

輸入アジサイの Hydrangea Ringspot Virus について

小畑 琢志・山本 洋祐

横浜植物防疫所調査課

I. まえがき

1964年7月オランダから輸入されたアジサイ苗(四季咲からセンニチコウにえそ斑点を生ずる1ウイルスを検出した。数種草本植物に対する汁液接種, 物理的性質, 粒子の形態などから, 本ウイルスは従来日本では未記録の Hydrangea Ringspot Virus であることを確認するとともに, 抗血清をつくり検査への利用価値を検討したので報告する。

本研究にあたりウイルスの純化に協力していただいた当所国際課松濤美文, 末次哲雄両技官に厚くお礼申し上げます。

II. 方法と結果

A. 病徴

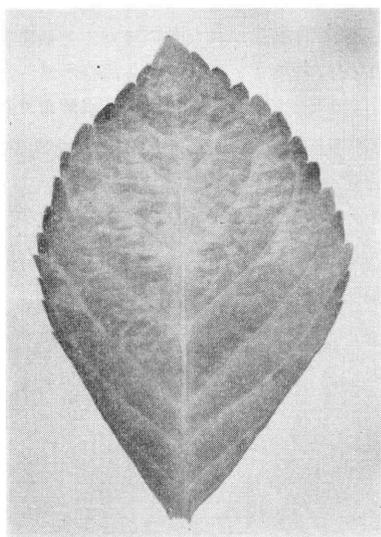
輸入されたアジサイ苗の保毒株2本にははっきりした病徴はなく, 活着後あらわれた新葉にも異常はなかったが, 葉令が進んでから1部の葉に不完全な退緑輪紋または帯

状の濃淡斑が一時的に認められた(第1図)。この病徴は不鮮明で葉の老化とともに見分けがつかなくなる。保毒株はほとんどつねに無病徴である。病徴の有無に関係なく, センニチコウにはつねによくウイルスが分離される。

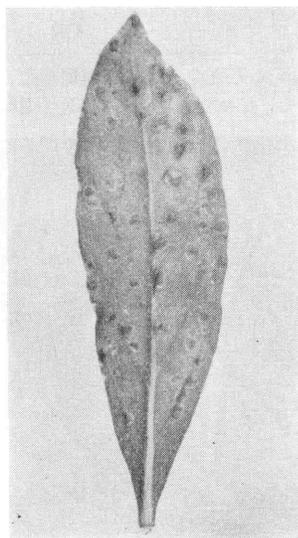
B. 数種草本植物に対する汁液接種試験

方法: アジサイ病葉に 0.05 M K_2HPO_4 を加えて磨砕し, カーボランダム法によって接種した。感染の有無はセンニチコウにもどし接種して確認した。供試植物は結果の項に示す。

結果: 第1表に示すとおり, 接種した27種の植物のうち明瞭な局部病斑を生じたのはセンニチコウ, *Chenopodium amaranticolor*, ゴマの3種であった。*Chenopodium quinoa*, *C. album*, キウリ, カボチャ, キンギョソウ, ホウレンソウ, ビートには接種葉に不明瞭なクロロシスを生じ, ササゲ(黒種)には病徴はあらわれなかったが, いずれも接種葉からセンニチコウへの回収は陽性であった。アジサイ(四季咲ならびに四季咲でないもの)は汁液接種により容易に全身感染するが, 四季



