

タバコ体内におけるタバコモザイクウイルスの遠隔部位への移行

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者	近藤, 章
巻/号	40巻4号
掲載ページ	p. 299-303
発行年月	1974年9月

タバコ体内におけるタバコモザイク ウイルスの遠隔部位への移行

近 藤 章

Akira KONDO*: Long-Distance Movement of Tobacco
Mosaic Virus within the Tobacco Plant

Abstract

Tobacco mosaic virus was inoculated on the midrib of the secondary developed leaf of a 10 leaf-stage tobacco plant (*Nicotiana tabacum* L. CV. Xanthi), and the movement of the virus was traced by tissue culture method. Midribs and internodes of the inoculated plant were cut into many pieces at different stages of infection. These pieces were cultured on the modified Murashige and Skoog's medium at 25 C for 14 days, and developed the calluses. Each of them was homogenized in 0.01 M phosphate buffer, pH 8.0 and the infectivities of the homogenates were assayed on *N. glutinosa*.

The results showed that the infectivity was detected first in the callus developed from the stem below the inoculated leaf 6 hours after inoculation and from the upper stem after 10 hours. After 15 hours the virus infectivity was detected from the 7th leaf and the top leaves, after 24 hours from the 5th and 6th leaves and after 60 hours from the 4th leaf. Thus far, the virus was detected in calluses developed from all parts of the plant after 120 hours, except for the root which was not used in this experiment.

On a tobacco plant having about 20 leaves, midrib of the 6th leaf was inoculated with tobacco mosaic virus and after 6 hours the upper part from the 4th leaf was cultured in water for 30 hours. The midribs of each leaf were then cultured and the calluses developed were tested. The virus infectivity were detected only in the callus developed from 11th or 16th leaf, but not in the stem below the inoculated leaf.

These results suggest that the virus translocates in vascular bundles depending on the phyllotaxy of tobacco plant (2/5) in the early stage of systemic infection.

(Received August 27, 1973)

緒 言

virus が植物に侵入したとき、侵入部分から遠隔部分への移行について、その径路、時間、形態および分布など未解決な問題が多い⁴⁾。Samuel⁷⁾ はトマト-TMV の組合わせて cutting up test などの方法を用いて、接種葉から植物体内への移行分布の状況や、virus の急速な移行は維管束を通過すること、若いトマトでは 25 日で全身に行きわたることなどを明らかにした⁷⁾。近藤はトマト-TMV の組合わせて、接種葉

の接種部分から 2.5 cm はなれた非接種部分の主脈に接種後 6 時間で TMV が移行し³⁾、また本葉 1 枚程度
のとき、1 枚の子葉に接種すると、約 6 時間で他の子
葉に TMV が認められることなどを明らかにした⁵⁾。
若し侵入初期に検定すれば、TMV の分布は維管束の
分岐によると考えられたので、前報^{3), 5)} で報告した組
織培養法を用い、タバコ-TMV の組合わせて、Samuel
の結果を検討した。報告するにあたり、御便宜をあた
えられた前東京農工大学森寛一教授ならびに御援助を
あたえられた富田恵三郎、西川静男各氏に対し感謝の

* 滋賀県立短期大学農業部 Shiga Prefectural Junior College, Kusatsu, Shiga, Japan.

意を表する。

実験材料

供試タバコは本葉 10~20 葉程度に生育した *Nicotiana tabacum* L CV. Xanthi で、供試ウイルスは xanthi で継代保存した TMV 普通系である。組織培養の培地は Murashige and Skoog 氏培地の変法で

第1表の通りである。

クロロフィルの形成が多いカルスは virus 増殖量が多いことを考慮して⁴⁾、クロロフィルの形成をよくするために、無機窒素量を倍量とし、炭素源は少なく (5 g/l), 2,4-D (0.2 mg/l) およびカイネチン (0.2 mg/l) とを添加した。この培地で培養すると、カルスは堅くなるがクロロフィルに富んでいる。

第1表 供試培地^{a)}

主要無機化合物 (mg/l)		微量無機化合物 (mg/l)		有機化合物 (mg/l)	
NH ₄ NO ₃	3300.0	H ₃ BO ₃	6.2	glycine	0.2
KNO ₃	3800.0	MnSO ₄ ·4H ₂ O	22.3	nicotinic acid	0.5
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370.0	ZnSO ₄ ·4H ₂ O	8.6	pyridoxine HCl	0.5
KH ₂ PO ₄	170.0	KI	0.86	thiamine HCl	0.1
Na ₂ -EDTA	37.3	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.25	myo-inositol	100.0
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27.8	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.025	indole-3-acetic acid	1.0
CaCl ₂ ·2H ₂ O	440.0	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.025	kinetin	0.2
				2,4-D	0.2
				sucrose	5000.0
				agar	10000.0

