



Title	モモアカアブラムシのジャガイモ葉巻病ウイルス伝搬能力の保有 (第2報)
Author(s)	菅原, 政芳; SUGAWARA, Masayoshi; 小島, 誠 他
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 7(4), 468-476
Issue Date	1970-12-28
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/11809
Type	departmental bulletin paper
File Information	7(4)_p468-476.pdf



モモアカアブラムシのジャガイモ葉巻病 ウイルス伝搬能力の保有 (第2報)

菅原政芳・小島 誠・村山大記
(北海道大学農学部植物学教室)

Retention of inoculativity in the transmission of potato leaf roll virus in the green peach aphid, *Myzus persicae* SULZ.-II.

Masayoshi SUGAWARA, Makoto KOJIMA
and Daiki MURAYAMA
(Department of Botany, Faculty of Agriculture,
Hokkaido University, Sapporo, Japan)

Received June 19, 1970

I. 緒 言

ジャガイモ葉巻病ウイルス罹病植物上での獲得吸汁時間によって、モモアカアブラムシの伝搬率や伝搬能力保有期間に差が生ずることはすでに報告されている (KASANIS, 1952; 大島・玉田, 1966; 菅原・小島・村山, 1967)。アブラムシによって永続的に伝搬される pea enation mosaic virus においても同様のことが認められている (SIMONS, 1954)。前報において、筆者らはこの現象は多分に吸汁したウイルス量に依存しているであろうと示唆した。

HEINZE (1955) ははじめて本ウイルスを用いて虫体内注射法で無毒虫を保毒化させることに成功して以来、多くの研究者が本ウイルス、pea enation mosaic virus および barley yellow dwarf virus の保毒虫磨砕液や保毒虫体液をウイルス源として注射し伝搬させることができたと述べている (DAY, 1955; HARRISON, 1958; STEGWEE and PONSEN, 1958; MUELLER and ROCHOW, 1961; MUELLER and ROSS, 1961; SCHMUTTERER und EHRHARDT, 1964; MURAYAMA and KOJIMA, 1965)。筆者らは上述の問題をより詳細に調べるために、虫体内注射法による機械的接種を行ない検討したので報告する (菅原・小島・村山, 1969)。

本研究を行なうに当たり、有益なる御助言ならびに御助力を賜った北海道大学農学部植物学教室四方英四郎助

教授ならびに同植物学教室員一同に対し感謝の意を表する次第である。

II. 実験材料および方法

供試ウイルス、検定植物および媒介昆虫は第1報で記述したものと同様である。保毒虫磨砕液ならびに保毒虫体液を注射に用いるウイルス源とした。ジャガイモ葉巻病ウイルス (potato leaf roll virus, PLRV) 罹病 *Physoalis floridana* RYDB. 上で獲得吸汁させたモモアカアブラムシ (*Myzus persicae* SULZ.) に、主として0.1 M のリン酸緩衝液 (pH 7.4) を加えてテフロンガラスホモジナイザーで磨砕し、その磨砕汁液を 3,000 rpm, 20 分の遠心分離を行なった。その上清を保毒虫磨砕液のウイルス接種源とし、また保毒虫体液のウイルス接種源には保毒虫の腹部に毛細管を挿入して体液を取り出し用いた。

注射は無毒虫を瓶の中であらかじめ炭酸ガスで麻醉させ、一頭ずつ毛筆で昆虫保持台にのせ、双眼実体顕微鏡 (25 倍) 下で、注射針は無毒虫の腹部に刺しウイルス試料を注入して行なった。注射針は直径 5~6 mm の硬質ガラス管をバーナーで熱して 2 回引き出し、さらにマイクロフォーエッジで適当な細さの毛細管にしたものである。注射の操作はつねに 7~10°C 下で行ない、注射にはいつも無毒幼虫を使用した。注射虫は麻醉回復後 (20~30 分) ただちに検定植物に、あるいは実験の目的によって免疫植物にうつした。

III. 実験結果

A) 保毒虫磨砕液を注射したモモアカアブラムシの伝搬能力

1. 磨砕時における緩衝液の比較

ジャガイモ葉巻病ウイルス (PLRV) 罹病 *P. floridana* (接種後14日目のもの) 上で2日間獲得吸汁させたモモアカアブラムシの幼虫を用いて実験を行なった。保毒幼虫100頭(9~12 mg) に対して0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.4), 0.1 M 酢酸アンモニウム液 (pH 7.0) および生理食塩水をそれぞれ1 ml ずつ加えテフロンガラスホモジナ

