HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	イネ黒条萎縮病ウイルスの諸性質
Author(s)	北川, 良親; 四方, 英四郎
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 6(4), 439-445
Issue Date	1969-02-28
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/11778
Type	bulletin (article)
File Information	6(4)_p439-445.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

イネ黒条萎縮病ウイルスの諸性質

北川良親・四方英四郎
(北海道大学農学部植物学教室)

On some properties of rice black-streaked dwarf virus

Yoshichika KITAGAWA and Eishiro SHIKATA
(Department of Botany, Faculty of Agriculture,
Hokkaido University, Sapporo, Japan)

Received October 21, 1968

緒　言

栗林・新海 (1952)[18] は長野県下に発生したイネの病害を黒条萎縮病と名づけ，ヒメトビウンカ (*Laodelphax striatellus* FÄLLEN) によって媒介されることを報告しその後，新海 (1966)[31] はこの病害がサッポロトビウンカ (*Unkanodes sapporonus* MATSUMURA) によっても媒介されることを報告した。

山梨県ではトウモロコシ[15]，水稲・陸稲[16]，ムギ[17] に本病の発生が認められていたが，1957年長野・山梨県のトウモロコシ作地帯に[28]，また1967年関東東山地方一帯のイネに大発生[32] して以来，近年重要視されるに至っている。

本ウイルスに関しては，虫媒伝染[30]，品種抵抗性の検定[21~24]，組織化学的な研究[11~12]，ならびに電子顕微鏡による観察[27] が報告されているが，ウイルスの性質については全く知られていない。筆者らは虫体内注射法[4,20] を用いてイネ黒条萎縮病ウイルスの諸性質を調べ，若干の結果を得たのでここに報告する。本研究に当たり御懇得なる御指導を賜った北大農学部植物学教室村山大記教授に深く感謝する次第である。

実験材料および方法

実験に供したヒメトビウンカおよび黒条萎縮病罹病イネは農林省植物ウイルス研究所新海昭術官より譲り受けたものである。注射用ウイルス源としては接種後通常2カ月以上経過した発病イネ茎葉，もしくは罹病イネを吸汁後，18日以上経過した保毒のヒメトビウンカに0.1 M 酢酸アンモニウム，もしくはリン酸緩衝液を加えて磨砕し，搾汁後，3,000 rpm，5~10分の遠心分離をした上清を用いた。注射は炭酸ガスで麻酔した2~3齢の無毒虫にガラス毛細管を用いて解剖顕微鏡下で行なった。注射後の昆虫は，イネに接種する場合は10日間，トウモロコシに接種する場合は15日間健全イネ上で飼育した後，2~3頭の群に分けて検定植物に前者は10日間，後者は3~4日間接種した。

検定植物としてイネ (品種：雪糯) もしくはトウモロコシ (品種：ゴールデン・グロスバンタム) を供し，イネは移植後3~5日目の2~3葉期の苗を，トウモロコシは播種後5~6日目の幼植物を用いた。

実験結果

(1) 罹病イネ粗汁液中のウイルスに及ぼす緩衝液の影響

罹病イネ茎葉に4倍量の0.1 M リン酸緩衝液 (pH 6.98)，0.1 M 酢酸アンモニウム (pH 7.1)，0.05 M トリス緩衝液 (pH 7.0) および蒸溜水を加え，乳鉢で磨砕搾汁後，3,000 rpm，5分の遠心分離後上清をウイルス源とし，無虫毒に注射した。

表—1　罹病イネ粗汁液中のウィルスに及ぼす緩衝液の影響

緩衝液	注射虫数	10日目生存虫数	1株当りの接種虫数	発病植物数/接種植物数	感染率 (%)
0.1 M リン酸緩衝液	50	16	2	6/7	(85.7)
0.1 M 酢酸アンモニウム	40	18	2	7/8	(87.5)
0.05 M トリス緩衝液	50	24	2	10/12	(83.3)
蒸溜水	40	16	2	6/7	(85.7)

