

アジアのバナナに発生するウイルスの同定と分子生物学的性状の解明

農業環境技術研究所 ^{ふる}古 ^や屋 ^{のり}典 ^こ子*

はじめに

バナナ (*Musa* spp.) は、ショウガ目バショウ科バショウ属に分類される多年生草本で、現在までに約 50 種が知られる。バナナは人類にとって 4 番目に重要な作物とされており、中でも、食用バナナの果実は、世界で年間約 1 億 t が生産されている (FAOSTAT, 2006)。

日本では、2004 年の総務省統計局の家計調査によると、果実の年間購入量の中でバナナが第 1 位となった。また、日本では小規模ながら、沖縄県を中心に、年間 500 t (2005 年) の生食用バナナが生産されている (FAOSTAT, 2006)。日本は、バナナ果実の大量消費国であるとともに、開発途上国が大半を占める 129 のバナナ生産国における数少ない先進国と言える。

バナナは、様々な目的で熱帯・亜熱帯を中心に世界各国で広く栽培されているが、ウイルス病などの各種病害によって生産が大きく阻害されている。これらの病害が与える国際市場や栽培農家への経済的損失は甚大であり、特に開発途上国では、急激な人口増加や食生活の改善などに伴って、食料としてのバナナの増産と安定供給が望まれている。また、特に、食用バナナは多様で、その原産地である東南アジアには 300 品種もの豊富な遺伝資源が存在する。アジアを中心とするバナナ栽培国には多様な種/品種のバナナが分布しているが、科学的かつ積極的な保全を行わなくてはこれらの貴重な遺伝資源を失いかねない。

筆者は、東京農業大学大学院在学中に、バナナの安定生産と遺伝資源保全のため、アジア各国におけるウイルスの発生状況の解明と、防除法の開発の礎となる分子生物学的性状の解明に携わった。本稿に、その研究成果の一部を紹介したい。

I アジア各国のバナナにおけるウイルスの発生状況

バナナ栽培国の多くを占める開発途上国では、主に経済的な理由から、高価な機器と試薬が必要とされるウイルス病研究が立ち遅れている。筆者らは、日本に加えて、アジアの重要なバナナ生産国、インドネシア、フィリピン、ベトナムおよびタイの 5 か国において、ウイルス病様症状を中心とするバナナ 239 株を採集し、バナナの主要 4 種ウイルス病 (表-1) の病原ウイルスの発生状況を主に ELISA 法を用いて調査した (表-2)。

最も多く検出されたのはバナナバンチートップウイルス (*Banana bunchy top virus*; BBTV) で、調査した 4 か国の 108 株から検出された。また、現地調査でもバンチートップ症状の多発が各国で確認され (口絵参照)、バナナバンチートップ病の病原ウイルスである BBTV が、日本 (沖縄県)、インドネシア、フィリピン、ベトナムで多発していることが明らかになった。本ウイルスは、食用バナナに感染すると結実不良を招くことが多く、果実生産に大打撃を与えることから、本ウイルスの防除が、これら 4 か国におけるバナナ生産の向上において、大きな鍵を握っていると言える。

BBTV に続いて多く検出された *Banana bract mosaic virus* (BBBrMV) は、フィリピンでは食用バナナとアバカ (*Musa textilis*) の両方で発生が知られているが (JONES, 2000; THOMAS et al., 1997)、日本、インドネシア、ベトナム、タイでは他の研究者による発生報告もないため、これらの国へは BBBrMV がいまだ侵入していない可能性が高い。今後の侵入を警戒し、継続的な調査が必要である。

世界中に分布している CMV は、日本 (沖縄県、岐阜県、神奈川県)、インドネシア、フィリピン、ベトナムの 4 か国で発生が確認された。また、食用バナナにおける CMV の発生は既に知られていたが、アバカでは CMV の発生が本調査で初めて明らかになった (FURUYA et al., 2006)。CMV は宿主域が広く、ナス科、ウリ科、アブラナ科などでは重要病原ウイルスと見なされているが、バナナでは、あまり問題にはなっていない。

バナナに発生するバドナウイルス属ウイルス類 (以

Identification and Molecular Characterization of Banana Viruses in Asia. By Noriko FURUYA

(キーワード: バナナバンチートップウイルス, バドナウイルス, バナナ, アジア, 同定, 分子生物学的性状)

