タバコから得られたキウリモザイクウイルスの系統

VI. 黄色微斑系

都 丸 敬 一*・宇 田 川 晃*

Keiichi TOMARU* and Akira UDAGAWA*: Strains of Cucumber Mosaic

Virus Isolated from Tobacco Plants

VI. A yellow mild mottle strain

Abstract

A new strain of cucumber mosaic virus (CMV-YM) was isolated from tobacco plant (cv. Bright Yellow) collected in Kagawa Prefecture, Shikoku Island, Japan, in 1960. In 1969 the occurrence of the same strain was also observed in some districts in Okayama Prefecture. The diseased tobacco plants showed only yellow mottle symptoms without malformation and necrotic lesions, and little retard of plant growth.

By the sap inoculation, the virus induced brilliant yellow mottle on seedlings of some cultivars of tobacco, *Nicotiana glutinosa*, *N. sylvestris* and red pepper (*Capsicum annuum*). The symptoms on these inoculated host plants are characterized by the lack of malformation, distortion and necrosis. The virus caused mild green mottle in *Zinnia elegans*, local and systemic necrotic lesions in sesame, mild yellow mottle in cucumber and necrotic local lesions on inoculated leaves of cowpea, *Chenopodium amaranticolor* and *C. quinoa*. *Physalis floridana* and spinach showed green mottle and a little malformation. The strain can be differentiated from other strains of CMV, viz. ordinary (CMV-O), yellow (CMV-Y), mild (CMV-C) and legume (CMV-LE) strains, which were obtained from field tobacco in Japan, by the reactions of some differential hosts, such as tobacco, *N. glutinosa*, sesame, cowpea and zinnia.

Thermal inactivation point of crude juice extracted from infected tobacco leaves was 55-60°C for 10 minutes. Dilution end point was around 1:10,000 with phosphate buffer (0.1 M, pH 7.0). Longevity *in vitro* was 2-3 days at 25°C. Phenol extracts from infected tobacco leaves were more infectious than control buffer-homogenate, similarly to those of the other strains. Cross protection against other strains including necrotic strain (CMV-N), in tobacco, cowpea and zinnia was completely positive. CMV-C strain gave incomplete protection against the other strains (Tomaru *et al.*, 1967), but it gave complete protection against the present virus, suggesting that the latter is more closely related to CMV-C. It needs, however, further investigations to determine the relationship between these two strains. Serological positive reactions were observed between the present virus and CMV-Y antiserum, and antiserum of the present virus and other 5 strains in agar-gel diffusion and microdroplet-precipitin tests. Electron microscopy of the purified virus showed spherical or polyhedral particles with a diameter of about 30 mμ. The periodic change in the virus concentration in top leaves of infected tobacco plant was almost similar to the case in CMV-O.

For the strain described here the authors propose the name yellow mild mottle strain of CMV (CMV-YM).

(Received August 18, 1969)

* 秦野たばこ試験場 Hatano Tobacco Experiment Station, Hatano, Kanagawa, Japan.

緒 言

わが国のタバコに発生しているキウリモザイクウイルス (CMV) の系統として、今日まで普通系 (CMV-O)¹⁾、黄斑系 (CMV-Y)⁹⁾、軽症系 (CMV-C)⁹⁾ およびマメ科系 (CMV-LE)¹¹⁾ の 4 系統が報告されているが、1960 年夏、香川県下において採集された黄色モザイク症状だけを示し奇形を伴わない病徴を示すタバコ (品種ブライトエロー) から、これらの系統とは異なる 1 ウイルスが分離された。(以下、CMV-YM と略称)。本系統は 1969 年には岡山県下で小集団的な発生がみられているが発生面積は今のところわずかである。この分離株について各種植物の反応、血清反応、ウイルス粒子の形態およびその他の性質について、既往の系統と比較検討した結果、新しい系統であることが判明したので研究結果の概要を報告する。本実験は採集時に一部分を行ない、他は凍結乾燥保存したものを材料として 1968-1969 年にわたってさらに検討を加えたものである。

