

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 21 日現在

機関番号：17201

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2012～2015

課題番号：24405026

研究課題名(和文)中国・インド大陸 - 植物ウイルス・ウイロイド伝播ルートの基礎情報収集と分析評価

研究課題名(英文)Collection of basic information and the assessment of migration of plant viruses and viroids in the continents of China and India

研究代表者

大島 一里 (Kazusato, Ohshima)

佐賀大学・農学部・教授

研究者番号：00176869

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：野菜類や果樹類の多くの農作物はヨーロッパ南部の地中海沿岸地方、さらにアジアの中国やインドを起源としている。そのため中国・インド大陸(インド亜大陸)は太古から現代まで我が国を含めた東アジアの農業の発達、さらに病原体の侵入に大きな影響を与えている。

本研究では、ヨーロッパとアジアの貿易の交差点として知られる地中海沿岸地方に位置するトルコ(小アジア)を起点として、北部シルクロードルート、また南部インドルートにおいて、ウイルス・ウイロイド病を調査し、ユーラシア大陸においてどのようなルートで、我が国を含む東アジア地方に伝播したのかの基礎情報を収集し、分子進化と病原性進化を基盤として分析評価した。

研究成果の概要(英文)：Many of the crops of vegetables and fruit trees have been originated in the Mediterranean region of Southern Europe, China and India. Therefore, it is clear that the continent and subcontinent of China and India affected not only the development of agriculture but also the invasions of pathogens in East Asian countries including Japan until today.

In this study, we have collected the basic information of virus and viroid migration from the place of origin to East Asia, and assessed the molecular and pathogenic evolution of these pathogens. We used the evolutionary information of the pathogens in Turkey (Asia Minor), the country is known as an important commercial crossroads between European and Asian countries, and the countries located at the northern Silk Road and the southern Indian routes.

研究分野：植物病理学

キーワード：植物ウイルス ウイロイド 伝搬ルート 中国大陸 インド亜大陸

1. 研究開始当初の背景

ウイルス・ウイロイドは、世界中で野菜類や果樹類などの農作物に病気を引き起こし、甚大な被害を与えている。日本は四方海に囲まれている島国の特有の立地条件を有し、病原体は保毒媒介昆虫などの飛来による侵入、航空機や船舶などによる病原体保有農作物などの輸入による侵入が考えられ、我が国に侵入してくるルートとしては、東南アジア～台湾からの南方ルート、サハリンからの北方ルート、そして中国・インド大陸からの大陸ルートなどが考えられる。特に中国からの輸入額は、毎年増え続け、平成19年(2007年)末以降に発生した輸入食品による薬物中毒事案もあり一時減少したが、その後また増大し続け、中国からの様々な病原体の侵入は日本の植物防疫に大きな影響を与えていると予想される。

中国・インド大陸から病原体が侵入してきた情報は、ほとんどが植物防疫所の報告書に留まる。最近保毒媒介昆虫が飛来しエネ縮葉枯ウイルスやエネ南方黒すじ萎縮ウイルスが中国から侵入してきたのではないかと話題となっており、農水省でも漸く両国の関係について調べ始めた。中国からウイルス・ウイロイド病が入ってきたことを示唆する研究論文は限られており、ウイルスの侵入関係を示す最初の論文としては、おそらく我々の報告と思われ(Tomitaka & Ohshima, *Molecular Ecology*, 2006)、キュウリモザイクウイルスについて野菜の重要病害ウイルスとして2番目にランクされるカブモザイクウイルス(TuMV)の研究である。本ウイルスは、アブラムシで非持続伝搬され、種子伝染が認められない。集団遺伝学による解析の結果、中国にみられない集団が一部日本にみられたが、長い時間をかけて中国から集団が侵入し日本集団との間に共通の多くの集団を形成したと結論した。一方驚いたことは、2000年以降新興集団として日本でのみ発生していたウイルス集団が、遅れて中国で発見されたことであり、中国の東沿岸地方ではその新興集団が高病原性であるため中国大陸のアブラナ科野菜に大きな被害を与えていると報告している(Wang et al., 2009)。このように、中国と日本で発生しているウイルス病は密接に相互に関係しているが、これまでの研究は少なく、また日本に比較的近い地域である中国東部を中心に限定され、中国・インド大陸全土を把握できてはいないために、未だ情報が不十分である。最近の研究は、中国の農作物には世界的にみても類のないほど多様なウイルス種が感染している可能性を浮かび上がらせてきた(ChenとAdamsの一連の研究)。一方ウイロイドにおいては、新疆・ウイグル自治区にある樹齢150年を越えて現存する世界最古のブドウ樹が、今まで全世界で報告された4種類のブドウウイロイド全てと新規な変異体を宿しているという興味深い報告がされた(Li et al., 2006, Guo et al., 2006)。この地域が古代の東西文明の交易路

