製品たばこに含まれるタバコモザイク 病ウイルスについて

都 丸 敬 一 ・ 日 高 醇 *

Keiichi TOMARU and Zyun HIDAHA : On the Tobacco Mosaic
Virus contained in Manufactured Tobacco.

タバコモザイク病ウイルス(TMV)は製品たばこ中に含まれていて、それが第1次伝染原となることが多いものと考えられる^{3,7,9)}。製品たばこの中に TMV が含まれていることについては多くの報告がある。Valleau ら^{6,7,8)}は市販されている 45 種のたばこのうち 17 種に、Busch ら⁹⁾は 45 種のうち 4 種に TMV を検出した。また Johnson⁴⁾は local lesion 法によつて、「葉巻」及び「紙巻」からかなり高濃度に検出したが、その他では低濃度あるいは検出しなかつた。わが国では富士⁵⁾が 1931 年に当時の市販のあやめ、はぎ、さつき及びなでしこの 4 種の「刻」について TMV の含まれていることが多いと述べた。筆者らは 1954 年現在の、わが国の製品たばこの全種類及びその製造工程中の屑の 1 部について、TMV の含まれている状態を研究した。

本研究に使用した試料はすべて日本専売公社製造部特に本間作業課長の厚意によつて、各工場から送付された。また元当研究室員深沢茂君に実験を手伝っていただいた。記して謝意を表する。

(註：以下紙巻，刻，葉巻，パイプはそれぞれ紙巻たばこ，刻たばこ，葉巻たばこ，パイプたばこの略である。)

1. 実験材料及び方法

試料は、(1) 紙巻の富士，ピース，光，新生，ゴールデンバット，朝日及びそれらの屑，(2) 刻のききょう，みのりとそれらの屑及び富貴煙，(3) 葉巻のアストリア，(4) パイプの桃山及び日光である。これらの製品は全国 39 カ所の製造工場のうち，同一種類の製品を造っている工場の数の多いものは数カ所に減らして，21 カ所の工場から，種類別に紙巻各 100 本，葉巻 10 本，パイプ各 100g，刻各 150g 及びそれらのうちの 8 種からは，製造工程中の屑各 500g を無作為にとつて送付してもらつた。これらの試料から紙巻は 1 本 (約

* 秦野たばこ試験場

1g)，刻，葉巻，パイプ及び屑は各 1g をとり，蒸留水 5 cc を加えてすりつぶし，その汁液を消毒した綿球に含ませ，カーボランダムを用いた塗沫法で接種した。接種はフレームで育てたタバコ (品種 Xanthi) を用い，接種後 20 日間，病徴の有無を観察し，疑わしいものは，更に *Nicotiana glutinosa* に接種して確めた。実験は同一工場の試料について 3 回行い，第 1 回は 4 寸鉢 1 本植 3 鉢，第 2，3 回は 3 本植 2 鉢を用いた。TMV 含量の比較は *N. glutinosa* を用いた local lesion 法によつた。試料各 5g に 25cc の蒸留水を加えて，1 夜ベトリ皿中に放置後すりつぶして接種原とした。更に製品と製品を用いて罹病させたタバコの生葉との間，及びタバコの葉の乾燥前後の TMV 量の変化について検討した。実験に用いた *N. glutinosa* は 25°C に調節したガラス室の回転台上におき，接種数日前に最大葉を中心に 4～6 枚の葉を残して，心をとめた。接種には予めカーボランダム (約 500 メッシュ) を葉の上にふりかけ，接種原に浸した綿球で 1 回均一にこすつた。接種後 3～5 日後に病斑数を数えた。local lesion 法は Youden ら¹⁰⁾に従つた。

