

促成栽培ピーマンの黄化えそ症状から検出される ウイルスについて

榑間 義幸・三浦 猛夫・長田龍太郎 (宮崎県総合農業試験場)

The viruses detected from greenhouse sweet peppers with yellowing and necrosis. Yoshiyuki KUSHIMA, Takeo MIURA and Ryutarō NAGATA
(Miyazaki Agricultural Experiment Station, Sadowara, Miyazaki 880-02)

1990年3月、宮崎県西都市ピーマン栽培地帯の2ヵ所(三財地区、山角地区)の現地圃場において、ピーマンの生長点付近の枯死するウイルス症状が発生した。その症状は、生長点付近の展開間もない葉が暗黄色になり葉面に凹凸・モザイクあるいは奇形やえそを生じ、落葉してやがて生長点付近が枯死するものであった。これらの現地間での発生状況はやや異なっており、三財地区でのそれはハウスの谷部分に連続して広く発生していたのに対し、山角地区ではハウス内の1ヶ所に2~3株発生しているのみで周囲への蔓延は見られなかった。これらの症状を呈したピーマンについて、病原ウイルスの検討を行ったところ、ジャガイモXウイルス(PVX)、ジャガイモYウイルス(PVY)及びタバコモザイクウイルス(TMV)の3種のウイルスが検出されたのでその概要を報告する。

試 験 方 法

1) 宿主範囲及び粗汁液中の耐性

現地の2ヵ所より持ち帰った罹病葉(以下三財地区採集株をS1株、山角地区採集株をY1株と記す)に50倍量の1/15Mりん酸緩衝液(pH7.0)を加えて磨砕後、カーボランダム法によりピーマンのほか各種植物に汁液接種を行った。さらに粗汁液中におけるウイルスの耐熱性及び耐希釈性について常法により検討した。

2) 虫媒伝染試験

モモアカアブラムシは場内のピーマン圃場から採集し健全なピーマン上で増殖させたもの、ワタアブラムシはキュウリ幼苗で増殖させたものを用いた。また、検定植物としてピーマン(品種:土佐ひかりD)、タバコ(品種:キサンチ)を用いた。アブラムシ類はあらかじめ2時間絶食させ、汁液接種により発病させた幼植物(ピーマンまたはタバコ)を15分間獲得吸汁させた後、検定植物に1本当たり10頭移し、24時間接種吸汁させたのち殺虫

剤を散布した。接種植物は、約1か月間、網室内で隔離して栽培し、随時病徴の観察を行った。分離株当たり植物3個体を供試し、試験は2回反復した。

3) 電子顕微鏡による観察

(1) S1株、Y1株の罹病ピーマンを供試して、ダイレクトネガティブ(DN)染色法によるウイルス粒子の観察を行った。パラフィルム上に2%リンタングステン酸(pH7.0)を数滴のせ、その中で罹病植物の葉片を細かく刻んだ後、グリッドに試料をとった。さらに余分な水分を濾紙で吸い取り、風乾したのち電子顕微鏡で観察した。

(2) 免疫電顕による観察

抗体として、日本植物防疫協会ウイルス研究所で作製したPVX抗血清及びPVY-T- γ -グロブリンを用い、検鏡試料には、S1株、Y1株に罹病したピーマン葉を用いた。免疫電顕の観察手順は、500倍に希釈した抗血清または γ -グロブリンをグリッドに前処理(30min)した後、蒸留水20滴で洗浄し、各試料の植物汁液(0.02M PBSで磨砕)と反応させた(20min)。水洗後、再び前記の抗血清または γ -グロブリンで処理(20min)し、水洗した後さらにプロテインA金コロイド処理(10min)を行い、2%リンタングステン酸で染色して検鏡した。

結 果

1) 汁液接種試験の結果を第1表に示す。S1株、Y1株の症状に相違が見られたので主な植物での病徴を次に挙げる。

ピーマン: 播種後約3週間の幼苗では、接種後約7~14日、S1株ではえ死を伴う激しいモザイク症状を呈し、ときに不鮮明な黄褐色の輪紋症状を呈した。一方、Y1株では葉脈の黄化あるいはえ死をともなったモザイク症状を示し、葉面に凹凸を生じて奇形葉となった(第1図)。両株とも病徴が進展すると新葉は黄化・落葉し、

第1表 供試ウイルスの各種植物に対する病原性

供試植物	S1株		Y1株	
	接種葉	上葉	接種葉	上葉
ピーマン(土佐ひかりD他)	(L)	M, N, Y	—	M, N, Y
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	L	—	L	—
<i>Datura stramonium</i>	L	M	L	—
<i>Nicotiana glutinosa</i>	L	M	L	M, VC
タバコ(キサンチ)	L	M	L	M
(サムソン)	L	M	L	M
(ホワイトパーレー)	L	M	L	M, Y
インゲン(つるあり他)	—	—	—	—
ササゲ(黒種三尺)	—	—	—	—
キュウリ(シカゴピッキング)	—	—	—	—
スイカ(天竜)	—	—	—	—
センニチコウ	L	—	—	—
トマト(大型福寿 他)	—	M	—	M
ペチュニア	L	M	—	M
メロン(コサック 他)	—	—	—	—

