

# チャもち病罹病組織の超薄切片像

野津幹雄<sup>※</sup>・山本昌木<sup>※</sup>

Mikio NOZU and Masaki YAMAMOTO

Ultra-structure of Leaf-gall of *Thea sinensis* L.

Caused by *Exobasidium vexans* Masee

## はじめに

*Exobasidium* 属菌によるもち病は、ツバキ科やシャクナゲ科の新葉や新梢に発生する。もち病の病徴を示すチャ葉の表面は退緑し、いくらかくぼみ、裏面は肥大し、子実層を形成する。<sup>1)</sup> 赤井によればサザンカもち病の罹病組織は細胞の著しい増生と肥大によるものであり、<sup>2)</sup> 平田はもち病組織の形成には植物ホルモンが関与するという。植物ホルモンを用いて菌癭類似の病徴を発現させた実例はないようであるし、また病原体の抽出物や培養濾液で病徴類似の現象を再現させた報告も見当たらない。筆者らは植物菌癭形成機構の解明のために、各種菌癭組織を電子顕微鏡で観察しており、<sup>3)</sup> すでにもち病罹病組織についても報告した。本報では *Exobasidium* 属菌によるもち病罹病組織細胞の電子顕微鏡下での共通点を把握するために行った *Exobasidium vexans* によるチャもち病罹病組織の超薄切片の観察結果について述べる。

## 実験材料と方法

*Exobasidium vexans* によるチャ (*Thea sinensis*) のもち病罹病組織と対照区として健全な新葉を供試した。病葉裏面病斑部組織は肥大し、その表面に子実層を形成した典型的病斑で、光顕下では褐変細胞は認められなかった。このような組織を細切し、<sup>4)</sup> 6.25%グルタルアルデヒドーりん酸緩衝液 (pH 7.4) で3時間固定し、6時間りん酸緩衝液で洗い、1%オスミウム酸ーりん酸緩衝液で後固定した。蒸留水で水洗し、エタノールで脱水し、プロピレンオキサイドを通してエポキシ樹脂に包埋した。ガラスナイフを用い、Porter-Blum MT2-B 超ミクロトームで切片を作成し、酢酸ウラニル飽和水溶液で電子染色し、<sup>5)</sup> カーボン補強を行い、日立HU-12A型電子顕微鏡 (75KV) で観察した。

※ 植物病理研究室

## 結果と考察

菌糸：図1は罹病葉裏面の子実層に近い細胞間隙の菌糸塊の電顕像を示したものである。菌糸は脂質球を含んでいる場合がある。このような場合は菌糸細胞内の電子密度が高く、菌糸の細胞膜は不明瞭である。図2は菌糸塊の菌糸で脂質球の少ない菌糸を拡大したものである。菌糸の細胞内には多くの膜構造が見られるが、ER (小胞体) とか液泡は判然としなかった。また細胞質の電子密度は低かった。<sup>6)</sup> サザンカもち病を起因する *Ex. gracile* 菌では核、クロキもち病を起因する *Ex. sym-  
ploci-japonicae* 菌ではロマゾーム様構造が観察された。<sup>7)</sup> *Ex. vexans* をも含めて、筆者らはまだ *Exobasidium* 属菌の菌糸内ではミトコンドリアを観察していない。もち病罹病組織内の *Exobasidium* 属菌の菌糸の直径は2 $\mu$ 程度、あるいはそれ以下の場合も多く、感受体の細胞壁へ侵入した菌糸 (図3・4, H) は核はもとよりミトコンドリアが入れるような太さではない。図2に示すように、菌糸塊の菌糸相互の間隙には感受体細胞壁 (図3・4, CW) と同程度の電子密度を示す物質が充填しており、この物質は感受体細胞壁が変性したものであろうと考えられる。

病原体 (菌糸) の存在場所：罹病組織内の病原体 (菌糸) は細胞間隙、細胞壁の中層、細胞壁に観察された。細胞間隙には菌糸塊の多くの菌糸が存在するが (図1・2)、この菌糸塊に接した細胞にも菌糸は侵入していない。図3・4に示されるように菌糸は感受体細胞壁を侵害し、蔓延する能力はあるが、感受体細胞の内側には侵入しない。*Exobasidium* 属菌は感受体の細胞壁を陥入させる場合もあるが、<sup>6,7)</sup> 菌糸自体は感受体細胞の細胞膜に接することもなく、もち病罹病組織では病原体 (*Exobasidium* 属菌) は感受体細胞に侵入しないと結論できる。菌糸が感受体細胞膜より外側に存在しているにもか