2. 実験結果

(1) 製品及びその屑中の TMV の検出 製品及びそれらの屑の検定の結果を第 1 表 (1) (2) に示した。製品 12 種及びそれらのうちの 8 種の屑を各工場別の 122 の試料について検定した結果，366 例中 351 例 (96%) が供試植物の 1 部または全部にタバコモザイク病を起した。このうち製品では 198 例中 186 例 (94%)，屑では 168 例中 165 例 (98%) から TMV が検出された。桃山は 3 例中 3 例とも検出されなかつたが，試料を焦がしてある黒色のものと焦がしてない黄色のものにわけて接種したところ，黄色のものの中に 9 本中 8 本が発病した。はじめに桃山から検出されなかつたのは，TMV が含まれていないわけではなく，黄色のものに含まれた TMV だけでは濃度が低かつたためと

思われる。第1表(1)の結果を総計すると第1表(2)のようになり、検出率、発病率ともに刻がわずかに低い。また刻とその屑との間にもわずかの差があつた。

第1表(1) 製品たばこ及びその屑中^(a)
に含まれるTMVの検定

種別	製品名	(b) 試料数	発病数	(c) 供試 株数	発病 株数	発病率 %
紙巻	富士	3(1)	3	15	12	80.0
	〃 屑	3(1)	3	15	13	86.7
	ピース	21(7)	21	105	89	84.8
	〃 屑	21(7)	21	105	75	71.4
	光	39(13)	38	195	156	80.8
	〃 屑	39(13)	39	195	132	67.7
	新生	30(10)	30	150	136	90.7
	ミ屑	30(10)	28	150	114	76.0
	ゴールデンバット	30(10)	29	150	134	89.3
	〃 屑	30(10)	30	150	110	73.4
	朝日	3(1)	3	15	13	86.7
	〃 屑	3(1)	3	15	14	93.3
葉巻	アストリア	3(1)	3	15	15	100.0
パイプ	桃山	3(1)	0	15	0	0.0
	日光	3(1)	3	15	12	80.0
刻	ききょう	21(7)	18	105	68	64.8
	〃 屑	21(7)	21	104	76	73.1
	みのり	21(7)	18	105	63	60.1
	〃 屑	21(7)	20	105	66	62.9
	富貴煙	21(7)	20	105	76	72.4
計		366	351	1829	1374	75.0

(a): 結果は工場別の試料について3回くりかへした合計を示す。例えば光の試料数39は13工場の試料を1本ずつ3回くりかへしたことを意味する。

(b): 紙巻は1本, その他の製品及び屑は各1gを1回の検定に用いた。()内の数字は試料採取工場数。

(c): 供試植物は *N. tabacum* (品種 Xanthi), 第1回は3本, 第2, 3回は6本を用いた。

第1表(2) 製品たばこ及びその屑中
に含まれるTMVの検定

	発病数 / 試料数	比 率	発病株数 / 接種株数	比 率
紙 巻	123 / 126	97.3%	540 / 630	86.6%
〃 屑	124 / 126	98.4	458 / 630	72.7
刻	36 / 42	86.0	131 / 210	62.4
〃 屑	41 / 42	97.6	142 / 209	67.9

(2) 製品及び屑中のTMVの濃度 *N. glutinosa* 8本の32半葉または48半葉を用いて, 紙巻,

刻及びそれらの屑の数種についてTMVの濃度を比較した結果を第2表に示した。紙巻と刻及び各々とその屑の間の差に, 試料によつて有意差のあるものもあつたが, 一定した傾向を認めなかつた。

第2表 製品たばこその屑のTMV濃度の比較

工場名	製品名	(a) 半葉当り 病 斑 数	工場名	製品名	半葉当り 病 斑 数
東 京	ピース	37.1*	盛 岡	みのり	2.4*
	〃 屑	58.3		〃 屑	17.8
鹿児島	光	16.5*	東 京	ピース	17.0*
	〃 屑	8.3		みのり	7.6
岡 山	光	66.1*	仙 台	新生	23.4
	〃 屑	35.2		みのり	24.0
秦 野	みのり	16.1	鹿児島	新生	6.7*
	〃 屑	17.9		みのり	17.0

