

輸入検疫中のダリアから分離された Tobacco Streak Virus

松濤美文・劔持秀禧*・及川 巖**

西尾 健・木村 茂

横浜植物防疫所国際課

まえがき

1972年、横浜植物防疫所大和隔離圃場で隔離栽培中のダリアを汁液接種で検疫中、無病徴にもかかわらず、検定植物のタバコにウイルス病徴を現わしたものが3株あった。

BRUNT (1968) は、同じく無病徴ダリアから Tobacco Streak Virus (TSV) を分離しているの、その報告と比較したところ、ここに分離したウイルスと同一であった。

このウイルスは JOHNSON (1936) がタバコに発生していることを報告して以来、各種植物に自然発生するとともに、その寄主範囲が広いことで知られている。

すなわちダリアでは COSTA & CARVALHO (1961), FULTON (1967) と BRUNT (1968) が、それぞれアメリカ、ブラジルとイギリスでの発生を報告している。

他の植物ではインゲン (THOMAS & ZAUMEYER, 1950), エンドウ (PATINO & ZAUMEYER, 1959), ラッカセイ, ダイズ, ジャガイモ (COSTA & CARVALHO, 1961), トマト (MARTELLI & CIRULLI, 1969), アスパラガス (BRUNT & PALUDAN, 1970), パラ (FULTON, 1970), オランダイチゴ (STACE-SMITH & FRAZIER, 1971) および Black raspberry (CONVERSE, 1972) などに自然発生していること、また、寄主範囲については、FULTON (1948) が各種植物に接種し、21科87種に感染することを報告している。

このように、多くの植物に発生し、しかも寄主範囲が広いにもかかわらず、わが国には、未侵入の重要なウイルスなので、今後の隔離検疫については、特に注意する必要がある。

なお、本報告をおこなうに際し、格別のご指導とご便宜を頂いた植物ウイルス研究所 小室康雄博士及び Arabis mosaic virus, Tomato black ring virus および Tomato ring spot virus 各抗血清を分譲下さった同研究所岩木

*現在横浜植物防疫所国内課

**現在横浜植物防疫所小樽出張所

満朗博士に深く感謝の意を表する。

材料および方法

分離は、いずれも病徴のないダリアでオランダ産 G.F. Hemeric, Gold crown, 同アメリカ産 Edna 各品種から汁液接種でおこない、それぞれ A, B, E 株とした。

この各ウイルス株をタバコまたは、センニチコウにおのおの累代接種して接種源とした。汁液接種の方法は接種源の罹病葉に 0.1% の Thioglycollic acid に KCN を 0.05% になるように加えた液を 2~3 倍重量加えて十分磨碎して接種した。

実験結果

1. 各植物への接種結果

各ウイルス株を 14 科 29 種の植物に接種し、病徴を調べるとともに、接種 1 カ月後に、その頂葉の汁液をセンニチコウに戻し接種して、全身感染したか調査した。ただし、接種後すぐに全身的なエソを現わした植物は、頂葉にエソを発生するとただちに戻し接種した。この結果は次のとおりである。

第1表 接 種 結 果

接 種 植 物	ウイ ル ス	病 徴		戻し 接種
		接種葉	全身	
タバコ (Bright Yellow)	A, B, E	LL	VN	+
// (White Burley)	//	LL	VN	+
// (Samsun)	//	LL	VN	+
// (Ky-57)	//	-	-	-
N. glutinosa	//	-	-	-
N. rustica	//	LL	VN	+
ト マ ト	//	-	-	-
D. stramonium	A, E	-	M	-
	B	LL	M	+
D. tatura	A	LL	M	+
	B	LL	-	+

