

ウイルスに全身感染させた葉の熱処理または冷処理による local lesion の誘起

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	大橋,祐子 下村,徹
発行元	日本植物病理學會
巻/号	37巻3号
巻号補足	
掲載ページ	p. 211-214
発行年月	1971年6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



ウイルスに全身感染させた葉の熱処理または 冷処理による local lesion の誘起

大橋 祐子*・下村 徹*

Yuko OHASHI* and Toru SHIMOMURA*: Induction of Local Lesion
Formation on Leaves Systemically Infected with Virus
by a Brief Heat or Cold Treatment

Abstract

The present paper deals with the induction of lesion formation by heat or cold treatment on TMV- or CMV-infected systemic hosts and also TMV-infected lesion hosts predisposed to systemic infection.

1) TMV-inoculated leaves of systemic hosts, *N. tabacum* Xanthi, *N. tabacum* Samsun, and *Petunia hybrida*, developed local lesions if they were immersed 2 days later in hot water (50°C) for 2min. CMV-inoculated leaves of systemic hosts, *N. glutinosa* and *Petunia hybrida*, also developed local lesions by the heat treatment.

2) The similar heat treatment resulted in local lesion formation on TMV-inoculated leaves of local lesion hosts, *N. glutinosa*, Xanthi nc and Samsun NN, during incubation at 30°C, a temperature at which no lesions appear and TMV spreads systemically.

3) TMV-inoculated leaves of local lesion hosts, *N. glutinosa*, Xanthi nc, and Samsun NN, developed local lesions if they were immersed 2 days later in ice water for 5 sec to 2 min during incubation at 30°C.

4) The similar cold treatment occasionally resulted in local lesion formation on TMV-inoculated leaves of systemic hosts, Xanthi, Samsun, and *Petunia hybrida*.

5) Usually, heat treatment applied 2 days after inoculation induced dark necrotic rings which appeared in 15 to 20 hours after treatment, whereas cold treatment resulted in white necrotic rings which appeared in 1 to 2 hours. When leaves of *N. glutinosa* bearing lesions induced by heat treatment 2 days after inoculation with TMV were immersed in ice water 4 days after inoculation, dark necrotic rings developed around each original lesion during incubation at 30°C. (Received January 4, 1971)

I. 緒 言

タバコ・モザイク・ウイルス (TMV) を接種した systemic host (トルコタバコ) の葉に接種2日後2分間の熱処理 (50°C) を加えると、この葉に local lesion が形成されることについては、すでに Foster¹⁾ および筆者ら²⁾ によって報告された。それでは *N. glutinosa* や *N. tabacum* Xanthi nc などの local

lesion host の葉に TMV を接種後 30°C に保ち (この場合接種葉に local lesion は形成されず、TMV は systemic host における場合と同様に全身的に感染する)、この葉に一時的に以上のような熱処理を加えた場合にも lesion は形成されるであろうか。また、Shimomura³⁾ の結果によると、このように全身感染させた local lesion host の葉を低温 (22°C) に 1-2 時間置くと、以後ふたたび 30°C に保ったままでもこの葉に lesion が形成されるが、この場合、より低温 (0°C) で短時間処理した場合には形成されるであ

* 植物ウイルス研究所 Institute for Plant
Virus Research, Chiba, Japan.

うか、もし形成されるとすれば systemic host を同じく低温 (0°C) で処理した場合にはどうであるか、などが次の問題として提起される。

筆者らは以上の問題を中心に実験を試み、その結果の一部はすでに速報⁴⁾したが、ここにその詳細を報告する。

II. 実験材料および方法

供試植物は、TMV の systemic host として *N. tabacum* Xanthi, *N. tabacum* Samsun, および *Petunia hybrida* (ペチュニア) を、local lesion host として *N. glutinosa*, *N. tabacum* Xanthi nc, および *N. tabacum* Samsun NN を、キュウリ・モザイク・ウイルス (CMV) の systemic host として *N. glutinosa*, Xanthi, Xanthi nc, およびペチュニアを用いた。供試ウイルスは、TMV は普通系統 OM 株を用い、0.1-0.01 mg/ml の濃度の純化液を供試植物に接種した。CMV は CMV 普通系に罹病した *N. glutinosa* の葉の生体量に等量のりん酸緩衝液 (pH 7.0, 0.01M) を加えて乳鉢内で磨砕し、これを供試植物に接種した。供試植物の温度処理は、熱処理の場合は恒温水槽の熱水を、冷処理の場合は氷水 (0°C) を用い、切取葉または鉢植のままでの植物の葉について行なった。切取葉の場合は接種後葉をベトリ皿内の湿室に保ち、鉢植の場合は接種後そのまま、おのおの所定温度に調節した陽光定温器内の連続照明下に置き、所定時日後に温度処理を行ない、処理後はふたたび定温器内に納め lesion 形成の有無を観察した。

