

平成21年4月29日現在

研究種目：基盤研究 (B)
研究期間：2006～2008
課題番号：18405022
研究課題名 (和文) 植物ウイルスとその宿主植物の起源的同一性に関する調査研究
研究課題名 (英文) Investigational study on the relationships of the origin between plant viruses and its hosts
研究代表者 大島 一里 (OHSHIMA KAZUSATO) 佐賀大学・農学部・教授 研究者番号：00176869

研究成果の概要：トルコ共和国，イラン・イスラム共和国，ギリシャ共和国においてアブラナ科植物を宿主としている病原ウイルスについて調査した。その結果、カブモザイクウイルス(TuMV)がトルコやイランで発生していることを初めて明らかにし、キュウリモザイクウイルス(CMV)だけでなくカリフラワーモザイクウイルス(CaMV)がこれらの地方において農作物に甚大な被害を与えていることを明らかにした。TuMV と CaMV の数分離株についてはゲノム構造を解明し、ウイルスと宿主植物の起源が同一の可能性が高いことを明らかにした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008	2,600,000	780,000	3,380,000
2007	5,900,000	1,770,000	7,670,000
2006	3,200,000	960,000	4,160,000
総計	11,700,000	3,510,000	15,210,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・植物病理学

キーワード：系統分類，分子進化，ウイルス，宿主植物，起源，病理学，生態学

1. 研究開始当初の背景

(1) ウイルス分子進化の3大推進力として、突然変異、組換え、再集合が知られており、分節ゲノムのウイルスでは再集合も関与するが、1本鎖RNAウイルスでは、突然変異と組換えが大きな役割を果たしていると言われている。最近では、遺伝的浮動、創始者効果さらにビン首効果なども影響して、ウイルスは新しい宿主に対する病原性を獲得し宿主による圧力を受けながら、起源地から宿主と密接に関連し世界中に拡散したと考えら

れている。動物ウイルスは、鳥類、家畜や人間に感染寄生し、それらの移動により世界中で大きな被害を与えている。渡り鳥がインフルエンザウイルスの世界拡散に大きく影響している例もあるが、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)のように中央アフリカの熱帯雨林で初めて発生し、その後の人の移動によりヨーロッパに移動しそして世界中に拡散したウイルスもある。これまで、ウイルスとその宿主、例えば HIV とチンパンジーやサルそれぞれの分子系統学的な研究から、HIVの祖先は

サル免疫不全ウイルス(SIV)でその起源とする宿主は中央アフリカの熱帯地方に生息するチンパンジーやサルと考えられている。動物ウイルスの研究は、世界各国に多くの研究者がいること、さらに疾病に係る保健機関が世界中に存在することからウイルス分離株を比較的収集しやすい。またそれぞれの地域において収集した分離株のゲノム構造解析が精力的に行われているため、GenBank 等には大量のゲノム情報が登録されており、世界レベルでのバイオインフォマティクスによる解析が行われ、これらの研究を可能としている。

(2) 一方植物ウイルスは主に栽培植物に感染寄生し、甚大な被害を及ぼし拡散してきた。しかしながら、それぞれの国で系統的に分離株を保存している場合が少なく大量に収集しにくいことが影響してこれらの研究は遅れていたが、最近ようやくさまざまな分離株を保存し、それらを解析後報告されてきた。それでもなお、分離株を採集し大量のゲノム構造を用いて網羅的に解析し報告は少ない。

(3) これまでの植物ウイルスゲノムの分子系統学的な解析の報告を調査してみると、そのウイルスの起源と感染宿主植物の起源が一致している場合が多い。これは太古にある宿主にウイルスが発生し、野生植物や栽培植物の移動により同様のルートでウイルスが拡散してきたことを示唆している。しかしながら、これまで植物ウイルスではその証拠がない。

2. 研究の目的

(1) 植物ウイルスとして世界中の農作物に最も被害を及ぼしているのが *Potyvirus* 属のウイルスであり、ウイルス種により一部の地理的に限られた地域で発生しているウイルスや世界中に拡散し世界中で大きな被害を与えているウイルスもある。中でもカブモザイクウイルス(TuMV)は後者に属し、世界中の温帯、亜熱帯、熱帯地域で発生し、アブラナ科植物を主な宿主とするが、宿主域が広いため進化的に古い歴史を持つウイルスと考えられている。また本ウイルスはアブラムシで非永続伝搬され種子伝染の記録は無い。これまでの研究から、本ウイルスは地中海沿岸地方を含めた南東ヨーロッパから中央アジアにかけての地方が起源地と考えられているが、その宿主は主にアブラナ科植物であり、これらの起源地もヨーロッパから中央アジアと推測している文献が多い。例えば、野生ダイコンが、トルコのマルマラ海、エーゲ海、地中海沿岸地方に見られることから、その地方が起源地の一つと考えられている。

