

ルーピンにおけるインゲン黄斑モザイクウイルス退緑班系統の病原性の解析

生物資源科学専攻 植物育種科学講座 植物病原学 中野 展裕

1. はじめに

インゲン黄斑モザイクウイルス退緑班系統 (*Bean yellow mosaic virus* CS-strain, BYMV-CS) は主にマメ科植物に感染し、モザイクや退緑等の病徴を示す。ルーピンはマメ科ハウチワマメ属の植物で、茎葉試料や緑肥の他、種子は食用として世界的に栽培され、病害の1つとしてBYMVが大きな被害をもたらしている。しかしながら、BYMV-CSをルーピン2品種に汁液接種した結果、多くの接種個体が病徴を示さなかった。ただし、一部の接種個体では全身感染し、激しい病徴を示した。全身感染した子孫ウイルスを再度ルーピンに接種した所、今度は多くの接種個体で全身感染したことから、BYMV-CSが変異してルーピンに全身感染できるようになったのではないかと思われた。そこで、この変異部位を特定することで、BYMVのルーピンに対する病原性に関わるウイルス因子を同定できるのではないかと考え、以下のように解析を進めた。

2. 方法

BYMV-CSと、比較としてBYMV 90-2系統 (BYMV-90-2)をルーピン2品種に汁液接種し、20°Cで生育した。全身感染個体の上葉を接種源に、ルーピンに3代系代接種して病原性の違いを比較し、RT-PCRで感染を確認した。さらに、蛍光タンパク質YFPを発現するBYMV-CS (BYMVCS-YFP/CP)をルーピンに汁液接種し、20°Cまたは24°Cで生育した。全身感染した個体の上葉からRNAを抽出し、ダイレクトシーケンスでBYMVCS-YFP/CPの子孫ウイルスゲノムのORF全塩基配列を決定した。親株の配列と比較した。さらに変異箇所を含むcDNA断片をPCRにより増幅し、子孫ウイルスの変異を制限酵素処理や電気泳動により長さを比較することで確かめた。変異箇所周辺の塩基配列をNCBIデータベース上のBYMVの15系統とC1YVW-No. 30の配列と比較した。

3. 結果と考察

比較に用いたBYMV-90-2はルーピンに100%感染し、糸葉、モザイク、萎縮等の激しい病徴を示したのに対し、BYMV-CSは20個体中1個体でのみ同様の病徴を示した。BYMV-CS全身感染個体の上葉を接種源にルーピンに系代接種した所、感染効率は1代目の5%から3代系代時には85%に上昇した。さらに、BYMVCS-YFP/CPも10個体中1個体が全身で激しい病徴を示した。そして、病徴を示した個体のみで上葉でYFP蛍光が検出され、RT-PCRでその全身感染を確認した。これらの結果から、BYMV-CSはルーピンに全身感染できないが、変異により全身感染できるようになっていると思われた。全身感染したBYMVCS-YFP/CP子孫ウイルスゲノムのORF全塩基配列をダイレクトシーケンスで決定し、親株の配列と比較した所、P1領域N末端の15塩基欠損と、NIb領域N末端のアミノ酸置換を伴う点変異が同定された。さらに両変異を制限酵素処理と電気泳動で確かめた。両変異箇所の配列は他のBYMVの系統とC1YVW-No. 30で高く保存されていた。その後に行った接種試験により、実はBYMV-CSはルーピンを24°Cで生育すると、変異が無くとも全身感染し得る可能性が示された。

4. まとめ

BYMV-CSのルーピンに対する病原性は温度感受性を示し、接種ルーピンを24°Cで生育すると全身感染し得るが、20°Cで生育すると全身感染することができない。しかしながら、P1とNIbに変異を獲得することにより、20°Cで生育した場合にも、全身感染するようになる可能性が示された。