



タバコモザイクウイルス弱毒系統「SA-10」の性質

小國, 昭信
宮本, セツ
宮本, 雄一
章, 元寿

(Citation)

神戸大学農学部研究報告, 16(1):113-126

(Issue Date)

1984

(Resource Type)

departmental bulletin paper

(Version)

Version of Record

(JaLCD0I)

<https://doi.org/10.24546/00225528>

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/00225528>



タバコモザイクウイルス弱毒系統「SA-10」の性質

章 元寿*・小國昭信**・宮本セツ***・宮本雄一***

(昭和58年8月10日受理)

SOME PROPERTIES OF AN ATTENUATED STRAIN (SA-10) OF TOBACCO MOSAIC VIRUS

Yuan-shou ZHANG, Akinobu OGUNI, Setsu MIYAMOTO and Yuichi MIYAMOTO

Abstract

Some properties of an attenuated strain (SA-10) of tobacco mosaic virus (TMV), which was induced by the serial passage in *Nicotiana glutinosa* plants alternately infected with the virus systemically at higher temperatures of 30 and 35°C or locally at usual temperature of 25°C (OGUNI *et al.*, 1983; 1984a, b), were compared with those of the parent ordinary strain of TMV (TMV-O).

The strain, SA-10, was obtained after the 10th passage, which involved both the passages of TMV-O through *N. glutinosa* plants infected systemically at higher temperatures (30°C—3 passages, 35°C—7 passages) and locally at usual temperature (25°C—10 passages). SA-10 always caused only mild or slight mottling in the plants of *N. tabacum* cv. Samsun and *N. sylvestris*.

Dilution end point of SA-10 was found between 10^{-7} and 10^{-8} , while TMV-O was still infective at 10^{-8} . SA-10 lost its infectivity after heat treatment at 90°C for ten min. while TMV-O did not. In the tests of precipitin reaction using antisera against TMV-O, SA-10 reacted as well as TMV-O with the antisera.

The rates of multiplication of SA-10 in the inoculated leaves of both the plants of *N. tabacum* cv. Samsun and *N. sylvestris* were comparable to those of TMV-O, while in the upper young leaves of both the plants the assayed infectivity of SA-10 was always lower than that of TMV-O.

When the plants of *N. tabacum* cv. Samsun and *N. sylvestris* inoculated with SA-10 were challenge-inoculated with TMV-O 4–8 days later, the total infectivity of both the strains, recovered from the upper young leaves, reduced considerably than the case of TMV-O alone in which preinoculations were made with distilled water only, and the affected plants with both the strains showed only mild or slight mottling.

緒 言

タバコモザイクウイルス (TMV) 普通系を親ウイルスとして、30°C以上の高温条件下における全身感染と、25°C下における局部感染で *Nicotiana glutinosa* を交互に連続して通過させることにより、このウイルスに起る変化が調べられた (小國ら, 1983)。更にこの2つの温度条件下における *N. glutinosa* 植物を連続通過させるという新しい方法によって、いくつかの弱毒系統が分離された (OGUNI *et al.*, 1983; 小國ら, 1984 a, b)。

分離された弱毒系統の1つであるSA-10は、30°C下及び35°C下の全身感染と25°C下の局部感染とを交互に繰返した *N. glutinosa* を合計20回通過 (10 passages) させることにより得られたものである。このSA-10を接種された *Nicotiana tabacum* cv. Samsun は、ほとんど病徴を現わさないか、または親ウイルスの病徴とは全く質の異なる、かすかなモザイク斑紋を生じるのみであり、このウイルスは比較的弱毒化が安定した系統と考えられたので、その性質を知るために2・3の実験を行った。

本論文においては、このSA-10の理化学的性質、血清学的性質、及び全身感染寄主における増殖をTMV普通系と比較検討した結果について、更にTMV普通系の増殖に対するSA-10の影響について述べる。

* 農学研究科研究生 (南京農学院植物保護学部)

** 自然科学研究科

*** 植物病理学研究室

第1表 SA-10 及び TMV-O の耐希釈性^{*1}

	希 釈			
	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
SA-10	45 ^{*2}	12	2	0
TMV-O	324	47	15	4

*1 両ウイルスの試料は、いずれも接種10日後の *Nicotiana tabacum* cv. Samsun の頂葉から調製した。

*2 *Nicotiana glutinosa* の8半葉に生じた局部病斑の総数。

実験材料及び方法

タバコモザイクウイルス普通系（以下TMV-Oと略記）は、当植物病理学研究室において永年 *Nicotiana tabacum* cv. Samsun（以下Samsunと略記）で継代・維持されてきたものであり、実験に先立ち、*Nicotiana glutinosa* に接種し、単一局部病斑分離を2回行った後、Samsunで増殖させて供試した。TMVの弱毒系統SA-10（以下SA-10と略記）は、上記のTMV-Oを親ウイルスとして、30℃下（3回）と35℃下（7回）における全身感染（合計10回）と25℃下における局部感染（10回）を交互に *N. glutinosa* を計20回連続通過（10 passages）させて分離し、その単一局部病斑を接種源としてSamsunで増殖させたものである。

各実験の接種源としてのSA-10は、25℃下で接種10日後のSamsunのほとんど無病徴の頂葉から調製した10倍希釈液であり、他方TMV-Oは、25℃下で接種10日後以降のSamsunのモザイク斑紋が顕著な頂葉から調製した10倍または100倍希釈液である。このSA-10の10倍希釈液とTMV-Oの100倍希釈液は、*N. glutinosa* の半葉法で検定した結果、常にほぼ同数の局部病斑を形成することが確かめられた。このため接種葉及び頂葉部における両ウイルスの増殖を比較した実験及び両ウイルスを同時接種した場合のTMV-Oの増殖に対するSA-10の影響についての実験では、SA-10は10倍希釈液、TMV-Oは100倍希釈液の接種源を用いた。SA-10を1次ウイルスとし、2次ウイルスTMV-Oの増殖に対する影響に関する実験及び理化学的性質、血清反応についての実験では、両ウイルスはともに10倍希釈液として供試した。

供試植物は、温室で生育させた両ウイルスの全身感染寄主のSamsunと *Nicotiana sylvestris* であり、苗令の揃った若い個体を用いた。なお、これらの植物の葉位は、接種葉の直上の1葉を葉位1とし、順次上方へ2, 3, 4とした。

