ダイコンモザイク病ウイルスに関する研究

V. ダイコン R ウイルスの諸性質

栃原比呂志*

Hiroshi TOCHIHARA: Studies on the viruses of Japanese radish mosaic diseases.

V. Properties of radish R virus.

I. 緒言

ダイコン R ウイルス (RRV) とダイコン P ウイルス (RPV) とは血清的にごく近縁であるが、沈降反応試験における沈降状態が、RPV では紐状ウイルスが一般に示す綿状沈殿を生ずるのに対し、RRV は球状ウイルスが一般に示す粉状沈殿を示す²⁴⁾、そしてこの2つの異なった型を示すウイルスは、ともに各地に広く分布している²³⁾。本報では RRV の寄主範囲、物理的性質、形態などについて報告する。

実験を行なうに当たり、飯田俊武室長ならびに小室康雄技官から絶えず御指導を頂いた。また補体結合反応試験に際しては斎藤康夫技官ならびに高梨和雄技官から御指導を頂き、九州農試西泰道氏と鳥取農試草葉敏彦氏には実験材料を送つて頂いた。以上の諸氏に深謝の意を表する。

II. 供試ウイルスと抗血清ならびに 実験方法

実験に供試した RRV は第4報²⁴⁾で報告した分離系“宮原5(R)”で、これは1958年11月埼玉県宮原で採集したダイコンのモザイク症状株から分離したものである。さらに比較のため下記の3つの分離系ウイルスを供試した。

倉吉2(R): 1960年10月5日、鳥取県倉吉で採集したハクサイから分離したもので、抗RPV (P_0 と筑後10) 血清と抗RRV (宮原5と倉吉2) 血清とのいずれの抗血清とも中和反応し、沈降反応では粉状沈殿を生じ、抗原稀釈限界は低い。純化標品の電子顕微鏡観察では、後述のように、宮原5(R)と同じ型の形態を示した。しかし *Nicotiana glutinosa* に全身感染し

て黄斑、条斑えそ、輪紋状えそ等を生ずる点が宮原5(R)と異なった。寄主範囲で宮原5(R)とわずかに異なるが、形態的に同じ型を示すことから RRV に属させた。

P_0 (P): 1956年5月千葉県松戸で採集したダイコンから分離したもので、第1報²⁰⁾で報告した。

筑後10(P): 1960年4月18日、福岡県筑後で採集のナタネから分離したもので、抗RPV (P_0 と筑後10) 血清と抗RRV (宮原5と倉吉2) 血清とのいずれの抗血清とも中和反応し、沈降反応では綿状の沈殿を生じ、抗原稀釈限界は高い。純化標品の電子顕微鏡観察では、多くが長さ750 m μ 位の紐状粒子を示し、 P_0 (P) と同じ型であつた。しかしソラマメに全身感染して黄斑、条斑えそ等を生ずる点は P_0 (P) と異なった。寄主範囲で P_0 (P) とわずかに異なるが、形態的に同じ型を示すことから RPV に属させた。

第1報では仮分類としてタバコに対する病原性の有無によつてRPVとRRVとに分けた。第4報ではRPVとして P_0 (P) を、またRRVとして宮原5(R)を用いたが、この両分離系では抗原抗体反応試験における沈降状態が異なるところから、これをRPVとRRVとの相違点と考えた。ところがその後多くの分離系を用いて試験を行なつた結果、タバコに対する病原性の有無と沈降状態とは必ずしも並行しないことが明らかになった。本報告では、とりあえず倉吉2(R)をRRVとし、筑後10(P)をRPVとして取り扱うことにした。なおこの点については turnip mosaic virus group の分類という観点で次の報告で論議する予定である。

供試した抗血清は下記の2種である。

抗倉吉2血清: 倉吉2(R)罹病コカブ葉汁液300mlを、クロロホルム処理、硫酸による塩析、分画遠心に

* 農林省農業技術研究所

よつて部分純化し、家兎 2 匹に注射して作製したもので、沈降反応試験での力価は 1 : 1,280。

抗筑後 10 血清：筑後 10 (P) 罹病コカブ葉汁液 180 ml から倉吉 2 (R) と同じ方法で作製した。沈降反応での力価は 1 : 10,280。

接種試験はガラス室内で行なつた。室温、接種方法、供試植物、病原性の測定方法などは、すべて第 4 報²⁴⁾と同じである。

一般に RPV (P₀ と筑後 10) 罹病コカブ葉では、明瞭に病徴が現われている若葉を接種源とした場合、常に高い病原性を示したが、RRV (宮原 5 と倉吉 2) 罹病コカブ葉では明瞭に病徴を示す若葉を用いても、時に非常に低い病原性を示すことがあり、特に発病後日数を経た株でそのようなことが多いので、できるかぎり発病後間もない株から採葉するように留意した。