であるシルクロードの中国北西端に位置し、他の農作物の移入ルートになっていることから、おそらくこのような現象はウイロイドだけでなくウイルスについても同様なことが推測され、病原体の侵入においてヨーロッパや中東諸国から東アジアへの重要な役目を果たしていると推測される。一方大陸の南部に位置するインドは、トルコ、イラン、パキスタンを経由して必ず農作物や病原体が通過したと考えられる大国であり、これから益々我が国と貿易が盛んになる相手国と考えられている。しかしながら、これまで我が国との関係を示唆する報告はほとんどない。

そこで本共同研究では、これまで蓄積してきたウイルスとウイロイドの情報をさらに発展させ、野菜類や果樹類などを対象に農作物の移動ルートを考慮しながら、中国・インド大陸においてウイルス・ウイロイドが日本を含む東アジア地方にどう流れてきたのか、中国・インド大陸の北部シルクロードルートと南部インドルートから総合的に伝播ルートを調査・研究し、基礎情報を収集する。同時に、採集したウイルス・ウイロイドのゲノム構造と分子性状を解析し、日本及び世界各国で発生するウイルス種と併せて全塩基配列情報等に基づく分子進化解析を行い、中国・インド大陸でのウイルスの特徴を分析し、両地域のウイルス集団と我が国のウイルス集団について比較後、ウイルス・ウイロイドの分子進化・分子生態学的観点に基づく総合的な分析評価を実施する。

2. 研究の目的

野菜類や果樹類の多くの農作物はヨーロッパ南部の地中海沿岸地方、さらにアジアの中国やインドを起源としていることが知られている。そのため中国・インド大陸(中国大陸とインド亜大陸と呼ばれることが多い)は太古から現代まで我が国を含めた東アジアの農業、さらに病原体の侵入に大きな影響を与えていると考えられている。そこで本研究では、ヨーロッパとアジアの貿易の交差点として知られる地中海沿岸地方に位置するトルコ(小アジア)を起点として、イラン、ウズベキスタンから繋がる中国北西部の新疆ウイグル自治区、中国中央部、北京そして中国沿岸部にたどり着く北部シルクロードルート、またイラン、パキスタンから繋がるインド、ミャンマー、そして中国南部の雲南省、湖南省そして中国沿岸部にたどり着く南部インドルートにおいて、ウイルス・ウイロイド病を調査し、どのようなルートで、我が国を含む東アジア地方に伝播したのかの基礎情報を収集し、分子進化と病原性進化を基盤として分析評価する。

3. 研究の方法

本研究ではヨーロッパとアジアの貿易・文化の交差点である中東のトルコからインド、ミャンマー経由で中国の雲南省や湖南省など東アジアに繋がる南部インドルート、さらに中東諸国のトルコから中央アジアから新疆・ウイグル自治区から中国中央部、東アジアに繋がる北部シルクロードルートに発生する植物ウイルスとウイロイドについて以前得られた我々独自の情報に基づき、調査をする。同時に蓄積された研究をさらに進展させ、野菜類であるアブラナ科植物に単独或いは混合感染する TuMV, キュウリモザイクウイルス(CMV)やカリフラワームザイクウイルス(CaMV), さらにアブラナ科植物ではまだ発見されていないウイロイドについても調査する。特にウイロイドにおいては、長年変異が蓄積されている可能性のある果樹類について変異の基礎的データを得るために調査する。採集した病原体のゲノムを網羅的に決定後、集団遺伝学的にバイオインフォマティクスを用いて解析し、広範な伝播ルートの基礎情報収集と分析評価を行う。最終的に、病原体がどのように多様化し、分布域を拡大させてきたかを実証的に解明をする。

