

わが国におけるタバコ・ウイルス病の発生と 病原ウイルスの同定・診断に関する研究*

宇田川 晃

Studies on Occurrence, Identification and Diagnosis of
Virus Diseases of Tobacco Plants in Japan

Akira UDAGAWA

論 文 要 旨

わが国におけるタバコ栽培面積は1990年度で約3万ha, そのうちウイルス病の発生は500ha以上に及び、減収量約52万kg, 被害額約9億円に達し、品質面の損失も極めて大きい。ウイルス病の伝染様式は極めて多様で、圃場における病徴や発生生態、病原ウイルスの各種性状を調べて、病原ウイルスの種類や系統を同定し、その診断法を確立することは防除対策を考える上で最も基本である。わが国におけるタバコ・ウイルス病の発生は、1950年以降タバコモザイク病、キュウリモザイク病、タバコ巻葉病について研究されてきたが、その他のウイルス病についてはほとんど明らかでなかった。

本研究は、1963年以来、タバコ・ウイルス病の防除を目的として、栽培地のウイルス病の発生調査をもとに、ウイルスの検出、同定ならびに媒介生物による伝搬の解明を行い、とくに著者によってわが国で初めて発生が確認された5種6系統のウイルスを含めた13種25系統のウイルスの同定および生物学的診断法を確立したものである。このことは、タバコの安定生産に寄与すると共に、これらのウイルスはタバコのみでなく他作物の病原としても重要であることから、他作物の病原ウイルスの同定・診断にも適用されている。

本研究で新たに発生が確認され、ウイルスの特性および媒介生物による伝搬様式が明らかとなったウイルスとしてジャガイモYウイルスの黄斑えそ系、えそ系、アルファルファモザイクウイルスの1系、トマト黄化えそウイルス、タバコ茎えそウイルスの1系、タバコネクロシスウイルスがある。

* 東京農業大学審査学位論文

目 次

I 緒言	5	2) 粗汁液中のウイルスの安定性	23
II 研究史	6	3) アブラムシによる伝搬	24
III タバコにおけるウイルス病の発生実態	9	4) ジャガイモYウイルス系統間の干渉 効果	25
1. 実験材料および方法	9	5) 血清反応	25
2. 実験結果	9	6) ウイルス粒子の形態	25
1) 東日本のタバコから分離されたウイルス の種類・系統	9	7) タバコ畑周辺の各種植物からのPVY-Tの 検出	25
2) 東日本のタバコから分離されたウイルス の種類・系統の分離率と分布	15	4. 考察	26
3. 考察	15	V アルファルファモザイクウイルス (alfalfa mosaic virus)	27
IV ジャガイモYウイルス (potato Y potyvirus)		1. 実験材料および方法	27
A 黄斑えそ系統 (PVY-A1)	17	2. 実験結果	27
1. 実験材料および方法	17	1) 採集時のタバコの病徴	27
2. 実験結果	18	2) 汁液接種による各種植物の反応および 判別宿主	27
1) 採集時のタバコの病徴	18	3) 粗汁液中のAMV-By2の安定性	31
2) 汁液接種による各種植物の反応	18	4) AMV-By2の種子伝染	32
3) 粗汁液中のウイルスの安定性	19	5) アルファルファモザイクウイルス系統間 の干渉効果	32
4) アブラムシによる伝搬	21	6) 血清反応	32
5) ジャガイモYウイルス系統間の干渉 効果	21	7) ウイルスの精製	32
6) ウイルスの精製	21	8) ウイルス粒子の形態	32
7) 血清反応	21	3. 考察	32
8) ウイルス粒子の形態	22	VI トマト黄化えそウイルス (tomato spotted wilt tospovirus)	35
3. 考察	22	A トマトにおけるトマト黄化えそウイルスの 同定	35
B えそ系統 (PVY-T)	22	1. 実験材料および方法	35
1. タバコにおける病徴および発生経緯	22	2. 実験結果	36
2. 実験材料および方法	23	1) 採集時のトマトの病徴	36
3. 実験結果	23		
1) 汁液接種による各種植物の反応および 判別宿主	23		

2) 汁液接種による各種植物の反応	36	<i>brassicae</i> による伝搬ならびに感染がタバコ	
3) 粗汁液中のウイルスの安定性	36	に及ぼす影響とタバコにおける発生分布	49
4) アザミウマ類による伝搬	36	1. 実験材料および方法	49
5) 種子伝染	36	2. 実験結果	50
6) ウイルス粒子の形態	37	1) <i>Olpidium brassicae</i> によるタバコネクロ	
7) トマトにおける発生分布	37	シスウイルス (TNV-SN) の伝搬	50
B 神奈川県のとマトから分離されたウイルス	37	(1) TNV-SN保毒 <i>O. brassicae</i> のHCl処理によ	
C タバコにおけるとマト黄化えそウイルスの		る無毒化	50
病徴および発生実態	39	(2) <i>O. brassicae</i> による伝搬	50
D 考察	39	(3) TNV-SNの根部接種	50
		(4) 根におけるTNV-SNおよび <i>O. brassicae</i>	
VII タバコ茎えそウイルス (tobacco rattle toba-		の存在	50
virus)	42	2) TNV-SNおよび <i>O. brassicae</i> の感染がタバ	
1. タバコにおける病徴および発生状況	42	コの生育に及ぼす影響	51
2. 実験材料および方法	42	3) タバコおよびその他植物のTNV-SNによる	
3. 実験結果	43	自然感染の探索	51
1) 汁液接種による各種植物の反応	43	3. 考察	52
2) 血清反応	43		
3) ウイルス粒子の形態および構成	45	IX タバコに発生するウイルスの種類・系統の	
4. 考察	45	判別法	53
VIII タバコネクロシスウイルス (tobacco necrosis		1. 判別宿主植物の反応による判別	53
necrovirus)	47	2. ウイルスの諸性質による判別	53
A タバコネクロシスウイルスの同定および電子		3. 考察	57
顕微鏡的観察	47	X 要 約	58
1. 実験材料および方法	47	引用文献	61
2. 実験結果	47	Summary	71
1) 採集時のタバコの病徴	47	図版説明	77
2) 汁液接種による各種植物の反応	47	図版	78
3) ウイルスの安定性	47		
4) 感染葉フェノール抽出成分の病原性	47		
5) タバコわい化ウイルスとの干渉効果	48		
6) 血清反応	48		
7) 感染葉組織の電子顕微鏡観察	48		
3. 考察	49		
B タバコネクロシスウイルスの <i>Olpidium</i>			

I 緒 言

自然界における植物ウイルス病の病徴は極めて変化に富み、千差万別といっても過言ではない。感染の初期から後期にいたるまで、様々な病徴を現したり変化を示したりする。また、感染はしていても病徴を現さないまま一生を終わる場合から、施設や圃場の作物が全て枯死して収穫皆無になってしまう場合もある。このような病徴の多様性には、病原ウイルスの種類やその系統の関与が極めて大きいことは疑いがない。病原的、疫学的にこれら病徴の多様性を検討し、病原ウイルスの性質、生態、判別方法等を明らかにすることは、ウイルス病を防除する上で基本的な重要課題である。

わが国のタバコ栽培面積は、この10年間に半減したとはいえ、約30,000haに及んでいる。病害の発生面積率は年によって異なるが10～35%であり、このうち代表的なウイルス病による被害は、1990年度では約20%、516ha、減収量は約52万kgに及んでいる。金額にすると、わが国のタバコにおけるウイルス病の被害は5～9億円に達し、品質面に及ぼすかくれた被害も含めると、実際の損失は極めて大きいものと思われる。

タバコに発生しているウイルスは、世界中では20種類以上に及んでいる。わが国のタバコでは、本研究の開始までに8種14系統の発生が個々に報告されている。これらのうち被害の多い代表的なタバコモザイクウイルス (tobacco mosaic virus: TMV) は比留木ら⁵⁹⁾により、キュウリモザイクウイルス (cucumber mosaic virus: CMV) は都丸ら^{53,195,196,210,215)}により詳細な研究報告が行なわれていたが、未同定で、しかもタバコ耕作上重要なウイルスが残されていた。

本研究は、タバコのウイルス病の防除を目的として、これまで未解決のウイルスの種類・系統の発生実態を明らかにすると共に、わが国のタバコに発生するウイルス病の実用的な同定・診断法を確立するために行ったものである。

その結果、13種25系統のウイルスについて、判別宿主植物の反応、ウイルスの諸性質等を試験することにより、生物学的で実用的な判別法を確立することができた。発生実態調査の結果、タバコ畑では2種以上のウイルスによる重複感染が約28%を占める新知見が得られ、本研究中に5種6系統のウイルスの新発生が確認された。これらのウイルスはタバコにおける病徴に差があり、また他作物や野生植物にも感染していることが明らかとなった。

ウイルス病防除に当っては、その媒介生物を明らかに

することが極めて重要であるので、アブラムシ類によって伝搬されるジャガイモYウイルス、アルファルファモザイクウイルス、アザミウマ類によって伝搬されるトマト黄化えそウイルス、土壌線虫によって伝搬されるタバコ茎えそウイルス、土壌菌ツボカビ類 (*Olpidium* 菌) によって伝搬されるタバコネクロシスウイルスの5種ウイルスに重点をおいて研究し、新知見が得られた。TMVおよびCMVは重要ウイルスであるが、前述のように詳細な研究報告があり、また重要ウイルスであるタバコえそ萎縮ウイルス (tobacco necrotic dwarf luteovirus: TNDV) 等は本研究後に久保ら^{109,110,114)}により詳細に報告されたので、引用にとどめた。ウイルスの和名、グループ名は都丸^{190,191,192,193)}、久保¹¹¹⁾に従った。

これらウイルスの種類・系統の判別法を確立し、発生実態を明らかにしたことは、タバコおよび他作物のウイルス病の同定・診断を容易にし、ウイルス病の防除対策の基礎を提供し、葉タバコ生産の安定に寄与するものと考えられる。

本論文を草するに当っては、東京農業大学教授中村重正博士、都丸敬一博士、藤井博博士、中田和男博士、池上正人博士から終始懇切な御指導と御校閲を賜った。ここに記して衷心から感謝の意を表する。

本研究を行なうに当たり、都丸敬一博士には研究遂行の端緒を示唆され、終始御指導と御助言を賜った。中田和男博士、元日本専売公社久保進博士、高浪洋一博士には本研究実施中折りにふれ有益な御助言と御援助を賜った。元農水省岸国平博士、高橋幸吉博士、戸倉幸三博士、矢野勇夫博士、元日本専売公社多川閑氏には実験種子類、菌類を分譲いただいた。電子顕微鏡観察については東京大学理学部松島久博士、横浜市立大学医学部三杉和章博士、日本たばこ生命科学研究所高浪洋一博士に御援助をいただいた。

また、元東京大学教授与良清博士、土居養二博士、元東京大学鳥山重光博士、元大阪府立大学教授井上忠男博士、元農水省小室康雄博士、末次哲雄博士、奈良県農業試験場小島博文博士には有益な御助言と御教示をいただいた。元筑波大学教授佐藤昭二博士、筑波大学勝屋敬三博士、柿嶋眞博士、農水省高橋広治博士、東京都農業試験場飯嶋勉博士には御教示および御激励をいただいた。

さらに、元神奈川県農業総合研究所水沢芳名博士、竹沢秀夫博士、近岡一郎博士、相原次郎氏には本研究の遂行に便宜を与えられ、御鞭撻をいただいた。神奈川県農業総合研究所伊東祐孝氏、矢吹駿一氏、要司氏、水野信義氏、阿久津四良氏、小林正伸氏からは格別の御援助を

いただき、同県病虫害防除所ならびに各農業改良普及所の関係者には多大な御協力をいただいた。

本研究報告の印刷に当っては、神奈川県農業総合研究所辛島紀男所長、酒井豊前技術連絡室長、林英明技術連絡室長、赤沼肇経営研究部長、三浦泰昌博士（技術研究部長）、要司経営調査科長、土屋恭一経済試験科長、和地清公害調査科長、真子正史博士（生物工学科長）ならびに所員の方々から格別の御配慮をいただいた。

ここに記して深甚なる感謝の意を表する。

II 研究史

わが国のタバコに発生しているウイルスの種類と系統は1990年現在で13種25系統に及んでいる。

すでに、比留木ら⁵⁹⁾によってタバコモザイクウイルス (tobacco mosaic virus: TMV) 普通系、黄斑系、潜伏系、えそ系が報告され、都丸ら^{53,195,196,210,215)}によってキュウリモザイクウイルス (cucumber mosaic virus: CMV) 普通系、軽症系、黄斑系、マメ科系、黄色微斑系が報告されている。また、日高ら⁵²⁾によりジャガイモXウイルス (potato virus X: PVX)、タバコわい化ウイルス (tobacco stunt virus: TStuV)、タバコ葉萎ウイルス (tobacco leaf curl virus: TLCV)、比留木⁵⁶⁾によりアルファルファモザイクウイルス (alfalfa mosaic virus: AMV)、都丸ら^{52,184)}によりジャガイモYウイルス (potato virus Y: PVY) 普通系、黄斑えそ系 (PVY-YSS)、都丸ら^{186,187,199)}によりタバコ茎えそウイルス (tobacco rattle tobnavirus: TRV) の報告があった。

本研究により、新たにPVY黄斑えそ系 (PVY-A1)、えそ系 (PVY-T)、AMVササゲ全身感染系 (AMV-By2)、トマト黄化えそウイルス (tomato spotted wilt virus: TSWV)、TRVアスター黄色輪紋系 (TRV MD1群)、タバコネクロシスウイルス (tobacco necrosis necrovirus: TNV-SN) が明らかとなった。

その後、久保ら^{109,110,114)}によりタバコえそ萎縮ウイルス (tobacco necrotic dwarf virus: TNDV)、久保^{108,109)}によりタバコ脈緑モザイクウイルス (tobacco vein banding mosaic potyvirus: TVBMV)、都丸ら^{202,203)}によりタバコ条斑ウイルス (tobacco streak ilarvirus: TSV) が発見され、桑田ら^{115,117,118)}によりタバコわい化ウイルスの粒子が明らかとなった。

ジャガイモYウイルス (potato virus Y: PVY) はPotyvirusグループに属し、Smith (1931)¹⁶¹⁾ によって

報告されて以来、ジャガイモ、タバコ等の病原ウイルスとして世界各地に分布している。

わが国では、ジャガイモのモザイクや縮葉病として古くから知られていたが²⁾ 病原ウイルスが明らかになったのは1950年代である。明日山ら (1951)³⁾ はジャガイモにPVY単独あるいはジャガイモXウイルス (PVX) と重複感染するとモザイク症状やれん葉症状を示すことを報告し、平井ら (1955)^{54,55)} はPVYの系統を論じ、普通系と弱毒系があり、普通系はジャガイモの品種によってえそを示すものとれん葉を示すものがあるとしている。その後、本研究で明らかとなったPVYえそ系 (PVY-T) が瀬戸内海沿岸地域^{222,231)} や関東¹²⁾、東北地方²⁰⁵⁾ に広がっている。PVY-Tに感染したジャガイモの症状は、軽い退緑と葉裏にえそ条斑を生ずることがある程度である。

一方、タバコにおいてはPVYの発生被害が多く、本研究に含まれる普通系 (PVY-C2) の他に、都丸ら (1953)¹⁹⁴⁾ により黄斑えそ系 (PVY-YSS) が発見され、タバコ黄斑えそ病と名付けられた。その後、本研究によりPVY-YSSとは異なる黄斑えそ系 (PVY-A1) およびえそ系 (PVY-T) が確認された。PVY-Tはジャガイモでは品種によって症状が現われないか又は軽微であるが、タバコでは激しいえそ症状を示し枯死にも至るので被害が大きく、香川県内の黄色種で発生して以来、10年後には青森、福島、栃木県等のパーレー種にも発生が認められ、ジャガイモと同様に全国的に発生が拡大している^{112,134,174,188,189,200,201,205,229)}。

また、西尾ら (1976)¹³¹⁾ は輸入検疫中のオランダ産ジャガイモからPVY-Tと同じウイルスと考えられるPVYえそ系 (tobacco veinal necrosis virus) を検出し、亀谷ら (1989)⁷⁹⁾ は激しいえそを示すトマトからPVY-Tを分離し、PVYえそ系単独かPVY普通系との重複感染によってトマトにえそ症状を示すことを報告している。

最近、血清反応試験も進歩し今泉ら (1983)⁶⁹⁾ はELISA法により、桑田ら (1986)¹¹⁶⁾、大島ら (1990)¹³⁵⁾ はモノクローナル抗体法によりPVY-Tの特異的検出を報告している。

PVYのアブラムシ伝搬に対するタバコ (Goodingら, 1985³⁷⁾、佐藤ら1974¹⁴⁹⁾、山本1982²⁴³⁾ やジャガイモ (Lapointeら, 1987¹¹⁹⁾、農水省種苗管理センター, 1991¹³³⁾ の抵抗性品種や防除法の開発、タバコにおける干渉効果を利用したPVYえそ系統の防除法の試みもあり (Latorreら, 1985)¹²¹⁾、人工接種やアブラムシ接種による定量宿主としてのジャガイモ品種も発見されてきた (Singhら, 1984)¹⁶⁰⁾。

アルファルファモザイクウイルス (alfalfa mosaic virus: AMV) は Alfalfa mosaic virus グループに属し, Weimer (1931, 1934)^{239, 240)} によって報告されて以来, クローバ^{45, 77, 107, 137)}, ジャガイモ¹³⁶⁾, トウガラシ¹³⁾ 等の重要病原ウイルスとして多数の研究報告がある。

わが国では, 明口山ら (1955)⁴⁾ がアルファルファおよびアカクロバから分離したのを始めとして, シロクロバ (飯塚ら 1961⁶⁵⁾, 都丸 1963¹⁸⁴⁾, 村山ら 1965¹²⁷⁾, ジャガイモ (小室ら 1964)¹⁰²⁾, ダイズ (飯塚ら 1965)^{66, 67)}, アカザ (飯塚ら 1965)⁶⁶⁾, ニワトコ (土崎ら 1966)²²¹⁾ などから分離されていた。

タバコではニュージーランド²⁹⁾, ドイツ¹⁵²⁾, スイス⁵⁴²⁾, ベルギー²³⁸⁾, アメリカ⁴³⁾ 等で AMV の発生が認められ, わが国では比留木 (1961)⁵⁶⁾ が分離報告している。本研究によりその系統とは異なる系統を含む 11 分離株がタバコから得られた。本研究では主として, 1965 年に神奈川県で採集された軽度のモザイクおよび白色えそ斑点を示す品種ブライトエローからの分離株 (By1, By2), また同年に北海道栗山で採集された同様の病徴とともに電光型黄斑を示す品種ハローベルベットからの分離株 (K1, K5) の 4 株と, 従来のタバコからの分離株 (AMV-B) とを用いて比較検討を行なった。

その後, 栃原ら (1976)¹⁸³⁾ によりフキから, 王ら (1984)¹³⁸⁾ によりトマトから, 本田ら (1986)⁵²⁾ によりペピーノから, 小坂ら (1987)¹⁰⁵⁾ によりアズキから, 王ら (1989)¹⁴⁰⁾ によりえそ症状を示すジャガイモから, 牛山ら (1989)²¹²⁾ によりオイランソウから AMV が分離され, 本ウイルスの発生分布が広いことが明らかになってきた。

外国では AMV によりトマトにえそを生じる被害の発生 (Knorrら, 1983)⁹⁰⁾ や, フジウツギ類 (Walterら, 1985)²³⁷⁾, ガマズミ類 (Chikoら, 1986)¹⁷⁾ からも本ウイルスが分離されている。また, *Nicotiana debneyi* に感染しない AMV の報告 (Tedfordら, 1990)¹⁷⁹⁾ もあり, AMV のモノクローナル抗体も作成された (Halkら, 1984)⁴⁶⁾。

トマト黄化えそウイルス (tomato spotted wilt virus: TSWV) は Tospovirus グループに属し, Brittlebank (1919)¹⁴⁾ によって, オーストラリアにおけるトマトの spotted wilt 病として最初に報告され, その後オーストラリア, イギリス, アメリカ, フィリピン, 南アメリカ, カナダ, ブラジルなどで広く発生して被害の大きい重要ウイルスとされている。

わが国では, 末次 (1967, 1969)^{170, 171)} によって横浜植物防疫所大和隔離圃場で, アメリカから輸入検疫栽培中のダリアが, TSWV とキュウリモザイクウイルス (CMV) に重複感染していたことが報告された。その後 TSWV は小室 (1968)¹⁰⁰⁾ により兵庫県のダリア, 井上ら (1970, 1972)^{70, 71)} により岡山県のダリア, 小畠ら (1973, 1974)^{91, 92)} により奈良県農業試験場のトマトで, それぞれ発生が記載された。1974 年 2 月から神奈川県平塚市, 横浜市ほかのハウス栽培等のトマトに, 枯れ上りを伴う激しい症状が発生し, その原因が TSWV であることを明らかにした (宇田川ら, 1975, 1975)^{224, 226, 230)}。圃場において大被害が発生したのは初めてであった。時を同じくして, 小畠ら (1975, 1976)^{93, 94)} により奈良県のトマト, 坂本ら (1975)¹⁴⁷⁾ により兵庫県のピーマン, 四方ら (1975)¹⁵⁶⁾ により北海道大学のダリアから TSWV が分離報告された。

その後, 都丸ら (1976, 1982)^{198, 206)} により沖縄県のタバコ, 米山ら (1979)²⁴⁴⁾ により茨城県の冬春作ピーマンに, TSWV による大きな被害が発生したことが報告された。また, 山本ら (1977)²⁴²⁾ によりヒオオギ, 荒城ら (1980)¹⁾ により神奈川県内のネギ, 坂本ら (1984)¹⁴⁸⁾ によりダリア, 都丸ら (1984)²⁰¹⁾ により東北地方のタバコからも TSWV が分離された。

最近では, 岩木ら (1984)^{74, 75)} により沖縄県のスイカ灰白色斑紋病の病原が TSWV であることが明らかにされ, 花田ら (1984)⁴⁷⁾ により TSWV の系統の存在が論じられ, 沖縄県のスイカ, タバコ分離株と奈良県のトマト分離株は系統が異なるとしている。小畠ら (1984)⁹⁵⁾ は TSWV の媒介虫 (アザミウマ類) と伝染源植物を詳細に調査し, 久保ら (1977, 1989)^{108, 113)} も沖縄県において伝染源植物の調査を行なっている。花田ら (1985)⁴⁸⁾ は TSWV の抗血清の作成により ELISA 法による本ウイルスの検出法を実用化した。本田ら (1984)⁵¹⁾ はスイカから分離された TSWV の細胞内所見を, 福本ら (1981)³²⁾ は TSWV の保存法を明らかにした。また, 藤沢ら (1988)³⁰⁾ はアザミウマ類の TSWV 伝搬能を試験し, 外間 (1987)⁶⁰⁾ は銀色マルチ栽培やハウス被覆資材として紫外線除去フィルムを用いて, タバコ, ピーマン, スイカ, トウガン等のアザミウマ類と TSWV の防除を報告している。

外国においても本ウイルスの発生は極めて多く, ハワイにおける多数の植物 (Choら, 1986)¹⁸⁾, オンタリオ州におけるハウス栽培の多数の花類 (Matteoniら, 1988)¹²⁵⁾, タバコ, トマト, ピーマン等 (Beddickら, 1987¹²⁾, Latinら, 1990¹²⁰⁾), レタス, セロリ等 (Choら,

1987²⁰⁾, Graciaら, 1989³⁸⁾, またラッカセイ (Jayasenaら, 1988⁷⁵⁾, Haganら, 1990⁴⁴⁾, パパイア (Gonsalvesら, 1986³⁵⁾, ハウス栽培のトウモロコシタネ類 (Greenら, 1988³⁹⁾ など発生被害が認められている。畑の野菜におけるTSWVの被害とアザミウマ類の関連が調べられ (Pitbladoら, 1990¹⁴³⁾, プラスチックフィルムマルチ栽培によるタバコ, トマト, ピーマン等のアザミウマ類およびTSWVの防除効果も報告されてきた (Greenoughら, 1990⁴⁰⁾。

Choら (1988)¹⁹⁾ はELISA法によりアザミウマ類からTSWVを検出し, Sherwoodら (1989)¹⁵⁵⁾ は本ウイルスのモノクローナル抗体を作成している。また, Riceら (1990)¹⁴⁶⁾ はcDNAクローンにより感染植物およびアザミウマ組織からTSWVのRNAを検出し, Wangら (1990)²³⁹⁾ は本ウイルス分離株のnucleocapsid proteinの特異抗体を作成し, ELISA法で本ウイルス株の検出を行なった。同時に, Tsudaら (1991)²²⁰⁾ はタバコから分離されたTSWVの精製法を確立し, 都丸ら (1991)¹³³⁾ はTSWV分離株のnucleocapsid proteinに対する抗体を作成し, 分離株のagarose-gel電気泳動によるRNAの分子量およびnucleocapsid抗体を用いたWestern blot法によってウイルスproteinの分子量を測定することにより, TSWVの系統の判別を明瞭にした。

タバコ茎えそウイルス (tobacco rattle virus: TRV) はTobravirusグループに属し, Quanjer (1943)¹⁴⁵⁾ によってオランダのタバコから分離報告された頃から, ドイツ, デンマークなどのタバコ, オランダ, スウェーデン, アメリカなどのジャガイモ, その他チューリップ, ヒヤシンス, スイセン, アスター, ペチュニアなどヨーロッパを中心にして古くから大きな被害を出していた。わが国では, 都丸 (1964)^{136,137)}, 都丸・中田 (1967)¹³⁹⁾ によりタバコからTRVが分離され, 和名をタバコ茎えそウイルスと命名された。本ウイルスによるタバコ茎えそ病の病徴は激しく, 葉や茎にえそを生じ萎縮を示し, 葉が枯れてがさになる。本ウイルスは土壌線虫によって媒介される。

本研究では, 上記の分離株 (TRV-HSN) を含むタバコから分離されたTRVの8分離株について比較検討を行なったもので, その結果TRVが2群(系統)に分けられることが明らかとなった。また, 小室ら (1968, 1970)^{103,104)} によりアスターから, 岩木ら (1968, 1972)^{72,73)} によりスイセンからTRVが分離された。

その後, 夏秋ら (1980)¹³⁰⁾ によりダイズから, 都沢ら (1987)²¹⁹⁾ によりホウレンソウ, ニラ, ナズナ, タネツ

ケバナ, ハルジオン, ニガナ, ツメクサからTRVが分離されてきた。また, 松涛ら (1970)¹²²⁾ により輸入検疫中のチューリップから, 木次ら (1973)¹⁷²⁾ により輸入検疫中のヒヤシンスからTRVが検出されている。

タバコネクロシスウイルス (tobacco necrosis virus: TNV) は, Necrovirusグループに属し, Smith and Bald (1935)¹⁶⁴⁾ によってイギリスのタバコから分離命名され, タバコにえそ症状を示すことが報告された。その後, 多くの植物からTNVが分離されているが⁸⁵⁾, 多くは根部だけが感染し地上部には明らかな病徴は示さないとされている。実際に被害の明らかな植物としては, チューリップのAugusta disease^{24,82)}, インゲンのstipple streak²³⁰⁾, キュウリのネクロシス病⁸⁵⁾ が知られている。また, TNVは球形ウイルスの代表例のひとつであり, 土壌中のツボカビ類*Olpidium*菌によって伝搬されること等から, 多くの基礎的研究が行なわれている。

わが国では, 1963年に都丸がタバコから分離したTNV類似ウイルスを記録していたが¹⁸⁵⁾, 本研究によりTNVであることが確認された²²⁷⁾。同時に土居ら (1969)²⁵⁾ はタバコわい化病発病タバコの根部から, 本ウイルスと同じと思われるTNVを分離している。

その後, 小室ら (1973)¹⁰¹⁾, 要ら (1973, 1974)^{80,81)}, 宇田川 (1975)²²³⁾ によりイチゴの根部からTNVが分離され, 小室らはタバコネクロシスサテライトウイルス (tobacco necrosis satellite virus) も確認した。松涛ら (1970)¹²³⁾ が新潟県で輸入検疫中のオランダ産チューリップからTNVを検出した後, 松涛ら (1977)¹²⁴⁾, 名畑ら (1978)¹²⁸⁾ により富山県のチューリップからTNVが分離されている。また, 白子ら (1978)¹⁶⁶⁾ はわが国のTNV 3系統 (タバコ, イチゴ, チューリップ系) の血清学的性状比較をして, タバコ系とイチゴ系は反応が強く, チューリップ系は反応が弱いとしている。最近では, 深谷ら (1987)³¹⁾ により水耕栽培トマトから, 今田ら (1988)⁶⁸⁾ によりブドウからTNVが分離されている。

この他, 外国でタバコに発生が知られた著名なウイルスとしてtobacco etch potyvirus^{144,153)}, tobacco ringspot nepovirus^{167,168)}, tobacco vein mottling potyvirus¹⁴²⁾, tobacco yellow dwarf geminivirus¹⁸²⁾ 等があるが, わが国のタバコにおける発生は不祥である。

第1表にわが国のタバコにおける病原ウイルス同定・診断の歴史, 第2表に植物ウイルスの階級分類 (試案) を示した。

第1表 わが国のタバコにおける病原ウイルス同定・診断の歴史

ウイルス名	系 統	報 告 年
タバコモザイクウイルス	普通系、黄斑系、潜伏系、えそ系	1947, 1965, *1969
タバコ巻葉ウイルス		1951
*ジャガイモYウイルス	普通系、黄斑えそ系(2系)、えそ系	1953, *1968, *1972, *1983
タバコわい化ウイルス		1956, 1981
ジャガイモXウイルス	普通系、軽症系、黄斑系、マメ科系、黄色微斑系	1960, *1969
キュウリモザイクウイルス		1960, *1967, *1970
*アルファルファモザイクウイルス	普通系、ササゲ全身感染系	1963, *1969
*タバコ萎えそウイルス	アスターえそ系、アスター黄色輪紋系	1967, *1970
*タバコネクロシスウイルス		*1971
*トマト黄化えそウイルス		*1976, 1984
タバコえそ萎縮ウイルス		1976, 1981
タバコ脈緑モザイクウイルス		1977
タバコ条斑ウイルス		1984, 1985

注) 計13種25系統 * : 著者らによる結果

III タバコにおけるウイルス病の発生実態

本章では、東日本のタバコにおけるウイルスの発生実態について述べ、ジャガイモYウイルス、アルファルファモザイクウイルス、トマト黄化えそウイルス、タバコ萎えそウイルス、タバコネクロシスウイルスについてはそれぞれの章で述べる。

1. 実験材料および方法

1963年から1968年にわたって、北海道、秋田、山形、岩手、宮城、福島、栃木、千葉、神奈川、静岡、長野県の43地域に栽培されているタバコ計14品種および育成系統8系統のウイルス発病株計145株を採集し(第3表)、分離されるウイルスの種類およびその系統を検討した。発病タバコの採集に当たっては病徴によって判別可能なタバコモザイクウイルス(TMV)およびキュウリモザイクウイルス(CMV)の典型的な症状を示すものは除くことを原則とした。

採集した発病葉にリン酸緩衝液(0.1M, pH7.0)を少量加えて磨砕し、磨砕汁を綿球によって、あらかじめカーボランダム(500メッシュ)をふりかけた判別宿主植物の葉になすりつけ接種を行なった。供試植物はガラス室内で径12cmの植木鉢に育てた幼苗を用い、実験は普通ガラス温室または17℃および25℃に設定した空気調和ガラス室で行なった。接種後少なくとも3週間は観察を続け、戻し接種を行なって感染の有無を確かめた。

IX章の第40表に示したように判別宿主としてタバコ(品種:ブライトエロー, Ky57), *Nicotiana glutinosa*, *Physalis floridana*, *Datura stramonium*, センニチコウ, ササゲ, インゲン, ソラマメ等の植物に接種し、これらの植物の反応によってウイルスを類別した。これらのうち *P. floridana* は17℃の空気調和ガラス室で供試した。ウイルスの系統の判別にもこれらの植物およびタバコ各品種、ゴマ、ヒャクニチソウ, *Chenopodium amaranticolor*等の反応を利用した。なおCMVはマメ科系統は別として、インゲンの改良大手亡、鈴成など各品種の接種葉にえそ斑点を生ずることが補助剤を用いた戻し接種で確かめられたが、これらの病徴は数も少なく形も小さいので、アルファルファモザイクウイルス(AMV), TMVのえそ斑点とは区別できる。

重複感染と思われる株の一部については、宿主範囲、接種葉の局部感染または全身感染の差、ウイルスの耐保存性の差を利用して、それぞれのウイルスを単独にとり出して確認した。特殊な系統および代表株については、ウイルスの干渉効果試験、物理化学的性質、アブラムシによる伝搬、ウイルスの精製、抗血清の作製、血清反応、電子顕微鏡観察(JEM 7型)も行い、判別宿主植物による判断が誤りなかったことを確かめた。

2. 実験結果

- 1) 東日本のタバコから分離されたウイルスの種類・系統

第2表 植物ウイルスの階級分類

科	ゲノムの形態・数	ウイルス粒子の形態	属	種	我国の発生種	我国タバコの発生種
Caulimoviridae 末命名1	dsDNA, 1, 環状 dsDNA, 1, 環状	球状 かん菌状	caulimovirus commelina yellow mottle virus	8 4	7 —	— —
Geminiviridae	ssDNA, 1, 環状 ssDNA, 2, 環状 ssDNA, 2, 環状	双球状	geminivirus I geminivirus II geminivirus III	4 2 5	3	タバコ巻葉ウイルス — —
Reoviridae	dsDNA, 10-12	球状	phytoreovirus fijivirus	3 3	2 1	— —
Cryptoviridae	dsRNA, 2	球状	cryptovirus	13	13	—
Rhabdoviridae	ssRNA, 1	かん菌状 被膜	plant rhabdovirus A plant rhabdovirus B	7 8	12	— —
Bunyaviridae 末命名2	ssRNA, 3 ssRNA, 1	球状、被膜 球状	tospovirus carmovirus luteovirus marafivirus necrovirus sobemovirus tombusvirus tymovirus maize chlorotic dwarf virus parsnip yellow fleck virus	1 9 11 5 1 2 10 18 1 1 1	1 5 10 ? 2? 3? ? 1 1 ?	トマト黄化えそウイルス — タバコえそ萎縮ウイルス — タバコネクロシスウイルス — — — — — —
末命名3	ssRNA, 2	球状	comovirus dianthovirus fabavirus nepovirus pea enation mosaic virus	14 3 3 26 1	2 ? 1 7 ?	— — — — —
末命名4	ssRNA, 3	球状	bromovirus cucumovirus ilarvirus	4 3 9	? 4? 9	— — —
末命名5	ssRNA, 3	かん菌状	alfalfa mosaic virus	1	1	—
末命名6	ssRNA, 1	棒状	capilliovirus carlavirus closterovirus potexvirus potyvirus tobamovirus	2 27 11 18 50 12	2 22 10 10 44 5	— — — ジャガイモXウイルス ジャガイモYウイルス タバコ脈緑モザイクウイルス タバコモザイクウイルス タバコわい化ウイルス
末命名7	ssRNA, 2	棒状	furovirus tobravirus	3 3	4? 1	— タバコ茎えそウイルス
末命名8	ssRNA, 3	棒状	hordeivirus	3	1	—
末命名9	ssRNA, 4	棒状	tenuivirus	3	2	—

注) 植物ウイルスの階級分類試案 (15科39属 312種、van Regenmortel, 1990, 都丸, 1991) ds:2本鎖 ss:1本鎖

第3表に示すように、パーレー種の‘パーレー21’
 ‘水戸3号’ ‘ハローベルベット’、パーレー系育成系
 統、第5在来種の‘白だるま’ ‘白桐’ ‘白秦野’ ‘白
 遠州’、黄色種の‘ブライトエロー’ ‘ヒックス’、第
 2在来種の‘松川’、第3在来種の‘だるま’ ‘桐ヶ作’
 ‘遠州’、葉巻種の‘デキシージェード’の計14品種お
 よび8育成系統の発病株計145株を供試した。これらは
 北海道、秋田、山形、岩手、宮城、福島、栃木、千葉、
 神奈川、静岡、長野県の計43地域から1963年から1968年
 にわたって採集したものである。これらの供試株は黄色
 斑紋、えそ症状、モザイク症状、葉脈緑帯等を示し、病
 徴を示さないものは含まれていない。

これら供試株を、IX章の第40表に示した判別宿主植物

の反応によって類別した結果、TMV（普通系、黄斑系、
 えそ系、潜伏系）、CMV（普通系、軽症系、黄斑系、マ
 メ科系）、ジャガイモYウイルス：PVY（普通系、黄斑
 えそ系）、AMV（普通系、ササゲ全身感染系：ササゲ
 およびインゲンに全身感染する系統）およびジャガイモ
 Xウイルス：PVXの計5種13系統を分離同定した（第3
 表、第4表、第5表）。これらのうちCMV-LE（マメ科
 系）、PVY-A1（黄斑えそ系A1）、AMV-By2（ササゲ全
 身感染系）の3種3系統は、わが国のタバコからは初め
 て分離されたウイルスであった。供試145株のうち1種
 のウイルスだけが分離された単独感染株は105株（72.4
 %）、2種または2系統以上のウイルスの重複感染株は
 40株（27.6%）であった²¹⁴⁾（図版1）。

