

シクラメンの縮葉症状株から分離された

2種類のウイルス

牛山 欽司・花田 薫*・岩木 満朗**・三浦 泰昌***

Kinji USHIYAMA, Kaoru HANADA, Mitsuro IWAKI
and Yasumasa MIURA

Two viruses isolated from cyclamen
plants showing rugose symptom.

I 緒 言

最近、神奈川県において温室栽培のシクラメンの葉身に、8月以降凹凸を伴った奇形や縮葉症状が目立つようになり、このような株では花立ちが遅れたり、花弁が小さくなったりするなどの現象が見られ、商品性を著しく低下させている。シクラメンのウイルス病については、小室(1962)(2)が花にモザイク症状を示す株からキュウリモザイクウイルス(CMV)を分離し、葉は小型で若干萎縮症状をていすと、の報告以外は見当たらない。筆者らは、縮葉症状の株からCMVを検出し、更に一部の株にはソラマメウルトウイルス(BBWV)が重複感染していることを確認した。又、接種試験の結果CMVが本症状の主原因であることを明らかにしたので、ここに取りまとめて報告する。

なお、現地調査には神奈川県農業技術課専門技術員並河 治氏の協力を得た。また、本稿をまとめるに当たり、農林水産省農業研究センター栃原比呂志博士には多大の御助言と御指導をいただいた。心から感謝の意を表す。

* 農林水産省農業研究センター

** 農林水産省農業環境技術研究所

*** 現神奈川県農業総合研究所

II 材料及び方法

供試縮葉症状株

1982年9月に横浜市内の2株、同年11月茅ヶ崎市の農家温室内の32株と寒川町の1株、'83年10月には厚木市内の2株、同年12月秦野市内の3株を調査し、実験に供試した。

判別植物による検定

葉身あるいは花弁を0.2%亜硫酸ソーダ、0.01% KCN+0.1%チオグリコール酸(TGA)または0.5%2-メルカプトエタノールを添加した0.67Mリン酸緩衝液(pH7.0)(PB)とともに磨砕し、カーボラダムを用いた常法で判別植物に汁液接種した。そして、*Chenopodium amaranticolor*の接種葉に生じたえそ性と退緑性の局部病斑をそれぞれ切りとり、供試植物で増殖して実験に供した。

電顕観察

数種検定植物の罹病葉を用い、2%リンタングステン酸液によるダイレクトネガティブ染色法により、ウイルス粒子を電顕で観察した。更に、一部の株については3%グルタルアルデヒド液で約2時間固定した後、上記のダイレクトネガティブ染色法により電顕観察した。

血清試験

横浜B株と茅ヶ崎D株から分離したCMVをタバコ'KY-57'に接種し、その接種葉からウイルスを純化し、CMV黄斑系(CMV-Y)(1)(3)とフキから分離されたCMV(CMV-P)(1)(5)の抗血清(農林水産省農業研究センター栃原比呂志氏より分譲)及びCMV普通系に対する抗血清(日本植物防疫協会作製)を用いて、Hanadaら(1)の方法に準じて寒天ゲル内拡散法により血清学的類縁関係を調べた。又、横浜B株を*C. amaranticolor*に接種して生じた接種葉の退緑斑から分離して得られたウイルスについては、ペチュニアに接種して増殖した後に部分純化し、エンドウから分離したBBWVの抗血清を用いて、BBWVとの血清学的類縁関係を寒天ゲル内拡散法により調べた。

シクラメンでの病徴再現試験

試験(1) '83年5月には種して9月27日に鉢上げした3~4葉株のシクラメンの葉に、*C. quinoa*や他の供試植物のり病葉を0.05% KCN + 0.1% TGA加用0.05MPBとともに磨砕して、カーボランダム法で10月15日に汁液接種した。接種株は温室内に置き、'85年2月まで葉や花の症状を調査した。

試験(2) '83年10月には種し、'84年5月12日に鉢上げたシクラメン株を供試した。温室内で、9、10、11月及び'85年2月に自然寄生のアブラムシ(主としてワタアブラムシ)の多少を調査し、その都度殺虫剤を散布し、発症状況を観察した。

