

キクのもザイク病葉からのウイルスの検出, Sepharose 2B gel濾過クロマトグラフィーの利用

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者	谷口, 武 樋口, 春三 福田, 正夫
巻/号	41巻5号
掲載ページ	p. 502-503
発行年月	1975年12月

キクのモザイク病葉からのウイルスの検出, Sepharose 2B gel 濾過クロマトグラフィーの利用

谷口 武*・樋口春三**・福田正夫**

Takeshi TANIGUCHI, Haruzo HIGUCHI and Masao FUKUDA: The Detection of a Virus (es) from Chrysanthemum Leaves Showing Mosaic Symptom, by Means of Sepharose 2B Gel Filtration Chromatography

Abstract

By passing juice from chrysanthemum leaves with mosaic or mottle symptom through a Sepharose 2B gel filtration column, fractions which gave infections on *Chenopodium amaranticolor*, zinnia, tobacco (Samsun NN and Bright Yellow) and *Nicotiana glutionsa* were recovered, whereas the unfiltered juice was noninfectious. This recovery of fraction with infectivity was due to the elimination of several inhibitors in chrysanthemum by the chromatography.

愛知県蒲郡地方にキクのもんもん病と呼ばれる葉にモザイクまたはモットル症状を示す病気が相当以前から発生している。本病の病原については現在のところ明らかでないので、本研究では罹病植物よりウイルスの検出を試みた。キクの病葉から得た磨砕汁液をそのまま他植物へ接種をしても発病はしなかったが、この汁液をクロマトグラフィーにかけて得られたウイルス分画を接種源として用いると、感染することが明らかになったのでその概要を報告する。

現地より罹病植物を採集し、使用するまでフリーザー中に凍結保存した。これらのキクの品種は乙女桜、精明の花および百年桜である。また健全株として莖頂組織培養株を用いた。病葉を等量または倍量の磷酸緩衝液 (PB と略す, pH 7.0, 0.1 M) または 0.02 M Na_2SO_3 を含む PB (pH 7.0, 0.08 M) で磨砕し、ガーゼでしぼって得た汁液を接種源とした。ササゲ、タバコ (Bright Yellow, および Samsun NN) および *Chenopodium amaranticolor* に接種をしたがいずれの植物も感染しなかった。

感染しなかった原因の一つとして、他の多くの植物と同様にキクの汁液中にウイルス感染阻害物質が存在する可能性が考えられる¹⁾。インゲンに含まれる感染

阻害物質とタバコモザイクウイルス (TMV) の混合物は Sepharose 2B ゲルカラムクロマトグラフィーで分離できる²⁾。すなわちウイルスの分子量は 10^7 程度であり、 10^6 以上の分子はゲル中に拡散できず、クロマトグラフィーをおこなうと最初のピークの部分に溶出する。しかしそれ以下の小型の分子はゲル中に拡散し遅れて溶出する。同様な目的で Sephadex G 50 および G 100 が用いられた報告があるが³⁾、G 100 の分子量の限界は 10^5 であり、中性条件のクロマトグラフィーではウイルスと阻害物質が同じ位置に重さなって溶出することがある⁴⁾。それ故に Sepharose 2B の方がウイルスから他の物質を除くには利用価値がある。

Sepharose 2B カラム (2.5×25 cm) にマーカーとして TMV を流し展開した結果を Fig. 1 A に示した。一方キクの汁液を遠心 (8,000 rpm, 20 分間) し、得た上清をカラムに加え展開した (Fig. 1 B)。試料はいずれも 8 ml 加え、次に pH 7.0, 0.1 M PB を流し、流出液を 8 ml ずつ集め OD 260 nm を測定した。TMV の大部分はフラクション番号 5 および 6 で流出する。一方キクのピーク 1 はそれ程明確ではないが、この部分を取り植物に接種した。Table 1 に示されたように

* 名古屋大学農学部 Faculty of Agriculture, Nagoya University, Nagoya, Japan.

** 愛知県農業総合試験場 Aichi-ken Agricultural Research Center, Nagakute, Aichi, Japan.

1) Bawden, F. C. (1954). Advan. Virus Res. 2: 31-57. 2) 谷口 武 (1974). 日植病報 40: 282-287.

