桑樹萎縮病に関する研究 (II) 伝搬並びに桑葉中核酸の健病比較*† 杉浦巳代治 (九州大学農学部)

SUGIURA Miyoji

STUDIES ON THE MULBERRY TREE DWARF (II) TRANSMISSION OF THE MULBERRY TREE DWARF BY RHOMBIC-MARKED LEAFHOPPER (*EUTETTIX DISCIGUTTUS* WALKER) AND COMPARISON OF NUCLEIC ACID OF DISEASED WITH HEALTHY TREES BY ULTRA VIOLET ABSORPTION (Kyushu Univ.)

In this paper the writer described the results of experiments on the transmission of Mulberry dwarf tree by Rhombic-marked leafhopper (*Eutettix disciguttus* WALKER), and of the comparison of nucleic acid of diseased plants with that of healthy plants by ultra violet absorption.

After various acquisition feeding periods ranging from one to 21 days on the diseased plant, the adult leafhoppers were removed and fed on healthy seedlings to test their infectious capability.

In this experiment, the adult of the Rhombic-marked leafhopper, *E. disciguttus* WALKER, were found to become infectious after having been fed on inoculum source plant for 2 or 4 days.

The incubation period of the virus in this insect was between 20 and 40 days. In some cases, transmissibility of the adult leafhopper lasted for 25 days.

According to the test in comparing the nucleic acid of the diseased and the healthy plants by ultra violet absorption, reaching a maximum peak of 260m μ registered a higher absorption value with the upper leaves of the diseased plants than the healthy ones.

桑樹萎縮病は1880年代から研究が行なわれ未だ解決の見通しもついていない病害の一つである。1931年 鋤方¹⁾、1937年 酒井²⁾により本病害がヒシモンヨコバイ (*Eutettix disciguttus* WALKER) による媒介を証明せられ、1939年 河合³⁾が罹病葉にX-体の存在を確認するに至つて本病が植物ウィルス病の一つであると考えられるに至つた。著者は1958年、1959年に桑樹萎縮病の虫媒伝搬を解明するため先ずヒシモンヨコバイの成虫による virus 獲得時間、虫体内潜伏期間、媒介能力の探索を目的として実験を試み、また一方 virus 罹病植物ではその核酸含量が健全に比して増加すること⁴⁾が知られているので健病植物間の核酸を LINDNER *et al*⁴⁾ と SCHNEIDER⁵⁾の方法とで比較を試みた。

実験材料及び方法

虫媒伝搬試験は58年には開場発生している国桑21号の萎縮株を鉢植えて接種源植物とし、59年には58年の実験の結果得られた萎縮株を接種源植物とした。test plant は農林省蚕業試験場より分譲された八丈桑種子と野外で採種した山桑種子を播種し、網室内で virus-free の状態で生育させた一年生実生苗を58年に使用し、59年には八丈桑一年生及び二年生実生苗を供試、ヒシモンヨコバイは58年には福岡県蚕業指導所開場と九大桑園、59年は九大桑園から幼虫及び成虫を採集し、健全実生苗上に5〜10日間飼育後すべて成虫を供試した。接種に際してヒシモンヨコバイを接種源植物上で所定日数

吸汁させ、58年には健全植物上に0〜20日間飼育後 test plant に移行させ、59年には接種源植物上で吸汁させた後5〜10日間隔で順次 test plant に移行させた。接種は3寸鉢に移植した上記実生苗にプラスチックの直径9cm、高さ25cmの円筒で植物を覆い、下端を1〜1.5cm 土壌に埋め、上端を布で閉じその中に吸汁せしめた虫を放飼した。接種処理は兩年共に室内(15〜33°C)で行い、接種終了と共に何れの植物も網室内で管理した。また福岡県蚕業指導所開場に発生した見かけ上萎縮株と健全株の「一の瀬」「譽桑」の両品種について、さらに実験的に虫媒伝搬させた株とその対照株(無毒のヒシモンヨコバイを接種した58年度の処理対照株)についてその核酸を LINDNER⁴⁾と SCHNEIDER⁵⁾の方法で調整した標品について紫外線吸収を測定し比較した。なお開場発生の株については58年6月より11月に至るおよそ5カ月間20日間隔に調査を行つた。