III. 実験結果

1. Systemic host の葉の熱処理による lesion の誘起

前報²⁾では、TMV と Xanthi または Samsun の組合せで、熱処理による lesion 形成の条件について検討したが、本実験では以上のほか TMV とペチュニア、CMV と *N. glutinosa*, Xanthi, Xanthi nc およびペチュニアとの組合せで、熱処理による lesion 形成の有無を調べた。切取葉または鉢植の植物の葉にウイルスを接種してから一定温度に2日間保ったのち (TMV を接種した葉の場合は 30°C, CMV を接種した葉の場合は 25°C), 50°C・2分間の処理を行ない、処理後はいずれも 30°C に保った。その結果、TMV と Xanthi または Samsun との組合せのほか、TMV とペチュニア、CMV と *N. glutinosa* またはペチュニアとの組合せでいずれも lesion が形成され

た。

2. 高温で全身感染させた local lesion host の葉の熱処理による lesion の誘起

N. glutinosa, Xanthi nc および Samsun NN の切取葉または鉢植の植物の葉に TMV を接種してから 30°C に2日間保ったのち、50°C・2分間の処理を行ない、処理後ふたたび 30°C に保った。処理後数時間で緑色の斑紋がみられたが、さらに10数時間経過してから lesion が形成された (Fig. 1a)。接種後連続して 30°C に保った対照の無処理葉には、lesion は形成されなかった。この lesion は *N. glutinosa*, Xanthi nc および Samsun NN の葉に TMV を接種してから 30°C に2日間保ったのち、低温 (22°C) に移したままにした場合にその葉に形成される lesion (Fig. 1b) に外観が同じで、いずれもリング状であった。処理の時間は、50°C の場合は40秒では明瞭でない緑色のリングが、80秒で不明瞭な褐色のリングが、2分の処理で明らかな褐色のリングが形成された。55°C の場合は10秒間の処理でも、50°C・2分の処理で出現するリングに匹敵する明らかな褐色のリングが形成された。これらの処理の条件と lesion 形成の関係は、切取葉を用いた場合と鉢植の植物の葉を用いた場合とで、後述の冷処理においてみられるような特別な差は認められなかった。しかし、供試した3種の植物の中では、いずれの場合も *N. glutinosa* の葉を供試した場合にもっとも明瞭な lesion が形成された。

3. 高温で全身感染させた local lesion host の葉の冷処理による lesion の誘起

前項と同じ植物を供試し、接種後同様に 30°C に2日間保ったのち、葉を氷水 (0°C) 中に2分間浸漬し、ふたたび 30°C に保った。処理後、Fig. 1c に示すような白いリング状の lesion が処理葉に形成されたが、白色化した部分の組織が崩壊しているにもかかわらず、30°C に保たれている間はこの部分が黒化しない点が、前項の熱処理による lesion とは異なっていた。冷処理による lesion 形成の条件は、熱処理によるそれと異なり、処理する葉の葉位によって、あるいは鉢植の植物の葉と切取葉とで、処理後の lesion 形成までに要する時間がいちじるしく異なる。たとえば *N. glutinosa* の中位葉6葉を用い、その中で一番上の葉を第1葉として以下最下葉の第6葉までの葉を切取葉として用い比較すると、第1葉では処理後20分、第3葉では40分で lesion 形成が始まるのに反し、第4葉では1時間程度、第5・6葉では2時間前後経

