

キュウリモザイクウイルスの感染に関する研究 第8報

ウイルスの移行および病斑の拡大におよぼす温度の影響

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	江原,淑夫 三沢,正生
発行元	日本植物病理學會
巻/号	41巻1号
巻号補足	
掲載ページ	p. 15-23
発行年月	1975年1月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



キュウリモザイクウイルスの感染に関する研究

第8報 ウイルスの移行および病斑の 拡大におよぼす温度の影響*

江原 淑夫**・三沢 正生**

Yoshio EHARA** and Tadao MISAWA**: Studies on
the Infection by Cucumber Mosaic Virus

VIII. Effect of temperature on the virus spreading
and the size of local lesion*

Abstract

Spreading of cucumber mosaic virus in cowpea leaf tissues was investigated in relation to the formation of local lesions. The following results were obtained.

- 1) Local lesions appeared more slowly but the size was larger at 20 C than at 30 C.
- 2) Spreading of the virus from the epidermis to the second cell layer (adjacent to the epidermis) was faster at 30 C than at 20 C, judging from the experiment in which diluted HCl was treated on the epidermis for destroying epidermal functions. Spreading of virus from the epidermis to the third cell layer (adjacent to the second cell layer) was also faster at 30 C than at 20 C, judging from the experiment in which the epidermis were stripped (the second cell layer was naturally destroyed by this treatment).
- 3) The time of spreading of the virus from the second cell layer to the third cell layer was calculated and it was faster at 30 C than at 20 C, but was equal, under the same temperature, in both inoculations with virus particles and its nucleic acid.
- 4) Temperatures were changed from 30 C to 20 C or *vice versa* at the time of virus spreading from epidermis to second or third cell layer. Time of local lesion appearance and the lesion size under the altered temperature conditions confirmed the time-course of virus spreading through leaf cell layers mentioned above.

From these results, the mode of spreading of the virus in leaf tissues and the local lesion formation are discussed.

(Received March 20, 1974)

緒 言

植物ウィルの感染による壊死斑の形成は、糸状菌の場合²⁴⁾のように寄主抵抗現象の1種としてとらえられ、いわゆる過敏反応との関連のもとに検討されてきた^{10,17,23,26)}。他方この見解に対しては反論もあり³¹⁾、壊死斑形成機構ならびにウイルス局在化の問題は現在も未だ種々論議されている^{13,21,22,28)}。

我々はキュウリモザイクウイルス (CMV) と、その感染により壊死斑を形成するササゲ初生葉との組合せ

で、ウイルスの侵入、細胞間伝播から壊死斑の形成に至る過程について検討を加えてきた。その結果 CMV はササゲ葉の表皮細胞内で decoat 後核酸様の状態で葉肉細胞へ移行し、その後は同時に多数の葉肉細胞が感染し、壊死斑の主体となる感染細胞群の形成をみると推定された^{2,3,4)}。感染細胞群の形成後、これらの細胞の壊死はほとんど同時に進行し、その周縁細胞は生理的異常をきたす¹²⁾。またウイルスの感染過程は温度などの環境条件により影響を受ける。

本論文は、CMV とササゲの組合せで、ウイルスの

* 本報告の要旨は昭和43年度日本植物病理学会大会で講演した。

** 東北大学農学部 Faculty of Agriculture, Tohoku University, Sendai, Japan.

移行, 増殖と病斑形成に及ぼす温度の影響を検討し, 病斑形成機構解明の基礎資料を得ることを目的とした。

実験材料および方法

供試ウイルスは, キュウリモザイクウイルス普通系 (CMV-0) であり, タバコ (*Nicotiana tabacum* var. Bright Yellow) で増殖させた。ウイルスは接種タバコ葉から Scott の方法¹⁹⁾ により精製した。ウイルス核酸はフェノール法⁶⁾ により精製ウイルスから抽出した。ウイルスおよび核酸は磷酸緩衝液 (0.1 M, pH 7.0) に懸濁し接種源とした。供試ササゲは品種黒種三尺であり, グロースキャビネット (昼間12時間; 温度 29°C, 照度 3,000 lux, 夜間; 26°C) 中で播種後8~10日の充分展開した初生葉を使用した。接種はカーボラダム (400メッシュ) 散布摩擦法で行った。処理温度は感染率 (病斑形成数) のほぼ等しい 20°C と 30°C⁴⁾ を選定した。処理による感染の比較は対葉法で行った。すなわち, 接種後双葉を葉柄から切り取り, 別々にシャーレ内の殺菌水に浮遊させ, 所定の温度下においた。照明は連続 3,000 lux とした。