実験結果

1. 虫媒伝搬試験：ヒシモンヨコバイの成虫による伝搬試験の結果は第1表、第2表、第3表に示した如くであつた。第1表は58年に行つた八丈桑実生苗の結果であり、第2表は山桑実生苗で得た結果である。第1表及び第2表によれば2日間の罹病植物の吸汁区で発病がみられ、吸汁後20日間の放飼で伝搬が認められ、その発病率は1958年の見かけ上の判定では19.6% (八丈桑実生苗)と3.3% (山桑実生苗)であつたが、1959年4月に地際より5〜10cm で伐截した結果前者は4.5%と発病率が減少したが後者は3.3%と変らなかつた。第3表は59年6月より9月に至るおよそ4カ月間に行つた結

* 九州大学農学部植物病理学教室業績

† 本研究を行うに当り、種々御指導を賜つた吉井甫教授、木場三朗助教授に深謝の意を表する。

果であつて、罹病株上での吸汁を 1~3 日与えた区では伝搬されず、4 日間の吸汁区で接種後 36~40 日間、5 日の吸汁区で 36~40 日と 46~50 日目に伝搬がみられ、また 10 日間の吸汁区では 21~25 日、31~35 日さらに 26~30 日、31~35 日と連続して伝搬し、21 日の吸汁区では 31~40 日及び 6~10 日、11~20 日、21~30 日と発病をみせ連続 25 日間 virus を保持していた。また本実験中に生まれた仔虫を test した結果では何れも伝搬されていないが伝搬力の有無の判定はさらに詳細な test を必要とすると考える。

2. 桑葉中核酸の健病比較：上記の 2 方法で先づ圃場に発生している健病株の頂部葉中の核酸を紫外線吸収で比較した結果、HCl-alcohol 法では健全株が罹病株のそれより 260 m μ での吸収が大となつたり、また逆に小となつたりして一定の傾向を示さなかつた。然し chloroform-emulsion 法によればいづれの時期の測定結果でも常に罹病葉の紫外線吸収が健全葉のそれより大であり、その maximum peak は 260 m μ に存した。第 1 図は 58 年 7 月 12 日に測定した「一の瀬」の場合であつて上記の傾向がみられる。このような傾向は「魯桑」についても同様であつた。従つて本目的を追求するためには chloroform-emulsion 法が優れていると考えられ以下すべてこの方法で標品の調整を行つた。

葉位別核酸の比較：上で調査した「一の瀬」「魯桑」の同一株について 58 年 7 月 21 日、9 月 27 日、10 月 18 日と 3 回にわたつてそれぞれ頂部葉と下部葉を採集して比較を試みた結果、同一の傾向を 3 回とも示したので、9

月 27 日測定した「一の瀬」の場合を示すと第 2 図の如くであつた。即ち健全株及び罹病株ともに下部葉より頂部葉において 260 m μ での紫外線吸収は大であつた。こ

第 1 表 ヒシモンヨコバイ (*Eutettix disciguttus* WALKER)
成虫による伝搬試験 (八丈桑実生苗, 1958)

Acquisition feeding period (days)	No. of insects per plant	Feeding period on healthy seedling before infection (days)	infection feeding period (days)	No. of tested plants	No. of plants with disease symptom in 1958	No. of plants with disease symptom in 1959
2	1	12	2	1	0	0
2	1	12	6	4	0	0
2	1	12	7	2	0	0
2	1	12	8	4	0	0
2	1	12	9	2	0	0
2	1	12	10	1	0	0
2	1	12	13	1	0	0
2	1	12	14	2	0	0
2	1	12	15	1	0	0
2	1	12	16	1	0	1
2	1	12	17	1	0	0
2	1	12	20	3	0	0
2	2	0	20	12	3	0
2	2	12	20	2	0	0
3	1	20	20	2	1	0
3	2	0	20	6	2	1
3	2	20	20	4	2	0
3	3	0	20	5	1	0
3	3	20	20	2	2	1
5	2	0	20	3	1	0
6	2	0	20	4	0	0
7	3	0	20	3	1	0
Total percentage				66	13 19.6	3 4.5
Controls				66	0	0