III. 供試ウイルスの諸性質

(1) “宮原 5 (R)” の寄主範囲と病徴 アブラナ科作物では、多くモザイクを生じ、時にえそ条斑を生ずるものがある。カンランとハナヤサイとには弱い病原性 (主として無病徴) が認められる。チーフーハクサイには主としてモザイクを生じ、チトセハクサイでは主としてえそ条斑を生ずる。シュンギク、ペチュニア、ホウレンソウにはモザイクを生ずる。これらの点は P₀ (P) と一致する。しかしタバコとソラマメとの接種葉に local lesion を生じ、またコカブ (金町) とペチュニアとでは P₀ (P) に比べて病徴がはげしく、chlorosis がひどい傾向がみられた。

第 1 報²⁰⁾と同じ方法で寄主範囲試験を行なつた結果は次のごとくである。() は品種、主な病徴、発病株数 / 接種株数で、病徴が現われなかつたけれども戻し接種のコカブが発病した場合は→戻発病株数 / 接種

株数で示した。m : モザイク, vn : 葉脈えそ, ns : えそ斑点, ys : 黄色の小斑点。

【全身感染したもの】コカブ (金町 m 5/5 5/5), ダイコン (美濃早生 m 6/10, 練馬 m 6/10, 時無 m 5/10, 宮重 m 7/10, 高倉 0/10, 亀戸 m 10/10), カラシナ (m 4/5), クロガラシ (m 3/3), コマツナ (m 10/10), ハクサイ (チトセ vn, ns 10/10 10/10, チーフー m 5/5 6/6), ナタネ (在来) (m 10/10), カンラン (葉深 0/4, 秋播 0/4→戻 4/6 0/5, 富士早生 0/7), ハナヤサイ (房州早生, 無病徴→軽い mottle 0/5 1/3→戻 3/3 0/7), ホウレンソウ (禹城 m, 接種葉に ys 6/6 4/6 3/10, キング m, 接種葉に ys 9/10 4/10, 日本 m, 接種葉に ys 4/10)。

【接種葉に local lesion を生じ、全身感染しなかつたもの】タバコ (Bright Yellow), ソラマメ (房州早生), アカザ, センニチコウ。

【感染しなかつたもの】トマト (ポンテローザー 0/7 0/10), ナタネ (ミチノク 0/6), キュウリ (落合節成 0/6), ササゲ (黒種十六 0/6), サトウダイコン (0/6), *N. glutinosa* (0/6)。

(2) 耐熱性 罹病コカブ葉汁液を 1,500 G 5 分遠心し、その上清を蒸留水で 20 倍 (宮原 5 は 10 倍) に稀釈し、内径 4 mm の薄肉試験管に入れて、所定温度の湯に 10 分間浸した後、水で冷やした。この処理汁液と、対照としての無処理汁液とを、それぞれアカザに接種して病原性をみた結果、宮原 5 (R) は 50~55°C で病原性が失われ、他のウイルスは 55~60°C で病原性が失われた (第 1 表)。

(3) 耐稀釈性 罹病コカブ葉汁液を 1,500 G 5 分遠心し、その上清を原液として、これに 0.05 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) を加えて所定の稀釈液を作り、アカザとコカブとに接種して病原性をみた。結果は、1,000

第 1 表 耐 熱 性

実験 番号	ウイルス	温 度 (°C)					実験期日
		対 照	45	50	55	60	65
1 ^a	宮原 5 (R)	(56)		8 (9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	ク	104 (108)		9 (8)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	P ₀ (P)	>135 (>150)		30 (29)	6 (6)	0 (0)	0 (0)
2 ^b	倉吉 2 (R)	57	32	12	2	0	0
	筑後 10 (P)	154	147	73	16	0	0

