種し、接種葉と全身感染葉の病徴を観察した。その結果いずれもほぼ完全な protection を示した。対照として、タバコ畑周辺の畑のアスパラガスから分離され、タバコの病徴が

T1 に類似するが、より軽微な未同定ウイルスを用い、T1, T2 との相互間の cross protection を調べた結果、ともに protection は認められなかった。

感染した *N. glutinosa* 葉の direct negative staining 法及び Salazar ら (1982)⁵⁾ の方法によって精製したウイルスの電子顕微鏡観察の結果、直径27-35nm の球状粒子が認められた (Plate I-10)。また精製した T2 分離株のしょ糖密度勾配遠心 (しょ糖密度10-40%) では2-3個のピークを持つ超遠心パターンを示した。さらに、Fulton 博士から分譲された TSV 抗血清を用い、寒天ゲル拡散法によって、T1, T2, D1 各分離株の感染葉汁液及び T2 精製ウイルスとの血清反応を調べた。その結果、各分離株とも単一の反応帯を形成した (Plate I-9)。試験した T1 と T2 及び T2 と D1 の反応帯は融合し、分枝線の形成は認められなかった。また横浜植物防疫所から分譲を受けた松涛氏らの TSV 抗血清⁷⁾ と T2 精製ウイルスとは単一の反応帯を形成し、陽性反応を示した。

TSV は2, 3の植物で種子伝染が知られている^{2, 14)}。そこで、T1 感染 *Chenopodium amaranticolor* 及び Xanthi-nc タバコからの種子について、本ウイルスの種子伝染を調べた。その結果、前者では高率 (95%) の種子伝染が認められたが、タバコでは観察されなかった。また、T1, T2, D1 の各分離株について Burley 21 タバコを用いてモモアカアブラムシによる伝搬試験を行ったが、伝搬は全く認められなかった。

以上の結果は、実験の限りではトマトに感染しなかったことなど既往の報告と異なる点はあるが、その他はよく適合し、T1, T2, D1 はいずれも TSV と同定された。既報の TSV には、各種植物の反応、血清反応等の差異、cross protection の有無などから各種の系統が報告されている^{1, 2, 4)}。本報告の3分離株はいずれも相互にきわめて近縁であり、既報の type strain^{1, 2, 4, 5)} に近いと思われるが、詳細については今後の検討が必要である。本ウイルスの和名をタバコ条斑ウイルスとし、本ウイルスによるタバコの病害をタバコ条斑病と命名することとした。

本ウイルスがタバコに発生した伝染経路を探索する目的から、発生畑周辺の植物について検索した結果、前述のように、無病徴のダリアから D1 が分離され、アスパラガスからは T1, T2, D1 とは cross protection のない、また、TSV との血清反応の認められない未同定のウイルスが分離された。さらに、同一地域の別のダリア及びタバコ¹⁵⁾ から tomato spotted wilt virus (TSWV) が分離されている。TSV^{10, 14)} 及び

Table 1. Results of sap inoculation of T1 and T2 isolates to various plants^{a)}

1. Plants showed necrotic local lesions on inoculated leaves, systemic necrosis, mottle and malformation of leaves; tobacco^{b)} (cvs. Burley 21, Ky 57, Bright Yellow 4, Mastukawa, Shiroensyu, Xanthi, Xanthi-nc, Samsun), *Nicotiana sylvestris*, *N. langsdorffii*, *N. debneyi*, *N. longiflora*^{b)}, *N. repanda*^{b)}, *Physalis floridana*, *Datura metel*, cowpea (cv. Kurodanes-anjaku), *Gomphrena globosa*, *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*.
2. Plants showed systemic mottle with little necrosis; *N. glutinosa*, *N. clevelandii*^{b)}, *N. rustica*^{b)}, *N. otophora*, *Capsicum annuum*, *Datura stramonium*^{b)}, *Petunia hybrida*, cucumber (cv. Sagamihanjiro)^{c)}
3. Plants showed only necrotic local lesions on inoculated leaves; *Cyamopsis tetragonaloba* (guar).
4. Plants not infected; tomato (cvs. Kurihara, Fukuju 100).

a) Inoculum was prepared by grinding of infected tobacco leaves with Na₂SO₃-added phosphate buffer (0.1 M, pH 7.0).

b) Plants showed flower abnormality.

c) Chlorotic spots on the inoculated leaves.

TSWV はともにスリップスによる伝搬が知られていることから、ダリアからタバコへのスリップスによる伝搬が考えられる。TSV は宿主域がきわめて広く、越冬宿主または伝染原植物として他の植物の存在の可能性もあり、今後の検討が必要である。

TSV 抗血清を分譲していただいた R. W. Fulton 博士 (米国ウイスコンシン大学) 及び横浜植物防疫所西尾 健氏ほか関係各位に深謝の意を表する。

(昭和60年3月6日受理)

Explanation of plate

Plate I

- Fig. 1. Symptoms of Burley 21-LBS tobacco naturally infected with TSV.
- Fig. 2. Symptoms of Bright Yellow tobacco 12 days (24 C) after inoculation with T1 isolate.
- Fig. 3. Flower abnormality of *Datura stramonium* inoculated with T1 isolate.
- Fig. 4. Flower abnormality of *Nicotiana glutinosa* inoculated with D1 isolate.
- Fig. 5. Symptoms of Xanthi-nc tobacco inoculated with T2 isolate, at the recovery stage.
- Fig. 6. Flower abnormality of Xanthi-nc tobacco inoculated with T2 isolate.
- Fig. 7. Toothed leaves of Xanthi-nc tobacco inoculated with T2 isolate.
- Fig. 8. Chlorotic spots in inoculated leaf of cucumber (Sagamihanjiro) with T2 isolate.
- Fig. 9. Agar-gel double diffusion test with TSV antiserum and T2 isolate. As: Fulton's TSV antiserum (1:20), 1, 2, 4: purified preparations of T2 isolate (1, 4: 100 µg/ml, 2: 50 µg/ml), 3: purified preparation of cucumber mosaic virus Y strain 100 µg/ml, 5: sap of healthy *N. glutinosa* leaves (1:2), 6: Sap of *N. glutinosa* leaves infected with T2 isolate (1:2).
- Fig. 10. Electronmicrograph of purified preparation of T2 isolate, fixed in 5% glutaraldehyde for 15 min and stained in 2% uranyl acetate. Bar represents 100 nm.

14) Johnson, H. A. Jr. Converse, R. H., Amorao, A., Espejo, J. I. and Frazier, N. W. (1984). Plant Dis. 68: 390-392. 15) 都丸敬一・沢 幸男・鈴木郁男・田中行久・桑田 茂・高浪洋一・久保 進 (1984). 日植病報 50: 113. (講要).

Plate I

