Japanese yam mosaic virus（JYMV）弱毒系統を用いたヤマノイモモザイク病の防除とJYMVの分子遺伝学的解析

山口県農林総合技術センター　**鍛治原（かじはら）　寛（ひろし）**

はじめに

ヤマノイモ属の作物は，世界中で300～600種（日本原産は1種）存在すると推定されており，海外では「ヤム」と呼ばれ，主食とする国も多く，経済的にも重要な作物である。現在，国内で栽培されている主なヤマノイモは，中国原産のナガイモ，ヤマトイモ等のヤマイモ（Chinese yam, *Dioscorea opposita* Thunb.）であり，近年，日本原産のジネンジョ（Japanese yam, *D. japonica* Thunb.）も多く栽培されるようになっている（金浜，2007）。

山口県内では，県中部に位置する山口市（旧徳地町）でヤマイモに属するイチョウイモが，県東部に位置する柳井市でジネンジョが栽培されている（図-1）。山口市でのイチョウイモの栽培の歴史は古く，江戸時代には栽培されていたという記録が残っており，現在では，中山間地域における地域特産野菜として多く栽培されるようになっている。県内のジネンジョの栽培は，民間会社が開発したジネンジョ栽培道具の普及に伴い県全域に拡大し，現在では，生食用のイモの生産のみでなく，全国の産地を対象にした種イモの生産も行われている。しかしながら，イチョウイモ，ジネンジョのいずれにおいても，葉上にわん曲を伴った激しいモザイク症状や葉脈緑帯が生じ，収量が低下するなどの問題が発生している。その原因を調査した結果，ヤマノイモモザイクウイルス（*Japanese yam mosaic virus*；JYMV）感染によるウイルス病であることが明らかとなった（図-2）。

JYMVは*Potyvirus*属に属し，その粒子の形状は長さ680～780 nmのひも状である。JYMVは，種イモ伝染，アブラムシ類により非永続伝搬される（土崎ら，1993）。本病の対策として，生産地ではウイルスフリー株の普及を目指す動きがあったものの，すぐに再感染するなど，良質イモの生産に結びつかなかったことから，その代替策が求められた。そこで，JYMV弱毒系統を作出・選抜

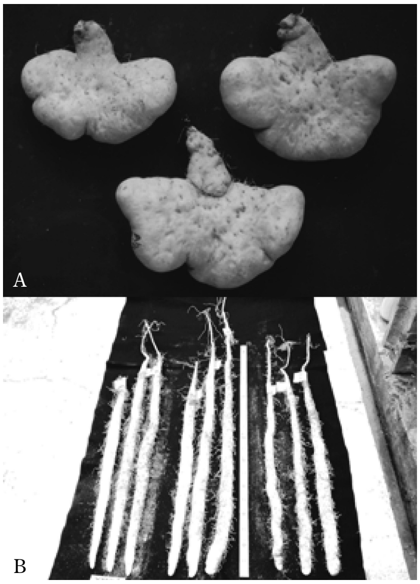


図-1　ヤマノイモ
A：イチョウイモ，B：ジネンジョ．

図-2　ヤマノイモモザイク病

Control of Mosaic Disease in Yam Plants with Mild Strains of *Japanese yam mosaic virus* and Molecular Genetics of the Virus. By Hiroshi Kajihara

（キーワード：ヤマノイモ，ヤマイモ，ジネンジョ，イチョウイモ，ヤマノイモモザイク病，JYMV，弱毒ウイルス，防除）

し，それを植物ウイルスワクチン（弱毒ウイルス）として利用することによるモザイク病の防除を試みた結果，イチョウイモとジネンジョのそれぞれに弱毒ウイルスの開発に成功した。本稿では，ジネンジョを対象にした弱毒ウイルスの開発について主として記載している。

なお，イチョウイモの弱毒ウイルスの開発研究については，農林水産省地域先端技術共同研究開発促進事業（1996 ～ 2003 年），ジネンジョ弱毒ウイルスの開発研究については，山口大学農学部・山口県連携研究課題（2006 ～ 09 年）で，それぞれ実施した。また，本内容は鳥取大学大学院連合農学研究科学位論文の一部である。