試験(1)、試験(2)とも '85年2月にシクラメンの新葉を採取し、0.2%亜硫酸ソーダ加用0.05MPBで*C. quinoa*

あるいは*C. amaranticolor*に汁液接種し、ウイルス感染の有無を調査した。

III 実験結果

1. 病徴と発生状況

葉は凹凸を伴った奇形となり、葉脈隆起や葉の斑紋が乱れて白い部分が多くなり、全体に緑色が薄くなったモザイク症状で、縮葉状態になる(図A)。開花が遅れたり、花弁が小さくなり、花弁の反転が不良で奇形になる傾向が見られた。調査の範囲では、花弁の明りょうなモザイク症状は見られなかったが、ピンク系の花弁に幾分退色した線や濃い色の線など、軽い色割れ症状をていする株があった。このような症状は、'82年と'83年には多かったが、'84年にはほとんど問題にならず、年によって差が認められた。また、このような症状は8月以降に目立ち始め、特に9月にしゃ光資材を取りはずすころから発生が多く見られるようになった。'82年に茅ヶ崎市の農家の温室を調査した結果、32株中の約80%の株に本症状が見られた。

2. 病原ウイルスの検出

上記症状を示す株の葉身あるいは花弁を、常法により0.05MPBのみを用いて磨砕した汁液を*C. quinoa*や他の判別植物に接種した結果、1~3個の局部病斑が見られる場合があったが、安定した状態ではなかった。0.05MPBに0.2%亜硫酸ソーダ、0.5% KCN、0.1% TGA、0.2% 2-メルカプトエタノールなどを添加した場

第1表 各地で採集したシクラメンの判別植物への汁液接種試験

供試株	<i>C. amaranticolor</i>		<i>C. quinoa</i>		ササゲ (黒種三尺)		ソラマメ (早生)		エンドウ (三十日 絹莢)		キュウリ (ときわ光)		トマト (端健)		N. glutinosa	
	* I	T	I	T	I	T	I	T	I	T	I	T	I	T	I	T
横浜 A	L(ns)	—	L(^{ns} / _{cs})	—	·	·	L(ns)	—	L(cs)	—	L(cs)	—	—	—	—	m?
横浜 B	L(^{ns} / _{cs})	S	L(ns)	VN	L(ns)	m	L(ns)	—	L	—	L(cs)	—	—	S	L(ns)	S
寒川 C	L(^{ns} / _{cs})	—	L(^{ns} / _{cs})	S	L(ns)	m	L(ns)	—	·	·	L(cs)	—	—	—	—	M A b
茅ヶ崎 D	L(^{ns} / _{cs})	—	L(ns)	—	·	·	L(ns)	—	·	·	L(cs?)	—	—	—	—	M
厚木 A	L(^{ns} / _{cs})	—	L(^{ns} / _{cs})	S	L(ns)	—	·	·	·	·	·	·	·	·	L(cs)	Y S
厚木 B	·	·	L(^{ns} / _{cs})	—	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·

* I : 接種部 T : 上部
L : 局部病斑, ns : えそ斑点, cs : 退緑斑点, S : 全身感染, VN : 葉脈えそ,
m : モットル, M : モザイク, A b : 奇形葉, Y : 黄化,

合には、やや安定して数個の局部病斑が形成された。そこで各地で採集した株のうち6株(横浜A, B, 寒川C, 茅ヶ崎D, 厚木A, B)の葉身を、0.2%亜硫酸ソーダ添加0.05MPBを用いて磨砕し、*C. quinoa* に汁液接種して得た局部病斑を取り、増殖した後に他の判別植物に接種した結果を第1表に示した。*C. amaranticolor* では大きいえそ斑点が全株で認められたが、小さい退緑斑点が横浜B, 寒川C, 茅ヶ崎D, 厚木A株に見られ、横浜B株では全身感染の症状が見られた(図F)。*C. quinoa* でもえそ斑点と退緑斑点の局部病斑(図D, E)が見られ、横浜B, 寒川C, 厚木A株で全身感染症状(図G)が見られた。ササゲ, エンドウ, ソラマメなどではえそ性の局部病斑が見られ、キュウリでは接種葉に退緑斑点があり、トマトは横浜B株のみで全身感染を示した。*Nicotiana glutinosa* では横浜B, 厚木A株で局部病斑が、全株で全身感染が認められたが、横浜B, 厚木A株の症状と寒川C, 茅ヶ崎D株の症状ではやや異なっていた。

横浜B株のトマトの上葉を通した分離株と厚木A株の*N. glutinosa* の上葉を通した分離株の*C. quinoa* の接種葉を用いて、ダイレクトネガティブ染色法により電顕観察したところこわれかけた球状粒子が多く観察された。そこで固定して観察した結果、径約30nmの球状粒子が観察された。

