琉球大学学術リポジトリ

沖縄におけるパッションフルーツのウイルス病に関する研究：第１報パッションフルーツおよびクサトケイソウから分離されたキュウリ・モザイク・ウイルス(農学科)

メタデータ	言語:
	出版者: 琉球大学農学部
	公開日: 2008-02-14
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: 与那覇, 哲義, 田盛, 正雄, 山入端, 正一, 仲宗根, 徹, Yonaha, Tetsuyoshi, Tamori, Masao, Yamanoha, Shoichi, Nakasone, Toru
	メールアドレス:
	所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/4144

沖縄におけるパッションフルーツのウイルス病に関する研究

第1報　パッションフルーツおよびクサトケイソウから分離されたキュウリ・モザイク・ウイルス*

与那覇哲義**・田盛正雄**・山入端正一***・仲宗根徹***

Tetsuyoshi YONAHA, Masao TAMORI, Shoichi YAMANOHA and Toru NAKASONE : Studies on passionfruit virus diseases in Okinawa. 1. Cucumber mosaic virus isolated from diseased *Passiflora edulis* and *Passiflora foetida* plants.

緒　　言

わが国では1958年頃から宮崎県，鹿児島県および長崎県においてパッションフルーツの栽培が進められた[2)]。沖縄におけるパッションフルーツの栽培は第2次世界大戦後，各地で家庭果樹としてわずかに栽植されているが，1965年～1968年には大宜味村内で産業的栽培が行われた。

著者らは，本県における熱帯果樹類の病害研究の一環として1975年以来，パッションフルーツのウイルス病について調査研究を行い，県内各地でモザイク病株を採集し，その病原ウイルスの分離，同定を試みた。この結果の概略についてはすでに報告[20,21)]したが，本論文では詳細な結果を報告する。

実験材料および方法

1975年に那覇市首里および石垣市新川で採集したパッションフルーツ（*Passiflora edulis* Sims.）のモザイク病葉および1976年に南大東島で採集したクサトケイソウ(*Passiflora foetida* var. *hispida* Killip.）の退色斑点葉からそれぞれウイルスが分離された。これらウイルス株（分離株1，分離株2，分離株3）をタバコ（Bright Yellow）で増殖して接種源に用いた。

汁液接種は，0.1Mリン酸緩衝液（0.01MEDTAを含むpH 7.2）を用いて，カーボランダム法で行った。接種した植物は約1月間観察し，無病徴あるいは病徴不明瞭な植物については検定植物に戻し，感染の有無を調べた。抗血清は，純化ウイルス（分離株2）をウサギに筋肉注射2回，静脈注射4回行って作製した。血清学的試験に用いたCMV－Y抗血清は日本専売公社中央研究所の高浪洋一氏より譲り受けたものである。なお当教室で分離保存中のCMVキュウリ株[10)]は対照に供試した。

---

* 本研究の概要は日本植物病理学会で発表した。

** 琉球大学農学部農学科
*** 琉球産経株式会社

琉球大学農学部学術報告書　26：29～38（1979）

実 験 結 果

1 寄主範囲と病徴

タバコ病葉を接種源に用いて，12科35種植物に汁液接種したところ，表1に示したように10科31種の感染が認められた。この結果，各ウイルス株の寄生性に差異はなかったが，感染植物とくにナス科植物の反応は相違した。

Table 1. Host reactions with cucumber mosaic virus isolated from the mosaic diseased Passifloraceae

