琉球大学学術リポジトリ

マスクメロンおよびカボチャのモザイク病株から分離されたカボチャ・モザイク・ウイルスの２系統(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, 根川, 守, 桑江, 忠, 久部良, 敦子, Yonaha, Tetsuyoshi, Tamori, Masao, Negawa, Mamoru, Kuwae, Tadashi, Kubura, Atsuko
	メールアドレス:
	所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/4235

マスクメロンおよびカボチャのモザイク病株から分離されたカボチャ・モザイク・ウイルスの2系統

与那覇哲義*・田盛正雄*・根川　守**
桑　江　忠***・久部良敦子

Tetsuyoshi YONAHA, Masao TAMORI, Mamoru NEGAWA Tadashi KUWAE and Atsuko KUBURA : Two watermelon mosaic virus strains isolated from mosaic diseased muskmelon and squash

---

緒　　言

沖縄県におけるウリ類のモザイク病の発生は1960年頃から目立つようになった。最近は1974年宮古下地町の冬作 カボチャに本病が大発生した。また1977年にはウリ類の産地で知られる南風原村内のカボチャやスイカなどの被害があり問題になった。

本県のウリ類のウイルス病に関する研究はごく少ない。小室（1962）[7]は那覇市与儀のスイカモザイク病株から分離されたカボチャ・モザイク・ウイルス（WMV）を報告し，東京付近では，スイカのモザイク病の発生がほとんど見られないのに，沖縄で大発生している理由については興味ある課題であると述べている。また津止（1971）[11]はパパヤのモザイク病研究の中で，那覇市内のキュウリ，スイカおよびカボチャのモザイク病7株の全株からWMVを分離している。

著者らは，1973年～1975年に那覇市内および南風原村内で採集したウリ類のモザイク病23株について実験した。その中22株はWMVによるもので，キュウリの1株がキュウリ・モザイク・ウイルス（CMV）によるモザイク病であった。

1973年に琉球大学農学部附属農場のビニールハウス内のマスクメロンのモザイク病株から分離されたウイルスおよび1975年に南風原村神里のカボチャモザイク病株から分離されたウイルスの寄主範囲物理的性質，ウイルス粒子の電顕観察および血清反応などの実験を行なったので，その結果を報告する。

実験材料および方法

供試ウイルスは，1973年9月琉球大学農学部附属農場のビニールハウス内のマスクメロン（品種はアールスフエボリット春系二号）から分離されたウイルス（以下WMV－Mu系）と，1975年4月

---

*　琉球大学農学部農学科
**　琉球産経株式会社
***　沖縄県農林土木事務所八重山支所
琉球大学農学部学術報告，24：181～190（1977）

南風原村神里のカボチャから分離されたウイルス（以下WMV－Sq 系）である。

WMV－Mu 系は，原寄主の病汁液をカボチャ（品種はみやこ）に接種し増殖保存した。一方，WMV－Sq 系は，原寄主から *Chenopodium amaranticolor* に汁液接種してウイルスを分離し，これをカボチャで増殖して接種原に用いた。

供試植物は，すべて本学部ガラス室内で播種，育成した。汁液接種は，病汁液中にカーボランダムをふりかけて混ぜ，これを指で接種葉面に2～3回こすりつけた。接種した植物は，約1月間観察したのち，カボチャおよび *C. amaranticolor* に戻し接種を行ない，その感染の有無を確めた。

ウイルスの精製はカボチャ病葉を材料に用い，日立分離用超遠心機55P－2形により分画遠心を行なった。血清反応試験は，WMV－Mu 系抗血清および佐賀大学農学部助教授佐古宣道博士から分譲されたWMV分離株2の抗血清を供試した。

実　験　結　果

1　寄主範囲と感染植物の病徴

供試両ウイルスの寄主範囲は汁液接種により検定し，その結果をTable 1 にまとめた。

Table 1　Host range and symptoms of WMV–Mu and WMV–Sq of the watermelon mosaic virus strains

