

## ルドベキア (*Rudbeckia* sp.) に発生した モザイク病 (新称)

山本孝彜・石井正義※・笹谷孝英・岩崎真人  
(四国農業試験場 ※全国農村教育協会)

### Mosaic Disease occurred in *Rudbeckia* (*Rudbeckia* sp., Compositae)

by Takashi YAMAMOTO, Masayoshi ISHII\*, Takahide SASAYA and Mabito IWASAKI  
(Shikoku National Agricultural Experiment Station, Zentsuji, Kagawa 765; \*Zenkoku  
Noson Kyoiku Kyokai)

In 1992, one virus was isolated from *rudbeckia* (*Rudbeckia* sp.) showing mosaic symptoms in Mie Pref., Only seven plant species of two families among 49 plant species of 16 families were infected with the virus by sap inoculation. Three plant species in Compositae, such as *Rudbeckia hirta*, *Chrysanthemum coronarium* and *Zinnia elegans* were systemically infected with the virus. And four plant species, *Chenopodium quinoa*, *C. amaranticolor*, *Arctium lappa* and *Helianthus annuus* were local infection. The virus was infective when diluted up to  $5 \times 10^2$  but not at  $10^3$ , after heating for 10 min at 55 °C but not 60 °C and storing for 1 day but not 2 days at room temperature. The virus was transmitted by *Aphis gossypii* by non-persistent manner. Filamentous virus particles of about 751 ~ 800 nm in length were detected in crude sap of *Rudbeckia hirta*. The virus was serologically distinguished from turnip mosaic virus and lettuce mosaic virus as far as investigated by double antibody sandwich-ELISA and immunoelectron microscopy. The virus was concluded to be a new member of the potyvirus group and was designated as *rudbeckia mosaic potyvirus* (RudMV). This is the first report of the virus disease of *rudbeckia* in Japan and we propose that the name of the disease is *rudbeckia mosaic disease*.

### はじめに

ルドベキアは北米原産のキク科ルドベキア (*Rudbeckia*) 属の植物でわが国には明治中期に導入され、オオハンゴソウ (*R. laciniata*)、アラゲハンゴソウ (*R. hirta* var. *pulcherrima*) (牧野, 1989) などとして知られている。園芸的に重要な種は *Rudbeckia hirta* である。多年または1~2年生草で花壇、境栽、切花として用いられ (井上ら, 1983)、最近栽培が増加している花

きの一つである。

1991年、三重県安芸郡河芸町で栽培中のルドベキアにモザイク症状株が発生しているのを確認した。1992年、病株を採集し、数種植物への汁液接種、電子顕微鏡観察などを行った結果、ウイルス病と判断されたので、原寄主からウイルスを分離して、ルドベキアにおける病徴の再現、寄主範囲、ウイルスの性状、アブラムシ伝染、血清学的性質などの試験を行い病原ウイルスを同定したので報告する。なお、本報告の一部は1993年日植病学会

関西部会大会で発表した。

本試験に用いたカブモザイクウイルス—ジニア分離株およびレタスモザイクウイルス—エンドウ分離株は岡山大学資源生物科学研究所井上成信教授から分譲して頂いた。ここに厚く御礼申し上げます。

### 材料および方法

ウイルスの分離 原寄主からのウイルス分離は、汁液接種により局部感染した *Chenopodium quinoa* の接種葉から、単一局部病斑分離を2回繰り返して行った。分離したウイルスはルドベキアモザイクウイルス (*Rudbeckia mosaic virus*, RudMV) と呼称して、ルドベキア (*Rudbeckia hirta*, 品種; マーマレード) で維持、増殖して以後の試験に供試した。

各種植物への汁液接種 汁液接種は常法に従い、接種源に5~10倍量の0.05 Mリン酸緩衝液 (pH 7.2) を加えて磨砕し、カーボランダム法で行った。病徴の認められなかった接種植物の一部は *C. quinoa* への戻し接種、ウイルス粒子の電顕観察により感染の有無を確かめた。供試植物の栽培は12月~3月、20~25℃の温度制御温室で行い、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。