(a): *N. glutinosa* の32または48半葉の平均。

*: 1%水準で有意差のあつたもの。

(3) 紙巻と罹病生葉とのTMV含量 温室で育てたタバコ(品種 Xanthi)にTMVを接種して, よく病徴のあらわれた生葉1gをとり, 蒸溜水10ccを加えてすりつぶし, 4重のガーゼでこした。その汁液を原液とし, これを蒸溜水で生葉の 2×10^{-4} , 10^{-4} , 2×10^{-5} 及び 10^{-5} にうすめた。紙巻は5gをとり, 蒸溜水25ccを加えてペトリ皿に入れ, 1夜放置した後, すりつぶし, 4重のガーゼでこした。*N. glutinosa* は5本を用い, ラテン方格法によつて, 上記の各液を接種した。ゴールデンバット, 新生及び光(いずれも鹿児島工場製)の各1例はいずれも, 斑点数は生葉汁液のおよそ 10^{-4} と 2×10^{-5} との間にあつた(第3表)。別の実験で, 前記と同様に, 罹病したタバコ

第3表 紙巻と罹病タバコ生葉とのTMV濃度の比較

接種原	製品名	ゴールデンバット	新生	光
紙 巻	(a)	209.8 ^(b)	280.4	61.6
	2×10^{-4}	310.0 ^(c)	455.8	217.6
	10^{-4}	245.2	387.6	150.6
	2×10^{-5}	51.6	284.0	26.2
罹病稀生葉度	10^{-5}	27.0	182.6	18.6

(a): 接種原は紙巻に5倍の蒸溜水を加えた抽出液。

(b), (c): *N. glutinosa* 5葉の1葉当り平均病斑数。

(品種 White Burley)の生葉の 2×10^{-4} とピースとでは斑点数は半葉当り, それぞれ48.5と15.8であつた。また温室で育てたタバコ(品種 Bright Yellow)の罹病生葉80gの搾汁及び新生の20gから超遠心機によつて精製したTMV液を, 前者は 10^{-5} ,

後者は 5×10^{-8} にうすめた液の、32半葉の比較では、半葉当たりそれぞれ 35.9 と 26.3 であった。これを同一重量の、紙巻：罹病茎葉に換算すれば、TMV の含量は 1:125 より小さい。抽出法に問題はあがあるが、供試した紙巻には同一重量の罹病生葉のおよそ $5 \times 10^{-4} \sim 10^{-4}$ の TMV が含まれていたと考えられる。

(4) 乾燥によるタバコ葉中の TMV 濃度の変化 畑で TMV に自然感染して上部の葉に顕著な病徴を表わしているタバコの中葉（タバコでは葉位により、下から各 3～4 葉づつを土、中、本、天葉に区別する）をとり、慣行の乾燥法によつて乾燥し、その乾燥前後における TMV 量を *N. glutinosa* 6 本の 24 半葉を用いて比較した。対照として超遠心機により精製した TMV を $0 \sim 5^{\circ}\text{C}$ の氷室に保存し、使用の際にうすめて用いた。

(1) 乾燥前の生葉試料は、その半葉から、コルク孔明けで、1g になるようにとり、前実験と同様に処理して 10^{-4} 液としたもの。(2) 乾燥前の試料を打ち抜いた葉の他の半葉から、一定重量をとり、乾燥によつて減少した水分を蒸留水によつて補い、更に生葉の場合と同様に 10^{-4} 液としたもの。(3) 乾燥葉 1g をとり、そのまま蒸留水を加えて 10^{-4} 液としたもの 3 つの試料について TMV 量を比較した。実験は Bright Yellow（黄色乾燥）2 例、秦野葉（日光乾燥）1 例について行つた。結果は対照の斑点数を 100 とした指数で示した（第 4 表）。黄色乾燥ではある程度の TMV の濃度の低下があるように見える。

