

テンサイそう根病の病原ウイルス (BNYVV) の 進化と品種抵抗性

元岡山大学資源生物科学研究所
岡山大学資源植物科学研究所

たま
玉
こん
近

だ
田
どう
藤

てつ
哲
ひで
秀

お
男
き
樹

はじめに

植物病理研究者にとって、新しい病害に遭遇したとき、その病原体の伝搬経路や発病要件等を調べ、最善の防除対策をたてることが使命であるが、特にその病原が、いつ、どこから、どのような経路でやってきたかについて疑問を抱くものである。筆者（玉田）がテンサイ（甜菜：sugar beet, *Beta vulgaris* ssp. *vulgaris*）のそう根病に出会ったのは、1970年の夏である。当時北海道の数箇所で突発的にテンサイの病害が発生し（表-1）、診断の依頼を受けた。神沢・宇井（1972）は、イタリアで発生の土壌生息菌 *Polymyxa betae* が関与するとされる「rhizomania 病」（CANOVA, 1959）の症状と酷似していることから「テンサイのそう根病」と名付けた。病名の「rhizomania」は、「rhizo」が root (radical), 「mania」が abnormal trend (madness) のラテン語から由来する。筆者（玉田）は、本病害が *P. betae* で媒介されるウイルス病であることをはじめて明らかにし、その病原ウイルスを「ビートネセ性葉脈黄化ウイルス (*Beet necrotic yellow vein virus*; BNYVV)」と命名した (TAMADA and BABA, 1973)。それ以来、そう根病は世界各国で発生が確認され、テンサイの最重要病害の一つとして注目された (ASHER, 1993)。そう根病の国別の初発生の記録を表-1に示す。テンサイは世界 55 か国に栽培され、2009 年度の総作付面積は 427 万 ha である（北海道てん菜協会、2011）。

本稿では、テンサイそう根病の病原ウイルスである BNYVV の進化、地理的起源、伝搬経過、抵抗性品種および抵抗性品種の罹病化について、主として筆者（玉田）の研究室（北海道立中央農業試験場と旧岡山大学資源生物科学研究所）で得られた成果を中心に概説する。

Sugar Beet Rhizomania Caused by *Beet necrotic yellow vein virus* :
Evolution and Host Resistance. By Tetsuo TAMADA and Hideki
KONDO

（キーワード：テンサイ、そう根病、ベニウイルス、BNYVV, *Polymyxa betae*, 進化、地理的起源、発生分布、抵抗性品種、抵抗性打破）

I テンサイそう根病とその病原ウイルス (BNYVV)

1 テンサイそう根病

本病は 1950 年代にイタリアの北部ポー川流域に発生したのが最初とされている（表-1；CANOVA, 1959）。北海道では、1965 年に発生が確認された（神沢・宇井、1972）。その病原ウイルスは実験的に寄主植物に汁液接種できるが、野外ではネコブカビ類に属する *Polymyxa betae* でのみ伝搬される。ウイルスを保有した *P. betae* は土壌中で長期間生存できる（阿部、1987）。ウイルスと媒介生物は、いずれも寄主範囲は狭く、主としてアカザ科（*Chenopodiaceae*, 現在の被子植物系統グループ（Angiosperm Phytoeny Group, APG 体系）によるとアカザ科はヒユ科に含められている）の植物に感染する。テンサイ以外には圃場レベルでハウレンソウへの感染がみとめられている。

ウイルスに感染したテンサイの根では、細根が異常に増加し、そう生（叢生）する。激しい場合には根は肥大せず、奇形となり、主根の内部にえ死を起こす。地上部の葉は退緑、黄化するが、ウイルスは地上部からは検出されず、根に局在する。極めてまれに地上部にウイルスが移行することがあるが、その場合、葉の脈が鮮明に黄化し、次第にえ死を伴う。この地上部の症状がウイルス名の由来である。本病によりテンサイの収量は著しく減少し、また外観が健全のようでもウイルス感染で根中糖分の低下を招く。

ウイルスを保有した *P. betae* の休眠胞子は土壌中で長期間生存できるため、耕種的、化学的手段で撲滅または防除することは困難である（玉田、1976；阿部、1987）。病原を持ち込まない予防対策が重要となるが、土壌が汚染された地域における防除は、抵抗性品種に依存している。そのため、後述するように欧米では抵抗性のテンサイ品種の開発が精力的に行われ、欧米の発病地域では抵抗性品種が導入されている。

このように、テンサイそう根病は典型的な土壌伝染性病害であるため、個々の畑の診断は、防除対策上極めて大切である。この作業によって、汚染圃場を早期に発見することで、当該汚染圃場および未発生圃場での対策、

表-1 テンサイそう根病が初めて発見された年とその後の発生状況^{a)}

年代：発生年，国名（地域）

1950年代：1952，イタリア（Venice, Padova, Rovigo, Udine, Ferrara；1964，中央イタリア；1979，南イタリア）

1960年代：1965，日本（北海道，帯広；1970，南富良野，真狩，伊達，本別，幕別，津別，美幌）

1970年代：1971，セルビア（Srem；1978，Banato, Backa, Pomoravlje, Slavonija, Baranja）；1972，ギリシャ（Thessaly, Yannouli；1976，Zante）；1973，フランス（Erstein, Alsace；1977，Paris basin, Seine-et Maarne, Loiret；1979，Cote-d'Or）；1974，ドイツ（Hessenの南部；1978，RhineからLudwigschafen-Mannheim）；1978，クロアチア（Slavonija, Baranja），チェコ，スロバキア，中国（内モンゴ，バオトウ），1979；オーストリア（Danube Valley），ルーマニア，ロシア，ウクライナ，カザクスタン

1980年代：1982，ハンガリー；1983，米国（California；1987，Texas；1992，Michigan；1992～1994，Colorado, Idaho, Nebraska, Wyoming），ブルガリア，オランダ，スイス（Seeland, Chietres, Anet）；1984，ベルギー；1987，英国（East Anglia），トルコ；1988，スペイン

