

イネ縞葉枯ウイルスの系統について

(1) 感染特異蛋白による分類の試み

林 隆治・宇杉 富雄・中野 正明・石川 浩一¹⁾ (九州農業試験場・¹⁾農業研究センター)

On the strains of rice stripe virus. (1) An attempt to detect strains by differences in molecular size of diseasespecific proteins. Takaharu HAYASHI, Tomio USUGI, Masaaki NAKANO and Kouichi ISHIKAWA¹⁾ (Kyushu National Agricultural Experiment Station, Chikugo, Fukuoka 833. ¹⁾National Agriculture Research Center, Tsukuba Science City, Ibaraki 305)

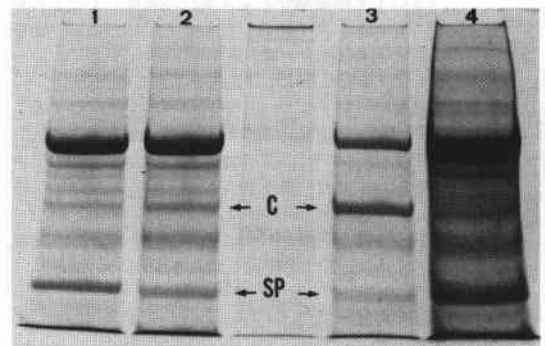
ウイルス病の研究にとってウイルス系統の分離・固定が可能であることはきわめて重要なことである。しかし、イネ縞葉枯ウイルスの系統については、これまで伝搬試験がむつかしく、かつ系統識別の適当な手段が少なく、殆ど研究されていない。わずかに石井・小野¹⁾によって「ゆうれい症状」(捲葉型)と「ストライプ症状」(展葉型)が分離・固定されているが、感染条件や環境条件の違いによって判別が難しい場合があるとされている。イネ縞葉枯ウイルスがイネに感染した際イネ植物体内にウイルス外被蛋白(分子量32,000)と感染に伴って生産されるいわゆる感染特異蛋白(分子量20,000)が多量に合成され、SDS-ポリアクリルアミド電気泳動により容易に検出出来ることから²⁾、これらの蛋白が系統の識別に利用出来るのではないかと考えた。そこで著者らは1988年春から秋にかけて筑後市和泉の九州農試圃場において発生していたイネ縞葉枯病感染イネを採集し、SDS-ポリアクリルアミド電気泳動にかけ感染葉中のウイルス外被蛋白と感染特異蛋白の量比および分子量を指標として調べたところ、分子量の異なる特異蛋白が分離されたので報告する。

材料および方法

イネ縞葉枯ウイルスは鴻巣系(農研センター・ウイルス病防除研で維持している株・鴻巣で採集)を対照として用いた。まず圃場で採集したイネ縞葉枯病感染株の感染葉に20倍量の10mM トリス緩衝液を加え低温下で乳鉢で磨砕した。この磨砕感染葉汁液に最終濃度2% SDS、5%メルカプトエタノールを加え、100°C 5分間処理で変性した。その後15,000回転、5分間遠心しその上清を10%のSDS-ポリアクリルアミド電気泳動にかけ、ウイルス外被蛋白と感染特異蛋白について、両蛋白の量比および分子量を調べた。

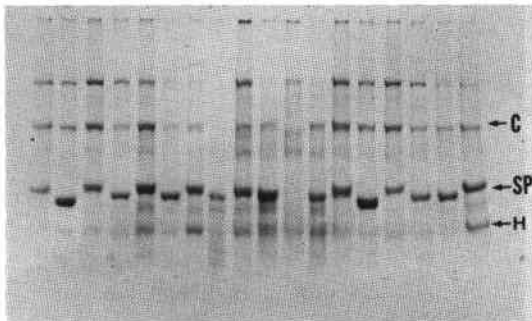
結果および考察

まず鴻巣系に感染した台中在来1号またはレイホウを基準にして比較してみると、おおまかに分けて、外被蛋白と感染特異蛋白の量比に違いがあるもの(第1図)、および感染特異蛋白の分子量に差のあるものが見られた(第2図)。しかし外被蛋白と感染特異蛋白の量比については、品種、感染時期、感染後の日数等で差があるようであり、今回は明確な特徴づけをすることは出来なかった。一方分子量が異なると思われる感染特異蛋白を持つ2分離株(P系:分子量約17,500とN系:分子量約19,000)を選びヒメトビウヅカを用いて伝搬試験を行ったところ、レイホウ、コシヒカリ、台中在来1号、小麦(農林61号)とも、その分子量の違いも伝搬された(第3図)。従って、1回だけの伝搬試験ではあるが、この

