イネ縞葉枯ウイルスのヒメトビウンカ体内増殖

奥山 哲*・与良 清**・明日山秀文**

Satoshi OKUYAMA, Kiyoshi YORA and Hidefumi ASUYAMA: Multiplication of the Rice Stripe Virus in its Insect Vector, *Laodelphax striatellus* Fallén

Abstract

The present paper describes the results of experiments carried out with the aim of obtaining evidences other than the transovarial virus transmission, of multiplication of the rice stripe virus in its insect vector, the smaller brown planthopper *Laodelphax striatellus* Fallén, and information about the possible site of virus multiplication and pathological effects of the virus on the insect vector.

Serial transfers of the rice stripe virus from insect to insect were made using micro-injection method described by Maramorosch (1952). The virus was successfully carried in 4 serial passages in the smaller brown planthopper. The final dilution of the inoculum used to inject the last group of the series is calculated to be at least 1.25×10^{-6} of the original inoculum, while the virus derived from viruliferous insects was shown to have a dilution end-point between 10^{-2} and 10^{-8} . Groups of planthoppers which had been injected with the juice from viruliferous insects, were macerated 2, 5, 10 and 15 days after the injection, and the preparations were tested for infectivity by inoculating to virus free insects. The inocula prepared from the planthoppers 2 and 5 days after injection were found noninfective, in coincidence with the incubation period in the vector. A 1:10 dilution of the macerate from planthoppers 10 days after injection and a 1:50 dilution of those from planthoppers 15 days after injection proved infective. This suggests that the virus may have multiplied in its vector at least fivefold during the period from 5th to 15th day after injection.

Blood and various organs from viruliferous planthoppers were tested for the presence of virus by the injection method. Virus was recovered from eggs, male reproductive organs, and blood and fat body, while no virus was recovered from alimentary canal.

Male planthoppers following 2 days of acquisition feeding on diseased rice plants were dissected to remove legs, wings, alimentary canal, Malpighian tubules and reproductive organ, and the remaining part was separated into head, thorax, and abdomen. These body parts were incubated for 13 days at 25-27°C in hanging drops of a medium consisting of Takami's salt solution, D-glucose and extract from their respective part. The virus was not recovered from fresh material of these parts, but was recovered from the abdominal part incubated *in vitro* for 13 days. Female and male reproductive organs excised from planthoppers which had fed for 3 days on diseased plants, were incubated for 12 days *in vitro*. From both organs virus was recovered after having been incubated for 12 days, but not before incubation.

* 茨城大学農学部 Faculty of Agriculture, Ibaraki University, Ami, Ibaraki, Japan.

** 東京大学農学部 Faculty of Agriculture, University of Tokyo, Tokyo, Japan.

Cytological examinations of blood corpuscles, reproductive cells, salivary glands, alimentary canal, dermis, and fat body of viruliferous planthoppers showed no consistent, conspicuous changes in these tissues. Histochemical tests for hyaluronic acid, RNA, DNA, lipid, and phospholipid, and phosphatase activity showed no distinct difference between viruliferous and virus-free planthoppers. Relative amount of glycogen and of polysaccharides in the fat body and of mycetome, as determined by Bauer-Feulgen stain and by Lillie method, appeared to be somewhat less in viruliferous planthoppers than in virusfree ones.

(Received December 13, 1967)

I. 緒 言

媒介昆虫体内で増殖する植物ウイルスには、イネ萎縮ウイルス¹⁰⁾をはじめ、すでに6種^{2,4,7,18,21,22,23,26,27,34)}あまりが報じられているが、これらのウイルスは植物と昆虫という2種の異なる宿主で増殖するウイルスとして種々興味深い問題を提起している^{6,24,25,28)}。イネ縞葉枯ウイルスのヒメトビウンカ体内増殖については、経卵伝染の事実、すなわち、山田ら⁴⁰⁾は2年24代、新海は³³⁾6年40代、著者らも6代にわたり高率で伝染する例を得ているが、これは本ウイルスのウンカ体内増殖を示唆する有力な一証と考えられる。しかしさらに別の観点からこれを証明し、また虫体内増殖部位、増殖に関連して、保毒に伴うヒメトビウンカの細胞学的ならびに組織化学的変化の有無について知見を得ようとして若干の実験を試みた。実験は1957年から1960年にわたり東京大学農学部植物病理学研究室において行なったもので、その結果の一部は日本植物病理学会関東部会で発表^{29,30,31)}したが、ここにとりまとめ報告する。本研究を遂行するにあたり、有益な助言を与えられ、実験材料を提供された農林省植物ウイルス研究所新海昭氏、農林省植物防疫課安尾俊氏、農林省北陸農業試験場山口富夫氏、また実験設備の使用を許され、数々の教示を賜った農林省蚕糸試験場小林勝利氏、高見丈夫氏、水稻種子を分譲された埼玉県農業試験場玉井支場の関係各位に衷心からお礼申しあげる。