I　ジネンジョの JYMV 弱毒ウイルスの作出

2005 年に，山口市の栽培イチョウイモから探索，選抜した JYMV の弱毒ウイルスの部分純化液に約 1%のカーボランダムを加用し，ジネンジョ優良系統のウイルスフリー培養苗に塗末接種した。接種後は MS 培地（ホルモンフリー，スクロース 3%）に置床し，25℃ 16 時間照明下（6,000 Lux）で管理した。接種約 1 か月後に JYMV の感染の有無を確認し，JYMV の感染が認められた苗については，葉柄と蔓を約 1 cm 付けた Y 字型の腋芽節（以下「腋芽」とする）の個々を MS 培地に植え継ぎ（腋芽培養），弱毒化処理のため低温（20℃），16 時間照明下（6,000 Lux）で培養した。培養 2 か月後に，JYMV の感染の有無を確認するとともに，葉上にモザイクがなく，生育が優れた株の一つを弱毒ウイルス有望株として選抜した（弱毒ウイルス YMO6：口絵②）。

II　YMO6 の干渉効果

ポット試験と圃場試験により YMO6 の干渉効果を確認した。

ポット試験では，腋芽培養法により増殖した弱毒ウイルス YMO6 保有株の 0 ～ 5 葉期のものを用いた。強毒ウイルスの接種は，モモアカアブラムシを用い，獲得吸収前絶食時間 2 時間，獲得吸汁時間 5 ～ 10 分，接種時間 10 ～ 15 分で，1 株当たり 5 頭利用して実施した。接種後は，ガラス温室内で管理し，接種 1 か月後に展開した上位 1 ～ 2 葉を採取し，IC－PCR－RFLP（亀谷ら，1999）で強毒 JYMV の感染の有無を確認した。

圃場試験は，2006 ～ 08 年に柳井市の現地ジネンジョ栽培露地圃場（政田自然農園）で実施した。YMO6 保有株およびウイルスフリー株を供試し，それぞれ前年の収穫イモを切断し，種イモとして定植した。対照として現地の慣行株（強毒 JYMV 保有株）と栽培 1 年目のウイルスフリー株を供試した。栽培は，4 月中旬～ 12 月中旬まで行った。8 月下旬～ 9 月上旬にかけて，すべての株の下から 2 ～ 3 葉目の葉を採取し，IC－PCR－RFLP により YMO6 と強毒 JYMV の感染の有無を確認した。また，栽培期間を通じて，葉のモザイクの程度を観察した。

その結果，ポット試験および圃場試験ともに，YMO6 保有株ではほとんど強毒系統の感染が確認されず，YMO6 の強毒系統に対する干渉効果が認められた（表－1，2）。

III　生育・収量・品質調査

生育・収量調査は 2008 年に，品質調査は 2007 年と 08 年，柳井市の現地ジネンジョ栽培圃場で栽培した YMO6 保有株と強毒ウイルス感染株を用いた。品質調査は，2007 年と 08 年 12 月に収穫したイモを用いて，アスコルビン酸含量，ポリフェノール含量，DPPH ラジカル消去活性を調査した。

その結果，YMO6 保有株の葉長，葉幅は，強毒ウイルス感染株と比較して大きく，ウイルスフリー由来株と同等であった（表省略）。YMO6 保有株の収穫イモの 1 株当たりの重量は，慣行の強毒ウイルス感染株と比較し

表－1　YMO6 保有株の干渉効果（ポット試験）

株	供試株数	強毒ウイルスの感染株率（%）
YMO6 保有株	8	0
ウイルスフリー株	10	100

強毒ウイルスの感染は，RT－PCR により確認した.

表－2　現地における YMO6 の干渉効果（2006 ～ 08 年，柳井市）

試験年と供試株	強毒ウイルスの感染	
	調査株数	感染株率（%）
2006 年（1 年目）		
YMO6 保有株	15	0
ウイルスフリー株	24	100
2007 年（2 年目）		
YMO6 保有株	18	0
ウイルスフリー由来株	10	100
現地農家慣行（モザイク病発病）	20	100
2008 年（3 年目）		
YMO6 保有株	16	6.7
ウイルスフリー由来株	8	100
ウイルスフリー株	28	28.6
現地農家慣行（モザイク病発病）	20	100

強毒ウイルスの感染の有無は，各年 9 月採取した葉を用い，RT－PCR－RFLP で判定した.