^a 実験 1 の数字は local lesion 数の換算値 () 内の数字は半葉当たりの実測 local lesion 数の平均値

^b 実験 2 の数字は 1 葉当たりの実測 local lesion 数の平均値

第 2 表 耐 稀 釈 性

ウ イ ル ス	検 定 物	稀 釈 倍 数									実験期日
		10	20	50	100	500	1,000	5,000	10 ⁴	10 ⁵	
宮 原 5 (R)	アカザ	79 ^a			25	13	5	0			'60 7/ I
〃	〃		109		33		7		1	0	'60 4/ III
〃	コカブ		6/6 ^b		6/6		4/6		1/6	0/6	〃
倉 吉 2 (R)	アカザ			33	27	5	3	0	0	0	'61 13/ VI
筑 後 10 (P)	〃			>191	101	29	19	4	1	0	〃

^a 数字は 1 葉当たりの実測 local lesion 数の平均値, ^b 分数は発病株数/接種株数を示す

～10,000 倍まで感染が認められた (第 2 表)。

種々の試験に際して病原性の定量のため local lesion test を行なつたが、その際罹病コカブ葉汁液の 10～500 倍稀釈液を対照として用いることが多かつた。それらを通覧すると、RRV はつねに同じ稀釈濃度の RPV よりも local lesion 数が少なく、同じ稀釈濃度で 1/2～1/10 位の local lesion を生ずることが多かつた。

(4) 耐保存性

(a) 生汁液の保存性 0.05 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) で 10 倍 (倉吉 2 (R) と筑後 10 (P) とは 20 倍) に稀釈した罹病コカブ (実験 2 ではペチュニア) 葉汁液を 1,500 G 5 分遠心し、その上清を 25℃ に保存し、所定期間後アカザに接種して病原性をみた。実験 6, 7, 8 では 0.02 % の KCN を添加した。結果は第 3 表で、RRV は RPV より早く病原性が失われ、また

第 3 表 生 汁 液 の 保 存 性

実験 番-号	ウ イ ル ス	保 存 日 数								備 考	実験期日
		0	1	2	3	4	5	7	10		
1	宮原 5 (R)	34 ^a	22	3	0	0	0	0			'60 5/ I
2	〃	86	31	28	6	0	0	0			〃
3	倉吉 2 (R)	21	2	1	1	0	0	0	0		'61 13/ I
4	Po (P)	171	120	54	20	4	0	0	0		'60 5/ I
5	筑後10(P)	>150	89	58	51	56	5	3	0		'61 13/ I
6	宮原 5 (R)	66	31	12	4	6	0	0		0.02%	'60 5/ I
7	倉吉 2 (R)	28	14	16	11	2	0	0	0	KCN	'61 13/ I
8	筑後10(P)	>150	133	107	50	50	59	58	27	添 加	〃

^a 数字は 1 葉当たりの local lesion 数の平均値

KCN を添加すると病原性の保存がよくなることが認められた。

(b) 凍結乾燥試料の保存性 宮原 5 (R) 罹病コカブ葉汁液を 1,500 G 5 分遠心し、その上清をアンフルに入れて凍結乾燥し、3～10℃ に保存した。所定期間後蒸留水で稀釈して、アカザに接種し病原性をみた。1961 年 10 月で 30 カ月および 31 カ月を経過したが、いずれの試料にも病原性が保たれている。

(5) クロロホルム処理の影響 宮原 5 (R) および Po (P) のそれぞれの罹病コカブ葉に 2 倍量の 0.05 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) を加え、磨砕搾汁して 2,000 G 10 分遠心し、その上清にクロロホルムを加えて 5 分間振盪し、25℃ に保存した。この処理液を一

定時間後 2,000 G 5 分遠心し、その上清を緩衝液で 10 倍に稀釈して、冷蔵庫 (3～4℃) に保存した。全処理を終えた 2 時間後、アカザに接種して病原性をみた。対照にはクロロホルム処理を行わず 25℃ に保存し、一定時間後 2,000 G 5 分遠心し、その上清を緩衝液で 10 倍に稀釈したものを用いた。結果は第 1 図で、2 回の実験とも同じ傾向を示し、RRV (宮原 5) は RPV (Po) に比べ、病原性の低下が大きい。0 分での病原性は、磨砕搾汁し遠心分離を行なつたものを緩衝液で 10 倍に稀釈し、ただちに冷蔵庫に保存したものについてみたものである。