4. 研究成果

本研究では、ヨーロッパとアジアの貿易の交差点として知られる地中海沿岸地方に位置するトルコ(小アジア)を起点として、中国北西部の新疆ウイグル自治区、中国中央部、北京、中国沿岸部、韓国そして日本にたどり着く北部シルクロードルート、またイラン、パキスタンから繋がるインド、ネパール、ミャンマー、タイそして中国南部の雲南省、中央部、沿岸部、台湾そして日本にたどり着く南部インドルートに当たる主要な国々において、ウイルス・ウイロイド病を調査し、ユーラシア大陸においてどのようなルートで我が国を含む東アジア地方に伝播したのかの基礎情報を収集し、分子進化と病原性進化を基盤として分析評価した。

前述した目的達成のために、24年度はトルコと中国南部、25年度はインドそして台湾、26年度はミャンマーとタイを訪問して、TuMV, CMVやCaMVなどが感染していると思われたウイルス病そしてウイロイド病を調査した。トルコではチャナッカレ・オンセキズマート大学を起点にトルコ国内について調査した。中国では、湖南省と雲南省について調査した。インドではバンガロール、マイソールそしてニューデリー近辺の圃場、台湾では北部から中央部地域について調査した。ミャンマーでは、イエジン農業大学が位置するネーピードー市を起点として、南部のヤンゴン市周辺について調査した。タイにおいてはカセサート大学とバンコク市周辺地域についてアブラナ科植物を中心に調査を行った。ミャンマーとタイで栽培されている様々な作物、野生種や果樹類を対象として、調査を実施した。また比較のために我が国においても全国

を調査した。輸入許可を得て採集した病原体ゲノムの塩基配列を決定後、バイオインフォマティクスを用いて集団遺伝学的に解析し、ユーラシア大陸での広範な伝播ルートの基礎情報収集と分析評価を行った。最終的に、北部シルクロードルートと南部インドルートを病原体が別々に通りながら多様化し、分布域を拡大させて日本に侵入してきたのかを実証的に解明した。以上の得られた一部の結果については多数の論文や学会などで公表した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計19件)

- 1) Ohshima K. (2016) Spatial and temporal evolution of potyviruses. *12th PSJ Plant Virus Disease Workshop*, 12, 17-22.
- 2) 大島一里, (2015) 植物ウイルスの拡散: 農業史及び人類移動との時間的関連. *ウイルス* 65:(2), 229-238.
- 3) 大島一里 (2015) カブモザイクウイルスの起源と拡散年代: 種の壁を乗り越えて. *植物防疫* 69 巻(12), 810-813. [査読なし]
- 4) Ohshima K., Matsumoto K, Yasaka R, Nishiyama M, Soejima K, Korkmaz S, Ho, SYW, Gibbs, AJ, Takeshita M (2015) Temporal analysis of reassortment and molecular evolution of *Cucumber mosaic virus*: Extra clues from its segmented genome, *Virology*, 487, 188-197 [査読あり]
- 5) He Z, Yasaka R, Li W, Li S, Ohshima K (2015) Genetic structure of populations of sugarcane streak mosaic virus in China: Comparison with the populations from India. *Virus Research*, 印刷中 [査読あり]
- 6) Yasaka R, Ohba K, Schwinghamer MW, Fletcher J, Ochoa-Corona FM., Thomas JE. Ho, SYW, Gibbs AJ, Ohshima K (2015) Phylodynamic evidence of the migration of turnip mosaic potyvirus from Europe to Australia and New Zealand. *Journal of General Virology*, 96: 701-713. [査読あり]
- 7) Gibbs AJ, Nguyen HD, Ohshima K (2015) The 'emergence' of turnip mosaic virus was probably a 'gene-for-quasi-gene' event. *Current Opinion in Virology*, 10: 20-26. [査読あり]
- 8) Adkar-Purushothama CR, Perreault JP, Sano T. (2015) Analysis of small RNA production patterns among the two potato spindle tuber viroid variants in tomato plants. *Genomics Data* 6: 65-66, S2213-5960(15)30002-7. doi: 10.1016/j.gdata.2015.08.008 [査読なし]
- 9) Tsushima T, Sano T. (2015) First report of *Coleus blumei* viroid 5 infection in vegetatively propagated clonal *Coleus* cv. 'Aurora black cherry' in Japan. *New Disease Reports* (in press) [査読あり]