第 4 表 乾燥によるタバコ葉中の TMV 濃度の変化

試料	タバコ (品種 Bright Yellow)(d)	タバコ (品種秦野)(e)
1 (a)	471(f)	792
2 (b)	187	316
3 (c)	404	961

(a)：罹病生葉、(b)：乾燥葉、乾燥によつて減少した水分を蒸留水で補った、(c)：乾燥葉、減少した水分を補わず、(d)：黄色乾燥、(e)：日光乾燥、(f)：純化した TMV を接種した対照の半葉の病斑数を 100 とした指数、対照半葉の病斑数は平均 24.4。

(5) 製品から得た TMV の電子顕微鏡による観察 製品から得た TMV の形態を、TMV 普通系（当研究室に普通系として保存されている系統）及び紙巻を接種したタバコ（Bright Yellow）から得たものと比較した。光 30g に蒸留水 90cc を加えてペトリ皿に入れ、1 夜放置したもの、及び 1 夜冷凍（

15°C ）した対照の罹病タバコ（汁液 75cc）を超遠心機によつて、6,590G と 92,660G を 2 回くりかえして、分割精製した。これらの試料を電子顕微鏡によつて観察した。粒子の長さの測定結果を第 1 図に示した。これらの試料はいずれもほぼ同様な粒子の長さの分布を示したが、紙巻から得たもの及び紙巻を接種したタバコから得たものは短い粒子の多い傾向があつた。また紙巻から精製した試料はその他の試料にくらべて、TMV 粒子の数が著しく少かつた。（図版 1. 参照）

第 1 図 TMV 粒子の長さの分布

- (上) 紙巻から精製した試料
(中) 紙巻を接種したタバコから得た試料
(下) TMV 普通系を接種したタバコから得た試料

3. 考 察

1954年にわが国において製造されていた製品たばこ及びそれらの屑のほとんどすべてに TMV が含まれており、しかもかなり高濃度である。パイプの桃山には、はじめは検出されなかつたが、黒色部と黄色部とにわけると、黄色部のみに検出された。黒色部は製造中に焦がされたものであるから、TMV が不活化されたも

のと思われる。製品中に黄色部分は少いから、TMV 含量が低くなり、はじめの方法では検出されなかつたものと思われる。第1表の結果からは紙巻は 97.3%, 刻は 86.0% が検出され、刻がやや少いが、刻からの TMV の抽出が不十分であつたのではないかと考えられる。罹病葉はもろくなることから屑になり易く、屑には TMV の含量が多いのではないかと想像したが、製品と屑との間にも明らかな差異を認めなかつた。このことについても抽出法を検討して実験する必要があるかも知れない。

紙巻に含まれる TMV の濃度は、用いた抽出法では、紙巻の方が生葉より抽出率が低いことも考えられるが、実験した3例ではいずれも同一重量の罹病生葉の $5 \times 10^{-4} \sim 10^{-4}$ であつた。罹病生葉の搾汁液が 10^{-6} まで病原性をもっていることから見れば、伝染原としてはかなりの高濃度であろう。

罹病葉の黄色乾燥（火力による乾燥）前後の TMV の濃度の変化については、Busch ら¹⁾ は普通には完全に不活化がおこるとし、Johnson⁴⁾ は室内実験の結果から、黄色乾燥によつては完全な不活化は起らないであろうと述べた。また Pinckard⁵⁾ は乾燥後も活性が残ることを示した。本実験の結果では、ある程度の不活化は認められるようであるが、乾燥した葉からは TMV が抽出されにくいことも考えられるので、更に検討を要する。

電子顕微鏡による、製品から得た TMV の形態の観察では、粒子の長さの分布は罹病生葉から精製したものとはほぼ同様であつたが、製品からのもの及び製品を接種したタバコからのものは、普通系を接種したタバコからのものに比べて、短い粒子の多い傾向があつた。

