クワ萎縮病新梢の葉柄篩部組織内に見出せる マイコプラズマ様微生物の微細構造

山田義男*・長島久和子*・井上金治**・小島 暁***

Yoshio YAMADA*, Kuwako NAGASHIMA*, Kinji INOUE** and
Satoru KOJIMA***: Ultrastructural Features of
Mycoplasma-like Organisms Found in the Phloem of
Petiole from Young Leaf Naturally Infected with
Mulberry Dwarf

Abstract

The present scanning and transmission electron microscopy (SEM and TEM) was undertaken in an effort to clarify the ultrastructural features of mycoplasma-like organism (MLO) in phloem tissue cells of petiole, using young leaf naturally infected with mulberry dwarf. SEM revealed the three dimensionality of the fibrillar meshwork in phloem tissue cells from the diseased petiole. However, the occurrence of meshwork of this type was not seen in cells from the healthy petiole. The characteristic meshwork consisted mainly of both straight and branching filaments among which rounded bodies could be discerned. The ultrastructure of sectioned MLO corroborated in several respects the observations made by SEM. TEM of thin sections showed that both rounded and filamentous organisms were bounded only by a unit membrane and seen to contain ribosome-like particles. Thus, the fibrillar meshwork structures which are seen in the SEM may correspond to "filamentous organisms" observed by TEM. A similar structure has, to our knowledge, not been found in other vascular tissues of yellows-diseased plants. When MLO colony was observed by SEM, three basic morphological forms were seen: (1) rounded form, presumably main body, approximately 200 to 300 nm in diameter, (2) elongated and irregular form, and (3) filamentous form, roughly 120 nm in width, emerging from the main body. Moreover, by SEM, a better visualization of the spatial arrangement and configurations of single organisms, as well as colonies, was observed. Our results with SEM showed this MLO associated with mulberry dwarf disease to be similar in gross structural features to the cultured large-colony-forming mycoplasmas studied by this method. Details of ultrastructural features of MLO are presented.

(Received October 26, 1977)

緒 言

クワ萎縮病罹病新梢の茎葉篩部組織におけるマイコプラズマ様微生物 (MLO) の所在様式は、土居ら¹⁵⁾により透過電子顕微鏡 (TEM) を用いて詳細に調べられた。その後、数多くの植物の萎黄叢生病類について、罹病植物の茎葉篩部組織に MLO が多数見出

され、MLO が病原体として逐次確認された^{11,16,17,21,22,25,28,31)}。以上は、いずれも超薄切片の TEM 観察に基づくものである。

一方、近年になり無細胞培地 (*in vitro*) に生育した数種の動物のマイコプラズマが走査電子顕微鏡 (SEM) で観察され、その表面微細構造と多様な形状が明らかにされた^{2,4,23,24,26)}。しかし、SEM を用いた

* 群馬大学教育学部 Faculty of Education, Gunma University, Maebashi, Gunma 371, Japan.

** 群馬大学内分泌研究所 Institute of Endocrinology, Gunma University, Maebashi, Japan.

*** 群馬県蚕業試験場 Gunma-Ken Sericultural Experiment Station, Maebashi, Gunma 371, Japan.

細胞内 (*in vivo*) における MLO の表面微細構造と MLO コロニーの微細立体構造はまだ明らかにされていない。そこで、筆者らは SEM および TEM を併用し、罹病桑新梢の葉柄節部組織の MLO の形状を観察し、若干の新知見を得ることができたので、ここに報告する。

本文に入るに先立ち、御教示を賜った東京大学農学部土居養二博士ならびに終始御援助をいただいた群馬県蚕業試験場岡部光波場長に厚く御礼申し上げる。

実験材料および方法

供試材料は群馬県蚕業試験場クワ園に自然発生したクワ萎縮病罹病一の瀬の新梢から若葉を採取し、その葉柄を用いた。

本報では、新梢の先端に近い若葉で、葉柄の長さが約 1 mm のものを若い葉柄とし、その下にある若葉で、葉柄が 5 mm 前後に伸長したものを生長した葉柄と表現する。供試葉は 0.1M リン酸緩衝液, pH7.2, に 3% ショ糖および 6.25% グルタルアルデヒドを含む固定液で 4°C, 3 時間浸漬したのち、液中でカミソリの刃を用いて葉身と葉柄とに切断し、さらに 2 時間継続して前固定を行なった。ついで、ペロナル酢酸緩衝液, pH7.4, に 2% オスミウム酸を含む固定液で 0°C, 1 時間、後固定を行なった。