実験材料および方法

採集した罹病葉搾汁液をタバコ (ブライトエロー)、*Nicotiana glutinosa*, *Physalis floridana*, ササゲ (品種黒種三尺)、インゲン (品種改良大手亡)、センニチコウ等に接種した結果、単一のウイルスと思われたので、タバコ (Ky-57) の全身感染葉搾汁液をソラマメに接種して single lesion isolation を 3 回くりかえした。この Ky-57 全身感染葉を接種源として各種の実験に供試した。その他の CMV 系統、CMV-O¹⁾、CMV-Y⁹⁾、CMV-C⁹⁾、CMV-LE¹¹⁾ およびタバコから得られたアルファルファモザイクウイルスの系統 (AMV-By-2)¹²⁾ は凍結乾燥罹病葉の磨砕汁をタバコに接種したものを随時使用した。接種はリン酸緩衝液 (0.1 M, pH 7.0) 添加磨砕汁を綿球につけて、あらかじめカーボランダム (500 メッシュ) をふりかけた供試植物の葉になすりつける方法によった。供試植物は普通ガラス温室で直径 12 cm の植木鉢に 2 本植えとして育て、主として幼苗を用いた。接種後約 4 週間観察を続け、戻し接種を行なって本ウイルス感染の有無を確かめた。

罹病植物搾汁液の耐熱性、耐希釈性、耐保存性の検定には、接種後 7-10 日のタバコ (Ky-57) の全身感染葉磨砕汁をガーゼ 4 重でこしたものをを用い、ササゲ (品種黒種三尺) の接種葉の局部病斑数を調べた。

感染葉からのフェノール法による核酸の抽出は

Schlegel⁴⁾ の変法により、感染葉の主脈を境として二分し、一方を水飽和フェノールおよび 1% sodium pyrophosphate 混合液とともに乳鉢で磨砕した後、遠心上清をリン酸緩衝液でうすめ、接種源とし、一方の半葉はリン酸緩衝液を加えて同様に処理して対照とした。病原性はササゲの対葉法によって比較した。

ウイルスの精製は Takanami⁵⁾ に準じ、接種後 8-10 日のタバコ (Ky-57) 全身感染葉を -80°C で凍結後、クロロホルム、クエン酸緩衝液、0.01 M EDTA、およびチオグリコール酸を用いて磨砕遠心後、glass filter でろ過して Sephadex G50 カラムで溶出した。以下 EDTA-borate 緩衝液を用いて分画遠心をくりかえして精製した。

血清反応には本ウイルスおよび CMV-Y の精製ウイルスを家兎に注射して得た抗血清を用い、精製ウイルスおよび感染葉搾汁液を抗原として検定した。

実験結果

1. CMV-YM の汁液接種による各種植物の反応

Nicotiana 属、マメ科植物のほか CMV の判別寄主として用いられるゴマ、ヒャクニチソウ、キウリなどに汁液接種した結果を Table 1 に示した。

タバコでは接種後葉脈に沿って黄化し、ついで新しい葉は全葉黄化または黄色濃淡斑を示す。この黄色濃淡斑は感染後期まで続き、その他の系統におけるような病徴のマスキングは顕著でない。えそ斑や奇形を生じないこともその他の系統と異なる点である。生育障害はわずかに認められる程度である。畑に発生した本系統による症状も同様であった (Plate I, 1 および 2)。その他の *Nicotiana* 属植物でもほぼ同様な症状を示したが、*N. glutinosa* では全葉黄化が顕著であった (Plate I, 3)。また *N. debneyi* には緑色モザイクおよび葉脈黄化を、*N. acuminata* には黄色モザイク、奇形、白色えそ斑点を生じた。ヒャクニチソウ、ニチニチソウには軽い緑色濃淡斑、ゴマには接種葉に局部えそ斑を生じたのち、全身えそを生じ、キウリ (品種 National Pickling, Chicago Pickling) には黄色モザイク症を生じた。ササゲ、*Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa* は接種葉の local lesion だけを生ずる (Plate I, 4)。*Physalis floridana*, ホウレンソウおよびセンニチコウには緑色モザイク、奇形を生じ黄色モザイクを示さず、CMV-O, CMV-LE 等に類似している (Plate I, 5)。これらの緑色モザイクを生ずる植物はいずれも戻し接種によってタバコに黄色モザイクだけを生じた。カンラン、ハナヤサイ、アスターおよび