第3表 東日本のタバコから分離されたウイルスの種類・系統

タバコ品種	採 集 地	採集年月日	病 徴	分離されたウイルスの 種 類 ・ 系 統
パーレー21	岩手県 盛岡	1964.8.5	chr	PVY-A1, CMV-C
"	"	"	"	PVY-C2
"	"	"	nr,chs	CMV-O
"	"	"	vb	PVY-C2
"	"	1965.8.15	chr,ns	PVY-C2
"	"	"	chs,vb,nr,ns	PVY-C2
"	岩手県 大迫	1964.8.5	vb	PVY-C2
"	秋田県 大曲	1964.8.7	chs	PVY-C2, CMV-O
" 2株	"	"	vb	PVY-C2
"	山形県 東根	1968.8.15	chr	PVY-A1
"	栃木県 小山	1963.6.21	oak leaf patte- rn,n	CMV-LE
水戸3号	岩手県 盛岡	1964.8.5	irregular nr	PVY-C2, CMV-O
"	"	1965.8.15	chs,vb	PVY-C2
"	秋田県 男鹿	1964.8.6	chr	PVY-A1
"	"	"	chs,ch	PVY-C2
"	"	"	chs	CMV-O, TMV-OM
"	"	"	oak leaf patte- rn,chr,ch,n	CMV-O, TMV-OM
"	"	"	chr	PVY-C2,CMV-O,TMV-OM
"	"	"	vb	PVY-C2, CMV-O
"	"	"	ch	CMV-O
"	"	"	"	CMV-O, TMV-OM
ハローベルベット4株	北海道 中富良野	1964.8.11	vb	PVY-C2
"	北海道 壮瞥	1965.8.17	chs,vb	PVY-C2
"	"	"	ns,vb	PVX

タバコ品種	採 集 地	採集年月日	病 徴	分離されたウイルスの 種 類 ・ 系 統
ハローベルベツト	北海道 栗山	1965.8.16	irregular and oak leaf patte- rn,n	PVX, AMV-B
"	"	"	chr,chs,vb	PVX
"	"	"	oak leaf patte- rn,ch	PVX
"	"	"	ns,m	TMV-OM
"	"	"	oak leaf patte- rn,ch	PVX, AMV-B
バーレー育成系統	岩手県 盛岡	1964.8.5	chs,ns	CMV-O
"	"	"	vb,ns	TMV-OM
"	"	"	irregular nr, chs,n	TMV-OM
"	"	1965.8.15	ns,ch	PVX
" 2株	福島県 船引	1967.8.3	chs	PVY-A1
"	福島県 白河	1967.8.4	chs	PVY-A1
"	"	"	vb	PVY-C2
"	"	"	m,mal	CMV-O
"	栃木県 小山	1963.6.21	ns,chs	CMV-O
" 2株	神奈川県 秦野	1965.6.18	n,ch	CMV-C
ブライトエロー	栃木県 小山	1963.6.21	ns,nr,vb	PVX
"	"	"	vb,chs	PVY-C2
" 2株	神奈川県 伊勢原	1965.7.7	Wns,Wnr	AMV-By2
"	神奈川県 秦野	1963.7.3	m,mal	CMV-O
"	"	1965.7.8	nr,Wn	CMV-O
"	"	1966.7.4	vb,ns,Wns	PVY-C2
"	"	"	vb	PVY-C2, CMV-C
"	"	"	chs,faint vb	PVY-C2, CMV-O
"	"	1966.7.12	m,mal	CMV-O
"	"	"	mild m	CMV-C
"	"	1968.6.19	faint vb	CMV-C
"	静岡県 大浜	1967.6.22	mild vb	PVY-C2
"	"	"	vb	PVY-C2
"	"	"	Wnr,ns	PVY-C2
"	"	"	Wnr,oak leaf pattern,n	PVY-C2, CMV-O
"	"	1967.6.29	vb	PVY-C2
"	静岡県 浜岡	1967.6.23	vb	PVY-C2
"	"	"	vb,faint ns	PVY-C2
" 2株	"	1967.6.29	vb	PVY-C2

タバコ品種	採 集 地	採集年月日	病 徴	分離されたウイルスの 種 類 ・ 系 統
ブライトエロー	静岡県 浜岡	1968.6.26	vb	PVY-C2
ヒックス	千葉県 木更津	1967.7.10	vb	PVY-C2, TMV-QM
"	神奈川県 秦野	1968.6.12	Wns,Wnr	CMV-C
"	"	"	Ym,mal,n	CMV-O, CMV-Y
白だるま	山形県 東根	1968.8.15	chr,oak leaf pattern,ch	PVY-A1
"	"	"	vb	PVY-C2
"	宮城県 白石	1968.8.13	vb	PVY-C2
"	"	"	m,mal	CMV-O
"	福島県 船引	1967.8.3	chs	PVY-A1
"	福島県 白河	1967.8.4	chs	PVY-C2,AMV-B,CMV-O
"	"	"	chs	PVY-C2,CMV-O
"	"	"	chs,oak leaf pattern,n	AMV-B
"	"	"	vb	PVY-C2, AMV-B
"	"	"	chr,nr	AMV-B
"	"	"	vn	CMV-O
"	栃木県 小山	1965.6.18	chr,chs, faint vb	AMV-B, CMV-O
"	"	"	chr,ns,vy	AMV-B, CMV-O
"	"	"	vy,ns	CMV-O
"	"	"	faint vb	CMV-O
"	神奈川県 秦野	1963.7.3	chr,oak leaf pattern,ch	PVY-A1
"	4 株			
白秦野	長野県 小諸	1964.8.20	vb	PVY-C2
"	宮城県 白石	1968.8.13	chr,vb,mal	PVY-A1,AMV-B,CMV-O
"	"	"	chr,vb	AMV-B, CMV-O
"	宮城県 秋保	1968.8.14	m,n	CMV-O
白桐	栃木県 小山	1963.6.21	vb	PVY-C2
"	"	1964.7.4	faint chs	CMV-C
"	長野県 小諸	1967.7.11	Wns,oak leaf pattern,n	AMV-B
"	長野県 飯山	1967.9.8	mild m, irregular vb	PVY-C2, CMV-C
"	"	"	vb	PVY-C2, CMV-C
"	"	"	mal,m,ve	PVY-C2, CMV-O
"	長野県 高山	1968.7.19	m,oak leaf pattern,n	CMV-C
白遠州	"	"	vb,Wns	PVY-C2
松川	2 株 山形県 東根	1968.8.14	mild vb	TMV-QM

タバコ品種	採 集 地	採集年月日	病 徴	分離されたウイルスの 種 類 ・ 系 統
松川	山形県 東根	1968.8.14	vb	TMV-OM
"	"	"	vb,n	TMV-OM
"	"	1968.8.15	mild vb	TMV-OM
"	"	"	Yr,ch	TMV-3Ⅲ ya
"	"	"	mal,ch	CMV-O, TMV-OM
" (TMV-R)	"	"	m,mal	CMV-O
" (")	"	"	vb	PVY-C2
"	福島県 船引	1967.8.3	m,vb	CMV-C, TMV-OM
"	"	"	m,vb,mal	CMV-C, TMV-OM
"	"	"	mild vb,ch	TMV-OM
"	"	"	faint chr,chs, Wns	PVY-C2, CMV-C
"	"	"	"	CMV-C, TMV-OM
"	"	"	vn	TMV-3 Ⅲ ya
"	福島県 三春	1968.7.22	vb	TMV-OM
"	"	"	chr	TMV-3Ⅲ ya
"	"	"	Ym	TMV-3Ⅲ ya
"	"	"	faint vb,n	TMV-OM
"	福島県 西田	1968.7.15	vb,chs,ns	PVY-C2, TMV-OM
"	"	"	vb	TMV-3Ⅲ
"	"	1968.7.22	faint vb	PVY-C2, TMV-OM
"	"	"	m,mal,vb	CMV-O, TMV-OM
"	福島県 斐田	"	mild vb	TMV-OM, TMV-R1
"	"	"	mild vb	TMV-OM
"	"	"	Ym	TMV-3Ⅲ ya
"	"	"	vc,vy	TMV-OM
"	福島県 楢原	1968.7.24	chs,vb	PVY-C2, TMV-OM
"	福島県 昭和	"	faint m	PVY-C2, CMV-O
"	福島県 湖南	1968.7.23	faint vb,n	TMV-OM
"	福島県 会津坂下	"	vb,n	TMV-OM
"	福島県 会津	1966.8.2	Wns,vb	PVY-C2, PVX
だるま	栃木県 大田原	1968.6.26	vb,mal	TMV-OM
"	"	"	chs,m	TMV-OM
"	"	"	vb	TMV-OM
"	茨城県 石塚	1968.6.25	vb	CMV-O
"	"	"	vb,chs	TMV-OM
桐ヶ作	神奈川県 秦野	1966.5.18	m,mal,ns,oak leaf pattern,n	CMV-O
"	"	"	ns,Wnr	CMV-C
"	"	"	faint ch	CMV-Y

1: 次
か
離
が
系
た
条
黄
た
品
徴
の
い
に
病
て
1:
1:
と
現
生
し
白
す

タバコ品種	採 集 地	採集年月日	病 徴	分離されたウイルスの 種 類 ・ 系 統
遠州	静岡県 磐田	1964.7.22	m	CMV-O
デキシースェード	長野県 飯山	1967.9.8	mild m, mild ve	PVY-C2, CMV-O
"	"	"	mild m, mild ve, irregular vb	PVY-C2, CMV-O
"	"	"	m, mal, ve	PVY-C2, CMV-O

注) chr:黄色輪紋 chs:黄色斑点 ch:黄化 vb:葉脈緑帯 vy:葉脈黄化 vc:葉脈透化
ve:葉脈エネーション vn:葉脈えそ nr:えそ輪紋 ns: えそ斑点 n:えそ m:モザイク mal:奇形
W:白色 Y:黄色 oak leaf pattern:電光形病斑

2) 東日本のタバコから分離されたウイルスの種類・系統の分離率と分布

第4表に示すように、PVYが最も多く、供試株の47.6%から本ウイルスが分離された。CMV, TMVはPVYに次いでそれぞれ40.0%, 27.6%を占めたが、重複感染株からの分離例が多い。またAMVが9.0%, PVXが5.5%分離された。ウイルスの系統では、いずれも普通系が多いが、CMV-C(軽症系), PVY-A1(黄斑えそ系)は普通系に次いで分離頻度が高く、発生の多いことが認められた。

PVY-A1と思われる症状を示す株のうち、夏季の高温条件下のガラス室では、タバコに接種後その特徴である黄色斑紋を初期には現しにくいものもあったが、25℃または17℃に移して観察を続けるか、あるいは別のタバコ品種「白だるま、水戸3号等」に再接種すると明瞭な病徴を示した。これらは普通系との重複感染も考えられたので、実験的に普通系とPVY-A1との混合液の接種を行いその病徴推移について観察を行なった。タバコ「Ky57」に普通系またはPVY-A1を同時にそれぞれ接種し、よく病徴の現われた全身感染葉を等量ずつとり磨砕汁を作って、普通系とPVY-A1との混合比を1:1, 2:1, 5:1, 10:1, 1:2, 1:5, 1:10として「Ky57」に各区10本づつ接種した。1:2, 1:5, 1:10では黄色斑点が極めて多く葉脈緑帯はほとんど認められなかった。1:1, 2:1では両系統の病徴が現われ、5:1, 10:1ではばやけた黄色斑点と葉脈緑帯を生じた。混合感染はいずれも全身的な白色えそ斑点を現しやすい傾向があった。従って重複感染では特徴のある白色えそ斑を生じ、混合比によっては両系統の病徴を現すが、普通にはPVY-A1の症状が優勢であると思われる。

採集株の中にはこれら系統の重複感染と思われるものはなかったが、畑における観察では下葉に葉脈緑帯を示し、上葉に黄色斑点を生じている株も見られた。

重複感染の大部分は2種のウイルスによるものであり、3種のウイルスによる重複感染が3株認められた。同種ウイルスの系統による重複感染が2株認められたが、これらは両系統が同時に極めて近い時期に感染したもの、または普通系から変異したものと思われる。重複感染の最も多いウイルスはPVY・CMVであった(第5表)。

第1図に示したように、パーレー種(第5在来種を含む)からはPVY, CMV, PVXが多く分離され、TMVは感受性の「水戸3号」だけから分離された。PVY普通系はパーレー種のみでなく黄色種、在来種、葉巻種にも発生分布している。「松川」にはTMVの発生が多く、各系統が分離されたが、普通系が極めて多い。分離数は少ないが、パーレー種、黄色種、「松川」からPVX、パーレー種、黄色種からAMVが分離されている。CMVはいずれのタバコ品種にも発生が認められた²¹⁴⁾。

3. 考 察

本実験は、タバコ畑に発生している発病株を採集供試し、分離されるウイルスの種類およびその系統を同定したものである。分離されたウイルスは5種13系統におよび、これらのうち3種3系統はわが国のタバコからは初めて分離されたものであった。すなわち、本実験中新たに、CMV-IE(マメ科系)^{208,210)}, PVY-A1(黄斑えそ系)^{209,212)}, AMV-By2(ササゲ全身感染系)^{211,213)}が分離され、これらのウイルスが発生分布していることが明らかとなった。その他のウイルスの系統、CMV普通系⁵³⁾, CMV軽症系¹⁹⁵⁾。

第4表 東日本のタバコから分離されたウイルスの種類・系統の分離率

ウイルス	系 統	分 離 数	分 離 率
P V Y	PVY-C2 普通系 (ordinary strain)	59	47.6%
	PVY-A1 黄斑えそ系 (tobacco yellow spotted streak strain)	10	
P V X	PVX	8	5.5
A M V	AMV-B 普通系 (ordinary strain)	11	9.0
	AMV-By2 ササゲ全身感染系 (cowpea systemic strain)	2	
C M V	CMV-O 普通系 (ordinary strain)	39	40.0
	CMV-C 軽症系 (mild strain)	16	
	CMV-Y 黄斑系 (yellow strain)	2	
	CMV-LE マメ科系 (legume strain)	1	
T M V	TMV-OM 普通系 (ordinary strain)	33	27.6
	TMV-3 III ya 黄斑系 (yellow strain)	5	
	TMV-R1 えそ系 (necrotic strain)	1	
	TMV-3 III 潜伏系 (masked strain)	1	

注) 分離率: 供試株に対する分離率、分離ウイルス5種13系統、
単独感染株72.4%、重複感染株27.6%。
第5表も同様。

CMV黄斑系¹⁹⁶⁾、TMV普通系⁵⁹⁾、TMV黄斑系⁵⁹⁾、TMVえそ系⁵⁹⁾、TMV潜伏系⁵⁹⁾、PVY普通系⁵²⁾、PVX⁵²⁾、AMV普通系⁵⁶⁾についてはすでに報告されている。PVY-A1 (黄斑えそ系) はパーレー系品種 (第5在来種を含む) に多く発生していることが産地における観察でも認められ、またPVY普通系はパーレー系品種のみでなく黄色種にもかなり発生していることが認められた。都丸ら^{52,194)}の黄色種に黄斑えそを生ずるPVY黄斑えそ系(PVY-YSS)の発生は認められなかった。

これらの調査は調査地域および調査株数も少なく、今後さらに補足されなければならないが、PVYの発生が多いことが推定され、今後PVYの系統による被害査定、防除法などの研究が必要であろう。アメリカNorth FloridaにおいてもPVY普通系のタバコにおける発生が多いことが報告されている²²⁾。PVYの黄斑えそ系はパーレー系品種にかなりの発生分布が認められたが、これに似たPVYえそ系はヨーロッパ諸国ではタバコの重要病害と

なっていることから、これら系統の発生分布について注意する必要があった。その後本研究等によりPVYえそ系(PVY-T)の発生および被害が確認された^{189,229)}。CMVでは軽症系の発生がある地域では普通系と同等あるいはそれ以上であることが知られているが全国的に大なり小なり分布しているものと思われる。重複感染株が全採集株の約28%を占めたことは、異常な病徴を示すことから特に採集される機会が多かったこともあるが、実際に重複感染の多いこともうかがわれる。その後、相山ら⁸⁸⁾によっても東北地方のタバコ・ウイルス病の調査が行なわれ、TMV、CMVに次いでPVYの発生が多いことが示されている。

西日本におけるタバコ・ウイルス病の発生については、巻葉病が鹿児島県と大分県で集団発生した例があるが、その他は東日本での発生とはほぼ同様である¹⁰⁹⁾。

これらの分離されたウイルスを含め、これまで研究の乏しいPVY、AMV、TSWV、TRV、TNVについて詳細

第5表 東日本のタバコから分離されたウイルスの重複感染

ウイルス	系 統	分 離 数	分 離 率
PVY+PVX	PVY-C2+PVX	1	0.7
PVY+AMV	PVY-C2+AMV-B	1	0.7
PVY+CMV	PVY-C2+CMV-O PVY-C2+CMV-C PVY-A1+CMV-C	11 } 4 } 16 1 }	11.0
PVY+TMV	PVY-C2+TMV-OM	4	2.8
PVX+AMV	PVX+AMV-B	2	1.4
AMV+CMV	AMV-B+CMV-O	3	2.1
CMV+TMV	CMV-O+TMV-OM CMV-C+TMV-OM	5 } 3 } 8	5.5
CMV+CMV	CMV-O+CMV-Y	1	0.7
TMV+TMV	TMV-OM+TMV-R1	1	0.7
PVY+AMV+CMV	PVY-C2+AMV-B+CMV-O PVY-A1+AMV-B+CMV-O	1 } 1 } 2	1.4
PVY+CMV+TMV	PVY-C2+CMV-O+TMV-OM	1	0.7

な研究を行った結果を次章以降に示す。

IV ジャガイモYウイルス (potato Y potyvirus)

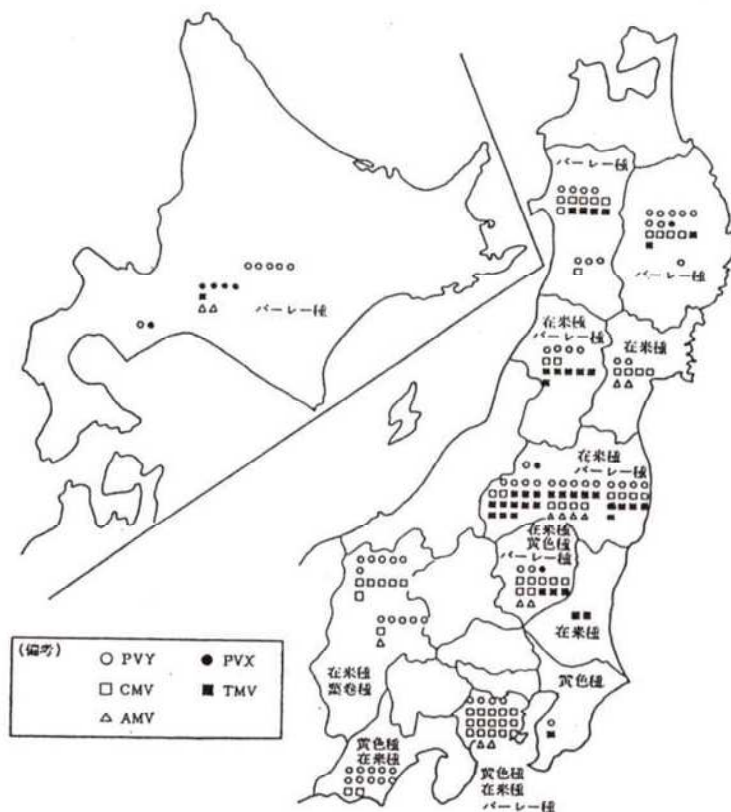
A. 黄斑えそ系統 (PVY-A1)

タバコのホワイトパーレー種は主として東北地方に分布し、パーレー種と在来種との交雑による育成品種「白だるま」等は北関東、東北および岐阜、長野県などの一部に栽培されている。筆者らは1964年以来これらの品種に発生するウイルスの種類について検討を重ねてきた。各種ウイルスの発生分布等については前章(Ⅲ)で述べたが、1964～65年に採集した40株のうち25株からジャガ

イモYウイルス (PVY) が分離され、そのうち2株は従来の系統とは異なる新しい系統であった。パーレー種に発生する黄斑えそ系統の1系 (PVY-A1) としてさらに検討した。

1. 実験材料および方法

供試した分離株は1964年7月秋田県男鹿市の「水戸3号」から分離されたPVY-A1、対照として秋田県大曲市の「パーレー21」から分離されたPVY-C2 (PVYの普通系) および北海道大学村山教授 (当時) から分与を受けたジャガイモから得られたPVY-MY (PVYの普通系) を用いた。干渉効果試験にはtobacco etch potyvirus (TEV Riverside strain: 農林省指令37振B第7251号によっ



第1図 東日本のタバコから分離されたウイルスの種類と分布

て輸入)も用いた。

採集した発病葉にリン酸緩衝液(0.1M, pH7.0)を加えて磨砕し、磨砕汁を綿球とカーボランダム(500メッシュ)によってなすりつけ接種を行った。供試植物はガラス室内で径12cmの植木鉢に育て、実験は普通ガラス温室または17℃および25℃設定の空気調和ガラス室で行なった。接種後少なくとも3週間は観察を続け、戻し接種を行なって感染の有無を確かめた。ウイルスの精製には超遠心分離機(Spinco Model L)をウイルス粒子の観察にはJEM 7型電子顕微鏡を用いた。

2. 実験結果

1) 採集時のタバコの病徴

採集時のPVY-A1発病タバコ(品種:水戸3号)は中位葉から上位葉にわたって、径3~5mmの鮮やかな黄色輪紋および黄色斑点を示し、生育は健全株とほとんど差がなく、奇形も認められなかった。これと似た症状は

アルファルファモザイクウイルス(AMV)でも認められるが、AMVでは黄色斑紋がしばしば不整形または菱形を示すのに対して、本ウイルスによるものは円形または輪紋であることに特徴があった。PVY-A1と同様な症状を示すバーレー種タバコ(品種:バーレー21,盛岡たばこ試験場の畑で採集)からも同じ系統が分離された(図版2)。

2) 汁液接種による各種植物の反応

タバコ品種Ky57のPVY-A1全身感染葉の磨砕汁を各種植物に接種した結果を第6表に示した。同時に比較したPVY-C2(普通系)とは、タバコの品種による反応の差を除いてはほぼ同様であった。'ブライトエロー'ではPVY-A1もPVY-C2と同様な葉脈緑帯を生じ明瞭な黄色斑紋およびえそ斑点は生じなかった。その他の品種ではPVY-A1はいずれも接種葉および全身的に黄色斑点、輪紋等の特徴的な症状を示した(図版3)。これらのタバコでも時には接種後期にわずかな葉脈緑帯を示すことが

あった。17℃と25℃とでは25℃の方が黄色斑紋は顕著に現われた。PVY-C2はこれらのどの品種にも軽い葉脈緑帯を生じ、時には不鮮明な黄色斑点を示すこともあったが、PVY-A1の症状とは明らかに区別された。PVY-MYの反応はPVY-C2とほぼ同様であったが、PVY-C2より病原性がやや強くタバコの症状はやや激しいように思われた。

PVYえそ系 (Tabak Rippenbräune Virus) の抵抗性品種としてドイツで育成された Mutant Virgin A と TI 1406 および病性の Virgin A は PVY-A1 に対してそれぞれ上記えそ系の記載^{99,157)}と同様な反応を示し、3回の実験とも前者では病徴は全く現われず、'Ky57'への戻し接種でもウイルスは回収されなかった。後者では明瞭な黄色斑紋およびえそ斑点が現われた。PVY-C2に対しても前者は抵抗性を示し、後者では葉脈緑帯が現われた。'遠州'はPVY-A1およびPVY-C2のいずれに対しても反応が極めて軽く、生育も阻害されず tolerant であった。

Nicotiana glutinosa およびその他のナス科植物、*Chenopodium amaranticolor* ではトウガラシ '鷹の爪' を除いては従来の記載^{23,162)}と同様な反応を示した。トウガラシは接種葉および全身的に PVY-A1 および PVY-C2 に対して数えうる小さいえそ斑点を生じた。エビスグサ (*Cassia tora*) も接種葉にえそ斑点を生じた。ジャガイモ男爵種の普通種およびジャガイモ X ウイルスフリー種の 17℃ における検定では、PVY-A1 は接種葉に明瞭な径 2~3 mm のえそ斑点を示し、PVY-C2 ではこの斑点が小さく、差があるように思われた。ジャガイモ X ウイルスの有無による反応の差は認められなかった。tobacco etch virus (TEV) によって局部病斑を生ずる *Physalis peruviana* は PVY-A1 および PVY-C2 に対して全身的なモザイク症状のみを生じた。

3) 粗汁液中のウイルスの安定性

PVY-A1 をタバコに接種 7~10 日後の全身感染葉を取り、その磨碎汁についてタバコ (品種: パーレー 21) の全身感染および *C. amaranticolor* または *P. floridana* の接種葉の局部病斑数によって各種の性質を調べた。

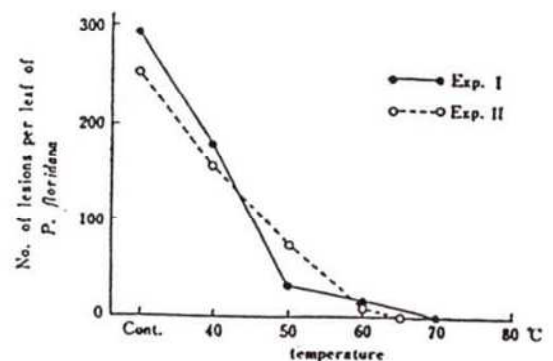
耐熱性: 60~65℃, 10 分で不活化した (第 2 図)。タバコの全身感染の結果もこれと同様であった。

耐希釈性: リン酸緩衝液を用いて希釈した結果、10,000 倍付近で感染性を失った (第 3 図)。

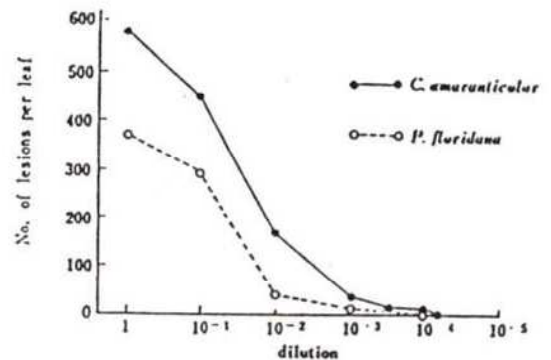
耐保存性: 25℃ で保存したとき 5~6 日で感染性が失われた (第 4 図)。

EDTA および DIECA の影響: 感染葉磨碎時に 0.1M リン

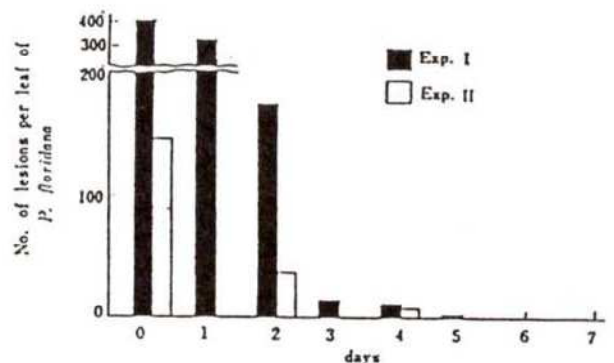
酸緩衝液と、また同緩衝液に 0.01M の EDTA (Na-ethylenediamin tetraacetic acid) および DIECA (Na-diethyldithiocarbamate) をそれぞれ加えたものについて、*P. floridana* および *C. amaranticolor* の局部病斑数に及ぼす影響を、半葉法で調べた。EDTA は *C. amaranticolor* で 186/138 (処理葉 1 葉当たり病斑数/対照葉 1 葉当たり病斑数)、*P. floridana* で 33/21 と病斑数の増加を示し、DIECA ではそれぞれ 125/103、26/27 で差は認められなかった。



第 2 図 PVY-A1 感染タバコ葉磨碎汁の耐熱性



第 3 図 PVY-A1 感染タバコ葉磨碎汁の耐希釈性



第 4 図 PVY-A1 感染タバコ葉磨碎汁の耐保存性

めらは菱またな症岡たれた

各種したの差では黄色では輪タバヒが

第6表 PVY-A1の接種による各種植物の反応

供試植物	病徴		戻し 接種
	接種葉	全身葉	
タバコ 水戸3号	chs,ns	chs,ns,(vb)	+
(品種) バーレー21	chs,ns	chs,ns,(vb)	+
Ky57	chs,ns	chs,ns,(vb)	+
Judy's Pride (No.1)	chs,ns	chs,ns,(vb)	
Virgin A	chs,ns	chs,ns,(vb)	+
Mutant Virgin A	0	0	-
TI 1406	0	0	-
ブライトエコー	0	vb,(chs)	+
Xanthi nc	ns,chs	chs,ns	
Holme's Samsun	ns,chs	chs,ns,(vb)	+
Bel-W3	ns	chs,(vb)	+
6605	chs	chs,(vb)	+
だるま	ns,chs	ns,chs,(vb)	
桑野だるま	ns,chs	ns,chs,(vb)	+
桐々作	ns,chs	ns,chs,(vb)	
松川	ns,chs	ns,chs,(vb)	+
遠州	faint chs, (ns)	faint chs	+
<i>Nicotiana glutinosa</i>	0	vc	+
<i>N. clelandii</i>	0	vc,(vb)	
<i>Physalis floridana</i>	ns	ns,n,mal	+
<i>P. peruviana</i>	0	vc,(y)	+
ジャガイモ (Xウイルスフリー男爵)	ns	n,ns	+
ジャガイモ (男爵)	ns	n,ns	+
<i>Solanum demissum</i> A-6	n,ns	n,ns,(y)	+
<i>S. nodiflorum</i>	0	0	
ピーマン (California Wonder)	0	m	
トウガラシ (鷹の爪)	ns	ns	+
<i>Capsicum annuum</i> var. <i>acuminatum</i>	0	m,(n)	
<i>C. annuum</i> var. <i>longum</i>	0	m,(n)	
<i>C. fastigiatum</i>	0	m	
<i>Datura stramonium</i>	0	0	-
<i>D. tatara</i>	0	0	-
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	ns	0	+
<i>C. capitatum</i>	ns	vc	+
<i>Cassia tora</i>	ns	0	+
ササゲ (黒種三尺)	0	0	-
インゲン (改良大手亡)	0	0	-
アズキ	0	0	
ソラマメ	0	0	
センニチコウ	0	0	-
キュウリ	0	0	-

注) chs:黄色斑点 vb:葉脈緑帯 ns:えそ斑点 n:えそ vc:葉脈透化 m:モザイク
mal:奇形 y:黄化
():まれに現れる病徴 * :接種葉だけからの戻し接種

4) アブラムシによる伝播

モモアカアブラムシを、PVY-A1に感染したタバコ上で2～3分吸汁させたのち、'Ky57' および 'ブライトエロー' 各5本に1本当たり5～10頭を移し、翌日殺虫剤を散布した。'ブライトエロー' 2本および 'Ky57' が1本感染した。

5) ジャガイモYウイルス系統間の干渉効果

PVY-C2との干渉：普通ガラス温室および17℃設定の空気調和ガラス室で、タバコに一次ウイルスとしてPVY-C2を接種後19～21日目に、二次ウイルスとしてPVY-A1を接種した結果、12本の植物のいずれもPVY-A1の症状を現さず、干渉効果は完全であった。対照の二次ウイルスのみを接種したタバコはいずれもPVY-A1特有の症状を示した。

PVY-MYとの干渉：PVY-C2と同様の方法でそれぞれ10本のタバコを用い、一次ウイルスとしてPVY-MYを接種後、それぞれ10日目、25日目、34日目に二次ウイルスを接種した3回の実験の結果、いずれも重複感染は認められず干渉効果は完全であった。

TEVとの干渉：PVY-A1はTEVと病徴の記載上似た点もあるので、一次ウイルスとしてPVY-A1を接種した後、18日目に二次ウイルスとしてTEVを接種した。それぞれ6本および10本のタバコを用いた2回の実験の結果、接種後6日目に二次ウイルスの奇形を含む症状が現われはじめ、全ての植物が重複感染し干渉効果は認められなかった。同時に二次ウイルスだけを接種した健全タバコは二次ウイルスの特徴的な症状を示した。

6) ウイルスの精製

17℃で育てたタバコにPVY-A1感染葉磨砕汁を接種後、7～14日目の接種葉および全身感染葉を切り取り、凍結後Wetter²⁴⁾の方法に準じてウイルスの精製を行なった。0.2%アスコルビン酸およびNa₂SO₃を加えて磨砕し、ガーゼでこしたのち、エーテルを加えて振盪し、CCl₄によってエーテルを除いた液について、分画遠心をくりかえして精製ウイルスを得た。精製ウイルス液は蛋白光を有し、色素の残留はほとんど認められなかった。紫外線吸収曲線はE.260nm/E.240nm (E.max./E.min.) = 1.43, E.260nm/E.280nm = 1.84の値を示し、リン酸緩衝液でうすめてタバコおよび*C. amaranticolor*に接種した結果、高い感染力が認められた。

7) 血清反応

上記の精製ウイルスを家兎1羽当たり、2 mlをアジュバントと等量混合して後肢筋肉に3回、1 mlを生理食塩水と等量混合して耳静脈に2回注射を行なって抗血清を得た。

微滴法 (microprecipitin test²⁵⁾) による力価は512であった。第7表に示すように、この抗血清はPVY-A1およびPVY-C2感染葉磨砕汁とも反応し、対照として行なったジャガイモXウイルス (PVX：北海道採集のタバコからの分離株) およびアルファルファモザイクウイルス (AMV-B) の磨砕汁とは反応しなかった。PVY-A1およびPVY-C2のそれぞれを同時に接種後、51日目の感染タバコ葉磨砕汁の低速遠心後の上清の比較では、抗血清希釈でPVY A1では256～512, PVY-C2では32～64倍で力価

第7表 PVY-A1 抗血清に対する各種抗原の反応

抗血清 抗原	PVY-A1								PVX		AMV	
	8	16	32	64	128	256	512	1024	2	4	2	4
A 1 (精製)	+++	++	+	+	+	+	±	-	-	-	-	-
A 1 (汁液)	+++	++	+	+	+	±	-	-	-	-	-	-
C 2 (汁液)	+++	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-
P V X (汁液)	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	-	-
A M V - B (汁液)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++

注) PVX抗血清はジャガイモ分離株、
AMV抗血清はAMV-B²⁶⁾

に差が認められた。交叉吸収試験は行なわなかった。本抗血清によってスライド上でも凝集反応がみられた。

8) ウイルス粒子の形態

タバコ感染葉のディップ法による電子顕微鏡観察ではPVY-A1およびPVY-C2いずれも長さ約700nmの糸状粒子が認められ、DN法²⁶⁾によっても明瞭な糸状粒子がみられた。また精製ウイルスについても同様な粒子が観察された(図版23)。

3. 考 察

平井ら^{54,55)}はわが国のジャガイモから分離されたPVY群の系統についてジャガイモに対する病原性に差があると報告している。これらの分離株はいずれもトルコタバコに葉脈緑帯のみを生じ、黄色斑紋またはえそを生ずるものは見出されていない。PVY-A1は実験の限りではタバコの病徴のほかは、宿主植物の反応による普通系との判別は困難である。

タバコにPVY-A1に似た病徴を示すウイルスにはtobacco etch virus (TEV) およびtobacco veinal necrosis virus (PVYのえそ系)がある。TEVとは干渉効果が認められないこと、および*P. peruviana*にえそ斑を生じない点で異なるウイルスと考えられる。tobacco veinal necrosis virus^{11,97,98,106,132,165)}またはTabak Rippenbräune Virus^{89,151)}はタバコの葉脈にえそを生ずる特徴があるが、PVY-A1では葉脈にえそを生ずることはなかった。都丸ら^{52,194)}のPVY-YSS(黄斑えそ系)が‘ブライトエロー’に黄斑およびえそを生じ、ホワイトパーレー系品種に葉脈緑帯のみを生ずるのに対して、PVY-A1はその逆の反応を示す点に特色がある。両者ともタバコ以外の植物の反応はよく似ている。黄色種とホワイトパーレー種で病徴が異なる例はTEVでも知られ、後者で病徴が激しいと報告されている¹⁶⁹⁾。

既報のPVYえそ系ウイルスとの性質を比較すると、次節の第10表に示すようにPVY-A1は耐熱性、耐希釈性とも高い方に属し、耐保存性は中間であるが、普通系よりはいずれの性質も強い。PVY-A1と普通系との干渉効果は完全であったが、既報のPVYえそ系の多くは他の系統に感染したタバコに重複感染し、干渉効果が不完全であるとされている¹¹⁾。

Bartels^{10,50)}はPVYの系統群として普通系、えそ系の他に、血清反応の性質から特異系(anomalous strain)を類別することを提唱し、タバコにえそを生ずる2種の系統をこれに類別している。この系統は抗血清の吸収試験の結果から、普通系とより密接な関係をもつと述べて

いる。PVY-A1は普通系とかなり近い類縁をもつが、PVY-A1の抗血清と普通系との反応が弱いことは、Bartels^{9,10,50)}のえそ系と普通系との反応の差に類似している。PVY-A1とtobacco veinal necrosis virus等えそ系との血清反応は調べていない。PVY-A1が特異系統群に入るか否かは明らかでなく、今後これら系統群との比較が必要と思われる。PVY-A1は、都丸らのタバコ黄斑えそ系の中の1系として取り扱うことにしたい。