イザーで磨砕し、それぞれの磨砕汁液を3,000 rpm, 20分の遠心分離を行ない、その上清を無毒幼虫に注射した。注射虫を検定植物である *P. floridana* にグループで4日間接種し緩衝液の比較検討を行なった。

Table 1 に示すように、リン酸緩衝液と生理食塩水では検定植物5個体のうち4個体に、酢酸アンモニウム液では5個体のうち2個体に感染性が認められた。これらいずれの緩衝液もウイルス活性にはほとんど影響がないように思われた。以後の実験はすべてリン酸緩衝液を使用した。

Table 1. Effect of buffer solutions in extracts of viruliferous aphids, *Myzus persicae*^a

Solution	No. of injected aphids	Surviving aphids after 2 days	No. of aphids tested per plant ^b	Infectivity ^c
0.1 M phosphate buffer, pH 7.4	30	18	6	4/5
0.1 M ammonium acetate, pH 7.0	30	21	6	2/5
0.85% sodium chloride	30	20	6	4/5

a 100 aphids that had been fed on a diseased *Physalis floridana* plant for 2 days were ground in 1 ml of each solution.

b Test plant was *P. floridana*.

c Numerator: number of infected plants; Denominator: number of inoculated plants.

2. リン酸緩衝液の pH の影響

PLRV 罹病 *P. floridana* (接種後13日目のもの) 上で3日間獲得吸汁させた保毒幼虫50頭(5~6 mg) に対して pH 5.2, 6.0, 7.4 および 8.3 の0.1 M リン酸緩衝液をそれぞれ0.5 ml ずつ加えて磨砕し、それぞれの磨砕汁液を3,000 rpm, 20分の遠心分離を行なった。その上清を無毒虫に注射し、注射虫を *P. floridana* にグループで4

日間接種して感染性を調べた。その結果は Table 2 に示すとおりである。

pH 6.0 および 7.4 では検定植物5個体のうち2個体に、pH 8.3 では5個体中1個体に感染が認められたが、pH 5.2 では認められなかった。これらの結果から PLRV は中性で安定であるように思われた。

Table 2. Effect of the pH of phosphate buffer on PLRV activity in aphid extracts^a

pH	No. of injected aphids	Surviving aphids after 2 days	No. of aphids tested per plant ^b	Infectivity ^c
5.2	30	19	6	0/5
6.0	30	21	6	2/5
7.4	30	23	6	2/5
8.3	30	20	6	1/5

a 50 aphids that had been fed on a diseased *P. floridana* for 3 days were ground in 0.5 ml of 0.1 M phosphate buffer.

b Test plant was *P. floridana*.

c Numerator: number of infected plants; Denominator: number of inoculated plants.

3. 注射虫の単独接種による伝搬

PLRV 罹病植物 (接種後 15 日目もの) 上で 1 日, 2 日および 4 日間獲得吸汁させたアブラムシ各 50 頭 (4~6 mg) に対して, それぞれ 0.5 ml の 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) を加えて磨砕し, それぞれの磨砕汁液を 3,000 rpm, 20 分の遠心分離を行なった。上清を無毒虫に注射して注射虫 1 頭当たりの伝搬能力を調べた。その結果は Table 3 のとおりである。

1 日吸汁させたアブラムシの磨砕液を接種源とした場合, 注射後 2 日目で生存が確かめられた 13 頭のうち 2 頭がウイルスを伝搬した。また 2 日間吸汁させた虫の磨砕液では, 注射後 2 日目で生存が確かめられた 16 頭のうち 5 頭, さらに注射後 2 日以前に死亡した注射虫の中でも 1 頭が PLRV を伝搬した。一方 4 日間吸汁させたものでは, 接種 2 日後まで生存していた注射虫 11 頭中 4 頭, 接種 2 日以前に死亡した虫も 1 頭がそれぞれ伝搬能力を示した。

Table 3. Transmission of PLRV by aphids injected with extracts from viruliferous insects^a

Extracts prepared on days (Acquisition feeding period)	No. of injected aphids ^b	Surviving aphids after 2 days	No. of viruliferous aphids
1	20	13	2
2	23	16	6
4	22	11	5

a 50 aphids that had been fed on a diseased *P. floridana* were ground in 0.5 ml of 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4).

b One injected aphids was used per plant.