C. quinoa の全身感染葉と*N. glutinosa* の全身感染葉をCMV普通系抗血清を用いて寒天ゲル内拡散法で試験した結果、厚木A株の*C. quinoa* の全身感染葉と横浜B株の*N. glutinosa* 全身感染葉は陰性であったが、寒川C, 横浜B株の*C. quinoa* 及び寒川C, 茅ヶ崎D, 厚木A株の*N. glutinosa* の全身感染葉は陽性であった。横浜Bと茅ヶ崎D株を接種したタバコ'KY-57'の接種葉から純化したウイルスを用いて、CMV-P及びCMV-Yとの血清学的類縁関係を調べた結果、両株とも両ウイルスの抗血清によく反応し、横浜B株はCMV-Pと沈降帯が完全に融合したがCMV-Yとの間にはスパーを生じた。茅ヶ崎D株はCMV-Yとは沈降帯が完全に融合したが、CMV-Pとの間にはスパーを生じて、両株の間には若干の相違が認められた。以上のことから、本症状には2系統のCMVが関与していることが明らかである。

横浜B株を接種した*C. amaranticolor* の退緑斑点あるいは全身感染葉を分別して*C. quinoa* に接種し、その全身感染葉及び厚木A株の*C. quinoa* 全身感染葉を用いて判別植物に接種した。*C. amaranticolor* の接種葉の退緑斑点部を*C. quinoa* に接種して全身感染したものは、*C. amaranticolor* でえそ斑点を生じずに退緑斑点だけを生じ、又全身感染もし(図F)、*C. quinoa* でも激しい全身感染を示した(図G)。この全身感染葉を

第2表 汁液接種による縮葉症状の再現試験 (1983. 10.15~1985. 2. 13)

接種ウイルス	シガラメン株 No.	葉の症状	花の症状	ウイルス反応*
C M V	1	凹凸廿, 奇形廿	やや小, やや奇形	n s
	2	〃 +	正 常	n s
	3	〃 +, 奇形廿		n s
	4	〃 +	花卉不良, やや奇形	n s
	5	〃 +	正 常	n s
	6	〃 +	ほぼ正常	n s
	7	〃 廿	〃	n s
B B W V	1	〃 +, 奇形?		c s (n s)
	2	〃 +		〃 (〃)
	3	〃 土	花卉奇形?	—
	4	〃 —	花卉内側わん曲土	c s, S
	5	〃 土		c s
	6	〃 —		c s
無 接 種	1	—	—	—
	2	—	—	—

* *C. amaranticolor* への戻し接種の反応 n s : えそ斑点 c s : 退緑斑点 S : 全身感染

CMV 普通系抗血清で反応を調べた結果、*C. amaranticolor* にえそ斑点を生じた部分は陽性であったのに対して陰性であった。この両株ともエンドウにモザイクを生じ、タバコの 'Bright yellow' にえそ斑点や退緑斑点を生じ、ペチュニアにも葉脈透過やモザイクを生じた。

横浜B, 厚木, A, B 株の *C. amaranticolor* と *C. quinoa* の上葉を通した分離株の *C. quinoa* 接種葉, 又は上葉を用いてダイレクトネガティブ染色法により電顕観察をしたところ、径約25nmの球状粒子が多数観察された。

エンドウから分離したBBWVの抗血清を用い、寒天ゲル内拡散法で血清試験を行った結果、横浜B株はBBWVとよく反応して沈降帯が完全に融合したことから、エンドウから分離されたBBWVと血清学的に同じか、近縁のウイルスと同定した。このことから、横浜B株はCMVとBBWVの2種類のウイルスに感染していたことが分った。

3. CMVとBBWV接種による縮葉症状の再現性

C. quinoa, *C. amaranticolor* などに接種して病斑部を分別した試験(1)のCMV感染葉とBBWV感染葉を用い、シクラメン幼苗に汁液接種した結果を第2表に示した。判別植物の反応及び血清試験でCMV感染が確認された横浜A, B, 寒川C, 茅ヶ崎D株を接種して得た、病徴発現の感染葉を用いて汁液接種したシクラメンは、葉の凹凸が明らかに多くなり、奇形の葉を生じた株もあった。又、花卉がやや小さくなったり、花卉の反転不良や奇形なども見られた。これらの全株から *C. amaranticolor* にえそ斑点を生じるウイルスが回収され、CMVの感染を確認した。

