

# ジャガイモから発見された Cucumber Mosaic Virus

松濤美文・末次哲雄・元島俊治\*

横浜植物防疫所国際課

## はしがき

1968年、横浜市の東神奈川地区で、種馬鈴しょの検査に合格した種イモを植えたにもかかわらず、一面葉捲症状株が発生した圃場が数多くあらわれ問題となった。その時に、これらの病徴株の子イモを採取し、翌年、大和隔離圃場の温室内で栽培したところ、モザイク病徴を現わした株があり、この株より Cucumber mosaic virus (CMV) を分離したので、ここに報告する。

CMV は DOOLITTLE (1916), JAGGER (1916) によって発見されて以来、各種の植物に発生していることが各国で報告されてきた。わが国でも CMV に自然感染している植物については、いままでに数多くの発表がある。大島・田中 (1953) はダイコンのモザイク病徴から分離し、また、小室・明日山 (1955) は東京附近の47科 150種のモザイク病徴株を調査し、キンセンカなど32科68種から CMV を分離している。また、日高・都丸 (1960) はタバコのモザイク病徴株から、小室 (1961) はレタスから、大内・高橋 (1963) はチューリップから、小室・岩木 (1964) はキキョウから、田村・小室 (1967) はアジサイのモザイク病徴から、それぞれ CMV を分離している。最近では、井上 (1969) によって *Dendrobium* から、岩木・小室 (1970) によりセルリーのモザイク病徴株から、各々分離された。

このウイルスに自然感染しているジャガイモについては、GREGR (1957), MACARTHUR (1958) らはイギリスに、NITZANY (1960) はイスラエルに、発生していることを報告している。また、AGUR (1968) および HÖDREJÁRV (1968) らはソビエトに発生している potato N virus は CMV の一系統と考えられるとしている。わが国においては、今回の発生を認めるまではジャガイモにおける発生は報告されていない。しかし、CMV は非常に寄主範囲が広いので、今後の種馬鈴しょ検査上、重要なウイルスとなることが考えられる。

なお、本報告をおこなうに際し、御指導をいただいた東京大学与良清教授、CMV の普通系と黄色系を分譲して下さった植物ウイルス研究所小室康雄博士ならびに抗血清、電子顕微鏡写真についての御指導と御便宜をいただいた同所栃原比呂志博士に厚くお礼を申し上げます。また、発病ジャガイモその他実験材料の提供をいただいた当所国内課井上亨管理官ほか関係担当官ならびに抗血清の作製、各植物への接種等の作業をしていただいた中元秀禧、及川巖両技官に感謝の意を表する。

## 材料と方法

本ウイルスを分離した親株 (男爵) の病徴は、葉捲病のように葉が捲き、葉縁裏面が淡紫色になっていて、同病の一次病徴、あるいは黒痣病の初期病徴のような感じであった。もちろん、地際部の茎には菌糸の付着は認められなかった。この株の子イモを翌春、温室内で栽培したところ、モザイク病徴が発生した。この男爵のモザイク病徴は普通の Y モザイクウイルスによる病徴と若干異なり株全体に黄色が強く、その色がわずかに輝いているような感じであった。葉縁はときに若干捲き上がり、葉縁に軽いエソが生じている複葉もあった。病徴の最も激しいときは、葉が変形して不整形になり、株全体が乾燥した感じになった。

このモザイク病徴株から、モモアカアブラムシでタバコ (ホワイトバーレ) 上に、本ウイルスを取り出し、さらにホワイトバーレ、*Nicotiana glutinosa* に汁液接種してふやし、接種原とした。

各種植物への汁液接種は、本ウイルスの罹病葉に 0.1% のチオグリコール酸を含む 0.05% の KCN 液を加えて磨砕し、カーボランダムを用いて接種した。接種植物の数は、種類によって異なるが、4株から27株の間で、そのときの状況によって異なった。全身感染の有無は、接種後1カ月以上を経た後、それぞれの植物の頂葉を集めて磨砕し、タバコ (KY57) 3株づつに戻し接種し、その発病により判定した。なお、各植物の栽培、接種はいずれもガラス室内で実施した。

