

チューリップえそ病に関する電子顕微鏡的観察

笹川礼子・名畑清信*・小島 誠

Reiko SASAGAWA, Kiyonobu NAHATA and Makoto KOJIMA : Electron microscopy of tulip necrosis caused by tobacco necrosis virus

Summary

Ultrathin sections of some tissues such as leaf, bulb and root from tulips infected with tobacco necrosis virus were observed. Distribution of virus particles was uneven in leaf tissues; virus aggregates were found in some cells and a few virions were scattered throughout the cytoplasm of infected cells. Crystalline array of virions was often found in necrotic lesions of infected bulbs. In contrast, only a few virions were scattered throughout the cytoplasm of infected root cells, in which *Olpidium* fungi were often detected. Virions only distributed at the periphery of fungi and were never seen within fungal cells. ELISA values of leaves and bulbs of infected tulip plants were higher than those of the root tissues.

昭和52年富山県のチューリップ栽培圃場の一部でチューリップのえそ病の発生が確認され、病原はタバコネクロシウイルス (TNV) と同定された⁵⁾。本病は昭和60年頃から新潟県にもその発生を見るようになった⁴⁾。

TNV は土壌中の *Olpidium brassicae* の游走子により伝搬されることが知られており^{2,9)}、本菌が土壌生息菌であることから、一度本病が発生するとチューリップ球根生産に甚大な影響を及ぼすことになる^{3,7)}。本病の発生生態は名畑⁵⁾によって明らかにされてきたが、*O. brassicae* の TNV 伝搬機構、根部への侵入様式、また各組織における細胞内ウイルス所在様式などについてはなお不明な点が多い。本研究では主として超薄切片法によりウイルスの組織・細胞内分布所在様式を明らかにした。

材料および方法

1 ウイルス源

富山県野菜花き試験場の圃場においてえそ病の発生が見られた圃場からのチューリップ球根 (品種ゲーブランドキフト) をウイルス源として供試した。

2 電子顕微鏡観察

球根においてはえそ斑のハロー部分、罹病球根から生育させて病斑の生じた葉組織、また根部から試料を採取、

切出しを行った。固定、包埋は常法に従った⁶⁾。超薄切片はウルトラミクローム (Reichert Jung Om U₄) にてガラスナイフを用いて作製し、酢酸ウランと Reynolds 鉛で二重染色を行った後、電子顕微鏡 (JEOL 100 B, 80KV) で観察を行った。

3 間接 ELISA

罹病チューリップの葉、球根、根の各部位を採取し、間接 ELISA^{1,4)} によりウイルス抗原の検出を行った。

結果と考察

1 各組織におけるウイルスの分布所在様式

a) 葉組織

維管束系細胞内 (図版 IA)、葉肉細胞 (図版 IB) のいずれにおいても細胞質内に形、大きさともに均一なウイルス粒子が観察された。ウイルスの存在様式も図版 IA に見られるようにえ死を起した細胞に散在したり、細胞全体に充満した例、また小集塊をなして分布する例など種々のタイプが見られた。同一組織においても均一にウイルスが分布するのではなく、図版 IB が示すようにかなり局在性があるように思われた。

b) 球根

りん片表面に形成されたえそ斑の中心部の細胞では、え死を伴った細胞変性が認められ、その周囲の細胞ではウイルスの擬結晶配列が見られた (図版 II A)。また、細胞変性の一種と考えられる繊維状構造の中に擬結晶が認められる場合もあった (図版 II B)。これらの電顕像からも明らかなように球根のえそ斑部分ではウイルスが

新潟大学農学部 Faculty of Agriculture, Niigata University, Niigata 950-21

*富山県農試栽培野菜花き試験場 Toyama Vegetable & Ornamental Crops Research Station, Tonami, 939-13

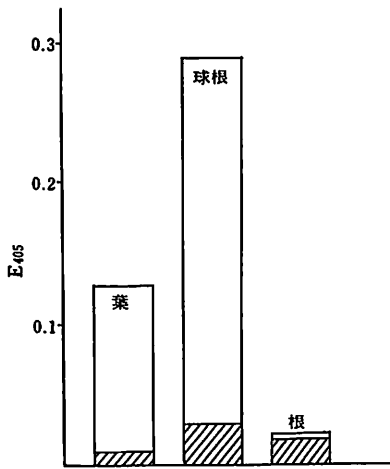
活発に増殖し、かなりの濃度に達しているものと思われた。

c) 根部組織

根部の細胞においても均一なウイルス粒子が見出されたが、葉や球根が見られたようなウイルスの集塊、擬結晶は認められなかった。根部の皮層部分では *O. brassicae* と考えられる菌体が見出された。そのような菌体の外部表面にウイルスが沈着したような像が見出されたが、菌体内部には認められなかった(図版ⅡC)。また、表皮細胞中に游走子囊と思われる菌体も観察されたが、そうした菌体では周囲にも内部にもウイルス粒子は認められなかった(図版ⅡD)。