Plants tested	Infection WMV－Mu	WMV－Sq
Cucurbita maxima Duch	m , ns	m , mal
C. pepo L. *var. ovifera*	m , mal	m , mal
Cucumis sativus L.	m	m
C. melo L.	m	m
C. melo var. conomon Makino	m , mal	m
Citrullus vulgaris Schrad.	m , ns	m
Benincasa hispida Cogn.	m , r	m
Luffa clyindrica Roem.	m	m , mal
Momordica charantia L.	–	m
Chenopodium quinoa Milld.	–	LL
C. amaranticolor Coste & Reyn.	–	LL
C. murale L.	–	LL
Spinacia oleracea L.	–	LL
Phaseolus vulgaris	–	–
Vicia faba L.	–	–
Pisium sativum L.	–	–
Vigna sinensis Savi	–	–
Gomphrena globosa L.	–	–
Amaranthus lividus L.	–	LL
Sesanum indicum L.	–	m
Hibiscus esculentus L.	–	–
Zinnia elegans Jacq.	–	–
Nicotiana glutinosa L.	–	–
N. tabacum L.	–	–
Datura storamonium L.	–	–
Lycopersicon esculentum Mill.	–	–
Carica papaya L.	–	–

m : mosaic, ns : necrotic spot, mal : malformation
r : ringspot, LL : local lesion　– : no infection

WMV－Mu系は10科28種の供試植物中，ウリ科の8種植物に感染性が認められた。感染しなかった植物は，ニガウリ，*Chenopodium amaranticolor*，*C. quinoa*，*C. murale*，ホウレンソウ，インゲン，ソラマメ，エンドウ，ササゲ，センニチコウ，イヌビユ，ゴマ，オクラ，ヒャクニチソウ，ツルナ，*Nicotiana glutinosa*，タバコ，*Datura stramonium*，トマト，パパヤである。

一方，WMV－Sq 系は13科39種植物の中，2科10種植物に全身感染し，また2科5種植物の局部感染が認められた。感染しなかった植物は，インゲン，ソラマメ，エンドウ，ササゲ，スイトピー，センニチコウ，ケイトウ，シュンギク，ヒャクニチソウ，キンセンカ，サルビア，オクラ，ツルナ，カンラン，*Nicotiana glutinosa*，タバコ，*Datura stramonium*，トマト，ペチュニア，ナス，パパヤなどであった。

1）WMV－Mu 系の原寄主および感染植物の病徴

ビニールハウス内のマスクメロン（アールスフエボリット春系二号）は600株中の50株が明瞭なモザイク症状を呈していた。病株は上位葉にモザイク症状を示し，とくに側芽のモザイクが著しく，濃緑斑がふくれあがる症状を示した。病果実の多くはネットの形成が悪く，なかにはその表面に濃緑色の斑点（図版1－1）が現われた。

カボチャ（品種はみやこ，鉄かぶと，日向14号）の病徴は品種によりその反応に若干差異がみられた。みやこカボチャは接種13日頃頂葉に vein clearing を示し，病葉は後に退色斑紋およびえそ斑点を伴ったモザイク症状を呈した（図版1－2）。ときには下葉に淡褐色の斑点が現われた。植物は著しく萎縮し，葉は小形となる。鉄かぶとカボチャは濃緑斑がふくれあがるモザイク症状を示した。また日向14号は，葉脈緑帯を生じ，奇形葉を生じた。

カザリカボチャ（*Cucurbita pepo rom ovifera*）は接種後10～15日頃葉にvein clearing が現われ後には vein banding，モザイク状の奇形葉が現われた。

シロウリ（黒門青大縞瓜）は上葉に初め vein clearing が現われ，後に vein banding，モザイクで濃緑斑がふくれあがる（図版1－4）。ときに奇形葉が生じた。

スイカ（縞王，あすか）は接種後20～25日上葉に軽いモザイク症状が現われた。これは後にえそ斑点を伴なったモザイク状となる。下葉では小形のえそ斑を生じ，枯れ落ちる葉もあった。

トウガは接種後15～20日中位葉に黄白色の斑点および輪状の斑点が現われた（図1－3）。

キユウリおよびヘチマはいずれも軽いモザイク症状を示した。

2）WMV－Sq系感染植物の病徴

カボチャ（品種はみやこ，近成芳香，日向14号，えびす）は，いずれの品種も接種後9～13日上葉に vein clearingを生じ，後には，vein banding，モザイク状を示し，若葉ほど葉面のでこぼこが著しく，奇形葉が多数現われた（図版Ⅱ－1）。