1990年代：1996，イラン（Fars）；1997，スウェーデン（Scania, Oland）；1998，シリア

2000年代：2000，デンマーク；2002，ポーランド；2003，エジプト；2005，モロッコ

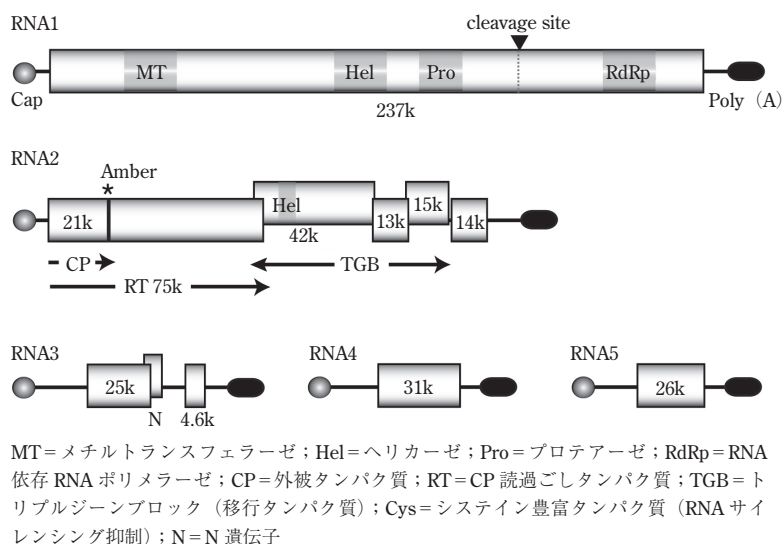
^{a)} ASHER (1993), TAMADA (1999), McGRANN et al. (2009) に基づいて作成.

図-1 BNYVV のゲノム構造 (TAMADA (1999) より改変)

抵抗性品種作付けの指導が可能となる。

2 BNYVV 遺伝子の特徴

筆者らが BNYVV を同定したほぼ同じ時期に，フランスのアルザスでも rhizomania の発生が確認され，病原が BNYVV であると同定された。フランス・ストラスブールの Richards 博士の研究グループ（植物分子生物学研究所，IBMP）は，1980 年代に BNYVV の全塩基配列（RNA5 を除く）を決定し（BOUZOUBA et al., 1987），ゲノムの構造と遺伝子機能を明らかにしている（玉田，1991；RICHARDS and TAMADA, 1992）。そのゲノム構造を図-1 に示す。

BNYVV はベニウイルス（*Benyvirus*）属のタイプ種である（TAMADA, 1999）。ウイルス粒子は，棒状で 21 kDa

の外被タンパク質（CP）とプラス鎖 RNA からなる。粒子の幅は 20 nm，長さは 60～390 nm で，粒子の長さは包含される RNA サイズに対応する。ウイルス RNA は 4～5 種の分節ゲノム（1.3～6.7 千塩基）からなり，サイズの大きい順に RNA1 から RNA5 と名付けられている（図-1）。各 RNA は真核細胞の mRNA と同じように，5' 末端にキャップ構造，3' 端にポリ A 鎖を保有する。

BNYVV の RNA1 には 1 個の長い ORF（読み枠）が存在し，237 kDa のタンパク質がコードされている。ウイルス自身のもつプロテアーゼによって 2 種のタンパク質に加工される。RNA1 には，ウイルス複製のためのすべての情報が含まれている。RNA2 には，6 個の ORF が存在する。CP（21 kDa）とその読み過ごしタンパク質

(RT, 75 kDa) は粒子の形成と媒介生物 *P. betae* による伝搬性、トリプルジーンブロックタンパク質 (TGB) は細胞間移行、システインリッチタンパク質 (14 kDa) は宿主の抗ウイルス機構である RNA サイレンシングに対するカウンター防御 (病原性の強化) に関与している。

BNYVV の RNA3, RNA4 および RNA5 には、それぞれ 25 kDa (p25), 31 kDa (p31) および 26 kDa (p26) のタンパク質がコードされている。RNA3 はテンサイのそう根病の発現に必須であり、RNA4 は伝搬性の効率と根特異的 RNA サイレンシングの抑制に補助的にかかわっている。RNA5 は RNA3 と同様、病原性に関与している。これら小さなサイズの RNA 種はいずれもウイルスの感染に必要でなく、RNA の複製、増殖、粒子形成は、RNA1 と RNA2 に依存する。

II ペニウイルスとその起源

1 ペニウイルスの分類学的位置

BNYVV が所属するペニウイルス属メンバーの粒子形態 (棒状) は、タバコモザイクウイルス (TMV, トバモウイルス属, *Tobamovirus*) と類似する。トバモウイルスはビルガウイルス科 (*Virgaviridae*) に所属するが、この科にはその他フロウイルス属 (*Furovirus*)、ホルデイウイルス属 (*Hordeivirus*)、ペクルウイルス属 (*Peculovirus*)、ポモウイルス属 (*Pomovirus*)、トブラウイルス属 (*Tobravirus*) 等の棒状ウイルスが含まれる (玉田, 2007; ADAMS et al., 2009)。とりわけ、フロウイルス、ペクルウイルス、ポモウイルスは、ネコブカビ類による伝搬性、分節ゲノムをもつことからペニウイルスと類似性が高い (TAMADA and KONDO, 2013)。しかし、ペニウイルスの複製酵素は、動物ウイルスのヘペウイルス科 (*Hepeviridae*) のウイルスに近いこと、ウイルスのもつプロテアーゼによって 2 種のタンパク質に加工されること、ゲノムの 3' 末端がポリ A 鎖であることなど、ビルガウイルス科のウイルス種とは明らかに異なる (玉田, 2007)。そのため、ペニウイルス属を包含する新たなペニウイルス科 (*Benyviridae*) の創設が国際ウイルス分類委員会 (ICTV) に申請されている (GILMER et al., 2013)。ペニウイルスの CP はフロウイルスやポモウイルスに近く、移行タンパク質はホルデイウイルス、ペクルウイルス、ポモウイルスと近縁な TGB である (KONDO et al., 2013)。