2 間接 ELISA によるウイルス検出

各部位におけるウイルス抗原濃度を間接 ELISA により比較したところ、第1図に示すとおり、球根、葉組織では高く、根部ではきわめて低濃度であることが判明した。これらの結果は上述の電顕観察の結果とよく一致した。



第1図 間接 ELISA による栽培チューリップ各組織中のウイルス濃度
□：罹病植物 ▨：健全植物

以上の結果から、病原ウイルスの侵入部位は根部であり、菌体(游走子)の表面に伴なわれたウイルス粒子が菌の侵入と同時に根部の細胞に侵入するものと考えられる。その後ウイルスの増殖は地上部の葉組織で起り、球根肥大期に養分とともに球根に移行したウイルスがりん片細胞内で活発に増殖するものと思われる。

摘 要

チューリップえそ病罹病株の葉、球根、根部の各組織

内のウイルス分布所在様式を超薄切片法により観察した。葉組織、球根においては多くのウイルス粒子が小集塊をなしたり擬結晶配列として細胞質中に認められたが、根部においては僅か散在して見られる程度であった。また、根部の皮層部分にはしばしば *O. brassicae* とと思われる菌体が観察され、それらの菌体の周囲を取り囲むようにウイルス粒子が存在したが、菌体内部には認められなかった。ELISA により各部位のウイルス抗原濃度を比較したところ、電顕観察の結果を裏付けるように、葉組織、球根で ELISA 値が高く、根部ではきわめて低い値しか得られなかった。

引用文献

1) Clark, M. F. and Adams, A. N. (1977) Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. gen. Virol.* 34: 475~483. 2) Gragan, R. G. and Campbell, R. N. (1966) Fungi as vectors and hosts of viruses. *Ann. Rev. Phytopath.* 4: 29~52. 3) 草葉敏彦・名畑清信・向島博行(1980)チューリップえそ病の感染と発病. *北陸病虫研報* 28: 68~70. 4) 宮川正通・中臣康範・中井正樹・小島誠(1985) ELISA 法によるチューリップからのタバコえそウイルスの検出. *北陸病虫研報* 33: 92~95. 5) 名畑清信・岩木満朗・草葉敏彦(1978) Tobacco necrosis virus によるチューリップのえそ病の発生. *富山農試研報* 9: 1~10. 6) Niitsu, J., Yamaguchi, Y., Sasagawa, R. and Kojima, M. (1988) Characterization of a Fukui isolate of barley yellow dwarf virus. *Bull. Fac. Agr. Niigata Univ.* 40: 7~16. 7) 坂本庵・松尾綾男(1980)チューリップにおける TNV の伝染実態. *日植病報* 46: 88. 8) Temmink, J. H. M. and Campbell, R. N. (1986) The ultrastructure of *Olpidium brassicae* III Infection of host roots. *Can. J. Bot.* 47: 421~424. 9) 宇田川晃・都丸敬一(1971)わが国のタバコから分離されたタバコネクロシウイルス II. *Olpidium brassicae* による伝播, 感染がタバコの生育に及ぼす影響およびタバコにおける発生分布. *泰野たばこ試報告* 70: 81~89.

(1988年4月25日受領)