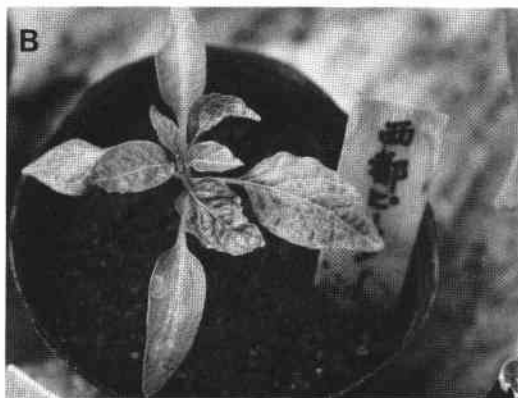
注) L: 局部病斑 M: モザイク N: え死 VC: 葉脈透過
Y: 黄化

生長点付近が枯死して現地での病徴を再現した。また、S1株では茎部の激しいえそがみられたが、Y1株ではわずかに認められる程度であった。

センニチコウ: S1株は接種葉に明瞭なえそ斑点を生じたが、Y1株では病徴は見られなかった(第2図)。



第2図 センニチコウの局部病斑(S1株)



第1図 ピーマンにおける病徴
A: S1株 B: Y1株

第2表 ピーマン粗汁液中のウイルスの耐熱性試験

供試株 及び 検定植物	S1株		Y1株	
	ピーマン	センニチコウ	ピーマン	センニチコウ
50℃	3/3	2/2	2/3	0/2
60℃	0/3	0/2	0/3	0/2
70℃	0/3	0/2	0/3	0/2
80℃	0/3	0/2	0/3	0/2
無処理	3/3	2/2	2/3	0/2

注) 処理時間10分

第3表 ピーマン粗汁液中のウイルスの耐希釈性試験

供試株 及び 検定植物	S1株		Y1株	
	ピーマン	センニチコウ	ピーマン	センニチコウ
希釈倍数				
10 ⁻¹	3/3	2/2	3/3	0/2
10 ⁻²	3/3	2/2	3/3	0/2
10 ⁻³	3/3	2/2	3/3	0/2
10 ⁻⁴	2/3	2/2	0/3	0/2
10 ⁻⁵	0/3	0/2	0/3	0/2
10 ⁻⁶	0/3	0/2	0/3	0/2

第4表 虫媒伝染試験

検定植物及び供試虫	S1株	Y1株
	発病株数/供試株数	発病株数/供試株数
ピーマン(土佐ひかりD) モモアカアブラムシ	0/5	0/5
ワタアブラムシ	0/5	0/5
タバコ(キサンチ) モモアカアブラムシ	0/3	3/3

注) 獲得吸汁には検定植物と同種の保毒植物を供試した。
供試虫数は株当たり10頭

Chenopodium amaranticolor : 両株とも接種葉に局部病斑を生じたが, S1株ではやや大型の不鮮明な黄色斑点, Y1株では黄褐色の小斑点であった。全身感染は見られなかった。

Datura stramonium : 両株とも接種葉に局部病斑が認められたが, S1株では上葉にモザイク症状が見られた。

Nicotiana glutinosa : 両株とも接種葉に局部病斑を, 上葉にモザイクを生じて全身感染したが, Y1株では葉脈透過が認められた。

タバコ(キサンチ) : 両株とも接種葉に局部病斑を, 上葉にモザイクを生じて全身感染したが, S1株ではときに黄色の輪紋症状が認められた。

インゲン, ササゲ, キュウリ, メロン, スイカでは, いずれの株も病原性は見られなかった。

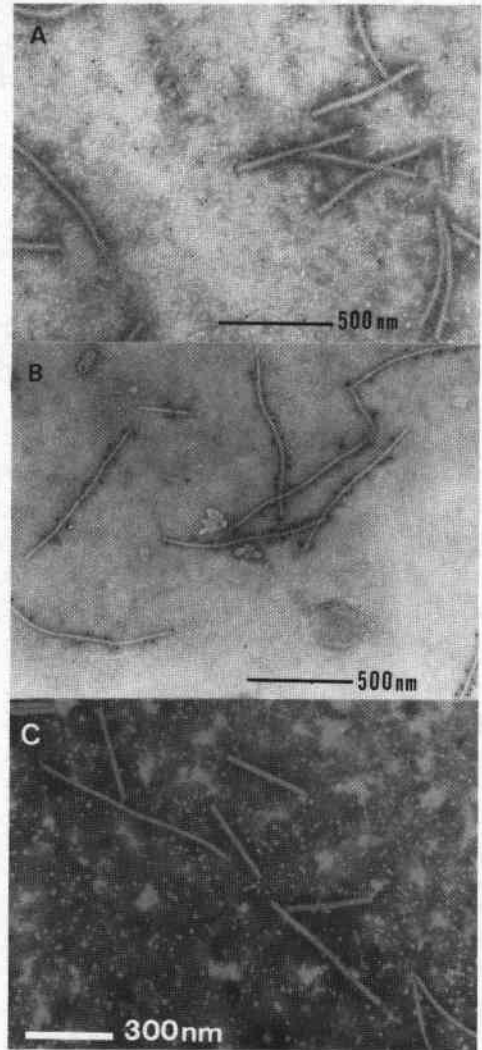
2) 粗汁液を用いて耐熱性, 耐希釈性を検討した結果, 両株ともウイルス活性は60°C, 10min で不活性化し, 耐希釈限界は $10^{-3} \sim 10^{-4}$ であった(第2, 3表)。