4. 摘 要

1954年にわが国で製造されていた紙巻6種、刻3種及びそれらの屑、葉巻1種及びパイプ2種の21の製

造工場の製品について、TMV の含まれている状態を研究した。紙巻は実験した126例中123例(97%)、刻は42例中36例(86%)、屑はそれぞれ124例(98%)及び41例(98%)、葉巻は3例中3例、パイプの日光は3例中3例 TMV が検出された。桃山は3例中にいずれも検出されなかつたが、そのうちの焦がしてない黄色の成分からは検出された。*N. glutinosa* を用いた local lesion 法による結果では、紙巻と刻、及び各々とその屑の間の濃度の差には、一定の傾向は認められなかつた。ゴールデンバット新生及び光の3例の濃度は同一重量の罹病生葉に含まれる量の $5 \times 10^{-4} \sim 10^{-4}$ であつた。罹病生葉の汁液は 10^{-6} まで病原性をもつから、伝染原としてはかなりの濃度であろう。電子顕微鏡による観察では、製品たばこから抽出して精製した TMV の長さの分布は、紙巻を接種したタバコ及び TMV の普通系を接種したタバコからとつた TMV とほぼ同様であつたが、前2者には短い粒子の多い傾向があつた。(1956年9月17日受理)

引 用 文 献

1. Busch, H. T. and F. A. Wolf: *Phytopath.*, 23: 839~841. (1933).
2. 福士貞吉: 札幌農林学会報, 22 (102): 305~320. (1931).
3. 日高 醇: ウイルス, 4 (4): 363~366. (1954).
4. Johnson, J.: *Phytopath.*, 28: 18. (1938).
5. Pinckard, J. A.: *Jour. Agric. Res.*, 54 (4): 239~273. (1937).
6. Valleau, W. D. and E. M. Johnson: *Ky. Agr. Exp. Sta. Bull.*, (280): 145~174. (1927).
7. — and —: *Phytopath.*, 17 (8): 513~522. (1927).
8. — and —: *Ky. Agr. Exp. Sta. Bull.*, (376): 221~262. (1937).
9. Wolf, F. A.: *Tobacco diseases and decays.* (1935). pp. 163~164.
10. Youden, W. J. and H. P. Beale: *Contr. Boyce Thompson Inst.*, 6: 437~454. (1934).

Summary

The present paper deals with a study on tobacco mosaic virus (TMV) contained in manufactured tobacco. The following kinds of commercial tobacco which had been manufactured in Japan in 1954, were tested in order to see to what extent they might carry the TMV: 1) six kinds of cigarettes and their scraps, 2) one kind of cigars, 3) two kinds of pipe tobaccos, 4) three kinds of fine cut tobaccos

and their scraps. The samples were collected from 21 factories all over the country, and were tested by rubbing inoculation of tobacco seedlings with extracted juice with carborundum. Of 126, 126, 3, 6, 42 and 42 samples tested, 123 (97%) of cigarettes, 124 (98%) of their scraps, 3 (100%) of cigars, 3 (50%) of pipe tobaccos, 36 (86%) of fine cuts, and 41 (98%) of their scraps, respectively, caused mosaic on

第 1 図

第 2 図

図版説明 同一分割遠心によつて精製したTMVの電子顕微鏡写真。

第1図 紙巻から得たTMV (原液10倍稀釈)

第2図 紙巻を接種したタバコから得たTMV (原液1000倍稀釈)

第3図 TMV標準系統を接種したタバコから得たTMV (原液1000倍稀釈)

第 3 図

inoculated tobacco plants. None of samples of Momoyama, pipe tobacco, caused mosaic. However, the yellow component separated from the sample caused mosaic, though the blackened one did not.

According to the tests of local lesion method on *Nicotiana glutinosa*, there were no consistent differences in TMV concentration between cigarette and fine cut, and between each of them and its scrap.

