

## 九州農試圃場のメロンから分離されたカボチャモザイクウイルスとキュウリモザイクウイルス

森山 美穂<sup>1)</sup>・大貫 正俊<sup>2)</sup>・清田 洋次<sup>1)</sup>・花田 薫<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>熊本県農業研究センター・<sup>2)</sup>九州農業試験場)

**Watermelon mosaic virus and cucumber mosaic virus isolated from *Cucumis melo* in Kyushu National Agricultural Experiment Station.** Miho MORIYAMA<sup>1)</sup>, Masatoshi OHNUKI<sup>2)</sup>, Hirotsugu KIYOTA<sup>1)</sup> and Kaoru HANADA<sup>2)</sup> (<sup>1)</sup>Kumamoto Agricultural Research Center, Koshi, Kumamoto 861-11. <sup>2)</sup>Kyushu National Agricultural Experiment Station, Nishigoshi, Kumamoto 861-11)

1994年6月から8月にかけて、九州農業試験場のメロン圃場で、ウイルス病と思われる激しいモザイク症状や黄化の症状を呈する株が見られた。これらの株のうち、病徴の激しい株からは、ひも状ウイルスと球形状のウイルスが検出された。そこで、これらのウイルスの諸性質について調査を行ったのでその結果の概要を報告する。

なお、供試したパパイヤ輪点ウイルス (PRSV) 及びカボチャモザイクウイルス (WMV-2) の抗血清は秋田農業短期大学生物工学研究所、鈴木信弘氏及び中国農業試験場、山本孝稀氏より分譲して頂いた。厚く御礼申し上げます。

### 材料及び方法

#### 1. 供試植物

病徴が顕著に認められるメロンから7株を採取して-70℃で凍結保存したものをを用いた。

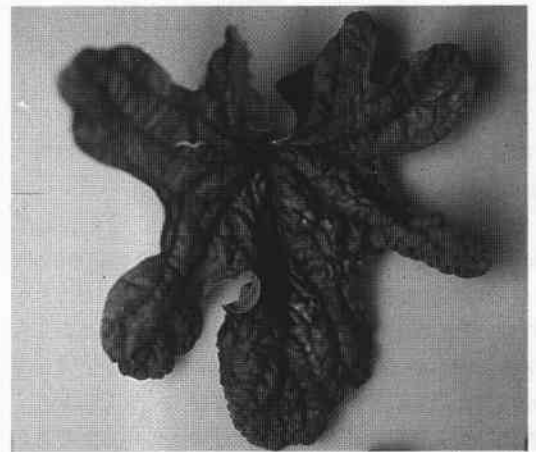
#### 2. 供試株の分離・同定

供試した株のウイルスを同定するために、CLARK and ADAMS (1977) の方法に準じて間接 ELISA 法を行った。用いた抗血清は、WMV-2, PRSV, キュウリモザイクウイルス黄斑系 (CMV-Y) キュウリ緑斑モザイクウイルスススイカ系 (CGMMV-W), キュウリ緑斑モザイクウイルスーキュウリ系 (CGMMV-C), ズッキーニ黄斑モザイクウイルス (ZYMV) の6種類であった。

また、凍結保存した原株を用い、TOWIN *et al.* (1979) の方法に準じてウエスタンブロット法を行った。

さらに、重複感染と考えられる株については、原株の磨砕液をカーボランダム法により、*Nicotiana benthamiana* とプリンスメロンに接種して病徴を観察するとともに、Dip 法にて電子顕微鏡によるウイルス粒子の観察及び免疫電顕法で反応の確認を行った。

血清型の検定には、花田 (1983) の方法に従って調整



第1図 上：マルコポーロでの病徴  
下：プリンスメロンでの病徴

した純化ウイルスを用いて、寒天ゲル内二重拡散法により、沈降帯の確認及びスパーの有無を検討した。

第1表 九州農業試験場圃場から採取したメロン7株の間接 ELISA 法での検定結果

試料番号	抗 血 清					
	WMV-2	PRSV	CMV	CGMMV-W	CGMMV-C	ZYMV
No. 1	0.226	0.039	0.159	0.020	0.044	0.033
No. 2	0.397	0.070	0.350	0.021	0.050	0.065
No. 3	0.501	0.070	0.046	0.015	0.012	0.081
No. 4	0.181	0.062	0.046	0.019	0.025	0.075
No. 5	0.428	0.075	0.236	0.018	0.027	0.052
No. 6	0.451	0.041	0.284	0.011	0.007	0.044
No. 7	0.156	0.020	0.248	0.014	0.016	0.070
健全葉 <sup>a)</sup>	0.025	0.025	0.015	0.045	0.024	0.025