病斑の発現時間および病斑の大きさの測定: 接種葉の任意のカ所より 5 mm 角に切り取り, ただちに透過光により検鏡し, 病斑数を数えた。その後全病斑が出そろうまでシャーレ中の殺菌水に再び葉片を浮遊させた。各時間における病斑発現率は最終病斑数に対するパーセントで示した。

病斑の大きさは直接的壊死細胞部位¹¹⁾ (ウイルス増殖による直接原因で壊死したカ所。長時間放置するとその周辺部に二次的褐変が生ずるが, その部分は除く) の直径で示した。

ウイルスの組織内移行時間の測定: 表皮細胞からその下の葉肉第1層細胞への移行時間は稀塩酸 (10⁻³ N) 塗布法^{3,22)} (接種表皮面に塗布し, ウイルス侵入細胞の機能を停止させる) により測定した。表皮細胞から葉肉第2層細胞への移行時間は表皮剝離法³⁾ (表皮を剝離すると, 表皮に接した葉肉第1層細胞は機械的傷害を受け短時間のうちに機能を停止する) により測定した。各実験は3回反復し, 測定値はその平均値で示した。

結 果

I. 30°C および 20°C 下における病斑の発現時間および大きさ

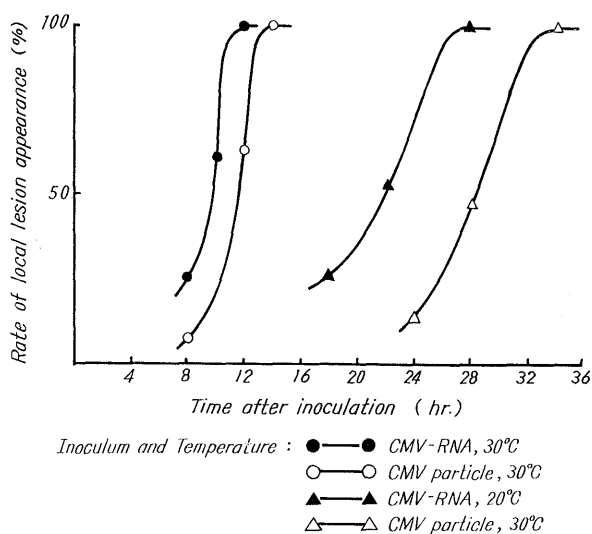


Fig. 1. Rate of local lesion appearance at 20 and 30°C.

病斑発現終了 (100% 発現) 時間はウイルス粒子で接種した場合, 30°C では接種後 14 時間, 20°C ではそれより 20 時間遅れ接種後 34 時間である。ウイルス核酸で接種した場合, 粒子接種の場合に比べ, 30°C では 2 時間, 20°C では 6 時間病斑発現時間が短縮する (Fig. 1)。低温下では decoat を含む感染過程が遅延するものと思われる。

形成する病斑の大きさは温度により明らかに差が認められるが, 同じ温度下ではウイルス粒子接種とウイルス核酸接種の間では形成される病斑の大きさに差は認められない。分布の最大値は 30°C では 101~200 μm にあり, 20°C では 401~500 μm にある。病斑径の平均値についてみると 20°C では 427 μm, 30°C では 194 μm であり, 前者は後者の約 2 倍となる (Fig. 2)。

以上の結果から 20°C では 30°C の場合に比べ病斑発現には長時間を要するが, 形成された病斑は大型となることが認められた。

II. 30°C および 20°C におけるウイルスの組織内移行時間

本項では, 30°C および 20°C におけるウイルスの細胞間移行時間を測定し, 病斑拡大との関係を検討した。

i) 稀塩酸処理の場合

CMV をササゲ葉に摩擦接種した場合, ウイルスは表皮の受傷細胞に導入されて感染が始まる。接種直後, 接種葉面の長時間水洗または稀塩酸の塗布を行うと, ウイルスの侵入門戸となった表皮の第1次感染細胞は生理的障害を受け, ウイルスの他細胞への移行は阻止