* 現所属: 果樹研究所

表-1 バナナに発生する主要 4 種ウイルス病の概要

病名 ^{a)}	バナナバンチートップ病 (1879)	バナナモザイク病 (1930)	banana bract mosaic disease (1979)	banana streak disease (1958)
<i>Musa</i> 属植物での病徴	葉の直立, 株のわい化	葉にモザイクや壊疽	花包や仮茎にモザイク	葉に黄色条斑や壊疽
病原ウイルス	バナナバンチートップウ イルス (<i>Banana bunchy top virus</i> ; BBTV)	キュウリモザイクウイル ス (<i>Cucumber mosaic virus</i> ; CMV)	<i>Banana bract mosaic virus</i> (BBrMV)	Banana streak viruses (BSVs) <i>Banana streak GF virus</i> ; BSGFV, <i>Banana streak Mysore</i> <i>virus</i> ; BSMYV, <i>Banana streak OL virus</i> ; BSOLV
科および属	<i>Nanovirus</i> 科 <i>Babuvirus</i> 属	<i>Bromovirus</i> 科 <i>Cucumovirus</i> 属	<i>Potyvirus</i> 科 <i>Potyvirus</i> 属	<i>Caulimovirus</i> 科 <i>Badnavirus</i> 属
初報告 (宿主/分離国/ 報告者)	<i>Musa</i> sp./フィジー/MAGEE (1953)	<i>Cucumis sativus</i> /米 国 /PRICE (1934) , <i>Musa</i> sp./ オーストラリア/MAGEE (1957)	<i>Musa</i> sp./フィリピン/ BATESON and DALE (1995)	<i>Musa</i> sp./モ ロ ッ コ / LOCKHART (1986)
伝染方法	アブラムシ (クロスジコバ ネアブラムシ, <i>Pentalonia</i> <i>nigronevosa</i>)	アブラムシ (60 種以上), 種子, 接触	アブラムシ	コナカイガラムシ
地理的分布	アフリカ地域, 太平洋地 域, アジア地域	世界各地	フィリピン, インド, ス リランカ, 西サモア, ベ トナム, アメリカ地域	世界各地
自然宿主	<i>Musa</i> spp.	<i>Musa</i> spp.を含む, 800 種 以上	<i>Musa</i> spp.	<i>Musa</i> spp.

a) () : 病気の初報告年.
“Plant Virus Online” (<http://image.fs.uidaho.edu/vide/sppindex.htm>) および JONES (2000) “Disease of Banana, Abaca and Enset” より改
変.

表-2 アジア 5 か国において採集したバナナからの主要 4 種ウ
イルス病原ウイルスの検出

	日本	インド ネシア	フィリ ピン	ベトナム	タイ	合計
BBrMV	0/56 ^{a)}	0/84	47/62	0/15	0/1	47/218
BBTV	40/73	31/88	31/62	6/15	0/1	108/239
BSVs	1/56	2/57	8/62	0/15	0/1	11/191
CMV	3/56	5/84	9/62	4/15	0/1	21/218

a) ウイルス陽性試料数/全供試試料数.

下, *Banana streak viruses* ; BSVs) は 11 株で陽性反応
が認められた。本ウイルスは, 血清学的, 遺伝的に多様
であることに加え, バナナゲノム中に BSVs のゲノムが
内生しているというパラレトロウイルスである。した
がって, 本ウイルスの検出・診断には, より詳細な検討
が必要である。なお, バナナゲノムに内生する BSVs に
ついては, 本稿の IV 章で取り上げる。

II ウイルス抵抗性バナナの探索

バナナに発生する各種ウイルス病に対する効果的な防
除法は, 現在のところ確立されておらず, 罹病株の除去,
媒介虫の制御, ウイルスフリー苗の使用などに限定され
ている。筆者らは, 特にインドネシアと日本のバナナに
ついて, 種/品種ごとにウイルスの発生状況を比較し,
ウイルス抵抗性バナナの探索を行った。

1 インドネシア産食用バナナ

インドネシア・ジョグジャカルタ特別州のバナナ品種
保存圃場では, インドネシア各地から採集したバナナ
300 品種以上を露地で栽培している。筆者らは, 3 年間,
本品種圃場においてウイルス病の品種間差を調査した。

BBTV または CMV に感染していることが示された品
種の内, BBTV については 17 品種中 12 品種で, CMV
については 3 品種中 3 品種でウイルス病様症状が観察さ
れたことから, これらの 12 品種と 3 品種は, 他の品種

