

## フジナデシコから分離されたカーネーション ベインモットルウイルス (Carnation vein mottle virus) の諸性質

山本孝彜・岩崎真人・笹谷孝英  
(四国農業試験場)

Some properties of carnation vein mottle virus infecting *Dianthus japonicus* Thunb.

by Takashi YAMAMOTO, Mabito IWASAKI and Takahide SASAYA (Shikoku National Agricultural Experiment Station, Zentuji, Kagawa, 765)

The virus was isolated from *Dianthus japonicus* plants showing mosaic symptoms on their leaves. The virus was identified as an isolate of carnation vein mottle virus on the basis of particle morphology, host range, properties in vitro and aphid transmission. The virus was readily transmitted through sap to 5 plant species in 2 families. Systemic infection was caused in *Dianthus superbus*, *D. chinensis*, *D. japonicus* and *Chenopodium quinoa*, and local lesions were produced on *C. amaranticolor*. Virus particle were elongated and flexuous. Infectivity of the sap from *D. chinensis* was sustained even after 10 minutes at 55 ~ 60 °C and 3 ~ 7 days at 20 °C. Dilution end point was laid between  $10^{-4}$  ~  $5 \times 10^{-4}$ . The virus was transmitted by *Aphis gossypii* in a non-persistent manner. It might be suggested that *D. japonicus* infected by the virus around the fields serve as the infection source of the virus.

### はじめに

1990年9月、香川県詫間町粟島の海岸沿いの山地に群生するフジナデシコ(ハマナデシコ)のモザイク症状株を採集し、その病原ウイルスを調べた。電顕観察、各種植物への汁液接種の結果からCarnation vein mottle virus (CaVMV)の一系統と考えられた。本ウイルスはカーネーション、ナデシコ、セキチクなど*Dianthus*属の花きに発生し、わが国ではカーネーションに高率に感染しており、モザイクや花卉の斑入りを生じるため栽培上重要なウイルスの一つである。また、採集地域一帯は古くからの花き類の生産地であり、カーネーションなど*Dianthus*属花き類の栽培も多い。したがって、多年生草本であるフジナデシコがCaVMVの伝染源として重要な役割をはたしているのではないかと考えて、本ウイルスの諸性質、ウイルスの純化、抗血清作製などを行ったので報告する。

### 材料および方法

#### 原寄主からのウイルスの分離

病原ウイルスの分離は汁液接種によって局部感染した*Chenopodium amaranticolor*の接種葉からの

単一局部病斑分離でおこなった。分離したウイルスはフジナデシコの実生苗、セキチク（スノーファイヤ）に接種して増殖させた後、病葉を小分けして $-80^{\circ}\text{C}$ の冷凍庫で保存し、接種源として以後の試験に供試した。

#### 汁液接種

実験植物の育成および接種試験はすべて $20\sim 30^{\circ}\text{C}$ 温室で行った。温室内はアブラムシなどの発生を防ぐため、適宜殺虫剤を散布した。接種源に10倍量の $0.05\text{ M}$ りん酸緩衝液（ $\text{pH}7.6$ ）を加えて磨碎し、カーボランダムを用いた常法により汁液接種した。

#### アブラムシ伝搬試験

健全キュウリ上で飼育したワタアブラムシを用い、 $1\sim 2$ 時間絶食後、セキチク（スノーファイヤ）の病葉上に1分間放ち獲得吸汁させた後、検定植物のセキチク（スノーファイヤ）に1株当たり5頭を放飼し、一夜接種吸汁させた。

#### 粗汁液中での安定性

セキチク（スノーファイヤ）罹病葉に $0.05\text{ M}$ りん酸緩衝液（ $\text{pH}7.6$ ）を加えて磨碎し、木綿布で搾汁した液を用いた。検定植物にはナデシコ（カワラナデシコ）を供試した。

