

オランダに発生するチューリップシビアモザイク ウイルス感染チューリップ葉の電顕観察

長尾 記明・西尾 健・小林 敏郎

横浜植物防疫所

Fine Structure of Tulip Leaves Infected with Tulip Severe Mosaic Virus, Occuring in the Netherlands. Noriaki NAGAO, Takeshi NISHIO and Toshiro KOBAYASHI (Yokohama Plant Protection Station). *Res. Bull. Pl. Pro. Japan* 24: 57-61 (1988).

Abstract: Electron microscopy of thin sections of tulip leaves (cv. Ivory Floradale), systemically infected with tulip severe mosaic virus, revealed virus particles in the parenchyma cells of vascular bundle and xylem elements. In these cells, masses of virus particles existed in the cytoplasm and nucleus, and also large intracellular inclusion bodies consisting of paracrystalline arrays of virus particles were seen. However, characteristic vesicles induced by subgroup I Closteroviruses (FRANCKI *et al.*, 1985) were not found in the phloem parenchyma cells.

はじめに

Tulip severe mosaic virus (TSMV) はチューリップの数品種 (Apeldoorn, Ivory Floradale など) の葉に明りょうな黄色~白色の小リングまたは斑点が葉脈に沿って連なったような条斑 (Fig. 1) あるいは花に小



Fig. 1. Yellow (chlorotic) streak on the leaves of tulip in the Netherlands with tulip severe mosaic virus

さな黄色条斑を生じる (ASJES, 1985)。TSMV の発生は現在のところオランダのごく一部地域のチューリップに限られており、本病の発生状況から土壌伝染の可能性が疑われている。TSMV は 300~2,000 nm の長いひも状粒子で、粒子長から Closterovirus 群に属するウイルスと推測されているが (ASJES, 1983, 1985)、ウイルスの理化学的性状あるいは媒介者については明らかでない。

1986年5月オランダにおいて、本病を見る機会を得た折、TSMV の細胞内所在様式を調査する目的で、病徴が明りょうに現れている葉の一部をグルタルアルデヒド固定液に浸漬して、我が国へ持ち帰り、超薄切片法による電顕観察を行い、若干の知見を得たので報告する。

報告するに当たり、TSMV のり病葉および保毒球根を快く提供下さった Dr. C. J. ASJES (Flower Bulb Research Institute, Lisse) に厚くお礼申し上げる。

材料および方法

オランダで前固定し持ち帰った試料* (品種 Ivory Floradale) を 2% オスミック酸で固定し、アルコール系列で脱水後常法によりエポキシ樹脂に包埋した。

* ほ場でり病株を採集後オランダのリッセ球根研究所で dip 法により電顕観察を行い、TSWV 以外のウイルス様粒子が観察されないことを確認した。

Porter-Blum MT-2B型マイクロームで超薄切片を作製し、酢酸ウラニルと酢酸鉛で染色後日立HU-12型電子顕微鏡で観察した。

また、農林水産大臣の特別許可（農林水産省指令61横植第1388号）を得て輸入したTSMV保毒チューリップ球根品種Apeldoornを鉢植えし、温室内で育成して病徴観察を行った。dip法によるウイルス粒子の検出には2%リンタングステン酸、pH5.5を用いた。

結果および考察

TSMV保毒“Apeldoorn”は、葉に白色～灰白色の斑点が連なった条斑を生じたが、温室内の病徴は比較的軽かった。これらの葉の病徴の現れている部位からdip法によりウイルス粒子の検出を試みたところ、長いひも状粒子が容易に観察され、粒子の長さは1,600～2,400 nm、幅は約12 nmであった(Fig. 2)。これらのひも状粒子は長さの点からASJES (1983)が報告したTSMVと思われる。

り病葉の磨砕液をタバコ(White Burley), *Nicotiana glutinosa*, *Chenopodium quinoa*, *C. amaranticolor*などの植物に汁液接種を試みたが成功しなかった。

