

3種リンゴウイルス検定のためのミツバカイドウ MO-65の利用について*

高橋 勤・木村 茂**・後藤 正昭

横浜植物防疫所業務部国際第二課

Malus sieboldii MO-65 as a Indicator Plant for Apple Latent Viruses. Tsutomu TAKAHASHI, Shigeru KIMURA and Masaaki GOTO (Yokohama Plant Protection Station). *Res. Bull. Pl. Prot. Japan* 24: 39-43 (1988).

Abstract: In a search for better indicator of apple latent viruses, apple chlorotic leafspot virus (ACLSV), apple stem grooving virus (ASGV) and apple stem pitting virus (ASPV), symptom developments were examined on *Malus sieboldii* MO-65 by 2 different budding methods.

Method (A) indicator plant MO-65 was inoculated with infected bud, after then the inoculated indicator scion was cut-grafted on apple seedling, and (B) apple seedling was inoculated with infected bud, on which MO-65 was cut-grafted, were employed. These tests were done in the greenhouse ($25 \pm 2^\circ\text{C}$). As a result of the observations of symptom expressions of MO-65, Method (A) is more reliable than Method (B). By Method (A), MO-65 inoculated with ASPV showed necrotic leaf spot about 30 days after inoculation, and then shoot necrosis after 45 days. Moreover, it developed epinasty of leaf and/or inner bark necrosis as well. And MO-65 inoculated with ASGV showed necrosis of the tissue adjacent to the inserted site about 4.5 months after inoculation. However, MO-65 inoculated with ACLSV developed no symptom even after 8 months.

From these results, *Malus sieboldii* MO-65 is useful indicator plant for detecting ASPV and ASGV, not for ACLSV, and can be applied to plant quarantine.

I. はじめに

リンゴ高接病の病原ウイルスといわれる apple chlorotic leafspot virus (ACLSV), apple stem grooving virus (ASGV) および apple stem pitting virus (ASPV) (YANASE 1974; YANASE *et al.*, 1975) の検定は、マルバカイドウ、ミツバカイドウおよびその他各種の *Malus* 属指標植物を用いて行われている (DUNES, 1983)。しかし、これらの検定では結果が判明するまでに長期間を要するものが多く、また、マルバカイドウおよびミツバカイドウは個体変異があり、検定精度が一定しないことが考えられる。

近年、農林水産省果樹試験場盛岡支場において選抜されたミツバカイドウ MO-65 (以下 MO-65) は、ASPV の短期検出に有効であり、また、ACLSV および ASGV にも反応するといわれている (柳瀬・山口, 1982)。

そこで、この MO-65 を指標植物として、指標植物に直接被検樹を芽接ぎし、これを同時に台木に切り接ぐ

方法、および従来用いられている接ぎ木方法の2通りの接ぎ木方法によってこれら3種のリンゴウイルスの検出を試み、その検出条件、発現病徴、および病徴発現までの期間等について調査し、植物検疫への導入の可否について検討した。

本報告を行うにあたり、貴重な指標植物およびウイルス病原の分譲ならびに種々御教示を賜った農水省果樹試験場柳瀬春夫博士、同試験場盛岡支場小金沢碩城博士ならびに弘前大学農学部沢村健二教授に感謝の意を表す。また、試験を通して有益な御指導、御助言を頂いた当所前病菌課長尾課長および病菌課長西尾博士に厚くお礼申し上げる。

II. 材料および方法

1. 接種源

第1表に示すとおり、各ウイルス罹病リンゴ穂木またはナン穂木を用いた。

なお、アメリカ合衆国産 ASPV は、農水省果樹試験場盛岡支場が、農林水産大臣の特別輸入許可を受け、輸入していたものを分譲して頂いた。

* 本報告の概要は昭和62年日本植物病理学会夏期関東部会（昭和62年7月）において発表した。

** 現在、横浜植物防疫所調査研究部病菌課

Table 1. Virus inocula

virus	Infected plant (variety)	Origin
ACLSV	Apple (Unknown)	Morioka Branch, Fruit Tree Res. Stn.
ASGV	Pear (Flemish beauty)	Hirosaki University
ASPV	Apple (Unknown)	U.S.A. (with special permit)
ACLSV + ASGV + ASPV	Apple (Golden delicious)	Morioka Branch, Fruit Tree Res. Stn.
ACLSV + ASGV	Apple (Fuji)	Morioka Branch, Fruit Tree Res. Stn.