The TMV concentrations examined in 3 cigarette samples were about $5 \times 10^{-4} \sim 10^{-4}$ of that in fresh mosaic leaf grown in a greenhouse, per same weight. These figures are rather

high, regarding the danger of infection of tobacco plant in the field.

Electron micrographs of three preparations of TMV purified by ultracentrifuge from distilled water extracts of cigarette, from tobacco plants inoculated with the extracts, and from plants inoculated with the ordinary strain of TMV (a strain stocked in our laboratory as an ordinary one), show that the length distribution of particles is generally similar, but there was some indication that the former two preparations contained more short particles than the last one.

(Hatano Tobacco Experiment Station)

新刊紹介

L. Broadbent: Investigation of virus diseases of brassica crops. (Agricultural Research Council Report Series No. 14), 94 P, 1957, Cambridge University Press, 825 円

戦後、英国ではハナヤサイ、ブロッコリなど十字花科蔬菜にバイラス病の発生が多くなり、可成りの被害を蒙るようになった。そこで、畑での病気の蔓延の機構、防除方法を明らかにするため、Dr L. Broadbent が中心となり、Rothamsted 農事試験場、その他英国の各地で行われた連絡試験の結果をまとめたものがこの著書である。試験は 1950～1955 年に行われたものである。まず、英国で発生が多い cauliflower mosaic virus と cabbage black ring spot virus について、病徴、病徴発現に及ぼす諸要因の影響、植物体内でのバイラスの移行分布、host range, properties を比較し、次いで畑におけるこれらバイラスの発生とアブラムシの発生、飛来との関係を論じ、最後に総合的に防除対策を説いている。畑でこれらバイラスの蔓延に関与するのは、英国では *Myzus persicae* と *Brevicoryne brassicae* の 2 種類である。そこで、これら両

種アブラムシにつき、越年、畑における発生状況、季節的消長を詳しく調べ、苗床及び畑における病気の発生とアブラムシの発生、飛来との関係を論じている。特に苗床での発病を防ぐことが防除の第一段階として重要であることを強調し、そのため苗床の隔離や苗床の周囲にオオムギなどの barrier crop を栽培するのが有効であると述べている。その他畑から苗床へ、苗床から畑へ、畑から畑へ、またはひとつの畑の中で株から株へ、アブラムシがどのように移動し、バイラスを蔓延させてゆくかを興味深く述べている。この試験は主にハナヤサイを対象として行われているので、わが国で被害の多いダイコン、カブ、ハクサイなどのバイラス病の対策にはそのまま応用することはできないが、畑におけるバイラス病の発生とアブラムシとの関係を知る上には参考となる。なお turnip yellow mosaic virus, turnip crinkle virus, cucumber mosaic virus についても簡単に触れている。これらのバイラスは英国では発生が少ないか、または地域的に限られており、それ程重要ではない。(与良 清)

文献紹介

トマトの葉捲病 (H. Bremer (1941): Phyto path. Z, 13 (5): 445～480.)

畑でトマトに普通に見られる葉捲症状には、下葉のみ捲く Grundrollen. 全身的に捲く Gesamtrollen, 上葉のみ捲く Wipfelrollen の 3 つの型がある。畑で問題となるのは Grundrollen と Gesamtrollen の 2 者であり、これらはトマトの品種の特性として現われる場合と、トマトの葉に同化生産物が蓄積するような条件 (例えば芽かきをして莖数を 2～3 本に制限したり、花やごく若い果実を除

くような処理) を与えることにより現われる場合とがある。Grundrollen, Gesamtrollen の場合は一度症状を現わしたものは絶対に回復しない。しかもその原因が品種または栽培法と関連しているため、これを防ぐ対策はないが、これらの症状を呈しても果実の収量には影響がないから余り気にする必要はない。一方 Wipfelrollen は水分の欠乏などの条件で一時的に現われるもので、生育条件が変わると再び回復する。(与良清)