a) pH: 6.0

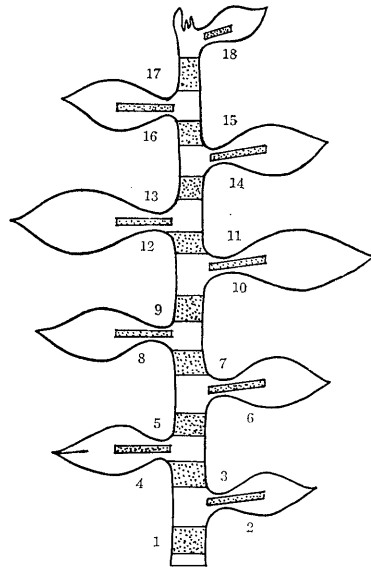
実験方法ならびに結果

1. 接種時間と TMV の移行との関係

茎の基部から第2葉目の先端の主脈上に汁液接種し、25 C の蛍光灯照明下 (約 2,000 ルックス) に置いた。所定の接種時間を経た後に、第1図に示すように黒く塗った茎、葉の部分を取り取り培養した。培養は 25 C 蛍光灯照明下で 14 日間行なった。発育したカルスは検定時まで -20 C で保存した。カルス 1 個当たり 磷酸緩衝液 (pH 8.0, 0.01 M) 4 ml を加え摩砕し、その液を *N. glutinosa* 6 枚の各半葉に接種した。他の半葉には -20 C に保って置いた接種液 (罹病葉 1 g に対し磷酸緩衝液 (pH 8.0, 0.01 M) 10 ml を加え摩砕した液) を接種して対照とした。3 日後に発現した local lesion の有無をしらべた。対照液の local lesion は 1 葉当たり 35~60 個であるのに対し、検定液の local lesion は極めて少なく発現しても 1 葉当たり 1~3 個であった。その結果は第2表の通りである。

すなわち、接種してから 6 時間で virus は接種葉の非接種部分の主脈と、接種葉から下方の茎に達する (第1図の 4, 3)。10 時間たつと接種葉の上, 下の茎に (第1図の 5, 7, 9, 11), 15 時間目には、接種葉から、