かわらず、すでに典型的病徴を示していることから、菌糸から出される‘刺激物質’により感受体細胞の増生や肥大が起こると推定できる。このように典型的病徴を発現していながら菌糸が感受体細胞の中に認められないもの<sup>8)</sup>にオニタピラコ菌<sup>9)</sup>、サクラてんぐ菓病<sup>10)</sup>、モモ縮葉病<sup>11)</sup>、マダケてんぐ菓病などがある。

一般に糸状菌による植物病害においては病原体の菌糸が感受体細胞に侵入するか、吸器を挿入すると考えられているが上記のように感受体細胞に侵入しない糸状菌による病害があることも事実である。このような場合、病原体は菌糸そのものではなく、菌糸から出される‘物質’が病徴の誘導をするものと思われるが、このような考えに立てば、この‘物質’が真の病原といえる。

**感受体細胞：**図5・6は健葉（新葉）組織細胞の一部を示したものである。すでに展葉した組織細胞で発達した葉緑体を持つ細胞には大きな液胞（V）があるのは葉組織細胞の一般的な形である。チャの葉組織では細胞壁（図5，CW）の中層はいくらか電子密度が高い。いわゆる原形質には核（N）、仁（NO）、ミトコンドリア（M）、葉緑体（CH）が認められる。小胞体（ER）は粗面小胞体の場合が多かった。ゴルジ体を観察する機会は少なかったが、細胞質部分（細胞膜とトノプラスト（T）との間）の層の厚さは細胞壁より厚く、リボゾームも多かった。葉緑体は澱粉を持ち、好オスミウム性顆粒は小さく、少数であった。葉緑体基質の電子密度は高く、グラナラメラが発達していた。

罹病組織では、図3・4・7に示すように細胞壁（CW）が肥厚し、細胞壁に菌糸が認められる場所では極端に肥厚する場合がある（図3・4，CW）。このような現象はクロキもち病やサザンカもち病の組織細胞においても観察された。図3・4・7は肥大した細胞の一部を示したもので、肥大細胞の大部分は液胞（V）で占められ、細胞質部分は薄い層として細胞壁に密着し、原形質分離は起こっていない。このことはもち病組織に共通しており、また植物菌癭組織の肥大した細胞に関しても言えることである。図3の液胞（V）には細胞質部分、特に細胞質を伴ってトノプラストが突出したものであろう。また図3・4の電子密度の高い物質はチャやサザンカのもち病罹病葉細胞の液胞内に認められており、タンニンを主とする物質であると考えられる。肥大した細胞では細胞全体の体積の増大と細胞質部分の層が薄くなっているために（図7）、健全葉組織細胞（図5・6）に比較して葉緑体やミトコンドリアなどの細胞内器官が観察される頻度は少なくなる。リボゾームはほとんど見られなくなり、電子密度は低下する。このことは図8の

葉緑体周辺においても示されている。細胞質部分がこのような状態になってもミトコンドリア（M）の2重膜は保持されており、ゴルジ体（G）も認められる（図7）。グラナラメラも明瞭で葉緑体膜（CHM）や核膜（NE）の2重膜も保持されており、細胞内器官の基本的な構造はもち病組織（肥大組織）が形成される過程で崩壊しないことがわかった（図8・9）。罹病組織細胞の葉緑体にはアミロプラストに近い形を示すものもあるが、図8・9に示すように澱粉粒を含まず、葉緑体基質の電子密度が低く、好オスミウム性顆粒を持つ葉緑体がしばしば観察された。チャもち病罹病組織はタンニンをもつ細胞、タンニンを持たない細胞、アミロプラストに近い葉緑体を持つ細胞、澱粉粒を含まない葉緑体を持つ細胞、複数の仁を含む核を持った細胞など相互に異なる細胞からなっている。このこともサザンカやクロキのもち病罹病組織に共通した点といえる。

## 摘 要

*Exobasidium vexans* によるチャもち病罹病組織の超薄切片を観察した。本菌の子実層や菌糸塊の菌糸は比較的太いが、細胞壁中に侵入している菌糸は細く、菌糸内の構造についての観察は困難であった。菌糸は組織の表面、細胞間隙、中層、細胞壁に存在する。菌糸塊の菌糸に接している感受体細胞においても、侵入菌糸や吸器様構造は観察できなかった。菌糸は感受体の細胞壁に侵入することはできるが、感受体の細胞膜には接していなかった。チャもち病においては病原体（菌糸）それ自体が感受体細胞に侵入しなくても増生や肥大が起こると考えられる。肥大した細胞の大部分は液胞で、細胞質は薄い層として存在し、細胞膜やトノプラストの表面積が増大していることがわかる。チャもち病罹病組織は健葉細胞の葉緑体のように澱粉を含んだ葉緑体を持つ細胞、アミロプラストに近い形の葉緑体や澱粉粒を含まない葉緑体を持つ細胞、また数個の仁を含む核を持つ細胞、液胞にタンニンをもった細胞、タンニンを持たない細胞など相互に異なる細胞からなっている。