トウガは接種後10～15日中位葉に退色斑点が散在し，後にモザイク症状となる。ときに下葉は葉全体が黄化した。

ヘチマは，初め頂葉に vein clearingを生じ，後に病葉は濃緑斑がふくれあがるモザイク症状（図版Ⅱ－4）を示し，激しい奇形葉を生じた。

ニガウリは接種後10～20日中位葉の縁に沿って退緑し，後に明瞭なモザイク症状（図版Ⅱ－3）が現われた。中には若干奇形を呈する葉もみられる。下葉には退色斑点を生ずることもあった。

Chenopodium amaranticolor は接種後5～7日接種葉に退色斑点を生じ，これは後に径4～6㎜の輪かくのぼけた斑点（図版Ⅱ－5）となった。全身感染はしない。この植物は供試植物中で多数

のLocal lesionを形成するため本ウイルスの検定植物として有用である。

また*C. quinoa*および*C. murale*も同様に局部感染植物である。

ホウレンソウ（属城）は接種後7～10日接種葉に不整形の退色斑点を生じ（図版Ⅱ－2），上葉からウイルスは回収できなかった。

ゴマ（白ゴマ）は上葉に初め退緑斑が現われ後にモザイク症状を示したが，軽い。

イヌビユは接種後5～10日接種葉に1～2㎜の褐色斑を生じ，病斑は後に中心部が灰白色となった。

2　ウイルスの物理的性質

カボチャ病葉の搾汁液をウイルス原に，また検定植物としてカボチャ苗および*C. amaranticolor*を用い，粗汁液中におけるウイルスの不活化限界を検定した。その結果をTable 2およびTable 3に示した。

Table 2　Physical properties of the WMV-Mu of watermelon mosaic virus strain

Thermal inactivation point 10 min	Room temp.	45	50	55	60 C
	7／7	5／10	0／10	0／10	0／10
Dilution end point	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
	10／10	8／10	3／10	0／10	0／10
Longevity in viro at 20 C	0	1	2	3	5 days
	3／4	2／4	2／4	1／4	0／4

Test plant : *Cucurbita maxima*

Infected plants ／ Inoculated plants

Table 3　Physical properties of the WMV-Sq of watermelon mosaic virus strain

Thermal inactivation point 10 min	45		50		55		60	65 C
	197		113		7		1	0
Dilution end point	10^{-1}		10^{-2}		10^{-3}		10^{-4}	10^{-5}
	225		52		4		1	0
Longevity in vitro at 20 C	1	2	3	4	5		6	7 days
	22	16	13	2.3	2		1.7	1

Test plant : *Chenopodium amaranticolor*

Average numberes lesion on 7 to 12 leaves

この結果からWMV－Mu系の耐熱性は45～50C（10分），耐希釈性は10^{-3}～10^{-4}および20Cにおける耐保存性は3～5日にあった。

一方，WMV－Sq系は耐熱性は60～65C（10分），耐希釈性は10^{-4}～10^{-5}および20Cにおける耐保存性は7日以上にあった。

3　アブラムシによる伝搬

WMV－Mu系の伝搬試験にはモモアカアブラムシ（*Myzus persicae* Sulz）およびワタアブラムシ（*Aphis gossypii* Glover）を，WMV－Sq系の場合はモモアカアブラムシのみ供試した。供試アブラムシはいずれも健全植物上で飼育したものであり，病植物吸汁前に1時間絶食させた。病植物および接種植物ともカボチャを用い，アブラムシ伝搬の有無を調べた。

この結果，WMV－Mu系はモモアカアブラムシおよびワタアブラムシとも1分以内の獲得吸汁時間で高い伝搬率を示した。またWMV－Sq系はモモアカアブラムシの5～10分間獲得吸汁時間で伝搬され，30分以上の吸汁時間では伝搬率が低下した。両ウイルスはいずれも非永続的伝搬型と思われる。