4. 獲得吸汁時間を異にする保毒虫のウイルス濃度の比較

(i) 罹病 *P. floridana* 上で獲得吸汁させた場合

獲得吸汁時間と虫体内におけるウイルス濃度の関係を知るために 1~12 日間吸汁させた虫を用いて実験を行なった。PLRV 罹病 *P. floridana* (接種後 14 日目もの) 上で獲得吸汁させたアブラムシを一定期間ごとに 100 頭ずつ取り出し, 0.1 ml の 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) を加えて磨砕し, 3,000 rpm, 20 分の遠心分離を行なった。上清を原液として 10, 50 および 100 倍に希釈し, それぞれの希釈液を無毒虫に注射し感染性を調べて, 獲得吸汁後のウイルス濃度を検討した。なお Table 4 に示す結果は 2 回反復実験したものである。

Table 4. Infectivity of diluted extracts from the aphids fed on diseased *P. floridana*

Acquisition feeding period (Days)	Dilution			
	Crude extracts ^a	1:10	1:50	1:100
1	5/5 ^b	7/20	0/20	
2	5/5	8/15	0/17	0/15
4	5/5	10/15	2/15	1/15
8		5/5	2/5	0/5
12		5/5	3/5	0/5

a 100 aphids that had been fed on diseased *P. floridana* were ground in 0.1 ml of 0.1 M phosphate buffer (pH. 7.4).

b 5 injected aphids were used per plant. Numerator: number of infected plants; Denominator: number of inoculated plants.

Table 4 に示すように, 1 日および 2 日間吸汁させた虫では原液と 10 倍液にウイルス活性が認められたが, 50 倍液以上の希釈液では認められなかった。4~12 日間吸汁させた虫を用いた場合では 50 倍液でもウイルス活性は存在し, 4 日間吸汁させた虫のみに 100 倍液で 15 個体中 1 個体に感染が認められた。以上のことから, 1~4 日間までの吸汁虫では虫体内のウイルス濃度が高まる傾向にあったが, それ以上獲得吸汁させても虫体内のウイルス濃度が高まる傾向はなく, 4 日, 8 日および 12 日間吸汁させたアブラムシ体内のウイルス濃度にそれほど差がないように思われた。

(ii) 罹病 *D. stramonium* 上で獲得吸汁させた場合

PLRV 罹病 *D. stramonium* (接種後 15 日目もの) 上で 1~8 日間獲得吸汁させたアブラムシを用いて (i) と同様の目的, 方法で実験を行なった。

Table 5. Infectivity of diluted extracts from the aphids fed on diseased *Datura stramonium*

Acquisition feeding period (Days)	Dilution		
	1:10	1:50	1:100
1	6/10 ^a	0/10	0/10
2	8/10	0/10	0/10
4	7/9	2/10	0/10
8	10/10	4/10	0/10

a 5 injected aphids were used per plant. Numerator: number of infected plant; Denominator: number of inoculated plants.

その結果は Table 5 に示すとおりで、1 日および 2 日間獲得吸汁させた虫では 10 倍液でウイルス活性が認められたが、50 倍および 100 倍液では認められなかった。しかし 4 日および 8 日間吸汁させた虫では 10 倍液と 50 倍液にウイルス活性が認められ、アブラムシが吸汁をはじめから一定期間虫体内のウイルス濃度は高まるように、罹病 *P. floridana* 上で吸汁させた虫とほぼ同じような結果を得た。

5. 獲得吸汁時間を異にする保毒虫磨砕液を注射した虫の伝搬能力

PLRV 罹病 *P. floridana* (接種後 14 日目のもの) 上で、1 日、2 日および 4 日間獲得吸汁させたアブラムシ各 100 頭に対して、各 1 ml の 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) を加えて磨砕し、3,000 rpm, 20 分の遠心分離を行なった。その上清を無毒虫に注射し、グループで 10 日間毎日検定植物にうつしかえ伝搬能力の比較検討を行なった。そ

Table 6. Retention of inoculativity in the transmission of PLRV by aphids injected with extracts from the insects given various periods of acquisition feeding