Table 1. Symptoms on various plants inoculated with CMV-YM

Plants inoculated	Symptoms		Recovery
	Inoculated leaves	Systemic infection	
Tobacco (Bright Yellow)	0	Ym	+
(Ky-57)	0	Ym	+
<i>Nicotiana acuminata</i>	0	Ym, Wns, mal	+
<i>N. affinis</i>	0	Ym	+
<i>N. atropurpurea</i>	0	Ym	+
<i>N. benthamiana</i>	0	Ym	+
<i>N. debneyi</i>	0	m, vy	+
<i>N. glauca</i>	0	mild Ym	+
<i>N. glutinosa</i>	0	Ym	+
<i>N. knightiana</i>	0	Ym	+
<i>N. langsdorffii</i>	0	Ym	+
<i>N. repanda</i>	0	Ym	+
<i>N. setchellii</i>	0	Ym	+
<i>N. suaveolens</i>	0	Ym	+
<i>N. sylvestris</i>	0	Ym	+
<i>Physalis floridana</i>	0	m, mal	+
red pepper (Takanotsume)	0	Ym	+
<i>Datura tatula</i>	0	0	+, -
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	L	0	+, -
<i>C. quinoa</i>	L	0	+, -
spinach (Nihon horenso)	0	m, mal	+
<i>Zinnia elegans</i>	0	m	+
aster (Kurenai-Nigo)	0	0	-
(Akane)	0	0	-
(Misuzuponpon)	0	0	-
cucumber (National Pickling)	Wns	mild Ym	+
(Chicago Pickling)	Wns	mild Ym	+
<i>Vinca rosea</i>	0	mild m	+
cowpea (Kurodanesanzaku)	L	0	+, -
French bean (Kairyo-Otebo)	(L)	0	-
broad bean	ns	(ns)	+, +
soy bean	0	0	-
guar	0	0	-
<i>Gomphrena globosa</i>	ns	ns, m	+
sesame	ns	n, stn	+
cabbage	0	0	-
cauliflower	0	0	-

Ym: yellow mottle. Wns: white necrotic spots. mal: malformation. m: mottle.

vy: vein yellowing. L: local lesion. ns: necrotic spots. n: necrosis. stn: stem necrosis.

(): symptoms not predominant. *: recovery test from inoculated leaf.

Datura tatula では全身感染は認められなかった。

既報の系統とはタバコ等 *Nicotiana* 属植物の病徴のほか、CMV-Y とはヒャクニチソウ、ゴマ、トウガラシ、センニチコウ、CMV-O とはゴマ、トウガラシ、キウリの反応で顕著に異なる。ゴマの反応は CMV-C, CMV-LE と同様であった。

タバコから分離された既報の CMV 各系統を含めて、判別寄主の病徴を Table 2 に示した。タバコ、

N. glutinosa, ササゲ、ヒャクニチソウ、ゴマ、センニチコウを用いてタバコに発生している CMV 各系統の判別ができることが確かめられた。

2. 罹病葉搾汁液の性質

a) 耐熱性 ササゲの病斑数による実験の結果 55-60°C (10 分処理) で不活化された。

b) 耐希釈性 リン酸緩衝液による希釈の結果 1:10,000 でほとんど不活化することがみとめられた。

Table 2. Symptoms of CMV strains on several differential host plants

Host plants Virus strains	tobacco	<i>N. glutinosa</i>	cowpea	<i>Zinnia elegans</i>	sesame	<i>Gomphrena globosa</i>
Ordinary (CMV-O)	GM, Mal	GM, Mal	L	S	L	S
Mild (CMV-C)	GM	YM, Mal	L	(L), S	L, S	(L), S
Yellow (CMV-Y)	YM, Mal	YM, Mal	L	L, (S)	L	L, S
Legume (CMV-IE)	GM, Mal	GM, Mal	(L), S	S	L, S	S
Yellow mild mottle (CMV-YM)	YM	YM	L	S	L, S	S

GM: green mottle. YM: yellow mottle. Mal: malformation. L: necrotic local lesions on inoculated leaves. S: systemic symptoms. (): sporadic symptoms.

Table 3. Infectivity of phenol extracts from tobacco leaves infected with CMV-YM

Virus	Phenol extracts (A)	Buffer homogenates (B)	A/B
CMV-YM	83.9*	3.6	23.3
CMV-O	62.5	7.2	8.8
AMV-B	0.6	122.6	0.005

* Number of local lesions per leaf on 16-24 leaves of cowpea.

