

# タバコモザイクウイルスに対する トマト品種の抵抗性 (第5報)

トマト体内でのウイルス増殖に対する  
サイトカニン類の影響

平井篤造・西村充博・森 敏記・  
柳 陽一郎・倉橋正祐・伍賀富久美\*

## Resistance of Tomato Cultivars to Tobacco Mosaic Virus (V)

### Effects of Cytokinins on the Virus Multiplication in Tomatoes

Tokuzo HIRAI, Katsuhiro NISHIMURA, Toshiki MORI, Yoichiro YANAGI,  
Masasuke KURAHASHI, and Fukumi GOGA\*

#### Synopsis

Roots of tomato cultivars resistant or susceptible to tobacco mosaic virus (TMV) were immersed in solutions of cytokinins at 25°C usually for 6 days after TMV inoculation. TMV concentration in tomato cultivars was determined by the chemical method, that is, by measuring OD<sub>260 nm</sub> of TMV precipitated by adding 0.25 saturated (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> to the infected and clarified extract. The results obtained are summarized in Table 2.

Purine-6-carbamoyl threonine (PCT, I in Fig. 1, data are presented in Figs. 2, 3), benzyl aminopurine (BAP, II in Fig. 1, data are presented in Fig. 4), and diphenylurea (DPU, IV in Fig. 1, data are presented in Figs. 7, 8) reduced virus concentration in resistant cultivar (Zuiko, ZK), but did not that in susceptible cultivar (Fukuju No. 2, F2). It seemed, therefore, that these compounds induced resistance in the resistant tomato cultivar. The concentration of the chemicals to be effective was 10<sup>-5</sup>M or 10<sup>-6</sup>M. In the case of DPU, application of the chemical for one day immediately after inoculation was effective. Kinetin (KIN, V in Fig. 1, data are presented in Fig. 10) treatment for 2 days after inoculation reduced virus concentration both in resistant and susceptible cultivars, proving that this compound might act as an antiviral agent. 1-Deaza pentylaminopurine (DPA, III in Fig. 1, data are presented in Fig. 6) reduced, to some extent, virus concentration in resistant cultivar, but it had no effect on the susceptible cultivar throughout 10<sup>-5</sup> - 10<sup>-8</sup> M concentrations. This fact shows that replacement of N to C atom (deaza) may reduce the activity.

From these results, induction of resistance in the resistant cultivar is discussed, because inhibition of virus synthesis is reversal between tomato cultivars which are different for the virus resistance. This phenomenon seems to be distinct from the antiviral action. The regulatory mechanisms of virus synthesis in tomato cultivars are also reviewed (Table 3).

\*農学科, 植物病理学研究室 (Plant Pathology Lab. Dept. of Agriculture, Kinki Univ., Higashiosaka, Osaka, 577, Japan.)

## I 緒 言

植物ウイルスの増殖に対する植物ホルモン類の作用については種々な議論がある。インドール酢酸やカイネチンは、タバコモザイクウイルス(TMV)によるインゲン葉の局部病斑の形成を阻止するが、同ウイルスのタバコ葉内での増殖はかえって促進するという<sup>1,2)</sup>。しかしウイルスの増殖阻止とその促進は、極めて微妙な関係にあり、供試薬剤の濃度、施

用時期、施用方法や植物の種類および品種、用いた組織などによって、容易に反応が逆転することが知られている。

本報では以上の立場から、サイトカイニン類(cytokinins)に限定して、天然および人工の数種のサイトカイニンを使用し、TMVのトマト品種(TMV)に対して抵抗性および罹病性)内での増殖に対する影響を実験した。

Table 1. Cytokinin related compounds used in this experiment

Compounds	Abbreviation	Solvent
Purine-6-carbamoyl threonine (I)	PCT	Ethylene glycol
Benzyl aminopurine (II)	BAP	Dimethyl sulfoxide
1-Deaza pentylaminopurine (III)	DPA	Ethylene glycol
Diphenylurea (IV)	DPU	1N NaOH
Kinetin (6-furfuryl aminopurine) (V)	KIN	1N NaOH

Chemical formula of these compounds are listed in Fig. 1.

