HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	オオムギ斑葉モザイク病罹病植物におけるウイルスの検出
Author(s)	村山, 大記; 横山, 竜夫
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 5(3), 156-159
Issue Date	1965-10-08
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/11745
Type	departmental bulletin paper
File Information	5(3)_p156-159.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

オオムギ斑葉モザイク病罹病植物におけるウイルスの検出

村山大記・横山竜夫
(北大農学部植物学教室)

Detection of barley stripe mosaic virus in the systemically diseased barley plants

By
DAIKI MURAYAMA and TATSUO YOKOYAMA
(Laboratory of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Hokkaido University)

I. 緒　　言

オオムギ斑葉モザイクウイルス (BSMV) の増殖に関する報告は KASSANIS ら[5] によりすでになされている。すなわち，接種葉中でのウイルス増殖は，オオムギを用いた場合に5日以内に最も急速に見られ，10日で最高濃度に達し，感染性の終末点は 1/2,048，沈降反応終末点は 1/256，その時のウイルス粒子数は 10^{13}/mℓ であるということである。

我々は三葉期のオオムギ (モラヒア) を用い，罹病株中のウイルス増殖に関して，最初の検出時期，最高濃度，抗原性と感染性との関係などの点について実験を行ない，若干の結果を得たのでここに報告する。

II. 材料と方法

実験に用いたオオムギおよび供試ウイルスならびに抗血清は既報[10] の通りであり，三葉期の第一本葉にカーボランダム法で接種した。接種後，接種葉を水洗した。のち，経日的に各実験区とも 50 gr ずつの接種葉を除いた茎葉を地際部から切り取って集め，M/30 りん酸緩衝液 (pH 7.0) を加えて磨砕・搾汁して各々 50 mℓ の汁液を得た。分画遠心法[10] で部分純化し，最後の高速沈澱を前と同じ緩衝液中に再懸濁させて 50 mℓ のウイルス液とし，これを基にして2倍階段稀釈して一部を接種試験による感染性の検定に，一部を血清反応による抗原性の検定に用いた。血清反応は沈降反応混合法により，接種は健全オ

第1表　BSMV 接種後のオオムギ茎葉中の感染性の増加

接種後の日数	ウイルス希釈 1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096	1/8192
1	0/13*	0/10	0/12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	0/12	0/14	0/13	0/10	0/11	0/7	0/6	—	—	—	—	—	—	—
3	0/10	0/10	0/10	0/14	0/12	0/10	0/12	0/10	—	—	—	—	—	—
4**	6/10	9/10	10/10	10/10	10/10	10/10	5/10	0/11	1/10	0/10	—	—	—	—
5	10/10	10/10	10/10	11/11	10/10	10/10	10/10	10/11	8/10	7/12	1/10	1/12	—	—
6	9/10	11/11	11/11	11/11	9/10	10/10	10/10	11/11	11/11	6/11	4/11	2/10	0/10	—
8	12/12	10/10	9/9	12/12	10/10	9/10	11/11	5/10	8/10	3/9	4/10	1/9	0/9	0/7
10	10/10	11/11	10/10	12/12	10/10	13/13	9/10	10/12	8/11	0/12	2/11	0/12	0/11	0/9
12	12/12	10/10	10/10	11/11	13/13	14/14	14/14	7/13	3/10	2/12	2/10	0/11	0/11	0/11
14	7/11	11/12	10/10	10/12	11/12	10/12	6/11	6/10	2/12	1/12	0/12	0/12	0/12	0/12
16	10/11	12/12	12/12	11/11	12/12	9/11	9/10	5/13	4/12	2/12	1/12	0/11	0/12	0/12

* 分母：接種植物数　　分子：発病植物数 (以下同じ)
** 病徴発現

第2表　BSMV 接種後のオオムギ茎葉中の抗原性の増加および紫外部吸収

接種後の日数	抗原希釈* 1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	対照	紫外部吸収 OD_{260}	OD_{280}
1	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	.015	.010
2	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	.010	.000
3	±	−	−	−	−	−	−	−	−	−	.005	.000
4	+	+	+	±	−	−	−	−	−	−	.020	.015
5	++	++	+	+	+	+	±	−	−	−	.035	.030
6	++	++	++	+	+	+	±	−	−	−	.055	.045
8	++	++	++	+	+	+	±	−	−	−	.090	.080
10	++	++	++	+	+	+	+	±	−	−	.100	.090
12	++	++	++	++	+	+	+	±	−	−	.105	.095
14	++	++	++	++	++	+	+	+	±	−	.170	.155
16	++	++	++	++	++	+	+	+	±	−	.130	.125

