



Title	北海道に発生する carrot motley dwarf に関する病原学的研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	吉田, 直人
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第14812号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/85559">https://hdl.handle.net/2115/85559</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>
Type	doctoral thesis
File Information	Yoshida_Naoto_abstract.pdf, 論文内容の要旨



# 学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称： 博士（農学）

氏名 吉田 直人

## 学位論文題名

北海道に発生する carrot motley dwarf に関する病原学的研究

Carrot motley dwarf (CMD) は、国内外に広く発生するニンジンの最重要病害の一つである。ポレロウイルス属に分類されるニンジン黄化ウイルス (carrot red leaf virus, CtRLV) を主病原とし、アンブラウイルス属のニンジン斑紋ウイルス (carrot mottle virus, CMoV) またはニンジン斑紋ミミックウイルス (carrot mottle mimic virus, CMoMV), さらにウイルス様 RNA 種のニンジン黄化ウイルス随伴 RNA (仮称; CtRLV-associated RNA, CtRLVaRNA) が混合感染することによって起こる。CMD に罹病した株は萎縮し、葉に斑紋を伴う赤化または黄化が生じて、大きく減収する。CMD の構成因子のうち、CMoV, CMoMV, および CtRLVaRNA は自身の外被タンパク質を持たず、粒子化および媒介を CtRLV に依存する。国内では本州において CtRLV の単独感染によるニンジン黄化病が過去に報告されている。筆者はこれまでに、北海道各地で確認されたニンジンの葉の赤化また黄化症状について検定を行い、CtRLV の単独感染 (ニンジン黄化病) と CMoV および CtRLVaRNA との混合感染による CMD が発生することを明らかにした。本病は道内に広く発生する可能性が示唆されたが、その分布の詳細、発生生態、および感染による影響については明らかではなかった。

本研究では、北海道のニンジンに発生する CtRLV やその関連ウイルスまたは RNA について、その地理的分布、遺伝的特性、宿主範囲、ならびに病原性に関わる評価を行った。

2014 年から 2021 年にかけて、道内の 7 総合振興局管内の合計 42 地点より 100 検体以上を採取して検定を行った結果、CMD が特定の地域に局所的に発生していることが明らかとなった。すなわち石狩、空知、十勝管内では CtRLV の単独感染がほとんどであったが、オホーツク、渡島、および留萌管内においては、CMoV および CtRLVaRNA との三重感染が確認された。また、オホーツクと渡島管内においてはニンジンにおけるニンジントラドウイルス (carrot torradvovirus 1, CaTV1) の発生が初めて確認された。

CtRLV の単独発生圃場は症状が軽微で発病株が点状または坪状に見られた一方、三重感染の発生圃場では発病が圃場全面に確認される傾向にあり、比較的強い萎縮症状や斑紋症状が認められた。CMoMV, クロステロウイルス属, セクイウイルス属, コルドウイルス属ウイルスについてはいずれの検体からも検出されなかった。北海道産の CMD 関連ウイルスまたは RNA は CtRLV の存在下でのみニンジンフタオアブラムシによって媒介され、モモアカアブラムシおよびジャガイモヒゲナガアブラムシには媒介されなかった。

北海道産の CMD 関連ウイルスまたは RNA の遺伝学的特性について明らかにするため、これらのゲノム配列を決定し解析を行った。その結果、北海道で発生する病原体はいずれも配列長や遺伝子構造において欧米株と類似した。すなわち、CtRLV は英国産標準株と各遺伝子領域の推定アミノ酸配列で 96.8%以上、CMoV はドイツ産標準株と 92.5%以上、および CtRLVaRNA は米国産標準株と 91.2%以上の高い相同性を示した。分子系統学的にもこれらが欧米のニンジン由来のウイルスまたは RNA と近縁であることが示されたことから、北海道産 CMD 関連ウイルスおよび RNA はいずれも欧米の株と共通の祖先を有し、比較的最近分化したものと考えられた。