ウイルス粒子長の測定 ルドベキア病葉を用いて直接ネガタイプ染色法により電顕観察を行い、写真撮影して測定した。

粗汁液中での安定性 ルドベキア病葉に10倍量の蒸留水を加えて磨砕した粗汁液を各処理毎に2株の *C. quinoa* に接種して感染の有無を検定した。希釈限界試験では10, 10<sup>2</sup>, 5×10<sup>2</sup>, 10<sup>3</sup>, 5×10<sup>3</sup>, 10<sup>4</sup>倍希釈とした。不活化温度試験は温湯で40~70℃まで5℃間隔で設定し、10分間処理した。保存限界試験では室温に1~10日間保存し、1日毎に調べた。

アブラムシ伝搬試験 ルドベキア病葉を接種源としてルドベキア苗8株、シュンギク苗3株へのワタアブラムシによる伝搬を調べた。接種条件はワタアブラムシを2時間絶食させた後、ウイルス獲得吸汁時間2分間、接種吸汁時間16時間、1株当りの接種虫数5頭とした。

ウイルスの純化 ウイルス接種2週間後のシュンギク罹病葉 200 g

400 mlの0.5 Mホウ酸緩衝液 (pH 7.5, 0.1%チオグリコール酸を含む) を加えて氷冷下で磨砕

木綿布で搾汁、搾汁液に8.5%容の1-Butanolを加えて60分間氷冷下で攪拌  
10,000×G, 10分間遠心分離

上 清

12,000×G, 20分間遠心分離  
(2回繰り返す)

上 清

8%量 (v/w) のポリエチレングリコール 6,000 を添加して4℃, 60分間静置  
10,000×G, 15分間遠心分離

沈 澱

100 mlの0.05 Mホウ酸緩衝液 (pH 7.5) にけんたくして4℃, 一夜静置  
10,000×G, 10分間遠心分離

上 清

78,000×G, 120分間遠心分離

沈 澱

50 mlの0.05 Mホウ酸緩衝液 (pH 7.5) にけんたくして4℃, 一夜静置  
0.2%量 (v/w) の活性炭を加えて10分間攪拌  
10,000×G, 10分間遠心分離

上 清

78,000×G, 120分間遠心分離  
少量の蒸留水にけんたく

ウイルス画分

### 第1図 ウイルスの純化方法

シュンギクの感染葉を用いて第1図に示した方法に従った。

抗血清の作製および血清試験 純化ウイルス (合計約20mg/頭) を家兎に静脈注射を1回、次に *Freund's complete adjuvant* を用いた筋肉注射を2回行い、最終注射2週間後に全採血して得た。本ウイルスとの血清反応はカブモザイクウイルス—ジニア分離株 (TuMV—Zi—1), レタスモザイクウイルス—エンドウ分離株 (LMV—P) およびレタスから分離し、四国農試病害研究室で保存している LMV—レタス分離株 (LMV—L) を供試し、免疫電顕 (山本ら, 1982) および二重抗体 ELISA (CLARK and ADAMS, 1977) により調べ

た。

## 結 果

### 1. 原寄主の病徴

現地圃場では、前年度のり病株から春出芽した新葉には不明瞭ではあるがモザイク症状が認められた。病葉は黄緑色となり、葉幅、葉長ともに小さくなり、緑色をした健全株とは一見して見分けられた。モザイク症状は生長とともにやや明瞭となった。6月中旬～下旬の開花期の草丈は健全株に比べて短く、重症株では1/2程度であった。り病株では花は小型化し、花卉の欠落などの奇形花が認められた(写真1, 2)。