Table 4. Cross protection between CMV-YM and other CMV strains

Exp.	Assay hosts	The first virus	The second virus	Test	Control	Protection
I	<i>Zinnia elegans</i>	CMV-YM	CMV-Y	1.1*	100.3	98.9%
	〃	CMV-O	CMV-Y	0	221.1	100
	〃	CMV-LE	CMV-Y	0	237.1	100
II	cowpea	CMV-LE	CMV-YM	0.1	157.7	99.9
	〃	AMV-By-2	CMV-YM	9.3	82.5	88.7
III	tobacco (B.Y.)	CMV-YM	CMV-N	0.8	102.3	99.2
	〃	CMV-O	CMV-YM	0/4**	4/4	100
IV	tobacco (Ky-57)	CMV-YM	CMV-C	0/8	4/6	100
	〃	CMV-YM	CMV-O	0/8	5/6	100
	〃	CMV-C	CMV-YM	0/10	10/10	100

* Number of local lesions per leaf on 12-36 leaves.

** Denominator: Number of inoculated plants. Numerator: Number of plants on which symptoms of the second virus developed.

c) 耐保存性 搾汁液を試験管に入れて 25°C に保存し、接種時にリン酸緩衝液で約 5 倍にうすめた実験の結果 2-3 日で不活化した。また罹病葉を室温保存すると約 7 日で不活化した。

d) 罹病葉のフェノール処理液の感染力 CMV 罹病タバコ葉を直接フェノール処理した RNA 成分の感染力は対照のリン酸緩衝液磨碎汁に比べて同等以上の感染力を有するという特徴がある^{4,7,11)}。CMV-YM 感染タバコ葉についてフェノール処理液を対照のリン酸緩衝液と比較した結果を Table 3 に示した。フェノール処理液は 2-3 回の実験の平均値で対照の約 23 倍

の病斑を示し、CMV 特有の性質が示された。対照として同時に行なった CMV-O も同様に約 9 倍であったが、AMV 普通系 (AMV-B) では 0.5% であった。

3. CMV 各系統との干渉効果

本ウイルスを 1 次ウイルスまたは 2 次ウイルスとして CMV 各系統との干渉試験を局部感染寄主および全身感染寄主を用いて行なった。結果を Table 4 に示した。ササゲ、ヒャクニチソウ、タバコを用いた本ウイルスと CMV-O, CMV-Y, CMV-C, CMV-LE, CMV-N(えそ系)¹⁰⁾との干渉効果はいずれも 98.9-100% を示し、本ウイルスが CMV 群に属することが明示

された。対照として同時に行なった AMV-By-2 とは 88.7% の干渉を示し、既報¹⁰⁾と同様に別種のウイルスとしては高い干渉効果を示したが、CMV 群とは異なり不完全であった。

4. ウイルスの精製および電子顕微鏡観察

4 回の実験の結果、32-59 mg/1 kg 葉組織の収量を得た。精製ウイルス液はたんぱく光を有し、紫外線吸収曲線は $260\text{ m}\mu/242\text{ m}\mu = 1.4$, $260\text{ m}\mu/280\text{ m}\mu = 1.7$ であった。

精製ウイルスを 1% ホルマリンで固定後、1% pH 7.2 の PTA で negative 染色して観察した結果、直径約 $30\text{ m}\mu$ の球形ないし多角体粒子が認められた (Plate I, 6)。

5. 血清反応

精製ウイルスを家兎に、adjuvant と等量混合して後肢筋肉に 4 回、生理食塩水と等量混合して耳静脈に 1 回、合計 25.4 mg を注射して、最後の注射から 10 日後に全採血を行ない抗血清を得た。microdroplet-precipitin test でこの抗血清は精製ウイルス (0.4 mg/ml) と等量混合し、37°C 2 時間 incubation 後 128 倍の力価を示した。本ウイルス抗血清および CMV-Y 抗血清を用い、CMV 各系統の罹病葉搾汁液または精製ウイルスを抗原とした agar-gel diffusion test の結果、各系統は連続する単一沈降帯を形成し、抗原性に差は認められなかった。また AMV、タバコ茎えそウイルス、健全葉搾汁液とは陽性反応を示さなかった。実験結果の 3 例を Fig. 1 に示した。