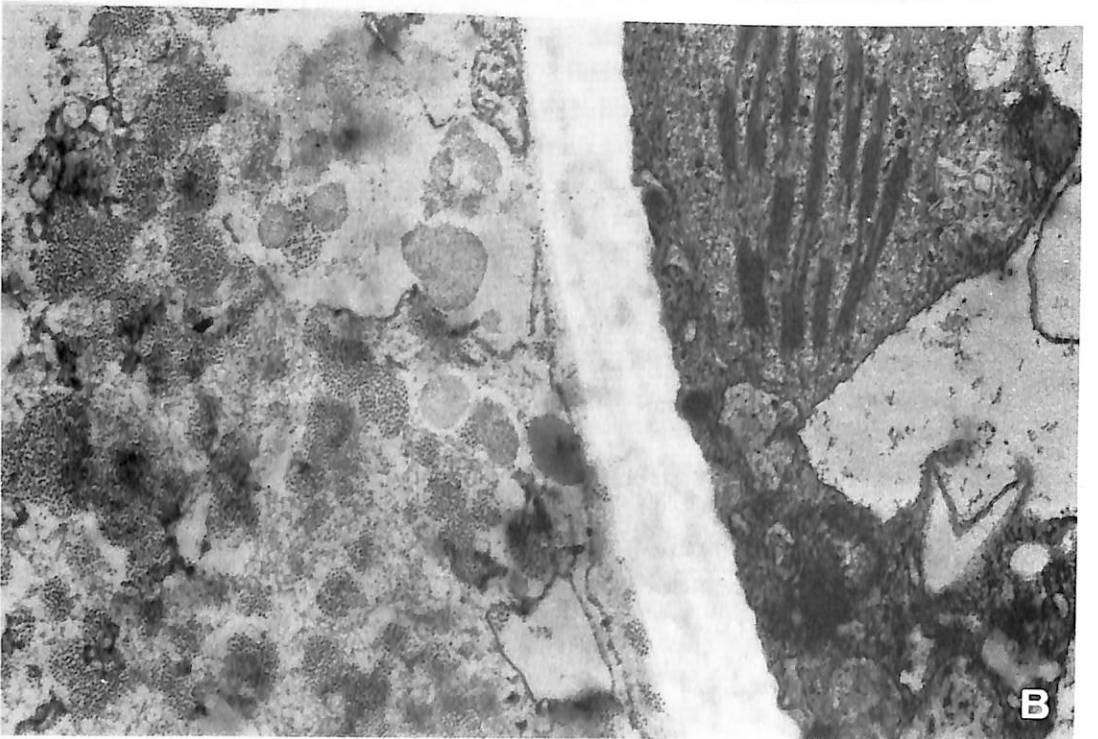
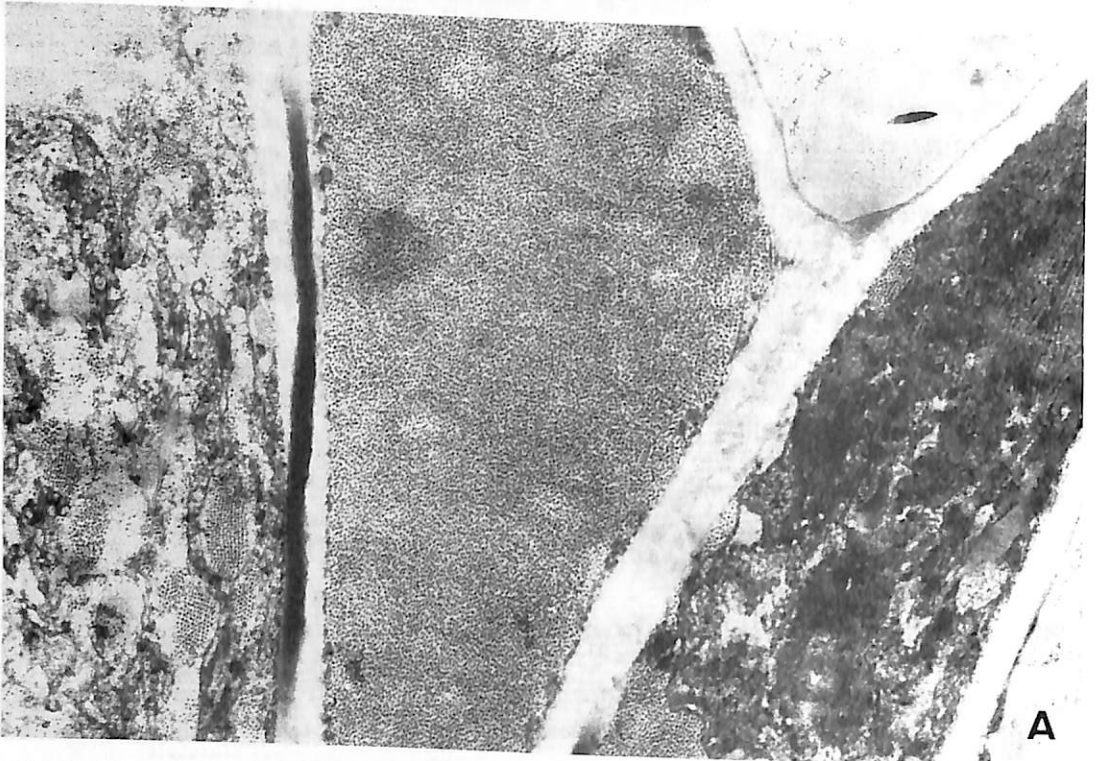


図 I A えそ病罹病チューリップ葉の維管束組織におけるウイルスの分布 ($\times 20,000$)

図 I B 同葉肉組織におけるウイルスの分布 ($\times 20,000$)

