

宮古・八重山群島のカボチャから分離したZucchini Yellow Mosaic Virus

| | |
|-------|--|
| 誌名 | 日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan |
| ISSN | 00319473 |
| 巻/号 | 512 |
| 掲載ページ | p. 234-237 |
| 発行年月 | 1985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



宮古・八重山群島のカボチャから分離した Zucchini Yellow Mosaic Virus

大津善弘*・佐古宣道**・Susanto SOMOWIYARJO**

Yoshihiro OHTSU*, Nobumichi SAKO** and Susanto SOMOWIYARJO**
: Zucchini Yellow Mosaic Virus Isolated from Pumpkin in
Miyako and Yaeyama Islands, Okinawa, Japan

Abstract

Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) was isolated from *Cucurbita maxima* (cv. Ebisu) cultivated in Okinawa prefecture. The isolates were mechanically transmitted to 15 plant species belonging to 5 families, causing systemic infections in all cucurbitaceous species tested, and nonpersistently transmitted by *Myzus persicae* and *Aphis gossypii*. Filamentous particles (700-800 nm long) were found in both leaf extracts and purified preparations. The isolates reacted with ZYMV antiserum from Italy in immunoelectron microscopy and SDS-immunodiffusion test.

Key Words : zucchini yellow mosaic virus, identification.

沖縄県の宮古・八重山群島における冬春期のカボチャ栽培は、1972年頃に宮古島で始まり、県外出荷用野菜のなかで最も重要な位置を占めるようになって来た。しかし、露地植の作型であるので、ウイルスに起因すると思われるモザイク病が宮古島で1977~1978年頃から、石垣島では特に1980/1981年期に多発生した。筆者ら¹⁾は1981年に宮古・八重山群島で栽培されていたセイヨウカボチャ *Cucurbita maxima* Duch. 品種‘えびす’のモザイク病株から3種類に類別されるPotyvirusを分離した。沖縄県のウリ科作物のPotyvirusとして小室²⁾および津止³⁾は那覇市でのスイカおよびキュウリなどから、それぞれカボチャモザイクウイルス(WMV)を分離し、与那覇ら⁴⁾は那覇市のマスクメロンからWMV-1、南風原村のカボチャからWMV-2を分離している。筆者らが類別した病原ウイ

ルスのうち、分離株102¹⁾および169(石垣島および宮古島の‘えびす’からそれぞれ分離された株)を供試して、寄主範囲、伝染方法、粒子の形態、血清学的類縁関係などについて調べた結果、両分離株ともWMV-1およびWMV-2とは異なるウイルスであり、Lisaら⁵⁾が命名したzucchini yellow mosaic virus(ZYMV)であると考えられた。本報告はこれらの実験結果をとりまとめたものである。本研究を行うにあたり、ZYMV抗血清などを分譲されたV. LisaおよびD. Purcifull両博士に深謝の意を表する。

病徴ならびに寄生範囲 ウイルスは *Chenopodium amaranticolor* を用いて単一病斑分離法により分離し供試した。分離株102を子葉期の‘えびす’に接種したところ、第1葉に微小なえそ斑点を現わし、第2葉では帯黄色の葉脈透化となり、第3葉からモザイクを

* 熱帯農業研究センター-沖縄支所 Okinawa Branch of Tropical Agriculture Research Center, Ishigaki 907-01, Japan

** 佐賀大学農学部 Faculty of Agriculture, Saga University, Saga 840, Japan

1) 大津善弘・佐古宣道(1983). 日植病報 49: 87(講要). 2) 小室康雄(1962). 日植病報 27: 31-36.
3) 津止健市(1971). 琉球農試報告 9: 43-54. 4) 与那覇哲義・田盛正雄・根川 守・桑江 忠・久部良
敦子(1977). 琉大農学報 24: 181-190. 5) Lisa, V., Boccoardo, G., D'Agostino, G., Dellavalle, G., and
d'Aquilio, M. (1981). Phytopathology 71: 667-672.