II. 実験材料および方法

供試イネ品種は、荔支江、水稻農林36号および観音杣である。検定には前二者を用い、ウンカの食じ用には観音杣を供した。接種源用病イネには、新海氏から分譲された保毒ヒメトビウンカで接種発病させた荔支江および水稻農林36号の病株をあてた。無毒ヒメトビウンカは、新海氏から分譲されたものを健全イネで飼育繁殖させて用い、飼育中は必要に応じ、夜間電灯照明を行なってその発育を促した。注射液はウンカにリ

ン酸緩衝液 (0.225 M NaCl 添加 pH 6.98 Sørensen リン酸緩衝液) を所定量加えて、乳鉢ですりつぶし、遠心分離 (2,500~3,000 rpm 5-10 分) を行ない、その上清にごく微量の Streptomycin-Penicillin (製剤名: マイシリン明治) を加えて調製した。注射にはガラス毛細管を接着したマイクロシリンジを用い、あらかじめ CO₂ で麻酔したウンカを左手人差指で支えて、その腹部 3~5 節に注射した。注射後は上端を網寒冷しゃで覆ったガラス円筒 (内径 14-15cm, 高さ 30cm 前後) に入れ、食じ用に健全な観音杣の葉鞘を 15cm 内外の長さに切断して与え、毎日これを取り替えて所定期間集団飼育した。ウンカの単独飼育には、リン青銅製金網管 (内径 3 cm, 長さ 30 cm) を用い、移し替えはキセル型吸虫管で行なった。その他実験に用いた材料および方法は、本文中でその都度記すことにする。

II. 実験結果

1. 継代接種

Maramorosch²²⁾ が10代にわたる継代接種 (Serial passage) で Aster yellows virus の媒介虫体内増殖を証明して以来、同様の方法で数種植物ウイルスの媒介虫体内増殖が証明されている^{7,18,28,34)}。著者らもこの方法に従い、イネ縞葉枯ウイルスがヒメトビウンカ体内で増殖するかを調べた。ウイルス源には、幼虫の全期間病イネを吸わせたウンカの成虫を供した。注射液はリン酸緩衝液を用いて、初代目は10倍、2代目以降は50倍希釈液になるよう調製し、羽化間もない成雌虫の腹部に注射した。注射後はガラス円筒内で10日間集団飼育してから、健全イネ苗で5日間単独飼育し、その後次代の接種源とした。単独飼育に供したイネ苗は、ガラス室内に置いて発病するかを観察した。このようにして4代継代接種した結果は第1表のとおりである。

表にみられるように、4代にわたる継代後には、最初の接種源は少なくとも積算 1.25×10^6 倍に希釈されたことになる。注射に供した成雌虫の体重は平均 1mg、1頭当りの注射量は 0.0002~0.0003 ml であるから、実験

第1表 ヒメトビウンカにおけるイネ縞葉枯ウイルスの継代接種試験結果

継代	希釈倍数	注射虫数	単独飼育した虫数	伝搬虫数	算 希釈倍数
1	10	70	22	6	10
2	50	88	15	4	500
3	50	103	59	2	25,000
4	50	55	7	1	1,250,000

の希釈倍数はさらに大きいと考えられる。しかるにこの4代目でもウイルスの伝搬が認められた。

2. 保毒虫汁液の希釈限度

継代接種の実験に平行して、保毒虫汁液の希釈限度を求めた。すなわち、リン酸緩衝液で保毒虫汁液の10, 50, 100, 1,000倍希釈液を調製して、それぞれ無毒虫に注射し、ウイルスを伝搬するかを調べた。得られた結果は第2表のとおりである。