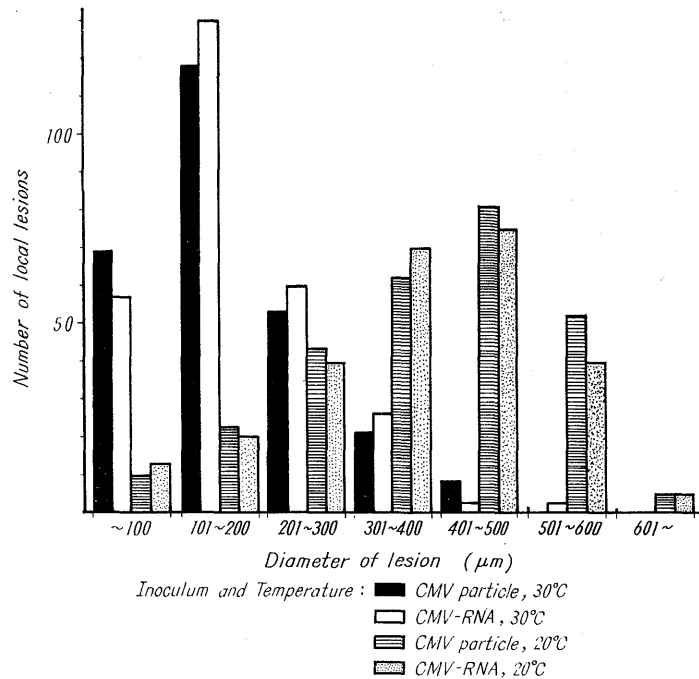


Fig. 2. Distribution of lesion size at 20 C and 30 C.

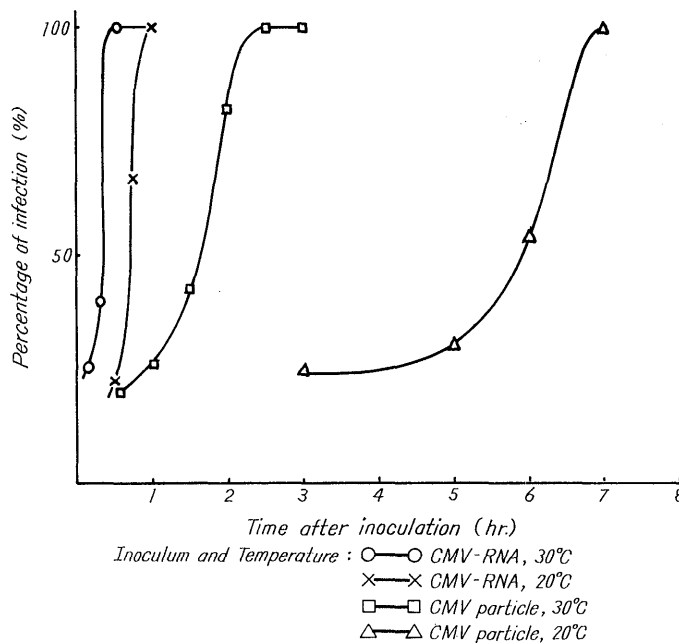


Fig. 3. Effect of dilute HCl treatment on the virus spreading.

され病斑は形成しない^{3,20)}。しかしウイルスが下部の葉肉細胞へすでに達した後は、これらの処理により感染過程は影響されず病斑は形成される。本実験は 30 C および 20 C におけるウイルスの表皮細胞から葉肉細胞

胞への移行時間を知るため、接種葉面を経時的に稀塩酸で処理し感染率*を対葉法で測定した。

$$* \text{感染率} = \frac{\text{処理葉に形成した病斑数}}{\text{無処理葉に形成した病斑数}} \times 100$$

結果は Fig. 3 に示した。すべての感染部位でウイルスが表皮細胞から葉肉第1層細胞への移行を完了する時間 (感染率 100% の時間) は 30°C では接種後 2.5 時間, 20°C では接種後 7 時間であることがわかる。20°C では 30°C の場合に比べ 4.5 時間移行が遅延する。ウイルス粒子接種と同核酸接種における移行時間の差は 30°C では 2 時間であるが, 20°C では 6 時間であり, かなり長い。ウイルス核酸を用いた場合には, 30°C では 0.5 時間, 20°C では 1 時間であり両温度間の差はそれほど大きくはない。これらのことはウイルスの表皮細胞から隣接細胞に移行するまでの decoat を含む過程が 20°C では 30°C の場合に比べ長時間を要することを示している。

ii) 表皮剥離法による場合

ウイルスが表皮細胞から葉肉細胞に達した後であれば表皮を剥離しても, 葉肉部で増殖し病斑を形成する³⁾。接種後, 表皮を経時的に剥離し, 剥離した時間と表皮剥離葉肉部における病斑形成との関係を検討した。既報³⁾で述べたように半葉法で表皮無剥離半葉に形成した病斑数に対する表皮剥離葉肉部位に形成した病斑数のパーセント (感染率) を測定した。表皮を剥離することにより表皮に隣接した葉肉細胞第1層は機械的障害を受け, また外気との接触によって乾燥萎縮し短時間のうちに死滅する。したがって本法ではウイルスが表皮から葉肉第2層に達した時間が測定される。結果は Fig. 4 に示した。

