

Potato yellow dwarf virus に感染した *Nicotiana rustica* の電子顕微鏡による観察

西尾 健・木村 茂・松濤 美文*
横浜植物防疫所

Electron Microscopy of Cells of *Nicotiana rustica* Infected with Potato Yellow Dwarf Virus.
Takeshi NISHIO, Shigeru KIMURA and Mifumi MATSUNAMI (Yokohama Plant Protection
Station). *Res. Bull. Pl. Prot. Japan* 19: 139-144 (1983).

ま え が き

Potato yellow dwarf virus (PYDV) は、1978 年に特定重要病害虫に指定され、発生地域である北アメリカ産の *Solanum* 属植物について特定重要病害虫検疫要綱にもとづく厳重な検査が実施されている。

一方、大和隔離圃場において、国内に発生したジャガイモ病害の病原の検討過程で、比較のため農林大臣の特別許可を受け (48 横植 734 号)、PYDV の 2 系統 (New York 系統および New Jersey 系統) を、イリノイ大学の L. M. Black 博士より分譲を受け、数年来試験を実施しており、電顕観察を中心にした若干の知見を得たのでここに紹介したい。なお、ここに得られた結果は、New Jersey 系統を用いて得られたものである。

方法と結果

検定植物 *Nicotiana rustica* 上での病徴

PYDV に対し、汁液接種検定法で最も鋭敏な検定植物は *N. rustica* であり (BLACK, 1938)、接種後は 27°C 以上の高温条件が病徴発現に好適であると報告されている (HOUGAS, 1951)。そこで、我国の気候条件下での病徴の発現状況を観察するため、冬期間 (11~3 月) は約 20°C に加温した温室内で、周年 *N. rustica* に PYDV を接種し観察した。その結果は、夏期 7 月~9 月にかけて病徴は最も鮮明にかつすみやかに出現した。好適条件下では、接種後 10 日前後で黄色の明瞭な直径が約 1~2 mm の局部病斑が出現し (第 1 図)、その後 2 週間~20 日経過して全身症状の vein clearing があらわれた (第 2 図)。この vein clearing は、Potato virus Y 感染タバコに現われるものよりはるかに鮮明で特徴があった。

電子顕微鏡による超薄切片像の観察

全身感染した *N. rustica* 罹病葉組織細片を、2~4% グルタルアルデヒドで 1 時間、その後 1% オスミウム酸で 2~3 時間二重固定した後、エタノールで脱水し、エポキシ樹脂に包埋した。超薄切片は、Potter-Blum MT-2B ウルトラミクロトームを用いて作成し、酢酸ウラニールとクエン酸鉛で二重染色後、日立 HU-12 型電子顕微鏡を用いて観察した。

その結果、特徴のある Bacilliform のウイルス粒子の集塊が核内に存在するのが観察された (第 3 図)。核の周辺部の観察によると、この集塊は、核の外膜と内膜の間の核膜内腔に存在した (第 4 図)。又、小胞体内腔にもウイルス粒子が存在した (第 5 図 a, b, c)。時には、出芽中と思われるウイルス粒子も核周辺部に観察された (第 6 図)。粒子の横断面の観察では、粒子は 3 層の膜に包まれているのが認められた (第 7 図)。

以上の観察結果は、MACLEOD ら (1966) の観察とよく一致した。

考 察

PYDV の *N. rustica* 上の病徴は、非常に特徴的であるがジャガイモの他のウイルスと混合感染した場合など、*N. rustica* の症状だけで同定することは無理がある。罹病葉汁液をリンタンゲステン酸を用いて陰染色して、ウイルス粒子を検出しようとしたが、PYDV 粒子は非常に崩壊しやすい (BRASSE *et al.*, 1951) ためか検出できなかった。このため、多少時間と労力がかかるが、罹病組織の超薄切片を作成してウイルス粒子の確認をするのが確実な検出法であると思われた。PYDV 粒子の形態は特徴的で、核に特異的に出現するため検出はそれほど困難ではないと思われた。

* 現在、北興化学工業 (株)

引用文献

- BLACK, L.M. (1938) Properties of the potato yellow dwarf virus. *Phytopathology* **28**: 863-874.
- BRÄKKE, M.K., L.M. BLACK, and RALPH W.G. WYCKOFF (1951) The sedimentation rate of potato yellow dwarf virus. *Amer. J. Bot.*

38: 332-342.

- HOUGAS, R.W. (1951) Factors affecting sap transmission of the potato yellow dwarf virus. *Phytopathology* **41**: 483-493.
- MACLEOD, R., L.M. BLACK, and F.H. MOYER (1966) The fine structure and intracellular localization of potato yellow dwarf virus. *Virology* **29**: 540-552.

Explanation of plates

- Fig. 1** Local lesions of New Jersey strain of potato yellow dwarf virus in a leaf of *Nicotiana rustica*.
- Fig. 2** Systemic symptoms of New Jersey strain of PYDV in a leaf of *N. rustica*.
- Fig. 3** Section showing accumulation of New Jersey strain of PYDV particles in nucleus.
- Fig. 4** Section of the peripheral region of an infected nucleus. PYDV particles were found to be present in the space between the two lamellae of the nuclear envelope. Arrows indicate outer and inner lamella of the nuclear envelope.
- Fig. 5** Sections showing virus particles appeared in the endoplasmic reticulum(ER). Arrows indicate virus particles in the ER.
- Fig. 6** Section of the budding virus particle associated with the nucleus. Arrow indicates inner lamella of the nuclear envelope continue to viral envelope.
- Fig. 7** Section showing profiles of virus particles in transverse section.
- Bar**: 500 nm in Fig. 3 and 4, and 200 nm in Fig. 5, 6, 7.

Abbreviations

N: Nucleus, M: Mitochondrion, V: Vacuole, CW: Cell Wall, Cp: Chloroplast