て高く，ウイルスフリー由来株と同等であった（表–3，口絵①）。YMO6 保有株の収穫イモの成分を分析した結果，2007 年，08 年ともに総アスコルビン酸，全フェノールおよび抗酸化活性は，現地農家慣行株（強毒ウイルス感染株）より高く，ウイルスフリー株と同等であり，イモの品質は優れていた（表–4）。

Ⅳ　YMO6 のゲノム解析

イチョウイモの JYMV 強毒系統（Y）およびジネンジョで作出した弱毒系統（YMO6）におけるゲノムを解析し，遺伝子の相違について比較検討した（図–3）。得られた塩基配列は，BLAST を用いて，既知 DNA との相同性を調べるとともに，CLUSTALW により塩基配列およびアミノ酸配列の比較を行った。その結果，HC–Pro 領域では，塩基配列比較で比較的高い相同性が認められた（82.0%）が，両者間で異なる領域も多く散在することが明らかになった。推定アミノ酸配列の比較でも，高い相同性が認められた（91.6%）。CP 領域でも，塩基配列比較および推定アミノ酸配列比較の両方で比較的高い相同性が認められた（85.2% と 84.5%，YMO6 の CP と NIb 遺伝子情報；アクセッション番号 AB539021）。

Ⅴ　JYMV の多様性

西日本地域の栽培ジネンジョ，県内の栽培イチョウイモに発生している JYMV 強毒系統，弱毒系統 YMO6 および山口県で選抜したイチョウイモ由来の JYMV 弱毒系統 T–3 を含めた多様性を検証するため，外被タンパク（CP）領域を含むゲノム 3’末端領域の塩基配列（400 bp）情報に基づいて，系統樹を作製した。その結果，三つのグループが形成され，JYMV が多様な系統を含むことが示唆された（図–4）。

表–3　収穫ジネンジョの重量

供試株	収穫イモ 1 株当たりの重量（g）
YMO6 保有株	475.6 ± 29.6
ウイルスフリー株	571.9 ± 72.4
現地栽培慣行株（発病株）	334.9 ± 18.7

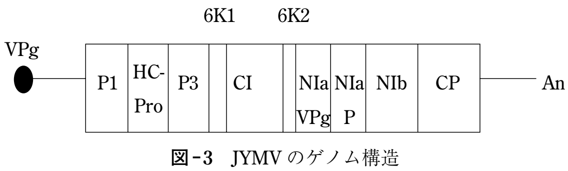
供試株は，1 ～ 3 年間露地栽培したもの.

お　わ　り　に

ジネンジョ JYMV 弱毒系統 YMO6 の保有株については，2009 年 4 月に，増殖・販売を希望する山口県内の種イモ生産者と山口県・山口大学との間で許諾契約を締結し，種イモは譲渡された。その後は，それぞれの許諾生産者が増殖し，早ければ 2011 年には販売される予定である。

イチョウイモ JYMV 弱毒系統 T–3 の保有株については，「モザイク病に強いヤマノイモ（山口 2 号）」として，2004 年に品種登録出願を行った。しかしながら，出願後，農水省からウイルスに感染したイモでは，品種本来の特性がわからないとの指摘を受け，現在，ワクチンを除いた品種（ウイルスフリー）を用い，品種登録に向けた作業を行っている。一方で，現場からは T–3 保有株の栽培要望が強かったため，行政，JA の協力の下で，山口市内（旧徳地町）に T–3 保有株の原種増殖用ハウス（網室）が設置され，地域一丸となった増殖体制が整備されていった。原種の維持管理は農業公社が，種イモの増殖は生産農家が，さらに種イモの買い取り販売は，JA が行うしくみを整備し，その結果，2009 年現在で，全栽培株の約 80% が T–3 保有株に更新されている。

