

# 我が国に分布するコムギ縞萎縮ウイルスのゲノム配列から見た多様性

農研機構 北海道農業研究センター おおき たけひろ  
大 木 健 広

## はじめに

小麦の自給率は10%台で推移しているが、めん用小麦‘きたはなみ’や超強力小麦‘ゆめちから’等特色のある品質の良い小麦品種が開発され、さらなる自給率向上に向け安定生産の努力が続けられている。小麦の安定生産を阻害する要因はいろいろあげられるが、土壌伝染性ウイルス病の発生もその一つである。近年、小麦の主産地である北海道においても、小麦の過作化などにより、土壌伝染性ウイルス病の一つであるコムギ縞萎縮病の発生が目立つようになった。‘ゆめちから’は強い縞萎縮病抵抗性を示すため、縞萎縮病対策としても期待される一方、‘ゆめちから’の抵抗性はウイルスの感染を完全に防ぐものではなく、気象条件などによっては発病する場合もある(大木・眞岡, 2014)。ウイルス抵抗性の詳しい仕組みがわからない状況で、抵抗性品種のみに頼ったウイルス防除は抵抗性を打破する新系統のウイルスの発生を助長しかねない。そこで、筆者らは、小麦のウイルス抵抗性の作用機作を明らかにすることを最終目標に、まずウイルス側の病原性にかかわる因子を明らかにするため、日本各地から採集したコムギ縞萎縮ウイルス(*Wheat yellow mosaic virus*: WYMV)のゲノム配列の解析を行った。その結果、日本におけるWYMVの遺伝的多様性の一端が明らかとなったので、本稿でご紹介したい。

## I コムギ縞萎縮ウイルスの発生状況

WYMVは、1960年代にコムギ縞萎縮病の病原ウイルスとして報告されて以降、日本各地で発生している。世界的には、中国と日本のみで発生が報告されている。WYMVは、小麦において、著しい株の萎縮や葉の黄化等の症状を引き起こし、収量の減少をもたらす。WYMVは、土壌中に存在するネコブカビ類 *Polymyxa graminis* によって媒介されるが、*P. graminis* の感染適温は13~15℃と考えられるため、秋まき小麦の場合、播種後1~1か月半の間にWYMVが媒介されると考えら

れる(大藤, 2005)。その後、冬期に少しずつウイルスが増殖し、春先に発病する(大藤, 2005)。

北海道においても、1994年に発生が確認されて以降、抵抗性「弱」コムギ品種‘ホクシン’の作付けの拡大や連作の増加等の理由により、発生地域が全道に拡大している(堀田ら, 2011)。媒介生物である *P. graminis* は耐久性のある休眠胞子塊を作り、体内にウイルスを取り込んだまま、長期間土壌中に残存する。そのため、一度WYMVが発生すると根絶は難しく、輪作によっても抑えることができない。土壌くん蒸剤の使用は、一定の防除効果が認められるがコスト・労力的に現実的ではなく、晩種などの耕種的方法是初期生育が確保できないなど問題がある。そのため、抵抗性品種の利用が唯一有効な防除手段と考えられ、近年、WYMVに対する抵抗性遺伝子のゲノムマッピングが精力的に行われている(NISHIO et al., 2010; ZHU et al., 2012; KOJIMA et al., 2015; SUZUKI et al., 2015)。

## II 日本各地から採集したWYMVの病原型とゲノム配列の解析

WYMVは、I~III型の病原型に分かれる複数の系統が存在することが報告されている(大藤, 2006)。病原型の判別は、検定品種として‘フクホコムギ’、‘ナンプコムギ’、‘北海240号’の3品種を用い、葉にWYMVを接種し、感染性の違いで判別する。I型は‘フクホコムギ’と‘ナンプコムギ’、II型は‘ナンプコムギ’、III型は3品種ともに感染する。今回、日本各地からWYMVを14株採集し、改めて上記3品種に接種したところ、以前の結果と同じく病原型I~IIIに分かれた(図-1)。また、その分布には地域性が見られ、北日本にはII型、関東以南にはI型、九州地方にはIII型のWYMVが存在しており、以前の調査時点から病原型の地域的な分布は変化していなかった(図-1)。