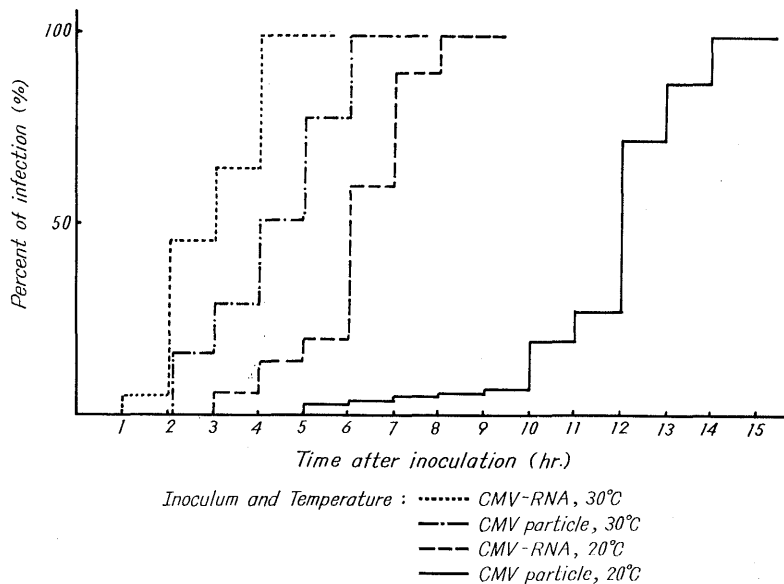


Fig. 4. The time required for the virus spreading from epidermal cells to the second layer of mesophyll cells.

表皮剥離処理による感染率が 100% になる時間についてみると, 30°C ではウイルス粒子接種後 7 時間, 同核酸接種後 5 時間であり, 両者の差は 2 時間である。20°C ではウイルス粒子接種で 15 時間, 核酸接種で 9 時間であり, 両者の差は 6 時間である。これらの 2 時間と 6 時間の時間差は, 稀塩酸処理の場合の両者間の時間差と全く一致する。したがって粒子接種と核酸接種における移行時間の差はすべて表皮の第1次感染細胞内で生じたものと考えられる。

稀塩酸処理および表皮剥離法によって得られた結果からウイルスの組織内移行の時間関係を模式化したのが Fig. 5 である。組織内移行の時間関係はそれぞれの細胞での感染から隣接細胞へ移行するまでのウイルスの行動時間と表現することが出来る。すなわち, 表皮の第1次感染細胞から葉肉第1層の第2次感染細胞への移行に 30°C では 2.5 時間, 20°C では 7 時間を要し, 第2次感染細胞群の形成から次に感染する細胞群 (第3次) への移行に 30°C では 4.5 時間 (7-2.5), 20°C では 8 時間 (15-7) を要している。

III. 接種後の温度処理と病斑形成

本実験はウイルスの移行範囲と病斑の発現, 拡大との関係をさらに明確にすることを目的とした。前項で明らかにした 20°C および 30°C でのウイルスの各細胞層への移行時間の関係 (Fig. 5) から接種後の温度処理の時期と時間を以下のように 4 種に組合せ (Fig. 6), 病斑の発現時間と形成した病斑の大きさを測定し, 既

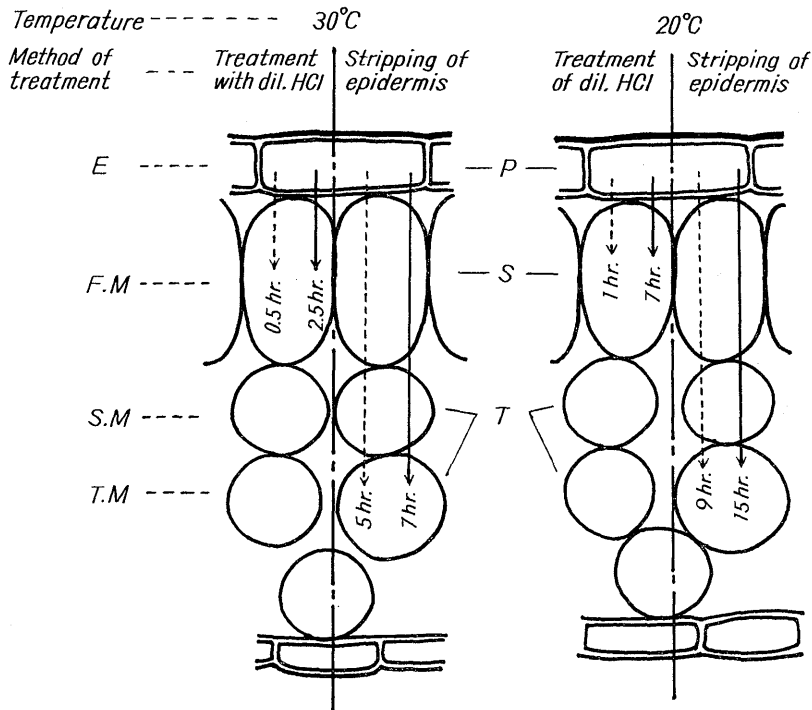


Fig. 5. Diagram illustrating the time required for the virus spreading at 20 and 30°C.

