

ヤマノイモモザイクウイルスの特性と生物防除

秋田県立大学生物資源科学部
生物生産科学科植物保護学講座

ふじ
藤

しん
晋
いち
一

はじめに

日本において^{モモ}蔬菜として広く栽培されているヤマノイモ (*Dioscorea*) には *D. japonica*, *D. opposita*, *D. alata* の3種類が知られている。植物分類学上のヤマノイモは *D. japonica* で山野に自生するジネンジョを指し、ナガイモは *D. opposita* のことを指す。ナガイモはさらにイモの形態からながいも群, いちょういも群, つくねいも群に分かれている。また東南アジア原産のダイジョ (*D. alata*) は戦前台湾から導入され千葉県以南で栽培されている。ヤマノイモは日本において“とろろいも”と呼称される蔬菜であるが、海外においてはヤムと呼ばれる経済的にも重要な食用作物である。

日本のヤマノイモに感染するウイルスとしてはヤマノイモモザイクウイルス (奥山・坂, 1978), ヤマノイモえそモザイクウイルス (福本・栃原, 1978), ソラマメウイルトウイルス (石川ら, 1985) が報告されている。これら3種のうちヤマノイモモザイクウイルスはながいも群を除くヤマノイモ類に広く感染するウイルスである。ヤマノイモモザイクウイルスに感染したヤマノイモはモザイク, グリーンバンディングおよび萎縮症状を引き起こし, イモの収量が低下する (図-1)。本ウイルスの日本における発生については古くから知られており, 奥山・坂 (1978) はその粒子形態から海外のヤムに発生している *Yam mosaic virus* (YMV: genus *Potyvirus*) (THOUVENEL and FAUQUET, 1979) と同一種であると結論づけていた。しかしながら, 近年, ウイルスの分類ではウイルスゲノムの塩基配列をもとにした分子分類が利用されており, 特にヤマノイモモザイクウイルスが属する *potyvirus* では外被タンパク質 (CP) および3' 非翻訳領域 (3' UTR) の相同性による分類手法 (SHUKLA and WARD, 1988; FRENKEL et al., 1989) がウイルスの分類に広く取り入れられるようになってきている。また, YMV の全ゲノム配列も明らかとなっており (ALEMAN et al., 1996), 日本のヤマノイモに発生しているウイルス



図-1 ヤマノイモモザイクウイルスに感染したいちょういも (a) と弱毒系統 JYMV-M に感染したジネンジョ (b)

スが YMV と同一種か否かを分子分類学的に分類することが可能となった。

そこで, 本稿では日本のヤマノイモに発生している *potyvirus* を分子分類した結果, YMV とは全く異なる2種のウイルスによることが明らかとなったのでここにその特性もふまえて紹介する。また, 弱毒ウイルスを利用したモザイク病防除の可能性についてもふれる。

I ヤマノイモモザイクウイルスの分子分類

ヤマノイモモザイクウイルスは YMV と同一種として位置づけられてきたが, ヤマノイモモザイクウイルスは YMV が感染可能な *Nicotiana benthamiana*, *N. megalosiphon* に感染せず, 感染宿主がヤマノイモ属に限られていた。また, 藤田ら (1981, 1984) は YMV の抗血清がヤマノイモモザイクウイルスと反応しないことを報告している。そこで, 筆者らはモザイク症状を呈したジネンジョ葉から精製したウイルスを材料として, 全ウイルスゲノムを決定し, YMV のゲノム構造と比較した。その結果, *Turnip mosaic virus* (TuMV) に最も近縁な別種のウイルスであることが明らかとなり, 本ウイルスの英名を Japanese yam mosaic virus (JYMV) とすることを提唱した (FUJI and NAKAMAE, 1999)。さらに Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction

Characterization and Biocontrol of Yam Mosaic Potyviral Disease. By Shin-ichi FUJI

(キーワード: ヤマノイモモザイクウイルス, ヤマノイモマイルドモザイクウイルス, 弱毒ウイルス, ヤマノイモ)