第 2 表 ヒシモンヨコバイ (*Eutettix disciguttus* WALKER)
成虫による伝搬試験 (山桑実生苗, 1958)

Acquisition feeding period (days)	No. of insects per plant	Feeding period on healthy seedling before infection (days)	infection feeding period (days)	No. of tested plants	No. of plants with disease symptom in 1958	No. of plants with disease symptom in 1959
2	2	12	20	1	0	0
2	3	12	20	3	0	0
3	3	12	18	7	1	1
4	5	20	20	4	0	0
5	2	12	20	4	0	0
6	2	12	20	4	0	0
10	2	12	20	7	0	0
Total percentage				30	1 3.3	1 3.3
Controls				30	0	0

第 3 表 ヒシモンヨコバイ (*Eutettix disciguttus* WALKER) による伝搬試験
(八丈桑実生苗, 1959)

Acquisition feeding period (days)	No. of insect	Inoculation feeding period (days)	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100	105	110	115	120
1	5		-	-	-	-	-	-	-4	-3	-	-D	-	-D												
2	5		-	-	-4	-	-	-	-2	-	-	-D	-	-D												
3	5		-	-4	-2	-	-	-	-	-	-1	-D	-	-D												
3	3		-	-	-	-2	-	-	-	-	-	-D	-	-D												
4	3		-	-2	-	-	-	-D	-	-	-	-	-	-D												
4	4		-	-2	-	-	-	-	-	+	-	-	F ₁ -	-	-5	-	-4			-2	-1	-	-	-	-D	-D
5	4		-	-	-3	-	-	-	-	+	-	+2	-	-1	-3	-	-		-6	-	-4	-2	-	-	-D	-D
6	1		-	-	-	-	-D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			-1	-	-	-	-	-	-
10	5		-	-	-	-	-	-D	-	-	-	-	-	-	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-
10	5		-	-3	-	-	-	-	-2	-	-	F ₁ -	-10	-	-5	-2	-	-	-	-	-D					
10	3		-	-	-	-	+	-3	+	+	+	+	+	+	+	+			-	-	-	-	-	-	-	-
10	3		-	-	-2	-	-	-	-2	+	+	+	+	+	+	+			-	-	-	-	-	-	-	-
21	5		-	-4	-3	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+			-	-	-	-	-	-	-	-
21	5		-	+	+	+	+	+	F ₁ -	-	-3	-	-	-6	-	-	-D	-D	-4	-	-	-	-	-	-	-

註： + : infected, - : not infected, D : insect died on tested plant,
F₁ : progeny from tested parents, Number : survivors.

第1図 (一の瀬 58.7.12)

HCl-alcohol 法と chloroform-emulsion 法の比較

L : HCl-alcohol 法

S : Chloroform-emulsion 法

D : 罹病

H : 健全

第2図 (一の瀬 58.9.21)

葉位別比較

×---× = 罹病株上葉

×---× = 罹病株下葉

○---○ = 健全株上葉

○---○ = 健全株下葉

第3図 (八丈桑実生 59.9.27)

虫媒伝播による罹病株と対照株の比較

第1~3図 紫外線吸収曲線

の傾向は「魯桑」についても同一であつた。

虫媒による罹病株とその対照株の比較：1958年に行った虫媒伝播試験の結果罹病した株とその対照株の頂部葉をとり chloroform-emulsion 法で調整した標品を比較した結果は第3図に示した。この場合も圃場に発生したみかけ上萎縮株を比較した場合と全く一致してその紫外線吸収は対照株のそれに比して著しく大であつた。