第2表 SA-10 及び TMV-O の耐熱性^{*1}

	温 度 (°C) ^{*2}			
	75	80	85	90
SA-10	2762 ^{*3}	1795	20	0
TMV-O	2921	1912	56	1

*1 両ウイルスの試料は、接種10日後の *Nicotiana tabacum* cv. Samsun の頂葉から調製した10倍希釈液である。

*2 各温度で10分処理。

*3 *Nicotiana glutinosa* の10半葉に生じた局部病斑の総数。

両ウイルスの増殖の比較及びTMV-Oの増殖に対するSA-10の影響についての検定には、*N. glutinosa* の半葉法を用いた。すなわち、比較すべき試料を対半葉に、しかも各試料が個体及び葉位の異なる半葉に平均して配置されるようにし、1試料当り *N. glutinosa* 4～6個体にわたる8～6半葉を用いて検定した。

実験結果

I. 理化学的及び血清学的性質

1. 耐希釈性

SA-10接種10日後のSamsunのほとんど無病徴の頂葉及びTMV-O接種10日後のSamsunの顕著なモザイク斑紋を呈した頂葉をそれぞれ供試し、10⁻⁵, 10⁻⁶, 10⁻⁷, 10⁻⁸の希釈液を調製した。これらを *N. glutinosa* を用いて半葉法により、両ウイルスを組合せ、1試料につき8半葉を用いて接種し、耐希釈性を調べた。その結果は第1表に示すように、SA-10の希釈限界は10⁻⁷～10⁻⁸であり、TMV-Oは10⁻⁸でなお感染性が認められた。

2. 耐熱性

SA-10及びTMV-Oは、耐希釈性の実験に供試したものと同様で、いずれも接種10日後のSamsunの頂葉から調製した10倍希釈液を用い、常法により、75℃, 80℃, 85℃, 90℃でそれぞれ10分間処理した。これらを *N. glutinosa* の半葉法により、両ウイルスを組合せ、1試料につき10半葉に接種して耐熱性を調べた。その結果は第2表に示すように、SA-10は90℃, 10分間の処理で感染性が失われたが、TMV-Oはなお感染性が認められた。

3. 血清反応

TMV-Oの抗血清に対するSA-10及びTMV-O両ウイルスの反応を、沈降反応法を用いて調べた。供試した両ウイルス液は、ともに接種^{*1}10日後のSamsunの頂葉から調製した10倍希釈液で、10,000 rpm 30分間の遠

第3表 TMV-O 抗血清に対する SA-10 の沈降反応*¹

抗原	抗血清終末希釈倍数										
	20* ²	20	40	80	160	320	640	1280	2560	2560* ²	0* ³
SA-10	—	+* ⁴	+	+	±	—	—	—	—	—	—
TMV-O	—	≡	≡	≡	±	—	—	—	—	—	—

*¹ 両ウイルスは接種10日後の *Nicotiana tabacum* cv. Samsun の頂葉から調製した10倍希釈液を10,000 rpm 30分間遠心分離を行った上澄液である。なお、SA-10の接種源は *Nicotiana glutinosa* の局部病斑1個である。

*² 生理食塩水と抗血清のみの対照。

*³ 生理食塩水とウイルスのみの対照。

*⁴ 37℃で2時間反応させて生じた綿状沈澱量。

第4表 *Nicotiana tabacum* cv. Samsun の接種葉における SA-10 及び TMV-O の増殖*¹

		接種1日後		接種2日後		接種3日後		接種4日後	
I	SA-10	1* ²	0.3* ³	4.6	21.8	21.8	18.3	18.3	
		2	0.3 [0.3]* ⁴	3.8 [4.2]	13.5 [17.7]	13.5 [17.7]	19.5 [18.9]	19.5 [18.9]	
	増殖度* ⁵		1.0	14.0	59.0	59.0	63.0	63.0	
				1.0	4.2	4.2	4.5	4.5	
II	TMV-O	1	0.7	10.4	22.0	22.0	17.8	17.8	
		2	0.6 [0.7]	8.2 [9.3]	22.9 [22.5]	22.9 [22.5]	21.8 [19.8]	21.8 [19.8]	
	増殖度		1.0	13.3	32.1	32.1	28.5	28.5	
				1.0	2.4	2.4	2.1	2.1	
II	SA-10	1		13.0	54.1	54.1	58.3	58.3	
		2		14.7 [13.9]	52.2 [53.2]	52.2 [53.2]	69.6 [64.0]	69.6 [64.0]	
	増殖度			1.0	3.8	3.8	4.6	4.6	
	TMV-O	1		21.4	37.2	37.2	58.4	58.4	
II		2		29.1 [25.3]	39.7 [38.5]	39.7 [38.5]	45.1 [51.8]	45.1 [51.8]	
	増殖度			1.0	1.5	1.5	2.0	2.0	

*¹ 各個体の連続した葉位の2成葉に SA-10 の10倍希釈液または TMV-O の100倍希釈液を接種し、25℃下に置いた。試料は各個体の2接種葉を1試料とし、実験Iでは500倍、実験IIでは100倍希釈液として、両ウイルスを組合せた *Nicotiana glutinosa* の半葉法により検定した。

*² Samsun の個体番号。

*³ *N. glutinosa* 4個体にわたる8半葉、32ディスク（直径18mm）内の局部病斑数の平均。

*⁴ 2個体の接種葉におけるウイルス濃度の平均値。

*⁵ 接種1日後または2日後のウイルス濃度に対するその後の増殖度。

第5表 *Nicotiana sylvestris* の接種葉における SA-10 及び TMV-O の増殖*¹

		接種1日後	接種2日後	接種3日後	接種4日後
SA-10	1* ²	3.7* ³	47.4	55.7	80.5
	2	11.1 [7.4]* ⁴	49.1 [48.3]	56.8 [56.3]	92.5 [86.5]
増殖度* ⁵		1.0	6.5	7.6	11.7
			1.0	1.2	1.8
I					
TMV-O	1	3.2	53.6	59.5	114.3
	2	9.5 [5.4]	57.5 [55.6]	67.4 [63.5]	108.0 [112.2]
増殖度		1.0	10.3	11.8	20.6
			1.0	1.1	2.0
II					
SA-10	1	0.0	4.8	6.8	6.8
	2	0.0 [0.0]	1.9 [3.4]	4.8 [5.8]	10.4 [8.6]
増殖度			1.0	1.7	2.5
TMV-O	1	0.0	1.4	35.1	33.3
	2	0.0 [0.0]	3.4 [2.4]	57.0 [46.1]	34.3 [33.9]
増殖度			1.0	19.2	14.1