トウガラシ‘鷹の爪’は、接種葉に局部病斑を生ずるので、*P. floridana*と同様にPVYの判別または定量宿主として有用である。また、本系統はタバコにおける病徴から、干渉効果試験の指示系統として用いることができる。

B. えそ系統 (PVY-T)

1. タバコにおける病徴および発生経緯

タバコにおける病徴は、葉脈にすじえそが現われ、このすじえそは葉裏で特に顕著である。葉柄部にもえそが現われることがあり、えその現われた葉は萎れて下垂する。上位葉あるいはえき芽では葉脈間に黄色斑点を生ずるが、ときには病徴がマスクして一見正常に近い葉を生ずることもある。発病葉はねじれたり、ちぢれたり葉縁が巻き込み奇形となることも多い(図版4)。比較的早期に感染したタバコでは、下葉から枯れ上がり収穫皆無になることもある。発病株は株全体の生育も劣り、根にも褐色のえそを生じて根張りが悪く、容易に引き抜けるものが多い。茎にすじえそを示す株もみられ、茎を割ると髓部にもえそ症状が認められる。

現地の調査によると、本病は1969年に香川県土庄町(小豆島)のタバコ畑に1圃場当たり数本の発生が認められ、翌1970年には散発的な発生とともに、畑によっては100~200本の小集団発生があった。1971年6月には土庄地区、観音寺地区、津田地区の各約1haのタバコに発生した。1972年には小豆島における本病の発生は拡大し、約35haにおよび、津田地区では4haに拡大した。

1971年7月および1972年に筆者らは土庄および津田地区の本病発生状況を調査した。その結果、本病の発生は5月中旬以降であり、土庄地域に栽培の多いジャガイモ(品種:雲仙)の畑に隣接するタバコ畑に多いことを認めた。また、ジャガイモ畑に近い畦ほど発生率が高い傾向がみられ、ジャガイモ畑から離れたタバコ畑では散発的な発生にとどまっていることが多かった。津田地区の発生もジャガイモ(品種:雲仙)に隣接する畑に多く、その他のジャガイモ品種には関係がないことを認めた。

本病の症状は激しく、被害も大きいためにタバコ栽培を断念する農家も現われる状況であった（図版4、5）。

2. 実験材料および方法

1971年に香川県の土庄、観音寺、津田地区で採集されたタバコ（品種：ヒックス2号）からの主に4分離株を供試し、代表株をPVY-Tとした。汁液接種には、ガラス温室で径12cmの植木鉢に育てた各種植物を用い、前節で述べた常法により接種をして、その反応を観察した。感染タバコ葉の磨砕汁とタバコ‘Ky57’を用いてウイルスの耐性を、モモアカアブラムシを用いてタバコからタバコへのウイルスの伝搬を調べた。ウイルス系統間の干渉効果試験には、前節のPVY-A1、PVY-C2および本ウイルス（PVY-T）を用い、タバコ品種Ky57またはブライトエローを供試した。PVY-A1の抗血清を用いて血清反応を調べ、ディップ法および半精製ウイルスについて電子顕微鏡観察をした。また、上記の本病発生畑周辺の他作物、雑草等を採集し、汁液接種によってPVY-Tの感染の有無を調べた。

3. 実験結果

1) 汁液接種による各種植物の反応および判別宿主

発病タバコ葉から分離したPVY-Tを、タバコの各品種に接種してそれらの反応を調べた。第8表に示すように、黄色種‘ブライトエロー’、パーレー種‘Ky57’、‘パーレー21’、トルコ種‘Samsun’、‘Xanthi nc’などを含む供試品種は、畑とはほぼ同様の症状を示した。接種後5～6日で上葉に葉脈透化症状を示し、次いで細脈および支脈に、少し遅れて主脈に条えそを生じた。この条えそは葉の裏面でより明瞭であった。夏季の高温時には上葉の病徴がマスクすることがあるが、上葉ではとくに葉先に黄色斑点を生じ、下葉は次第に枯れ上がってくる。茎にもえそを生じ、根は腐れを生じて張りが悪くなることも畑での病徴と同様であった（図版6、7）。幼苗に接種すると、ついには枯死することが多い。

ドイツおよびスイスで育成されたPVYえそ系に対する抵抗性品種（磐田たばこ試験場より分与）はPVY-Tに対しても抵抗性を示した。これらの品種のうちBursana No.1およびVinicaは20本中約半数が発病し、その他の品種では1～2本が発病したが、病徴の出現および進展は対照とした発病率100%の感受性品種より遅く、抵抗性であった。またPVYえそ系に対する抵抗性品種Virgin A mutantは実験の限りでは病徴も現われず、PVY-Tの感染も認められなかった。〔本研究の後に、人工気象室

内で育てたVirgin A mutantが本ウイルスに感染する例が知られた（久保私信）〕。

PVY-T感染タバコ葉の磨砕汁を各種植物に接種して、本ウイルスの宿主範囲を調べると共に、判別宿主を探索した。第8表に示すように、*Nicotiana*属8種、ジャガイモ、トマト、ホオズキ類、チョウセンアサガオ類等のナス科植物に全身感染が認めれた。タバコおよび*Nicotiana clelandii*以外のこれらの感受性植物は、タバコの病徴と異なって葉脈透化、モザイクなどの比較的軽い症状を示した。*N. clelandii*は条えそを含む激しい症状を示した。*Physalis floridana*は第9表に示すように、PVYの既往の系統では接種葉に局部えそ斑点と全身的にモザイク、えそ斑を示すが、PVY-Tは全身的なモザイクのみを示した。雲仙馬鈴薯原原種農場（現：種苗管理センター雲仙農場）から入手した原原種の雲仙ジャガイモはPVY-Tによって葉脈透化と軽いモザイクを示し、葉裏の支脈に軽い条えそを生ずる例もあったが、病徴は概して軽微であった。また、この原原種も約10個からウイルスの検出を試みたが、PVY-Tは検出されなかった。

接種葉に局部病斑のみを示す植物としてはクコ、*Solanum demissum* A6があり、後者は定量宿主としても利用できる。しかし、これら2種の植物はその他のPVY系統でも同様なえそ斑点を生ずるので、これらの植物のみではPVY-Tの判別はできない。従って判別宿主としてはタバコ、*S. demissum* A6、*P. floridana*、センニチコウなどを併用する必要がある。センニチコウにはPVY-Tは感染しないが、ジャガイモXウイルス（PVX）によって接種葉に局部えそ斑点を生ずるので、PVXの重複感染を検定するために必要である。筆者らの実験でPVYの各種系統とPVXとの重複感染によって、PVY-Tの単独感染に似た病徴を示すことが明らかにされているからである。

PVY-Tに感染しなかった植物にはササゲ、インゲン、*Chenopodium amaranticolor*、*C. quinoa*、トウガラシなどがある。*C. amaranticolor*はPVYのその他の系統に対しては接種葉に局部病斑を、またトウガラシは局部病斑および全身感染を生ずるのが普通である。

2) 粗汁液中のウイルスの安定性

感染タバコ葉の磨砕汁を用いて耐熱性、耐希釈性、耐保存性について検討した。ウイルス活性の検定はタバコ‘Ky57’幼苗への接種によった。耐熱性60～65℃（10分）、耐希釈性100万倍以上、耐保存性40日以上（25℃）であった。また、感染葉を室温で風乾した場合は71日以上活性が認められた。これらの性質から、第10表に示したように従来わが国のタバコに発生しているPVYの系統に比

第8表 PVY-Tの汁液接種による各種植物の反応

全身感染植物

タバコ品種 (ブライトエロー、ヒックス2号、Ky57、Xanthi nc、

Bel-W3、松川、だるま、桐々作、水戸3号、阿波)

タバコ抵抗性品種 (Burnica No.1, No.2, Bursana No.1, No.2, Vinica, Sota 27-6921, Monte Calme, Brown)

Nicotiana glutinosa, *N. affinis*, *N. alata*, *N. clevelandii*,*N. repanda*, *N. rustica*, *N. sanderae*, *N. sylvestris*ジャガイモ、トマト、*Physalis floridana*, *P. peruviana*, *Datura metel*

局部感染植物

クコ、*Solanum demissum* A6

非感染植物

ササゲ、インゲン、ソラマメ、センニチコウ、トウガラシ、*Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, *C. capitatum*, *N. glauca*, タバコ品種

(Virgin A mutant)

第9表 PVY各種系統の判別宿主における病徴

PVY系統	えそ系 PVY-T	黄斑えそ系 PVY-YSS 194) PVY-A1	普通系 PVY-C2	えそ系 Tobacco vein necrosis virus ⁽¹⁾⁽²⁾ Tabak Rippen bräune Virus ⁽³⁾	特異系 Anoma- lous strain ⁽⁴⁾
判別宿主					
タバコ	VN,N,YS	YS,N,(VB)	VB	VB,N	VN,N
<i>P. floridana</i>	M	L,N	L,N	M	L,N
<i>C. quinoa</i>	O	L	L	-	O
トウガラシ	O	L,N	L,N	O	+
ジャガイモ	mM,N	L,N	L,N	mM,(N)	L,N,(M)
トマト	(VN),EP	M	M	M	M,EP
クコ	L	L	L	L	L
<i>Datura metel</i>	M	O	M	M	M

注) VN:葉脈えそ N: えそ斑点 YS: 黄色斑点 VB: 葉脈緑蒂 M: モザイク

mM: 軽微なモザイク L: 局部えそ斑点 O: 感染せず +: 無病徴感染

EP: 葉柄下垂 (): 時に現れる病徴、品種によっても異なる

-: 試験なし

べて、ウイルス耐性が強いことが明らかである。

3) アブラムシによる伝搬

PVYはモモアカアブラムシ等のアブラムシによって伝搬される。PVY-Tの伝搬についてモモアカアブラムシを用いて調べた。あらかじめ2時間絶食させたモモアカアブラムシを、PVY-Tに感染したタバコ 'Ky57' で1~5分吸汁させた後、4~20頭を健全タバコ 'Xanthi nc'、'ブライトエロー'、'Ky57' に毛筆で移し、24時間後

に殺虫剤を噴霧した。対照として、感染植物を吸汁させないアブラムシを同様に供試した。第11表に示すように、本ウイルスはタバコからタバコに容易に伝搬された。この伝搬はCMVと同様に非永続的と考えられる。また発病株の根圏土壌をとり、タバコの幼苗を移植したところ供試5本中3本が発病したので、発病株の引き抜き直後では土壌中に残存したウイルスによる感染もあるものと思われた。しかし、同じ根圏土壌について3ヵ月

第10表 粗汁液中のPVY各種系統の安定性

PVYの系統	報告者（年次）	耐熱性	耐希釈性	耐保存性
tobacco veinlet necrosis virus	Smith and Dennis (1940) ^{14,15)}	50 °C	8×10^{-3}	<1日
tobacco veinlet necrosis strain	Nobrega and Silb- erschmidt(1944) ^{16,17)}	58	$>10^{-3}$	>27
タバコ黄斑えそ系： tobacco yellow spotted streak strain(PVY-YSS)	都丸・日高(1953) 1963)	53~55	5×10^{-3}	3~4
Tabak Rippenbräune Virus	Klinkowski and Schmelzer(1957) ¹⁸⁾	60~62	$>5 \times 10^{-4}$	>50
PVY anomalous strain (特異系)	Bartels(1964) ¹⁹⁾	58~60	10^{-4}	>5
タバコ黄斑えそ系： tobacco yellow spotted streak strain(PVY-A1)	都丸・宇田川(1968) 209, 212)	60~65	$>10^{-4}$	5~6
普通系：ordinary strain (PVY-C2)	都丸・宇田川(1968) 209, 212)	55~60	$10^{-2} \sim 10^{-3}$	2~3
タバコえそ系： tobacco necrotic strain (PVY-T)	宇田川・都丸(1972) 189, 229)	60~65	$>10^{-4}$	>40

後の移植実験では感染は認められなかった。

4) ジャガイモYウイルス系統間の干渉効果

わが国のタバコから分離されたPVYの各系統を用いて、PVY-Tとの干渉効果を検討した結果を第12表に示す。PVY-A1とPVY-C2（普通系）との干渉効果は完全であることは前節で述べたが、本実験の結果から、PVY-Tはその他の系統とは異なって、他系統との干渉効果は完全ではなく、互いに重複感染することが明らかとなった。また、重複感染株はPVY-T単独のものより病徴の進展が遅く病徴も軽い傾向があった。これらの結果は、本ウイルスがPVY群ウイルスとしては特異な系統であることを示すとともに、病徴の軽い普通系に感染したタバコもPVY-Tに重複感染することを示している。

5) 血清反応

PVY-A1の抗血清を用い、微量法によってPVY-Tとの血清反応を調べた。PVY-A1とPVY-Tの感染葉磨碎汁および半精製ウイルスは、この抗血清といずれも血清希釈で512倍まで陽性反応を示した。この結果からPVY-Tは

PVY群に属するウイルスであることが明らかとなった。

6) ウイルス粒子の形態

感染葉から得られる汁液を直接および分画遠心による精製ウイルスを電子顕微鏡観察した結果、長さ約730nmの糸状粒子が認められた（図版23）。

7) タバコ畑周辺の各種植物からのPVY-Tの検出

小豆島の土庄、香川県観音寺および津田地区の本病発

第11表 モモアカアブラムシによるPVY-Tの伝搬

実験	ウイルス源 植物	接種植物	植物1本当 り供試アブ ラムシ数	発病本数/ 供試本数	
				処 理	対 照
I	Ky57	Xanthi nc	4	4/10	0/5
II	Xanthi nc	Ky57	10	6/24	-
III	Ky57	Ky57	20	12/12	0/8

第12表 PVY-TとPVY各系統との干渉効果

実験	1 次 ウイルス	2 次 ウイルス	供試タバコ 品 種	接 種 間 隔 (日)	2 次ウイルス 感染本数 / 供試本数
I	PVY-A1	PVY-T	Ky57	7	2/2
II	PVY-T	PVY-A1	Ky57	10	2/2
III	PVY-C2	PVY-T	ブライトエロー	16	16/16
IV	PVY-C2	PVY-T	Ky57	16	16/16
V	PVY-T	PVY-C2	Ky57	58	6/6
VI	PVY-T	PVY-C2	ブライトエロー	58	11/11

注) 1次ウイルス、2次ウイルスのみをそれぞれ接種した各植物は、各ウイルスの典型的病徴のみを示し、無接種の対照植物は実験期間を通じて健全であった。

生畑周辺の他作物および雑草類を採集し、判別宿主に汁液接種してPVY-Tの感染の有無を検定した。結果を第13表に示した。採集した植物の多くはウイルス病と思われる症状を示したものであるが、ジャガイモを除いてPVY-Tの分離された植物はなかった。ナス科植物のトマト、ピーマン、ナスなどからはCMVの分離される例が多く、ジャガイモからはジャガイモXウイルス(PVX)が分離される例も多かった。しかし供試した植物数が少ないので、本例だけでは現地のジャガイモを除くこれらのPVY感受性植物が感染していないとは言い切れない。

4. 考 察

筆者らは香川県の発病タバコから分離されたウイルスについて検討し、PVYの新しい系統によることを明らかにした。また、同じウイルスがジャガイモ品種「雲仙」の現地栽培のものからも分離されることを示した。香川県農業試験場による発生調査によってもジャガイモ「雲仙」が発生源となることが確認された^{222,231)}。一方、専売公社四国支社(現:日本たばこ高松原料本部)では香川県畑作園芸課を窓口として県との共同防除に当たった。しかし、1973年および1974年には本病の発生は拡大し、1974年には農林省による「特殊病害虫緊急防除事業」が土庄町を主体として発足し、翌1975年の2年にわたって防除事業が行なわれた。この事業によって、雲仙種ジャガイモの種子更新やアブラムシ防除などの防除対策が徹底し、本病の発生は終息した。

その後は散発的な発生に止まっていたが、岡山県下のタバコにも少数ながら発生が認められていた^{134,173)}。その後、都丸ら^{200,201,205)}、鈴木ら¹⁷⁴⁾によって東北地方のタバコで研究が行なわれ、1981年頃から青森県、福島県

第13表 野外における各種植物のPVY-Tによる自然感染の検定

PVY-Tが検出された植物: タバコ、ジャガイモ
 PVY-Tが検出されなかった植物: サトイモ、サツマイモ、カラスウリ、フキ、インゲン、ウシハコベ、ツユクサ、チョマ、カタバミ、イヌビユ、イノコズチ、ナス、トマト、ピーマン

などのタバコ、久保ら¹¹²⁾により栃木県のタバコ(品種: パーレー21, 白遠州など)から本ウイルスが分離された。これらはタバコ畑において大きな被害をもたらしたものであり、同時にジャガイモからも本ウイルスが分離された。

PVY-Tは、①ウイルス粒子の形態が長さ約730nmの糸状である。②アブラムシによって非永続的に伝搬される。③宿主範囲がナス科植物に限られ、*S.demissum* A6およびクコの接種葉に局部えそ斑点を生ずる。④血清反応で既往のPVYと陽性反応を示す。以上の点からPVY群に属するウイルスと同定した。また、本ウイルスはPVYの系統としては次の点で特異性をもっている。①タバコの病徴がえそを伴って激しい。②耐保存性が強く、汁液は40日、風乾葉では70日以上も病原性を保持する。③PVYの他の系統との干渉効果が完全でなく、相互に重複感染する。④普通にPVYの特徴とされる*C.amaranticolor*, トウガラシ「鷹の爪」、*P.floridana*などの接種葉に局部えそ斑点を生じない。

このような性質をもつPVY-Tは第9表および第10表に示したように、ヨーロッパおよび南アメリカで報告されているPVYえそ系(Tabak Rippenbräune Virus, tobacco vein necrosis virus)に判別宿主の病徴およびその他の性質で似ている点が多い。PVYえそ系はヨーロッパのタバコにおける最も被害の大きいウイルスとされ、1954年頃からタバコのほかジャガイモおよびトマトに発生し、タバコでは抵抗性品種が育成されている。PVYえそ系に抵抗性を持たないタバコはヨーロッパでは栽培品種として不適当とされている。本実験結果のように、これらの抵抗性品種がPVY-Tに対してもある程度の抵抗性を持っていることは、逆に本ウイルスがヨーロッパのPVY necrotic strainに近いことを示すものであろう。

ヨーロッパではPVY necrotic strainのほか、タバコに葉脈えそと葉脈緑帯を示し、宿主範囲においてやや異なる系統がトマト等から分離され、anomalous strain(特異系)と呼ばれている^{10,50,63)}。これらの系統はえそ系と普通系の間接的な性質を示し、血清反応も普通系に近い。この系統との異同についてはさらに検討が必要で

あるが、*P. floridana*および*C. amaranticolor*の反応がPVY-Tとは異なっている。わが国では最近、亀谷ら⁷⁹⁾が激しいえそを示す神奈川県のとまとからPVYのえそ系を分離し、PVYえそ系単独かPVY普通系との重複感染によってとまとにえそを生ずるとしている。

第10表などにも示したように、わが国のタバコからは普通系のほか、黄斑えそ系としてPVY-YSS, PVY-A1が分離されている。PVY-Tはこれらの黄斑えそ系とは異なる点が多いので、海外の例にならってえそ系 (necrotic strain) とし、病名はタバコ黄斑えそ病として、普通系によるものと区別することとした。

前章でも述べたように、黄斑えそ系 (PVY-A1) および普通系 (PVY-C2) による病害の、タバコにおける発生はTMVやCMVに次いで多い。PVY-Tはこれらに比べて病原性も強く、アブラムシ伝播も容易である上に接触伝染の危険性もあるので、今後の発生拡大に注意する必要がある。

V アルファルファモザイクウイルス (alfalfa mosaic virus)

1. 実験材料および方法

1) 供試材料：AMVが分離された採集供試材料は第14表に示したように、1960年から1967年にかけて、神奈川、北海道、福島、栃木、長野県の、タバコ品種「ブライトエロー」、「ハローベルベット」、「白だるま」、「白桐」等にわたり、計12分離株を得た。

2) 各種植物への接種：採集したAMVのBy1, By2, K1, K5およびAMV-B等のタバコ感染葉にリン酸緩衝液 (0.1M, pH7.0) を加えて磨砕し、綿球を磨砕汁に浸して、あらかじめカーボランダム (500メッシュ) をふりかけた径12cm鉢植えの各種幼植物になすりつけ接種した。実験は普通ガラス温室で行い接種後約4週間は観察を続け、それぞれ戻し接種をして感染の有無を確かめた。供試株は数種判別宿主によって単一のウイルスであることを確かめた。

3) 粗汁液中のウイルスの安定性：AMV-By2をタバコ「Ky57」に接種後7～15日の全身感染葉をとり、磨砕汁を2mlずつ40℃～80℃、10分間処理し、リン酸緩衝液で5倍に希釈し「Ky57」およびササゲに接種して、これらの全身感染によって耐熱性を検討した。同様に磨砕汁をリン酸緩衝液で段階希釈して耐希釈性を、磨砕汁に5倍の蒸留水を加えて25℃設定に保存し、接種時に等量のリン酸緩衝液を加えて耐保存性を検討した。実験は

25℃設定空気調和ガラス室で行なった。

4) 干渉効果：ササゲの初生葉にAMV-By2を1次ウイルスとして接種11～39日後の、本ウイルスに全身感染した複葉に、2次ウイルスとしてAMV-BまたはAMV-K5を接種し、局部病斑数によってウイルスの干渉効果を調べた。実験は25℃設定空気調和ガラス室で行なった。

5) 血清反応：AMV-By2, AMV-BおよびAMV-California株の各抗血清^{184,204)}を用い、各ウイルス株を「Ky57」に接種後10日目の全身感染葉を、-20℃で凍結後磨砕したものを抗原として、微滴法および寒天拡散法で試験した。微滴法では抗血清を生理食塩水で希釈し、37℃に2時間incubate後判定し、寒天拡散法では室温に1～2日放置して判定した。AMV-By2抗血清は、精製ウイルスとアジュバントとを2.5mlずつ等量混合して、家兎の後肢筋肉に4回、生理食塩水と1.5mlずつ等量混合して、耳静脈に2回注射をくりかえした後、全採血して調整した。その他の抗血清は研究室保存のものを用いた。

6) ウイルスの精製：AMV-By2をタバコ「Ky57」に接種後11～12日の全身感染葉を採取し、Gibbsら³⁵⁾の方法に準じ、リン酸2ナトリウム、アスコルビン酸、クロロホルム、酢酸アンモニウムを用い、超遠心分離機 (Spinco L) による分画遠心によってウイルスの精製を行った。

2. 実験結果

1) 採集時のタバコの病徴

アルファルファモザイクウイルス (AMV) による畑におけるタバコの病徴は白色または褐色のえそ斑点、輪紋、半円形えそ、電光型黄斑、黄色輪紋や斑点、軽いモザイク症状、葉脈緑帯など変化に富むものであった (図版8, 9)。Ⅲ章でも述べたようにキュウリモザイクウイルス (CMV)、ジャガイモYウイルス (PVY)、ジャガイモXウイルス (PVX) 等との重複感染も認められた。

2) 汁液接種による各種植物の反応および判別宿主 各分離株について試験したが、これらの代表株AMV-By2, AMV-K5, AMV-Bについて第15表a～cに示すように、6科17属49種の植物に汁液接種した結果、タバコ各品種、*Nicotiana*属、*Physalis*属、*Datura*属、ナス、ジャガイモ、トウガラシ、ソラマメ、エンドウ、アズキ、アルファルファ、*Chenopodium*属、キュウリ、センニチコウ等にはいずれの株も同様の病徴を示した。ササゲ (品種：黒種三尺) およびインゲン各品種では、AMV-By2, AMV-By1は接種葉に黄色輪紋、黄色斑点、不整型えそ輪紋等を生じ、全身的に鮮やかな黄色モザイク症状およ

第14表 AMVが分離されたタバコ

分離株	タバコ品種	採 集 場 所	採集年月	病 徴
By1	ブライトエロー	神奈川県伊勢原町 高部屋	1965.7	白色または褐色のえそ斑点、輪紋、 半円形えそおよび軽いモザイク
By2	"	"	"	"
K1	ハローベルベット	北海道栗山	1965.8	白色または褐色のえそ斑点、輪紋、半円 形えそ、軽いモザイクおよび電光型黄斑
K5	"	"	"	"
U1	白だるま	栃木県小山	1965.6	黄色の輪紋、斑点および軽いモザイク
U2	"	"	"	黄色輪紋およびえそ斑点
N1	白桐	長野県小諸	1967.7	白色のえそ斑点および電光型えそ
S1	白だるま	福島県白河	1967.8	黄色斑点
S2	"	"	"	黄色斑点および電光型えそ
S3	"	"	"	モザイクおよび葉脈緑帯
S4	"	"	"	黄色およびえそ輪紋
AMV -B ¹ ・ ²	パーレー 育成系統	福島県田村郡	1960.7	黄色輪紋および電光型黄斑

び奇形、えそを生ずる特徴があった。AMV-K1, AMV-K5, AMV-Bはこれらの接種葉に明瞭な茶褐色の局部えそ斑点を生じ、全身感染はしなかった。

タバコ計19品種を用いた結果、TI448Aを除く全ての品種が接種葉に白色えそ斑点および輪紋、全身的に白色えそ斑点、輪紋、黄色モザイク等を示し、ウイルス株による差異は認められず、また、過敏感品種または抵抗性品種は見い出されなかった。TI448Aは接種葉に病徴を示さず、全身にかすかなモザイクとまれにうすい白色えそ輪紋を生じ、他の品種にくらべて病徴が軽かった。'Judy's Pride No.1', 'パーレー21', '白だるま', '白桐', 'Holme's Samsun', 'ハローベルベット'は他の品種よりも激しい症状を示した。タバコではふつう初期症状は顕著であるが、しだいに病徴はかくれ、感染約1カ月後頃はほと

んど無病徴となることが多かった(図版10)。Nicotiana属30種でも、ウイルス株による反応の差異はほとんど認められなかった。N.alata, N.noctiflora, N.sanderae, N.suaveolensは症状が軽微で、N.langsdorfii, N.paniculata, N.repanda, N.trigonophyllaは比較的激しい症状を示した。N.affinis, N.glauca, N.nudicaulis, N.plumbaginifolia, N.sylvestris, N.trigonophyllaは黄色モザイクを示した。

トマト(品種: Potentate), Lycopersicon peruvianumにはAMV-By2およびAMV-By1は全身感染しないが、AMV-K5およびAMV-Bは葉脈えそを生じ全身感染する。トマトの供試したその他の5品種ではいずれの株も接種葉にえそ斑のみを示し、全身感染しなかった。

第15表a 汁液接種による各種植物の反応（タバコ品種とタバコ属植物）

供試植物	AMV - B y 2			AMV - K S			AMV - B		
	L	S	R	L	S	R	L	S	R
タバコ品種									
ブライトエロー	Wns, Wnr	Wns, Wnr, m,cha	+	Wns, Wnr	Wns, Wnr, m,cha	+	Wns, Wnr	Wns, Wnr, m,cha	+
ヒックス	"	"	+	"	"	+	"	"	+
Judy's Pride (No.1)	"	"	+	"	"	+	"	"	+
パーレー21	"	"	+	"	"	+	"	"	+
Ky57	"	"	+	"	"	+	"	"	+
水戸3号	"	"	+	"	"	+	"	"	+
白だるま	"	"	+	"	"	+	"	"	+
白桐	"	"	+	"	"	+	"	"	+
Holme's Samsum	"	"	+	"	"	+	"	"	+
T1448A	0	vc, faint nr, faint m	+	0	vc, faint nr, faint m	+	0	vc, faint nr, faint m	+
松川	Wns, Wnr	Wns, Wnr, m,cha	+	Wns, Wnr	Wns, Wnr, m,cha	+	Wns, Wnr	Wns, Wnr, m,cha	+
桑野	"	"	+	"	"	+	"	"	+
桑野だるま	"	"	+	"	"	+	"	"	+
だるま	"	"	+	"	"	+	"	"	+
遠州	"	"	+	"	"	+	"	"	+
阿波	"	"	+	"	"	+	"	"	+
ハローベルベツト	"	"	+	"	"	+	"	"	+
Virgin A	"	"	+	"	"	+	"	"	+
Mutant Virgin A	"	"	+	"	"	+	"	"	+
<i>Nicotiana acuminata</i>	Wnr	vc,Wns, faint m		Wnr	vc,Wns, faint m		Wnr	m,Wns, faint m	
<i>N. affinis</i>	0	vc,m,Ym		Wnr, Wns	vc,m,Ym		Wns, Wnr, Wns	vc,m,Ym	
<i>N. glauca</i>	0	vc, faint m, stunt	+	0	vc, faint m, stunt	+	0	vc, faint m, stunt	+
<i>N. glauropurpurea</i>	0	vc, faint m, stunt		Wnr	vc, faint m, stunt		Wns	vc, faint m, stunt	
<i>N. benavidesii</i>	Wnr	m,vy		Wnr	m,vy		Wnr	m, severe Ym	
<i>N. benthamiana</i>	0	clear m		ns, nr	clear m		ns, nr	clear m	
<i>N. bigelovii</i>	nr, ns	chr, faint m		nr, ns	chr, faint m		nr, ns	m,cha, Wns,Wnr	
<i>N. clevelandii</i>	Wnr, Wns	Wns, vc, clear m		Wnr, Wns	Wns, vc, clear m		Wnr, Wns	Wns, vc, clear m	
<i>N. debneyi</i>	Wns, chs	m,Wns		Wns, chs	m,Wns		Wns, chs	m,Wns	
<i>N. excelsior</i>	nr	Wns, Wnr, faint m		nr	Wns, Wnr, faint m		nr	Wns, Wnr, m	+
<i>N. glauca</i>	0	faint chs, Ym		0	chs,chr, Ym		0	chs,chr, Ym	
<i>N. glutinosa</i>	Wns, chs	Wns, Wnr, vc,m	+	Wns, chs	Wns, Wnr, vc,m	+	Wns, chs	Wns, Wnr, vc,m	+
<i>N. langsdorffii</i>	Wns, Wnr	Wnr, severe Wns, severe m		Wns, Wnr	Wnr, severe Wns, severe m		Wns, Wnr	Wnr, severe Wns, severe m	
<i>N. maritima</i>	nr	ns,vc, faint m	+	n	vc, faint m	+	nr	ns,vc, faint m	+
<i>N. noctiflora</i>	0	faint m, faint n	+	0	faint m, faint n	+	0	faint m, faint n	+
<i>N. nudicaulis</i>	0	Wns, faint Ym		0	Wns, faint Ym		0	Wns, faint Ym	
<i>N. otophara</i>	0	m,Wns		0	m,Wns		0	m,Wns	
<i>N. palmeri</i>	0	vc,chs		0	vc,chs		0	vc,chs	
<i>N. paniculata</i>	Wns	vc, severe Wns		Wns, Wnr	vc,m,Wnr, severe Wns		Wns, Wnr	vc,m,Wnr, severe Wns	

供試植物	供試株	A M V - B y 2			A M V - K 5			A M V - B		
		L	S	R	L	S	R	L	S	R
<i>N. pauciflora</i>		faint chs	m, Wns, rugose		faint chs	severe m, Wns, rugose		faint chs	severe m, Wns, rugose	
<i>N. petunioides</i>		0	vc, chs, faint m		0	severe m		Wns, Wnr, chs	vc, Ym, stunt, severe Wnr	
<i>N. plumbaginifolia</i>		Wns	vc, Ym		Wns	vc, Ym		Wns	severe Ym	
<i>N. raiondii</i>		Wns	vc, ns, faint m		Wns	vc, ns, faint m		Wns, Wnr	vc, m, n, mal, severe Ym	
<i>N. repanda</i>		nr	severe Wnr, Wns, m		nr	severe Wnr, Wns, m		nr	severe Wnr, Wns, m	
<i>N. rustica</i>		0	Wns, m, faint chr		0	Wns, m, faint chr		0	Wns, m, faint chr	
<i>N. sanderae</i>		0	vc, faint m	+	0	vc, faint m	+	Wnr, chs	vc, faint m	+
<i>N. solanifolia</i>		0	vc, m, Wns		0	vc, m, Wnr		0	vc, m, Wnr	
<i>N. suaveolens</i>		0	faint m, ns	+	0	faint m, ns	+	0	faint m, ns	+
<i>N. sylvestris</i>		Wns, Wnr	vc, Wns, Wnr, chs, chr, Ym	+	Wns, Wnr	vc, Wns, Wnr, chs, chr, Ym	+	Wns, Wnr	vc, Wns, Wnr, chs, chr, Ym	+
<i>N. trigonophylla</i>		Wnr, Wns	Wns, Ym, severe Wns, mal		Wnr, Wns	Wns, Ym, severe Wns, mal		Wnr, Wns	Wns, Ym, severe Wns, mal	

注) L:接種葉 S:全身葉 R:戻し接種 Wns:白色えそ斑点 Wnr:白色えそ輪紋 Wn:白色えそ Ym:黄色モザイク
chs:黄色斑点 chr:黄色輪紋 ns:えそ斑点 nr:えそ輪紋 n:えそ m:モザイク mal:奇形 vc:葉脈透化
vy:葉脈黄化 vn:葉脈えそ +:感染あり -:感染なし 0:病徴なし 1.1:数えうる局所えそ斑点 faint:軽微な
severe:激しい stunt:わい化 rugose:縮葉

第15表b 汁液接種による各種植物の反応 (タバコ属以外のナス科植物)

供試植物	供試株	A M V - B y 2			A M V - K 5			A M V - B		
		L	S	R	L	S	R	L	S	R
<i>Physalis floridana</i>		Wn	Ym	+	Wn	Ym	+	Wn	Ym	+
<i>P. peruviana</i>		0	Ym	+	0	Ym	+	0	Ym	+
<i>Datura stramonium</i>		0	Ym	+	0	Ym	+	0	Ym	+
<i>D. tatula</i>		0	Ym	+	0	Ym	+	0	Ym	+
トマト	ポンテローザ	faint n	0	-	ns	0	-	ns	0	-
	ファースト	"	"	-	"	"	-	"	"	-
	ヨーズ	"	"	-	"	"	-	"	"	-
	松戸ボンデ	"	"	-	"	"	-	"	"	-
	興達3号	"	"	-	"	"	-	"	"	-
	Potentate	faint n	0	-	vn	vn	+	vn	vn	+
<i>Lycopersicon</i>										
<i>peruviana</i>		0	0	-				vn	vn	+
ナス		0	vc, m	+	0	vc, m	-	0	vc, m	+
ジャガイモ (PVX free 男爵)		n, ns	faint n	+	n, ns	faint n	+	n, ns	faint n	+
<i>Solanum nodiflorum</i>		0	chs	+						
<i>Solanum</i> sp. fox face		vy	Ym, m	+	vy	Ym, m	+	vy	Ym, m	+
トウガラシ (鷹の爪)		0	m	+	0	m	+	0	m	+
<i>Capsicum annuum</i>										
var. <i>acuminatum</i>		n, ns	n, m, mal	+						
<i>C. ann.</i> var. <i>longum</i>		n, nr	n, m, mal	+						
<i>C. fastigiatum</i>		0	m, mal	+						
<i>C. frutescens</i>										
(California Wonder)		0	n, m, mal	+				0	n, m, mal	+

備考) 第15表aの注) 参照

第15表c 汁液接種による各種植物の反応（マメ科およびその他の植物）

供試植物	供試株	AMV-By2			AMV-K5			AMV-B		
		L	S	R	L	S	R	L	S	R
ササゲ（黒種三尺）		chs, chr, ns, nr	Ym, n, mal	+	l. l	0	-	l. l	0	-
インゲンマメ （鈴成他8品種）		chs, chr, ns, nr	Ym, n, mal	+	l. l	0	-	l. l	0	-
ソラマメ		ns, n	ns, n, m	+	ns, n	ns, n, m	+	ns, n	ns, n, m	+
エンドウ		n	m	+	ns	m	+	ns	m	+
ダイズ（十勝長葉）		0	Ym	+	l. l	Ym	+	l. l	Ym	+
（農林4号）		0	Ym	+	l. l	Ym	+	l. l	Ym	+
アズキ（早生小豆）		0	Ym	+	0	Ym	+	0	Ym	+
アルファルファ		0	m	+	0	m	+	0	m	+
<i>Cassia tora</i>		0	0	-						
<i>Chenopodium amaranticolor</i>		chs, us	m	+	chs, ns	m	+	chs, ns	m	+
<i>C. quinoa</i>		chs, ns	m, chs	+	chs, ns	m, chs	+	chs, ns	m, chs	+
<i>C. capitatum</i>		chs, ns	vc	+	chs, ns	vc	+	chs, ns	vc	+
キュウリ（相模半白）		Wns, Wnr	chs, Wns, faint m	+	Wns, Wnr	chs, Wns, faint m	+	Wns, Wnr	chs, Wns, faint m	+
（National Pickling）		Wns, Wnr	0	-	Wns, Wnr	0	-	Wns, Wnr	0	-
（Chicago Pickling）		Wns, Wnr	0	-	Wns, Wnr	0	-	Wns, Wnr	0	-
センニチコウ		ns	Ym, n, ns	+	ns	Ym, n, ns	+	ns	Ym, n, ns	+
ゴマ		0	0	-	0	0	-	0	0	-

