

# 研究成果の紹介

## 1 電子顕微鏡によるウイルスの検出

### ねらいと成果

農作物の病害の防除には早朝・的確な診断が重要である。しかし菌類病などは光学顕微鏡や肉眼で病原体を確認できるのに対して、ウイルス病はそれが不可能であり、症状も生理障害等と判別が付きにくい場合がある。また、同じように見える症状でも原因となるウイルスが複数存在することも多い。特定のウイルスについては簡易な検出法はいくつか開発されているが、これらは不特定のウイルスの検出には適していない。一方、病原ウイルスの特定は行えないものの、これを簡便に検出する方法として電子顕微鏡による病植物の観察がある。生物工学研究所では、平成9年4月より電子顕微鏡の有効利用の1つとして、農業改良普及センター等からの依頼を受けて、ウイルスによるものと思われる病徴を示した植物の電子顕微鏡観察を行っている。

平成10年10月現在、中央農業技術センター、淡路農業技術センター、病害虫防除所と5か所の農業改良普及センターより30種の作物、57個の試料について依頼を受け電子顕微鏡観察を行った。

### 内容

観察のための試料はダイレクトネガティブ染色法(DN法)、免疫電顕法(SDN法)、グルタルアルデヒド(GA)固定DN法によって作成した。DN法は染色液中で病植物の細片(大きさ5mm角ほど)を軽くたたいて磨砕してそれを直接観察する。SDN法は農作物の最重要ウイルスであるキュウリモザイクウイルス(CMV)を検出する方法である。これ

ら2種の方法でウイルス様粒子が確認されなかった場合は、GA固定DN法で試料を作製する。それぞれの方法における試料1つあたりの作製に必要な時間は、DN法が1分、SDN法が20分、GA固定DN法が2時間程度であり、いずれも非常に短時間で簡便に行える。

依頼を受けた30種57個体の植物試料を観察した結果、表のように15種27個体より何らかのウイルス様粒子が検出された。このうち、CMV以外のウイルスについては種類の推定はできるが特定は行えない。また検出されたウイルスの中には、現在われわれが保存している血清を用いての血清反応試験では検出できないと思われるものも含まれていると考えられる。

電子顕微鏡によるウイルスの検出で気をつけなければならないのは、粒子が確認されなかった場合、その植物にウイルスがないという証明にならないことである。ただし、ここで行った3種の方法によって粒子が確認されなければウイルスに感染していない可能性が高い。また、逆に粒子が確認された場合はその植物がウイルスに感染している強い証拠となる。

### 今後の方針

電顕によるウイルス病検定については、積極的に取り組んで行くが、今後は3農業技術センター、病害虫防除所、各農業改良普及センターと協力しながら、ウイルスの防除法も含めた総合的診断を実施していきたい。

松本 純一(中央農技・生物工学研究所)

表 電子顕微鏡観察によるウイルスが検出された植物

植 物	試料数	検出数	粒子の形態
タマネギ	1	1	ひも状
トマト①	1	0	—
トマト②	1	0	—
トマト③	3	2	CMV(2)
トラノオ	1	1	ひも状
グラジオラス	7	6	ひも状(6), CMV(2)
シンデッカ	1	0	—
シクラマ	1	0	—
ニラ	3	0	—
シソ	1	3	球状(6)
デモル	2	2	ひも状
フォセカ	2	2	ひも状
ピーマン①	1	0	—
ピーマン②	1	1	ひも状
キャベツ	2	1	ひも状
パチュニア	1	1	ひも状
キュウリ	1	0	—
ラン科植物6種	6	5	ひも状(5), 棒状(2)
その他の植物11種	1	1	ひも状

CMV(キュウリモザイクウイルス)は抗血清を用いて観察しているので、観察粒子はCMVであると判定できる。他のものは植物の種類やウイルスの形態等より推測はつくが、抗血清による診断までは実施していないので、粒子形態のみを示した。

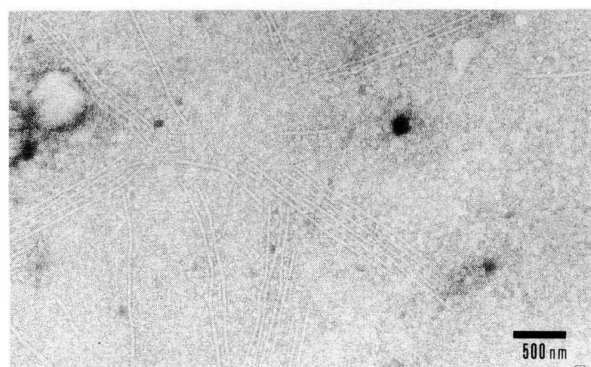


図 電子顕微鏡観察によるウイルス検出の一例  
キャベツから分離されたひも状ウイルス様粒子。

図の倍率は20,000倍。

500nm=2,000分の1mmにあたる。