2. 接種および管理方法

接種方法は、第1図に示すとおり、鉢植えしたリンゴ実生苗を台木とし、切り接ぎしたMO-65にウイルス保毒芽を直接接種する方法（接種法A）および従来用いられてきた、MO-65を切り接ぎしウイルス保毒芽をリンゴ実生台に接種する方法（接種法B）の二つの方法を用いた。

試験は1985および1986年に行い、1985年には温室内および露地における病徴発現状況の比較を、1986年は、各ウイルス単独感染による病徴発現状況を調査した。接ぎ木接種はいずれも4月中旬に行い、接種後温

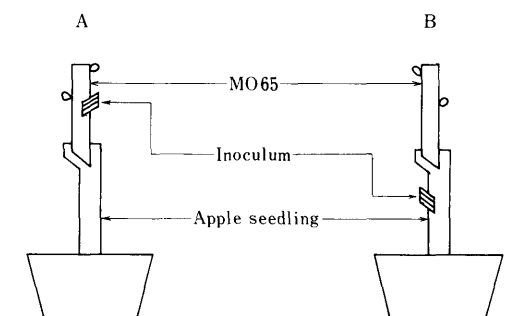


Fig. 1. Inoculation methods

室内（25±2°C）に定置、または鉢植えのまま圃場に定置し、8カ月間病徴観察を行った。試験は各区6本を供試した。

III. 結 果

1. 各ウイルスによる病徴発現状況

3種のリンゴウイルス接種によるMO-65の病徴発現状況は、第2表に示すとおりである。

ACLSVについては、接種8カ月後までの観察で、葉、新梢および接ぎ木部に何らの病徴も生じなかった。

ASGVは、接種4～5カ月後、接種法Aではウイルス接種部を、接種法BではMO-65とリンゴ実生台の接ぎ木部をナイフで削ってみると黒褐色のエソが観察できた。この病徴は、MO-65にウイルス保毒芽を直接接種した方がより明瞭で、激しく、8カ月後には接種部周辺は陥没し、容易に確認できた。また、病徴発現割合もMO-65に直接接種した場合6/6であるのに対し、リンゴ実生台に接種した場合は1/4であった。

ASPVを接種した場合、接種後30日目ごろからMO-65の新葉に斑点が現れ、その後褐色のエソ斑となった。また、新梢には、接種45日目ごろ、褐色のエソ病徴が外部から確認できた。時には、葉のエピナスティおよび接ぎ木部に線状のエソが観察できた。両接

Table 2. Symptom developments of MO-65 by apple latent viruses

Virus	Inoculation on	NS	EP	SN	N	IBN
ACLV	(A) MO-65	0/5*	0/5	0/5	0/5	0/5
	(B) Apple seedling	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
ASGV	(A) MO-65	0/6	0/6	0/6	6/6	0/6
	(B) Apple seedling	0/4	0/4	0/4	1/4	0/4
ASPV	(A) MO-65	4/4	4/4	4/4	0/4	3/4
	(B) Apple seedling	5/5	2/5	5/5	0/4	3/4

* No. of plant developed symptom/No. of plant tested

NS: Necrotic leafspot, EP: Epinasty, SN: Shoot necrosis

N: Necrosis of tissue adjacent to inoculated site (A) or of union (B)

