琉球大学学術リポジトリ

パパヤから分離されたウイルス：第２報パパヤ葉に黄斑紋および脈えそ症状を示すウイルスについて(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, Yonaha, Tetsuyoshi
	メールアドレス:
	所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/4234

パパヤから分離されたウイルス
第2報　パパヤ葉に黄斑紋および脈えそ症状を示すウイルスについて *

与那覇哲義 **

Tetsuyoshi YONAHA : Viruses isolated from papaya (*Carica papaya* L.) in Okinawa 2. A virus causes yellow mottle and vein necrosis in papaya

1　はじめに

パパヤは沖縄県果樹農業振興計画における重要作目の一つにあげられているが，その栽培は依然低迷を続けている。これは主にウイルス病の大発生に起因するものであり，本病の防除策は急務である。

著者は，さきに本県において最も多く発生する papaya ringspot virusを報告した。[11]また本病の発生分布およびほ場における発生実態など，すでに報告したとおりである。[12]

1973年沖縄県石垣市登野城で採集したパパヤの黄斑モザイク病株からウイルスを分離し，以来この病原ウイルスに関する研究を行なった。本報は本ウイルスの寄主範囲，病徴，物理的性質およびウイルス粒子の形態などについて記述したものである。

2　実験材料および方法

供試したウイルスは沖縄県石垣市のパパヤ病株から分離されたものである。接種試験は，本学部のガラス室内で行い，適宜殺虫剤（エストックス，2,000倍液）を散布した。汁液接種はパパヤ病葉に0.1Mりん酸緩衝液pH7.0を少量加えて磨砕した。この病汁液中にカーボランダム，600メッシュをふりかけ，これを指で接種植物の葉に軽くこすりつけた。接種した植物は約1月間観察した後，パパヤ苗に戻し接種を行い感染の有無を確かめた。

ウイルス粒子の形態は，パパヤ病葉(凍結)に0.1Mほう酸緩衝液（0.01M Na-EDTA，1%2－メルカプトエタノールを含むpH 8.3）を加えて磨砕し，四塩化炭素により清澄化し，また4%量ポリエチレングリコール（#6,000）で濃縮し2回の分画遠心を行なった。これで得られた部分純化標品を用いて，電子顕微鏡（日電子，JEM－100B）下で観察した。またdip法試料についても電顕観察を行なった。なお，そのほかの実験法は各項にそれぞれ記述する。

---

* 本論文の概要は昭和51年度日本植物病理学会大会で報告した。

** 琉球大学農学部農学科

琉球大学農学部学術報告　24：169～179（1977）

3 実験結果

1. 寄主範囲と病徴

パパヤ病葉を接種源に，9科31種の植物に汁液接種を行なった結果，表1に示したように，本ウイルスはパパヤに感染したが，他の8科30種の供試植物には感染しなかった。この結果から本ウイルスの寄主範囲はパパヤに限られる寄生性のきわめて狭いウイルスと考えられる。

Table 1. Host range and symptoms of the virus caused yellow mottle and vein-necrosis in papaya leaves

Plants tested	Symptoms	Virus recovery
Carica papaya L. (Solo, Zakko No. 2)	YM, VN	+
Cucurbita maxima Duch	O	−
C. pepo L. var. *ovifera* Alef.	O	−
Cucumis sativum L.	O	−
C. melo L.	O	−
C. melo L. var *conomon* Makino	O	−
Citrullus vulgaris Schrad.	O	−
Luffa cylindrica Roem.	O	−
Momordica charantia L.	O	−
Melothria liukiuensis Nakai	O	−
Chenopodium quinoa Milld.	O	−
C. amaranticolor Coste & Reyn.	O	−
C. murale L.	O	−
Gomphrena globosa L.	O	−
Celosia cristata L.	O	−
Amaranthus tricolor L.	O	−
A. lividus L.	O	−
Nicotiana glutinosa L.	O	−
N. tabacum L.	O	−
Datura stramonium L.	O	−
D. metel L.	O	−
Petunia hybrida Vilm.	O	−
Lycopersicon esculentum Mill.	O	−
Glycine max Merr.	O	−
Phaseolus vulgaris L.	O	−
Vigna sinensis Savi.	O	−
Vicia faba L.	O	−
Pisum sativum L.	O	−
Vinca rosea L.	O	−
Zinnia elegans Jacq.	O	−
Tetragonia expansa Murr.	O	−