よりもBBTVとCMVに対して、それぞれ罹病性が高いと考察された。一方で、同圃場において、3年間、継続的に調査を行った7品種中5品種（cv. Barly, cv. Klutuk Warangan, cv. Kojia Srimentak, cv. Pinang, cv. Raja Polo）ではBBTVとCMVが一度も検出されず、これら5品種はウイルス病様症状も示さなかったことから、ウイルス抵抗性品種作出のための育種素材となる可能性が示された（FURUYA et al., 2004）。

2 日本（沖縄県）産イトバショウ

沖縄県では、イトバショウ（*Musa balbisiana* var. *liukuensis*）の仮茎から取れる繊維を利用して「芭蕉布」が生産されている。その歴史は、13世紀ごろまでさかのぼるとされ、現在でも、沖縄島北部に位置する国頭郡大宜味村を中心に、生産技術が受け継がれている。

筆者らは、まず、沖縄島の北部（名護市）、中部（中城村）、南部（那覇市、豊見城市、糸満市、具志頭村）で採集した各種バナナからBBTVを検出し、BBTVは沖縄島の広域で発生していることを確認した。しかし、食用バナナではBBTVが高頻度に検出されたのに対し、繊維用バナナであるイトバショウではBBTVは全く検出されなかった。また、試料の収集時には、BBTVの媒介虫であるクロスジコバネアブラムシ（*Pentalonia nigronervosa* Coq.）の寄生が、イトバショウでも頻繁に観察されていた。これらの事実を踏まえると、イトバショウがBBTVに対して抵抗性を有していると考えられた（古屋ら、未発表）。

III BBTVの遺伝的多様性

世界各地の熱帯・亜熱帯地域で特に問題になっているバナナバンチートップ病は、1879年にはフィジーで発生していたとされ、その後、1901年にはエジプト、13年にはオーストラリアおよびスリランカなどに広まった。現在では中南米を除く世界各地のバナナ栽培国に広がり、沖縄県では、野原（1968）によって初めて報告された。

本病の病原ウイルスは、*Babuvirus* 属に分類されるBBTVで、その粒子は直径18～20 nmの小球形で、約1 kbの環状1本鎖DNAを六つ以上有する。宿主範囲は、主としてバショウ属植物である。

BBTVの塩基配列は、世界各地の10か国産以上で既に解明され、アジアグループと南太平洋グループの大きく2グループが存在すること、また、アジアにおける遺伝的多様性が他地域よりも高いことが報告されている（KARAN et al., 1994）。筆者らはDNA解析が未報告の日本、インドネシア、フィリピン（アバカ株）と、特に多

様性が高いことで知られるベトナム産のBBTVについて、複製開始タンパク質遺伝子がコードされているDNA-Rおよび外被タンパク質遺伝子がコードされているDNA-Sの分子生物学的性状を明らかにし、既報の分離株も含めて近縁関係を検討した。

日本（沖縄県）産分離株とインドネシア産分離株は、相同性と分子系統樹に基づく、明らかにアジアグループに分類され、BBTV DNA-R全塩基配列の系統樹では、本研究で供試したフィリピン産分離株4株と既報の台湾産分離株とともに、密なクラスターAを形成した（図-1）。このことから、アジアグループの中でも、日本（沖縄県）産分離株、インドネシア産分離株、フィリピン産分離株、台湾産分離株は近縁であることが明らかになった。したがって、日本（沖縄県）、インドネシア、フィリピン、台湾の4か国で発生しているBBTVは、共通祖先から分岐した時期が近く、また、これら4か国へのBBTVの侵入時期は他国に比べて新しいと考察された。

沖縄県産BBTVについては、離島を含む7島（沖縄島、久米島、宮古島、来間島、石垣島、竹富島、西表島）で採集した7分離株のDNA-R全塩基配列を比較した。沖縄県は大小72の島々によって構成され、およそ600 kmにわたって散在しており、古くから中国、台湾、