Table 1. Host range of isolate 102 and the symptoms on test plants

| Test plants | Symptoms ^{a)} | |
|--|------------------------|--------------|
| | Inoculated leaves | Upper leaves |
| Aizoaceae | | |
| <i>Tetragonia expansa</i> Murr. | L | O |
| Amaranthaceae | | |
| <i>Gomphrena globosa</i> L. | L | O |
| Chenopodiaceae | | |
| <i>Chenopodium amaranticolor</i> Coste et Reyn. | cll | O |
| <i>C. quinoa</i> Willd. | L | O |
| <i>Spinacia oleracea</i> L. 'Atorasu' | L | O |
| Cucurbitaceae | | |
| <i>Citrullus lanatus</i> (Thumb.) Matsum. et Nakai 'Shimamakkusu KE' | L | M, Mal |
| <i>Cucumis melo</i> L. 'Arusufeboritto-harukei' | nll | M, N |
| <i>C. sativus</i> L. 'Chikanarisanto' | L | M |
| <i>Cucurbita pepo</i> L. 'Zucchini' | L | M, Mal |
| 'Nishikikanronankin' | L | M, Mal |
| <i>C. maxima</i> Duch. 'Ebisu' | L | M |
| <i>C. moschata</i> Duch. 'Hayato', 'Shima', 'Mokka' | L | M |
| <i>Luffa acutangula</i> Roxb. | L | L |
| Leguminosae | | |
| <i>Pisum sativum</i> L. 'Alaska' | L | O |
| <i>Vicia faba</i> L. 'Wasesoramame' | L | O |

a) cll: chlorotic local lesions, nll: necrotic local lesions, L: latent, M: mosaic, Mal: malformation, N: necrosis, O: no symptoms and no virus recovered to *C. amaranticolor*.

生じた。分離株 102 の寄主範囲は接種源に 'えびす' の病葉汁液を用い常法による汁液接種で調べた。病徴が認められない植物については、*C. amaranticolor* に戻し接種を行って、ウイルス感染の有無を調べた。本ウイルスは 5 科 15 種の植物に感染し、供試したほとんどのウリ科植物に全身病徴を示した。すなわち、ペポカボチャ 'ズッキーニ'・'錦甘露南瓜'、スイカ '綺王マックス KE' にはモザイクと奇形を、メロン 'アールスフェボリット春系' には局部病斑、モザイクおよびえそを生じ、*Luffa acutangula* Roxb. に無病徴感染した。*C. amaranticolor* に局部病斑を生じ、*C. quinoa*、ハウレンソウ、ツルナ、センニチコウ、エンドウ、ソラマメに不顕性局部感染した (Table 1)。一方、*Nicotiana benthamiana*、*N. glutinosa*、タバコ 'BY 4 号'・'Xanthi'、*Datura stramonium*、オシロイバナ、パパイヤ、ササゲ '黒種三尺大長ささげ'、インゲン '大平英尺五寸' には感染が認められなかった。

アブラムシ伝搬および粗汁液中の不活化 罹病カボチャ 'えびす' から同健全カボチャへのアブラムシによる伝搬の有無を調べるために、絶食 2~2.5 時間、獲得吸汁 3~5 分間、接種吸汁 24 時間の条件で、カボチャ 1 本当たり 5 頭のアブラムシを用いて試験を行った。その結果、モモアカアブラムシによってカボチャ 30 本中分離株 102 は 24 本、分離株 169 は 23 本、ワタアブラムシによって 30 本中分離株 102 は 9 本、分離株 169 は 20 本に発病し、両分離株ともアブラムシによって非永続的に伝搬された。

カボチャの病葉汁液 (10 倍容の 0.01 M 磷酸緩衝液 pH 7.0 を加えて磨碎搾汁) 中での保存限界を調べるために、検定植物として *C. amaranticolor* を用い汁液接種を行った結果、両分離株の希釈限界は 10^{-4} ~ 10^{-6} 、耐熱性は 60~65°C (10 分)、耐保存性は 12 日前後 (25°C) であった。

ウイルス粒子 常法⁶⁾ に準じてカボチャ罹病葉か

6) Sako, N., Matsuo, K., and Nonaka, F. (1980). Ann. Phytopath. Soc. Japan 46: 639-646.

ら純化したウイルス（分離株102および169）は、260 nm での吸収値が2.86の時、1 mg/ml の基準⁷⁾で計算すると、100g 当たり 0.72 mg (0.42~1.22 mg) であった。純化ウイルス標品は 247 nm で極小値、260 nm で極大値、291 nm 付近でトリプトファンの肩を常に持つ核蛋白の典型的な UV 吸収曲線を示し、 A_{260}/A_{280} は平均1.29 (1.23~1.33) であった。この純化ウイルスを2%酢酸ウラニルで染色して電顕観察を行ったところ、分離株102の長さは測定した150粒子中の77%が700~800 nm の範囲にあった。また同分離株罹病‘えびす’葉から dip 法により作製した試料では、測定した150粒子中の89%が700~800 nm の範囲にあった。

