

モモ(昭和早生)から分離したApple chlorotic leaf spot virus

誌名	弘前大学農学部学術報告 = Bulletin of the Faculty of Agriculture, Hirosaki University
ISSN	0073229X
著者	澤村, 健三 荒井, 治喜 山下, 一夫
巻/号	50号
掲載ページ	p. 16-21
発行年月	1988年12月

モモ（昭和早生）から分離した Apple chlorotic leaf spot virus

澤村 健三・荒井 治喜*・山下一夫**

植物病理学講座

(1988年10月30日受付)

緒 言

弘前大学附属農場（青森県藤崎町）に栽植の外観健全なモモ成木14品種14樹について汁液伝染性のウイルス感染の有無を *Chenopodium quinoa*, *Nicotiana glutinosa* およびキュウリ（品種四葉）に対する汁液接種によって検定した。このうちモモ品種昭和早生に潜在感染するウイルスについて草本植物の宿主範囲、接木試験、物理的性質、および免疫電子顕微鏡法などによって同定を試みた。その結果、本ウイルスは Apple chlorotic leaf spot virus (CLSV) の1系統であることが判明したのでここに報告する。

本研究を行うにさいし、CLSVの普通系の抗血清を分譲された農林水産省果樹試験の柳瀬春夫博士に御礼申し上げる。また電子顕微鏡写真の作製について援助された植物病理学講座の藤田隆氏に感謝する。

実験材料および方法

ウイルスの分離：1984年5月、附属農場栽植のモモ品種見本園の開花中の樹齢約30年生樹より花卉を採取し、直ちに -20°C で凍結保存した。汁液接種は2.5%ニコチン液で花卉を磨碎し、その粗汁液を用い *C. quinoa*, キュウリおよび *N. glutinosa* にカーボランダム法によって行った。その結果、14品種14樹のうち昭和早生1樹のみから *C. quinoa* に感染するウイルスが検出された。以下の汁液接種法による実験には、継代接種を繰り返した *C. quinoa* を接種源として供試した。

汁液接種：接種源の *C. quinoa* の葉に0.01モルリン酸緩衝液 (pH 7.4) をそれぞれ2~3倍容加えて磨碎し、カーボランダム法によって接種した。接種した各植物からの戻し接種には *C. quinoa* を用いた。

木本植物への接木：ウイルスが検出された昭和早生をリンゴ潜在ウイルスの木本指標植物である *Malus platycarpa*, *M. scheideckeri*, マルバカイドウ (*M. prunifolia* var. *ringo*), R12740-7 A および Virginia Crab に接木した。接木はポット植えのリンゴ実生苗を台木とし、指標植物の穂木を切接ぎすると同時に、モモの休眠芽を台木に埋め込む方法で行った。接木した苗木はガ

* 現在農林水産省北陸農業試験場

** 現在青森県畑作園芸試験場園芸部

ラス室内で管理し、2シーズンにわたって病徴の観察を行った。

物理的性質：*C. quinoa* の罹病葉に9倍容の0.01モルリン酸緩衝液 (pH 7.4) を加えて磨碎し、ガーゼでろ過した粗汁液を用いて、耐希釈性、耐熱性 (10分間)、耐保存性 (25℃) を調べた。

電子顕微鏡観察および血清反応：ウイルス粒子の観察は本ウイルスに感染した *C. quinoa* の罹病葉を供試し、2% リンタングステン酸 (pH 7.0) を用いネガティブ染色法によった。血清反応は免疫電子顕微鏡法 (免疫電顕) により、小島 (4) の方法に準じて行った。

