

大分県のサツマイモに重複感染している SPFMV の系統の単離

山崎修一・野口敏治・酒井淳一¹⁾・大貫正俊¹⁾・花田 薫¹⁾(大分県農業技術センター¹⁾ 九川農業試験場)Shuichi YAMASAKI, Toshiharu NOGUCHI, Junichi SAKAI, Masatoshi ONUKI and Kaoru HANADA :
Isolation of SPFMV Strains Infected in Sweet Potato Plants in Oita Prefecture

サツマイモ帯状粗皮病はサツマイモ斑紋モザイクウイルス強毒系統(SPFMV-S 以下Sと略す)に起因する¹⁾。SPFMVには、他に普通系統(SPFMV-O 以下Oと略す)、徳島系統(SPFMV-T 以下Tと略す)等が知られ、S、O、TはRFLP-RT-PCRによって識別可能であることが報告されている。^{2) 3)}一方、本病の恒久的防除対策として、我々は、弱毒ウイルスの利用を検討しているが、これを進めるために、病徴の軽微なサツマイモからSPFMVを単離し、それらの弱毒性の遺伝情報を知ることや、弱毒株と従来系統との識別法を確立することは重要である。そこで、RFLP-RT-PCRを大分県のサツマイモに適用し、希釈法で単離したSPFMVの系統の識別を試みたので報告する。

1. 材料および方法

塊根の症状の激しい激症株7株と症状の軽い軽症株6株を用いた。また、ウイルスの単離には軽症株を用い、希釈分離法で行った。すなわち、軽症株の保毒ウイルスを感染させたアサガオの100, 300, 1,000倍希釈汁液を、アサガオ健全株に接種することを6回反復し単離した。

RFLP-RT-PCRには、SPFMVの外被またはNlb蛋白質をコードする領域の塩基配列からデザインした系統共通プライマーおよび10種の制限酵素(*Bam*HI, *Eco*RI, *Hinc*II, *Hind*III, *Eco*RV, *Xho*I, *Sac*I, *Xba*I, *Pst*I, *Kpn*I)を用いた。S、O、Tを、*Bam*HI, *Eco*RIを用いた本方法に供試すると、S 14kbp, 500bp, O 14kbp, 14kbp, T 500bp, 14kbp(前者 *Bam*HI使用, 後者 *Eco*RI使用)の位置にバンドが検出される²⁾。さらに、単離したSPFMVはSおよびOに共通する配列からデザインしたSPFMV-S、O共通プライマーを用いたRT-PCR⁴⁾にも供試した。

2. 結果および考察

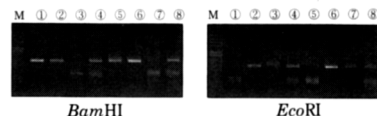
供試株をウイルスを単離せずに*Bam*HIまたは*Eco*RIによるRFLP-RT-PCRを行ったところ、激症株、軽症株に関わらず、同一株内でS、O、Tのバンドパターンが示されたため、これら3系統の重複感染の可能性が示された。

そこで、重複感染を確認するため、希釈分離を繰り返した株を用いてRFLP-RT-PCRを行ったところ、S、O、Tのいずれかのバンドパターンを示した。また、これらに相当しないパターンのは分離されなかった。特に、軽症株95-5(以下95-5と略す)からは3系統すべてに相当すると思われるウイルスが分離されたため、それぞれ5-S、5-O、5-Tとした。また、これら3系統す

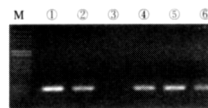
べてをサツマイモウイルスフリー株に戻し接種したところ、3系統すべてのバンドパターンが認められ、これらが1本のサツマイモに重複感染することが確認された(第1図)。

さらに、95-5の3系統と従来系統との比較を試みた。その結果、アサガオへの汁液接種では、5-Sおよび5-OはそれぞれS、Oと病徴の差異は認められなかったが、5-TはS、O、Tと異なる症状が現れた。また、*Bam*HI, *Eco*RI以外の制限酵素によるRFLP-RT-PCRでは、5-Sが*Eco*RVで、5-Tが*Xho*Iで従来系統と異なるバンドパターンが認められた。一方、S、O共通プライマーによるRT-PCRでは、従来系統はプライマー部分の配列のないTでバンドが認められなかったが、95-5の3系統では、5-Tを含むすべての系統でバンドが認められ、5-TのTとの差異が認められた(第2図)。

今後は、これらの知見が、弱毒株と強毒系統を含む従来系統との識別法の開発につながるよう、さらに検討する予定である。また、今回用いたサツマイモは10年以上ウイルスフリー化されず栄養繁殖を続けているものであり、いずれかの系統に淘汰されることなく3系統とも保毒され続けている現象は、今後解明する必要がある。



第1図 RFLP-RT-PCRによる95-5の3系統の解析

① SPFMV-S ② SPFMV-O ③ SPFMV-T ④ 95-5 ⑤ 5-S
⑥ 5-O ⑦ 5-T ⑧ 戻し接種 M λ /Hind III・Hinc II

第2図 SPFMV-S、O共通プライマーによる95-5の3系統と従来系統の比較

① SPFMV-S ② SPFMV-O ③ SPFMV-T ④ 5-S ⑤ 5-O
⑥ 5-T M λ /Hind III・Hinc II

引用文献

- 1) 宇杉富雄 中野正明 大貫正俊 林 隆治 日植病報 56, 423, 1990
- 2) 花田 薫 酒井淳一 大貫正俊 日植病報 63, 259, 1997
- 3) 小川哲治 大貫正俊 花田 薫 日植病報 63, 265, 1997
- 4) 大貫正俊・花田 薫 植物防疫 50 102-105, 1996.