

ジャガイモから分離された carlavirus*

小林 敏郎**・木村 伸司***・西尾 健

元島 俊治・松濤 美文****

横浜植物防疫所

Carlavirus Isolated from Potato. Toshiro KOBAYASHI, Shinji KIMURA, Takeshi NISHIO, Shunji MOTOJIMA, and Mifumi MATSUNAMI (Yokohama Plant Protection Station). *Res. Bull. Pl. Prot. Japan* 21: 41-46 (1985).

Abstract: A virus belonging to carlavirus was isolated from potato cultivar 'Ccolla' which was imported from Peru and planted for post-entry quarantine in 1979, and from potato cultivars 'Dejima' and 'Nishiyutaka' which were planted as seed stocks in south western districts in Japan in 1979 and 1980. The virus caused necrotic local lesions and systemic mottle, epinasty on *Chenopodium quinoa* by sap inoculation, and was transmitted by *Myzus persicae*. In *C. quinoa* sap, infectivity was lost by heating at 65-70°C for 10 minutes, by diluting at 10^{-4} ~ 10^{-5} , and by aging at 20°C for longer than 20 days, but in potato sap it was lost by aging for 1-3 days. The ratio of UV absorption at 260 and 280 nm for the virus purified by the method of VEERISSETTY and BRAKKE (1978) was 1.26 (A_{260}/A_{280}). The electronmicroscopic examination of purified preparations showed slightly flexuous rods of 600-650 nm in length. Flexuous rods and no inclusions were observed in cytoplasm of infected *C. quinoa* cells in ultra-thin sections. Serologically the virus was closely related with potato virus S (PVS) and distantly with potato virus M (PVM). In cross protection tests, PVS protected the virus incompletely in both potato plants and *Nicotiana debneyi*. Potato plants of three cultivars systemically infected with the virus did not show any characteristic symptoms. The name of southern potato latent virus was proposed in Japanese (KOBAYASHI *et al.*, 1983), because of its characteristic properties, especially that shown in cross protection tests. But it seems that the virus is identical with the Andean strain of PVS (PVS-An) reported by SLACK (1983).

緒 言

1979年輸入隔離検疫中であつたペルー産ジャガイモ及び1979～1980年に西日本地域で栽培された採種用ジャガイモから、それぞれ *Chenopodium quinoa* に全身感染するなど、日本で従来報告のある potato virus S (PVS) (秋元ら, 1958; 堀尾, 1976) や potato virus M (PVM) (堀尾ら, 1969) とはいくつかの点で性質が異なる carlavirus グループに属するウイルスが検出された。その性質を検討し、同定を行うことが、検定法確立の基礎となり植物検疫上及び採種栽培上重要と考えられたので、その結果を報告する。

本報告を行うに当たり、種々御指導を賜った東京大学

農学部土居養二教授、また PVS 及び PVM の各ウイルス株と抗血清ならびに各種検定植物の種子を分譲頂いた農林水産省産駒馬鈴薯原原種農場堀尾英弘博士、供試材料採集に御協力頂いた植物防疫所の関係各位に厚く御礼申し上げる。

材料及び方法

ウイルスの分離

1979年広島、1980年熊本、長崎、広島、群馬各県下で栽培された採種用ジャガイモおよび神奈川県下の一般栽培ジャガイモに生じた塊茎を網室内で栽培し、各県産の品種ごとに1～数株を分離試験に供した。分離ウイルスは、*C. quinoa* への全身感染の有無と、電子顕微鏡による粒子の観察により本ウイルスであることを確認した。1979年広島で採集したデジマから分離したウイルス株 K-1 を、*C. quinoa* の上葉から数回分離をくり返した後、各種の試験に供した。また、1979年に輸入隔離栽培中のペルー産ジャガイモ(品種、Ccolla)