*¹ 各個体の連続した葉位の2成葉に SA-10 の10倍希釈液または TMV-O の100倍希釈液を接種し、25°C 下に置いた。試料は各個体の2接種葉を1試料とし、実験Ⅰでは100倍、実験Ⅱでは500倍希釈液として、両ウイルス試料を組合せた *Nicotiana glutinosa* の半葉法により検定した。

*² *N. sylvestris* の個体番号。

*³ *N. glutinosa* 4個体にわたる8半葉、32ディスク（直径18mm）内の局部病斑数の平均。但し、実験Ⅰの接種3、4日後の数字は24ディスク内の平均。

*⁴ 2個体の接種葉におけるウイルス濃度の平均値。

*⁵ 接種1日後または2日後のウイルス濃度に対するその後の増殖度。

心分離を行った上澄液である。抗血清は、純化した TMV-O をウサギに連続して静脈に注射して得たもので、-50°C で凍結保存してあったものである。第3表に示すように、37°C で2時間反応させた結果は、TMV-O 抗血清に対して SA-10 は、TMV-O と比較してやや反応は弱い、両ウイルスはともに抗血清終末希釈160倍まで反応した。

II. SA-10 と TMV-O の増殖及び病徴の比較

1. 接種葉における増殖

SA-10 及び TMV-O の全身感染寄主である Samsun

及び *N. sylvestris* の接種葉における両ウイルスの増殖を比較するために実験を行った。

Samsun の接種葉における両ウイルスの増殖については、実験Ⅰでは16個体を、実験Ⅱでは12個体を供試し、各個体の連続した葉位の2成葉に SA-10 の10倍希釈液または TMV-O の100倍希釈液をそれぞれ半数の個体に接種し、25°C 下に置いた。実験Ⅰでは、接種1、2、3、4日後に、実験Ⅱでは、接種2、3、4日後に各4個体の接種葉（各1個体の2接種葉を1試料とした）から500倍希釈液（実験Ⅰ）及び100倍希釈液（実験Ⅱ）を調製し、*N. glutinosa* を用いて半葉法により、両ウイルス試料を組合せ、1試料を4個体にわたる8半葉で検定した。その結果は第4表に示すように、接種1日後または

*¹ SA-10 の接種源は *N. glutinosa* の局部病斑1個である。

第6表 *Nicotiana tabacum* cv. Samsun の頂葉部における SA-10 及び TMV-O の増殖*¹

		接種3日後	接種5日後	接種9日後	
		1・2葉* ²	1・2葉	1・2葉	3・4葉
SA-10	1* ³	27.4* ⁴	26.6	14.4	11.2
	2	30.3〔27.7〕* ⁵	25.2〔28.3〕	15.6〔15.7〕	8.4〔8.5〕
	3	25.5	33.2	17.0	5.8
増殖度* ⁶		1.0	1.02	0.57	0.31
TMV-O	1	20.0	31.5	30.4	54.2
	2	28.4〔29.5〕	37.2〔38.9〕	33.1〔31.3〕	62.5〔48.2〕
	3	40.0	48.1	30.5	27.9
増殖度		1.0	1.32	1.06	1.63

*¹ 各個体の連続した葉位の2葉にSA-10の10倍希釈液またはTMV-Oの100倍希釈液を接種し、25℃下に置いた。各試料は500倍希釈液とし、*Nicotiana glutinosa*の半葉法で検定した。

*² 上位の接種葉の直上の葉を葉位1葉とし、順次上方へ2, 3, 4葉とした。

*³ Samsunの個体番号。

*⁴ *N. glutinosa* 6個体にわたる6半葉、24ディスク（直径18mm）内の局部病斑数の平均。

*⁵ 3個体の頂葉部におけるウイルス濃度の平均値。

*⁶ 接種3日後のウイルス濃度に対するその後の増殖度。

2日後における2個体の平均ウイルス濃度に対するその後のウイルスの増殖度は、TMV-Oと比較してSA-10の増殖度がより高い傾向のあることが認められた。

*N. sylvestris*の接種葉における両ウイルスの増殖については、2つの実験でそれぞれ16個体を供試し、SA-10の10倍希釈液またはTMV-Oの100倍希釈液を連続した葉位の2成葉に接種し、25℃下に置いた。これらについて、接種1, 2, 3, 4日後に各4個体の接種葉（各1個体の2接種葉を1試料とした）から100倍希釈液（実験I）または500倍希釈液（実験II）を調製し、*N. glutinosa*の半葉法により、両ウイルスの試料を組合せて、1試料を4個体にわたる8半葉を用いて検定した。その結果は第5表に示すように、SA-10と比較してTMV-Oの増殖度がより高い傾向のあることが認められた。なお第5表に示さなかった他の実験結果をも含めて、*N. sylvestris*の接種葉にはかなりの個体差があり、明確な結果は得られなかった。

2. 頂葉部における増殖

Samsun 及び *N. sylvestris* の頂葉部におけるSA-10とTMV-Oの増殖を比較するために実験を行った。

Samsun の頂葉部における両ウイルスの増殖については、18個体を供試し、各9個体の連続した葉位の2葉にSA-10の10倍希釈液*²またはTMV-Oの100倍希釈液*²を接種し、25℃下に置いた。これらについて、接種3日後には各ウイルスにつき各3個体の頂葉である葉位1・2（この時点に葉位3が出葉）、接種5日後には各3個体の葉位1・2（葉位3・4が存在）、接種9日後には各3個体の葉位1・2及び葉位3・4（葉位5・6が存在）の葉を切りとり試料とした。検定に際しては、各試料から500倍希釈液を調製し、両ウイルス試料を組合せ、1試料を*N. glutinosa* 6個体にわたる6半葉に接種した。その結果を第6表に示す。接種3日後には、両ウイルスはほぼ同程度に増殖していたが、この3日後のウイルス濃度に対するその後のSA-10の増殖度は低く、とくに接種9日後の頂葉（葉位3・4）では、TMV-Oの増殖度と明瞭な差異が認められた。なお、SA-10の増殖に対するTMV-Oの増殖の割合を、各3個体の平均値でみると、接種3日後は1:1.1、5日後は1:1.4、9日後は1:2（葉位1・2）及び1:5.7（葉位3・4）であった。