	E	-	-	+
C. amaranticolor	A, B, E	LL	M	+
C. quinoa	//	LL	枯	+
ホウレンソウ	A	-	M	+
	B	-	-	-
	E	-	M, NE	+
コマツナ	A, B, E	-	-	-
ダイコン	//	-	-	-
カブ	//	-	-	-
サントウサイ	//	-	-	-
カンラン	//	-	-	-
レタス	A	-	M	+
	B	-	-	-
	E	-	-	+
ダリア(実生)	A	LL	M	+
	B, E	-	M	+
ヒャクニチソウ	A, B, E	-	LC	+
ササゲ	//	LL	枯	+
ソラマメ	//	LL	SN	+
エンドウ	//	-	-	-
インゲン	//	LL	枯	+
キュウリ	A, B	LL	M	+
	E	LL	M	-
センニチコウ	A, B, E	LL	M	+
オシロイバナ	//	-	-	-
<i>Ipomoea rubro-caerulea</i>	//	-	-	-
トロロアオイ	//	-	-	-
ツルナ	//	LL	M	+
キンギョソウ	//	-	-	+
ニチニチソウ	A, E	-	-	-
	B	-	-	+

注 LL: Local lesion, VN: Vein Necrosis, M: Mosaic, SN: Stem necrosis, LC: Leaf curl, NE: Necrosis, N: Nicotiana, D: Datura, C: Chenopodium, A: G.F. Hemerick 品種(オランダ)から分離, B: Gold Crown 品種(オランダ)から分離, E: Edna 品種(U.S.A.)から分離

発病または、全身感染した植物は、タバコの Bright Yellow, White Burley, Samsun の3品種, *Nicotiana rustica*, *Datura stramonium*, *D. tatura*, *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, ホウレンソウ, ササゲ, ソラマメ, インゲン, ダリア, ヒャクニチソウ, レタス, センニチコウ, ツルナ, キンギョソウ, キュウリ, ニチニチソウなどがある。ただし、このうちホウレンソウ, レタスはA, E両株のウイルスには感染したが, B株のウイルスには感染しなかった。しかし, ニチニチソウは, この反対であった。

いずれのウイルス株にも感染しない植物はナス科で,

タバコのKY 57 品種, *N. glutinosa*, トマト, アブラナ科5種, エンドウ, オシロイバナ, *Ipomoea rubro-caerulea*, トロロアオイなどであった。

タバコの接種葉の病徴は非常に特異的で, 3~4日後同心円の local lesion を生じ, これが大きくなるとともに, line pattern が現われ, 時によると葉片に穴があくことがある。

上葉には, 14~20日後に激しいエソと, まれにモザイク病徴が現われる。

D. stramonium にA, E株を, キュウリにE株を接種したときに, モザイク病徴を現わしているにもかかわらず戻し接種では陰性の結果を得ている。これは, 本ウイルスの特徴で, タバコでもモザイク病徴を現わしているにもかかわらず, 戻し接種が成功しない場合が第1表以外の接種試験のときにあった。したがって, 前記の *D. stramonium*, キュウリの場合も全身感染していなかったと考えるよりは, たまたま, このときに, 戻し接種が成功しなかったと考えるべきであろう。

2. 物理的性質

物理的性質については, タバコの White Burley に接種後4~7日の local lesion を十分に発生した接種葉を集めて, 常法にしたがって調査した。その結果は第2・3・4表に示すとおりである。

第2表 耐 希 積 性

ウイルス*	希 積 度					
	$\times 10^{-1}$	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}
A	+	+	+	+	-	-
B	+	+	+	+	-	-
E	+	+	+	-	-	-

*第1表参照

第3表 耐 保 存 性

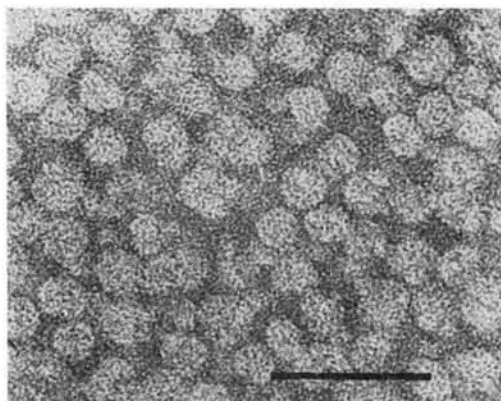
ウイルス	保 存 日 数 (約20°C)					
	0	1	2	3	4	5
A	+	+	-	-	-	-
B	+	+	+	-	-	-
E	+	+	+	+	-	-