#### ウイルス粒子長の測定

セキチク（スノーファイヤ）病葉のダイレクトネガタイプ法試料を電顕観察し、写真撮影してウイルス粒子長の測定をおこなった。

#### ウイルスの純化

HOLLINGS(1971)らの方法に準じて、セキチク（スノーファイヤ）の病葉に2倍量（ $\text{W}/\text{V}$ ）の $0.5\text{ M}$ りん酸緩衝液（ $\text{pH}7.6$ 、 $0.1\%$ チオグリコール酸ナトリウムを含む）を加えて磨碎し、木綿布で搾汁した。搾汁液は $4^{\circ}\text{C}$ の冷蔵庫内に $5\sim 7$ 日間静置した後、 $8.5\%$ 容（ $\text{V}/\text{V}$ ）の $n\text{-Butanol}$ を加えて60分間攪はんし、10分間遠心分離（ $10,000\text{ xg}$ ）した。上清の水層部分を採取して、ポリエチレングリコール（PEG、 $\#6,000$ ）および塩化ナトリウムをそれぞれ $4\%$ 、 $1\%$ 量加えて $4^{\circ}\text{C}$ 以下で60分静置した後、15分間遠心分離（ $10,000\text{ xg}$ ）した。沈澱を $0.05\text{ M}$ りん酸緩衝液（ $\text{pH}7.6$ ）に懸濁して5分間遠心分離（ $5,000\text{ xg}$ ）して上清を採取した。PEGを用いた分画遠心を2回繰り返した後、 $10\sim 40\%$ 蔗糖密度勾配遠心を行って得られた沈降帯を採取し、透析、遠心分離を行って純化ウイルスを得た。

#### 抗血清の作製

純化ウイルス約 $20\text{ mg}$ を生後6ヶ月の家兎に静脈注射とFreund's complete adjuvantを用いた筋肉注射を併用して抗血清を得た。

## 結 果

### 1. 原寄主の病徴

新葉には明瞭なモザイク症状を呈したが、葉が成熟するにつれ病徴は不明瞭となった。葉の奇形、えそ、萎縮等の症状は認められなかった（写真）。

### 2. 各種植物の反応

各種植物に対する汁液接種の結果は第1表に示した。接種した17科56種の植物のうち、フジナデシコ、ナデシコ、セキチクおよび*Chenopodium quinoa*には全身に発病がみられた。*Chenopodium amaranticolor*には局部感染した。フジナデシコ、セキチク（スノーファイヤ）、ナデシコ（河原なでしこ、大文字、スノーストーム）には接種7~10日後に上葉にモザイク症状を現した。セキチクでは重症株はえそ症状を示した。ナデシコの大文字、河原なでしこ、スノーストームでは開花後、花卉に白斑あるいは白い条斑を生じ色割れ症状を呈した（写真）。*C. quinoa*では接種葉に退色斑点、上葉に退色斑点、モザイク症状が現れた。

*C. amaranticolor*では、接種2週間後に接種葉に退色斑点が現れた。これら以外51種の接種植物では、接種葉、全身葉とも症状は認められなかった。

第1表 カーネーションベインモットルウイルス (Carnation vein mottle virus) を接種した各種植物の反応

病 徴	植 物 (品種)
全身病徴	ナデシコ科 フジナデシコ, ナデシコ (大文字, 河原なでしこ, スノーストーム) セキチク (スノーファイヤ)
	アカザ科 <i>Chenopodium quinoa</i>
局部感染	アカザ科 <i>Chenopodium amaranticolor</i>
無 病 徴	ウリ科 キュウリ (相模半白, スライス, にしき四葉), セイヨウカボチャ (芳香, 打木早生赤栗), ニホンカボチャ (小菊), ペポカボチャ (ラージポンキン, ダイナ), ヒョウタン (千成), マクワウリ (金俵), メロン (ポーナ2号), トウガン (長冬瓜), ユウガオ (大丸), シロウリ (桂大白瓜),
	キク科 ヒヤクニチソウ, シュンギク (大葉), ヒマワリ, ゴボウ (滝野川大長), レタス
	セリ科 セルリー (トップセラー), ミツバ, パセリー (ニューカールサンマー), ニンジン (時無五寸)
	ナス科 <i>Nicotiana tabacum</i> (Ky 57, White Burley), <i>N. glutinosa</i> , <i>N. rusica</i> , トマト (桃太郎, 大型福寿, 強力米寿, 世界一, ポンテローザ), ピーマン (ワンダーベル, 京みどり) ナス (千両), ペチュニア <i>Datura stramonium</i>
	ユリ科 タカサゴユリ, ネギ
	マメ科 ソラマメ (一寸), エンドウ (絹莢), ササゲ (黒種三尺), インゲンマメ (山城黒三度, 初みどり, モロッコ), ナンキンマメ, ダイズ (アキシロメ), アズキ (丹波大納言)
	アブラナ科 ダイコン (耐病総太り, 赤丸二十日), ハクサイ (健春), カブ (金町小かぶ), ブロッコリー (ハイツ), カリフラワー (スノークイン), キャベツ (若峰)
その他 ソバ (信州大そば), ホウレンソウ (トライ), トウモロコシ (カクテル E 51), オクラ (グリーンロケット), ゴマ (黒ごま), ツルナ, センニチコウ, トルコギキョウ (ロイヤルパープル), シソ (青しそ)	

### 3. アブラムシによる伝搬

ワタアブラムシにより接種した8個体の検定植物のうち3個体がモザイク病徴を現し、電顕観察でもウイルス粒子が確認された。

#### 4. 粗汁液中での安定性

セキチク罹病葉粗汁液中での本ウイルスの不活性温度は55～60℃ 10分、 $10^4 \sim 5 \times 10^4$ 、保存限度は20℃で3～7日であった。