3) Nienhaus, F. and Yarwood, C. E. (1972). Phytopathology 62: 313-315. 4) 谷口 武・中島俊夫・

山口直明・長縄行雄 (1974). 日植病報 40: 304-308.

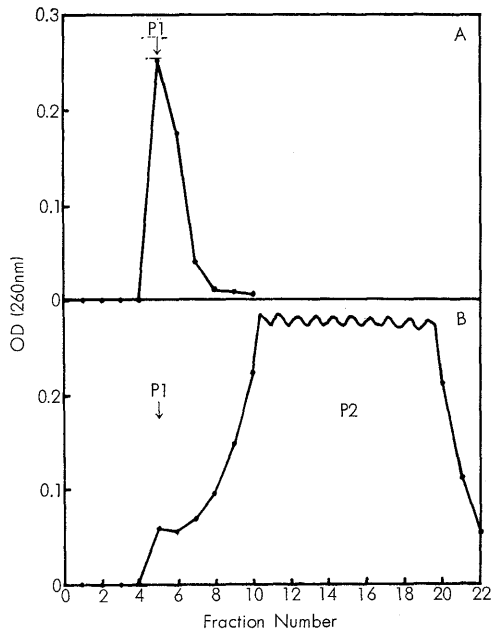


Fig. 1. Gel filtration chromatography of TMV (A) and the sap of chrysanthemum leaves showing mosaic symptom (B) on a Sepharose 2B column (2.5×25 cm).

Solvent: 0.1 M phosphate buffer pH 7.0. A: TMV eluted at the position of P1. B: P1 contained high molecular weight substances and showed infectivity. P2 contained low molecular weight substances.

C. amaranticolor, 百日草に局部病斑を生じ Bright Yellow, Samsun NN および *N. glutinosa* に全身病徴がみられた。

つぎに、健全なキクの汁液が TMV の感染に対して阻害力をもつかどうかを調べた。キクの葉を等量の pH 7.0, 0.1 M PB で磨碎し、ガーゼでしぼる。得た汁液に TMV (40 µg/ml) を等容の割合で混合し、Samsun NN の半葉に接種した。他半葉は対照として TMV に PB を 1:1 の割合で混合したものを接種した。接種後すぐに水洗し、植物を約 24 C 蛍光灯照

Table 1. Results of inoculation to some plants with the virus fraction obtained by Sepharose 2B gel chromatography of sap of chrysanthemum leaves showing mosaic symptom

Plant Name	Symptom
<i>Chenopodium amaranticolor</i> (アカザ属)	Local
<i>Nicotiana tabacum</i> var. Samsun NN (タバコ)	Systemic
<i>Nicotiana tabacum</i> var. Bright Yellow (タバコ)	Systemic
<i>Nicotiana glutinosa</i>	Systemic
<i>Zinnia elegans</i> (ヒヤクニチソウ)	Local
<i>Vigna sesquipedalis</i> (ササゲ)	None
<i>Petunia hybrida</i> (ペチュニア)	None
<i>Chrysanthemum coronarium</i> (シュンギク)	None
<i>Vicia faba</i> (ソラマメ)	None
<i>Raphanus sativus</i> (ダイコン)	None
<i>Zea mays</i> (トウモロコシ)	None
<i>Calendula officinalis</i> (キンセンカ)	None
<i>Cucumis sativus</i> (キュウリ)	None
<i>Calonyction aculeatum</i> (ユウガオ)	None
<i>Brassica rapa</i> (コカブ)	None
<i>Tetragonia expansa</i> (ツルナ)	None
<i>Brassica pekinensis</i> (ハクサイ)	None

None: Infection could not be detected.

明下 2 日間置き、生じた病斑を数えた。8 葉接種で半葉当りの平均病斑数は対照で 639、処理で 335 であり、大体 50% の感染阻害がみられた。この結果ならびにクロマトグラフィーの結果から、キクの汁液中に感染阻害物質が存在し、キクの汁液を他の植物に接種しても感染がおこりにくい原因となっているものと考えられる。この実験を行なうに際し、愛知農業総合試験場 宮島成寿氏および豊橋改良普及所磯部鎌氏に御助言をいただいた。記して深謝の意を表する。

(1975 年 2 月 27 日受理)