

研究ノート

タバコモザイクウイルスに対するトマトカルの抵抗性

松田克礼*・豊田秀吉**・大内成志***

マイクロインジェクション (MI) 法の利点は、目的とする標的細胞に自由に外来物質を導入できることにある^{1,2)}。筆者らは、トマトカルの単細胞³⁾や細胞集塊⁴⁾に MI 法でタバコモザイクウイルス (TMV) を注入し、ウイルスの増殖・移行を細胞レベルで検討してきた。本報では、TMV に対して抵抗性のトマト品種からカルス組織を誘導し、それらに TMV を注入して、カルス細胞で TMV 抵抗性がどのように発現されるかを検討する

ことにした。

本実験には、TMV (OM 系統) に対して抵抗性の品種「瑞光」(ZK) (Tm-2²/+) と罹病性の品種「福寿2号」(F2) (+/+) を使用した。両品種から作製した葉外植片を Murashige-Skoog⁵⁾ 培地 (0.5 μg/ml の 2,4-D・Na 塩と 0.05 μg/ml のカイネチンを添加し、pH を 5.6 に調整) に置床し、前報⁶⁾の方法で friable なカルス組織を誘導した。得られたカルスは同液体培地で 5~7 日間

第1表 マイクロインジェクションで注入された TMV のトマトカルス集塊での増殖

集塊構成細胞における蛍光抗体染色の有無				観察集塊数 ^a		TMV の移行・増殖率 (%)					
注入細胞		隣接細胞				A→B		A→B→C		A→B→C→D	
A	B	C	D	F 2	Z K ^b	F 2	Z K	F 2	Z K	F 2	Z K
4 細胞集塊						93.4	35.7	85.7	17.3	79.2	9.2
						100(b+c+d)/n ₁		100(c+d)/n ₁		100 d/n ₁ ^c	
a	+	-	-	7.4	59.2						
b	+	+	-	8.7	16.9						
c	+	+	+	7.4	7.5						
d	+	+	+	89.3	8.5						
n ₁ =a+b+c+d				112.8	92.1						
3 細胞集塊						91.4	37.5	81.5	18.3		
						100(b+c)/n ₂		100 c/n ₂			
a	+	-	-	7.8	63.0						
b	+	+	-	9.0	19.4						
c	+	+	+	73.9	18.4						
n ₂ =a+b+c				90.7	100.8						
2 細胞集塊						95.2	25.2				
						100 b/n ₃					
a	+	-		4.7	81.1						
b	+	+		93.2	27.3						
n ₃ =a+b				97.9	108.4						

^a 1 回の実験には各々の集塊約 100 個を使用し、3 回の反復実験の平均個数を示す。TMV 注入細胞 (A)、隣接細胞 (B~D) のどちらも蛍光抗体染色されない集塊は表中に示していない。

^b F 2; TMV 罹病性品種の福寿2号, ZK; TMV 抵抗性品種の瑞光

^c 移行・増殖率を求めるための計算式

* Yoshinori MATSUDA, ** Hideyoshi TOYODA and *** Seiji OUCHI: Resistance of Tomato Callus Cells against Tobacco Mosaic Virus

近畿大学農学部 (〒577 東大阪市小若江 3-4-1)

Faculty of Agriculture, Kinki University, Kowakae 3-4-1, Higashi-Osaka 577, Japan

振とう培養し、遊離した単細胞および2~4細胞集塊をステンレスメッシュ(孔径, 250 μ m)で濾別してMIの標的細胞とした。標的細胞はさきに報告した Plate-Culture 法³⁾で培養し、0.01 M リン酸バッファー (pH 5.8) に溶解し無菌濾過した TMV (100 μ g/ml) を10秒間注入した。注入細胞およびその隣接細胞における TMV の増殖は蛍光抗体法を用いて調べた^{3,4)}。

ZK および F 2 から調製した単細胞に TMV を注入し、注入2日後に蛍光抗体法で TMV の増殖を調べたところ、ZK では TMV 注入細胞の 80~85%、F 2 では 85~90% の細胞において TMV の増殖が観察され、両者の間に有意な差は認められなかった。そこで、トマトカルスの細胞集塊に TMV を注入し、2日後に注入細胞および隣接細胞における TMV の増殖を調べた。前報⁴⁾でも述べたように、この方法を使用すれば、TMV を注入していない隣接細胞で TMV の増殖が確認された場合、注入細胞から移行した TMV が隣接細胞で増殖したことを明確に示すことができる。今回の実験では、注入細胞と隣接細胞のどちらも蛍光抗体染色されない集塊が、両品種のいずれの集塊においても約5%程度存在したが、これらの集塊に関しては、MI そのものが不成功であったと考え、少なくとも TMV 注入細胞で蛍光抗体染色される集塊について、以後の解析を行った。すなわち、隣接細胞が染色された集塊については、TMV の移行と増殖が生じたものとみなし、そのような集塊の割合を「移行・増殖率」として第1表に示した。

それによると、両品種とも、集塊を構成する細胞が多いものほど、また、注入細胞から離れた細胞ほど移行・増殖率は低下する傾向が認められた。F 2 のカルス集塊に TMV を注入した場合、いずれの集塊も注入細胞と隣接細胞の双方で 80~95% の移行・増殖率が認められたのに対し、ZK の集塊ではその値が 10~35% であった。ZK のこのような結果は、注入細胞から次の隣接細胞に移る段階ですでに観察され、この段階で何らかの抵抗反応が発現された可能性が示された。上述の反応がどのような機構によるかは不明であるが、本法を使用することによって、カルス細胞レベルで TMV 抵抗性のメカニズムを解析することが可能となった。

(1988年11月15日受理)

文 献

- 1) Toyoda, H., Y. Matsuda, R. Utsumi, S. Ouchi, 1988. *Plant Cell Rep.*, **7**; 293-296.
- 2) Toyoda, H., Y. Matsuda, R. Shoji, S. Ouchi, 1987. *Phytopathology*, **77**; 815-818.
- 3) Toyoda, H., Y. Matsuda, T. Hirai, 1985. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.*, **51**: 32-38.
- 4) 豊田秀吉・松田克礼・平井篤造, 1986. *植物組織培養*, **3**: 22-27.
- 5) Murashige, T., F. Skoog, 1962. *Physiol. Plant.*, **15**: 473-497.
- 6) 豊田秀吉・大形 浩・松田克礼・茶谷和行・平井篤造, 1985. *植物組織培養*, **2**: 70-73.