次に、北海道産の CtRLV, CMoV, および CtRLVaRNA の宿主範囲を明らかにするため、病原体構成の異なる 3 圃場分離株 (SN, CtRLV; HK, CtRLV + CMoV; SH, CtRLV + CMoV + CtRLVaRNA) を用いて、アブラムシによる接種試験を行った。14 属 17 種のセリ科植物を用いた試験の結果、ニンジン、チャービル、コリアンダー、クミン、およびマツバゼリにおいてこれら全ての病原体の全身感染が確認された。イノンドは CtRLV および CtRLVaRNA のみに感染し、CMoV の非宿主であることが明らかとなった。CtRLV の全身感染が確認されなかった植物種のうち、アニス、イタリアンパセリ、およびミツバは CMoV に無症状で感染し、さらにミツバにおいては CMoV とともに CtRLVaRNA の全身感染が確認された。CtRLV の宿主範囲について既報のもの比較すると、オーストラリア、英国、および米国の報告と一致し、本州で報告されたものとはパセリやセロリなどにおける感染性において異なった。以上の解析結果に基づき、北海道に発生するウイルスは欧米に由来する可能性が高く、本州においては北海道のウイルスとは異なる性質を持つ複数の系統が発生していると推測された。

感染時に誘導される症状は、CtRLV の単独感染時と CMoV または CtRLVaRNA との二重感染時には類似したが、これらの三重感染時には植物種間または同一種内でも多様であった。ニンジンにおいては、CtRLV の単独感染時には下位葉の葉縁から黄化や赤化が生じ、二重感染にはその症状がわずかに強められるのみであったが、三重感染時にはより激しい症状が生じ、萎縮症状や斑紋を伴う葉の赤化、さらに葉柄の湾曲などの特徴的な症状が確認された。栽培試験の結果からも、三重感染時に生育への影響が最も大きくなり、一根重は CtRLV の単独または CMoV の二重感染時には健全比で 20%-30% の低下であったのに対し、CtRLVaRNA との三重感染時には 50% 以上の低下が確認された。このため、ニンジン生産においては CtRLVaRNA との三重感染が顕著な経済的被害を生じる得ることが示唆された。

ニンジン以外の植物種においても CtRLV の単独感染と CMoV との二重感染時の症状が類似していたが、CtRLVaRNA との三重感染時には萎縮程度がしばしば緩和された。特にマツバゼリにおいては、単独または二重感染時に顕著な生育不良が生じたのに対し、三重感染時に軽微な斑紋を伴う黄化症状しか確認されなくなった。このような個体の上位葉からは CtRLV が検出されず、CMoV と CtRLVaRNA が同時に検出された。このことから、CtRLVaRNA はその単独または CMoV の共存下で、CtRLV を抑制することが示唆された。

三重感染時におけるこれら三者の関係について明らかにするため、上記 SN, HK, SH の 3 圃場分離株に加え、SH から CMoV または CtRLVaRNA を脱落させた SH<sup>CR</sup> (CtRLV) および SH<sup>CM</sup> (CtRLV + CtRLVaRNA) を作出してニンジンに接種をし、症状や葉中の病原 RNA 量の経時的な比較を行った。その結果、CtRLV の単独感染と比較して、CMoV のみならず CtRLVaRNA についても CtRLV との二重感染時に症状が強めることが示され、同時に CtRLV の蓄積量も高められることが明らかとなった。一方、三重感染時にはその激しい症状に反して、CtRLV の蓄積における向上効果は消失し、CtRLV の量は単独感染時と同等以下となった。このことから CMoV および CtRLVaRNA はヘルパーウイルスである CtRLV と相乗的に二重感染するが、三重感染時には CMoV と CtRLVaRNA との間に生じる相互作用により相対的に各々の CtRLV との関係性が弱められ、これにより CtRLV に対して拮抗的に作用するようになると考えられた。CMoV と CtRLVaRNA の関係性の強さ、すなわち CtRLV に対する拮抗作用の程度は植物種によって異なり、ニンジンのように CtRLV がやや抑制されながら症状は強められる宿主や、マツバゼリのように CtRLV をほぼ完全に抑制し、症状を消失させるような宿主が存在すると考えられた。また、CMD に特徴付けられる斑紋・萎縮症状の誘導には CMoV の存在が必須であり、さらに CtRLVaRNA が混合感染することにより顕在化することが明らかとなった。

本研究は、全道のニンジンにおけるウイルス発生状況に関わる初めての調査例であるとともに、ニンジン由来の CtRLV およびその関連ウイルスまたは RNA について、そのゲノム配列情報と病原性の両方を併せて解析した初めての報告である。本研究の結果は、CMD に関連する病原因子とその宿主、さらには媒介者との相互作用を考える上で重要な情報になると考えられる。