### 2. 接種植物の病徴

第1表に示したように、16科49種の植物に汁液接種したところ、2科7種の植物に感染が認められた。

全身感染はキク科のルドベキア (*Rudbeckia*

*hirta*, 品種: マーマレード), ジニア, シュンギクの3種の植物で認められた。ルドベキアでは原寄主の症状とほぼ同様の病徴が認められた。即ち、接種後上位葉に退緑斑点, モザイク症状が認められた。生長とともに症状は不明瞭となったが、古い葉では黄化症状を呈した。開花期頃には萎縮症状を示し、花は小形化し、花卉の欠落などを示すものが多かった(写真4, 5)。ジニアでは上葉に明瞭なモザイク症状を現した(写真3)。シュンギクでは一部の接種株で不明瞭なモザイク症状を現したが、殆ど無病徴感染であった。

*C. amaranticolor*, *C. quinoa*, ヒマワリ, ゴボウの4種の植物には局部感染した。*C. amaranticolor*および*C. quinoa*では接種8~10日後, ヒマワリ, ゴボウでは接種5~7日後接種葉に少数の退緑斑点を現した。

ナス科, ウリ科, マメ科, ゴマ科, シソ科など42種の植物には感染が認められなかった。

第1表 ルドベキアモザイクウイルス (RudMV) を接種した植物の反応

接 種 植 物 (品種)	病 徴 <sup>1)</sup>	
	接 種 葉	全 身 葉
ア オ イ 科		
オクラ (グリーンロケット)	—	— (—)
ア カ ザ 科		
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	CS	—
<i>C. quinoa</i>	CS	—
フダンソウ	—	—
ハウレンソウ (次郎丸)	—	— (—)
ア プ ラ ナ 科		
カブ (金町小かぶ)	—	— (—)
ハクサイ (健春)	—	—
キャベツ (若峰)	—	—
イ ネ 科		
トウモロコシ (カクテル90L)	—	—
ウ リ 科		
キュウリ (相模半白)	—	— (—)
メロン (ボーナス2号)	—	—
マクワウリ (金俵)	—	—
セイヨウカボチャ (打木早生赤栗)	—	—
ニホンカボチャ (小菊)	—	—
ペポカボチャ (ダイナ)	—	—
ユウガオ (大丸)	—	—
スイカ (瑞祥)	—	—

接 種 植 物 (品 種)	病 徴 <sup>1)</sup>	
	接 種 葉	全 身 葉
キ ク 科		
<i>Rudbeckia hirta</i> (マーマレード)	—	CS, M(+)
ジニア	—	M(+)
レタス (シスコ)	—	—(-)
ヒマワリ	CS	—(-)
シュンギク (大葉)	—	M, —(+)
ゴボウ (滝野川大長)	CS	—(-)
<i>Echinacea purpurea</i>	—	—(-)
マリーゴールド	—	—(-)
ゴ マ 科		
ゴマ (黒ごま)	—	—(-)
シ ソ 科		
シソ (青しそ)	—	—(-)
セ リ 科		
セルリー (トップセラー)	—	—(-)
パセリー (ニューカールサンマー)	—	—
ニンジン (アーリーチャンテネー)	—	—
タ デ 科		
ソバ (信州大そば)	—	—(-)
ツ ル ナ 科		
ツルナ	—	—
ナ ス 科		
<i>Nicotiana tabacum</i> Ky57	—	—(-)
<i>N. glutinosa</i>	—	—
<i>N. rustica</i>	—	—
<i>Datura stramonium</i>	—	—(-)
トマト (大型福寿)	—	—
ナス (久留米大長)	—	—
ペチュニア	—	—
ナデシコ科		
セキチク (スノーファイヤ)	—	—
ヒ ュ 科		
センニチコウ	—	—(-)
マ メ 科		
インゲンマメ (山城黒三度)	—	—
エンドウ (絹莢)	—	—
ソラマメ (さぬき長菜)	—	—
ササゲ (黒種三尺)	—	—
アズキ (丹波大納言)	—	—
ダイズ (アキシロメ)	—	—
ナンキンマメ	—	—
ユ リ 科		
タカサゴユリ	—	—
ネギ (九条太葱)	—	—