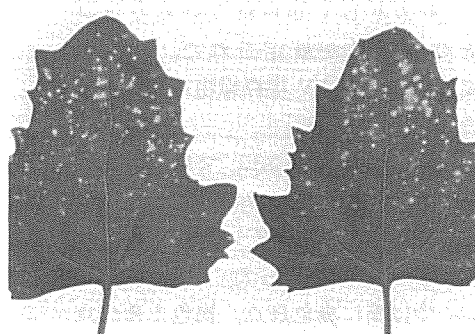
実験結果

(1) 草本植物宿主範囲および病徴

C. quinoa : 接種3~4日後の接種葉にやや陥没した1~3mmの水浸状の斑点が現れ、しだいにえそ斑点となる (第1図)。やがて上葉には退緑斑紋あるいはえそ斑点を伴った全身病徴が現れた。

C. amaranticolor : 接種葉にえそ斑点を生じ、上葉には退緑斑点を伴う全身病徴を示した。

フダンソウ (*Beta vulgaris*) : 接種葉には周縁が退緑したえそ斑点を



第1図 *C. quinoa* の接種葉に生じたえそ斑点

第1表 モモ分離ウイルスの宿主範囲

接 種 植 物	接種葉	上 葉	戻し接種*
<i>Chenopodium quinoa</i>	NS	NS CS	+
<i>C. amaranticolor</i>	NS	CS	+
フダンソウ (<i>Beta vulgaris</i>)	NS CS	-	+
センニチコウ (<i>Gomphrena globosa</i>)	-	-	+
ケイトウ (<i>Celocia cristata</i>)	-	-	-
ハゲイトウ (<i>Amaranthus tricolor</i>)	-	-	-
<i>Nicotiana glutinosa</i>	-	-	-
ペチュニア (<i>Petunia hybrida</i>)	-	-	-
チョウセナガオ (<i>Datura stramonium</i>)	-	-	-
セイヨウカボチャ (<i>Cucurbita maxima</i>)	-	-	-
キュウリ (<i>Cucumis sativus</i>)	-	-	-
ササゲ (<i>Vigna sinensis</i>)	-	-	-
インゲン (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	-	-	-
アズキ (<i>P. radiatus aurea</i>)	-	-	-

NS : necrotic spot, CS : chlorotic spot

* *Chenopodium quinoa* の反応

生じた。全身病徴は示さなかった。

センニチコウ (*Gomphrena globosa*) : 無病徴感染で、上葉からは *C. quinoa* にウイルスが回収された。

汁液接種によってケイトウ (*Celocia cristate*), ハゲイトウ (*Amaranthus tricolor*), *N. glutinosa*, ペチュニア (*Petunia hybrida*), チョウセンアサガオ (*Datura stramonium*), キュウリ (*Cucumis sativus*), セイヨウカボチャ (*Cucurbita maxima*), ササゲ (*Vigna sinesnis*), インゲン (*Phaseolus vulgaris*), アズキ (*P. radiatus* var. *aurea*) などは発病しなかった (第1表)。

(2) 木本植物への接木試験

外観健全なモモ昭和早生から分離したウイルスの諸性質からリンゴや核果類に潜在感染するウイルスとして知られているリンゴ CLSV との同一性が推定された。そこで *Malus* 属の数種の CLSV 指標植物に接木接種を行った。

その結果, *Malus platycarpa*, マルバカイドウ, ロシアリンゴの R 12740-7A, および Virginia Crab には2シーズン後までまったく反応が認められなかった。しかし, *M. scheideckeri* では葉に赤色斑点, 褐色え死斑点あるいは epinasty などが認められた (第2図)。

(3) 物理的性質

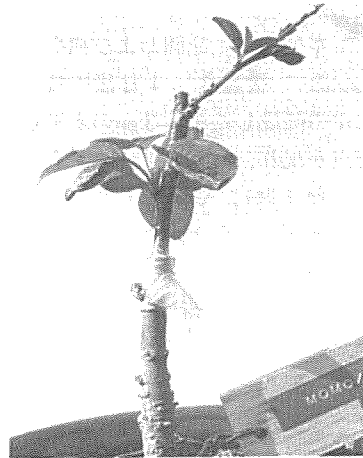
耐希釈性: 粗汁液を0.01モルリン酸緩衝液 (pH 7.0) で10倍ごとに希釈した。希釈限界は 10^{-5} ~ 10^{-6} 倍であった。

