

判別品種での反応によるダイズモザイクウイルス日米系統の比較

兼松 誠司*¹⁾・中野 正明*²⁾

抄 録：ダイズモザイクウイルスの日本系統とアメリカ系統について、両者の判別品種に対する反応性を試験することで比較した。両判別品種で完全に同じ反応を示した系統の組み合わせは、アメリカのG3系統と日本のA系統で、両者は極めて似ているか同一系統であると考えられた。他の系統についての対応関係は明らかとならなかった。

キーワード：ダイズモザイクウイルス、系統、判別品種

Parallel Comparison between Japanese and US Strains of Soybean mosaic virus Using Differential Soybean Cultivars : Seiji KANEMATSU*¹⁾ and Masaaki NAKANO*²⁾

Abstract : A parallel comparison between Japanese and US strains of Soybean mosaic virus was performed using differential soybean cultivars. The results showed that the US G3 strain and the Japanese A strain might be quite similar or the same.

Key Words : Soybean mosaic virus, Strain, Differential cultivar

I 緒 言

ダイズモザイク病は日本全土で発生が見られ、ダイズ生産の上で最も大きな被害をもたらすウイルス病である。ダイズにモザイク病を引き起こすウイルスには複数種の記載があるが、広範な地域で最も大きな被害を与えるのはダイズモザイクウイルス (Soybean mosaic virus: SMV) である。その被害の態様としては、収量減に加え、感染成熟粒が特定の頻度で黒や茶褐色のまだら模様を呈することがあり、これにより商品価値が著しく低下することにある。

本ウイルスは圃場でアブラムシの吸汁により高率に水平伝搬されるとともに、種子を介して時に高率に垂直伝搬される (飯塚 1998)。被害回避の方策として抵抗性品種の育成と導入が最も効果的であり、近年では育成される品種のほとんどに「ウイルス病抵抗性」としてSMV抵抗性が付与されている。その結果、昨今はかつてほどの大きな被害に見舞われることは少なくなった。

ダイズの育種を事業化している国においては、最重要病害のひとつであるモザイク病の抵抗性育種は以下のように進められる。すなわち、異なるSMV抵抗性遺伝子を有すると考えられるダイズ品種数種に対して、その国内で発生するSMV分離株の感染性試験を行い、その反応性 (感染の成否) のパターンによってSMV分離株を系統分けする。この系統分けにより、国内で優先するSMV系統が明確化し、抵抗性を導入あるいは集積すべき遺伝子を絞り込むことができる。日本では1960年代から (高橋ら 1980)、アメリカでもほぼ同時期から (Cho・Goodman 1979) このような育種戦略を基にモザイク病の抵抗性育種を進めてきた。

こうした育種戦略を背景として、SMVは日本では5系統に (高橋ら 1980)、アメリカでは7系統に (Cho・Goodman 1979)、各々、分類されてきたところであるが、ウイルス学的な見地からは、これらSMV系統の対応関係に興味を持たれてきた。また、これら系統の対応関係が明らかになれば、両国間でSMV抵抗性遺伝資源の相互利用が容易になると期

1) 農研機構東北農業研究センター (NARO Tohoku Agricultural Research Center, Morioka, Iwate 020-0198, Japan)

2) 農研機構近畿中国四国農業研究センター (NARO Western Region Agricultural Research Center, Zentsuji, Kagawa 765-8508, Japan)

待されてきた。

近年は物流のグローバル化が進んでおり、日本国内未発生の植物病原が外国から侵入・蔓延する危険に常にさらされていると言える。ダイズに関しては輸入時の検疫体制に加え、輸入品のほとんどが搾油と加工に利用されている事情もあり、そうした危険性は比較的低いとされるが、万一に備えた知見を集積しておくことは重要であろう。SMVに関して言えば、輸入ダイズの60%がアメリカ産であることから、アメリカ系統と日本系統の異同を比較し、侵入について特段の注意をすべき系統を特定することは最低限の備えと思われる。また、現在国内で栽培されている抵抗性品種を打破するような新規のSMV系統が現れた場合、アメリカ系統と日本系統の異同についての知見を基に、新発生のSMV系統との異同を試験することで、外国のダイズ品種から抵抗性を導入することが容易になると考えられる。