第2表 イネ縞葉枯ウイルスを保毒したヒメトビウンカ汁液の希釈限度試験結果

希 釈 倍 数	注射虫数	単独飼育した虫数	伝搬虫数
10	40	15	4
50	40	13	3
100	60	25	1
1,000	70	20	0

この結果によると、10, 50, 100倍希釈液を注射したウンカはウイルスを伝搬したが、1,000倍希釈液を注射したウンカは伝搬しなかった。これは保毒虫汁液の希釈限度が100~1,000倍にあることを示すと考えられる。

以上第1, 2表の結果から、保毒虫汁液の希釈限度は100~1,000倍にあるのに、継代接種で最初の接種源が少なくも 1.25×10^6 倍に希釈された4代目でもなおウイルス伝搬がみられたのは、イネ縞葉枯ウイルスのヒメトビウンカ体内増殖を示すと考えられる。

3. 保毒虫汁液注射虫からのウイルス検出試験

本ウイルスのウンカ体内増殖に関連して、保毒虫汁液を注射したウンカから、注射後どのくらい経過すればウイルスが検出されるかを調べた。保毒虫にその10倍量のリン酸緩衝液を加えて調製した汁液を無毒虫に注射し、注射したウンカはガラス円筒内で集団飼育した。これからウイルスを検出するため、注射2, 5, 10, 15日後に20頭あたり取り出してすりつぶし、リン酸緩衝液で所定希釈倍数の注射液とし、無毒虫に注射した。

第3表 イネ縞葉枯ウイルス保毒虫の汁液を注射したヒメトビウンカからのウイルス検出試験結果

注射後日数	希釈倍数	注射虫数	単独飼育した虫数	伝搬虫数
2	10	50	25	0
5	10	39	20	0
10	10	50	31	2
	50	57	36	0
15	50	45	21	4
	100	54	27	0

注射後は常法にしたがい、10日間集団飼育してから健全イネ苗に単独飼育し、ウイルス伝搬の有無を調べた。この結果を第3表に示した。

表にみられるように、ウイルスは注射2, 5日後は検出されないが、10日後は10倍希釈液、15日後は50倍希釈液から検出された。この結果は、ウイルスが注射虫体内で注射5日後から15日後の10日の間に、少なくとも5倍に増殖したことを示すものと考えられる。

4. 保毒虫中の数種部位からのウイルス検出試験

ウイルスのウンカ体内増殖部位について示唆を得ようとして、付随する組織器官を比較的容易に除きうる数種の部分を保毒虫から摘出し、ウイルスの検出を試みた。供試虫は保毒雌虫に保毒雄虫を配して得た子虫を、さらに病イネに放飼したものであり、主として成虫について下記部分を摘出し、注射液とした。

消化管。消化管内の病イネ由来の物質を除くため、供試虫は摘出前24時間健全イネに放飼した。解剖顕微鏡下で摘出した消化管は、リン酸緩衝液で充分洗い、附着している体液および脂肪体を除いた。この消化管80頭分にリン酸緩衝液0.2 mlを加えて乳鉢ですりつぶし、遠心分離(1,300 rpm 5分)した。

体液と脂肪体。CO₂で麻酔した保毒虫の腹部を昆虫針の尖端で切開し、出てくる体液と脂肪体を小試験管に集め、この80頭分にリン酸緩衝液0.13 mlを加えて注射に供した。

卵。CO₂で麻酔した保毒雌虫から取り出した卵を、リン酸緩衝液を5回取り替えて洗った。この卵4.3 mgにリン酸緩衝液0.2 mlを加え、乳鉢ですりつぶし直ちに注射に供した。

雄性内部生殖器官。保毒の成雄虫から解剖顕微鏡下で摘出した内部生殖器官をリン酸緩衝液で充分洗い、この100頭分に0.2 mlのリン酸緩衝液を加え、乳鉢ですりつぶし、遠心分離(1,300 rpm 5分)した。

以上のようにして調製した各部分の注射液を無毒虫

に注射し、常法に従って10日間集団飼育してから、健全イネ苗に単独飼育した。注射虫が死亡するまで飼育を続け、ウイルス伝搬の有無を調べた結果を第4表に示した。

第4表 保毒ヒメトビウンカの数種部位からのイネ絹葉枯ウイルス検出試験結果

部 位	注射虫数	単独飼育した虫数	伝搬虫数
消 化 管	96	41	0
体 液 と 脂 肪 体	60	24	2
卵	74	28	2
雄性内部生殖器官	75	35	1

