

九州農試内の飼料用トウモロコシ及び周辺イネ科植物に 発生したサトウキビモザイクウイルスの系統について

井上 興¹⁾・花田 薫²⁾・宮川 久義¹⁾

館野 宏司²⁾・中田榮一郎¹⁾

(¹⁾山口県農業試験場・²⁾九州農業試験場)

Strains of sugarcane mosaic virus isolated from fodder maize and cereal plants in the field of Kyushu National Agricultural Experiment Station.

Takashi INOUE¹⁾, Kaoru HANADA²⁾, Hisayoshi MIYAGAWA¹⁾, Hiroshi TATENO²⁾ and Eiichiro NAKATA¹⁾ (¹⁾Yamaguchi Agricultural Experiment Station, Yamaguchi 753-02.

²⁾Kyushu National Agricultural Experiment Station, Nishigoushi, Kumamoto 861-11)

1992年6月、九州農業試験場内圃場（熊本県西合志町）において、トウモロコシにモザイク症状を示す株が多発した^{3,4)}。その後の調査で1993、1994年にもモザイク症状が多発している。その病原ウイルスはサトウキビモザイクウイルス (ScMV) とキュウリモザイクウイルス (CMV) であったが³⁾、調査の結果 ScMV の発病株が非常に多かった。ScMV の伝染源としてトウモロコシ栽培圃場周辺のイネ科飼料作物及び雑草が関与するとされている¹⁾。そこで著者らはこれらイネ科植物に感染している ScMV とトウモロコシに発生した ScMV との関係を血清学的に検討し、知見を得たので報告する。

本試験を進めるに当り、ウイルス及び抗血清を分譲いただいた矢野 博博士、天津善弘博士に厚くお礼申し上げます。

材料及び方法

1. 圃場調査

1994年7月、九州農業試験場内圃場（熊本県西合志町）の飼料作物見本園圃場及び圃場周辺（以下圃場）からモザイク症状を呈しているイネ科植物を採集した。採集したサンプルは-70℃で保存した。

2. 電子顕微鏡観察及び生物検定

それぞれのサンプルをダイレクト・ネガティブ染色法により電顕観察するとともに、トウモロコシ（品種：中玉、以後トウモロコシ中玉）に搾汁液を塗抹接種し病原性を確認した。病徴の調査は接種後3週間まで随時行った。植物の管理はすべて18~23℃に設定したチャンバー内で行なった。

3. 血清学的検討

採取した ScMV の血清学的類縁関係を調べるために

直接、または一度トウモロコシ中玉で増殖した後、直接 ELISA 法とウエスタンブロット法による検定を行なった。ScMV 抗血清には1992年に九州農業試験場内のトウモロコシ圃場から分離した ScMV-B 系統¹²⁾（以下系統は省略）に属するウイルス (ScMV-YB とする) により作成した抗血清 (ScMV-YB 抗血清) を用いた⁵⁾。

直接 ELISA 法ではあらかじめトウモロコシ中玉の健全成分で吸収した抗血清を用いた。直接 ELISA 法による ScMV-YB と他の ScMV 系統の検出限界試験にはウイルス接種したトウモロコシ中玉を希釈し用いた。

ウエスタンブロット法ではブロットを処理するための抗血清に健全トウモロコシの搾汁液を混合して用いた。

ScMV の系統には本邦で発生が確認され、系統がすでに明らかにされている ScMV-A⁶⁾、ScMV-B、ScMV-I¹²⁾ を用いた。各系統はトウモロコシ中玉で増殖して用いた。

結 果

1. 圃場調査

圃場調査の結果、メヒシバとその他のイネ科植物にモザイク症状が観察された。圃場からメヒシバ *Digitaria adscendens* HENR., ノシバ *Zoysia japonica* STEUD., ジョンソングラス *Sorghum halepense* (L.) PERS., ダリスグラス *Paspalum dilatatum* POIR., チカラシバ *Pennisetum alopecuroides* (L.) SPRENGEL, チガヤ *Imperata cylindrica* BEAUV. var. *koenigii* (RETZ.) DURAND et SCHINZ, セタリア属 *Setaria* sp., パヒアグラス *Paspalum notatum* FLÜGGE., パミューダグラス *Cynodon dactylon* (L.) PERS., ベージーグラス *Paspalum urvillei* STEUD. の8属10種27個体とトウモロコシ42個体を採取した。

