

イギリス産オランダイチゴから分離された arabis mosaic virus

藤原 裕治・星野 智士・斎藤 範彦
栗原 金光・大門 輝男
横浜植物防疫所

Arabis mosaic virus isolated from strawberry plant imported from Great Britain. Yuji FUJIWARA, Satoshi HOSHINO, Norihiko SAITO, Kinkou KURIHARA, Teruo DAIMON (Yokohama Plant Protection Station 6-64, Kitanaka-dori, Naka-Ku, Yokohama 231, Japan). *Res. Bull. Pl. Pro. Japan* 29: 53-56

Abstract: Arabis mosaic virus (ArMV) was isolated from the symptomless strawberry (var. Pink Panda) plant imported from Great Britain in 1990 under post-entry quarantine at Yokohama Plant Protection Station in Japan. The virus was identified on the basis of symptomatology in indicator plants, particle morphology and composition, physical and serological properties.

No record have been seen that ArMV was isolated from strawberry plant in Japan.

はじめに

1990年にイギリスから輸入され、横浜植物防疫所大和圃場で隔離検疫中のオランダイチゴから、*Chenopodium quinoa* に全身感染するウイルスを分離した。本ウイルスの同定を試みたところ我が国のオランダイチゴでは未報告の arabis mosaic virus (ArMV) であることが判明したので報告する。

本試験を行うにあたり、ArMV 抗血清を分譲していただいた山口大学農学部教授亀谷満朗博士に厚くお礼を申し上げます。

材料及び方法

ウイルス

1990年にイギリスから輸入された無病徴のオランダイチゴ (品種 Pink Panda) 苗から、*C. quinoa* に全身感染するウイルスが分離された。この感染 *C. quinoa* 上葉をセンニチコウに接種し、単一病斑分離を2回繰り返した後、*C. quinoa* で増殖し、以下の試験に供した。

接種試験

各種植物への汁液接種は、*C. quinoa* 感染葉に0.1% チオグリコール酸を含む0.01Mリン酸緩衝液 (pH7.0) を加えて磨碎し、カーボランダムを用いる常法により行った。各種植物の感染の有無は、*C. quinoa* への戻し接種により確認した。

物理性試験

耐希釈性は、*C. quinoa* 感染葉の磨碎搾汁液を3,000rpm で15分間遠心分離し、その上清を蒸留水で10倍段階希釈したものを、耐保存性は、*C. quinoa* 感染葉に10倍量 (V/W) の蒸留水を加えて磨碎搾汁し、3,000rpm で15分間遠心分離した上清を、耐熱性は、同様に遠心分離した上清を40℃~70℃で10分間熱処理したものを、それぞれ *C. quinoa* へ接種した。

ウイルスの純化

C. quinoa 感染葉に2倍量 (V/W) の0.1% チオグリコール酸を含む0.05Mリン酸緩衝液 (pH7.0) を加えて磨碎搾汁後、8% のn-ブタノールを加えて30分間攪拌し、10,000rpm で20分間遠心分離した。この上清に8% (W/V) のポリエチレングリコール (M.W.6,000)