YM: yellow mottle VN: vein-necrosis O: no symptom
+: infection −: no virus recovery

1） パパヤ病株の病徴

パパヤ（品種 ： solo，雑交二号）は接種後10～15日上葉に退緑斑点および茎に濃緑色の斑点が現われる。供試した2品種では病徴に差異はなく，いずれも葉，茎，葉柄および果実に同様な病徴が現われた。次に各部位の病徴について記述する。

葉の病徴：接種後のパパヤには初め頂葉に退緑斑点が散在し，後にこれらの病徴はゆ合拡大して黄斑モザイク状を呈し，葉の基部では黄白色の脈辺透明となる。また接種1～2年木の葉では，3月下旬に葉脈に沿って黄色あるいは黄白色の斑紋（図版Ⅰ－3）や輪紋様が散在する。その後病状が進み，頂葉は葉全体が退緑症状を示し，著しく透明化する。反面，下葉の方から次第に病徴がやや軽くなる傾向があった。時期によって病葉は脈えそ症状（図版Ⅰ－2）が現われ，ときには早期に枯れる葉もある。葉の大きさは，一般に健全葉とほぼ同大で，奇形葉を生ずる病株はなかった（図版Ⅰ－1）

茎および葉柄の病徴：接種した若い株では葉の病徴発現と前後して茎に濃緑色の斑点が現かれる。成木の葉柄および茎の緑色部には長楕円形の輪紋や条斑（図版Ⅰ－4）が形成される。葉柄の病斑は茎のそれに比べて細長くなる。また葉柄の基部には乳液の浸出がみられる。これらの輪紋や条斑の発現は葉のモザイク症状と比例的関係にある。

果実の病徴：果実の病斑については観察例が少ないが，冬実では中心部が緑色になった退色斑点（図版Ⅱ－1）があらわれる。これは果実の肥大に伴ってやゝ大きく（径5㎜）なり，後には集合してやゝもりあがる。そしてこれら病斑の周囲に濃緑色の二重線およびごく少数の輪紋が現われる（図版Ⅱ－2）。また盛夏では，黄緑色の幼果に淡褐色の輪紋および斑紋が現われる。

2） 感染しなかった植物

ウリ科：カボチャ（品種はみやこ，えびす，黒皮甘栗），カザリカボチャ（混合），キュウリ（宝来，近成山東），シロウリ（黒門青大縞瓜），スイカ（縞王，あすか，都錦）ヘチマ，ニガウリ，クロミノオキナワスズメウリ（野草），アカザ科：*Chenopodium quinoa*，*C. amaranticolor*，*C.murale*，ヒユ科：センニチコウ，ケイトウ，ハゲイトウ，イヌビユ，ナス科：*Nicotiana glutinosa*，タバコ（Bright Yellow, White Burley），*Datura stramonium*，ペチュニア，トマト（米寿，福寿），マメ科：ダイズ（十勝長葉），インゲン（Topcrop，ケンタッキーワンダー），ササゲ（黒種16），ソラマメ（早生），エンドウ（白花絹莢），キョウチクトウ科：ニチニチソウ，キク科：ヒャクニチソウ，ツルナ科：ツルナ。

2. ウイルスの物理的性質

パパヤ病葉を乳鉢で磨砕し，その搾汁液を3,000 rpm，15分間遠心分離し，上澄をウイルス原に用いた。耐熱性および耐保存性試験には10倍希釈液を，また汁液の希釈には0.1Mりん酸緩衝液 pH7.2を用いた。検定植物には5～8葉時のパパヤ苗を用い，各処理液をそれぞれ接種して，その発病の有無によりウイルスの不活化限度を調べた。