第4表 耐 熱 性

ウイルス	処 理 温 度 (°C, 10分間)					
	40	45	50	55	60	65
A	+	+	+	+	-	-
B	+	+	+	+	-	-
E	+	+	+	+	-	-

3. ウイルス粒子の形態

ウイルスの形をみるために、タバコの White Burley に接種して、十分に local lesion を現わした接種葉の汁液に、8.5%量のブタノールを加えて攪拌し、12,000G で15分と、100,000G また140,000G で2時間の分画遠心法でウイルスを取り出し、さらに、90,000G の10% から40%の蔗糖密度勾配法で2時間遠沈して純化し、ウイルス粒子を電子顕微鏡で観察した。その結果はいずれも球状で、A株は径32nm、B株は31nm、E株は33nm であった。



第1図 Tobacco streak virus粒子の電子顕微鏡写真 (bar=100nm)

4. 血清反応

寄主範囲が広く球根類に感染しやすい Arabis mosaic virus, Tomato black ring virus, Tomato ring spot virus の各抗血清をウイルス研究所より分譲を受けるとともに、Cucumber mosaic virus の抗血清を作成して、前記の純化A, B, E各ウイルス株と、ゲル内拡散法で調査したところ、いずれも陰性であった。また、分離したウイルス3株とも、寄主範囲、物理的性質に若干の相違があるので、同じウイルスであるかどうかをみるため、前記の方法でBウイルス株を純化して抗血清を作り、同じ方法で純化したA, E株ウイルスとマイクロ凝集法で調べたが、いずれも陽性の結果を得た。

5. アブラムシによる伝染試験

アブラムシによる伝染試験をみるため、モモアカアブラムシを2時間絶食させて、分離した3株ウイルスに各々感染発病しているタバコ (Samsun) に2分間と24時間吸汁させた後、いずれも健全タバコ (Samsun) に移しかえ、2分間吸汁させたアブラムシは24時間後、吸汁24時間のものはその10日後に殺虫した。タバコは、そのまま30日間温室においたのち、各々その頂葉の汁液をセ

ンニニコウに戻し接種して、感染していたかどうか調査した。使用したタバコの数は、2分間、24時間吸汁の両区とも各々10本で、1本の接種に、アブラムシ10匹ずつ使用したが、いずれも感染しなかった。

考 察

ダリアから分離されたウイルスとして報告されているのは Dahlia mosaic virus (BRIERLEY & SMITH : 1950), Cucumber mosaic virus (CMV) (LAWSON : 1969), Tobacco ring spot virus (TRSV) (LAWSON & MILBRATH : 1963), Tomato spotted wilt virus (SMITH : 1932) 及び Tobacco streak virus (TSV) (COSTA & CARVALHO : 1961) などである。

このうち、小形球状のウイルスとしては、CMV (GIBBS & HARRISON : 1970), TRSV (STACE-SMITH : 1970), TSV (FULTON : 1971) がある。しかしながらこれらのウイルスのうち *Chenopodium amaranticolor* には CMV (GIBBS & HARRISON : 1970), TRSV (STACE-SMITH : 1970) は一般的には感染しない。一方ここに分離した各ウイルス株は無病徴のダリアから分離し、*Nicotiana glutinosa* に感染せず、*C. amaranticolor* に local lesion を作り全身感染すること、また、タバコに特徴のある病徴を現わすことなどが BRUNT (1968) の報告した T S V とまったく同じである。