SEM 用試料 二重固定後、試料は Anderson の方法¹⁾により、臨界点乾燥装置を用いて乾燥した。乾燥した試料は銅の支持台に銀ペーストで貼付後、試料表面を C-Au で蒸着し、JSM-15 で観察した。凍結法の場合には、固定試料を 70% アルコールで脱水し、冷却ホルダにのせ液体窒素で凍結し、試料を切断した。ついで、予備排気室内で試料表面の霜を昇華させ、軽く Au 蒸着を施し、ホルダごと試料を Cryo-SEM の鏡筒内に挿入し、直ちに観察した。

TEM 用試料 二重固定後、試料はアセトン系列を通して脱水し、Epon 812 に包埋し、薄切ののち、酢酸ウラニールおよびクエン酸鉛で染色し、JEM-100 C 型電顕で観察した。なお、対照の健全葉についても全く同様に処理し観察した。

観 察 結 果

SEM による病徴観察 健全葉身の表側の表皮には、ち密に配列した表皮細胞の上に大小の毛茸が散在し、その間を葉脈が走っていた (図 1)。一方、罹病葉身の表側の表皮は、葉面に皺縮を生じ、表皮細胞の境界は不鮮明で、葉脈の陥没が顕著であった (図 2)。し

かし、葉面に細菌や糸状菌などは認められなかった。

生長した健全葉柄の横断面における節部付近を図 3 に示した。内皮上にはアミロプラストとともに蔭酸石灰の結晶が蓄積していた。節部および皮層の細胞内には、わずかにアミロプラストの存在が認められるにすぎなかった。一方、生長した罹病葉柄の節部付近には、多量の分泌物が蓄積していた (図 4)。また、内皮および皮層の細胞内にはアミロプラストが充満していた。罹病葉における以上の症状は、いずれも従来の光顕観察の結果とよく一致している²⁰⁾。

若い罹病葉柄の横断面における節部組織の内部微細構造を調べるために、凍結法を用いて SEM で観察した結果を図 5 および 6 に示した。節部は節管、伴細胞および節部柔組織 (節部柔細胞) からなり (図 5)、これらの細胞内には網目状の含有物が認められた。それは節管でもっとも多く、続いて節部柔細胞に、伴細胞ではわずかであった。なお、健全葉柄節部の各細胞内には、いずれもこの種の含有物は観察されなかった (図 3)。したがって、網目状の含有物は細胞質そのものとは考えられず、おそらく本病感染に由来して細胞内に形成されたものと推測される。図 5 の節管の一つを拡大してみると、遊離して存在する大小の球状粒子 (図 6, 矢印) とともに錯綜したフィラメントからなる網目構造がよく発達していた。大小の球状粒子の直径は 200~800nm であった。また、これらの球状粒子とは別に、フィラメント上にはさらに微小な粒子が多数付着していた。そのほか、約 2 μ m の径を有する 2, 3 個のアミロプラストが細胞壁に接して観察された (図 6)。

若い罹病葉柄節部の TEM 像 以上の SEM 像を解釈するために、TEM を用いて若い罹病葉柄の断面における節部組織の全体像を観察した。図 7 および 8 はともに同一切片上の節部を示したものである。両図において、各節管では、核はすでに消失し、液胞膜が消え液胞と細胞質との区別がなくなっている。また、細胞壁に接してアミロプラストおよび退化したミトコンドリアなどが観察された。このような節管内には大小の球状粒子およびひも状粒子が多数存在していた。これらの粒子の拡大を図 9~11 に示した。図 9 は標準的大きさと思われる 150~300nm の径を有する球状粒子を示したものである。その形状および大きさからみて、土居¹⁵⁾ によって罹病桑茎葉の節管内に確認された MLO 粒子と同様であると思われる。すなわち、球状粒子には MLO の特徴とされる 2 層構造の限界膜 (矢印)、DNA 繊維およびリボゾーム様顆粒が認め

られた。さらに、2分裂を行なっていると思われる **MLO** が観察された。図10に液胞膜（矢印）が破壊され、液胞と細胞質との区別が不明瞭になっている部分を示した。篩管内にはP-プロテイン繊維、電子密度の高い顆粒ならびにさまざまな形状をした **MLO** が見出された。また、液胞膜に接して退化したと思われるミトコンドリアが存在していた。図11は不斉楕円形あるいは棍棒状の大形の **MLO** を示したものである。これらの **MLO** の中には $1\mu\text{m}$ を超えるものがあり、しばしばブレブ (bleb) を伴っているのが認められた。また、細胞壁に沿って小胞体が観察された。