考 察

以上の結果本病はヒシモンヨコバイにより伝搬せられるが、この点については、鋤方¹⁾は一区20匹宛20日間放飼、その後40日目に病徴を呈したと報じ、酒井⁷⁾は本昆虫の若虫期間20日以上を萎縮病桑樹で飼育したものの20匹以上を接種して感染を得ている。また最近田浜⁹⁾はヒシモンヨコバイ10匹或いは20匹を1群として沖縄桑実生苗に接種した結果本病の伝搬を報じている。本実験によればヒシモンヨコバイは2~4日の罹病植物上での吸汁により virus を獲得し、virus は20~40日の虫体内潜伏期間を経て test plant に伝搬された。本昆虫も他のヨコバイ類と同様に比較的長く体内に virus を保持している様である(第3表)。勿論この日数の差異は test plant が実生苗であるためその遺伝因子が雑多であり、かつ昆虫実体の遺伝的因子による差もあるのかも知れない。test 中に生まれた仔虫をそのまま順次 test plant に移行させた結果いずれの場合にも伝搬がみられなかったが、この点についてはさらに詳細な実験を必要とすると考え。

virus 罹病植物中の核酸については下村・平井²⁾は TMV 罹病トマト、TMV と potato X に混染しているトマト、その他の virus 病において罹病が健全よりその核酸含量が多いことを報じ、LINDNER *et al*⁴⁾は Cherry yellows, western X disease 等の virus 病についてその核酸含量を紫外線吸収により比較検討しており、平井²⁾は種々の virus 病の核酸を比較して virus 病の直接診断を検討している。高村・平井⁸⁾は桑萎縮病の核酸について検討し、紫外部吸収スペクトルでは 260 mμ 附近に顕著な peak が見られ、RNA の含量は頂部では健全葉に多く罹病葉に少ない。DNA 含量は健病間に著しい差がなかった。また葉位別核酸分布は健全葉での頂部では特異的に高く、中・下部及び基部葉で急激に減少している。罹病葉ではかかる変化が少なくかつ含量が健全葉に比べ少なかったと報告している。本実験によれば第1図及び第3図で明らかなように chloroform-emulsion 法で得た供試標品の紫外線吸収は罹病葉が健全葉に比して高く、TMV の場合とよく一致した結果を得た。このことは本標品中に virus 粒子の存在を暗示するものではなからうか。また葉位別の比較でも第2図に示したように健病ともに頂部葉は下部葉よりも高い紫外線吸収を示した。

摘 要

1. 本実験によればヒシモンヨコバイは2~4日の罹病植物上での吸汁により virus を獲得し、virus はおよそ20~40日の虫体内潜伏期間を経て test plant に伝搬

された。虫体内に virus を保持する期間は比較的長く実験によれば 20~25 日間であった。

2. chloroform-emulsion 法で調整した供試標品を紫外線吸収による核酸を測定し比較した結果罹病株頂部葉は健全株頂部葉に比して高い吸収を示し、その maximum peak は $260m\mu$ に在った。

引用文献

- 1) 鈴木末彦 (1931): 畜産学報 13 (6), 58
- 2) 平井篤造 (1955): 植防 9, 417~420
- 3) 河合一郎 (1939): 日植病報 9 (1), 16~21
- 4) LINDNER et al. (1952): Science 115, 496~499
- 5) 下村徹・平井篤造 (1956): Virus 6, 394~401
- 6) SCHNEIDER I. R., (1953): Science 117, 30~31
- 7) 酒井信 (1937): 長野県畜試報 39, 1~13
- 8) 高村芳三郎・平井篤造 (1958): 日植病報 23 (1), 30
- 9) 田浦康夫 (1959): 日植病報 24 (1), 32

タバコウドンコ病に関する研究 II. MH 処理葉上における子のう胞子形成について 津曲彦寿

・林 松雄 (日本専売公社鹿児島たばこ試験場)

タバコ作ではえき芽抑制のため心止のあと MH の葉面散布を行つている。MH 処理葉は無処理葉に比し糖が多く葉寄生病菌の発育に好適であり、赤星病・白星病ではその完全時代形成も認められた (1957-8)。ウドンコ病でも従来栽培 タバコ では形成困難であつた子のう胞子が MH 処理葉上ではよく発見されるのでこの間の事情を明らかにする意味で小実験を行つたからその結果を報告する。

