

輸入検疫中にヒヤシンスから発見された Tobacco Rattle Virus

末次 哲雄・中元 秀禧・及川 巖

横浜植物防疫所国際課

1967年、オランダから輸入され、新潟県下で隔離栽培中のヒヤシンスから Tobacco Rattle Virus を分離したので報告する。

Tobacco Rattle Virus (TRV) は古くからヨーロッパ、アメリカで発生が確認されている。ヒヤシンスでは、オランダで 1951年 VAN der WANT により報告されたのが初めてである。わが国においては、他の植物で発生が報告されているが、その発生はまだ局所的である。このウイルスは、寄主範囲が広く、汁液伝染のほか、*Trichodorus minor*, *T. papydermis* ほか多くの *Trichodorus* 属の線虫により伝染するウイルスである。

本報告を行なうに際し、有益なご指導をいただいた植物ウイルス研究所小室康雄博士、同栃原比呂志博士、当所松澤美文防疫管理官、スイセン系 TRV 抗血清とアスター系 TRV を分譲して下さった植物ウイルス研究所小室康雄博士、同岩木満朗技官、また罹病標本を採取された横浜植物防疫所国際課、同新潟出張所の各係官に深甚の謝意を表する。

材料及び方法

隔離検疫中のオランダ産ヒヤシンス（品種カーネギー）の葉に淡黄色または、黄白色の条斑、一見虫に食べられたような病徴を生じている株があった。この株をタバコ（ホワイトバーレー）、ペチュニア、*Chenopodium amaranticolor*、ササゲなどに汁液接種したところ、TRV らしいウイルスを分離することができた。これをペチュニアに接種し、罹病させて保存し接種原とした。

寄主範囲を調べるために本ウイルスを各植物にカーボランダム法で汁液接種をおこなった。緩衝液は、0.1% チオグリコール酸を含む 0.05% の KCN 液を用いた。戻し接種は、接種後 30 日以上経たものの頂葉から *C. amaranticolor* に接種して行ない、接種葉に生じる局部病斑の有無によって全身感染しているかどうか調査した。また、ウイルス研究所からアスター系 TRV の分譲を受け、これの抗血清を作製するとともに、スイセン系 TRV 抗血清の分譲を受け血清学的な類縁関係を調べた。

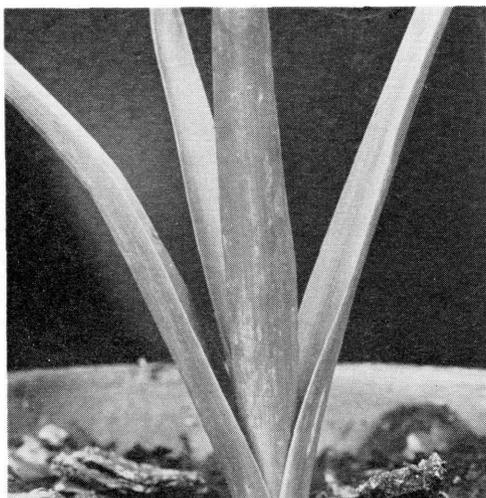
第1表 各植物への接種結果

	接 種 植 物	病 徴	戻し 接種
ナ ス 科	タバコ(ホワイトバーレー)	L. L. M. StN	-
	” (KY-57)	L. L. M.	+
	<i>Nicotiana rustica</i>	StN	-
	トマト(世界一)	M	+
	<i>Datura tatula</i>	O	+
	<i>D. stramonium</i>	O	-
	<i>Physalis floridana</i>	M	+
	ペチュニア	M	+
キ ク 科	レタス	O	-
	シュンギク(中葉)	O	+
	キンセンカ	O	-
	ゴボウ(滝ノ川)	O	-
ヒ ユ 科	センニチコウ	L. L.	+
ア カ ザ 科	<i>Chenopodium amaranticolor</i>	L. L.	-
	<i>C. quinoa</i>	L. L.	-
	ハウレンソウ	L. L. M.	+
	ビート	O	-
ウ リ 科	ベボカボチャ	L. L.	-
	キウリ(四葉)	L. L.	-
アブラナ科	カブ(金町コカブ)	O	-
	ダイコン(時無)	O	-
	カンラン	O	-
	赤丸ハツカダイコン	O	-
	ハツカダイコン	O	-
	コマツナ	O	-
マ メ 科	ソラマメ	L. L.	-
	ダイズ	O	-
	サヤエンドウ	O	-
	インゲン(大手芒)	L. L.	-
	ササゲ(黒種十六)	L. L.	-