図7において、丸で記された篩管、伴細胞および篩部柔細胞の配置は、図5のSEM像における記号を付したそれぞれの細胞の配置と概ね対応するものである。したがって、図5の篩管を拡大した図6のSEM像に見られる遊離して存在する大小の球状粒子（矢印）は、TEM像との対比から **MLO** 粒子と推定された。

篩管組織において、**MLO** は篩管について篩部柔細胞に見出せた（図8）。篩部柔細胞は一般に大形で、中心部は大きな液胞で占められ、細胞壁に沿った細胞質内にはミトコンドリア、小胞体および大きなデンプン粒を含むアミロプラストないしは色素体などが存在している。**MLO** はこのような細胞質内に観察された。

篩管に隣接する伴細胞は大きさもさまざまであり、一般に細胞質に富み、核を持ち、液胞は少ない（図7, 8）。細胞質内にはミトコンドリア、小胞体が多く、大きなデンプン粒で占められたアミロプラストなどを含んでいる。伴細胞は発生的には篩管と同一の細胞から由来するが、**MLO** 粒子の出現頻度はもっとも低かった。図8の丸で記された伴細胞では、退化したと思われる球状 **MLO** 粒子の集塊が見られた。図12はこの伴細胞を拡大したものである。大きな核を有する細胞質の一部がくびれるように液胞内へ突出し、その細胞質内には細胞小器官は認められず、これに代って約200nmの径を有する多数の **MLO** 粒子の集塊が認められた。集塊の直径は約 $2\mu\text{m}$ であった。

SEMによる伴細胞の観察 図13は若い健全葉柄の縦断面における伴細胞の内部構造を示したSEM像である。TEM像（図7, 8）との対比から、細胞内に散在する大形顆粒はアミロプラスト、小形顆粒はミトコンドリアと考えられる。一方、若い罹病葉柄の伴細胞内（図14）には、アミロプラストおよびミトコンドリアのほかに、健全葉柄の伴細胞内には見られなかった多数の小粒子からなる直径約 $2\mu\text{m}$ 前後の集塊（矢印）が観察された。小粒子の形状は球形のもの、偏

平のもの、あるいは短いひも状のフィラメントを派生しているものなどがあった。以上の観察結果とTEM像（図12）との対比から、SEM像（図14）に見られる小粒子の集塊は**MLO**の微小コロニーと推定された。

生長した罹病葉柄の篩管内に

見られる **MLO** コロニー

図15—18は、生長した罹病葉柄の横断面における篩管の内部構造を示したSEM像である。この時期の篩管は若い罹病葉柄の篩管に比べると、かなり肥大伸長しており、篩管内では散在するアミロプラストを覆いかくすように網目状の含有物が充満していた（図15）。アミロプラストの部分を拡大してみると、網目構造は無数の叉状に分枝したフィラメントおよび大小の粒子から構成されていた（図16）。一方、このような篩管内をTEMで観察すると、図19に示したように、P-プロテイン繊維の間に多様な形状をした無数の **MLO** が充満していた。大小の球状 **MLO** 粒子の大きさは150~300nmの径を有するものが多かった。また、100~150nmの幅を有するフィラメント状 **MLO** が多数見られ、これらの中には先端が2叉状ないしは3叉状に分枝したもの（矢印）が認められた。各フィラメントの先端はわずかに膨潤していた。図19の右上の写真は、同一篩管内の細胞壁に接したアミロプラストの部分を示したものである。図16のSEM像に見られる叉状に分枝したフィラメントの幅は70~100nmで、その間に散在する標準的球状粒子の径は150~300nmであった。これらの値はTEM像からの測定値とほぼ一致した。以上の観察結果から、SEM像に見られる網目構造は、フィラメントの幅に多少の差異はあるが、**MLO** コロニーと推定された。