Acquisition feeding period (Days)	No. of colony	Daily transfer of injected aphids ^a									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	1	6 ^b	⑤	4	4	4	3	3	3	3	3
	2	6	4	4	4	3	3	3	2	2	2
	3	6	5	3	3	3	2	2	2	2	1
	4	6	6	5	5	4	4	3	3	3	2
	5	6	5	3	3	2	2	2	1	1	1
	6	6	⑤	5	5	5	5	5	4	4	4
	7	5	5	5	④	3	3	3	3	3	3
	8	5	⑤	4	4	4	2	2	2	1	1
	Transmission ^c	0/8	3/8	0/8	1/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
2	1	7	5	5	5	4	3	3	3	2	2
	2	⑦	⑦	⑥	⑤	5	5	3	2	2	2
	3	7	⑥	6	⑤	5	4	3	3	3	3
	4	7	7	7	6	6	3	3	3	2	1
	5	7	7	6	4	4	4	4	4	3	3
	6	7	7	⑦	7	⑦	⑥	5	5	5	4
	7	7	6	6	6	5	4	4	4	4	4
	8	⑤	5	⑤	4	4	4	3	2	1	1
	Transmission	2/8	2/8	3/8	2/8	1/8	1/8	0/8	0/8	0/8	0/8
4	1	⑦	⑦	6	6	⑤	⑤	5	5	④	4
	2	7	⑤	⑤	5	④	4	4	3	2	1
	3	⑦	⑦	⑦	⑦	7	6	5	5	4	3
	4	7	⑦	⑥	④	4	3	3	2	2	2
	5	6	⑤	④	4	④	④	③	3	3	3
	6	6	6	6	⑥	5	5	4	4	4	3
	7	⑥	⑤	⑤	5	4	③	3	2	1	1
	8	6	6	⑤	⑤	4	③	2	2	2	2
	Transmission	3/8	6/8	6/8	4/8	3/8	4/8	1/8	0/8	1/8	0/8

a Virus-free aphids were injected with extracts from 100 viruliferous aphids that triturated in 1 ml of 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4).

b Figures indicate the number of surviving aphids placed on a plant; ○ indicates infected plant.

c Numerator: number of infected plants; Denominator: number of inoculated plants.

の結果は Table 6 に示すとおりである。

1日獲得吸汁させたアブラムシの磨砕液を接種源とした場合、2日目の接種ではじめて注射虫による伝搬が認められ、8個体のうち3個体が発病した。5日目以後の接種ではウイルスの伝搬は認められなかった。2日間の吸汁虫の磨砕液を接種した場合、最初の日から8個体中2個体に感染が認められ、伝搬能力の保有期間は長く6日目の接種でもウイルスの伝搬が認められた。しかし7日目以後では認められなかった。さらに4日間の吸汁虫の磨砕液を接種した場合、1日目の接種で8個体中3個体に感染が認められ、1日および2日間の吸汁虫を用いた場合より伝搬率が高く、また9日目の接種においても感染が認められ、伝搬能力の保有期間の長いのが見られた。以上のことから長い間獲得吸汁させたアブラムシの磨砕液を注射した虫ほど早期に伝搬能力を示し、また伝搬率も高く、伝搬能力の保有期間も長い傾向にあることが認められた。

6. 免疫植物上で飼育した注射虫の伝搬能力

PLRV 罹病 *P. floridana* (接種後14日目のもの) 上で

4日間獲得吸汁させたアブラムシ50頭に0.5 mlの0.1Mリン酸緩衝液(pH 7.4)を加えて磨砕し、3,000 rpm, 20分の遠心分離を行ない、その上清を無毒虫に注射した。それらの注射虫をただちに免疫植物であるカブとハクサイにうつし、経時的にそれらの虫を取り出しグループで検定植物に接種して注射虫による伝搬能力を調べた。その結果は Table 7のとおりである。

カブ上で飼育した注射虫は、飼育開始後4日目までは検定植物5個体のうち4~5個体に感染をおこしたけれども、9日間飼育した虫では5個体のうち1個体にウイルスを伝搬したにすぎず、伝搬能力の低下が認められた。

またハクサイ上で飼育した場合でも、3日間飼育した注射虫は5個体のうち4個体に感染を示し、注射後ただち接種したものと同じであった。しかし6日間以上飼育したものでは伝搬能力の低下がみられ、カブ上で飼育した注射虫とほぼ同様の結果を得た。このように注射虫を免疫植物上で飼育した場合、カブ、ハクサイをとわず飼育後4~6日目から伝搬能力が低下する傾向が認められた。

Table 7. Retention of inoculativity in the transmission of PLRV by aphids kept on immune plants after injection with insect extracts

Immune plant	Days on immune plant	No. of injected aphids ^a	Surviving aphids after 2 days	Infectivity ^b
Turnip	0	25	21	4/5
	1	25	18	5/5
	4	25	18	4/5
	9	25	19	1/5
Chinese cabbage	0	15	12	4/5
	3	15	10	4/5
	6	20	16	2/5
	9	20	15	0/5
	12	15	9	2/5

a Virus-free aphids were injected with extracts from 50 aphids given a 4-day acquisition feeding.

b Numerator: number of infected plants; Denominator: number of inoculated plants.