表-1 モザイク症状を呈した日本産ヤマノイモに発生している *potyvirus*

作物名	採集地	供試株数	感染株数				
			JYMV	YMMV	JYMV+YMMV	YMV	
<i>Dioscorea japonica</i>	ジネンジョ	秋田	17	7	3	7	0
〃	〃	静岡	7	6	1	0	0
〃	〃	愛知	7	7	0	0	0
〃	〃	岐阜	10	10	0	0	0
〃	〃	京都	2	0	0	2	0
〃	〃	愛媛	9	8	0	1	0
<i>Dioscorea opposita</i>	やまといも	青森	7	7	0	0	0
〃	つくねいも	秋田	11	11	0	0	0
〃	やまいも	京都	2	2	0	0	0
〃	いちょういも	山口	16	11	0	5	0
〃	やまといも	市販	1	1	0	0	0
〃	つくねいも	〃	1	1	0	0	0
〃	いちょういも	〃	1	1	0	0	0
<i>Dioscorea alata</i>	ダイジョ	千葉	1	0	1	0	0
〃	〃	静岡	2	0	2	0	0
〃	〃	愛知	4	0	0	4	0
〃	〃	鹿児島	1	0	1	0	0
〃	〃	市販	1	0	0	1	0

(RT-PCR) 検定によってモザイク症状を呈したヤマノイモに感染しているウイルスが JYMV であることが明らかとなった (藤・中前, 1999)。一方, 海外の *D. alata* にモザイク症状を引き起こすウイルス Yam mild mosaic virus (YMMV) (MUMFORD and SEAL, 1997) が YMV, JYMV とは別種であることが明らかとなった (FUJI et al., 1999)。そこで, 日本産ダイジョ (*D. alata*) に YMMV が発生しているか否かを JYMV に感染していることが確認済みであったウイルス標品を材料にして, RT-PCR 検定を行った。その結果, 本ウイルス標品には JYMV に加えて, YMMV が重複感染していることが示唆され, CP および 3' UTR の塩基配列を解析した結果, YMMV の存在が明らかとなった (藤ら, 2001)。JYMV に加えて, YMMV の発生が明らかとなったため, モザイク症状を呈したヤマノイモ 100 株について, 3 種の *potyvirus* (JYMV, YMV, YMMV) の日本における発生状況を RT-PCR 検定によって調査した。その結果, いずれのヤマノイモからも JYMV, YMMV の少なくともいずれかが検出されたが YMV は検出されなかった。また, JYMV と YMMV が重複感染している株も認められた (表-1)。

以上の分子分類と RT-PCR 検定の結果, ヤマノイモモザイクウイルスは YMV とは全く別種のウイルスを示していることが明らかとなるとともに, 2 種類のウイルスの存在が明らかとなった。そこで JYMV の和名をヤマノイモモザイクウイルス, YMMV の和名をヤマノ

イモマイルドモザイクウイルスとするように提案した (藤ら, 2001)。

II ヤマノイモモザイクウイルスの重複感染と多様性

筆者らは JYMV によるモザイク病の防除に利用できる弱毒ウイルスを選抜し, その防除効果を調べるに当たって, 弱毒系統と強毒系統を識別できる方法として RT-PCR-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) の検討を行った。JYMV 感染したヤマノイモ葉 1 枚から抽出した RNA を鋳型として RT-PCR を行った結果, 目的とする単一のバンドが増幅されたが, このバンドを制限酵素処理すると株によっては異なる配列をもつ JYMV が重複感染していることが示唆された (藤ら, 1999)。さらに, ヤマノイモ葉 1 枚から抽出した RNA を鋳型として増幅した CP 遺伝子をクローニングし塩基配列を決定したところ, クローンごとに配列が異なる場合がしばしば認められ, 株によっては異なる配列をもったウイルスが重複感染していることが明らかとなった。また, 選抜した弱毒ウイルスの弱毒機構を解明するために, 弱毒系統 JYMV-M の全ゲノム塩基配列を決定した。その結果, JYMV-M は強毒系統 JYMV-J1 とは同一種のウイルスではあるが, ゲノムの相同性は他の *potyvirus* で認められているよりもはるかに低く, JYMV が多様性に富んでいることが示唆された (FUJI and NAKAMAE, 2000)。JYMV と同様 YMV

も多様性に富んでいることが報告されているが (ALEMAN et al., 1997; BOUSALEM et al., 2000), YMMV については多様性の幅は比較的小さい (BOUSALEM et al., 2003)。この株内における重複感染, および多様性についてはヤマノイモが栄養繁殖性作物で, ウイルスが種芋によって伝搬されることと密接に関係していると考えられ, 現在さらなる解析を進めている。

III 弱毒ウイルスを利用したモザイク病の防除と実用化

ヤマノイモは栄養繁殖作物であることから, 弱毒ウイルスを接種したヤマノイモを抵抗性品種と同等に利用できると考え, 弱毒系統の選抜ならびに, 強毒系統の弱毒化を検討した。ヤマノイモは粘性が高く, 部分精製したウイルス標品あるいはアブラムシによる接種でのみ感染可能なため, 他のウイルスで行われているように強毒系統を弱毒化することは容易ではなく, 実際, 様々な処理を行ったが, 安定した弱毒ウイルスを得ることはできなかった。