第1図 アジサイ上の病徴



第2図 センニチコウのえそ斑点

第1表 数種草本植物に対する汁液接種結果

接種植物	病徴	もどし接種
センニチコウ	NLL	+
ゴマ	NLL, VN	+
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	CLL, NLL	+
<i>C. album</i>	C	+
<i>C. quinoa</i>	C	+
ホウレンソウ	C	+
ビート	C	+
キウリ (<i>Chicago Pickling</i>)	C	+
カボチャ (<i>Buttercup</i>)	C	+
キンギョソウ	C	+
クロダネササゲ	-	+
インゲン (<i>Topcrop</i>)	-	-
(大手亡)	-	-
ソラマメ	-	-
タバコ (<i>Bright Yellow</i>)	-	-
<i>Nicotiana glutinosa</i>	-	-
<i>N. rustica</i>	-	-
<i>Datura stramonium</i>	-	-
<i>D. stramonium var. tatula</i>	-	-
<i>Physalis floridana</i>	-	-
トマト	-	-
ナス	-	-
ペチュニヤ	-	-
コカブ	-	-
アメリカナデシコ	-	-
トウモロコシ	-	-
レタス	-	-
アジサイ	CR	+

註: NLL=えそ斑点, CLL=退緑斑点, VN=葉脈えそ, C=クロロシス, CR=退緑輪紋

咲アジサイの葉令の進んだ一部の葉に一時的に退緑輪紋を生じたに過ぎなかった。局部病斑を生じたセンニチコウ、*Chenopodium amaranticolor* およびゴマの反応はつぎのとおりである。

センニチコウ: 接種 4~5 日後針頭大の灰色のえそ斑点があらわれ、しだいに拡大して径 2~3 mm の鮮かな赤褐色の斑点になる(第2図)。えそ斑点が多数生じると葉は黄化し、枯死することがある。全身感染はしない。感受性は供試植物のなかで最もすぐれている。

Chenopodium amaranticolor: 接種 6~7日後接種葉に輪かくのぼけた退緑斑点を生ずる。斑点はあまり拡大せず、まれにえそ斑点に移行する。高温時には感受性が低い。

ゴマ(白ゴマ): 7日目頃接種葉に1~数個の褐色のえそ斑点があらわれ、葉脈にそってひろがり、急性の落葉を起した。

C. アブラムシによる伝搬試験

モモアカアブラムシおよびワタアブラムシをアジサイ罹病株に放ち、吸汁を確認したのち健全株1株当り10頭ずつ、計5株接種した。接種3カ月後センニチコウにより検定したが、感染株は得られなかった。

D. 物理化学的性質

アジサイの罹病葉に等重量の 0.05 M K_2HPO_4 を加えてつくった粗汁液の耐熱性は 70~75°C、耐稀釈性 5,000~10,000 倍、耐保存性は 30~35日/20°Cであった。

純化の前処理として検討した加熱(55°C/10分)の影響では実験の都度結果が異なり、ほとんど無影響の場合もあれば約 1/4 程度まで不活化する場合があった。凍結(-18°C)には安定で、5~10日おきに氷解をくりかえし



第3図 ウィルス粒子の形態(約 30,000 倍)

実験は時期を異にして3回くり返したが、抗血清の検出能力はつねにセンニチコウによる検出よりもかなり劣る結果であった。

III. 考 察

オランダ産アジサイ苗から検出された1ウイルスはその寄主範囲、物理性および粒子の形態などから BRIERLEY ら (1957) がアメリカで最初に報告した *Hydrangea Ringspot Virus* と同定される。本ウイルスの寄主範囲については報告者により若干の食い違いがある BRIERLEY ら (1957) によると本ウイルスはセンニチコウ、*Chenopodium amaranticolor*、アオビユ、キンギョソウ、キウリ、アメリカナデシコに局部感染するが、HOLLINGS (1958) によるとアメリカナデシコは陰性であり、本試験の結果でも陰性であった。一方 DUNEZ (1963) はタバコ、*Nicotiana glutinosa* を局部感染植物としてあげているが、BRIERLEY ら (1957)、THOMSON (1960) ならびに本試験の結果は感染しなかった。局部感染植物のなかではセンニチコウがもっとも感受性が高く、検定植物としてすぐれている。