過してから形成され始めた。また、切取葉と鉢植の植物の葉の間で比較すると、前者では処理後早くとも 20-30 分経過してから形成され始め、15 時間程度たってから完成するが、後者では早い場合には 15 分以内に形成され始め、30 分から 1 時間で完成した。冷処理の時間に関しては、5, 10, 30, 60, 120 秒の各処理を試みたが、処理時間の長短にかかわらず lesion 形成に要する時間に差がみられなかった。また熱処理の場合と同様、供試した 3 種の植物の中では、*N. glutinosa* の葉を供試した場合にもっとも明瞭な lesion が形成された。

4. 高温で全身感染させた local lesion host の葉に、熱または冷処理によって形成された lesion の比較

両処理による lesion 形成の条件には、以上の第 2・第 3 項で述べた点で差がみられる。しかし、両 lesion がウイルスが感染した同じ部位を中心に形成されるものと考えられることは、*N. glutinosa* の切取葉に TMV を接種し 30°C に 2 日間保ったのち熱処理を加え、さらに 30°C に 2 日間保って冷処理を加えると、熱処理によって形成された lesion の周囲に冷処理による lesion (褐色のリングとなる) が形成されることから明らかである (Fig. 1d)。また Table 1 に示したように、TMV を接種後 30°C に保った *N. glutinosa* の半葉に冷処理により形成される lesion の大きさは、同じ葉の他半葉の熱処理により形成されるそれと差がないことおよび両処理により形成されたり

Table 1. Diameter of lesions formed on leaves of *N. glutinosa* inoculated with TMV, measured at intervals after inoculation

Days after inoculation	Diameter of lesions (mm)			
	Detached leaf		Intact leaf	
	Heat	Cold	Heat	Cold
1	0.75	0.73	0.50	0.57
2	2.75	2.70	2.00	1.90
4	5.00	5.00	3.90	3.70

Detached or intact leaves of *N. glutinosa* were inoculated with TMV, and after 1-4 days incubation at 30°C, both leaves were split along the midrib. One half of each leaf was immersed in hot water, and the another half was immersed in ice water. The size of lesions formed on treated leaves were measured.

ングの幅が同じであることなどから、両処理による lesion は、ウイルスが感染した部位を中心として、その増殖が新たに活発に行なわれている部位に形成されるものと考えられる。

5. Systemic host の葉の冷処理による lesion の誘起

第 3 項の実験で、高温で全身感染させた lesion host の葉を冷処理することによって lesion が形成されることが明らかになったので、ウイルスに感染した systemic host の葉の冷処理で、この葉に lesion が形成されるものかどうかをつぎに検討した。

Xanthi または Samsun の葉に TMV を接種し、30°C に 2 日間保ったのち、10 秒-1 分間の冷処理を行なってからふたたび 30°C に保ち、lesion 形成の有無を観察した。実験の結果、高温で全身感染した lesion host の冷処理の場合に比べ、この場合は lesion は形成されにくく、播種後 2 ヶ月以内の若い植物の葉を用いた場合にまれに形成されるようであった。形成される lesion は、lesion host の葉の冷処理によって形成される lesion と同じく白いリング状となったが、不鮮明でしかも全葉に均一におこる場合が少な

Table 2. Local lesion formation by a brief heat or cold treatment of leaves systemically infected with virus

Virus	Host plant	Incubation temperature (°C)	Lesion formation	
			Heat	Cold
TMV	Xanthi (systemic host)	30	○	●
	Samsun (〃)	〃	○	●
	Petunia (〃)	〃	○	○
	<i>N. glutinosa</i> (local lesion host)	〃	○	○
	Xanthi nc (〃)	〃	○	○
	Samsun NN (〃)	〃	○	○
CMV	<i>N. glutinosa</i> (systemic host)	25	○	●
	Xanthi (〃)	〃	●	●
	Xanthi nc (〃)	〃	●	●
	Petunia (〃)	〃	○	●

Detached or intact leaves of various hosts were inoculated with virus, and after 2 days incubation at various temperatures, the inoculated leaves were immersed in hot water or in ice water and then incubated at 30°C. ○: Lesions formed. ●: Lesions occasionally formed. ●: No lesions formed.