(2) これまで申請者は、大量の TuMV 分離株を世界各地から収集して、インフォマティクスを用いた分子進化的研究(Ohshima et al.,

2002, Tomimura et al., 2003)を行ってきた。その後組換え体が全分離株中 3 分の 2 を占めることを示しウイルスの宿主域の拡大に関連があることを示唆し(Tan et al., 2004), さらに、ヨーロッパとアジアにおけるそれぞれの集団が、異なる宿主に適応をしながら異なる遺伝集団構造を示し、南東ヨーロッパから中央アジアの起源地と思われる地域から別々に拡散してきたことをウイルス学的に証明してきた(Tomimura et al., 2004)。

(3) そこで本申請では、アブラナ科植物の主な起源地の候補地として考えられているアジアとヨーロッパの交差点に位置するトルコ共和国、南東ヨーロッパの地中海沿岸地方に位置するギリシャ共和国さらに及びイラン・イスラム共和国において、どのような植物ウイルスが発生しているのかを網羅的に調査し、一部のウイルスについてはゲノム構造を解明し、その地方に見られるウイルスと他の地域に見られるウイルスの分子系統解析から栽培植物とウイルスの起源との関係について、分子生態学的見地から考察することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 平成 18 年度においては、トルコを Korkmaz 博士(チャナッカレ・オンセキヰマート大学)の研究協力のもと調査を行った。調査場所は、トルコのアブラナ科植物栽培地方で、イスタンブールからチャナッカレに入った後、コンヤ、ブルサ、バリクシヤ、イズミル、アダナなどの各都市周辺野菜栽培地帯を回った。チャナッカレ・オンセキヰマート大学に戻り、Korkmaz 博士と共に酵素結合抗体法(ELISA)により病原ウイルスを同定し、一部についてはウイルスゲノム構造解析を行った。また一部は植物検疫にかかわる輸入許可を得て日本に輸入し、ゲノム構造解析、分子進化的解析を佐賀大学農学部で行った。

(2) 平成 19 年度においては、イランを Farzadfar 博士(イラン国立植物病害虫研究所)の研究協力のもと調査を行った。調査場所は、イランのアブラナ科植物栽培地方で、テヘランに入った後、その周辺さらにエスファン周辺の野菜栽培地帯を回った。テヘランのイラン植物病害虫研究所に戻り、Farzadfar 博士、Pourrahim 博士、さらにイスラミック・アザッド大学の Golnaraghi 博士と共に病原ウイルスを同定し、一部についてはウイルスゲノム構造解析を行った。また一部は植物検疫にかかわる輸入許可を得て日本に輸入し、ゲノム構造解析、分子進化的解析を佐賀大学農学部で行った。

(3) 平成 20 年度においては、ギリシャの Katis 博士(国立テッサロニキ大学)の研究協力のもと調査を行った。調査場所は、ギリシャのアブラナ科植物栽培地方で、テッサロニ

キに入った後、その周辺地域の野菜栽培地帯、さらにアテネ周辺の野菜栽培地帯を回った。テッサロニキ大学に戻り、Katis 博士と共に病原ウイルスを同定し、一部についてはウイルスゲノムの構造解析を行った。また一部は植物検疫にかかわる輸入許可を得て日本に輸入し、ゲノム構造解析、分子進化的解析を佐賀大学農学部で行った。また、イランを Farzadfar 博士(イラン国立植物病虫害研究所)の研究協力のもとにイラン国内について2度目の調査を行った。テヘランに入った後、その周辺さらにイラン南部のシーラズの野菜栽培地帯を回った。テヘランのイラン植物病虫害研究所に戻り、ウイルス病を Farzadfar 博士, Pourrahim 博士, Golnaraghi 博士と共に同定し、一部についてはウイルスゲノム構造解析を行った。また一部は植物検疫にかかわる輸入許可を得て日本に輸入し、ゲノム構造解析、分子進化的解析を佐賀大学農学部で行った。