この結果によれば、ウイルスは体液と脂肪体、卵および雄性内部生殖器官から検出されたが、消化管からは検出されなかった。

5. ヒメトビウンカの培養片におけるウイルス増殖試験

ウイルスのウンカ体内増殖部位についてさらに直接的な証左を得ようとして、ウンカの数種部分の *in vitro* での培養を試み、この培養片にウイルスが増殖するかを調べた。すなわち、ウンカ成雄虫について脚、翅、消化管、マルピギー氏管、内部生殖器官を摘出した体部を頭、胸、腹部の3部分に切断してもの、および雌雄の成虫からそれぞれ内部生殖器官を摘出し、培養に供した。

培養液としては、D-グルコース 1 mg を加えた高見の塩類溶液 (水, 100 ml; NaCl, 600 mg; KCl, 50 mg; $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 5 mg; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 20 mg; NaHCO_3 , 5 mg; 酵母エキス, 500 mg; ラクトアルブミン, 1,000 mg; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 20 mg) を用い、これに各培養部分の汁液 (下記) を 2:1 の割合に混じ、Streptomycin-Penicillin をごく微量加えてから、ザイツろ過管でろ過滅菌した。

各培養部分の汁液は次のようにして調製した。

頭、胸、腹部の汁液。CO₂で麻酔した無毒成雄虫の脚、翅を切除してから80%エタノールに30秒~1分間浸し、殺菌再蒸留水を5回取り替えて洗った。次いで解剖顕微鏡下に置き、胸部をピンセットで押えて固定し、他方の手に持ったピンセットでまず口吻部をはさんで引いて消化管の一部を除き、次に尾端をはさんで引いて残りの消化管とともにマルピギー氏管、内部生殖器官を除いた。残りの体部は頭、胸、腹部に切断分離し、頭、胸部は50頭分に1.5 ml、腹部は50頭分に2.0 ml の割合に殺菌再蒸留水を加え、乳鉢ですりつぶ

した後遠心分離 (3,000 rpm 10分) した。

雌雄の両内部生殖器官の汁液。無毒成雄虫と処女雌虫をそれぞれ80%エタノールに30秒~1分間浸した後、殺菌再蒸留水で充分洗って解剖顕微鏡下に置き、ピンセットで尾端をはさんで引いて各内部生殖器官を取り出した。付随している他の器官を切除後、附着している体液と脂肪体を除くため殺菌再蒸留水を5回取り替えて洗った。次いで、この両内部生殖器官それぞれ100頭分に殺菌再蒸留水を2.0 ml あて加え、乳鉢ですりつぶしてから遠心分離 (3,000 rpm 10分) した。

培養。病イネを2日間吸わせた成雄虫から汁液調製の場合に準じて、脚、翅、消化管、マルピギー氏管、内部生殖器官を摘除し、頭、胸、腹部に切断した。各部分は培養液を3回取り替えて洗ってから培養液を入れた時計皿に移し、接種箱内の紫外線殺菌灯 (10 W 距離 30 cm) で約5分間照射後、ホロースライドを用いて懸滴法で培養した。また3日間病イネを吸わせた雌雄の成虫から摘出した各内部生殖器官は、培養液を4回取り替えて洗ってから同じ要領で培養した。

培養は25~27°Cの定温器で行ない、培養中は毎日鏡検して培養片の状態、雑菌混入の有無を観察した。雑菌混入は10%前後認められた。培養片の明らかな増殖は認められず、雌雄の各内部生殖器官では、日数経過とともに不透明な部分が増加した。

培養片からのウイルス検出。頭、胸、腹部は培養13日後、両内部生殖器官は12日後にそれぞれ取り出し、腹部50頭分、雌雄の各内部生殖器官100頭分には0.15 ml、頭、胸部各50頭分に0.12 ml の割合にリン酸緩衝液を加えて乳鉢ですりつぶし、遠心分離 (2,000 rpm 5分) して、その上清を無毒虫に注射した。なお培養した場合と同じ要領で準備した各部分を、培養することなく直ちに注射に供したのもをもって対照とした。以上のようにして行なった2回の試験結果を、第5表にまとめて示した。