こうした考えから、重盛 (1991) は日本系統のアメリカ判別品種に対する反応を調査し、日本系統の日本判別品種に対する反応およびアメリカ系統のアメリカ判別品種に対する反応と比較することでアメリカ系統と日本系統の異同を報告している。本研究では、重盛の報告で欠落していた、アメリカ系統の日本判別品種に対する反応を試験し、重盛の報告と総合することでアメリカと日本のSMV系統の比較試験を完成し、両者の異同を明確にすることを目的とした。

II 材料と方法

本試験に供試したSMVのアメリカ系統G 1～G 7についてはAmerican Type Culture Collection (ATCC) より分譲を受けた。系統それぞれのATCC番号は以下の通りである。G 1 : PV571、G 2 : PV717、G 3 : PV718、G 4 : PV572、G 5 : PV720、G 6 : PV721、G 7 : PV722。

判別品種に対するSMVの反応性は、各品種につ

いて1系統あたり4～8の複数個体に接種することにより試験した。すなわち、判別品種のダイズ初生葉に600メッシュのカーボランダムをふりかけた後、SMV感染葉に対して約10倍量の0.1Mリン酸緩衝液 (pH7.0) で磨砕した汁液を摩擦接種することにより行った。接種後1～2週間を経て、接種葉から上位の本葉に現れる病徴を観察した。病徴の判定では、上位葉にモザイク症状を呈したものをモザイク (M) と判定し、上位葉にえ死を生じた場合をネクロシス (N) と判定した。

III 結 果

日本の判別品種におけるSMVアメリカ系統の反応性について、接種試験により得た結果を表1に示した。病徴のモザイクでは多くの場合、接種後数日のうちに上位葉の葉脈が透明となり、1～2週間後にはモザイク症状を呈し、葉脈沿いの水泡状隆起や巻葉を伴うことが多かった。一方ネクロシスでは、接種数日後に接種葉にえぞ斑点を生じ、その後上位葉における頂部え死を経て枯死に至る場合が多かった。なお、モザイクにおいても接種葉や上位葉に葉脈え死などの部分え死を伴うことがあったが、これらについてはネクロシスとは判定しなかった。

「十勝長葉」ではアメリカ産の全系統が感染し、全接種個体でモザイクを呈した。「白豆」および「Harosoy」ではG 1およびG 4系統が感染し、全接種個体でモザイクを呈した。「奥羽13号」ではG 5系統のみが感染し、高率にネクロシスを生じた。接種試験により各品種で発現した病徴は品種毎でほぼ安定しており、「奥羽13号」に対するG 5系統の試験の場合を除いて個体間で異なることは無かった。

IV 考 察

ダイズのSMV抵抗性育種を目的とした同ウイルスの系統分類では、これまでアメリカ系統の分類にはアメリカのダイズ品種を用い、日本系統の分類に

表1 日本の判別品種におけるSMVアメリカ系統の反応性

判別品種	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7
十勝長葉	4/4 (M)	8/8 (M)	5/5 (M)	5/5 (M)	7/7 (M)	6/6 (M)	5/5 (M)
奥羽13号	0/5	0/8	0/8	0/5	7/9 (N)	0/6	0/5
白豆	5/5 (M)	0/6	0/7	5/5 (M)	0/8	0/7	0/5
Harosoy	5/5 (M)	0/8	0/6	5/5 (M)	0/8	0/8	0/5

注. 表中のカッコ内は病徴、M：モザイク、N：ネクロシス

は日本のダイズ品種を用いてきた。各国が個別に抵抗性育種を進める場合には、この方法で特段の不都合は生じないが、各国間で相互に抵抗性遺伝資源を利用しようとする場合には、各国間のウイルス系統および抵抗性の異同が不明であるために、どの抵抗性を利用すべきかの情報が全く存在せず、大きな不都合が生じる。さらに、各国のウイルス系統の異同については、病原ウイルスの進化という観点から学術的な興味も持たれてきたところである。