Plant species	Isolate −1		Isolate −2		Isolate −3	
	LL	S	LL	S	LL	S
Passiflora edulis	CS	M		YM		YM
P. foetida		M		M		YM
Nicotiana glutinosa		M, Mal	NS	M, Mal		M, Mal
N. tabacum (Bright Yellow)		M	NRS	M, Mal		M, Mal
N. rustica		M	CS	M		M
N. debenyi		M	CS	M		M
N. clevelandii		M	CS	M, Mal		M, Mal
Datura stramonium	CS	M	CS	M	CS	M
Lycopersicon esculentum		M, Mal		M, Mal		M, N
Solanum melangena		M	NS	M, VB		M
Capsicum annum		M		M	NS	M
Petunia hybrida		M	NS	M		M
Cucurbita maxima		M	NS	M, St		+
C. moschata		M	CS	M, St		M
Cucumis sativus	CS	M		M		M
C. melo var *conomon*		M		M		M
Citrullus vulgaris	NS	−	NS	M, NS		+
Luffa clyindrica	CS	M		M, N	NS	M
Visia faba	NS	−	NS	−	NS	−
Vigna sinensis	NS	−	NS	−	NS	−
Phaseolus vulgaris	+	−	+	−	+	−
Chenopodium quinoa	NS	−	NS	−	NS	−
C. amaranticolor	NS	−	NS	−	NS	−
C. murale	NS	−	NS	−	NS	−
Spinacia oleracea	CS	M	CS	M	CS	M
Beta vulgaris	CS	+	CS	+	CS	+
Gomphrena globosa	NS	M, N	NS	M, N	NS	+
Zinnia elegans		M		M		M
Tetragonia expansa	CS	−	CS	−	CS	−
Hibiscus esculentus	CS	−	CS	−	CS	−
Zea mays	NS	−		−		−

LL : local lesion　　S : systemically infection

CS : chlorotic spot　NS : necrotic spot　NRS : necrotic ringspot　M : mottle
YM : yellow mottle　Mal : malformation　VB : vein−banding　St : stunt　N : necrosis
+ : symptomless　− : no infection

1）分離株1の主な感染植物の病徴

パッションフルーツ（実生）は接種葉に退色斑を生じ，後に葉全体が黄化した。上葉は脈辺黄化および退色斑が現われた（図版Ⅰ－4）。

クサトケイソウ（実生）は上葉に初め脈辺透化症状を示し，後には退緑斑や脈辺濃帯症状を示した。

タバコ（Bright Yellow）は上葉に初め脈辺透化を示し，後に退色斑紋症状が現われたが，奇形葉は生じない。

トマト（米寿，福寿）は上葉にモザイク症状が現われ，糸葉が形成された。

セイヨウカボチャ（みやこ），ニホンカボチャ（はやと）およびシロウリ（黒門青大）は全身的にモザイク症状が現われた。

ソラマメ（早生）およびササゲ（黒種16）は接種葉にえそ斑点が現われた。

トウモロコシ（ゴールデンクロスバンタム）は接種葉に初め退色斑点を生じ，後に褐変した。

2）分離株2の主な感染植物の病徴

パッションフルーツ（実生）は上葉に初め脈辺透化が現われた。その後，黄色斑点，脈辺黄化および葉全体が鮮黄色など種々の症状が現われた。ときには茎にえそ症状を示して枯死した（図版Ⅰ－1,2）

クサトケイソウ（実生）は上葉に脈辺透化および退色斑点が現われた（図版Ⅰ－5）。

タバコ（Bright Yellow)は接種葉にえそ輪紋を生じた。上葉はモザイク症状を示し，奇形葉が多数現われた。

トマト（米寿，福寿）は上葉に軽いモザイク症状を示し，糸葉が現われた（図版Ⅱ－1）。

ナスは接種葉に不整形のえそ斑を生じ，上葉はモザイク症状が現われ，ときには脈辺濃帯症状が著しく現われた。

セイヨウカボチャ（みやこ）およびニホンカボチャ（はやと）は接種葉に退色斑点が現われた。上葉は退色斑紋症状を示し，株全体が著しく萎縮した（図版Ⅱ－4）。

3）分離株3の主な感染植物の病徴

パッションフルーツ（実生）は上葉に退色斑点および葉全体が完全退緑して黄斑モザイク症状を示した（図版Ⅰ－6）。

クサトケイソウ（実生）は上葉に鮮黄色の斑点および斑紋が現われた（図版Ⅰ－3）。

タバコ（Bright Yellow）は上葉に初め脈辺透化症状が現われ，病状が進むにつれて退緑斑点および奇形葉が現われた。

トマト（米寿，福寿）は上葉に初め縮葉あるいは葉巻症状を呈し，まもなく葉柄や茎にえそ条斑症状が現われた（図版Ⅱ－2）。若い植物に接種した場合，著しいえそ症状を示して早期に枯死した。