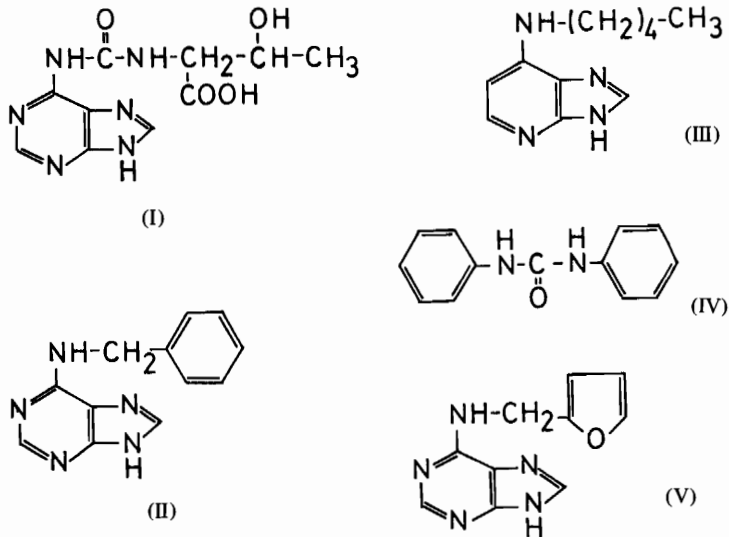


Fig. 1. Chemical formula of cytokinin related compounds used in this experiment.

I, II, III, IV, and V: refer to Table 1.

## II 実験材料および実験方法

**供試植物** トマトのTMVに対する抵抗性品種として瑞光(ZK), 罹病性品種として福寿2号(F2)を用いた。これらの種子は横浜市坂田種苗から購入

した。直径15cmの黒色ビニール製ポットにバーミキュライトをつめ、これに種子をまき、最終的には3~4本立てとした。肥料として1,000倍ハイポネックス液を適宜与えた。

**供試ウイルスと接種** TMVの普通系(OM)を用

いた。これは本学でタバコで継代保存中のものである。接種には罹病葉を10倍量の脱イオン水ですりつぶし、ガーゼでこした後、ろ液に600メッシュのカーボランダムを0.2g/mlに加え、本葉4～5枚のトマト苗の最上葉を残して次の2葉の表面に、指先で軽く磨擦接種した。

**供試薬剤** Table 1に示す薬剤を使用した。その化学構造はFig. 1に示した。これらは東京都日本特産KKから分譲されたもので、また特にDPAは東京農工大学 橋爪教授の御好意により分譲されたものである。

**薬剤の施用法** トマトの根から薬剤を吸収させた。すなわちトマト苗をパーミクライトから引き抜き、根をよく洗浄した後、試験管のなかに所定濃度の薬剤を入れ、トマトを1本ずつさしこみ、綿で軽く固定した。薬剤は少なくなると補給し、最終的に薬剤の吸収量をg/day/gトマト生重として表わした。薬剤は通常TMV接種後6日間処理した。また一部の薬剤では、接種後1日、2日間のみ実施し、残りの5日、4日間は水栽培とした。対照の植物は接種後6日間水道水で栽培した。実験の各区は少なくとも3本以上の植物を用い、有意差検定ができるようにした。

**ウイルス定量法** 接種、薬剤処理した試験管の植物は25℃、5,000lxの人工気象室に置き、通常接種後6日目にサンプリングした。ウイルスの定量法は化学定量<sup>3)</sup>によった。その詳細は前報で述べた。ウイルス量はTMV mg/gトマト生重として表わした。

### Ⅲ 実験結果

#### TMVのトマト内での増殖に対するPCTの影響

接種直後から連続6日間、PCTの $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-8}$ M液をトマトに処理した結果をFig. 2に示した。すなわちF2、ZKともPCTの $10^{-6}$ M液でウイルス量が無処理より減少したが、 $10^{-7}$ 、 $10^{-8}$ M液では効果は劣った。F2とZKを比較すると、後者のウイルス量が無処理区の25%と阻害度が高く、前者ではそれは55%と劣った。

次にPCTの $10^{-6}$ M液を用い、接種直後から1日、2日、および連続6日間処理した実験を行なった。結果はFig. 3のようで、ZKでは6日間処理で効果がいちじるしく、2日、1日処理ではウイルス増殖阻害効果は少なかった。F2でもほぼそれと同じ傾向がみられたが、今回の実験では、いずれの処理でもウイルス増殖の阻害程度は少なかった。