N. sylvestris の頂葉部における両ウイルスの増殖については、18個体を供試し、各9個体の連続した葉位の2葉にSA-10の10倍希釈液またはTMV-Oの100倍希釈液を接種し、25℃下に置いた。これらについて、

*² この接種源に用いたSA-10の10倍希釈液とTMV-Oの100倍希釈液は、*N. glutinosa*の半葉法で検定した結果、直径18mmのディスクに形成された局部病斑数の平均が47.9及び51.5であり、ほぼ同程度であった。

第7表 *Nicotiana sylvestris* の頂葉部における SA-10 及び TMV-O の増殖*¹

		接種3日後 2・3葉* ²	接種5日後 2・3・4葉	接種9日後 3・4・5葉
SA-10	1* ³	3.2* ⁴	24.1	20.7
	2	14.2〔10.5〕* ⁵	30.3〔29.3〕	14.4〔19.0〕
	3	14.1	33.6	21.8
増殖度* ⁶		1.0	2.79	1.81
TMV-O	1	21.8	29.2	62.5
	2	22.4〔23.4〕	45.9〔39.6〕	61.1〔61.2〕
	3	26.1	43.8	60.1
増殖度		1.0	1.69	2.62

*¹ 各個体の連続した葉位の2葉に SA-10の10倍希釈液または TMV-O の100倍希釈液を接種し、25°C下に置いた。各試料は1000倍希釈液とし、*Nicotiana glutinosa* の半葉法で検定した。

*² 上位の接種葉の直上の葉を葉位1葉とし、順次上方へ2, 3, 4葉とした。

*³ *N. sylvestris* の個体番号。

*⁴ *N. glutinosa* 6個体にわたる6半葉、18ディスク(直径18mm)内の局部病斑数の平均。

*⁵ 3個体の頂葉部におけるウイルス濃度の平均値。

*⁶ 接種3日後のウイルス濃度に対するその後の増殖度。

接種3日後には各ウイルスにつき各3個体の葉位2・3, 接種5日後には各3個体の葉位2・3・4, 接種9日後には葉位3・4・5の葉を切りとり、試料とした。検定は、これらの試料の1000倍希釈液を調製し、両ウイルス試料を組合せ、1試料を*N. glutinosa*の6個体にわたる6半葉を用いて行った。その結果を第7表に示す。接種3日後の頂葉部におけるSA-10の濃度は、TMV-Oと比較して低く、その後の増殖度も低いことが認められた。なおSA-10の増殖に対するTMV-Oの増殖の割合を3個体の平均値でみると、接種3日後は1:2.2, 5日後は1:1.4, 9日後は1:3.2であった。

3. 各葉位における病徴

Samsun 24個体及び*N. sylvestris* 30個体を供試し、SA-10の10倍希釈液及びTMV-Oの100倍希釈液を各半数個体に接種し、25°C下に置いた。これらについて、接種10日後の各葉位における病徴を観察した。その結果を第8表に示す。TMV-O接種個体は、両寄主植物の葉位2以上の葉に顕著なモザイク斑紋を生じた。これに対し、SA-10接種個体のSamsunは、葉位2~5の葉、とくに葉位3と4の葉にTMV-Oのそれとは質的に異なる弱いモザイク斑紋を現わしたが、最頂葉は無病徴であった。またSA-10接種個体の*N. sylvestris*の頂葉は、ほとんど無病徴であった。なおSA-10接種個体のSamsunの葉位3と4で無病徴(NO)またはか

すかな濃淡斑(M±)があるものとした葉及び同様にSA-10を接種した*N. sylvestris*の葉位3と4の無病徴(NO)の葉は、個別に10倍希釈液として*N. glutinosa*で検定した結果、すべての試料からSA-10は回収され、それらが不感染個体でないことを確認した。

Ⅲ. TMV-Oの増殖に対するSA-10の影響

1. 両ウイルスを同時に接種した場合

SA-10及びTMV-Oの各10倍希釈液をSamsunに同時に接種し、その頂葉部におけるTMV-Oの増殖に対するSA-10の影響を知るために実験を行った。

Samsun 18個体を3区に分け、各個体の連続した葉位の2成葉の対半葉に、それぞれSA-10とTMV-O, TMV-Oと蒸留水、及びSA-10と蒸留水を接種し、25°C下に置いた。接種7日後及び接種15日後に、各区から3個体ずつを任意に選び、それらの頂葉部(7日後は葉位2以上の3葉、15日後は葉位6または7以上の4葉)を個体別に切りとり、1000倍希釈液を調製した。検定に際しては、3区の試料を組合せ、1試料を*N. glutinosa*の6個体にわたる6半葉に接種した。結果を第9表に示す。接種7日後には、SA-10とTMV-O同時接種区及びTMV-O単独接種区のウイルス増殖量はほぼ同程度であり、SA-10単独接種区の増殖量は著しく低かった。このSA-10単独接種区の低い増殖量からみて、S

第8表 *Nicotiana tabacum* cv. Samsun 及び *Nicotiana sylvestris* における SA-10 と TMV-O による接種10日後の病徴*1

		Samsun の 葉 位 *2					
	1	2	3	4	5	6	
SA-10	NO・CH 4・8	NO・CH・M±・M+	M±・M+	NO・M±・M+	NO・M±・M+	NO・M±	
		1・6・3・2	6・6	3・5・4	5・5・2	9・1	
TMV-O	CH 12	CH・M±・M±	M±・M±	M±・M±	M±・M±	M±・M±	
		7・3・2	3・9	5・7	3・6	4・1	
		<i>N. sylvestris</i> の 葉 位					
	1	2	3	4	5	6	
SA-10	NO・CH 4・11	NO・CH・M±	NO・CH・M±	NO・M±	NO・M+	NO	
		2・7・5	7・3・5	12・3	9・1	4	
TMV-O	CH 15	CH・M±	M±・M±	M±・M±	M±・M±	M±	
		6・9	12・3	6・9	5・7	2	

*1 SA-10は10倍希釈液, TMV-Oは100倍希釈液を接種し, 25°C下に置いた。SA-10接種個体の Samsun の葉位 3, 4 の NO, M± とした葉及び *N. sylvestris* の葉位 3, 4 の NO とした葉は, 10倍希釈液として *Nicotiana glutinosa* で検定することにより, 不感染個体ではないことを確認した。なお病徴の下段の数字は該当個体数を示す。