耐熱性: 粗汁液を試験管に5 ml ずつ分注し所定の温度で10分間処理し, ただちに流水中で冷却して接種した。その結果, 55℃ではわずかに活性が認められたが, 60℃では完全に活性が失われた (第2表)。

耐保存性: 粗汁液を25℃の定温器に静置した。6時間後までは活性が認められたが, 24時間後には活性を失った (第2表)。

(4) 電子顕微鏡観察および血清反応

電子顕微鏡観察の結果, *C. quinoa* の罹病葉から屈曲に富んだ600~700nm のひも状粒子が観察された。CLSV の抗血清を用いたトラップ・デコレーション法によってひも状粒子がトラップされ, 粒子の表面は抗原抗体反応により, 黒くデコレーションされていた。



第2図 *M. scheideckeri* の病徴

第2表 モモ分離ウイルスの物理的性質*

耐保存性 時間	耐保存性 活性	耐熱性		耐希釈性	
		温度	活性	倍数	活性
0時間	+	20℃	+	10^{-1} 倍	+
3	+	45	+	10^{-2}	+
6	+	50	+	10^{-3}	+
24	-	55	+	10^{-4}	+
		60	-	10^{-5}	+
				10^{-6}	-

* *C. quinoa* の反応

考 察

核果類果樹に潜在感染し、草本植物に汁液伝染するウイルスとして CLSV, Prunus necrotic ring spot virus (NRSV) および Prune dwarf virus (PDV) などが知られている (2, 3, 7)。モモ昭和早生から分離された本ウイルスは、その粒子の形態がわん曲した長さ約600~700nmのひも状粒子であることから球形粒子の NRSV あるいは PDV とは明らかに異なる。

また汁液伝染するがウイルス粒子未確認の Prunus latent virus-1 とはマメ科植物に対する寄生性などの点で異なる。本ウイルスは粗汁液中の物理的性質および草本植物の宿主範囲が狭いなどの点で CLSV の普通系とやや異なるが、粒子の形態および CLSV 抗血清と特異的反応が認められたことから CLSV の 1 系統であると同定した。

CLSV には木本指標植物に対する反応から数種の系統があることが知られている。GILMER ら (1) および MINK ら (6) は外観健全なクラブリンゴの 1 種 Jay Daring に潜在感染し、CLSV の指標植物である R 12740-7A には何らの病徴も示さないが、汁液接種で *C. quinoa* に CLSV の典型的な病徴を現すウイルスを分離した。このウイルスの物理的性質、粒子の形態および血清反応などから超潜在系 (super latent strain) と呼んだ。YANASE (8) もまたわが国で CLSV の指標植物であるマルバカイドウに無病徴感染しているが R 12740-7A またはミツバカイドウ (*M. sieboldii*) のある clone で検出できるウイルスを CLSV のマルバカイドウ潜在系と称した。本試験でもモモから分離した本ウイルスは既知の CLSV 木本指標植物には無病徴であったが、*M. scheideckeri* の葉に褐色斑点や epinasty を現した。松中ら (5) は *M. scheideckeri* は CLSV の普通系ばかりでなくマルバカイドウ潜在系をも検出できる有用な指標植物であることを報告している。本ウイルスは CLSV の普通系あるいはマルバカイドウ潜在系に該当しないことは明らかであるが、超潜在系であるかどうかは明らかでない。

わが国においてはすでに小林ら (3) によって CLSV が輸入核果類および国内産モモから分離された。しかも、このウイルスはマルバカイドウあるいは R 12740-7A では検出できない CLSV の 1 系統であった。また宗形ら (7) は CLSV 抗血清を用いた ELISA 法によって CLSV の検定を行ったところ、モモ990個体のうち72.1%が陽性であったことを報告している。このことからわが国の核果類にも広く CLSV が分布していることが示唆される。