IBN: Inner bark necrosis

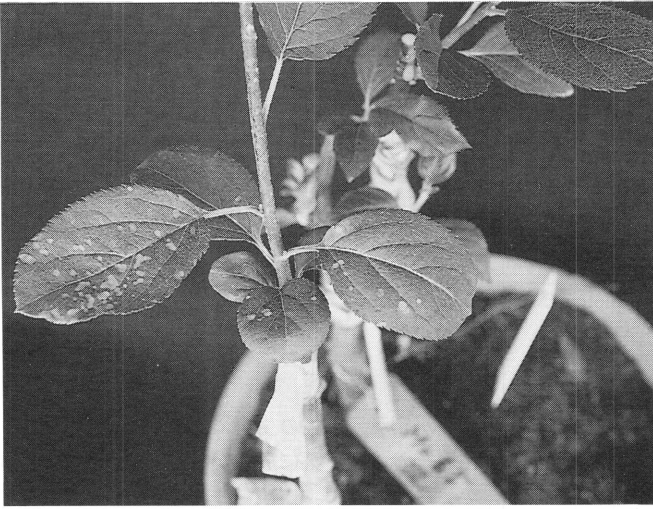
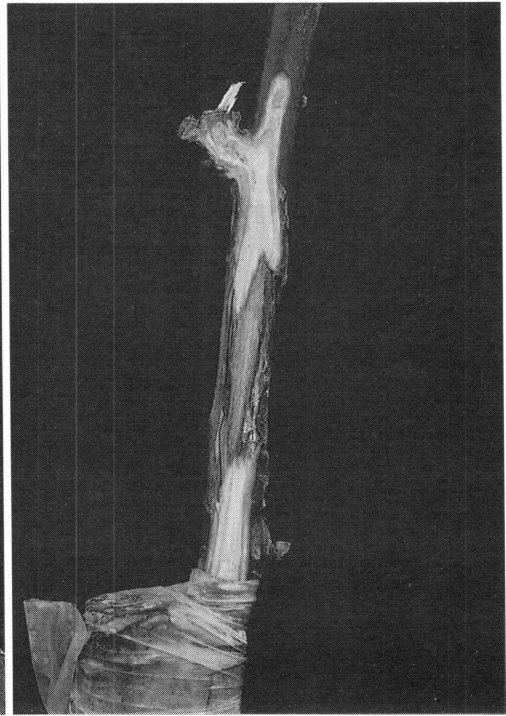
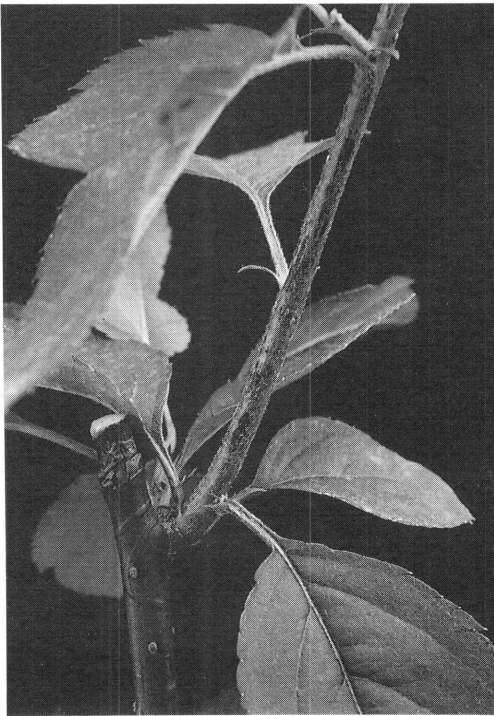


Fig. 2. Necrotic leafspot and shoot necrosis by ASPV about 45 days after inoculation

Fig. 3. Shoot necrosis by ASPV

Fig. 4. Necrosis of tissue of MO65 adjacent to inserted site about 8 months after inoculation by ASGV



種法で検出割合に差はなかった。

2. 温室内および露地における検出状況

検出条件の1つとして、温室内検定と露地検定の両者について比較した。ウイルス接種は、リンゴ実生台に行った。

その結果は第3表に示すとおり、ASPV+ASGV+ACLSVの混合接種区において、温室内では、ASPV

による葉の褐色エソ斑点を生じたが、露地検定では、全く葉に病徴を生じなかった。接ぎ木部の調査の結果、エソ病徴が、温室内では6/6、露地では5/6に観察された。

IV. 考 察

リンゴ高接病の病原ウイルスは、ACLSV, ASGV,

Table 3. Comparison of symptom developments in the greenhouse and the field

Virus	Location	Leaf symptom	Union symptom
ACLSV	Greenhouse	0/4*	0/4
	Field	0/5	0/5
ACLSV + ASGV	Greenhouse	0/6	0/6
	Field	0/6	0/6
ACLSV + ASGV + ASPV	Greenhouse	6/6	6/6
	Field	0/6	5/6

* No. of plants developed symptom/No. of plants tested
Inoculation method B was used.

および ASPV が知られている。これらのウイルスのうち、ACLSV および ASGV は、*Chenopodium quinoa* への汁液接種による検出 (CROPLEY 1963; LISTER *et al.*, 1965; H.E. WATERWORTH *et al.*, 1980) が知られており、植物検疫においても従来、*C. quinoa* への汁液接種を木本検定と併用して実施して来た。また、これらのウイルスについては ELISA 法による検出 (FLEGG and CLARK, 1979) も知られている。しかし、ASPV は汁液接種による検出ができないため、木本検定によらなければならない。従来、隔離検疫ではリンゴ高接病の検定を、挿木または実生繁殖のマルバカイドウおよびミツバカイドウへの接ぎ木検定で行ってきたが、これらによる検定は検出まで長期間かかることおよび個体変異による感受性の差もあるといわれ、新しい木本指標植物を導入することが必要であると考えられた。

