イネわい化病の病原について*

西 泰道**・木村俊彦**・前島 勇***

Yasumichi NISHI, Toshihiko KIMURA and Isamu MAEJIMA:

Causal agent of "waika" disease of rice plants in Japan.

Abstract

The "waika" disease of rice plants has occurred since 1971 in Kyushu, Japan. The characteristic symptoms on diseased rice plants are stunting, discoloration and drooping of leaves. The causal agent which was transmitted by *Nephotettix cincticeps* Uhler and *N. virescens* Distant, seemed to be non-persistent in the vectors, and was found to be spherical virus approximately 30 nm in diameter. (Received October 20, 1974)

九州西海岸の、有明海から八代海に至る沿海平坦部の水田地帯に発生したイネわい化病は、出穂期前後から稈長および穂長が正常のイネにくらべて低くなり、これが坪状になることが多かった。このような症状の発生は昭和46年頃から目立ち、毎年その面積が拡大し、昭和48年には25,000 haに及んだ。そこで、九州農試および発生の激しかった福岡、佐賀、熊本の各県農試ではそれぞれ研究班を組織し、原因究明と防除技術を確立するために試験研究を行った。そのなかで、筆者らは、本病の病原がウイルスであるかどうかを確かめるための実験を行ったので、その結果について2, 3報告する。本研究を行うに当たって、各方面の方々から御援助と御協力を頂いた。ここに、これらの方々へ深謝の意を表する。

ツマグロヨコバイ (*Nephotettix cincticeps* Uhler) による媒介: 昭和48年9月中～下旬に福岡県農試で、ツマグロヨコバイによってわい化病の症状が媒介されることが観察され、さらに9月下旬に九州農試虫害第3研究室でも同様な結果が認められた。そこで、筆者らはこれを確認するために、福岡県内の発生水田より、葉色の変化はみられなかったが、草丈、稈長、穂長がわい化していた症状イネ (品種レイホウ) を9月25日に採集し、この症状イネを獲得吸汁源として無毒のツマグロヨコバイによる媒介試験を行った。実験は10月以降、主として温室内で行い、獲得吸

汁は1～30日、接種吸汁はイネ苗1本に1～10頭、1～6日間とした。検定用のイネ苗は2～6葉のレイホウまたはトヨタマを用いた。症状の発現は早いもので、接種後12日、多くは30～40日にみられた。症状は最終的には短稈、短穂化がみられたが、初期症状としては最頂葉から2～3葉下の葉身が急に黄化 (暗黄色～橙黄色) し、その後1, 2日のうちにこの黄化部分にシミ状の褐点を生ずるもの、中位葉の黄化に先立って上位葉鞘長の伸長が悪くなるもの、上位葉鞘長が短くなるものと同時に全体がやや退色し、やがて中位葉身が下垂しみとなり、この下垂しみの葉身の退色が早く、ときにシミ状の褐点があらわれるもの、または全体の退色と葉身の下垂しみになるものなどがみられた。中位葉身の黄化とシミ状の褐点は、早期に本病を見分けるためには最も良い病徴であったが、常に発現するとは限らず、またその他の初期症状ではどの時期で発病とするかの判断が困難であった。さらに、病状の進行に伴って葉幅の狭小、葉身長短小、茎数、穂数の減少、出穂期の遅延、穂の抽出不良、下葉の枯れ上りの早期化などの症状がみられることが多かった。なかには黄化葉の初期症状はみられたが、その後は外見的に全く回復するものもあった。このように、ツマグロヨコバイの媒介によって生じたわい化または黄化葉などの症状を呈したイネを吸毒源として、さらに無毒ツマグロヨコバイによる戻し接種を、レイホウ苗を用いて行っ

