

イネ縞葉枯病罹病植物の細胞封入体について(I)*

柏木 弥太郎・佐々木 成則

I はしがき

イネ縞葉枯病に感染したイネの細胞封入体については2・3の報告がある。河合⁵⁾は封入体は小型の円形又は楕円形で、葉肉細胞に多いとしているが、平井・中沢³⁾・Hirai⁴⁾らは封入体は大型で、8の字形・輪状・針状結晶・隅体等であると報告した。

筆者らは、イネ縞葉枯病罹病植物に見られる、特異の細胞封入体を検出することにより、感染植物の判別や、後期感染をし症状の不明瞭なイネの診断に利用する方法を試みた。

また、封入体の染色性や、封入体の形成機作について若干の考察をおこなったので報告する。

この実験をおこなうに当り、名古屋大学農学部 平井篤造教授、農林省農業技術研究所病理科 鈴木直治科長同 木村郁夫技官、原形質流動関係の御指導を下さった山口大学農学部 土井彌太郎教授および保毒のヒメトビウシカを分譲された農林省四国農業試験場 岸本良一・小山光男両技官に厚く御礼を申しあげる。

II 材料および観察方法

観察に供した材料は、イネ縞葉枯ウイルスに自然感染したと思われるイネ科の植物、および保毒のヒメトビウシカで接種し、発病した植物を供試した。罹病植物は病徵の鮮明な部位をピスに挿み、ハンドミクロトームで、20~40μの切片を作った。表皮細胞や葉鞘内面細胞は、フリー手で標本を作り染色後検鏡観察をおこなった。

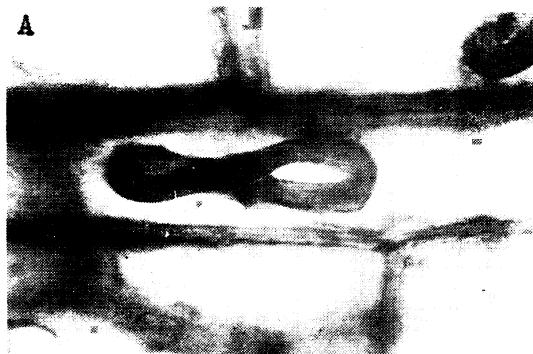
III 罹病植物の封入体と封入体の見られた細胞

罹病植物の切片は、主として稀薄なルゴール液で染色し検鏡観察をおこなった。

その結果は、第1図~第7図および第1表のとおりである。

イネ縞葉枯病罹病植物の細胞内には、本病特有の封入体が検鏡できる。

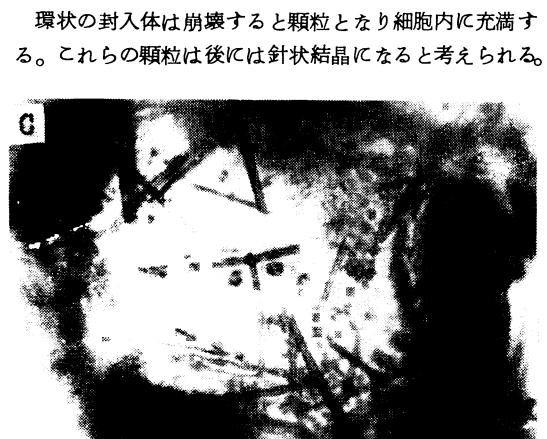
特に環状の封入体は、8の字や輪状または不規則な大型の封入体を形成している。



第1図 罹病イネの環状(8の字型)封入体
(アズールI染色)



第2図 罹病イネの環状(輪状)封入体
(アズールI染色)