ピーマンは接種葉に大形のそえ輪紋症状が現われた（図版Ⅱ－3）。上葉はえそ斑点を伴ったモザイク症状を呈した。

なお，キャベツ，ダイコン，アスターおよびパパヤの4種植物は感染しなかった。

2 粗汁液中の不活化限度

各分離株のタバコ病汁液を用い，*Chenopodium amaranticolor* を検定植物にウイルスの不活化限度を調べた。その結果を表2に示した。表2に示したように分離株1の耐熱性は65～70℃，耐希釈性は10^{-3}～10^{-4}および20℃における耐保存性は4～5日にあった。

分離株2の耐熱性は60～65C，耐希釈性は10^{-4}～10^{-5}および20Cにおける耐保存性は10日以上にあった。

分離株3の耐熱性は50～55C，耐希釈性は10^{-3}～10^{-4}および20Cにおける耐希釈性は4～5日にあった。

Table 2. Physical properties of the cucumber mosaic virus

Thermal inactivation point		45	50	55	60	65	70 C
	Isolate − 1	297	313	55	15	7	0
	Isolate − 2	303	273	78	23	0	0
	Isolate − 3	125	17	0	0	0	0
Dilution end point		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	
	Isolate − 1	212	126	30	0	0	
	Isolate − 2	324	257	76	19	0	
	Isolate − 3	174	68	13	0	0	
Longevity in vitro 20 C		1	2	3	4	5	8	10 day
	Isolate − 1	40	15	5	4	0	0	0
	Isolate − 2	110	62	24	20	11	3	0.8
	Isolate − 3	63	21	8	4	0	0	0

Test plant : *Chenopodium amaranticolor*
Average number lesion on 8 to 10 leaves

3 モモアカアブラムシによる伝搬試験

アブラムシは健全植物で飼育したもので、病植物吸汁前に約1時間絶食させた。このアブラムシを用いてタバコ病葉から健全トマトおよびパッションフルーツ（実生）へのウイルス伝搬試験を行った。

Table 3. Transmission by *Myzus persicae*

Souce plant	Test plant	Isolae − 1	Isolae − 2	Isolae − 3
Tobacco	Tomato	8／10	8／10	6／10
Tobacco	Passionfruit	2／ 5	4／ 5	2／ 5

Acquisition feeding time : 3 to 5 minutes
Inoculation feeding time : 24 hours
Five aphids per plant were used

この結果を表3に示した。この結果から各分離株はモモアカアブラムシにより非永続的に伝搬されることが認められた。

4 ウイルス間の干渉試験

分離株1，分離株2およびCMVキュウリ株をそれぞれトマト10本に汁液接種し，その発病後に分離株3を接種して干渉作用の有無を検定した。

この結果，トマト全株は分離株3特有のえそ条斑症状を示し，重複感染が認められた。この結果分離株3に対する分離株1，分離株2およびキュウリ株の干渉効果はないものと考えられた。

5 ウイルスの純化および電顕観察

ウイルスの純化には，各分離株をそれぞれタバコ（Bright Yellow）に汁液接種し，接種後10日の

接種葉を用いた。

病葉の生体重1に対し，1容の0.1Mリン酸緩衝液（0.02MEDTA，1%メルカプトエタノールを含むpH7.2）および1容のクロロホルム：n－ブタノールの混合液（4：1）を加えて磨砕し，ガーゼでこした。この懸濁液を3,500rpmで15分間遠心してその上清を取り，上清に8%になるようにポリエチレングリコール6,000を加えて1時間撹拌した後，6,000rpmで15分間遠心した。その沈澱を上記のリン酸緩衝液に溶かし，その後は，10,000rpmで15分間および30,000rpmで120分間の分画遠心を2回行った。これで得たウイルス液を10～40%蔗糖密度勾配カラムに重層し，23,000rpmで120分間遠心を行ったところ，チューブ液面より17～20mmのところに乳白色のバンドが認められた。この部分を採取して40,000rpmで120分間遠心し，沈澱を0.05Mリン酸緩衝液(0.01MEDTAを含むpH7.2)に溶かして10,000rpmで15分間遠心して純化ウイルスを得た。

純化ウイルスに等量の1%ホルマリンを加えて数時間静置した後，2%リンタングステン酸(pH7.0)で染色して電子顕微鏡で観察すると，直径が約30nmの球状粒子が観察された。