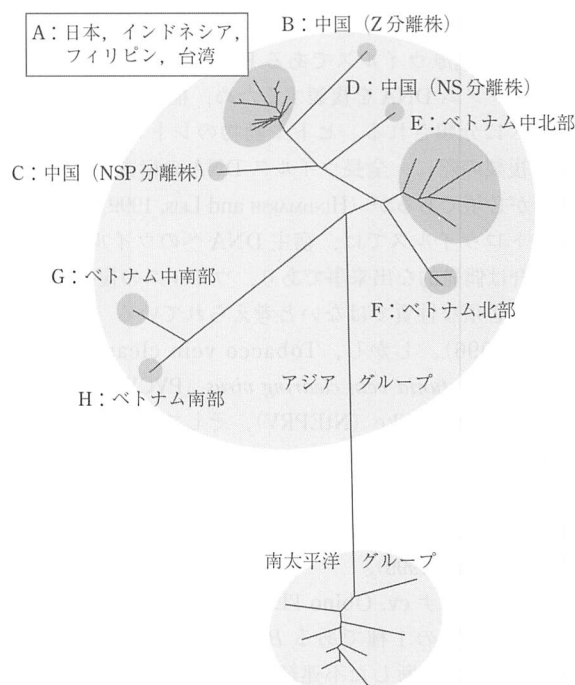


図-1 バナナバンチートップウイルス (BBTV) DNA-R 全塩基配列に基づく近隣結合法無根系統樹

ハワイ等と交流が深い。また、沖縄県で栽培されているバナナは、小笠原諸島や台湾などの複数の地域から導入されたとされる(農山漁村文化協会編, 2000)。そのため、沖縄県内の BBTB はアジアグループと南太平洋グループが混在し、高い多様性を有していると予測された。しかし、沖縄県産 BBTB の DNA-R 全塩基配列における相違は最大でも 2% で、この値は、KARAN et al. (1994) がオーストラリア国内の BBTB を比較した値と同等であった。BELL et al. (2002) が報告したベトナム国内に発生する BBTB における塩基配列の多様性は 8% であったことと比較すると、沖縄県とオーストラリアにおける BBTB の発生から現在に至るまでの期間は、ベトナムにおけるその期間よりも短いと推測された。加えて、沖縄県産 BBTB の多様性が小さいことは、BBTB の沖縄県への侵入機会が少なかったことに起因すると推論された(FURUYA et al., 2005)。

IV Banana streak disease の発生と 植物ゲノムに内生するウイルス

Banana streak disease (BSD) はアフリカを中心に世界各地で報告されている。その経済的被害は BBTB による病害と比較すると軽微であるとされてきた。しかし、近年、分子生物学的手法の普及によって、バナナの育種や保全上、極めて重要なウイルス病であることがわかってきた。

BSD の病原ウイルスである BSVs は、逆転写を経て自身のゲノム DNA を複製するため、植物パラレトロウイルスに分類される。ヒトや動物のレトロウイルスでは、複製の際に、全長ウイルス DNA の宿主 DNA への統合が必須であるが(HINDMARSH and LEIS, 1999)、植物パラレトロウイルスでは、宿主 DNA へのウイルス DNA の統合は偶発的な出来事であり、ウイルスの複製機構において必須な性質ではないと考えられている(BEJARANO et al., 1996)。しかし、Tobacco vein clearing virus (TVCV), *Petunia vein clearing virus* (PVCV), Tobacco pararetrovirus-like (NtEPRV), そして、BSVs のゲノム DNA は、植物ゲノム DNA 中に統合されて内生していることが、近年、明らかにされた(RICHERT-POGGLER et al., 2003; JAKOWITSCH et al., 1999; LOCKHART et al., 2000; NDOWORA et al., 1999)。

料理用バナナ cv. Obino l'Ewai (AAB) では、染色体上に、BSVs の 1 種である *Banana streak OL virus* (BSOLV) の分断した不連続な DNA が、2 箇所知られている(HARPER et al., 1999)。その内の一つは、完全長ウイルスゲノムを再編成して、粒子発現が可能であると

見られ(NDOWORA et al., 1999)、組織培養や、交配によって作出された *M. acuminata* と *M. balbisiana* の交雑種において、BSOLV が多発(ORITZ, 1996; PASBERG-GAUHL et al., 1996)している原因と見られている。DALLOT et al. (2001) は、バナナゲノムにウイルスゲノムは内生しているがウイルス粒子は存在していないバナナ FHIA21 (AAAB) において、組織培養が粒子発現に与える影響を検討した。その結果、発根ステージと順化ステージではほとんど影響が現れないが、増殖ステージでは BSOLV 粒子が頻繁に発現すること、培養期間と増殖した塊の分割方法が、その発現割合に影響することを報告した。植物にとっては、組織培養という人為的な繁殖法がストレスになり、その圧力下に強く曝露されると、内生するウイルスが粒子化するようである。また、LHEUREUX et al. (2003) は、ウイルスフリーの *M. balbisiana* (BB) と *M. acuminata* (AAAA) を交配して作出した F1 (AAB) において、53% の高率で BSOLV 粒子の発生を認めている。現在、世界で広く食されているバナナ果実の多くは、自然に、もしくは人為的に作出された *M. balbisiana* と *M. acuminata* の交雑種である。しかし、通常は栄養繁殖するバナナにおいては、異なる種を交配することが、組織培養と同様にストレスとなっている可能性がある。