- 10) Tsushima T, Matsushita Y, Fuji S, Sano T (2015) First report of Dahlia latent viroid and Potato spindle tuber viroid mixed-infection in commercial ornamental dahlia in Japan. *New Disease Reports* 31: 11. [査読あり]
- 11) He Z, Li W, Yasaka R, Huang Y, Zhang Z, Ohshima K, Li S (2014) Molecular variability of *Sugarcane streak mosaic virus* in China based on an analysis of the P1 and CP protein coding regions. *Archives of Virology*, 159: 1149-54. [査読あり]
- 12) Yasaka R, Nguyen HD, Ho SYW, Duchene S, Korkmaz S, Katis N, Takahashi H, Gibbs A, Ohshima K (2014) The temporal evolution and global spread of *Cauliflower mosaic virus*, a Plant Pararetrovirus. *PLoS ONE*, 9: Jan, e85641. [査読あり]
- 13) Adkar-Purushothama CR, Kanchepalli PR, Sreenivasa MY, Zhang Z-X, Sano T (2014) Detection, Distribution, and Genetic Diversity of Australian grapevine viroid in Grapevines in India. *Virus Genes*, 49: 304-311. [査読あり]
- 14) Ohshima K (2013) Studies on the molecular evolution of potyviruses. *Journal of General Plant Pathology* (online, DOI 10.1007/s10327-013-0488-9) [査読なし]
- 15) Nguyen HD, Tomitaka Y, Ho SYW, Duchene S, Vetten H-J, Lesemann D, Walsh JA, Gibbs AJ, Ohshima K (2013) Turnip mosaic potyvirus probably first spread to Eurasian brassica crops from wild orchids about 1000 years ago. *PLoS ONE* 8: e55336. [査読あり]
- 16) Nguyen HD, Tran HTN, Ohshima K (2013) Genetic variation of the *Turnip mosaic virus* population of Vietnam: A case study of founder, regional and local influences. *Virus Research*, 171: 138-149. [査読あり]
- 17) 大島一里 (2013) [招待講演] ポティウイルスの分子進化的研究.平成 25 年度日本植物病理学会大会 学会賞受賞者講演 (岐阜大学)
- 18) Sano T (2013) History, origin, and diversity of hop stunt disease and Hop stunt viroid. *Acta Horticulturae*, 1010: 87-96. [査読なし]
- 19) Sahana AB, Adkar-Purushothama CR, Chennappa G, Zhang Z-H, Sreenivasa MY, Sano T (2013) First report of *Grapevine yellow speckle viroid-1* and *Hop stunt viroid* infecting grapevines (*Vitis vinifera*) in India. *Plant Disease*, 97 (11): 1517. [査読あり]
- [学会発表] (計 21 件)
- 1) 大島一里, Spatial and temporal evolution of potyviruses, 2016 年 03 月 第 12 回植物ウイルス病研究会