表2に示すように本ウイルスは，50C処理は感染性を有したが，53Cでは不活化した。10^{-2}希釈液は感染性を有するが，10^{-3}液は感染性が認められない。また20Cにおけるウイルスは18時間で不活化した。この結果から本ウイルスの耐熱性（10分）は50～53C，耐希釈性は10^{-2}～10^{-3}および耐保存性（20C）は12～18時間の範囲にあるやゝ不安定のウイルスである。

Table 2. The inactivation of the virus in crude juice of the papaya affected leaf

Thermal inactivation point (10 min)	40	45	48	50	53	55 C	
	6/10	4/10	4/10	2/10	0/10	0/10	
Dilution end-point	undiluted		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	
	7/10		5/10	2/10	0/10	0/10	
Longevity *in vitro* (20 C)	0	6	12	18	24	30	48 hr
	5/10	2/10	2/10	0/10	0/10	0/10	0/10

Infected plants/Inoculated plants

Test plant: 8 to 10 leaves stage of the papaya

3. モモアカアブラムシによる伝搬試験

健全カンランで飼育したモモアカアブラムシ（*Myzus persicae* Sulz.）を小形フラスコ中で3時間絶食させて用いた。供試アブラムシにパパヤ病葉を所定時間吸汁させ，ただちに健全パパヤ苗1本当り5頭ずつつけ24時間加害させた。接種試験は20Cの室内で行い，接種後の植物は殺虫剤を散布したのち，ガラス室内に移し，約1月間観察した。同じ方法で2回の試験を行い，モモアカアブラムシによる伝搬を検定した。この結果は表3にまとめて示した。実験1と実験2の伝搬には差異が認められるが，獲得吸汁時間，5分間で伝搬され，30分以上では伝搬率が低下する結果から本ウイルスの伝搬様式は非永続型であると思われる。

Table 3. Transmission of the virus by *Myzus persicae*

Experiments	Acquisition feeding periods				
	5 min	10 min	20 min	30 min	60 min
1	0／8	1／10	0／12	1／8	1／8
2	2／20	5／20	5／20	1／20	1／20
Total	2／28	6／30	5／32	2／28	1／28

Infected plants/Inoculated plants Souce plant, Test plant: Papaya

Inoculation feeding periods: 24 hrs in 20 C room

Five aphids per plant were used

4. パパヤ・ウイルス間の干渉作用

本ウイルスを1次ウイルスとしてパパヤ苗20本に汁液接種した20日後にpapaya ringspot virusを2次ウイルスとして同じく接種し，これらウイルス間の干渉作用を検定した。

供試植物は1次ウイルス接種後10～15日に頂葉にその特徴的な病徴が現われた。これら発病株は2次ウイルス接種1週間後に一時病徴が軽くなったが，まもなく明瞭な病徴を示すようになり，すべての植物葉に淡褐色斑点を多数生じ，後に奇形葉が形成される重複感染の病徴が認められた。対照に1次ウイルスのみ接種した株には奇形葉は現われなかった。この結果，供試したウイルス間の干渉効果は全くないものと考えられる。

5. ウイルス粒子の形態

パパヤ病葉のdip法および部分純化標品を2%リンタングステン酸 pH 7.0で染色した試料について電顕観察を行なった。また同時にタバコモザイクウイルス（TMV）のdip法試料についても電顕観察した。