結果は表-1に示したごとく，3種の緩衝液並びに蒸溜水はウイルスの感染性に何ら影響がなかった。

(2) 耐保存性

(i) 罹病イネ粗汁液中でのウイルスの保存限界

罹病イネ茎葉に4倍量の0.1Mリン酸緩衝液 (pH 7.0) を加え乳鉢で磨砕搾汁後，3,000 rpm，10分の遠心分離を行ない，その上清を小試験管に入れ，4°Cの冷室に保存した。保存日数は1～7日間とし，1日ごとに保存液の一部を取り出し，3,000 rpm，10分の遠心分離を行ない，上清を無毒虫に注射して，保存限界を調べた。結果は表-2に示した通りである。

この結果，4°Cで保存した場合，罹病イネ粗汁液中のウイルスは6日目まで活性があったが，7日目には活性は認められなかった。

表—2　罹病イネ粗汁液中でのウィルスの保存限界 (4°C)

保存日数 (4°C)	注射虫数	15日目生存虫数	1株当りの接種虫数	発病植物数/接種植物数	感染率 (%)
搾汁直後	40	25 (16)*	2	8/8	(100)
1日	40	36 (16)	2	7/8	(87.5)
2日	40	33 (16)	2	5/8	(62.5)
3日	40	25 (16)	2	5/8	(62.5)
4日	40	26 (16)	2	5/8	(62.5)
5日	40	35 (16)	2	2/8	(25.0)
6日	40	26 (16)	2	2/8	(25.0)
7日	40	16 (16)	2	0/8	(0)

*　カッコ内の数字は接種に供した虫数を示す。

(ii) 保毒虫汁液中でのウイルスの保存限界

保毒虫0.035 g (25頭) に20倍量の0.1M酢酸アンモニウムを加え，テフロン製ホモジナイザーで磨砕後，3,000 rpm，5分の遠心分離を行ない，その上清を小試験管に入れ，4°Cの冷室に保存した。保存日数は1～6日間とし，1日ごとに保存液の一部を無毒虫に注射した。

この結果 表-3 に示したごとく保毒虫汁液中のウイルスは6日目においても未だ活性があった。

表—3　保毒虫汁液中でのウィルスの保存限界 (4°C)

保存日数 (4°C)	注射虫数	10日目生存虫数	1株当りの接種虫数	発病植物数/接種植物数	感染率 (%)
搾汁直後	60	12	2	6/6	(100)
1日	60	18	2	8/9	(88.9)
2日	60	9	2	5/5	(100)
3日	60	32	2	14/16	(87.5)
4日	60	34	2	15/16	(93.8)
5日	60	28	2	13/14	(92.9)
6日	60	26	2	13/13	(100)

(iii) 凍結葉中でのウイルスの保存限界

罹病イネ茎葉を1gずつ小分けにして，−30～−35°Cの冷凍室に保存し，凍結後，18, 65, 90, 232日目に一部を取り出し，4倍量の0.1M酢酸アンモニウムを加え乳鉢で磨砕搾汁後，3,000 rpm，10分の遠心分離を行ない，上清を無毒虫に注射した。結果 表-4 に示した。

表—4　凍結葉中でのウィルスの保存限界

凍結保存日数	注射虫数	15日目生存虫数	1株当りの接種虫数	発病植物数/接種植物数	感染率 (%)
18日	40	24	3	4/8	(50)
65日	40	21	3	2/7	(28.6)
90日	40	27	3	4/9	(44.4)
232日	40	27	3	2/9	(22.2)

この結果，凍結保存後232日目においてもウイルスは22.2%の活性があることが解った。

(3) 耐稀釈性

(i) 罹病イネ粗汁液中のウイルスの稀釈限界

罹病イネ茎葉に9倍量の0.1M酢酸アンモニウムを加え乳鉢で磨砕し搾汁後，3,000 rpm，5分の遠心分離を行ない，その上清を10倍稀釈液として，順次10^2, 10^3, 10^4, 10^5倍に0.1M酢酸アンモニウムで稀釈した後，無毒虫に注射した。結果は表-5に示した。