第3図 罹病イネ柔細胞内の針状結晶

罹病した麦類では顆粒から針状結晶への過程が検鏡下

* この報告の大要は、昭和39年度日本植物病理学会大会で発表した。

て観察された。封入体の認められた細胞は、維管束に近い柔細胞・表皮細胞(葉鞘内面細胞)・機動細胞・葉肉細胞・隔壁細胞・篩管部充填物等であった。

第1表 罹病植物の細胞封入体と封入体の見られる細胞

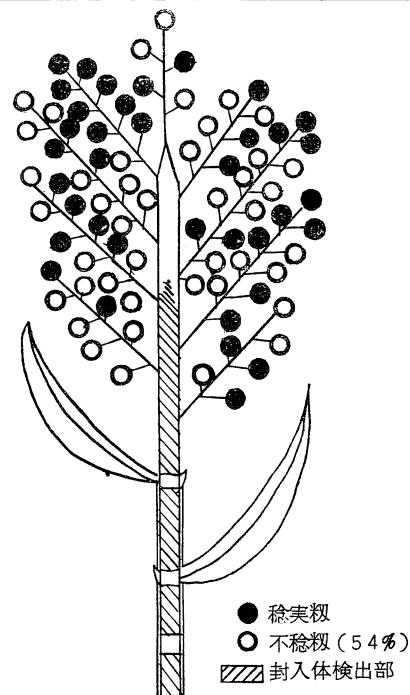
植物名	接種別	封入体の種類	封入体の見られた細胞
イネ	人為接種 自然発病	環状封入体(8の字形・輪形 その他) 針状結晶 隅体 篩管部充填物	表皮細胞 葉鞘内面細胞 機動細胞 柔細胞 葉肉細胞 篩管
コムギ ハダカムギ	人為接種 自然発病	環状封入体(8の字形・不規則形) 針状結晶 隅体	表皮細胞 葉鞘内面細胞 葉肉細胞
トウモロコシ	人為接種 自然発病	環状封入体 針状結晶	葉鞘内面細胞 機動細胞 柔細胞 柱頭
アワ	自然発病	環状封入体 針状結晶 隅体 篩管部充填物	表皮細胞 葉鞘内面細胞 機動細胞 葉肉細胞
カラスムギ	自然発病	環状封入体 針状結晶	表皮細胞 葉肉細胞
アゼガヤ	自然発病	環状封入体 針状結晶 篩管部充填物	表皮細胞 葉鞘内面細胞 葉肉細胞 篩管
エノコログサ	自然発病	環状封入体 針状結晶	葉鞘内面細胞 葉肉細胞 柔細胞

IV 封入体による診断の利用例

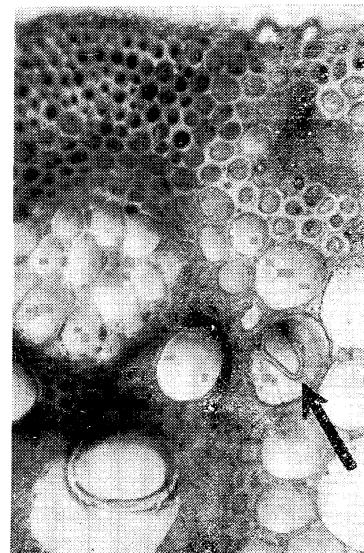
昭和38年および昭和39年は、普通栽培イネ(5月月中旬播種、6月下旬植田)に不稔穂や不稔率の高い穂が目立った。

いわゆる後期発病で7月下旬~8月上旬頃の感染によるものである。

このような穂の一部には、止葉や、止葉の葉鞘には全く病徵がみられなかつたが、第4図および第5図に示したように穂頸部を中心とする内部細胞に環状封入体がみられたのでイネ縞葉枯病の感染によって不稔粒を生じたと診断した。



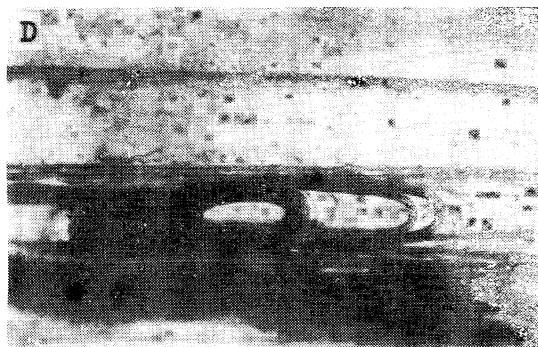
第4図 不稔穂より封入体の検出



第5図 穂軸の維管束近辺柔細胞内の封入体

重松ら⁹⁾も同様の方法により不稔穂の検査を行なっている。

また、秋播のイネ科の雑草や、こぼれムギ等にも縞葉枯ウイルスに感染したと思われる罹病植物があり、同様の封入体がみられた。ムギ類が秋季に感染した場合には冬季間に生育が著しく悪くなったり、早期に枯死するので、植物体内でのウイルスの越冬は翌春の伝染源としてはあまり重要でないと思われる。



第6図 罹病小麦の環状封入体(ルゴール染色)



第7図 カラスマギ(自然感染)葉肉細胞内の封入体(ピロニン・メチールグリーン染色)

V 環状封入体の染色性

昭和38年に刈取後に発生した罹病ヒコバエ(品種・農林37号)を供試し葉鞘部を切片とし、ルゴール液で固定後、チオ硫酸ソーダで脱色し水洗い後染色した。¹⁾

環状封入体は、ギムザ、ピロニン・メチールグリーンの混液で紫色に染色された。ズダンⅢ、ズダンブラックによる脂質の反応は認められなかった。

その結果は第2表のとおりである。

第2表 環状封入体の染色性

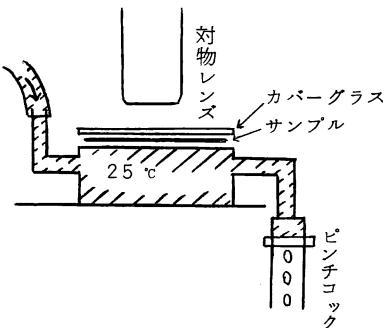
項目 試薬	試 薬 濃 度	厚 膜 細胞膜	導管膜	篩管膜	封入体
ギムザ	市販	鮮青	鮮青紫	紫	紫
アズールⅠ	0.1%	紫	紫	桃紫	紫
トリパンブルー	0.5	青紫	黄白	青	青紫
ピロニン	1.0	鮮紅紫	紅	赤	赤桃
メチールグリーン	0.5	紫	鮮青	青紫	淡青
ピロニン・メチールグリーン	11) 0.25 0.15	桃紫	桃紫	赤	桃紫
サフラン	1.0	紅	紅桃	紅	赤褐