\* 現在 横浜植物防疫所国内課

## 実験結果

## 1. 各植物への汁液接種

本ウイルスをナス科, ウリ科, マメ科など8科41種の植物に汁液接種した。とくに, マメ科, ウリ科への接種は, 発芽後十分に展開した子葉に行なった。これらの結果は第1表に要約した。

第1表

接 種 植 物	病 徴	戻し接種
タバコ (サムソン)	[M]	+
" (KY57)	M	+
" (ホワイトパール)	M	+
<i>Nicotina debneyi</i>	-	+
" <i>glutinosa</i>	M	+
" <i>rustica</i>	M	+
トマト (世界一)	M	+
<i>Datura stramonium</i>	M	+
" <i>tatura</i>	M	+
<i>Physalis floridana</i>	M	+
トウガラシ (鷹の爪)	L. L, M	+
ジャガイモ (雲仙)	L. L, M	+
" (ホイラー)	-	-
キウリ (落合H)	L. L, M	+
メロン (ミニゴールド)	M	+
<i>Cucurbita maxima</i> (東京早生)	M	+
<i>C. moschata</i> (白菊座)	L. L, [M]	+
* <i>C. pepo</i> (ornamental)	L. L, M	+
ヒョウタン (千成)	-	+
スイカ (ミゼット)	-	-
" (金都)	-	-
シロウリ (東京早生)	-	-
ユウガオ	-	-
マクワウリ (砂糖)	-	-
ダイコン (二十日)	-	+
" (美濃早生)	-	-
" (時なし)	-	-
キャベツ (中生一号)	L. L	-
山 東 菜	L. L	-
コカブ	L. L	+
インゲン (大毛芒)	-	-
ソラマメ (早 生)	[L. L]	-
ササゲ (黒 種)	L. L	-
フ ダ ン ソ ウ	-	-
ホウレンソウ (ミンスター)	M	+

<i>Chenopodium amaranticolor</i>	L. L	-
レ タ ス (グレートレーク)	-	-
アスター (三郷江)	-	+
ヒャクニチソウ (ワールドキング)	M	+
トウモロコシ	[L. L]	-
センニチコウ	L. L	+

(注) M:モザイク病徴, L. L: Local lesion, [ ]:  
半数以下の発病, 実験期間: 45.5.28~45.10.9,  
\*は46.6.10~46.7.24, ただし, 45.7.25~45.9.  
25は25°Cの恒温, ほかは自然温度。

