

タバコ・モザイク・ウイルスに全身感染した葉の紫外線照射による壊死斑の誘導

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	45巻2号
巻号補足	
掲載ページ	p. 247-254
発行年月	1979年4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



タバコ・モザイク・ウイルスに全身感染した 葉の紫外線照射による壊死斑の誘導

大橋祐子*・下村 徹*

Yuko OHASHI* and Toru SHIMOMURA* : Induction of Necrotic Lesions by Ultraviolet Irradiation on Leaves Systemically Infected with Tobacco Mosaic Virus

Abstract

It was reported that leaves from hosts which normally become systemically infected with tobacco mosaic virus (TMV) developed necrotic lesions if they were treated with actinomycin D.

The present report describes that ultraviolet light (UV) irradiation induced necrotic lesions on both systemic and local lesion hosts systemically infected with TMV. When leaves of *N. glutinosa*, Xanthi-nc, or Samsun NN tobacco, inoculated with TMV and incubated at 30°C under continuous illumination of 6,000 lux, were irradiated with UV on the upper leaf surface and incubated at light intensities below 200 lux, necrotic lesions appeared on the treated leaves. However, no lesions appeared on the treated leaves when UV irradiated leaves were incubated at 6,000 lux. Similar necrotic lesions appeared on TMV-infected leaves of the systemic hosts, Xanthi or Samsun tobacco, by UV irradiation. It was also found that water-soaked lesions developed on the leaves of both kinds of hosts systemically infected with TMV when they were incubated at 30°C for more than 10 hr in complete darkness, even if infected leaves were not irradiated with UV.

It was apparent that either of treatments of UV irradiation, dark incubation, and actinomycin D which were able to induce necrotic lesions on the leaves systemically infected with TMV, inhibited nucleic acid and protein syntheses more effectively in the cytoplasmic ribosomal fraction of the infected leaves than that in TMV fraction. In the case of UV irradiation followed by incubation at 6,000 lux, and of treatments of formycin B, blasticidin S, and rifampicin all of which were not able to induce necrotic lesions, nucleic acid and protein syntheses were inhibited at the same rate in both TMV and ribosomal fractions. The nature of induction of necrotic lesions on leaves systemically infected with TMV by the various treatments is discussed.

(Received January 16, 1979)

緒 言

筆者らは、タバコ・モザイク・ウイルス (TMV) に全身感染した Xanthi タバコや Samsun タバコの葉にアクチノマイシン D (AMD) を処理すると、この葉のウイルス感染部位に局部病斑類似の壊死斑が形成されることをすでに報告した^{3,8)}。高温 (30°C) で TMV に全身感染した *N. glutinosa* や Xanthi-nc タバコの葉 (局部病斑は形成されず、ウイルスは全身

的に増殖する) に AMD を処理した場合にも、高温に保ったままの状態での葉に壊死斑が形成された。また、クロモマイシン A₃ (CMA₃) を処理した場合にも同じ結果が得られたが、AMD と CMA₃ はその化学構造が全く異なるので、全身感染したタバコ葉での壊死斑の形成は、これら両物質に共通な DNA 依存の RNA 合成を阻害する作用に関係があるのではないかと考えられた。

AMD または CMA₃ はタバコ健全葉での RNA 合

* 植物ウイルス研究所 Institute for Plant Virus Research, Tsukuba Science City, Yatabe, Ibaraki 300-21, Japan.

成を阻害するが、感染葉では TMV の増殖にはあまり影響を与えずむしろ促進させる場合のあることも報告されている^{1,3,7)}。一方、紫外線 (UV) 照射がタバコプロトプラストの蛋白合成を著しく阻害するが、TMV の増殖にはあまり影響を与えないことが報告されており⁶⁾、これらの点では UV 照射はタバコ葉に AMD に似た影響を与える可能性がある。以上の観点から、筆者らは TMV に全身感染した全身感染宿主と局部感染宿主の葉に UV 照射を行なったところ、AMD や CMA_s を処理した場合と同じく、照射葉に局部病斑類似の壊死斑が形成されたので、以下にこれらの結果について報告する。

実験材料および方法

植物とウイルス TMV の全身感染宿主として *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi と *N. tabacum* cv. Samsun を、局部感染宿主として *N. glutinosa* と *N. tabacum* cv. Xanthi-nc を主に用いた。いずれも播種後約 2.5 か月間温室で生育させた後、頂葉を切除し、3～4 日後に十分に展開した上位の葉を用いた。TMV は普通系統 OM 株の純化液を用い、全身感染宿主には 1-5 μ g/ml、局部感染宿主には 10 μ g/ml を接種した。