実験方法

鉢植の Bright-Yellow (茎丈 30cm) を、着葉 5 枚を残して心部を摘みとり、MH 0.5% 液を 1 株当り 10cc 宛葉面散布する。7 日後殺菌水を噴霧して葉面を洗い、水滴が乾いてから、タバコ葉上から釣りつた単一胞子を接種した。実験は硝子室で行い、供試株はおのおの隔離した。

区別

I 無処理葉無接種	II 同接種
III MH (2 回散布) 処理・無接種	IV 同接種
V MH (1 回散布) 処理・無接種	VI 同接種

実験結果並びに考察

病徴の経過ならびに病植物枯死の状況

区別	Colony			葉の枯死		茎の自然死
	菌層	下部組織の変色	周辺の症状	接種の日から	移植の日から	
I	粗	接種後 25 日頃黄変	全体黄変	56~70 日	98~122 日	128 日
II	粗	50~60 日頃黄変	濃緑の環	98~100 日	130~165 日	106 日
III	密	50~60 日頃黄変	濃緑の環	98~100 日	99~107 日	170 日
IV	密	50~60 日頃黄変	濃緑の環	98~100 日	101~142 日	118 日
V	密	25~30 日頃黄化	濃緑の環	92~115 日	98~120 日	152 日
VI	密	25~30 日頃黄化	濃緑の環	92~115 日	98~120 日	122 日

MH 処理株は無処理株に比べ寿命が長いといわれているが、この表でも III および V 区は I 区よりも自然枯死がおくれており、接種による病葉の枯死もおくれている。病原菌接種初期には接種局部に白粉状の斑紋を形成するのであるが、その周辺の健全組織は普通では黄暈を形成し、MH 処理葉では濃緑色環状のいわゆる green-

land を形成する。病組織の黄化も MH 処理葉はおくれる。タバコの抵抗性品種細胞では菌害に対し死抵抗を働くのであるが MH 処理葉では死反応は観察されない。MH 処理によつて耐病機作がこわされている。

タバコウドンコ病は葉上で一定の斑紋をつくることはなく、全葉に白粉状に広がるのである。MH 処理葉上でも一般と異なるところはないが、刷毛または水で軽く白粉を落とす葉面に密着した菌層の一群を残している (Fig. 1)。病斑初期の green-land の地帯に相当する。病葉末期には菌層上に子のう殻が形成される。

供試葉は接種の日から任意時間毎にその一部をウルトラパークで観察し、胞子の発芽から子のう殻形成まではスンプセットによりその経過を追跡した。スンプ薄板に 1 号液を落とし、あらかじめウルトラパークで目標した部分を裏側から指先で薄板上に押しつける。この場合手首は実験台に定着させないと指先が動いて印画が鮮やかさを欠く。茎の場合は厚板と 2 号液を用いて、押し出し法に従つた。できあがつたプレパラートは葉表面の鋳型であるから顕微鏡で直視光線では凹んでみられるので理解が困難である。集光器を絞りプレパラートに接近せしめ斜光線で見ると鋳型の凹みは凸状となり、菌糸その他葉表の模様をそのまま観察できる。可検葉から検査しようとする部分を切り取つたり、はがしたりせずに便利であること、発芽管の行動がそのままとれるし、また菌糸の膨らみや接合の状況もかなり適確にとれるのでウドンコ病菌のような表面寄生病菌の検査にスンプ法は便利である。切片検査と併行すれば正確な理解ができると思う。

観察結果を総合すると、発芽管は第一次感染を気孔副細胞の縫合部から (Fig. 2)、二次感染は気孔口とは関係なく細胞の縫合部から、または直接細胞に角質侵入をしている。MH 処理葉上の菌糸は (Fig. 3) に示す通り表皮細胞の縫合部の上面 (仮りに谷間とする) を密着して生長する (菌層 Fig. 1 の菌糸)。肥大しており、2~3 本並行している。菌糸接合部でははじめ stalk-cell が肥大し Antheridial-cell は繊細である。スンプでははつきりと