次に、病原型を決めているウイルス側の要因、すなわち病原型に関与するウイルスゲノム配列のアミノ酸残基を明らかとするため、各株の全ゲノム配列を決定し、アミノ酸配列を比較した(OHKI et al., 2014)。WYMVは、*Potyviridae* 科 *Bymovirus* 属ウイルスで、約7,600塩基のRNA1ゲノム、約3,600塩基のRNA2ゲノムの2文節ゲ

Diversity of Genomic Sequence of *Wheat yellow mosaic virus* in Japan. By Takehiro OHKI

(キーワード: コムギ縞萎縮ウイルス, ゲノム配列, 遺伝子型)

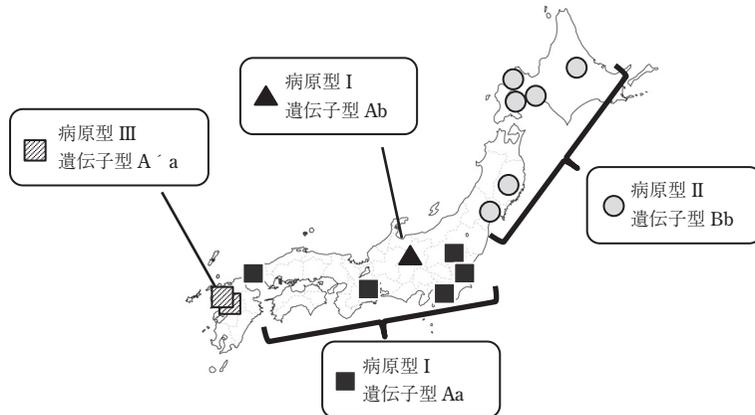


図-1 日本に分布するコムギ縮萎縮ウイルスの病原型と遺伝子型  
病原型：‘フクホコムギ’、‘ナンプコムギ’、‘北海 240 号’への感染性の違いから、三つの病原型に分かれる。  
遺伝子型：アミノ酸配列の特徴から、RNA1 は A, A', B の三つ、RNA2 は a, b の二つの遺伝子型に分かれる。

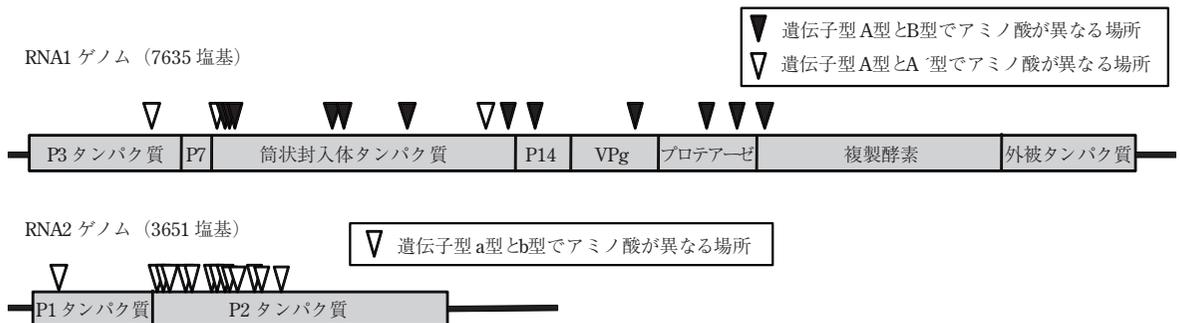


図-2 コムギ縮萎縮ウイルスの RNA ゲノムにおける各遺伝子型のアミノ酸配列の違い  
四角で囲まれた部分はアミノ酸に翻訳される配列、線の部分は翻訳されない配列を示す。

ノムを持つウイルスである (図-2)。それぞれ、ポリプロテインをコードしており、プロテアーゼの働きで、最終的に 10 個のタンパク質が生成すると考えられている。今回採集した 14 株の全塩基配列を決定し、翻訳領域のアミノ酸配列を比較したところ、アミノ酸配列の同一性は RNA1 ゲノムで 98.0%~100%、RNA2 ゲノムは 96.1%~99.6% であり、株間の変異は小さかった。さらに、アミノ酸配列を詳細に比較したところ、ゲノム配列上にいくつか特徴的なアミノ酸残基の違いが認められ、RNA1 ゲノムは三つ (A, A', B 型)、RNA2 ゲノムは二つ (a, b 型) の遺伝子型に分けられることがわかった (図-2)。アミノ酸残基の違いは、RNA1 ゲノムでは筒状封入体タンパク質、RNA2 ゲノムでは P2 タンパク質をコードする配列などに多く認められた。また、RNA1 の遺伝子型 A 型と A' 型は配列の相同性が高く、A 型と