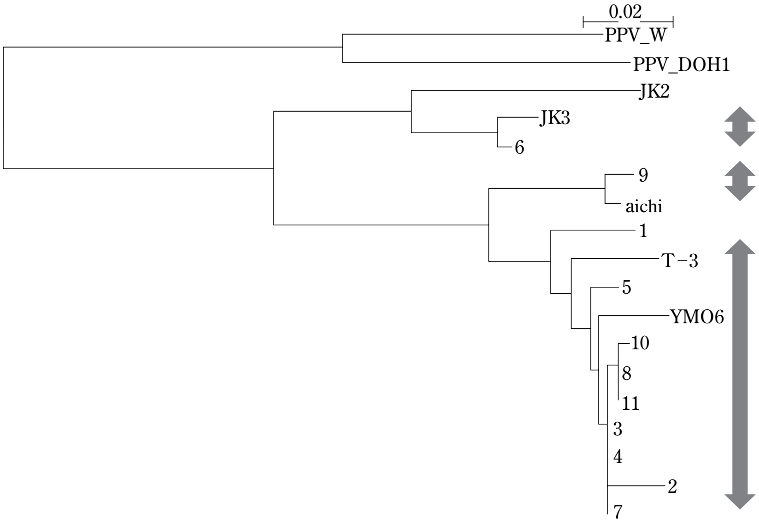
ヤマノイモ栽培現場で問題となっているモザイク病は，ウイルスフリー株に YMO6 や T–3 を接種，増殖し，現場に供給していくことで，解決できる見込みが得られた。しかしながら，一方で，解決しなければならない問題点もある。藤（2003）は，ジネンジョで選抜した JYMV 弱毒系統 M（JYMV–M）の感染イモを維持し続



図–3　JYMV のゲノム構造

表–4　各収穫ジネンジョの成分

供試株	総アスコルビン酸（mg・100 g⁻¹FW）	全フェノール（mg・100 g⁻¹FW）	抗酸化活性 IC50（mg⁻¹）
YMO6 保有株	13.93 ± 0.11	17.31 ± 1.33	0.021
ウイルスフリー株	16.50 ± 0.28	20.45 ± 1.01	0.028
現地農家慣行株（発病株）	6.60 ± 0.012	13.17 ± 0.11	0.012



図−4　JYMV 系統樹
1 ～ 11：全国の JYMV 強毒系統 No.1 ～ 11，aichi：愛知強毒系統，JK2：山口強毒系統 JK2，JK3：山口強毒系統 JK3，T−3：弱毒系統 T−3，YMO6：弱毒系統 YMO6，PPV_W : *Plum pox virus* isolate W, PPV_DOH1 : *Plum pox virus* DOH1.

けた結果，種イモによっては，圃場で発病する現象が認められ，これら株に感染している JYMV を調査すると，JYMV−M が検出されず，強毒系統のみが検出されたことを報告している。このことは，切りイモを種イモとして用いる場合には，弱毒ウイルスが移行しない場合や，移行できてもその濃度が低いなどの問題があることを示唆する。そのため，安定して干渉効果を得ようとする場合，露地栽培では，できる限り弱毒系統導入 1 年目の種イモ（切りイモ）の定植は避けること，出芽後しばらくは弱毒ウイルスの濃度が低いことが想定されるため，JYMV の媒介虫であるアブラムシ類の防除を徹底するなどの措置が必要と考える。また，弱毒系統の保有株を従来の方法で栽培した場合，生育が旺盛になり，収穫イモが大きくなりすぎて形状などの品質が損なわれる可能性がある。そのため，従来の栽培方法を見直し，弱毒系統の保有株に適した栽培管理技術を現地と協力し，確立することとしている。

引　用　文　献

1）藤　晋一（2003）: 植物防疫 **57** : 457 ～ 460.
2）亀谷満朗ら（1999）: 日植病報 **65** : 494 ～ 497.
3）金浜耕基編（2007）: 野菜園芸学，文永堂出版，東京.
4）土崎常男ら（1993）: 原色作物ウイルス病辞典，全国農村教育協会，東京，p. 434 ～ 435.

農林水産省プレスリリース（22.2.16 ～ 22.3.15）

農林水産省プレスリリースから，病害虫関連の情報を紹介します。
http://www.maff.go.jp/j/press/syouan の後にそれぞれ該当のアドレスを追加してご覧下さい。

◆ **平成 21 年度病害虫発生予報第 10 号の発表について**（2/18）　/syokubo/100218.html