(6) アブラムシによる伝染 すでに報告したように²⁰⁾ 宮原 5 (R) はモモアカアブラムシにより容易に

第1図 クロロホルム処理

P-1, P-3: RPV 対照区

R-1, R-3: RRV 対照区

P-2, P-4: RPV 処理区

R-2, R-4: RRV 処理区

伝搬される。

IV. ウイルスの純化ならびにウイルス粒子の電子顕微鏡観察

宮原5(R)罹病コカブ葉あるいは罹病ペチュニア葉を第2図の操作で純化した。各操作は室温で行なつたができる限り20°C以下で処理するように心掛けた。この方法では後述するように、得られた標品は原汁液に比べて、かなり病原性が低下していることが多いが、乾重比では、はるかに高くなつており、電子顕微鏡観察結果では幅12~13 μ 以外の粒子はほとんど存在しておらず、ウイルス抗原が十分回収されていることから、多くのウイルスを操作中に捨て去つているとは考えられない。病原性を低下させない方法が見つからないこと、非常に近い系統と考えられているRPVではこの方法でよい純化標品を得ることができることから、とりあえずこの方法にしたがつた。この純化標品をCrでshadowして電子顕微鏡で観察した結果、第3図に示すように、直径12~13 μ *の球状粒子と少数の幅12~13 μ の長短さまざまな紐状粒子とが混ざつて観察された。健全コカブと健全ペチュニアについても同じ純化操作を行なつて鏡検したが、いずれの試料からこのような粒子は認められなかつた。前に報告したRPV(P₀)でも紐状粒子に混ざつて球状粒子が観察されているが、その数はわずかであ

第2図 純化操作

る。

罹病コカブの若い葉と、黄化して枯れはじめた古い葉との、それぞれの汁液について同じ操作で純化を行なつたが、このいずれからでも球状粒子に混ざつてわずかの紐状粒子がみられ、同じ結果であつた。

罹病コカブ稀釈汁液をタバコに接種して、生じた1 local lesionをとつてコカブに接種増殖し、その罹病コカブ汁液を第2図の操作で純化して鏡検したが、結果は同じで、球状粒子に混じつてやはり少数の紐状粒子が認められた。また同一条件の下で栽培したP₀(P)罹病葉と宮原5(R)罹病葉とを、それぞれ同一純化方法(第2図)で平行して純化したが、結果は常に同じで、P₀(P)では700 μ 前後の紐状粒子が圧倒的に多数認められるのに対し、宮原5(R)では多数の球状粒子に混じつて、長短さまざまな紐状粒子が若干

* 四方英四郎氏から分けて頂いた Dow Chemical Company 製の monodisperse polystyrene latex と RRV および RPV とを同視野に入れ、写真に撮つて大きさを比較測定した。

第3図 ダイコンRウイルス
Polystyrene latex は径 557mμ

認められた。

倉吉2(R)と筑後10(P)との罹病コカブ葉を第2図の操作で純化して鏡検したところ、倉吉2(R)は宮原5(R)と同じ型の形態を示し、筑後10(P)はP₀(P)と同じ型の形態を示した。

純化標品の病原性についてはアカザとコカブとに接種して検討したところ、RPV では常に高い病原性が認められるのに対し、RRV では病原性のふれが大きく、原汁液に比べて病原性がかなり低下していることが多かった。球状粒子と紐状粒子との割合は時により少し異なるように思われた。そして紐状粒子の割合が多いと思われる時に概して病原性が高かった。

純化標品の紫外線吸収はRPV(筑後10)では260/280:1.23, 最大値/最小値:1.10でTMVに似た吸収曲線が得られたが(第4図), RRV(倉吉2)では260mμにおける吸収の山が明瞭でないことが多く、RPVに比べて通常1/2~1/15の値を示した。そして280mμに極大吸収は見られなかった(第4図)。