く、部分的にかたまっておこることが多かった。また切取葉よりも鉢植の植物の葉に処理した場合に形成される確率が高かった。TMV とペチュニアの組合せで同じ実験を行なった結果では、切取葉を供試した場合にもかなり高い確率で形成されたが、CMV と *N. glutinosa*, Xanthi, Xanthi nc, およびペチュニアの各組合せではいずれの場合も形成されなかった。

TMV または CMV と各宿主の組合せの葉に、熱処理または冷処理を加えた場合の lesion 形成の有無の結果をまとめたのが Table 2 である。

IV. 考 察

TMV と systemic host (トルコタバコ) の組合せで、熱処理による lesion が形成されることは前報²⁾で述べたとおりであるが、本実験で TMV とペチュニアの組合せで、CMV と *N. glutinosa* またはペチュニアの組合せで、熱処理による lesion が形成されることが明らかとなった。Foster ら¹⁾の報告では、CMV とトルコタバコの組合せで lesion が形成されるとしているが、本実験の結果では、CMV と Xanthi または Xanthi nc の組合せで lesion は形成されなかった。熱処理による lesion の形成は、供試植物の葉の老若その他の条件に左右されることが大きいから²⁾、実験条件についてさらに検討を加えれば形成される可能性があろう。ここで供試したのは2種類のウイルスについてだけであるが、汁液接種で感染することのほかのウイルスと systemic host の組合せの多くで、熱処理による lesion の形成がおこるのではないかと考えられる。

高温で TMV に全身感染させた lesion host の葉を熱処理した場合にも lesion が形成されることがわかったが、このような葉を冷処理した場合にも同じく lesion が形成されることが本実験の結果明らかとなった。これら両処理による lesion は、ウイルスが感染増殖した同じ部位において形成されるものであることが第4項の結果から想像される。この場合、両処理による lesion はいずれもリング状となるから、温度処理に感受性の高い部位はウイルスの増殖が新しく活発に行なわれていると思われる部位であって、すでに増殖が完了したか下火になったと思われる部位では処理による細胞の壊死がおこらないようであった。これらのことから、この温度感受性部位にはウイルスの感染増殖に伴ってなんらかの変化が起きているために、熱水あるいは氷水による処理が lesion 形成に導く一連の反応への引き金引きとして働くのではないかと考

えられる。

第5項の実験結果から、TMV に感染した systemic host の葉を冷処理した場合にも lesion が形成される（形成の確率は低い）ことがわかり、結局、systemic host・local lesion host いずれを問わずウイルスが宿主の葉内で全身感染している場合には、その葉の熱処理および冷処理によって本質的には lesion が形成されることが明らかになった。

以上述べてきたような温度処理による lesion 形成の機構を解明することは、local lesion host に普通に形成される local lesion 形成機構の解明にもそのままつながるものと考えられるが、これらの点については今後の検討が必要である。

V. 摘 要

1. TMV を接種した *N. tabacum* Xanthi, *N. tabacum* Samsun などの systemic host の葉を接種2日後熱水 (50°C) で2分間処理すると、この葉に lesion が形成されることを前報で述べたが、本実験の結果では、以上のほか、TMV とペチュニア、CMV と *N. glutinosa* またはペチュニアの各組合せでも同処理による lesion が形成された。また、TMV を接種した Xanthi, Samsun およびペチュニアの葉を接種2日後氷水 (0°C) で10秒-1分間処理することによっても、確率は低いこれらの葉に lesion が形成されることを確認した。

2. 高温 (30°C) で TMV に全身感染させた *N. glutinosa*, Xanthi nc, および Samsun NN などの local lesion host の葉を接種2日後熱水 (50°C) で2分間処理すると、その後ふたたび高温に保ったままでも、これらの葉に lesion が形成された。また、このように全身感染させた葉を接種2日後氷水で5秒-2分間処理した場合にも lesion が形成された。

3. 冷処理によって形成される lesion は、形成の速度が速く（早い場合は処理後1時間で完成）白いリング状となり褐変しない点が、熱処理によって形成されるそれとは異なっていた。熱処理による lesion は処理後15-20時間で形成され褐色のリング状となった。

引用文献

- 1) Foster, J. A. and Ross, A. F. (1968). *Phytopathology* 58: 1050. (abstr.)
- 2) 大橋祐子・下村 徹 (1971). *日植病報* 37: 22-28.
- 3) Shimomura, T. (1971). *Phytopath. Z.* 70: 185-196.
- 4) Shimomura, T. and Ohashi, Y. (1971). *Virology* 43: 531-532.

