

レンゲ萎縮ウイルス感染ソラマメに見出された小球形ウイルスについて

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	大木,理 土居,養二 与良,清
発行元	日本植物病理學會
巻/号	41巻5号
掲載ページ	p. 508-510
発行年月	1975年12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



レンゲ萎縮ウイルス感染ソラマメに見出された 小球形ウイルスについて

大木 理*・土居養二*・与良 清*

Satoshi T. OHKI*, Yoji DOI* and Kiyoshi YORA*: Small Spherical
Virus Particles Found in Broad Bean Plants Infected
with Milk-Vetch Dwarf Virus

Abstract

Small spherical virus particles were found in the phloem cells of broad bean plants infected with milk-vetch dwarf virus. The virus particles appear in the degenerated cytoplasm or in the vacuoles, forming amorphous, sometimes crystalline, aggregates. The virus particles could be partially purified by chloroform-butanol clarification followed by differential centrifugation. Their particle size is approximately 26 nm in negatively stained preparations.

レンゲ萎縮ウイルス (milk-vetch dwarf virus: MDV) はアブラムシにより永続型伝搬をするウイルスである。本ウイルスによるエンドウ、ソラマメなどの萎黄病はわが国に広く発生するが、ウイルス粒子の形状、寄主植物体内の所在様式などは未だ知られていない^{1,2)}。そこでこれらの点を解明するため、感染植物切片を電顕観察し、またウイルス粒子の部分純化を試みた。

MDV により典型的な萎黄病徴を示すソラマメを関東各地で採集し、供試材料とした。病葉からアカザおよびササゲへの汁液接種はすべて陰性であったが、マメアブラムシ (*Aphis craccivora* Koch) によりササゲ、ダイズ、インゲンへ永続的に伝搬されることが確認された。しかし、病葉からの DN 法による電顕観察ではウイルス粒子は見出されなかった。そこでこの材料を 1% OsO₄ で固定し、エタノール脱水、エポキシ樹脂包埋の後、薄切し、酢酸ウランとクエン酸鉛で二重染色して、感染組織の電顕観察を行なった。

病葉では篩部組織に顕著な壊死が認められ、細胞質が凝固あるいは崩壊し、また網目状に変性した細胞が多数観察された (Fig. 1)。これらの壊死篩管内および

周囲の篩部柔細胞の液胞中には、電子密度の高い斉一な小球形粒子の凝集塊が見出された (Fig. 2, 3)。これらの粒子は径 22~24 nm で、細胞質中ではリボソームとの判別がやや困難であったが、篩部柔細胞の液胞中ではしばしば結晶集塊として観察され (Fig. 4, 5, 6)、その結晶配列ならびに健全植物では見出されないことからウイルス粒子と判定された。

この小球形ウイルス粒子は、葉肉細胞、表皮細胞、木部などでは認められず、篩部局在性と考えられる。感染細胞ではミトコンドリアの著しい増加が認められ、比較的大型で滑らかな vesicle の産生が顕著であった (Fig. 7)。また葉肉細胞では、篩部壊死による澱粉滞積が認められた。

次に、ソラマメ病葉を材料にして、この小球形ウイルス粒子の部分純化を試みた。0.1% チオグリコール酸を添加した 0.1 M リン酸緩衝液 pH 7.4 中で凍結病葉を磨碎し、クロロホルムおよび *n*-ブタノールの等量混合液で清澄化した後、6,000 rpm 15 分、28,000 rpm 210 分、10,000 rpm 10 分、40,000 rpm 120 分の順に分画遠心を行なった。最終的分画試料を 2% リンタングステン酸 (PTA) 液でネガティブ染色して電顕観察

* 東京大学農学部 Faculty of Agriculture, The University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo, Japan.

本研究の一部は文部省科学研究費によった。また、本研究の概要は日本植物病理学会関東部会 (昭和 49 年 7 月 17 日) で発表した。

1) 日野稔彦・井上忠男・井上成信・光畑興二 (1967). 農学研究 52: 1-9. 2) 井上忠男・井上成信・光畑興二 (1968). 日植病報 34: 28-35.

したところ、キャプシド構造をもつ径約 26 nm の小球形粒子が多数見出され、電顕的にみて切片像のそれと対応するウイルス粒子と判定された (Fig. 8)。

本研究では感染性を確認していないが、以上の諸結果から、この小球形ウイルスが MDV 粒子であると考えられる。これまで MDV 粒子が見出されず、また本研究でも DN 法で粒子が検出されなかったのは、MDV が節部局在性で、植物体内のウイルス量がきわめて少ないためと考えられる。

本研究の結果と既往の知見、特に萎黄型の病徴とアブラムシによる永続型伝搬性ことから、MDV はジャガイモ葉巻ウイルス (PLRV) 群に所属すると考えられる。PLRV 群では MDV, PLRV のほかに、オオムギ黄化萎縮ウイルス、ビート西部萎黄ウイルス、ダイズ矮化ウイルスなどがわが国に発生するが、このうちダイズ矮化ウイルス^{3,4)} は諸性質が MDV と比較的近く両者の異同の検討が今後の課題と思われる。

(1975 年 3 月 12 日受理)

Explanation of Plate

Figs. 1-7. Sections of phloem cells of broad bean (*Vicia faba* L.) leaves infected with milk-vetch dwarf virus (MDV).

1. Necrosis of phloem cells. $\times 10,000$.
2. Small spherical virus particles in a necrotic sieve tube. $\times 40,000$.
3. Virus particles within degenerated cytoplasm. $\times 40,000$.
4. Amorphous aggregate of virus particles in vacuole of a phloem parenchyma cell. $\times 80,000$.
5. Crystalline aggregates of virus particles in vacuole of a phloem parenchyma cell. $\times 22,500$.
6. Ditto, high magnification. $\times 120,000$.
7. Smooth vesicles in a phloem transfer cell. $\times 10,000$.

Fig. 8. Partially purified MDV particles in a negatively stained preparation. $\times 320,000$.

3) 玉田哲男・後藤忠則・千葉一美・諏訪隆之 (1969). 日植病報 35: 282-285. 4) Tamada, T. (1970). Ann. Phytopath. Soc. Japan 36: 266-274.

Plate I