上記を背景とし、本研究では、SMVアメリカ系統の日本判別品種に対する反応を試験し、過去報告された3つの試験結果すなわち、SMV日本系統の日本判別品種に対する反応、SMVアメリカ系統のアメリカ判別品種に対する反応およびSMV日本系統のアメリカ判別品種に対する反応と総合することで、両国で発生しているSMV系統の異同についての結論を得ることを目的とした。表2では、表1に示した本研究の結果を含めて過去の3試験報告(Cho・Goodman 1979、高橋ら 1980、重盛 1991)を並列して記載した。これによると、アメリカ判別品種と日本判別品種の両方において完全に同じ反応を示した系統の組み合わせは、アメリカG3系統と日本A系統であり、両者は同一か極めて類似した系統であると考えられた。

日本判別品種だけで判定した場合、A系統はG

2、G3、G6、G7系統と同じ反応、B系統はG1、G4系統と同じ反応であった。D、E系統と同じ反応を示すアメリカ系統は無く、C系統はG5系統と極めて似た反応を示した。すなわち、日本の判別品種のみでは7つのアメリカ系統の反応は3つの類型として整理され、全ての系統を判別することはできなかった。

一方、重盛の報告(表2の3)によれば、アメリカ判別品種を用いた場合の5つの日本系統の反応は、3つの類型、すなわちAとB、CとDはそれぞれ同じ類型として整理され、全系統を判別できないことが示されている。以上のように、異国間の組み合わせでは判別体系として不十分であることが明らかであるが、両国がそれぞれ自国の系統判別の体系を確立していることにより、それぞれの国内の実用面においては十分に機能していると考えられる。

本研究の結果から、既存の判別品種を用いる方法ではSMV系統の対応関係を明らかにすることは非常に困難と考えられる。判別品種を用いる方法でSMV系統の対応関係を明らかにする方法として有効と考えられるのは、ダイズ品種ではなくSMV抵抗性遺伝子に対する反応性から整理する方法である。すなわち、独立した遺伝子座のSMV抵抗性遺伝子は現在までに、Rsv1、Rsv3、Rsv4が知られて

表2 日米両国の判別品種におけるSMV日米系統の反応性

判別品種	日本産 SMV 系統					アメリカ産 SMV 系統						
	A	B	C	D	E	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7
十勝長葉	M ¹⁾	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
奥羽13号	-	-	M	M	N	-	-	-	-	N	-	-
白豆	-	M	-	M	M	M	-	-	M	-	-	-
Harosoy	-	M	-	-	M	M	-	-	M	-	-	-
Clark	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
Rampage	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
Marshall	N	N	N	N	-	-	N	N	N	-	N	N
Ogden	N	N	N	N	-	-	-	N	N	-	-	N
Kwanggyo	-	-	M	M	N	-	-	-	-	N	N	N
Davis	-	-	M	M	N	-	-	-	M,N	M	M	M
York	-	-	M	M	N	-	-	-	M,N	M	M	M
Buffalo	-	-	N	N	-	-	-	-	-	-	-	N

1) 病徴-：無病徴、M：モザイク、N：ネクロシス
 2) 高橋ら(1980)による試験結果
 3) 重盛(1991)による試験結果
 4) Cho・Goodman(1979)による試験結果

いるため、これらの抵抗性を各SMV系統が打破できるかどうかで系統判別を行う方法がアメリカでは一部で試みられている (Saghai Maroof, *et al.* 2008)。なお、Rsv2については、その後の研究によって単一の遺伝子座には無く、Rsv1 + Rsv3の抵抗性であることが示されている (Gunduz 2000)。ところが、SMV抵抗性は、同一座に座乗していても抵抗性の由来によってSMV系統に対する反応性が異なっているため、それぞれの遺伝子記号を細分化する形で整理を行わざるを得ない (重盛 1991、Saghai Maroof, *et al.* 2008)。結果として、SMV系統の対応関係を最終的に明らかにするためには、細分化した抵抗性遺伝子それぞれに対する反応性を膨大な判別試験によって確認する必要に迫られることが予想される。