* 本報告の概要は昭和56年度及び昭和57年度の各日本植物病理学会夏季関東部会において発表した。

** 現在、環境庁

*** 現在、神戸植物防疫所

**** 現在、北興化学工業株式会社

から分離されたウイルス株 P-24 についても寄主範囲, 粗汁液中の不活化限界, アブラムシ伝染性などの性質を調べた。

接種方法

汁液接種は, チオグリコール酸 0.1% を含む 0.05% KCN 溶液を葉重の 5~10 倍量加えカーボランダムを使用する常法によった。接種した植物の感染の有無は, 接種後 3~5 週間後に, 接種葉と上葉をそれぞれ *C. quinoa* に戻し接種して調べた。またその他, ウイルスの活性の有無も, *C. quinoa* に接種して調べた。

アブラムシによる伝搬試験は, 接種源及び被接種用健全植物ともに *C. quinoa* を使用し, モモアカアブラムシ (*Myzus persicae*) を 1~2 時間絶食後 15~30 分獲得吸汁させ, 1 日間接種吸汁させる方法, 及び *Nicotiana debneyi* を使用し, 1 日間獲得吸汁させ, 1 日間接種吸汁させる方法によった。両方法とも被接種植物は 5 株を用い, 1 株当り 5 頭のアブラムシを使用した。

粗汁液中の不活化限界

C. quinoa 罹病葉 10 g に 100 ml の蒸留水を加えて磨砕し, ガーゼでろ過した搾汁液について試験した。

干渉効果試験

PVS に潜在感染した男爵薯及びウイルスフリー男

爵薯それぞれ 5 株に, ウイルス株 K-1 を同時に汁液接種し, その接種葉及び上葉から *C. quinoa* へ戻し接種して全身感染の有無を確認することで干渉効果を調べた。また別に, *N. debneyi* を用い 1 次ウイルスとして PVS を接種後 31 日目あるいは 57 日目に, 2 次ウイルスとして K-1 株を接種し, 干渉効果を調べた。

実験結果

ウイルスの分離

C. quinoa に全身感染するひも状ウイルスは広島, 長崎, 熊本産のデジマ及び熊本産ニシユタカから分離された。広島, 群馬, 神奈川産農林 1 号, 群馬産男爵薯, 熊本産タチバナ, 長崎産ニシユタカからは分離されなかった。

各種植物への汁液接種試験結果

C. quinoa 罹病葉を接種源として汁液接種し, 感染が認められた植物についての結果を Table 1 に示した。

C. quinoa では, 接種 10~13 日後に接種葉にえそ斑まれに退緑斑を生じ, 上葉には接種後 16 日目頃, 葉脈透化, モットルを生じ, 葉はしばしば上扁が下側へねじれた (Fig. 1)。*N. debneyi* では, 接種後 20 日目頃上葉に葉脈透化, 退緑斑を生じ, 次第に脈間が黄褐色にえそ化を伴ったモザイク症状を呈した。

Table 1. Host reactions with isolates K-1 and P-24

Host	K-1		P-24	
	IL ^{a)}	UL	IL	UL
<i>Beta vulgaris</i> var. Cicla	(NS) ^{b)}	(M)	+	-
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	NS	VC, M, EP	NS	VC, M
<i>C. capitatum</i>	NS	+	-	-
<i>C. murale</i>	NS	VC, M	NS	+
<i>C. quinoa</i>	NS	VC, M, EP	NS	VC, M
<i>Gomphrena globosa</i>	(NS)	-	(NS)	(+)
<i>Nicotiana debneyi</i>	+	VC, M, NS	+	(M)
<i>Solanum rostratum</i>	(+)	(+)	+	+
<i>Spinacia oleracea</i>	+	+	+	+
<i>Tetragonia expansa</i>	(+)	-	.	.
<i>Vigna sinensis</i> 'Kegon-no-Taki'	(+)	(+)	+	+
'Kurodane 16'	(+)	-	.	.
'Black Eye'	(+)	-	.	.

a) IL=inoculated leaves, UL=upper leaves

b) NS=necrotic spot, M=mottle, VC=vein clearing, EP=epinasty, +=symptomless infection, -=not infected, ()=occasional results, .=not tested.