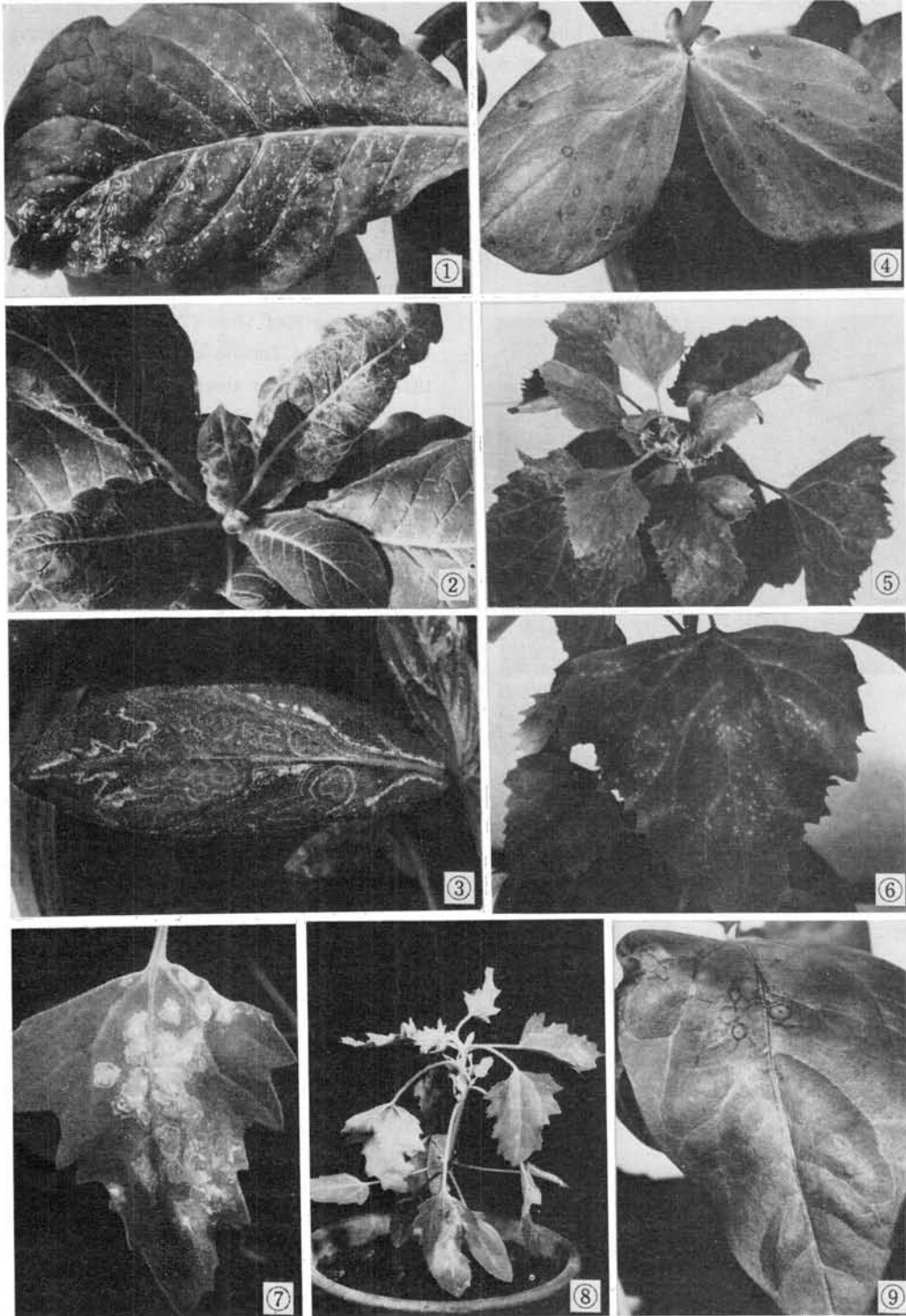
ダリアから分離した T S V の形については FULTON (1967) は直径28nm、BRUNT (1968) は30nmの球形であると報告している。本実験の各ウイルス株は31~33nmの球形で、この点も大体類似している。

物理的性質については BRUNT (1968) の報告は耐保存性48~86時間、耐熱性55~60°C、耐希釈性 10^{-3} ~ 10^{-4} となっているが、本実験での各ウイルス株は、耐保存性で24~96時間、耐熱性で55~60°C、耐希釈性で 10^{-3} ~ 10^{-5} のうちで、これもほぼ同一である。

