学術奨励賞研究要旨

植物病原菌類のウイルスならびにプラスミド様 DNA に関する研究*

平 塚 和 之**

Kazuyuki HIRATSUKA**: Studies on Viruses and Plasmid-like DNAs in
Phytopathogenic Fungi

近年、各種糸状菌のウイルスあるいはプラスミド様 DNA の存在が報告され関心を呼んでいるが、その分布と性状は必ずしも明らかではない。本研究は植物病原糸状菌についてウイルスおよびプラスミド様 DNA の探索と性状究明を目的として行い、それらの広範囲の分布と多様な性状について新たな知見を得ることができた。

1. さび病菌 (Rust fungi) のウイルス

各地で採集したさび病菌について、DN 法、超薄切片法を用いてウイルス粒子の探索を行ったところ、既報の 2 属 7 種に加え新たに 6 属 17 種で形状の類似する球状ウイルスが検出され、そのきわめて広範囲の分布が判明した。このうちメダケ赤衣病菌ウイルス (*Stereosporium corticioides* virus, StcV)、コムギ赤さび病菌ウイルス (*Puccinia recondita* virus)、ネギ赤さび病菌ウイルス (*Puccinia allii* virus)、ウメ変葉病菌ウイルス (*Blastospora smilacis* virus) など 7 種のウイルスゲノムが分子量 3.0~3.5 Md で 1~3 成分の 2 本鎖 RNA (dsRNA) であることを明らかにした。さらに、純化 StcV を用いてさび病菌ウイルスとしては最初の抗血清を作製し、その血清学性状を調べたところ、他のさび病菌ウイルスとの反応は認められなかったが、採集地・採集年の異なる StcV と明瞭に反応し、同一ウイルスが広く分布することが示された。また、超薄切片法によるさび病菌胞子の電顕観察と各種さび病菌の生活環との関係から、さび病菌ウイルスは各種胞子を通じて垂直伝搬されるものと考えられた。

2. その他の植物病原菌のウイルス

保存菌株および本研究で新たに分離した各種植物病原糸状菌についてウイルス粒子の探索を行い、新たにオオムギ斑葉病菌 (*Pyrenophora graminea*)、灰色かび病菌 (*Botrytis cinerea*)、カンキツ白かび病菌 (*Geotri-*

chum candidum)、*Alternaria alternata* などから径約 30~50 nm の球状ウイルスを検出しそれらの性状について調べた。各ウイルス粒子は液体培養した菌体を用いて純化され、ゲノムはいずれも dsRNA であると結論された。*P. graminea* のウイルスについては詳細に検討を加え、免疫電顕法による血清関係、外被タンパク質およびゲノム核酸の分析結果より少なくとも 5 種類のウイルスが同一圃場内より得た菌株間に混在していることが判明した。また、*B. cinerea* から大きさの異なる 3 種類の球状粒子に加え、大きさ約 25×400 nm の桿状粒子が、*G. candidum* からは粒子表面に 12 個のスパイク構造をもつ球状粒子がそれぞれ検出され、形態学的にも興味をもたれた。

3. 植物病原菌のプラスミド様 DNA

核酸試料の調製法を検討し、数種植物病原糸状菌についてスクリーニングを行ったところ、*B. cinerea*、*P. graminea* およびムギ類立枯病菌 (*Gaeumannomyces graminis*) よりプラスミド様 DNA (pDNA) が見いだされた。制限酵素処理と電顕観察によりこれらの pDNA は大きさ約 2~11 kb の線状分子であることが示され、いずれもミトコンドリア分画に多く含まれることが判明した。また、*B. cinerea* の 3 種類の pDNA の末端部分には S1 ヌクレアーゼ感受性のヘアピン様構造が、*G. graminis* の 2 種類の pDNA の末端部分には約 500 bp の逆繰り返し構造 (inverted repeat) がそれぞれ存在することが明らかになった。

以上の研究は東京大学農学部植物病理学研究室において土居養二教授 (現玉川大学教授)、土崎常男教授、山下修一助教授のご指導のもとに実施したものである。また、農林水産省農業研究センター、同農業生物資源研究所その他の多くの方々からご指導とご鞭撻をいただいた。ここに記して深謝の意を表する。

* 平成 4 年 5 月 26 日 平成 4 年度大会で受賞した学術奨励賞研究の要旨

** ロックフェラー大学植物分子生物学研究室 Laboratory of Plant Molecular Biology, The Rockefeller University, 1230 York Avenue, New York, NY10021, U.S.A.