Table 1. Symptoms on test plants

Plant	Inoculated leaves	Systemic
Aizoaceae		
<i>Tetragonia expansa</i>	CS	M
Amaranthaceae		
<i>Gomphrena globosa</i>	NS	—
Chenopodiaceae		
<i>Beta vulgaris</i>	+	+
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	CS	CS, NS
<i>C. murale</i>	+	CS, TN
<i>C. quinoa</i>	CS	VC, Mot
<i>Spinacia oleracea</i> cv. Rtdo	+	+
cv. Nōberu	+	+
cv. Kuroba-minsutārando	+	+
Compositae		
<i>Calendula officinalis</i> (Calendula)	+	+
<i>Chrysanthemum coronarium</i>	+	—
<i>Lactuca sativa</i> (Lettuce)	+	+
<i>Zinnia elegans</i> (Zinnia)	—	—
Cruciferae		
<i>Brassica campestris</i> var. <i>rapifera</i> cv. Maruba-komatsuna	—	—
<i>Brassica campestris</i> var. <i>pekinensis</i>	—	—
<i>Brassica campestris</i> var. <i>rapa</i> (Turnip) cv. Kanamachi-kokabu	+	+
<i>Raphanus sativas</i> (Japanese radish)	—	—
Cucurbitaceae		
<i>Citrullus lanatus</i> (Watermelon) cv. Kinki	—	—
<i>Cucumis sativus</i> (Cucumber) cv. Suyo	+	—
<i>Cucubita maxima</i> cv. Miyako	—	—
Labiatae		
<i>Salvia splendens</i>	+	+
Leguminosae		
<i>Phaseolus vulgaris</i> cv. Kentucky Wonder	—	—
cv. Āron	+	CS, M
<i>Pisum sativum</i>	+	+
<i>Vicia faba</i>	—	—
<i>Vigna sinensis</i> cv. Kurodane-sanjaku	+	N
cv. Kegon-no-taki	+	CS
Pedaliaceae		
<i>Sesamum indicum</i> cv. Shiro-goma	N	N
Solanaceae		
<i>Capsicum annuum</i> (Red pepper)	—	—
<i>Capsicum annuum</i> (Sweet pepper)	—	—
<i>Datura stramonium</i>	+	—
<i>Lycopersicon esculentum</i>	—	—
<i>Nicotiana benthamiana</i>	CRS	LP, M
<i>N. bigelovii</i>	CRS	+
<i>N. clevelandii</i>	CS	+
<i>N. debneyi</i>	+	+
<i>N. glutinosa</i>	+	—
<i>N. rustica</i>	CRS	CRS
<i>N. tabacum</i> cv. White Burley	+	+
cv. KY-57	+	CRS
cv. Xanthi	CRS	+
<i>Petunia hybrida</i>	NS	CS, VN
<i>Physalis floridana</i>	+	VC, M
Umbelliferae		
<i>Daucus carota</i> (Carrot)	—	—

CS : chlorotic spot, CRS : chlorotic ringspot, LP : line pattern, M : mosaic, Mot : mottle,
 N : necrosis, NS : necrotic spot, VC : vein clearing, VN : vein necrosis, TN : top necrosis,
 + : symptomless infection, — : no infection.

及び0.4MのNaClを加え、1時間攪拌後10,000rpmで20分間遠心分離した。この沈澱を0.01Mリン酸緩衝液(pH7.0)に溶解し、分画遠心後、さらに10~40%のショ糖密度勾配遠心分離を行いウイルスを純化した。

抗血清反応

純化ウイルス試料と分譲を受けた ArMV 抗血清及び当所で作成した ArMV-Tu (チューリップ分離株) 抗血清を、寒天ゲル内二重拡散法 (ゲル組成: 0.01Mリン酸緩衝液, pH7.0, 0.8% Agar, 0.85% NaCl, 0.04% Na₂S₂O₃) で反応させた。

結果及び考察

寄主範囲

本ウイルスの寄主範囲は広く、11科38種の植物に接種したところ11科27種の植物に感染した (Table 1)。アカザ科の *C. quinoa*, *C. amaranticolor* では接種葉に退緑斑点や退緑輪点を生じ、上葉に *C. quinoa* では葉脈透化、モットル症状を、*C. amaranticolor* では退緑斑点を生じた。ナス科の *Nicotiana benthamiana*, *N. rustica*, *N. bigelovii*, では接種葉に退緑輪紋を生じ全身感染したが、*N. glutinosa* は接種葉にのみ無病徴感染した。マメ科のインゲンマメでは、品種アーロンは上葉に退緑斑点やモザイク症状を生じたが、品種ケンタッキーワンダーは感染しなかった。ホウレンソウ、キンセンカ、レタスは無病徴で全身感染したが、ソラマメ、トマト、ピーマン、カボチャは感染しなかった。また、オランダイチゴのウイルスの検定植物である UC-5 (*Fragaria vesca*) 及び UC-10 (*F. virginiana*) に小葉接ぎを行ったところ、感染したが病徴は現れなかった。