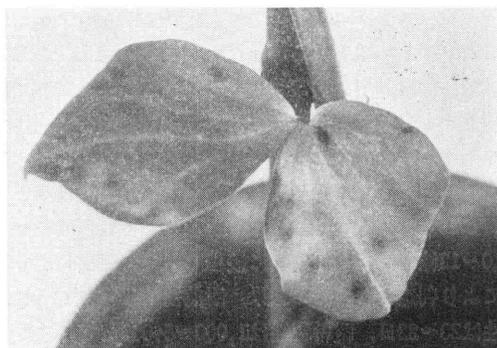
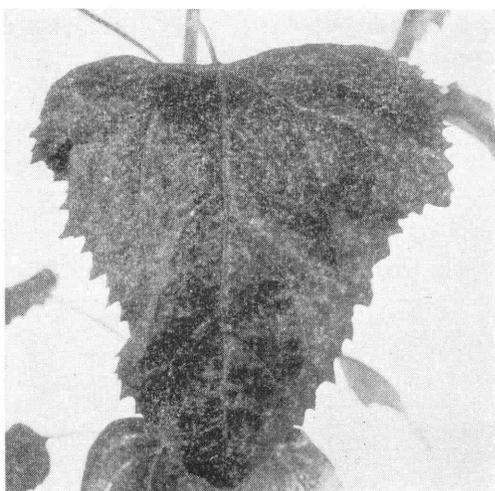
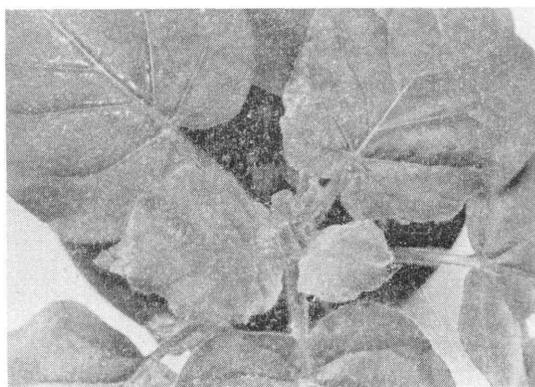
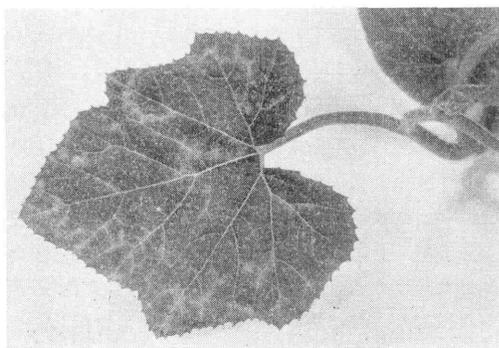
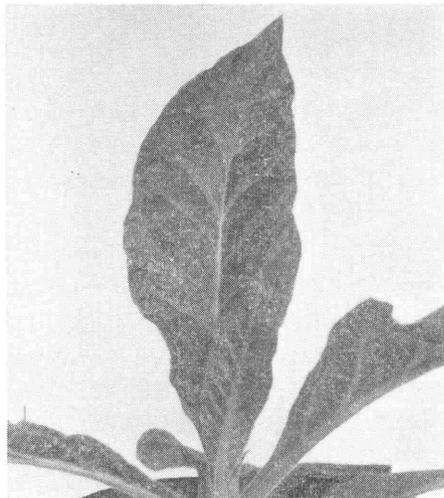
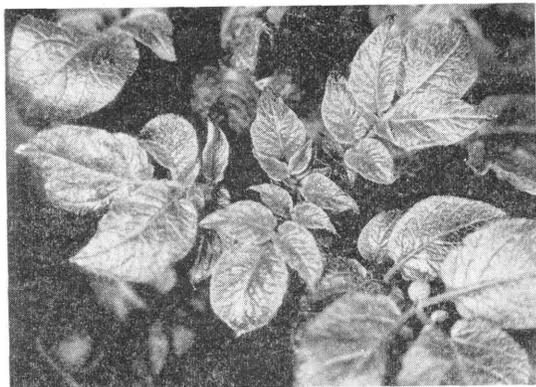
ジャガイモ (雲仙) 10株に接種したところ, 接種葉は5日から7日で萎凋し, 落葉した。さらに15日から18日後, 4株の頂葉にモザイク病徴を生じ, 戻し接種の結果, 全身感染していることが判明した。しかしながら, ホイラーには同じ株数接種したが, 病徴もあらわさず, 全身感染もしていなかった。

タバコ, *N. glutinosa*, *N. rustica* は10日から12日でモザイク病徴をあらわし, 全身感染もしていた。*N. glutinosa* の病徴は, CMV の普通系および黄色系の病徴とは異なって非常に特徴のある病徴であった。すなわち, 葉の変形はほとんどなく, 激しくなると葉が上に立ちきみになり, 色が黄色になった。しかも, 黄色系のときのような色ではなく, 透きとおる輝くような感じの色であった。

