

ハウレンソウに縮葉症状を起こすキュウリモザイクウイルスの1系統(CMV - SR)

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	善林,六朗 花田,薫 岩木,満朗 渋谷,三郎
発行元	日本植物病理學會
巻/号	49巻5号
巻号補足	
掲載ページ	p. 716-719
発行年月	1983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



ホウレンソウに縮葉症状を起こすキュウリ モザイクウイルスの1系統 (CMV-SR)

善林六朗*・花田 薫**・岩木満朗**・渋谷三郎*

Rokuo ZENBAYASHI*, Kaoru HANADA**, Mitsuro IWAKI** and
Saburo SHIBUKAWA*: A Strain of Cucumber Mosaic Virus
(CMV-SR) Causing Rugose Symptom on Spinach

Abstract

A virus was isolated from spinach plants showing rugose symptom in Saitama prefecture. The virus was readily transmitted by sap inoculation and by aphid, but not through seed of spinach. The virus had similar host range to CMV-P, although it did not produce any symptoms on tomato and cucumber. The virus was spherical particles, 30 nm in diameter, and was serologically indistinguishable from CMV-P. Electrophoresis of RNA of the virus revealed four component showing minor differences in mobility from the components of CMV-Y and CMV-P. We propose the name of the virus, CMV-SR.

Key Words: CMV-SR, serology, RNA, spinach.

1977年秋以降とくに1977年から1979年にかけて、埼玉県北部地域のホウレンソウの葉身が細くなり縮葉症状を示す株が大発生した。わが国で発生が知られているホウレンソウのウイルス病の病原ウイルスには、cucumber mosaic virus (CMV)^{1,2)}, turnip mosaic virus^{2,3)}, beet mosaic virus^{2,4)}, broad bean wilt virus^{5,6)}, beet yellows virus⁷⁾, beet western yellows virus⁷⁾, bean yellow mosaic virus⁸⁾, tobacco mosaic virus⁹⁾, beet necrotic yellow vein virus⁹⁾, tobacco necrotic dwarf virus⁹⁾, および tobacco rattle virus (井上忠男氏からの私信)がある。これらの病原ウイルスはホウレンソウの葉にモザイク、葉脈透化、えそあるいは萎黄症状を生ずる。これに対し、縮葉症状の株にはこれらの病徴が認められず、既報の病原ウイルスによるものと異なることが示唆された。そこで、この縮葉症状の原因を究明するた

め、病原ウイルスを分離し、寄主範囲、伝染方法、粒子の形態、血清学的類縁関係、核酸の電気泳動度、CMV 普通系に対する干渉効果などについて調べた。その結果、縮葉症状は CMV の新しい系統によって起こされていることが明らかとなった。本報告はこれらの実験結果をとりまとめたものである。

本試験を行うにあたり、CMV の普通系、黄斑系およびフキ分離株ならびに CMV-黄斑系の抗血清を分譲された農林水産省植物ウイルス研究所栃原比呂志氏に深謝の意を表する。

病徴 発病株の葉は健全葉にくらべ葉身長はほとんど同じであるが、葉幅が狭く、欠刻が深くなる。また、病葉の中肋および葉脈がうねるように曲がるため葉縁は波状を呈し、葉脈間の盛りあがり著しく、葉身全体に凹凸を生じる (Fig. 1)。葉にはモザイク、葉脈透化、えそおよび萎黄症状は認められない。また、

* 埼玉県園芸試験場 Saitama Horticultural Experiment Station, Kuki, Saitama 346, Japan

** 植物ウイルス研究所 Institute for Plant Virus Research, Tsukuba Science City, Ibaraki 305, Japan

1) 小室康雄・明日山秀文 (1955). 日植病報 20: 77-82. 2) 斎藤康夫・明日山秀文 (1952). 同上 16: 76. 3) 吉井 甫 (1951). 植物病害研究 4: 17-22. 4) 山口 昭・松田貞夫・松井千秋 (1963). 関西病虫研報 5: 50. 5) 向 秀夫・栗原一雄 (1967). 日植病報 33: 93-94. 6) 與良 清・土居養二・小野田正樹 (1967). 同上 33: 94. 7) 大木 理・山下修一・荒井 啓・土居養二・與良 清 (1977). 同上 43: 46-54. 8) 藤沢一郎・土崎常男・飯塚典男 (1982). 同上 48: 592-599. 9) 今泉誠子・久保 進 (1980). 同上 46: 422-423.