4　ウイルスの精製および電顕観察

接種後15～20日のカボチャ病葉に等量の0.1Mりん酸緩衝液（0.01M Na－EDTA，1%2－メルカプトエタノール添加pH7.3）を加えて磨砕し，この搾汁液の10%容n－ブタノールで清澄化し，4%量ポリエチレングリコール（6,000）により濃縮した。沈でんを0.01Mりん酸緩衝液（0.05M Na－EDTA添加pH 7.3）に懸濁後，10,000 rpm，15分間と30,000 rpmおよび40,000 rpm 90分間の2回分画遠心を行ない，部分純化標品を得た。この標品は高い感染性を有した。

カボチャ病葉のdip法および部分純化標品のPTA染色試料について電顕観察したところ，両ウイルスは，いずれの試料においても700～800 nmのひも状粒子が観察された（図版1－6，II－6）

5　血清反応

抗血清は，WMV－Mu系の部分純化標品をウサギに5回注射して作成した。すなわち純化標品とFreund's Complete Adjuvant等量混合液を20日間隔で2回筋肉に注射し，さらに純化標品のみ一週間隔で3回静脈注射した。こうして得られたWMV－Mu抗血清の力価は重層法により1024倍およびその他のWMV抗血清（512倍）を用い，重層法および寒天ゲル内拡散法による血清反応を調べた。

重層法の結果はTable 4に示すようにWMV－Sq系はWMV－Mu系抗血清に対する反応が認められた。またWMV－MuおよびWMV－Sqの両ウイルスはWMV抗血清に対し同様に反応した。しかしながら供試した2種の抗血清はいずれも健全カボチャ汁液との反応が認められた。

Table 4　Serological reaction of the WMV–Mu and WMV–Sq to the WMV antiserum

Antigen	Antiserum	Dilution of antiserum									
		2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024
WMV－Mu	A	++	++	++	+	+	+	+	+	+	±
	B	++	++	+	+	+	+	+	±	±	－
WMV－Sq	A	++	++	++	++	+	+	+	+	+	±
	B	++	++	++	+	+	+	+	+	±	－
Healthy sap	A	++	++	±	±	－	－	－	－	－	－
	B	+	+	±	－	－	－	－	－	－	－

Ring precipitin test
Antiserum A：WMV－Mu
B：Isolate－2 of the watermelon mosaic virus（Sako, et al 1975）

寒天ゲル内拡散法の試験では両抗血清を健全カボチャ純化液で吸収処理して用いた。寒天ゲル板は寒天0.9％，食塩0.85％，窒化ナトリウム0.1％を厚さ約3㎜にした。実験後4日に再びウイルス液を追加した。その結果，7～10日後に抗原穴に近いところで沈降線（図版1－5）が現われた。しかし無処理の抗血清の場合は，抗原穴と血清穴のほぼ中間に不明瞭な沈降線が認められ，これは特にWMV－Mu抗血清で強く生じた。これらの血清反応で両ウイルスの血清的類縁関係が証明される。

考　　察

WMVはAnderson（1954）[1]の報告以来，ヨーロッパ，南アフリカ，ハワイおよびキューバなどにおける発生が報告されている[12]。

Webbら（1965）[13]はWMV 10分離株の寄主範囲，物理的性質および血清反応試験を行ない，これら分離株中の3株は，その寄主範囲がウリ科植物に限られるWMV－1群と，他の7分離株はウリ科のほか*C. amaranticolor*，ホウレンソウおよび数種のマメ科植物に寄生性を有するWMV－2群に類別した。そしてWMV－1抗血清に対しWMV－2群は反応しなかったとして，これら2系統群は血清的類縁関係のない別種ウイルスと述べている。

Milneら（1969）[8]のWMV－1 CaおよびWMV－2 Caはカボチャの病徴，物理的性質，アブラムシ伝搬，ウイルス粒子形態の類似性および寒天ゲル内拡散法により血清的関係が認められることから，これは別種ウイルスではなく，WMV系統群であると述べている。

わが国におけるWMVの報告は，小室（1956，57，62）[5, 6, 7]，岸（1961）[3]，Inouye（1964）[2]西ら（1965）[9]および佐古ら（1975）[10]など，多くのWMV分離株が報告されているが，いずれの分離株もウリ科以外の植物の寄生性が認められる，上記のWMV－2系統に該当する。しかしWMV壊疽系統[3]については詳細な報告がなく比較検討が十分できなかった。

