イネわい化病株に見出された小球形ウイルスについて*

土居 養二**・山下 修一**・楠 木 学**
荒 井 啓***・与 良 清**

Yoji DOI, Shuichi YAMASHITA, Manabu KUSUNOKI, Kei ARAI and
Kiyoshi YORA: Small spherical virus particles found in
rice plants infected with the "waika" disease

Abstract

Small spherical virus particles, 30 nm in diameter, were found in DN preparations from rice plants infected with the "waika" disease which had been collected in several areas of Kyushu, Japan. The virus particles could be partially purified by differential centrifugation followed by sucrose density gradient centrifugation. In thin section experiments, the same virus particles were observed in vacuoles and in cytoplasm. Development of cytoplasmic inclusion bodies (viroplasms?) containing the virus particles was found in cytoplasm of some vascular cells.

九州に発生するイネわい化病の原因を究明するため、昭和48年典型的わい化病徴を示す病株を数カ所から採集し、それらについて電顕的にウイルス粒子と判定されるものの存否を調べた。その結果、わが国に発生する既知のイネのウイルスのいずれにも合致しない小球形ウイルス粒子がすべての材料から検出された。本報告はこの小球形ウイルス粒子について述べたものである。

本研究に当って病株採集の御援助を頂いた宮崎県農業試験場後藤重喜博士に厚く御礼申上げる。

ダイレクトネガティブ染色法 (DN 法) によるウイルス粒子の検出: 本病の発生が多かった昭和48年8月九州各地 (佐賀県佐賀郡、福岡県三潁郡、宮崎県農試圃場など) で採集した典型的病徴を示すイネわい化病株 (品種、レイホウ、ホウヨク) について DN 法で茎葉ならびに根からウイルス粒子の検出を試みた。その結果、それら供試材料のいずれからも電顕的にウイルス粒子と判定される径約30 nmの小球形粒子が検出された。茎葉からの検出は粒子数がかなり少ないため困難であったが、根からはやや容易に検出された。

この粒子は上記の PTA 染色で崩壊せず、コントラスト高く、これが検出の助けになったが、この点から比較的安定した性質をもつことが示唆された。

ウイルス粒子の純化と電顕観察: 次に、この粒子の純化を病株の茎葉および根を材料として行なった。純化は粒子形状が似ている rice tungro virus の純化法^{1,2)} に準じて行なった。材料を凍結磨砕し、0.005 M の EDTA を含む pH 7.4 の 0.02 M 燐酸緩衝液で抽出し、分画遠心 (8,000 rpm 15 分—40,000 rpm 3 時間、3 回反覆) で濃縮し、次いで蔗糖密度勾配遠心 (蔗糖濃度 10~40%, 25,000 rpm 1.5 時間) で分画し、分画試料中の蔗糖を遠心で除去して、この小球形ウイルス粒子を多量含む部分純化試料を得た (Plate I-1)。この試料でみると、この径 30 nm の小球形粒子は capsid 構造をもち、殆んどが full particle で、empty particle の混在は認められなかった。この所見は rice tungro virus のそれとよく似ているように考えられる。

ウイルス粒子の所在様式: わい化病株の茎葉ならびに根の小片を 4% グルタルアルデヒドを含む燐酸緩衝液 (pH 7.0) で 4 時間前固定した後、同じ緩衝液

* 本研究の一部は文部省科学研究費によった。また、本研究の概要は日本植物病理学会関東部会 (昭和49年11月30日) で発表した。

** 東京大学農学部 Faculty of Agriculture, The University of Tokyo, Tokyo, Japan.

*** 鹿児島大学農学部 Faculty of Agriculture, The University of Kagoshima, Kagoshima, Japan.

1) Gálvez, E. G. (1967). Virology 33: 357-359.

2) Gálvez, E. G. (1968). Virology 35: 418-426.

で2時間洗い、1% OsO₄を含む緩衝液で後固定し、常法でエポン包埋し、薄切の後酢酸ウラニルとクエン酸鉛で2重染色し、電顕で小球形ウイルスの組織内存在と組織、細胞の病的変化について調べた。その結果、電顕的にみて対応する小球形ウイルス粒子は維管束組織の細胞の液胞、細胞質ならびに細胞質内に形成された球～不斉形で被膜をもたない封入体の内外に認められた (Plate I-2, II-3, 4)。その検出頻度はとくに篩部細胞で高く、篩部壊死の例 (Plate II-3) ならびにそれに起因すると考えられる葉緑体の澱粉滞積の例もしばしば認められた。このウイルス粒子の所在様式、維管束組織の細胞で球形封入体が認められる点ならびに葉肉細胞における澱粉滞積の知見は *rice tungro virus* 感染植物における既往の知見^{3,4)}と符合するように思われる。

本研究ではこの小球形ウイルスの感染性については

実験しなかった。しかし、電顕的にウイルス粒子と判定されること、わが国に発生する既知のウイルスのいずれとも合致しないこと、感染組織の電顕観察所見とこの粒子がイネわい化病株に限って認められることなどから病原ウイルスである可能性はきわめて高いものと思われる。病徴はやや異なるようであるが、本研究で得られた粒子形状と組織内所在様式に関する所見から、この小球形ウイルスは *rice tungro virus* (RTV) の群に属することが示唆される。

なお、本病がツマグロヨコバイで媒介されること⁶⁾、本病罹病株から小球形ウイルスが検出され、それが感染性を有するらしいこと^{6,7)}、などの最近の知見は著者らの見解を支持する事実のように思われる。今後 RTV との直接の比較が必要であろう。

(1974年10月20日受理)

Explanation of Plates

Plate I.

1. Negatively stained preparation showing partially purified virus particles from rice plants infected with the "waika" disease. $\times 150,000$
2. Phloem parenchyma cell of rice leaf infected with the "waika" disease. Small spherical virus particles are seen in vacuoles and in cytoplasmic inclusion body. $\times 45,000$

Plate II.

3. Necrotic phloem cell of rice leaf infected with the "waika disease. The cell is filled with small spherical virus particles. $\times 55,000$
4. Small spherical virus particles and large cytoplasmic inclusion body in bundle sheath cell of rice root infected with the "waika" disease. $\times 30,000$

3) Gálvez, E. G., Shikata, E., and Miah, M. S. A. (1971). *Phytopath. Z.* 70: 53-61.

4) IRRI (Int. Rice Res. Inst.) (1967). *Annual Report 1966*. Los Baños, Philippines. 302 p.

5) 横山佐太正・酒井久夫 (1974). *日植病報* 40: 209.

6) 西 泰道・木村俊彦・前島 勇 (1974). *日植病報* 40: 209.

7) 西 泰道 (1974). *植物防疫* 28: 343-345.

Plate I