紫外線照射その他の処理方法 いずれの場合も、全身感染宿主では葉に接種後 23-25℃ に 2-3 日、局部感染宿主では接種後 30℃ に 1-2 日保ったのち、接種葉を切りとって処理した。処理の間および処理後はとくに断らない限り 23-25℃ または 30℃ の一定温度下に保った。紫外線照射の場合は、切りとった接種葉の半葉をアルミ箔で被ったものを無処理対照区、その対半葉を処理区として平面に並べ、15W の殺菌灯 (東芝 GL-15, 2537Å) で葉面より 30cm の距離から一定時間 UV を照射した。処理葉はアルミ箔をとり除いたのち蓋付透明プラスチック容器内の湿った汚紙上に納め、一定照度の照明下に置き、1 日後壊死斑形成を観察した。暗処理の場合は、切りとった接種葉の半葉をプラスチック容器に納め、これをアルミ箔で完全に被ったのち一定温度に一定時間保った。その対半葉は同じく容器に納めアルミ箔で被うことなく 6,000 lux の照明下に置き、対照とした。薬剤処理の場合は、葉柄からガラス容器内の一定量の薬剤を完全に吸わせただち容器に納め、6,000 lux の照明下で一定温度に保ち、1 日後壊死斑形成を観察した。

葉の核蛋白画分での標識化合物のとり込みの測定

N. glutinosa の葉に TMV を接種後 30℃ に 30 時間

保ったのち、接種葉を切りとり、これから直径 1.6cm の disk 18 枚 (生体重 0.9g) をうち抜いた。これを 4 ml の蒸留水を含む径 11cm のペトリ皿に 6 時間浮遊したのち、UV 処理では disk の両面から UV を 5 分ずつ照射し、ついでこれをペトリ皿内の ³H-ウリジン (2 μ ci/ml) と ¹⁴C-ロイシン (0.2 μ ci/ml) を含む液 4 ml に浮遊した。暗処理では、disk をペトリ皿内の水に 6 時間浮遊したのち ³H と ¹⁴C を含む液を入れた別のペトリ皿に移し、これをアルミ箔で被った。薬剤処理では、disk をペトリ皿内の薬剤を含む液に 6 時間浮遊したのち、これらの薬剤の他に ³H と ¹⁴C を含む液に移しかえた。いずれの処理も disk は連続照明下 (暗処理中を除く) 30℃ に 18 時間保ち、久保²⁾の方法に準じた以下の方法で核蛋白画分を調製した。

Disk を 500ml の冷蒸留水中に入れ、攪拌しながらこれを約 10 分洗い、付着水を汚紙で除き 4.0ml の磨砕液 (0.5M 蔗糖, 1 mM 塩化マグネシウム, 4 mM メルカプトエタノール, 25mM トリス-塩酸 緩衝液, pH 7.8) とともに乳鉢中で磨砕 (4℃ 下) した。磨砕液は 17,000 $\times g$ で 15 分遠心し、その上澄液をさらに 140,000 $\times g$ で 90 分遠心し、その沈殿部を得た。沈殿部は 3 mM 塩化マグネシウムと 10mM トリス-塩酸を含む pH 7.8 の緩衝液で洗い、1.5ml の同じ緩衝液にけん濁した。これを 10-35% (w/v) の蔗糖の直線密度勾配カラムにのせ、日立 RPS-25 ローターを用いて 23,000 rpm で 5 時間遠心し、マイクロチューブポンプで 1 ml ずつ分画し、各画分の 260nm における吸光度を測定した。つぎに各画分より 0.5ml ずつ別の小試験管に移し、各々に 100 μ g の牛血清アルブミンを加えたのち、最終濃度が 5% になるように冷 20% TCA 溶液を加え、0℃ に 30 分おいた。TCA 不溶成分をメンブランフィルター (Milipore, HA 型, 孔径 0.45 μ) に捕獲し、これを少量の 5% 冷 TCA 溶液で 2 度、更に無水エタノールで 1 度洗浄した。このフィルターをガラスバイエル中で 60℃ で乾燥し、10ml のトルエンシンチレーターを加えて、液体シンチレーションカウンター (Aloka, LSC-502 型) を用いて ³H と ¹⁴C の二重測定法でその放射活性を測定した。