備考）第15表aの注）参照

ササゲおよびインゲンではAMV-By2, AMV-By1とAMV-K1, AMV-K5, AMV-Bとでは、前者は全身的なモザイクを生じたが、後者は接種葉のえそ斑点のみを示し、その反応には明らかな差異が認められた（図版11, 12）。ダイズ（品種：十勝長葉，農林4号）では各株ともに全身的黄色モザイクを生ずるが、AMV-K1, AMV-K5, AMV-Bは接種葉にも局部えそ斑点を生じた。キュウリの「相模半白」はいずれの株でも全身感染するが、その他の品種では全身感染は生じなかった。供試した植物のうち、感染のまったく認められなかったものにゴマがある。

インゲン各品種の反応を比較検討するために、「Ky57」に接種後10日目の各分離株感染葉をとり、インゲン9品種それぞれ6～10個体になすりつけ接種した。代表株について第16表に示すように、AMV-By2, AMV-By1では接種葉および初期の全身感染の症状に品種間差異が認められた。すなわち、「鈴成」、「黒衣笠」、「改良大手」は接種葉の黄色輪紋、えそ輪紋等が比較的強く、初期の全身的モザイク、えそ症状等は軽い。「大虎」、「バウンティフル」、

「大丸うずら」（葉色は黄味、形は大、葉肉は薄い）では接種葉の症状は軽いかほとんど現われず、初期の全身症状が強い。「尺五寸」、「江戸川」、「トップクローブ」はいずれも中程度の反応を示した。しかし各品種とも後期には全身的に鮮やかな黄色モザイク症状を示すことには変わりなかった。AMV-K1, AMV-K5, AMV-Bは用いたインゲン各品種の接種葉に明瞭なえそ斑点（local lesion）のみを生じ、品種間の差異は認められなかった。AMVのU1, U2, N1, S1, S2, S3, S4は全て、供試した植物にAMV-K1, AMV-K5およびAMV-Bと同様の反応を示し、これらと同系統と思われた。

ジャガイモではどの供試株でも、えそ性の病斑のほかはジャガイモキャリコ病^{15,102)}に見られるような黄斑は観察されなかった。

3) 粗汁液中のAMV-By2の安定性

第17～19表に示すように、AMV-By2感染タバコ葉磨碎汁の耐熱性60～65℃、10分、耐希釈性リン酸緩衝液で10⁻⁵付近、耐保存性は25℃で3～4日であった。

第16表 AMVの系統に対するインゲンマメ各品種の反応

品 種	供試株	AMV-By2		AMV-K5		AMV-B	
		L	S	L	S	L	S
鈴成		+++	++	1.1	0	1.1	0
黒衣笠		+++	+	1.1	0	1.1	0
改良大手亡		+++	+	1.1	0	1.1	0
尺五寸		++	++	1.1	0	1.1	0
江戸川		++	++	1.1	0	1.1	0
Top-Crop		++	++	1.1	0	1.1	0
大虎		+	+++	1.1	0	1.1	0
Bountiful		+	+++	1.1	0	1.1	0
大丸うずら		±	+++	1.1	0	1.1	0

注) L:接種葉 S:全身葉 +++~±:黄色斑点、輪紋およびえそ斑点、輪紋の程度
 1.1:数えうる局部えそ斑点 0:病徴なし 各品種とも6~10個体を供試した。
 By1, By2 株は各品種とも全身的に黄色モザイク症状を生じた。

4) AMV-By2の種子伝染

AMV-By2に感染したササゲの種子を採取し、径12cmの植木鉢に4~5粒ずつ計142粒播種し、普通ガラス温室で77日まで観察を続けた結果、病徴を示す個体は全く現われなかった。このうち10個体の複葉を取り、'Ky57'およびササゲに戻し接種し、別の10個体の複葉にAMV-Bを接種してウイルスの干渉効果を調べた結果、前者ではウイルスは回収されず、後者ではAMV-Bとの干渉効果は認められなかった。実験の限りでは、AMV-By2はササゲでは種子伝染しないものと思われる。

5) アルファルファモザイクウイルス系統間の干渉効果

第20表に示すように、AMV-By2を1次ウイルスとしたAMV-BおよびAMV-K5との干渉効果は100%であった。従って、これらはいずれも近縁な系統と考えられる。

6) 血清反応

AMV-B, AMV-California株^{184, 234)}およびAMV-By2の抗血清を用いた微滴法の結果を第21表に示した。供試株による力価の差は認められなかった。AMV-By2の抗血清は健全葉磨砕汁とも反応したので、以後の実験には健全葉磨砕汁で吸収した試料を使用した。吸収後の抗血清の力価は16~64であった。寒天拡散法では第5図に示したように、抗血清および抗原の力価により沈降帯形成の位置が異なるが、いずれも1本の沈降帯を生じ、その交叉は認められず、異種抗原の存在は示されなかった。

7) ウイルスの精製

精製ウイルスは蛋白光を有し、紫外線吸収曲線はE. 260nm/E. 241nm (E. max./E. min.) = 1.43, E. 260nm/E. 280nm = 1.74の値を示し、リン酸緩衝液でうすめてタバコおよびササゲに接種した結果、高い病原性が認められた。

8) ウイルス粒子の形態

精製ウイルスをホルマリン(1%)で10分間固定した後、ネガティブ染色を行い、電子顕微鏡(JEM 7型)によって観察した。図版24に示したように幅約17~18nm、長さ約22~61nmのかん菌型の粒子が認められた。これは、Gibbsら³⁵⁾、土崎ら²²¹⁾および都丸¹⁸⁴⁾の結果と一致する。

3. 考 察

タバコから分離されたAMVについて、主として5分離株を用い比較検討した結果、ササゲおよびインゲンに全身感染し、トマト(品種:Potentate)および*Lycopersicon pervianum*に全身感染しないAMV-By2群と、前者には局部えそ斑点のみを生じ全身感染せず、後者には葉脈えそを生じ全身感染するAMV-B群とに分けられた。用いた他の植物(タバコ品種、*Nicotiana*属、*Physalis*属、*Datura*属、ナス、ジャガイモ、トウガラシ、ソラマメ、エンドウ、ダイズ、アズキ、アルファルファ、*Chenopodium*属、キュウリ、センニチコウ、ゴマ等)の反応はい

第17表 AMV-By2 感染タバコ葉汁液の耐熱性 (10分処理)

温度 (°C) 供試植物	対照	40	50	55	60	65	70	80
タバコ (Ky57)	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	0/2	0/2	0/2
ササゲ	10/10	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5

注) 分母: 供試本数 分子: 全身感染本数、第18表、19表も同様

第18表 AMV-By2 感染タバコ葉汁液の耐希釈性 (リン酸緩衝液)

希釈倍数 供試植物	10	10 ²	10 ³	5X10 ³	10 ⁴	5X10 ⁴	10 ⁵	2X10 ⁵
タバコ (Ky57)	4/4	4/4	4/4	3/4	3/4	2/4	2/4	0/4
ササゲ	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	2/4	1/4	0/4

第19表 AMV-By2 感染タバコ葉汁液の耐保存性 (25°C)

保存日数 供試植物	0	1	2	3	4	5
タバコ (Ky57)	4/4	4/4	4/4	2/4	0/4	0/4
ササゲ	5/5	3/3	2/3	1/3	0/3	0/3

ずれの株でもほぼ同様であった。

ササゲおよびインゲンの両者に全身感染するAMVには外国ではbean yellow dot virus (Thomas, 1951¹⁸¹⁾), alfalfa yellow mosaic virus (Zaunmeyer, 1953²⁴⁶⁾), Idaho AMV (Zaunmeyer, 1963²⁴⁶⁾), alfalfa yellow spot mosaic virus (YSMV) (Zaunmeyer, 1963²⁴⁷⁾), tobacco AMV (Gustave and Heggstad, 1965⁴³⁾)があるが, bean yellow dot virusおよびalfalfa yellow mosaic virusは *Capsicum frutescens* に感染せず, Idaho AMVは *Datura stramonium* に感染しない点がAMV-By2とは異なっている。またこれら既報の分離株はbean yellow dot virusを除いてキュウリに感染していないが, 本実験で示したようにキュウリの品種によって感染性に差が認められたので, このことを考慮に入れる必要があろう。わが国では飯塚ら (1965)⁶⁶⁾ が18株のAMVをA, B, Cの3群に分け, ササゲおよびインゲンを全身的に侵す5つの分離株をA群に類別した。BおよびC群はササゲおよびインゲンを全身的に侵さない。

第20表 ササゲにおけるAMV-By2を1次ウイルスとした干渉

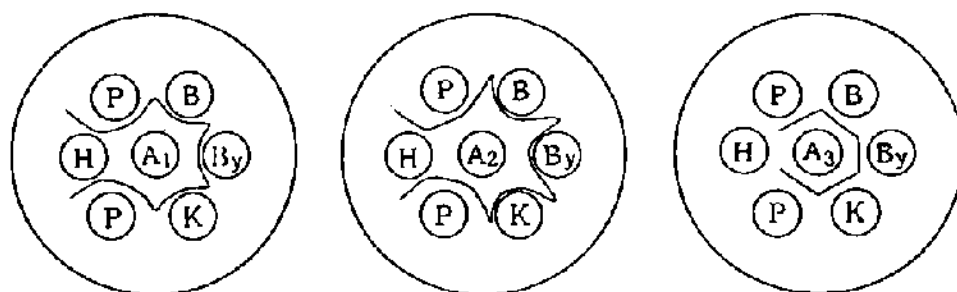
2次ウイルス	実験	対照葉 (病斑数)	処理葉 (病斑数)	干渉効果
AMV-B	I	>500	0	100%
	II	>500	0	100
AMV-K5	I	>500	0	100%
	II	>500	0	100

注) 病斑数はササゲ27~38葉の、1葉当たり平均

耐熱性, 耐希釈性, 耐保存性を比較すると, AMV-By2ではそれぞれ60~65°C, 10⁻⁵, 3~4日であり, 飯塚らのAMV-A群⁶⁶⁾は55~65°C, 10⁻³~10⁻⁵, 3~10日, tobacco AMV⁴³⁾は56~58°C, 10⁻³~5×10⁻³, <1日, YSMV²⁴⁷⁾は58~60°C, 5×10⁻²~10⁻³, 0.5~1日である。これら

第21表 微滴法によるAMV抗血清と各系統との血清反応

抗血清	抗原	抗血清希釈											
		1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	1048
AMV-B	AMV-By1	+++	+++	+++	+++	++	+	±	-	-	-	-	-
	AMV-By2	+++	+++	+++	+++	++	+	±	-	-	-	-	-
	AMV-K1	+++	+++	+++	+++	++	+	±	-	-	-	-	-
	AMV-K5	+++	+++	+++	+++	++	+	±	-	-	-	-	-
	AMV-B	+++	+++	+++	+++	++	+	±	-	-	-	-	-
	健全葉磨碎汁	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AMV-California	AMV-By1	+++	+++	+++	+++	++	+	±	-	-	-	-	-
	AMV-By2	+++	+++	+++	+++	++	+	±	-	-	-	-	-
	AMV-K1	+++	+++	+++	+++	++	+	±	-	-	-	-	-
	AMV-K5	+++	+++	+++	+++	++	+	±	-	-	-	-	-
	AMV-B	+++	+++	+++	+++	++	+	±	-	-	-	-	-
	健全葉磨碎汁	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AMV-By2	AMV-By2	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±	-	-	-	-
	AMV-K5	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±	-	-	-	-
	AMV-B	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±	-	-	-	-
	健全葉磨碎汁	++	++	++	±	-	-	-	-	-	-	-	-



第5図 寒天拡散法によるAMV抗血清と各系統との血清反応

A_1 : AMV-B 抗血清 A_2 : AMV-California 株抗血清
 A_3 : AMV-By2 抗血清 B : AMV-B 汁液
 K : AMV-K5 汁液 By : AMV-By2 汁液
 P : 精製AMV-By2 H : 健全タバコ葉汁液

の性質からは、AMV-By2は、tobacco AMVおよびYSMVとはやや差があるが、タバコを含む各種植物の反応等を合わせて考えると、飯塚らのAMV-A群^{66,175,176)}、タバコから分離されたtobacco AMV⁴³⁾およびアルファルファから分離されたYSMV²⁴⁷⁾と極めて近縁な系統と考えら

れる。

Bancroftら⁸⁾はIndianaのアルファルファ35株からAMVを分離し、4つのタイプに分けられると報告している。すなわち、(1)ササゲおよびインゲンに全身感染するもの(40%)、(2)ササゲおよびインゲンに局部えそ斑点

のみを生ずるもの (36.7%)、(3)ササゲに局部えそ斑点のみを生じインゲンに全身感染するもの (16.7%)、(4)ササゲに全身感染しインゲンに局部えそ斑点のみを生ずるもの (6.6%) である。

ササゲおよびインゲンに局部えそ斑点のみを生ずる AMV については, Zaumeyer (1938)²⁴⁵⁾, Black and Price (1940)¹⁶⁾, Kleitlow and Price (1949)¹⁰⁷⁾, Oswald (1950)¹³⁶⁾ によって報告され, わが国では明日山ら (1955)⁴⁾ がアルファルファおよびアカクロバから, 飯塚ら (1961)⁶⁵⁾ がシロクロバ (ラジノクロバ) から, 比留木 (1961)⁵⁶⁾ がタバコおよびシロクロバ, 同じく都丸 (1963)¹⁸⁴⁾ がシロクロバから AMV-B を, 小室ら (1964)¹⁰²⁾ がジャガイモおよびシロクロバ (ラジノクロバ) から, 児玉ら (1964)⁹⁶⁾ がアルファルファから, 村山ら (1965)¹²⁷⁾ がアルファルファ, アカクロバ, シロクロバ (ラジノクロバ) から分離し報告している。本研究の AMV-B, K1, K5 等の分離株はこれらと近縁の系統と考えられる。比留木⁵⁶⁾ は分離株によってササゲの局部えそ斑点の大きさおよびタバコの病徴によって判別可能な系統があるとしているが, 本研究の採集株にはその系統は認められなかった。

その他, Bancroft ら⁸⁾ の類別による (3) および (4) にあたる分離株の報告^{45, 236, 246)} もあるが, 本研究の採集株中にはそれらの系統は認められなかった。従来の報告にはササゲあるいはインゲンのいずれかの反応が不明なもの^{13, 34, 67, 77, 137, 152)} もある。また最近, フキ (栃原ら)¹⁸³⁾, トマト (王ら)^{138, 139)}, ペピーノ (本田ら)⁶²⁾, アズキ (小坂ら)¹⁰⁵⁾, えそ症状を示すジャガイモ (王ら)¹⁴⁰⁾, オイランソウ (牛山ら)²³²⁾ などから AMV が分離報告されてきたが, その系統については不明な点も残されている。

Bancroft ら⁸⁾, Gustave ら⁴³⁾, 飯塚ら⁶⁵⁾, 都丸ら^{184, 204)}, 村山ら¹²⁷⁾ 等は血清反応を AMV 系統の同定に用いている。寒天拡散法による判別は異種抗原の存在を知る上で有用な方法であるが, 本実験では供試株間の血清学的差異は認められなかった。Gustave ら⁴³⁾ も同様な結果を示している。

以上から, わが国のタバコから分離される AMV の系統は大きく 2 群に分かれることが明らかとなったが, これらのうち発生率は AMV-B 群が多く, とくに在来種との交配種 (第 5 在来種) を含むホワイトパーレー系品種に発生が多く, AMV-By2 群の発生は黄色種を含めて少ないことがわかった。パーレー系品種では黄色種に比べて, 病徴が顕著であることも分離率の多い原因と考えられ, 黄色種では発生があっても病徴が軽微であるため気付かれにくいこともあると思われる。

これら AMV 系統群の判別に当たって, 本実験の結果から判別宿主としてササゲ, インゲン, トマト 'Potentate', キュウリ '相模半白', タバコ 'Ky57' などが適当と考えられる。トマトおよびキュウリでは品種によって感受性に大きな差があり, また, インゲンでも分離株の系統によっては各品種の反応にやや差がみられたので, 判別宿主として使用する場合にはとくに品種を考慮に入れる必要がある。

インゲン品種の AMV-By2 に対する反応の差異は葉の形態的差異を反映しており, またこれらの品種のタバコモザイクウイルス (TMV) による局部えそ斑点の現われ方の差異とも符号していて興味をもたれる。

VI トマト黄化えそウイルス (tomato spotted wilt tospovirus)

A. トマトにおけるトマト黄化えそウイルスの同定

神奈川県におけるトマトの栽培面積は約 340ha, 収穫量は約 18,000 t に及び, 夏秋トマト (7~11月) が 230ha, 冬春トマト (12~6月) が 110ha で施設栽培の最も多い作物である。

1974年2月から施設栽培トマトを中心として, 枯れ上がり激しく, ハウスによっては収穫皆無になる病害が発生し, その原因がトマト黄化えそウイルス (TSWV) であることを明らかにした。この年の発生は 6市11園場, 約 80 a で確認された。

1975年以降は, アザミウマ類の防除が実施され, 激発園場はみられなかったが, 局所的には発病がみられ 1975年は 5 a, 1976年は 25 a であり, 1977~1978年には発生がみられなかった。しかし, 1979年には露地栽培トマトを中心として 20 a に激しい発病がみられ, 1980年にも 5 a の発生がみられた。1981年以降は発生が認められなくなった。

1. 実験材料および方法

1974年2月から神奈川県下のトマトに発生した病株 11 株を中心に実験を行なった。ウイルスの各種植物への汁液接種に際しては, 新鮮な試料を冷リン酸緩衝液 (pH 7.0) に少量のキレート剤 (DIECA) を加えて磨砕し, 500メッシュのカーボランダムと綿球を用いて幼苗植物の葉になすりつけ, 主に 25℃設定の人工気象室で観察を行なった。また, 野外のアザミウマ (スリップス) を採集し, 1~約 30 頭をトマト幼苗 1 株または約 40 株に移し網箱中で観察した。

当初の実験でタバコ 'Xanthi NN', *Nicotiana glutinosa*, *Physalis floridana*, ソラマメに汁液接種を試みたところ、約2週間後に*P.floridana*の頂葉にえそしおれを生じたので、これをトマト、タバコ、*P.floridana*, *Datura stramonium*, ゴマ、センニチコウ、トウガラシに接種したところ、全ての植物がえそ斑、しおれ等を生じたので、*D.stramonium*の頂葉えそしおれ部分をソラマメに接種し、ソラマメの全身えそ部分を以下の実験の接種源として用いた。その他の実験方法は、各実験結果の項で述べる。

2. 実験結果

1) 採集時のトマトの病徴

茎に大型の条斑えそおよび表層から維管束にかけてえそを生じ、茎の内部が空洞化するが髄の腐敗はない。葉裏の葉脈えそや葉のえそ斑点、葉先からのえそしおれがみられ、葉柄などのくびれから黄化しおれを生じ、古くなると枯れ上がる。果実はひび割れた奇形とえそを生じる。根は白く張って健全に見える(図版13, 14)。

2) 汁液接種による各種植物の反応

本ウイルスをナス科、マメ科など8科20種の植物に汁液接種した結果を第22表に示した。

トマトでは接種葉に不整形の局部病斑を生ずることがあり、中葉や頂葉にえそ斑点、葉脈えそ、えそしおれを生じ、葉柄のくびれから黄化落葉や茎が折れることもあり、ついには枯死した。

タバコ 'Xanthi NN', *N.glutinosa*では大型の局部病斑を生じた後、広がる症状となると同時に頂葉えそ、茎えそを生じ、古くなると茎が枯れた。

*D.stramonium*では明瞭な局部病斑を生じた後、頂葉に針穴状えそ斑点やしおれを生じ、葉柄や茎が折れることもあった。ソラマメでは接種葉にえその広い局部病斑を生じた後、茎および全身に激しいえそを示し枯死した。センニチコウ、*Chenopodium quinoa*等にもえそやしおれを生じた。

用いたキュウリ '新ときわ' では接種葉に不明瞭な不整形白色小斑を生じ、全身症は示さず、メロン 'エリザベス' では接種葉に針穴状えそ斑を生じた後、全身的にも同様の症状を示し、いずれの頂葉からもソラマメとタバコ 'Xanthi NN' に本ウイルスが回収された。

3) 粗汁液中のウイルスの安定性

ア. 耐熱性

ソラマメ全身感染葉を10倍量の蒸留水で磨砕、ガーゼろ過し、小試験管に2 mlずつ分注してサーモスタット

中で10分間各温度処理後、直ちに流水で冷やし、等量のリン酸緩衝液(pH7.0)を加えてタバコ 'Xanthi NN' になすりつけ接種し、局部病斑数によってウイルス活性を調べた。耐熱性は45~50℃、10分であった(第23表)。

イ. 耐希釈性

ソラマメ全身感染葉を10倍量の蒸留水で磨砕した汁液を原液として、リン酸緩衝液(pH7.0)で各段階に希釈、'Xanthi NN' およびインゲン '黒衣笠' になすりつけ接種し、各々局部病斑数および全身感染の有無によってウイルス活性を調べた。耐希釈性は5,000~10,000倍であった(第24表)。

ウ. 耐保存性

ソラマメ全身感染葉を10倍量の蒸留水で磨砕後、小試験管に2 mlずつ分注して25℃に保存し、毎時、等量のリン酸緩衝液(pH7.0)を加えて 'Xanthi NN' になすりつけ接種し、局部病斑数によってウイルス活性を調べた。耐保存性は6~7時間であった(第25表)。

4) アザミウマ類による伝播

発病トマトハウスに隣接したキャベツおよびキュウリに多数寄生していたアザミウマを、発病トマト葉を入れたビニール袋にはたき落として1夜放置後、幼苗トマト群 '東海2号' (草丈約12cm)に移し(約30頭/40株)、ガラス温室の網箱中で観察した。対照は無処理トマト群とした。

処理8日目から葉のえそ斑、黄化しおれ等がみられ、18日目には全株が発病した。これらのうち2株についてソラマメ、'Xanthi NN' に汁液戻し接種したところ典型的な症状を示した。対照は健全であった。この実験は6月に行なった。

ネギおよびキュウリ(品種:ときわ光)に寄生していたアザミウマを吸虫管を用いて採集し、直ちに網箱中の径12cm鉢に1本植えのトマト(品種:東海2号、草丈約12cm)に各々1~6頭ずつ移して、25℃設定の人工気象室中で観察した。対照は無処理とした。

キュウリに寄生していたアザミウマ5頭接種の区で6日目から、ネギに寄生していたアザミウマの区で12日目からえそ、しおれ等の症状がみられ、20日目には全ての株が枯死するように思われた。代表株についてソラマメに汁液戻し接種したところ典型的な症状を示した。対照は健全であった。この実験は8月に行なった(第26表、図版15)。

5) 種子伝染

横浜市の発病トマト(品種:瑞光)の果実を採集し、6月9日にクロルピクリン殺菌土壌をつめたパットに播

第22表 TSWVの汁液接種による各種植物の反応

供 試 植 物	接種葉の病徴	全身的な病徴	戻し接種
トマト (東海2号、大型福寿)	n	ns, vn, str, y, wilt	+
タバコ (Xanthi NN)	large ll	str, vn, top n, wilt	+
(ブライトエロー)	chs	(faint m, top n, wilt)	+
<i>N. glutinosa</i>	large ll	str, vn, top n, d	+
<i>N. rustica</i>	ns, n arc	vc, ns, wilt	+
<i>N. clevelandii</i>	ns, n arc	vc, ns, wilt	+
ナス	0	top n, wilt	+
<i>P. floridana</i>	0	top n, wilt	+
トウガラシ (鷹の爪)	(vn)	top n, str, wilt	+
ペチュニア (エンゼル)	ll, (vn)	(faint m, wilt)	-
<i>D. stramonium</i>	large ll	top n, wilt	+
ソラマメ	broad n	broad n, str, d	+
インゲン (改良大手亡、黒衣笠)	ll	mild m, wilt	+
(トッブクロップ、江戸川、大虎)	0	mild m, wilt	+
ササゲ (黒種三尺)	ll, (vn)	(top n, mild m, wilt)	+
キュウリ (新ときわ)	chs, white ns	0, (vn)	+
プリンスメロン (エリザベス)	ns	ns, vn	+
アスター (あかね1号)	0	wilt	+
ゴマ	vn	vn, str, wilt	+
センニチコウ	ns	ns, n, d	+
<i>C. quinoa</i>	ll	wilt	+
ニチニチソウ	ll	mild m, (mild mal)	+

注) n:えそ ns:えそ斑点 vn:葉脈えそ str:条えそ y:黄化 wilt:しおれ ll:局部えそ斑点
chs:黄色斑点 ():まれに現れる病徴 m:モザイク arc:弓形病斑 vc:葉脈透化 0:病徴なし
mal:奇形 d:枯死
戻し接種は、ソラマメとXanthi NNに行なった。

種した。播種30日後に126株中1株にえそしおれ症状が認められた。平塚市の発病トマト「ほまれFR」種子について、7月4日に同様播種した。播種30日後に162株のうち発病は全く認められなかった。

6) ウイルス粒子の形態

トマトおよび*N. glutinosa*の全身感染葉を試料として、1%リンタングステン酸(PTA)を用いたDN法によって、また精製ウイルスについて電子顕微鏡観察(HS8型)した。いずれの試料でも約74~86nmの球形ウイルス粒子が観察された(図版25)。

7) トマトにおける発生分布

神奈川県内で採集されたトマトについて、タバコ「Xanthi NN」、*N. glutinosa*、ソラマメ、*D. stramonium*等に先の方法で汁液接種したり、電子顕微鏡観察した結果を次節(B.第27表)に示した。

神奈川県内のトマトにおけるTSWVは、ほぼ全県的に広

く分布しているように思われた。

B. 神奈川県内のトマトから分離されたウイルス

前節のトマト黄化えそウイルス(TSWV)の同定に際しては、1974年2月から1975年1月までに、実際に圃場で被害の出た試料を用いたものである。本県のトマトに発生する病害では、量的には菌類病、細菌病が多いが、筆者は1972年から1990年にかけてウイルス病についても分離同定を行ってきた。試験方法は前節に準じて行なっているため、その結果を前節のTSWVも含めて、第27表に示した。

供試トマト44株から分離されたウイルスは、タバコモザイクウイルス(TMV, 12株, 27%), CMV (14株, 32%), TSWV (20株, 45%)であり、これらのうちTMV+CMV (1株, 2%), TSWV+CMV (1株, 2%)は2種ウイルスの重複感染であった。TMVはトマト系

第23表 TSWVの耐熱性

処理温度 (°C)	35	40	45	50	55	60	65	70
実験 I	21.5	17.8	11.3	0	0	0	0	0
実験 II	339.0	123.0	44.0	0	0	0	0	0

注) Xanthi NN の1葉当たり局部病斑数 (4~6葉使用)

第24表 TSWVの耐希釈性

希 釈 倍 数	5×10	10^2	5×10^3	10^4	5×10^5	10^6	5×10^7	10^8
Xanthi NN	11.5	9.5	5.5	17.0	6.0	0	0	0
インゲンマメ	++	++	+	+	±	-	-	-

注) Xanthi NNは1葉当たり局部病斑数 (2葉使用)、インゲンマメは全身感染の程度 (2株使用)

第25表 TSWVの耐保存性

保存時間 (h)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Xanthi NN	3.5	6.5	9.0	4.0	4.5	2.0	1.0	0	0	0

注) 1葉当たり局部病斑数 (4葉使用)

第26表 野外のアザミウマによるTSWVの伝搬

接種源植物 ↓ 検定植物	供試 虫数	発 病					戻し 接種
		6日目	10日目	12日目	14日目	20日目	
キュウリ (とさね光) ↓ トマト (東海2号)	1	0	n, con, yw	n, con, yw	n, con, yw	d	+
	2	0	"	"	"	"	+
	3	0	"	"	"	"	+
	4	0	"	"	"	"	
	5	top-n, w	"	"	"	"	
	6	0	"	"	"	"	
ネギ ↓ トマト (東海2号)	1	0	0	top-n, w	n, str, yw	yw, d	+
	2	0	0	"	"	"	
	3	0	0	"	"	"	+
	4	0	0	"	"	"	
	5	0	0	"	"	"	+
	6	0	0	"	"	"	

注) 0:病徴なし n:えそ w:しおれ con:くびれ yw:黄化しおれ d:枯死 top-n:頂葉えそ
str:糸えそ、葉脈えそ
戻し接種は、トマトからソラマメへ汁液接種 実験は1974.8.15(25°C)。

統、CMVは普通系統であった。また、ウイルスと根腐萎ちょう病、褐色根腐病、かいよう病との重複感染が1例ずつ認められた。これらウイルスの発生は、いずれも全県におよび、特に地域差は認められなかった。

神奈川県のとまとに発生するウイルスでは、1972年から1980年頃まではTMVの分離例が極めて多く、1981年以降はCMVの分離例が極めて多かった。これは明らかにTMV抵抗性品種の栽培が反映されていて、さらに市販種子の種子消毒の普及によるものと思われる。

C. タバコにおけるとまと黄化えそウイルスの病徴および発生実態

タバコにおけるとまと黄化えそウイルス (TSWV) は、都丸ら^{198,206)}により沖縄県下で発見され、久保ら^{108,113)}により発生実態調査および伝染源植物の探索が行なわれて、タバコにおける病徴の激しさから重要ウイルスとなった。

これらの報告によると、畑におけるタバコの病徴は、黄色またはえそ輪紋、主脈に沿ったえそや電光型黄斑を示し、著しい奇形とわい化を生じる。生育後期になると上位葉は無病徴となることもあるが、重症株はわい化状態のまま開花する。タバコわい化病とは、気温が20℃以上になっても病徴がマスクしない点、大型の黄色輪紋やえそ輪紋を伴う点で区別できる。

沖縄県におけるTSWVの発生は、本島北部、伊江島、古宇利島、久米島および石垣島の各地で認められ、発生当初の面積は14haに及び、そのうち発病株率が30%以上の畑が約4haを占め、被害が大きかった。また、地域によって病徴が異なるので、系統の異なるTSWVの存在が示唆される。

TSWV発生タバコ畑周辺の、メジロホウズキ、イヌホウズキ、とまと、メナモミ、リュウキュウボタンヅル等から本ウイルスが検出されているので、特に多年生であるメジロホウズキ、リュウキュウボタンヅルはTSWVの伝染源となる可能性が大きい。

その後、都丸ら²⁰¹⁾により東北地方のタバコからも本ウイルスが検出され、被害が拡大した。

D. 考 察

本ウイルスは、各種植物がえそやしおれを生ずる特徴的な反応、変化に富む病徴、宿主範囲の広さ、耐熱性の低さ、耐希釈性、耐保存性の短かさ、ウイルス粒子の特徴的形態、アザミウマ類による伝搬などの実験結果から tomato spotted wilt virus (TSWV) と同定した。

TSWVはウリ科植物に全身感染しないとされていたが、本実験でキュウリ、メロンに全身感染が認められた。その後、岩木ら^{74,75)}により沖縄県のスイカ灰白色斑紋病の病原がTSWVであることが明らかにされた。

アザミウマ類による本ウイルスの伝搬については、無毒虫を飼育して実験したものではない。用いたアザミウマ類が寄生していたキャベツ、キュウリ、ネギについては、ソラマメ、タバコ 'Xanthi NN'、'ブライトエロー'、*N. rustica*、*N. clevelandii*、とまと、トウガラシ、*C. quinoa*、ニチニチソウ、アスター、ササゲ、インゲンのいずれかの組合せで汁液接種した結果、TSWVに感染していたと思われたが、各々のウイルス分離株についての詳細な同定は行っていない。その後、荒城ら¹⁾により条斑を示す神奈川県のネギからTSWVが分離された。

TSWVを伝搬するアザミウマの種に関しては、Paliwal¹⁴¹⁾により新種の報告もあり、わが国のアザミウマの種類やTSWVの系統にも興味を持たれた。その後、小畠ら^{94,95)}や藤沢ら³⁰⁾により媒介虫の研究が行なわれ、ダイズウスイロアザミウマ (*Thrips setosus* Moulton) がTSWVの伝搬能が高いことが報告された。また、花田ら⁴⁷⁾により沖縄県のスイカ、タバコから分離されたTSWVと本土のとまとから分離されたTSWVは系統が異なることが報告された。

TSWVの精製の困難性もあって、外国では本ウイルスの精製法や抗血清作成に関する報告もあったが^{41,78,141)}、わが国ではまだ抗血清が作成されていなかったため、本ウイルス精製に適した増殖宿主の探索、精製方法の検討、抗血清の作成および簡易で正確な診断法を確立することが重要な課題であった。その後、花田ら⁴⁸⁾によりELISA法による本ウイルスの検出法が確立するまでに発展した。

防除の面からは、TSWVは宿主範囲が広いので^{14,33,64,141,163)}、とまと以外の植物での発生分布を明らかにし、伝染源とアザミウマによる伝搬条件などを明らかにする必要がある。その後、小畠ら^{94,95)}や久保ら^{108,113)}によりダリア、ノゲシ、メジロホウズキ、リュウキュウボタンヅル、ヤンバルセンニンソウ、イヌホウズキ、メナモミなどからTSWVが分離され、タバコ、とまと等への伝染源植物となることが示唆された。

TSWVは、ウイルス自体の耐性は弱い、宿主範囲が広く、アザミウマの幼虫が保毒し成虫が永続伝搬し、発病すると症状が激しく被害が大きいため、今後とも注意する必要がある。

神奈川県のとまとに発生するウイルスについては、3種類が確認されたが、これらの発生消長は、TMV抵抗

第27表 神奈川県のトマトから分離されたウイルス

試験月日	採 集 地	品 種	症 状	試 験 方 法	分離ウイルス
1972.6.19	小田原市久野	ハウスほまれ	黄色モザイク、奇形	判別宿主への接種 (以下同様) タバコ (Ky57, BY)、ソラマメ、 センニチコウ、 <i>P. floridana</i>	TMV-T
"	"	"	モザイク、凹凸奇形、 激しい細葉	"	TMV-T
"	"	"	"	"	TMV-T
1972.6.22	相模原市	"	しおれ、時々回復、 果実にえそ	タバコ (Ky57, BY)、ソラマメ、 <i>P. floridana</i>	TMV-T
1973.1.19	横須賀市	—	モザイク、奇形、 茎えそ	タバコ (Xanthi NN, BY)、 <i>N. glutinosa</i> 、ソラマメ	TMV-T
1973.9.11	厚木市	—	モザイク、奇形、 葉脈えそ、茎えそ	タバコ (BY)、 <i>N. glutinosa</i> 、 <i>C. amaranticolor</i> 、 <i>P. floridana</i>	TMV-T +CMV
1974.2.28 他	平塚市横内	ほまれPR (ハウス水耕)	葉脈えそ、えそ斑点、 茎えそ、黄化、しお れ、果実のえそ奇形、 髓の空洞	タバコ (Xanthi NN, BY)、 <i>N. glutinosa</i> 、 <i>P. floridana</i> 、 <i>C. amaranticolor</i> 、 <i>D. stramonium</i> 、 ソラマメ、トマト、ゴマ、 センニチコウ、トウガラシ、 電子顕微鏡観察	TSWV
1974.4.9 他	横浜市緑区	瑞光 (ハウス水耕)	"	"	TSWV
"	" 港北区	大型瑞光 (")	"	"	TSWV
1974.6.5	厚木市赤羽根	ほまれPR (ハウス土耕)	"	"	TSWV
1974.6.9	横須賀市長井	FTVNR(雷電) (ハウス土耕)	"	"	TSWV +CMV
1974.6.22	横浜市緑区	— (露地)	葉脈えそ、えそ斑点、 茎えそ、黄化、しお れ、果実のえそ奇形、 髓の空洞	タバコ (Xanthi NN, BY)、 <i>N. glutinosa</i> 、 <i>P. floridana</i> 、 <i>C. amaranticolor</i> 、 <i>D. stramonium</i> 、 ソラマメ、トマト、ゴマ、 センニチコウ、トウガラシ、 電子顕微鏡観察	TSWV
1974.6.29 他	平塚市寺田堀	東海 2号 (露地)	"	"	TSWV
1974.8.22 他	厚木市岡田	FTVNR(雷電) (ハウス土耕)	"	"	TSWV
1974.9.12	藤沢市	FTVR (ハウス土耕)	"	"	TSWV
1974.9.25	川崎市高津区	" (")	"	"	TSWV
1974.12.25	平塚市	—	モザイク、奇形	"	CMV
1975.1.14	三浦市上宮田	FTVR (ハウス土耕)	葉脈えそ、えそ斑点、 茎えそ、黄化、しお れ、果実のえそ奇形、 髓の空洞	"	TSWV
1975.1.29	大和市福田	FTVNR(雷電) (ハウス土耕)	"	"	TSWV
1975.2.7	藤沢市西俣野	瑞光 (")	"	"	TSWV
1976.3.5	茅ヶ崎市	—	頂葉えそ、黄化、し おれ	タバコ (Xanthi NN, BY)、 ソラマメ、インゲン、 <i>C. quinoa</i>	TSWV
1977.2.4	藤沢市葛瀬沢	ほまれPR	えそ斑点、モザイク、 黄化	タバコ (Xanthi NN, BY)、 ソラマメ、 <i>P. floridana</i> 、 <i>D. stramonium</i> 、 <i>C. quinoa</i>	TSWV