*N. debneyi* は全身感染していたが, 病徴はあらわさなかった。タバコ (ホワイトパール, KY57) はモザイク病徴をあらわし, 全身感染していた。ただ, このタバコの病徴は, CMV の普通系よりも非常に軽微であった。葉の形も, ときによると頂葉がわずかに細長くなったり, 奇形になったりする程度であった。

トマト, *Datura* 属, *Physalis floridana*, トウガラシは接種後10日から14日でモザイク病徴をあらわし, 全身感染をしていた。このうち, トウガラシは接種葉に Yellow spot のような局部病斑を生じた。

ウリ科ではキウリ, *Cucurbita moschata* (日本カボチャ), *C. pepo* (ペボカボチャ) は接種後6日から9日で Yellow spot のような局部病斑を生じ, 10日から18日で, このほかの *C. maxima* (西洋カボチャ), メロンとともに, モザイク病徴をあらわした。特に, ペボカボチャの病徴は激しい黄色の病斑をあらわすとともに, 葉片全体は縮葉状態となり, 接種された41種の全植物中で, 最も激しい病徴であった。戻し接種の結果, 前記各植物のほか, 無病徴のヒョウタンも全身感染していた。スイカ,



左側上段より：男しやくのCMVによるモザイク病徴，ペポカボチャ接種 19 日後のモザイク病徴，*Chenopodium amaranticolor* 接種 15 日後の局部病斑；右側上段より：タバコ（ホワイトパール）のアブラムシ接種 54 日後のモザイク病徴，*N. glutinosa* 接種 13 日後のモザイク病徴，ソラマメ接種 5 日後の局部病斑

シロウリ、ユウガオ、マクワウリは病徴をあらわさず、かつ全身感染もしていなかった。

アブラナ科では、キャベツ、山東菜、コカブが接種後10日から12日で、接種葉に淡黄色ないし黄緑色の局部病斑をあらわし、戻し接種の結果、このうちコカブが全身感染していた。大根の3品種は病徴をあらわさなかったが、二十日大根のみ全身感染していた。

マメ科では、ソラマメに大きさ3~4mm、ササゲに1~2mmの褐色の局部病斑を接種後3~4日であらわしたが、全身感染はしていなかった。インゲンも局部病斑をあらわさず、かつ、全身感染もしていなかった。

アカザ科ではホーレンソウが接種後10日から14日でモザイク病徴をあらわし、全身感染していた。ただ、このモザイク病徴は全身が黄化し、葉脈に緑色の Veinbanding が若干残り、葉片がねじれて不整形になるような、特徴のある病徴であった。*Chenopodium amaranticolor* は接種後5日から8日で、接種葉に、褐色の小さな局部病斑を生じたが全身感染していなかった。

キク科では百日草が接種後14日から20日でモザイク病徴を示し、全身感染していた。アスター、レタスは病徴をあらわさなかったが、戻し接種の結果、アスターは全身感染していた。

トウモロコシは接種後7日から10日で、接種葉に1~2mmの黄色斑点を生じたが、全身感染はしていなかった。

千日紅は接種後10日から14日で接種葉にかすかな局部病斑を生じたのみで、その他の病徴はあらわさなかったが、戻し接種の結果、全身感染していた。

## 2. 本ウイルスの物理的性質

タバコ (KY57) に本ウイルスを接種し、10日後、十分にモザイク病徴をあらわした上葉を材料として調べた。耐熱性試験では病葉重の3倍量、耐保存性試験では2倍量の0.1%のチオグリコール酸を含む0.05%のKCN液を加えて、それぞれ搾汁した。対希釈性試験では、病葉重と同量の同液を加えて搾汁し、これを2倍液とした。これらの各液を常法により処理し、各処理液をササゲ10~12株の子葉20~24葉に接種し、その局部病斑の発生により判定した。その結果、耐熱性は55~60°C、耐保存性は20~22日、耐希釈性は1,000~5,000倍であった。