* 本論文の概要は、昭和49年度日本植物病理学会大会で発表した。

** 九州農業試験場、現在野菜試験場 Vegetable and Ornamental Crops Reserch Station, Tsu, Mie, Japan.

*** 九州農業試験場 Kyushu National Agricultural Experiment Station, Chikugo, Fukuoka, Japan.

た。いずれの場合も、吸毒源に用いたイネの症状と同じとは限らなかったが、本病特有の上記症状がみられ、ツマグロヨコバイによって本症状が媒介されることを確めた。

タイワンツマグロヨコバイ (*Nephotettix virescens* Distant) による媒介: 鹿児島県農試より分譲うけた、飼育中のタイワンツマグロヨコバイの4~5齢幼虫または成虫による媒介実験を行った。1~2日間の獲得吸汁後、直ちに1~2日間の接種吸汁によって症状が再現され、症状イネの部分純化試料中にウイルス様粒子が電顕観察された。さらに、この症状イネを吸毒源にしたタイワンツマグロヨコバイおよびツマグロヨコバイによる戻し接種によって、本病特有の症状を生じた。タイワンツマグロヨコバイによって本病が媒介されることを認めたが、これに関する実験については後日報告する予定である。

病原ウイルスの純化および電顕観察: 病原がウイルスであるかどうかを確めるため、現地圃場で採集した症状イネ、およびツマグロヨコバイの媒介によって症状を生じたイネを材料にして、ウイルスの純化を行った。方法は主として斎藤¹⁾の Rice yellow orange leaf virus の純化法に準じて行った。材料は一部生のものを用いたが、多くは -20℃ 中に保存し、凍結した材料を室温中で常態にもどし、通常 100 g の材料について純化を行った。部分純化試料について、2% リンタングステン酸溶液、または飽和酢酸ウラニウム溶液を用いた逆染色法によって電顕観察した。電顕観察は、九州農試の日立 HS-7 型または佐賀大学の日本電子 JEM 100 B 型によった。福岡県内の3地点から採集した材料を部分純化した試料中には、いずれも径約 30 nm の球状のウイルス様粒子が観察された (図版 1, 2, 3) また、この症状イネを吸毒源として、ツマグロヨコバイの媒介によりわい小化または一部葉の黄化などの症状を生じたイネを材料として、部分純化を行った試料中にも同様なウイルス様粒子が観察された (図版 4, 5)。この症状イネを吸毒源として、さらに戻し接種によって症状を生じたイネ (レイホウ) の部分純化試料中にも同様の粒子が観察された。いずれも、対照として同一操作を行った正常イネからは、同様なウイルス様粒子は観察できなかった。以上のように、現地で採集した症状イネ、およびツマグロヨコバイの媒介によって生じた症状イネからは、いずれも径約 30 nm の球状ウイルス様粒子が観察された。

ウイルス様粒子の病原性: 昭和48年9月25日に福岡県内で採集した症状イネを吸毒源として、ツマグロヨコバイの媒介によって葉の黄化およびわい小化の症状を呈したイネの茎葉部を材料にして、部分純化を行った試料を実験に供した。まず、電顕観察によって試料液中に径約 30 nm のウイルス様粒子の存在を電顕観察によって確めた後 (図版 6)、非永続的な伝搬を想定して、無毒ツマグロヨコバイ (九州農試虫害第2研究室で経代飼育していた筑後産の虫、4~5齢幼虫) にパラフィルム膜を通して人工的に吸汁させ、イネ苗 (レイホウ, 2.0 葉) の1本に1頭ずつ接種吸汁させて、部分純化液中のウイルス様粒子の病原性を検定した。獲得吸汁および接種吸汁はいずれも 28℃ の陽光定温器内で行い、接種後のイネは 23℃ 温室内において発病の有無を調査した。試料液の人工的吸汁は第1図のようにして行った。500 ml 容広口ポリ瓶を底部より 5 cm の高さで半分に輪切りし、底部の半分をさかさにふせ、ポリ瓶の外底部の凹部に、部分純化試料液に 1% 量の砂糖を加えた液を約 2 ml のせ、その上にパラフィルム膜を張った。その上からポリ瓶の切断した上半分をかぶせ、口部を寒冷紗で覆った。その中にツマグロヨコバイを 18 時間放飼して、パラフィルム膜を通して試料液を吸汁させた。ツマグロヨコバイが明るい方に集まるのを利用して、吸汁させる容器の底の部分

第1図 ツマグロヨコバイに人工的に吸汁させる方法

1) 斎藤康夫 (1971). 熱帯農研集報 21: 73-74.