より直接的なSMV系統の比較としては、ウイルス遺伝子の塩基配列比較、とりわけ、ダイズの抵抗性遺伝子に対応する非病原性遺伝子領域の比較を行うことが有効と考えられる。Rsv1に対するウイルス側の非病原性領域は、SMV遺伝子のHC-Pro領域の3'側からP3領域の5'側までであることが示されており (Eggenberger *et al.* 2008)、Rsv4に対するウイルス側の非病原性領域は、SMV遺伝子のP3領域中にあることが示されている (Khatabi *et al.* 2012)。Rsv3に対する非病原性領域に関する知見は未だ得られてはいないものの、HC-Pro領域からP3領域の構造比較を行うことで既存のタイプ系統を整理することが可能ではないかと推察される。しかし、当該領域内でアミノ酸置換を伴った未記載の変異系統が見いだされた時、それが新系統なのか既存系統なのかを判断するためには、判別品種への接種試験による反応性の確認に加えて、逆遺伝学的手法によりアミノ酸変異との関係性を解析することが必要となろう。

以上のように、SMVの系統比較はウイルス学的、遺伝学的に非常に興味深いテーマであるが、系統間の同一性を厳密に追求し過ぎれば、大きな労力をかけて系統を細分化するだけに終わることが強く示唆され、抵抗性育種という実用面での貢献は期待できないと遺伝育種研究者からは指摘されてきた (重盛 1991、Gunduz 2000)。本研究の結果はこれらの指摘をさらに強く支持するものとなった。結局、実用面で重要なことは、既存の抵抗性を打破するウイルス系統の出現に留意し、その場合に備えて、特異な

抵抗性様式や遺伝様式を持つ抵抗性遺伝子についての知見をできる限り多く集積するとともに、各地域において実用的な判別品種を明らかにし、遺伝資源の確保に努めることと考えられる。

引用文献

- 1) Cho, E. K.; Goodman, R. M. 1979. Strains of soybean mosaic virus: classification based on virulence in resistant soybean cultivars. *Phytopathology* 69 : 467-470.
- 2) Eggenberger, A. L.; Hajimorad, M. R.; Hill, J. H. 2008. Gain of virulence on Rsv1-genotype soybean by an avirulent Soybean mosaic virus requires concurrent mutations in both P3 and HC-Pro. *Mol. Plant Microbe Interact.* 21 : 931-936.
- 3) Gunduz, I. 2000. Genetic analysis of soybean mosaic virus resistance in soybean. Ph. D. thesis. Virginia Polytechnic Institute and State University.
- 4) 飯塚典夫. 1998. ダイズウイルス病, ダイズモザイク病 (岸 国平編, 日本植物病害大事典.). 全国農村教育協会. p.136-138.
- 5) Khatabi, B.; Fajolu, O. L.; Wen, R. H.; Hajimorad, M. R. 2012. Evaluation of North American isolates of Soybean mosaic virus for gain of virulence on Rsv-genotype soybeans with special emphasis on resistance-breaking determinants on Rsv4. *Mol. Plant Pathol.* 13 : 1077-1088.
- 6) Saghai Maroof, M. A.; Tucker, D. M.; Tolin, S. A. 2008. Genomics of viral-soybean interactions. In G. Stacey, (ed.) *Genetics and genomics of soybean*. Springer. New York.
- 7) 重盛 勲. 1991. ダイズモザイクウイルス (SMV) によるダイズモザイク病の抵抗性育種に関する研究. 長野中信農試報 10 : 1-61.
- 8) 高橋幸吉, 田中敏夫, 飯田 格, 津田保昭. 1980. 日本におけるダイズのウイルス病と病原ウイルスに関する研究. 東北農試研報 62 : 1-130.