物理性

検定植物に *C. quinoa* を用い、*C. quinoa* 粗汁液中での耐性を判定したところ、耐熱性は60℃~65℃、耐希釈性は 10^{-5} ~ 10^{-6} 、20℃での耐保存性は30日~40日であった。

ウイルス粒子

純化ウイルス試料を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、径約30nmの小型球形粒子が多数観察され、中には中空の粒子も認められた (Fig. 1)。この純化ウイルス試料を LAEMMLI (1970) の方法に従いポリアクリルアミドゲル電気泳動を行った結果、外被タンパク質と考えられる明瞭なバンドが1本形成され、その分子量は約53,000ダルトンであっ

た (Fig. 2)。

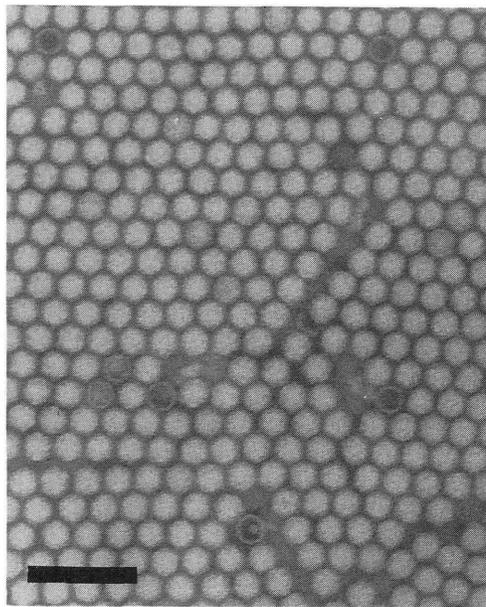


Fig. 1. Electron micrograph of a purified preparation. Bar represents 100 nm.

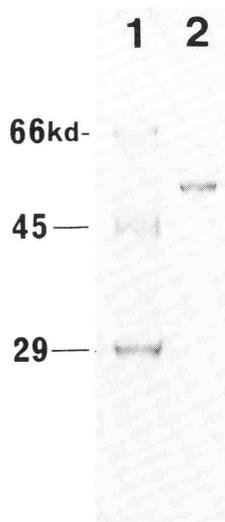


Fig. 2. SDS-PAGE of viral coat protein. Lane 1, Marker proteins: bovine serum albumin (66kd), egg albumin (45 kd), carbonic anhydrase (29 kd); Lane 2, viral coat protein.

血清反応

寒天ゲル内二重拡散法で精製ウイルスを2種の

ArMV 抗血清と反応させたところ、明瞭な沈降帯を生じた (Fig. 3)。

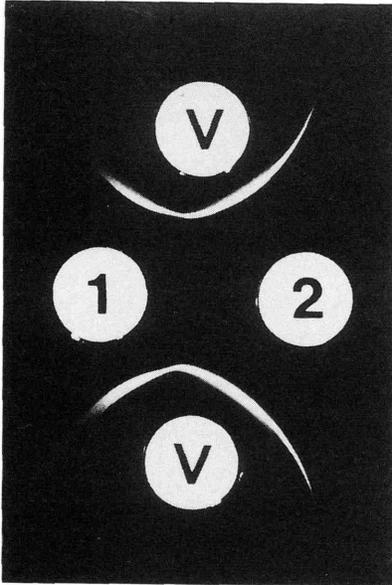


Fig. 3. Reactions in agar gel double diffusion test. Wells contain V: purified preparation, 1: ArMV-Tu (Tulip isolate) antiserum, 2: ArMV antiserum.