6 血清反応試験

分離株2の純化標品をウサギに数回注射して抗血清を作製した。この抗血清の力価は1024倍（重層法による）であった。

供試ウイルスはその諸性質からCMV群のウイルスと推定されたので，CMV－Y抗血清を用いて重層法および寒天ゲル内拡散法によってウイルス間の血清学的関係を調べた。

この結果を表4および図版Ⅱ－5に示した。この結果，各ウイルス分離株は，CMV－Yおよび分離株2抗血清とよく反応し，血清学的同一性が認められた。

Table 4. Serological reaction of the isolate－1, isolate－2 and isolate－3 to the CMV antiserum

Antiserum	Virus	Dilution of antiserum										
		2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048
CMV－Y	Isolate－1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±
	Isolate－2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±
	Isolate－3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	－
Isolate－2	Isolate－1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	－
	Isolate－2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±
	Isolate－3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	－
	Healthy sap	+	+	±	－	－	－	－	－	－	－	－

Ring pricipitin test

考　　察

供試ウイルスは，その寄主範囲および病徴，アブラムシによる非永続的伝搬，直径約30nmの球状粒子およびCMVと血清学的関係があるなどの諸性質が明らかになり，これらウイルスはCMVと同定された。

わが国ではCMVの数系統[15]が知られている。本報のウイルス株はそれぞれ感染植物の病徴や物理的性質に差異はあるが，いずれの分離株ともニホンカボチャおよびシロウリに全身感染することで，ラゲ

ナリア属系統群[16]に属するウイルスと考えられる。トマトにえそ条斑症状を示すウイルス[8,19]と分離株3とは，トマトの病徴およびCMV株間に干渉効果がないなど多くの類似点があり，同一ウイルスと判断される。しかし田上ら[11]のウイルスとはトマトにえそ条斑を生ずる点では類似しているが，ニホンカボチャなどの反応が相違する。

パッションフルーツの病原ウイルスには，CMV[5,12]，passiflora latent virus[1,9]，passionfruit woodiness virus[12,13,14]，passionfruit ringspot virus[17,18]，passionfruit chlorotic spot virus[16] mosaic virus[7]の報告があり，CMV，passionfruit woodiness virus およびpassionfruit mosaic virusはパッションフルーツの果実が硬化（woodiness）する重要なウイルスである。国内ではパッションフルーツからCMV[2,3]および観賞用トケイソウからpassifhora latent virus が検出されている。

沖縄に発生するパッションフルーツのモザイク病の病原ウイルスが明らかにされた。このモザイク病の他にもウイルス病と思われる病株も見っかっているが，これについては今後実験する予定である。

摘　　要

パッションフルーツおよびクサトケイソウのモザイク病株から分離されたウイルス分離株1，分離株2および分離株3の諸性質を調べた。

各ウイルス株は，汁液伝染し，モモアカアブラムシによって非永続的に伝搬された。汁液接種により10科31種植物の感染が認められた。パッションフルーツは退色斑点および黄斑モザイク症状が現われる。

分離株1，分離株2および分離株3の耐熱性はそれぞれ65～70C，60～65C，50～55C，耐希釈性は10^{-3}～10^{-4}，10^{-4}～10^{-5}，10^{-3}～10^{-4}および20Cにおける耐保存性は4～5日，10日以上，4～5日にあった。分離株3に対する分離株1，分離株2およびCMVキュウリ株の干渉効果は認められなかった。

純化ウイルスを2％リンタングステン酸（pH7.0）で染色して電顕観察したところ，直径約30nmの球状粒子が観察された。分離株2の純化標品をウサギに数回注射して得た抗血清およびCMV－Y 抗血清を供試したとき，各ウイルスは両抗血清とよく反応した。

供試ウイルス株はすべてキュウリ，モザイクのウイルス（CMV）のラゲナリア系統群に属するウイルスと考えられる。

謝　　辞

本研究を行うにあたり，CMV－Y抗血清を分譲下さった日本専売公社中央研究所高浪洋一博士および，複写文献を送付下さった東京大学農学部教授與良清博士に対し厚くお礼申し上げる。また本研究の一部は昭和53年度文部省科学研究費によった。記して感謝の意を表する。

引　用　文　献

1　Brandes, J. and C. Wetter　1963　Studies on the characteristic and relationships of passiflora latent virus, Phytopathol. Z.,　49：61～70