TMV粒子の長さを300 nmとして算定し，観察された本ウイルスの粒子数136個の長さの分布を示したのが図1である。

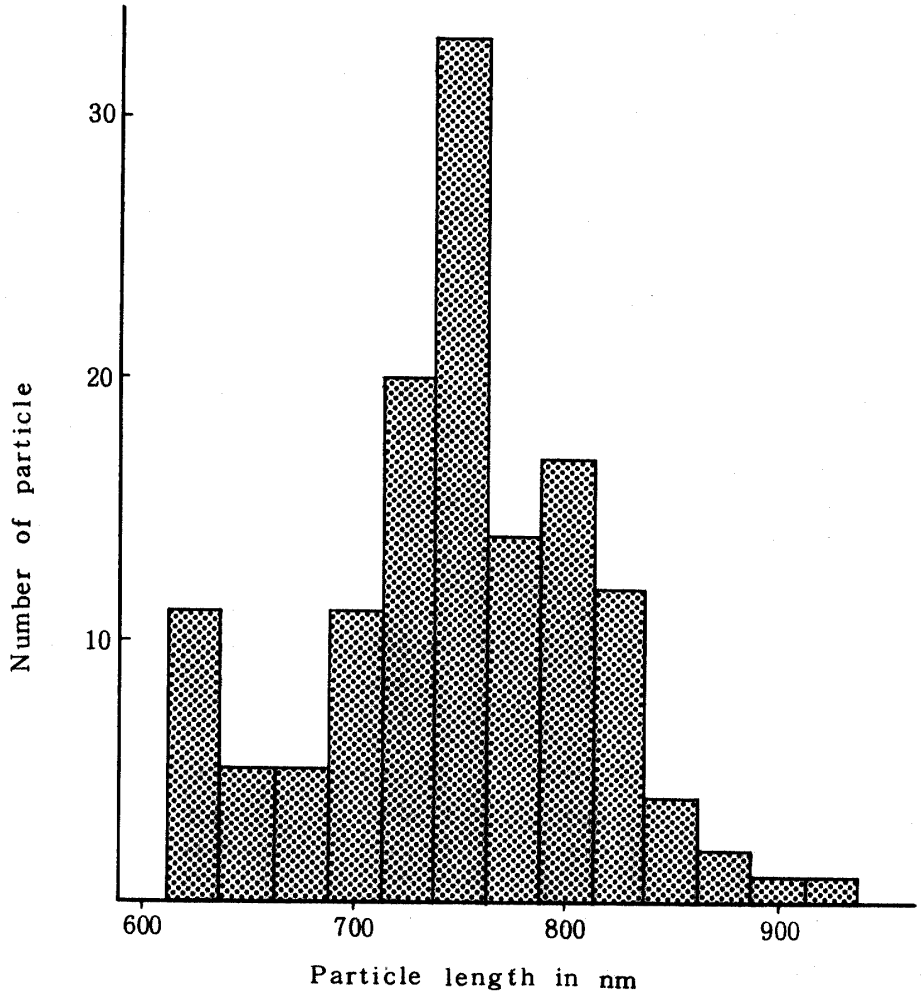


Fig. 1. Length distribution of particle in partially purified preparation

図1に見るようにウイルス粒子の長さは，625～925 nm に分布し，なかでも700～800 nm に多数分布する。これから算出した normal length は760 nm，幅が約12 nm の，硬いひも状粒子である（図版Ⅱ－3）。またdip 法試料中にも同様なウイルス粒子が観察された。

4　考　察

以上の結果，本ウイルスはパパヤにのみ寄生性が認められ，その病徴は葉に黄斑モザイク症状を示し，葉脈えそ症状を生ずる特長がある。モモアカアブラムシにより非永続的に伝搬された。ウイルスの耐熱性は50～53 C，耐希釈性は10^{-2}～10^{-3}，耐保存性（20 C）は12～18時間にあった。ウイルス粒子は硬いひも状で長さ760 nm，幅が約12 nm であった。また本ウイルスとpapaya ringspot virus との干渉作用は認められない。