以上、最終的に発生の認められた植物ウイルスについて、分子進化的側面からアブラナ科植物との起源的關係について総合的に考察した。

4. 研究成果

(1) トルコでは国内約 5000km, イランでは約 7000km, ギリシャでは約 500km についてアブラナ科圃場を網羅的に調査し、アブラナ科植物で良く感染がみられるウイルス, TuMV, CMV さらに CaMV について発生調査をした。

(2) トルコにおいては、どのウイルスも ELISA で容易に検出でき、特にマルマラ海からエーゲ海さらに地中海沿岸地方の植物で容易に感染が見られた。本研究で TuMV の発生を明らかにしたことにより本ウイルスはトルコで初記載となり、また CaMV がブロッコリー、カリフラワーやキャベツなどに大きな被害を与えていることも明らかにした。なお、一例として、マルマラ海沿岸で採集したアブラナ科植物での TuMV の感染率を表 1 に示した。採集した植物のうち、13.4%と高率で感染が認められた。

(3) イランにおいては、3 種のウイルスとも ELISA で容易に検出できた。イランでは特に CaMV がキャベツやカリフラワーなどに大きな被害を与えていることが明らかとなった。また TuMV は、キャベツ、カブやダイコンなど栽培植物に被害が認められたが、栽培植物だけでなく周辺のアブラナ科雑草でも容易に検出された。中でも、ホコバガラシやミヤガラシなどから TuMV が容易に検出できた(表 2)。それらの感染率は、約 64%と非常に高率であった。

表 1 トルコ南西マルマラ地方におけるカブモザイクウイルス感染率

地方	植物	採集数	感染数	感染率
チャナク	ブロッコリー	3	0	11.4
	カリフラワー	22	0	
	キャベツ	45	6	
	芽キャベツ	1	0	
	ダイコン	2	0	
	野生ダイコン	5	3	
	野生カラシナ	1	1	
	レタス	3	0	
	ハウレンソウ	6	0	
バリクシヤ	カリフラワー	20	0	11.9
	キャベツ	10	1	
	芽キャベツ	8	1	
	ダイコン	4	3	
ブルサ	キャベツ	1	0	33.3
	芽キャベツ	1	0	
	ダイコン	5	4	
	野生ダイコン	1	0	
	ハウレンソウ	3	0	
	リーキ	1	0	
合計		142	19	13.4

表 2 イランにおけるカブモザイクウイルスのアブラナ科雑草での感染率

地方	植物	感染数/ 採集数(%)
ファールス	ホコバガラシ	0/17 (0.0)
ハマダン	ミヤガラシ	13/13 (100)
	ホコバガラシ	70/70 (100)
	ホソエガラシ	9/22 (40.9)
ケルマン	<i>Brassica deflexa</i>	0/10 (0.0)
	ノハラガラシ	0/10 (0.0)
	ホソエガラシ	0/30 (0.0)
	ホコバガラシ	27/60 (45.0)
コラサ	ミヤガラシ	5/5 (100)
	ホコバガラシ	24/30 (80.0)
マルカジ	ホコバガラシ	35/35 (100)
マザンダラン	ノハラガラシ	0/20 (0.0)
センナン	ホコバガラシ	10/10 (100)
テヘラン	ダイコンモドキ	1/5 (20.0)
	ミヤガラシ	64/64 (100)
	ノハラガラシ	0/7 (0.0)
	ホソエガラシ	13/24 (54.2)
	ホコバガラシ	69/100 (69.0)
合計		340/532 (63.9)

(4) ギリシャでは、TuMV, CMV さらに CaMV のいずれも ELISA で容易に検出できた。特に CaMV がキャベツやカリフラワーなどに大きな被害を与えていることが明らかとなった。

(5) トルコとイランで採集した TuMV の幾つかの分離株について、感染葉からウイルス RNA を抽出し、逆転写-ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR) 法を用いて cDNA を増幅し、RT-PCR 産物よりダイレクトシーケンスにより全ゲノム構造を決定した。その後本研究で得られた分離株の全塩基配列と世界中から採集され既報で公表されている分離株の全塩基配列について組換え解析を行い、グループ間組換えを除き最尤法により分子系統樹を作成した(図 1)。