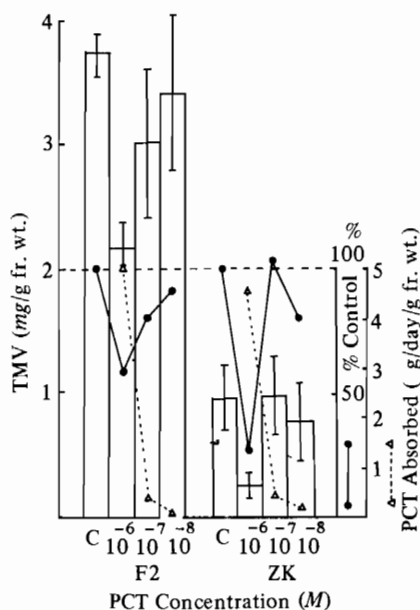


Fig. 2. Effect of various concentrations of PCT on TMV synthesis in tomato cultivars resistant (ZK) or susceptible (F2) to TMV.

Roots of tomato cultivars were immersed into solutions of PCT for 6 days after TMV inoculation at 25°C. TMV concentration was determined by the chemical method (see Methods).

C: nontreated (water cultured) control

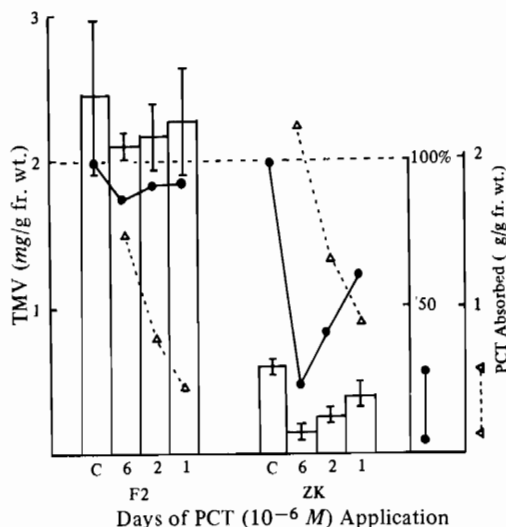


Fig. 3. Effect of PCT treatment for different period after inoculation on TMV synthesis in tomato cultivars resistant or susceptible to TMV.

C: nontreated (water cultured) control, 2: 2 days and 1: one day treatment immediately after inoculation.

### TMVのトマト内での増殖に対するBAPの影響

前回と同じように接種直後から6日間の処理をした。薬剤の濃度は $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$  M液である。結果をFig. 4に示した。F2では処理と無処理区の間ほとんどウイルス量の差がなかった。ZKでは $10^{-6}$  M

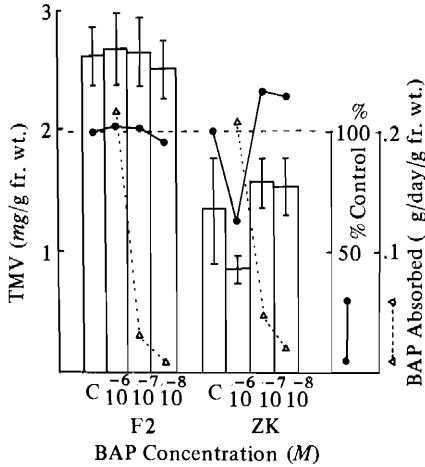


Fig. 4. Effect of various concentrations of BAP on TMV synthesis in tomato cultivars resistant or susceptible to TMV.

C: nontreated (water cultured) control

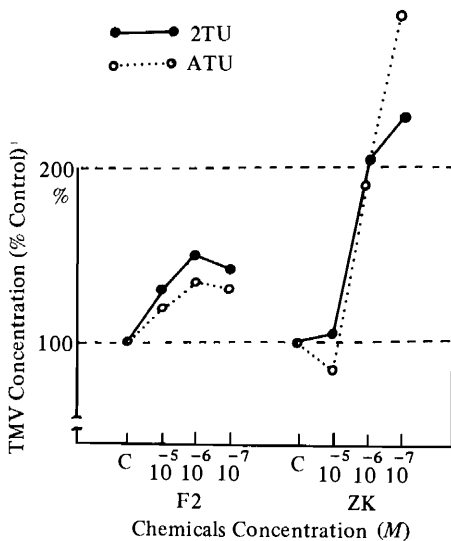


Fig. 5. Increase of TMV synthesis in tomato cultivars resistant (ZK) or susceptible (F2) to TMV.