アブラムシの伝染については、COSTA & CARVALHO (1961) はモモアカアブラムシなどで伝染試験を試みたがいずれも成功しなかった。本実験においてもモモアカアブラムシでは伝染しなかった。

また、分離ウイルス3株の間で、寄主範囲、物理的性質、ウイルス粒子の径などに若干の差があるが、Bウイルス株で作った抗血清に、他のウイルス株が反応するので、いずれも、同一ウイルスであると考えるのが妥当であろう。

これらの点より、無病徴のダリアから分離したウイルス3株は Tobacco streak virus と同定する。



第2図 ダリアから分離されたTSVの病徴

- ①タバコ (White Burley) の局部病斑 ②タバコ (White Burley) の全身病徴 ③センニチコウの局部病斑
 ④ソラマメの局部病斑 ⑤*C. amaranticolor* の全身病徴 ⑥*C. amaranticolor* の局部病斑
 ⑦*C. quinoa* の局部病斑 ⑧*C. quinoa* の全身病徴 ⑨インゲンの局部病斑

摘 要

隔離中の無病徴のダリア品種の G. F. Hemeric (オランダ産), Gold Crown (オランダ産), Edna (アメリカ産) から径 31~33nm の球状ウイルスを分離した。

これらのウイルスを各植物に汁液接種したところ、ナス科ではタバコ 3 品種, *Nicotiana rustica*, *Datura stramonium*, *D. tatara*, アカザ科では *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, マメ科では、ササゲ, ソラマメ, インゲン, その他キュウリ, ダリア, ヒャクニチソウ, センニチコウ, ツルナ, キンギョソウなどに感染した。

ホウレンソウ, レタスでは G. F. Hemeric, Edna の両品種から分離したウイルスには感染しているが, Gold Crown からのウイルスには感染していない。一方, ニチニチソウはこの反対であった。

感染しない植物は, 前記のほか, ナス科でタバコの K Y 57 品種, *N. glutinosa*, トマト, アブラナ科, エンドウ, オシロイバナ, *Ipomoea rubro-caerulea*, トロアオイ等であった。

物理的性質は耐熱性は, いずれも, 55~60°C, 耐保存性は 1~4 日, 耐希釈性は 10^{-3} ~ 10^{-5} の間である。

モモアカアブラムシによっては伝染しなかった。

各ウイルス粒子は約 31~33nm の小型球状で Cucumber mosaic virus, Arabis mosaic virus, Tomato ring spot virus, Tomato black ring virus の各抗血清とは反応しない。ただし分離ウイルス間では Gold Crown 品種から分離したウイルスで作った抗血清は他の 2 品種から分離したウイルスと反応した。

これらの結果より, 分離したウイルスの 3 株は寄主範囲, 物理的性質, ウイルス粒子の径等に若干の差はあるがいずれも Tobacco streak virus と考える。