*　反応は抗血清稀釈 16 倍に対するもの（以下同じ）

オムギを用いて行ない発病株数の調査によりそれぞれ行なった。さらにウイルス液の一部を用いて 260 mμ と 280 mμ における OD の測定を行なった。

III. 実験結果

8月7日～8月23日と8月14日～9月2日の2回にわけて同じ実験を繰り返した。

実験第 1

8月7日から毎日6日間，以後は2日間隔で接種後16日目まで実験を行なった。結果は第1表と第2表に示した。

接種後4日目に全株が一斉に発病を示し，同時にウイルス稀釈 1/256 までに感染性が，1/4 までに抗原性がともに認められるようになった。感染性は5日目に最大に達し，6日をすぎるとわずかに減少が見られたが，抗原性は5日まで急速に上昇したのち，以後もわずかながら増加が続いた。

実験第 2

第3表　BSMV 接種後のオオムギ茎葉中の感染性の増加

接種後の日数	ウイルス希釈 1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096	1/8192	1/16394
1	0/11	0/11	0/12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	0/10	0/14	0/10	0/13	0/10	0/10	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3*	5/10	5/10	4/10	1/11	1/11	0/10	0/10	0/12	0/12	0/11	—	—	—	—	—
4	10/11	12/12	13/13	9/9	12/12	10/10	9/11	7/11	3/10	2/11	0/11	0/13	—	—	—
5	12/12	9/11	10/11	10/10	10/10	10/10	5/13	6/10	3/12	2/11	0/12	0/12	—	—	—
6	9/11	13/13	13/13	14/14	15/15	11/13	10/11	10/13	8/12	4/12	2/12	2/10	0/10	—	—
8	11/11	10/10	11/11	11/11	12/12	17/17	10/10	8/10	5/10	4/10	1/10	0/12	1/12	0/12	—
10	10/11	10/10	11/12	10/12	10/10	10/10	12/12	9/10	9/12	3/12	1/12	0/12	0/12	0/12	—
12	12/12	10/10	10/10	12/12	11/11	11/11	12/12	12/12	9/12	6/10	1/11	3/10	1/11	1/11	—
14	6/10	10/10	8/8	9/10	10/10	10/10	10/12	10/12	4/10	2/10	0/12	0/12	1/12	0/12	0/14
16	13/13	12/12	10/10	11/11	13/13	10/10	11/11	13/15	4/10	7/14	1/12	0/14	0/13	0/10	—
18	16/18	12/12	10/10	19/19	9/13	8/10	12/16	9/15	2/16	6/15	2/15	2/15	0/15	0/15	—
20	11/12	10/10	10/10	10/10	10/10	10/12	7/10	6/10	4/10	3/12	4/10	0/10	0/12	0/12	—

*　病徴発現

第4表 BSMV 接種後のオオムギ茎葉中の抗原性の増加および紫外部吸収

接種後の日数	抗原希釈 1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	対照	紫外部吸収 OD_{260}	OD_{280}
1	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	.070	.050
2	±	−	−	−	−	−	−	−	−	−	.040	.035
3	+	+	+	±	−	−	−	−	−	−	.035	.030
4	++	+	+	+	±	−	−	−	−	−	.150	.115
5	++	++	+	+	+	±	−	−	−	−	.175	.125
6	++	++	++	++	+	+	±	−	−	−	.230	.210
8	++	++	++	++	+	+	+	±	−	−	.180	.175
10	++	++	++	++	+	+	+	±	−	−	.215	.200
12	++	++	++	++	+	+	+	±	−	−	.270	.225
14	++	++	++	++	+	+	±	−	−	−	.120	.110
16	+++	++	++	++	+	+	+	±	−	−	.280	.225
18	+++	+++	++	++	+	+	+	±	−	−	.310	.260

8月14日から毎日6日間，以後は20日目まで隔日に実験を行なった。結果は第3表，第4表に示した。

接種後3日目には全株が病徴を現わしたが，この時になってウイルス稀釈1/16までに感染性が，1/4までに抗原性が見られた。抗原性は8日目までほぼ直線的に増加して最大に達し，その後は平衡を保った。一方感染性は4, 5日目までは急速に増加し，その後もわずかに増加が見られて12日目に最大に達したが，以後は減少が認められた。

