

核果類の本邦未発生ウイルスの検定について

星野 智士・藤原 裕治・栗原 金光・齋藤 範彦

小原 達二・佐藤 成良・大門 輝男

横浜植物防疫所

Graft indexing for prunus viruses of no occurrence in Japan. Satoshi HOSHINO, Yuji FUJIWARA, Kinko KURIHARA, Norihiko SAITO, Tatsuji OHARA, Shigeyosi SATO and Teruo DAIMON (Yokohama Plant Protection Station) *Res. Bull. Pl. Prot. Japan* 30: 105-109 (1994).

Abstract: Graft indexing tests for five prunus latent viruses mainly reported in the North America were investigated at Yamato post-entry quarantine farm of Yokohama Plant Protection Station in Japan. Apricot ring pox virus (ARPV), cherry mottle leaf virus (ChMLV), cherry rusty mottle virus (ChRMV), cherry twisted leaf virus (ChTLV), and peach wart virus (PWV) infected scions were inoculated to their indicator plants and maintained in the glass house. Symptoms on apricot variety 'Tilton' inoculated with ARPV, sweet cherry variety 'Bing' inoculated with ChMLV, ChRMV and ChTLV, respectively, and plum variety 'Shiro plum' inoculated with by PWV were observed. Typical symptoms caused with each viruses on their indicator plant were observed. ARPV and ChTLV were detected at high percentage but other three viruses were not so.

Key Word: graft indexing, apricot ring pox virus, cherry mottle leaf virus, cherry rusty mottle virus, cherry twisted leaf virus, peach wart virus

我が国の隔離検疫における核果類のウイルス検定では、prune dwarf virus, prunus necrotic ringspot virus, 等を対象とした白普賢を用いた接木検定, tomato ringspot virus を対象とした ELISA, 汁液伝染性ウイルスを対象とした *Chenopodium quinoa* への汁液接種検定が行われている。これら以外に数多くの核果類のウイルス病が報告されているが（岸ら, 1968）, それらのウイルス病は隔離栽培期間中の病徴検査が主体となっている。

核果類のウイルス検定は、上記以外にも特定のウイルス病を対象に多くの推奨される検定法が報告されている（NÉMETH, 1986）。主に北米に分布し、我が国未発生の5種の核果類のウイルス病（apricot ring pox virus, ARPV; cherry mottle leaf virus, ChMLV; cherry rusty mottle virus, ChRMV; cherry twisted leaf virus, ChTLV; peach wart virus, PWV）については、数種の本邦指標植物への接木検定法がある。

そこで、これら5種のウイルス病原の保毒植物を農林水産大臣の特別許可により導入し、推奨される指標植物に接木接種を行い、発現する病徴調査を行ったの

で、その結果を報告する。

本調査を行うにあたり、貴重なウイルス病原の分譲を賜ったワシントン州立大学 Mink 博士、同ウイルス病原の導入に御尽力をいただき、終始有益な御助言を賜った農林水産省農産園芸局植物植物防疫課西尾 健博士に厚く御礼申し上げる。

材料および方法

1. 供試したウイルス病原

ワシントン州立大学 Mink 博士から分譲を受けた各ウイルス病原の保毒穂木（農林水産大臣指令 元横植第434号）を横浜植物防疫所大和圃場の隔離ガラス室内等で実生台への接木による増殖後、本試験の接種源として供試した（Table 1）。

2. 指標植物

指標植物は、当圃場で保存中のアンズ品種 Tilton (IR 5-1), オウトウ品種 Bing (IR 83-2), およびスモモ品種 Shiro plum (IR 14-1) を用いた。各ウイルス

Table 1. Inoculum of prunus latent viruses

virus	Infected plant (Vareity)	Origin
ARPV	apricot (Tilton)	USA
ChMLV	sweet cherry (Bing)	USA
ChRMV	sweet cherry (Bing)	USA
ChTLV	sweet cherry (Bing)	USA
PWV	peach (Elberta)	USA