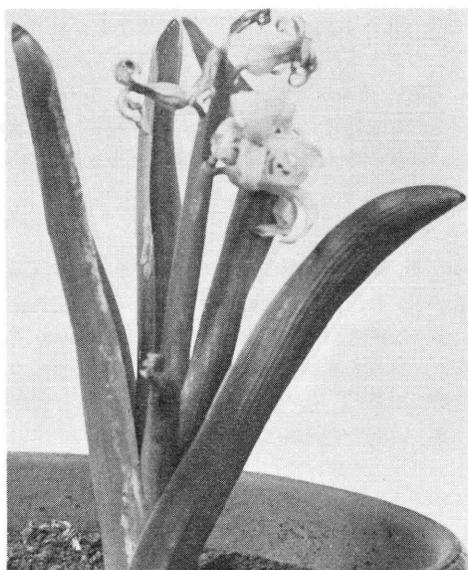
(注) L. L.: local lesion, M: mosaic, StN: 茎エソ, O: 病徴なし, +: 戻し接種陽性, -: 同陰性

実験結果

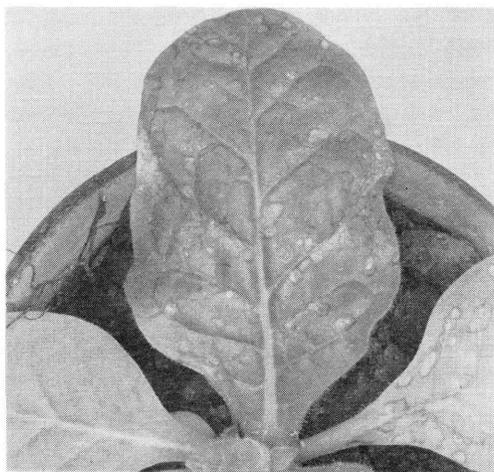
1. 寄主範囲 接種した植物は、7科30種で、その病徴は第1表に示した。タバコ (KY-57) は、接種後7日で局部病斑とモザイクを生じ、戻し接種の結果全身感染していた。同じく、ホワイトバーレーでは、KY-57と同様に局部病斑とモザイクを生じ、約1ヵ月後には茎エソを生じたが、戻し接種の結果、上葉にはウイルスの存在は認められなかった。



第1図 ヒヤシンス (Carnegie) 生育中期 TRV の病徴



第2図 ヒヤシンス (Carnegie) 開花期の TRV の病徴



第3図 タバコ (ホワイトバーレー) 接種葉の局部病斑



第4図 ソラメ接種葉の局部病斑



第5図 *C. amaranticolor* 接種葉の局部病斑

ハウレンソウでは、接種後7日でモザイクを生じ、約30日後に接種葉に局部病斑をあらわし、トマト、*Physalis floridana*、ペチュニアでは、接種後約1カ月で頂葉にモザイクを生じた。戻し接種の結果はいずれも陽性であった。局部病斑のみ生じたものは、ペポカボチャ、キュウリ、*C. amaranticolor*、*C. quinoa*、ソラマメ、インゲン、ササゲであった。これらは接種後約4~6日で病斑を生じたが、戻し接種の結果は陰性であった。センニチコウでは、接種後18日で局部病斑を生じたのみで、他の病徴は認められなかったが全身感染していた。*Datura tatula*、シュンギクでは、なら病徴をあらわさなかったが、戻し接種の結果、全身感染していることが認められた。*D. stramonium*、レタス、キンセンカ、ゴボウ、ビート、アブラナ科6種には感染しなかった。

2. 物理的性質 本ウイルスに感染しているハウレンソウに、0.01 M、pH 7.2 磷酸緩衝液を葉重の4倍量加えて搾汁し、これを5倍液とし常法により処理したのち、*C. quinoa* に汁液接種し、接種葉に生じる局部病斑によって調査した。その結果、耐熱性は65~70°C、耐希釈性は1,000~10,000倍、耐保存性は6~7日であった。