葉組織の超薄切片による電顕観察では、ひも状粒子は維管束柔細胞に存在し、導管内にも少数の粒子が観察されたが、葉肉細胞では見られなかった。維管束柔細胞ではひも状粒子は細胞質および核内に集塊あるいは散在して認められた(Figs. 3-8)。また、細胞質内にはひも状粒子が平行に密に並んで、大きな封入体を形成し、その大きさは長径で5 μ mに達するものが見られた(Figs. 3, 6, 7)。散在するひも状粒子は非常に屈曲性に富み、ループを形成している粒子も多数観察された(Fig. 8)。粒子の幅は約10 nmであった。色素体やミトコンドリア内にはひも状粒子の存在は見られなかったが、ミトコンドリアの膨潤あるいは奇形化が認められた(Figs. 5, 7)。

チューリップに感染するウイルスで、ひも状の粒子形体を示すものとしては、TSMV以外にTulip mosaic virus, lily symptomless virus, tulip virus Xなどが知られているが、本組織切片で観察されたひも状粒子は細胞内の所在様式あるいは粒子の形状からTSMVと思われる。

TSMVは粒子の形状および所在様式からもASJES (1983)が報告しているように、Closterovirus群に属すると思われる。

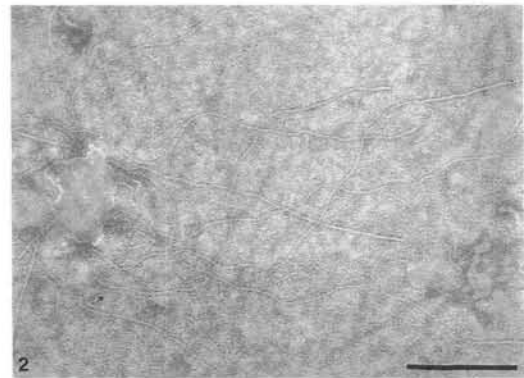
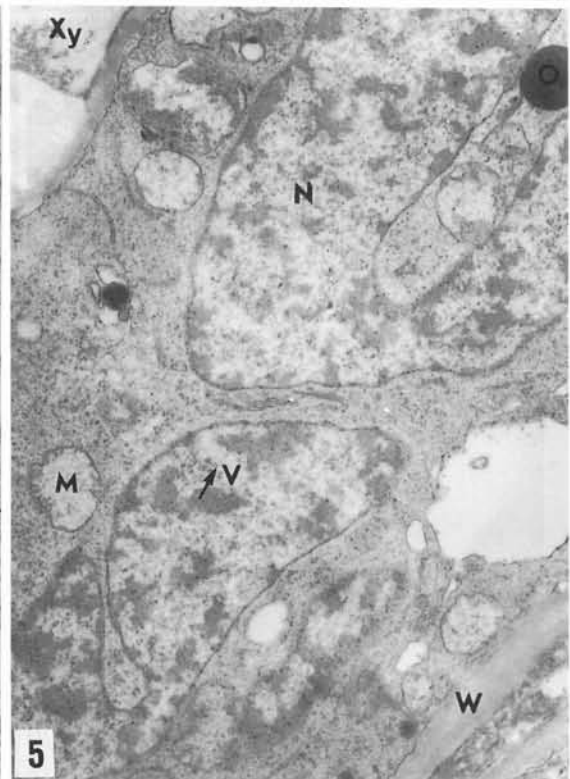
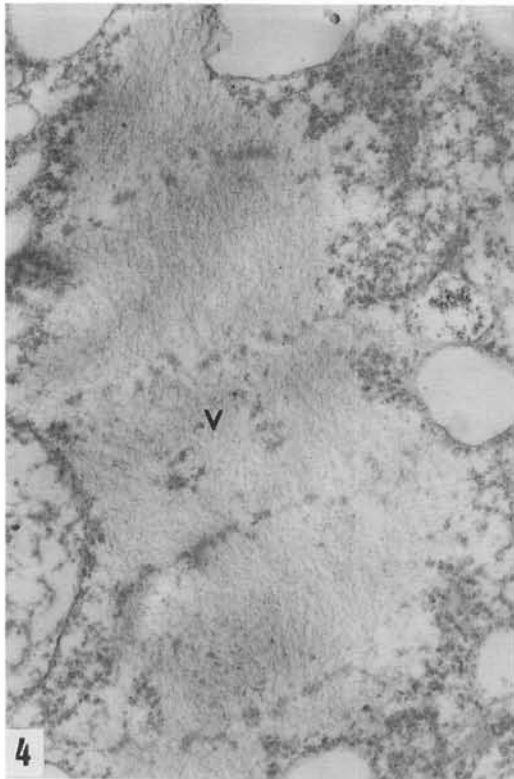
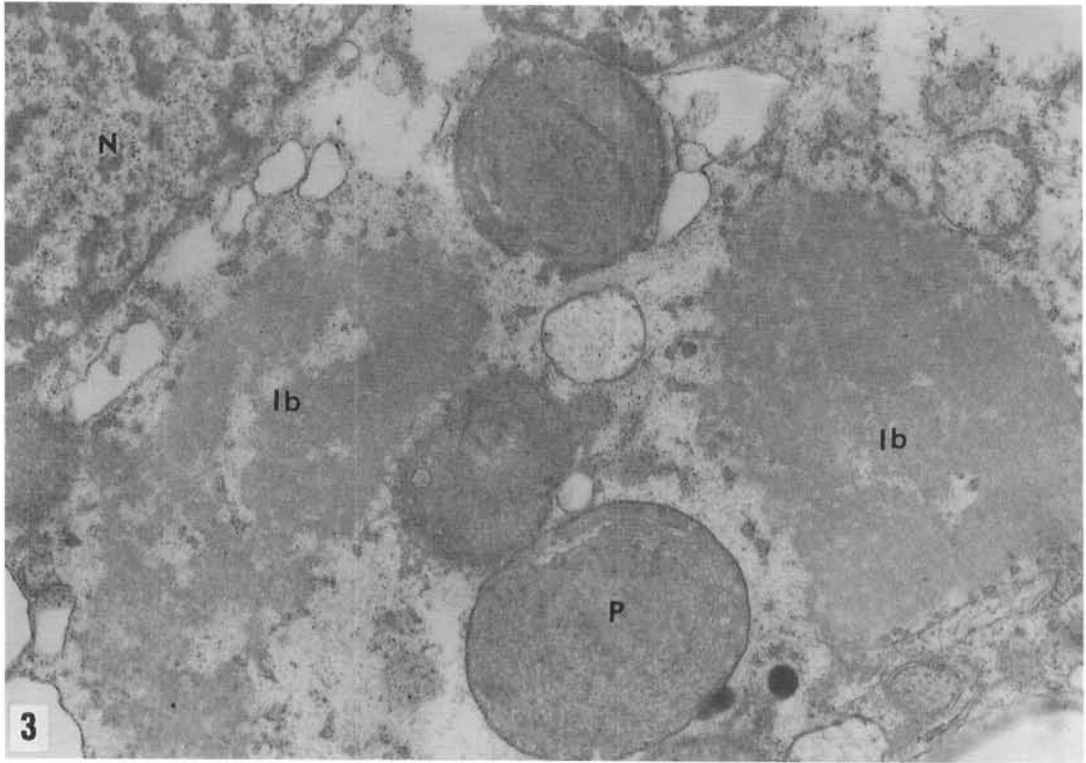