*2 接種葉の直上を葉位1とし, 順次上方へ2, 3, 4とした。なお葉位5, 6葉のない個体もあった。
NO: 無病徴, CH: 退緑, M±: かすかな濃淡斑, M+: TMV-Oのモザイクと質的に異なる弱いモザイク斑紋(局部的にわずかに存在する場合をも含める), M±: TMV-Oによる典型的なモザイク斑紋, M±: はげしい典型的なモザイク斑紋。

A-10とTMV-O同時接種区で示されたウイルス濃度は, TMV-Oの増殖によるものと思われた。接種15日後には, TMV-O単独接種区のウイルス濃度が最も高く, SA-10とTMV-O同時接種区及びSA-10単独接種区は同程度のウイルス濃度であった。この時期には, 上記の7日後と異なり, SA-10とTMV-O同時接種区では, TMV-Oの増殖に対しSA-10がわずかに影響を及ぼしているものと思われた。なお第10表の接種7日後及び15日後の上記3区のSamsunの頂葉部における病徴は, 上述のことをよく示しているものと思われる。

2. SA-10接種4日後にTMV-Oを接種した場合

SA-10の10倍希釈液をSamsun及び *N. sylvestris* に1次接種し, その4日後にTMV-Oの10倍希釈液を2次接種して, それらの頂葉部におけるTMV-Oの増殖に対するSA-10の影響について調べた。

Samsun については, 12個体を2区に分け, 各個体の1成葉にSA-10または蒸留水を1次接種し, その4日後に両区の全個体について, 1次接種葉の直上の1成葉にTMV-Oを2次接種して, 25°C下に置いた。このTMV-O接種5日後及び10日後に, 各6個体の頂葉部

(5日後は葉位2以上の3葉, 10日後は葉位6以上の4葉)を個別体に切りとり, 1000倍希釈液を調製した。これらの検定に際しては, 両区の試料を組合せ, 1試料を *N. glutinosa* の6個体にわたる6半葉に接種した。その結果を第11表に示す。2次ウイルスTMV-O接種5日後及び10日後のSamsunの頂葉部においては, TMV-O単独接種区のウイルス濃度に対し, SA-10を1次接種した区のウイルス濃度は著しく低く, SA-10がTMV-Oの増殖に影響を与えたものと思われた。なお第12表に, 上述のSamsunの頂葉部における両区の個体の病徴を示す。SA-10を1次接種した区のTMV-O接種5日後のSamsunの頂葉は, 明瞭な病徴を示さず, 同じく10日後の頂葉は病徴を示したが, TMV-O単独接種区の頂葉が示す典型的なモザイク斑紋は出現しなかった。

N. sylvestris については, 15個体を3区に分け, 各個体の1成葉にSA-10または蒸留水を1次接種し, その4日後に各区の個体の1次接種葉の直上の1成葉に蒸留水またはTMV-Oを2次接種して, 25°C下に置いた。この2次接種5日後に6個体, 10日後に9個体の頂葉部(5日後は葉位2以上の3葉, 10日後は葉位6以上

第9表 SA-10及びTMV-Oを同時に接種した *Nicotiana tabacum* cv. Samsun
の頂葉部におけるTMV-Oの増殖に対するSA-10の影響*¹

	接 種 7 日 後			平均
	1* ²	2	3	
SA-10 + TMV-O	23.6* ³	20.9	30.7	25.1
TMV-O + DW	24.3	27.0	25.3	25.5
SA-10 + DW	4.3	10.4	11.6	8.8

	接 種 15 日 後			平均
	1	2	3	
SA-10 + TMV-O	22.3	22.8	31.5	25.5
TMV-O + DW	33.4	30.0	38.3	33.9
SA-10 + DW	25.4	26.3	30.5	27.4

*¹ 18個体を3区に分け、連続した葉位の2成葉の対半葉に各10倍希釈液のSA-10とTMV-O、TMV-OとDW(蒸留水)、SA-10とDWを接種し、25°C下に置いた。接種7日後の試料は、葉位2~4の3葉、15日後の試料は葉位6以上の4葉であり、これらを1000倍希釈液として *Nicotiana glutinosa* の半葉法で、各区の試料を組合せて検定した。

*² Samsunの個体番号。

*³ *N. glutinosa* 6個体にわたる6半葉、24ディスク(直径18mm)内に生じた局部病斑数の平均。

の4葉)を個体別に切りとり、1000倍希釈液を調製した。これらの検定に際しては、各区の試料を組合せ、5日後の試料については、1試料を *N. glutinosa* 6個体にわたる6半葉に、10日後の試料については、12個体にわたる12半葉に接種した。その結果を第13表に示す。2次ウイルスTMV-O接種5日後及び10日後の *N. sylvestris* の頂葉部においては、TMV-O単独接種区のウイルス濃度に対し、1次ウイルスとしてSA-10が接種された区のウイルス濃度は顕著に低く、4日前に1次接種されたSA-10によってTMV-Oの増殖が抑制されたことを示すものと思われた。また接種10日後のTMV-O単独接種区と接種14日後のSA-10単独接種区で認められたウイルス濃度の差異は、SA-10と比較してTMV-Oがもつより急速な増殖能を示すものと思われた。なお第14表に上述の各区の個体の頂葉部における病徴を示す。SA-10を1次接種した区のTMV-O接種5日後の個体の頂葉は、ほとんど病徴を示さず、また10日後の同区の個体の頂葉の病徴は、TMV-O単独接種区の個体の示す病徴と明確な相違があった。

3. SA-10接種8日後にTMV-Oを接種した場合

SA-10の10倍希釈液をSamsunに1次接種し、その8日後にTMV-Oの10倍希釈液を2次接種して、Samsunの頂葉部におけるTMV-Oの増殖に対するSA-10の影響について調べた。