なお罹病コカブ汁液を塩酸または酢酸でpH5にするとウイルスは沈殿するので、純化の際の一操作として使えるが、pH4.5から酸性側に傾くと急速に病原

第4図 紫外線吸収
I:RPV, II:RRV

性が失われた。

V. 補体結合反応法による抗原量の比較

RPV と RRV とは寄主範囲、病徴、および抗原構造がきわめて類似しているが、沈降反応法による罹病コカブ汁液抗原の稀釈限界は、抗原量が大きくは異ならないと考えられるにもかかわらず、RPV と RRV とでは大きく異なる²⁴⁾。これは沈降状態の差からくる肉眼判定の難易によるものであると思われるので、この点を明らかにするため補体結合反応によつて抗原量を比較した。補体結合反応は、抗血清 0.1 ml, 補体 0.2 ml (2 単位), 抗原 0.1 ml を加えて 4°C に一夜おいた後、室温に 15 分おいて、0.1 ml に 1 単位の溶血素と 1% の血球を含む感作血球液を 0.2 ml 加え、38°C の湯槽に約 30 分間入れた後判定する伝染病研究所法によつた。抗血清は 65°C 20 分間加温して非働化した。R 型のウイルスは P 型のウイルスに比べクロロホルム処理や分画遠心等の操作に伴うウイルスの損失が大きい。抗原量を比較するためには損失を最少限にとどめなければならないが、粗汁液では抗補体作用が強くなるため、クロロホルム処理を短時間行ない (5 分), 2,000 G 10 分遠心後上清を 80,000 G 1 時間遠心した。沈殿をリン酸緩衝液で溶かし、5,000 G 5~10 分遠心した上清を抗原とした。分画遠心は時に 2 回行なつた。2 回分画遠心を行なつた抗原はほとんど抗補体作用が認められなかつたが、1 回しか分画遠心しなかつた抗原では弱い抗補体作用が認められた。対照抗原には健全コカブ葉汁液の同処理汁液を用いた。

RPV (筑後 10) と抗 RPV (筑後 10) 血清を用いた場合、抗血清は 800 単位で、抗原は 640 単位であつた (第 4 表)。他の組み合わせによる抗血清単位と抗原単位とは第 5 表のごとくで、RPV 抗原と RRV 抗原とのいずれを用いても抗原単位は大きくは異ならなかつた。

VI. 考 察

宮原 5 (R) はタバコとソラマメとの接種葉に local lesion を生ずるが、この点を除けば P₀ (P) と寄主範囲および諸種植物上の病徴がほとんど一致する。そして抗宮原 5 血清と抗 P₀ 血清とは宮原 5 (R) と P₀ (P) とのいずれともよく反応し、また吸収抗血清による病原性の中和および吸収試験においてわずかに異なる傾向を示したが、対照との差はわずかで、抗原構造の質的差異を認めることができなかった。しかし沈降状態

第 4 表 補体結合反応

実験期日 '61. 10. 13

抗原 抗血清	抗原稀釈倍数								
	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560
抗血清稀釈倍数									
100	4	4	4	4	4	4	4	3	0
200	4	4	4	4	4	4	4	2	0
400	4	4	4	4	4	4	3	0	0
800	4	3	3	4	4	4	3	0	0
1600	4	3	3	3	4	3	0	0	0
3200	0	0	0	0	1	1	0	0	0
6400	0	0	0	0	0	0	0	0	0

第 5 表 抗血清単位と抗原単位

実験期日 '61. 9~10 月

抗血清	抗原	抗血清単位	抗原単位
筑後 10 (P)	筑後 10 (P)	800~1600	640
〃	倉吉 2 (R)	800	640
〃	健全コカブ	200	160
倉吉 2 (R)	筑後 10 (P)	160	320~640
〃	倉吉 2 (R)	80~160	320~640
〃	健全コカブ	40	80

は宮原 5 (R) と P₀ (P) では大きく異なる²⁴⁾。各地産罹病アブラナ科作物から分離されたウイルスには、血清反応における沈降状態が P₀ (P) と同じ型を示すものと、宮原 5 (R) と同じ型を示すものと、共に多数みられたので²³⁾、両型から筑後 10 (P) と倉吉 2 (R) とを選び、寄主範囲ではやや異なるが、それぞれを RPV と RRV とに属させ、RRV の諸性質を明らかにするため、この 4 分離株を用いて実験を行なつた。

アブラムシによつて伝搬される既知のアブラナ科のモザイク病ウイルスは、寄主範囲、物理的性質、発病の温度条件などから、turnip mosaic virus group, cauliflower mosaic virus group, cucumber mosaic virus group の 3 群に大別されている。RRV は RPV に比べて耐熱性と耐保存性がやや低い傾向があるが、RPV と turnip mosaic virus とは相互の抗血清とよく反応し¹²⁾、また RPV と RRV の血清的關係もきわめて近いこと、その他寄主範囲、物理的性質などの点からも、RRV は RPV と同じく turnip mosaic virus group に属すると考える。