本報に記載したWMV－Mu系およびWMV－Sq系の実験結果は前述したように両ウイルスは，寄主範囲に相違点のあるほか他性質には大きな差異はない。また両ウイルスは2種の抗血清に対し同様な反応を示すことから，これはWMVのそれぞれ異なった系統と同定された。そしてWMV－Mu系は，その寄主範囲がウリ科植物に限られる点ではWebbらのWMV－1系統群に似ているが，両者の耐保存性には差異がある。一方，WMV－Sq系はWMV－2系統群に属するもので，小室（1962）[2]の分離株と同じとみて支障はないと考える。

本県におけるウリ類は促成により周年栽培が行なわれている。1972年5月以後はカボチャ，トウガ，スイカの県外移出が認められて，最近は国内の端境期に東京や大阪市場に出荷されるようになり農家の関心は高い。しかしながら，ウリ類の産地においては年中かなりのモザイク病が発生する。とくに2～4月のか雨年にはその被害が甚大である。また7～9月収穫のスイカにモザイク病の発生が目立つ，また同様な現象がニガウリやヘチマなどにも見られる。これはおそらく媒介アブラムシ発生との関係があろう。

摘　　要

マスクメロンおよびカボチャのモザイク病株から分離されたウイルスはそれぞれカボチャ・モザイクウイルス（Watermelon mosaic virus）のWMV－Mu系統およびWMV－Sq系統と同定された。

WMV－Mu系は汁液伝染し，またアブラムシにより非永続的に伝搬された。10科28種の供試植物中ウリ科の8種植物が全身感染した。ウイルスの耐熱性（10分）は45～50C，耐希釈性は10^{-3}～10^{-4}および20Cにおける耐保存性は3～5日にあった。ウイルス粒子はひも状で長さ700～800nm幅が約12nmであった。WMVとの血清的関係が認められた。

WMV－Sq　系は汁液伝染し，またアブラムシにより非永続的に伝搬された。供試した13科39種植物のうちウリ科およびゴマ科の10種植物が全身感染し，またアカザ科およびヒユ科の5種植物が局部感染した。ウイルスの耐熱性は60～65C，耐希釈性は10^{-4}～10^{-5}および20Cにおける耐保存性は7日以上にあった。ウイルス粒子はひも状で700～800 nm幅が約12nmである。WMV－Muおよび他WMVとの血清的関係が認められた。

WMV－Mu系はWebbらが報告したwatermelon mosaic virus －1に近縁ウイルスで，わが国ではまだ発見されていない新系統である。一方，WMV－Sq系は国内でも多くの報告のあるWMV普通系統に属するウイルスである。

謝　　辞

本研究を行なうに当り，貴重な抗血清を分与下さった佐賀大学農学部助教授佐古宣道博士に厚くお礼申し上げる。

引　用　文　献

1 Anderson, C. M. 1954 Two watermelon mosaic virus strain from central Florida, Phytopathology, 44：198－202

2 Inouye, T. 1964 A virus disease of pea caused by watermelon mosaic virus, Berichte d. Ohara Insti. Landw. Biol., 12：133－143

3 岸　国平　1961　マスクメロンに発生したカボチャモザイクウイルスの壊疽系統について（講要）日植病報，26：242

4 ―――― 1964　温室メロンのウイルス病と防除法，農業及園芸，39：959～962

5 小室康雄　1956　日本におけるカボチャ・モザイク病に関する研究　1. 病徴，寄主範囲及び伝染方法，日植病報，21：162－166

6 ―――― 1957　日本におけるカボチャ・モザイク病に関する研究 II.バイラスの物理的性質同定及びトウガ，シロウリ，スイカのモザイク病株から分離されたバイラスとの関係，同上，22：220～224

7 ―――― 1962　カボチャ・モザイク・ウイルスによるキユウリおよびスイカのウイルス病，同上，27：31～36

8 Milne, R. E. and R. G. Grogan 1969 Charaterization of watermelon mosaic virus strain by serelogy and other properties, Phytopathology, 59: 809－818