第6番目および頂葉に (第1図の 14, 16, 18) で認められる。24 時間経過すると、接種葉から 5 葉目 (第1図

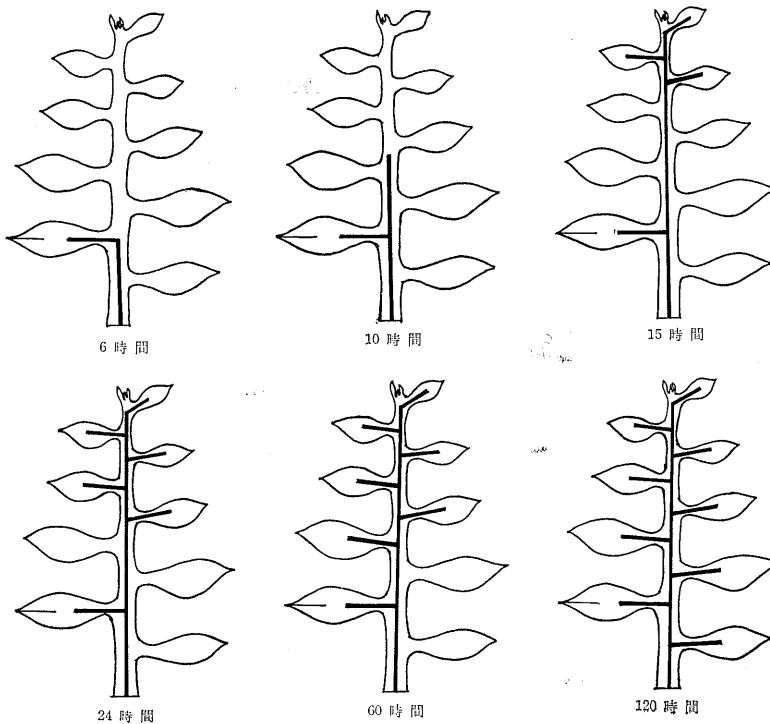


第1図 検定のために組織培養した部分 (1~18): ■
接種部分: —

第2表 TMV の移行部分と接種時間との関係

組織培養に供した部分 a)	接種時間 (時間)																	
	6			10			15			24			60			120		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	(-)	(-)	+
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+
3	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	(-)	+	(-)
4 ^{b)}	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	-	-	-	-	+	(-)	-	+	+	-	+	+	-	+	(-)	(-)	+	+
6	-	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
7	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	(-)	+	+
8	-	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+
9	-	-	-	+	-	(-)	-	+	+	+	-	+	+	+	+	(-)	+	+
10	-	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
11	-	-	-	-	-	(-)	+	-	+	+	(-)	+	-	+	+	(-)	+	+
12	-	-	-	-	-	(-)	-	-	(-)	+	-	+	+	-	-	+	+	+
13	-	-	-	-	-	(-)	+	(-)	(-)	(-)	(-)	+	-	+	+	(-)	(-)	+
14	-	-	-	-	-	(-)	+	+	+	+	+	+	+	+	(-)	+	+	+
15	-	-	-	-	-	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	-
16	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	(-)	+	+
17	-	-	-	-	-	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	-
18	-	-	-	-	-	(-)	+	+	+	+	(-)	+	+	+	+	(-)	+	+

a): 第1図に示した部分 (1~18) b): 接種葉 +: *N. glutinosa* に local lesion が認められた
 -: *N. glutinosa* に local lesion が認められない (-): バクテリア発生のため培養中止および実験せず



第2図 virus の植物体内移行と接種後時間との関係
 接種部分: —
 Virus の移行部分: —

の12)と4葉目(第1図の10)とで認められる。60時間たつと、接種葉から3葉目(第1図の8)で120時間たつとほぼ全身で認められる。接種葉からの virus の移行経過を整理して図示すれば第2図のようになる。

2. TMV の移行におよぼす接種葉下部茎、根部切除の影響

接種後15時間たつと上向した virus は接種葉と葉序上同じ構成の葉および頂葉とで認められる。頂葉は必ずしも接種葉と同一維管束で構成されるとは限らないのに頂葉に virus の移行が認められるのは、根に向った virus が根で他の維管束へ移行した後上向するためと推察される。そこで接種後、virus が移行を開始した時期に根を切除すれば、頂葉への移行が除かれると考えられたので、つぎの実験を行なった。

第3表 接種葉下部の茎を切断した時の TMV の移行と葉位との関係

葉位	供 試 植 物			
	1	2	3	4
1	—	—	—	—
2	—	—	—	—
3	—	—	—	—
4 ^{b)}	—	—	—	—
5	—	—	—	—
6 ^{a)}	—	—	—	—
7	—	—	—	—
8	—	—	—	—
9	—	—	—	—
10	—	—	—	—
11	—	—	+	—
12	—	—	—	—
13	—	—	—	—
14	—	—	—	—
15	—	—	—	—
16	+	—	—	—
17	—	—	—	—
18	—	—	—	—
19	—	—	—	—
20	—	—	—	—

a): 接種葉

b): 接種葉下部の茎を切断した葉位

+: *N. glutinosa* に local lesion を認められた

—: *N. glutinosa* に local lesion を認められない

接種後6時間で接種葉下部を切断し、その後30時間切り取り植物を水耕し、下部はそのままとした。

約20葉の xanthi の中位葉(第6葉)の先端付近の主脈に接種した後、25°Cの照明下におき、約6時間後に接種葉から下位2葉目すなわち第4葉付近で茎を切断し、切り取り植物の茎は殺菌水に浸漬し、再び切り取り植物の茎および根茎部を25°C照明下に30時間置いた。その後に両部分のすべての葉の主脈を、上述の方法で培養し、2週間後に virus の有無をしらべた。

結果は第3表の通りである。すなわち、接種葉と葉序上同一構成の6葉目(葉位11番目)および11葉目(葉位16番目)のみに virus の移行が認められた。また、接種葉下部の茎から切断した根茎部の茎はそのまま栽培し、各葉位から発育した葉の virus の有無を約1か月後にしらべたところ、どの葉にも病徴は認められず、また *N. glutinosa* に接種して検定しても local lesion は認められなかった。

考 察

Samuel の結果と比較すると⁷⁾、植物体内の virus 移行分布についてはほぼ同じ傾向を示すが、とくに移行の時間に顕著の差が認められる。この差は植物の差、供試 virus 系統の差、接種濃度、環境条件の差などが考えられるが⁶⁾、実験方法の違いによる結果と考えたい。すなわち Samuel の cutting up test 法は接種1.5~9.5日後にトマトの各節の部分を取り、それを培養しそれから芽を出させ、それに含まれる TMV を検定している。