試験月日	採集地	品 種	症 状	試 験 方 法	分離ウイルス
1977.2.25	平塚市	—	えそ斑点、黄化	タバコ (Xanthi NN、BY)、 ソラマメ、 <i>P. floridana</i> 、 <i>D. stramonium</i> 、 <i>C. quinoa</i>	TSWV
1977.4.18	厚木市	—	モザイク、しおれ、 根腐変コルク化	"	TMV-T +褐色根腐病
1977.4.22	三浦市	—	葉脈えそ、えそ斑点、 黄化	タバコ (Xanthi NN、BY)、 ソラマメ、センニチコウ、トマト、 <i>P. floridana</i> 、 <i>C. amaranticolor</i> 、 <i>D. stramonium</i>	TSWV
"	"	—	モザイク、奇形、上 葉の葉先えそ	"	TMV-T
"	"	—	モザイク、やや奇形、 ややしおれ	"	TMV-T
1979.1.16	厚木市恩名	—	葉脈えそ、茎えそ	タバコ (Xanthi NN、BY)、 ソラマメ、 <i>C. quinoa</i>	TSWV
1979.4.7	藤沢市西保野	—	葉脈えそ、葉柄くび れ	"	TSWV
1979.8.23	横浜市	— (ハウス栽培)	葉脈、葉先、葉縁え そ、黄化、落葉	タバコ (Xanthi NN、BY)、 ソラマメ、 <i>P. floridana</i> 、 <i>C. amaranticolor</i>	TSWV
1980.4.23	平塚市	—	果実表面にかさぶた、 果肉にえそ	タバコ (Xanthi NN、BY)、 <i>N. glutinosa</i> 、ソラマメ、 電子顕微鏡観察	TMV-T +かいよう病
1980.5.22	藤沢市西保野	—	"	"	TMV-T
1981.2.10	相模原市	—	頂葉しおれ、軽いモ ザイク	タバコ (Xanthi NN、BY)、 ソラマメ、 <i>C. amaranticolor</i> 、 電子顕微鏡観察	TMV-T
1981.10.9	平塚市	—	モザイク、奇形	"	CMV
1981.12.23	横浜市神奈川 区	ほまれ114	モザイク、奇形、葉 脈えそ	タバコ (Xanthi NN、BY)、 <i>N. glutinosa</i> 、ソラマメ、 トウガラシ、 <i>P. floridana</i> 、 <i>C. amaranticolor</i> 、電子顕微鏡観察	CMV
1982.1.7	川崎市高津区	"	"	"	CMV
1982.1.13	" 岡上	"	"	"	CMV
1983.2.24	藤沢市	"	上葉にモザイク、葉 は上側に巻く	タバコ (Xanthi NN、BY)、 <i>N. glutinosa</i> 、ソラマメ、 <i>C. quinoa</i> 、 <i>D. stramonium</i>	CMV
1983.3.2	横浜市戸塚区	—	モザイク、しおれ、 根腐敗、導管梗塞は 地上約10cmまで	"	CMV+根腐 萎ちょう病
1984.1.30	川崎市黒川	"	軽いモザイク、奇形、 新葉黄化、葉は上側 に巻く	" 電子顕微鏡観察	CMV
1984.3.8	大磯町	瑞光102	モザイク、奇形、 細葉	"	CMV
"	"	瑞秀	"	"	CMV
1984.4.9	横須賀市	—	モザイク	タバコ (Xanthi NN、BY)、 ソラマメ、 <i>P. floridana</i> 、 <i>C. quinoa</i>	CMV
1990.7.2	厚木市小野	瑞光	モザイク、奇形、果 実に水浸状えそと軽 い奇形	タバコ (Xanthi NN、BY)、 <i>N. glutinosa</i> 、トウガラシ、 <i>P. floridana</i> 、 <i>C. quinoa</i> 、 <i>D. stramonium</i>	CMV

性品種の栽培および種子消毒の影響が明らかに反映していると思われた。

Ⅶ タバコ茎えそウイルス (tobacco rattle tobavirus)

1. タバコにおける病徴および発生状況

わが国におけるタバコ茎えそウイルス (tobacco rattle virus: TRV) は、都丸 (1964)^{186,187)}、都丸・中田 (1967)¹⁹⁹⁾により分離同定され、発病タバコは必ず茎にえそを生ずることから、タバコ茎えそ病と命名された。

畑のタバコに発生した病徴は、早期に感染発病したもので、葉脈に沿った茶褐色および灰白色のえそ、奇形、軽いモザイクなどを現し、茎の伸長はおさえられて萎縮し、激しい症状を示す (図版16)。中程度あるいは軽度のもものでは茎のすじえそと、それに沿った茎の片側の葉が葉脈あるいは脈間のえそを生じ、葉の生長がおさえられて収穫期に至っても手のひら大に止まるものもみられる。葉脈のえそは支脈、細脈に激しく現われてその間が抜け落ちたり、脈間に現われたときには、くずれた電光型あるいは大きな輪状の、褐色あるいは白色のえそを生ずる。時にはえそが葉片の片側に現われて、主脈を中心にねじれた奇形を生ずることもある。中、軽症のもものでは茎の片側だけにえそを生ずることが多いので、半身不随症とも言えるような症状を示すことがある。また茎のえそは軽度のもものでは表皮だけに限られて、表皮を削り取るとその下は正常であることが多いが、激しいものではえそが内部に陥没して激しいすじえそとなる。すじえそは必ずしも連結せず、破線のようにとびとびに現われることもある。畑での生育後期になると普通には病徴は回復して、軽いものでは正常な葉をあらわし、下葉以外はほとんど正常になることもあるが、中程度あるいは重症のもものでは上位葉にもえそ症状を現すことがある。

初期症状および生育後期の回復期の症状などはタバコわい化病に似た点も多いが、茎にえそを生ずることが本病の特徴である。またわい化病では生育後期の回復した葉でも、葉が細くなり節間がつまって叢生することもあるが、本病ではこのような症状は普通にはみられないことも特徴といえる。

1968年から1970年にかけての本病の発生状況を第28表に示した。このように各地のタバコに発生が認められ、千葉県下では1956年頃から同一の畑で本病が発生していたようである。

2. 実験材料および方法

実験に用いたタバコ茎えそウイルス (TRV) 分離株は、第29表に示すように畑の発病タバコから分離したものであり、対照としてTRV-HSN (都丸・中田1967)を用いた。これらの分離株は、判別宿主への接種試験、ウイルス粒子の電子顕微鏡観察、TRV-HSN抗血清を用いた血清反応などによってTRVと同定したものである。

供試8分離株を、タバコ 'Ky57' の幼苗に接種し、その全身感染葉を以下の実験に用いた。各種植物の反応を調べる汁液接種では、タバコ 'Ky57' の全身感染葉をリン酸緩衝液 (0.1M, pH7.0) で磨砕し、径12cm植木鉢で育てた幼苗にカーボラダム (500メッシュ) をふりかけ、綿球を磨砕液に浸して、なすりつけ接種を行なった。接種試験には少なくとも4株の植物を用い、時期をかえて2回以上の試験をした。接種植物は4週間以上観察を続け、各植物とも戻し接種を行なった。試験は全て20~35℃のガラス温室で行なった。

ウイルスの精製には、接種4~5日後のタバコ 'Ky57' 接種葉を用い、-80℃のディープフリーザーに保存して随時精製を行なった。感染葉を等量のリン酸緩衝液 (0.2M, pH7.0) と共にホモジナイザーで磨砕し、チーズクロスでろ過した。このろ液に2倍量のクロロホルム-ブタノール (1:1) を加え、4℃で20分間振盪した。この液を5,000G、15分間遠心分離し、上清を-20℃で一夜凍結した。再融解後、Beckman Spinco Model L2超遠心分離機を用いて、高低速遠心をくりかえし、精製ウイルスを得た。

TRV-HSNの抗血清は、すでに真空凍結乾燥保存したもの (都丸・中田) を用い、さらにTRV-MD1について、精製ウイルスをDIFCO incompleteアジュバントと共に、家兎に数回注射して抗血清を作成した。血清反応試験は、各精製ウイルスを抗原とし、微滴法および寒天拡散法で行なった。

精製ウイルスを用いて、リンタングステン酸によるネガティブ染色または白金パラジウムによる影付けをした試料について、電子顕微鏡 (JEM 7型) 観察した。さらに、リン酸緩衝液 (0.1M, pH7.0) に10~40%のしょ糖を加え、Spinco SW-41ローターを用いて、密度勾配遠心40,000rpm、40分間を行なった。遠心後の勾配カラムをISCO密度勾配分画器でフラクション分画し、分光光度計で吸光度を測定した。

3. 実験結果

(1) 汁液接種による各種植物の反応

(TRV) 分離株 (1) 汁液接種による各種植物の反応
ら分離したものを TRV の HSN, IH, TH, MD1, UD, CH2, CH3, MH (田 1967) を用いて 8 分離株を 14 種の植物、タバコ 13 品種および *Nicotiana glauca* 20 種に汁液接種した結果を第 30 表および第 31 表に示す。

のである。各種植物の反応では、分離株によってアスター (3 品の幼苗に接種) が明瞭に異なる病徴を示した。すなわち、TRV-HSN は、各種植物の TRV-IH は全身的にえそ症状、特に top necrosis を生じ、7' の全身感傷。他の分離株は全身的に黄色輪紋およびモザイク症状を呈し、径 12 cm 以上の (図版 18, 19)。都丸・中田の報告¹⁹⁹⁾で、TRV-UD (メッシュ) が全身感染しないとされたソラマメ、センニチコウ、つげ接種を行ったセンニチコウは本実験で、他の分離株も含めてえそ症状を呈し、時として示すことが明らかとなった。これは高濃度の接種源を 4 週間以内に接種すれば全身感染することを示すものと思われる。試験は、その他、全身感染する植物には *Physalis floridana*, *Datura tatula*, トウガラシ、ホウレンソウが、後のタバコに感染した。局所感染する植物にはササゲ、インゲン、*Chenopodium amaranticolor* があり、感染しない植物にはヒヤシ、リン酸緩効、チンチソウ、キャベツ、カリフラワーがあった。で磨砕し、チンチソウは次の理由で TRV の保存植物として適当なクロロホルムで抽出することが明らかとなった。①全身的にモザイクと 10 日間振盪し、微えそ症状を示し、高濃度のウイルスを保持している。②アブラムシがほとんど寄生しない。③実験の限りの Model L2 は、TMV は感染しない。④条件が良ければ、温室内でえし、精製も一年以上も生育している。

タバコ品種および *Nicotiana* 属の反応では、TRV 分離株の乾燥保存による差異はほとんど認められず、また感染しない植物に MD1 についても認められなかった。しかし、品種あるいは種によって感染の程度に差がみられた。タバコ品種では 'Samsun' の血清反応試験で 'Holme's Samsun' 'だるま' '遠州' は病徴が激しく、寒天拡散法で種葉や全身基葉にえそ斑を生じ、葉の奇形も認められた。'ブライトエロー' は病徴が最も軽く、接種葉とテン酸による軽微なえそを生ずるだけの場合が多かった。しかし、る影付けを 6 葉の幼苗に接種した場合は全身的に激しい病徴を観察した。また、その他の 'ヒックス 2 号' 'パーレー 21' 'Ky57' 'Xanthi' '水府' '松川' '白桐' '白だ' '密度勾配法' は全身的にえそ斑を生じたが、前者の中間的な勾配法で微であった。全ての品種が接種葉にはえそ輪紋、えそを画し、分光法で、葉脈えそを生じた (図版 17)。

Nicotiana 属では、*N. acuminata*, *N. rustica*, *N. sylvestris* 等は病徴が激しく、*N. clevelandii*, *N. suaveolens* は病徴が軽微であった。*N. knightiana* は接種葉に軽微なえそ輪紋を生じただけで、全身感染はしなかった。*N.*

第 28 表 タバコ茎えそ病の発生状況

発生年次	発 生 地	品 種	発生規模
1968	神奈川県伊勢原町	ヒックス	+
"	愛知県荻原	"	++
"	兵庫県日高町	"	+
"	茨城県桂村	だるま	+++~++++
"	" 御前山村	"	+++~++++
"	" 緒川村	"	+++~++++
"	" 金砂郷村	水府	+
"	" 大宮町	ヒックス	+
"	栃木県黒羽町	だるま	+++
"	千葉県市原市	ヒックス	+++~++++
"	" 大原町	"	+++~++++
"	" 土気町	"	+++~++++
"	" 蓮沼村	"	+++~++++
1969	千葉県大網白里長生村	"	+++~++++
"	神奈川県秦野市	"	+
"	愛知県豊橋	"	++
1970	茨城県水府村	松川	+++

注) +: 数本程度、 ++: 数 10 本、 +++: 広範囲に多数発生

第 29 表 発病タバコから得られた供試 TRV 分離株

分離株	タバコ品種	採 集 場 所	採集年
HSN	Holme's Samsun	神奈川県秦野市	1962
IH	ヒックス 2 号	" 伊勢原市	1968
TH	"	兵庫県日高町	"
MD1	だるま	茨城県桂村	"
UD	"	栃木県黒羽町	"
CH2	ヒックス 2 号	千葉県大原町	"
CH3	"	" 土気町	"
MH	"	茨城県大宮町	"

raimondii と *N. solanifolia* は TRV-MD1 の接種によってのみ、接種葉にえそ斑点を生じ、このうち *N. solanifolia* は全身感染することもある。

2) 血清反応

TRV-HSN の抗血清を用いた寒天拡散法による試験結果を第 6 図に示した。TRV-HSN と TRV-IH は他の分離株とは異なった反応を示した。すなわちこの 2 株は他の分離株と沈降帯が部分交叉した。第 32 表に示した微滴法による試験結果では、TRV-HSN 抗血清に対しては TRV-HSN, TRV-IH と TRV-MD1 の間に力価の差が認められたが、TRV-MD1 抗血清に対しては TRV-HSN と TRV-MD1 の間に力価の差は認められなかった。

第30表 TRV分離株の汁液接種による各種植物の反応

ウイルス分離株	接 種 植 物	病 徴		
		L	S	R
HSN、IH ₀	アスター			
	くれない 2号	N	N	+
	あかね	N	N	+
	みすずポンポン	N	N	+
MD1、TH、UD、 CH2、CH3、 MH ₀	アスター			
	くれない 2号	N	Yr、Ym	+
	あかね	N	Yr、Ym	+
	みすずポンポン	N	Yr、Ym	+
HSN、IH、MD1、 TH、UD、CH2、 CH3、MH ₀	ササゲ (黒種三尺)	N11	O	-
	インゲンマメ (改良大手亡)	N11	O	-
HSN、IH、MD1、 TH ₀	ヒャクニチソウ	O	O	-
	ソラマメ	N	stN	+
	<i>Physalis floridana</i>	N	N、M、Yr	+
	<i>Datura tatula</i>	O	M、N	+
	トウガラシ (鷹の爪)	N	O	+
	<i>Chenopodium amaranticolor</i>	N11	O	-
	ホウレンソウ	O	M	+
	ニチニチソウ	N	M、N	+
	センニチコウ	N	N	+
	キャベツ	O	O	-
	カリフラワー	O	O	-

注) L:接種葉の病徴 S:全身的病徴 R: 上位葉の戻し接種
 N:えそ斑点 Yr:黄色輪紋 Ym: 黄色モザイク
 N11:局部えそ斑点 M:緑色モザイク stN:茎えそ O:病徴なし

第31表 TRV分離株の汁液接種による *Nicotiana* 属植物の反応

全身感染	
重症	タバコ品種 (Samsun、Holme's Samsun、だるま、遠州)、 <i>N. acuminata</i> 、 <i>N. debneyi</i> 、 <i>N. glauca</i> 、 <i>N. goodspeedii</i> 、 <i>N. gossei</i> 、 <i>N. megalosiphon</i> 、 <i>N. repanda</i> 、 <i>N. rustica</i> 、 <i>N. sylvestris</i> 、 <i>N. trigonophylla</i>
中間症	タバコ品種 (ヒックス 2号、パーレー 21、Ky57、Xanthi、 水府、松川、白桐、白だるま)、 <i>N. glutinosa</i> 、 <i>N. paniculata</i> 、 <i>N. rotundifolia</i>
軽症	タバコ品種 (ブライトエロー)、 <i>N. clevelandii</i> 、 <i>N. langsdorffii</i> 、 <i>N. setshelii</i> 、 <i>N. suaveolens</i>
接種葉のみ感染	
<i>N. knightiana</i> 、 <i>N. raيمondii</i> *、 <i>N. solanifolia</i> **	

注) 重 症: 茎葉に激しいえそ斑、葉に奇形
 中間症: 茎葉に中間的なえそ症状
 軽 症: 茎葉に軽微なえそ斑、まれに全身感染
 *: TRV-MD1 のみが、接種葉に局部えそ斑点、他の分離株は感染しない。
 **: TRV-MD1 のみが、まれに全身感染

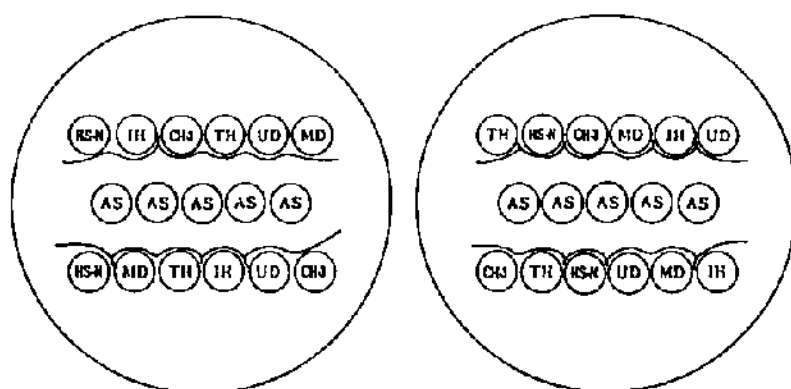
以上の結果から、TRV-HSN, TRV-IHの群とTRV-MD1など6株の群とは、血清学的に共通抗原を持つが、一部異種抗原を持ち、前者の群は後者の群に欠落している抗原を持つものと思われた。

3) ウイルス粒子の形態および構成

電子顕微鏡観察では、供試した全ての分離株で長さの異なる棒状粒子が認められた(図版26)。1カ月以上冷

第32表 TRV HSNとMD1の血清学的力価(微滴法)

抗血清 ウィルス株	TRV-HSN	TRV-MD1
TRV-HSN	256	2048
TRV-IH	256	—
TRV-MD1	64	2048



第6図 寒天拡散法によるTRV分離株の血清反応

AS : TRV-HSN 抗血清

HSN, IH, CH3, TH, UD, MD:

TRV 各分離株の精製ウイルス抗原

蔵庫に保存した精製ウイルスでは、白金パラジウム影付けによりウイルスRNAと思われる糸状の、ひもが認められた。また、リンタングステン酸染色により粒子の中心孔、円形の断面が認められた。

電子顕微鏡によるウイルス粒子の長さの分布を第7図に示した。TRV-IHは、TRV-HSN群の、TRV-THはTRV-MD1群の代表的な株であり、それぞれ500~600粒子を測定した。TRV-HSN, TRV-IHでは長粒子が180~190nm、短粒子が70~80nmの分布を示し、短粒子が第1のピークであることも都丸ら¹⁹⁹⁾、三木ら¹²⁶⁾の報告と一致した。TRV-MD1, TRV-UD, TRV-THでは4種の粒子長が認められ、この群では第1のピークであった長粒子は、TRV-HSN, TRV-IHと同様の長さであったが、110nm付近に中間的なピークと、第2のピークとして40~60nmの短粒子が存在する特徴があった。

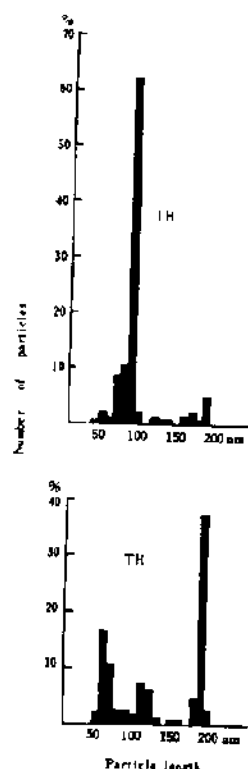
しょ糖密度勾配遠心による沈降パターンを第8図に示した。供試6株はTRV-CH3を除いて、TRV-HSN, TRV-IHとTRV-MD1, TRV-UD, TRV-THの2群に分けられた。また、TRV-HSN群、TRV-MD1群ともに短粒子が第

1のピークを示した。TRV-CH3がTRV-HSN群あるいはTRV-MD1群とは異なる沈降パターンを示した理由は不明であった。

4. 考 察

神奈川、千葉、茨城、栃木および兵庫県下のタバコから分離されたタバコ茎えそウイルス(TRV)8分離株について比較検討した結果、これらの分離株は2系統群に分けられた。

第1群にはTRV-HSN, TRV-IHが、第2群にはTRV-MD1, TRV-TH, TRV-UD, TRV-CH2, TRV-CH3, TRV-MHが含まれ、第1群はアスターに全身的なえそ、特にtop necrosisを生じ、第2群はアスターに黄色輪紋を生ずる。血清反応では、両系統群は共通抗原を持つが、第1群は一部異種抗原を持つ。ウイルス粒子では、第1群は180~190nmの長粒子、70~80nmの短粒子からなり、第2群は長粒子は第1群と同じであるが、40~60nmの短粒子とその中間的な粒子からなる特徴がある。TRV-CH3だけは粒子の分布パターンが、上記2群の分離株と

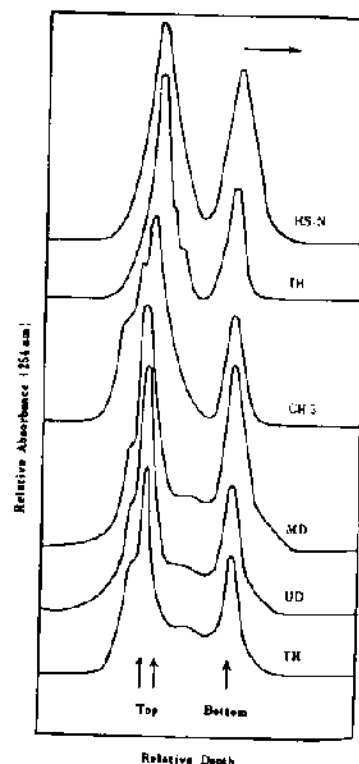


第7図 TRV-HSN, TRV-Hのウイルス粒子長の分布

やや異なっていた。小室ら^{103,104)}はアスターからTRVを分離しているが、アスターに黄色輪紋を生ずるので、本実験における第1群とは異なり第2群に属するものと思われる。

両系統群に対して、タバコ13品種、*Nicotiana*属20種には免疫性を有するものは認められなかったが、タバコ品種ブライトエロー、*N.solanifolia*は病徴が軽微であったり全身感染しにくいこと、*N.knightiana*、*N.raimondii*は全身感染しないことが認められた。本実験の*N.knightiana*、*N.raimondii*、*N.acuminata*、*N.debneyi*、*N.glaucia*および*N.repanda*の反応は、van der Want²³⁴⁾によるオランダのTRV分離株の反応とは異なるが、これはわが国とオランダの分離株の違いによるものと思われる。

血清学的にはTRV-HSN(第1群)とオランダ分離株の抗血清は陽性反応を示すが、すでに都丸・中田¹⁹⁹⁾によって報告されている。Harrison and Woods⁴⁹⁾はTRV分離株を血清タイプとウイルス粒子長の分布によって分け、ヨーロッパ、アメリカ、ブラジルの3種の血清タイプがあることを認めている。本実験で供試した分離株は、



第8図 しょ糖密度勾配遠心によるTRV各分離株の沈降パターン

TRV-HSNがオランダ分離株の抗血清と陽性反応を示し、TRV-HSN抗血清と供試分離株が陽性反応を示した。ウイルス粒子長の分布では、第1群はTRV-ORE(アメリカ分離株)と、第2群はTRV-VH(オランダ分離株)と類似している。

なお、本実験中にタバコ畑周辺のホウレンソウから分離したTRVは、アスターに黄色輪紋と黄色モザイクを生じたので、第2群に入るものであった。また、ニチニチソウは両系統群の保存宿主植物として適していることが明らかとなった^{177,207,225)}。

TRVの物理化学的性質、伝搬、干渉効果、精製等については、すでに都丸・中田の詳細な報告¹⁹⁹⁾があり、本実験中にも同様の結果を得ているので記さなかったが、その後わが国のアスター^{103,104)}、スイセン^{72,73)}、ダイズ¹³⁰⁾、ホウレンソウ²¹⁹⁾、ニラ²¹⁹⁾、雑草など²¹⁹⁾あるいは輸入検疫中のチューリップ¹²²⁾、ヒヤシンス¹⁷²⁾からも本ウイルスが分離されているので、今後とも本ウイルスの発生には注意する必要がある。

V タバコネクロシスウイルス (tobacco necrosis necrovirus)

A. タバコネクロシスウイルスの同定および電子顕微鏡的観察

1. 実験材料および方法

神奈川県伊勢原市で採集されたタバコの、茎のえそ部分を削り取ったもの、および無病徴の葉のリン酸緩衝液 (0.1M, pH7.0) 磨砕汁をタバコ (品種: Holme's Samsun) に接種したが感染株は得られなかった。次いで根こぶ線虫感染と相まってえ死した部分を含む根部および無病徴の葉をとり、水飽和フェノールによる核酸抽出処理液をササゲ (品種: 黒種三尺) の初生葉に接種した。両方とも接種4日後に直径2~3mmのえそ斑点を生じた。この初生葉に生じた斑点を切り抜いてフェノール処理およびリン酸緩衝液磨砕汁をそれぞれササゲ初生葉に接種したところ、いずれも多数のえそ斑点を生じた。この接種葉のリン酸緩衝液磨砕汁を接種源として各種の実験に供試した。この分離株をTNV-SNと呼ぶことにした。以後この分離株の感染葉を真空凍結乾燥したものおよび精製ウイルスを保存して随時供試した。

供試植物は径12cmの植木鉢に植え、ガラス温室で育て、主として幼苗を用いた。接種はカーボランダムを用いたなすりつけ法によった。ウイルスの精製には、ササゲまたはタバコの接種葉を蒸留水とともに磨砕し、低速遠心した上清を-20℃に凍結し、融解後超遠心機 (Beckman Spinco Model LまたはL₂) による分画遠心により、時にはクロロフォルムを磨砕汁に加えて振盪した後、低速遠心上清を分画遠心する方法も併用した。

精製ウイルスを等量のアジュバント (Difco incomplete) とともに家兎の後肢筋肉に注射し、抗血清をえた。注射は1964年10月20日~1965年5月19日にいたる計5回行なった。また1964年にイギリス Rothamsted 試験場の Dr. B. Kassanis から分与された TNV 抗血清も供試した。

タバコおよびササゲ接種葉の超薄切片は、エポキシ樹脂に包埋し、常法によって作製し、電子顕微鏡 (JEM 7型) によって観察した。

2. 実験結果

1) 採集時のタバコの病徴

1963年に神奈川県で採集されたタバコ (品種: ブライトエロー) は、生育がやや劣り、地際部の茎はえそ条斑を示していた。このタバコを根ごと採取して実験に用い

第33表 TNV-SNの汁液接種による各種植物の反応

接種葉に局部えそ斑点を生じた植物

タバコ (ブライトエロー^{*}、Holme's Samsun^{*}、Xanthi^{**})
Nicotiana glutinosa^{**}、Chenopodium amaranticolor^{**}、
フダンソウ^{**}、ホウレンソウ (キングオブデンマーク^{**}、日本ホウレンソウ^{**})、インゲンマメ (大手亡^{**}、大丸うずら^{**}、黒衣笠、Top Crop、江戸川、鈴成、尺五寸、大福、大虎)、ササゲ (黒種三尺^{**})、センニチコウ^{**}

反応を示さなかった植物

ハナヤサイ (野崎早生)

注) * : ときに局部えそ斑は葉脈に沿って広がり、全身的となった。
** : 接種葉からウイルスの戻し接種に成功した。

たが、根部にもえそ斑が認められた。

2) 汁液接種による各種植物の反応

タバコ、Nicotiana glutinosa、インゲンなどに汁液接種した結果を第33表に示した。供試植物はハナヤサイを除いていずれも接種葉にえそ斑点を生じた。タバコ (品種: ブライトエロー) では葉数5~6枚の幼苗ではときに全身的にえそを生ずることがあった。またインゲン (品種: 大手亡および大丸うずら) およびササゲ (品種: 黒種三尺) も接種葉の斑点が拡大し、葉脈を伝って全身的にえそを生ずることがあった (図版20, 21)。

3) ウイルスの安定性

ア. 耐熱性: インゲン (品種: 改良大手亡) の初生葉にTNV-SNを接種し、局部病斑が現われた接種4日後に、これを切り取り磨砕汁として供試した。病原性はインゲンの半葉法によって検定し、磨砕汁の蒸留水による50倍希釈液を対照とした。70, 75, 80, 85, 90℃各10分の処理で、病斑数は半葉当たりそれぞれ11/102 (処理/対照)、8/109, 1/87, 0/118, 0/95を示し、80~85℃、10分で不活化が認められた。

イ. 耐保存性: TNV-SNを接種して局部病斑を生じたササゲ初生葉を切り取り、室温で風乾状態に保って保存し、経時的にリン酸緩衝液磨砕汁としてササゲ、インゲンの初生葉およびタバコ (品種: ブライトエロー) に接種して感染力を調べた。その結果切り取り後9日、18日および41日では病原性が認められたが、50日後の検定ではウイルスは全く検出されなかった。

4) 感染葉フェノール抽出成分の病原性

Schlegel (1960)¹⁵⁰⁾ および Kassanis (1960)³³⁾ は、TNVに感染したタバコ葉の直接フェノール処理によって得られるRNA成分は、タバコモザイクウイルスなど多くの

第34表 TNV-SN感染植物組織のフェノール抽出成分の病原性

供試材料	フェノール抽出成分			リン酸緩衝液磨砕汁		
	接種本数	感染本数	1葉当たり病斑数	接種本数	感染本数	1葉当たり病斑数
感染タバコ根	10	10	> 100	—	—	—
感染タバコ葉	10	2	2~3	10	0	—
感染ササゲ葉	20	20	> 100	11	11	> 100

注) 感染力は、いずれもササゲ (品種、黒種三尺) の初生葉を用いて検定した。

ウイルスと異なって、リン酸緩衝液磨砕汁と同等の感染力をもつことを示している。存在するウイルスが微量で、植物体内に含まれる感染阻害物質の作用によって、検出できないような場合には、フェノール処理によって阻害物質が除かれ、検出が可能となることも考えられる。そこで、TNV-SNに感染したタバコの根、葉およびササゲの初生葉を用いてフェノール処理液の感染力を、対照のリン酸緩衝液と比較した。検定植物としてササゲの初生葉を用いた。結果を第34表に示した。

感染タバコ根はフェノール処理によって高い感染力を示し、タバコ葉はわずかな感染力を示した。対照の健全葉磨砕汁からはウイルスは検出されなかった。また、接種によって多数の局部えそ斑点を生じたササゲ葉ではフェノール処理液と対照との間に差は認められなかった。以上の結果は、本分離株がKassanisまたはSchlegelの用いたTNVとほぼ同様な性質をもつウイルスであることを示すとともに、本法が、普通には検出されないほど微量のウイルスを検出する方法として有用であることを示している。

5) タバコわい化ウイルスとの干渉効果

TNVはTeakle (1962)¹⁷⁸⁾によって、土壌中の*Otopidium*菌によって伝搬されることが示されている。このことはタバコわい化病と同様であって、タバコわい化ウイルスはTNVの特異な系統ではないかとの考えもできた。そこで、タバコわい化病感染苗の、病徴がほとんどかくれた葉に、TNV-SNを接種して、両ウイルスの干渉効果について検討した。対照植物としてほぼ同じ大きさの葉をもつ健全タバコを用いた。その結果、わい化病感染株では病斑数は1葉当たり42.5、対照では同じく54.7を示した。干渉効果は22.3%となり、ほとんど干渉効果は認められなかった。

6) 血清反応

TNV-SNの精製ウイルスとDr.Kassanisから送付を受

けたTNVの抗血清との微滴法試験の結果、抗原の各段階希釈に対して抗血清の16倍希釈まで反応した。TNV-SN精製ウイルスを家兎に注射して得られた抗血清は、精製ウイルスに対して抗血清希釈128倍まで反応した。Kassanisの抗血清およびTNV-SN抗血清のいずれも対照として供試した精製TMVとは反応しなかった。寒天拡散法によっても両抗血清は、精製ウイルスおよび感染ササゲ葉磨砕汁に対して、単一の沈降帯を示した。

以上の結果はTNV-SNが血清学的にもTNVに属するウイルスであることを示している。

7) 感染葉組織の電子顕微鏡観察

精製TNV-SNを接種したササゲ「黒種三尺」の初生葉およびタバコ「ブライトエロー」の葉を供試した。小葉片をグルタルアルデヒドおよび3リン酸オスミウムにより固定し、アセトン脱水後エポキシ樹脂に包埋した。切片を酢酸ウラニルにより電子染色した後、電子顕微鏡による観察を行なった。ササゲのえそを生じた部分の細胞中に、結晶状に配列または散在した直径約23nmの粒子の分布がみられた(図版27)。これらの粒子は健全組織には見当らなかった。これらの粒子はその大きさ、形状からTNV粒子と考えられる。サテライトウイルスと思われる粒子は観察されなかった。またタバコのえそ斑点を示す組織の近傍の、正常と見える組織の葉緑体中のラメラ構造に接して、結晶状配列を示す直径約10nmの小粒子からなる構造がみられた。この構造はその配列、粒子の大きさからFraction 1 protein⁸⁷⁾と考えられた。また同様に葉緑体中に小粒子からなる波状構造(filamentous structure)がみられた。この構造を構成する小粒子は前述の結晶状粒子より小さく、Phytoferritin²¹⁾と考えられ、同一細胞中にウイルス粒子は認められなかったが、感染による影響を受けて観察可能となったものと思われる。

3. 考 察

わが国のタバコから分離されたTNV-SNがTNVの1系であることは、各種植物の反応、核酸成分の病原性、耐熱性、耐保存性、血清反応および感染組織内のウイルスの形状、存在様式などから明らかである^{216,227}。

Babos and Kassanis (1963)⁶²はTNVに多くの系統があることを報告し、これらの系統を血清型としてserotype AおよびDとに類別している。TNV-SNの各種植物の反応は既往の報告によく似ており、また耐熱性、耐保存性も既往の報告の範囲に入っている。Kassanisから分与を受けた抗血清とTNV-SNは陽性反応を示したが、この抗血清のserotypeは明らかでない。土居ら²⁵はタバコわい化病感染タバコ根部からTNV-SNと同一と思われるTNVを分離したが、この分離株に感染したタバコの組織内に、従来諸外国の分離株で報告されたことのない、線状の特異構造がウイルス粒子と共存している像を認めている。

わが国では本研究とはほぼ同じくして輸入検疫中のチューリップからTNVが分離されているが、その他の植物からの分離例はなかった。その後、小室ら¹⁰¹、要ら^{80,81}、宇田川²²³によりイチゴの根部からTNVが分離され、小室らはタバコネクロシスサテライトウイルスも確認した。また松涛ら¹²⁴、名畑ら¹²⁸によりチューリップ、深谷ら³¹により水耕栽培トマト、今田ら⁶⁸によりブドウからTNVが分離されてきた。白子ら¹⁶⁵は、わが国のTNV 3系統（タバコ、イチゴ、チューリップ）の血清学的性状比較をして、タバコ系とイチゴ系は反応が強く、チューリップ系は反応が弱いとしている。

Kassanis⁶⁴はまた、TNVのある系統にはそれ自体では感染性はないが、親ウイルス（assistant virus）と一緒に接種されると増殖する性質をもつ随伴ウイルス（satellite virus）が存在することを報告している。本研究のTNV-SNでは観察の限りではサテライトウイルスの存在は認められなかった。前述のように小室らの分離株ではサテライトウイルスが認められている。

感染植物組織内におけるTNVの存在様式について、Edwardsonら (1966)²⁷およびKassanisら (1970)⁸⁶はササゲの病斑部細胞の細胞質内に球状粒子の結晶状配列を認めているが、TNV-SNについても同様な結晶状配列が認められた（図版27）。またタバコのTNV-SN接種葉における病斑部周辺の細胞内葉緑体中に、Fraction I protein⁸⁷と思われる粒子の結晶状配列および波状のPhytoferritin²¹様粒子が認められたが、これらは局部病斑形成部分の細胞におけるウイルス増殖の影響によって観察

が可能になったものと考えられる。しかし、詳細についてはさらに検討が必要であろう。

B. タバコネクロシスウイルスの*Olpidium brassicae*による伝搬ならびに感染がタバコにおよぼす影響とタバコにおける発生分布

前節に続いて、タバコネクロシスウイルス（TNV）の分離株であるTNV-SNについて*Olpidium brassicae*による伝搬の有無を検討した。さらに本菌の休眠胞子におけるTNV-SNの存在を知り、またTNV-SN freeの*O. brassicae*を得る目的からCampbellら (1965)¹⁶の方法に従ってHClによる洗浄の効果について調べた。またタバコではTNVは根部に感染するのみで病徴を現さないのが普通であるが、この感染がタバコの生育におよぼす影響については、今まで調べられた例は見当らない。そこで水耕および鉢植え土耕のタバコについてTNV-SNの感染がタバコの生育におよぼす影響について検討した。また各地のタバコわい化病発病株を集めてTNVの検出を試み、本ウイルスの発生分布を調べた。