Samsun 15個体を供試し、これらを3区に分け、各個

体の1成葉にSA-10または蒸留水を1次接種し、8日後に各区の個体の1次接種葉の直上の1成葉に蒸留水またはTMV-Oを2次接種して、25°C下に置いた。この2次接種5日後に6個体、10日後に9個体の頂葉部(5日後は葉位5以上の3葉、10日後は葉位6以上の4葉)を個体別に切りとり、1000倍希釈液を調製した。これらの検定は、上記3区の試料を組合せ、1試料を *N. glutinosa* の6個体にわたる6半葉を用いて行った。その結果を第15表に示す。2次ウイルスTMV-O接種5日後の頂葉部においては、TMV-O単独接種区のウイルス濃度に対し、1次ウイルスとしてSA-10を接種した区のウイルス濃度は低い傾向を示したが、SA-10の影響は不明確であった。2次ウイルスTMV-O接種10日後の頂葉部においては、TMV-O単独接種区のウイルス濃度に対し、SA-10を1次接種した区のウイルス濃度は顕著に低く、SA-10によってTMV-Oの増殖が抑制されたものと思われた。また接種10日後のTMV-O単独接種区と接種18日後のSA-10単独接種区のウイルス濃度を比較すると、TMV-O単独接種区のそれが明らかに高く、両ウイルスの増殖能の相違が示された。なお、上述の3区の個体の頂葉部における病徴を第16表に示す。TMV-O接種8日前にSA-10が1次接種された区では、TMV-Oによる典型的な病徴の出現は認められなかった。

第10表 SA-10及びTMV-Oを同時に接種した *Nicotiana tabacum* cv. Samsun の頂葉部における病徴*1

	接 種 7 日 後				
	1*2	2	3	4	5
SA-10 + TMV-O	NO・CH 1・2	M±・M+	M+・M++	M+・M++	NO・M+
		2・1	2・1	2・1	1・1
TMV-O + DW	CH 3	CH・M++	M+++	M+++	M++・M+++
		1・2	3	3	1・1
SA-10 + DW	NO 3	NO・M±	M±・M+	NO・M±	NO・M±
		1・2	1・2	1・2	2・1
	接 種 15 日 後				
	6	7	8	9	10
SA-10 + TMV-O	M+	M+	M+	M+	M+
	3	3	3	3	3
TMV-O + DW	M++・M+++	M++・M+++	M++・M+++	M++	NO・M++
	2・1	2・1	2・1	3	2・1
SA-10 + DW	M+	M+	M+	M+	NO・M+
	3	3	3	3	2・1

*1 第9表に示した個体の病徴（下段の数字は該当個体数）であり、葉位、病徴の説明は、第8表と同じである。

*2 Samsunの葉位。

考 察

SA-10は、TMV-Oを親ウイルスとして、30℃及び35℃下の全身感染と、25℃下の局部感染とを組合せて交互に連続して *N. glutinosa* を20回通過（10 passages）させることにより得られたTMVの弱毒系統である（小國ら, 1983; OGUNI *et al.*, 1983; 小國ら, 1984 a, b）。このSA-10の諸性質について、TMV-Oのそれと比較検討するとともに、TMV-Oの増殖及び病徴発現に対するSA-10の影響について調べた。

希釈限界及び耐熱性のいずれについても、SA-10はTMV-Oよりも低く、TMV-O抗血清に対しては、SA-10はやや反応は弱い。TMV-Oと同程度に反応した。これらの性質は、近年報告されている弱毒系統（STEEPY 1968; 西口・大島, 1979など）と同様の傾向をもつように思われるが、強毒系統と同じ耐熱性及び耐保存性をもつとされている HOLMES（1934）の潜伏系統とは異なる。

SA-10及びTMV-Oの全身感染寄主である Samsun 及び *N. sylvestris* の接種葉及び頂葉部での25℃下に

おける両ウイルスの増殖については、*N. glutinosa* の対半葉にはほぼ同数の局部病斑を形成するSA-10の10倍希釈液とTMV-Oの100倍希釈液を供試して実験した。Samsun及び *N. sylvestris* の頂葉部においては、TMV-Oと比較してSA-10の経時的な増殖度は低く、弱毒ウイルスとしての基本的な性質が示された。*N. sylvestris* の接種葉におけるSA-10の増殖度は、TMV-Oと比較して多少低いように思われたが、不明確であった。Samsunの接種葉においては、SA-10の増殖度はTMV-Oのそれより高いという結果が得られた。この結果は、SA-10の増殖における寄主特異性とするよりも、以下のように考えられる。すなわち、TMV-Oの接種葉は、より急速なTMV-Oの増殖により比較的初期に生理的に悪い状態になるために、その後の増殖を許容できないのに対し、SA-10の接種葉では徐々にSA-10が増殖する結果、接種葉という限られた部位では、このような現象を呈するのであって、両ウイルスの真の増殖力とは異なる傾向を示したものと思われる。これに反して、次々に展開し成長する頂葉部では、SA-10と比較してTMV-Oはより急速に最頂葉部まで侵入し、増

第11表 SA-10 接種4日後に TMV-O を接種した *Nicotiana tabacum* cv. Samsun の頂葉部における TMV-O の増殖に対する SA-10 の影響 *¹

	TMV-O 接種 5 日 後			平均
	1* ²	2	3	
SA-10 → TMV-O	7.8* ³	7.8	8.5	8.0
DW → TMV-O	13.3	20.6	11.5	15.1

	TMV-O 接種 10 日 後			平均
	1	2	3	
SA-10 → TMV-O	28.2	26.6	31.1	28.6
DW → TMV-O	47.2	41.7	38.4	42.4

*¹ 各個体の1成葉に SA-10 の10倍希釈液または DW (蒸留水) を接種し、4 日後に直上の1成葉に TMV-O の10倍希釈液を接種して、25°C 下に置いた。TMV-O 接種5 日後の試料は、葉位2 以上の3 葉、10 日後の試料は葉位6 以上の4 葉であり、それらの1000 倍希釈液を *Nicotiana glutinosa* の半葉法で、両区を組合せて検定した。

*² Samsun の個体番号。

*³ *N. glutinosa* 6 個体にわたる6 半葉、24 ディスク (直径18 mm) 内に生じた局部病斑数の平均。

第12表 SA-10 接種4日後に TMV-O を接種した *Nicotiana tabacum* cv. Samsun の頂葉部における病徴 *¹

	TMV-O 接種 5 日 後				
	1* ²	2	3	4	5
SA-10 → TMV-O	NO 3	NO・M± 2・1	NO・M± 1・2	NO 3	NO 3
DW → TMV-O	NO 3	VC 3	M++ 3	M++ 3	M++ 3

	TMV-O 接種 10 日 後				
	3	4	5	6	7
SA-10 → TMV-O	M±・M+ 1・2	M+ 3	M+ 3	M±・M+ 1・2	M±・M+ 2・1
DW → TMV-O	CH・M++ 1・2	M++ 3	M++・M+++ 1・2	M++・M+++ 1・2	M++ 3