前報のpapaya ringspot virus[11] はパパヤのほかウリ科の数種植物に感染した。そしてパパヤ病株は激しい奇形葉を多数生ずるなど本ウイルスの性質とは相違する。また寄主範囲がパパヤに限定されるpapaya leaf reduction virus[10] はパパヤに奇形葉を生ずるが，茎や果実には病徴は現われない。そのウイルス粒子の形態は明らかでない。papaya decline virus[8] はパパヤのほか *Chenopodium quinoa* およびダイズに感染するが，ウリ科植物の感染は認められない。またアブラムシにより伝搬されないウイルスである。しかし，そのウイルス粒子はひも状で長さ750 nm，幅 12 nm である。このようにこれらウイルスと本ウイルスでは相違点がある。つぎに本ウイルスの病徴に似たウイルスとの比較を表4に示す。

Table 4. Comparison of symptoms and physical properties of the papaya viruses

Virus		Tested virus	Ringspot (Yonaha, T)[11]	Mosaic disease (Ishii, M. et al)[6]	Isabela mosaic (Adsuar, J.)[1]	Faint mottle (Conover, R.)[3]
Plants						
Carica papaya L.	Leaf	yellow mottle, vein-necrosis	distortion, necrotic spot	yellow mottle, small ring	yellow mottle	mottle, white necrotic spot
	Stem	concentric ring		linear,	oily spot	streak, ring
	Petiole	ring, streak		concentric ring		
	Fruit	chlorotic spot necrotic ring		brownish ring		ring, C-shaped
Cucumis sativus L.		0	ns	m	m	m
Cucurbita pepo L.		0	vc	m, mal	m	m
Citrullus vulgaris Schrad.		0	0	m, mal	m	m
Physical properties						
Thermal inactivation point		50 - 53 C	55 - 60 C	50 - 54 C	60 C	54 - 56 C
Dilution end point		10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-2}	10^{-3}
Longevity in vitro		18 hr	72 hr	24 hr	72 hr	8 hr

m: mosaic　mal: malformation　ns: necrotic spot

vc: vein clearing　O: no infection

この表に示すように本県の papaya ringspot virus[11] を除き，Ishii ら (1963)[6] の mosaic disease，Adsuar (1972)[1] の Isabela mosaic virus および Conover (1964)[3] の faint mottle ringspot virus は，パパヤ葉に yellow mottle または mottle を示し，また茎や葉柄に濃緑色の輪紋や各斑を生じて本ウイルスの病徴と類似する。しかし，葉脈えそ症状は他ウイルスにない本ウイルス特有の症状と思われる。本ウイルスの寄主範囲はパパヤに限られるが，他のウイルスはペポカボチャ，キュウリ，スイカなどのウリ科植物の感染性が認められる。ウイルスの物理的性質には大差はないが，本ウイルスはfaint mottleの値に近い。なおmosaic diseaseおよびIsabela mosaic virus の粒子形態は明らかでないが，いずれのウイルスも papaya ringspot virus[4, 9] に総括されている。

上記の比較ウイルスの外，Jensen (1949)[7] の ringspot virus のパパヤ果実における初期の退色斑点の形成は本ウイルスの病斑と類似する。台湾中興大学教授 Dr. Chen, M.の最近の書簡によると台湾においても本ウイルスの病徴に類似したウイルス病が発生している。

以上のように本ウイルスは既往の papaya ringspot virus とは寄主範囲などに相違点はあるが，これまでの実験で，これらの異同を明確にすることは困難であり，今後，比較研究を要する課題である。

摘　　要

1973年沖縄県石垣市で採集したパパヤの黄斑モザイク病株から分離されたウイルスの実験を行なった。

本ウイルスの寄主範囲はパパヤに限られる。パパヤ病株の病徴は，葉に黄色あるいは黄白色の斑紋が葉脈に沿って現われたり，また葉全体が退緑症状を呈し，脈えそが現われる。茎や葉柄には濃緑色の長楕円形の輪紋および条斑が現われる。果実には初め退緑斑点が現われ，これが後に拡大ゆ合してふくれあがり，その周囲に淡褐色の条斑や輪状斑を生ずる。