実験結果

1. 紫外線照射による壊死斑の誘導 壊死斑形成のために必要な UV 照射の時間は、実験に用いた植物の種類、老若によって異なり、同じ植物でも葉序で異なった。*N. glutinosa* および Xanthi タバコでの結果を第 1 表に示したが、*N. glutinosa* では 15 分以上

Table 1. Induction of necrotic lesions by UV irradiation on leaves systemically infected with TMV at 30C^{a)}

Plants	Temperature (C)	UV irradiation (min)	Injury on leaves ^{b)}	Lesion formation ^{c)}
<i>N. glutinosa</i>	30	4	—	—
		6	—	+
		10	—	++
		15	+	++
		20	++	++
Xanthi tobacco	25	5	—	—
		10	—	+
		15	—	+
		20	+	+

a) Leaves of *N. glutinosa* or Xanthi tobacco were inoculated with TMV (10 μ g/ml) and the plants were incubated at 30C (*N. glutinosa*) or 25C (Xanthi tobacco) under continuous light of 6,000 lux. Two days after the inoculation, the inoculated leaves were detached and irradiated with UV. Then, the leaves were placed on moist filter paper in covered plastic vesseles and incubated at 30C or 25C for more 1 day under continuous light of 200 lux.

b) —:No injury observed +~++:Injury observed

c) —:No lesions appeared +~++:Lesions appeared

照射すると葉に傷害が出るので、10分の照射が適当であった。Xanthi タバコでは、照射による傷害が出にくい、10分の照射では壊死斑の形成も起こりにくいので、15分の照射が必要であった。同種の植物に一定時間照射した場合には、若い植物ではUVに対する感度が高く葉が傷みやすく、老化植物は感度が低いので明瞭な壊死斑を形成させるためには、その中間の令の植物を用いるとよいようであった。このことは、壊死斑の形成と葉序との関係を *N. glutinosa* について調べた第2表の結果からも推察される。UV 照射により形成された壊死斑は褐変リング状で、AMD により誘導された壊死斑と似ていた（第1図）。比較的老化した葉にUV照射で形成される壊死斑は、そのリングの中央部が黄化する傾向があり、これはUV照射処理に特徴的で、他の処理ではみられなかった。また、壊死斑はUVを照射した面に限られ、未照射裏面では認められなかった。

UV 照射後、処理葉がさらされる照明の強弱によっても壊死斑形成度が著しく異なった。*N. glutinosa* の中位葉にTMVを接種して30Cに2日置き、UVを10分照射し、一定照度下に1日置いたときに形成される壊死斑は以下のようなものである。100および200 luxの低照度下では形成された壊死斑は鮮明であったが、3,000 lux 下ではかなり不鮮明となり、6,000~10,000

Table 2. Effect of leaf age on the induction of necrotic lesions by UV irradiation on *N. glutinosa* leaves systemically infected with TMV at 30C^{a)}

Leaves used ^{d)} for treatment	Injury ^{b)} on leaves	Lesion ^{c)} formation
1	++	—
2	+	+
3	—	++
4	—	++
5	—	+
6	—	+

a) Leaves of *N. glutinosa* were inoculated with TMV (10 μ g/ml) and the plants were incubated at 30C under continuous light of 6,000 lux. Two days after inoculation, the inoculated leaves having various ages were detached, irradiated with UV, and incubated as shown in Table 1.

b, c) See legend in Table 1.

d) Leaves numbered from top to bottom.