#### 5. ウイルス粒子長および形態

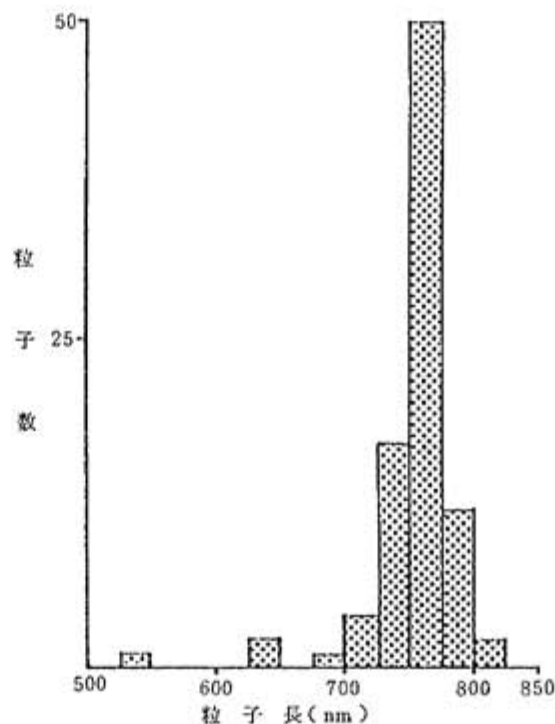
79個のウイルス粒子について電子顕微鏡観察した結果、第1図に示したように粒子長は525～825 nm の間に分布し、751～775 nm にピークをもつひも状粒子であった。

#### 6. 純化ウイルスの性質

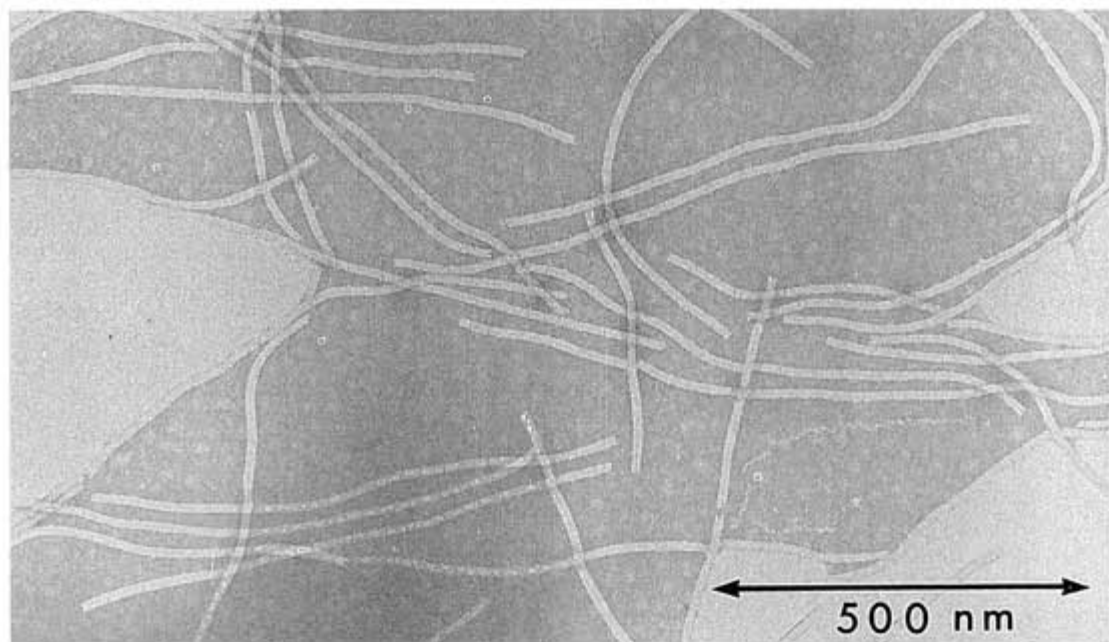
純化ウイルス(第2図)の紫外外部吸収曲線は第3図に示したように247.6 nm および260 nm にそれぞれ極小、極大吸収をもち、 $A_{260} / A_{280}$  は1.21であった。