## 3. アブラムシによる伝染試験

アブラムシによる伝染は、2時間絶食させた健全モモアカアブラムシを、十分にモザイク病徴を現わしているタバコ (KY 57) に移し、2分間吸させた後、健全タ

バコ (KY 57) 1株に各20頭づつ移し、24時間後に殺虫して、その後の発病を観察した。結果は10株中8株が感染した。この結果は、小室、明日山 (1954) のCMVがアブラムシにより伝染する報告と一致する。

## 4. ウイルスの粒子

まず、粒子の形をみるためにウイルスを純化した。その方法は、TAKANAMI および TOMARU (1969) の方法に一部改良を加えた柄原 (1970) の方法によった。すなわち、本ウイルスを接種して7日目のタバコ (KY 57) の接種葉の汁液をとり、この液から分画遠心法と密度勾配法の併用によりウイルスを得た。これを電子顕微鏡の negative stain 法で観察したところ、直径が平均 33 m $\mu$  の小型球状の粒子であった。

## 5. 抗血清反応

前記の純化方法で CMV の黄色系のウイルスを純化し、これを兎に注射して、混合法による力価約 9,600 の抗血清を得た。この抗血清を用いて、混合法、重層法、Microdroplet 法、寒天ゲル内拡散法等の方法で、本ウイルスと CMV との血清学的類系関係を検討した。また、比較のため前述の方法により純化精製した CMV の黄色系を供試した。混合法では抗血清を20倍に希釈し、ウイルスは罹病汁液の25分の1に濃縮し、他の方法では、抗血清を10倍に希釈し、ウイルスは100分の1に濃縮して使用した。その結果は第2表に要約した。これをみると、混合法では反応の凝集程度に、寒天ゲル内拡散法では反応帯の発生するまでの時間に差があった。この点については供試ウイルスの濃度が一定であったかどうか明らかでなく、このため、この結果のみでは断言できないが、CMV の黄色系と本ウイルスは血清学的に若干の差があるように思われる。なお、寒天ゲル内拡散法は柄原 (1970) の方法によった。

第2表 CMV-Y 抗血清による各種血清反応の比較

ウイルスの種類	混合法	重層法	Microdroplet 法	寒天ゲル内散法
本ウイルス	± (15分)	+	+(30分)	+(20日)
CMV-Y	+	+	+(30分)	+(8日)

注 CMV-Y は Cucumber mosaic virus の黄色系統 ( ) は陽性反応を発生するまでの時間

## 考 察

CMV の物理的性質について、小室、明日山 (1954) は

耐熱性60~65°C, 耐希釈性5,000~10,000倍, 耐保存性1~2日を報告し, 都丸・宇田川(1970)も, 耐熱性55~75°C, 耐希釈性10,000倍, 耐保存性2~7日であることを報告している。本ウイルスは耐熱性, 耐希釈性はほぼこれらの報告の結果と一致しているが, 耐保存性が20~22日で著しく異なっている。

このように, 搾汁液が長く活性を有していたのは, 罹病葉を磨砕する際に, 0.1%のチオグリコール液を含む0.05%のKCN液を使用したのが原因か, あるいはこの実験をおこなった時期が11月末から12月にかけてであり, このため, 保毒汁液が相当の低温下で保存されたためとも考えられる。

CMVの粒子については, SCOTT(1963)は28~30m $\mu$ の球状粒子, BETTOら(1964)はnegative stain法で29m $\mu$ , また, 蒸着法で36.2m $\mu$ , MURANT(1965)はnegative contrast法で27.8~32.0m $\mu$ と報告しているが, 本ウイルス粒子の形と直径は, これらの報告と同じである。

一方, 各種植物への汁液接種の結果では, 6科24種に全身感染し, ソラマメ, ササゲ, トウモロコシなどの接種葉に局部病斑を生じた。これはCMVと同様に非常に寄主範囲が広いことを示している。