lux の高照度下では形成されなかった。後述のように、UVを照射しない葉を暗処理するだけでも壊死斑が形成されるので、UV照射後100 lux 以下に置くと

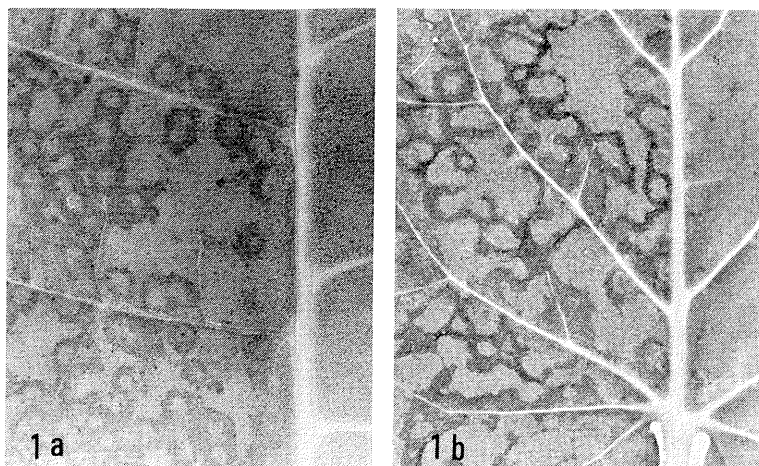


Fig. 1. Necrotic lesions induced by UV irradiation on leaves systemically infected with TMV. a: Xanthi tobacco leaf inoculated with TMV was incubated for 3 days at 23°C and irradiated with UV for 15 min. b: *N. glutinosa* leaf inoculated with TMV was incubated for 2 days at 30°C and irradiated with UV for 10 min. The right half-leaf covered with aluminium foil served as an unirradiated control.

暗処理による壊死斑と区別できなくなる。そこで、照射後の照明は200 lux 程度が適当と思われた。

全身感染宿主では、Xanthi タバコのほか TMV を接種した Samsun タバコでも UV 照射で壊死斑が形成されたが、Xanthi タバコのそれに比べ病斑は不明瞭であった。30°C で TMV に全身感染した Samsun NN タバコおよび Xanthi-nc タバコにも UV 照射で壊死斑が形成されたが、同じ時間の照射では *N. glutinosa* に比べて葉の損傷が起こりにくい反面、壊死斑も形成されにくい傾向があった。キュウリ・モザイク・ウイルス (CMV) とペチュニア、ポテト・ウイルス X と *N. glutinosa* の各組み合わせでも、不明瞭ではあるが、壊死斑が形成された。いずれの場合も、壊死斑は照射面のみに限られ、褐色リング状を呈した。

2. 暗処理による壊死斑の誘導 TMV 接種後30°C に1—2日置いた *N. glutinosa* または Xanthi-nc タバコ、23—30°C に2—3日置いた Xanthi タバコまたは Samsun タバコに、30°C 下で暗処理すると、接種葉に壊死斑が形成された。このような壊死斑の形成は、CMV と *N. glutinosa* の組み合わせでも確認できた。暗処理による壊死斑は若い植物では鮮明だが、老化植物では全く出現しなかった。同じ植物を用いた場合も葉位が高いほど処理に対する感度が高いが、下位葉ほど感度は低下し、形成される壊死斑の輪郭も不明瞭になった。暗処理中の温度は高いほど壊死斑は形

成されやすいが、35°C 以上では葉の消耗が激しくなるので、30°C 程度の温度が適当と思われる。壊死斑形成に必要な暗処理の時間を若い *N. glutinosa* を用いて調べた結果を第3表に示した。壊死斑形成のためには10時間以上の処理が必要で、また処理時間が長いほど壊死斑は明瞭であった。暗処理による壊死斑は、最初形成部位の葉表面にリング状に水滴を浸出し始め、やがてそれがリング内部の組織にも及んで全面が水浸状となり、時間の経過とともにその部分が褐変することによって形成された。しかし、こうして形成された壊死斑は、AMD または UV 処理による

壊死斑に比べてやや不鮮明であった (第2図)。

3. 紫外線照射、暗処理またはアクチノマイシン D

Table 3. Induction of necrotic lesions by dark treatment on *N. glutinosa* leaves systemically infected with TMV at 30°C^{a)}

Duration of dark treatment (hr)	Lesion formation ^{c)}
0	—
5	—
7	—
10	+
14	++
22	+++

a) Leaves of *N. glutinosa* were inoculated with TMV (10 μ g/ml) and the plants were incubated at 30°C under continuous light of 6,000 lux. Two days after the inoculation, the inoculated leaves were detached, placed on moist filter paper in plastic vessels wrapped with aluminium foil, and incubated at 30°C. At various times after dark incubation, the leaves were replaced under continuous light of 6,000 lux and observed 22 hr after the start of dark treatment.

c) See legend in Table 1.