2. 電子顕微鏡観察及び生物検定

採取した植物を電子顕微鏡観察した結果、トウモロコシ

第1表 モザイク症状を呈したイネ科植物と ScMV-YB の直接 ELISA 法による吸光度と電子顕微鏡観察結果

植物名	株番号	吸光度	ウイルス粒子
ノシバ	10-2	0.000	*
ノシバ	21-1	0.000	
ノシバ	20	0.001	
ジョンソングラス	1	0.055	+
ジョンソングラス	2	0.000	+
ダリスグラス	1	0.896	+
ダリスグラス	1-4	0.676	+
ダリスグラス	13	1.061	+
ダリスグラス	2	0.605	+
ダリスグラス	3	1.006	+
ダリスグラス	4-2	0.336	+
チカラシバ	3	0.931	+
チガヤ	19-2	0.396	+
チガヤ	6	0.298	+
チガヤ	7	0.398	+
セタリア属		1.397	+
バヒアグラス	2	0.013	
パミューダグラス	1	0.077	+
ベージュグラス	1	0.541	+
ベージュグラス	2	0.819	+
ベージュグラス	3	0.843	+
メヒシバ	1-1	0.915	+
メヒシバ	1-2	1.138	+
メヒシバ	1-3	1.167	+
メヒシバ	1-4	0.820	+
メヒシバ	8-1	1.395	+
メヒシバ	9-1	0.298	+
ScMV-YB		1.503	+
健全トウモロコシ		0.040	

注) 20倍希釈, $\lambda=405\text{nm}$

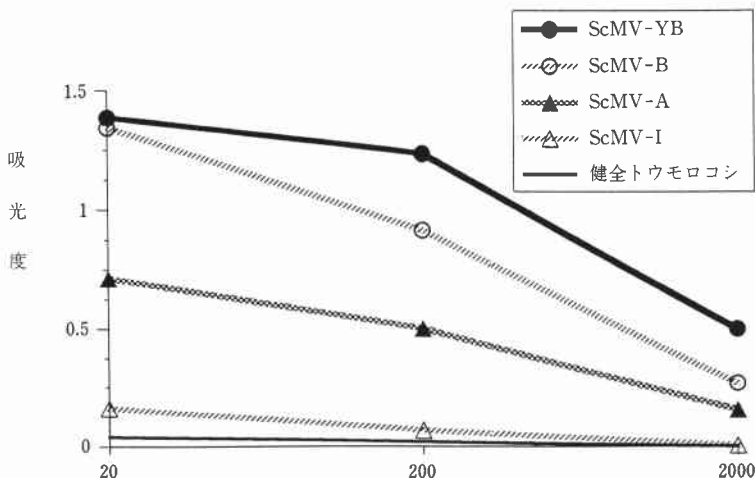
*空欄は粒子が確認できなかったことを示す。

シの他ジョンソングラス, ダリスグラス, チカラシバ, チガヤ, セタリア属, ベージュグラス, メヒシバ, パミューダグラスから 700~800nm のひも状粒子が多数観察された (第1表)。トウモロコシに対する接種試験では, トウモロコシ, ジョンソングラス, ダリスグラス, チカラシバ, チガヤ, セタリア属, ベージュグラス, メヒシバ, パミューダグラスの分離株がトウモロコシ中玉の上葉に病徴を示した。病徴は接種後5日目頃から現れた。病徴はいずれもモザイク症状であった。

第2表 モザイク症状を呈したトウモロコシと ScMV-YB の直接 ELISA 法による吸光度

品種名	株番号	吸光度
6227A	1(2-3)	1.420
6227A	2(2-3)	1.468
6227A	3(2-3)	1.538
6227A	4(2-3)	1.532
B-47	1(2-18)	1.450
B-47	2(2-18)	1.503
D1031	1(2-11)	1.422
D1031	2(2-11)	1.494
TX-9171	2	1.352
TX-9171	3	1.403
TX-9171	4	1.481
TX-9171	5	1.461
TX-9176	2	1.385
TX330	1(2-2)	1.493
TX330	2(2-2)	1.431
TX330	3(2-2)	1.459
TX9171	6	1.448
中玉	1	1.415
ScMV-YB		1.343
健全トウモロコシ		0.055