一方、BBWVの感染が確認された横浜B株の *C. quinoa* あるいは *C. amaranticolor* の感染葉を用いて汁液接種したシクラメン株は、葉の凹凸は軽いか認められない程度で、奇形葉はほとんど認められなかったが、花卉が内側にわん曲するような奇形がやや認められ、全株で花が遅れる傾向があった。これらの株からは *C. ama-*

第3表 アブラムシの寄生状況と症状発現 (1985. 5. 17~1985. 5. 21)

品 種	株	No.	アブラムシ寄生程度				葉の症状	花の症状	ウイルス 反応**
			*9	10	11	2月			
F ₁ ス カ ー レ ット	1.	T-2	少	中	—	少	凹凸+	—	n s
	2.	T-3	—	—	—	—	〃 ±	—	—
	3.	①	中	—	甚	少	奇形±	—	n s
	4.	②	—	—	—	—	—	—	—
F ₁ ホ ウ イ ト	1.	T-3	—	—	—	少	—	花卉わん曲	n s
	2.	T-2	—	—	—	—	—	—	—
	3.	①	少	—	多	—	奇形±	わん曲±奇形+	n s
	4.	②	—	—	—	—	—	—	—
F ₁ ピ ン ク	1.	T-1	—	—	—	少	凹凸±	花卉反転不良	n s
	2.	T-2	少	—	—	少	〃 +	—	n s
	3.	T-3	—	—	—	—	—	—	—
	4.	①	—	—	—	—	—	—	—
ア ー サー	1.	T-1	多	中	—	少	凹凸±	小, わん曲± モザイク±	n s
	2.	T-2	中	—	少	少	〃 ±	—	—
	3.	①	—	—	—	—	—	—	—
ア ク イ ラ	1.	T-2	少	中	—	中	凹凸±奇形+	花卉わん曲± 極小, 奇形±	n s
	2.	T-3	多	—	—	—	〃 ± 〃 ±	—	n s
	3.	S-2	少	少	中	多	〃 ±	小, わん曲±	n s
	4.	T-1	—	—	—	—	—	—	—

* 9~2月主としてワタアブラムシの自然寄生

** *C. quinoa*, *C. amaranticolor* に対する汁液接種の反応

ranticolor に退緑斑点を生じるウイルスが回収され、一部の株からは全身感染するものが見られたことから、BBWVは感染していたものと思われる。

4. アブラムシの寄生状況と発症

試験(2)で行ったシクラメンにおけるアブラムシの寄生状況とシクラメンの発症状況は第3表のとおりで、アブラムシの寄生の多かった株は葉の凹凸が多く、奇形葉もみられた(図B)。品種によっては花弁が著しく小さくなったり、内側にわん曲して反転が不良になったり(図C)、奇形のものや軽いモザイク症状が見られた。これらの症状の株からは、*C. quinoa* に汁液接種でえそ斑点を生じるウイルスが回収され、CMVによる症状と考えられた。

IV 考 察

小室(1962)(2)は静岡県のシクラメンの花弁に鮮明なモザイクを示す株から、初めてCMVを検出した。この株では、葉は小型になり若干萎縮しているが、モザイクは全く認められないとしている。この数年、花弁にはモザイク症状はほとんど認められないが、葉に凹凸を生じて奇形になったり、葉脈が突出したり、葉の斑紋が乱れて全体に淡白色に見えるようなモザイク様症状の株が多く見られるようになった。このような株では開花が遅れ、花弁は小さく、花弁の反転が悪いなどのことから商品性は著しく低下する。このような症状は、小室の報告とは若干異なっている。

供試したいずれの株からも、判別植物への汁液接種、電顕観察及び血清試験でCMVが検出された。供試株によってはCMV—Y型とCMV—P型の相違はあったが、CMVの感染はかなり多くあるものと思われる。一方、横浜Bと厚木A株からは、CMV以外にBBWVが検出され、両ウイルスの重複感染株の存在することが明らかになった。BBWVがシクラメンから検出された報告はないが、本ウイルスもCMVと同様に寄主範囲の広いウイルス(6)である。このCMVとBBWVの重複感染株の症状について見ると、CMVのみが検出された株との間に明らかな相違点は見られなかった。このことは、シクラメンへの接種試験において、CMVを接種した場合には葉の凹凸の症状が多く、奇形葉を生じるなどの症状が再現されたが、BBWVを接種した場合には、葉の凹凸症状は軽いかほとんど認められない程度であったことと一致していた。CMVを接種したシクラメンの花弁は、小型になったり、奇形などが見られ、BBWV