Turnip mosaic virus group に属するウイルス粒子の形態については、すでに報告されたものとして Takahashi^{15,16)} の *Brassica nigra* virus (12×700mμ), radish mosaic virus (25×105~120mμ), Bode et al.²⁾ の cabbage black ring spot virus 等 6 分離系 (12~

$13 \times 754 \text{ m}\mu$), Larson et al.⁸⁾ の cabbage black ring virus, Shepherd et al.¹³⁾ の cabbage A strain ($18 \times 680 \text{ m}\mu$), Uschdraweit et al.²⁵⁾ のストックに breaking を生ずる分離系 ($756 \text{ m}\mu$), 栃原²⁰⁾ の RPV ($12 \sim 13 \times 650 \sim 700 \text{ m}\mu$) があるが、球状粒子についての報告はない。最近 Horton et al.⁵⁾ は Takahashi が用いた radish mosaic virus の保存病株から桿状ウイルスは分離できず、cauliflower mosaic virus を分離した。したがって turnip mosaic virus は $12 \sim 18 \times 650 \sim 750 \text{ m}\mu$ の紐状粒子であるとしてよいと考えられる。RPV 粒子はこれとよく一致する。しかし RRV では常に多数の球状粒子と、その他、球状粒子と同じ幅をもつ長短さまざまの紐状粒子とが観察される。しかも $650 \sim 750 \text{ m}\mu$ の長さの粒子はごくわずかしき認められない。この球状粒子と紐状粒子との関係については、単一-local lesion法でウイルスの分離を繰り返して試みても、両者が分別されないことから、2種のウイルスが混じっているものとは考えにくい。クロロホルム処理によつて RPV の場合にも紐状粒子が分割される傾向があることを考えると、球状粒子は純化操作中に紐状粒子が分割されてきたものとも考えられるが、搾汁直後の粗汁液における血清反応での沈降状態が RPV では紐状ウイルスが示すとされている綿状の沈殿物ができるのに反し、RRV では球状ウイルスが示すとされている粉状の沈殿物を生ずること、そのためにスライド法では RPV と異なり RRV では肉眼で凝集を認めることが困難であること、また中和と吸収試験において病原性はよく中和あるいは吸収されていることから²⁴⁾、少なくとも単に罹病葉を磨砕搾汁した状態で、すでに多くのウイルス抗原が球状を示しているものと考えられる。

1960年の病理学会大会²²⁾で、宮原 5 (R) 罹病 コカブ葉からの純化ウイルス標品には、少数の長短さまざまの紐状粒子が認められるが、これは球状粒子が end-to-end の結合によつて生じたものと推定し、多数存在する球状粒子がウイルス粒子と思われる と 発表 した。しかし紐状粒子が多い時に病原性が高い傾向が認められること、turnip mosaic virus の大きさと考えられる $650 \sim 750 \text{ m}\mu$ の長さの粒子が少数ではあるが認められること、そしてこの長さの粒子が多くを占める P_0 (P) や 筑後 10 (P) に比べて病原性がかなり低いこと等から、球状粒子の方が病原性を持つウイルス粒子であるとは考えにくくなつた。

RRV と RPV とは寄生範囲、各種植物上での病徴、ならびに抗原性も類似しているが、RRV は一般に病

原性が低く、RPV が明瞭な病徴を示す葉において常に高い病原性を示すのに反し、RRV では病原性の変動が大きく、特に発病後日を経た株において病原性が一定せず、大きく低下している場合が多い。そして概して純化標品中に紐状粒子の多いと思われる時に病原性が高い傾向が認められた。また RPV と RRV 相互間の中和と吸収試験²⁴⁾ および補体結合反応試験とから、RRV 標品にみられる球状粒子と RPV とは抗原構造が同じか、またはきわめて類似しており、RPV と RRV との罹病コカブ汁液には、RRV にやや少ない傾向は認められるが、ほぼ同量のウイルス抗原が存在するものと考えられる。