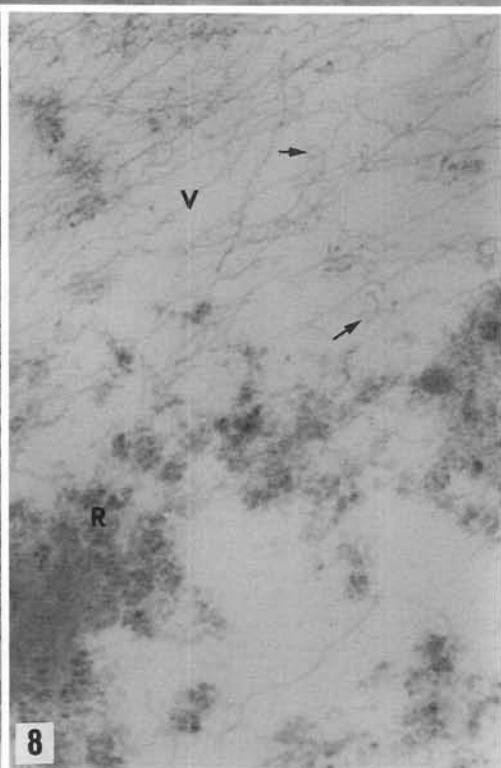
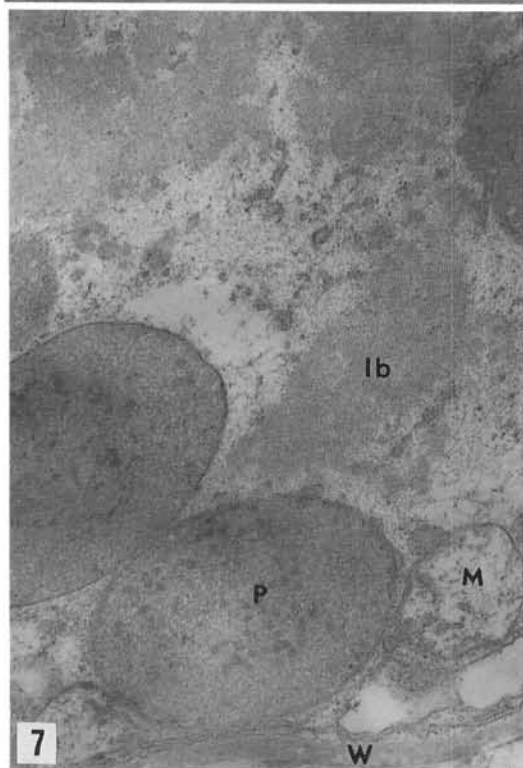
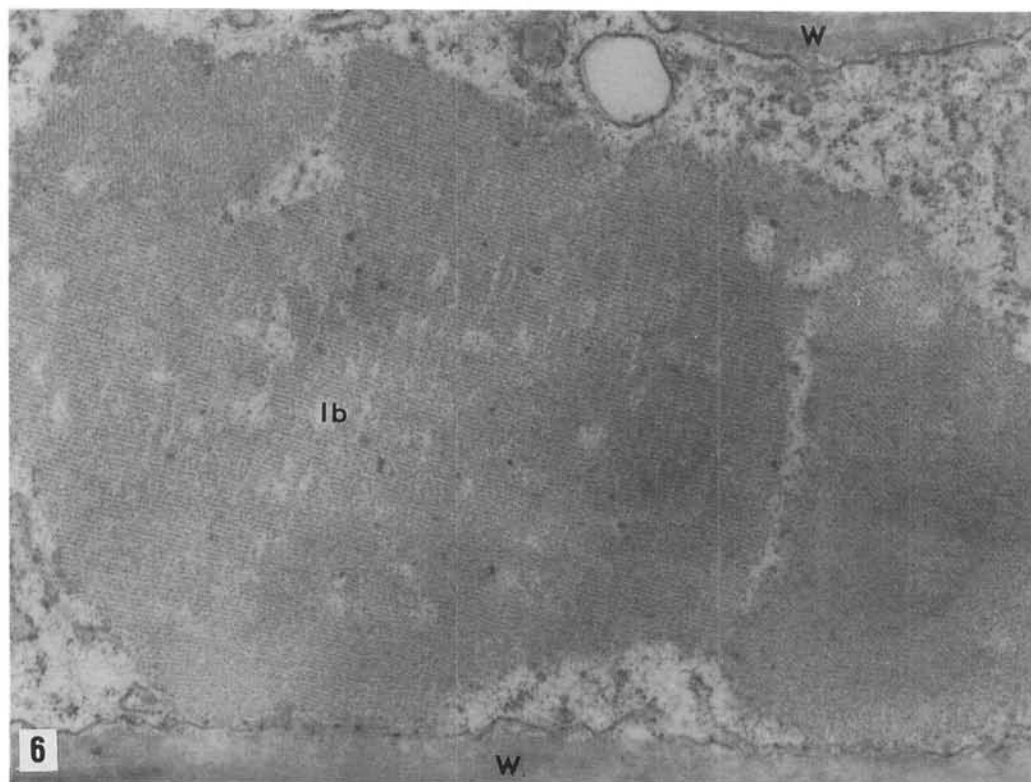
Fig. 2. Virus particles in crude sap of infected tulip leaf, negatively stained in phosphotungstate. Bar represents 500 nm.