TMV concentration (% control): % of nontreated control, 2TU: 2-thiouracil, ATU: 6-amino 2-thiouracil.

液処理で、ウイルス量が無処理区の60%まで減少したが、それより低濃度ではかえってウイルス量が無処理区より増加した。

BAPと化学構造が似ている、2チオウラシル(2 TU)および6アミノ2チオウラシル(ATU)を用いて実験した。すなわち各 $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  M液を用い、接種直後から6日間連続処理した。その結果はFig. 5に示すようで、いずれもウイルスの増殖を刺激したが、特にZKに対する2 TU, ATUの $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  M液の効果がいちじるしく、ウイルス量は処理によって2倍あるいはそれ以上となった。

### TMVのトマト内での増殖に対するDPAの影響

DPAの $10^{-5}$ ~ $10^{-8}$  M液を用い、接種直後から6日間処理で実験した。結果をFig. 6に示した。すな

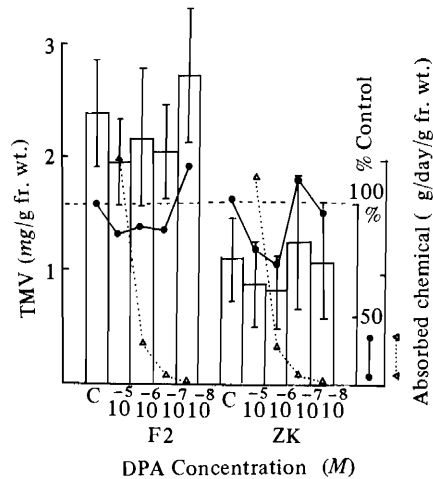


Fig. 6. Effect of various concentrations of DPA on TMV synthesis in tomato cultivars resistant (ZK) or susceptible (F2) to TMV.

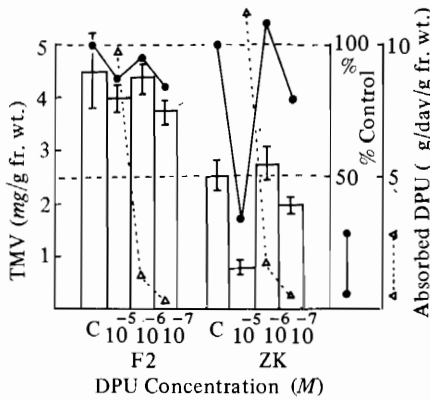
C: nontreated (water cultured) control

わち、ZKでは $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  M液処理でウイルス量がやや減少したが(無処理区の80~70%), F2では供試したすべての濃度を通じて、ウイルス量に無処理区に比べてほとんど増減がなかった。

### TMVのトマト内での増殖に対するDPUの影響

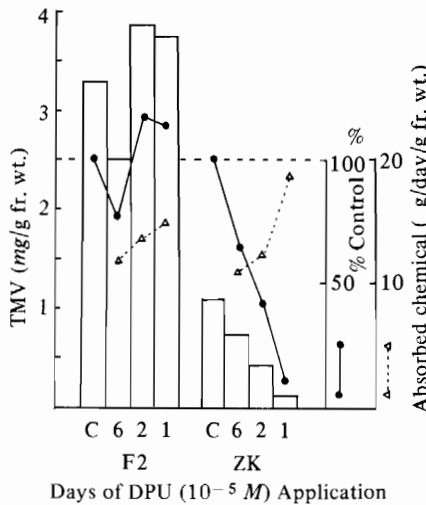
$10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  M液を用い、接種後6日間処理で実験した。Fig. 7に示すように、ZKでは $10^{-5}$  M液処理でウイルス量は激減した(無処理区の15%)。これに反してF2では、各濃度処理区を通じてウイルス量は無処理区に比べて有意差はなかった。

そこで $10^{-5}$  M液を用い、接種直後から1日, 2日,



**Fig. 7.** Effect of various concentrations of DPU on TMV synthesis in tomato cultivars resistant (ZK) or susceptible (F2) to TMV.  
C: nontreated (water cultured) control

および6日間処理の実験をした。その結果はFig. 8に示すように、F2ではこの場合も処理と無処理区間にウイルス量にあまり差異がなかった。一方、ZKでは接種後6日、2日、1日間の各処理とも、無処理区よりもウイルス量が減少した。したがってこの