2 ペニウイルス属のウイルス種

ペニウイルスにはタイプ種の *Beet necrotic yellow vein virus* 以外に、*Beet soil-borne mosaic virus* (BSBMV)、*Rice stripe necrosis virus* (RSNV)、さらに新規メンバーとして *Burdock mottle virus* (BdMoV; ゴボウ斑紋ウイ

ルス) が ICTV に提案されているが (GILMER et al., 2013)、いずれのウイルスも寄主範囲は狭い。米国でテンサイから分離された BSBMV は、*Polymyxa betae* による伝搬性や寄生性から、BNYVV と最も近縁であるが、米国以外での発生は認められていない。RSNV は、アフリカ (コートジボアール) および南アメリカ (コロンビア) のイネに発生が確認されている。RSNV は *Polymyxa graminis* で媒介される。BdMoV は 1970 年に岡山県で初めて発見されたゴボウのウイルスであるが、媒介者は不明であり、日本以外での発生の記載はない。BdMoV の複製酵素には、AlkB 様領域 (ベータフレキシウイルスに検出される場合が多い) が存在するが、他のペニウイルスには存在しない (KONDO et al., 2013)。BNYVV と BSBMV には、RNA3, RNA4 のような小さなサイズの RNA 種を含むが、RSNV と BdMoV からはそのような RNA 種は検出されていない。

3 ペニウイルスの起源

ペニウイルスの複製酵素は、既に述べたように動物ウイルスのヘペウイルスに近く、CP や移行タンパク質は、棒状ウイルスであるビルガウイルス科の一部のウイルス属に近い。一般に棒状ウイルスの寄主は植物のみと考えられている。しかしオーストラリアで淡水藻類の一種、オーストラリアシャジクモ (*Chara australis*) から検出された *Chara australis virus* (CAV) は、粒子が BNYVV と類似の棒状 (530 nm) である。興味深いことに、CAV の複製関連酵素はペニウイルスに、CP はトバモウイルスに類似性を示した (GIBBS et al., 2011)。なお、藻類は植物が出現する以前に地球上に存在していた生物であり、ウイルス媒介者であるネコブカビ類の寄主の一つでもあることが知られている (NEUHAUSER et al., 2011)。

筆者らは、BNYVV 遺伝子配列をクエリーとしてデータベース検索 (tBLASTn) を行い、ペニウイルス複製酵素の類似配列が植物 (ヒヨコマメ, *Cicer arietinum*) と昆虫 (サシガメ: 吸血性の衛生害虫, *Rhodnius prolixus*) の核ゲノム上に存在することを発見している (KONDO et al., 2013)。これらの配列を用いた分子系統関係を図-2 に示す。このような複製酵素の類似配列は祖先型ペニウイルスが「ゲノム上に残した感染履歴 (ウイルス化石)」であると考えられている。さらにいくつかの植物 (キク科のヒマワリヒヨドリ, エンドウ, ヨーロッパモミ等) や昆虫 (キクイムシ) の転写物アセンブリ配列データにも類似配列の存在を見いだした。これらの結果は、藻類、植物、昆虫等を含む広範囲の宿主にペニウイルスや関連ウイルスが感染している (あるいは過去に感染していた) 可能性を示唆しており、ペニウイルスの起源や進

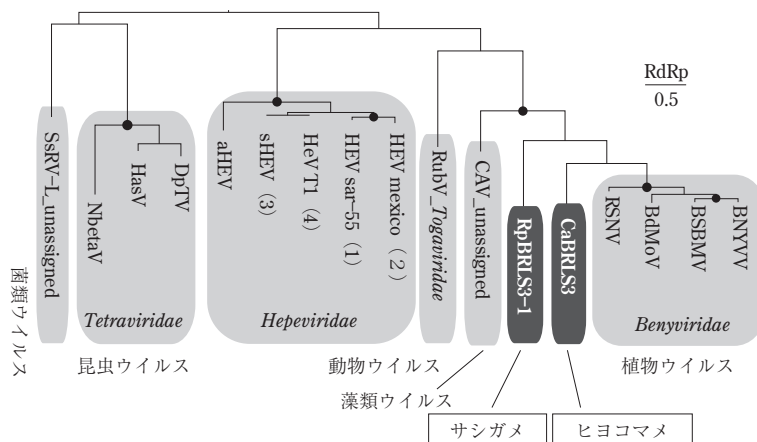


図-2 ペニウイルスと類縁ウイルスの複製酵素ならびに植物・昆虫ゲノム上に発見されたウイルス類似配列（化石配列）を用いた分子系統樹（Kondo et al. (2013) より改変）

化を理解するうえで極めて興味深い。

III BNYVV の系統と地理的分布

1 BNYVV の系統とその起源

BNYVV は A 型と B 型に大別される (KRUSE et al., 1994)。当初, A 型ウイルスは, 大部分のヨーロッパ, 米国, 中国, 日本を含む広範囲に分布し, B 型ウイルスは, ドイツとフランスの限られた地域に分布していると報告された。さらに, フランスの一部から検出され, RNA5 を含む BNYVV 分離株は P 型ウイルスとして A 型, B 型から区別された (KOENIG and LENNEFORS, 2000)。しかし, P 型の他の配列は A 型に近く, RNA5 を含むウイルスは, 日本や中国からの分離株に含まれていることから, 筆者らは, P 型ウイルスは A 型に属するウイルスとして報告した (MIYANISHI et al., 1999)。A 型と B 型ウイルスの塩基配列の違いは 4 種の RNA セグメントでやや異なり, RNA1 = 1.7%, RNA2 = 4.1%, RNA3 = 2.9%, RNA4 = 3.6% である (SATO et al., 1996)。CP の塩基配列を比較すると, 両型間で 3.5% の違いが見られ, 3 個のアミノ酸配列の置換をともなっている。このアミノ酸配列の違いにより A 型と B 型の識別が可能である (MIYANISHI et al., 1999)。