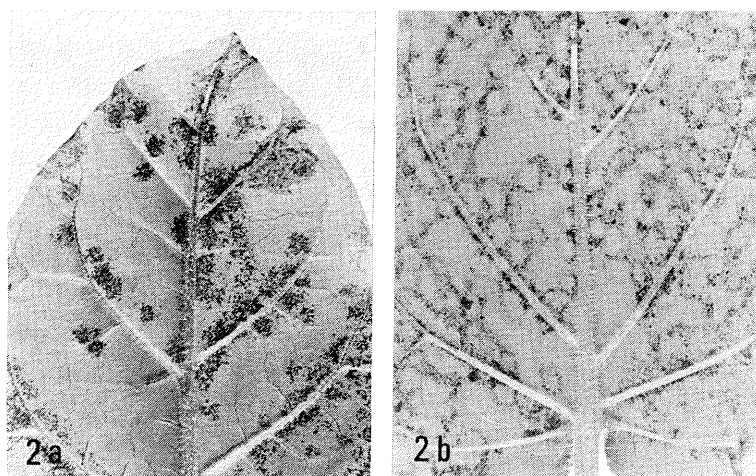


Fig. 2. Necrotic lesions induced by dark treatment on leaves systemically infected with TMV. a: Xanthi tobacco leaf inoculated with TMV was incubated for 2 days at 23C and then placed at 30C in the dark. b: *N. glutinosa* leaf inoculated with TMV was incubated for 2 days at 30C and then placed at 30C in the dark.

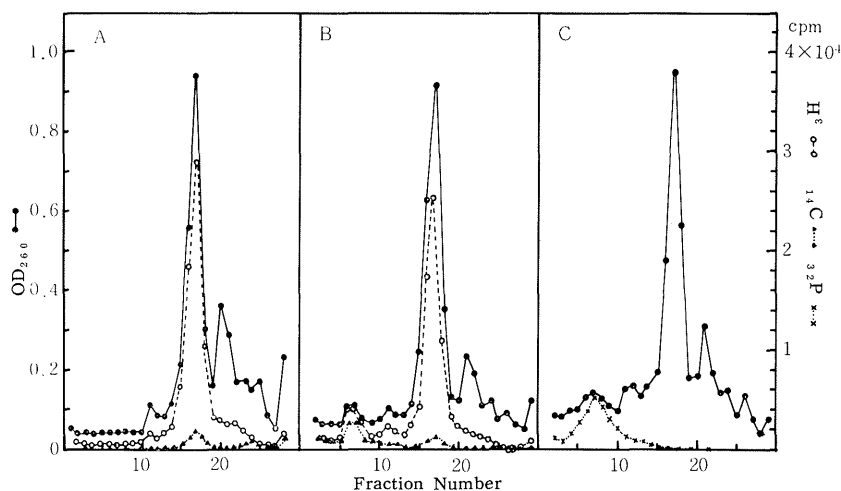


Fig. 3. Sedimentation profiles of nucleoproteins isolated from *N. glutinosa* leaf discs. Nucleoprotein preparations were layered onto 10-35 % sucrose gradients and centrifuged in a Hitachi RPS-25 rotor at 23,000 rpm for 5 hr at 4C. Leaf discs punched from *N. glutinosa* leaves systemically infected with TMV for 30 hr at 30C, were floated on water for 6 hr and then exposed to ^3H -uridine ($2\mu\text{Ci}/\text{ml}$) and ^{14}C -leucine ($0.2\mu\text{Ci}/\text{ml}$) for 18 hr at 30C. The homogenate of leaf discs was centrifuged for 15 min at $17,000\times g$, the resulting supernatant was centrifuged for 90 min at $140,000\times g$. The pellets obtained were suspended in a small amount of buffer solution and this solution was subjected to experiments as nucleoprotein fraction. A: Nucleoproteins isolated from uninfected leaf discs. B: Nucleoproteins isolated from infected leaf discs. C: Mixture of nucleoproteins isolated from uninfected leaf discs and ^{32}P labeled TMV.

処理が、TMV 感染組織の核蛋白への ^3H -ウリジンと ^{14}C -ロイシンのとりこみに与える影響 (1) TMVおよび細胞質リボソームの各画分

TMV 接種30時間後から ^3H -ウリジンおよび ^{14}C -ロイシンを18時間とりこませた *N. glutinosa* 葉から、前述の方法で核蛋白を分離し、蔗糖密度勾配遠心で分画した。対照としてはリン酸緩衝液を疑似接種した健全葉を用いた。また、蔗糖密度勾配遠心分画での TMV の位置を確かめるため、標識化合物をとり込ませない TMV 感染葉から分離した核蛋白に ^{32}P で標識した