1) M:モザイク, CS:退緑斑点, —:無病徴, (+):感染(戻し接種)  
(-):非感染(戻し接種)

### 3. ウイルス粒子長

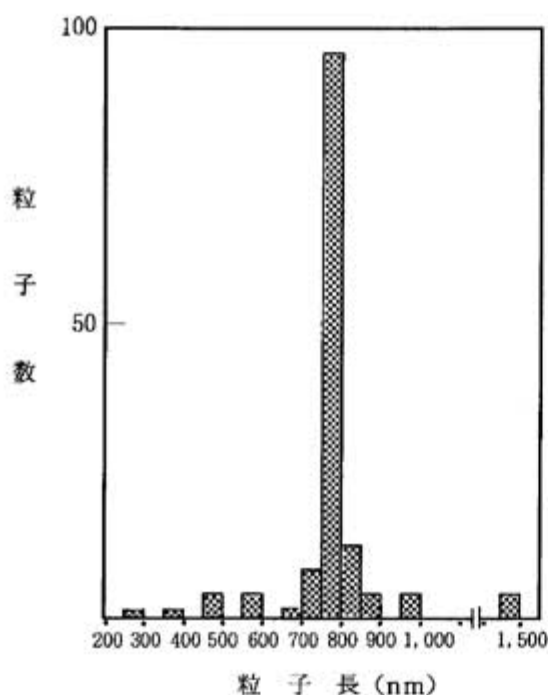
第2図に示したように120個のウイルス粒子について観察した結果、粒子の形は湾曲したひも状であり、粒子長は750～800nmにピークが認められた。粒子幅は12～13nmであった。

### 4. 粗汁液中での安定性

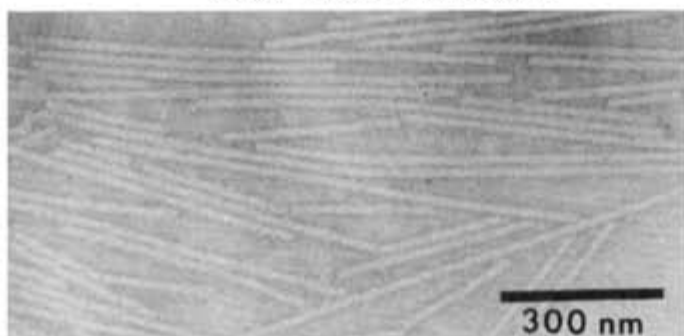
希釈限界は500～1,000倍、不活化温度は55～60℃、保存限界は1～2日であった。