筆者らは, 世界各地から集めた BNYVV 分離株 (73 株) の CP (RNA2), p25 (RNA3), p31 (RNA4) および p26 (RNA5) 遺伝子配列を決定し (図-1), 既往のデータを含めその分子系統解析を行った (CHIBA et al., 2011)。その結果, CP は二つのグループ (A 型と B 型), p25 (RNA3) は三つのグループ (I, II, III 型; 図-3 A), p31 (RNA4) は四つのグループ (I, II, III, IV 型) にそれぞれ分け

られた。このうち p25 (RNA3) の三つのグループは, さらに八つのサブグループ (クラスター) に分けられた (図-3 A)。これらクラスター内のウイルス株の地理的分布はよく一致していたため, それぞれのクラスターを類似系統とみなし, 最初に発生が確認された地名を系統名に当て, 区別することとした (図-3)。

さらに, BNYVV の CP, p25, p31 遺伝子の連結データ (concatenate) をもとにした分子系統樹から (図-3 B), 現在の BNYVV 系統は少なくとも四つの先祖型ウイルス集団 (A-I, A-II, A-II および B) とそれらの混合感染によるリアソータント (遺伝子再集合) 集団から由来すると推定した (CHIBA et al., 2011)。図-4 に示すように, 祖先型の BNYVV は 5 種の RNA を含み, まず A 型と B 型ウイルスに分岐し, A 型はさらに三つのサブタイプ (A-I, A-II および A-III) に分岐したと推測される。RNA5 は A 型由来のウイルス集団に存在し (Italy 系統を除く), B 型ウイルスでは, 祖先型 BNYVV から分岐する時点で RNA5 フリーになったと推定される。

2 BNYVV 系統の地理的分布と伝搬経過

BNYVV の祖先型とそれに由来したウイルス系統の類縁関係から, それぞれのウイルス系統の地理的起源と発生分布を図-5 に示し, 表-2 に要約した。

(1) Italy 系統

Italy 系統は, RNA5 フリーの A-III 群に属し, 1950 年代にイタリア北部で発生したのが最初である。その後, 約 30 年の間にヨーロッパ各地, 東欧, 中東のトルコ, イラン, 米国に拡大した (KRUSE et al., 1994; SCHIRMER et al., 2005; LIU and LEWELLEN, 2007; KOENIG et al., 2008)。しかし, 中国, 日本での発生は確認されていない (図-5)。

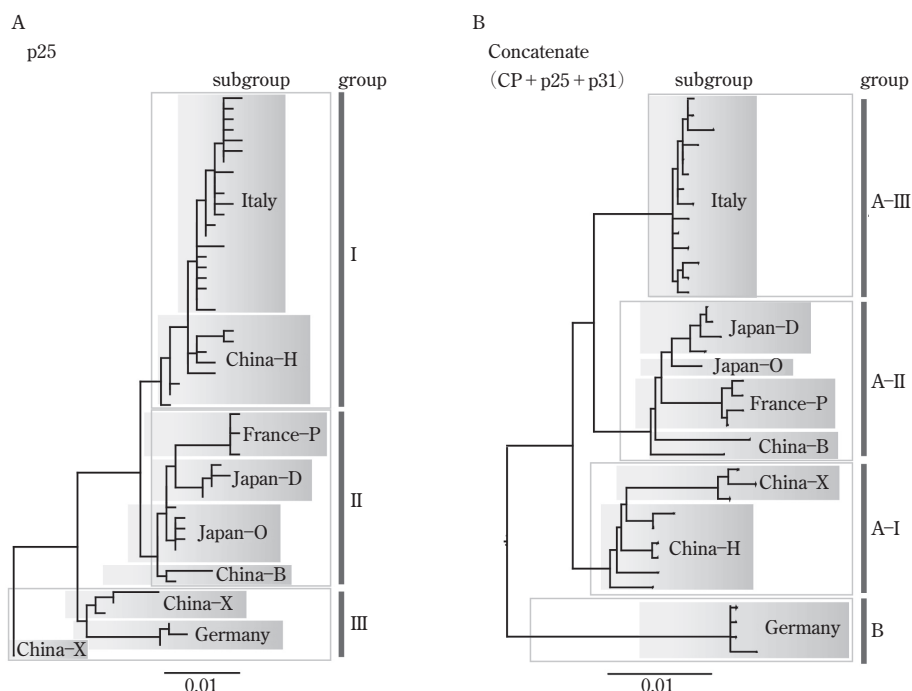


図-3 BNYVV の分子系統樹 (CHIBA et al. (2011) より改変)

(A) p25 (RNA3) の塩基配列 (73 分離株) に基づいて作成.

(B) CP, p25, p31 遺伝子の塩基配列 (43 分離株) の連結データ (concatenate) に基づいて作成.

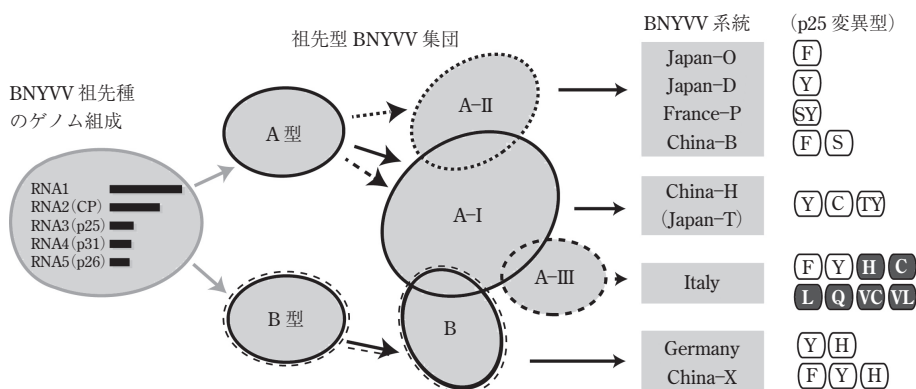


図-4 祖先型 BNYVV 集団とその混合感染から由来したウイルス系統と p25 変異型 (CHIBA et al. (2011) より改変)

祖先型集団 A-I, A-II, A-III, B は, 図-3 B のグループに対応する.