→ Inoculation with virus particle

.....→ Inoculation with viral nucleic acid

E; Epidermal cell. F, S; First layer of mesophyll cells. S, M; Second layer of mesophyll cells. T, M; Third layer of mesophyll cells. P; Primary infected cell. S; Secondary infected cells. T; Tertiary infected cells.

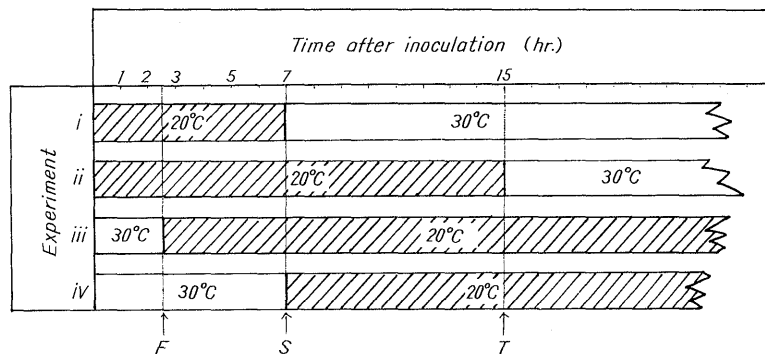


Fig. 6. Diagram showing experimental design to test the effect of changing temperature on the development of local lesions.

F: Virus spreads to the first layer of mesophyll cells at 30°C.

S: Virus spreads over the second layer of mesophyll cells at 30°C, and virus spreads to the first layer of mesophyll cells at 20°C.

T: Virus spreads to the third layer of mesophyll cells at 20°C.

述の連続 30°C および 20°C の場合と対比した。

i) 接種後 7 時間 20°C におき、その後 30°C に移した場合
形成した病斑の大きさの分布を Fig. 7, i) に示した。

分布のヒストグラムは連続 30°C の場合とほとんど変わらない。全病斑の発現には 19 時間を要する (Fig. 8, i)。すなわち連続 30°C の場合より 5 時間遅延する。こ

の時間は20℃および30℃下における表皮細胞から葉肉第1層に移行する時間の差(7-2.5)の4.5時間とほぼ一致する。したがって20℃下における表皮から葉肉細胞への移行時間の遅れが、その後の30℃下における病斑の発現時間に影響したと考えられる。

ii) 接種後15時間20℃におき、その後30℃に移した場合

形成した病斑の大きさの分布を Fig. 7, ii に示した。分布のヒストグラムは連続30℃の場合とほぼ等しい。病斑発現は連続30℃の場合より8時間遅れる (Fig. 8, ii)。接種後連続20℃においた場合、ウイルスの第3次感染細胞群への移行に接種後15時間を要し、連続30℃では7時間と測定され、その差は8時間である。連続30℃の場合は接種後14時間で全病斑が発現するから、この時間に8時間を加えると22時間となる。すなわち20℃下で第3次感染細胞群の形成に30℃下よりも8時間遅延し、そのために本実験における病斑形成時間は、連続30℃の場合より8時間遅延したものと考えられる。

iii) 接種後2.5時間30℃下におき、その後20℃に移した場合

形成した病斑の大きさの分布を Fig. 7, iii に示した。分布の最大値は401~500 μm にあり、病斑径の平均値は421 μm である。分布のヒストグラムは連続20℃のものにほぼ等しい (Fig. 8, iii)。病斑の発現は連続20℃の場合(34時間)より約4時間早い。接種後2.5時間30℃下において、この時間内にウイルスは表皮細胞から葉肉第1層細胞へ移行を終えている。20℃ではその時間は7時間であり、ウイルスの表皮から葉肉部への移行時間が、2.5時間の30℃処理で4.5時間(7-2.5)短縮したことになる。そのため本実験では病