接種株で開花の遅れる傾向があったことから、重複感染での被害については更に検討する必要がある。

CMV、BBWVともにアブラムシによって高率に伝搬されることが知られている(3)(6)ことから、本症もアブラムシによって伝搬されることは容易に推察される。ワタアブラムシの自然寄生があった株に、明らかな葉の縮葉症状や一部で花弁の異常な症状が発現しており、アブラムシによるCMV伝搬は明らかであった。シクラメンにおけるBBWVのアブラムシ伝搬については明らかにすることができなかったが、CMVと同様に容易に伝搬されるものと思われる。

以上のことから、シクラメンの葉に凹凸や奇形の縮葉症状を示し、花弁が小型化したり奇形になる症状は、主としてCMVによるもので、一部BBWVの重複感染によって開花の遅延などが起るものと思われる。両ウイルスはアブラムシによって容易に伝搬されるので、15カ月以上の長期間にわたるシクラメン栽培(4)においては、特にアブラムシの防除対策を考える必要がある。

V 摘 要

シクラメンの縮葉症状とウイルス病との関係について、1982年から'85年に検討した結果、次のことが明らかになった。

1. 本症状は、葉に凹凸を生じて奇形になり、葉脈突起や葉の斑紋が乱れて白い部分が多くなり、全体に淡白色となるモザイク症状と縮葉状態になる。開花が遅れたり、花弁は小さくなり反転不良や奇形も見られ、軽いモザイクの症状が見られることがある。本症状は年によって発生量の差があるが、8月以降に多くなった。

2. これらの症状株からは、判別植物への汁液接種、電顕観察及び血清試験によってキュウリモザイクウイルス(CMV)が検出され、CMV—YとCMV—P系統の感染が確認された。一部の株では、ソラマメウィルトウイルス(BBWV)が重複感染していた。

3. CMVをシクラメン幼苗へ汁液接種した結果、葉や花弁に症状が再現された。BBWVを接種した株では、葉には明瞭な症状は現われなかったが、開花が遅れる傾向が見られた。

4. ワタアブラムシの寄生の多いシクラメンで本症状が多く見られ、CMVが検出されたことからCMVはワタアブラムシによって伝搬されている可能性がある。

5. 以上の結果から、本症状は主としてCMV感染に

よって起り、一部BBWVの重複感染によって開花の遅延などの商品価値への影響が考えられた。両ウイルスともアブラムシによって伝搬されることから、長期間にわたるシクラメンの栽培期間中には、アブラムシ防除を徹底する必要がある。

引用文献

1. HANADA, K. and TOCHIHARA (1980). Genetic analysis of cucumber mosaic, peanut stunt and chrysanthemum mild mottle viruses. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 46 (2) : 159~168.
2. 小室康雄 (1962). ブッドレア, シクラメン, ガーベラのモザイク病, *農及園* 37 (10) : 1667~1668.

3. 久保 進 (1983). キュウリモザイクウイルス植物ウイルス事典 (与良 清・斉藤康夫・土居養二・井上忠男・都丸敬一編著) P. 302-303. 朝倉書店, 東京.
4. 三浦泰昌 (1980). 鉢植シクラメンの光合成とその栽培管理における意義について *神奈川県試特報* 1 ~57.
5. 栃原比呂志・田村 実 (1976). フキのウイルス *日植病報* 42 (5) : 533~539.
6. 与良 清 (1983). ソラマメウルトウイルス植物ウイルス事典 (与良 清・斉藤康夫・土居養二・井上忠男・都丸敬一編著) P. 231~233. 朝倉書店, 東京.

Summary

Since 1983, cyclamen plants showing rugged surface on leaves, vein enations and whitish mosaic were observed in Kanagawa Prefecture. Such plants flowered later than healthy ones and produced small flowers with abnormal petals, although the occurrence of these symptoms varied from year to year. Two serologically distinct isolates of cucumber mosaic virus (CMV) and broad bean wilt virus (BBWV) were isolated from cyclamen plants with various

symptoms. Cyclamen plants inoculated with CMV showed rugged surface on leaves and small, slightly malformed flowers. However, cyclamen plants inoculated with BBWV tended to flower later, although they produced no obvious symptoms. In glasshouse, cyclamen plants infested with many aphids, mainly *Aphis gossypie*, showed rugged symptoms and were identified as plants had been infected with CMV.