9 西　泰道・西沢正洋　1965　九州におけるカボチャモザイクウイルスによるキユウリのウイルス病，九州病虫研会報，11：11～14

10 佐古宣道・野村光幸・野中福次　1975　カボチャ葉から分離されたカボチャモザイクウイルスの2分離株，佐大農彙，39：1～10

11 津止健市　1971　沖縄県に発生するパパイヤのモザイク病について，琉球農試報告，9：43～54

12 Van Regenmortel, M. 1971 Watermelon mosaic virus, CMI/AAB Discription of plant viruses, No. 63
13 Webb, R. E. and H. A. Scott 1965 Isolation and identification of watermelon virus 1 and 2, Phytopathology, 55 : 897－900
14 与那覇哲義・島袋俊一 1963 沖縄に発生する植物ウイルス病の種類 沖縄農業 2 (1)：43～47

Summary

Two strains of the virus were isolated from mosaic diseased muskmelon and squash (*Cucurbita maxima*) in 1973 and 1975. Those viruses were identified as watermelon mosaic virus, and designated WMV-Mu and MMV-Sq, respectively.

WMV-Mu was transmitted by sap inoculation and also by *Myzus persicae* and *Aphis gossypii* in non-persistent manner. The host range limited to 8 species of Cucurbitaceae for tested plants. The thermal inactivation point was between 45 and 50C, dilution end point was between $10^{-3}$and 10^{-4} and longevity *in vitro* was between 3 and 5 days at 20C in the juice of *C. maxima*. The electron microscopic examination of partially purified preparation showed filamentous particles of 700-800nm in length. It was reacted to WMV antiserum by the ring precipitin and agar double diffusion tests.

WMV-Sq was transmitted by sap inoculation and also by *Myzus persicae* in non-persistent manner. It caused distinct systemic mosaic on 9 species of Cucurbitaceae and *Sesanum indicum*. Local lesion produced on inoculated leaves of *Chenopodium amaranticolor, C. quinoa, C. murale, Spinacia oleracea* and *Amaranthus lividus*. Chenopodium amaraticolor is a useful assay host of this virus. The thermal inactivation point was between 60 and 65C, dilution end point was between $10^{-4}$and $10^{-5}$and longevity *in vitro* was more than 7 days at 20C in the juice of *C. maxima*. The virus particles are filamentous of 700-800nm in length. It was reacted to both WMV-Mu and WMV antiserum.