Table 2. Stability of isolates K-1 and P-24 in crude sap.

Test	Isolate	Propagated on	Dilution end point	Thermal inactivation point	Longevity <i>in vitro</i>
I	K-1	<i>C. quinoa</i>	$10^{-4} \sim 10^{-5}$	65~70°C	longer than 15 days
II	K-1	<i>C. quinoa</i>	$10^{-4} \sim 10^{-5}$	65~70°C	longer than 20 days
III	K-1	potato	$10^{-5} \sim 10^{-6}$	70~75°C	1~3 days
IV	P-24	<i>C. quinoa</i>	more than 10^{-6}	65~70°C	longer than 15 days

Table 1 に示した以外に、供試したインゲンマメ(エルボン)、キュウリ、トマト、トウガラシ、*Datura bernhardii*, *D. metaloides*, *D. stramonium*, *D. tatura*, *Nicotiana clevelandii*, *N. glutinosa*, *N. sylvestris*, *N. tabacum* (White Burley), *Physalis floridana*, *P. philadelphica*, *Solanum villosum*, *Nicandra physaloides* には感染が認められなかった。

アブラムシ伝搬試験

C. quinoa を用いた試験では、ウイルス株 K-1 及び P-24 とともに 5 株中 1 株にそれぞれ伝搬が認められた。*N. debneyi* を使用した試験では、いずれのウイルス分離株とも *N. debneyi* への伝搬は認められなかった。

粗汁液中の不活化限界

結果は Table 2 に示したとおりで、耐保存性は *C. quinoa* 葉汁液中では 20 日以上と長く、ジャガイモ葉汁液中の 1~3 日と大きく異なった。

ウイルスの純化とウイルス粒子の形態

K-1 株に罹病した *C. quinoa* の凍結葉を用い、VEERISSETY and BRAKKE (1978) の方法に準じてウイルスを純化した。純化標品の紫外外部吸収曲線は $A_{\max}=260$ nm, $A_{\min}=240$ nm, $A_{260}/A_{280}=1.26$ であった。純化標品を 2% リンタングステン酸でネガティブ染色し電顕観察した結果、600~650 nm に粒子長分布のピークがあるひも状粒子が観察された (Fig. 2)。また、*C. quinoa* の感染葉を 2% オスマック酸で固定後エポキシ樹脂に包埋し切片を作製し、酢酸ウラニウムとクエン酸鉛で二重染色したものについて超薄切片像の観察を行ったところ、細胞質中にひも状粒子の集塊が認められた (Fig. 3)。

血清学的試験

純化ウイルスを家兎に 2 回筋肉注射後、さらに 2 回静脈注射を行って、K-1 株に対する抗血清を作製した。力価は重層法で 4,096 倍であった。マイクロ沈降法による血清反応の結果、K-1 株、PVS、PVM は互いに

血清学的に類縁関係が認められた。K-1 株は、PVS と極めて近縁で、PVM とは遠い関係にあった。なお、P-24 株も感染した *C. quinoa* の粗汁液を用いたスライドグラス上の反応で、PVS 抗血清と、陽性の反応を示した。

健全ジャガイモへの接種

ウイルスフリーの農林 1 号、ウンゼン、メークイン、紅丸、男爵薯各 1 株に、K-1 及び P-24 株にそれぞれ感染した *C. quinoa* 葉を接種源として汁液接種したところ、K-1 株については紅丸の接種葉、上葉及び子いもを植付け生育させた次代株から、また男爵薯の接種葉からそれぞれウイルスが回収された。P-24 株については、農林 1 号の接種葉及び男爵薯の接種葉、上葉からウイルスが回収されたが、それぞれの子いもから生育させた次代株からは回収されなかった。感染株においてはいずれも特定の症状は認められず無病徴感染した。