BSD 発生とバナナのゲノムタイプとの関連に着目した GEERING et al. (2001) は、ゲノミックサザン法により、B ゲノムをもつ健全バナナ 4 品種には共通して BSOLV の DNA の一部が内生していることを報告している。同様に、筆者らは、アジア 5 か国(日本、インドネシア、フィリピン、ベトナム)産の健全バナナについて、BSOLV DNA の存在とゲノムタイプとの関係を確認した(古屋ら、未発表)。現在のところ、B ゲノムをもつバナナのみで、BSOLV が共通して内生していることが明らかになっている。植物ゲノムの一部にウイルス DNA が組み込まれたことで、植物としては、ジーンサイレンシングを誘導して、BSD 発病を防御している可能性も考えられている。一方で、ウイルスにとっては、宿主適応や弱毒化に並ぶ生き残り戦略として、自身の遺伝情報を植物 DNA の一部と同化させ、過酷な環境条件にも耐えるように進化したとも見受けられる。

お わ り に

バナナに発生するウイルスの防除では、一般的な植物ウイルスと同様に、伝染源の排除、抵抗性品種および弱毒ウイルス接種苗の栽培が有効と考えられるが、現在のところ、抵抗性品種と弱毒ウイルスについては、いくつ

かの大学や国際研究機関で研究開発が進められている段階にとどまっております、生産現場では、伝染源の排除に依存している。

これまでに、バナナの品種によっては、圃場におけるBBTVの自然発生に差異が認められることが経験的に知られていたが、それらは病徴観察のみに基づく主観的な研究にとどまっていた。筆者らは、いくつかの種/品種がBBTV抵抗性を有している可能性を見出した。中でも、食用バナナの前種 *M. balbisiana* (BB) の変種で、分布が日本に限られるイトバショウについて、アブラムシ伝搬試験によるBBTV感受性レベルの調査を現在も継続している。ただし、Bゲノムをもつバナナでは、交雑育種や組織培養時のストレスにより、子孫株でBSDが発生する可能性があり、BBTV抵抗性バナナの探索および作出に関する研究と併行して、各種バナナにおけるBSDの発生リスク評価およびBSDの予防に関する研究も求められる。

最後に、これら一連の研究を遂行するに当たり、終始懇切丁寧な御指導をいただいた東京農業大学・夏秋啓子博士および沖縄県農業研究センター・河野伸二博士に対し、心より厚く御礼申し上げます。

引用文献

- 1) BEJARANO, E. R. et al. (1996): Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 93: 759 ~ 764.
- 2) BELL, K. E. et al. (2002): Arch. Virol. 147: 695 ~ 707.
- 3) DALLOT, S. et al. (2001): ibid. 146: 2179 ~ 2190.
- 4) GEERING, A. D. W. et al. (2001): Molecular Plant Pathology 2: 207 ~ 213.
- 5) HARPER, G. et al. (1999): Virology 255: 207 ~ 213.
- 6) HINDMARSH, P. and LEIS, J. (1999): Microbiol. Mol. Biol. Rev. 63: 836 ~ 843.
- 7) JAKOWITSCH, J. et al. (1999): Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96: 13241 ~ 13246.
- 8) JONES, D. R. ed. (2000): Diseases of banana, abaca and enset, CABI, UK, p. 241 ~ 293.
- 9) KARAN, M. et al. (1994): J. Gen. Virol. 75: 3541 ~ 3546.
- 10) LHEUREUX, F. et al. (2003): Theor. Appl. Genet. 106: 594 ~ 598.
- 11) LOCKHART, B. E. L. et al. (2000): J. Gen. Virol. 81: 1579 ~ 1585.
- 12) FURUYA, N. et al. (2004): J. Agri. Sci., Tokyo Univ. of Agric. Tokyo Univ. of Agric. 49: 75 ~ 81.
- 13) ——— et al. (2005): J. of General Plant Pathology 71: 68 ~ 73.
- 14) ——— et al. (2006): J. Agri. Sci., Tokyo Univ. of Agric. Tokyo Univ. of Agric. 51: 92 ~ 101.
- 15) NDOWORA, T. et al. (1999): Virology 255: 214 ~ 220.
- 16) ORTIZ, R. (1996): Hortscience 31: 829 ~ 832.
- 17) PASBERG-GAUHL, C. et al. (1996): Plant Disease 80: 224.
- 18) RICHERT-POGgeler, K. R. et al. (2003): EMBO J. 22: 4836 ~ 4845.
- 19) THOMAS, J. E. et al. (1997): Phytopathology 87: 698 ~ 705.
- 20) 農山漁村文化協会編 (2000): バナナ, 熱帯特産果樹, 果樹園芸大百科 17, 農山漁村文化協会, 東京, p. 123 ~ 132.
- 21) 野原堅世 (1968): 沖縄農業 7: 48 ~ 50.