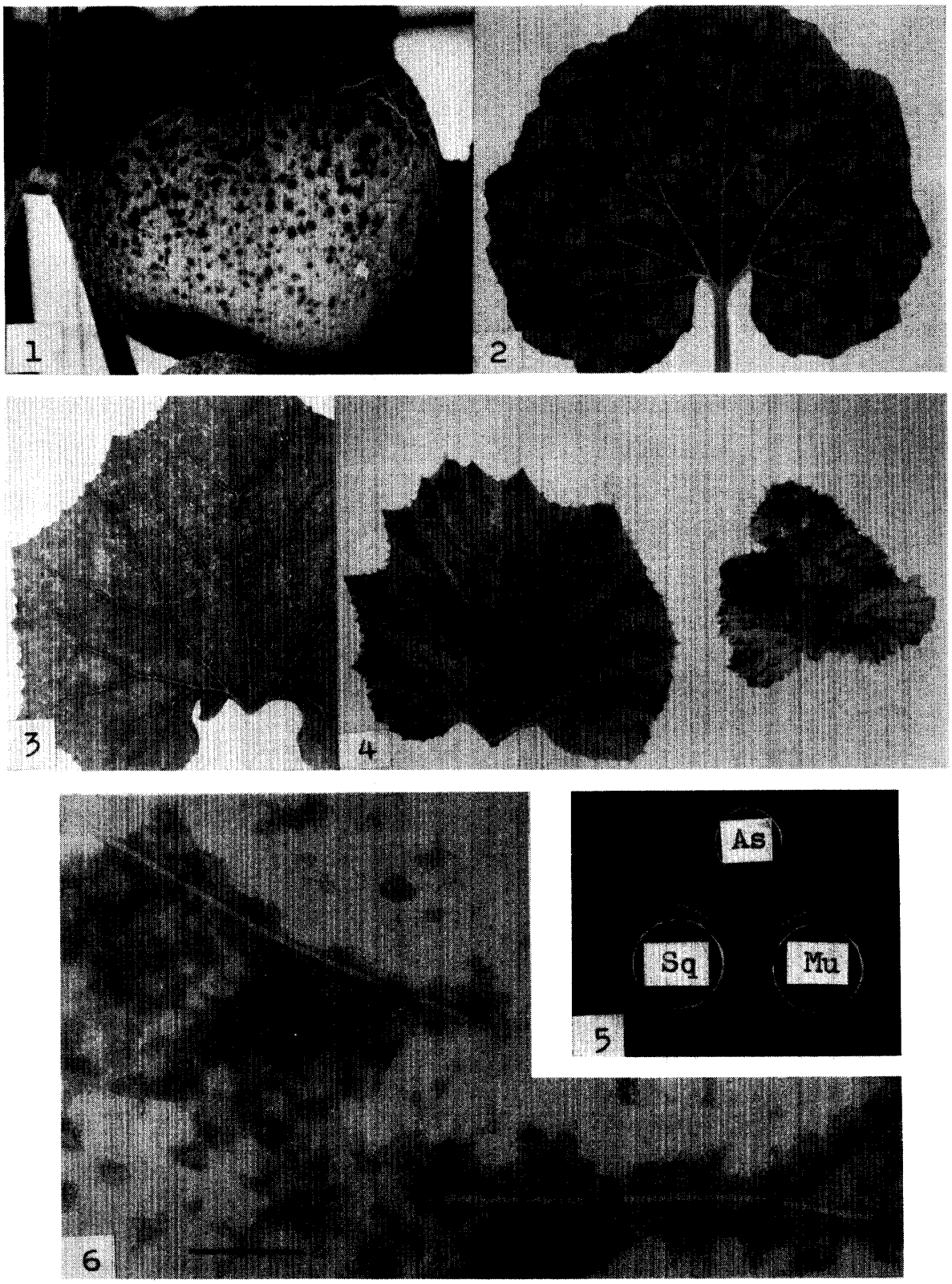
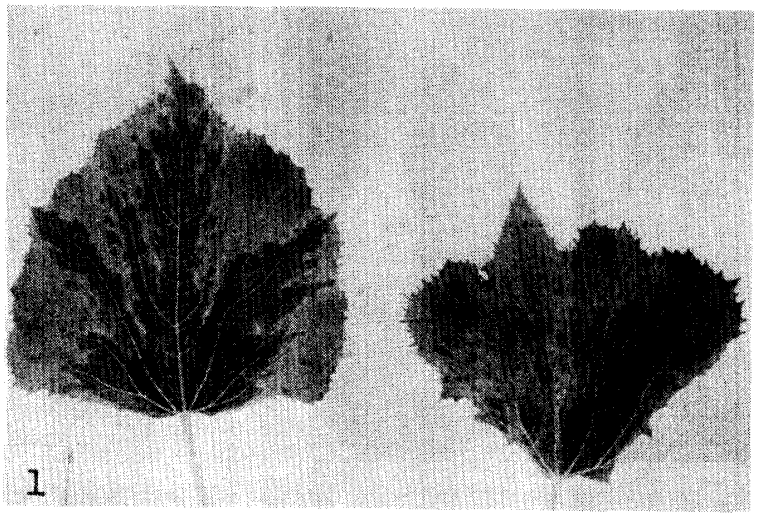
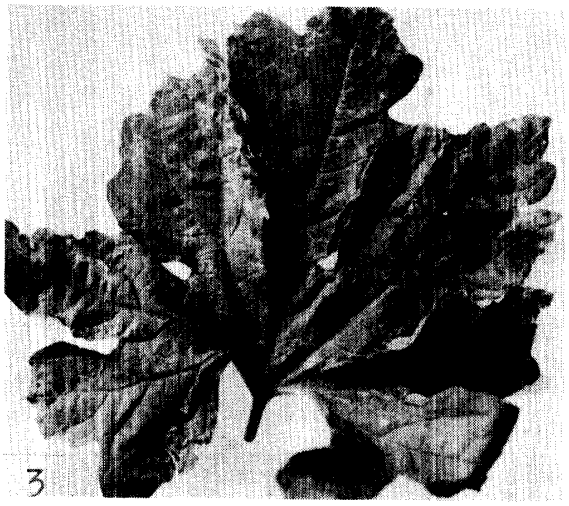
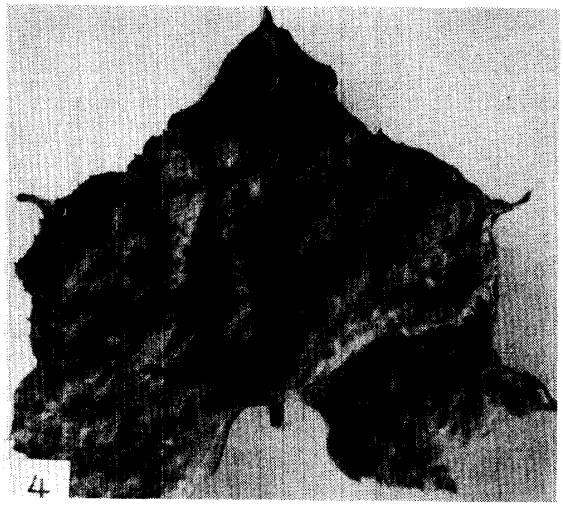
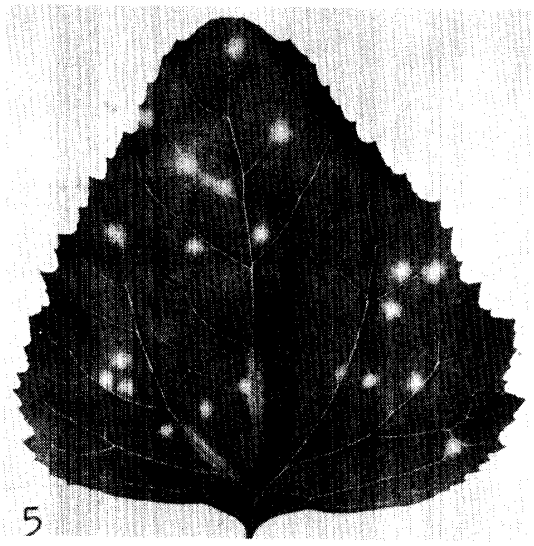
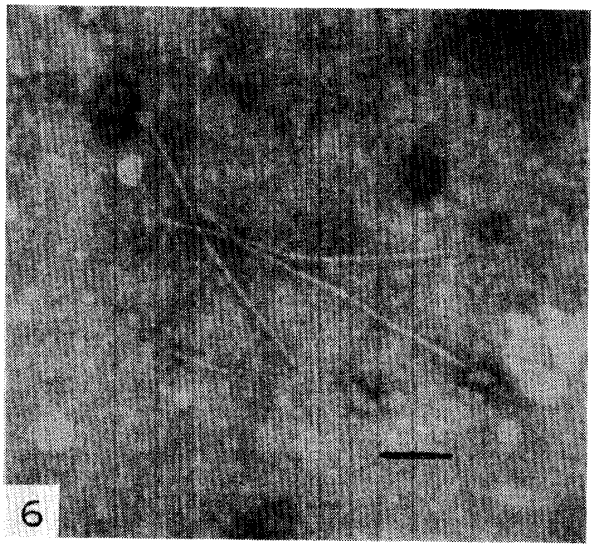
WMV-Mu may be closely related to the WMV-1 strain reported by Webb et al. It have not been reported in Japan so far. WMV-Sq is similar to the many isolates of Watermelon mosaic virus reported in Japan.

図 版 説 明

図版Ⅰ WMV－Mu 系の病徴およびウイルス粒子
1 マスクメロン果実の濃緑斑点
2 カボチャ葉の退緑斑紋
3 トウガ葉の退色斑点および輪紋
4 シロウリのモザイク葉
5 寒天ゲル内拡散法As：WMV－Mu 抗血清 Sq：WMV－Sq Mu：WMV－Mu
6 ウイルス粒子の電顕像（— 200 *nm*）

図版Ⅱ WMV－Sq 系の病徴およびウイルス粒子
1 カボチャのモザイク葉
2 ホウレンソウ接種葉の退色斑点
3 ニガウリのモザイク葉
4 ヘチマのモザイク葉
5 *C. amaranticolor* 接種葉の退色斑点
6 ウイルス粒子の電顕像（— 200 nm）

図版 I



図版Ⅱ