表—5　罹病イネ粗汁液中のウィルスの稀釈限界

稀釈度	注射虫数	15日目生存虫数	1株当りの接種虫数	発病植物数/接種植物数	感染率 (%)
10^1	40	26	2	12/13	(92.3)
10^2	40	32	2	11/16	(68.8)
10^3	40	32	2	2/16	(12.5)
10^4	40	32	2	3/16	(18.8)
10^5	40	30	2	5/15	(0)

この結果，10^4倍稀釈では18.8%のウィルス活性があったが，10^5倍稀釈では全く活性は認められなかった。

(ii) 保毒虫汁液中のウイルスの稀釈限界

保毒虫0.02 gに99倍量の0.1 M酢酸アンモニウム加え，テフロン製ホモジナイザーで磨砕し，3,000 rpm，20分の遠心分離を行ない，その上清を100倍稀釈液として順次10^3, 10^4, 10^5, 10^6倍に0.1 M酢酸アンモニウムで稀釈した後，無毒虫に注射した。

表—6 保毒虫汁液中のウィルスの稀釈限界

稀釈度	注射虫数	15日目生存虫数	1株当りの接種虫数	発病植物数/接種植物数	感染率(%)
10^2	40	18	3	6/6	(100)
10^3	40	14	3	5/5	(100)
10^4	40	20	3	5/7	(71.4)
10^5	40	15	3	1/5	(20)
10^6	40	21	3	0/7	(0)

結果は表-6に示したごとく，10^5倍稀釈で20%のウイルス活性があったが，10^6倍稀釈では活性は失なわれた。

(4) 耐熱性

罹病イネ茎葉に4倍量の0.1 M酢酸アンモニウムを加え，乳鉢で磨砕し搾汁後，3,000 rpm，5分の遠心分離を行ない，その上清を外径0.8 cm，内径0.7 cm，長さ8.3 cmのガラス細管に充塡し，両端をゴム栓で密閉し，40, 50, 60, 70°Cの各温水中に10分間浸漬した後，直に，水道水で冷却し，無毒虫に注射した。対照として，無処理の汁液を注射した。結果は表-7に示した通りである。

表—7 罹病イネ粗汁液中のウィルスの耐熱限界

処理温度	注射虫数	15日目生存虫数	1株当りの接種虫数	発病植物数/接種植物数	感染率(%)
無処理	50	27	3	7/9	(77.8)
40°C	50	33	3	10/11	(90.9)
50°C	50	33	3	4/11	(36.4)
60°C	50	30	3	0/10	(0)
70°C	50	6	3	0/2	(0)

この結果，50°Cで著しく活性を減じ，60°Cで全くウイルス汁液の感染性は消失した。

(5) 凍結融解の影響

罹病イネ茎葉に4倍量の0.1 Mリン酸緩衝液を加えて磨砕し搾汁後，3,000 rpm，10分の遠心分離を行ない，その上清を小試験管3本に分注し，−20°Cに凍結保存した。1日間隔で一旦3本を取り出し融解させ，その内の1本は3,000 rpm，10分の遠心分離を行ない上清を無毒虫に注射し，残りを再び−20°Cに凍結保存した。この操作を3日間繰返した。結果は表-8に示した。

表—8 罹病イネ粗汁液中のウィルスに対する凍結・融解の影響

凍結・融解の回数	注射虫数	15日目生存虫数	1株当りの接種虫数	発病植物数/接種植物数	感染率(%)
1 回	40	15	3	4/5	(80)
2 回	40	26	3	8/9	(88.9)
3 回	40	29	3	10/10	(100)