(新しく登録された農業 18 ページからの続き)

らっかせい: シロイチモジマダラメイガ, ダイズサヤタマバエ, カメムシ類, マメヒメサヤムシガ, アブラムシ類, マメシンクイガ: 収穫 21 日前まで

豆類 (未成熟, ただし, さやいんげんを除く): シロイチモジマダラメイガ, ダイズサヤタマバエ, カメムシ類, マメヒメサヤムシガ, アブラムシ類, マメシンクイガ: 収穫 30 日前まで

あずき: アブラムシ類, カメムシ類: 収穫 21 日前まで

そらまめ: アブラムシ類: 収穫 3 日前まで

とうもろこし: アワノメイガ, カメムシ類: 収穫 7 日前まで

ばれいしょ: アブラムシ類, テントウムシダマシ類: 収穫 3 日前まで

かんしょ: イモコガ, アブラムシ類: 収穫 7 日前まで

たらのぎ: センノカミキリ幼虫: 3 ~ 5 月株養成期

うど: アブラムシ類, ヨトウムシ: 根株養成期 但し収穫 150 日前まで

ばら: アブラムシ類: —

きく: アブラムシ類, カメムシ類, ヨトウムシ類: —

つつじ: グンバイムシ類: —

カーネーション: アザミウマ類, クロウリハムシ: —

りんどう: ヒラズハナアザミウマ: 発生初期

芝: コガネムシ類幼虫, シバツトガ, スジキリヨトウ, シバオサゾウムシ: 幼虫発生期

宿根かすみそう: ハモグリバエ類: —

花き類・観葉植物: アオムシ, バッタ類, ハマキムシ類: —

樹木類: アブラムシ類, グンバイムシ類, アメリカシロヒトリ: —

アスター: ウリハムシ: —

ソリダコ: カメムシ類: —

スターチス: コガネムシ類: —

シネリリア: シンクイムシ類: —

斑入りアマトコロ: コウモリガ: —

ききょう: ヨトウムシ: —

せんりょう: アザミウマ類, カメムシ類: —

こでまり: カイガラムシ類: —

しきみ: クスアナアキゾウムシ: —

にしきぎ: ケムシ類: —

しゃりんばい: シンクイムシ類: —

だいおうしょう: シンクイムシ類: —

さかき: ハマキムシ類: —

さつき: ハマキムシ類: —

さんごじゅ: ワタノメイガ: —

●マラソン乳剤

21940: 家庭園芸用マラソン乳剤 (住友化学) 07/03/20

マラソン: 50.0%

りんご: ハダニ類, リンゴワタムシ, アブラムシ類: 収穫 14 日前まで

もも: ハダニ類, アブラムシ類, カイガラムシ類: 収穫 7 日前まで

かき: ハマキムシ類, カイガラムシ類, イラガ類: 収穫 30 日前まで

かんきつ (なつみかんを除く): ハダニ類, アブラムシ類, カイガラムシ類, ハマキムシ類: 収穫 14 日前まで

ぶどう: ハダニ類, アブラムシ類: 収穫 7 日前まで

おうとう: アブラムシ類: 収穫 7 日前まで

びわ: アブラムシ類: 収穫 7 日前まで

うめ: アブラムシ類, ハマキムシ類, カイガラムシ類: 収穫 7 日前まで

(28 ページに続く)