3) アブラムシ類による伝搬試験では, 両株ともピーマンからピーマンへの伝搬は認められなかった。しかし, Y1株ではタバコ(キサンチ)からタバコへの伝搬が認められ, さらにピーマンへ汁液接種したところ病原性が確認された(第4表)。

4) DN染色法による電顕観察では, S1株から約510~520nmのひも状粒子が検出された。また, Y1株からはTMVと約700~750nmのひも状粒子が検出された。これらを, PVX 抗血清あるいはPVY-T- γ -グロブリンを用いたプロテインA金コロイドによる免疫電顕法によって観察したところ, S1株はPVX, Y1株のひも状粒子はPVYであることが確認された(第3図)。

考 察

山本(1984)は, わが国におけるピーマンの病原ウイルスとして, キュウリモザイクウイルス(CMV), TMV, ソラマメウィルトウイルス(BBWV), キク微斑モザイクウイルス(CMMV), PVY, トマト黄化えそウイルス



第3図 電子顕微鏡観察(×30,000)

A, BはプロテインA金コロイド法による免疫電顕法

A: S1株(PVX) B: Y1株(PVY)

C: ネカティブ染色で検出されたTMVとPVY(Y1株)

(TSWV)を挙げており, また, 与那覇ら(1988)が葉脈黄化病(Luteovirus群)を報告している。これらのうち, BBWV, TMV及びTSWVが黄化えそ症状を発症させるが, 今回発生した両株ともキュウリ, ササゲに感染を示さないこと, ウイルス粒子の形態がひも状あるいは棒状であることから, BBWV, TSWVは関与していないと考えられた。

三財地区から分離されたS1株は, センニチコウの接種葉に局部病斑を形成し, *Datura stramonium*の上葉にモザイクを示すこと, キュウリ, ササゲに感染しないこと,

アブラムシ類で伝搬されないこと、PVX 抗血清と反応し、粒子の形態が約 510-520nm のひも状粒子であることから PVX と判断された。PVX はアブラムシ、種子、土壌のいずれでも伝染しないが、容易に接触伝染を行う。今回、現地圃場で発病株が蔓延していたのは、管理作業による接触伝染によるものと考えられた。なお、PVX は、わが国ではジャガイモ、トマトにモザイクを引き起こす病原ウイルスとして知られているが、ピーマンでの発生ははじめてである。

一方、山角地区の Y1 株からは TMV と約 700-750nm のひも状粒子が検出された。さらにこのひも状粒子は、アブラムシによって伝搬され、PVY-T- γ -グロブリンと反応したことから、PVY と考えられた。TMV がアブラムシによって伝搬されず、容易に接触伝染するのに対して、PVY はアブラムシによって非永続的に伝染するが、接触伝染は比較的しにくいとされている。Y1 株では、アブラムシ伝搬により発病したタバコ（キサンチ）葉の汁液接種で黄化えそ症状を生じたことや、現地圃場での発生状況が局所的で管理作業による周囲への蔓延が認められなかったことから、今回発生した黄化えそ症状は TMV よりもおもに PVY によるものと考えられた。しかしながら、尾崎ら (1975) が、PVY

がピーマンの葉に葉脈濃緑及び黄斑モザイク、茎及び果実に黄色条斑を示し、茎部のえそを伴わないとしているのに対して、Y1 株ではときに頂部のえそをともなう黄斑モザイク症状を呈し、葉脈濃緑は見られないなど、症状がやや異なることから、TMV の影響についてさらに検討が必要と考えられる。

今回現地で発生に至った経緯については不明であるが、いずれのウイルスもナス科植物に広く寄生性を示すことから、圃場周辺で栽培されているジャガイモやタバコなどが関与している可能性が考えられた。また、PVX、PVY 及び TMV とも複数の系統が知られており、今後さらにこれらのウイルスの系統について明らかにするとともに、本県で発生の多い TMV-トウガラシ系との関係なども含めた発生生態について検討をする必要がある。

引用文献

- 1) 尾崎武司・林 俊明・井上忠男 (1975) 関西病害虫研究会報 17: 20-26.
- 2) 山本 馨 (1984) 野菜のウイルス病 植物ウイルス研究所学友会編 (養賢堂) p43-64.
- 3) 与那覇哲義・尾崎武司・河野伸二・田盛正義 (1988) 日植病報 54: 85 (講要).

(1991年6月10日 受領)