Fig. 1. Rugose symptoms on spinach plants (cv. Michinoku) caused by CMV-SR.

他の多くの病原ウイルスで幼苗期感染株にみられる萎黄および枯死が起こらない。

寄主範囲および病徴 本ウイルスの寄主範囲を調べるため、*Nicotiana debneyi* の病葉汁液を用い、13科37種の植物にカーボランダムを用い、常法により汁液接種した。また、本ウイルスと後述の血清試験できわめて近縁なことが明らかになった CMV-P (フキからの分離株) についても、寄主範囲および病徴を比較するため、同種の植物に汁液接種した。病徴が認められない植物については、*Chenopodium amaranticolor* に戻し接種を行って、ウイルス感染の有無を調べた。

その結果、本ウイルスは7科19種の植物に感染性が認められ、ホウレンソウ (10品種) に全身的な縮葉症状を生じたほか、フダンソウに全身的な退緑斑点を生じ、*N. debneyi* にモザイク症状を、*N. clevelandii*, *N. glutinosa*, *N. tabacum* (Samsun) に軽いモザイクを生じた。そのほかトマト (福寿二号, 強力米寿, サターン), タバコ (Bright Yellow, Xanthi nc), キュウリ (ときわ光3号P型), センニチコウ, シュンギク (中葉種), ジニア, ペチュニアに無病徴で全身感染した。また、*C. amaranticolor*, *C. quinoa*, ハタササゲ (Black Eye), ジュウロクササゲ (黒種三尺) に退緑性またはえそ性の local lesion を生じ、ソルナは無病徴で接種葉にのみ感染した。

感染が認められなかった植物は次のものであった。ナス (千両二号), スイカ (大和クリーム), カボチャ (白菊座), メロン (アールス冬系), ハクサイ, ダイコン, キャベツ, カブ, ニンジン, オクラ, ネギ, ゴマ, デントコーン, ソलगム, イタリアンライグラス。

本ウイルスの寄主範囲および病徴は、CMV-P のそれと大部分一致したが、ホウレンソウ, フダンソウ, ビート, トマト, ナス, タバコ (Bright Yellow, Xanthi nc) およびキュウリでは異なり、とくにトマト, タバコおよびキュウリではCMV-Pがいずれにもモザイクを生じたのに対し、本ウイルスはいずれにも病徴を生じなかった。これらの特徴的な反応を示す植物とその病徴を Table 1 に示した。

Table 1. Symptoms on some test plants caused by CMV-SR and CMV-P

Plant	CMV-SR		CMV-P	
	Inoculated leaves	Non-inoculated tip leaves	Inoculated leaves	Non-inoculated tip leaves
<i>Beta vulgaris</i> cv. Shirokuki	-(+)	CS	Lc	-(+)
" var. <i>rapa</i> cv. Kawamegamono	-(+)	CS	Lc	-(+)
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	Lc	-(-)	Lc	-(-)
<i>C. quinoa</i>	Ln	-(-)	Ln	-(-)
<i>Cucumis sativus</i> cv. Tokiwahikari 3-P	-(+)	-(+)	-(+)	m
<i>Lycopersicon esculentum</i> cv. Fukuju 2	-(+)	-(+)	-(+)	m
<i>Nicotiana debneyi</i>	-(+)	m	-(+)	m
<i>N. glutinosa</i>	-(+)	m	-(+)	M
<i>N. tabacum</i> cv. Bright Yellow	-(+)	-(+)	-(+)	M
" cv. Xanthi nc	-(+)	-(+)	-(+)	M
<i>Solanum melongena</i> cv. Senryo 2	-(-)	-(-)	-(+)	m
<i>Spinacia oleracea</i> *	-(+)	R	-(+)	R, m

Lc: chlorotic local lesion, Ln: necrotic local lesion, CS: chlorotic spot, m: mild mosaic, M: mosaic, R: rugose, -: no symptom.