本ウイルスは，汁液伝染し，またモモアカアブラムシにより非永続的に伝搬される。ウイルスの耐熱性（10分）は50～53C，耐希釈性は10^{-2}～10^{-3} および耐保存性（20C）は12～18時間にあった。ウイルス粒子の normal length は 760nm，幅が約 12 nm の硬いひも状粒子である。本ウイルスと本県の papaya ringspot virus との干渉効果は認められない。

謝　　辞

本論文の御校閲ならびに御指導下さった当研究室田盛正雄教授に心から感謝の意を表する。

引　用　文　献

1. Adsuar, J. 1972 A new virus disease of papaya (*Carica papaya* L.) in Puerto Rico, J. Agri. Univ. Puerto Rico, **56**：397～402
2. Conover, R. A. 1964 Distortion ringspot, A sever virus disease of papaya in Florida, Flo. Sta. Hort. Soc., **77**：440～444
3. ———— 1964 Mild mosaic and faint mottle ringspot, two papaya virus diseases of minor importance in Florida, ibid, **77**：440～448
4. Cook. A. A. 1972 Virus diseases of papaya, Flo. Agri. Exp. Stn., Teck. Bull. 750 19pp

5. Hine, R., O. V. Holtzmann and R. D. Raabe 1965 Diseases of papaya (*Carica papaya* L.) in Hawaii, Haw. Agri. Exp. Stn., Bull. 136 26pp
6. Ishii, M. and O. V. Holtzmann 1963 Papaya mosaic disease in Hawaii, Pl. Dis. Reptr. **47**: 947～951
7. Jensen, D. 1949 Papaya virus diseases with special reference to papaya ringspot, Phytopathology **39**：191～211
8. Kulkarni, H. Y. 1970 Decline viruses of pawpaw (*Carica papaya* L.) in East Africa, Ann. Appl. Biol. **66**：1～9
9. Purcifull, D. E. 1972 Papaya ringspot virus, CMI/AAB Discription of plant viruses, No. 84
10. Singh, A. B. 1969 A new virus disease of *Carica papaya* in India, Pl. Dis. Reptr. **53**:267～269
11. 与那覇哲義 1976 パパヤから分離されたウイルス 第1報 Papaya ringspot virus について 琉球大農学報，**22**：115～124
12. _____ 1976 パパヤウイルス病の病徴とその発生状況，今月の農薬，**20**（12）：32～35
13. _____米盛重保 田盛正雄 1976 有翅アブラムシの飛来とパパヤのウイルス病発生との関係について，沖縄農業，**14**：7～15

Summary

A previous paper reported on papaya ringspot virus, which is widely distributed in Okinawa Prefecture[11])

A new virus was isolated from papaya, showing yellow mottle and being found in Ishigaki city, the Yaeyama Islands. The present paper was concerned with the host range, symptoms, physical properties, aphid transmission, cross protection and electron microscopic properties of the virus.

The host range appeared to be restricted to papaya. Inoculated papaya plants showed the chlorotic spot scattering over younger leaves and green spot on the stem in about 10 to 15 days after inoculation during summer season. These spots were followed by yellow mottle along the vein and vein necrosis in the leaves. Concentric green rings or spots were developed on the stem and petioles. A few chlorotic spot with center green were formed on the younger fruit. The spots were coalesce to form larger and slightly elevated spots, and dark green or brownish were produced surrounding the spot.

The virus was transmitted by sap inoculation and also by *Myzus persicae* in non-persistent manner but a low rate. The virus was inactivated in 10 minutes at temperatures between 50C and 53C, in 12 to 18 hours with aging at 20C. Dilution end point was between 10^{-2} and 10^{-3}. The normal length of virus particles observed in negatively stained and partially purified preparation was about 760nm long and about 12nm in width. There was no cross protection between tested virus and papaya ringsopt virus reported in Okinawa.