表にみられるように、培養前は各部分ともウイルスは検出されなかったが、培養後成雄虫の腹部と雌雄の各内部生殖器官からそれぞれ検出された。この結果は消化管、マルピギー氏管、内部生殖器官を摘除した、すなわち、これらの部分以外の雄の腹部器官と雌雄の各内部生殖器官で、培養中にウイルスが増殖した可能性を示唆すると思われる。頭、胸部では培養後もウイルスが検出されなかったのは、培養中にこれらの部分が完全に死んだためか、あるいは、もともとこれらの部分にウイルスが存在しなかったか、存在したが増殖

第5表 ヒメトビウソカの培養片におけるイネ縞葉枯ウイルス増殖試験結果

部 位	培 養 前			培 養 後		
	注 射 虫 数	単独飼育した 虫 数	伝 搬 虫 数	注 射 虫 数	単独飼育した 虫 数	伝 搬 虫 数
頭 部	70	39	0	96	50	0
胸 部	76	43	0	80	44	0
腹 部	80	37	0	90	54	3
雌性内部生殖器官	80	37	0	86	53	2
雄性内部生殖器官	80	40	0	83	55	1

しなかったか、増殖しても検出し得る濃度まで達しなかったかの、いずれかと考えられる。

6. 保毒虫の細胞学的ならびに組織化学的観察

以上述べてきたように、イネ縞葉枯ウイルスがウンカ体内で増殖するならば、保毒に伴ないウンカに何か異状を生じないかについて、細胞学的、組織化学的な若干の実験を試みた。実験に供した保毒虫は、保毒雌虫に保毒雄虫を配して得た子虫を、さらに病イネに10日間放飼し、その後健全イネに単独飼育して保毒を確認したものである。

A. 細胞学的観察

固定にはオスミック酸固定液、Bouin 液、Gilson 液のいずれかを用了。前2者で固定したウンカは常法に従い5 μ のパラフィン切片とし、Delafield のヘマトキシリンで核染色してから、1%エオシンで複染色した。また Gilson 液で固定したウンカは6 μ のパラフィン切片とし、Mallory の三重染色法で染色した。

観察結果。保毒虫は計41頭分(4-5令幼虫30頭、成雌虫5頭、成雄虫6頭)、無毒虫は計35頭分(4-5令幼虫25頭、雌雄の成虫各5頭)の染色切片について鏡検した結果、血球、生殖細胞、唾腺、消化管、真皮細胞の核および細胞質の形態には、保毒の有無による明らかな差異は認められなかった。また脂肪体については、保毒虫15頭分(計832個の細胞)、無毒虫10頭分(計566個の細胞)の Bouin 液固定切片について調べた結果、星形など不正形に変化した異状核が、保毒虫では6.2%、無毒虫では5.6%の割合で認められた。しかしこの間に有意な差がなく、また細胞質についても、網目状に変化したものが保毒の有無を問わず同様に観察され、保毒に伴ない特異的な変化は認められなかった。

B. 組織化学的観察

保毒に伴ない組織化学的な変化の有無については、主として4-5令幼虫を供試して調べた。なお炭水化物関係の検出に供したウンカは、すべて水酸化バリウム飽

和メタノールで氷室内24時間の固定を行ない、5-6 μ のパラフィン切片とした。

a. グリコーゲン¹²⁾。あらかじめ37°C 1.5時間の唾液消化をした切片を対照とし、Bauer-Feulgen 法による検出を行ない、Delafield のヘマトキシリンで核染色したのち鏡検した。その結果、脂肪体の細胞質中に陽性反応を示す顆粒が認められ、また菌器(Mycetome)が明らかな陽性反応を示した。この反応程度は、保毒虫では無毒虫より弱い傾向がみられた。

b. 多糖類¹²⁾。Lillie 法による検出を行なった後、Delafield のヘマトキシリンで核染色した。多糖類の確認は McManus のアセチル化法によった。その結果、ウンカの脳、食道下神経球の髄質、菌器、唾腺、消化管および脂肪体で明らかな陽性反応が認められ、とくに脂肪体の細胞質と菌器における反応程度は、保毒虫では無毒虫より弱い傾向がみられた。