TMV を混合したものを同時に供試した。実験結果を第3図に示したが、A, B, Cいずれの場合も主ピークは細胞質リボソームで、分画番号17にくる画分である。別の実験で、葉からクロロプラストを分離し、これからクロロプラスト70Sリボソームを抽出し、蔗糖密度勾配遠心での分画位置を細胞質80Sリボソームのそれと比較したところ、70Sリボソームは分画番号19にきた。この方法では、80Sリボソームの主ピークに70Sリボソームが混在してもその量はわずかであることがこの結果より推定された。またこの過程にはクロロプラスト画分を除去する操作が含まれているので、70Sリボソ

ムの混在はほとんど無視できるものと思われる。この他の成分としては、80Sリボソームのダイマーと思われる小さなピークと、80Sより軽い分画に3つの成分が認められた。TMVは蔗糖カラムの下層に検出され、 ^{32}P -TMVの位置とよく一致した。第3図で用いた ^{32}P -TMVは260nmの吸光度で0.05なので無視できる量である。また図からも明らかなようにTMVによる80Sリボソーム画分の汚染も極めて少なかった。

(2) 紫外線照射またはアクチノマイシンD処理の影響 UV照射(葉の表裏両面に5分ずつ照射)またはAMD (25 $\mu\text{g}/\text{ml}$)処理が、TMVに全身感染した*N. glutinosa*葉の核酸および蛋白合成に与える影響をTMVと80Sリボソーム画分について調べた(第4表)。 ^3H -ウリジンのとり込みは、TMV、リボソーム両画分ともにUVおよびAMD処理で阻害されたが、その程度はリボソーム画分でより顕著であった。このことは260nmの吸光度あたりの ^3H のカウントについて、TMV画分に対するリボソーム画分の比をとると一層明らかである。UVまたはAMD処理を行なった後200 luxに置いた場合には、 ^3H -ウリジンのリボソームへのとり込みは、TMVへのそのそれれぞれ1/3または1/5以下であった(無処理対照では1/2)。UV処理では、処理後6,000 luxの高照度下に置くと、処理の影響がほとんど打ち消され、RNA合成

の阻害はかなり回復した。また一般に、AMDおよびUV処理がRNA、蛋白合成に与える影響は、供試したタバコ葉の葉令に大きく左右された。同条件でUVまたはAMD処理を行なっても、若い葉では用いた標識化合物のとり込みが著しく阻害されるが、葉令の高いものでは阻害度が低かった。第4表では葉令の比較的高いものを、第5表では低いものを用いたが、その傾向が明らかにうかがわれる。第5表はUV照射の影響を ^{32}P を用いて調べたもので、照射時間が大になるほど、TMV、リボソーム両画分でのとり込みが阻害され、特に後者で顕著であった。しかし壊死斑の形成が阻害される高照度下(6,000 lux)では、両画分でのとり込みの阻害は減少し、かつ阻害度は両画分で同程度であった。第4表の ^{14}C -ロイシンのとり込みをみると、無処理対照葉のリボソーム画分でのとり込みは、感染によるウイルス画分でのとり込みの増大のため、TMV画分のその1/20にすぎない。UVまたはAMD処理(処理後200 lux)により、それが更に1/36または1/50以下に減少し、RNA合成の場合とよく似た傾向を示した。UV処理後6,000 luxに置くくと無処理対照葉と差がなくなったが、これもRNA合成の場合と同様であった。

つぎに、TMVに全身感染した*N. glutinosa*の葉に壊死斑を形成させないフォルマイシンB (40 $\mu\text{g}/$

Table 4. Effect of actinomycin D and UV irradiation on ^3H -uridine or ^{14}C -leucine incorporation into nucleoproteins of *N. glutinosa* leaves systemically infected with TMV at 30C^{a)}

Treatments	Illumination after treatments (lux)	^3H cpm/OD ₂₆₀			^{14}C cpm/OD ₂₆₀		
		TMV	Ribosome	TMV/Ribosome	TMV	Ribosome	TMV/Ribosome
UV (5 min each, on both sides of leaf)	200	16,340	5,110	3.2	8,100	220	36.8
Actinomycin D (25 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	200	20,530	4,010	5.1	10,280	200	51.4
Untreated	200	23,900	11,900	2.0	10,300	490	21.0
UV (5 min each, on both sides of leaf)	6,000	22,000	17,040	1.3	10,000	500	20.0
Actinomycin D (25 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	6,000	19,240	6,080	3.2	10,420	270	38.6
Untreated	6,000	30,000	19,000	1.6	12,600	620	20.0

- a) Leaf discs punched from *N. glutinosa* leaves systemically infected with TMV for 30 hr at 30C, were floated on water for 6 hr, irradiated with UV, and then exposed to ^3H or ^{14}C for 18 hr at 30C. In actinomycin D treatment, infected leaf discs were floated on this antibiotic for 6 hr and then exposed to ^3H or ^{14}C in its presence. Sedimentation analysis of nucleoproteins was performed as shown in Fig. 3.