血清試験 純化ウイルス（分離株102）5.2 mg を3回の筋肉注射と1回の静脈注射に分けて免疫した家兎から得た抗血清は、微量沈降反応法で力価1024倍であったが、健全カボチャの粗汁液と2倍希釈まで反応が認められた。血清学的類縁関係を明らかにするために行った免疫電顕法では、純化ウイルスと生理食塩水で250倍に希釈した抗血清をメッシュ上で混合し室温(24~27°C)下で12~20分反応させたのち、3回水洗して、2%酢酸ウラニルで染色して観察した。その結果、供試ウイルス粒子は正常血清と反応せず、ZYMV 抗血清と分離株102に対する抗血清とは明瞭な反応を示した (Fig. 2)。

寒天ゲル内拡散法に用いたゲルの組成は0.85%寒天 (Agar Noble, Difco Lab.)、0.1%ドデシル硫酸ナトリウム (SDS) および0.3%窒化ナトリウムとした。抗原は罹病葉に1g 当たり 1ml の純水を加えて磨

碎、搾汁し、この汁液に等量の1.4% SDS 溶液を混和したのち、室温で45~60分間静置して調製した。D. Purcifull 博士から分譲された抗原 (WMV-1 および WMV-2) はあらかじめ搾汁液を SDS 処理し凍結乾燥した状態で送付されたので、この凍結乾燥物に所定量の純水を加え、再溶解して用いた。その結果、分離株102、169はともに ZYMV 抗血清と反応して明瞭な沈降帯を生じたが、WMV-1 および WMV-2 はこの抗血清とは反応しなかった (Fig. 3)。なお、この後者2抗原は同一条件下の試験で同時に送付されたそれぞれの抗血清と沈降帯を生じたので、抗原としての活性をもっていた。

本実験で得られた供試分離株の諸性質は Lisa ら⁹⁾により記載された ZYMV の性質と良く一致し、また両分離株は Lisa 博士から分譲を受けた ZYMV 抗血清と明らかな血清学的類縁関係を示した。以上の結果から両分離株は ZYMV に属するものと同定された。

Purcifull ら (1984)⁸⁾ はフロリダ州のモザイク罹病カボチャから WMV-1, WMV-2 の他に ZYMV を分離し、Nameth ら (1984)⁹⁾ は ZYMV がカリフォルニア州とメキシコにも発生していると報告しているが、沖縄では石垣島、宮古島の他に八重山群島に属する波照間島、与那国島で採集した罹病カボチャからも、本ウイルスと同一と思われる分離株がすでに検出されている。本研究の結果から、宮古・八重山群島ではウリ科作物の病原ウイルスとして、新たに ZYMV が発生していると結論される。

(昭和59年11月19日受理)

Explanation of plate

Plate I

- Fig. 1. Symptoms in cucurbitaceous plants infected with the two isolates of zucchini yellow mosaic virus (ZYMV). A, mosaic on pumpkin leaf (cv. Ebisu) infected with isolate 102. B, mosaic and malformation on zucchini squash leaves infected with isolate 169.
- Fig. 2. Immunoelectron microscopy of virus particles in purified preparation of isolate 102. A, treated with normal serum. B, treated with homologous antiserum. C, treated with antiserum to ZYMV from V. Lisa, Italy. Bar=300 nm.
- Fig. 3. Immunodiffusion test of ZYMV. Control well contains antiserum to ZYMV from Italy. The antigens of isolates 102 and 169 were freshly prepared in the presence of SDS, and the antigens of WMV-1,-2 and healthy pumpkin from Florida were freeze-dried leaf extracts given by D. E. Purcifull. Outer wells contain SDS-treated antigens from pumpkin leaves; 1, isolate 102; 2, isolate 169; 3, WMV-2 (Florida); 4, WMV-1 (Florida); 5, healthy pumpkin (Florida); 6, healthy pumpkin (cv. Ebisu).

7) Stace-Smith, R., and Tremaine, J. H. (1970). *Phytopathology* 60 : 1785-1789. 8) Purcifull, D. E., Adlerz, W. C., Simone, G. W., Hiebert, E., and Christie, S. R. (1984). *Plant Disease* 68 : 230-233.

9) Nameth, S. T., Dodds, J. A., and Paulus, A. O. (1984). *Phytopathology* 74 : 794 (Abstract).

Plate I