A' 型間では 3 アミノ酸のみで違いが見られたことから、どちらかの遺伝子型が他方から派生したと推察される。解析した 14 株の遺伝子型を整理すると、日本には A/A' a 型、Bb 型の WYMV が主として分布しており、長野県の株のみ Ab 型の遺伝子型を示すことがわかった。また、その分布に地域性が見られた (図-1)。さらに、この遺伝子型と病原型の関係を調べると、Aa 型、Ab 型はともに I 型を示し、Ba 型は II 型を示した。また、III 型を示すウイルスは遺伝子型 A' a 型を示した。よって、RNA1 ゲノムの遺伝子型が各株の病原型と対応することから、病原型を決定する因子は RNA1 ゲノムに存在する可能性が高いと考えられる。

筆者らは、制限酵素による切断パターンの違いを利用して各遺伝子型を識別する PCR-RFLP 法を開発し、さらに多くの株の遺伝子型を調べた (Ohki et al., 2014)。

その結果、シーケンス解析の結果と同じく、長野県では Ab 型の WYMV が広く分布していたが、それ以外は A/A' a 型と Bb 型を示す WYMV 株がほとんどであり、Ba 型の遺伝子型を示すウイルス株は見つからなかった。

### III なぜ、このような地域分布が生じているのか？

このように、ゲノム配列から見た WYMV の分布にも、明確な地域性が認められた。WYMV はなぜこのような地域分布を示しているのだろうか？ RNA1 ゲノムに関しては、病原型への関与が示唆されることから、その地域で栽培されている品種に対応して選抜された可能性が考えられる。例えば、関東地方以南では、病原型 II 型に強い「農林 61 号」が古くから栽培されていたので、A 型の RNA1 ゲノムが定着し、また九州地方では I 型に強い「シロガネコムギ」が栽培されていたので、病害型 III 型を示す A' 型の RNA1 ゲノムが派生した可能性がある。また、北日本に分布する B 型の RNA1 ゲノムについては、「ナンプコムギ」などは I～III 型の WYMV が全て感染するが、高めの温度 (10°C) では I 型の WYMV は発病しにくい可能性が示唆されているので、北日本で栽培されている品種における微妙な発病温度の違いが II 型を示す B 型の RNA1 ゲノムの定着に影響している可能性がある (大藤, 2006)。一方、RNA2 ゲノムに関しては、現時点でははっきりした理由は不明である。RNA2 ゲノムは、P1 タンパク質と P2 タンパク質をコードしており、P1 タンパク質はウイルスの全身移行、P2 タンパク質は *P. graminis* による媒介性に関わると考えられている (You and Shirako, 2010)。よって、RNA2 ゲノムの遺伝子型によって、WYMV の根部感染から地上部への移行や *P. graminis* によるウイルス媒介性などの性状が異なり、その地域の品種や環境条件に適応している可能性は考えられるが、現時点でそれらを支持する知見は得られていない。

もう一つの疑問点としては、見つかった遺伝子型は A/A' a 型と Bb 型がほとんどで、ヘテロ型 (Ab 型や Ba 型) が少なかった点があげられる。日本と同じように WYMV が発生している中国においても、病原性の異なる WYMV の二つの分離株が見つかり、RNA1 と RNA2 ゲノム配列が報告されている (Chen et al., 2000)。その配列と日本の株を比較したところ、それぞれ Aa 型と Bb 型の遺伝子型に近い配列であることがわかった (Ohki et al., 2014)。残念ながら、中国において RNA1 と RNA2 の全ゲノム配列と病原性を同時に解析した報告が少なく、現時点で Aa 型や Bb 型に近いゲノム配列を持つ WYMV が中国での優先株であるという証拠はないが、