6. タバコの頂葉におけるウイルス濃度

本ウイルス罹病タバコの病徴の変化は顕著でなく、

注意深く観察しなければその変化を見すごしてしまうほどである。タバコにおける CMV 系統の濃度および病徴には消長があることが報告されているが^{6,7)}、本系統についてその点を検討した。本ウイルスを 25°C でタバコ (Ky-57) に接種後経時的に頂葉におけるウイルス濃度をササゲの対葉法による病斑数によって定量した。対照には真空冷凍乾燥した CMV-O を用いた。ウイルス濃度には明らかに推移がみられ、接種後 7-10 日目ごろに最高となり、16-22 日目ではきわめて低く、28 日目では再びたちあがり認められ、周期的な増減があると思われた。タバコの病徴は、接種後 3-4 日で全身的に葉脈が黄化し、6-10 日では頂葉はあざやかな黄斑を示した。14-22 日では黄斑はうすく白色がかり、頂葉には緑色モザイクもみられ、28 日目では黄斑が濃くなり、しだいにあざやかなモザイクとなった。35 日目では黄斑と緑色部とのコントラストが強くなった。これらの結果は既報の他の系統のパターンとほぼ同様であり、本ウイルスも他の CMV 系統と同様に、病徴とウイルス濃度とはほぼ平行し、かつ周期性があるように推定される。

考 察

タバコに黄斑モザイク症状を示す CMV の系統は、Price⁹⁾ がタバコの黄色斑から 8 系統を分離し、また Hoggan²⁾ もタバコに黄斑を示す系統を分離している。これらはいずれもタバコの接種葉に黄色斑点またはえそ症状を生じ全身的に奇形、矮化およびえそ症状を示すなど、黄斑だけを示す本報告の系統とは異なっている。都丸らの黄斑系 (CMV-Y)⁹⁾ は Price の No. 6

Fig. 1. Agar-gel diffusion test of CMV strains.

In center wells, YM: CMV-YM antiserum. O, YM, C, Y and N: Crude juice of tobacco leaves infected with CMV-O, YM, C, Y and N. HS-N, B and By-2: Crude juice of tobacco leaves infected with tobacco rattle virus HS-N, alfalfa mosaic virus B and By-2. YMp and Yp: Purified virus preparation of CMV-YM and Y, respectively. H: Crude juice of healthy tobacco leaves.

Table 5. Physical properties of extracted juice from tobacco leaves infected with CMV strains

Properties \ Strains	Ordinary (CMV-O)	Mild (CMV-C)	Yellow (CMV-Y)	Legume (CMV-LE)	Yellow mild mottle (CMV-YM)
Thermal inactivation point (10 min. treatment)	70 - 75°C	65 - 70	70 - 75	65 - 70	55 - 60
Dilution end point (diluted with phosphate buffer)	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴
Longevity <i>in vitro</i> (preserved at 25°C)	3 - 4 days	2 - 3	5 - 7	5 - 7	2 - 3

Fig. 2. Interference among the strains of CMV.

The first virus ← The second virus: Complete cross protection.

The first virus ←--- The second virus: High to medium level of cross protection.

T: tobacco. Z: *Zinnia elegans*.

V: cowpea.

strainと同様にタバコの症状のほか、ヒャクニチソウの接種葉にえそ斑点を生ずる特徴があり、後者に全身的な緑色濃淡斑を生ずる CMV-YM とは異なっている。

罹病葉搾汁液の性質を既報のわが国のタバコから分離された CMV 各系統と比較すると、Table 5 に示すように CMV-YM は耐熱性ではもっとも低く、耐保存性は短い方に属し、耐希釈性はその他の系統とほぼ同様であった。これらの性質は同時に検定を行なったものではないが、接種後 7-10 日目のウイルス濃度の高い全身感染葉搾汁液について、同様な方法で検討したものであるから、一応比較しうるものと考えられる。タバコから得られた CMV 各系統の干渉について本報告の結果と都丸らによる既報¹⁰⁾の結果とをまとめて Fig. 2 に示した。本ウイルスはいずれの系統とも