1. 実験材料および方法

1) *Olpidium brassicae*による伝搬

前節のTNV-SNと、*O. brassicae*はタバコ苗床の苗から分離され研究室に保存されていた菌株とを使用した。後述のHClによる本菌の処理によってTNV-SNを除いてから無毒菌（TNV free）として使用した。タバコ用水耕液⁽¹⁾に、本ウイルスを接種したインゲンまたはタバコ葉磨砕汁を少量と、無毒*O. brassicae*を含む土壌を少量加えた。対照として無毒の*Olpidium*のみを加えた区および無添加の区を設けた。これらの水耕液をそれぞれ34cm（縦）×26cm（横）×7.5cm（高さ）のほうろうびき鉄製バットに入れ、タバコ（品種：Ky57およびブライトエロー）の葉数6枚の幼苗をそれぞれ20本ずつ移植した。20℃に設定した空気調和ガラス室の回転台上で約20日間培養し、根部をササゲ「黒種三尺」、インゲン「改良大手亡」の初生葉およびタバコ「ブライトエロー」に接種して、ウイルス感染の有無を検定した。また同時に根部の顕微鏡観察を行なった。鉢植えタバコ（土耕）でも同様な方法によって検定した。

2) HClによるTNV-SN保毒菌の処理

予備実験で上記の水耕方法によって、感染したタバコ

注) たばこ生産技術教本4, 肥料編, p.194, 昭和39年(1964), 日本専売公社。

はいずれもTNV-SNと*O. brassicae*を持つことが明らかとなったので、Campbellら¹⁶⁾の方法に従って1N, HCl (pH 0.5) を感染根磨砕汁に等量加えて、2時間室温に放置した。一方、対照として無処理の感染根磨砕汁を用いた。これらの接種源を前記の方法による水耕および土耕の、水耕液および土壌中に加えてタバコを移植し、あるいは播種して感染の有無を検討した。

3) タバコわい化病発病株からのTNV-SNの分離

全国15ヶ所から採集された24株のタバコわい化病発病株について、タバコ根、葉、苗床肥土、畑土壌等から、ササゲ、タバコ、*N. glutinosa*への接種、TNV-SN抗血清による血清反応などによってTNVの検出を試みた。苗床肥土は植木鉢につめてタバコを播種し、その幼苗についてウイルスの検出を行った。

2. 実験結果

1) *Olpidium brassicae*によるTNV-SNの伝搬

(1) TNV-SN保毒*O. brassicae*のHCl処理による無毒化

TNV-SN保毒*O. brassicae*の寄生するタバコ根磨砕汁をHClで処理した後、径18cm鉢に灌注してタバコ 'Ky 57' を播種した。対照には無処理の感染根磨砕汁を灌注した。接種後40日目に 'Ky 57' の根部を2〜3株まとめて1区とし、ササゲに戻し接種を行いTNV-SN感染の有無を調べた。その結果、HCl処理区からはTNV-SNはまったく回収されなかったが、無処理区ではササゲ1葉当たり20〜25個の局部病斑を生じ、ウイルスが回収された。さらに顕微鏡観察ではいずれの区のタバコ根部にも*Olpidium*菌の休眠胞子が多数観察され、このHCl処理区からTNV-SN freeの無毒*Olpidium*菌を得ることができた。

(2) *O. brassicae*による伝搬

タバコ用水耕液に、TNV-SN接種インゲン葉磨砕汁と

無毒*O. brassicae*を同時に添加した区、無毒*O. brassicae*添加区、対照として無添加健全区をもうけ、タバコ 'Ky 57' , 'ブライトエロー' の幼苗を移植し、13〜22日目に根部の戻し接種を行い、感染の有無を調べた。結果を第35表に示した。TNV-SN磨砕汁および*Olpidium*菌添加区のみから本ウイルスが回収され、*O. brassicae*によるTNV-SNの伝搬が確かめられた。

(3) TNV-SNの根部接種

TNV-SN感染インゲン葉磨砕汁を、蒸気消毒土壌をつめた直径12cmの植木鉢に1本植えとしたタバコ '白達州' 25本の根にカーボランダムを用いて接種し、同じく対照にはカーボランダムを加えた蒸留水をこすりつけた。11日目から130日目まで、経時的に4回にわたって、毎回2株ずつ供試し、根部をできるだけ各部分から取り、ササゲおよび 'ブライトエロー' に戻し接種して感染の有無を調べた。結果を第36表に示した。本ウイルス感染葉磨砕汁の単独接種では、16日目にはウイルスが回収されたが29日目からはウイルスは回収されなくなった。

第36表 TNV-SN磨砕汁の鉢植えタバコ根部への接種と感染

戻し接種 (処理後日数)	検定部位	接種区	対照区
11日	根	2/2*	0/2
16	"	1/2	0/2
29	"	0/2	0/2
"	葉	0/2	0/2
130	根	0/2	0/2

注) *: 感染本数/検定本数

戻し接種はササゲおよびタバコ (ブライトエロー) に行なった。

第35表 *Olpidium brassicae* によるTNV-SNの水耕タバコへの伝搬

戻し接種	処理	TNV-SN+ <i>O. brassicae</i>	<i>O. brassicae</i>	対 照
処理後13日		35*	0	0
19		5	0	0
22		> 100 (2~4)**	0 (0)	0 (0)

注) *: ササゲ 8葉の 1葉当たり平均病斑数

** : () はタバコ (ブライトエローおよびKy57)

4葉の 1葉当たり平均病斑数

(4) 根におけるTNV-SNおよび*O. brassicae*の存在
TNV-SN保毒*O. brassicae*の存在下で、水耕または土耕したタバコの根部には褐色部分と外観健全な白色部分が認められるので、水耕したタバコ 'ヒックス2号' の根部のそれぞれの部分の磨砕汁をササゲ、インゲンおよびタバコ 'ブライトエロー' に接種してウイルスの回収を試み、また顕微鏡観察を行なった。その結果、根部の褐色および白色いずれの部分からも、上記3植物の接種葉に多数のえそ斑点を生じ、多量の本ウイルスの存在が示された。顕微鏡観察によっても、いずれの部分にも*Olpidium*菌休眠胞子の存在が認められた。

第37表 TNV-SNの感染がタバコの生育におよぼす影響Ⅰ（水耕）

品種	処理	生体重 (g)			最大葉の大きさ	
		根部	地上部	計	長 (cm)	幅 (cm)
Ky57	SN + <i>Olpidium</i>	2.0*	7.0*	9.0*	14.7	7.7
	<i>Olpidium</i>	2.8	9.4	12.2	16.7	8.8
	対照	2.6	8.3	10.9	15.1	8.4
ブライト エロー	SN + <i>Olpidium</i>	1.9*	11.4*	13.3*	19.1	8.5
	<i>Olpidium</i>	2.7	11.4	14.1	19.5	8.6
	対照	2.6	12.0	14.6	19.5	8.5

注) タバコ幼苗 8株の平均。

*: 5%レベルで有意差あり。

2) TNV-SNおよび*O. brassicae*の感染がタバコの生育に及ぼす影響

TNV-SN磨砕汁 + *O. brassicae*, *O. brassicae*単独および無添加の各区を設け、水耕液に移植したタバコ 'Ky57', 'ブライトエロー' 幼苗を20℃で20日間培養して根部、地上部の重量および最大葉の葉長と葉幅を比較検討した。第37表に示すように 'Ky57' 'ブライトエロー' とともにTNV-SN磨砕汁 + *O. brassicae*添加区がその他の区にくらべて生育が劣り、生体重で10%程度の差が示された(図版22)。またこの区では根からササゲへの戻し接種によってTNV-SNが多量に分離され、根の中位部あるいは先端に褐色のくびれやくされが認められた。無毒*O. brassicae*寄生の場合は生育は健全区とほとんど差が認められなかったが根部のくびれや組織の褐変は観察された。

次にTNV-SN保毒*O. brassicae*が寄生したタバコ 'Ky57' 根部の磨砕汁をHCl処理、無処理磨砕汁を調整し、それぞれ蒸気消毒土壌をつめた径18cm鉢に灌注した。これらおよび対照の植木鉢にタバコ 'Ky57' を播種または移植し、上記の水耕と同様にタバコの生育を比較した。結果を第38表に示した。無毒*Olpidium*区、対照区に比較してTNV-SN保毒*Olpidium*区では20%程度の生育阻害が認められた。

3) タバコおよびその他植物のTNV-SNによる自然感染の探索

Babos and Kassanis (1963)⁷⁾はRothamsted試験場の温室内の鉢植え植物について、TNVによる自然汚染を調べたところ、外観健全の*Nicotiana*属植物、*Chenopodium amaranticolor*, *Datura tatula*, インゲンなど多くの植

第38表 TNV-SNの感染がタバコの生育におよぼす影響Ⅱ（土耕）

処 理	生体重 (g)		
	根部	地上部	計
SN + <i>Olpidium</i>	0.7*	14.1*	14.8*
<i>Olpidium</i>	0.8	19.1	19.9
対照	1.1	17.3	18.4

注) タバコ幼苗10株の平均。

*: 5%レベルで有意差あり。

物の根部からTNVが検出されたことを報告している。秦野たばこ試験場のガラス温室内の植物について、主として播種後90日以上を経た外観健全株の根部をとり、それらのリン酸緩衝液磨砕汁をササゲおよびタバコに接種してTNVの検出を試みた。計83本の植物について調べた結果、播種後152日目のタバコ 'Ky57' の検定した10本中2本の根部からTNV-SNと同様なウイルスが検出され、その他播種後42日～253日にわたるタバコ 'Ky57', 'Xanthi nc', 'ブライトエロー', ササゲ, センニチコウ, アスター, *N. glutinosa*などの植物根部からは全く検出されなかった。

また、野外の全国各地のタバコおよび1964年5月に新潟県下で採集されたチューリップについて、根部および

第39表 タバコわい化病発病株等からのTNV-SNの分離

採 集 地	品 種	採 集 年	採 集 試 料	判別宿主の反応			血清 反応
				ササゲ	グルチ	タバコ	
香川県香川町	ブライトエロー	1969	発病株	-	-	-	~
石川県七尾	ヒックス	"	"	-	-	-	~
長野県松本	白遠州	"	3株 "	-	-	-	~
愛知県豊橋	ヒックス	"	" "	-	~	-	~
長野県明科町	白遠州	"	苗床肥上	+	~	+	~
	ブライトエロー	"	"	+	~	+	~
長野県山形村	白遠州	"	"	-	~	-	~
	ブライトエロー	"	"	-	~	-	~
岡山県倉敷市(たばこ試)	ブラジルタバコ	1970	2株発病株	-	-	-	~
岡山県新見町	ヒックス	"	" "	-	~	-	~
岡山県倉敷市(たばこ試)	ブライトエロー	"	発病株	+	~	+	+
長野県松本	白遠州	"	"	+	~	+	+
神奈川県秦野市峠	ヒックス	"	3株 "	+	~	+	+
石川県七尾	"	"	2株 "	-	~	-	-
神奈川県秦野市	"	1971	発病株	-	-	-	~
	GH4	"	"	-	-	-	~
岡山県倉敷市(たばこ試)	ブライトエロー	"	"	-	-	-	~
兵庫県神戸市岩岡	ヒックス	1965	2株地際				
(たばこ試分場)			部えそ*	-	-	-	~

注) + : 陽性反応 - : 陰性反応 ~ : 試験せず

グルチ : *N. glutinosa* タバコ : 'ブライトエロー' と 'Xanthi' または 'Ky57'

* : わい化病は発病していなかった。

葉部のリン酸緩衝液磨砕汁およびフェノール処理による核酸成分をササゲおよびタバコに接種して、本ウイルスの検出を試みた。兵庫県下で採集した地際部にえそを示す2本のタバコからはTNVは検出されなかったが、わい化病発病タバコからはTNV-SNと同様なウイルスが検出される例があった(第39表)。これらのわい化病発病株は各地から送付されたものを直ちに供試しても検出されることから、ガラス温室内における汚染ではなく、採集された畑における汚染と考えられる。チューリップは地上部にえそ、モザイク、奇形などを示す10株を供試したが、TNVと思われるものは検出されなかった。

3. 考 察

水耕で育てたタバコを用いた実験で、TNV-SNを保毒した *Olpidium brassicae* の存在する試験区のタバコ根部だけからTNVが回収され、本ウイルスが *O. brassicae* によって伝搬されることが明らかとなった。また実験の限りでは、タバコの根にTNV-SNを接種し、蒸気消毒土壌をつめた植木鉢に1本植えとしたタバコからは約1カ月後にはウイルスは回収されなくなった。Babos and Kassanis (1963)⁷⁾ は高圧滅菌した畑土壌にTNVを加えると、そこに植えたインゲンの根に感染がおこることを示し、ウイルスと根部の直接接触によって感染すると述べている。本実験の根の直接接種では、接種根部におけるウイルスの増殖が極めて少なかったか、あるいはなかったよ

うに思われるが、ウイルスの接種量および別の種類の植物による検討がさらに必要であろう。

伝搬様式について、TNV-SN保毒*O. brassicae*をHCl処理することによって、タバコ根部に*O. brassicae*休眠胞子が多数増殖しているにもかかわらず、TNVは全く回収されず、無毒化された。この結果はCampbellら¹⁶⁾の報告と同様に、TNV-SNにおいてもHCl処理によって、残存する*O. brassicae*休眠胞子の内部にはウイルスは存在しないことを示唆している。Temminck (1971)¹⁸⁰⁾は*O. idium*遊走子によるTNVの伝搬について詳細な電子顕微鏡的研究を行なっているが、本実験では遊走子に関しては観察を行なわなかった。

TNVはタバコの地上部に症状を現すことはまれとされているが、本実験の結果、TNV+*O. idium*菌を土壌灌注した場合も地上部に病徴は現われなかった。しかし、健全区と無毒*O. idium*菌単独灌注区とではタバコの生育にはほとんど差は認められなかったが、TNV+*O. idium*菌灌注区は根の発育および地上部の発育が劣ることが明らかとなった。この結果は温室内で水耕および鉢植えタバコにおける実験であるので、畑で果たしてどの程度の被害を与えるかは今後の検討が必要であろう。TNVによる植物の被害は灌水をする畑で激しいことが示されている⁸⁵⁾ことから、畑でも土壌条件によってはタバコの生育に阻害的な影響を与えるものと推察される。

タバコわい化病発病タバコの、各地から採集された株の、根部あるいは発生苗床肥土および畑土壌からTNV-SNと同様なウイルスが分離されたことは、例数はまだ少ないが、TNVがかなり広く発生分布していることを示唆している。TNVおよびタバコわい化ウイルスはいずれも*O. brassicae*によって伝搬されることが明らかにされており^{51,57)}、またこれらのウイルスが同時に伝搬されることも報告されている^{57,58)}。本実験でも同じ*O. brassicae*によって、両ウイルスが伝搬されるように思われる。上居ら²⁵⁾は温室内のわい化病発病タバコからTNVの1系を分離しているが、本実験の結果は温室内のタバコだけでなく、畑のタバコでもTNVと重複感染している場合があることを示している。本実験の限りでは、わい化病の全身病徴にTNV-SNの重複感染が直接関与していることはないように思われる。*O. idium*菌によって伝搬されるレタスのlettuce big vein virusによる観察でも、タバコわい化病と同様にTNVの重複感染が報告されている²⁸⁾。本実験の結果から、各地のわい化病発病タバコにTNVが重複感染していることが示唆され、また媒介菌である*O. brassicae*によってTNVが伝搬され、時によっては畑に

においてタバコの生育阻害が発生しているものと思われる²²⁸⁾。

IX タバコに発生するウイルスの種類・系統の判別法

研究史でも述べたように、わが国のタバコに発生したウイルスの種類と系統は1990年現在で13種25系統に及んでいる。今後とも新ウイルスの発見や、既知のウイルスについても研究が進むにつれて、更に詳細な分類が行われるものと思われるが、現在までにタバコに発生したウイルスについて、その種類と系統の、判別宿主への接種等による判別法を総括する。

1. 判別宿主植物の反応による判別

各種ウイルスおよび系統に対して、通常用いる判別宿主植物とその反応について、第40表にまとめた。発病したタバコの葉あるいは根、茎について、まずタバコを含めた各種の植物に接種を試みる。接種にあたってはリン酸緩衝液(0.1M, pH7.0)を発病葉生重の2~10倍量加えた磨砕汁を接種源とするが、この際Na-diethyldithiocarbamate (0.01M), thioglycolic acid (0.1%)などを緩衝液に加用すると、汁液の酸化が防がれ高い感染力が得られることが多い。またウイルスによっては、後述のフェノール処理法によって得られた核酸成分を接種源として、接種に成功することもある。汁液接種の不可能なウイルスについては接木を用いる必要がある。2種以上のウイルスに重複感染していることもあるので、判別宿主の反応によって重複の疑いがあるときは、判別宿主の特性、耐保存性、耐熱性あるいは伝染法の相違などを利用して、単一のウイルスとして取り出さなければならない。さらに局部病斑宿主を利用して、単一の病斑から全身感染宿主への接種(single lesion isolation)を少なくとも2~3回はくり返した分離株を、その後の検討に用いる。また真空凍結乾燥などによって、この初期の分離株を保存する。このようにして得られた分離株について、各種の植物、品種などについて検定し、宿主範囲を確かめ、また別の判別宿主や定量用の局部病斑宿主の発見につとめる。品種については、抵抗性品種、あるいはその育成母本となるものがないかを念頭において調査する。

2. ウイルスの諸性質による判別

感染葉磨砕汁中のウイルスの安定性、伝染法、粒子の形態などの特徴について第41表に示した。

第40表 タバコに発生するウイルスの種類と系統の判別宿主植物における反応

ウイルス	系 統	タバコ ブライト エロー	Ky57, Xanthi NN	<i>N. glu- tinosa</i>	<i>P. flo- ridana</i>	<i>D. s- tra- monium</i>	<i>C. amarant- icolor</i>	センニ チコウ	ササゲ	イン ゲン	ソラ マメ	ゴマ、 アスター
タバコモザイクウイルス	TMV-QM ¹⁹¹ 普通系	M	L	L	YM	L	L	L,M,N	-	L	-	-
	TMV-3 III ^{ya} ¹⁹¹ 黄斑系	YM	L	L	YM	L	L	L,M,N	-	L	-	-
	TMV-3 III ¹⁹¹ 潜伏系	mM	L	L	YM	L	L	L,M,N	-	L	-	-
	TMV-R1 ¹⁹¹ えそ系	L	L	L	YM	L	L,N	L,M,N	-	-	-	-
ジャガイモXウイルス	PVX ¹⁹¹	L,VB,N	L,VB,N	L,VB,N	M	L, VB,N	L	L	-	-	-	L,N
キュウリモザイクウイルス	QMV-O ¹⁹¹ 普通系	M,Mal	M,Mal	M,Mal	M,Mal	M	L	L,M,N	L	L	L	L
	QMV-C ¹⁹¹ 軽症系	L,M	L,N	L,Mal, M	M,Mal	M	L	L,M,N	L	L	L	L,N
	QMV-Y ¹⁹¹ 黄斑系	YM,N, Mal	YM,N, Mal	YM,N, Mal	M,Mal	M, Mal	L	L,N	L	L	L	L
	QMV-YM ¹⁹¹ 黄色微斑系	YM	YM	YM	M,Mal	L	L	L,M,N	L	L	L	L,N
	QMV-LE ¹⁹¹ マメ科系	M,Mal	M,Mal	M,Mal	M,Mal	M	L	L,M,N	L,M, Mal	L,M, Mal	L,N	L,N
ジャカイモYウイルス	PVY-C2 ^{191,192} 普通系	VB	VB	VC	L,N	-	L	-	-	-	-	L クコ
	PVY-YSS ^{191,192} 黄斑えそ系YSS	L,Yrs, N	VB	VC	L,N	-	L	-	-	-	-	L
	PVY-A1 ¹⁹¹ 黄斑えそ系A1	VB	L,Yrs, N	VC	L,N	-	L	-	-	-	-	L
	PVY-T ¹⁹¹ えそ系	L,VN, Yrs	L,VN, Yrs	VC,M	M,Mal	-	-	-	-	-	-	L
アルファルファモザイクウイルス	ANV-B ¹⁹¹ 普通系	L,M,N	L,M,N	L,N,M	L,YM	YM	L,M	L,YM,N	L	L	L,N, M	-
	ANV-By2 ¹⁹¹ ササゲ全身感染系	L,M,N	L,M,N	L,N,M	L,YM	YM	L,N	L,YM,N	L,YM	L,YM	L,N, M	-
タバコえそ萎縮ウイルス	TNOV ^{199,199,199}	Phn,VY	VY,Phn	VY,Phn	Inch	Inch		Inch				
タバコ脈緑モザイクウイルス	TVERV ^{199,199}	VB,mM	VB,mM	VB,mM	VB,M	VB,N	-	-	-	-		クコ L,M
トマト黄化えそウイルス	TSWV	N,Wt, mM	L,stN, VN,N, Wt	L,stN, VN,N	N,Wt	L,N, Wt	L,Wt	Ns,N	N,mM, Wt	mM, Wt	L,N, stN	VN,stN, Wt, ベチ ュニアレ
タバコ条斑ウイルス	TSV ^{199,199}	L,N,M, Mal	L,N,M, Mal	M,mN	L,N,M, Mal	M,mN	L,N, M,Mal	L,N,M, Mal	L,N,M, Mal			
タバコ巻葉ウイルス	ILCV ¹⁹¹ (接木接種)	LC,EN	LC,EN	LC,EN								
タバコ茎えそウイルス	TRV-HSN ^{199,199} アスターえそ系	L,N	L,N, stN	L,N	L,N, M,Yr	M,N	L	L,N	L	L	L,N	L N
	TRV-MD1 ¹⁹¹ アスター黄色輪紋系	L,N	L,N, stN	L,N	L,N, M,Yr	M,N	L	L,N	L	L	L,N	L Yrs

ウイルス	系 統	タバコ プラント エロー	Ky57, Kanthi NN	N. glu- tinosa	P. flo- ridana	D. s- tra- morium	C. axarant- icolor	センニ チコウ	ササゲ	イン ゲン	ソラ マメ	ゴマ、 アスター
タバコわい化 ウイルス	TStuV ¹⁷⁾	Mal, N, St	Mal, N, St				L					
タバコネクロ シスウイルス	TNV-SN	L ₁ (N)	L ₁ (N)	L			L	L	L ₁ (N)	L ₁ (N)		

注) M:モザイク L:接種葉の局部えそ斑 YH:黄色モザイク N:全身えそ -:感染しない mV:軽微なモザイク stN:えそ
*:アスターの症状 mN:軽微なえそ VB:葉脈緑帯 VC:葉脈透化 Yrs:黄色輪紋 VN:葉脈えそ Mal:奇形 St:わい化 LC:巻葉
EN:エネーション Wt:しおれ Ns:えそ斑点 Y:黄化 () :時に現われる症状 TNDV:汁液接種 - :種子伝染 - :
節節局在 (Phn:維管束えそ VY:葉脈黄化 Inch:葉脈間黄化), 空欄は試験なし

1) 磨砕汁の安定性は試料とした汁液中のウイルス濃度の影響が大きいため、試料はウイルス濃度の高い時期(普通には急性症状の進行最盛期)の新しい葉を用いる必要がある。

2) 発病葉をフェノール処理して得られる核酸成分が高い病原性を示すウイルスがある。TMVで知られているように、一般には感染葉あるいは精製ウイルスの核酸成分は、もとのウイルス試料の10%以下の病原性を示すのが普通である。キュウリモザイクウイルス(CMV)、タバコネクロシスウイルス(TNV)、タバコ萎えウイルス(TRV)、キク微斑ウイルス(CMMV)などでは感染葉の直接フェノール処理によって、対照のリン酸緩衝液磨砕汁と同等かそれ以上の病原性を示すことが明らかにされている^{195,217,227)}。この現象はウイルス核酸の本質に関連していると考えられ、ウイルス判別的手段として用いることができる。感染葉、水飽和フェノール、ピロリン酸ソーダをそれぞれ1:2:2の割合で加えて低温下で磨砕し、低速遠心後中間層にできる水層を注射器でとりだすと、この層にウイルス核酸の大部分が含まれている。この試料を緩衝液で5~10倍にうすめ、あるいはエーテル、アルコールなどの処理によって、残存するフェノールを除いて接種源とする²¹⁷⁾。本法は、その他の性質の似ているCMV、アルファルファモザイクウイルス(AMV)、tobacco ringspot virus等を判別する有力な助けとなる。

3) アブラムシなどの伝搬の試験でも、接種源植物として高いウイルス濃度をもつ時期の植物を用いる必要があることは、汁液接種の場合と同様である。

4) ウイルス粒子の形態観察はdirect negative染色法が知られてから容易となった。従って、まず粒子を観察することによって判別の大きな助けとなる^{26,199)}。

5) 同一群ウイルスでも相互の干渉効果が不完全な

場合があり、異種ウイルス間にもある程度の干渉が示されることがあるが、完全な場合には判別法として信頼しうる方法である。適当な宿主植物によって1次ウイルス(干渉ウイルス)と2次ウイルス(攻撃ウイルス)とを、交互に、既知ウイルスおよび被検ウイルスとして、交互の交叉反応を検定するのが望ましい。1次ウイルス接種後十分な期間をおいて2次ウイルスを接種する。できれば干渉効果を数値で示し、全身感染宿主で重複感染が認められたときは病徴をくわしく観察する。同一群ウイルスでは重複感染によって病徴が軽くなるのが普通であるからである¹⁹⁷⁾。

6) 血清反応では主として微滴法を用いた。本法はシャーレの底面にコロジオン膜を張り、そこに抗原および抗血清の微滴を毛细管ピペットで落として合わせ、流動パラフィンを通して上面をおおってincubateし、反応を光学顕微鏡で観察する方法である。同時に多数の試料を少量の試料および抗血清で検定できる点で便利である。系統の判別にはさらに寒天拡散法などによる抗原分析を併用する。

7) その他、ウイルスの組織内存在様式、精製ウイルスの紫外線耐性、ウイルスの外被蛋白のアミノ酸組成、ウイルス核酸の性質および塩基組成などの検討もウイルスの種類および系統の類別に必要なが、実用的な判別には、ウイルス粒子の形態および前述の諸性質を総合的に検討することによって、ほぼその目的を達しうるものと思われる²¹⁸⁾。

第42表に、タバコ病原ウイルスの病徴と判別宿主による簡易検索を示した。また、第43表に、タバコ病原ウイルスのわが国における他植物での発生を示した。

第41表 タバコに発生するウイルスの諸性質

ウイルスの種類	ウイルス粒子		伝 染 法	磨碎汁液中のウイルスの安定性			感染葉RNA 成分の病原 性の増大
	形	大きさ		耐熱性	耐希釈性	耐保存性	
タバコモザイクウイルス ¹¹⁾	棒状	300×15 nm	接触、土壌	88~93 ℃	10 ⁻⁴	1年以上	
ジャガイモY ウイルス ¹¹⁾	糸状	500×10	接触	68~75	10 ⁻⁴ ~10 ⁻⁶	1カ月以上	
キュウリモザイク ウイルス	普通系 ¹¹⁾	球状 30	アブラムシ	70~75	10 ⁻⁴	3~4 日	+
	軽症系 ¹¹⁾	" "	"	65~70	"	2~3	+
	黄斑系 ¹¹⁾	" "	"	70~75	"	5~7	+
	黄色微斑系 ¹¹⁾	" "	"	55~60	"	2~3	+
	マメ科系 ¹¹⁾	" "	"	65~70	"	5~8	+
ジャガイモY ウイルス	普通系 ¹¹⁾	糸状 700×10	アブラムシ	55~60	10 ⁻³ ~10 ⁻³	2~3 日	
	黄斑えそ系YSS ¹²⁾	" "	"	53~55	2×10 ⁻³ ~ 5×10 ⁻³	3~4	
	黄斑えそ系A1 えそ系	" "	"	60~65	10 ⁻⁴	5~6	
	"	" "	"	60~65	10 ⁻⁴	>40	
アルファルファ モザイクウイルス	普通系 ¹¹⁾	かん圓状 22~51×18 (5成分)	アブラムシ	60~65	10 ⁻³ ~10 ⁻³	3~5 日	
	ササゲ全身感染系	" "	"	60~65	10 ⁻³ ~ 2×10 ⁻³	3~4	
タバコえそ萎縮ウイルス ¹⁰⁾	球状	25	アブラムシ (永続伝搬) 汁液接種不可	80		6カ月以上	
タバコ脈緑モザイクウイルス ¹⁰⁾	糸状	770×13	アブラムシ	65~70	10 ⁻³ ~ 5×10 ⁻³	20日以上	
トマト黄化えそウイルス	球状	74×86	アザミウマ	45~50	5×10 ⁻³ ~ 10 ⁻⁴	6~7 時間	
タバコ萎縮ウイルス ¹⁰⁾	球状	27~35	アザミウマ	50~55	10 ⁻³ ~10 ⁻⁴	12~24時間	
タバコ萎縮ウイルス ¹¹⁾	球状	30	タバココナジラミ 汁液接種不可				
タバコ茎えそウイルス アスターえそ系 ¹¹⁾	棒状	190×20, 80×20	土壌線虫 (Tricho- dorus minor)	80~85	10 ⁻⁴	2カ月以上	+
	アスター黄色輪紋系	" ", 110×20, 60×20	"	"	"	"	+
タバコわい化ウイルス ¹²⁾	棒状	300~340×18	土壌菌 (Olpidium brassicae)				
タバコネクロシスウイルス	球状	25	土壌菌 (Olpidium brassicae)	80~85		41~50日 (風乾葉)	+

注) 耐熱性: 処理10分。+: 感染葉のフェノール処理液の病原性が対照のリン酸緩衝液磨碎汁のそれより高いか同程度。空欄は試験なし

3. 考 察

タバコに発生したウイルスの種類および系統について、その実用的な判別法を整理確立した。Ⅲ章で述べた東日本のタバコについて、TMVおよびCMVの典型的な病徴を示すものを除いた145株の採集試料を検定した結果、P VY47.6%, CMV40%, TMV27.6%, AMV9%, PVX5.5%などの分離率が得られ、これらのうち2種以上のウイルスによる重複感染株が27.6%に上ったことは、ウイルスの分離、同定および防除対策に当たっては、伝染様式が異なるため、異種ウイルスの重複感染には十分注意する必要があることを示している。また、実験的にも圃場においてもタバコその他作物で重複感染の被害が大きいことが知られている (Sherwoodら, 1988¹⁵⁴⁾)。

畑におけるタバコなどのウイルスによる病徴は、きわめて変化に富み、千差万別といってもいい過ぎではない。

この病徴の多様性に病原ウイルスの種類・系統の関与が大きいことは疑いがない。病原的にこれら病徴の多様性を検討し、また病原ウイルスの性質、生態を明らかにすることはウイルス病の診断および防除上基本的な重要課題であることはいうまでもない。今後も常に注意を怠らず、畑における見慣れない病徴の発現に注意し、ウイルスの種類・系統を明らかにして防除の基礎とし、新しいウイルス病の伝播、拡大を未然に防ぐことが必要であると考えられる。

また、本研究においてタバコに発生したウイルス13種25系統の判別法を総括したことは、タバコおよびその他作物のウイルス病の、生物学的で実用的な同定・診断を容易にし、防除対策の基礎を提供し、タバコの生産安定に寄与するものと考ええる。

第42表 タバコ病原ウイルスの病徴と判別宿主による簡易検索

タバコの 主な病徴	判別宿主植物の主な反応								ウイルスの種類
	タバコ	<i>Nicotiana glutinosa</i>	<i>Physalis floridana</i>	<i>Datura stramonium</i>	センニチコウ	ソラマメ	ナサケ	ゴマ	
緑色モザイク	S	L	YM	L	S	-	-	-	*タバコモザイクウイルス
	S	S	S	S	S	L	L	L	*キュウリモザイクウイルス
	S	S	L	-	-	-	-	-	*ジャガイモYウイルス
	S	S	S	S	L	-	-	L	*ジャガイモXウイルス
	S	S	S	S	-	-	-	-	タバコ銀斑モザイクウイルス
黄斑モザイク	S	S	YM	YM	YM	S	L(YM)	-	*アルファルファモザイクウイルス
えそ	S	S	S	S	S	S	L	L	*タバコえそウイルス
	L	L			L		L		*タバコネクロシスウイルス
	S	S	W	W	S	S	W	W	*トマト黄化えそウイルス
	S	S	S	S	S		S		タバコ条斑ウイルス
わい化	S								タバコわい化ウイルス
	Y	Y	Y	Y					タバコえそ萎縮ウイルス
エネーション	S	S							タバコ巻葉ウイルス

注) S:全身感染 L:局部感染 YM:黄色モザイク W:しおれ Y:黄変 -:感染しない 空欄:試験なし * :著者による結果

第43表 わが国におけるタバコ病原ウイルスの他植物での発生

ウイルス名	グループ名	主な発生植物
タバコモザイクウイルス	Tobamovirus	タバコ、トマト、ピーマン他
タバコわい化ウイルス	"	タバコ
ジャガイモXウイルス	Potexvirus	ジャガイモ、タバコ、トマト
キュウリモザイクウイルス	Cucumovirus	キュウリ、タバコ、トマト、ゴボウ、ダイコン、ユリ他
ジャガイモYウイルス	Potyvirus	ジャガイモ、タバコ、トマト他
タバコ脈緑モザイクウイルス	"	タバコ、イヌホウズキ
アルファルファモザイクウイルス	Alfalfa mosaic virus	タバコ、トマト、ジャガイモ、フキ、ダイズ、アズキ、ペピーノ、シロクローバ、アルファルファ他
タバコえそ萎縮ウイルス	Luteovirus	タバコ、ホウレンソウ、ナズナ
トマト黄化えそウイルス	Tospovirus	トマト、ピーマン、タバコ、ダリア、ネギ、スイカ、トウガン、ヒオウギ、オニタビラコ、ノゲシ、メナモミ、イヌホウズキ、メジロホウズキ
タバコ条斑ウイルス	Ilarvirus	タバコ、ダリア
タバコ巻葉ウイルス	Geminivirus	タバコ、トマト、スイカズラ他
タバコ萎えそウイルス	Tobravirus	タバコ、アスター、スイセン、ダイズ、ホウレンソウ、ニラ、ナズナ、ツメクサ、ニガナ、タネツケバナ、ハルジオン
タバコネクロシスウイルス	Necrovirus	タバコ、イチゴ、チューリップ、トマト、ブドウ

X 要 約

本研究は、わが国のタバコにおけるウイルス病の発生実態を調査すると共に、タバコに発生したウイルス13種25系統について、その判別法を総括し、生物学的で実用的な同定・診断法を確立したものである。すでに詳細な研究報告のあるタバコモザイクウイルス、キュウリモザイクウイルス等は除き、新知見の得られた、伝染方法の異なるウイルス5種6系統については重点的に同定、判別を行い発生実態を明らかにした。結果の概要は次のとおりである。

1. ウイルス病の発生実態

1963年から1968年にわたって、秋田、福島、神奈川、長野県など東日本の43地域に栽培されているタバコ計14品種および育成系統8系統のウイルス発病株計145株を採集し、分離されるウイルスの種類およびその系統を検討した。発病株の採集に当たっては、タバコモザイクウ

イルス(TMV)およびキュウリモザイクウイルス(CMV)の典型的な症状を示すものは除くことを原則とした。

分離されたウイルスの種類およびその系統は、TMV普通系、黄斑系、えそ系、潜伏系、CMV普通系、軽症系、黄斑系、マメ科系、ジャガイモYウイルス(PVY)普通系、黄斑えそ系、アルファルファモザイクウイルス(AMV)普通系、ササゲ全身感染系、およびジャガイモXウイルス(PVX)等5種13系統におよび、これらのうちCMV-LE(マメ科系)、PVY A1(黄斑えそ系)およびAMV-By2(ササゲ全身感染系)はわが国のタバコからは初めて分離されたものであった。

分離率の最も高いウイルスはPVY(47.6%)であり、CMV(40.0%)がこれに次いだ。系統ではCMV-C(軽症系)、PVY-A1(黄斑えそ系)がそれぞれの普通系に次いで分離率が高かった。TMVおよびCMVは典型的な症状を示すものは除いたにもかかわらず、なおかなりの分離率を示した。発病株のうち単独感染株が72.4%、重複感染株が27.6%を示し、重複感染株の多くは2種のウ

ウイルスによるものであった。

2. 新たに確認されたウイルスの種類・系統

1) ジャガイモYウイルス

(1) 黄斑えそ系統

1964年、秋田県のタバコのホワイトパレー系品種に鮮やかな黄色輪紋、斑点およびえそ斑点を示す株からジャガイモYウイルスの1新系統が分離された。本ウイルス(PVY-A1)はタバコの品種ブライトエローには葉脈緑帯を主とする病徴を生じる点で、都丸¹⁹⁴⁾のタバコから分離された黄斑えそ系(PVY-YSS)とは異なり、タバコを除くナス科植物、*Chenopodium amaranticolor*、エビスグサ等には従来の報告と同様な症状を示した。耐熱性60~65℃、10分、耐希釈性 10^{-4} 、耐保存性5~6日で、従来のPVYの系統のうちではこれらの耐性の強い方に属している。本系統をWettler²⁴¹⁾の方法に準じて、精製したウイルスを家兎に注射して得た抗血清はPVY普通系と陽性反応を示し、tobacco etch virus (TEV) およびPVY普通系との干渉効果は、前者には認められず後者には完全であった。電子顕微鏡観察で長さ約700nmの糸状粒子がみられた。モモアカアブラムシによって伝搬された。以上から本系統はPVYのえそ系に属するウイルスと考えられ、既報のタバコ黄斑えそ系とはホワイトパレー系品種および「ブライトエロー」における病徴が異なり、耐熱性、耐保存性にも差が認められるが、相互に似た点も多いので、タバコ黄斑えそ系にもっとも近い別の1系として取り扱ってさしつかえないであろう。