オランダイチゴに感染する汁液伝染性のウイルスについては、Nepovirus グループの ArMV, raspberry ringspot virus (RRV), strawberry latent ringspot virus (SLRV), tomato black ring virus (TBRV) (MURANT and LISTER, 1987), tomato ringspot virus (TomRSV) (CONVERSE and STACE-SMITH, 1987), Ilarvirus グループの tobacco streak virus (STACE-SMITH and FRAZIER, 1971) 及び Necrovirus グループの tobacco necrosis virus (要・岸, 1973) が報告されている。本ウイルスは、寄主範囲が広く、物理的性質、粒子の形態、外被タンパク質の分子量等が、Nepovirus グループの諸性質と一致する。Nepovirus グループの中で RRV は、*C. amaranticolor* に全身感染しない点 (西尾ら, 1981), SLRV は 2 種の外被タンパク質からなる点 (MURANT, 1974), TomRSV は、*C. amaranticolor* 及び *C. quinoa* の接種葉にえそ斑点を生じ、上葉にも激しくえそを起こす点や、外被タンパク質の分子量が 58,000 ダルトンである点、また、TBRV の外被タンパク質の分子量は 57,000 ダルトン (FRANKI et al, 1985) である点等、本ウイルスとは異なっている。これに対し、本ウイルスは、*C. amaranticolor*, ツルナ, ベチユニア, インゲンマメに全身感染した点、*N. glutinosa* に無病徴感染し、ソラマメに感染しなかった点など、

日本のスイセンから分離された ArMV (岩木・小室, 1970) の寄主範囲に類似している。また、外被タンパク質の分子量は、アルストロメリアから分離された ArMV (井上ら, 1992) の分子量と一致している。さらに寒天ゲル内二重拡散法で ArMV 抗血清に明瞭に反応したこと等から、本ウイルスを ArMV と同定した。

引用文献

- CONVERSE, R. H. and R. STACE-SMITH (1987) Tomato Ringspot Virus in Strawberry. pp. 52-55 in: Virus Diseases of Small Fruits. USDA Agriculture Handbook No. 631. R. H. CONVERSE ed., U. S. Department of Agriculture, Washington, D. C.
- FRANCKI, R. I. B., R. G. MILNE and T. HATTA (1985) ATLAS of PLANT VIRUSES Vol. II. FRANCKI, R. I. B., R. G. MILNE and T. HATTA eds. CRC Press, Florida pp. 23-38.
- 井上成信・前田孚憲・H. HUTTINGA (1992) アルストロメリアから分離された 2 種のウイルス, arabis mosaic virus と alstromeria mosaic virus. 日植病報 58(1):135 (講要)
- 岩木満朗・小室康雄 (1974) スイセンから分離されたウイルス第 5 報 Arabis mosaic virus について. 日植病報 40(4): 344-353.
- 要 司・岸 国平 (1973) イチゴから検出された tobacco necrosis virus および tobacco mosaic virus について. 日植病報 39(2): 134 (講要)
- LAEMMLI, U. K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227: 680-685
- MURANT, A. F. (1970) Arabis mosaic virus. CHI/AAB Descriptions of plant viruses No. 16.
- MURANT, A. F. (1974) Strawberry latent ringspot virus. CMI/AAB Descriptions of plant viruses No. 126.
- MURANT, A. F. and R. M. LISTER (1987) European Nepoviruses in Strawberry. pp. 46-51 in: Virus Diseases of Small Fruits. USDA Agriculture Handbook No. 631. R. H. CONVERSE ed., U. S. Department of Agriculture, Washington, D. C.
- 西尾 健・川合 昭・小林敏郎 (1981) 輸入検疫中のオランダ産アネモネから分離された Raspberry ringspot virus. 植防研報 17: 35-42.
- STACE-SMITH R, and N. W. FRAZIER (1971) Tobacco streak virus isolated from strawberry infected with necrotic shock. Phytopathology 61: 757-758.