c. 炭水化物関係では以上のほか、岡本らの反応¹¹⁾による単糖類、大野法¹²⁾によるコンドロイチン硫酸、ヒアルロン酸の検出を試みた。単糖類とコンドロイチン硫酸については、保毒虫無毒虫とも明らかな陽性反応は認められなかった。ヒアルロン酸については、陽性反応を認めたが、保毒の有無による差異は判然としなかった。

d. 核酸¹²⁾。供試虫は Carnoy 液で33°C 2時間固定して6 μ のパラフィン切片とし、ピロニン・メチルグリーン染色を行なった。この際 RNA の確認は、0.3 M トリクロール酢酸で80°C 30分の前処理、および1%リボヌクレアーゼ水溶液で60°C 3時間の前処理した切片を対照として行ない、DNA は Feulgen 反応で確認した。その結果、脂肪体、消化管、唾腺、真皮細胞の細胞質は RNA 陽性反応を示し、その核は DNA 陽性反応を示した。しかしその反応程度に、保毒の有無による明らかな差異は認められなかった。

e. リポイド¹²⁾。Bouin 液で固定した供試虫を6 μ のパラフィン切片とし、スーダン黒 B 飽和70%エタ

ノールで、室温48時間の染色を行なった。Baker のピリジンで前処理した切片をもって対照とした。その結果、スーダン黒Bで染色したウシカの脂肪体の細胞質は、灰黒色を呈するが、ピリジンで前処理した切片では、その色が淡くなり、リポイドの含まれることが示された。しかしこの呈色程度には、保毒の有無による差異がみられなかった。

f. リン脂質¹²⁾。10% 中性ホルマリン液で室温48時間の固定を行なったウシカを、10 μ の凍結切片とし、Baker の酸ヘマトン法で染色した。この際あらかじめピリジンで処理した切片を対照とした。その結果、脂肪体の細胞質でリン脂質陽性反応を認めたが、その反応程度に保毒に伴う変化はみられなかった。

g. Phosphatase. 10% 中性ホルマリン液で固定したウシカを、常法にしたがって 10 μ の凍結切片とし、井上¹³⁾ に従って acid および alkaline phosphatase の検出を試みたが、両者の活性度に、保毒の有無による判然たる差異は認められなかった。

IV. 考 察

従来経卵伝染の結果から、イネ縞葉枯ウイルスのウシカ体内増殖の可能性が認められていたが、本実験においてもその新たな例証が得られ、さらに虫体内でウイルスが増殖するらしい部位の 1, 2 が示唆された。Trager³⁶⁾ はカイコの卵巣組織を培養し、これに核型多角体ウイルスを接種して多角体の形成されることを観察している。Wyatt³⁹⁾ もこれを確認し、鮎沢ら¹⁾ も同様の事実を認めている。また Trager³⁷⁾ はネッタイシマカの卵巣の培養で、西部ウマ脳炎ウイルスの増殖を示唆する結果を得ている。これらの報告によれば、昆虫卵巣における昆虫ウイルスまたは脊椎動物ウイルスの増殖は、特殊の事例ではないようである。ところで本実験ではイネ縞葉枯ウイルスが、ウシカの雌性内部生殖器官で増殖するらしいという結果を得たが、これは本ウイルスの高率の経卵伝染と密接な関係がありはしないかという推測を起させる。あえて大胆な類推を試みるならば、高率で経卵伝染するイネ萎縮ウイルス¹⁰⁾、European wheat striate mosaic virus³⁸⁾ などは、その媒介虫の卵巣で容易に増殖し、またごく低率にしか経卵伝染しない Wound tumor virus⁶⁾、New Jersey potato yellow-dwarf virus⁵⁾ では、その媒介虫の卵巣での増殖がきわめて限られた程度か、あるいは増殖できず、他の組織器官で増殖したものが移行するのではあるまいか。さらに永続的ウイルスで経卵伝染しない Aster yellows virus¹⁷⁾ ムギ