*¹ 第11表に示した個体の病徴 (下段の数字は該当個体数) であり、葉位及び病徴の説明は第8表と同じである。なお病徴 VC は葉脈透明を示す。

*² Samsun の葉位。

殖するという相違が明確に示されている。なお現在、TMV の温度感受性変異系統 (JOCKUSCH, 1968; PETERS and MURPHY, 1975; NISHIGUCH *et al.*, 1978 など) が知られているが、SA-10 の高温条件下における行動

については、現在検討中である。25°C 下において、SA-10 の10倍希釈液または TMV-O の100倍希釈液を接種した10 日後の、両ウイルスによる Samsun 及び *N. sylvestris* の病徴は、明らかに異なっていた。とくに SA-

第13表 SA-10 接種4日後に TMV-O を接種した *Nicotiana sylvestris* の頂葉部における TMV-O の増殖に対する SA-10 の影響*¹

	1* ²	TMV-O 接 種 5 日 後 2	3	平均
SA-10 → TMV-O	7.0* ³	8.4	8.2	7.9
DW → TMV-O	30.1	34.2	32.4	32.2

	1	TMV-O 接 種 10 日 後 2	3	平均
SA-10 → TMV-O	8.4* ⁴	6.4	11.8	8.9
DW → TMV-O	37.0	44.9	29.9	37.3
SA-10 → DW	11.9	11.3	17.8	13.7

*¹ 各個体の1成葉に SA-10 の10倍希釈液または DW (蒸留水) を接種し、4日後に直上の1成葉に TMV-O の10倍希釈液または DW を接種して、25°C 下に置いた。TMV-O 接種5日後の試料は葉位3~5の3葉、10日後の試料は葉位4~6の3葉であり、それらを1000倍希釈液とし、各区の試料を組合せて *Nicotiana glutinosa* の半葉法で検定した。

*² *N. sylvestris* の個体番号。

*³ *N. glutinosa* 6個体にわたる6半葉、24ディスク (直径18mm) 内の局部病斑数の平均。

*⁴ *N. glutinosa* 12個体にわたる12半葉、48ディスク (直径18mm) 内の局部病斑数の平均。

第14表 SA-10 接種4日後に TMV-O を接種した *Nicotiana sylvestris* の頂葉部における病徴*¹

	1* ²	TMV-O 接 種 5 日 後 2	3	4	5
SA-10 → TMV-O	NO 3	NO 3	NO 3	NO 3	NO 3
DW → TMV-O	NO 3	NO 3	VC・CH 2・1	VC 3	M++ 2

	3	4	TMV-O 接 種 10 日 後 5	6	7
SA-10 → TMV-O	NO 3	NO 3	M± 3	NO・M± 2・1	M±・M+ 2・1
DW → TMV-O	CH 3	M++ 3	M++・M++ 2・1	M++ 3	M++ 3
SA-10 → DW	NO 3	NO・M± 2・1	NO・M± 2・1	NO 3	NO・M+ 1・2

*¹ 第13表に示した個体の病徴 (下段の数字は該当個体数) であり、葉位及び病徴の説明は第8表と同じである。

*² *N. sylvestris* の葉位。

10接種個体の最頂葉部は、これまでに知られている弱毒系統と同様に、ほとんど無病徴またはかすかな濃淡斑のみを示したが、これらの部分を試料として *N. glutinosa* で SA-10 を回収・検定した結果、SA-10 による感染

が完全に確立していることが確認された。

Samsun 及び *N. sylvestris* の全身感染葉における TMV-O の増殖に対する SA-10 の影響についての実験では、1次ウイルス SA-10 の接種源濃度に対し、ほ

第15表 SA-10接種8日後にTMV-Oを接種した *Nicotiana tabacum* cv. Samsun の頂葉部におけるTMV-Oの増殖に対するSA-10の影響*¹

	TMV-O 接 種 5 日 後			平均
	1* ²	2	3	
SA-10 → TMV-O	38.4* ³	42.7	24.4	35.2
DW → TMV-O	34.8	49.0	45.6	43.1

	TMV-O 接 種 10 日 後			平均
	1	2	3	
SA-10 → TMV-O	23.3	36.8	26.5	28.9
DW → TMV-O	45.7	47.4	59.4	50.8
SA-10 → DW	39.1	25.7	42.8	35.9

*¹ 各個体の1成葉にSA-10の10倍希釈液またはDW(蒸留水)を接種し、8日後に直上の1成葉にTMV-Oの10倍希釈液またはDWを接種して、25°C下に置いた。TMV-O接種5日後の試料は葉位5以上の3葉、10日後の試料は葉位6以上の4葉であり、それらを1000倍希釈液とし、各区の試料を組合せて *Nicotiana glutinosa* の半葉法で検定した。

*² Samsunの個体番号。

*³ *N. glutinosa* 6個体にわたる6半葉、24ディスク(直径18mm)内の局部病斑数の平均。

ば1桁高濃度のTMV-Oを2次ウイルスの接種源として供試した。両ウイルスを個別に回収できる寄主がないため、TMV-Oの増殖に対するSA-10の影響については、両ウイルス接種区とTMV-O単独接種区及びSA-10単独接種区と比較し、またTMV-O単独接種区とSA-10単独接種区とを比較するという方法によった。両ウイルスを同時に対半葉に接種した場合のSA-10の影響は明らかではなかったが、SA-10接種4日後及び8日後にTMV-Oを接種した場合のSamsun及び *N. sylvestris* の頂葉におけるTMV-Oの増殖は、明らかに抑制された。とくに *N. sylvestris* を寄主とした場合は、TMV-Oの増殖に対するSA-10の影響は顕著であった。既述したように、両ウイルスを個別に分けて検定する寄主がないために、いわゆる干渉効果を数字で表わすことは出来なかった。しかし、4日及び8日前に接種され、移行・増殖したSA-10によってTMV-Oの増殖がかなり干渉されたために、TMV-O単独感染個体よりも両ウイルス感染個体から回収されたtotalの感染性が低下したものと判断される。植物ウイルス間の干渉現象の機構については、未だ不明な点が多く(ZAITLIN, 1976; SHALLA and PETERSEN, 1978)、TMV-Oの増殖に対するSA-10の影響のメカニズムについては、なお詳細な研究が必要と思われる。

