



Title	北海道産ニンニクのウイルス感染に関する疫学的・分子生物学的解析 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	佐々木, 純
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第15225号
Issue Date	2022-12-26
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/87773">https://hdl.handle.net/2115/87773</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	Sasaki_Jun_review.pdf, 審査の要旨



# 学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称： 博士（農学）

氏名 佐々木 純

審査担当者 主査 教授 増田 税  
副査 教授 近藤 則夫  
副査 講師 志村 華子

## 学位論文題名

北海道産ニンニクのウイルス感染に関する疫学的・分子生物学的解析

北海道ではニンニクの栽培面積が増加しているが、栽培に用いる種球はすでにウイルスに感染していると考えられ、道内のニンニクの収量は低くなっている。本研究では、北海道産ニンニクのウイルスに関する現地調査により疫学的解析を実施した。さらに、leek yellow stripe virus (LYSV) について分子系統学的解析、タマネギへの感染やネギ属植物への寄主性、P1 タンパク質の RNA silencing suppressor (RSS) 活性に関する分子生物学的解析を実施した。

第1章では、2019～2020年に道内のニンニクのウイルス発生調査を、8振興局54圃場で実施した。ほとんどの圃場でモザイク症状、黄色条斑、葉の奇形が確認され、合計65検体を採取しRT-PCR法による検出を行ったところ、検出されたウイルスはLYSVが最も多く、ほとんどの場合そのP1遺伝子はN型であった。しかし、2検体のみN型とP1遺伝子に欠失がみられるS型の増幅が同時に認められ、これはLYSV-NとLYSV-Sの混合感染と推測された。onion yellow dwarf virus (OYDV)は2番目に多かったが、多くの分離株でHC-ProのN-末端領域が欠失しており、北海道において優先種となっていることが判明した。また、allexivirusについては、garlic virus A, B, C, Dの4種が既に北海道に広く分布していることが示唆され、地域によるallexivirusの種の偏りは、種球の由来によるものと推測された。

第2章では、まず、オホーツク産ニンニクのN型とS型の混合感染に由来するLYSVと沖縄産および輸入ニンニクから分離したLYSVのP1遺伝子の塩基配列を決定し、これらの配列とGenBankデータベース上に登録されている配列を用い、系統樹を作成した。この系統樹ではN型P1とS型P1は明らかに異なるグループに配置され、オホーツク産ニンニク由来のS型P1は混合感染のN型P1には由来していないことがわかった。

さらに、N型P1を持つLYSV-N感染ニンニクにS型P1を持つLYSV-Sが感染できるのか調査した。すなわち、LYSV-Sを汁液接種により感染させたタマネギから、LYSV-N感染ニンニクへアブラムシによる接種を試みたところ、低率ながら感染させることができた。しかし、市販のタマネギからはほぼLYSVを検出できないことから、タマネギがLYSV-Sの伝染源になっているとは考えにくい。そこで、北海道の野生ネギ属植物（アサツキ、ギョウジャニンニク）のLYSV感染について調査したところ、アサツキ1株からNested-PCRでLYSV-Sが検出されたのみであったことから、北海道の野生ネギ属植物はニンニクの保毒源にはなっていないと考えられた。一方で、本州で採取したネギ属植物（ノビル、アサツキ、ラッキョウ、ワケギ、ギョウジャニンニク）などからは高頻度にLYSV-Sが検出され、本州では保毒源となっている可能性が考えられた。また、LYSV-SはLYSV-Nと比較してより広い範囲のネギ属植物に感染しうることも示唆された。

最後に、LYSV-S は LYSV-N よりも広い範囲のネギ属宿主に感染していたことから、LYSV-S の欠失した P1 タンパク質が HC-Pro タンパク質の RSS 活性を促進することで広い宿主範囲を獲得したのではないかという仮説を立てた。まず、*Nicotiana benthamiana* でアグロインフィльтраーションを用いた RSS アッセイを実施した。その結果、N 型 P1 と S 型 P1 は RSS 活性がほとんどなく、P1 と HC-Pro を共発現させた場合、S 型 P1 は N 型 P1 よりも強く HC-Pro の RSS 活性を促進していた。次に、ニンニクに近いネギ属植物としてタマネギを用いて RSS アッセイを実施したところ、P1 タンパク質自体に RSS 活性を検出することができ、それは、S 型 P1 が N 型 P1 よりもかなり強かった。potyvirus の P1 に RSS 活性を見いだしたのは、世界初の発見である。P1 と HC-Pro を共発現させた場合、相加的あるいは相乗的な RSS 活性はほとんど観察されなかった。このことから、LYSV の P1 は N 末端半分を欠失させると RSS 活性を高めることができ、S 型の P1 を獲得することで LYSV の RSS 活性が向上した可能性が考えられた。この P1 の欠失により、LYSV-S は他のネギ属植物にも感染することが可能になったのではないかと考えられた。

以上のように、本論文では、全道のニンニクにおけるウイルス発生状況、LYSV についての分子系統学的解析、タマネギやネギ属植物への感染、LYSV の P1 タンパク質の RSS 活性に関する初めての報告である。これらの知見は、ニンニクのウイルス感染に関する多くの新しい情報を含み、今後ニンニクのウイルス病防除に貢献が期待できる。よって、審査員一同は、佐々木純氏が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。