そこで, ウイルス感染株の中から弱毒ウイルスを選抜した。ヤマノイモから採取した 346 個のムカゴを播種し, 第 1 葉が無病徴の株についてウイルス検定を行い, 陽性の 48 株について 3 年間維持した。その結果, ほとんどの株では発病もしくはウイルスが検出されなくなり, 最終的に 1 株のみが安定して病徴を示さなかったことから, 弱毒系統 JYMV-M (図-1) として詳細な実験を行った。JYMV-M は部分純化標品, あるいはアブラムシによって, ウイルスフリーゼネンジョに感染させることができ, 得られた株に強毒系統の部分純化標品を接種しても, 強毒系統の感染は認められなかった。また, 収量および品質に JYMV-M が及ぼす影響を調べた結果, 収量はウイルスフリー苗と同等で, 糖度, 粘度, 色についてもウイルスフリー苗と同等であった (藤ら, 2000)。同様に鍛冶原ら (2000) もいちよういもから選抜した T-3 系統が, 強毒系統に対して高い防除効果を示すことを報告している。しかしながら, さらに数年にわたり JYMV-M 接種ゼネンジョを維持し続けた結果, 種芋によっては, 圃場で発病する現象が認められた。これらの株に感染しているウイルスについて調査したところ, JYMV-M が検出されず, 強毒系統が感染している株が認められた。一方, JYMV-M を選抜した基株のゼネンジョは安定して JYMV-M が感染しており, 現在に至っても発病は認められていない。また, 発病した株の中には異種のウイルス (YMMV, BBWV-2) に感染した株も認められており, 異種ウイルスに対しての防除

効果は当然のことながら, 全く認められなかった。

以上の栽培試験圃場における結果から, 弱毒系統である JYMV-M の実用化に際しては少なくとも次のようなことが必要となると考えられる。一つには人為的に接種した JYMV-M は必ずしも安定してヤマノイモに感染しておらず, 得られた種芋に感染していない場合がある。また, 他のウイルスの汚染も起こり得る。したがって, 種芋を供給する現場では弱毒ウイルス感染株の管理, 検査態勢を整える必要がある。また, ヤマノイモのウイルス病には複数種存在するとともに, 弱毒系統が強毒化する可能性がある。したがって, 本弱毒ウイルスの利用が必ずしも万能なものではないことを農家に理解させ, 栽培させる必要があるとともに, ウイルス症状を呈した株の原因を解明できる体制が必要であると考えられる。

おわりに

分子分類学的手法を用いて, これまでヤマノイモモザイクウイルスとされていたウイルスには JYMV と YMMV の 2 種類が存在することが明らかとなった。また, これまで *Carlavirus* に属するとされてきたヤマノイモえそモザイクウイルス (ChYNMV) が実は *Macluravirus* に属することが明らかとなっている (KONDO, 2001)。さらに, BBWV-2 がヤマノイモのモザイク病の重要な病原ウイルスであることも明らかとなった (近藤ら, 2002)。筆者らは, これらウイルスの伝搬経路について解析を行っており, YMMV はダイジョが日本に導入された際に感染イモが導入されたことによると推察している (BOUSALEM et al., 2003)。また, JYMV については野外に自生しているヤマノイモにしばしば感染していることから, 日本に古くから存在するウイルスではないかと推察しており, 現在調査を進めている。

一方, ながいもが JYMV に感染した報告はなく, 反対にゼネンジョに ChYNMV が感染した報告はない。ゼネンジョとながいもは交配可能であり, 雑種が作出されている (浅野・今川, 1999)。雑種植物がこれらウイルス病に対して抵抗性を示している報告もあり, 今後ウイルス病の防除法としての期待も寄せられる。また, 地域特産物として選抜されたヤマノイモの中にはウイルス病に抵抗性をもつと思われる株も存在するといわれており, こうした抵抗性植物の探索, さらにそれを利用した優良品種の育成が望まれる。

引用文献

- 1) ALEMAN, M. E. et al. (1996) : Arch. Virol. 141: 1259~1278.
- 2) ——— et al. (1997) : J. Gen. Virol. 78: 1253~1264.