灰色枠で示した p25 変異型は Rz1 抵抗性品種に病原性を示す.

(2) Germany 系統

Germany 系統は, RNA5 フリーで B 群 (祖先型) に由来し, 1970 年代当初, ドイツのヘッセン (Hessen) とフランスのアルザス (Alsace) の限られた地域に発生した。その後, ドイツ全土とフランス北部に広がり, 最近では, ベルギー, オーストリア, チェコ, スイス等の

近隣国にも発生が拡大している (図-5; Koenig et al., 2008)。

(3) A-II 群の BNYVV 系統

A-II 群には, 四つの BNYVV 系統 [Japan-D (伊達), France-P (Pithiviers), China-B (Bautou), Japan-O (帯広)] が含まれる (図-5)。いずれも大部分の分離株は

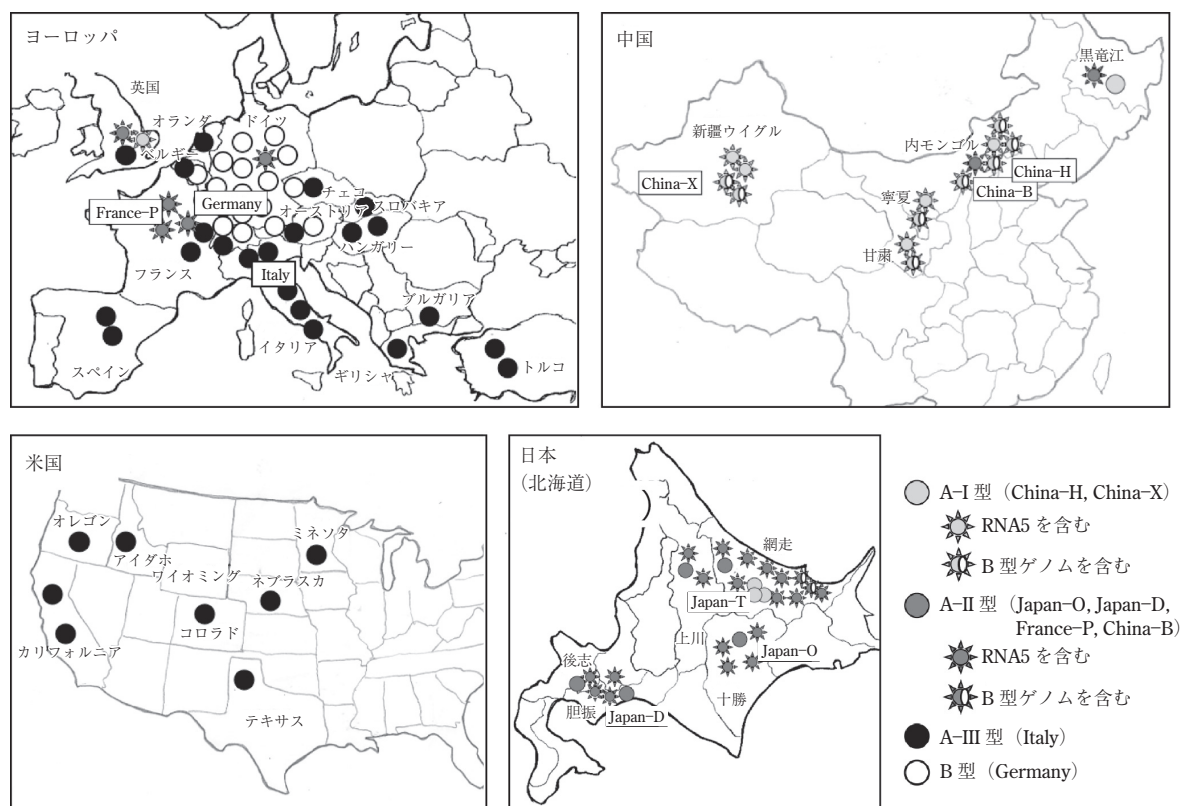


図-5 ヨーロッパ, 米国, 中国, 日本における BNYVV 系統の分布

(LIU and LEWELLEN, (2007); KOENIG et al. (2008); LI et al. (2008); CHIBA et al. (2011) に基づいて作成).

ウイルス系統名は初めて確認された地名に由来し, 白枠で示した.

表-2 p25 遺伝子 (RNA3) を基に分類された BNYVV 系統とその地理的分布^{a)}

祖先型	BNYVV 系統	CP 型	RNA5	地理的分布
A-II	Japan-D	A	+	北海道 (道南)
A-II	France-P	A	+	フランス, カザフスタン, 英国, イラン
A-II	China-B	A	+	中国, ドイツ
A-II	Japan-O	A or B	+	北海道 (全道)
A-I	China-H (Japan-T) ^{b)}	A or B A	+	中国, 英国 北海道 (網走)
A-III	Italy	A	-	ヨーロッパ, 中東, 米国
B	China-X	A	+	中国
B	Germany	B	-	ドイツ, フランス, ベルギー, スイス, チェコ, オーストリア

^{a)} CHIBA et al. (2011) の図-3 A に基づいて作成.

^{b)} Japan-T 系統は China-H 系統に含まれる.