Table 5. Effect of UV irradiation on ^{32}P -phosphate incorporation into nucleoproteins of *N. glutinosa* leaves systemically infected with TMV at 30°C ^{a)}

Duration of UV irradiation (min)	Illumination after irradiation (lux)	^{32}P cpm/OD ₂₆₀		
		TMV	Ribosome	TMV/Ribosome
0	200	20,900	7,400	2.8
2	200	7,800	1,380	5.7
5	200	5,680	440	12.9
10	200	5,140	210	24.5
0	6,000	26,100	11,800	2.2
10	6,000	14,600	7,410	2.0

a) Methods of experiment were the same as in Table 4, except that ^{32}P -phosphate ($4\mu\text{Ci/ml}$) were used instead of ^3H or ^{14}C .

ml), プラストサイジン S ($0.2\mu\text{g/ml}$), リファンピシン ($100\mu\text{g/ml}$) およびディスタマイシン A⁵⁾ ($50\mu\text{g/ml}$) などが、これらの葉での核酸や蛋白の合成にどのように影響するかを調べた。この結果、AMD は第 4 表の場合と同じく TMV 画分のそれはあまり阻害せず、リボソーム画分での ^3H と ^{14}C の両とり込みを強く阻害したが、供試した他の薬剤の場合は、TMV 画分とリボソーム画分とで同程度か、あるいはむしろ TMV 画分でのとり込みをより阻害する傾向があった。

(3) 暗処理の影響 暗処理はリボソーム画分での RNA 合成をかなり強く阻害したが (第 6 表)、TMV の RNA 合成はほとんど阻害しなかった。260nm の吸光度あたりの ^3H のカウントについて、TMV 画分に対するリボソーム画分の比をとると、暗処理で壊死斑が形成される状態では、6,000 lux 下で壊死斑が形成されない場合の約 2 倍であった。蛋白合成も RNA 合成の場合ほど明瞭ではないが、同様の傾向が認められた。

Table 6. Effect of dark treatment on ^3H -uridine or ^{14}C -leucine incorporation into nucleoproteins of *N. glutinosa* leaves systemically infected with TMV at 30°C ^{a)}

Treatments	^3H cpm/OD ₂₆₀			^{14}C cpm/OD ₂₆₀		
	TMV	Ribosome	TMV/Ribosome	TMV	Ribosome	TMV/Ribosome
Treated (Darkness)	20,400	4,140	4.9	8,420	400	21.1
Untreated (6,000 lux)	21,400	8,740	2.4	10,000	650	15.4

a) Methods of experiment were the same as in Table 4, except that dark incubation were conducted instead of UV irradiation.

考 察

以上の結果、TMV に全身感染した葉に UV を照射すると、壊死斑が形成されることが明らかとなった。このことについては、すでに 1973 年に講演発表を行なったが⁴⁾、同じことが筆者らとほぼ同時に Takagi and Sugimura によっても報告されている⁹⁾。今回の結果では、UV 照射葉では、AMD 処理葉の場合と同様に、TMV の RNA と蛋白の合成はあまり阻害されず、細胞質リボソームでのそれは強く阻害された。

緒言でも述べたように、TMV とタバコの組み合わせで、AMD は TMV の増殖に影響を与えないかあるいはむしろ促進すること^{1,3,7)}、また同じ組み合わせで、UV 照射がプロトプラストでの TMV の増殖にはほとんど影響しないことが報告されている⁶⁾。これらいずれの場合も、宿主のタバコの核酸や蛋白の合成は強く阻害されているから、今回の UV 照射と AMD 処理でも、実験条件によってはウイルスの増殖に影響を与えず宿主の核酸と蛋白の合成のみに強く影響する場合もあるのではないかと考えられる。UV 照射葉を 6,000

lux の高照度照明下に置くと、細菌などで知られている UV 傷害の可視光による光回復のように、UV の影響が光により除去されるためか壊死斑は形成されないが、このような条件下では、TMV とリボソームの両画分での核酸と蛋白の合成阻害は目立たなくなった。一方、核酸または蛋白合成の阻害剤ではあるが壊死斑誘導能のないフォルマイシン B、プラストサイジン S、リファンピシンおよびディスタマイシン A などの処理では、TMV 画分とリボソーム両画分での核酸と蛋白の合成がともに強く阻害された。以上の結果から考えると、UV 照射を含め全身感染葉に壊死斑を形成させる処理は、宿主の核酸と蛋白の合成を強く阻害するが、ウイルスのそれはあまり阻害しない点で共通性があるように思われる。全身感染葉を暗処理した場合にも壊死斑が形成され、この場合も宿主の TMV とリボソーム両画分での核酸と蛋白の合成は、UV 照射の場合と同じ傾向を示した。