#### 7. 血清反応

得られた抗血清の力価は重層法で本ウイルス純化標品と512倍希釈まで反応した。免疫電顕法により調べた結果、本ウイルスは抗血清と良く反応した。

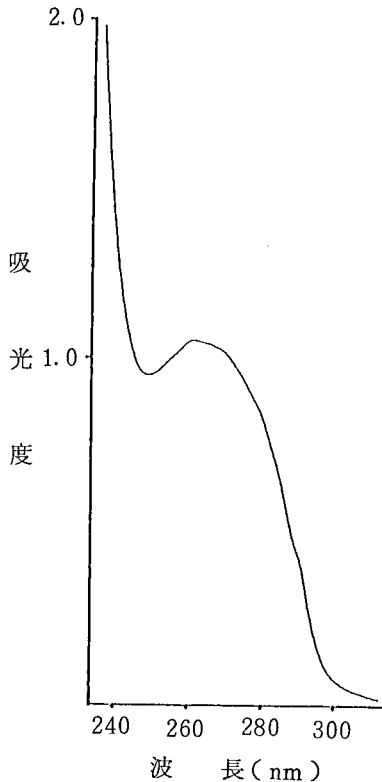


第1図 ウイルス粒子長の分布



第2図 純化したウイルス粒子の電子顕微鏡写真

## 考 察



第3図 純化ウイルスの紫外部  
吸収曲線

フジナデシコのもザイク症状株から分離したウイルスは、寄主範囲、粒子の形態、粗汁液中での安定性、アブラムシ伝搬性などから KASSANIS (1955), HOLLINGSら (1971), わが国では 栃原ら (1975, 1983) の報告による Potyvirus 群に属する Carnation vein mottle virus (CaVMV) の一系統と同定される。

本ウイルスの寄主範囲は *Dianthus* 属, *Chenopodium* 属など、わずかの植物に限られているが、これらの植物には汁液接種およびアブラムシで容易に感染するようであった。このことは粗汁液中における安定性からも推察される。感染植物の症状はナデシコ、セキチク品種ではいずれも明瞭なもザイク症状を示し、赤、桃色の品種では花卉にも色割れ症状を現した。カーネーションへの接種試験は行っていないが、HOLLINGSら (1977) および 栃原ら (1975) はカーネーション品種ではもザイク、萎縮、花卉の色割れなどの症状が発生することを報告している。また、栃原らは、CaVMV がわが国のカーネーションに広く分布していることを報じている。したがって、カーネーションをはじめナデシコ、セキチクなど *Dianthus* 属の花き類にとって、本ウイルスは最も重要なウイルスの一つと考えて差支えないようである。

原寄主のフジナデシコを採集した地域は、冬期の温暖な気候特性を利用し、古くから花き類の栽培の盛んな地域である。調査地域では群生する殆どの株がもザイク症状を呈していた。本ウイルスはもともとは、栽培カーネーションなどから、フジナデシコに伝播され、蔓延したものと推察される。フジナデシコは多年性草本であり、一度ウイルスに感染すると長年にわたり、ウイルスを保持すると考えられる。そのため、現在では、周囲に栽培される *Dianthus* 属の花き類へのウイルスの伝染源として機能しているものと推察され、これら花き類の栽培にあたってはフジナデシコなど周囲の伝染植物にも十分に注意する必要がある。

## 要 約

フジナデシコのもザイク症状株から分離したウイルスは各種植物への接種試験、ウイルス粒子の形態、粗汁液中での安定性、アブラムシ伝搬性からカーネーションベインモットルウイルス (Carnation vein mottle virus, CaVMV) の一系統と同定された。本ウイルスは汁液でセキチク、ナデシコに容易に感染し、もザイク症状を現した。ナデシコの赤、桃色品種では花卉に色割れ症状を呈した。フジナデシコは多年性草本であるため、周囲に栽培されるカーネーション、ナデシコ、セキチクなど *Dianthus* 属花き類への伝染源となっているものと推察された。

## 引 用 文 献

HOLLINGS, M. and Stone, O. M. (1971): Carnation vein mottle virus. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 78.

- HOLLINGS, M., Stone, O. M., Atkey, P. T. and BARTON, R. J. (1977): Investigations of carnation viruses IV. Carnation vein mottle virus. *Ann. appl. Biol.*, 85: 59~70.
- KASSANIS, B. (1955): Some properties of four viruses isolated from carnation plants. *Ann. appl. Biol.*, 43: 103~113.
- 栃原比呂志 (1983): カーネーションベインモットルウイルス Carnation vein mottle virus. 植物ウイルス事典, 朝倉書店, 東京. 632 pp.
- 栃原比呂志・出射 立・矢吹駿一・福本文良 (1975): わが国のカーネーションウイルス—CaMoV, CaLV および CaVMV について—. *日植病報*, 41: 390~399.

## 写 真 説 明

CaVMV 感染によるフジナデシコおよびナデシコ (花) の病徴

- 1 原寄主 (フジナデシコ)
- 2 フジナデシコ
- 3 河原なでしこ
- 4 大文字
- 5 スノーストーム

