

タバコ・モザイク・ウイルスを接種した局部感染宿主葉の中肋における壊死反応

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	下村, 徹 大橋, 祐子
発行元	日本植物病理學會
巻/号	43巻2号
巻号補足	
掲載ページ	p. 221-223
発行年月	1977年4月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



タバコ・モザイク・ウイルスを接種した 局部感染宿主葉の中肋における壊死反応

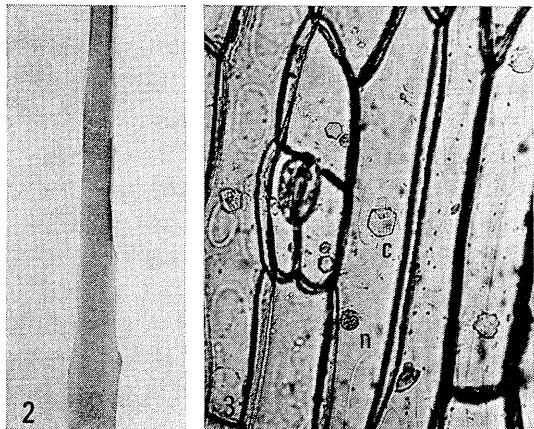
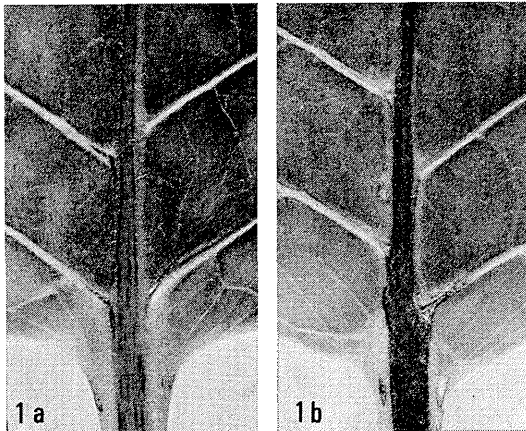
下村 徹*・大橋 祐子*

Toru SHIMOMURA* and Yuko OHASHI* : Necrotization of the Midrib Tissues
of Leaves of Local Lesion Hosts Inoculated with Tobacco Mosaic Virus

Abstract

When midribs of leaves of local lesion hosts were inoculated with TMV, necrosis appeared on the midribs. However, necrosis did not appear on the midribs when they were detached from the leaf tissues and were inoculated with TMV, although TMV multiplied in the midribs. It is postulated that necrotization of the inoculated midribs is caused by some chemical substances, probably by polyphenol or by other low molecular substances which have moved from adjacent green tissues.

Nicotiana glutinosa. Xanthi-ncまたは, Samsun NNタバコなどタバコ・モザイク・ウイルス (TMV) の局部感染宿主の葉に TMV を接種すると、葉に局部病斑が形成されるが、その中肋および側脈の部にも不整形の病斑が形成されることがある。中肋にガラス棒の先で濃度の高いTMV(普通系統OM株, 0.5mg/ml) を接種すると、通常この部の数カ所に細長い壊死斑が形成され、やがてこれらは融合して中肋全面に拡大する (Fig. 1a および 1b)。しかし既報¹⁾のように、中肋を葉から切り離して TMV を接種した場合には、そ



の組織で TMV は増殖 するが 壊死反応は 起らない (Fig. 2)。ごくまれに淡い褐色の小さい条斑が形成されることもあるが、その後拡大することはない。葉から切り離した 中肋で TMV が 増殖することは、接種 2,3 および 4 日後の中肋の磨砕液について TMV の生物活性を測定した結果¹⁾から確かめられるが、中肋表面に接種後この部の表皮を剥いて pyronine-methyl green で染色²⁾した場合に、TMV の結晶性封入体の増加が接種後 2~4 日の間に観察されることから確かめられる (Fig. 3)。葉から切り離された中肋で、TMV

* 植物ウイルス研究所 Institute for Plant Virus Research, Chiba, Japan.

1) Shimomura, T. (1971). Phytopath. Z. 70 : 185-196. 2) 平井篤造(1960). 植物ウイルス病——実験法と種類——(日高醇ほか編). 朝倉書店, 東京, pp. 169-181.