### 5. アブラムシ伝搬試験

ルドベキア病葉からルドベキア苗への伝搬は8株中1株、シュンギク苗へは3株中1株で伝搬が認められた。



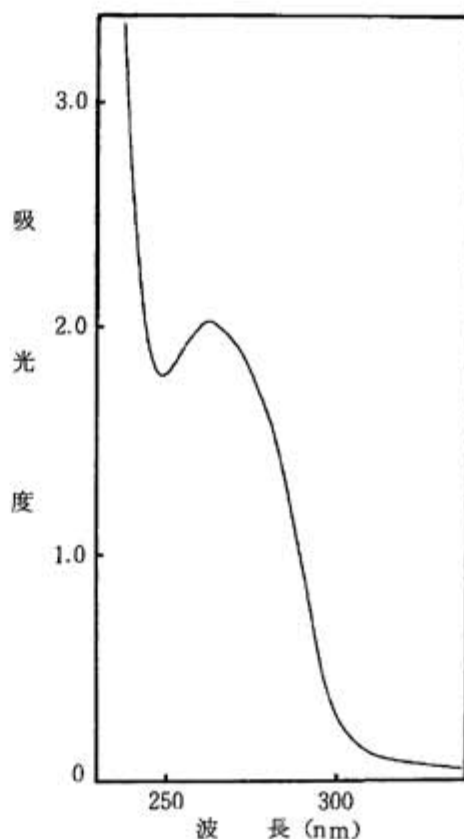
第2図 ウイルス粒子長の分布



第3図 純化ウイルス粒子の電顕像

### 6. 純化ウイルス

シュンギク病葉100g当りの純化ウイルスの収量は約5mgであった。第3図に示した純化ウイルス標品の紫外外部吸収曲線は第4図に示したように260nmおよび246nm付近にそれぞれ極大および極小吸収があり、 $A^{260}/A^{246}$ が1.12であった。



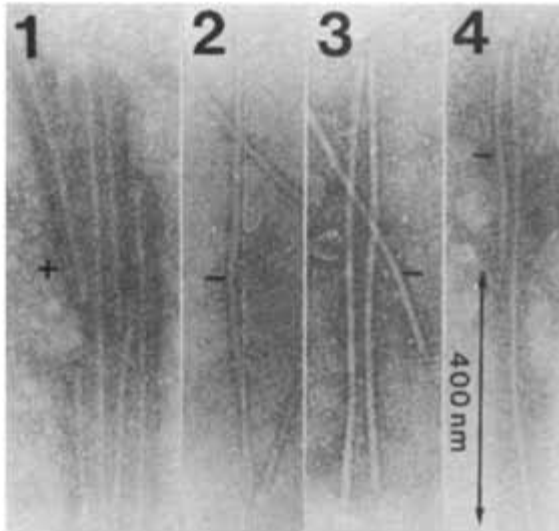
第4図 純化ウイルスの紫外外部吸収曲線

### 7. 血清学的性質

作製した抗血清は重層法で256倍希釈まで反応した。本抗血清は免疫電顕法およびELISAで本ウイルスとは良く反応したがLMV-P、LMV-LおよびTuMV-Zi-1とは全く反応しなかった(第5、6図)。ELISA(固相抗体-酵素結合抗体500倍希釈)ではRudMVに感染した*Rudbeckia hirta*病葉汁液640倍希釈までウイルスが検出でき

た.

## 考 察

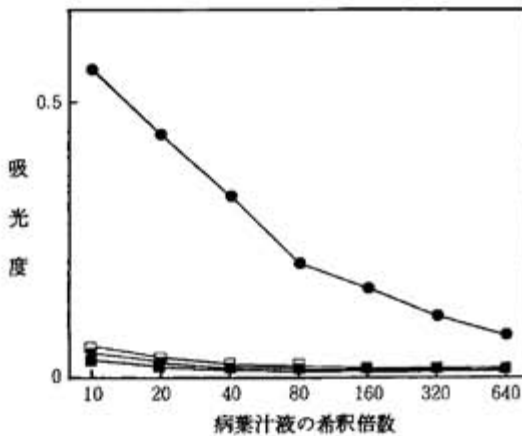


第5図 免疫電顕による感染植物粗汁液中のウイルス粒子の反応像

抗血清: RudMV- 抗血清,

+ : 反応 - : 反応なし

1. RudMV
2. TuMV-Zi-1
3. LMV-P
4. LMV-L



第6図 ELISAによる感染植物粗汁液からウイルスの検出

- : RudMV (感染植物: *Rudbeckia hirta*)
- : TuMV-Zi-1 (カブ)
- ▼ : LMV-P (レタス)
- : LMV-L (レタス)

本報告のウイルスは、寄主範囲および病徴、粒子の形態、アブラムシ伝染性、粗汁液中での安定性、血清学的性質などの点から Potyvirus 群に属する新しいウイルスと考えられる。