Turnip yellow mosaic virus, tobacco mosaic virus (TMV), alfalfa mosaic virus, wild cucumber mosaic virus, latent potato mosaic virus, bushy stunt virus, barley false stripe virus, pea mosaic virus 等に罹病した植物中には、ウイルス粒子とともにそれと外見上同じような粒子や、ウイルスと同じ抗原性をもつ粒子が存在していることが報告されている^{1,3,6,9,11,17,18,19)}。これら粒子は $280 \text{ m}\mu$ に紫外線吸収の極大を示し、ウイルスタンパクと紫外線吸収およびアミノ酸組成がほぼ同じであり、核酸を含まないものが多い。これら粒子に対する C^{14} や N^{15} のとりこみがウイルスの合成に先行することから、これらはウイルスの前駆体であるとの考えも出されたが^{4,7)}、それを否定する結果も報告されている¹⁰⁾。

RRV でみられる球状粒子は抗原性や形態の点で TMVにおける X タンパクや turnip yellow mosaic virus 罹病植物中の top component に類似し、紫外線吸収曲線では wild cucumber mosaic virus 罹病植物から分離された top component¹⁴⁾ と類似している。RRV は RPV に比べて病植物汁液の病原性が低いこと、加温やクロロホルム処理、分画遠心等で病原性が失われやすく、また純化標品中に紐状粒子が多いときに、病原性が高い傾向がみられること、 $280 \text{ m}\mu$ の吸収の山が見られないこと、ある程度の病原性が認められることなどからみて、少量の核酸は含まれているものと考えられる。これらのことから、球状粒子はウイルス合成の過程で副次的に作られたものとは考えにくいし、ウイルスの合成にはタンパクより核酸の合成が先行すると考えられること、発病後日数を経た株がより病原性が低い傾向にあること等からみて、ウイルスの前駆体とは考えられない。球状粒子はむしろウイルス粒子が分割して生じたものであらうと考えている。

VII. 摘 要

ダイコン R ウイルス (RRV) (分離系宮原 5 (R) と倉吉 2 (R) とを供試) の寄主範囲, 物理的性質, 純化, および電子顕微鏡による観察を行なった。比較のためダイコン P ウイルス (RPV) (分離系 P₀ (P) と筑後 10 (P) とを供試) も用いた。

1. 宮原 5 (R) はタバコとソラマメの接種葉に local lesion を生ずる点を除けば, 寄主範囲は P₀ (P) とほぼ同じであつた。耐熱性は 50~55°C 10 分, 耐稀釈性は 1 : 1,000~1 : 10,000, 耐保存性は 25°C で 2~3 日であつた。

2. RRV の純化と同様な操作によつて RRV の純化を試みたところ, 直径 12~13 m μ の球状粒子と, 少数の幅が 12~13 m μ で長短さまざまな紐状粒子とが観察された。しかし RRV その他のカブモザイクウイルス群に属する諸ウイルスで見られている 650~750 m μ の長さの粒子はごく少数しか見られなかつた。この標品の紫外線吸収は 260 m μ と 280 m μ とのいずれにも吸収の山がみられず, 260 m μ 付近に高原状を示す吸収曲線を示した。これと異なり RRV の吸収曲線は 260 m μ に吸収の山がみられ, TMV に似た吸収曲線を示した。

3. 罹病コカブ葉汁液の病原性は, 多くの場合 RRV より RRV が低かつた。しかし補体結合反応試験の結果は両者で大きくは異ならないことを示した。

4. 直径 12~13 m μ の球状粒子は, おそらく長いウイルス粒子が分割されてできたもので, 抗原性は保たれているが, 病原性は失われているのではないかと考える。RRV 罹病コカブ葉の粗汁液を用いて沈降反応試験を行なうと, RRV と異なり球状ウイルスが示す粉状の沈殿物を生ずることからみて, 粗汁液中ですでに多くの球状粒子が存在するものと思われる。

5. モモアカアブラムシは罹病コカブから健全ダイコンに RRV を容易に伝搬した。

6. 罹病コカブ汁液を凍結乾燥保存したものは 31 カ月を経ても病原性を保持していた。

(1962. 4. 30 受理)