北地モザイク・ウイルス¹⁴⁾、イネ黒条萎縮ウイルス³²⁾ などは、媒介虫の卵巣で増殖できず、また他の組織器官で増殖したものも移行しないのであろう。

in vitro の培養試験で得られた消化管、マルピギ氏管、内部生殖器官を摘出した成虫の腹部で、ウイルスが増殖するらしいという結果は、腹部のこれらの器官以外の部位、たとえば、体液、脂肪体あるいは菌器などでウイルスが増殖することを示唆すると思われる。この点に関連して、保毒虫の脂肪体と菌器におけるグリコーゲンと、Lillie 法で検出される多糖類の含量が、無毒虫より少ない傾向が認められ、また保毒虫の脂肪体と体液からウイルスが検出されたという結果は興味深い。Littau ら^{19,20)} は Aster yellows virus の媒介虫、Aster leafhopper の保毒に伴う脂肪体の形態的異状および Azure B に対する染色度の低下を認め、吉井⁴¹⁾ はイネ萎縮ウイルス保毒に伴ないツマグロヨコバイの脂質分画リンが増加することを観察し、これは脂肪体における脂肪代謝の異常上昇の結果としている。高橋ら⁸⁶⁾ もツマグロヨコバイがイネ黄萎ウイルス保毒に伴ない、脂肪体の核、細胞質に形態的異状を生ずるほか、ピロニン・メチルグリーン染色性などの変化することを認めている。このような脂肪体における異状は、保毒に伴う栄養生理的障害などの結果とも考えられるが、また一方ウイルス増殖の場としての意義も検討されるべきものと思われる。

従来植物ウイルス媒介虫には、保毒に伴う著しい変化はないとされてきた^{8,9,9,17)}。しかし近年前記した Littau ら^{19,20)} の報告をはじめとし、吉井ら^{41,42)} はイネ萎縮ウイルス媒介虫ツマグロヨコバイについて、呼吸、リン酸代謝などの異常を認め、Jensen¹⁵⁾ は Western X-disease virus の peach yellow leaf roll strain の媒介虫、*Colladonus montanus* Van Duzee が保毒に伴ない生存期間が短縮されると報告した。また Watson ら³⁸⁾ は European wheat striate mosaic virus の媒介虫、*Delphacodes pellucida* Fabricius について、保毒に伴う发育不能卵の産生、産まれる子虫の数の減少を認めている。こうした媒介虫の保毒に伴う細胞学的、生理化学的あるいは生態的異状については、ウイルスの直接的、間接的影響以外の要因の関与することも推測され、さらに検討するべきである。イネ縞葉枯ウイルスの場合、上述した組織化学的異状のほか、保毒に伴うウシカの生存期間の短縮、産まれる子虫の数の減少を示唆する結果をも得ている。つまりイネ縞葉枯ウイルスはウシカ体内で増殖し、ウシカに各種の異状を生ずるらしいという結果は、ヒメ

トビウカはイネなどの植物とともに本ウイルスに感受性の宿主であることを示すものである。

V. 摘 要

1. ヒメトビウカの4代にわたりイネ縞葉枯ウイルスを継代接種した実験で、最初の接種源が少なくとも 1.25×10^8 倍に希釈されたが、これを注射したウンカによるウイルスの伝播が認められた。保毒虫汁液の希釈限度は100~1,000倍にあるから、この結果は、イネ縞葉枯ウイルスのヒメトビウカ体内での増殖を示すと考えられる。

2. 保毒虫汁液を注射したウンカからウイルスの検出を試みた結果、注射2, 5日後の虫体からは検出されなかったが、10日後は10倍、15日後は50倍希釈液から検出された。

3. 保毒虫の体液と脂肪体、卵および雄性内部生殖器官からウイルスが検出された。しかし消化管からは検出されなかった。

4. 高見の塩類溶液にD-グルコースと各培養部分の汁液を加えたものを培養液とし、病イネに2日間飼育後、脚、翅、消化管、マルピギー氏管、内部生殖器官を摘出した成雄虫の頭、胸、腹部を13日間、また病イネに3日間飼育した雌雄の成虫から摘出した内部生殖器官を12日間、それぞれ懸滴法で培養した結果、培養前には検出されなかったウイルスが、培養後には腹部と雌雄の各内部生殖器官から検出された。