3. ウィルス粒子の形態 ウィルス粒子の形を見るために、SEMANKIK (1966) 及び都丸・中田 (1967) の純化方法を参考に部分純化を行なった。まず接種後約1週間の *C. amaranticolor* の局部病斑葉を-20°Cのフリーザー内で一昼夜凍結したのち、0.1 M 磷酸緩衝液 (pH 7.9) を葉重と等量加えて磨砕し、その汁液をクロロホルム・n-ブタノール処理後、分画遠心を反復してウィルスの純化を行なった。これを電子顕微鏡で観察したところ、短かい方が平均90 m μ 、長い方が平均190 m μ の短桿状二型のウィルス粒子が認められた。

4. アブラムシによる伝搬試験 本ウイルスに感染している *P. floridana* からモモアカアブラムシを用いて健全なタバコ (KY-57) に伝搬試験を行なった。その方法は、健全アブラムシを2時間絶食させた後、*P. floridana* のモザイク葉上に移し2分間吸汁させ、ただちにタバコに移しかえ、1日加害させた後殺虫した。供試アブラムシは、1株あたり10頭とし、10株のタバコに伝搬試験を行なった。その結果ではタバコ上に病徴はあらわれず、また、伝搬試験後約30日で、そのタバコの頂葉を *C. amaranticolor* に戻し接種したが、局部病斑は発生しなかった。

5. 血清反応試験 電顕観察用に部分純化した本ウイルスとスイセン・アスター両系 TRV 抗血清との血清反応をマイクロ凝集法により調べたがいずれの抗血清にも反応しなかった。

考 察

ヒヤシンスのウィルス病は、わが国では一般的にモザイク病として知られているが、まだ同定は行なわれていない。外国では、Cucumber Virus 1 (Ainsworth, 1938), Ornithogalum Mosaic Virus (SMITH & BRIERLEY, 1944), Hyacinth Mosaic Virus (ANON., 1955), および Tobacco Rattle Virus (VAN der WANT, 1951) の4種ウィルスの報告がある。ヒヤシンスから分離された本ウィルスは、寄主範囲では、都丸・中田 (1967) のタバコから分離された TRV とわずかの差はあるが、小室ら (1968) のアスターから分離された TRV の報告、松濤・末次 (1971) の輸入検疫中のチューリップから分離された TRV の報告とはほぼ一致している。

物理的性質は比較的安定しており、いままでに報告されている TRV にほぼ類似している。ウィルス粒子は、長短二型の短桿状粒子であり、NIXON および HARRISON (1959)、都丸・中田 (1967)、岩木・小室 (1968) らの報告している TRV の特徴と一致している。抗血清反応では、本ウィルスはスイセン及びアスター両系 TRV 抗血清とは、マイクロ凝集反応法で全く反応を示さなかった。このことについては、VAN HOOF, MAAT および SEINHORST (1966) が系統間には、血清学的類縁関係はないとし、岩木・小室 (1968) もスイセンから分離した TRV は、アスターおよびホルムスサムソン両系統の TRV とは全く血清学的に関係のないこと、また、松濤・末次 (1971) もチューリップから分離された TRV は、アスター系 TRV 抗血清とは反応を示さなかったことなどから、本ウィルスもスイセンおよびアスター系とは異なった TRV の系統と考えることが妥当である。

以上の寄主範囲および病徴、ウィルス粒子の形状などから、本ウィルスは、Tobacco Rattle Virus と考える。

摘 要

1967年、隔離検疫中のオランダ産ヒヤシンス (品種カーネギー) の淡黄または黄白色の条斑 (一見虫に食害されたような病徴) を生じていた株から Tobacco Rattle Virus と思われるウィルスを分離した。このウィルスを各植物に接種し、その病徴、物理的性質、ウィルス粒子の形状、血清学的関係などを調査した。

1) ナス、キク、ウリ、アカザ、アブラナ、マメ、およびヒユの7科の30種に汁液接種した。

トマト、*Physalis floridana*、ペチュニアは、モザイク病徴を生じ、タバコ (ホワイトパーレー、KY-57)、センニチコウ、*Chenopodium amaranticolor*、*C. quinoa*、ハウレンソウ、ペポカボチャ、キュウリ、ソラマメ、イ

ンゲン、ササゲには、局部病斑を生じた。このうちタバコ (KY-57)、ホウレンソウは、のち上葉にモザイク病徴をあらわし、センニチコウは上葉になんら病徴をあらわさなかったが全身感染していた。タバコは、のちモザイク病徴と茎エソを生じたが、頂葉からウイルスは回収されなかった。そのほかの植物は、局部病徴のみで上葉には病徴をあらわさなかった。*Nicotiana rustica* は茎エソを生じたが、上葉は無病徴でウイルスも存在せず、シュンギク、*Datura tatula* は、無病徴であるが全身感染していた。アブラナ科はいずれも感染しなかった。