注) 表中の数値は405nmの吸光度を示す

a) 対照として用いた健全葉はプリンスメロンの摩砕液

## 結 果

### 1. 供試7株に感染していたウイルスの同定

供試した7株は、プリンスメロンまたはマルコポーロで、いずれの株でも激しいモザイク症状や葉面が凹凸、あるいは死斑が認められた(第1図)。

これら7株の罹病葉摩砕液を用いた間接 ELISA 法の結果は、健全葉(プリンスメロン)での吸光値が0.027(6種類の抗血清との反応の吸光値の平均値)であったので、これを基準として判定した。供試した7株のうち1株はWMV-2抗血清と弱い反応であったが、残りの6株ではWMV-2抗血清と反応が認められたことから、供試した7株全てがWMV-2に感染していると考えられた。

また、CMV抗血清と反応しなかった株は2株のみで、3株が強く反応した。他のPRSV, CGMMV-W, CGMMV-C, ZYMV抗血清と反応した株はなかった(第1表)。

供試した7株は、間接 ELISA 法の結果から、WMV-2とCMVのどちらかに罹病していることが示唆され、この確認を両ウイルスの抗血清を用いてウエスタンブロット法で行った。その結果、WMV-2抗血清に反応した株は、No. 3とNo. 7の2株で、CMV抗血清に反応した株はNo. 1, No. 2, No. 5, No. 6, No. 7の5株であった。

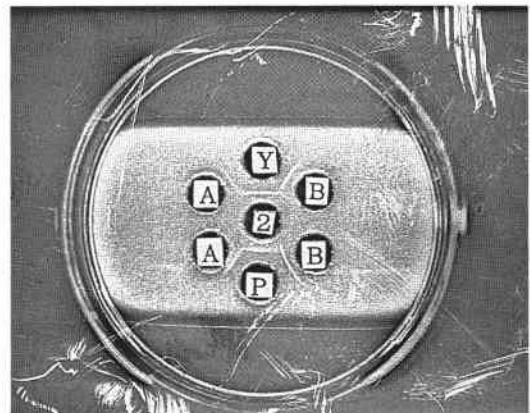
### 2. 供試株 No. 7 の確認

重複感染していると考えられる株のうちNo. 7は、間接 ELISA 法ではCMV抗血清に比べWMV-2抗血清との反応は弱かったが、ウエスタンブロット法ではWMV-2抗血清のみと反応が認められた株であった。そこで、この凍結葉摩砕液を *N. benthamiana* とプリンスメロンに接種したところ、プリンスメロンのみにモットリ

第2表 供試株 No. 7 の宿主範囲

検定植物(品種)	病 徴
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	CS/-
<i>C. quinoa</i>	CS/-
<i>Gomphrena globosa</i> (Strawberry Field)	CS/-
<i>Petunia hybrida</i> (Bakara)	—
<i>Vicia faba</i> (Wase)	—
<i>Phaseolus vulgaris</i> (Usui)	—
<i>Vigna unguiculata</i> (Kurodane sanjyaku)	—
<i>Nicotiana glutinosa</i>	—
<i>N. benthamiana</i>	—
<i>Citrullus lanatus</i> (Fujihikari TR)	Mo, CS
<i>Cucurbita maxima</i> (Kurijiman Nankin)	Mo, CS, VCh
<i>Cucumis sativus</i> (Yosinari)	Mo, CS, VCh
<i>Luffa acutangula</i>	Mo

注) CS: えそ斑点, Mo: モットリング, VCh: 葉脈透化, —: 無病徴



第2図 寒天ゲル内二重拡散法での血清型の確認  
Y: 黄斑系統, P: フキ系統

ングの病徴を呈した。この罹病葉を Dip 法を用いて電子顕微鏡で観察したところ、長さ約600~750nmのひも

第3表 供試した7株の病徴と間接 ELISA 法の結果

試料番号	原株での病徴 <sup>a)</sup>	接種試験での病徴		間接 ELISA 法での結果 <sup>b)</sup>	
		<i>N. benthamiana</i>	<i>C. melo</i>	WMV-2	CMV
No. 1	Mo	Mt	Mt	+	+
No. 2	R	Mt	Mt	+	+
No. 3	Mo	—	Vm	+	—
No. 4	Mo	—	Vm	±	—
No. 5	R, Ns	Mt	Mt	+	+
No. 6	R	Mt	Mt	+	+
No. 7	Y	—	Vm	±	+