Table 8. Transmission of PLRV by aphids injected with blood from viruliferous insects

Blood prepared on days (acquisition feeding period)	No. of injected aphids ^a	Surviving aphids after 2 days	No. of aphids tested per plant	Infectivity ^b
1	24	22	3	2/8
2	21	20	3	4/7
4	24	23	3	4/8

a Blood from one viruliferous aphid was injected into one virus-free aphid.

b Numerator: number of infected plants; Denominator: number of inoculated plants.

B) 保毒虫体液を注射したモモアカアブラムシの伝搬能力

1. 保毒虫体液の注射虫による伝搬

PLRV 罹病 *P. floridana* (接種後15日目のもの) 上で1日, 2日および4日間獲得吸汁させたアブラムシを用いて実験を行なった。保毒虫1頭から注射針で体液を取り出し, 1頭の無毒虫に注射し, 注射虫をグループで健全 *P. floridana* に接種し感染性を調べた。その結果は Table 8 のとおりである。

1日獲得吸汁させた虫の体液を接種源とした場合, 注射虫は検定植物8個体中2個体にウイルスを伝搬した。2日間吸汁させた虫の体液を接種した場合, 7個体のうち4個体に, 4日間の吸汁虫の体液を用いた場合では8個体のうち4個体に感染が認められた。

2. 獲得吸汁時間を異にする保毒虫体液を注射した虫の伝搬能力

PLRV 罹病 *P. floridana* (接種後14日目のもの) 上で1日, 2日および4日間獲得吸汁させたそれぞれのアブラ

ムシから体液を取り出し無毒虫に注射し, 注射虫をグループで10日間毎日 *P. floridana* にうつしかえ伝搬能力の比較検討を行なった。その結果は Table 9 に示すとおりである。

1日獲得吸汁させた虫の体液を接種源とした場合, 注射虫は2日目の接種ではじめてウイルスの伝搬を示し, 5日目の接種まで感染を示したが6日目以後では感染が認められなかった。2日間の吸汁虫の体液を接種した場合, 1日目の接種で5個体中3個体にウイルスの伝搬が認められ, 8日目の接種においても注射虫による伝搬が認められた。しかしそれ以後では認められなかった。4日間の吸汁虫の体液を用いた場合では, 最初の接種で5個体のうち4個体にウイルスの伝搬が認められ, 10日目の接種でもなお1個体に感染が認められた。以上のことから獲得吸汁期間のより長い保毒虫の体液を注射した虫ほど早期にウイルスを伝搬しはじめ, 伝搬率も高く, かつ伝搬能力の保有期間も長くなる傾向が認められた。

Table 9. Retention of inoculativity in the transmission of PLRV by aphids injected with blood from the insects given various periods of acquisition feeding

Acquisition feeding period (Days)	No. of colony	Daily transfer of injected aphids ^a									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	1	5 ^b	5	⑤	5	④	4	3	3	3	3
	2	5	5	4	④	4	3	2	2	2	2
	3	5	5	4	2	2	1	1	1	1	1
	4	5	5	3	2	2	2	2	1	1	1
	5	5	⑤	④	4	4	4	4	3	3	3
	Transmission ^c	0/5	1/5	2/5	1/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
2	1	⑥	6	⑤	5	5	5	5	③	3	3
	2	5	5	④	③	③	3	3	3	3	2
	3	5	5	④	4	3	3	3	3	3	3
	4	⑤	⑤	④	③	3	③	③	2	2	2
	5	⑤	⑤	5	④	4	4	4	③	2	2
	Transmission	3/5	2/5	4/5	3/5	1/5	1/5	1/5	2/5	0/5	0/5
4	1	⑤	5	④	④	4	④	③	3	3	3
	2	⑤	④	2	②	②	2	②	②	②	2
	3	⑤	3	③	3	3	3	3	3	2	2
	4	⑤	③	2	②	2	②	2	2	1	1
	5	5	⑤	⑤	④	4	④	③	3	③	③
	Transmission	4/5	3/5	3/5	4/5	1/5	3/5	3/5	1/5	2/5	1/5

a Blood from one viruliferous aphid was injected into one virus-free aphid.

b Figures indicate the number of surviving aphids placed on a plant; ○ indicates infected plant.

c Numerator: number of infected plants; Denominator: number of inoculated plants.