トウガラシ「鷹の爪」は本系統および普通系によって接種葉および全身的にえそ斑点を生じ、判別、定量宿主として有用と思われる。また本系統はPVY群ウイルスの干渉試験の指示系統としても用いることができる。

(2) えそ系統

1971年、香川県のタバコ(品種:ヒックス2号)に葉脈えそ、葉の黄斑、奇形、下垂、茎の条えそなど激しい病徴を示す病害が発生し、ジャガイモYウイルスの1新系統が分離された。本ウイルス(PVY-T)は汁液接種によって、タバコの供試した黄色種、在来種、パレー種のいずれにも、畑の「ヒックス2号」と同様な葉脈えそ、黄斑などの病徴を示し、生育は停滞した。PVY抵抗性品種として知られるVirgin A mutantタバコ、*Nicotiana glauca*、トウガラシ「鷹の爪」、*Chenopodium amaranticolor*、*C. quinoa*などは実験の限りでは感染しなかった。本ウイルスの粒子は長さ約730nmの糸状を示し、感染葉汁液および半精製ウイルスは、PVY-A1の抗血清と陽性反応を

示した。感染葉汁液の耐熱性60~65℃、10分、耐希釈性 10^{-6} 以上、耐保存性40日以上、25℃、風乾葉は71日以上、室温、の病原性を保持した。また、本ウイルスはモモアカアブラムシによって非永続的に伝搬され、PVY各系統との干渉効果試験では、本ウイルスと他の系統とは相互に重複感染し、干渉効果は不完全であった。以上の結果から、本ウイルスはtobacco vein necrosis virus, Tabak Rippenbräune Virusに類似し、PVYえそ系(necrotic strain)と思われる。本ウイルスは発生の地ジャガイモ(品種:雲仙)からも検出された。PVYの典型的なえそ系の発生はわが国では初めてであった。

2) アルファルファモザイクウイルス

1965年に神奈川県等3地方のタバコから計6株、1967年に福島県等2地方のタバコから計5株のアルファルファモザイクウイルス(AMV)が分離された。これらの分離株について主として神奈川県伊勢原町の「ブライトエロー」から分離された2株(By1, By2)を含む4分離株と都丸¹⁹⁴⁾のAMV-Bを加えて、各種植物の反応、血清反応等を比較検討した。AMV-By1, By2はAMV-Bとは異なり、ササゲおよびインゲンに全身的な黄斑症状を生ずる特徴があり、トマト(品種:Potentate)、*Lycopersicon peruvianum*には感染しない。AMV-Bを含むその他の分離株は前二者に局部病斑を生じ、全身感染せず、後者には全身感染して葉脈えそを生じた。タバコ各品種、野生種、*Physalis*属、ナス、ジャガイモ、トウガラシ、ソラマメ、エンドウ、アズキ、アルファルファ、アカザ属、キュウリ、センニチコウ、ゴマ等6科14属45種の植物の反応は、どの分離株でも差異は認められなかった。

AMV-By2, AMV-BおよびAMV-California株の抗血清を用いた寒天拡散法等による各分離株の血清反応の比較では、分離株間の血清学的差異は認められなかった。精製したAMV-By2の電子顕微鏡観察では従来のAMV粒子と同様なかん菌状粒子(22~61×17~18nm)が認められた。AMV-By2はAMV-Bおよびその他の系統と干渉効果は完全であり、耐熱性60~65℃、10分、耐希釈性 10^{-5} ~ 2×10^{-5} 、耐保存性3~4日、25℃であった。

これらの結果から、分離株はいずれもAMVに属し、AMV-By1, By2はササゲおよびインゲンに全身感染する飯塚らのAMV-A群⁶⁶⁾、Gustaveらのtobacco AMV⁴³⁾、ZaunmeyerのYSMV²⁴⁷⁾またはBancroftらの(1)の系統群⁸⁾に属し、その他の分離株は上記の二植物の接種葉に局部病斑のみを生じ、全身感染しないAMV-Bと同様なBancroftらの(2)の系統群に入るものと思われる。

判別宿主となるトマト、キュウリ、インゲン等の品種

について検討した結果、品種間差異があることが明らかとなったので、使用に当たってはとくに品種に留意する必要がある。わが国のタバコにおける発生はAMV-B群が多く、AMV-By2群は少ないようである。

3) トマト黄化えそウイルス

1974年2月、葉脈えそ、葉のえそ斑点、黄化しおれ、茎の空洞、条えそ、果実のひび割れした、えそ奇形などの激しい症状を示す神奈川県のトマトから1ウイルスが分離され、tomato spotted wilt tospovirus (TSWV) と同定した。本ウイルスはDIECA加用冷リン酸緩衝液を用いて各種植物の幼苗に汁液接種した結果、タバコ、トマト、ソラマメ、*Datura stramonium*、*Physalis floridana*、ペチュニア等8科20種の植物に病原性が認められた。感染葉磨砕汁液中の本ウイルスは、耐熱性45~50℃、10分、耐希釈性 5×10^{-3} ~ 10^{-4} 、リン酸緩衝液、耐保存性6~7時間、25℃であった。DN法で電子顕微鏡観察の結果、径74~86nmのほぼ球形のウイルス粒子が認められた。本ウイルスは野外のアザミウマによってトマトに伝搬され、種子伝染はほとんどないものと考えられた。本ウイルスはほぼ全県のトマトに発生分布が認められた。本ウイルスによる、わが国の圃場における作物の実害は初めてであり、その後小島らによってトマト黄化えそウイルスと命名された。

1976年に沖縄県、1986年に岩手県のタバコに本ウイルスが発生し、タバコにおける病徴の激しさから重要ウイルスとなった。

1972年から1990年にかけて、神奈川県下のトマト44株から分離されたウイルスの種類・系統は、タバコモザイクウイルス・トマト系、キュウリモザイクウイルス・普通系、トマト黄化えそウイルスであった。分離率はTMV 27%、CMV 32%、TSWV 45%であり、これらのうちTMV-CMV、CMV-TSWVは2種ウイルスの重複感染であった。分離経過をみると、TMV抵抗性品種の栽培が普及してからは、TMVの分離例がほとんどなくなりCMVの分離例が激増した。TSWVの分離例は比較的集中していた。

4) タバコ茎えそウイルス

神奈川、千葉、茨城、栃木および兵庫県下のタバコから分離されたタバコ茎えそウイルス (TRV) の8分離株について、宿主範囲、血清反応、電子顕微鏡およびショ糖密度勾配遠心によるウイルス粒子の長さの分布等を比較検討した。その結果、これらの分離株は2系統群に分けられた。第1群にはTRV-HSN, IH, 第2群にはTRV-MD1, TH, UD, MHなどが含まれた。

第1群はアスターに全身的なえそを生じ、第2群は黄色輪紋を生ずる。寒天拡散法および微滴法による血清反応では、両系統は共通抗原を有するが、一部異種抗原を持つと考えられた。ウイルス粒子は第1群では180~190 nm、70~80 nmの長粒子および短粒子からなり、第2群では長粒子は第1群と同じであるが、短粒子はさらに、40~60 nmの粒子を持つ点に特色がある。供試した野性種を含むタバコ属植物20種13品種には免疫性を有するものは見い出されなかった。ニチニチソウ (*Vinca rosea*) はこれらの系統の保存宿主として適当であることが明らかとなった。

5) タバコネクロシスウイルス

(1) ウイルスの同定

1963年神奈川県伊勢原市の畑で、地際部にえそ症状を示すタバコ根部組織のフェノール処理液の接種によって、タバコネクロシスウイルス (TNV) の1系と思われるウイルスが分離された。本ウイルス (TNV-SN) によるタバコ接種葉を真空凍結乾燥し、あるいは精製ウイルスを保存して供試した。

汁液接種によって、タバコ、*Nicotiana glutinosa*、*Chenopodium amaranticolor*、フダンソウ、ホウレンソウ、インゲン、ササゲ、センニチコウの接種葉にえそ斑点を生じた。タバコ、インゲン、ササゲではえそ斑点はときに葉脈に沿って全身的に広がるがあった。インゲン接種葉磨砕汁の耐熱性80~85℃、10分、ササゲ接種葉の風乾による耐保存性は約41日であった。精製ウイルスを家兎に注射して得られた抗血清は、精製ウイルスおよび感染葉磨砕汁と陽性反応を示し、力価は128倍であった。感染葉磨砕汁および精製ウイルスはDr. Kassanisから分与を受けたTNV抗血清と陽性反応を示した。タバコわい化病に感染し、病徴のかくれた葉に本ウイルスを接種した結果、干渉効果は認められなかった。タバコおよびササゲの接種葉の超薄切片について電子顕微鏡観察した結果、細胞体内に結晶状に集団した球状のウイルス粒子がみられた。またタバコのえそ斑点周辺の細胞中の葉緑体内に、Fraction 1 proteinと思われる小粒子が、また同様にPhytoferritinと思われる小粒子からなる波状構造も認められた。以上から本ウイルスはTNVの1系統と同定された。

(2) *Olpidium*菌による伝搬およびタバコの生育障害

タバコから分離されたタバコネクロシスウイルス (TNV-SN) の、*Olpidium brassicae*による伝搬、本ウイルスの感染がタバコの生育におよぼす影響ならびにタバコにお

ける本ウイルスの発生分布について検討した。TNV-SN保毒*O. brassicae*をHCl処理することにより、無毒化が認められた。この事実は*O. brassicae*休眠胞子中にはTNVが存在していないことを示唆している。水耕および鉢植えタバコを用いた実験で、TNV-SNと*O. brassicae*の両者の存在によってのみウイルスが伝搬された。

TNV-SNはタバコの地上部に症状を現さなかったが、TNV-SN磨砕汁と*O. brassicae*との混合液、あるいはTNV-SN保毒*O. brassicae*の、水耕液または土壌への灌注による感染によって、タバコの根は茶褐色のえそや腐敗を生じ、根部、地上部ともに生体重において約10~20%程度の生育阻害が認められた。TNV-SNフリーの*O. brassicae*単独感染でも根部の異常は認められたが、タバコの生育には健全対照区と有意な差はなかった。

各地のタバコわい化病発病株を集めて、判別宿主、血清反応によって、TNVの検出を試みた結果、神奈川県、岡山県下のわい化病発病株の根部または苗床肥土からTNVが検出されたが、葉部からは検出されなかった。以上からTNV-SNは、タバコわい化病の媒介菌である*O. brassicae*によって伝搬され、時によっては畑における被害も考えられるので、注意が必要である。

3. ウイルスの種類・系統の判別法

タバコに発生したウイルス13種25系統について、既報のものも含めて、汁液接種による判別宿主植物の反応、ウイルスの物理化学的性質、感染葉のRNA成分の病原性、ウイルス系統間の干渉効果、伝染方法、血清反応、ウイルス粒子の形態および構成等による判別法を整理確立し、同定・診断法を総括した。

本研究はタバコ・ウイルス病の防除を目的として、新たに5種6系統のウイルスを同定すると共に、ウイルスの発生実態を明らかにし、さらにタバコに発生するウイルスの種類・系統の判別法を総括し、実用的な同定・診断法を確立したものである。これらの結果は防除対策の基礎を提供すると共に、作物の生産安定に寄与するものと考えらる。

引用文献

- 1) 荒城雅昭・山下修一・土居養二・与良清 (1980). ネギから分離された2種の球形ウイルス—Nepovirusとtomato spotted wilt virus (TSWV) について、日植病報, 46:414.
- 2) 明日山秀文・平井篤造 (1949). ジャガイモ連葉性モザイク病に就いて、日植病報, 13 (3・4): 29-32.
- 3) 明日山秀文・小室康雄 (1951). ジャガイモ・パイラス分類に関する研究 (Ⅱ) 紅丸ジャガイモの連葉性モザイク病パイラスに就いて、日植病報, 15:49-54.
- 4) 明日山秀文・小室康雄・正田宏二 (1955). Alfalfaモザイク・パイラスに関する研究、栃内吉彦・福士貞吉両教授還暦記念論文集 P.101-107.
- 5) Aubert, O. (1960). Les viroses du tabac en Suisse. These de Doctorat presentee a la Faculte des Sciences de l'Universite de Lausanne. P.211.
- 6) Babos, P. and Kassanis, B. (1963). Serological relationships and some properties of tobacco necrosis virus strains. J.gen.Microbiol. 32:135-144.
- 7) Babos, P. and Kassanis, B. (1963). The behaviour of some tobacco necrosis virus strains in plants. Virology 20:498-506.
- 8) Bancroft, J.B., Moorhead, E.L., Tuite, J. and Liu, H.P. (1960). The antigenic characteristics and the relationship among strains of alfalfa mosaic virus. Phytopathology 50:34-39.
- 9) Bartels, R. (1958). Serologische Differenzierungsversuche mit Stammen des Kartoffel-Y-Virus. Proc.Third Conf. Potato Virus Dis. Lisse-Wageningen (1957). p.13-19.
- 10) Bartels, R. (1964). Untersuchungen uber serologische Beziehungen zwischen Viren der "tobacco-etch-Virus-Gruppe". Phytopath. Z. 49:257-265.
- 11) Bawden, F.C. and Kassanis, B. (1951). Serologically related strain of potato virus Y that are not mutually antagonistic in plants. Ann. appl. Biol. 38:402-410.
- 12) Reddick, R.B., Hadden, C.H., Bost, S.C. and Newman, M.A. (1987). First report of tomato spotted wilt virus in Tennessee. Plant Dis. 71:376.
- 13) Berkeey, G.H. (1947). A strain of alfalfa mosaic virus on pepper in Ontario. Phytopathology 37: 781-789.
- 14) Best, R.J. (1968). Tomato spotted wilt virus.

- Advan. Virus Res. 13:65-146.
- 15) Black, L.M. and Price, W.C. (1940). The relation ship between viruses of potato calico and alfalfa mosaic. *Phytopathology* 30:444-447.
- 16) Campbell, R.N. and Fry, P.R. (1965). Comparison of the survival of lettuce big vein and tobacco necrosis viruses in resting sporangia of *Oidium*. *Phytopathology* 55:1053.
- 17) Chiko, A.W. and Godkin, S.E. (1986). First report of alfalfa mosaic virus infecting *Viburnum* in Canada. *Plant Dis.* 70:173.
- 18) Cho, J.J., Mau, R.F.L., Gonsalves, D. and Mitchell, W.C. (1986). Reservoir weed hosts of tomato spotted wilt virus. *Plant Dis.* 70:1014-1017.
- 19) Cho, J.J., Mau, R.F.L., Hamasaki, R.T. and Gonsalves, D. (1988). Detection of tomato spotted wilt virus in individual Thrips by enzyme-linked immunosorbent assay. *Phytopathology* 78:1348-1352.
- 20) Cho, J.J., Mitchell, W.C., Mau, R.F.L. and Sakimura, K. (1987). Epidemiology of tomato spotted wilt virus disease on crisphead lettuce in Hawaii. *Plant Dis.* 71:505-508.
- 21) Craig, A.S. and Williamson, K.I. (1969). Phyto-ferritin and viral infection. *Virology* 39:616-617.
- 22) Dean, C.E. and Clark, F. (1968). Veinbanding on tobacco in North Florida. *Plant Dis. Rep.* 52:887-889.
- 23) de Bokx, J.A. (1964). Onderzoekingen over het aantonen van Aardappel-Y^N-Virus met behulp van Toetsplanten. Drukkerij Hollandia N.V. Baarn. p.184.
- 24) de Bruyn Ouboter, M.P. and van Slogteren, E. (1949). Het augasta-Ziek der Tulpen een Virus-ziekte van het Tabaks-necrose type. *Tijdschr. Plantenziekt* 55:262-267.
- 25) 土居養二・多川関・都丸敬一・与良清 (1969). わい化病り病タバコ根に見出された tobacco necrosis virus (TNV) の1系について. *日植病報*. 35:358.
- 26) 土居養二・与良清・明日山秀文 (1965). ダイレクト・ネガティブ染色法 (DN法) によるウイルス粒子の観察 (2報). *日植病報*. 30:295.
- 27) Edwardson, J.R., Purcifull, D.E. and Christie, R.G. (1966). Electron microscopy of two small spherical plant viruses in thin sections. *Canad. J. Bot.* 44:821-826.
- 28) Fry, P.R. (1952). Note on occurrence of tobacco necrosis virus in roots of lettuce showing big-vein. *N.Z.J. Sci. and Tech. Sec. A.* 34:224-225.
- 29) Fry, P.R. (1952). Occurrence of lucerne mosaic virus in New Zealand. *N.Z.J. Sci. and Tech. Swc. A.* 34:320-326. [43) Gustave and Heggstad, 1965. より引用]
- 30) 藤沢一郎・田中清・石井正義 (1988). 3種アザミウマのトマト黄化えそウイルス伝搬能について. *日植病報*. 54:392.
- 31) 深谷雅博・花田薫・亀谷満朗・小出仁士 (1987). 水耕栽培のトマトから分離されたタバコネクロシウイルス (TNV) について. *日植病報*. 53:421.
- 32) 福本文良・栃原比呂志 (1981). トマト黄化えそウイルスの保存に及ぼす各種添加物の影響. *日植病報*. 47:688-690.
- 33) Fulton, J.P. and Kim, K.S. (1973). A virus resembling tomato spotted wilt virus in black locust. *Plant Dis. Rep.* 57:153-155.
- 34) Gibbs, A.J. and Tinsley, T.W. (1961). Lucerne mosaic virus in Great Britain. *Plant Pathology* 10:61-62.
- 35) Gibbs, A.J., Nixon, H.L. and Woods, R.D. (1963). Properties of purified preparations of lucerne mosaic virus. *Virology* 19:441-449.
- 36) Gonsalves, D. and Trujillo, E.E. (1986). Tomato spotted wilt virus in papaya and detection of the virus by ELISA. *Plant Dis.* 70:501-506.
- 37) Gooding, G.V. Jr. and Kennedy, G.G. (1985). Resistance in tobacco breeding line NC744 to potato virus Y and inoculation by aphids. *Plant Dis.* 69:396-397.
- 38) Gracia, O. and Feldman, J.M. (1989). First report of tomato spotted wilt virus on celery and three weed species in Argentina. *Plant Dis.* 73:859.
- 39) Green, J.L., Allen, T.C. and Fischer, S. (1988). Tomato spotted wilt virus in *Stephanotis* in Oregon greenhouse. *Plant Dis.* 72:912.
- 40) Greenough, D.R., Black, L.L. and Bond, W.P. (1990). Aluminum-surfaced mulch: an approach to the control of tomato spotted wilt virus in Solanaceous crops. *Plant Dis.* 74:805-808.
- 41) Gumpf, D.J. and Weathers, L.G. (1972). Identification and purification of tomato spotted wilt virus isolated from ageratum. *Plant Dis. Rep.* 56:869-872.

- 42) Gustave, S. and Heggstad, H.E. (1959). Stations Federales d'essais Agricoles. Lausanne. Rapport d'activite 1958. Annu. Agr. Suisse 73:521-541. [43) Gustave and Heggstad 1965.より引用]
- 43) Gustave, S. and Heggstad, H.E. (1965). A strain of alfalfa mosaic virus occurring naturally on field tobacco. *Phytopathology* 55:1108-1113.
- 44) Hagan, A. K., Weeks, J. R., French, J. C., Gudauskas, R.T., Mullen, J.M., Cazaway, W.S. and Shelby, R. (1990). Tomato spotted wilt virus in peanut in Alabama. *Plant Dis.* 74:615.
- 45) Hagedorn, D. J. and Hanson, E. W. (1963). A strain of alfalfa mosaic virus severe on *Trifolium pratense* and *Melilotus alba*. *Phytopathology* 53:188-192.
- 46) Halk, E.L., Hsu, H.T., Aebig, J. and Franke, J. (1984). Production of monoclonal antibodies against three ilarviruses and alfalfa mosaic virus and their use in serotyping. *Phytopathology* 74:367-372.
- 47) 花田薫・岩木満朗 (1984). スイカから分離された tomato spotted wilt virus と他の分離株との関係. *日植病報*. 50:132.
- 48) 花田薫・岩木満朗・栃原比呂志 (1985). Tomato spotted wilt virus の ELISA 法による検出. *日植病報*. 51:99-100.
- 49) Harrison, B.D. and Woods, R.D. (1966). Serotypes and particle dimensions of tobacco rattle viruses from Europe and America. *Virology* 28:610-620.
- 50) Hein, A. and Bartels, R. (1964). Ein Tabak-rippenbräune-Isolat aus Freilandtomaten. *Phytopath.Z.* 49:313-324.
- 51) 日高醇・多川閃 (1965). タバコわい化病の *Oplidium brassicae* (Wor.) Dang. による媒介. *日植病報*. 31 (記念号3~2):369-372.
- 52) 日高醇・都丸敬一 (1960). 植物ウイルス病—実験法と種類—. 日高醇他編 朝倉書店 東京 P.316-317.
- 53) 日高醇・都丸敬一 (1960). タバコからえられたキウリモザイクウイルスの系統. 第1報 普通系. 秦野たばこ試報. 46:125-134.
- 54) 平井篤造・佐藤義一・後藤洋・八角俊子 (1950). 日本各地産ジャガイモモザイク病のバイラス組成. 東北農試報. 1:200-209.
- 55) 平井篤造・八角俊子・加藤寿治 (1955). ジャガイモ Y 群バイラスの系統. 東北農試報. 4:73-86.
- 56) 比留木忠治 (1961). アルファルファモザイクウイルスによるタバコの新ウイルス病 “タバコ/アルファルファモザイク病”. *日植病報*. 26:215.
- 57) Hiruki, C. (1964). Multiple virus transmission by *Oplidium brassicae*. *Phytopathology* 54:1434.
- 58) Hiruki, C. (1969). An incubator useful for culturing *Oplidium brassicae* for transmission of plant viruses. *Virology* 39:333-335.
- 59) 比留木忠治・日高醇 (1965). タバコモザイクウイルスの系統および変異に関する研究. 秦野たばこ試報. 56:1-97.
- 60) 外間数男 (1987). 沖縄県における野菜ウイルス病の発生と防除. *植物防疫* 41:574-577.
- 61) 本田要八郎・岩木満朗 (1984). スイカから分離された tomato spotted wilt virus 感染植物の細胞内所見. *日植病報*. 50:443.
- 62) 本田要八郎・花田薫・牛山欽司・善林六朗・栃原比呂志 (1986). ペピーノから分離されたアルファルファモザイクウイルスならびにキュウリモザイクウイルス. *日植病報*. 52:870-873.
- 63) Horvath, J. (1967). Studies on strains of potato virus Y. 4. Anomalous strain. *Acta Phytopath. Acad. Sci. Hung.* 2:195-210.
- 64) Ie, T.S. (1970). Tomato spotted wilt virus. C.M. 1./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses. No.39.
- 65) 飯塚典男・飯田格 (1961). Ladino clover から分離した Alfalfa mosaic virus について. *日植病報*. 26:69.
- 66) 飯塚典男・飯田格 (1965). アルファルファモザイクウイルスの系統について. *日植病報*. 30:89.
- 67) 飯塚典男・柚木利文 (1974). ダイズで種子伝染する alfalfa mosaic virus について. *日植病報*. 40:125.
- 68) 今田準・家城洋之 (1988). ブドウから分離された potyvirus と tobacco necrosis virus について. *日植病報*. 54:397.
- 69) 今泉誠子・久保進 (1983). ELISA によるジャガイモ Y ウイルスえそ系の特異的検出. *日植病報*. 49:81-82.
- 70) 井上忠男・井上成信 (1970). ダリアから分離された Tomato spotted wilt virus. *日植病報*. 36:357.
- 71) 井上忠男・井上成信 (1972). ダリアに発生した Tomato spotted wilt virus. (キク科植物のウイルスに関する研究 第3報). *農学研究* 54:79-90.
- 72) 岩木満朗・小室康雄 (1968). スイセンから分離されたウイルス 第3報 tobacco rattle virus について. *日植病報*. 34:346.

- 73) 岩木満朗・小室康雄 (1972). スイセンから分離したウイルス 第3報 cucumber mosaic virus, tobacco rattle virus, broad bean wilt virusについて. 日植病報. 38:137-145.
- 74) 岩木満朗・本田要八郎・外間数男・与那覇哲義・横山威・花田薫・飯原比呂志 (1984). スイカ灰白色斑紋病の病原について. 日植病報. 50:132.
- 75) Iwaki, M., Honda, Y., Hanada, K., Tochiwara, H., Yonaha, T., Hokama, K. and Yokoyama, T. (1984). Silver mottle disease of watermelon caused by tomato spotted wilt virus. Plant Dis. 68:1006-1008.
- 76) Jayasena, K.W., Reddy, D.V.R. and Rajapakse, R.H.S. (1988). First report of tomato spotted wilt virus infecting peanut in Sri Lanka. Plant Dis. 72:912.
- 77) Johnson, E.M. (1946). Two legume viruses transmissible to tobacco. Phytopathology 36:142-147.
- 78) Joubert, J.J., Hahn, J.S., von Wechmar, M.B. and van Regenmortel, M.H.V. (1974). Purification and properties of tomato spotted wilt virus. Virology 57:11-19.
- 79) 亀谷満朗・花田薫・牛山欽司・小林正伸・北宣裕 (1989). えそ症状を示すトマトから分離されたジャガイモYウイルス (PVY). 日植病報. 55:533.
- 80) 要司 (1974). イチゴの根から分離されたタバコネクロシスウイルスについて. 神奈川園試報. 22:78-84.
- 81) 要司・岸国平 (1973). イチゴから検出された tobacco necrosis virus と tobacco mosaic virus について. 日植病報. 39:134.
- 82) Kassanis, B. (1949). A necrotic disease of forced tulip caused by tobacco necrosis virus. Ann. appl. Biol. 36:14-17.
- 83) Kassanis, B. (1960). Comparison of the early stages of infection by intact and phenol-disrupted tobacco necrosis virus. Virology 10:353-369.
- 84) Kassanis, B. (1962). Properties and behaviour of a virus depending for its multiplication on another. J. gen. Microbiol. 27:477-488.
- 85) Kassanis, B. (1970). Tobacco necrosis virus. C.M.I. / A.A.B. Descriptions of plant viruses. No.14.
- 86) Kassanis, B., Vince, D.A. and Woods, R.D. (1970). Light and electron microscopy of cells infected with tobacco necrosis and satellite virus. J. gen. Virology 7:143-151.
- 87) Kawashima, N. and Wildman, S.G. (1970). Fraction 1 protein. Annual Rev. of Plant Physiology 21:325-358.
- 88) 桐山清・西村紀子 (1969). 東北地方におけるタバコのウイルス病について. 盛岡たばこ試報. 4:85-98.
- 89) Klinkowski, M. und Schmelzer, K. (1957). Beiträge zur Kenntnis des Virus der Tabakrippenbräune. Phytopath.Z. 28:285-306.
- 90) Knorr, D.A., Laemmlein, F.F. and Dawson, W.O. (1983). Effects of a necrosis-inducing isolate of alfalfa mosaic virus on stand loss in tomatoes. Phytopathology 73:1554-1558.
- 91) 小島博文 (1973). トマトの褐斑黄化萎凋症状株から分離されたウイルスについて (予報). 日植病報. 39:217.
- 92) 小島博文・芳岡昭夫 (1974). 奈良県下のトマトに発生したウイルスとその症状. 関西病虫研報. 16:127-128.
- 93) 小島博文・尾崎武司・芳岡昭夫・井上忠男 (1975). 奈良県下のトマトに発生した tomato spotted wilt virus の 2, 3 の性質について. 日植病報. 41:95.
- 94) 小島博文・尾崎武司・芳岡昭夫・井上忠男 (1976). Tomato spotted wilt virus によるトマトの黄化えそ病. 日植病報. 42:287-294.
- 95) 小島博文・尾崎武司・井上忠男 (1984). 奈良県に発生したトマト黄化えそ病の媒介虫と伝染源植物について. 日植病報. 50:541-544.
- 96) 児玉忠士・森武・草柳達夫・村山大記 (1964). アルファルファモザイクウイルス一系統の諸性質について. 日植病報. 29:281.
- 97) Koehler, E. (1940). Weitere Studien über die Viren der Y-Gruppe der Kartoffel. Phytopath.Z. 12:480-489.
- 98) Koehler, E. (1955). Weitere Beiträge zur Kenntnis des Y-Virus der Kartoffel. Phytopath.Z. 23:328-334.
- 99) Koelle, G. (1963). Observations on the antagonistic tendency between Y-virus and *Peronospora tabacina*. Proc. Third World Tobacco Sci. Cong. Salzburg. p.63-66.
- 100) 小室康雄 (1968). 植物ウイルス保存株目録. 日植病学会. 東京. P.18.
- 101) 小室康雄・岩木満朗・牧野秋雄 (1973). 宮城県亘地方におけるイチゴ根部の tobacco necrosis virus による感染. 日植病報. 39:134.
- 102) 小室康雄・川田武・平野弥助・室木真澄 (1964).

- ジャガイモのキャリコ病の発生. 日植病報. 29:199-205.
- 103) 小室康雄・吉野正義・一戸稔 (1968). アスター黄色輪紋病株からの tobacco rattle virus の分離とその病畑土壌からの *Trichodorus minor* の検出. 日植病報. 34:201-202.
- 104) 小室康雄・吉野正義・一戸稔 (1970). アスターの黄色輪紋症株からのタバコラットルウイルスの分離と *Trichodorus minor* Coldran による伝搬. 日植病報. 36:17-26.
- 105) 小坂能尚・花田薫・福西務・栃原比呂志 (1987). 京都府のダイズ、アズキ及びトマトから分離されたアルファルファモザイクウイルス (AMV). 日植病報. 53:419.
- 106) Kowaschewsky, I.C. (1950). The Y-viro-sis of tobacco in Bulgaria. Istwest. Biol. Inst. Bulgar. Akad. Nauk. 1:123-142. [89] Klinkowski und Schmelzer, 1957. より引用]
- 107) Kreitlow, K.W. and Price, W.C. (1949). A new virus disease of Ladino clover. Phytopathology 39:517-528.
- 108) 久保進 (1977). 沖縄におけるタバコのウイルス病—トマト黄化えそ病およびタバコ脈緑モザイクを中心として—, 葉たばこ研究 76:37-43.
- 109) 久保進 (1981). タバコのウイルス病最近の話題. 植物防疫 35:536-541.
- 110) Kubo, S. (1981). Tobacco necrotic dwarf virus. C. M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses No. 234.
- 111) 久保進 (1986). タバコウイルス病に関する研究. 日植病報. 52:377-380.
- 112) 久保進・桑田茂 (1982). 関東北部のタバコに発生したジャガイモ Y ウイルスえそ系によるタバコ黄斑えそ病. 日植病報. 48:392.
- 113) 久保進・高浪洋一 (1989). 日本のタバコに発生したトマト黄化えそウイルス. 農林水産技術会議事務局. 研究成果 214. トマト黄化えそ病の防除に関する研究 P.87-90.
- 114) 久保進・田村光章・福田睦勇 (1976). タバコの新しいウイルス病害, タバコえそ萎縮病 (心止り症) の発生とその防除. 葉たばこ研究 73:49-55.
- 115) 桑田茂 (1985). タバコわい化病およびレタスピッグベイン病の病原ウイルスに関する研究. 日植病報. 51:261.
- 116) 桑田茂・今泉誠子・久保進 (1986). ジャガイモ Y ウイルスえそ系統に対するモノクローナル抗体の作成. 日植病報. 52:554.
- 117) Kuwata, S. and Kubo, S. (1981). Rod-shaped particles found in tobacco plants infected with tobacco stunt agent. Ann. Phytopath. Soc. Japan 47:264-268.
- 118) Kuwata, S., Kubo, S., Yamashita, S. and Doi, Y. (1983). Rod-shaped particles, a probable entity of lettuce big vein virus. Ann. Phytopath. Soc. Japan 49:246-251.
- 119) Lapointe, S.L., Tingey, W.M. and Zitter, T.A. (1987). Potato virus Y transmission reduced in an Aphid-resistant potato species. Phytopathology 77:819-822.
- 120) Latin, R.X., Ruhl, G.E. and Nameth, S.T. (1990). Tomato spotted wilt virus on field-grown peppers in the Midwest. Plant Dis. 74:183.
- 121) Latorre, B.A. and Flores, V. (1985). Strain identification and cross-protection of potato virus Y affecting tobacco in Chile. Plant Dis. 69:930-932.
- 122) 松涛美文・末次哲雄 (1970). 輸入検疫中にチューリップから発見された tobacco rattle virus について. 植物防疫所調研報. 9:39-42.
- 123) 松涛美文・末次哲雄・諸橋公穂 (1970). 輸入検疫中にチューリップから発見された tobacco necrosis virus について. 植物防疫所調研報. 9:45-50.
- 124) 松涛美文・西尾健・木村茂・藤井伸泰 (1977). 国内産チューリップより分離された tobacco necrosis virus について. 日植病報. 43:77.
- 125) Matteoni, J.A., Allen, W.R. and Broadbent, A.B. (1988). Tomato spotted wilt virus in greenhouse crops in Ontario. Plant Dis. 72:801.
- 126) 三木隆・岡田吉美 (1968). タバコ・ラットル・ウイルスに関する研究 1. 長短 2 種のウイルス粒子について. ウイルス 18:358.
- 127) 村山大記・児玉忠上・松本勤 (1965). アルファルファモザイクウイルスの系統に関する研究 第 1 報 諸系統の病徴ならびに血清学的性質について. 日植病報. 30:89.
- 128) 名畑清信・岩木満朗・草葉敏彦 (1978). Tobacco necrosis virus によるチューリップのえそ病の発生. 富山農試報. 9:1-10.
- 129) Natsuaki, K., Nishimura, Y., Ikeda, M. and Tomaru, K. (1988). Use of gelatin particle agglutination test for detection of plant viruses. Ann. Phyto-

- path. Soc. Japan 54:548-551.
- 130) Natsuaki, K. T., Yamashita, S., Doi, Y. and Yora, K. (1980). Soybean fleck, a newly recognized disease caused by tobacco rattle virus. Ann. Phytopath. Soc. Japan 46:357-360.
- 131) 西尾健・木村茂 (1976). 輸入検疫中の無病徴ジャガイモから分離された tobacco vein necrosis virus について. 日植病報. 42:382.
- 132) Nobrega, N.R. and Silberschmidt, K. (1944). On a probable variant of potato virus Y (*Solanum virus* 2 Orton) which has the property of inducing necrosis in tobacco plant. Arq. Inst. Biol. Sao Paulo 15:307-330. (R.A.M.24:430, 1945)
- 133) 農林水産省種苗管理センター (1991). ジャガイモ Y ウイルスの新しい系統の発生と防除に関する試験. 種苗管理センター調査研究報告 2:1-64.
- 134) 小野邦明他 (1975, 1976, 1977). タバコ黄斑えそ病. 岡山たばこ試業報. 昭50:358-361, 昭51:204-205, 昭52:149-151.
- 135) 大島一里・Inoue, A.K., 石川陽・四方英四郎・萩田孝志 (1990). ジャガイモ Y ウイルス普通系統およびえそ系統に特異的なモノクローナル抗体の作製とその診断への利用. 日植病報. 56:508-514.
- 136) Oswald, J.W. (1950). A strain of the alfalfa mosaic virus causing vine and tuber necrosis in potato. Phytopathology 40:973-991.
- 137) Oswald, J.W., Rozendaal, A. and van der Want, J.P. H. (1955). The alfalfa mosaic virus in the Netherlands, its effects on potato and a comparison with the potato aucuba mosaic virus. Proc. 2nd Conf. on Potato Virus Diseases, Lisse-Wageningen, 1954. P.137-147.
- 138) 王蔚芹・夏秋知英・奥田誠一・寺中理明 (1984). アルファルファモザイクウイルスによるトマトの黄斑モザイク病 (新称). 日植病報. 50:131-132.
- 139) 王蔚芹・夏秋知英・奥田誠一・寺中理明 (1985). トマトから分離されたアルファルファモザイクウイルスとアカクロバ分離株との性状比較. 日植病報. 51: 353.
- 140) 王蔚芹・夏秋知英・奥田誠一・寺中理明 (1989). ジャガイモのえそ症状株から分離されたアルファルファモザイクウイルス. 日植病報. 55:116.
- 141) Paliwal, Y.C. (1974). Some properties and thrip transmission of tomato spotted wilt virus in Canada. Can. J. Bot. 52:1177-1182.
- 142) Pirone, T.P. and Shaw, J.D. (1988). Tobacco vein mottling virus. C.M.I. / A.A.B. Descriptions of Plant Viruses No.325.
- 143) Pitblado, R.E., Allen, W.R., Matteoni, J.A., Garton, R., Shipp, J.L. and Hunt, D.W.A. (1990). Introduction of the tomato spotted wilt virus and western flower Thrips complex into field vegetables in Ontario, Canada. Plant Dis. 74:81.
- 144) Purcifull, D.E. and Hiebert, E. (1982). Tobacco etch virus. C.M.I. / A.A.B. Descriptions of Plant Viruses No.258.
- 145) Quanjier, H.M. (1943). Bijdrage tot de Kennis van de in Nederlad voorkomende ziekten van tabak en tabksteelt op kleigrond. Tijdschr. pl. Ziekten 49:37-51.
- 146) Rice, D.J., German, T.L., Mau, R.F.L. and Fujimoto, F.M. (1990). Dot blot detection of tomato spotted wilt virus RNA in plant and thrips tissues by cDNA clones. Plant Dis. 74:274-276.
- 147) 坂本庵・松尾綾男 (1975). ピーマンから分離された 1 ウイルス. 日植病報. 41:95.
- 148) 坂本庵・松尾綾男 (1984). 兵庫県におけるダリア輪紋病の発生と防除対策. 関西病虫研報. 26:23-28.
- 149) 佐藤昌良・河村節子 (1974). 在来種タバコ遠州のジャガイモ Y ウイルス抵抗性について. 磐田たばこ試報. 6:23-28.
- 150) Schlegel, D.E. (1960). Transmission of several plant viruses by phenol-water extracts of diseased tissues. Phytopathology 50:156-158.
- 151) Schmelzer, K. und Klinkowski, M. (1958). Ein neuer Stamm des Tabakrippenbräune Virus in Mitteldeutschland. Naturwissenschaften. 45:62.
- 152) Schwarz, R. (1958). Untersuchungen über ein blattlausübertragbares, von Tabakfangpflanzen isoliertes Virus. Phytopath. Z. 33:375-384.
- 153) Shepherd, R.J. and Purcifull, D.E. (1971). Tobacco etch virus. C.M.I. / A.A.B. Descriptions of Plant Viruses. No.55.
- 154) Sherwood, J.L., Reddick, B.B. and Conway, K.E. (1988). Reactions of Bahamian hot chile to single and double infections with tobacco mosaic virus and potato virus Y. Plant Dis. 72:14-16.
- 155) Sherwood, J.L., Sanborn, M.R., Keyser, G.C.