干渉効果試験

結果は Table 3 に示したように、試験区 II では、K-1 株を接種した PVS 保毒男爵薯の 5 株中 1 株の上葉から K-1 株が回収され、PVS と K-1 株間の干渉効果は完全ではなかった。*N. debneyi* を用いた試験区においても両ウイルス間の干渉効果の不成立が一部の株で認められた。

考 察

分離ウイルスは粒子の形態、伝染方法、血清反応の結果から carlavirus (FENNER, 1976) に属する。ジャガイモで発生が知られる carlavirus の PVS 及び PVM と比較した場合、*N. debneyi* に全身感染し、トマトに感染しなかったこと、PVS と血清学的に近縁であったことなどから、PVM (WETTER, 1972) よりも PVS (WETTER, 1971) に近い関係にあると考えられる。しかし本ウイルスは、わが国及び諸外国で従来報告されている PVS (秋元ら, 1958; BAGNAL *et al.*,

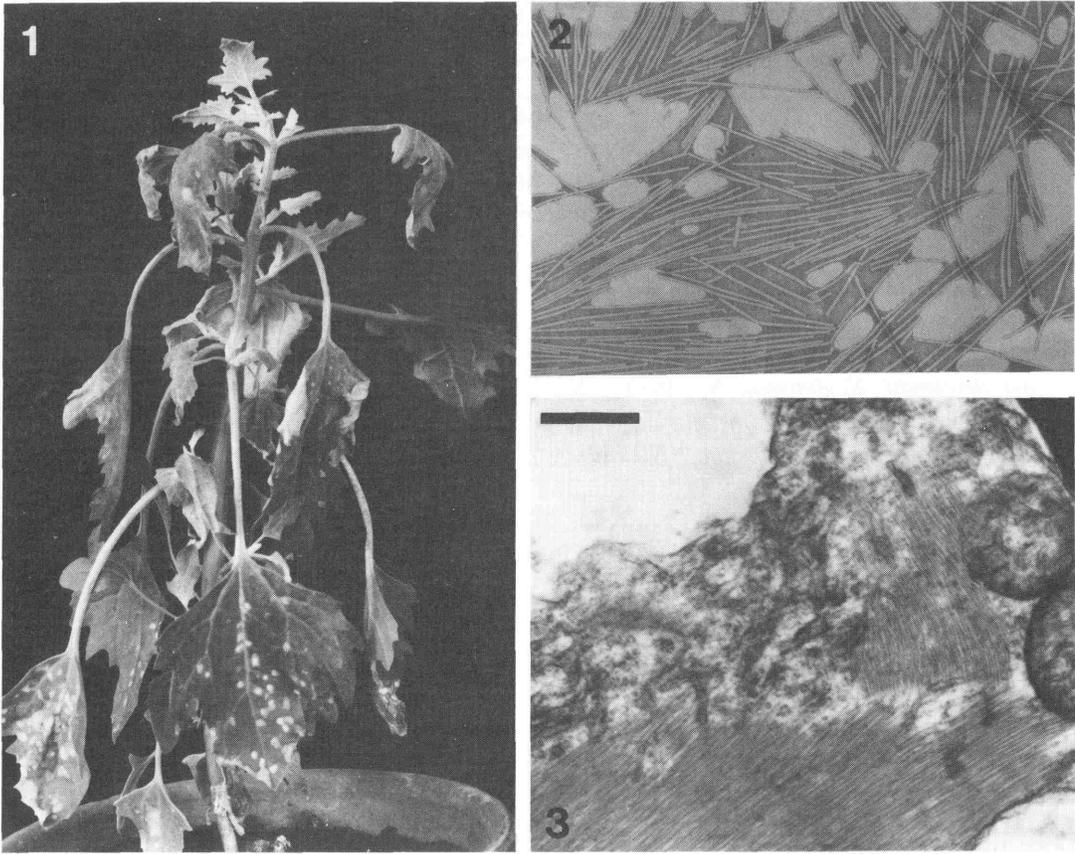


Fig. 1. Necrotic local lesions, systemic mottle and epinasty induced by isolate K-1 on *Chenopodium quinoa*.