注) 一部抜粋, 20倍希釈, $\lambda=405\text{nm}$



第1図 ScMV各系統の希釈と ScMV-YB 抗血清に対する吸光度の関係 $\lambda=405$

これらサンプルについて電子顕微鏡観察した結果、700~800nm のひも状粒子が多数観察された。

3. 血清学的検討

直接 ELISA 法では ScMV-B が YB とほぼ同等の吸光度を示し、ScMV-A がやや低く、ScMV-I はほとんど反応しなかった (第1図)。

モザイク症状を呈したトウモロコシのほとんどの株が直接 ELISA 法で ScMV-YB と近い吸光度を示した (第2表)。

モザイク症状を呈したイネ科飼料作物を用いた直接 ELISA 法ではダリスグラス、チカラシバ、セタリア属、ベージュグラス、メヒシバの分離株でやや高い吸光度を示した。チガヤ、メヒシバでは吸光度のやや低いものがあった。ノシバ、ジョンソングラス、パヒアグラス、バミューダグラスの吸光度は低かった (第1表)。

直接 ELISA 法でやや高い吸光度を示したダリスグラス、チカラシバ、ベージュグラスについて、トウモロコシ中玉で増殖した場合には、吸光度が ScMV-YB のものとほぼ同等となった (第3表)。

第3表 各種植物由来の ScMV 及び ScMV 系統を接種したトウモロコシ葉の直接 ELISA 法による吸光度

植物名(系統名)	株番号	吸光度
ダリスグラス	13	1.346
ダリスグラス	3	1.391
チカラシバ	3	1.445
ベージュグラス	3	1.408
ScMV-A		0.713
ScMV-I		0.159
ScMV-B		1.342
ScMV-YB		1.386
健全トウモロコシ		0.040

注) 20倍希釈, $\lambda=405\text{nm}$

これらのイネ科飼料作物についてウエスタンブロット法をおこなった結果、セタリア属、ベージュグラス、チカラシバ、ダリスグラスでは、ScMV-YB と同じ位置にバンドが見られた (第2図)。

考 察

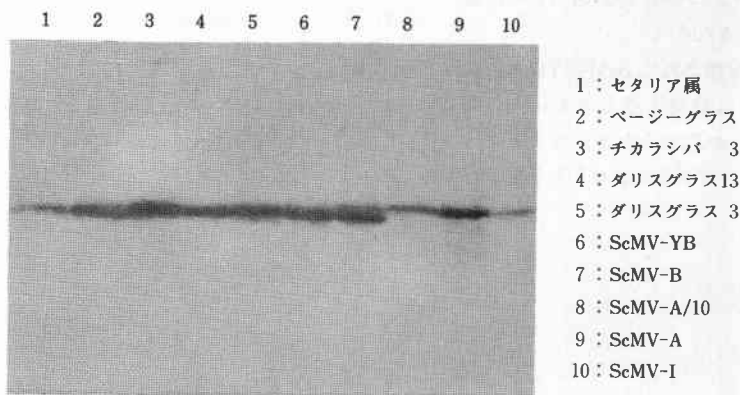
本邦での ScMV の発生生態については中田⁹⁾、矢野ら¹²⁾によってサトウキビについて詳細な研究がなされてきた。また、鳥山ら¹¹⁾はイネ科雑草を中心に ScMV の発生と種類について検討している。

一方、ScMV に多くの系統があることが報告されている^{1,2,6,9,10,13,14)}。これらは検定植物での病徴の差に基づいて分類されているが、これらの中には血清学的にも違いがあるものが報告されている。これまでに本邦では ScMV-A, B, I の3系統の発生が報告されている^{8,12)}。

近年、九州においてトウモロコシに ScMV が多発しており、その伝染源を明らかにする必要がある。トウモロコシの場合には冬に ScMV の代替宿主 (越冬宿主) が必要となる。鳥山ら¹¹⁾は、イネ科植物 (雑草) がトウモロコシのモザイク病の重要な伝染源となることを指摘している。しかし、ScMV の系統については検討されていない。そこで著者らはトウモロコシとイネ科植物に発生する ScMV を血清学的にも比較する必要があると考えた。

著者らはこれまでにモザイク症状が多発したトウモロコシ圃場内からトウモロコシと同じ血清型に属する ScMV をメヒシバから分離している^{4,5)}。しかしメヒシバの九州での越冬はごく限られた地域であることから、他の植物についても検討することが必要と思われた。

1994年の調査でもこれまでの調査と同様に多くのトウモロコシにモザイク症状が観察され、ScMV-YB 抗血



第2図 各植物由来の ScMV のウエスタンブロット

注) ScMV-A/10 は ScMV-A を10倍希釈した。

清を用いた試験の結果からこれらの病原が ScMV であることが確認された。

矢野ら¹²⁾は感染植物の搾汁液を用いた直接 ELISA 法によって I 系統と B 系統が識別できている。著者らの結果も系統間で吸光度が明らかに異なった。これらのことから、本法でも系統の区別が可能であると考えられた。直接 ELISA 法の結果により 1994 年にトウモロコシから分離した ScMV の多くが ScMV-YB と同じ血清型と考えられた。また 1992 年、1993 年に九州農試圃場から分離された多くの ScMV も ScMV-YB と同じ血清型であった^{3,4,5)}。