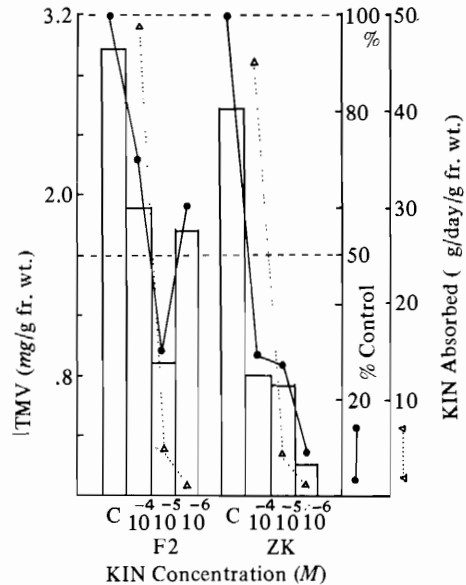


**Fig. 8.** Effect of  $10^{-5}$  M DPU treatment for different period after TMV inoculation on TMV synthesis in tomato cultivars resistant (ZK) or susceptible (F2) to TMV.  
C: nontreated (water cultured) control, 6: 6 days, 2: 2 days, and 1: one day treatment immediately after inoculation.

場合には、ZKでは $10^{-5}$  M液を接種後1日間処理することにより、ウイルス量が減少するものと認められた。

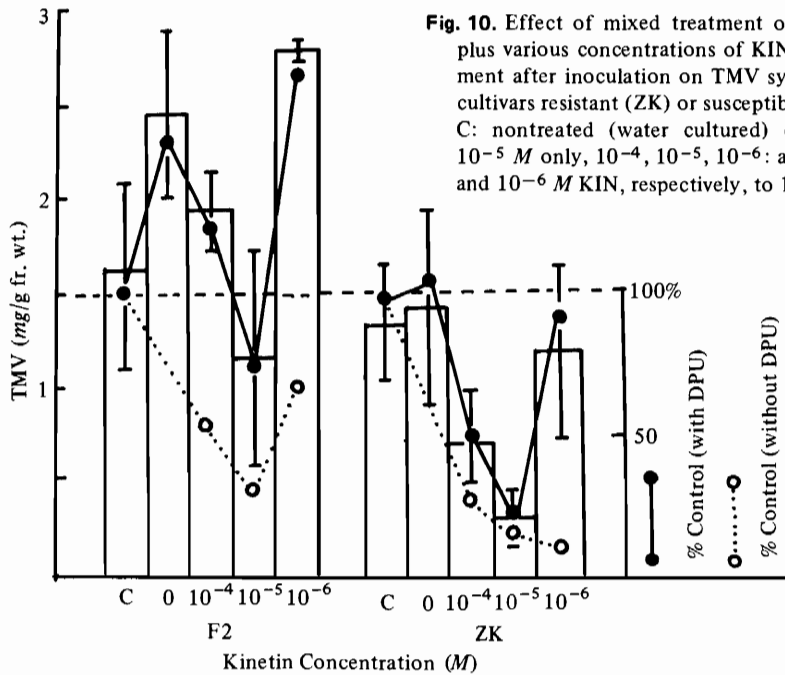
**TMVのトマト内での増殖に対するKINの影響**

まずKINの $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$  M液を用いて実験した。この場合は接種後2日間の処理のみとし、以後4日間は水栽培にきりかえた。その結果はFig. 9に示すように、ZKではすべての濃度処理でウイルス量が無処理区より減少した。一方、F2では $10^{-5}$  M液処理でのみ、ある程度ウイルス量が減少した。



**Fig. 9.** Effect of various concentrations of KIN treatment for 2 days after inoculation on TMV synthesis in tomato cultivars resistant (ZK) or susceptible (F2) to TMV.  
C: nontreated (water cultured) control

次にKINとDPUの協同作用を試験した。すなわち、両薬剤を混合してトマトの根から吸収させた。その結果はFig. 10に示すようである。F2では $10^{-5}$  MのDPUに、 $10^{-5}$  MのKIN添加区で、またZKでは $10^{-5}$  MのDPUに、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$  M KIN添加区で、それぞれ無処理区よりもウイルス量の減少が認められた。