IV. 考　　察

BSMV を接種したオオムギ中でのウイルス増殖についての実験結果から KASSANIS and SLYKHUIS[5] は接種葉中のウイルス量は接種後2日で汁液希釈1/2, 3日で1/64, さらに5日では1/256と急速に増加し，その後徐々に増加して9日後には1/2,048となり最高を示すことを報告した。また血清反応による抗原性の増加は接種後3日ではじめて認められ，4日で1/32, 5日で1/64となり，9日後には1/256となって最高を示した。このように抗原性は感染性より1日遅れて検出され，また感染性よりもやや低い検出結果であったが，接種後15日後までは両者の増加はほぼ同じ傾向であった。感染性の終末点と抗原性の終末点は，他の多くのウイルスでは100倍以上の差があるのに対し，BSMV ではこれが近接しており，broad bean mottle virus の性質に似ていると云われている[1,5]。

接種葉を除いた感染株中のウイルス濃度の増加についてオオムギ（品種モラビア）で実験した結果，接種後3日目，時には4日目に感染性と抗原性が同時に認められるようになり，8〜12日目ごろまで増加が見られて最高に達したが，その後はむしろ感染性に低下が認められた。これは植物の伸長に伴なう希釈作用によるウイルス濃度の低下が考えられるが，抗原性が14日以後でも平衡を保ち，時には増加が見られることから，感染性のみが低下するものとも考えられる。我々の実験結果からはこの原因について論ずることはできないが，ウイルス増殖過程におけるこのような抗原性を下廻る感染性の低下の問題は興味深いことであり，同様の現象が broad bean mottle virus[1,6,7], tobacco necrosis virus[2], tomato bushy stunt virus[4], alfalfa mosaic virus[8,11] および turnip yellow mosaic virus[9] などにおいても認められている。しかし tobacco mosaic virus[3] においてはこのような感染性の低下は認められないということである。

V. 摘　　要

1. BSMV を接種したオオムギ（モラビア）の接種葉を除く茎葉中でのウイルス増殖について，接種試験と血清反応とにより実験を行なった。

2. 感染性および抗原性は同時に検出され，検出されたのは接種後3日目または4日目であり，病徴の出現とも一致した。

3. ウイルスの増加は接種後5〜6日目まで急速におこり，8〜12日目ごろに最大となり，その後は感染性の低下が見られた。

4. 抗原性は接種後18日目までは増加を続けた。

VI. 引 用 文 献

1. BAWDEN, F. C., CHAUDHURI, R. P. and KASSANIS, A. (1951). Ann. appl. Biol. 38: 774-784.
2. GOODCHILD, D. J., COHEN, M. and WILDMAN, S. G. (1958). Virology 5: 561-566.
3. HARRISON, B. C. (1956). Ann. Appl. Biol. 44: 215-226.
4. KASSANIS, B. (1952). Ibid. 39: 358-369.
5. ——— and SLYKHUIS, J. T. (1959). Ibid. 47: 254-263.
6. KODAMA, T. (1964). Ph. D. Thesis, Purdue Univ., U.S.A. 1-128.
7. ——— and BANCROFT, J. B. (1964). Virology 22: 23-32.
8. KUHN, C. W. and BANCROFT, J. B. (1961). Ibid. 15: 281-288.
9. MATTHEWS R. E. F. and LYTTLETON, J. W. (1959). Ibid. 9: 332-342.
10. 村山大記・横山竜夫 (1962). 日植病報, 27: 37-43.
11. ROSS, A. F. (1941). Phytopath. 31: 410-420.

Summary

Biological and serological experiments were carried out on the multiplication of barley stripe mosaic virus in the diseased barley plants. The inoculated leaves were cut off before use. Both infectivity and antigenicity were examined simultaneously in the expressed juice of the diseased plants 3 or 4 days after inoculation. Appearance of typical mosaic symptoms was always consistent with detection of both infectivity and antigenicity. Infectivity increased rapidly up to 5 to 6 days from 3 or 4 days, and reached maximum at 8 to 12 days after inoculation. Subsequently infectivity decreased gradually.

Although the antigenicity continued to increase even after the decrease of infectivity became evident, the multiplication curve of virus antigen examined serologically by the flocculation test showed the same tendency as the infectivity curve.