2　平田正一，河野明綱　1965　パパヤ及び果物時計草の病害に関する研究，宮大農時報，11（1，2）273～295

3　————，富永寛　1974　パッションフルーツのモザイク病株から分離されたcucumber masaic virus の特性，宮大農報，21：297～302

4　井上成信　1976　観賞用トケイソウのモザイク病株から分離されたウイルスについて，日植病報，

42：83

5 Ishii, M. and J. Pascual 1964 A virus disease of passionfruit, Hawaii Farm Science, 13：9～11

6 小室康雄 1967 キュウリのえそ斑点症状株および奇形果から分離されたウイルス，植物防疫，21：11～14

7 Martini, C. M. 1962 Some properties of the virus causing woodiness of passiofruit in Western Nigeria, Ann. appl. Biol., 50：163～168

8 蔡財旺 1970 トマトのストリーク（条斑病）に関する研究，東京大学大学院農学研究科修士論文 pp. 37

9 Schnepf, E. and J. Brandes 1961 Uber ein virus aus Passiflora speciese, Phyto-pathol. Z., 43：102～105

10 砂川昌則 1975 キュウリのモザイク株から分離されたキュウリ・モザイク・ウイルスについて，琉球大学農学部農学科，昭和50年度卒業論文，pp. 23

11 田上俊太郎・中山武則・重永知明 1976 熊本県下に発生したトマトえそ条斑症状について，九病虫研究会報，22：44～46

12 Taylor, R. H. and Kimble 1964 Two unrelated viruses which cause woodiness of passionfruit, Aust. J. Agric. Res., 15：560～570

13 ――――――and R. S. Greber 1973 Passionfruit woodiness virus, C. M. I. ／A. A. B. Description of plant viruses, No. 122

14 Teakle, D. S. and G. S. Wildermuth 1967 Host range and particle length of passinfruit woodiness virus, Qweensland Journal of Agricultural and Animal Science, 24：173～186

15 都丸敬一・宇田川晃 1972 わが国のタバコに発生するウイルスの種類，系統と判別法，植物防疫，26：251～256

16 Velsen, R. J. 1961 Chlorotic spot, a virus disease of Passiflora foetida in New Guinea Papua and New Guinea Agriculture Journal, 13（4）160～164

17 Wijs, J. J. 1974 A virus causing ringspot of Passiflora edulis in the Ivory Coast, Ann. appl. Biol., 77：33～40

18 ―――― 1975 The distribution of passionfruit ringspot virus in its main host plant in Ivory Coast, Neth. J. Pl. path., 81：144～148

19 與良清・蔡財旺 1968 キュウリ，モザイク，ウイルス単独感染によるトマトのストリークについて，日植病報，34：346～347

20 与那覇哲義・田盛正雄・仲宗根徹 1978 クサトケイソウから分離されたウイルスについて，日植病報，44：78

21 ――――・――――山入端正一 1978 パッションフルーツ（*Passjflora edulis* Sims）から分離された2ウイルスについて，日植病報，44：390

図 版 説 明

図版 I

1 パッションフルーツ病葉の退緑および葉巻症状（分離株2）

2 パッションフルーツ葉の退緑斑点（分離株2）

3 分離株3の原寄主クサトケイソウ葉の黄色斑点
4 パッションフルーツ葉の脈黄化症状(分離株1)
5 クサトケイソウの葉脈透化症状(分離株2)
6 パッションフルーツ葉の退緑斑点および退緑症状(分離株3)

図版II

1 トマトのモザイクおよび糸葉症状(分離株2)
2 トマトのえそ条斑症状(分離株3)
3 ピーマン接種葉の病斑
4 ニホンカボチャの全身的モザイク症状(分離株2)
5 血清反応(寒天ゲル内拡散法As: CMV−Y抗血清, 1:分離株1, 2:分離株2, 3:分離株3, 4:CMVキュウリ株