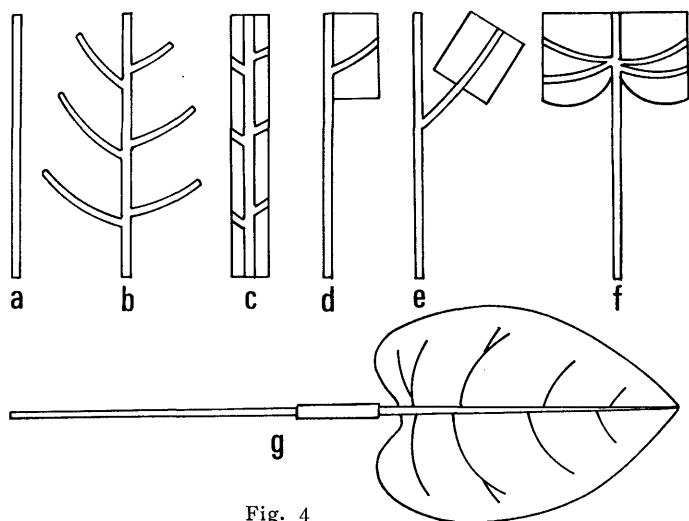


Fig. 4

が増殖するにもかかわらずこの部で壊死反応が起らない機構について検討するため、*N. glutinosa* および *Xanthi-nc* タバコを用いて以下の実験を行った。

中肋部分に接種後はいずれもペトリ皿内の湿室に納め陽光定温器内(約3000 lux, 22°C)に置いた。中肋と側脈の部分の葉から切り離すと (Fig. 4b), 中肋部分だけを切り離した場合 (Fig. 4a) に比べ中肋の損傷が少ないが、このような組織の中肋の表面に TMV を接種しても、この部位に壊死斑は形成されない。しかし、中肋に沿ってその両側に巾 3mm 程度の葉片を残すか (Fig. 4c), あるいは中肋の一部に葉片を残すと (Fig. 4d), 接種した中肋部分に壊死斑が形成される。また、中肋から伸びた側脈の先端部分に葉片を残して (Fig. 4e), 中肋に接種した場合にもこの部分に壊死斑が形成される。葉の一部が付いていれば、葉柄に接種した場合 (Fig. 4f, 葉柄だけを切り離してこの部分に接種しても壊死反応は起らない) にも、この部に壊死斑が形成される。以上の結果から、中肋の TMV による壊死反応には、葉に存在する何らかの物質が直接または間接に関与しているのではないかと考えられる。*N. glutinosa* の葉の中肋に TMV を接種後、何時間中肋が葉に付いていたら、この部分を切り離しても、そこに壊死斑が形成されるのか調べた結果では、22°C の温度条件下では、接種後40時間以上中肋が葉に付いていなければ、中肋の壊死は起らな

った。中肋が葉に付いたままの場合、中肋に接種してから2日以内にこの部が壊死を起すから、少なくとも、その数時間前まで葉が付いていなければ、分離した中肋に壊死斑は形成されないことになる。Fig. 4g に示すように、*N. glutinosa* の葉から切り離した中肋に TMV を接種し、これに *N. glutinosa* の葉をガラス管内の1%の寒天を介してつないだところ、3~4日後中肋に壊死斑が形成された。しかし、このような中肋に壊死反応が起る頻度はあまり高くないこと (20/100以下), 起った場合もその壊死褐変の程度があまり著しくないことなどの点で、結論を得るまでにはなお検討が必要であ

る。

中肋の壊死に関与する可能性のある物質 (葉に存在するがその中肋部分には存在しないかまたはその量が少ない) として、ポリフェノールとその酸化酵素であるポリフェノールオキシダーゼおよびペルオキシダーゼを想定し、以下の実験を行った。まず、*N. glutinosa* と *Xanthi-nc* タバコを用い、それぞれの葉の中肋と中肋以外の部分 (側脈を除く) について、ポリフェノール含量とポリフェノールオキシダーゼおよびペルオキシダーゼの活性を測定した。ポリフェノール含量は Johnson and Schaal の方法³⁾ に基づいて全フェノールを測定し、標準試料としてはクロロゲン酸を用いた。ポリフェノールオキシダーゼの活性は、コーヒー酸を基質として酸素電極⁴⁾を用いて測定し、ペルオキシダーゼの活性は、*o*-phenylenediamine を用い、Vetter らの変法⁵⁾ によって450nmにおける吸光度を測定した。Table 1 に示すように、*N. glutinosa* と *Xanthi-nc* タバコの両植物の場合とも、ポリフェノールオキシダーゼの活性については、中肋と中肋以外の部分との間で、それ程著しい差が認められないが、ペルオキシダーゼ活性は後者で前者の約2倍であった。これらの酵素の基質であるポリフェノール含量は、両部分の間で特に著しい差があり、後者で前者の約5倍であった。つぎに、*N. glutinosa* を用い、その切取葉をそのままペトリ皿の湿室に納め、22°Cの陽光定温