本ウイルスの粒子の形態について SISLER ら (1957) は純化ウイルスの観察により棒状およびひも状の粒子を認めたが、長さは不斉で、短いものは $44\text{ m}\mu$ 、長いものは $900\text{ m}\mu$ 以上におよび特徴的な長さは決め得なかった。同じく純化ウイルスについて DUNEZ (1963) は粒子の長さの変異は大きい、平均約 $65\text{ m}\mu$ であったと報告している。一方 BERCKS ら (1961) は Dip 法により測定した結果、粒子の長さの分布は $500\text{ m}\mu$ 前後に集中し、平均 $493\text{ m}\mu$ であった。本試験の結果では $400\text{ m}\mu$ 以下の短い粒子が全体の半数以上を占めたが、 $500\text{ m}\mu$ を中心にひとつのピークが認められた。このピークは前記 BERCKS ら (1961) の報告に一致するものと考えられる。一般に長形粒子のウイルスにあつては感染後日数が経過するにつれて、検出される粒子は正常の長さより短いものが増大する傾向があり、また TMV や Potato X Virus などでは感染植物の新葉からは長い粒子が多く、葉が古くなると短い粒子が増加する傾向があるといわれている。本試験で観察された粒子長の著しいばらつきは純化試料として葉令の進んだものを多く用いたことによるものと考えられる。

アジサイのウイルス病として海外ではこの *Hydrangea Ringspot Virus* のほか *Tomato Ringspot Virus* (BRIERLEY, 1953, 1954)、*Aster Yellows Virus* (BRIERLEY

ら, 1954)、*Tobacco Ringspot Virus* (ANDERSON, 1958)、*Tobacco Necrosis Virus* (State Phytopath. Exp. Sta., 1962) などが報告されているが、本邦においては田村ら (1967) が報告した *Cucumber Mosaic Virus* によるモザイク病が唯一の記録であり、*Hydrangea Ringspot Virus* は今のところ国内では未記録のウイルスである。本ウイルスは文献によるとアメリカ (BRIERLEY ら, 1957)、ニュージーランド (THOMSON, 1960)、フランス (DUNEZ, 1963)、イギリス (HOLLINGS, 1958) で報告されており、本報告によりオランダが追加されるが、そのほかの地域にも広く分布するものと考えられる。

アジサイ病葉からウイルスを部分純化し作製した抗血清の力価は640倍(マイクロ凝集法)であった。この抗血清はアジサイ病汁のスライド法では反応を認めなかったが、凍結またはクロロホルム処理によって清澄にした汁液によりマイクロ凝集法を行えば反応が認められた。しかしながらその検出能力はセンニチコウによる接種検定の場合の70%程度にとどまった。したがって精度の上では接種検定にかわるものではないが、病徴を生じにくい本ウイルスの検査において温室などの施設がなく、接種検定を行なうことができない場面では利用してよい方法であろうと考えられる。

IV. 摘 要

1964年オランダから輸入されたアジサイ(四季咲)からセンニチコウにこそ斑点を生じる1ウイルスを検出した。このウイルスはセンニチコウのほか *Chenopodium amaranticolor*、ゴマに局部病斑を生じた。アジサイは汁液接種により容易に全身感染するが、葉令の進んだ葉に不明瞭な退緑輪紋または濃淡斑を一時的にあらわすだけで、通常はなんら病徴を認めなかった。

本ウイルスの耐熱性は $70\sim 75^{\circ}\text{C}$ 、耐稀釈性は5,000~10,000倍、耐保存性は30~35日であった。純化ウイルスの粒子は長さの非常に不規則なひも状で、多くの粒子は $400\text{ m}\mu$ 以下であったが、 $500\text{ m}\mu$ を中心にひとつのピークが得られた。モモアカアブラムシ、ワタアブラムシによる伝搬は陰性であった。

以上の結果から本ウイルスはアメリカで BRIERLEY ら (1956) が報告した *Hydrangea Ringspot Virus* であり、日本では未記録のウイルスと同定した。