LISTER and BAR-JOSEPH (1981)あるいはFRANCKIら(1985)はClosterovirus群のウイルスを2, 3のsubgroupに分けており、長さ1,000 nm以上の大部分のウイルスはbeet yellows virusを代表種とするsubgroup Iに入っている。Subgroup Iのウイルスの共通する細胞内所見としては、篩部え死、篩部局在性で大きな集塊をつくること、特徴あるvesicle構造の形成などがあげられている。本組織切片の観察では顕著な篩部え死やvesicle構造は観察されず、また、封入体の構造においても、BAR-JOSEPHら(1977)がcarnation necrotic fleck virusで報告した像に類似し、ひも状粒子が密に結晶状に配列した特徴ある像を呈し、subgroup Iのウイルスで得られている所見とやや異なる知見が得られた。

引用文献

- ASJES, C.J. (1984) Jaarveslag van het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek 1983, pp. 117.
- ASJES, C.J. (1985) Personal communication.
- BAR-JOSEPH, M., JOSEPHS, R. and COHEN, J. (1977) Carnation yellow fleck virus particles *in vivo*. A structural analysis. *Virology* 81: 144-151.
- FRANCKI, R.I.B., R.G. MILNE and T. HATTA (1985) Atlas of plant viruses. Vol. II CRC press, Florida pp. 219-234.
- LISTER, R.M. and M. BAR-JOSEPH (1981) Closteroviruses. in Hand book of plant virus infections and comparative diagnosis. E. KURSTAK (ed.) Elsevier. Amsterdam, pp. 809-844.





Figs. 3-8. Electron micrographs of thin sections from mature tulip leaves infected with tulip severe mosaic virus. Sections showing vascular parenchyma cells, containing virus aggregates.

Ib; inclusion body R; ribosome M; mitochondrion V; virus N; nucleus W; cell wall O; osmiophilic globule Xy; xylem P; plastid

Fig. 3. Portion of a parenchyma cell, containing the inclusion bodies in the cytoplasm. $\times 13,500$.

Fig. 4. A mass of virus particles randomly aggregated in the cytoplasm. $\times 15,500$.

Fig. 5. Portion of xylem parenchyma cell, next to xylem element. A small aggregate of virus particles (arrow) is embedded in nucleus $\times 80,00$.

Fig. 6. Inclusion body consisting of a huge accumulation of virus particles in crystalline array. $\times 20,500$.

Fig. 7. Inclusion bodies showing the reticulate pattern. $\times 15,500$.

Fig. 8. Flexuous virus particles scattered randomly within the cytoplasm. The particles with a loop (arrows) are seen. $\times 52,500$.