- 2) 八坂亮祐・Charith Raj Adkar-Purushothama・Seint San Aye・Tin Aye Aye Naing・古屋成人・李世訪・大島一里, カブモザイクウイルスの南アジアから東アジアへと続く拡散経路とその時期について, 2016 年 03 月
- 3) 八坂亮祐・大島一里, Temporal and spatial evolution of a plant virus viewed from agriculture development: A case study of *Turnip mosaic virus*, 2015 年 11 月
- 4) 八坂亮祐・Maneechoat P・Chiemsoombat P・竹下稔・大島一里, タイ王国におけるカブモザイクウイルスの生物学的・遺伝学的性質(学生優秀発表賞), 2015 年 11 月
- 5) 三苫 真一郎・野見山 玲衣・大島一里, 罹病スイセンから得られたカブモザイクウイルス分子系統グループの新種ウイルス様配列, 2015 年 11 月
- 6) 八坂亮祐・大庭希歩・大島一里, 組換え時期の推定: オーストラリアおよびニュージーランド産カブモザイクウイルス集団を例として, 2015 年 03 月
- 7) 八坂亮祐・Huy Duc Nguyen・大島一里, アジアにおけるカブモザイクウイルスの時間尺度と拡散経路解析, 2015 年 02 月
- 8) 吉山浩毅・八坂亮祐・大島一里, 2013 年に採集した台湾産カブモザイクウイルスのゲノムグループについて, 2015 年 02 月
- 9) 大島一里, Plant virus evolution and emergence, 2014 年 12 月, ミャンマー国立イェンジン農業大学
- 10) 大島一里, 最近発見した新規ポティウイルスと分子系統から予測される診断用核酸配列, 2014 年 10 月, 農水省門司植物防疫所
- 11) 松本康佑・副島健太・西山舞・竹下稔・八坂亮祐・大島一里, キュウリモザイクウイルスゲノムの進化速度, 2014 年 08 月
- 12) 八坂亮祐・深川裕史・池末睦・早田裕子・大島一里, ユーラシア大陸におけるカブモザイクウイルス拡散の起点, 2014 年 06 月
- 13) 松本康佑・副島健太・西山舞・竹下稔・八坂亮祐・大島一里, キュウリモザイクウイルス移行タンパク質と外被タンパク質遺伝子の進化速度の評価, 2014 年 06 月
- 14) 古藤早紀・里本裕規・大島一里, 1999 - 2002 年と 2009 - 2012 年に単一圃場で発生したカブモザイクウイルス集団の比較, 2014 年 02 月
- 15) 大島一里, ポティウイルスの分子進化的研究(学会賞受賞者講演), 2013 年 03 月, 日本植物病理学会, 学会賞講演
- 16) 八坂亮祐・Nguyen, H. D.・Ho, Y. W. S.・高橋英樹・大島一里, 植物 2 本鎖 DNA ウイルスであるカリフラワーモザイクウイルスの集団変動, 2013 年 03 月
- 17) 大庭希歩・Schwinghamer, M.・Fletcher, J.・大島一里, オーストラリアとニュージーラン

- ドにおけるカブモザイクウイルスの多様性，
2013年03月
- 18) 里本裕規・前田貢輝・Nguyen, H. D.・大島一里 (学生優秀発表賞)，単一圃場の罹病ダイコンから10年間以上にわたり採集したカブモザイクウイルスの進化速度の評価，2013年03月
- 19) 大庭希歩・古賀涼子・Oksun Kim・Hong-Soo Choi・Jang-Kyung Choi・上田重文・大島一里，韓国におけるカブモザイクウイルス分離株の遺伝的多様性，2012年11月
- 20) 大島一里，Molecular Evolution and Ecology of Plant Viruses，2012年11月，中国湖南大学
- 21) 大島一里，Molecular Evolution of Potyviruses; Turnip mosaic virus and Potato Virus Y，2012年11月，中国昆明サトウキビ研究所

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://plantvirology.ag.saga-u.ac.jp/>

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

(2) 研究分担者

佐野 輝男 (SANO, Teruo) (弘前大学農学生命科学部・教授)

研究者番号：30142699

竹下 稔 (TAKESHITA, Minoru) (宮崎大学農学部・教授)

研究者番号：00304767

(3) 連携研究者

なし