

局部感染宿主におけるタバコ・モザイク・ウイルスの増殖と壊死反応

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. 224-227
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



局部感染宿主におけるタバコ・モザイク・ウイルス の増殖と壊死反応

下村 徹*・大橋 祐子*

Toru SHIMOMURA* and Yuko OHASHI*: Tobacco Mosaic Virus Multiplication
and Necrotization in Local Lesion Hosts

Abstract

When detached leaves of local lesion hosts inoculated with a high concentration of TMV were incubated at 30 C for 4-5 days and then transferred to 22 C, apparent necrosis did not appear on the inoculated leaves. It is suggested that necrotization does not occur in leaf tissues in which TMV has fully multiplied at 30 C, even if they were then transferred to 22 C, the optimal temperature for necrotization.

Nicotiana glutinosa または *Xanthi-nc* タバコの葉にタバコ・モザイク・ウイルス (TMV) を接種後高温 (28-30C) に置くと、N因子の発現が抑制されて TMV は全身感染宿主における場合と同様に増殖するため、これらの葉に局部病斑は形成されない^{1, 2)}。しかし、このような葉を接種 1~2 日後低温 (20-22 C) に移すと、N因子は発現するようになりリング状の病斑が形成される^{3, 4)}。接種後高温に 1~2 日置いた葉に、熱水処理^{3, 4, 5)}・氷水処理^{3, 4)}・紫外線照射^{6, 7)} 或いはアクチノマイシン D やクロモマイシン A₃ などの薬剤処理⁸⁾を加えた場合にも、処理後高温に置いたままの状態、これらの葉に病斑が誘導されるが、この場合も病斑はいずれもリング状となる (Fig. 1 a および 1 b)。

病斑がリング状に現われる以上の現象をより詳しく調べるため、以下の実験を行った。実験はいずれも切取葉を用い、接種後はペトリ皿の湿室に納め、蛍光灯の連続照明下 (約3000lux) に置いた。*Xanthi-nc* タバコの葉の一部にガラス棒の先で濃度の高い TMV (普通系統 OM 株・0.5mg/ml, 以下特に記さない限りこの濃度で供試) を局部接種²⁾し、30C に 4 日間置

いた後22Cに移すと、大きいリング状の病斑 (Fig. 2a) が形成される。このような病斑の内側の組織は、周辺組織からの水分などの供給が断たれるためかその後褐変壊死することがある (*N. glutinosa* を供試した場合には特にそうなり易い)。しかし22Cに移した直後に接種部位を中心にコルクボーラーで disk を抜いてペトリ皿の湿室中に置いた病斑組織では壊死は起らない (Fig. 2b)。また、*Xanthi-nc* タバコの葉の中肋部分に TMV を接種して22Cに置くと、2~3 日後にこの部分が壊死を起すが⁹⁾、接種後30Cに3日間置いた後22Cに移すと、中肋およびその近傍の組織は壊死を起さず、中肋からやや離れた部位に稲妻状の病斑が形成される (Fig. 3)。この場合にも中肋を含む病斑の内側の部分が壊死を起すことがあるが、22Cに移した直後切り抜いた中肋とその近傍の葉組織では壊死は起らない。

以上の現象から、高温に保ったTMV感染組織を低温に移した場合には、TMVが既に増殖しきった組織では壊死反応は起らず、隣接健全組織或いはまだ TMV の増殖が活発に行われている組織で壊死反応が起るのではないかと考えられる。この点について調べるためつ

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

1) Kassanis, B. (1952). Ann. appl. Biol. 39: 358-369. 2) Shimomura, T. (1971). Phytopath. Z. 70: 185-196. 3) Shimomura, T. and Ohashi, Y. (1971). Virology 43: 531-532. 4) 大橋祐子・下村 徹 (1971). 日植病報 37: 211-214. 5) Foster, J. A. and Ross, A. F. (1975). Phytopathology 65: 600-610. 6) 大橋祐子・下村 徹 (1973). 日植病報 39: 225-226. 7) Takagi, Y. and Sugimura, Y. (1973). Can. J. Bot. 51: 825-826. 8) Ohashi, Y. and Shimomura, T. (1972). Virology 48: 601-603. 9) 下村 徹・大橋祐子 (1977). 日植病報投稿中.

ぎの実験を行った。Xanthi-nc タバコの葉にTMVを接種して30Cに3日間保った後22Cに移すと、Fig. 4aにみられるような輪郭の不明瞭な病斑が接種部に形成される。しかし、30Cに4～5日間保った後では、22Cに移してももはや病斑は形成されない。Fig. 4bの場合は、葉にTMVを接種して30Cに5日間保った後22Cに移したが、全葉にわたり病斑は全く認められなかった。TMVを接種した Xanthi-nc タバコまたは *N. glutinosa* の葉から径13mmのdiskを抜き、これをペトリ皿の湿室に納めて30Cに置き、2, 3, 4, および5日後それぞれ3枚のdiskの磨砕液についてTMVの生物活性を測定した結果がTable 1.である。

Table 1. The amount of TMV produced in leaf disks of *N. glutinosa* and Xanthi-nc tobacco incubated at 30 C after TMV inoculation (0.5 mg/ml)

Plants	Number of local lesions ^{a)}			
	2	3	4	5 ^{b)}
<i>N. glutinosa</i>	73	180	335	345
Xanthi-nc	105	211	395	416

a) At intervals after inoculation, the inoculated tissues were homogenized with 2000 times their fresh weight of P-buffer and assayed for TMV content using Xanthi-nc tobacco. Average number of lesions on 8 quarter-leaves.

b) Days after inoculation.