注 a) 病徴はそれぞれ Mo:モザイク, R:縮葉, Ns:え死斑, Y:黄化, Mt:モットリング, Vm:葉脈透化を表す。

b) 間接 ELISA 法の結果は, 第1表より, 0.2以上を+, 0.1以上0.2未満を±, 0.1以上を-とた。

状のウイルスが確認され, 免疫電顕法でも WMV-2 抗血清とのみ反応が認められた。

さらに, 6科13種の草本植物に接種し, 宿主範囲を検討したところ, マメ科やタバコについては病徴が現われなかった(第2表)。病徴が発現しなかった植物については, 間接 ELISA 法で感染の確認を行ったが, いずれも反応が認められなかった。

### 3. 供試株 No. 2 の確認

間接 ELISA 法では, WMV-2 と CMV の両抗血清と反応が認められ, ウエスタンブロット法では CMV 抗血清のみに反応が認められた供試株 No. 2 の重複感染の可能性について検討した。

No. 2 を *N. benthamiana* とプリンスメロンに接種したところ, 両植物でモットリングの病徴が観察された。*N. benthamiana* の罹病葉を Dip 法を用い電子顕微鏡で観察したところ, 直径約 30nm 程度の球形状のウイルスが確認された。そこで, この罹病葉からウイルスを純化し, 寒天ゲル内二重拡散法により, 血清型の検討を行った。

CMV のフキ系統及び黄斑系統の抗血清を供試した時, No. 2 から純化したウイルスは, 両抗血清に対して沈降帯を形成し, さらにフキ系統の純化ウイルスとスパーを形成した。このことから, No. 2 から純化したウイルスは, CMV の黄斑系統と同じ血清型であることが明らかになった(第2図)。

また, 原株を接種したプリンスメロンの摩砕液を用いて間接 ELISA 法を行ったところ, 原株同様, CMV と WMV-2 の両抗血清で反応が確認された。

### 考 察

ウリ科作物に発生するウイルス病としては主に WMV-2, CMV, PRSV, ZYMV 等が知られており, これ

らは, 圃場において単独感染だけでなく重複感染している場合も多く, 鈴木ら(1985)は, 宮城県内のウリ科作物(キュウリ及びカボチャ)23株中6株が WMV-2 と CMV の重複感染株であったことを報告している。

今回供試した7株のうち, 間接 ELISA 法の結果からメロン5株が WMV-2 と CMV に重複感染していると考えられた。この結果は, *N. benthamiana* とメロンに接種した結果ともほぼ一致していた(第3表)。しかし, 供試株 No. 7 については, 電子顕微鏡での粒子観察及び免疫電顕法で, WMV-2 が確認されたにも関わらず, 間接 ELISA 法での WMV-2 抗血清との反応は非常に弱かった。これは, 供試株 No. 7 のウイルス濃度が低かったためと考えられた。

今回の調査で, 重複感染していた株から分離された CMV は, その血清型が Y 型であった。メロンに激しいえそ症状を呈する CMV としては, 小島・芳岡(1975)によって報告されたラゲナリア系統があるが, この場合は CMV 単独感染であった。今回の検定でメロンにおいて, WMV-2 と CMV の重複感染の場合でも激しいえそを引き起こす場合があることが示唆された。

両ウイルスの重複感染によって引き起こされるメロンでの激しい病徴は, 両ウイルスの病原性ととともに感染時期の影響などもあると思われる。

### 引 用 文 献

- 1) CLARK, M. F. and ADAMS, A. N. (1977) *J. Gen. Virol.* 34: 475-483.
- 2) 花田 薫 (1983) 植物病理学実験法 (佐藤昭二外編) 講談社 196-197.
- 3) 小島博文・芳岡昭夫 (1975) 日植病報 41: 285 (講要).
- 4) 鈴木信弘・白子幸男・江原淑夫 (1985) 日植病報 51: 359 (講要).
- 5) TOWIN, H. T. (1979) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76: 4350-4354.

(1995年5月2日 受領)