図16の矢印で示した径約800nmの扁平な大形粒子にはブレブが認められた。図17は網目構造の一部をさらに拡大したもので、150~300nmの径を有する球状あるいは扁平な粒子からフィラメントが数本派生していた。多数のこのような粒子の各フィラメントの先端は、2叉状ないしは3叉状に分枝を繰返しながら生長するので、それらが互いに錯綜して網目構造を形成するものと考えられる。また、各フィラメント上には、ある間隔において数個の径約70nmの微小粒子（矢印）が付着していた。なお、図中の径約550nmの扁平な大形粒子（二重矢印）は、さらにそれぞれが250~300nmの径をもつ4つのsubunitsからなるような表面構造を呈していた。図18は200~300nmの径を有する標準的 **MLO** と思われる球状粒子からなるコロニーをさら

に拡大したものである。これらの粒子の形状は、遊離して単独で存在するもの、3~4個の粒子が数珠状に連なって存在するもの(矢印)、さらには球状粒子の表面にブレブを生じているもの、およびフィラメントを派生しているものなどがあり、きわめて多様であった。

篩管における MLO の移行経路

MLO が篩孔を経て移行することはすでに報告されている^{16, 21, 28)}。図20は、若い罹病葉柄の断面における隣接する2つの篩管を示した TEM 像である。篩管内にはP-プロテイン繊維およびアミロプラストとともに、さまざまな形状の大小の MLO 粒子が観察された。若い篩管の細胞壁には径約0.5~1.0 μm の篩孔(矢印)が形成され、篩孔に接する細胞壁にはカロース(callose)の形成が見られた。篩管の細胞壁には plasmodesmata がよく発達しているが、MLO の移行経路は、その大きさから主として篩孔を経て行なわれるものと思われる。MLO コロニーの微細立体構造と篩孔との配置を明らかにするために、凍結法で処理した若い罹病葉柄と生長した罹病葉柄のそれぞれの横断面における篩管内部の SEM 像を図21および22に示した。図21は、前掲の図6の篩管の一部を拡大したものであり、MLO コロニーの立体的網目構造および細胞壁に形成された篩孔の集まりである篩板(sieve plate)がよく観察された。球状粒子は150~300nmの径を有するものが多く見られた。これらの粒子からは、一般にひも状の細いフィラメントが派生していた。その幅は50~120nmにわたり、かなりの変動がみられた。生長した罹病葉柄の篩管内部を示した図22の SEM 像は、図19の TEM 像と対応するものである。MLO コロニーは200~500nmの径を有する球状粒子および100~150nmの幅をもつフィラメントから成り立っていた。これらの値はいずれも TEM 像からの測定値とよく一致していた。図の右下に2つの篩孔(矢印)が見られる。図21と22とを比較すると、MLO の球状粒子の大きさと数およびフィラメントの幅には、かなりの差異が認められる。このような差異は、主として篩管内部における MLO の発育過程に伴う形態変化によるものと推測される。すなわち、MLO は発育が進むにつれ、球状粒子からひも状の細いフィラメントを派生し、やがてフィラメントの幅と長さが増大するとともに叉状に分枝し、さらにその先端がそれぞれ分枝を繰返しながら生長するものと考えられる。しかし、SEM像に見られるMLO コロニーの三次元的形状はきわめて複雑であり、以上の観察結果から MLO

の発育環を推測することは困難であった。

考 察

最近、無細胞培地に生育した動物のマイクプラズマおよび植物の MLO について、それらの表面微細構造の研究が SEM あるいはネガティブ染色法、フリーズ・エッチング法による TEM および位相差顕微鏡などを用いて行なわれている。

SEM による観察は主として動物のマイクプラズマに関するものが多い。Boatman ら⁴⁾ は液体培地に形成された *M. pneumoniae* の直径数10 μm に達する球状集塊(spherules)が、フィラメント状細胞の網目構造からなることを観察している。また、Kammer ら²³⁾ および Biberfeld ら²⁾ は *M. pneumoniae* の発育過程における形態変化を調べ、この細胞は球状からフィラメント状を経て大形粒子に変化することを示した。そして、発育が進みコロニーを形成するようになると、フィラメントの長さが増大するとともに分枝するようになり、各フィラメントの上には数個の小粒子(bulbous element)が見られることを報告している²³⁾。Mayberry-Carson ら²⁴⁾ は寒天培地に形成された *Thermoplasma acidophilum* のコロニーを調べ、一視野における細胞の大きさの変異と形態の多様性を観察している。コロニーは平均約1 μm の径を有する球状細胞の集まりから形成されているが、その中にはまれに5 μm に達する大形粒子が見出される。大形粒子の表面構造から、この粒子はさらに1 μm の subunits からなることを推測している。Klainer ら²⁴⁾ は *M. gallisepticum* の球状粒子の表面から数個のブレブが突出していることを報告している。以上の *in vitro* におけるマイクプラズマ類の表面微細構造の所見と、本報で観察された罹病葉柄の篩管内に見出せる *in vivo* における MLO のそれとを比較すると、本質的にはいずれも同様と思われる。

