

マツノザイセンチュウの酵素多型

林試九州支場 清原 友也
白石 進
上中 久子
林試四国支場 鈴木 和夫

1. はじめに

マツノザイセンチュウ培養個体群の間にはマツに対する病原性の強さや繁殖力において顕著な違いが認められる。これは遺伝的変異性の一つの現われであり、本線虫が遺伝的変異にとむ生物集団であることが予測される。本種の遺伝的変異を探る手がかりとして、アイソザイム分析を行っているが、今回は種内変異把握のための有効な酵素種を探索する目的で数種のアイソザイムを調べたので報告する。多大のご教示をいただいた当九州支場保護部長横田俊一博士に深謝する。

2. 材料と方法

供試したマツノザイセンチュウ（以下線虫）個体群の来歴を表-1に示した。全国4ヶ所からマツノマダラカミキリを1ヶ所につき2～3頭とりよせ、各個体から分散型4期幼虫50頭を抽出し、これを基礎に培養個体群を作成した。常法に従って線虫を25℃で1週間培養した。ネル布地二枚を重ねてベルマン法で3～5時間分離し、殺菌蒸留水を用い遠心分離器で3回洗浄した。濃厚けん濁液をつくり1個体群につき0.34 ml（約 6×10^5 頭）ずつ分取した。これに蔗糖液を最終濃度が0.5 Mになるように加えホモジネートした。ホモジネート後、 $12,000 \times g$ で20分間遠心分離し、上清液をさらに $30,000 \times g$ で90分間遠心分離し、その上清 $10 \mu l$ を泳動に供した。ホモジネートから遠心分離まで0℃下で行なった。分析はアクリルアミドゲル垂直平板電気泳動法により、おおむねDavisの原法に準じ、4℃、 10 mA/cm で約3時間泳動させた。泳動後各酵素の染色を行った。

3. 結果と考察

泳動を行った10個体群の中から各酵素につき代表的な5個体群のアイソザイムパターンを模式図で示した（図-1）。以下各酵素種につき述べる。

エステラーゼ（Est）：この酵素では全部で約20個のアイソザイムが検出された。アイソザイムパターンは個体群ごとに異なり、バンド数においてもC-2、D-2の7本からB-2の12本と差違がみられ、エ

ステラーゼアイソザイムは多型であることが判った。

ロイシンアミノペプチターゼ（Lap）：約9個のアイソザイムが検出されたが、泳動速度の遅いバンド群については多型であることが伺われた。

アスパラギン酸アミノ転位酵素（GOT）：この酵素ではRf 28の位置に1本のバンドが検出され、今回調べた全個体群に共通であった。

酸性フォスファターゼ（Acp）：Rf 17, 48および52のバンドは全個体群に共通して認められたが、このほかさらに1本のバンドの現われる個体群もあった。

アルコール脱水素酵素（ADH）：Rf 10前後に2本のバンドが現われるのが共通的であったが、D-2

表-1 供試線虫個体群
 番号 採取年月 採取地
 A-1
 A-2 1975 茨城県三戸市
 A-3
 B-1
 B-2 1975 京都市桃山町
 B-3
 C-1 1975 熊本県芦北町
 C-2
 D-1 1975 香川県仲南町
 D-2
 ではやや異なったアイソザイムパターンを示した。リンゴ酸脱水素酵素（MDH）：全部で約11個のアイソザイムが検出され7個は調査個体群に共通していた。D-2では若干異なるパターンを示した。

以上6酵素のアイソザイムの中でエステラーゼアイソザイムが個数も多く、線虫個体群間で変化が大きく、もっとも多型であることが明らかになった。ついで、ロイシンアミノペプチターゼアイソザイムについても個体群間に若干のパターンの違いが認められた。他の酵素種については個体群間に著しい違いがなかった。

従って、今後本線虫の遺伝的変異を酵素レベルで把握するためにはエステラーゼアイソザイムに着目すべきと思われる。エステラーゼアイソザイムパターンについては今回調査を行った4ヶ所の間で差違が認められるだけでなく、同一ヶ所内でも差違が認められた。これは、本線虫のエステラーゼアイソザイムが同一地域集団内でも多型を示すものか、あるいは subculture

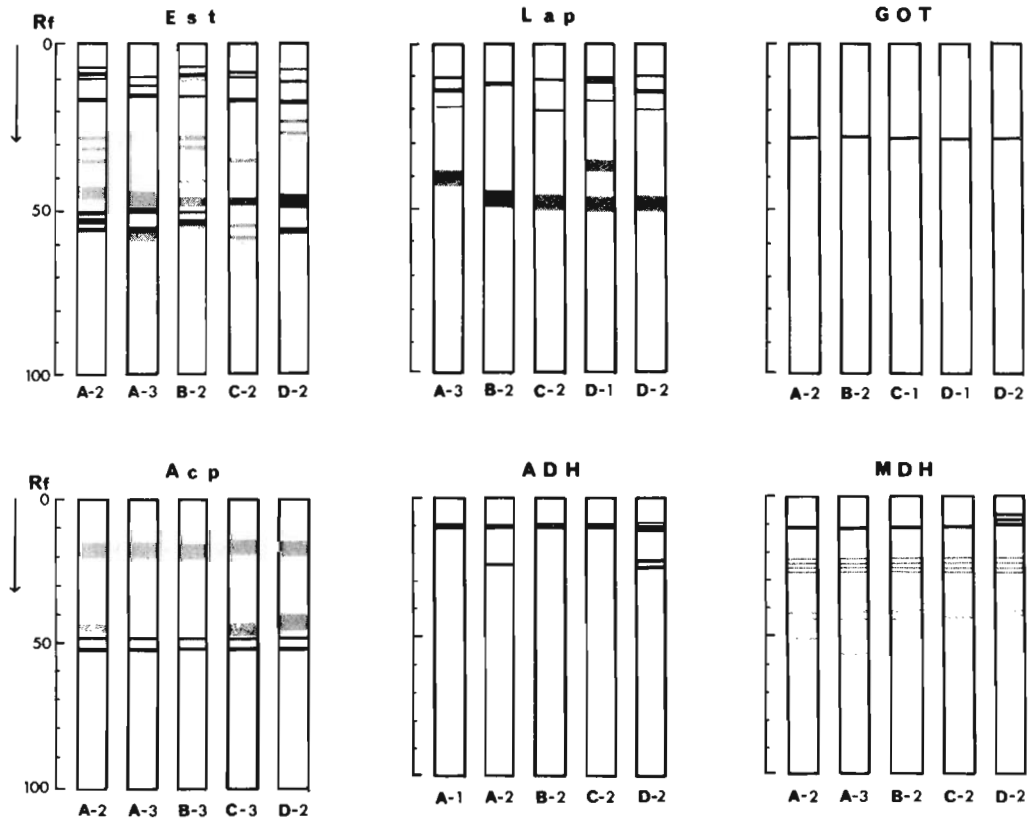


図-1 マツノザイセンチュウ6酵素種のザイモグラム

を続けたために生じたものか、今後検討の必要がある。

線虫は虫体が小さく個体ごとのアインザイムを調べられないのが難点であるが、今後は、個体に代わるものとして単一雌系統を作成し、地域集団内あるいは集団間のエステラーゼアインザイム分析を進めたい。

引用文献

- (1) 清原友也：日林九支研論 30, 241～242, 1977
- (2) 茨城親義ほか：日林九支研論 31, 211～212, 1978