#### IV 考 察

SKOOGらが細胞増殖を促進する物質として、カイネチンを発見して以来、数多くの天然および合成のカイネチン類似物質、いわゆるサイトカイニン

(cytokinins)が見出された<sup>4)</sup>。本報ではそれらの二三のもの、トマト体内でのTMVの増殖に対する影響をとりあげた。

実験結果を総括すると、Table 2 に示すよう

**Table 2.** Action of cytokinins upon TMV synthesis in tomato cultivars

Substances	Tomato cultivars to TMV		Remarks
	Resistant	Susceptible	
PCT (I)	reduce virus concentration at $10^{-6} M$ by 6 days treatment	moderately reduce at $10^{-6} M$	regulate virus synthesis
BAP (II)	reduce virus concentration at $10^{-6} M$ by 6 days treatment	no action	regulate virus synthesis
DPA (III)	moderately reduce at $10^{-5}$ , $10^{-6} M$ by 6 days treatment	no action	almost no action
DPU (IV)	reduce virus concentration at $10^{-5} M$ by 6 days treatment	no action	regulate virus synthesis
KIN (V)	reduce virus concentration at $10^{-4}$ , $10^{-5}$ , $10^{-6} M$ by 2 days treatment	reduce at $10^{-5} M$	antiviral action

Chemical formula and the full name of these compounds are listed in Table 1 and Fig. 1.

ある。すなわちまずPCT, BAP, DPUを含む化合物がある。これらはTMVに対する罹病性品種F2内でのウイルスの増殖にはほとんど影響せず、抵抗性品種ZK内でのウイルス増殖を $10^{-5}$ ～ $10^{-6}$ M濃度でかなり阻害した。このように同一植物の品種間で影響が異なることは、アクリジン橙(AO)などの色素や、クロモマイシンA<sub>3</sub>(CMA)などの抗生物質でもみられ、それらはウイルス増殖の制御物質として働くものと考えられる<sup>5)</sup>。

一方、DPAはF2, ZKに対してもあまり顕著なウイルス増殖阻害効果はなかった。これは1位のNがCで置換されているためと考えられる。またKINは $10^{-5}$ M液で、F2, ZKに対してともかなり顕

著なウイルス増殖の阻害を示した。したがってこの場合には、むしろ抗ウイルス剤として作用しているものと認められる。KINはインゲンではTMVによる病斑形成を阻害するが、タバコではむしろTMVの増殖を促進するという<sup>1,2)</sup>。しかし後者の実験はタバコの切取葉を葉液に浸漬したもので、今回のトマトでの実験とは、植物ならびに供試組織が異なっている。とにかくKINはウイルスに対してさまざまな挙動をとることは興味深い。

現在まで知られている各種の化学物質の、植物体内でのウイルス増殖に対する作用を整理すると、Table 3 のようになる。すなわち第一はウイルス増殖の制御物質であり、このなかにはDNAの分子

**Table 3.** Action of various kinds of compounds on virus synthesizing system in tomato cultivars

Action	Mechanism	Compounds
Antiviral action	inhibit virus synthesis in tomato cultivars	blasticidin S (BcS) antibiotic 2-thiouracil (2TU) antimetabolite
Stimulatory action	accelerate virus synthesis in tomato cultivars	actinomycin D (AMD) antibiotic 2-thiouracil (2TU) antimetabolite kinetin (KIN) cytokinin
Regulation	regulate resistant mechanism in tomatoes, resulting a decreased amount of virus	acridine orange (AO) dye chromomycin A <sub>3</sub> (CMA) antibiotic

構造内に挿入 (intercalation) されるアクリジン橙 (AO) やエチジウムブロマイド (EB) などの色素、およびアクチノマイシン D (AMD) やクロモマイシン A<sub>3</sub> (CMA) のような抗生物質が含まれる。今回の実験で更に、サイトカニン類のPCT, BAP, DPUがこのなかに含まれることが明らかになった。

第二のグループはウイルス増殖の促進剤で、2TU, AMD, およびフェノルピタール (PB, 精神安定剤)<sup>6,7)</sup>などがこれに入る。2TUは元来強力な抗代謝性物質であり、高濃度では抗ウイルス性をもつが、低濃度ではウイルス増殖を促進する。またAMDは前述のように増殖制御物質としても作用するが、高濃度ではDNA依存RNA合成の阻害剤である。第三のグループがいわゆる抗ウイルス剤である。