干渉効果が完全である。CMV-C を 1 次ウイルスとしたとき、他の系統に対して不完全な干渉効果を示すが、CMV-YM には完全な干渉効果を示す。CMV-YM は CMV-C とタバコの病徴が軽微な点で類似しているが、干渉効果も CMV-C と近似性を示唆するように思われる。ゴマの反応も CMV-YM は CMV-C と類似し、CMV-O, CMV-Y とは異なっている。これらの事実から CMV-YM は CMV-C から由来する黄斑系とも考えられる可能性もあるが、CMV-C によって特異的な奇形症状を示す *N. glutinosa* に対しては、CMV-YM は黄色斑だけを示し質的に異なるように思われる。血清反応では CMV-YM とその他の系統との間に抗原構造の差は認められなかった。

以上から本系統を CMV の新系統として黄色微斑系、CMV yellow mild mottle strain (CMV-YM) と名付けることにしたい。

摘 要

香川県下で 1960 年夏に採集された黄色濃淡斑だけで、奇形、えそ等を伴わないタバコから CMV の新しい系統 (CMV-YM) が分離された。本ウイルスはタバコ、*N. glutinosa*, *N. sylvestris*, トウガラシ等にあざやかな黄色濃淡斑を示し、えそ、奇形等を生じないことが特徴である。ヒャクニチソウ、ニチニチソウに軽い緑色濃淡斑、ゴマに全身えそ、キュウリに軽度の黄斑を生ずるほか、*P. floridana*, ホウレンソウに緑色濃淡斑および奇形を生ずる。ササゲ、*C. amaranticolor* の接種葉に局部えそ斑を生ずる。タバコ、*N. glutinosa*, ササゲ、ヒャクニチソウ、ゴマ、センニチコウなどを判別寄主として、既報の CMV-O, Y, C, LE などの系統と判別できる。罹病葉搾汁液の耐熱性 55-60°C (10分)、耐保存性 2-3日 (25°C)、耐希釈性 1:10,000 を示し、耐熱性は既報の系統より低い。罹病葉から直接フェノール法によって抽出した核酸成分の感染力は対照のリン酸緩衝液磨砕汁より高かった。CMV 各系

Plate I

統との干渉効果はほぼ完全である。ただ CMV-C に感染したタバコに重複感染しないことは、その他の系統と異なっており、本ウイルスと CMV-C 系との近似性を示唆しているが、さらに検討を要する。CMV 各系統との血清反応によって抗原性に差異は認められなかった。精製ウイルス粒子は径約 30 m μ の球状または多角体を示した。本ウイルスに感染したタバコの病徴の回復は顕著でないが、ウイルス濃度には既報と同様な消長がみられた。本ウイルスを CMV 黄色微斑系, CMV yellow mild mottle strain (CMV-YM) と呼ぶことにする。

引用文献

1. 日高 醇・都丸敬一 (1960). 秦野たばこ試報 46: 125-134.
2. Hoggan, I. A. (1935). Ann. appl. Biol. 22: 27-36.
3. Price, W. C. (1934). Phytopathology 24: 743-761.
4. Schlegel, D. E. (1960). Virology 11: 329-338.
5. Takanami, Y. and Tomaru, K. (1969). Ibid. 37: 293-295.
6. 都丸敬一 (1967). 秦野たばこ試報 58: 19-26.
7. 都丸敬一 (1967). 同上 58: 41-44.
8. 都丸敬一・日高 醇 (1960). 同上 46: 135-141.
9. 都丸敬一・日高 醇 (1960). 同上 46: 143-149.
10. 都丸敬一・日高 醇・宇田川 晃 (1967). 同上 58: 79-88.
11. 都丸敬一・宇田川 晃 (1967). 同上 58: 69-77.
12. 都丸敬一・宇田川 晃 (1969). 同上 65: 1-21.

Explanation of plate

1. Systemic yellow mottle of tobacco (cv. Bright Yellow) induced by natural infection of CMV-YM in the field.
2. Systemic symptoms on tobacco (cv. Bright Yellow) inoculated with CMV-YM. Twenty-two days after inoculation.
3. Systemic symptoms on *N. glutinosa* inoculated with CMV-YM. Twenty-six days after inoculation.
4. Symptoms on the inoculated leaf of *C. quinoa* with CMV-YM. Nine days after inoculation.
5. Systemic symptoms on *P. floridana* inoculated with CMV-YM. Twenty days after inoculation.
6. Electronmicroscopy of purified virus particles of CMV-YM negatively stained with phosphotungstic acid.
Magnification $\times 330,000$