引用文献

1. Bancroft, J. B. and Kaesberg, P. (1960). Biochim. Biophys. Acta 39 : 519-528.
2. Bode, O. und Brandes, J. (1958). Phytopath. Z. 34 : 103-106.
3. Commoner, B., Yamada, M., Rodenberg, S. D., Wang, T.-Y. and Basler, E. Jr. (1953). Science 118 : 529-534.
4. Delwiche, C., Newmark, P., Takahashi, W. N. and Ng, M. (1955). Biochim. Biophys. Acta 16 : 127-136.
5. Horton, J. C., Pound, G. S. and Pirone, T. P. (1961). Phytopath. 51 : 434-440.
6. Jeener, R. and Lemoine, P. (1953). Nature 171 : 935-936.
7. Jeener, R. (1954). Biochim. Biophys. Acta 13 : 307-308.
8. Larson, R. H., Matthews, R. E. F. and Walker, J. C. (1950). Phytopath. 40 : 955-962.
9. Markham, R. and Smith, K. M. (1949). Parasitology 39 : 330-342.
10. Matthews, R. E. F. (1958). Virology 5 : 192-205.
11. Newmark, P. and Fraser, D. (1956). Jour. Amer. Chem. Soc. 78 : 1588-1590.
12. Pound, G. S., Tochihara, H. and Shepherd, R. J. Phytopath. (in contribution).
13. Shepherd, R. J. and Pound, G. S. (1960). Phytopath. 50 : 797-803.
14. Sinclair, J. B., Geil, P. H. and Kaesberg, P. (1957). Phytopath. 47 : 372-377.
15. Takahashi, W. N. (1949). Amer. Jour. Botany 36 : 533-539.
16. Takahashi, W. N. (1952). Phytopath. 42 : 623-624.
17. Takahashi, W. N. and Ishii, M. (1952). Phytopath. 42 : 690-691.
18. Takahashi, W. N. and Ishii, M. (1953). Amer. Jour. Botany 40 : 85-90.
19. Takahashi, W. N. (1959). Plant Pathology, Problems and Progress U. S. A. 1908~1958, pp. 495-499.
20. 枋原比呂志 (1959). 日植病報 24 : 287-295.
21. 枋原比呂志 (1959). 同上 24 : 296-301.
22. 枋原比呂志 (1960). 同上 25 : 20.
23. 枋原比呂志 (1961). 同上 26 : 70.
24. 枋原比呂志 (1961). 同上 26 : 125-130.
25. Uschdraweit, H. A. und Valentin, H. (1957). Phytopath. Z. 31 : 139-148.

Summary

This paper deals with the host range, properties, purification, and electron-microscopy of the radish R virus (RRV). Virus isolates "Miyahara 5" and "Kurayoshi 2" were used in the experiments. For comparison, radish P virus (RPV), isolates "P₀" and "Chikugo 10", were also used.

1. The host range of RRV isolate "Miyahara 5" was almost similar to that of RPV isolate "P₀", except that "Miyahara 5" produced local lesions on the inoculated leaves of tobacco, subvar. Bright Yellow, and broad bean. In crude juice from diseased turnip leaf infected with the isolate "Miyahara 5", the dilution end-point was 1:1,000~1:10,000; the thermal inactivation point was between 50~55°C for 10 minutes treatment, and the longevity of the virus was between 2~3 days at 25°C.

2. Virus purification was attempted by procedures, similar to those adopted in the case of RPV. Electron-micrographs showed that final preparations consist mostly of small and apparently spheroidal particles 12~13 m μ in diameter, and a small varying proportion of long and short sinuous rod-like particles 12~13 m μ in width. Particles having a length of 650~750 m μ which are characteristic of RPV and other viruses belonging to the turnip mosaic virus group, could be found only in very small quantities.

3. These quasi-purified preparations of RRV showed UV absorption curves having no peak, but a plateau, in the vicinity of 260 m μ . There was also no maximum absorption at 280 m μ . Purified preparations of RPV, on the other hand, showed a maximum absorption at 260 m μ , the absorption curve being similar to that of tobacco mosaic virus.

4. Infectivity of diseased turnip leaf juice was usually much lower in RRV than in RPV. Using the complement fixation test, concentrations of virus antigen in the juice were found to be about equal in both viruses.

5. It is considered that the spheroidal particles observed in the electron-micrographs may be a product of disintegration of longer virus particles. These spheroidal particles probably are devoid of infectivity, but retain antigenicity. In crude juice freshly obtained from diseased leaves, most of the virus antigen seems to be already in the form of spheroidal particles, because in the case of RRV, reaction of the crude juice with antiserum always produced dense particulate precipitates, instead of bulky floccular precipitates produced in the case of RPV.

6. RRV could readily be transmitted by the aphid, *Myzus persicae*, from diseased turnips to healthy radishes.

7. The virus retained infectivity in frozen-dried turnip juice preparations after 31 months.

(National Institute of Agricultural Sciences,
Nishigahara, Tokyo, Japan)