以上の結果ならびに抗血清反応より, 本ウイルスはCucumber mosaic virusと考える。ただ, *N. glutinosa*の病徴に特徴があり, かつ, 血清学的にCMVの黄色系と若干異なるのではないかと思われる点もあるので, 系統間の問題についてはさらに調査する必要がある。

なお, ジャガイモ(男爵)の病徴については, 葉捲病に感染しているところにたまたまこのCMVが混合感染したのか, あるいは本CMVが葉捲症状をもあらわすのか, 今後さらに検討してゆく予定である。しかしながら, モザイク病徴から分離し, かつ, 雲仙品種に接種したところ, 同じモザイク病徴をあらわしたことから, わが国のジャガイモにモザイク病徴をつくるウイルスとして, 本ウイルスを加える必要がある。

また, 本CMVの発生原については, 罹病塊茎を採取した地区の他の植物に存在していたのが, たまたま植えられたジャガイモに感染したのか, あるいは種イモの産地に本ウイルスが存在し, すでに種イモ自体が保有していたのか明らかでない。この点については, 種馬鈴しょ検査上, さらに調査する必要がある。

## 摘 要

種馬鈴しょの検査に合格した種イモ(男爵)を植えた

は場に, 葉捲症状を示す株が多発した。これらの病徴株の子イモを, 翌年, 温室内で栽培したところ, モザイク症状をあらわした株があった。この株から, 本ウイルスを分離した。

モモアカアブラムシを使用し, タバコ(KY 57)に接種したところ, 10株中8株に感染させることができた。本ウイルスとCMV抗血清とは, 重層法, Microdroplet法, 寒天ゲル内拡散法で, 陽性の反応を認めた。ウイルス粒子は直径約33m $\mu$ の小型球状粒子であった。また, 耐熱性は55~60°C, 耐希釈性は1,000~5,000倍, 耐保存性は20~22日であった。

8科41種の植物に汁液接種し, ナス科, ウリ科, アブラナ科, アカザ科, キク科, ヒユ科, の計6科24種が全身感染した。また, ソラマメ, ササゲ, トウモロコシでは接種葉に局部病斑をあらわしたが, 全身感染しなかった。タバコ(ホワイトパーレ, KY 57)は接種後10~12日でモザイク病徴をあらわした。*Nicotiana glutinosa*はモザイク病徴をあらわし, 病徴が激しくなると株全体が透きとおるような黄色を帯びた。ジャガイモ(雲仙)は接種後10~18日でモザイク病徴をあらわした。とくに, *Cucurbita pepo* (Ornamental)は接種された全植物中, 最も激しいモザイク病徴をあらわした。

以上, 寄主範囲, 物理的性質, 伝染方法, ウイルス粒子の大きさ, 形, 抗血清反応などから, 本ウイルスはCucumber mosaic virusと考える。

## 引用文献

- AGUR M. (1968) Andmeid Kartuli nn. N-viiruse ja Kurgimosa iigiviiruse identsuse Konta. Eesti NSV Tead. Akad. Toim., biol. Seer., 17: 288~300.
- BETTO, E. B., G. G. G. CONTI, and G. GIUSSANI, (1964) Sulla purificazione e sulla visualizzazione al microscopio elettronico del virus del mosaico del cetriolo. phytopath. z., 51: 85~89.
- DOOLITTLE, S. P. (1916) A new infectious mosaic disease of cucumber. phytopath., 6: 145~147.
- GREGOR, J. W. (1957) Director's report, Rep. Scot. Pl. Breed. Sta., 1957: 5~24.
- 日高 醇・都丸敬一(1960)タバコからえられたキウリモザイクウイルスの系統, 第一報 普通系, 秦野たばこ試験場報告, 46: 125~134.
- HÖDREJÄRU, U., K. OLSPERT, K. TARASOVA (1968) Nekotrye dannye o tak naz. viruse N Kartofelya. Eesti NSV Tead. Akad. Toim., biol. Seer., 17: 385