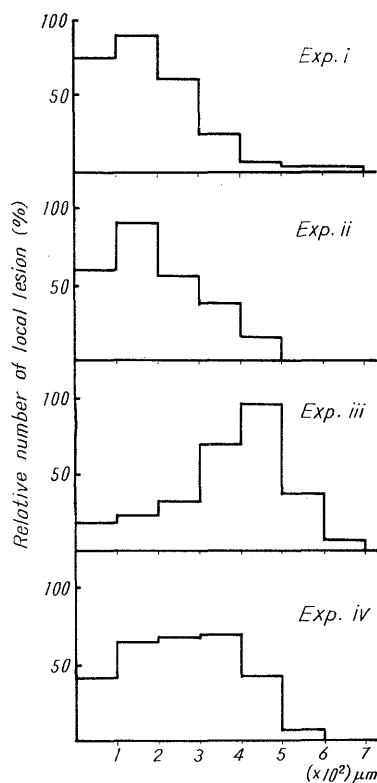


Fig. 7. Distribution of the lesion size under various temperature conditions shown in Fig. 6.

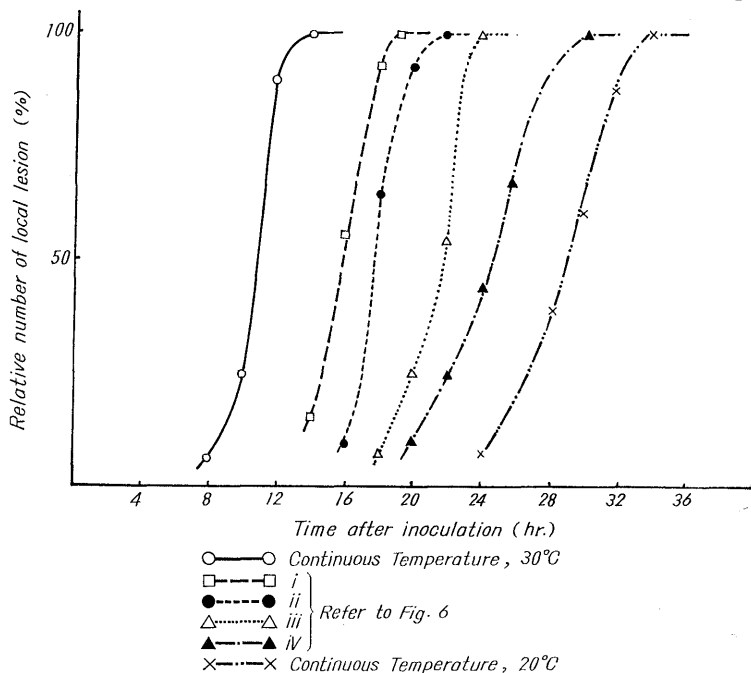


Fig. 8. Rate of local lesion development under various temperature conditions shown in Fig. 6.

斑発現時間が約4時間短縮したものと考えられる。

iv) 接種後7時間30℃下におき、その後20℃に移した場合

形成された病斑の大きさの分布を Fig. 7, iv に示した。平均値で比較すると連続20℃の場合より小さいが、連続30℃の場合よりは大きくある。分布のヒストグラムも両者の中間的である。接種後24時間で全病斑が発現する (Fig. 8, iv)。接種後7時間30℃下にあり、ウイルスは第3次感染細胞への移行を完了しており、その後20℃下へ移されたため、感染細胞の壊死が連続30℃の場合よりも10時間(24-14)遅延し、他方ウイルスの移行増殖が引き続き進行し、そのため連続30℃の場合よりも病斑面積は拡大したものと考えられる。

論 議

CMV 接種によりササゲ葉に形成される病斑数は20℃および30℃の温度下で大差はない⁴⁾。しかし20℃では、30℃の場合より病斑の発現に長時間を要し、形成した病斑の大きさは大型となる。同様なことは都丸も CMV・ササゲの系で認めている²⁵⁾。一般にウイルス感染による病徴の発現は全身感染、局部感染を問わず温度が低くなるにつれて遅延する^{1,8,14)}。形成される病斑の大きさはウイルスの移行・増殖の範囲と密接な関係にある。20℃および30℃におけるウイルスの組織内移行時間について、稀塩酸処理法、表皮剥離法を併用し測定した結果を病斑の発現時間と共にまとめると Table 1 のようになる。表中の値は全病斑発現(病斑発現率100%)の時間である。Harrison は TNV と French bean の組合せで⁷⁾、Welkie は CMV とササゲの組合せで²⁷⁾、ウイルスが表皮から葉肉部へ移行する時間は低温の場合ほど遅延すると報じているが、本実験の結果も同様である。