RNA5を含むが, 一部RNA5フリーのものも検出される。日本産分離株は, 1960年代に発生が確認されており, Japan-D系統は道南地方, Japan-O系統は全道に分布している。斜里町から分離されたJapan-Oには, 一部B型のCPをもつウイルスが含まれていた(図-5)。China-Bは, 中国の内モンゴル自治区のパオトウ(Baotou)と黒竜江省のハルビン(Harbin)から分離された(Li et al., 2008)が, 最近分離されたドイツ産OW1株(KOENIG et al., 2008)は, このChina-B系統に含まれる(図-5)。France-Pは, 1977年フランスのバリ近郊のピティヴィエ(Pithiviers)地方で確認されたのが最初で(KOENIG and LENNEFORS, 2000), その後発生域はフランス国内で拡大している。1979年にカザフスタン, 最近では英国から検出されている(WARD et al., 2007)。また, France-Pタイプの分離株はイランからも検出されたが, RNA5フリーである(MEHRVAR et al., 2009)。

(4) China-H 系統

A-I群に属するChina-H(Hohhot)は, 中国に広く

分布しているようである。興味深いことに、フフホトから分離された多くの China-H タイプのウイルスの CP は B 型である。日本産分離株 Japan-T (津別) は、この系統に含まれるが、RNA5 フリーである (図-5)。最近英国から分離された UK-FF 株 (WARD et al., 2007) は、この系統に属する (図-5)。

(5) China-X 系統

B 群 (祖先型) に由来する China-X (Xingjiang) 系統は、中国の新疆自治区、甘肅 (Gansu) 省、寧夏 (Ningxia) 自治区等の北西部から分離されている (図-5)。この系統は、p25 遺伝子が B 型に近いので、B 群由来としたが、CP は A 型である。

3 BNYVV の地理的起源と原寄主

テンサイは、アカザ科の 2 年生植物である。1747 年にドイツで飼料用ビートに糖分成分が含まれていることが発見されて以来、19 世紀初頭から品種改良が行われ、20 世紀にヨーロッパを中心に北半球の冷涼地帯の主要作物として発展した、いわゆる新作物である。しかし、テンサイと祖先が同じであるフダンソウ (swiss chard, leaf beet), テーブルビート (garden beet, red beet), 飼料用ビート (fodder beet) 等は (いずれも分類学的には *B. vulgaris* spp. *vulgaris* とされている), 古くからヨーロッパ、アジアで栽培されていた。フダンソウは、すでに紀元前 600 ~ 400 年にギリシャ、ローマで栽培され、葉を食用にされていたとの記録がある。その後、紀元前後に根が肥大したものを食用ビートとして利用され、ヨーロッパに広く栽培されるようになった。飼料用ビートは 15 ~ 16 世紀ころから栽培されるようになったという。

B. vulgaris spp. *vulgaris* の起源は、野生ビート (ハマフダンソウ, sea beet; *Beta vulgaris* ssp. *maritima*) とされている。この種は、ヨーロッパ地中海や中東 (カスピ海、コーカサス地方) を原産とし、「Sea beet」といわれるように、耐塩性が強く、沿岸部に広く自生している。また、遺伝的、生態的にも極めて多様であり、病虫害抵抗性やストレス耐性等に関与する多くの遺伝子は、この野生種から由来している。事実、*B. vulgaris* ssp. *maritima* に対する BNYVV の接種反応も極めて多様である (LEWELLEN et al., 1987; TAMADA, 2007)。さらに、テンサイそう根病は、1970 年代にヨーロッパ各地に発生が確認されるまでは、イタリア地域特有の風土病とみなされていた。このような背景から、筆者らは、BNYVV の起源はヨーロッパで、BNYVV は地中海原産の野生ビートと共進化してきたと強く信じていた。

しかしながら、BNYVV の分子系統解析の結果、日本産・中国産ウイルスは遺伝的に多様であるのに対して、

ヨーロッパ産ウイルスは (Italy, Germany, France-P 系統), それぞれの系統内で遺伝的に均一であることがわかった。また予想に反して、Italy タイプの BNYVV は東アジアから検出されていない。ヨーロッパ産 BNYVV が日本・中国に個別に持ち込まれ、前記のような多様なウイルスに変異し、また混合感染によるリアソータント集団ができたとは考えにくく、むしろ、多様性のある東アジアの BNYVV が、ヨーロッパに持ち込まれたと考えたほうが自然である。以上のことから、BNYVV の起源は、地中海や中東ではなく、東アジアであるとの結論に至った (CHIBA et al., 2011)。

上記の推論から、BNYVV には *B. vulgaris* 以外の原寄主が存在すると考えられるが、まだ不明である。BNYVV と媒介生物 *Polymyxa betae* の寄主範囲は狭く、ウイルスは主としてアカザ科植物に、一部アカザ科以外の植物に感染が認められている (TAMADA, 2002)。少なくとも図-3 で示した四つの祖先型ウイルス集団とそれから派生した八つのウイルス系統群 (集団) は、テンサイが栽培されるかなり以前に、東アジアに自生する原寄主上で進化し、分岐してきたと考えられる。これら祖先型 BNYVV 集団が *P. betae* によってテンサイへと伝搬される時点で、ボトルネック効果により、遺伝的に均一なウイルス系統群が成立したと考えられる。BNYVV に感染したテンサイの細根はそう生 (異常に増殖) し、これが *P. betae* の増殖・存続にも好都合であることから、ウイルス媒介のチャンスを相乗的に増大させる。それを裏付けるように、一作のテンサイ栽培で、畑の感染源が 10 万倍に増加したという実験例も示されている。また、ウイルス保有休眠胞子は、活性を維持した状態で、土とともに容易に移動、伝搬、拡散できる (TAMADA, 2002)。テンサイにおけるこのような BNYVV の発病・伝搬戦略は、ウイルス系統群の成立と拡散に密接にかかわっていると推測される。

4 BNYVV 集団の遺伝的多様性

ウイルスがどのように進化しているかを研究するための方法の一つとして、どの遺伝子領域にどのような選抜圧が働いたかを推測するものがある。それは、同義置換 (ds: アミノ酸配列に変化を生じないもの) と非同義置換 (dns: アミノ酸配列に変化を生じるもの) を比較する方法である。アミノ酸変異を伴わない同義置換は、自然選抜の影響をあまり受けないので中立であると仮定すると、同義置換の速度は、多くの遺伝子間でほぼ一定である。しかし、もし正の淘汰が働き、ある表現型の変化がもとの形質よりも生存に有利であって、それが積極的に集団内に固定されたとすると、非同義置換は同義置換