Summary

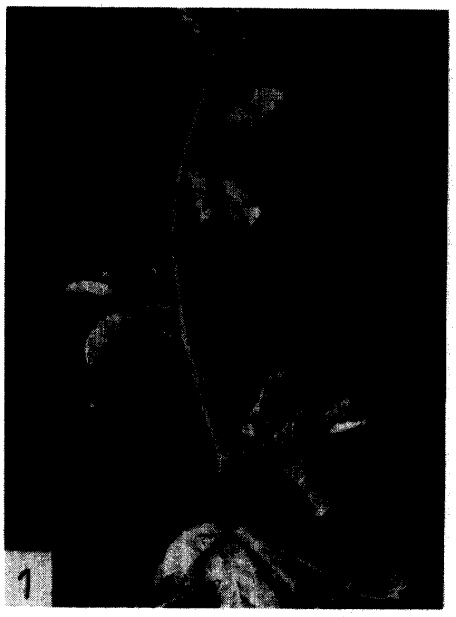
Three isolates of cucumber mosaic virus (CMV) were isolated from mosaic diseased *Passiflora edulis* and *Passiflora foetida* plants, and designated isolate-1, 2 and 3, respectivety.

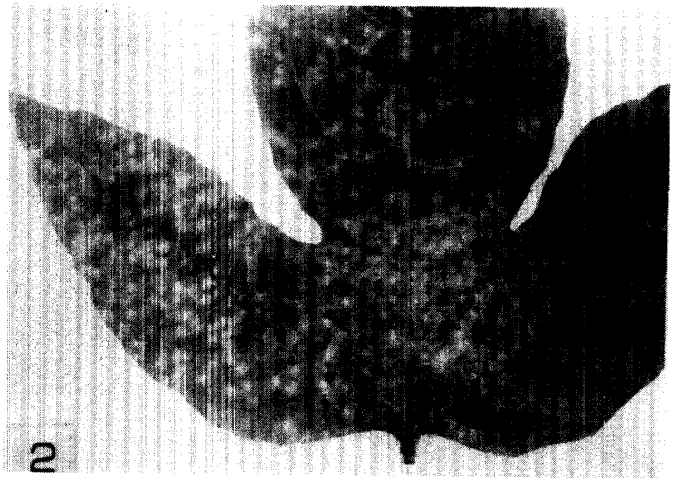
Thirty-one species in ten families were infected with the viruses by mechanically inoculation. The viruses were caused chlorotic spot and yellow mottle on the leaves of passionfruit. The leaves of the terminal shoots are frequently curled and twisted. The symptoms of passionfruit could not be developted under high temperature condition. Tomato plants infected with isolate-3 produced sever streak, but not produced with isolate-1 and 2.

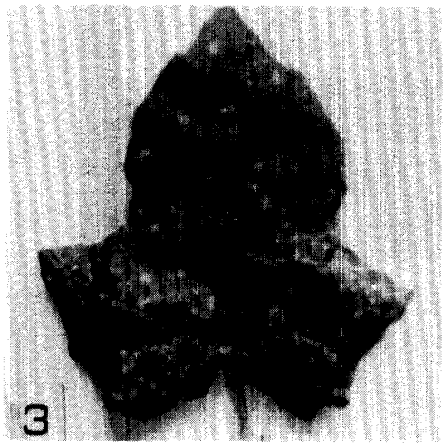
Those viruses were transmitted by *Myzus persicae* in non-persistent manner. The electron microscopic examination of purified preperation showed spheical particles of about 30nm in diameter. The viruses were reacted to CMV-Y antiserum by agar double diffusion tests. No cross protection in tomato plants between isolate-3 and isolate-1,2 and CMV.

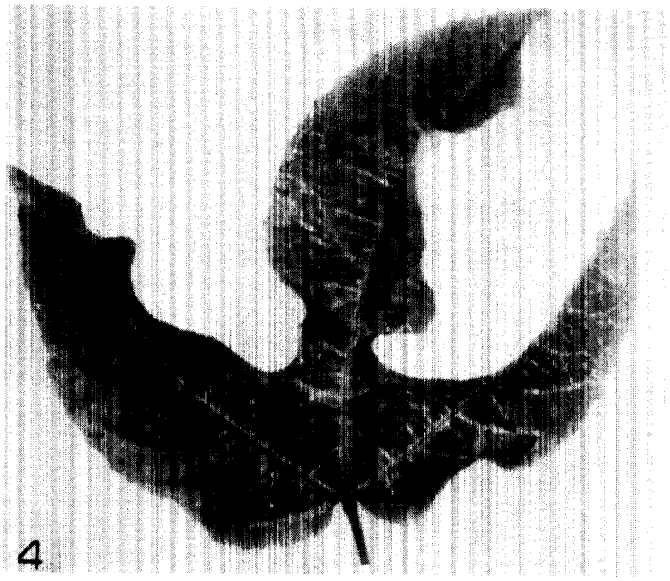
Three isolates of CMV may be closely to the CMV strain reported of Komuro (1967) and Yora et al. (1968).