ARPV : apricot ring pox virus

ChMLV : cherry mottle leaf virus

ChRMV : cherry rusty mottle virus

ChTLV : cherry twisted leaf virus

PWV : peach wart virus

にはそれぞれ推奨される指標植物を用い、ARPVの検定には Tilton (HANSEN *et al.*, 1976), ChMLV, ChRMV および ChTLV には Bing (CHANEY &

PARISH, 1976 ; HANSEN & CHENEY, 1976 ; WADLEY & NYLAND, 1976), ならびに PWV には Shiro plum (LAZAR & FRIEDLUND, 1967) を供試した。

3. 接種試験法

1991年には接種を4月に行い、接種方法は冷蔵保存していた指標植物の休眠穂木に各ウイルス保毒芽を芽接ぎし、鉢植えの実生台に切り接ぎする方法(二重接ぎ)によった。1992年には、前年と同様に4月および5月に同様の接種を行うとともに、実生台に切り接ぎした指標植物穂木から伸長した当年枝に芽接ぎ接種した。

接種植物は、隔離ガラス室または隔離恒温室(20±2°C)において管理し、指標植物から伸長する新梢に発現する病徴を観察した。

Table 2. Results of the inoculation test of five prunus latent viruses to thier indicator plants

Inoculum (Infected scion)	Month of Inoculation	Indicator ^{a)} and rootstock seedling	No. of Indicator	Climatic condition ^{b)}	Symptom expression
ARPV (apricot : Tilton)	Apr. 1991	Tilton/peach	7	—	7/7 ^{c)}
	Apr. 1992	Tilton/peach, plum	6	—	6/6
	Jun. 1992 ^{d)}	Tilton/peach, plum	6	—	6/6
ChMLV (sweet cherry : Bing)	Apr. 1991	Bing/cherry	7	—	2/4
	Apr. 1992	Bing/cherry	6	—	2/3
	Apr. 1992	Bing/cherry	6	a/c	4/6
	May 1992	Bing/cherry	6	—	0/0
	May 1992	Bing/cherry	6	a/c	0/1
ChRMV (sweet cherry : Bing)	Apr. 1991	Bing/cherry	7	—	0/4
	Apr. 1992	Bing/cherry	6	—	1/4
	Apr. 1992	Bing/cherry	6	a/c	4/4
	May 1992	Bing/cherry	6	—	0/0
ChTLV (sweet cherry : Bing)	Apr. 1991	Bing/cherry	7	—	7/7
	Apr. 1992	Bing/cherry	6	—	6/6
	Jun. 1992 ^{d)}	Bing/cherry	6	—	0/6
	Jul. 1992 ^{d)}	Bing/cherry	6	—	0/6
PWV (peach : Elberta)	Apr. 1992	Shiro plum/plum	6	—	2/3
	Apr. 1992	Shiro plum/plum	6	a/c	0/0
	May 1992	Shiro plum/plum	6	—	1/1
	May 1992	Shiro plum/plum	6	a/c	0/0

^{a)} Budwood indicator were topworked to the rootstock seedling variety.

^{b)} a/c : In the air-conditioned glass house (The room temperature is air-controlled at 20±2°C.)
— : In the glass house with natural ventilation (The room temperature is 15 to 33°C.)

^{c)} No. of viral symptom expression out of the no. of budwood indicator grafted.

^{d)} Inoculation to the shoot emerged from the budwood grafted.