IV. 考 察

ジャガイモ葉巻病ウイルスは汁液伝染が困難であるが、1955年に HEINZE がはじめて虫体内注射法によって無毒虫を保毒化させることに成功して以来、多くの研究者によってこの方法が試みられている (DAY, 1955; HARRISON, 1958; STEGWEE and PONSEN, 1958; DAY and ZAITLIN, 1959; MUELLER and ROSS, 1961; STEGWEE and PETERS, 1961; MURYAMA and KOJIMA, 1965)。筆者らも、保毒モモアカアブラムシの磨砕液あるいは体液を PLRV の接種源として無毒虫に注射し、その虫の媒介で植物を感染させることができた。その際、単独接種では20%前後の感染率を示し、5~7頭のグループ接種ではほとんど100%の感染率を示した。

モモアカアブラムシによる PLRV の伝搬率や伝搬能力の保有期間は、罹病植物上での獲得吸汁時間によって左右されることから、このような現象は多分に獲得時のウイルス量に依存しているものと考えた (前報)。KASANIS (1952) や大島・玉田 (1966) によっても同様の報告がなされている。また pea enation mosaic virus においてもこの現象は認められており、SIMONS (1954) はこのウイルス保毒虫による伝搬能力の保有期間の長短は獲得吸汁時間の長さに影響されていると述べているが、一方 EHRHARDT und SCHMUTTERER (1965) および SYLVESTER (1966) によると、保毒虫の伝搬能力の持続性は獲得吸汁時間の長短よりむしろ獲得時のアブラムシの齢によって左右されると報告している。

獲得吸汁時間を異にする PLRV 保毒アブラムシの磨砕液を接種源とした場合、吸汁虫の場合 (前報) と同様に獲得吸汁時間の長い保毒虫磨砕液を注射した虫ほど伝搬率が高く、また早期に伝搬が認められ、かつ伝搬能力の保有期間が長いことが認められた (Table 6 参照)。このことは Table 4 および Table 5 の結果から分かるように、虫体内におけるウイルス濃度はアブラムシが罹病植物上でウイルスを獲得しはじめてから4日間までにおいて高まる傾向にあることから、この獲得吸汁期間内においては吸汁期間の長い保毒虫磨砕液ほどウイルス濃度が高く、PLRV 媒介虫における虫体内潜伏期間や伝搬能力の保有期間は、獲得時のウイルス量に影響されるであろうとする前報の主張を具体的に支持するものと考えられる。MUELLER and ROSS (1961) は barley yellow dwarf virus の保毒虫磨砕液や保毒虫の体液を用いて、注射法で高率に伝搬させることができたが、PLRV ではよい結果が得られなかったと報告し、その原因はモモアカアブ

ラムシが *P. floridana* 上で落ちて吸汁しないこと、また死亡率が高いことであろうと述べている。注射虫を毎日検定植物である *P. floridana* につしつかえていった時、後期になって死亡率が高くなり、伝搬率への影響が懸念されたので、注射虫を免疫植物 (カブ、ハクサイ) 上で飼育し、伝搬率を比較検討したところ、直接検定植物に接種した場合との差はほとんど認められなかった。注射虫の伝搬能力は直接検定植物に、あるいは免疫植物上で飼育して後検定植物に接種した場合、いずれも注射後4~6日目から低下する傾向が認められた。同様のことは吸汁虫においても認められている (MACCARTHY, 1954; 大島・玉田, 1966; 菅原・小島・村山, 1967)。pea enation mosaic virus における吸汁虫のこのような伝搬能力の低下を SYLVESTER (1967) はアブラムシの産仔数と排泄量に関係があるかと述べている。