第1表 ツマグロヨコバイの媒介によるウイルス様粒子の病原性検定

ツマグロヨコバイ No.	吸 毒 後 の 接 種 吸 汁 期 間					
	吸 毒 後 1 日間	1 日後から 2 日間	3 日後から 3 日間	6 日後から 5 日間	11 日後から 7 日間	18 日後から 7 日間
膜 越 し 吸 汁 12	4/48 ○	4/48 ●	1/46 ●	0/32 ○	0/12 ○	0/7 ○
14	●	○	○	—	—	—
15	●	○	○	○	—	—
21	○	●	○	○	—	—
22	○	●	○	○	—	—
25	○	●	○	○	—	—
38	●	○	○	○	—	—
39	●	○	○	○	○	—
腹 腔 内 注 射	0/58		0/25	0/ 7	0/ 2	

注) 膜越し吸毒 18 時間, 接種吸汁 1 頭/イネ苗 1 本, 表中の分数は発病苗数/接種苗数

●: 発病, ○: 無発病, — 虫死亡

を除いて全体を黒紙で覆って陽光定温器の中に入れ, 容器の下の方から光が照射されるようにした。次に永続的な伝搬を想定して, 部分純化試料液をガラス毛细管によって無毒ツマグロヨコバイの腹腔内に注射し, イネ苗に放飼吸汁させて発病をみた。結果を第1表に示す。パラフィルム膜を通して吸汁させたツマグロヨコバイ 48 頭のうち 8 頭によって症状が生じた。この症状を生じたイネからは, 吸毒源に使用した試料液中の粒子と同一粒子が電顕観察された (図版 7)。これにより, 症状イネ汁液の部分純化液中の径 30 nm ウィルス様粒子の病原性が確認できたので, 本粒子はイネわい化病の病原ウィルスであると考ええる。この実験において, 吸毒 (18 時間) 後 24 時間の接種吸汁で 4/48 の伝搬がみられ, その後 48 時間の接種吸汁によっても 4/48 の伝搬がられたが, その後は伝搬率が低下した。

すなわち, 吸毒後ツマグロヨコバイはすぐに媒介能力を示し, その媒介能力保持期間は 4~6 日間で極めて短い期間と思われた。次に, 永続的な伝搬を想定した腹腔内注射実験では, 死虫率が高かったために, 吸毒後長期間の媒介実験ができなかったが, 吸毒後 18 日間の接種吸汁では媒介が認められなかった。

以上の結果から, イネわい化病はウィルス病であると考ええる。病原ウィルスは径約 30 nm の球状粒子であり, ツマグロヨコバイおよびタイワンツマグロヨコバイによって伝搬され, 原則的には non-persistent である。現在までの実験結果によれば, Rice tungro virus, Rice yellow orange leaf virus など, tungro グループのウィルスに類似する点が多く, 今後これらの点についての研究が必要である。

図 版 説 明

イネわい化病ウイルスの電子顕微鏡写真

下記の発病イネ（レイハウ）汁液より部分純化したウイルス粒子（径約 30 nm）

（各図版の倍率は同じである）

1. 福岡県筑後市上富久で採集した病イネ。
2. 同市和泉で採集した病イネ。
3. 福岡県山門郡三橋町で採集した病イネ。
4. (1) の病イネを吸毒源として、ツマグロヨコバイの媒介によって、わい小化の症状を生じた後、葉の黄化がみられたイネ。
5. 同上の実験で、葉の黄化の後にわい小化症状を生じたイネ。
6. ウイルス粒子の病原性検定に使用した試料。
7. 同上の試料を、パラフィルム膜ごしに吸汁したツマグロヨコバイの媒介によって発病したイネ。