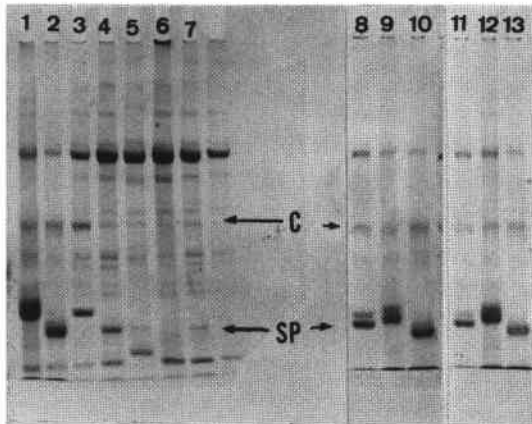


第1図 SDS-ポリアクリルアミド電気泳動により分離したイネ縞葉枯ウイルス感染イネ中の外被蛋白(C)と感染特異蛋白(SP)の量比の違う株の例

- 1: 外被蛋白よりも感染特異蛋白の多いもの
- 2: 外被蛋白と感染特異蛋白がほぼ等しいもの
- 3: 外被蛋白が感染特異蛋白よりも多いもの
- 4: 鴻巣系(感染特異蛋白が外被蛋白よりも圧倒的に多い)



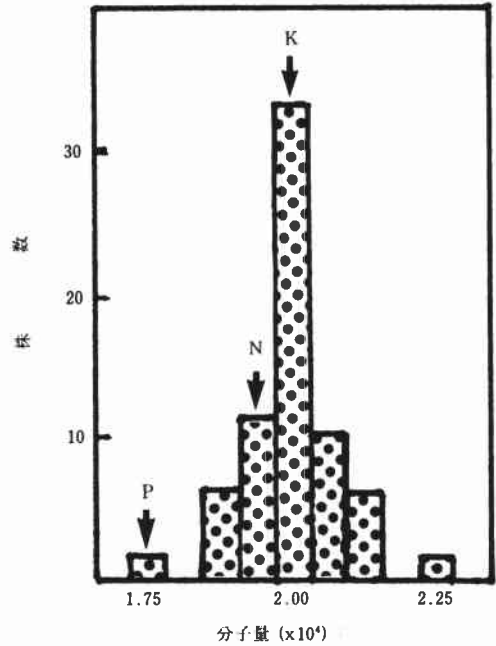
第2図 九州農試筑後圃場より採集したイネ縞葉枯ウイルス罹病イネ株中の感染特異蛋白 (SP) の SDS-ポリアクリルアミド電気泳動による泳動度の多様性
C : 外被蛋白 (差を明確にするために泳動度に差のある株を交互に並べた)。外被蛋白 (C) とイネ蛋白 (H) の泳動度がそろっていることに注意



第3図 感染特異蛋白 (SP) 分子量の相違の伝搬試験
2~3のイネ縞葉枯ウイルス系統の親株およびそれらをヒメトピウシカで接種した各イネ品種および小麦中の感染特異蛋白の分子量の違いの伝搬性
1~6: イネの品種または寄主を違えた場合,
1: 鴻巣系-レイホウ, 2: P系-ニシホマレ, 3: 鴻巣系-コシヒカリ, 4: P系-コシヒカリ, 5: P系-小麦(農林61号), 6: 健全(コシヒカリ), 7: P系-台中在来1号, 8~10: 親株, 8: N系-ニシホマレ, 9: 鴻巣系-レイホウ, 10: P系-ニシホマレ, 11~13: 1代伝搬株, 11: N系-レイホウ, 12: 鴻巣系-レイホウ, 13: P系-レイホウ, C: 外被蛋白

特性は遺伝的に安定したものではないと思われる。また、一番小さい分子量を持つ系統 (P系) は、その病徴が鴻巣系よりやや軽微で、新葉にゆうれい症状を起こさず、葉の色がやや黄色となり、葉身がやや細くなるようである。

感染特異蛋白の分子量の違う各型の出現頻度は、鴻巣系類似の系統が約50%、その他の株 (鴻巣系より分子量の小さいかまたは大きい株) が約50%で分子量の違いが



第4図 九州農試筑後圃場において採集したイネ縞葉枯病罹病イネ株中の感染特異蛋白分子量の多様性
K: 鴻巣系の位置, N: N系の位置 (3図), P: P系の位置 (3図)

多様であった (第4図)。更に、鴻巣系に類似していると思われるものでも、微妙な差があるようであるが、今回はそこまで明確に分類することは出来なかった。

感染特異蛋白の分子量の違いについては鴻巣系で、イネの品種、トウモロコシ、ムギ等寄主の違いによって差があることが知られているが³⁾、それらは鴻巣系の感染特異蛋白が壊れることによって起きる現象であり、分子量が異なる感染特異蛋白が存在するという報告は、今回が最初である。従って現在九州地域に分布しているイネ縞葉枯ウイルスは多くの系統の混合したものである可能性がよく、これらの系統が時として起こるイネ縞葉枯病の大発生とどのように関係しているかを調べる必要がある。このために、今後は、今回分離、固定された2つの系統および鴻巣系 (K系) を基準にして、各地におけるイネ縞葉枯ウイルスの系統の分布状態を調べるとともに、さらに詳しい病徴との関係をも調べてゆく必要がある。

引用文献

1) 石井正義・小野小三郎 (1966) 日植病報 32: 83. 2) KISO, A. and T. YAMAMOTO (1973) Rev. Plant Prot. Res. 6: 75-100. 3) 鳥山重光 (1985) 植物防疫 39: 508-514.

(1989年5月31日 受領)