ネガティブ染色法、フリーズ・エッチング法あるいは位相差顕微鏡による植物の MLO の観察は、Cornstunt やカンキツの Stubbourn などについて行なわれ、動物のマイクプラズマと同様に、その発育過程で球状粒子から数本のフィラメントを派生しフィラメント状(filamentous form)となり、発育が進むと叉状に分枝する所見が得られている^{5, 6, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 29, 32)}とくに Razin ら²⁹⁾ および Cole ら⁸⁾ は、カンキツの Stubbourn の MLO は発育過程の一時期に運動性のあるラセン状フィラメント(helical filament)の形態をとるが、培養が進むと運動性を失い、フィラメント

は分枝し、ブレブ (vesicular bleb) の数が増加することを観察している。図11の TEM 像に見られる棍棒状の大形 MLO の形態は、Cole⁹⁾ が Stubborn の MLO (*Spiroplasma citri*) の TEM 像に示したラセン状フィラメントの形態と近似している。しかし、本報では SEM によりラセン状フィラメントを確認できなかった。

動物のマイコプラズマに関して Freundt¹⁸⁾ は *M. mycoides* を用い、基本小体から派生したフィラメントはその上に鎖状に小粒子を形成し、2 叉状に分枝した後、フィラメントの崩壊にともない小粒子、すなわち新しい基本小体を放出すると考え、増殖法の一様式として提案している。図17の SEM 像において、叉状に分枝したフィラメント上に見られる数個の径約70 nm の微小粒子は Freundt のいう新しい基本小体に符合するように思われる。Boatman³⁾ は *M. felis* の分裂様式を調べ、3 ないし 4 個の球状粒子が連鎖したものから、やがて個々の粒子が分離して新しい個体になることを推定している。図18に示した SEM 像の中に、同様な形態を示す球状粒子の連鎖を見ることがができる。上述のように、SEM 像に見られたクワ萎縮病の MLO が多様な形態を示すことは、従来の超薄切片法による TEM 像からは十分に解明されていなかった。このことは、MLO の发育環を決めるさいに考慮されるべきことと思われる。

図12に示した伴細胞において、退化した MLO の集塊を内包する細胞質が、くびれるように液胞中へ突出していると想像される TEM 像は、液胞の役割を考える上で興味がある。近年、植物細胞の液胞と動物細胞のライソゾーム (lysosome) との類似性が注目されてきた^{7, 30)}。ライソゾームは大別すると、一つは自家分解胞 (autolysosome) として、他は食胞 (phagolysosome) として存在している。一方、Cocking⁷⁾、Hibi¹⁹⁾ および Otsuki²⁷⁾ は、植物のプロトプラスト (protoplast) にウイルスを感染させると、ウイルス粒子は液胞内に取り込まれ、大半の粒子が消失することを観察している。これらの知見は、植物細胞においても、液胞が一つの lytic compartment とし

て機能することを示唆するものと思われる。伴細胞が節管や節部柔細胞に比べて、MLO の出現頻度が低いことの理由の一つは、おそらく細胞質に富む伴細胞内に形成された液胞が MLO を分解する機能を有するのではないかと想像される。

本報では SEM による観察にさいして、固定試料を臨界点乾燥法および凍結法を用いて処理した。両者を比較すると、臨界点乾燥法は MLO の表面微細構造の観察に、凍結法は MLO コロニーの微細立体構造の保持に良い結果が得られた。しかし、MLO 細胞の付属構成物、たとえばブレブなどの微細構造の観察および MLO 粒子の直径などを正確に測定するには、SEM は TEM に及ばないと思われる。

摘 要

クワ萎縮病の明瞭な病徴を示す一の瀬の罹病新梢から若葉を採取し、その葉柄を用いて、節部組織内に分布する MLO の表面微細構造および MLO コロニーの微細立体構造を、SEM および TEM を併用して観察した。