この結果，凍結・融解を3回繰返し行なってもウイルスの活性に変化がなかった。

(6) 水素イオン濃度の影響

緩衝液のpHを種々変えて抽出を行なった場合のウイルスの活性の変化について調べた。0.1 M酢酸アンモニウムに25%アンモニア水もしくは1 N氷酢酸を加えてpHを5, 6, 7, 8, 9とした。各々のpHを有する酢酸アンモニウム液を罹病イネ茎葉に4倍量加えて乳鉢で磨砕し搾汁後，3,000 rpm，5分の遠心分離を行ない，上清を無毒虫に注射した。結果は表-9に示した。

表—9 罹病イネ粗汁液中のウィルスに対するpHの影響

緩衝液のpH	注射虫数	15日目生存虫数	1株当りの接種虫数	発病植物数/接種植物数	感染率(%)
5	60	30	2	8/15	(53.3)
6	60	24	2	12/12	(100)
7	60	8	2	4/4	(100)
8	60	28	2	13/14	(92.9)
9	60	30	2	15/15	(100)

この結果，pH 5の酢酸アンモニウムで抽出後，遠心分離した上清のウイルス活性は約53%に減じたが，pH 6〜9の間では高い感染性を示した。

(7) EDTA および Sodium deoxycholate の影響

罹病イネ茎葉に0.01 Mおよび0.001 M EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) 並びに0.1%および0.01% Sodium deoxycholateを含む0.1 M酢酸アンモニウムを4倍量加えて乳鉢で磨砕し搾汁後，3,000 rpm，5分の遠心分離を行ない，その上清を無毒虫に注射した。対照

表—10　罹病イネ粗汁液中のウィルスに対する EDTA および Sodium deoxycholate の影響

処理薬剤	濃度	注射虫数	10日目生存虫数	1株当りの接種虫数	発病植物数/接種植物数	感染率(%)
EDTA	0.01 M	50	16	2	8/8	(100)
	0.001 M	50	22	2	10/11	(90.9)
Sodium deoxycholate	0.1%	50	20	2	9/10	(90.0)
	0.01%	50	26	2	8/13	(61.5)
対照		50	29	2	12/14	(85.7)

として，0.1 M 酢酸アンモニウムのみで抽出した罹病イネ粗汁液を用いた。結果は表-10 に示した通りである。

この結果から，EDTA および Sodium deoxycholate のいずれも濃度の如何にかかわらずウイルスの感染性に余り影響はないものと思われる。

(8) クロロホルムあるいはクロロホルム：ブタノールの影響

(i) クロロホルムの影響

罹病イネ茎葉に4倍量の 0.1 M リン酸緩衝液を加え乳鉢で磨砕し搾汁後，3,000 rpm，10分の遠心分離を行ない，その上清に 5, 10, 20, 30% になるようにクロロホルムを加えホモジナイザーで3分間攪拌した後，3,000 rpm 20分の遠心分離を行ない，上清を無毒虫に注射した。結果は表-11 に示した。

表—11　罹病イネ粗汁液中のウィルスに対するクロロホルムの影響

クロロホルム処理濃度	注射虫数	15日目生存虫数	1株当りの接種虫数	発病植物数/接種植物数	感染率(%)
無処理	40	18	2	8/9	(88.9)
5%	40	22	2	1/11	(9.1)
10%	40	22	2	0/11	(0)
20%	40	20	2	0/10	(0)
30%	40	20	2	1/11	(9.1)

この結果，5% および 30% クロロホルム処理では若干のウイルス活性が認められたが，10% および 20 % クロロホルム処理では全くウイルスの活性が失なわれることが解った。

(ii) クロロホルム：ブタノール (1：1) の影響

前実験と同様にして，クロロホルムと n-ブタノールの混合液 (1：1) の 10% および 20% 処理によるウイルス活性の変化を調べた。結果は表-12 に示した。

表—12　罹病イネ粗汁液中のウィルスに対するクロロホルム：n-ブタノールの影響

クロロホルム：n-ブタノール処理濃度	注射虫数	15日目生存虫数	1株当りの接種虫数	発病植物数/接種植物数	感染率(%)
無処理	40	21	3	6/7	(85.7)
10%	40	24	3	0/8	(0)
20%	40	24	3	0/8	(0)