東アジアにおける WYMV の広がりを考えると、興味深い。仮説としては、①それぞれ Aa 型、Bb 型の遺伝子を持つ WYMV が日本に侵入して定着した、② Aa 型、Bb 型のゲノムの組合せが WYMV の定着に有利な特性を持っている、等が考えられるが、今後さらなる検討が必要である。

また、今回の解析から、WYMV は種内変異の少ないウイルスであるということがわかった。解析した 14 株は、感染性の違いから複数の系統に分けられているものの、例えば外被タンパク質配列を比較すると、アミノ酸配列では 98.6～99.6% の高い相同性を示す。中国においても、各地から採集した 297 株の外被タンパク質遺伝子配列を決定し、分子系統学的な解析が行われているが、広い中国においても WYMV 分離株間においても変異は小さく (アミノ酸配列で 96.4%～100% の相同性)、またそれぞれの地域で発生している WYMV の多くは、過去に侵入して定着した株が広がったと推察され、他地域の株との交雑はあまり認められなかった (Sun et al., 2013)。この原因としては、土壤伝染性のウイルスは、虫媒介性ウイルスと比較すると、物理的に移動しにくく、他の系統と交雑しにくいのもかもしれない。また、WYMV の宿主はほぼ小麦に限られているため、宿主範囲が広い多犯性のウイルスと比べ、宿主植物に適応するための変異が起きにくい可能性も考えられる。

このように、筆者らの研究や、近年の中国からの報告により WYMV の遺伝的多様性の実態が明らかになりつつある。今後、ウイルスの詳しい性状を明らかにし、品種 (抵抗性遺伝子) や媒介生物 *P. graminis* との相互作用を明らかにすることで、日本における WYMV 各系統の分布に地域性が見られる謎が明らかとなるとともに、中国株との比較によって、東アジアにおける WYMV の広がりについても明らかになると期待される。

### おわりに

同じ *Bymovirus* 属のオオムギ縞萎縮ウイルスでは、抵抗性遺伝子とウイルス系統の関係がよく整理され、抵抗性品種の開発も進んでいる (Kunhe, 2009)。一方、WYMV においても、近年、抵抗性遺伝子のゲノムマッピングの解析が精力的に行われており、縞萎縮病に強い「ゆめちから」は *Ym1B* 抵抗性遺伝子を持つことがわかっている (Nishio et al., 2010)。このように、育種分野からの報告が多くなされている一方で、ウイルス側の詳細な解析、つまり植物病理学分野からの研究アプローチの報告は限られている。その原因としては、WYMV が実験材料としては扱いにくいことがあげられる。WYMV は、

粗汁液をカーボランダムとともに葉にこすりつけて接種することができるが、発病には10°C以下の低温で1か月以上栽培することが必要である。また、圃場においては、*P. graminis*が媒介して根から感染するため、根部から地上部へのウイルス移行の解析も重要である。ところが、人工気象器を用いた人工条件下では、汚染土で栽培しても、地上部を安定的に発病させることは難しい。そのため、詳細な抵抗性機作の解析が進んでいない。また、抵抗性遺伝子のゲノムマッピングのための発病試験は圃場で行っているため、WYMV系統の違いによる影響があまり考慮されていない問題点もある。

今後、複数の抵抗性遺伝子を組合せるなど、ウイルス抵抗性を安定的・効果的に利用していくためには、作用機作を明らかにし、ウイルス系統と抵抗性遺伝子の関係を整理することが重要である。様々な困難はあるが、

WYMVの研究を進展させるため、筆者らは、感染性クローンを用いたウイルス接種系を確立して解析を進めている(大木ら, 2014)。今後、育種分野と病理学分野の両方からのアプローチにより、WYMV抵抗性の研究がさらに進展することを期待したい。