Plate I

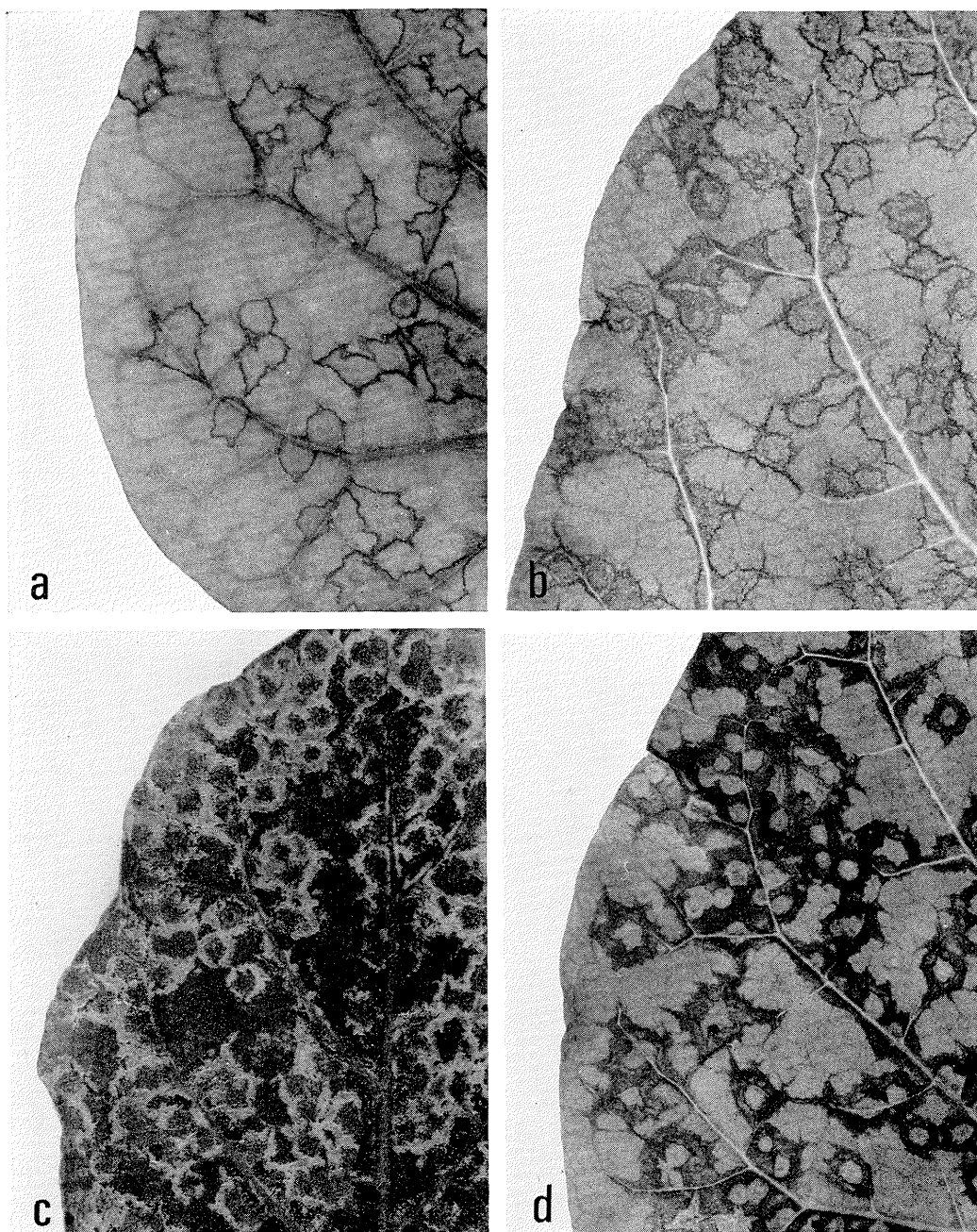


Fig. 1. Local lesions resulting from temperature treatments of leaves of *N. glutinosa*.

The treatments were made on detached, TMV-inoculated leaves after 2 days incubation at 30°C.

a: immersed in hot water and then incubated at 30°C,

b: transferred to 22°C,

c: immersed in ice water and then incubated at 30°C,

d: immersed in hot water 2 days after inoculation and immersed in ice water 4 days after inoculation during incubation at 30°C.