摘 要

モモ (昭和早生) から汁液接種によって *Chenopodium quinoa* に分離されたウイルスについて同定を試みた。

本ウイルスは *C. quinoa* および *C. amaranticolor* に全身感染し、フダンソウに局部病斑を形成し、センニチコウには無病徴感染した。ケイトウなどには感染せず、比較的宿主範囲は狭かった。接木によって *Malus platycarpa*, R 124740-7A およびマルバカイドウは無病徴宿主であったが、*M. scheideckeri* は発病した。

本ウイルスの耐希釈性は 10^{-5} ~ 10^{-6} 倍、耐熱性は55~60℃、耐保存性は6~24時間であった。本ウイルス粒子の形態は約650~700nmの屈曲に富んだひも状で、免疫電子顕微鏡法によって Apple chlorotic leaf spot virus (CLSV) の抗血清と反応し、黒くデコレーションされた。

以上の結果、本ウイルスは CLSV の普通系あるいはマルバカイドウ潜在系に属さない 1 系であると考えられる。

引用文献

1. GILMER, R. M. and G. I. MINK : Latent virus of apple III. Indexing with *Chenopodium quinoa*. *Search Agr.* **1** : 15 - 21, 1971.
2. 岸 国平, 高梨和雄, 我孫子和雄 : 核果類から分離された一種の汁液伝染性潜在ウイルスについて. 園試報(A) **12** : 209 - 215, 1973.
3. 小林敏郎, 西尾 健, 加藤幹雄, 元島俊治 : 核果類から分離された apple chlorotic leaf spot virus. 植防研報 **17** : 1 - 7, 1981.
4. 小島 誠 : 免疫電子顕微鏡法による植物ウイルス病の診断. 植物防疫 **34** : 110 - 115, 1980.
5. 松中謙次郎, 瀬川一衛 : リンゴ潜在ウイルスに関する研究. 日植病報 **44** : 389, 1978.
6. MINK, G. I., J. R. SHAY, R. M. GILMER, and R. F. STOUFFER : Latent viruses of apple. II. Symptoms in woody indicators and strain variation. *Search Agr.* **1** : 9 - 14.
7. 宗形 隆, 山家弘士, 柳瀬春夫 : 福島県内の核果類果実およびその台木における ACLV, PRSV, PDV の感染実態. 日植病報 **51** : 364, 1985.
8. YANASE, H. : Studies on apple latent viruses in Japan : The association of apple topworking disease with apple latent viruses. *Bull. Fruit Tree Res. Stn. ser. C.* **No. 1** : 47 - 109, 1974.

A PEACH LATENT STRAIN OF APPLE CHLOROTIC LEAF SPOT VIRUS ISOLATED FROM A PEACH TREE

Kenzo SAWAMURA, Michiyoshi ARAI* and Kazuo YAMASHITA**

Laboratory of Plant Pathology

SUMMARY

An isolate of apple chlorotic leaf spot virus (CLSV) was detected in one peach tree (cv. Showa-wase) of apparently healthy 14 peach trees grown in the Hirosaki University Farm by mechanical inoculation using peach petals as inoculum source to *Chenopodium quinoa*. The isolate infected *C. amaranticolor* systemically, and induced necrotic and chlorotic spots in the inoculated leaves of *Beta vulgaris*. *Gomphrena globosa* was a symptomless host. The woody indicators of CLSV, such as R 12740-7A, *Malus platycarpa* and Virginia Crab did not show any symptoms by grafting. But, redish or chlorotic leaf spot and epinasty appeared on the leaves of *M. scheideckeri*.

The flexous particules ca. 650-700 nm were observed and serological reactions were obtained between the particules and antiserum for CLSV by immunosorbent electron microscopy.

The thermal inactivation point of the virus was 55-60°C, the dilution end point was 10^{-5} - 10^{-6} and the longevity at 25°C was 6-24 hrs.

Bull. Fac. Agric. Hirosaki Univ. No. 50 : 16 - 21 , 1988.

* Present address : Hokuriku National Agricultural Experiment Station

** Present address : Aomori Field Crops and Horticultural Experiment Station