

16. タバコモザイクウイルス汚染土壤中のウイルス回収と検出

農業環境技術研究所 環境生物部 微生物管理科

要 約

土壤粘土に対するウイルス粒子の吸着の程度は、土壤の種類で異なる。とくに、火山灰土（アロフェン）は吸着が強く、腐植はその程度を緩和する。吸着の程度は、電気泳動－銀染色法を利用して予測できる。

背景・目的

- (1) タバコモザイクウイルス (TMV) やキュウリ緑斑モザイクウイルス (CGMMV) は、土壤中のウイルスに感染した残根を通じて、土壤伝染する。
- (2) 昨今、ウイルス防除のため組換え体の利用が現実的な時代である。
- (3) 組換え体の安全性評価のうえからも、土壤伝染性ウイルスを回収して、そのウイルスを検出し、しかも、放出ウイルスかどうかを認知する必要がある。

内容及び特徴

- (1) TMV や CGMMV に汚染した土壤からウイルスを回収するバッファーとして、0.05 M リン酸バッファー pH 7.0 が平均的に、どの種類の土壤にも有効であった。
- (2) 一般的にいって、火山灰土はウイルスの回収が困難で、汚染土から全く回収できない場合も多い。このことは、ウイルス粒子そのものが土壤粘土粒子に密に吸着しているためと考えられた。
- (3) 火山灰土でも、腐植質の多い黒ぼく土では、ウイルス回収率が高まる。例えば、盛岡、今市の腐植含量の高い黒ぼく土で、50% 近い回収率を示すことがある。
しかし、この種の土でも、 H_2O_2 处理により腐植を除去すると、ウイルスは強く吸着した。
- (4) 水田土壤では、ウイルスは約 50–70% 回収される。
- (5) 以上は、検定植物を用いてウイルスの感染性を調査して得た結果であるが、0.2 g 土を用いて、一定量の TMV や CGMMV を混ぜた後、遠心でえられる上清と、沈殿部分のウイルス外被蛋白をポリアクリルアミドゲル電気泳動で分析、銀染色で検出することにより、検定植物なしに各土壤のウイルス吸着の程度を知ることが出来た。

活用面と留意点

野外からのウイルスの検出に応用できるが、ウイルス濃度がさらに低いので、工夫が必要である。

キーワード

ウイルス、土壤汚染、検出法、土壤吸着

（鳥山重光）

表1 土壤の種類とTMVの回収率

土壤の種類	TMV回収率(%)		
	Exp 1	Exp 2	Exp 3
畑土(環研)	0.4	0.4	—
"(高井戸1)	1.5	0.4	—
"(今市1)	21.6	16.1	—
赤土(牛久)	0.0	0.4	0.0
水田土(鴻巣)	12.9	—	54.8
粘土	33.5	57.6	70.1
砂土	16.2	41.1	—
海成砂土	—	120.6	103.2
河砂	144.0	—	107.0

土壤2gを0.05Mリン酸緩衝液(pH 7.0)4mlに浮遊させ、TMVの一定量(OD 260 0.006)を混ぜ、2時間室温で振盪(120回/分)し、4℃下で1夜静置した。10,000 rpmで10分間遠心し、その上清に回収させる活性TMVの割合を*Nicotiana glutinosa*を検定植物として使い、半葉法で算出した。

表2 種類の異なる土壤(原土)と30%過酸化水素処理により精製した粘土画分のTMV吸着活性(回収率)

土壤	原土	30% H ₂ O ₂ 精製粘土	土壤	原土	30% H ₂ O ₂ 精製粘土
黒ばく腐植質土(盛岡)	14.3 7.4	0.3 0.9	灰色低地土(長野)	47.7	14.6
黒ばく腐植質土(今市)	39.7 45.4	0.0 0.6	黒ばく表土(東京・高井戸)	—	0.0
灰色低地土(千葉・阿波)	46.1	29.4	黒ばく表土(つくば)	—	0.0
灰色低地土(鴻巣)*	35.7 45.0	0.5 43.0	黒ばく下層土(盛岡) 黒ばく褐色表土(牛久)	— —	0.0 0.2
			鹿沼土(鹿沼)	1.8	0.2

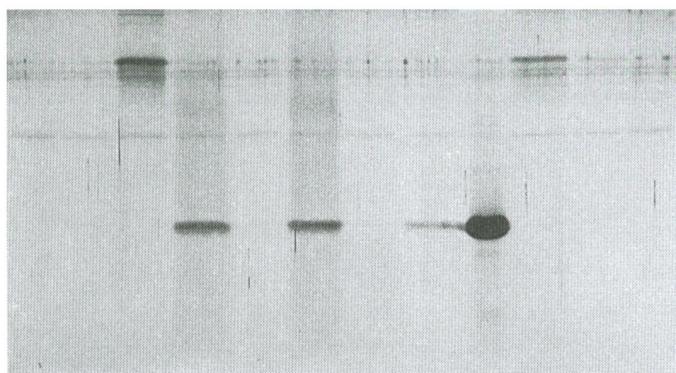


図1. TMVに汚染した土壤から回収されるウイルスのゲル電気泳動法による検出

A、遠心上清、B、沈澱から再溶出。左から、高井戸黒(P)、盛岡黒(P)、盛岡黒(原)、今市(P)、今市(原)、TMV、千葉粘(P)、千葉粘(原)、鴻巣水(P)、鴻巣(原)、長野水(P)、長野水(原)。