電子顕微鏡観察とトウモロコシに対する病原性試験の結果、ジョンソングラス、ダリスグラス、チカラシバ、チガヤ、セタリア属、ページグラス、メヒシバ、バミューダグラスの 7 属 7 種 23 植物が ScMV に感染していたことを確認した。鳥山ら¹¹⁾の指摘同様、九州においても多くのイネ科植物から ScMV 感染が確認できた。

現地の発病株を用いた直接 ELISA 法ではダリスグラス、チカラシバ、セタリア属、ページグラス、メヒシバの吸光度は ScMV-YB に比較するとやや低かった。しかし、これらをトウモロコシ中玉で増殖し直接 ELISA 法を行ったところ ScMV-YB と同様な高い吸光度を示した。従って原株では ScMV の濃度が低かったため吸光度がやや低かったものと考えられる。また、ウエスタンプロット法の結果でもこれらの植物から分離されるウイルスのバンドの位置は ScMV-YB のそれと一致していた。

これらの結果はトウモロコシから検出される ScMV と非常に近縁なウイルスが、既報^{4,5)}のメヒシバに加え、ダリスグラス、チカラシバ、セタリア属、ページグラスからも検出されることを示している。このことから、これらの植物がトウモロコシに感染する ScMV の伝染源になっていることが示唆された。

今後は、イネ科植物から分離された ScMV-YB と近縁なウイルスの性質をさらに検討するとともに、今回 ScMV-YB との関係が明らかにならなかったチガヤ、ジョンソングラスやバミューダグラスなどから分離され

る ScMV についてもさらに検討する。

摘 要

- 1994 年 7 月、九州農業試験場内圃場（熊本県西合志町）及び周辺雑地においてモザイク症状を呈しているイネ科植物を採集し病原ウイルスを調査した。
- 採取したトウモロコシ、メヒシバ、ジョンソングラス、ダリスグラス、チカラシバ、チガヤ、セタリア属、バミューダグラス、ページグラスから得られたウイルスはウイルス粒子の形態やトウモロコシに対する病原性などから ScMV あるいはそれに近縁なウイルスであると考えられた。
- 直接 ELISA 法及びウエスタンプロット法の結果から、既報のメヒシバに加え、ダリスグラス、チカラシバ、セタリア属、ページグラスから得られた ScMV はトウモロコシの ScMV-YB と非常に近縁なウイルスと考えられ、これらの植物がトウモロコシに感染する ScMV の伝染源であることが示唆された。

引 用 文 献

- 1) ABBOTT, E. V. and TIPPETT, R. L. (1966) USDA Tech. Bulletin. 1340 : 1-25.
- 2) GILLASPIE, A. G. Jr. (1967) Plant Dis. Repr. 51 : 761-763.
- 3) 花田 薫・大貫正俊・酒井淳一・井上 興・矢野 博 (1993) 日植病報 59 : 52 (講要).
- 4) 井上 興・花田 薫・宮川久義・館野宏司 (1993) 九病虫研会報 39 : 15-17.
- 5) 井上 興・花田 薫・亀谷満朗・宮川久義・村本和之・中田榮一郎 (1993) 日植病報 59 : 737-738 (講要).
- 6) KOIKE, H. and GILLASPIE, A. Jr. (1976) Plant Dis. Repr. 60 : 50-54.
- 7) 中田榮一郎・日高醇 (1975) 九病虫研会特別報 3 号.
- 8) 大津善弘 (1982) 日植病報 51 : 616-622.
- 9) SUMMERS, E. M., BRANDES, E. M. and RANDS, R. D. (1948) USDA Tech. Bul. 955 : 1-124.
- 10) TIPPETT, R. L. and ABBOTT, E. V. (1968) Plant Dis. Repr. 52 : 449-451.
- 11) 鳥山重光・興良 清 (1972) イネ科植物とくに野草に発生するウイルス病に関する研究, 東京大学出版会 1-69.
- 12) 矢野 博・沼口憲治・岩井 久 (1988) 種苗管理センター調査研究報告 1 : 1-112.
- 13) ZUMMO, N. and STOCKES, I. E. (1973) Sug. Path. Newsletter 10 : 16-17.
- 14) ZUMMO, N. (1974) Soc. Sugar Cane Techn. Proc. 15 : 305-309.

(1995 年 4 月 28 日 受領)