より多く集団内に固定される。逆に、負の淘汰がはたらく場合もある。

筆者らは、このような仮説をもとに BNYVV 分離株の異なった遺伝子をグループ別に比較した (CHIBA et al., 2011)。その結果、CP 遺伝子領域を見みると、全体では CP の dns/ds 値は、0.089 であり、この値は他の植物 RNA ウイルスの CP の値とほぼ同程度であった (CHARE and HOLMES, 2004)。このことは、BNYVV CP 遺伝子は負の淘汰圧を受け、高度に保存されていることを意味している。それに対して、病原性関与遺伝子 p25 の dns/ds 値は、CP の値より高く、1.167 ~ 0.433 とグループによって異なる値を示した。すなわち、各グループ (集団) には、異なった選抜圧が加わったことを示唆している。特にグループ I に属する Italy 系統では (図-3 A), p25 の dns/ds 値は 1.500 であり、p25 遺伝子に正の淘汰圧が働いていることが明白である。このように病原性遺伝子が強い選抜圧をうけていることは極めて注目すべきことで、後述するように抵抗性テンサイ品種の栽培と深くかかわっていると考えている。

なお、BNYVV 分離株全体の塩基配列レベルでの多様性 (nucleotide diversity) は低く (0.016 ~ 0.025)、さらにグループ内ではより小さい値を示した (0.002 ~ 0.018)。このような低い値は、BNYVV 集団が遺伝的にかなり安定しているか、または比較的最近分岐したウイルスであることを示唆している (CHIBA et al., 2011)。

IV 日本と中国におけるテンサイの栽培歴とそう根病の発生

1 日本におけるテンサイの栽培とそう根病

日本 (北海道) におけるテンサイの栽培歴について要約すると (北海道てん菜協会, 2011)、テンサイは、1871 年に札幌官園で初めて試作され、1880 年から一般に栽培されるようになった。1890 年には、胆振、石狩での栽培面積は 800 ha を超えたが、低収益性のため農家での栽培は中断された。1920 年代に十勝地方でテンサイ栽培が再興され、1920 年代後半には栽培面積が 1 万 ha に達した。その後栽培は伸び悩んでいたが、1950 年代中期にテンサイ栽培振興の措置が強力に推進されるようになり、多数の製糖工場が新設され、栽培面積が飛躍的に増大した。栽培面積は、1960 年から 5 年間に 4 万 ha から 5 万 ha に上昇、その後ほぼ 7 万 ha を維持している。

そう根病の発生について、神沢・宇井 (1972) は、1965 年に大型ポットに繰り返し栽培したテンサイに見られたのが最初の発生と記載している。1970 年には道

内 43 町村、595 ha に発生が認められたが (表-1)、大部分は紙筒移植栽培の畑であった。そのため、汚染土による育苗時感染が指摘され、移植栽培の普及にとまない、育苗土処理、病土拡散防止等の緊急な防除対策が講じられた (玉田, 1976; 阿部, 1987)。筆者らは、1982 年に ELISA 法によるウイルス診断法を確立し、圃場検定のマニュアルを作成した。この方法を用いて、1985 年から 4 年間に道内の約 2 万点の圃場検定を行った結果、約 20% の圃場からウイルスが検出された (日本甜菜製糖、北海道糖業、ホクレンの調査による)。なお、一般畑での発病は土壌 pH に著しく依存し、発病程度と被害は、pH の高い畑ほど激しい (阿部, 1987)。

2 中国におけるテンサイの栽培とそう根病

中国では、1909 年ころ黒竜江省のハルビン近郊で試作されたのが最初である (董, 1989)。1930 年代に黒竜江省と吉林省の鉄道沿線で栽培されたが、テンサイの発展は微々たるものであったという。1950 年代の初めに、北西部の内蒙古や新疆自治区でテンサイの試作に成功し、1956 年以降パオトウ、フフホト (Hohhot)、タートン (Turton) に製糖工場が完工するに従って、テンサイの栽培は東北部から西部に広がった。1960 年代に寧夏、甘粛、新疆等北西部に拡大、1970 年前後にはテンサイ栽培は南にも広がり、栽培面積は一気に黄河流域と淮河流域に拡大した。この時期には、揚子江流域とその高冷山地および南中国にもテンサイが試作されたという (董, 1989)。

中国での最初の発見は、1978 年でパオトウである (表-1; Gao et al., 1983)。1980 年代には黄河流域のテンサイ栽培畑に発生が急激に拡大し、遠く離れた新疆自治区、黒竜江省でも発生が確認された (図-5)。黄河流域は灌漑農業であり、春先の強風により土壌が広く拡散する。さらに土壌 pH が高く、好適な発病条件である。筆者 (玉田) が 1992 年寧夏自治区銀川市を訪問した際の経験では、新作物として導入されたテンサイ畑では、2 作目から発病が見られ、3 作目には被害が甚大となり、同畑ではテンサイの栽培は中止せざるを得ないとのことであった。このように、中国では 1970 年代またはそれ以前に、BNYVV 保有 *Polymyxa betae* は、原寄主から栽培テンサイに感染し、そこで急速な勢いで増加、拡大したと思われる。

V 抵抗性品種の育種

1 抵抗性品種の育成経過と栽培状況

1958 年にイタリア北部 (ベニスの近く) で褐斑病 (*Cercospora leaf spot disease*) 抵抗性の 'Alba 系統 (多

胚性のテンサイ品種)がそう根病に抵抗性をもつことが見いだされ、1966年に本格的に抵抗性育種が始まったとされている (BIANCARDI et al., 2002; De BIAGGI et al., 2011)。その後、欧州の各育種会社は、Alba 系統を育種母材として単胚種子 ‘Monodoro’, ‘Ritomo’, ‘Dora’ 等の抵抗性品種を育成した。これらの抵抗性品種は、抽台や他の病害に弱い欠点をもっていたため、さらに改良が加えられ、1985年に ‘Rizor’ が育成された (De BIAGGI et al., 2011)。この品種は、そう根病の発生していない畑では感受性優良品種と比べて10%程度の減収を示したが、安定した抵抗性を示すため、1980年代後半からヨーロッパ各地の発生地域に広く栽培された (ASHER, 1993)。