表皮細胞に導入されたウイルス粒子は、そこで decoat などの過程を経て、葉肉細胞へ移行するが、稀塩酸処理と表皮剥離法による測定値には明らかな差が認められることから、表皮細胞からただちに葉肉の数層の細胞へ移行することは考えられない。第2次感染細胞は葉肉の第1層細胞にかぎられると考えられる。そこで一定時間経過後(30℃では4.5時間(7-2.5), 20℃では8時間(15-7))第3次感染細胞群への移行が行なわれる。既報⁴⁾したように第3次感染細胞群への移行完了後、比較的短時間内に多数の細胞がほぼ同一の形態変化を起すことから、第3次感染細胞群はかなり多数の細胞と推定され、local lesion の壊死細胞群の主体をなすものと考えられる。

従来、ウイルス粒子で接種した場合よりも、同核酸で接種した場合の方が感染の成立がはやまることが報告されてきた^{5,9,18)}。本実験においてウイルス核酸で接種した場合、ウイルス粒子で接種した場合よりも表皮から葉肉の第1層および第2層への移行時間、病斑の発現時間のいずれも短縮され、しかもそれぞれの短縮時間は同じであった (Fig. 1, (A)-(B), (C)-(D), (E)-(F); 20℃では6時間, 30℃では2時間)。ウイルス核酸および同粒子接種による移行および病斑発現時間の差は、すべて第1次感染細胞である表皮細胞における decoat を含む過程の有無によって生じたと考えられる。両温度下でのウイルス核酸接種を比較すると表皮より葉肉第1層への移行時間は30℃では30分、20℃では1時間であり、さほど大きな差は認められない。すなわちウイルス核酸で感染した第1次感染細胞からのウイルスの移行は、供試温度の範囲では、温度によりあまり影響されないと考えられる。20℃ではウイルス粒子接種において第1次感染細胞から第2次感染細胞への移行にかなり長時間を要したことは、低

Table.1. The inclusive results of experiments on the virus spreading and the development of local lesion

Inoculum Temperature (C)	Time of appearance of local lesion (hr.)		(A)(B)	Time of spreading of virus (hr.)						(Q)(P)	
				From epidermal cell to first layer of mesophyll cell (by dil. HCl treat- ment) (P)		(C)(D)	From epidermal cell to second layer of mesophyll cell (by epidermis strip- ping) (Q)		(E)(F)		
	Particle (A)	Nucleic acid (B)									
	20	34		28	6	7	1	6	15	9	6
30	14	12	2	2.5	0.5	2	7	5	2	4.5	4.5
Difference	20	16		4.5	0.5		8	4			

温下では第1次感染細胞でのウイルス粒子の decoat 過程等が遅延することを示している。

前述のようにウイルスが葉肉第1層細胞（第2次感染細胞）に留っている時間は20℃では8時間、30℃では4.5時間である（Fig. 1, (Q)-(P)）。この時間はウイルス粒子、同核酸のいずれで接種した場合でも完全に一致している。すなわちウイルス粒子、同核酸のいずれで接種しても、ウイルスが葉肉の第2次感染細胞へ移行した後の移行・増殖経過は全く同一になると考えられる。ウイルス粒子および同核酸接種のいずれの場合でも、同じ温度下では形成される病斑の大きさは共に等しいこともこのことを示している。

表皮細胞から葉肉細胞への移行を各段階別に温度制御すれば病斑の発現時間は期待通りに遅延が生じた。実験 III の i), ii) 項の結果が示すように、表皮細胞→葉肉第1層細胞、表皮細胞→葉肉2層細胞へのウイルスの移行を温度制御すれば期待通りに全病斑形成時間が遅れてくることが分かる。しかもこれらの条件下で形成される病斑の大きさは、連続30℃下に置かれた場合と同じであった。iii), iv) 項の実験は、前2種の実験と異なり表皮細胞→葉肉第1層細胞表皮細胞→葉肉第2層細胞へのウイルスの移行を30℃下で速やかに行なわせた後、その後の移行を低温（20℃）で抑制したものである。これ等の場合は葉肉第2層細胞までの移行速度が支配して、全病斑形成時間を短縮している。病斑の大きさは iii) の実験では連続30℃下のものより大きく20℃下のものと変わらない。また iv) の実験では連続20℃と連続30℃下の大きさの中間になっている。以上の結果は、病斑の大きさを決定するのは、第3次以降の感染細胞群を構成する細胞数の多少によることを推定させる。これらの細胞数は感染による細胞機能の変化に左右されるものであろう。