これらの物質のウイルスに対する作用を統一的にみると、いずれもウイルス核酸の合成経路に働いていることがわかる。たとえば有名な抗ウイルス剤であるブラストサイジン S (BcS) は、TMV-RNAを作る酵素蛋白であるポリメラーゼの阻害剤である<sup>8)</sup>。またウイルス増殖を促進する植物ホルモン類も、RNAポリメラーゼの促進物質として働くという<sup>9)</sup>。ウイルス増殖の制御物質がどのようなメカニズムで働くかは目下不明であるが、これらの物質の作用が植物の品種間で差があることは、その作用がDNAレベルでの競合によることが明らかである。恐らくDNA→mRNA合成の経路に、それらの物質それぞれ自身、あるいはそれらの物質に基因して生じた第二の物質が働くものであろう。

最近IKEGAMI and FRAENKEL-CONRATはTMVの合成が従来考えられていたように、ウイルス感染によって植物体内に新しく生じた酵素によるものではなく、従来から健全植物体内にある酵素、RNAポリメラーゼが活性化または刺激されて高まった結果であると論じた<sup>10)</sup>。もしそうだとすると、本報でとりあげたサイトカイニン類によるウイルス増殖の制御は、抵抗性品種のDNAとの干渉の結果生じたある種の物質が、健全植物体内のRNAポリメラーゼに阻害的に働くという仮説が成立する。これらの確証は将来に残された問題である。

### V 要 約

サイトカイニン類およびその類似物質を用い、トマト体内でのTMVの増殖に対する影響を調べた。薬剤はすべて接種と同時にトマトの根から吸収させ、通常6日間、特別な場合には接種後1、2日間作用させた。トマト内のウイルス量は化学的方法で求め、半純化したTMVのOD<sub>260</sub>を算出した。

(1) プリン-6-カーバモイルスレオニン(PC T)は $10^{-6}$ M液の接種後6日間処理によって、特に抵抗性品種ZKにおいてウイルス量を減少させた。

(2) ベンジルアミノプリン(BAP)はZKにおいてのみ、 $10^{-6}$ M液の接種後6日間処理で、ウイルス量を減少させた。

(3) 2チオウラシル(2TU), 6-アミノ-6-チオウラシル(ATU)は、 $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ M液で、特にZKにおいてウイルス量をいちじるしく促進した。

(4) 1-デアザペンチルアシノプリン(DPA)は $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ M液で、ZKにおいてウイルス量をやや減少させたが、大きな影響はなかった。

(5) ジフェニルウレア(DPU)は $10^{-5}$ M液でZKにおいて特にウイルス量を減少させた。その減少は接種直後1日間の薬剤処理でも有効であった。

(6) カイネチン(KIN)は $10^{-5}$ M液の、接種直後2

日間処理で、ZKおよび罹病性品種F2ともに、ウイルス量を減少させた。

(7) DPUとKINの混合実験では、DPUの $10^{-5}$ M液にKINの $10^{-5}$ M液を添加することにより、ZK, F2ともウイルス量を減少させた。

(8) 以上の実験結果に基づき、サイトカイニン類のもつ抗ウイルス性、およびウイルス増殖制御作用について考察した。

サイトカイニン類を頂いた日本特産KK小野田 潔氏、東京農工大学橋爪 武氏に感謝の意を表します。

### 引用文献

- (1) 平井篤造：ウイルスと植物，227，南江堂，東京（1972）
- (2) 平井篤造その他：関西病虫害研究報10，35～39（1968）
- (3) 平井篤造・植田 隆・杉原光雄：本誌9，1～9（1976）
- (4) 倉石 貢：植物ホルモン，142，東京大学出版会，東京（1976）
- (5) 平井篤造：菌叢研究所報告10，749～760（1973）
- (6) T. HIRAI：In Plant Diseases：An Advanced Treatise (J. G. HORSFALL, E. B. COWLING, eds.), Vol. 1. Academic Press, New York. 285～306（1977）
- (7) 尹 泰圭・平井篤造：関西病虫害研究報11，28～33（1969）
- (8) A. HIRAI, S. G. WILDMAN, and T. HIRAI：Virology 36，646～651（1968）
- (9) T. J. SIMONS, H. W. ISRAEL, and A. F. ROSS：Virology 48，502～515（1972）
- (10) M. IKEGAMI and H. FRAENKEL-CONRAT：Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75，2122～2124（1978）  
(昭和53年10月16日受理)