引用文献

- BRIERLEY, P. and F.F. SMITH (1950) Some vectors, hosts and properties of Dahlia mosaic virus. *Plant Disease Repr.* **34**: 363-370.
- BRUNT, A.A. (1968) Tobacco streak virus in dahlias. *Pl. Path.* **17**: 119-122.
- BRUNT, A.A. and N. PALUDAN (1970) The serological relationship between 'Asparagus stunt' and Tobacco streak viruses. *Phytopath. Z.* **69**: 277-282.
- CONVERSE, R.H. (1972) Tobacco streak virus in black raspberry. *Phytopath.* **62**: 1001-1004.
- COSTA, A.S. and ANA MARIA B. CARVALHO (1961) Studies on Brazilian Tobacco streak. *Phytopath. Z.* **42**: 113-138.
- FULTON, R.W. (1948) Hosts of the Tobacco streak virus. *Phytopath.* **38**: 421-428.
- FULTON, R.W. (1967) Purification and some properties of Tobacco streak and Tulare apple mosaic viruses. *Virology* **32**: 153-162.
- FULTON, R.W. (1970) A disease of rose caused by Tobacco streak virus. *Plant Disease Repr.* **54**: 949-951.
- FULTON, R.W. (1971) Tobacco streak viruses. C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses No. 44.
- GIBBS, A.J. and B.D. HARRISON (1970) Cucumber mosaic virus. C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Virus No. 1.
- JOHNSON, J. (1936) Tobacco streak, a virus disease. *Phytopath.* **26**: 285-292.
- LAWSON, R.H. and J.A. MILBRATH (1963) A ringspot virus from dahlia. *Phytopath.* **53**: 1140.
- LAWSON, R.H. (1966) Oakleaf chlorosis symptomatic of Cucumber mosaic virus infection in dahlia. *Phytopath.* **56**: 343-344.
- MARTELLI, G.P. and M. CIRULLI (1969) Le virosi delle piante ortensi in Puglia. III. Una maculatura gialla del Pomodoro causata dal virus della necrosi perinervale del Tabacco (Tobacco streak virus). *Phytopath. Mediterranea*, **8**: 154-156.
- PATINO, G. and W.J. ZAUMEYER (1959) A new strain of Tobacco streak virus from peas. *Phytopath.* **49**: 43-48.
- SMITH, K.M. (1932) Studies on plant virus diseases. XI. Further experiments with a ringspot virus: Its identification with spotted wilt of the tomato. *Ann. Appl. Biol.* **19**: 305-330.
- STACE-SMITH, R. (1970) Tobacco ringspot virus. C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses No. 17.
- STACE-SMITH and N.W. FRAZIER (1971) Tobacco streak virus isolated from strawberry infected with Necrotic shock. *Phytopath.* **61**: 757-758.
- THOMAS, H.R. and W.J. ZAUMEYER (1950) Red node, a virus disease of beans. *Phytopath.* **40**: 832-846.

Summary

Tobacco Streak Virus Detected from Imported Dahlias

Mifumi MATSUNAMI, Hideki KENMOTSU, Iwao OIKAWA,
Takeshi NISHIO and Shigeru KIMURA
Import Section, Yokohama Plant Protection Station

During the post-entry quarantine of imported Dahlia in 1972, at the Yokohama Plant Protection Station, Japan, viruses were isolated from three plants showing no symptoms. The two of these plants, cultivars G. F. Hemerik and Gold Crown, were imported from Holland and the other, Edna, was from U. S. A.

By mechanical inoculation, three isolates infected a total of 15 species including *Nicotina tabacum* (var. Bright Yellow, White Burley, Samsun), but did not infect *N. tabacum* var. Ky-57, and 11 other species. *Spinacia oleracea* and *Lactuca sativa* were infected with the isolates from var. G. F. Hemerick and Edna, while the isolate from var. Gold Crown did not infect these plants. But, *Vinca rosea* had a opposite result.

The symptoms on *N. tabacum* were very characteristic. Concentric local lesions developed on the inoculated leaves 3-4 days after inoculation, and then these lesions turned into line pattern. Often, the inoculated leaves wore ragged appearance, which was the most conspicuous symptoms. Systemic symptoms appeared as mosaic with necrosis or slight deformation.

Chenopodium amaranticolor produced local lesions on the inoculated leaves 3-4 days after inoculation. Later, the systemically infected leaves developed mosaic and became distorted. The green peach aphid, *Myzus persicae*, did not transmit these viruses. Thermal inactivation point of these isolates were 55-60°C, dilution end-point were 10^{-3} - 10^{-5} and longevity *in vitro* were 1-4 days at room temperature. The particles of these viruses were found to be spherical and 31-33 nm in diameter. Purified viruses did not react with antisera of Cucumber mosaic virus, Tomato ring spot virus, Arabis mosaic virus and Tomato black ring virus. But, antiserum of virus from var. Gold Crown reacted positively with two other isolates.

From the results obtained, although the three isolated viruses have a little difference in reactions on some plants, all viruses were identified to be Tobacco streak virus.