結果および考察

調査結果は、Table 2 に示した。各ウイルスの指標植物での病徴の発現状況は次のとおりである。

(1) ARPV

1991年および1992年の4月に行った試験では、Tilton 穂木および ARPV 保毒芽を休眠から醒め萌芽を始めた実生台に二重接ぎ接種し、隔離ガラス室で病

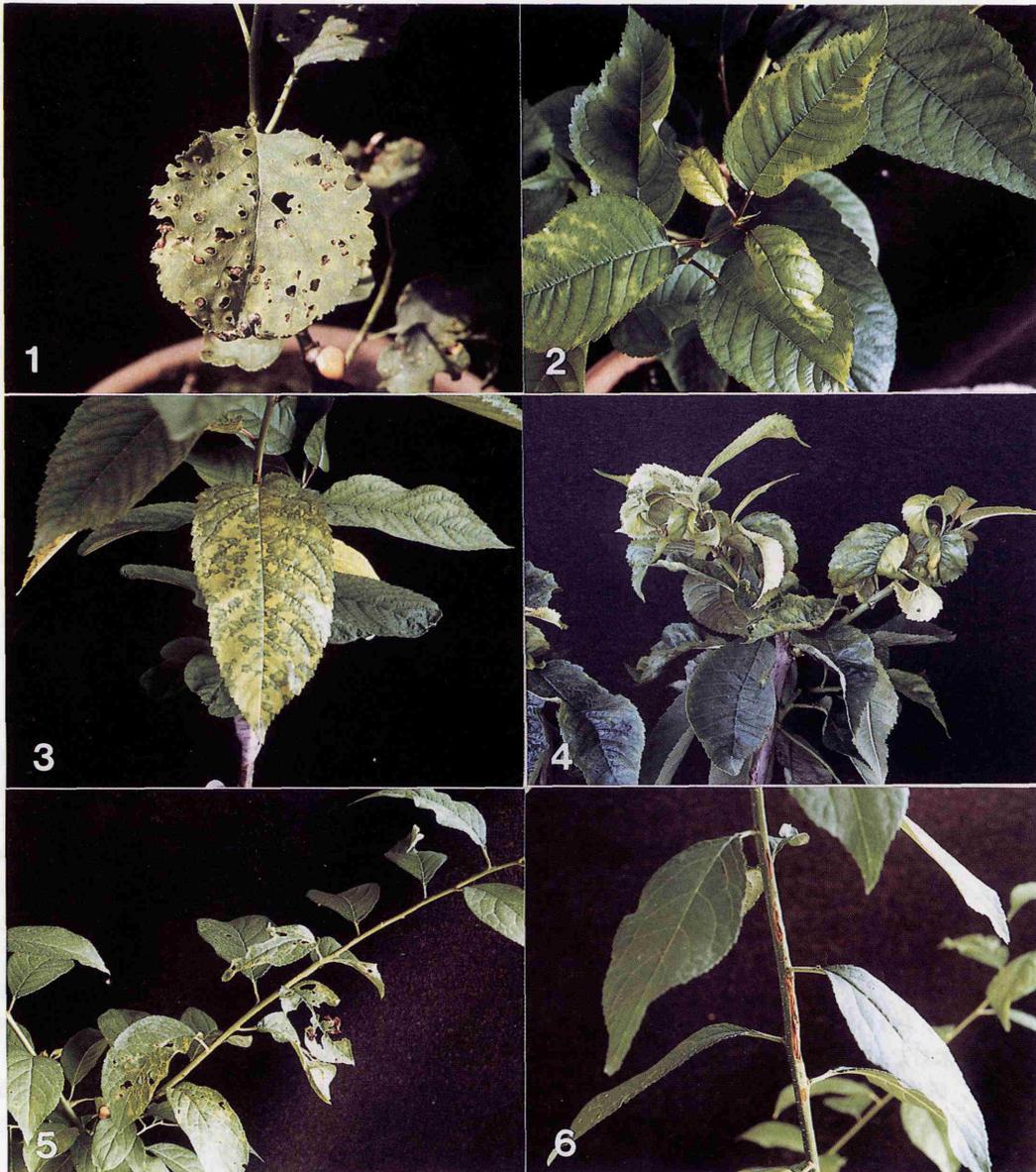


Fig. 1. 'Shot hole' appearance caused with ARPV on 'Tilton' leaves.

Fig. 2. Mottle caused with ChMLV on 'Bing' leaves.

Fig. 3. Green rings and lines caused with ChRMV on senescent 'Bing' leaves.

Fig. 4. Epinasty caused with ChTLV on 'Bing' leaves.