SEM を用いて節部組織を観察すると、節管、節部柔細胞、伴細胞の順に、それぞれの細胞内には網目状の構造が発達していた。網目構造は150~300nm の径を有する大小の球状粒子および叉状に分枝した約120 nm の幅を有する多数のフィラメントから成り立っていた。SEM による球状粒子の大きさおよびフィラメントの幅は、TEM による MLO の測定結果とよく一致するので、網目構造は MLO コロニーと推定された。MLO はその发育過程で、球状粒子からフィラメントを数本派生し、さらに各フィラメントの先端は2 叉状ないしは3 叉状に分枝を繰返しながら生長するものと思われる。したがって、このような粒子が多数存在すると、フィラメントは互いに錯綜して網目構造を呈するようになると考えられる。

SEM による表面微細構造の観点からみた、*in vivo* におけるクワ萎縮病の MLO の諸形態は、*in vitro* で生育した動物のマイコプラズマの諸形態と本質的にはきわめて近似していた。

引用文献

1. Anderson, T. F. (1951). Trans. N. Y. Acad. Sci. Ser II, 13: 130-134.
2. Biberfeld, G. and Biberfeld, P. (1970). J. Bacteriol. 102: 855-861.
3. Boatman, E. S. and Kenny, G. E. (1970). *Ibid.* 101: 262-277.
4. Boatman, E. S. and Kenny, G. E. (1971). *Ibid.* 106: 1005-1015.

5. Bové, J. M., Saglio, P., Tully, J. G., Freundt, A. E., Lund, Z., Pillot, J. and Taylor-Robinson, D. (1973). *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 225 : 462-470.
6. Chen, T. A. and Granados, R. R. (1970). *Science* 167:1633-1636.
7. Cocking, E. C. (1970). *Int. Rev. Cyt.* 28:89-124.
8. Cole, R. M., Tully, J. G., Popkin, T. J. and Bové, J. M. (1973). *J. Bacteriol.* 115 : 367-386.
9. Cole, R. M., Tully, J. G., Popkin, T. J. and Bové, J. M. (1973). *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 225: 471-493.
10. Daniels, M. J., Markham, P. G., Meddins, B. M., Plaskitt, A. K., Townsent, R. and Bar-Joseph, M. (1973). *Nature* 244 : 523-524.
11. Davis, R. E. and Whitcomb, R. F. (1971). *Ann. Rev. Phytopathol.* 9 : 119-154.
12. Davis, R. E., Worley, J. F., Whitcomb, R. F., Ishijima, T. and Steere, R. L. (1972). *Science* 176:521-523.
13. Davis, R. E., Whitcomb, R. F., Chen, T. A. and Granados, R. R. (1972). *In A Ciba Foundation Symposium.* Elsevier, Amsterdam. pp. 205-225.
14. Davis, R. E. (1974). *In Proceedings, Third International Symposium on Virus Diseases of Ornamental Plants.* (Lawson, R. H., *et al.* eds.) College Park, Md. pp. 289-302.
15. 土居養二・寺中理明・与良 清・明日山秀文(1967). *日植病報* 33:259-266.
16. 土居養二・奥田誠一(1973). *Shokubutsu Byogai Kenkyu, Kyoto* 8 : 203-221.
17. 土居養二(1974). *マイコプラズマ* (佐々木正五ほか編) 講談社, 東京 pp. 124-151.
18. Freundt, E. A. (1974). *In Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed., (Buchanan, R. E., *et al.* eds.) Williams & Wilkins Com., Baltimore, pp. 929-955.
19. Hibi, T. and Yora, K. (1972). *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 38 : 350-356.
20. 平井篤造 (1959). *植物ウイルス病学* 南江堂, 東京 pp. 66-87.
21. Hirumi, H. and Maramorosch, K. (1973). *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 225 : 201-222.
22. Hull, R., Horne, R. W. and Nayar, R. M. (1969). *Science* 224 : 1121-1122.
23. Kammer, G. M., Pollack, J. D. and Klainer, A. S. (1970). *J. Bacteriol.* 104 : 499-502.
24. Klainer, A. S. and Pollack, J. D. (1973). *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 225 : 236-245.
25. Maramorosch, K., Shikata, E. and Granados, R. R. (1968). *Trans. N. Y. Acad. Sci. Ser. II.* 30 : 841-855.
26. Mayberry-Carson, K. J., Roth, I. L., Harris, J. L. and Smith, P. F. (1974). *J. Bacteriol.* 120: 1472-1475.
27. Otsuki, Y., Takebe, I., Honda, Y. and Matsui, C. (1972). *Virology* 49 : 188-194.
28. Parthasarathy, M. V. (1974). *Phytopathology* 64 : 667-674.
29. Razin, S., Hasin, M., Ne' eman, Z. and Rottem, S. (1973). *J. Bacteriol.* 116 : 1421-1435.
30. Villiers, T. A. (1971). *Nature* 233 : 57-58.
31. Whitcomb, R. F. and Davis, R. E. (1970). *Ann. Rev. Entomol.* 15 : 405-464.
32. Wolanski, B. S. (1973). *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 225 : 223-235.