本試験では、MO-65 を指標植物として温室内において検定を行えば、ASPV は葉および新梢に発現する病徴により 30~45 日で検出でき、ASGV については、MO-65 にウイルスを直接接種した場合、接種部に外からも確認できる表皮の陥没、変色および木質部にまで及ぶエソ病徴が、接種後 4~5 カ月で出現し、検出できた。しかし ACLSV については、接種後 8 カ月の観察で何らの病徴もみられず、検出できなかった。柳瀬と山口 (1982) は、ACLSV は接種当年には病徴を示さないが、2 年目には接ぎ木部にエソ病徴を生じた、としてから、さらに長期の観察が必要と思われた。

これらの検定は、指標植物 MO-65 に直接ウイルスを接種した方が、リンゴ実生台に接種するよりも、検定精度は高く、かつ、ASGV については発現病徴も激しい傾向が認められた。なお、ASPV と ASGV は、その発現病徴のちがいがから区別することができた。

露地検定を行った場合には、ASPV 接種区で葉に病徴を生じなかった。この原因としては、露地における

環境が新葉、新梢の生育に何らかの影響を及ぼし、硬化等をおこし、葉に病徴が出現しなかったのではないかと考えられた。

以上のことから、リンゴ高接病の検定にミツバカイドウ MO-65 を利用した被検芽を直接接ぎ木する方法を用いて、ASPV および ASGV については、温室内検定によって、短期に検出可能であることがわかった。また、町田と松中 (1987) は、これらのウイルス検定のうち ACLSV および ASPV の早期検定に *Malus scheidekeri* が有効であることを示しており、*C. quinoa* への汁液接種とこれらの木本指標植物を併用すれば、リンゴの 3 種ウイルスの精度の高い早期検定法となり、植物検疫に導入できると考える。

摘 要

近年選抜されたミツバカイドウ MO-65 を用いて、リンゴ高接病病原ウイルス (ACLSV, ASGV および ASPV) の検出および病徴発現状況について調査した。

1. ASPV は葉に褐色エソ斑点およびエビナスティ、また、新梢のエソ病徴により、接種後 30~45 日で検出できた。

2. ASGV は、接種後 4~5 カ月、接ぎ木部(接種部)に外からも確認できる陥没、変色がみられ、ナイフで削ると黒褐色のエソ病徴が認められ、これにより検出できた。

なお、本ウイルスの場合、ウイルスを直接 MO-65 に接種した方が、検出精度は高く、発現病徴も激しかった。

3. ACLSV については、接種後 8 カ月までの観察で何らの病徴も生ぜず、検出できなかった。

4. ASPV と ASGV とは、発現病徴の差により区別できた。

5. 露地検定では、葉の病徴は出現せず、検出は困

難であった。そのため MO-65 による検定は温室内で行うことが必要である。

以上のことから MO-65 はリンゴ高接病の病原ウイルスのうち、ASPV および ASGV の短期検出に有効であり、植物検疫に導入できることがわかった。

引用文献

- CROPLEY, R. (1963) The association of sap-transmissible virus with apple chlorotic leafspot. *Plant Dis. Rept.* **47**: 165-167.
- FLEGG, C.L. and M.F. CLARK (1979) The detection of apple chlorotic leafspot virus by a modified procedure of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Ann. Appl. Biol.* **91**: 61-65.
- J. DUNEZ (ed.) (1983) Indexing of virus like diseases of fruit trees. I.S.H.S. 1-22.
- LISTER, R.M., BANCROFT, J.B. and NADAKAVUKAREN, M.J. (1965) Some sap-transmissible viruses from apple, *Phytopathology*. **55** (8): 859-870.
- LISTER, R.M. (1970) Apple chlorotic leafspot virus. CMI/AAB. Descriptions of plant viruses No. **30**: 4 p.
- 町田郁夫・松中謙次郎 (1987) ACLSV の各種系統, ASPV および ASGV の木本指標植物 *Malus scheidekeri* に発現する病徴について. *日植病報*: **63** (1) 93 (講要).
- YANASE, H. (1974) Studies on apple latent viruses in Japan. *Bull. Fruit Tree Res. Stn. Ser. C*. No. 1, 47-109.
- YANASE, H., SAWAMURA, K., MINK, G.I. and YAMAGUCHI, A. (1975) Viruses causing apple topworking disease (TAKA TSUGI Byo) in Japan. *Acta Horticulturae*. **44**: 220-230.
- 柳瀬春夫・山口 昭 (1982) リンゴステムピットイングウイルスのための新しい指標植物. ミツバカイドウ MO-65. *果樹試験場報告 C*, 第 9 号: 66-77.
- WATERWORTH, H.E. and UYEMOTO, J.K. (1980) Symptoms incited by apple type II virus isolates in Virginia Crab apple trees. *Plant Disease*. **64**: 562-563.