表-12 に示したごとく，クロロホルムと n-ブタノールの混合液処理によりウイルスの活性は全く消失した。

(9) フロロカーボンの影響

罹病イネ茎葉に4倍量の 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) を加えて乳鉢で磨砕し搾汁後，3,000 rpm，10分の遠心分離を行ない，その上清にフロロカーボン (Difron S-3；Trifluoro trichloro ethane) を 5, 10, 20% となるように加え，ホモジナイザーで3分間攪拌した後，3,000 rpm, 20分の遠心分離を行ない，上清を無毒虫に注射した。結果は表-13 に示した通りである。

表—13　罹病イネ粗汁液中のウィルスに対するフロロカーボンの影響

フロロカーボン処理濃度	注射虫数	15日目生存虫数	1株当りの接種虫数	発病植物数/接種植物数	感染率(%)
無処理	40	12	2	3/6	(50)
5%	40	18	2	9/9	(100)
10%	45	26	2	11/13	(84.6)
20%	45	16	2	8/8	(100)

この結果から，20% フロロカーボン処理した場合でもウイルスは高い活性を保持し影響がないことが解った。

(10) 四塩化炭素の影響

罹病イネ茎葉に4倍量の 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) を加えて乳鉢で磨砕し搾汁後，3,000 rpm，10分の遠心

表—14　罹病イネ粗汁液中のウィルスに対する四塩化炭素の影響

四塩化炭素処理濃度	注射虫数	15日目生存虫数	1株当りの接種虫数	発病植物数/接種植物数	感染率(%)
無処理	40	30	3	10/10	(100)
5%	40	12	3	1/4	(20)
10%	40	21	3	6/7	(85.7)
20%	40	27	3	7/9	(77.8)
40%	40	23	3	7/8	(87.5)

分離を行ない，その上清に四塩化炭素を5, 10, 20, 40%となるように加え，ホモジナイザーで3分間攪拌した後3,000 rpm，20分の遠心分離を行ない，上清を無毒虫に注射した。結果は表-14に示した。

表-14に示したごとく，四塩化炭素処理によりウイルスはほとんど影響を受けず，40%の四塩化炭素処理でも高いの感染性を示した。

(11) 活性炭の影響

(i) 遠心分離で活性炭を除去した場合

罹病イネ茎葉に4倍量の0.1 Mリン酸緩衝液 (pH 7.0) を加えて乳鉢で磨砕し搾汁後，3,000 rpm，10分の遠心分離を行ない，その上清10 mℓに対し0.5, 1, 2 gの活性炭を加え，マグネチックスターラーで緩かに10分間攪拌後，3,000 rpm，20分の遠心分離を行なって活性炭を除き，上清を無毒虫に注射した。結果は表-15に示した通りである。

表—15　罹病イネ粗汁液中のウィルスに対する活性炭の影響—遠心分離で活性炭を除去した場合—

活性炭(g)/粗汁液(mℓ)	注射虫数	15日目生存虫数	1株当りの接種虫数	発病植物数/接種植物数	感染率(%)
無処理	40	24	3	8/8	(100)
0.5 g/10 mℓ	40	27	3	9/9	(100)
1 g/10 mℓ	40	20	3	6/7	(85.7)
2 g/10 mℓ	40	30	3	9/10	(90)

この結果によると，粗汁液10 mℓ当り2 gの活性炭処理でも高いウイルス活性が認められた。

(ii) 濾紙で濾過して活性炭を除いた場合

前実験と同様にして活性炭処理後，濾紙で濾過し，濾液をウイルス源として無毒虫に注射した。結果は表-16に示した。

表—16　罹病イネ粗汁液中のウィルスに対する活性炭の影響—濾過して活性炭を除去した場合—

活性炭(g)/粗汁液(mℓ)	注射虫数	15日目生存虫数	1株当りの接種虫数	発病植物数/接種植物数	感染率(%)
無処理	40	13	3	5/5	(100)
0.5 g/10 mℓ	40	35	3	9/9	(100)
1 g/10 mℓ	40	34	3	11/11	(100)
2 g/10 mℓ	40	27	3	9/9	(100)