STEGWEE and PONSEN (1958) は保毒虫の体液を用いて、15代の継代接種に成功し、PLRV の虫体内増殖を主張した。一方 HARRISON (1958) は保毒虫の磨砕液を用いて実験を行ない、虫体内のウイルス濃度が低下することから虫体内での増殖を否定している。MARAMOROSCH (1964) はこのような相反する結果を考慮して、保毒虫の体液に比べて保毒虫の磨砕液中で PLRV は不安定であるかまたは不活化されるのではないかと指摘している。獲得吸汁時間を異にする保毒虫の体液を注射し、その注射虫の伝搬能力を調べたところ、保毒虫の磨砕液をウイルス接種源とした場合とほとんど同様の傾向を認め、長い間獲得吸汁させた虫の体液を注射したアブラムシほど伝搬率も高く、また早期に伝搬能力を示し、その保有期間も長い傾向にあった。保毒虫の磨砕液および保毒虫の体液を用いて行なった両実験から、注射虫による伝搬能力についてほとんど同じような結果を得ることができ、少なくとも PLRV が磨砕液中で不活化するようなことは考えられない。これらのことから、モモアカアブラムシによる PLRV の伝搬能力の保有については保毒虫の体液中のウイルスが多分に関与しているものと考えられる。

V. 摘 要

1. PLRV 罹病 *P. floridana* 上で獲得吸汁させたモモアカアブラムシの磨砕液および体液をウイルス接種源として使い、虫体内注射法で無毒虫を保毒化させ、注射虫の PLRV の伝搬能力を検討した。

2. 保毒虫の磨砕液を無毒虫に注射して *P. floridana* にグループで接種したところ、ほとんど100%の感染率

を示した。保毒虫の体液を注射した場合もそれに近い結果を得た。

3. 罹病 *P. floridana* 上で1~12日間獲得吸汁させたアブラムシ体内のウイルス濃度は1~4日間内の吸汁では、吸汁期間が増すにともない高まる傾向にあったが、それ以上の期間吸汁させても、虫体内のウイルス増減は認められなかった。罹病 *D. stramonium* 上で吸汁させた場合も同じ傾向であった。

4. 長時間獲得吸汁させたアブラムシの磨砕液を注射した虫ほど伝搬率が高く、早期に伝搬能力を示し、また伝搬能力の保有期間も長い傾向にあることが認められた。

5. 注射虫を免疫植物(カブ、ハクサイ)上で飼育した後、検定植物に接種した場合と、直接検定植物に接種した場合との注射虫の伝搬能力を比較検討したところ、いずれの場合も、注射後一定期間を経てから伝搬能力の低下が認められた。

6. 保毒虫の体液を用いて注射虫の伝搬能力を調べたところ、保毒虫の磨砕液を用いた場合と同様に、獲得吸汁期間の長いアブラムシの体液を注射した虫ほど伝搬率が高く、早期にウイルスを伝搬し、かつ伝搬能力の保有期間も長いことが分かった。しかしながら獲得吸汁時間の長短にかかわらず、注射後一定期間を経てから注射虫の伝搬能力の低下が認められた。