これまでタバコおよびインゲンと TMV との組合せで、壊死斑の形成に伴い周辺組織はウイルスに対し抵抗的となることが報じられてきた^{15,16,29,30)}。局部病斑の発現とともにウイルス増殖は抑制され、病斑の固定化とともに増殖は停止する傾向がある¹³⁾。本実験においても、壊死の発現時間の長短と形成される病斑の大きさは密接な関係にあることが示され、局部病斑の発現がウイルスの移行、拡大を阻止するとの印象を与える。しかしウイルスの移行・増殖停止が病斑発現後であるとは言いきれない。すなわち病斑発現への生理代謝の変換と、その進行によって病斑発現以前にすでにウイルスの移行・増殖が停止する可能性もある。

摘 要

キュウリモザイクウイルスとササゲの組合せで、20℃および30℃の温度下におけるウイルスの移行・増殖と病斑形成との関係について検討した。

1) 20℃の場合は30℃の場合に比べ病斑発現に長時間を要するが、形成される病斑は大型となる。

2) 両温度下におけるウイルスの細胞間移行時間を稀塩酸処理法および表皮剥離法により測定した。20℃では30℃に比べ表皮細胞内でのウイルスの decoat を含む過程に長時間を要し、その後のウイルスの増殖移行時間も遅延する。

3) 20℃でも30℃でも、第2次感染細胞数は共に等しい。

4) 接種源がウイルス粒子でもウイルス核酸でも、第2次感染細胞以降の移行過程は同じになる。

5) 病斑の大きさは第3次以降の感染細胞へのウイルスの移行時の温度に影響される。すなわち壊死の発現に関連する感染細胞の生理機能の異常の発現時期と形成される病斑の大きさは密接な関係がある。

引用文献

- 1) Bawden, F. C. (1950). Plant virus and virus disease, 3rd. ed Chronica. Botanica Waltham. Mass. pp 29-36.
- 2) Ehara, Y. and Misawa, T. (1967). Tohoku Jour. Agri. Res. 18: 11-17.
- 3) Ehara, Y. and Misawa, T. (1967). Tohoku Jour. Agri. Res. 17: 193-200.
- 4) Ehara, Y. and Misawa, T. (1969). Tohoku Jour. Agri. Res. 20: 107-118.
- 5) Engler, R. and Schramm, G. (1956). Nature 183: 1277-1279.
- 6) Gierer, A. and Schramm, G. (1956). Nature 177: 702-703.
- 7) Harrison, B. D. (1956). Ann. Appl. Biol. 44: 215.
- 8) Kassanis, B (1957). In Advances in Virus Research (Smith, K. M. and Lauffer, M. A. eds). Academic Press, New York. pp 225.
- 9) Kassanis, B. (1959). Jour. Gen. Microbiol. 20: 704-711.
- 10) Melchers, G., Jockusch, H. and Sengbusch, P. V. (1966). Phytopath. Z. 55: 86-88.
- 11) Misawa, T. and Ehara, Y. (1964). Tohoku Jour. Agri. Res. 14: 143-162.
- 12) 三沢正生・江原淑夫 (1967). 日植病報 33: 98-

- 99.
- 13) 大沢 淳・山口 昭 (1970). 日植病報 36: 254-259.
- 14) Otsuki, Y., Shimomura, T. and Takebe, I. (1972). Virology 50: 45-50.
- 15) Ross, A. F. (1959). Phytopathology 49: 549.
- 16) Ross, A. F. (1961). Virology 14: 329-339.
- 17) Samuel, G. (1931). Ann. Appl. Biol. 18: 494-507.
- 18) Schramm, G. and Engler, R. (1958). Nature 181: 916-917.
- 19) Scott, H. (1963). Virology 29: 103.
- 20) Semal, J. (1962). Virology 16: 230-235.
- 21) Shimomura, T. (1971). Phytopath. Z. 70: 185-196.
- 22) 下村 徹 (1972). 日植病報 38: 75-80.
- 23) Solymosy, F., Farkas, G. L. and Kiraly, Z. (1959). Nature 184: 706-707.
- 24) Stakman, E. C. (1915). Jour. Agri. Res. 4: 193-200.
- 25) 都丸敬一 (1967). 秦野たばこ試報. 58: 1-18.
- 26) Walker, J. C. (1953). Bot. Rev. 19: 606-643.
- 27) Welkie, G. W. and Pound, G. S. (1958). Virology 5: 362.
- 28) Wu, J. H., Blakely, L. M. and Dimitman, J. E. (1969). Virology 37: 658-666.
- 29) Yarwood, C. E. (1953). Phytopathology 43: 490.
- 30) Yarwood, C. E. (1960). Phytopathology 50: 741-744.
- 31) 吉井 甫 (1968). 日植病報 34: 69-72.