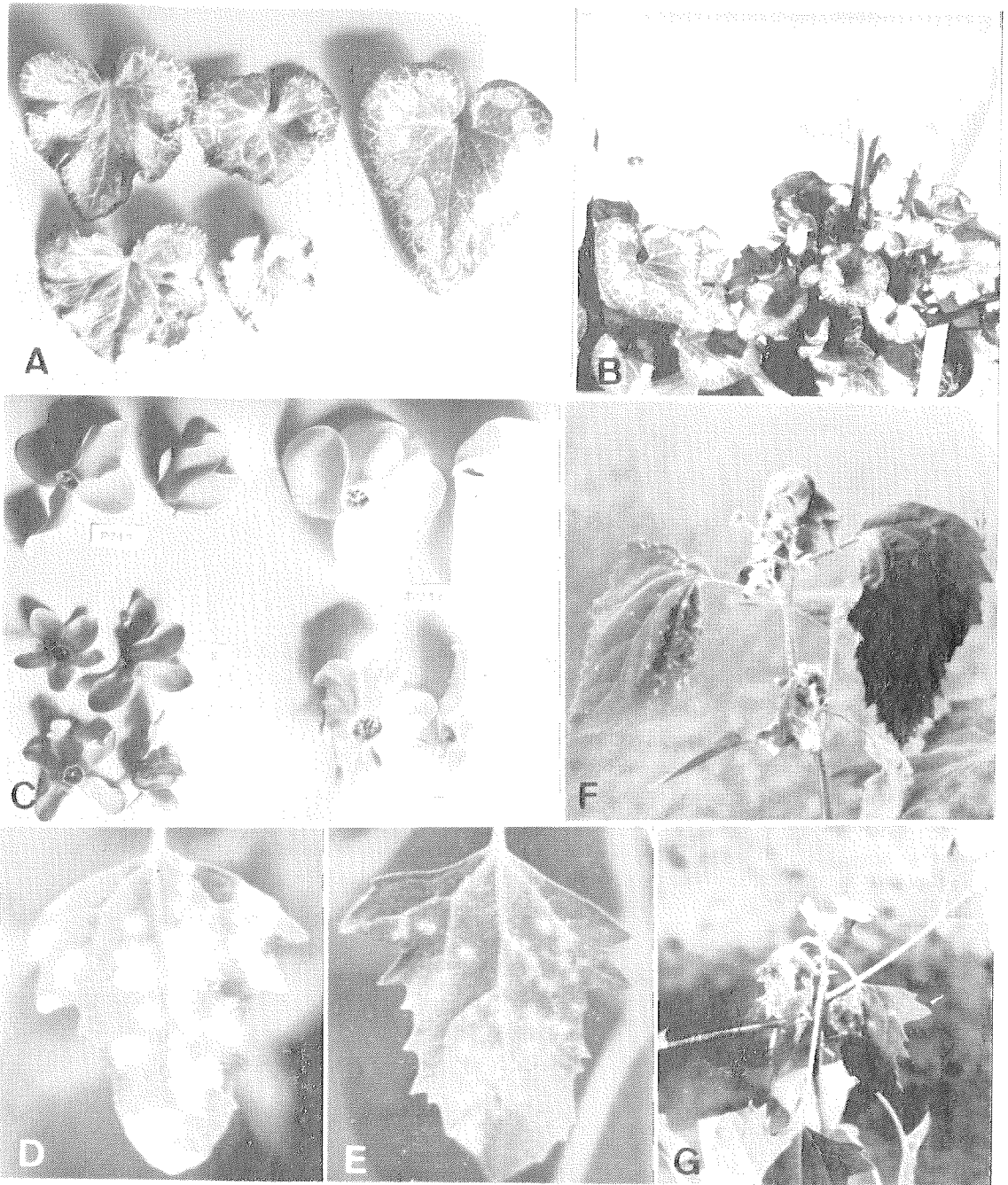


図. シクラメンの縮葉症状と判別植物での反応

- A : 縮葉症状葉 (左) と健全葉 (右) B : アブラムシ多寄生株 (右) の症状 (品種 F₁ ホワイト)
 C : アブラムシ寄生株の花の症状 (下段) (上段は健全株の花)
 D : *C. quinoa* 接種葉のCMVのえそ斑点 E : *C. quinoa* 接種葉のBBWVの退緑斑点
 F, G : BBWVによる全身感染症状 (F : *C. amaranticolor*, G : *C. quinoa*)