- and Myers, L.D. (1989). Use of monoclonal antibodies in detection of tomato spotted wilt virus. *Phytopathology* 79:61-64.
- 156) 四方英四郎・佐藤裕 (1975). 北海道におけるダリアのウイルス病について. *日植病報*. 41:126.
- 157) Silber, Y.G., Heggstad, H.E. and Kahn, R.P. (1965). A tobacco with tolerance to potato virus Y. *Phytopathology* 55:1076.
- 158) Silberschmidt, K.M. (1960). Types of potato virus Y necrotic to tobacco: history and recent observation. *American Potato J.* 37:151-159.
- 159) Silberschmidt, K.M., Rostom, E. and Ulson, C. M. (1954). A strain of potato virus Y inducing local and systemic necrotic spots on leaves of tobacco White Burley. *American Potato J.* 31:213-217.
- 160) Singh, R.P. and Boiteau, G. (1984). Necrotic lesion host for potato virus Y useful in field epidemiological studies. *Plant Dis.* 68:779-781.
- 161) Smith, K.M. (1931). On the composite nature of certain potato virus diseases of the mosaic group. *Proc. Roy. Soc.* 109:251-267.
- 162) Smith, K.M. (1957). *A Textbook of Plant Virus Diseases*. London. 2nd. p.392-397.
- 163) Smith, K.M. (1972). *A Textbook of Plant Virus Diseases*. London. 3rd. p.545-549.
- 164) Smith, K.M. and Bald, J.G. (1935). A necrotic virus disease affecting tobacco and other plants. *Parasitology* 27:231-245.
- 165) Smith, K.M. and Dennis, R.W.G. (1940). Some notes on a suspected variant of *Solanum virus 2* (Potato virus Y). *Ann. appl. Biol.* 27:65-70.
- 166) 白子幸男・山下修一・土居養二・与良清 (1978). 本邦の tobacco necrosis virus の 3 系統 (タバコ, イチゴ, チューリップの各系) の性状比較. *日植病報*. 44:101.
- 167) Stace-Smith, R. (1970). Tobacco ringspot virus. C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses. No.17.
- 168) Stace-Smith, R. (1985). Tobacco ringspot virus. C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses. No.309.
- 169) Slover, R.H. (1951). Association in tobacco of the severe symptom response to etch virus and the White Burley character. *Phytopathology* 41:1125-1128.
- 170) 末次哲雄 (1967). 輸入検疫中にダリアより発見された tomato spotted wilt virus について. *日植病報*. 33:345.
- 171) 末次哲雄 (1969). 輸入検疫中にダリアより発見された Tomato Spotted Wilt Virus. *植物防疫所調研報*. 7:50-56.
- 172) 末次哲雄・中元秀喜・及川巖 (1973). 輸入検疫中にヒヤシンスから発見された tobacco rattle virus. *植物防疫所調研報*. 11:10-14.
- 173) 鈴木郁男・赤沢順子 (1978). タバコ黄斑えそウイルスのアブラムシによる伝搬. *岡山たばこ試報*. 39:57-65.
- 174) 鈴木郁男・都丸敬一・沢幸男・荒木幹男 (1983). ジャガイモ Y ウイルスえそ系によるタバコ黄斑えそ病第 2 報 青森県のパーレー種における発生. *盛岡たばこ試報*. 17:97-106.
- 175) 高橋幸吉 (1980). 日本におけるダイズのウイルス病と病原ウイルスに関する研究. *東北農試報*. 62:1-130.
- 176) 高橋幸吉・飯塚典男 (1965). ダイズウイルス病の見分け方. *植物防疫* 19:339-342.
- 177) 高浪洋一・宇田川晃・都丸敬一 (1969). タバコ茎えそ病の発生と系統 (II) ウイルス粒子の形態と血清反応. *日植病報*. 35:122.
- 178) Teakle, D.S. (1962). Transmission of tobacco necrosis virus by a fungus *Oidium brassicae*. *Virology* 18:224-231.
- 179) Tedford, E.C. and Nielsen, M.T. (1990). Response of burley tobacco cultivars and certain *Nicotiana* spp. to alfalfa mosaic virus infection. *Plant Dis.* 74:956-958.
- 180) Temmink, J.H.M. (1971). An ultrastructural study of *Oidium brassicae* and its transmission of tobacco necrosis virus. *Mededelingen Landbouwhogeschool Wageningen, Nederland*. 71~6:1-135.
- 181) Thomas, H.R. (1951). Yellow dot, a virus diseases of bean. *Phytopathology* 41:967-974.
- 182) Thomas, J.E. and Bowyer, J.W. (1984). Tobacco yellow dwarf virus. C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses No.278.
- 183) 栃原比呂志・田村実 (1976). フキのウイルス. *日植病報*. 42:533-539.
- 184) 都丸敬一 (1963). ホワイトクローバから分離されたアルファルファモザイクウイルス. *日植病報*. 28:283-284.
- 185) 都丸敬一 (1963). タバコネクロシスウイルス類似

- ウイルス病の発生について、秦野たばこ試、業程報告、昭38:489.
- 186) 都丸敬一 (1964). わが国でタバコからえられた tobacco rattle virus, 日植病報, 29:83.
- 187) 都丸敬一 (1964). タバコラットルウイルスについて, 植物防疫 18:350-354.
- 188) 都丸敬一 (1972). ジャガイモYウイルスの新しい系統によるタバコ黄斑えそ病の発生とその防除, 葉たばこ研究 61:70-75.
- 189) 都丸敬一 (1983). ジャガイモYウイルスえそ系によるタバコ黄斑えそ病 第1報 香川県の黄色種における発生, 盛岡たばこ試報, 17:87-96.
- 190) 都丸敬一 (1990). 植物ウイルス和名リストについて, ウイルス 40:1-7.
- 191) 都丸敬一 (1991). 植物ウイルス分類の現状と問題点, ウイルスの分類・植物ウイルスの遺伝子解析と形質転換植物, 日本植物病理学会 (第1回) 植物ウイルス病研究会, p.1-10.
- 192) 都丸敬一 (1991). 植物ウイルス分類の現状と問題点, 植物防疫 45:396-400.
- 193) 都丸敬一 (1991). トマト黄化えそウイルス分類基準の確立に関する研究, 植物ウイルス・ウイロイドの命名および分類基準の確立に関する総合研究, 文部省科学研究費補助金研究成果報告書, p.109-118.
- 194) 都丸敬一・日高醇 (1953). タバコの新バイラス病, 黄斑えそ病 (新称), 日植病報, 18:78.
- 195) 都丸敬一・日高醇 (1960). タバコからえられたキウリモザイクウイルスの系統 第II報 軽症系, 秦野たばこ試報, 46:135-141.
- 196) 都丸敬一・日高醇 (1960). タバコからえられたキウリモザイクウイルスの系統 第III報 黄斑系, 秦野たばこ試報, 46:143-149.
- 197) 都丸敬一・日高醇・宇田川晃 (1967). タバコから得られたキウリモザイクウイルスの系統 V. キウリモザイクウイルス系統間の干渉, 秦野たばこ試報, 58:79-88.
- 198) Tomaru, K., Kubo, S. and Takanami, Y. (1982). Occurrence of tomato spotted wilt virus in tobacco plants in Ryukyu Islands. Ann. Phytopath. Soc. Japan 48:336-339.
- 199) 都丸敬一・中田和男 (1967). わが国におけるタバコの新ウイルス病, タバコ茎えそ病 (tobacco rattle disease), 秦野たばこ試報, 58:89-100.
- 200) 都丸敬一・沢幸男・荒木幹男・鈴木郁男 (1981). バーレー種タバコにおけるジャガイモYウイルス黄斑えそ系の発生 (予報), 日植病報, 48:98.
- 201) 都丸敬一・沢幸男・鈴木郁男・田中行久・桑田茂・高浪洋一・久保進 (1984). 東北地方のタバコにおけるタバコわい化ウイルス (TSV), ジャガイモYウイルスえそ系 (PVY-T) 及びトマト黄化えそウイルス (TSWV) の発生, 日植病報, 50:113.
- 202) 都丸敬一・沢幸男・久保進・桑田茂・鈴木郁男 (1984). バーレー種タバコにおける tobacco streak virusの発生, 日植病報, 50:444.
- 203) 都丸敬一・沢幸男・久保進・桑田茂・鈴木郁男 (1985). タバコから分離された tobacco streak virus (タバコ条斑ウイルス: 新称), 日植病報, 51:486-489.
- 204) Tomaru, K., van Slogteren, D.H.M. and Noordam, D. (1968). Serological relationship among isolates of alfalfa mosaic virus isolated in Japan and U.S.A. Ann. Phytopath. Soc. Japan 34:298-301.
- 205) 都丸敬一・鈴木郁男・沢幸男・荒木幹男 (1982). 青森県のタバコおよびジャガイモに発生したジャガイモYウイルスnecrotic strain, 日植病報, 48:392.
- 206) 都丸敬一・高浪洋一・久保進 (1976). 沖縄のタバコに発生した新ウイルス病, 日植病報, 42:382.
- 207) Tomaru, K., Takanami, Y. and Udagawa, A. (1970). Strains of tobacco rattle virus isolated from tobacco plants in Japan. Ann. Phytopath. Soc. Japan 36:275-282.
- 208) 都丸敬一・宇田川晃 (1964). タバコから分離されたマメ科植物に全身感染するキウリモザイクウイルスの1系統, 日植病報, 29:265.
- 209) 都丸敬一・宇田川晃 (1965). タバコ (バーレー種) から分離されたジャガイモYウイルスの1新系統, 日植病報, 30:294.
- 210) 都丸敬一・宇田川晃 (1967). タバコから得られたキウリモザイクウイルスの系統 IV. マメ科植物に全身感染する1系統, 秦野たばこ試報, 58:69-77.
- 211) 都丸敬一・宇田川晃 (1967). タバコから分離されたアルファルファモザイクウイルスの系統, 日植病報, 33:99.
- 212) 都丸敬一・宇田川晃 (1968). タバコのホワイトバーレー系品種から分離されたジャガイモYウイルスの1新系統, 日植病報, 34:77-84.
- 213) 都丸敬一・宇田川晃 (1969). タバコから分離されたアルファルファモザイクウイルスの系統, 秦野たばこ試報, 65:1-21.

- 214) 都丸敬一・宇田川晃 (1969). 東日本のタバコから分離されたウイルスの種類と系統. 秦野たばこ試報, 65: 23-37.
- 215) 都丸敬一・宇田川晃 (1970). タバコから得られたキウリモザイクウイルスの系統 VI. 黄色微斑系. 日植病報, 36:87-93.
- 216) 都丸敬一・宇田川晃 (1970). わが国のタバコから分離された tobacco necrosis virus について. 日植病報, 36:185.
- 217) Tomaru, K. and Udagawa, A. (1971). Infectivity of phenol extracts from leaf tissues infected with strains of cucumber mosaic virus and tomato aspermy virus. Ann. Phytopath. Soc. Japan 37:73-76.
- 218) 都丸敬一・宇田川晃 (1972). わが国のタバコに発生するウイルスの種類・系統と判別法. 植物防疫, 26:251-256.
- 219) 都沢香織・夏秋知英・奥田誠一・寺中理明 (1987). えそ萎縮症状を示すホウレンソウおよびその周辺植物からのタバコ萎えそウイルスの検出. 日植病報, 53:421-422.
- 220) Tsuda, S., Natsuaki, K. and Tomaru, K. (1991). Purification of Tomato Spotted Wilt Virus Isolated from Tobacco Plants in Morioka, Japan. Ann. Phytopath. Soc. Japan 57:239-246.
- 221) 土崎常男・土居養二・寺中理明・与良清 (1966). モザイク症状を示す樹木より草本植物への汁液接種. 日植病報, 32:319.
- 222) 都崎芳久・小阪和彦・伊藤博・野田弘之・大熊衛・亀山政幸・十河和博・青木敏 (1978). 香川県におけるタバコ黄斑えそ病 (PVY-T) の発生について. 四国植物防疫研究, 13:49-54.
- 223) 宇田川晃 (1975). イチゴ根 *Olpidium* 菌の TNV 無毒化. 関東東山病虫研報, 22:47-48.
- 224) 宇田川晃 (1976). 本県産トマトから分離されたトマト・スポッテッド・ウィルト・ウイルスについて. 神奈川農総研報, 116:45-53.
- 225) 宇田川晃・高浪洋一・都丸敬一 (1969). タバコ萎えそ病の発生と系統 (I) 分離株と各種植物の反応. 日植病報, 35:122.
- 226) 宇田川晃・竹沢秀夫 (1975). 野外のスリップスによる tomato spotted wilt virus の伝搬について. 日植病報, 41:291-292.
- 227) 宇田川晃・都丸敬一 (1971). わが国のタバコから分離されたタバコネクロシスウイルス I. ウイルスの同定および感染葉組織の電子顕微鏡的観察. 秦野たばこ試報, 70:71-79.
- 228) 宇田川晃・都丸敬一 (1971). わが国のタバコから分離されたタバコネクロシスウイルス II. *Olpidium brassicae* による伝搬. 感染がタバコの生育に及ぼす影響およびタバコにおける発生分布. 秦野たばこ試報, 70:81-89.
- 229) 宇田川晃・都丸敬一 (1972). 香川県のタバコに発生したジャガイモ Y ウイルスの 1 新系統. 日植病報, 38:210.
- 230) 宇田川晃・矢吹駿一・水沢芳名 (1975). 神奈川県のトマトから分離された tomato spotted wilt virus. 日植病報, 41:86.
- 231) 上原等・都崎芳久 (1974). タバコの PVY-T による黄斑えそ病の発生実態. 日植病報, 40:132.
- 232) 牛山欽司・花田薫・本田要八郎・青野信男・亀谷満朗 (1989). オイランソウ, ラナンキュラス, ペチュニアから検出されたウイルス. 神奈川園試報, 38:43-49.
- 233) van der Want, J.P.H. (1948). Stipple streak of the bean (*Phaseolus vulgaris*), a disease caused by a soil-borne virus. Tijdschr. Plantenziekt. 54: 85-90.
- 234) van der Want, J.P.H. (1951). Tire a part des Essais Libres du Congres Mondial du Tabac. Amsterdam. p.1-7.
- 235) van Slogteren, D.H.M. (1955). Serological micro-reactions with plant viruses under paraffin oil. Proc. Second Conf. Potato Virus Dis. Lisse-Wageningen. (1954) p.51-54.
- 236) Verhoyen, M. (1961). Identification en Belgique du virus de la mosaïque de la luzerne (lucerne mosaic virus). Symptomatologie et caracteristiques. Extrait de Parasitica 17:65-80.
- 237) Walter, B., Kuszala, J., Ravelonandro, M. and Pinck, L. (1985). Alfalfa mosaic virus isolated from *Buddleia davidii* compared with other strains. Plant Dis. 69:266-267.
- 238) Wang, M. and Gonsalves, D. (1990). ELISA detection of various tomato spotted wilt virus isolates using specific antisera to structural proteins of the virus. Plant Dis. 74:154-158.
- 239) Weimer, J.L. (1931). Alfalfa mosaic. Phytopathology 21:122-123.
- 240) Weimer, J.L. (1934). Studies on alfalfa mosaic. Phytopathology 24:239-247.
- 241) Wetter, C. (1960). Partielle Reinigung einiger gestreckter Pflanzenviren und ihre Verwendung als Antigene bei der Immunisierung mittels Freundschern Adjuvans. Arch. Mikrobiol. 37: 278-292.
- 242) 山本孝稀・大畑貫一 (1977). ヒオオギ (*Belam-*

- canda chinensis* DC.) に発生した tomato spotted wilt virus. 四国農試報. 30:39-47.
- 243) 山本義忠 (1982). ジャガイモ Y ウイルス抵抗性品種育成の現状と育成品種の特性. 磐田たばこ試報. 14:29-57.
- 244) 米山伸吾・栃原比呂志 (1979). 茨城県の冬春作ピーマンにおける tomato spotted wilt virus (TSWV) の発生について. 日植病報. 45:565-566.
- 245) Zaumeyer, W.J. (1938). A streak disease of peas and its relation to several strain of alfalfa mosaic virus. J Agr. Res. 56:747-772.
- 246) Zaumeyer, W.J. (1953). Alfalfa yellow mosaic virus systemically infections to beans. Phytopathology 43:38-42.
- 247) Zaumeyer, W.J. (1963). Two new strains of alfalfa mosaic virus systemically infections to beans. Phytopathology 53:444-449.
- 248) Zaumeyer, W.J. and Patino, G. (1960). Vein necrosis, another systemically infections strain of alfalfa mosaic virus in bean. Phytopathology 50:226-231.

Studies on Occurrence, Identification and Diagnosis of Virus Diseases of Tobacco Plants in Japan

Akira UDAGAWA

Summary

The virus diseases of tobacco plants in Japan are so serious that the damages are estimated at more than nine hundred million yen. The present studies were undertaken to make clear the occurrence of viruses on tobacco plants in Japan, and their biological and practical methods for the identification and diagnosis. Field survey of tobacco plants was also done to find the distribution of causal viruses.

There are 13 viruses and 25 strains in Japan and special emphasis was laid on the identification and transmission by vector of newly found 5 viruses and 6 strains.

The results obtained are summarized as follows:

1. Field survey of virus diseases

From 145 virus infected tobacco plants (including 14 cultivars and 8 Burley breeding lines) collected in east Japan (Akita, Fukushima, Kanagawa, Nagano prefecture etc), during the years of 1963~1968, several viruses and the strains were isolated. The plants collections do not include those showing typical symptoms of tobacco mosaic virus (TMV) and cucumber mosaic virus (CMV).

The viruses and strains isolated from tobacco plants and the rate of isolation were as follows; potato virus Y (PVY) 47.6%, CMV 40.0%, TMV 27.6%, alfalfa mosaic virus (AMV) 9.0% and potato virus X (PVX) 5.5%. There were PVY ordinary strain, PVY-A1 tobacco yellow spotted streak strain, CMV ordinary strain, CMV mild strain, CMV yellow strain, CMV legume strain, TMV ordinary strain, TMV yellow strain, TMV necrotic strain, TMV masked strain, AMV ordinary strain, AMV cowpea systemic strain (systemic on both of cowpea and bean) and PVX. Some of these isolates infected doubly or triply. Single virus infections were 72.4% and complex infections were 27.6%. There were two samples infected by two strains of the same virus. The ordinary strains of CMV, TMV and PVY were most prevalent and the mild strain of CMV and the tobacco yellow spotted streak strain of PVY were subsequently widely spread.

2. Newly found viruses and the strains

1) Potato Y potyvirus

(1) Yellow spotted streak strain

During the course of virus diseases survey of tobacco plants, a new strain of potato virus Y (PVY) was isolated from Burley tobaccos.

PVY was fairly prevalent in Burley tobacco and was isolated from 25 out of 40 collected samples. Most of the isolates were considered as ordinary strain. Two isolates (A1

and A2) caused yellow spots or yellow ring spots and sometimes necrotic brown or white small spots on systemically infected leaves of White Burley and some of domestic tobaccos. On Bright Yellow tobacco it caused vein banding symptoms same as those of ordinary strain. Pepper (*Capsicum annuum* cultivar Takanotume) showed necrotic lesions on inoculated leaves, and also on systemically infected leaves by the infection of all these PVY isolates. It may be useful for differential and quantitative assay host of PVY.

Thermal inactivation point of crude sap of tobacco leaves infected with A1 isolate was 60~65°C (10min.), dilution end point, 10^{-4} and longevity *in vitro*, 5~6 days at 25°C. Cross protection between ordinary strain as the first virus and A1 isolate as the second virus was complete. No protection was observed against tobacco etch virus (Riverside strain) used as the second virus.

Antiserum prepared by the injection of purified A1 isolate to rabbits with adjuvant has positive reactions to the ordinary strain but the titer was lower than that of homogeneous antiserum-antigen reactions. Electron microscopy of the new strain showed fibrous particles of about 700nm in length.

A1 isolate resembles tobacco yellow spotted streak strain (Tomaru and Hidaka, 1954) which was isolated from Bright Yellow tobacco in Japan, but different each other in symptoms on tobacco cultivars and in properties of virus sap. On the symptoms of White Burley tobacco, it resembles one of the isolates in Brazil (Silberschmidt et al, 1954), but the identity is not clear. A1 isolate may belong to the group of necrotic strain of PVY.

(2) Necrotic strain

In Kagawa prefecture, especially in Shodoshima district, extensively occurred a disease showing necrotic streak on leaf vein and stem, yellow and necrotic flecks on leaves of tobacco plants in 1971. The disease occurred in tobacco fields, particularly near potato (cv.Unzen) fields, and caused severe damage to tobacco plants. Causative virus was identified as a necrotic strain of PVY according to the investigations carried out in 1971-1972 at the Hatano Tobacco Experiment Station.

By sap inoculation, the virus systemically infected the following plants; tobacco (cvs. Bright Yellow, Hicks2, Ky57, Xanthi nc, Bel-W3, Matukawa, Daruma, Kirigasaku, Burley Mito3), *Nicotiana glutinosa*, *N. affinis*, *N. alata*, *N. clevelandii*, *N. repanda*, *N. rustica*, *N. sanderae*, *N. sylvestris*, potato (cv.Unzen), tomato, *Physalis floridana*, *P. peruviana* and *Datura metel*. On these tobacco cvs tested, the virus caused severe veinal necrosis, necrotic streak on stem, and yellow and necrotic flecks on leaves. The virus induced local necrotic lesions on *Lycium chinense* and *Solanum demissum* A6 without systemic infection. Cowpea, *Phaseolus vulgaris* (cv.Otebou), *Vicia faba*, *Capsicum annuum* (cv.Takanotume), *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, *C. capitatum* and *N. glauca* showed no infection.

The thermal inactivation point of crude sap was 60~65°C (10min.), dilution end point was more than 10^{-6} and longevity *in vitro* was longer than 40 days at 25°C. Air-dried leaves of infected tobacco maintained infectivity longer than 71 days. The virus particles in partially purified preparation were elongated and thread like, 730nm in length. Crude sap of infected leaves reacted positively to PVY-A1 antiserum by

microdroplet test. The virus was transmitted from infected tobacco to healthy one by green peach aphid (*Myzus persicae* Sulz.) in non persistent manner. Cross protection against other strains of PVY (ordinary and PVY-A1) was not complete.

From these results, it is concluded that the virus belongs to the necrotic strain of PVY. The virus resembles tobacco veinal necrosis virus or Tabakrippenbräune Virus reported in Brazil and Europe. The virus was also isolated from potato (cv. Unzen) collected from the fields around the infested tobacco fields. This was the first report of the occurrence of typical necrotic strain of PVY in Japan.

2) Alfalfa mosaic virus

Eleven isolates of alfalfa mosaic virus (AMV) were obtained from various cultivars of tobacco plants showing symptoms of white necrotic spots, arcs, rings or chlorotic rings, oak leaf patterns in the fields of Hokkaido, Fukushima, Tochigi, Kanagawa and Nagano prefectures in 1965~1967.

These isolates induced similar symptoms to AMV-B (Hiruki, 1961 and Tomaru, 1963) in 19 tobacco cultivars, 30 *Nicotiana* species and also other plants such as *Physalis*, *Datura*, pepper, eggplant, potato, broad bean, garden pea, azuki bean, alfalfa, *Chenopodium*, cucumber. Among tobacco cultivars and *Nicotiana* spp there were no hypersensitive host (local lesion host). Tobacco cultivar TI448A showed some tolerance with very mild symptoms.

AMV-By2 group (By1 and By2 isolates) caused systemic blight, chlorotic mottle in cowpea (*Vigna sinensis* var. *sesquipedalis* cv. Kurodane Sanzyaku) and French bean (*Phaseolus vulgaris* cv. Kairyo Otebou); tomato (cv. Potentate) and *Lycopersicon peruvianum* were not susceptible. On the contrary, AMV-B group (including K1, K2 isolates and others) caused only local lesions on inoculated leaves of cowpea and French bean; Potentate tomato and *L. peruvianum* developed systemic necrosis. As differential hosts, cowpea, French bean, tomato, *L. peruvianum* and cucumber are suitable, but there proved differences in susceptibility among cultivars of tomato, cucumber and bean.

AMV-By2 isolate showed thermal inactivation point 60~65°C (10min.), dilution end point 10^{-5} ~ 2×10^{-6} , longevity *in vitro* 3~4 days at 25°C. These groups could not be differentiated by means of the physical properties, serological tests with agar gel diffusion and virus particles. On the basis of some host reactions, AMV isolated from tobacco in Japan appeared to be divided into two groups. It can be seen that AMV-B group is more prevalent than AMV-By2 group under natural infection of AMV on tobacco in Japan. This was the first report of the occurrence of AMV strain on tobacco in Japan which infect cowpea and French bean systemically.

3) Tomato spotted wilt tospovirus

One virus was isolated from tomato plants showing symptoms of stem and veinal necrosis, necrotic spots, necrotic or yellowish wilt, severe malformation and necrosis of fruits, cultivated at greenhouses or fields in Kanagawa prefecture during 1974.

The virus induced necrotic and wilt symptoms on twenty species of eight families of plants, including tomato, broad bean, petunia, *Datura* and *P. floridana* by artificial inoculation used of cold phosphate buffer containing DIECA and young test plants.

The virus in crude sap showed thermal inactivation point 45~50°C (10 min.), dilution end point $5 \times 10^{-3} \sim 10^{-4}$, longevity *in vitro* 6~7 hours at 25°C. By electron microscopy with direct negative staining method, these virus particles were found to be spherical of 74~86nm in diameter. The virus was transmitted by naturally survived *Thrips* spp. There were found to be almost no seed transmission of the virus in tomatoes.

From the results obtained, reactions of several differential host plants and host range, physical and chemical properties, shape and size of virus particles, thrips transmission, the virus was identified as tomato spotted wilt virus (TSWV). This virus naturally occurred on tomatoes in Hiratuka, Yokohama, Atugi and other cities of Kanagawa prefecture.

From 44 collections of virus infected tomato plants in Kanagawa prefecture, 3 viruses were isolated. There were tobacco mosaic virus (TMV) tomato strain, cucumber mosaic virus (CMV) ordinary strain and TSWV. The rate of isolation were TMV 27%, CMV 32% and TSWV 45%. Some of these isolates infected doubly.

TSWV was isolated from tobacco plants also showing symptoms of chlorotic or necrotic rings, veinal necrosis, severe malformation and stunt, cultivated in Okinawa prefecture in 1976, by Tomaru et al.

4) Tobacco rattle tobnavirus

Isolates of tobacco rattle virus obtained from naturally infected tobacco plants in Japan were separated into two groups on the basis of their symptoms on aster plant, serological reactions and particle length distribution. TRV-HSN group (HSN and IH isolates) gave systemic necrosis on aster plant, while TRV-MD1 group (MD1, TH, UD, CH2, CH3 and MH isolates) produced yellow rings and mottle. In serological tests, these two groups gave cross reactions. Differences were observed in agar gel diffusion tests and in titers in micro droplet precipitin tests. Similarly, differences were also noted in particle length distribution; TRV-HSN group gave a bimodal distribution with 180~190nm and 70~80nm particles, while TRV-MD1 group was characterized by shorter particles having a length of 40~60nm.

Among *Nicotiana* spp. tested with the different isolates, no immune plant was observed, though there were differences in susceptibility of the different species and cultivars. *Vinca rosea* appeared to be a good reservoir host of the virus.

5) Tobacco necrosis necrovirus

(1) Identification of the virus

From the root of a tobacco plant collected at Isehara, Kanagawa-ken, Japan, an isolate of tobacco necrosis virus (TNV) was obtained in 1963. Vacuum freeze-dried leaf tissues infected with the isolate (TNV-SN), or the purified virus were preserved and used for further experiments.

Phenol extracts from the inoculated leaf tissues showed infectivity as high as control phosphate buffer homogenate. Thermal inactivation point of the virus in crude sap was 80~85°C (10 min.). Inoculated cowpea leaves preserved in room temperature showed infectivity after 41 days but not after 50 days. By the sap inoculation, tobacco, *Nicotiana glutinosa*, *Chenopodium amaranticolor*, Swiss chard, French bean (*Phaseolus vulgaris* cv.

Ootebou), cowpea and *Gomphrena globosa* showed necrotic local lesions on inoculated leaves. On tobacco, cowpea and French bean sometimes necrosis became systemic along the veins.

Antiserum obtained by the injection to rabbit with purified virus showed positive reaction with purified virus and with extracted sap of infected leaves. Purified virus and extracted sap from infected leaves also reacted with antiserum of TNV supplied from Dr. B. Kassanis in micro droplet precipitin and agar gel diffusion tests.

Symptom-masked leaves of tobacco plants infected with tobacco stunt virus (TStuV) were challenge-inoculated with TNV-SN sap as cross protection test. Number of local lesions induced on the challenge-inoculated leaves was less than that of comparable healthy leaves by 23 percent. The result shows that no specific cross protection occurs between TStuV and TNV-SN, in symptom-masked leaves of TStuV infected tobacco plant.

Electron microscopy of ultrathinsection of infected tobacco and cowpea leaves indicated crystallized array of virus particles about 23nm in size, in cytoplasm. Particle like phytoferritin as filamentous structure and like Fraction 1 protein as an array structure were also observed in chloroplast of adjacent cells to necrotic region of infected tobacco leaves. It need further verifications, however, to elucidate these two structures.

From the results described above, it is concluded that TNV-SN is a strain of TNV.

(2) Transmission by *Olpidium* and reduction of tobacco plants

Transmission of Japanese isolate of tobacco necrosis virus (TNV-SN) by *Olpidium brassicae* and effects of virus infection on growth of tobacco plant were studied. Resting spores of *Olpidium brassicae* with TNV-SN were extracted from tobacco roots, treated with HCl (1N, pH 0.5) for 2hr, and added into soil or water culture solution in which tobacco seeds were sown or seedlings were transplanted. *O. brassicae* survived after acid treatment whereas TNV-SN did not. TNV-SN was transmitted by *O. brassicae* to tobacco roots and homogenate of infected tobacco roots caused necrotic local lesion on cowpea and tobacco by the sap inoculation. There were no systemic symptoms by root infection with TNV-SN and *O. brassicae*, but the infected tobacco roots showed brown necrotic lesions, and resting spores were observed in the root tissues both in necrotic and healthy looking portions. By the direct sap inoculation to tobacco root, TNV-SN was recovered at the 16th day but not at the 29th day after inoculation at 20°C.

Tobacco plants infected with both TNV-SN and *O. brassicae* retarded in their growth, by the tests in water culture and soil culture at 20°C. Fresh weight of infected tobacco plant showed about 10% reduction compared with healthy and virus-free *O. brassicae* infested plants. There were no significant differences in plant growth between healthy and virus-free *O. brassicae* infested plants.

Tobacco plants infected with tobacco stunt virus (TStuV) were collected from various parts of Japan in 1969~1971 and multiple infection of TNV was examined by means of inoculation to some differential hosts and of serological methods. From some of the root extracts of TStuV infected tobacco collected at Kanagawa, Nagano and Okayama, TNV-SN like virus was detected. From the leaves of these plants which showed typical TStuV symptoms no TNV was recovered.

3. Identification of viruses and the strains

The viruses isolated from tobacco, tomato and other plants were identified according to the symptoms of several differential hosts by artificial inoculation in green house. Tobacco, *Nicotiana glutinosa*, *Physalis floridana*, *Datura stramonium*, *Chenopodium amaranticolor*, *Gomphrena globosa*, cowpea, French bean, broad bean and sesame were used for differential hosts. The new strains obtained or some representative strains were ascertained by host range, cross protection tests between virus strains, physical and chemical properties, transmissional tests by vector, serological tests and electron microscopy. And biological and practical methods for identification of the viruses and the strains were authorized.

From the results of field survey of tobacco plants in Japan, it appeared that the distribution of the causal viruses. Based on the results of these studies including newly found five viruses and six strains, the methods were for authorized the identification and the diagnosis of viruses and strains isolated from field tobacco plants in Japan. It seems useful for integrated control of virus diseases of field plants which yield loss associated with several virus diseases.

図版説明

1. 3種ウイルスの重複感染(PVY-C2+AMV-B+CMV-O)。
黄色輪紋, モザイク, 葉脈緑帯。'白だるま'。1967.8.4. 福島県白河。
2. タバコ黄斑えそ病(PVY-A1)の病徴。黄色輪紋。
パーレー育成系統(EB1-4, DB8-3)。1967.8.3. 福島県船引。
3. PVY-A1の接種によるタバコ 'Ky57' の黄色輪紋, 斑点。接種16日目。
4. タバコ黄斑えそ病(PVY-T)の病徴。葉脈えそ, 黄色輪紋。1971. 香川県小豆島。(原図 都丸敬一)
5. ジャガイモ畑に隣接するタバコ畑。
1971. 香川県小豆島。(原図 都丸敬一)
6. PVY-Tの接種によるタバコ 'Ky57' の葉脈えそ, えそ斑点。20°C, 接種11日目。
7. 同上。根部のえそ。
左2株: PVY-T接種。右1株: 無接種。
8. 畑におけるAMV-Bによる病徴。黄色輪紋, えそ斑点。
'だるま'。1969.6. 栃木県烏山。(原図 都丸敬一)
9. 同上。黄色輪紋, えそ輪紋。'白だるま'。1967.8.4. 福島県白河。
10. AMV-By2の接種によるタバコ 'Ky57' の白色えそ斑点, 輪紋, モザイク。接種13日目。
11. AMV-By2の接種によるササゲ '黒種三尺' の全身的黄色モザイク。接種16日目。
12. AMV-By2の接種によるダイズ '農林4号' の全身的黄色モザイク。接種40日目。
13. トマト黄化えそ病(TSWV)の病徴。黄化しおれ。
露地トマト '東海2号'。1974.6.29. 神奈川県平塚。
14. 同上。果実のえそ奇形。水耕トマト '瑞光'。
1974.4.23. 神奈川県横浜。
15. キュウリ寄生アザミウマ2頭によるトマト '東海2号' へのTSWVの伝搬。
右: 黄化えそしおれ, 処理12日目 (25°C)
左: 健全, 無処理 (25°C)
16. タバコ茎えそ病(TRV)の病徴。茎えそ, えそ斑, 葉のがさがさ。'ヒックス2号'。1968. 千葉県土気。
(原図 都丸敬一)
17. TRV-CH3の接種によるタバコ 'Samsun' のえそ斑, 茎えそ。接種27日目。
18. TRV-IHの接種によるアスター 'みすずポンポン' の頂葉えそ, えそ斑。接種10日目。
19. TRV-UDの接種によるアスター 'みすずポンポン' の全身的黄色輪紋。接種10日目。
20. TNV-SNの接種によるタバコ 'ブライトエロー' 接種葉のえそ斑点。接種6日目。
21. TNV-SNの接種によるササゲ '黒種三尺' 接種葉のえそ斑点, 葉脈えそ。接種6日目。
22. TNV-SNの感染によるタバコ 'ブライトエロー' の生育阻害。(20°C, 水耕, 処理21日目。)
右: TNV-SN+*Olpidium brassicae*
左: TNV-SN free *Olpidium brassicae*
23. PVY-T精製ウイルスの電子顕微鏡像。
×92,800。スケール100nm。(原図 高浪洋一)
24. AMV-By2精製ウイルスの電子顕微鏡像。
×183,000。スケール100nm。(原図 高浪洋一)
25. TSWV精製ウイルスの電子顕微鏡像。
×69,700。スケール100nm。(原図 高浪洋一)
26. TRV-HSN精製ウイルスの電子顕微鏡像。
×189,000。スケール100nm。(原図 高浪洋一)
27. TNV-SN感染ササゲ初生葉えそ斑点部の超薄切片電子顕微鏡像。細胞内に見られたウイルス粒子の結晶状配列。×40,000。スケール100nm。