2) 耐熱性は 65~70°C、耐希釈性は 1,000~10,000 倍、耐保存性は 6~7 日であった。

3) ウイルス粒子は、平均 190 m μ と 90 m μ の長短二型の短桿状であった。

4) モモアカアブラムシによる伝搬はしなかった。

5) 以上の寄生範囲、物理的性質、ウイルス粒子の形状などから本ウイルスは、Tobacco Rattle Virus と考えらる。

引用文献

AINSWORTH, G.C. (1938). A note on certain viruses of the cucumber virus 1 type isolated from monocotyledonous plants. *Ann. appl. Biol.* xxv, 4, 867~869.

ANON. (1955). In: *Plantesygdomme; Danmark 1952*, 806~870.

岩木満朗・小室康雄 (1968) スイセンから分離されたウイルス 第3報(講要), 日植病報, 34 (3): 200~201.

小室康雄・吉野正義・一戸 稔 (1968). アスター黄色輪紋株からの Tobacco rattle virus の分離とその病畑土壌からの *Trichodorus minor* の検出(講要). 日植病報, 34: 201~202.

KLINKOWSKI, M. (1968). PFLANZLICHE VIR- OLOGY BAND II: 93~94.

松濤美文・末次哲雄 (1971) 輸入検疫中にチューリップから発見された Tobacco rattle virus について 植防研報, 9: 39~42.

NIXON, H.L. and B.D. HARRISON (1959). Electron microscopic evidence on the structure of the particles of tobacco rattle virus. *J. gen. Microbiol.*, 21: 582~590.

SEMANCIK, J.S. (1966). Purification and properties of two isolates of tobacco rattle virus from pepper in California. *Phytopath.*, 56: 1190~1193.

SMITH, F.F. und BRIERLEY, P. (1944). Ornithogalum mosaic. *Phytopathology*, 34: 497~503.

都丸敬一・中田和男 (1967) わが国におけるタバコの新ウイルス病タバコ茎エソ (Tobacco rattle disease). 泰野タバコ試報, 58: 89~100.

VAN der WANT J.P.H. (1951). *Maandbl. Landb Voorl-Dienst*, 8: 421~430. [R.A.M. 32: 145]

VAN HOOF, H.A., D.Z. MAAT and J.W. SEINHORST (1966). Virus of the tobacco rattle virus group in Northern Italy: Their vectors and serological relationships. *Neth. J. Pl. Path.*, 72: 253~258.

Summary

Tobacco Rattle Virus Detected from Imported Dutch Hyacinth

By

Tetsuo SUETSUGU, Hideki NAKAMOTO and Iwao OIKAWA
Import Division, Yokohama Plant Protection Station

During post-entry quarantine of hyacinth bulbs from the Netherlands in 1967, one virus apparently similar to Tobacco Rattle Virus was isolated from one plant (var. Carnegie) showing pale yellow or white yellow streak patterns on the leaves. Identity of this virus was examined by its host ranges, physical properties, particle shape and aphid transmission.

Mechanical inoculations were made into 30 species (7 families) of herbaceous plants. Tomato, *Physalis floridana* and *Petunia hybrida* produced mosaic symptoms. Tobacco (White Burley, KY-57), *Gomphrena globosa*, *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, spinach, *Cucurbita pepo*, cucumber, bean, broad bean and cow-pea developed local lesions on inoculated leaves. Of these plants, tobacco (KY-57) and spinach later produced mosaic symptoms. *Gomphrena globosa* was systemically infected without symptoms. Tobacco (White Burley) later produced mosaic and necrotic streaks on the stem but the virus was not recovered from upper leaves. *Nicotiana rustica* showed stem necrosis but was not systemically infected. *Chrysanthemum coronarium* and *Datura tatula* were latently infected. Cruciferous plants were immune to this virus.

This virus had the thermal inactivation point of 65–70°C, dilution end-point of 1:1,000–10,000 and longevity of 6–7 days at room temperature. Electronmicroscopy revealed the presence of two mode lengths of the particles. The shorter particles ranged around 90 m μ and the longer ones around 190 m μ . By green peach aphid, this virus was not transferred to tobacco plants (KY-57).

From these evidences, the virus was identified to be Tobacco Rattle Virus.