この結果によると、接種4日後にはTMVはほぼmaximumに増殖していることがわかる。

N. glutinosa の葉にTMV (4μg/ml) を接種して30Cに2日間置いた後氷水処理を行って形成されたリング状の病斑(処理4時間後)のTable 2. に示すA(リングの内側の部) B(リングの部) C(リングの外側の部)の3部について、TMVの生物活性を測定したところ、活性はリングの内側の部でもっとも高いが、壊死を起したリングの部(氷水処理によって形成される病斑のリングは白色で褐色にはならない)にもかなり存在した。この結果から、壊死が起る部分は健全部ではなく、健全部に隣接した部でウイルスの増殖が新しく活発に行われている部ではないかと考えられる。*N. glutinosa* の葉にTMV (4μg/ml) を接種し

Table 2. Number of local lesions on Xanthi-nc tobacco leaves inoculated with extracts from the various tissues comprising lesions on *N. glutinosa* leaves^{a)}

Tissues	No. of local lesions ^{b)}	
	1	2 ^{c)}
A Inside within necrotic ring	308	408
B Necrotic ring (0.8 mm in width)	101	297
C Tissue around necrotic ring (0.8 mm in width)	27	68

a) The leaves were kept at 30 C for 2 days after TMV inoculation and then treated with ice water.

b) The samples were homogenized with 2000 times their fresh weight of P-buffer and assayed on 6 half leaves of Xanthi-nc tobacco.

c) Experiment number.

て30Cに2日間置いた後氷水処理を行い、僅かに出現し始めた病斑を中心に組織片を切り取り、これをアルコールで固定し(処理1時間後)、そのパラフィン切片について蛍光抗体法によってウイルスの検出を行うと、Fig. 5のように、リングの内側の部(b)でウイルス抗原による蛍光がもっとも強いが、やや壊死を起したリングの部(c)にもかなりの蛍光がみられた。しかし、リングの外側の部(a)にはウイルス抗原による蛍光はみられなかった。パラフィン切片を光学顕微鏡で観察した限りでは(safranin-fast green染色¹⁰⁾)、リングの内側の部と外側の健全部との間で組織の構造に差は認められなかった。局部病斑が通常の状態では形成される場合、あるいは前述の各処理によって全身感染した局部感染宿主の葉に病斑が誘導される場合に、病斑の形成と共に感染部位で細胞内液の漏出が起ることを報告したが¹¹⁾、ウイルスが既に増殖しきって処理によっても壊死が起らないような組織で、このような漏出が起るのかどうかを検討した結果がTable 3. である。*N. glutinosa* の葉にTMVを接種後30Cに置き、接種1, 2, 3, および4日後経時的に氷水処理を行って、処理直後と5時間後の葉の洗液について電気伝導度を測定したところ、ウイルスが既に増殖しきったと考えられる接種4日後の組織からは、細胞内液の漏出

Table 3. The leakage of electrolytes from *N. glutinosa* leaves kept at 30 C and then treated with ice water at intervals after TMV inoculation

Days after inoculation	Leakage of electrolytes μ mho/leaf			
	Noninoculated		Inoculated	
	0	5	0	5 ^{a)}
1	7.8	6.0	6.3	27.3
2	4.5	7.1	10.8	103.0
3	7.8	7.0	4.9	33.2
4	7.5	7.0	4.3	9.7

a) Hr after ice water treatment.

がほとんど認められなかった。これらの結果から、壊死が起らないリングの内側の組織では、細胞内液の漏出が起るような膜構造の変化はないものと考えられる。ウイルスが増殖しきった組織では、病斑形成に導く一連の反応への引き金がかからなくなると考えられるが、これがどのような機構によるかについては今のところ明らかではない。

Explanation of Plate

- Fig. 1. Lesion formation on *N. glutinosa* leaves resulted from various treatments. TMV-inoculated leaves were incubated for 1 day at 30 C and were treated as follows: a: Immersed in ice water and then incubated at 30 C. b: Immersed in hot water and then incubated at 30 C.
- Fig. 2. Lesion formation on leaves of Xanthi-nc tobacco, which had been kept at 30 C for 4 days after 'point'-inoculation with TMV (p: Inoculated point) and then transferred to 22 C.
a : No necrosis appeared in tissues within the necrotic ring.
b : Sometimes necrosis appeared in tissue within the necrotic ring.
However, if leaf disk were punched from the tissue immediately after the transfer to 22 C, no necrosis appeared on the detached disk.
- Fig. 3. Lesion formation on leaves of Xanthi-nc tobacco, which had been kept at 30 C for 3 days after the inoculation of midrib with TMV and then transferred to 22 C. No necrosis appeared in tissue within the zigzag-type lesions.
- Fig. 4. Lesion formation on the leaves of Xanthi-nc tobacco, which had been kept at 30 C for 3 or 5 days after inoculation with high concentration (0.5 mg/ml) of TMV and then transferred to 22 C. Leaves were transferred to 22 C 3 days(a) and 5 days(b) after inoculation respectively. No apparent necrosis appeared on the leaf inoculated over the whole surface.
- Fig. 5. Cross sections of the necrotic ring-type lesion appeared on *N. glutinosa* leaf, which had been kept at 30 C for 2 days after inoculation and then treated with ice water. The presence of TMV antigen is seen in the tissue both within the necrotic ring (b) and within necrotic tissue (c), but not in the healthy tissues surrounding the necrosis (a). Magnification : $\times 80$