記 号 説 明

A : アミロプラスト, B : グレブ, cc : 伴細胞, co : 皮層, CW : 細胞壁, en : 内皮, ER : 小胞体, M : ミトコンドリア, MLO : マイコプラズマ様微生物, N : 核, OX : 有機石灰, PD : 細胞間連絡, ph : 篩部, PI : 篩孔, pp : 篩部柔細胞, Pp : P-プロテイン, st : 篩管, V : 液胞, ve : 導管, VS : 葉脈

図 版 説 明

第1図—第6図 : SEM像による病徴。

図1 : 健全葉の表側の表面構造。×80

図2 : 罹病葉の表側の表面構造。×80

図3 : 生長した健全葉柄の横断面における篩部付近。×800

図4 : 生長した罹病葉柄の横断面における篩部付近。×800

図5 : 若い罹病葉柄の横断面における篩部組織 (凍結法)。×1,500

図6 : 前図の篩管の拡大 (凍結法)。細胞内には大小の球状粒子 (矢印) とともに錯綜したフィラメントからなる網目構造が認められる。×5,000

第7図—第8図 : 若い罹病葉柄の縦断面における篩部組織のTEM像。

- 図7：丸で記された篩管，伴細胞および篩部柔細胞の配置は，図5のSEM像における記号を符したそれぞれの細胞の配置と対応する。×5,600
- 図8：丸で記された伴細胞の内部構造は，図14のSEM像に示した伴細胞の内部構造と対応する。×5,600
- 第9図—第12図：若い罹病葉柄の篩管内に見られるさまざまな形状のMLOを示したTEM像。
- 図9：標準的球状MLO粒子。2層構造の限界膜（矢印）が認められる。×50,000
- 図10：液胞膜（矢印）が破壊され，液胞と細胞質との区別が不明瞭になっている。篩管内にはP-プロテイン繊維とともに，フィラメント状のものおよびさまざまな形状をしたMLOが見られる。×50,000
- 図11：1 μ mを超える大形のMLO。プレブを伴うものが見られる。×50,000
- 図12：図8の伴細胞の拡大。退化したMLOの集塊を内包した細胞質が液胞中へ突出している。×12,000
- 第13図—第14図：伴細胞のSEM像
- 図13：若い健全葉柄の縦断面における伴細胞の内部構造。×2,500
- 図14：若い罹病葉柄の縦断面における伴細胞の内部構造。矢印は多数の小粒子からなる集塊を示す。×2,500
- 第15図—第18図：生長した罹病葉柄の横断面における篩管内の網目状のMLOコロニーを示したSEM像。
- 図15：篩管内にはアミロプラストが散在し，これらのアミロプラストを覆いかくすように網目状の含有物が充満している。×800
- 図16：網目構造は大小の粒子とともに無数の叉状に分枝したフィラメントから成り立っている。×12,000
- 図17：球状粒子からフィラメントは数本派生している。フィラメント上には数個の微小粒子（矢印）が付着している。二重矢印は径約550nmの扁平な大形粒子を示す。×24,000
- 図18：標準的球状粒子の集塊。矢印は3～4個の粒子が数珠状に連なったものを示す。×40,000
- 第19図：生長した罹病葉柄の縦断面における篩管内のTEM像。矢印は2叉状あるいは3叉状に分枝したフィラメントを示す。右上の写真は，同じ篩管内のアミロプラストの付近を示す。×20,000
- 第20図：若い罹病葉柄の縦断面における隣接する2つの篩管を示したTEM像。矢印は篩孔を示す。×6,700
- 第21図—第22図：篩管内のMLOコロニーの微細立体構造と篩板を示したSEM像（凍結法）。
- 図21：若い罹病葉柄の横断面における篩管。図6の一部を拡大したもの。×20,000
- 図22：生長した罹病葉柄の横断面における篩管。矢印は篩孔を示す。×20,000