項目 試 薬	試 薬 濃 度	厚 膜 細胞膜	導管膜	篩管膜	封入体
エオシン	1.0%	黄	黄	桃	桃
アセトカーミン	—	桃	桃	黄桃	顆粒
ルゴール	—	鮮黄	鮮黄	黄白	黄褐
フロログルシン 塩酸	1.0	鮮黄	鮮紅	淡黄	無色

VI 環状封入体の形状と原形質流動形式との関係

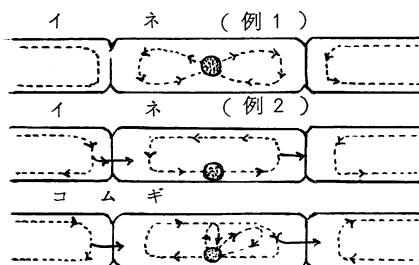
ウイルス感染による封入体の形成機作については、動物ウイルス⁸⁾で研究されているが、イネ縞葉枯病罹病植物にみられる環状封入体の形状(8の字形、輪状)と関係が深いと考えられる原形質流動形式の観察を試みた。

すなわち、ガラス室内に栽培した、イネ、ムギの幼苗の葉鞘内面細胞を切り取り第8図のような、原形質流動測定装置を作り暗視野下で検鏡観察を行なった。



第8図 原形質流動測定装置

原形質流動の形式は第8図の如き一連の規則正しい運動ではないが、イネでは循環運動が主体であり、時には回転運動の形式がみられる。²⁾ムギ類では、循環運動と不規則な回転運動が認められ、これらの原形質流動の形式は縞葉枯病罹病植物に見られる環状封入体の形状と関係が深いようで、ウイルス感染にともない病的物質が原形質流動行程の中で封入体を形成すると想像される。



第9図 原形質流動形式の模式図

VII 考 察

ウイルスに感染したすべての植物が封入体を形成するとは限らない。封入体を形成するか否かは、ウイルスの種類に関係することが大きいが²⁾、同一植物でも細胞の種類（機能）によって封入体形成に難易があるようだ、封入体はウイルスと宿主の細胞の組合せのいかんにかかっていると考えられる。

封入体そのものの研究が進められたのは最近である。

すなわち、超薄切片による電子顕微鏡像や、螢光抗体法、オートラディオグラフィの応用等により、封入体はウイルス粒子の集合体である例の多いことが明らかとなってきた。^{8)・10)}

イネ縞葉枯病罹病植物に見られる細胞封入体は、ウイルス感染に伴う病的な物質であろうが^{4)・7)}、染色性や *R N a s e* の消化実験、顆粒から針状結晶に変化する等の点から、ウイルス粒子の集合体とは断定できなかった。

しかし、封入体の形状の特異なこと、封入体の分布と媒介昆虫との関係、環状封入体から針状結晶への過程、および針状結晶そのものの究明等、今後に残された問題は多い。

VIII 摘 要

この報告は、イネ縞葉枯病罹病植物にみられる細胞封入体の形状と罹病植物組織内の分布および封入体の染色性、封入体の形状の機作について論じた。

1) 罹病植物の細胞内には、環状封入体・針状結晶・隅体・管部充填物等が表皮細胞・機動細胞・隔壁細胞・葉肉細胞・柔細胞・節部等に認められる。

2) 封入体の検出は感染植物の診断に応用できる。

3) 環状封入体は、ギムザ、ピロニン、アズールⅠ、トリパンブルーで染色される。ズダンⅢ、アンブラークによる脂質の反応は認め難かった。

4) 環状封入体の形状は、原形質流動形式と関係があろうと考察した。

参 考 文 献

- 1 平井篤造(1960)・植物ウイルス病(日高醇他編)・東京・PP169-181
- 2 平井篤造・山口昭(1962)・植物病理実験法(明日山秀文他編)・東京・P466
- 3 平井篤造・中沢雅典(1963)・日植病報28・293。(講要)
- 4 T.Hirai, N.Suzuki, I.Kimura, M.Nakazawa and Y.Kashiwagi(1964)・phytopathology, 54, 367-368
- 5 河合一郎(1939)・日植病報・9, 97-100
- 6 柏木彌太郎・佐々木成則・平井篤造(1964)・日植病報・29, 73(講要)
- 7 柏木彌太郎(1964)・(未発表)
- 8 加藤四郎・釜洞醇太郎(1962)・細胞化学シンポジウム・12, 74-76
- 9 重松喜昭・吉岡幸治郎(1964)・四国植物防疫研究協議会で発表
- 10 豊田栄・木村郁夫・鈴木直治(1964)・蛋白質核酸酵素・9, 865-867
- 11 J.N.デビットソン(1957)・核酸の生化学(石田政弘他訳)P77
- 12 吉井甫・河村栄吉(1947)・解剖植物病理学・P203