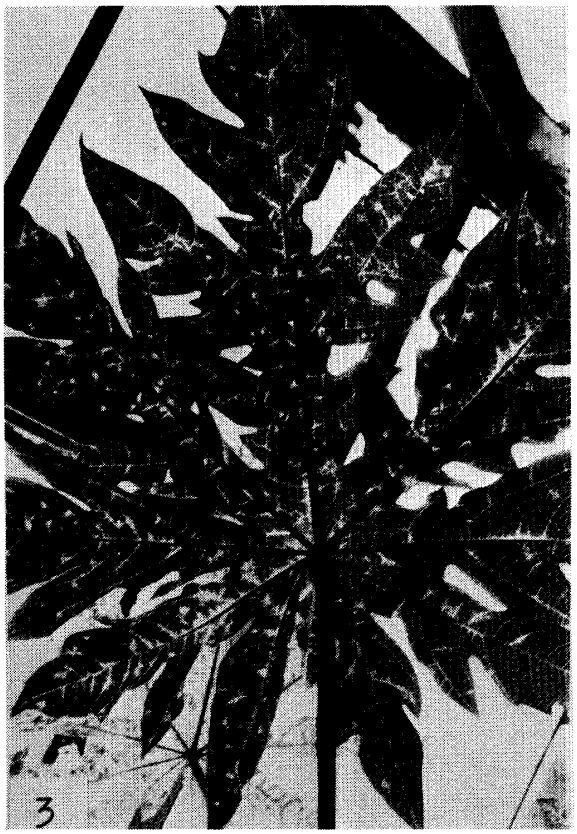
Explanation of plate I

1. Infected papaya plant in glasshouse
2. Vein necrosis in papaya leaf
3. Yellow mottle along the leaf vein
4. Concentric green rings on the stem and petioles

Explanation of plate II

1. Chlorotic spot with center green on the younger fruit
2. Dark green or brownish surrounding the spot and ring spot on the fruit
3. Stiff, rod-shaped virus particles (Bar 200nm)