- 3) 浅野裕司・今川政弘 (1999): 園学雑 68: 591~597.
 4) BOUSALEM, M. et al. (2000): J. Gen. Virol. 81: 243~255.
 5) ——— et al. (2003): Infect. Gen. Evol. (inpress).
 6) FUJI, S. and H. NAKAMAE (1999): Arch. Virol. 144: 231~240.
 7) ——— et al. (1999): ibid. 144: 1415~1419.
 8) ——— and H. NAKAMAE (2000): ibid. 145: 635~640.
 9) 藤 晋一・中前 均 (1999): 日植病報 65: 207~210.
 10) ———ら (2000): 同上 66: 35~39.
 11) ———ら (2001): 同上 67: 261~263.
 12) 藤田 隆ら (1981): 同上 47: 103 (講要).
 13) ———ら (1984): 同上 50: 110 (講要).
 14) 福本文良・栃原比呂志 (1978): 同上 44: 1~5.
 15) FRENKEL et al. (1989): J. Gen. Virol. 70: 2775~2783.
 16) 石川 亮ら (1985): 日植病報 51: 352 (講要).
 17) 鍛冶原 寛ら (2000): 山口農試研報 51: 33~38.
 18) KONDO, T. (2001): Arch. Virol. 146: 1527~1535.
 19) 近藤 亨ら (2002): 日植病報 68: 239 (講要).
 20) MUMFORD, R. A. and S. E. SEAL (1997): J. Virol. Meth. 69: 73~79.
 21) 奥山 哲・坂 ひとみ (1978): 茨大農学報 26: 29~34.
 22) SHUKLA, D. D. and C. W. WARD (1988): J. Gen. Virol. 69: 2703~2710.
 23) THOUVENEL, J. C. and C. FAUQUET (1979): Ann. Appl. Biol. 93: 279~283.

発行図書

植物ウイルス同定のテクニックとデザイン

大木 理 著 B5判 本文184頁
 定価 1,890 円税込み (本体 1,800 円) 送料 310 円

植物ウイルス同定のための効率的に的確な実験を進める場合のポイントを解説した実験マニュアル書です。同定のために不可欠なウイルスの記載データを一覧として掲載。

お申し込みは直接当協会へ、前金 (現金書留・郵便振替) で申し込むか、お近くの書店でお取り寄せ下さい。
 社団法人 日本植物防疫協会 出版情報グループ 〒170-8484 東京都豊島区駒込1-43-11
 郵便振替口座 00110-7-177867 TEL (03)3944-1561(代) FAX (03)3944-2103 メール: order@jppa.or.jp

発行図書

日本植物病名目録(初版)

日本植物病理学会 編 B5判 本文734頁+索引約124頁
 定価 11,550 円税込み (本体 11,000 円) 送料サービス

1960年から発行された日本有用植物病名目録: 第1巻(食用作物・特用作物・牧草・芝草), 第2巻(野菜および草花), 第3巻(果樹), 第4巻(針葉樹, 竹笹), 第5巻の広葉樹(林木・観賞樹木)までの全5巻に新規に「きのこ」を追加して一冊に纏めた見やすい大植物病名目録です。掲載内容は, 食用作物, 特用作物, 牧草及び芝草, 野草, 野菜, きんこ, 草花, 果樹, 針葉樹, 竹笹, 広葉樹, 索引(宿主和名, 宿主学名, 病原学名, 病原和名, ウイルス・ウイロイドの種名・略号・和名・科名および属名一覧表)。

お申し込みは直接当協会へ、前金 (現金書留・郵便振替) で申し込むか、お近くの書店でお取り寄せ下さい。
 社団法人 日本植物防疫協会 出版情報グループ 〒170-8484 東京都豊島区駒込1-43-11
 郵便振替口座 00110-7-177867 TEL (03)3944-1561(代) FAX (03)3944-2103 メール: order@jppa.or.jp

発行図書

和英 応用植物病理学用語集

濱屋悦次 編著 B6判 本文506頁
 定価 4,983 円税込み (本体 4,660 円) 送料 340 円

植物病理学研究に必要な用語について, 植物病理学はもちろん, 農薬, 防除, 生化学, 分子生物学などについても取り上げ(約6,800語), 紛らわしい用語には簡単な説明を付けそれぞれを英和, 和英に分けてアルファベット順に掲載し, また, 付録には植物のウイルス, 細菌, 線虫の分類表を付した用語集です。植物病理学を学ばれる方はもちろん, 広く植物防疫の関係者にご活用いただきたい用語集です。

お申し込みは直接当協会へ、前金 (現金書留・郵便振替) で申し込むか、お近くの書店でお取り寄せ下さい。
 社団法人 日本植物防疫協会 出版情報グループ 〒170-8484 東京都豊島区駒込1-43-11
 郵便振替口座 00110-7-177867 TEL (03)3944-1561(代) FAX (03)3944-2103 メール: order@jppa.or.jp