接種試験の結果からは、寄主範囲は極めて狭く、キク科およびアカザ科だけであり、既報の Potyvirus 群のウイルス (HOLLINGS & BRUNT, 1981; BRUNT *et al.*, 1990; 大木, 1992) とはかなり異なるようである。寄生性の点で最も近縁と考えられるものは *Bidens mottle virus* (BMV) (CHRISTIE *et al.*, 1968; PURCIFULL & ZITTER, 1976) であるが、BMVはキク科、アブラナ科、ナス科など6科19種の植物に感染が認められ、寄主範囲は本ウイルスに比べてかなり広い。BMVの全身感染植物はコセンダグサ (*Bidens pilosa*)、*Chenopodium quinoa*、レタス (*Lactuca sativa*)、エンダイブ (*Cichorium endive*)、*Nicotiana glutinosa* × *N. clevelandii*、ヒマワリ、ジニア (PURCIFULL & ZITTER, 1976)、ルドベキア (*Rudbeckia hirta hybrida*)、ベチュニア (LOGAN & ZETTLER, 1984) などであり、レタス、エンダイブ、ヒマワリ、ジニアなどでは明瞭な斑紋症状を示すことが報告されている。本報告のウイルスはレタス、ベチュニア、アブラナ科植物などには全く感染が認められず、またヒマワリ、*C. quinoa*には局部感染だけであった。

粗汁液中での安定性、希釈限界、不活化温度は本ウイルスおよび BMV とほぼ同じであるが、保存限界は本ウイルスの1~2日に対して BMV は16日と極めて安定である。同様に粒子長については750~800 nmに対して BMV はやや短く720 nmである (PURCIFULL & ZITTER, 1976)。

以上のような点から本報告のウイルスは、血清学的類縁関係などについての検討は加えていないが、BMVとは異なるものと推察される。一方、わが国では46種の Potyvirus が報告されているが (大木, 1992)、寄生性の点からは本ウイルスに近縁なものは見当たらない。キク科の野菜、花き類、野草に発生が多い LMV や TuMV とは寄生性がかなり異なり、血清学的類縁関係もないことから別種と考えられる。ジニア、シュンギク、ハルジオ

ンなどキク科植物に発生するウイルスにも該当するものがない(吉井, 1951; 夏秋, 1984; 井上ら, 1989; 飯島ら, 1993; 土崎ら, 1993; 與良ら, 1983)。したがって, 本ウイルスは Potyvirus 群に属する新しいウイルスと判断されたため, ルドベキアモザイクウイルス (Rudbeckia mosaic potyvirus, RudMV) と命名したい。

ルドベキアに発生するウイルスとしては, LOGAN & ZETTLER (1984) がフロリダ州において *R. hirta hybrida* に上述の BMV が広く発生していることを報告している。症状は矮化, 斑紋, 葉の奇形, 花の色割れ, 花の発育不良および奇形などである。本ウイルスも矮化, 花の発育不良, 奇形などを引起す点では BMV に類似するが, 斑紋, 葉の奇形, 花の色割れなどは生じない。その他, *Rudbeckia bicolor*, *R. hirta*, *R. spp.* に Clover big vein (Clover wound tumor), Tobacco mosaic, Cucumber mosaic の 3 種のウイルスが感染することが報告されている (Smith, 1972; Agr. Handbook, 1966), わが国においてはルドベキアのウイルス病の発生報告はなく, 本報告が最初である。したがって, 本病をルドベキアモザイク病とすることを提唱する。

ルドベキアは花壇用花き (Bedding plant), 鉢物, 切花などとして栽培が広まっているが, 本病の発生は萎縮, 葉のモザイク症状, 花の奇形や花卉の異常などを伴うので観賞価値を著しく損なう。本ウイルスの発生生態など詳細は不明であるが, 発生圃場ではアブラムシ類で伝搬・蔓延することが考えられる。栽培に当っては, 育苗期間中のウイルス感染の防止, 圃場でのり病株の抜取りやアブラムシ防除などきめ細かい防除対策が必要である。