これに対し、本実験では接種5~120時間後に茎の各部ならびに各葉の主脈を取り、それを培養し、TMV を増殖させ検定している。

本実験の結果から明らかなように TMV は接種後6時間で接種部分から移行し、120時間後には全身で認められる。Samuel のトマト-TMV の場合でも同様に virus の移行があるものと考えられるが、cutting up test 法では、接種3日~4日後でも接種葉からの virus の移行は認められない。組織培養法が cutting up test 法より組織中微量に存在する TMV の増殖により好適であるのか、汁液接種の際にカルス組織内に存在する物質が *N. glutinosa* 上の local lesion 形成を阻害しないのか、あるいは両者の相乗によるのかについては明らかでない。いずれにせよ本方法が感染初期の virus の移行状況をキャッチするのに優れていると考えられる。接種15時間後に、接種葉から、下茎、上茎および6番目の葉で virus が認められる。タバコは2/5葉序であるから²⁾、接種葉と接種葉から6番目の葉とは同一維管束から構成されている。このことは

virus が接種葉を構成している維管束を移行することを示す。また、 $^{14}\text{CO}_2$ をタバコの葉に処理すると 21 時間後には radioactivity が根、下茎、上茎および処理した葉から 6 番目の葉に高いことが報告され¹⁰⁾、感染初期の virus の移行と全く一致していることは、葉で合成された物質が他へ転送される通路と virus の移行通路とが同一であることを示し、今後、virus の体内移行を研究する場合、この点を考慮して追求、検討する必要がある。頂葉で一樣に virus の移行が認められることについて、維管束の分岐と接種葉の維管束との関係だけでは説明し難いが、トマト苗の本葉が未だ発育しない段階で、子葉に接種すると、virus は根を通り他の子葉へ移行すること⁵⁾、および本実験の結果のように接種 6 時間後に接種葉より下部の茎で切断すると、初期には接種葉と同一維管束構成の上葉でのみ、virus が認められ、頂葉に virus は認められないことなどから、virus は接種葉から上向と下向との移行があり、上向した virus は接種葉と同一維管束構成の上葉に、下向した virus は根で隣接した維管束に移行した後上向して頂葉に達するものと思われる。24 時間経過すると、新たに接種葉から 4 葉目で認められる。この葉の一部分の維管束は接種葉の維管束から構成されている。60 時間経過すると、接種葉から 3 葉目で認められるように、virus は次第に下向する。120 時間後には、全身で認められるが、最後に接種葉の上・下の葉に virus が移行する。

以上のように本実験で観察された virus の植物体内移行状況は、時間的に差があるが、Samuel の結果とほぼ一致する。

根に接種すると、上部への移行には時間がかかる報告もあり^{1), 8), 9)}、本実験の結果のように、接種 6 時間後に接種葉の下部で茎を切断すると virus の移行速度は遅くなり、またその分布は接種葉と同一構成の葉にのみ限定されるなどのことから、根の存在と virus 移行分布および速度などとは密接な関係があり、今後、根の役割と移行との問題をさらに追求したい。

摘 要

若いタバコの茎の基部から 2 番目の葉の主脈に TMV を接種、接種後一定時間に、植物の各部分の切片を Murashige and Skoog 氏変法培地で、14 日間照明下 25 C で培養した。切片は発育しカルスとなった。これらの摩砕液をウイルス検定に用いた。結果はつぎの通りである。

1) virus の移行は、6 時間で接種葉 (第 2 葉) から直下部の茎に、10 時間で直上部の茎に認められた。15 時間後に、第 7 葉および頂葉に、24 時間後に第 5 および 6 葉とに、60 時間後に第 4 葉に移行した。120 時間後には virus は植物のすべての部分で認められた。

2) 第 6 葉に接種し、6 時間後に下部の茎を切断し、上部を 30 時間水耕したとき、virus 移行は第 11 あるいは第 16 葉でのみ認められ、接種葉の下で切断した下部の茎には virus の移行が認められなかった。

これらの結果は、遠隔部への TMV の移行は維管束を通過し、その分布方式は感染の初期には、接種葉の葉位と植物の葉序との関係によってきまると考えられる。

引用文献

- 1) Broadbent, L. (1965). Ann. appl. Biol. 56: 177-205.
- 2) 福田三千夫 (1956). 桑野たばこ試報 39: 59-82.
- 3) 近藤 章 (1971). 滋賀短大学術報 12: 34-37.
- 4) 近藤 章 (1971). 日植病報 37: 396 (講演).
- 5) 近藤 章 (1973). 滋賀短大学術報 14: 52-55.
- 6) Schneider, I. R. (1965). Adv. Virus res. 11: 163-222.
- 7) Samuel, G. (1934). Ann. appl. Biol. 21: 90-111.
- 8) Taylor, R. H., Grogan, R. H. and Kimble, K. A. (1961). Phytopathology 51: 837-851.
- 9) 都丸敬一・前田 進 (1970). 桑野たばこ試報 68: 103-110.
- 10) Yamamoto, T. (1967). Plant and Cell Physiol. 8: 353-362.