5. ウンカの血球、生殖細胞、唾腺、真皮細胞および脂肪体の核と細胞質の形態には、保毒の有無による明らかな差異は認められなかった。

6. ウンカの各組織器官におけるヒアルロン酸、RNA、DNA、リポイド、リン脂質の含量およびacid-ならびにalkaline phosphataseの活性には、保毒に伴う明らかな変化がみられなかった。しかし脂肪体と菌器におけるグリコーゲンとLillie法で検出される多糖類の含量は、保毒虫では無毒虫より少ない傾向がみられた。

引 用 文 献

1. 鮎沢啓夫・阿部文子 (1958). 日蚕雑 27: 165. (講要).
2. Black, L. M. (1941). *Phytopath.* 31: 120-135.
3. Black, L. M. (1943). *Phytopath.* 33: 363-371.
4. Black, L. M. (1950). *Nature (London)* 166: 852-853.
5. Black, L. M. (1953). *Phytopath.* 43: 9-10.
6. Black, L. M. (1959). *The Viruses* 2: 157-185.
7. Black, L. M. and Brakke, M. K. (1952). *Phytopath.* 42: 269-273.
8. Dobrosky, I. D. (1931). *Contrib. Boyce Thompson Inst.* 3: 39-58.
9. Fukushi, T. (1934). *Jour. Fac. Agr. Hokkaido Imp. Univ.* 37: 41-164.
10. Fukushi, T. (1940). *Jour. Fac. Agr. Hokkaido Imp. Univ.* 45: 83-154.
11. Gomori, G. (1952). *Microscopic Histochemistry, Principles and Practice.* Chicago. p. 50.
12. 市川 収 (1957). 細胞化学. 東京. pp. 71, 76-77, 115, 120-122, 140-142, 198-201.
13. 井上駿一郎 (1927). 阪大医雑 4: 133. (講要).
14. 伊藤誠哉・福士貞吉 (1944). 札幌農学会報 36: 62-89.
15. Jensen, D. D. (1959). *Virology* 8: 164-175.
16. 木村郁夫 (1962). 日植病報 27: 197-203.
17. Kunkel, L. O. (1926). *Am. Jour. Bot.* 13: 646-705.
18. Kunkel, L. O. (1937). *Am. Jour. Bot.* 24: 316-327.
19. Littau, V. G. and Maramorosch, K. (1956). *Virology* 2: 128-130.
20. Littau, V. G. and Maramorosch, K. (1958). *Phytopath.* 48: 263. (abst.).
21. Maramorosch, K. (1950). *Phytopath.* 40: 1071-1093.
22. Maramorosch, K. (1952). *Phytopath.* 42: 59-64.
23. Maramorosch, K. (1952). *Phytopath.* 42: 663-668.
24. Maramorosch, K. (1953). *Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.* 18: 51-54.
25. Maramorosch, K. (1955). *Advances in Virus Research.* 3: 221-249.
26. Maramorosch, K. (1955). *Am. Jour. Bot.* 42: 676-678.
27. Maramorosch, K. (1956). *Virology* 2: 369-376.
28. Maramorosch, K. (1958). *Trans. N. Y. Acad. Sci.* 20: 383-393.
29. 奥山 哲・明日山秀文 (1960). 日植病報 25: 40. (講要).

-
30. 奥山 哲・明日山秀文 (1960). 日植病報 25: 219. (講要).	37. Trager, W. (1938). Am. Jour. Trop. Med. 18: 387-393.
31. 奥山 哲・明日山秀文 (1960). 日植病報 25: 219. (講要).	38. Watson, H. A. and Sinha, R. C. (1959). Virology 8: 139-163.
32. 新海 昭 (1957) Virus 7: 434-435. (講要).	39. Wyatt, S. S. (1956). Jour. Gen. Physiol. 39: 841-852.
33. 新海 昭 (1959). 日植病報 24: 46. (講要).	40. 山田 済・山本秀夫 (1956). 岡山農試時報 (55): 35-56.
34. Stegwee, D. and Ponsen, M. S. (1958). Ent. Exp. and Appl. 1: 291-300.	41. 吉井 啓 (1959). ウイルス 9: 415-422.
35. 高橋保雄・関谷一郎 (1962). 応動昆誌 6: 90-94.	42. 吉井 啓・木曾 皓・山口敏春・宮内修三 (1959). ウイルス 9: 453-462.
36. Trager, W. (1935). Jour. Exp. Med. 61: 501-503.	
-