(+), (-): reacted positively and negatively in back in inoculation to *C. amaranticolor*.

* including ten cultivars.

ウイルス粒子 ホウレンソウおよび *N. debneyi* の罹病葉を用いて直接ネガティブ染色 (DN) 法により電顕観察したところ、ウイルス様粒子は観察されなかった。罹病葉を 2.5 % グルタルアルデハイドにより固定した後 DN 法により電顕観察したところ、径約 30 nm の球状粒子が認められた。また、タバコ (*Xanthi nc*) の接種葉から Takanami の方法¹⁰⁾ に準じてウイルスを純化した。純化ウイルスは核蛋白特有の吸収曲線を示し、その A_{260}/A_{280} は 1.67 であり、これを電顕観察したところ、径約 30 nm の球状粒子のみが認められた。

アブラムシ伝搬および種子伝染 汁液接種により発病させたホウレンソウ (品種、みちのく) から、健全ホウレンソウへモモアカアブラムシによる伝搬を検討した。ナス上で飼育した無毒モモアカアブラムシを 2 時間絶食させた後、病植物上でのウイルス獲得吸汁時間を 20 分間とし、第 1 回目の健全植物への接種吸汁時間 1 時間、さらに第 2 回目の接種吸汁時間 1 時間で試験した。接種植物 1 株あたりのアブラムシの頭数は 10 頭とした。その結果、第 1 回目の接種吸汁区では高率 (6/6) に伝搬され、第 2 回目の接種吸汁区では全く伝搬されず (0/6)、本ウイルスはモモアカアブラムシにより非永続的に伝搬されることが明らかとなった。

汁液接種により発病させたホウレンソウ (豊葉、豊緑、オータムキング) の種子を採取し、風乾後、室温条件下のデシケーター内に保存し、約半年後温室内で播種して発病の有無を調べた。調査は合計 688 株につ

いて行ったが、いずれの品種も発病が認められず、これらの一部の植物の葉を *C. quinoa* に戻し接種した結果も陰性であり、調査した品種での種子伝染は認められなかった。

血清試験ならびに核酸の電気泳動 純化ウイルスを用いて血清学的類縁関係を Hanada and Tochiwara の方法¹¹⁾ に準じて、寒天ゲル内拡散法により調べたところ、本ウイルスは CMV 黄斑系 (CMV-Y) および CMV のフキからの分離株 (CMV-P) に対する抗血清とよく反応し、明瞭な沈降帯を形成したことから、血清学的に CMV と同定された。さらに、本ウイルスは CMV-Y とは spur を形成したが、CMV-P とは沈降帯が完全に融合したことから、本ウイルスの血清型は Hanada and Tochiwara¹¹⁾ が提案した P 型であることが明らかとなった (Fig. 2)。

純化ウイルスに 1 % SDS (sodium dodecyl sulfate) を加えたものを、2 % ポリアクリルアミドおよび 0.5 % アガロースを含むゲル内で電気泳動し、本ウイルスの核酸の泳動度を検討した。その結果、本ウイルスの RNA は 4 種類の成分からなり、RNA-1 および RNA-2 は CMV-P の RNA-1 および RNA-2 に近い泳動度を示したが、RNA-4 は CMV-P のそれより CMV-Y の RNA-4 に近い泳動度を示した (Fig. 3)。これらのことから、本ウイルスの RNA 成分の泳動度が CMV-Y および CMV-P の RNA 成分と異なる特性を有していることが明らかとなった。