摘 要

TMV-Oを親ウイルスとして、30°C下(3回)と35

°C下(7回)における全身感染と25°C下における局部感染(10回)とを組合せ、交互に *N. glutinosa* を連続通過(10 passages)させることにより得られたTMV弱毒系統SA-10(小國ら, 1983; OGUNI *et al.*, 1983; 小國ら, 1984 a, b)の性質について、TMV-Oのそれと比較検討するとともに、TMV-Oの増殖及び病徴発現に対するSA-10の影響について調べた。

耐希釈性については、SA-10の希釈限界は 10^{-7} ~ 10^{-8} であり、TMV-Oは 10^{-8} でなお感染性が認められた。耐熱性については、SA-10は90°C、10分間の処理で失活したが、TMV-Oはなお感染性を示した。血清反応については、TMV-O抗血清に対し、SA-10はTMV-Oと比較してやや反応は弱い、ともに抗血清終末希釈160倍まで反応した。

Samsun 及び *N. sylvestris* の接種葉及び頂葉部における両ウイルスの増殖については、Samsunの接種葉で得られた結果以外は、TMV-Oと比較してSA-10の経時的増殖度は、明らかに低いことが示された。接種10日後のSamsun 及び *N. sylvestris* の、とくに最頂葉部の病徴については、SA-10接種個体は、ウイルスは回収されたが、ほとんど無病徴であり、TMV-O接種個体の典型的なモザイク病徴と明らかに相違していた。

TMV-Oの増殖に対するSA-10の影響については、両ウイルスの10倍希釈液(SA-10の10倍希釈液はTMV-Oの100倍希釈液とほぼ同数の局部病斑を *N. glutinosa*

第16表 SA-10接種8日後にTMV-Oを接種した *Nicotiana tabacum* cv. Samsun の頂葉部における病徴*1

		TMV-O 接 種 5 日 後			
	3*2	4	5	6	7
SA-10 → TMV-O	M±・M+ 2・1	M± 3	M±・M+ 2・1	NO 3	M± 2
DW → TMV-O	NO・VC 1・2	NO・M++ 1・2	VC・M++ 1・2	VC・M++ 1・2	M++ 1
		TMV-O 接 種 10 日 後			
	6	7	8	9	10
SA-10 → TMV-O	M±・M+ 2・1	M+ 3	M+ 3	M±・M+ 1・2	M±・M+ 1・1
DW → TMV-O	M++・M+++ 1・2	M+++ 3	M+++ 3	M++・M+++ 1・1	M++ 1
SA-10 → DW	M±・M+ 2・1	M±・M+ 1・2	M+ 3	M+ 3	M±・M+ 1・1

*1 第15表に示した個体の病徴（下段の数字は該当個体数）であり，葉位及び病徴の説明は第8表と同じである。
 *2 Samsun の葉位。

nosa の対半葉に形成する）を供試して検討した。両ウイルスを対半葉に同時接種した7日後のSamsunの頂葉部では，TMV-Oの増殖に対するSA-10の影響はほとんど認められなかったが，15日後では，SA-10の影響がわずかに認められた。SA-10を1次接種し，4日後にTMV-Oを2次接種したSamsun及び*N. sylvestris*の2次接種5日後及び10日後の頂葉部では，SA-10の存在がTMV-Oの増殖を明らかに抑制していることが示された。またSA-10を1次接種した8日後に，TMV-Oを2次接種したSamsunの，2次接種5日後及び10日後の頂葉部においても，SA-10によりTMV-Oの増殖が抑制される傾向が認められた。

文 献

- 1) CASSELLS, A. C. and C. C. HERRICK: *Ann. Appl. Biol.*, **86**, 37-46, 1977.
- 2) CASSELLS, A. C. and C. C. HERRICK: *Virology*, **78**, 253-260, 1977.
- 3) DE ZOETEN, G. A. and R. W. FULTON: *Phytopathology*, **65**, 221-222, 1975.
- 4) FLETCHER, J. T. and J. M. ROWE: *Ann. Appl.*

Biol., **81**, 171-179, 1975.

- 5) 後藤忠則・小餅昭二・大島信行: 日植病報, **32**, 221-226, 1966.
- 6) 後藤忠則・根本正康: 北海道農試彙報, **99**, 67-76, 1971.
- 7) 後藤忠則・大島信行: 日植病報, **27**, 109-114, 1962.
- 8) 比留木忠治・秦野たばこ試報, **56**, 59-72, 1965.
- 9) HOLMES, F. O.: *Phytopathology*, **24**, 845-873, 1934.
- 10) JOCKUSCH, H.: *Virology*, **35**, 94-101, 1968.
- 11) JOHNSON, J.: *Science*, **64**, 210, 1926.
- 12) JOHNSON, J.: *Phytopathology*, **37**, 822-837, 1947.
- 13) 久保 進・都丸敬一・木村敏雄・村野久富: 秦野たばこ試報, **73**, 303-325, 1973.
- 14) NISHIGUCHI, M., F. MOTOYOSHI and N. OSHIMA: *J. Gen. Virol.*, **39**, 53-61, 1978.
- 15) 西口正通・大島信行: 日植病報, **45**, 654-659, 1979.
- 16) 小國昭信・宮本セツ・宮本雄一: 日植病報, **49**, 443, 1983.
- 17) OGUNI, A., S. MIYAMOTO and Y. MIYAMOTO:

- Ann. Phytopath. Soc. Japan*, **49**, 739-741, 1983.
- 18) 小國昭信・宮本セツ・宮本雄一：神大農研報，**16**, 99-111, 1984 a.
- 19) 小國昭信・宮本セツ・宮本雄一：神大大学院自然科学研紀要，**2-B**, 1984 b. (印刷中)
- 20) 大島信行・後藤忠則・佐藤倫造：北海道農試彙報，**83**, 87-99, 1964.
- 21) 大島信行・小餅昭二・後藤忠則：北海道農試彙報，**85**, 23-33, 1965.
- 22) PETERS, D. L. and T. M. MURPHY : *Virology*, **65**, 595-600, 1975.
- 23) RAST, A. T. B. : *Neth. J. Plant Pathol.*, **78**, 110-112, 1972.
- 24) SHALLA, T.A. and L. J. PETERSEN : *Phytopathology*, **68**, 1681-1683, 1978.
- 25) STEEPY, T. L. : *Tidsskr. PlAul.*, **72**, 81-85, 1968.
- 26) ZAITLIN, M. : *Phytopathology*, **66**, 382-383, 1976.