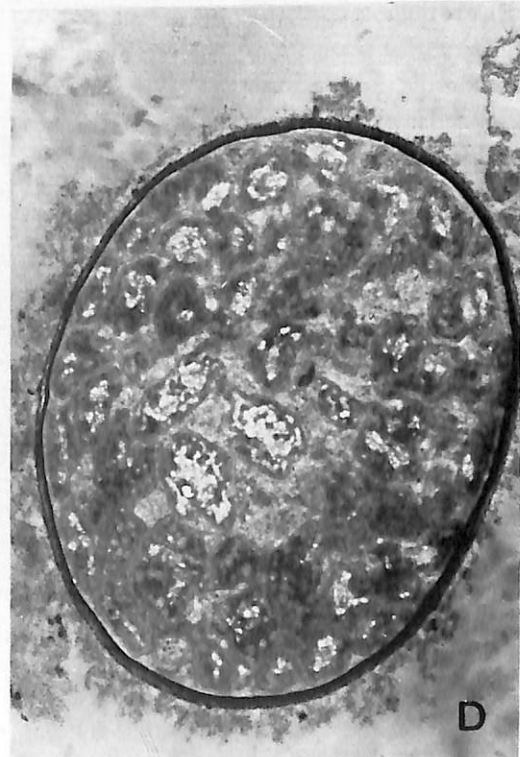
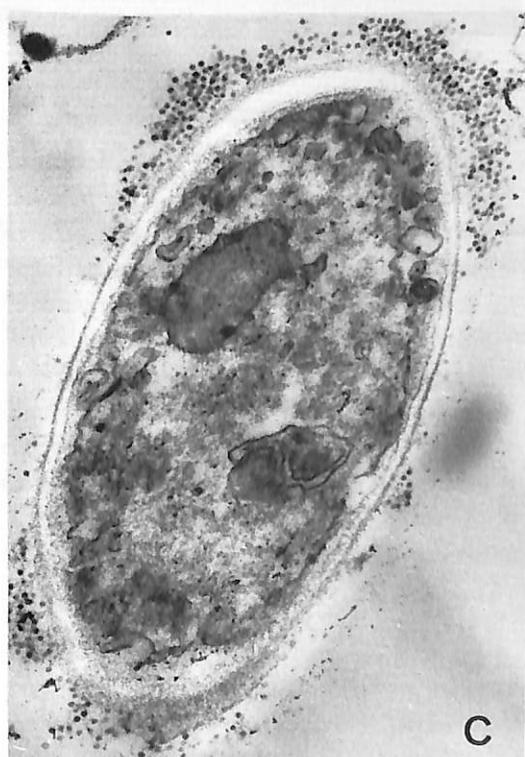
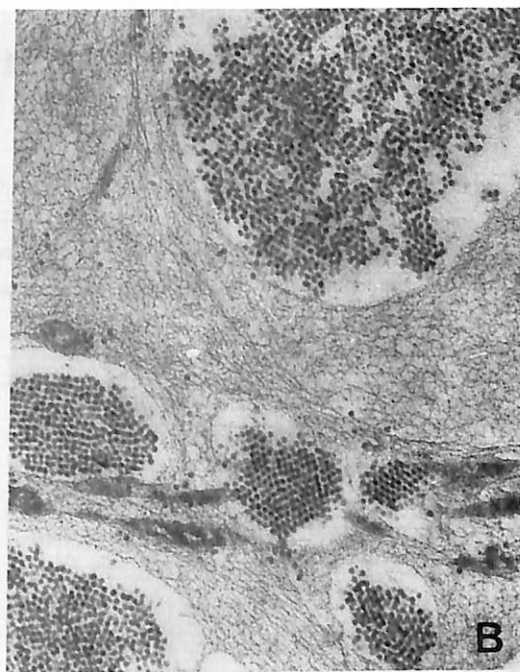
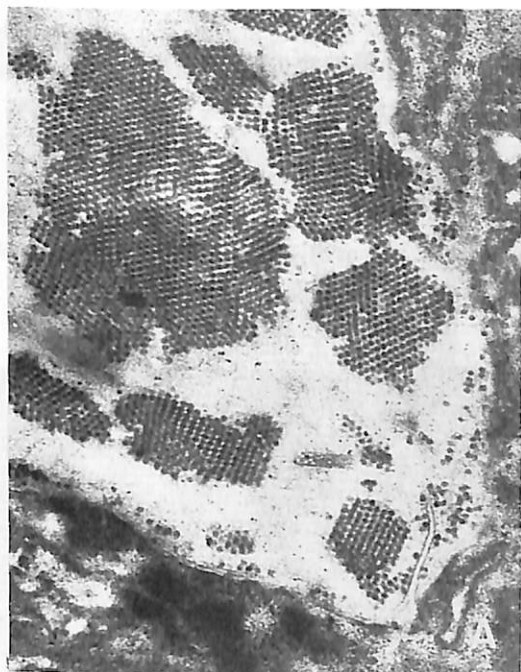


図 II A えそ斑部のりん片細胞に見出されたウイルスの結晶配列 (×40,000)
 図 II B 同上。細胞変性に伴う繊維状構造中のウイルスの擬結晶状配列 (×40,000)
 図 II C 根部に見出された菌体とその周囲を取り囲むウイルス粒子 (×40,000)
 図 II D 根部の表皮細胞に見出された游走子囊 (×10,000)