この結果，前実験と同様に粗汁液10 mℓ当り2 gの活性炭を処理しても高い感染性が得られ，活性炭を除去する方法が異なっても感染性に差は認められなかった。

論議および結論

イネ黒条萎縮病ウイルスが虫体内刺突法でヒメトビウンカに感染することは新海 (1960)[29] によって示唆されている。本ウイルスの虫体内注射法による感染の有無については明確な報告はなく，筆者らは予備実験を行なって罹病イネ粗汁液および保毒虫汁液を健全のヒメトビウンカに注射すると高率に保毒虫を生ずることを確め，この方法を用いてウイルスの性質を明らかにする実験を行なった。

イネ萎縮病ウイルス[14]およびムギ北地モザイク病ウイルス[19]がリン酸緩衝液およびトリス緩衝液中で不安定であるに比べ，罹病イネ茎葉から本ウイルスを0.1 Mリン酸緩衝液，0.1 M酢酸アンモニウム，0.05 Mトリス緩衝液および蒸溜水のいずれで抽出を行なってもウイルスは高い活性を保持し，極めて安定である。

本ウイルスの物理的性質をイネ萎縮病ウイルス[13]，ムギ北地モザイク病ウイルス[19]およびpotato yellow dwarf virus[3,5]と比較した場合，植物および媒介昆虫汁液中の0～4°Cにおける保存限界および稀釈限界，ならびに植物汁液中での耐熱限界がいずれもこれらのウイルスよりも高かった。また，媒介昆虫汁液中の本ウイルスの稀釈限界は植物汁液中のそれよりも高かった。これと同様の結果はイネ萎縮病ウイルス[13]やムギ北地モザイク病ウイルス[25]において報告されている。凍結葉中でのウイルスの活性は232日目でもあまり変化がなく，イネ萎縮縮病ウイルス[13]およびムギ北地モザイク病ウイルス[25]に近く，7カ月目で活性が失なわれるpotato yellow dwarf virus[5]よりは安定である。

pHのウイルスに対する影響はpotato yellow dwarf

virus[5]と類似しており，pH 6～9のアルカリ側においても安定なウイルスである。しかし，この実験では緩衝液のpHを7に修正しなかったので，pH 5のリン酸緩衝液で抽出した場合のウイルス活性の低下は必らずしもpHの影響ばかりではなく，ウイルスの一部が酸性側で沈澱した場合も考えられるのでpH試験についてはさらに検討が必要である。

本ウイルスはクロロホルムあるいはクロロホルム：n-ブタノール (1：1) 処理により活性が失なわれるが，このような例はムギ北地モザイク病ウイルス[19]やLettuce necrotic yellows virus[6]などでも報告されているが，これらのウイルスはいずれもbacilliformの大型ウイルスである。本ウイルスは電子顕微鏡学的研究で球形ウイルスと推定されており[27]，同じ球形ウイルスであるイネ萎縮病ウイルスとは異なった性状のウイルスと考えられる。

フロロカーボン[6,7,9,10,26]および四塩化炭素[1,2,33,34]を用いてウイルスの精製が行なわれた報告があるが，本ウイルスもフロロカーボンおよび四塩化炭素の影響はほとんど受けないようである。

活性炭処理後，遠心分離あるいは濾過法で活性炭を除去した場合，いずれも高い活性が認められ両者の方法ともあまり差はなかった。CÁLVEG (1964)[8]が報告した植物ウイルスと活性炭処理の関係の結果から，本ウイルスも球形粒子と考えられ，電子顕微鏡観察にもとずく四方ら[27]の見解と合致する。

摘　要

1) イネ黒条萎縮病ウイルスの諸性質を虫体内注射法を用いで調べた。

2) 本ウイルスの耐熱限界は50～60°Cの間にある。

3) 保存限界は罹病イネ粗汁液中 (4°C) で6日間，保毒虫汁液中 (4°C) で6日以上であり，凍結葉 (−30～35°C) では232日目においてもウイルスは活性を保持した。