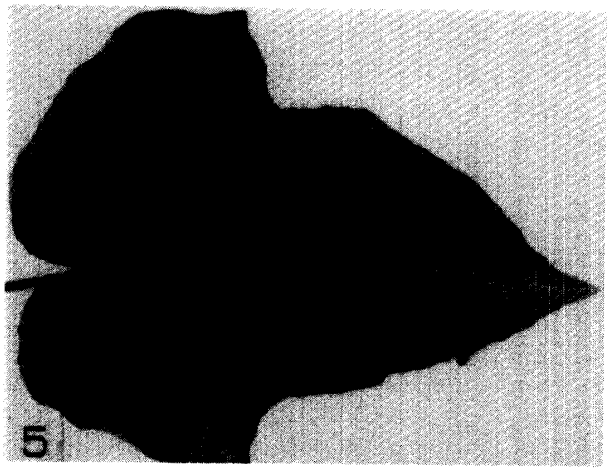
図版 I

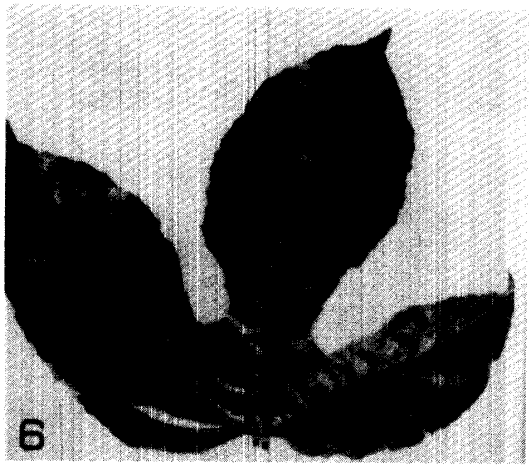
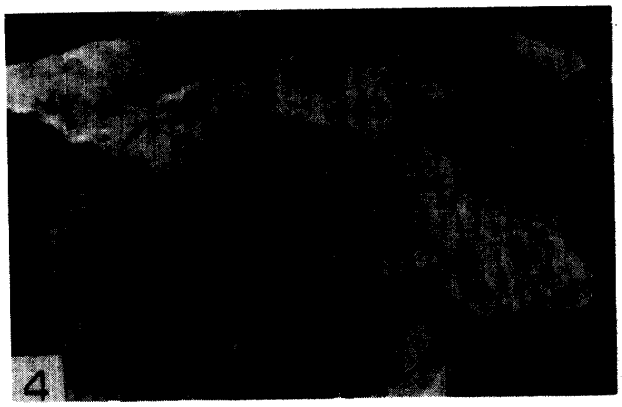
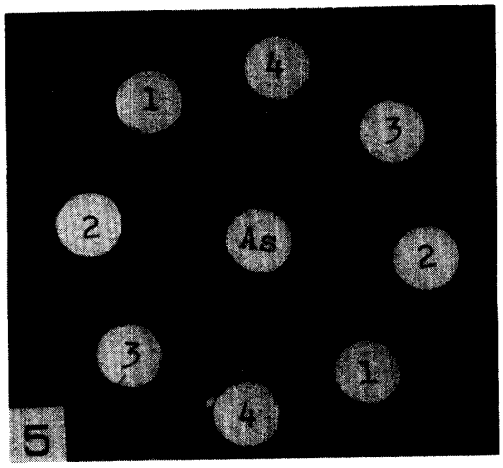
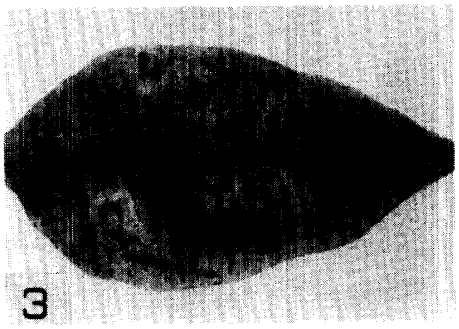












図版 II