- ~388.
- 井上成信 (1969) *Dendrobium* から分離された Cucumber mosaic virus. 農学研究, **53**: 49~60.
- 岩木満朗・小室康雄 (1970) ニンジンから分離されるウイルス, 1. セルリー・モザイク・ウイルスとキウリ・モザイク・ウイルス. 日植病報., **36**: 36~42.
- 小室康雄・明日山秀文 (1954) キウリモザイク病ウイルスに関する研究, I. キュウリにおける発生. 日植病報., **19**: 18~24.
- 小室康雄・明日山秀文 (1955) キウリモザイク病ウイルスに関する研究, II. 東京附近における各種植物のモザイク症状株からの分離, 日植病報., **20**: 77~82.
- 小室康雄 (1961) わが国におけるレタス・モザイク病ウイルスの存在, 日植病報., **26**: 199~205.
- 小室康雄・岩木満朗 (1964) キキョウのモザイク病. 日植病報., **29**: 167~168.
- MACARTHUR, A. W. (1958) A note on the occurrence of Cucumber mosaic virus in potato. Rep. Scot. pl. Breed. Sta., 1958: 75~76.
- MURANT, A. F. (1965) The Morphology of Cucumber mosaic virus. Virology, **26**: 538~544.
- NITZANY, F. E. (1960) Natural hosts of Cucumber mosaic virus in Israel. Pl. Dis. Repr., **44**: 144.
- 大島信行・田中一郎 (1953) 北海道に於ける十字花科植物のバイラス病, 第2報 胡瓜モザイクバイラス, 北海道農試彙報, **65**: 31~41.
- 大内 昭・高橋 実 (1963) チュウリップモザイク病の病原ウイルス (講要) 日植病報., **28**: 87.
- SCOTT, H. (1963) Purification of Cucumber mosaic virus. Virology, **20**: 103~106.
- TAKANAMI, T. and K. TOMARU (1969) Effect of EDTA on Cucumber mosaic virus and its application in purification. Virology, **37**: 293~295.
- 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.
- 栃原比呂志 (1970) キク微斑ウイルス. 日植病報., **36**: 1~10.
- 都丸敬一・宇田川晃 (1970) タバコから得られたキウリモザイクウイルス系統, VI 黄色微斑系. 日植病報., **36**: 87~93.

### Summary

## Detection of Cucumber Mosaic Virus from Potato in Japan

By

Mifumi MATSUNAMI, Tetsuo SUETSUGU and Shunji MOTOSHIMA

Unusually severe outbreak of leaf-roll symptoms were observed in some potato fields in Yokohama in 1969. Affected crops were found to be those planted with the seed tubers that had been released from the quarantine in the previous year. Some tubers from the diseased plants, when grown in the greenhouse, produced a mosaic symptom in the following year. From them, one aphid-transmissible virus was recovered into tobacco (White Burley) and its identity was studied.

By green peach aphid (*Myzus persicae*), this virus was transmitted to eight out of ten tobacco plants (KY 57). Mechanical inoculations were made into 41 species of herbaceous plants involving eight families and 24 species of them could be systemically infected. *Vicia faba*, *Vigna sinensis* and *Zea mays* developed local lesions but showed no systemic infections. Tobaccos (White Burley, KY 57) produced mosaic symptom in 10 to 12 days. *Nicotiana glutinosa* showed bright yellow mosaic symptom. Potato (var. Unzen) reacted with mosaic symptom in 10 to 18 days. *Cucurbita pepo* expressed by far the most severe mosaic symptom among the herbaceous hosts tested.

Electronmicroscopy revealed spherical particles of about 33 m $\mu$  in diameter. Thermal inactivation point was 50~55°C, dilution end point 1:1,000~5,000 and longevity at room temperature was 20~22 days. In ring test, microdroplet test and agar diffusion test, this virus reacted positively with an antiserum of CMV yellow strain.

From the results obtained, this virus was identified to be Cucumber Mosaic Virus.