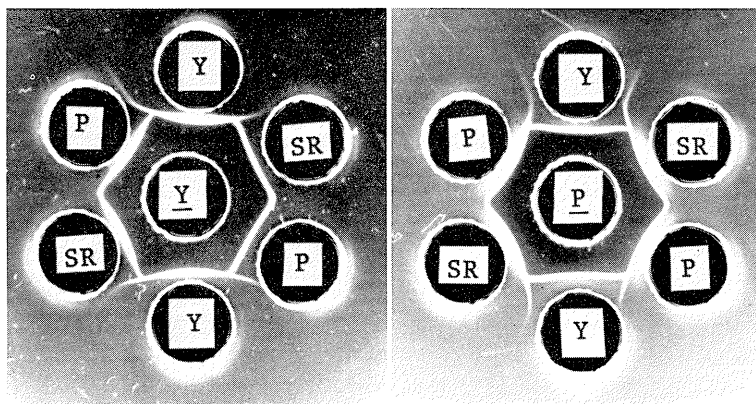


Fig. 2. Immunodiffusion tests of CMV-Y, CMV-P and CMV-SR with antisera to CMV-Y and CMV-P. Each outer well contains 100 μ g purified virus. Central wells contain antisera. Y: CMV-Y, P: CMV-P, SR: CMV-SR, $\bar{Y}$: antiserum to CMV-Y, $\bar{P}$: antiserum to CMV-P.

10) Takanami, Y. (1981). Virology 109: 120-126. 11) Hanada, K. and Tochiwara, H. (1980). 日植病報 46: 159-168.

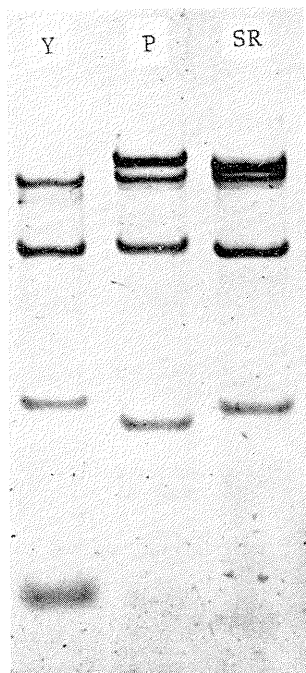


Fig. 3. Electrophoretic patterns of RNA of CMV-SR. SDS-disrupted viruses (40 μ g per pocket of the gel) were subjected to electrophoresis using a composite slab gel (12 $\times$ 18 cm and 1.5 mm thick) at 40 mA for 3 hr. The gel was stained with toluidine blue O. Migration is from top to bottom. Y: CMV-Y, P: CMV-P, SR: CMV-SR.

CMV 普通系に対する干渉効果 本ウイルスは CMV と同定されたが、トマト、キュウリ、タバコなどに全く病徴を発現しないため、CMV の弱毒ウイルスとして利用できる可能性が考えられたので、トマトでの CMV 普通系 (CMV-O) に対する干渉効果を調べた。トマトの子葉期苗 (本葉が抽出し始めている段階) の子葉に本ウイルスに罹病した *N. debneyi* 葉の粗汁液を接種し、10日後に CMV-O (罹病 *N. glutinosa* 葉の粗汁液) を第1・2本葉に接種した。その結果、対照として健全トマトに CMV-O を接種した区では約2週間後にすべて (12/12) モザイクや糸葉症状を生じたが、予め本ウイルスを接種した区では、CMV-O 接種の25日後まで全く病徴が認められなかった (0/12)。しかし、30日後頃から一部の株 (4/12) で軽いモザイク症状を生じた。このように本ウイルスは CMV-O に対し干渉効果を示すが、完全ではなく、弱毒ウイルスとしての利用には更に検討が必要である。

以上のように、埼玉県に発生したハウレンソウの縮葉症は CMV の1系統に起因することが明らかとなり、血清学的には CMV-P と同一であった。しかし、本ウイルスは数種植物における感染性や病徴ならびに電気泳動による核酸の分析結果が CMV-P と異なることから、CMV の新しい系統であると考え、CMV のハウレンソウ縮葉系 (CMV-SR) と呼ぶことにした。

(昭和58年4月25日受理)