Fig. 5. Necrotic spot caused with PWV on 'Shiro plum' leaves.

Fig. 6. Necrotic streak caused with PWV on 'Shiro plum' shoot.

微観察を行った結果、展開してきた Tilton の新葉に先ず退緑斑が現れ、後にえそ斑となった。新葉の展開に伴いこのえそ組織は脱落し、接種1カ月後には HANSEN ら (1976) の報告する特徴的な虫喰い症状 (shot hole) を示した (Fig. 1)。

1992年4月に実生台に切接ぎされ、伸長した Tilton 新梢に冷蔵保存により休眠中の ARPV 保毒芽を直接に接種した結果、6月接種区では接種後25日で同様の病徴が確認されたが、7月接種区では病徴の発現は確認されなかった。

ARPV は、指標植物 Tilton を用い、実生台への二重接ぎで確実に検出されることが確認された。しかしながら、本ウイルス病の特徴的な虫喰い症状は核果類の穿孔細菌病等の障害によるものとの混同に注意が必要と考えられる。

(2) ChMLV

1991年および1992年の4月に行った試験では、ARPV の場合と同様に Bing 穂木および ChMLV 保毒芽を実生台に二重接ぎ接種し、隔離ガラス室で病徴観察を行った結果、Bing 穂木の活着率が低かったが、活着した Bing 穂木の新葉に不鮮明な退緑黄斑 (Fig. 2) が現われた (2/4 および 2/3)。

1992年4月に実施した隔離恒温室に静置した試験区では、Bing 穂木の活着率は6/6となったが、この症状の出現率は4/6であった。これらの症状の発現には、接種後30~50日を要した。

REEVES (1941) は、野外条件では接種後32日、温室では接種後9~14日でこの症状が出ることを報告している。今回の接種試験で指標植物の病徴の発現にかなり長期間要したのは、接種植物の管理条件によるものと考えられる。

Bing の新葉に現われるこの症状は、ChMLV によるものと考えられるが、今回の接種試験ではその出現率が低いこと、養分欠乏等の他の症状と類似していることから、判定に注意する必要がある。

(3) ChRMV

1991年および1992年の4月に行った試験では、同様に Bing 穂木および ChRMV 保毒芽を実生台に二重接ぎ接種し、隔離ガラス室で病徴観察を行った結果、ChMLV と同様に Bing 穂木の活着率がいずれも4/6と低かったが、接種60日後に Bing 穂木の新葉に緑色部分が不規則に残存する退緑黄斑 (Fig. 3) が1本の接種植物に現われた。1992年の隔離恒温室試験区では、この症状の出現率は4/4と高率に現われた。

この症状は、ChMLV の場合と同様に接種試験の際の病徴出現率の低さおよび他の要因による症状との類

似性から、判定に注意する必要がある。

(4) ChTLV

1991年および1992年の4月に行った試験では、同じく Bing 穂木および ChTLV 保毒芽を実生台に二重接ぎ接種し、隔離ガラス室で病徴観察を行った結果、接種30日後にすべての接種植物の新葉に明瞭なエピナスティーを生じた (Fig. 4)。1992年4月に実生台に切接ぎされ、伸長した Bing 新梢に冷蔵して休眠させていた ChTLV 保毒芽を直接に接種した結果、6月および7月接種試験区は全く病徴を発現しなかった。

ChTLV は、指標植物 Bing を用いて実生台への二重接ぎによって確実に検出されることが確認された。

なお、実生台への Bing 穂木の活着率を見ると1991年および1992年の4月実施の接種試験では ChTLV 試験区は Bing 穂木の活着率が100%であるが、同様の条件で行われた ChRMV および ChTLV 試験区ではかなり活着率が低下している。これらは接種源の種類による影響とも考えられるが、原因について今後検討する必要があるものとする。