Fig. 2. Virus particles from a purified preparation of isolate K-1. Magnification is the same as Fig. 3.

Fig. 3. An ultrathin section of leaf cell of *C. quinoa* infected with isolate K-1. Note aggregated masses of the virus like particles. Bar represents 500 nm.

Table 3. Cross-protection tests

Test	Test plant	Original inoculum	Challenge ¹⁾ inoculum	No. of test plants ²⁾ infected with challenge inoculum / No. of test plants
I (control)	Virus free potato 'Irish Cobbler'	none	K-1	5/5
II	Potato 'Irish Cobbler' infected with PVS	none	K-1	1/5
III	<i>N. debneyi</i>	PVS	K-1	3/10
IV	<i>N. debneyi</i>	PVS	K-1	1/7

¹⁾ Challenge virus was inoculated 57 and 31 days after original inoculation in test III and IV respectively.

²⁾ Indicated by systemic symptoms development on *C. quinoa*.

1959; DE BOKX, 1970; WETTER, 1971; HIRUKI, 1975; KOWALSKA & WAŚ, 1976; 堀尾, 1976) とは, *C. quinoa* や *C. amaranticolor* に全身感染する点で,

また, アブラムシによる伝搬率が高い(木村ら, 1985) 特徴がある点で異なる。また, 耐保存性が, *C. quinoa* 葉汁液中の場合 20 日以上と長いことが特徴であった。

従来報告のある PVS と異なる性質を示すものとして、HINOSTROZA-ORIHUELA (1973) はヨーロッパにおいてペルー系品種のジャガイモから、*C. quinoa* に全身感染し、耐保存性が6日以上とやや長く、本ウイルスと類似した性質を示す PVS の 1 系統を分離し報告している。著者らは、この HINOSTROZA-ORIHUELA (1973) のウイルスの性質の記載が簡単で比較するのに必ずしも十分でなかったこと、本試験で得られた分離ウイルスの寄主に対する反応、アブラムシ伝染性、粗汁液中の不活化限界、さらに本ウイルスと PVS との間の干渉効果が不完全であった点等、本ウイルスの諸特性及び carlavirus グループ内では互いに血清学的に類縁関係がみられることから、本ウイルスを PVS の 1 系統とするよりは、PVS とは異なるウイルスと分類整理した方がよいと考え、southern potato latent virus (SPLV, ジャガイモ南部潜在ウイルス, 新称) として報告した (小林ら, 1982, 1983)。

しかし、最近 SLACK (1983) は *C. quinoa* に全身感染し、モモアカアブラムシによる伝搬率の比較的高いウイルスを北アメリカにおいて、アンデス系の品種から分離し、PVS のアンデス系統 (PVS-An) とした。PVS-An がインゲンマメ及びトマトに感染した点で本分離ウイルスとは異なったが、その他の性質はほぼ一致しており、PVS-An は SPLV と同じウイルスであると考えられる。

本ウイルスはデジマ、ニシユタカなどの品種に西日本地域では広く分布しているものと推察されるが、ジャガイモで特定の病徴が認められず潜在感染していると考えられ、その被害は不明である。しかし、ウイルスフリー化を進める採種用ジャガイモ栽培にとっては、本ウイルスのアブラムシ伝搬率が比較的高いこと (木村ら, 1985) から注意が必要であり、発生実態を把握する必要があると考えられる。

現在までアンデス系統のジャガイモ品種にのみ報告のあるウイルスが日本の栽培品種に発生していることから、その発生起源についても追求することが重要であると考えられる。

摘 要

1. *C. quinoa* に全身感染する carlavirus が西日本地域のジャガイモ品種デジマ及びニシユタカから、また輸入隔離栽培中のペルー産品種 Ccolla から分離された。