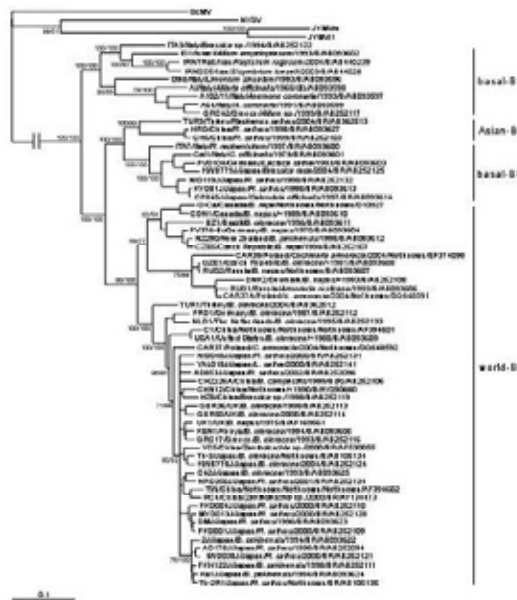


図 1

分子系統樹について、例えばトルコの野生ダイコンから採集した TuMV について解析すると、ダイコンに適応して進化してきたと思われる Asian-BR ゲノム型グループの最も祖先型(起源)と思われる場所に位置した。以上の結果から、ウイルスと宿主植物の起源が同一の可能性が高いことを示唆した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 7 件)

Farzadfar, S., Y. Tomitaka, M. Ikematsu, A. R. Golnaraghi, R. Pourrahim and K. Ohshima, 2009. Molecular characterization of *Turnip mosaic virus* isolates from Brassicaceae weeds. *European Journal of Plant Pathology*, 124, 45 - 55. 査読有

大島一里, 2009. カブモザイクウイルスの分子進化と生態. *植物防疫*, 63 巻(1): 21-25. 査読無

Korkmaz, S., Y. Tomitaka, S. Onder and K. Ohshima, 2008. Occurrence and Molecular Characterization of Turkish Isolates of *Turnip mosaic virus*. *Plant Pathology*, 57, 1155 - 1162. 査読有

Gibbs, A. J., K. Ohshima, M. J. Phillips and M. Gibbs, 2008. The prehistory of potyviruses: their initial radiation was during the dawn of agriculture. *PLoS ONE*, 3(6), 1-11, e2523. 査読有

Farzadfar, Sh., A. Ahoonmanesh, G. H. Mosahebi, K. Ohshima, M. Koohi-Habibi, R. Pourrahim and A. R. Golnaraghi, 2007. Partial Biological and Molecular Characterization of *Cauliflower mosaic virus* Isolates in Iran. *Plant Pathology Journal* 6 (4), 291-298. 査読有

Korkmaz, S., S. Onder, Y. Tomitaka and K. Ohshima, 2007. First report of *Turnip mosaic virus* on Brassicaceae crops in Turkey. *Plant Pathology*, 56, 719 (New Disease Reports, Online, 2006). 査読有

Ohshima, K., Y. Tomitaka, J. T. Wood, Y. Minematsu, H. Kajiyama, K. Tomimura and A. J. Gibbs, 2007. Patterns of recombination in turnip mosaic virus genomic sequences indicate hotspots of recombination. *Journal of General Virology*, 88, 298-315. 査読有

〔学会発表〕(計 3 件)

大島一里他, イラン・イスラム共和国のエスファハーン州とファールス州の罹病ダイコンから採集したカブモザイクウイルス分離株について, 九州病害虫研究会, 平成21年2月4日, 熊本市KKRホテル熊本

大島一里他, カブモザイクウイルスの新しい分子系統グループ, 日本植物病理学会本大会, 平成 20 年 4 月 28 日, 松江市くにびきメッセ

大島一里他, ギリシャの *Brassica* 属植物から採集したカブモザイクウイルス集団の遺伝構造, 日本植物病理学会本大会, 平成19年3月28日, 宇都宮大学

〔図書〕（計 1 件）

Gibbs, A., K. Ohshima, M. Gibbs and F. García-Arenal, Elsevier, Domingo, E., Parrish, C. R. and Holland, J. J. eds., Origin and Evolution of Viruses 2nd Edition. More about Plant Virus Evolution; past, present and future. 2008. pp 560. (229-250).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大島 一里 (OHSHIMA KAZUSATO)

佐賀大学・農学部・教授

研究者番号: 00176869