#### 引用文献

- 1) CHEN, J. et al. (2000): *Plant Pathology* **49**: 370 ~ 374.
- 2) 堀田治邦ら (2011): *北日本病虫研報* **62**: 47 ~ 49.
- 3) KUHN, T. (2009): *Virus Research* **141**: 174 ~ 183.
- 4) KOJIMA, H. et al. (2015): *Plant Breeding* **134**: 373 ~ 378.
- 5) NISHIO, Z. et al. (2010): *Euphytica* **176**: 223 ~ 229.
- 6) OHKI, T. et al. (2014): *Phytopathology* **104**: 313 ~ 319.
- 7) 大木健広ら (2014): *日植病報* **80**: 316 (講要).
- 8) ———・真岡哲夫 (2014): *北日本病虫研報* **65**: 24 ~ 27.
- 9) 大藤泰雄 (2005): *東北農研報* **104**: 17 ~ 74.
- 10) ——— (2006): 同上 **105**: 73 ~ 96.
- 11) SUN, B. J. et al. (2013): *Phytopathology* **103**: 949 ~ 959.
- 12) SUZUKI, T. et al. (2015): *Theor Appl Genet* **128**: 1569 ~ 1578.
- 13) YOU, Y. and Y. SHIRAKO (2010): *Mol. Plant Pathol.* **11**: 383 ~ 394.
- 14) ZHU, X. et al. (2012): *Theor Appl Genet* **128**: 177 ~ 188.

## 新しく登録された農薬 (27.9.1 ~ 9.30)

掲載は、種類名、登録番号：商品名（製造者又は輸入者）登録年月日、有効成分：含有量、対象作物：対象病害虫：使用時期等。ただし、除草剤・植物成長調整剤については、適用作物、適用雑草等を記載。

#### 「殺虫剤」

##### ●ナミテントウ剤

23698: テントップ (アグリ総研) 15/9/9

ナミテントウ: 200頭/600mL

野菜類 (施設栽培): アブラムシ類: 発生初期

##### ●フェンプロパトリン乳剤

23709: ベニカR乳剤 (住友化学園芸) 15/9/30

フェンプロパトリン: 1.0%

もも: アブラムシ類, シンクイムシ類, モモハモグリガ: 収穫前日まで

マンゴー: チャノキイロアザミウマ: 収穫14日前まで

あずき: ハダニ類: 収穫7日前まで

きゅうり: アブラムシ類, ハダニ類, オンシツコナジラミ: 収穫前日まで

すいか, メロン, いちご, ピーマン: アブラムシ類, ハダニ類: 収穫前日まで

かぼちゃ: アブラムシ類: 収穫3日前まで

トマト: アブラムシ類, オンシツコナジラミ: 収穫前日まで

なす: アブラムシ類, ハダニ類, オンシツコナジラミ: 収穫前日まで

ししとう: ハダニ類: 収穫前日まで

花き類・観葉植物 (ばらを除く): アブラムシ類, ハダニ類: -

ばら: アブラムシ類, ハダニ類, チュウレンジハバチ, ハスモンヨトウ, クロケシツブチョッキリ, コガネムシ類成虫, ヒラズハナアザミウマ: -

#### 「殺虫殺菌剤」

##### ●ジノテフラン・トルプロカルブ粒剤

23705: サンブラスタークル箱粒剤 (三井化学アグロ) 15/9/18

ジノテフラン: 2.0%

トルプロカルブ: 12.0%

稲 (箱育苗): イネドロオイムシ, イネミズゾウムシ, ウンカ類, ツマグロヨコバイ, いもち病: 移植3日前~移植当日

##### ●ジノテフラン・シメコナゾール・トルプロカルブ粒剤

23706: ガッツスター粒剤 (三井化学アグロ) 15/9/18

23707: ゴウケツモンスター粒剤 (北興化学工業) 15/9/18

ジノテフラン: 1.67%

シメコナゾール: 1.5%

トルプロカルブ: 3.0%

稲: ウンカ類, ツマグロヨコバイ, いもち病: 出穂5~30日前但し, 収穫45日前まで

##### ●クロラントラニリプロール・ジノテフラン・トルプロカルブ粒剤

23708: サントリプル箱粒剤 (三井化学アグロ) 15/9/18

クロラントラニリプロール: 0.75%

ジノテフラン: 6.0%

トルプロカルブ: 4.0%

稲 (箱育苗): ウンカ類, ツマグロヨコバイ, イネドロオイムシ, イネミズゾウムシ, コブノメイガ, いもち病, もみ枯細菌病: 移植3日前~移植当日

(25ページに続く)