2. 本ウイルスは汁液接種により 5 科 11 種の植物に感染し、特に *C. quinoa*, *C. amaranticolor*, *N. deb-*

neyi に全身感染し、またトマトには感染しなかった。

3. 本ウイルスはモモアカアブラムシ (*Myzus persicae*) により非永続的に伝搬された。K-1 分離株の *C. quinoa* 葉汁液中での不活化限界は、耐熱性 65~70°C、耐希釈性 10^{-4} ~ 10^{-5} 、耐保存性 20 日以上であった。

4. 純化したウイルス粒子の形態は、600~650 nm に粒子長分布のピークがあるひも状であった。*C. quinoa* の病葉の超薄切片の電顕観察により、細胞質中にウイルス様粒子の集塊が認められた。

5. 本ウイルスは、血清学的に PVS と近い関係が認められた。

6. ジャガイモへ汁液接種した結果、男爵薯、紅丸に無病徴感染し、また塊茎伝染した。

7. 本ウイルスと PVS との間では干渉効果が不完全であった。

8. 以上の実験結果から、本ウイルスは従来報告のある PVS とはいくつかの性質が異なり、southern potato latent virus (SPLV, ジャガイモ南部潜在ウイルス) と命名することを提案した。

9. しかし、本ウイルスと最近報告された PVS のアンデス系統 (PVS-An) (SLACK, 1983) とは同じウイルスであると考えられた。

引用文献

- 秋元喜弘・松沢運夫・栗原 実 (1958) 馬鈴薯 S ウイルスについて。日植病報 23: 42.
- BAGNALL, R.H., C. WETTER and R.H. LARSON (1959) Differential host and serological relationships of potato virus M, potato virus S, and carnation latent virus. *Phytopathology* 49: 435-442.
- DE BOKX, J.A. (1970) Reaction of various plant species to inoculation with potato virus S. *Neth. J. Pl. Path.* 76: 70-78.
- FENNER, F. (1976) Classification and nomenclature of viruses. Second report of the international committee of taxonomy of viruses. *Inter-virology* 7: 15-90.
- HINOSTROZA-ORIHUELA, A.M. (1973) Some properties of potato virus S isolated from Peruvian potato varieties. *Potato Res.* 16: 244-250.
- HIRUKI, C. (1970) Red kidney bean a useful bio-assay host for qualitative and quantitative work with potato virus M. *Phytopathology* 60: 739-740.
- 堀尾英弘・矢野勇夫・江住和雄 (1969) わが国で見出されたジャガイモ M ウイルス。日植病報 35: 47-54.

- 堀尾英弘 (1976) ジャガイモ M モザイク病および S モザイク病に関する研究 馬鈴薯原原種農場調査研究報告 12: 1-94.
- 木村伸司・西尾 健・小林敏郎 (1985) ジャガイモ南部潜在ウイルス (southern potato latent virus) のアブラムシ伝搬について. 植防研報 21: 65-66.
- 小林敏郎・元島俊治・加藤幹雄・西尾 健・松濤美文 (1982) ジャガイモから分離された Carlavirus について. 日植病報 48: 79-80 (講要).
- 小林敏郎・木村伸司・西尾 健・元島俊治 (1983) 暖地ジャガイモから分離されるジャガイモ南部潜在ウイルス (Southern potato latent virus, 新称). 日植病報 49: 81 (講要).
- KOWALSKA, A. and M. WAS (1976) Detection of potato virus M and potato virus S on test plants. Potato Res. 19: 131-139.
- SLACK, S.A. (1983) Identification of an isolate of the Andean strain of potato virus S in North America. Plant Disease 67: 786-789.
- VEERISSETTY, V. and M.K. BRAKKE (1978) Purification of some legume carlaviruses. Phytopathology 68: 59-64.
- WETTER, C. (1971) Potato virus S. Descriptions of plant viruses. No. 60. Commonw. Mycol. Inst./Assoc. Appl. Biol., Kew, Surrey, England.
- WETTER, C. (1972) Potato virus M. Descriptions of plant viruses. No. 87. Commonw. Mycol. Inst./Assoc. Appl. Biol., Kew, Surrey, England.