4) 稀釈限界は罹病イネ粗汁液では10^{-4}～10^{-5}の間に，保毒虫汁液では10^{-5}～10^{-6}の間にある。

5) 凍結・融解を3回繰返し行なってもウイルス活性は低下しなかった。

6) リン酸緩衝液 (pH 6.98)，酢酸アンモニウム液 (pH 7.1)，トリス緩衝液 (pH 7.0) および蒸溜水のいずれで抽出してもウイルスは高い活性を維持した。

7) pH 6～9の間では本ウイルスは極めて安定である。

8) クロロホルムあるいはクロロホルム：n-ブタノール処理により，本ウイルスはほとんど活性を失なった。

9) EDTA, Sodium deoxycholate, フロロカーボン，四塩化炭素および活性炭はウイルスに何ら影響を与えなかった。

文　献

1) BAILEY, L., GIBBS, A. J. and WOODS, R. D. (1964): Two viruses from adult honey bees (*Apis mellifera* LINNAEUS). Virology 21: 390–395.

2) BAILEY, L., GIBBS, A. J. and WOODS, R. D. (1964): Sacbrood virus of the larval honey bee (*Apis mellifera* LINNAEUS). Virology 23: 425–429.

3) BLACK, L. M. (1938): Properties of the potato yellow-dwarf virus. Phytopath. 28: 863–874.

4) BLACK, L. M. (1940): Mechanical transmission of aster yellows virus to leafhopper. Phytopath. 30: 2–3.

5) BLACK, L. M. (1951): Further studies on the properties of potato yellow-dwarf virus. Phytopath. 41: 213–220.

6) CROWEY, N. C., HARRISON, B. D. and FRANCKI, R. I. B. (1965): Partial purification of lettuce necrotic yellows virus. Virology 26: 290–296.

7) EPSTEIN, M. A. (1958): An investigation into the purifying effect of a fluorocarbon on vaccinia virus. Brit. J. Expel. path. 39: 436–446.

8) GÁLVEZ, G. E. (1964): Loss of virus by filtration through charcoal. Virology 23: 307–312.

9) GESSLER, A. E., BENDER, C. E. and PARKINSON, M. C. (1956): A new and rapid method for isolating viruses by selectice fluorocarbon deproteiniziation. Trans. N. Y. Acad. Sci. 18: 701–703.

10) GESSLER, A. E., BENDER, C. E. and PARKINSON, M. C. (1956): Animal viruses isolated by fluorocarbon emulsification. Trans. N. Y. Acad. Sci. 18: 707–716.

11) 柏木弥太郎・佐々木成則・平井篤造 (1964)：イネ黒条萎縮病稲の細胞の変異と封入体の染色性．日植病報，29：270.

12) 柏木弥太郎 (1966)：イネくろすじ萎縮病罹病イネの細胞の異常と封入体の染色性．日植病報，32：168–170.

13) 木村郁夫・福士貞吉 (1960)：イネ萎縮病ウィルスに関する研究．日植病報，35：131–135.

14) 児玉忠士・木村郁夫・次田　皓・鈴木直治 (1966)：イネ萎縮病ウィルスの純化標品の均質性と安定性．日植病報，32：86.