## 引 用 文 献

1. 赤井重恭：日植病報 9：61-68, 1939.
2. 平田正一：日植病報 21：185-190, 1956.
3. NOZU, M. and YAMAMOTO, M.: Proceedings of the first intersectoral congress of IAMS 2: 145-148, 1974.
4. MILONING, G.: J. Appl. Physics. 32: 1637, 1963.
5. WATSON, M. L.: J. Biophys. Biochem. Cytol.

- 4 : 475-478, 1958.
6. 野津幹雄・山本昌木：日植病報 **38** : 1-3, 1972.
7. 野津幹雄・山本昌木：日植病報 **38** : 363-366, 1972.
8. 野津幹雄・山本昌木：日菌報 **11** : 76-80, 1970.
9. 山本昌木・野津幹雄：日林誌 **54** : 150-157, 1972.
10. 野津幹雄・山本昌木：島大農研報 **4** : 19-24, 1970.
11. 野津幹雄・山本昌木：島根大農研報 **6** : 49-52, 1972.
- 糸が認められる場所で肥厚する。 ×29000
- 図5・6：チャ健全葉（新葉）細胞，緑茶にする若い葉の葉緑細胞の一部。 ×17000
- 図7. 肥大した細胞。細胞質部分は細胞壁より薄い層になる。電子密度は低くなり，細胞内器官が観察される頻度は小さくなる。 ×20000
- 図8. 肥大した細胞の葉緑体。 ×29000
- 図9. 肥大した細胞の葉緑体と核。細胞が肥大しても葉緑体膜（CHM）や核膜（NE）はこわれない。 ×52000

#### 図中の記号

- 図1. *Exobasidium* の子実層に近い菌糸塊の菌糸。罹病組織の細胞間隙に菌糸の塊りができる。菌糸塊とよばれている。菌糸細胞には多数の脂質球が認められる。 ×7800
- 図2. 菌糸塊の菌糸、脂質球の少ない菌糸を拡大して観察したが膜構造が認められるだけで細胞内器官は観察できない。ミトコンドリアは認められない。 ×29000
- 図3・4：感受体細胞壁（CW）と菌糸（H）。肥大した細胞の細胞壁は厚くなる場合があり，とくに菌
- CH 葉緑体 (chloroplast), CHM 葉緑体膜 (chloroplast membrane), CM 細胞膜 (cell membrane), CS 細胞間隙 (inter-cellular space), CW 細胞壁 (cell wall of the suscept), ER 小胞体 (endoplasmic reticulum), G ゴルジ体 (Golgi body), GR グラナラメラ (grana lamella), H 菌糸 (hypha), M ミトコンドリア (mitochondrion), N 核 (nucleus), NE 核膜 (nuclear envelope), NO 仁 (nucleolus), OS 好オスミウム性顆粒 (osmiophilic granule in chloroplast), ST 澱粉粒 (starch grain), T トノプラスト (tonoplast), V 液胞 (vacuole)

#### Summary

Ultra-thin sections of leaf gall of *Thea sinensis* infected with *Exobasidium vexans* were investigated by means of an electron microscope. Materials were fixed with buffered 6.25% glutaraldehyde and post fixation was done by osmium tetroxide. Dehydration was initiated by 50% alcohol followed by graded series of alcohol and embedded in Epon. Sections were cut with glass knives on a Porter-Blum (MT2-B) ultra-microtome and were stained uranyl acetate. Specimens were examined under Hitachi (HU-12) electron microscope operated at 75 KV.

The fungal hyphae were recognized in the inter-cellular spaces, middle lamella, cell walls of the suscept tissue. Cell membranes were not invaginated and the fungal hyphae were not observed within the suscept cells. In the hyphal cells, lipid granules were found, but other organelles were not found. Low electron-dense material was observed in the surrounding part of the hyphae in the inter-cellular spaces. Hypertrophied cell had a large central vacuole and thin peripheral layer of cytoplasm. Electron-dense material with osmium tetroxide during fixation represents a tannin accumulation in the vacuole of the suscept cell. Plasmolysis was not observed and cell membrane was contacted to the cell wall of the suscept. Chloroplast double membranes, grana structures and osmiophilic granules were observed in the chloroplast, but starch grains were not recognized,