UV 照射が AMD と同じ機構で処理葉に壊死斑を形成させると考えた場合、TMV の増殖は抑制されず宿主の核酸と蛋白の合成が強く阻害される過程でどのようにして壊死斑が形成されるのであろうか。高温で N 因子の発現が抑制されて全身感染している *N. glutinosa* では、これらの処理が抑制因子に阻害的に働くためその抑制が解かれて壊死斑が形成されるとも考えられるが、このような考えは N 因子をもたない全身感染宿主の場合にはあてはまらない。UV 照射や AMD 処理では、宿主の基礎代謝が強く阻害されるが、一方ウイルスの増殖はあまり影響を受けない。そこで組織の生存に必要な基礎代謝が維持できなくなると、この部に壊死斑が形成されるという考え方もあるが、処理による壊死斑形成機構の解析にはなお多くの検討が必要である。

摘 要

1. Xanthi タバコまたは Samsun タバコに TMV を接種して 2—3 日後葉を切りとり、葉の表面に紫外線 (UV) を照射して低照度 (200 lux 以下) の照明下に置くと、1 日後にこの葉の UV 照射面に局部病斑類似の壊死斑が形成された。*N. glutinosa*, Samsun NN タバコ および Xanthi-nc タバコなど TMV の局部感染宿主も、接種後高温 (30°C) に置くと全身感染して局部病斑は形成されないが、このような葉に接種 2 日後 UV を照射して低照度の照明下に置くと壊死斑が形成された。全身感染宿主でも局部感染宿主でも、UV 照射後葉を高照度 (6,000 lux) の照明下に置くと壊死斑は形成されなかった。キュウリ・モザイク・ウイルス (CMV) とパチュニア、ポテト・ウイルス X と *N. glutinosa* の組み合わせ (いずれも全身感染する) でも UV 照射によって壊死斑が形成された。

2. TMV を接種したのち 23—30°C に 2—3 日置いた Xanthi タバコまたは Samsun タバコ、30°C に 1—2 日置いた *N. glutinosa* または Xanthi-nc タバコの切りとり葉に、30°C 下 10 時間以上の暗処理を加えると壊死斑が形成された。CMV と *N. glutinosa* の組み合わせ (全身感染する) でもこの処理によって壊死斑が形成された。

3. UV 照射および暗処理が TMV に全身感染した *N. glutinosa* の葉の核蛋白への ^3H -ウリジン ^{14}C -ロイシンのとり込みに与える影響を調べた。これらの処理はいずれも TMV 画分での核酸と蛋白のとり込みをあまり阻害せず、細胞質リボソームでのそれを強く阻害した。この傾向は壊死斑形成能をもつアクチノマイシン D を全身感染した *N. glutinosa* の葉に処理した場合と同じであった。これらの処理による壊死斑形成の機構について考察した。

引 用 文 献

- Hirai, T. (1967). In Biochemical Regulation in Diseased Plants or Injury : An International Symposium (Hirai, T. et al. eds.). Phytopath. Soc. Japan, Tokyo. pp. 105-114.
- 久保 進 (1971). 秦野たばこ試験場報告 70 : 1-41.
- Ohashi, Y. and Shimomura, T. (1972). Virology 48 : 601-603.
- 大橋祐子・下村 徹 (1973). 日植病報 39 : 225-226 (講要).
- Pushendorf, B., Perterson, E., Wolf, H., Werchau, H. and Grunicke, H. (1971). Biochem. Biophys. Res. Commun. 43 : 617-624.
- Sakai, F. and Takebe, I. (1974). Virology 62 : 426-433.
- Sänger, H. L. and Knight, C. A. (1963). Biochem. Biophys. Res. Commun. 13 : 455-461.
- 下村 徹・大橋祐子 (1971). ウイルス 21 : 169-171.
- Takagi, Y. and Sugimura, Y. (1973). Can. J. Bot. 51 : 825-826.