15) 小林政明・小尾充雄 (1965)： 山梨県に発生したとうもろこし萎縮病. 農業技術, 11： 175–176.
16) 小尾充雄・小管喜久弥 (1956)： 黒条萎縮病山梨県に発生. 植物防疫, 10： 249.
17) 小管喜久弥・小尾 仁 (1957)： 麦に発生した黒条萎縮病. 日植病報, 22： 40–41.
18) 栗林数衛・新海 昭 (1952)： 稲の新病害黒條萎縮病について. 日植病報, 16： 41.
19) 盧 耀村・四方英四郎・村山大記 (1967)： ムギ北地モザイク病ウィルスの分離. 北大農邦文紀要, 6： 1–5.
20) MARAMOROSCH, K., BRAKKE, M. K. and BLACK, L. M. (1949)： Mechanical transmission of a plant tumor virus to an insect vector. Science 110： 162–163.
21) 守中 正・桜井義郎 (1965)： イネくろすじ萎縮病に対するイネの抵抗性の品種間差異. 日植病報, 30： 299.
22) 守中 正・桜井義郎 (1966)： イネくろすじ萎縮病の幼苗接種の諸条件. 日植病報, 32： 325.
23) 守中 正・桜井義郎 (1966)： イネくろすじ萎縮病の幼苗接種による抵抗性の品種間差異. 日植病報, 32： 89–90.
24) 守中 正・桜井義郎 (1967)： イネくろすじ萎縮病による減収率と幼苗発病指数との関係. 日植病報, 33： 108.
25) MURAYAMA, D. and Yau Tune LU. (1967)： Some physical properties of northern serial mosaic virus. J. Fac. Agr. Hakkaido Univ. 55： 182–190.
26) PORTERFIELD, J. S. and ROWE, C. E. (1960)： Hemagglutination with arthropod-bone viruses and its inhibition by certain phospholipisd. Virology 11： 765–770.
27) 四方英四郎・盧 耀村・松本 勤・山田堅一郎 (1967)： イネ黒条萎縮病ウィルスの電子顕微鏡学的研究. 日植病報, 33： 96.
28) 新海 昭 (1957)： 黒条萎縮病, トウモロコシに大発生. 植物防疫, 11： 425.
29) 新海 昭 (1960)： IV. イネ黒条萎縮病. 日高・平井・村山・興良編, 植物ウィルス病 —実験と種類— p. 259–263.
30) 新海 昭 (1962)： 稲ウィルス病の虫媒伝染に関する研究. VI. 稲黒条萎縮病の虫媒伝染. 農技研報, C 14： 77–92.
31) 新海 昭 (1966)： サッポロトビウンカによるイネ黒条萎縮病, 縞葉枯病及びムギ北地モザイク病ウィルスの媒介. 日植病報, 32： 317.
32) 新海 昭 (1968)： 昭和42年, 関東東山地方に大発生した縞葉枯病とくろすじ萎縮病. 植物防疫, 22： 165–166.
33) 末次哲雄・松濤美文 (1968)： Hipplastrum mosaic virus (HMV) 抗血清のミクロ凝集反応法による診断. 横浜防疫ニュース第325号.
34) WETTER, C. (1960)： Partielle Reinigung einiger gestrecker Planzenviren und ihre Verwendung als Antigene bei der Immunisierung mittels Freundschen Adjuvans. Arch. Mikrobiol. 37： 278–292.

Summary

This paper reports the result of the experiments on the physical and chemical properties of rice black streaked-dwarf virus (RBSV) by injecting the virus preparations into healthy planthoppers (*Laodelphax striatellus* FÄLLEN).

The thermal inactivation point of the virus in expressed sap of diseased rice plants was between 50 and 60°C for 10 minutes. When the extracts of viruliferous insects and infected rice plants were kept at 4°C, the virus survived for 6 days. High infectivity of the virus in the extracts was recovered after 232 days when the diseased plant tissues were stored at −30° to −35°C. The dilution end point was between 10^{-4} and 10^{-5} in the diseased plant juice, and between 10^{-5} and 10^{-6} in the viruliferous insect extract. The infectivity of the virus was not affected after three times of freeze-thawing.

RBSV was stable when the diseased rice plants were expressed in the solutions of phosphate buffer at pH 6.98, ammonium sulfate at pH 7.1, tris buffer at pH 7.0, distilled water, and in the extracts adjusted at pH 6 to 9. The virus lost its infectivity when the diseased plant juice was treated with chloroform or chloroform : n-butanol mixture (1 : 1), but not affected by the treatment with EDTA, sodium deoxycholate, fluorocarbon (Difron S-3), carbon tetrachloride or charcoal.