引用文献

- 1) DAY, M. F. (1955). The mechanism of the transmission of potato leaf roll virus by aphids. Aust. J. Biol. Sci. 8: 498-513.
- 2) DAY, M. F. and ZAITLIN, M. (1959). Infectivity and electron microscopy of extracts of *Physalis floridana* plants infected with potato leaf roll virus. Phytopath. Z. 34: 83-85.
- 3) EHRHARDT, P. und SCHMUTTERER, H. (1965). Untersuchungen über die Beziehungen zwischen dem Enationenvirus der Erbse und seinen Vektoren. III. Das Übertragungsvermögen verschiedener Entwicklungsstadien von *Acyrtosiphon pisum* (HARR.) nach unterschiedlichen Saugzeiten an virusinfizierten *Vicia faba*-Pflanzen. Phytopath. Z. 52: 73-88.
- 4) HARRISON, B. D. (1958). Studies on the behavior of potato leafroll and other viruses in the body of their aphid vector *Myzus persicae* (SULZ.). Virology 6: 265-277.
- 5) HEINZE, K. (1955). Versuche zur Übertragung des Blattrollvirus der Kartoffel in den Übertrager (*Myzodes persicae* SULZ.) mit Injectionsverfahren. Phytopath. Z. 25: 103-108.
- 6) KASSANIS, B. (1952). Some factors affecting the transmission of leafroll virus by aphids. Ann. appl. Biol. 39: 157-167.
- 7) MACCARTHY, H. R. (1954). Aphid transmission of potato leafroll virus. Phytopath. 44: 167-174.
- 8) MARAMOROSCH, K. (1964). Virus-vector relationships: Vectors of circulative and propagative virus. In Plant Virology (M. K. CORBETT and H. D. SISLER, eds.) Univ. Florida Press, Gainesville. pp. 175-177.
- 9) MUELLER, W. C. and ROCHOW, W. F. (1961). An aphid-injection method for the transmission of barley yellow dwarf virus. Virology 14: 253-258.
- 10) MUELLER, W. C. and ROSS, A. F. (1961). Difficulties encountered in the use of an aphid-injection method for the transmission of potato leafroll virus. Amer. Potato J. 38: 249-258.
- 11) MURAYAMA, D. and KOJIMA, K. (1965). Studies on the properties of potato leaf roll virus by the aphid-injection method. Ann. Phytopath. Soc. Japan 30: 209-215.
- 12) 大島信行・玉田哲男 (1966). モモアカアブラムシのジャガイモ葉巻病ウイルスの伝染力. 日植病報 32: 194-202.
- 13) SCHMUTTERER, H. und EHRHARDT, P. (1964). Untersuchungen über die Beziehungen zwischen dem Enationenvirus der Erbse und seinen Vektoren. II. Versuche zur Übertragung des Virus durch Injektion von Haemolymph in verschiedene Aphidenarten. Phytopath. Z. 50: 80-85.
- 14) SIMONS, J. N. (1954). Vector-virus relationships of pea-enation mosaic and the pea aphid *Macrosiphum pisi* (KALT.). Phytopath. 44: 283-289.
- 15) STEGWEE, D. and PONSEN, M. B. (1958). Multiplication of potato leafroll virus in the aphid *Myzus persicae* (SULZ.). Ent. Ext. App. 1: 291-300.
- 16) STEGWEE, D. and PETERS, D. (1961). The isolation of potato leafroll virus from its vector. Virology 15: 202-203.
- 17) 菅原政芳・小島 誠・村山大記 (1967). モモアカアブラムシのジャガイモ葉巻病ウイルス伝搬能力保有について (1). 日植病報 33: 351 (講要).
- 18) 菅原政芳・小島 誠・村山大記 (1969). モモアカアブラムシのジャガイモ葉巻病ウイルス伝搬能力保有について (2). 日植病報 35: 126 (講要).

- 19) 菅原政芳・小島 誠・村山大記 (1970). モモアカアブラムシのシジャガイモ葉巻病ウイルス伝搬能力の保有 (第1報). 北大農・邦・紀要 7 (4). 462-467.
- 20) SYLVESTER, E. S. and RICHARDSON, J. (1966). "Recharging" pea aphids with pea enation mosaic virus. *Virology* 30: 592-597.
- 21) SYLVESTER, E. S. (1967). Retention of inoculativity in the transmission of pea enation mosaic virus by pea aphids as associated with virus isolates, aphid reproduction and excretion. *Virology* 32: 524-531.

Summary

This paper reports the retention of inoculativity in the transmission of potato leaf roll virus (PLRV) by *Myzus persicae* (SULZ.) injected with extracts and blood from viruliferous aphids. The aphids injected with extracts from the aphids that had fed on infested *Physalis floridana* RYDB. plants for 1, 2, or 4 days, were transferred daily to healthy *P. floridana* seedlings for 10 days. Aphids injected with extracts from viruliferous aphids that received the longer

period of acquisition feeding, were better than those given short periods of acquisition, both in retention period of inoculativity and in frequency of transmission of PLRV. The virus concentration in the aphids that fed on diseased *P. floridana* or *Datura stramonium* L. plants for 1~12 days tended similarly to increase between days 1 and 4, then remained at about the same level up to day 12. Therefore, retention of inoculativity in the transmission of PLRV by injected aphids was dependent on the virus concentration of the inoculum.

Inoculativity in the transmission of PLRV by injected aphids was not influenced by keeping the aphids on immune plants (turnip, or Chinese cabbage) after injection. It declined from 4~6 days after virus injection similarly as with aphids kept throughout on *P. floridana* plants.

When blood from viruliferous aphids was used as the inoculum, the results were the same as when using aphid extracts. Hence, the virus in the blood may be responsible for the retention of inoculativity in the transmission of PLRV by *M. persicae*.