## 要 約

キク科の多年生または 1~2 年生花き, ルドベキアのモザイク症状株から分離したウイルスは寄生性, ウイルス粒子の形態, アブラムシ伝搬性, 粗汁液中での安定性, 血清学的性質などから Potyvirus 群に属する新しいウイルスと判断されたので, 本ウイルスをルドベキアモザイクウイルス (*Rudbeckia mosaic potyvirus*, RudMV) と命名した。また, わが国におけるルドベキアのウ

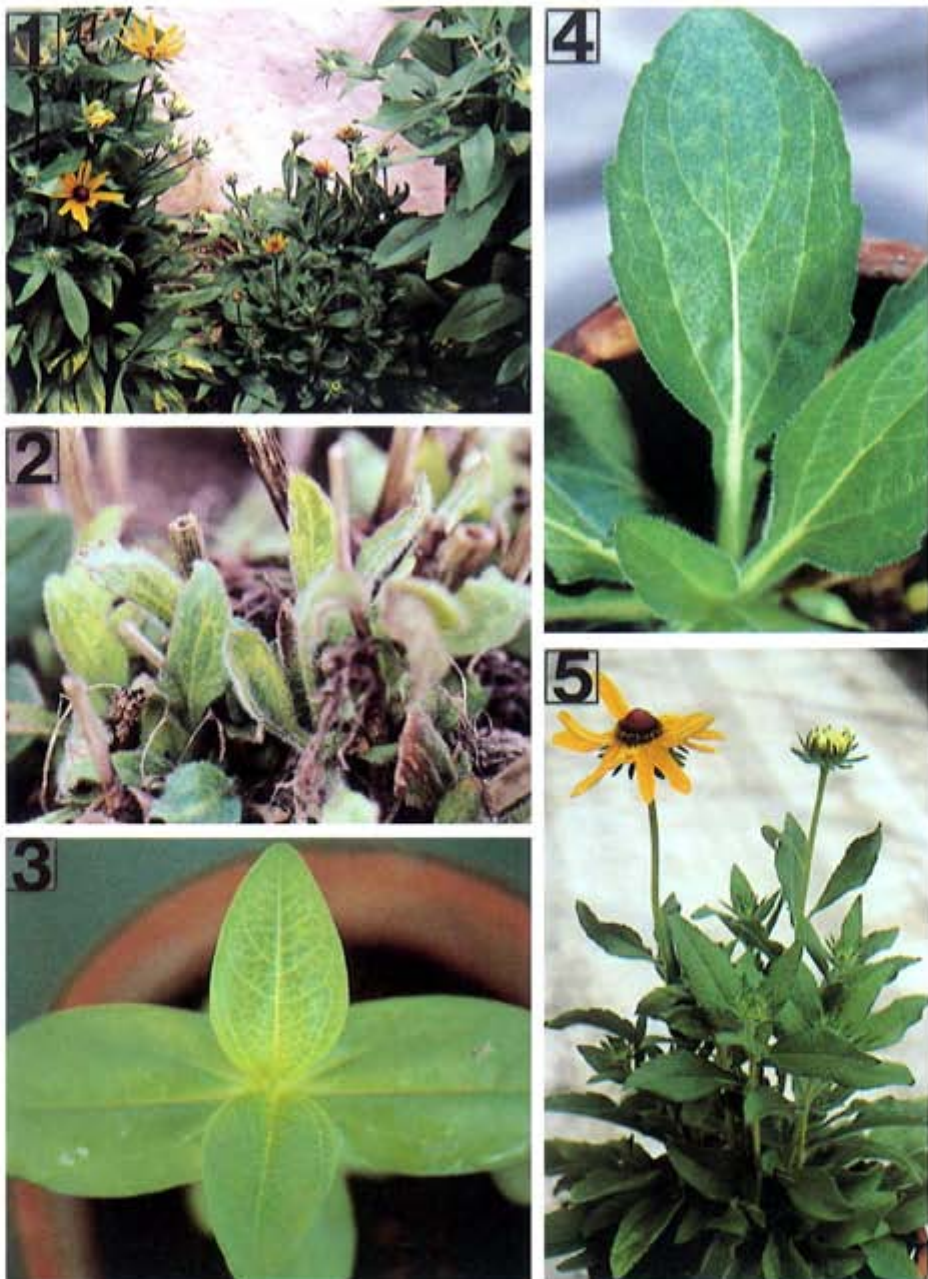
イルス病の発生は未報告であるため, 病名をルドベキアモザイク病とすることを提唱した。