3) Johnson, G. and Schaal, L. A. (1957). Amer. Potato J. 34: 200-209.

4) Hyodo, H. and Uritani, I. (1965). J. Biochem. 58: 388-395.

5) Kanazawa, Y., Shichi, H. and Uritani, I. (1965). Agr. Biol. Chem. 29: 840-847.

Table 1. Polyphenoloxidase activity, peroxidase activity, and polyphenol content in the midrib and midrib-excised leaf blade of *N. glutinosa* and Xanthi-nc tobacco

Plants	Plant Parts	Polyphenol-oxidase	Peroxidase	Polyphenol
<i>N. glutinosa</i>	Midrib	2.0 ^{a)}	169 ^{b)}	104 ^{c)}
	Leaf ^{d)}	2.1	300	480
Xanthi-nc	Midrib	8.2	294	204
	Leaf	12.2	595	1130

a) O₂ μ mole/min/g fresh weight.

b) OD at 450 nm/g fresh weight.

c) Chlorogenic acid μ g/g fresh weight. d) Leaf blade without midrib and lateral veins.Table 2. Changes in polyphenol content in the midrib of *N. glutinosa* during incubation at 22 C for 3 days

Plant parts	Incubation time (days)	
	0	3
Midrib without leaf blade	97 ^{a)}	119
Midrib with leaf blade	104	356

a) Chlorogenic acid μ g/g fresh weight.

器内に3日間置いた場合の中肋部分のポリフェノール含量を、葉から切り離した中肋を同様3日間置いた場合のそれと比較して Table 2 に示した。その結果によると、葉から切り離した中肋では、3日の間にポリフェノール含量はあまり変化しないが、中肋が葉に付いたままの場合には3日の間に中肋部分の同含量が3倍以上に増加した。中肋が葉に付いたままの場合は、切取葉を3日置く間に中肋部分の酸化酵素の活性が高くなり、これに伴って基質のポリフェノール含量も増加するが、中肋だけが切り離された場合は、この部分ではもともとこれらの活性や含量が少ない上に葉から

の供給もないため、ポリフェノール含量が増加しないのではないかと考えられる。しかし、葉から切り離された中肋で壊死反応が起らない機構を、中肋以外の部分からのポリフェノールの供給がないという事実で説明できるかどうかの点についてはなお検討が必要である。その他の移動し易い低分子の物質が関与している可能性も考えられよう。葉から切り離した中肋に TMV を接種してから1~2日後、これをクロロゲン酸の溶液 (10^{-1} ~ 10^{-2} M) に一定時間浸漬したが、壊死反応は起らなかった。

(1976年12月8日受理)

Fig. 1. Necrosis appeared on the midribs of Samsun NN tobacco leaves inoculated with TMV. a: Two days after inoculation b: Four days after inoculation.

Fig. 2. Detached midrib of Samsun NN tobacco, 4 days after TMV inoculation. No necrosis appeared on the midribs.

Fig. 3. TMV crystals observed in the epidermis of detached midrib of Samsun NN tobacco, 3 days after TMV inoculation. Stained with pyronine-methyl green. c: Crystal n: Nucleus. Magnification: $\times 200$

Fig. 4. Diagram illustrating the appearance of necrosis on the detached midribs having a portion of the leaf blade. a, b: No necrosis appears. c, d, e: Necrosis appears on the inoculated midribs. f: Necrosis appears on the inoculated petiole. g: Necrosis appears on the inoculated midrib having no leaf blade, but connected with leaf blade by agar bridge in a glass tube.