PLATE I



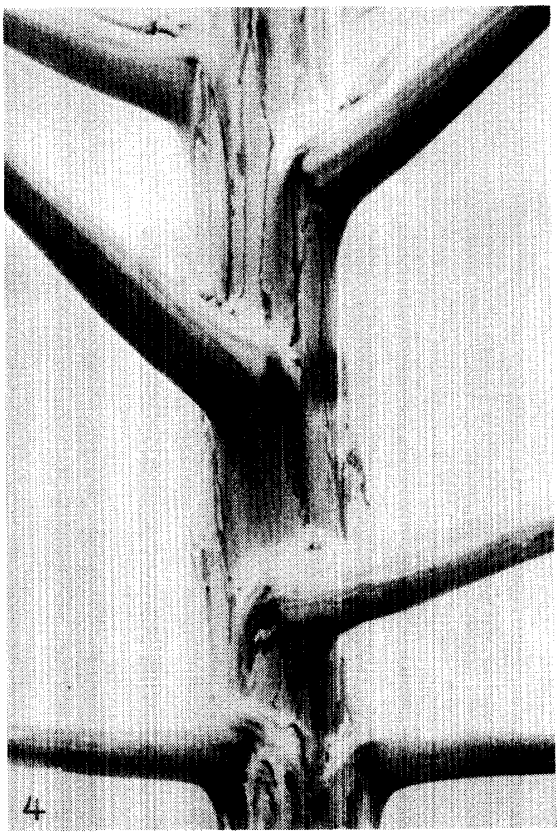
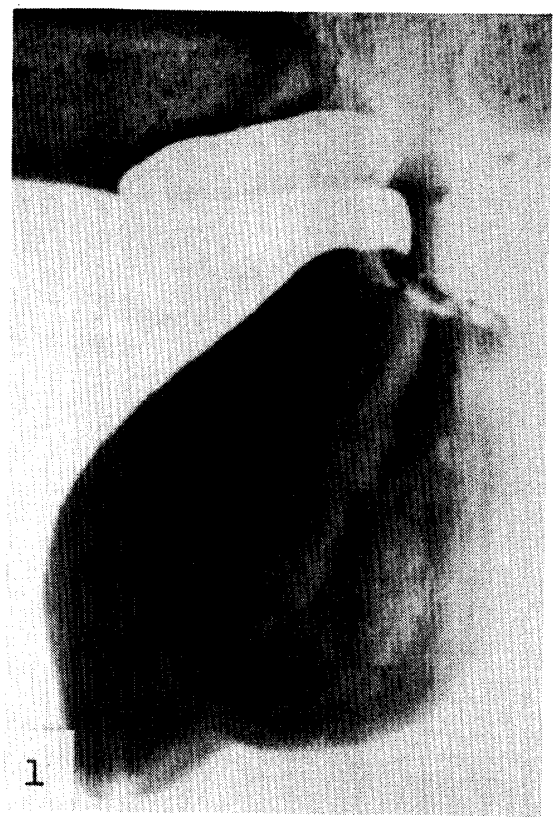
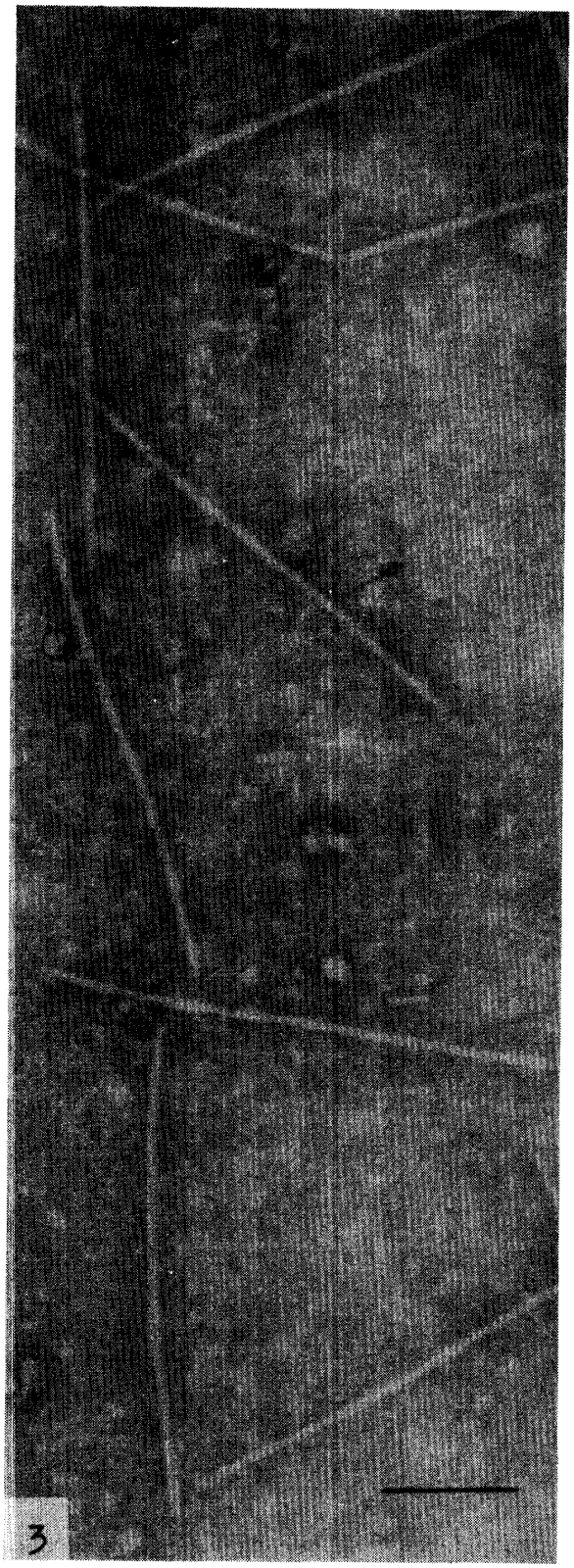



PLATE II