## 引 用 文 献

- Agriculture handbook No.307 (1966) : Index of plant virus disease. USDA, Washington DC, 445pp.
- BRUNT, A., CRABTREE, K, and GIBBS, A. (1990) : Viruses of tropical plants. C. A. B International, U. K., 707pp.
- CHRISTIE, S. R., EDWARDSON, J. R. and ZETTLER, F. W. (1968) : Characterization and electron microscopy of a virus isolated from *Bidens* and *Lepidium*. Plant Dis. Rep., 52 : 763 ~ 768 .
- CLARK, M. F. and ADAMS, A. N. (1977) : Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant virus. J. gen. Virol., 34 : 476 ~ 483 .
- HOLLINGS, M. and BRUNT, A. A. (1981) : Potyvirus group. CMI/AAB Description of Plant Virus No.245.
- 飯島ゆりえ・勝峰万里・夏秋啓子・都丸敬一 (1993) : ハルジオンに発生する 2 種のウイルス。日植病報, 59 : 334 .
- 井上成信・前田宇憲・光畑興二 (1989) : ヒヤクニチソウのモザイクとカラーブレーキング病の病原ウイルス。農学研究, 61 : 227 ~ 243 .
- 井上頼数ほか編 (1983) : 最新園芸大辞典 第 4 巻。誠文堂新光社, 東京, 292pp.
- LOGAN, A. E. and ZETTLER, F. W. (1984) : Susceptibility of *Rudbeckia*, *Zinnia*, *Ageratum* and other bedding plants to *Bidens* mottle virus. Plant Disease, 68 : 260 ~ 262 .
- 牧野富太郎 (1989) : 牧野新日本植物図鑑。北隆館, 東京, 1, 453pp.
- 夏秋知英 (1984) : 種子伝染性潜在ウイルスに関する研究。宇大農報特輯, 43 : 24 ~ 26 .
- 大木 理 (1992) : 日本に発生する植物ウイルス一覽。日本植物防疫協会, 東京, 93pp.
- PURCIFULL, D. E. and ZITTER, T. A. (1976)

- : *Bidens mottle virus*, CMI/AAB Description of Plant Virus No. 161.
- SMITH, K. M. (1972) : A textbook of plant virus diseases. Longman, Edinburgh, 684pp.
- 土崎常男ほか編 (1993) : 作物ウイルス病事典. 全国農村教育協会, 東京, 738pp.
- 山本孝彜 (1991) : 花のウイルス. 四国植防, 26 : 1 ~ 5.
- 山本孝彜・石井正義・勝部利弘 (1982) : 血清学的性質によるカボチャモザイクウイルス分離株の類別. 日植病報, 48 : 613 ~ 619.
- 與良 清ほか編 (1983) : 植物ウイルス事典. 朝倉書店, 東京, 632pp.
- 吉井 甫 (1951) : 西日本に於ける十字科蔬菜のモザイク病. 植物病害研究, 4 : 17 ~ 22.





### 写 真

- 1 : 原寄主ルドベキアの萎縮症状 (中央株)
- 2 : 同上, 新葉のモザイク病徴
- 3 : ジニアのモザイク病徴
- 4 : ルドベキア (*Rudbeckia hirta*, 品種 ; マーマレード)  
葉のモザイク病徴
- 5 : 同上, 萎縮症状および花の奇形