アジサイ病葉から分画遠心により部分的に純化したウイルスを抗原として作製した抗血清の力価は640倍(マイクロ凝集法)であった。この抗血清を用いてアジサイ保

毒株からのウイルス検出をマイクロ凝集法で試みた結果、検出能力はセンニチコウによる接種検定の70%程度であった。抗血清法は精度においてセンニチコウにかなり劣るが、肉眼では判定し得ない本ウイルス検査には利用してよい方法と考えられる。

V. 引用文献

- ANDERSON, C. W. (1958) Tobacco Ringspot Virus of florists' hydrangea. Pl. Dis. Repr. **42**: 932~934.
- BERCKS, R. and J. BRANDES (1961) Vergleichende serologische und elektromikroskopische Untersuchung des Weisskleemosaik Virus, des Hydrangea Ringspot Virus und des Kartoffel-X-Virus. Phytopath. Z. **42**: 45~46.
- BRIERLEY, P. (1954) Symptoms of the florists' Hydrangea caused by tomato ringspot virus and an unidentified sap-transmissible Virus. Phytopath. **43**: 404.
- BRIERLEY, P. and P. LORENZ (1957) Hydrangea Ringspot Virus, the probable cause of 'running out' of the florists' Hydrangea. Phytopath. **47**: 39~43.
- BRIERLEY, P. and F. F. SMITH (1954) New records of virus diseases of ornamental plants. Pl. Dis. Repr. **38**: 739~741.
- DUNEZ, J. (1963) Une maladie à virus rencontrée récemment en Erance: le 'ring spot' de l'Hortensia. Ann. Épyphyto. **14**: 103~108.
- HOLLINGS, M. (1958) Hydrangea ringspot in Britain. J. Hort. Sci. **33**: 275~281.
- SISLER, H. D., S. C. CHANG, R. L. REAGAN and P. BRIERLEY (1957) Purification and properties of Hydrangea ringspot Virus. Phytopath. **47** (8): 491-494.
- State Phytopathological Experiment Station (1962) Plant Diseases in Denmark. Tidssdr. Planteavl. **67**: 553~619.
- 田村実・小室康雄(1967) キウリ・モザイク・ウイルスによるアジサイのモザイク病. 日植病報. **33**: 27-31.

Summary

Hydrangea Ringspot Virus Detected from Imported Dutch Hydrangea

By

Takushi OBATA and Yosuke YAMAMOTO

Research Division, Yokohama Plant Protection Station

One virus that was detected from two Hydrangea cuttings imported from Holland in 1964 was identified to be Hydrangea ringspot virus heretofore undescribed in Japan. On sap inoculation, this virus produced distinctive reddish brown necrotic lesions on *Gomphrena globosa*, diffuse chlorotic lesions on *Chenopodium amaranticolor* and dark brown necrotic spots leading to vein necrosis on sesame. Healthy Hydrangea plants (var. Shikizaki) were mechanically infected and occasionally induced faint chlorotic rings, arcs or blotches in some of the older leaves. No systemic hosts other than Hydrangea were found among the 27 species of herbaceous plants tested. Crude extract from infected leaves lost infectivity at heating to 70-75°C, dilution to 10⁻⁴ and aging for 30-35 days at 20°C. A partially purified virus preparation showed the presence of filament shape particles of extremely variable length. One peak of distribution was recognized at the length of 500 mμ but more than half of the particles were shorter than 400 mμ. Transmission was not effected by green peach aphid, *Myzus persicae* SULZER, or cotton aphid, *Aphis gossypii* GLOVER.

An antiserum of a titre of 1:640 (microagglutination test) was prepared by using the partially purified

virus from infected *Hydrangea* leaves as antigen. The microagglutination test with clarified leaf extract detected the virus from the maximum of 71% of the infected *Hydrangea* plants, whereas the detection by *Gomphrena globosa* was nearly complete. Since the infected *Hydrangea* plants usually show no symptom, such serological detection may be of some value where no greenhouse indexing procedures are feasible.