(5) PWV

1992年の4月および5月に接種試験を行った。Shiro plum 穂木および PWV 保毒芽を実生台に二重接ぎ接種し、隔離ガラス室および隔離恒温室で管理して病徴観察を行った結果、いずれも Shiro plum 穂木の活着率が悪く、各試験区の比較は出来なかったが、接種30日後に新葉に穿孔症状 (Fig. 5) を生じ、50日後には新梢樹皮に明瞭なえそ症状 (Fig. 6) を生じた。

LAZAR & FRIDLUND (1967) は、PWV による Shiro plum の症状の発現は日長、光の強度よりも指標植物の置かれた場所の温度に影響されることを示し、最適条件では接種4週間で典型的な top necrosis, 22°C で激しい症状を生じ、30°C では症状が出ないことを報告している。今回の接種試験では、症状が出るのに長時間を要し、また Shiro plum 穂木の活着が良くなかったため接種検定条件の検討は充分でできなかった。

以上5種の核果類のウイルス病の検定を広く推奨されている3種の指標植物を用いて検討し、各ウイルス病の指標植物上の症状を確認した。

その結果、ARPV および ChTLV については推奨される指標植物を用い実生台への二重接ぎ接種によって比較的短期間に検定できることが判明した。

他の3種のウイルス病については、指標植物穂木の活着性およびウイルス症状の発現率が不十分であったため上記の方法での検出率は低かった。

FRIDLUND (1967) は、供試した5種のウイルス病原は指標木本植物へ短期間に100%伝染することを報告

しており、今回の試験での指標穂木不活着は接木の失敗によるものではなく、他の要因によるものと考えられる。

また、これら3種のウイルスは指標植物上のウイルス症状が顕著でないため判定に困難を伴う場合が考えられる。

隔離検疫にこれらのウイルス病を対象とした木本指標植物への接木検定法を導入するには、接種検定の条件等の検討を行うとともにさらに信頼性の高い検定方法の導入を検討する必要がある。

ChMLVについては、JAMES & MUKERJI (1993)が、罹病葉を *Chenopodium quinoa* へ接種し、closterovirus like 粒子の確認およびモノクローナル抗体を用いた ELISA 法およびウエスタンブロット法による同定を報告しているが、このような検定法も検討する必要がある。

引用文献

- CHENEY, P.W. and PARISH, C.L. (1976) Cherry mottle leaf. *In*: Virus diseases and noninfectious disorders of stone fruits in North America. US Dept. agr. Handb. **437**: 216-218.
- FRIDLUND, P.R. (1967) Relationship of inoculum-receptor contact period to the rate of graft transmission of twelve prunus viruses. *Phytopathology* **57**: 1296-1299.
- HANSEN, A.J. and CHENEY, P.W. (1976) Cherry twisted leaf. *In*: Virus diseases and noninfectious disorders of stone fruits in North America. US Dept. Agr. Handb. **437**: 222-225.
- HANSEN, A.J., PARISH, C.L., and PINE, T.S. (1976) Apricot ring pox. *In*: Virus diseases and noninfectious disorders of stone fruits in North America. US Dept. Agr. Handb. **437**: 45-49.
- JAMES, D. and MUKERJI, S. (1993) Mechanical transmission, identification, and characterization of a virus associated with mottle leaf in cherry. *Pl. Dis.* **77**: 271-275.
- 岸 国平, 高梨和雄, 我孫子和雄 (1968) 核果類のウイルス病に関する研究 第1報 Peach necrotic ringspot および Prune dwarf virus 検出 *日植病報* **34**: 143-150.
- LAZAR, A.C. and FRIDLUND, P.R. (1967) Shiro plum a rapid greenhouse indicator for the peach wart virus. *Pl. Dis. Repr.* **51**: 831-834.
- NÉMETH, M. (1986) Virus, mycoplasma and rickettsia diseases of fruit tree. Nijhoff/Junk
- REEVENS, E.L. (1941) Mottle leaf, a virus disease of cherries. *J. Agr. Res.* **62**: 555-572.
- WADLEY, B.N. and NYLAND, G. (1976) Rusty mottle group. *In*: Virus diseases and noninfectious disorders of stone fruits in North America. US Dept. Agr. Handb. **437**: 242-249.