一方、米国では、1984年からUSDA研究所 (サリナス) が抵抗性育種に着手し、‘Holly Sugar’ の育成系統の中にそう根病抵抗性を示す遺伝資源があることを見つけた (LEWELLEN et al., 1987)。Holly 源の抵抗性は、‘Rizor’ より高く、単純優性遺伝し、その遺伝子は *Rz1* と命名された (LEWELLEN et al., 1987; SCHOLTEN et al., 1996)。*Rz1* 遺伝子は、高い遺伝特性 (交配で遺伝子座を含む領域の導入が可能) をもつため、現在そう根病抵抗性品種の育成プログラムの中で広く利用されている (SCHOLTEN and LANGE, 2000; RUSH et al., 2006)。しかし、汚染程度の高い圃場では十分な経済的な効果が期待できない場合があることも指摘されている。さらに、USDA サリナスの研究グループは、*B. vulgaris* ssp. *maritima* 遺伝資源の中に様々な抵抗性を示す系統が存在していることを見つけている (LEWELLEN et al., 1987)。現在では、下記に示すような複数の抵抗性遺伝子をもつテンサイ品種が育成されている。

2 抵抗性の遺伝的特性

‘Rizor’ と ‘Holly’ の抵抗性は、いずれも *B. vulgaris* ssp. *maritima* に由来し、同じ遺伝子座にあることが分子マーカー (SCAR) によって示されている (BIANCARDI et al., 2002)。デンマーク起源の ‘WB42’ アクセッション系統種は、‘Holly’ より高いレベルの抵抗性を有し、その抵抗性の機構は ‘Holly’ の機構とは異なるとされ、遺伝子は *Rz2* と命名された (SCHOLTEN et al., 1999)。*‘WB42’* と同じ起源である ‘WB41’ アクセッションから抵抗性遺伝子 *Rz3* が同定され、*Rz1* と *Rz3* は第3染色体に座位し、その距離は5センチモルガン以内であると算出されている (GIDNER et al., 2005)。さらに、各種分子マーカー (AFLP, SNP, RAPD) を組合せて、量的形質座位 (QTL) 解析が行われ、‘R36’ および ‘WB258’ アクセッションから、それぞれ新規抵抗性遺伝子 *Rz4* および *Rz5* が同定されている (LEWELLEN and WHITNEY, 1993; GRIMMER et al.,

2007)。LEIN et al., (2007) は、第3染色体に集積している4個の抵抗性遺伝子群 (RGAs: resistance gene analogues) をマーカーとして解析を行い、BNYVV 抵抗性遺伝子 (*Rz1*, *Rz2*, *Rz3*, *Rz4* および *Rz5*) は、第3染色体上の二つの異なる遺伝子座に存在することを示した。一つは *Rz1*, *Rz4*, *Rz5* で、ほかは *Rz2* と *Rz3* である。RGAs 群とは、様々な病害に対する抵抗性関与遺伝子が、ある特定の染色体の一部に集積して存在している遺伝子群のことで、抵抗性遺伝子の特徴は基本的に NBS-LRRs の共通構造をもつ。このように、これまでマップされた5種のテンサイそう根病の抵抗性遺伝子がすべて、RGAs 領域に含まれていることは極めて興味深い。

VI 宿主の抵抗性に関与する BNYVV 遺伝子

一般に、抵抗性テンサイ品種・系統では根における BNYVV の蓄積レベルが感受性品種のそれよりも低く、結果としてウイルスに対するダメージが少ない。このことから、通常は根の症状を指標として抵抗性が評価されているが、根におけるウイルス抵抗性機構についてはほとんどわかっていない。

筆者らは、抵抗性に関与するウイルス側の遺伝子特定するため、BNYVV 野生株および p25 (RNA3) 欠失変異株を抵抗性レベルの異なるテンサイ品種へ接種した。その結果、野生株接種の抵抗性品種では、病徴が現れず、感受性品種と比べて根のウイルス量が低いことが判明し、特に RNA3 の増殖が著しく抑制されていた。それに対して、p25 欠失変異株は、感受性、抵抗性いずれの品種に対しても病徴を示さず、根においても同程度のウイルス増殖が認められた。すなわち、BNYVV の p25 (RNA3) はテンサイのそう根症状を誘導するだけでなく、抵抗性品種の根におけるウイルスの増殖抑制にも関与している (TAMADA et al., 1999)。

同様の現象は、汁液接種によって葉に現れた表現型からも確認することができた。BNYVV 野生株をテンサイの葉に汁液接種すると、感受性品種 ‘モノミドリ’ では、黄色斑を生じ、抵抗性品種 ‘Rizor’ では壊死斑点を生ずる (TAMADA, 2007)。さらに、判別宿主 *B. vulgaris* ssp. *maritima* より MR1, MR2 の2ラインを選抜し、詳細に解析したところ、感受性反応と抵抗性反応は BNYVV に存在する p25 遺伝子によって決定され、しかも p25 の特定のアミノ酸残基が抵抗性反応を規定する鍵因子となっていることがわかった (CHIBA et al., 2008)。具体的な実験例を示すと、p25 タンパク質の68番目がフェニルアラニン (F) である BNYVV 分離株をベースに F をチロシン (Y)、ヒスチジン (H)、システイン (C) およ

びアラニン (A) に置換した変異株を作製して、抵抗性レベルの異なる植物に汁液接種した。その結果、MR1 植物では 68 番目が F であるウイルスが抵抗性反応を示し、他の変異株はすべて感受性反応を示した。それに対して、MR2 植物では、68 番目が F、Y および H のウイルスが抵抗性反応を示し、C および A は感受性反応を示した。抵抗性反応を示した接種葉では、ウイルスとウイルス RNA の蓄積は著しく抑制された。この結果から、筆者らは、p25 の 68 番目のアミノ酸残基が BNYVV に対するテンサイ品種間の抵抗性/感受性の特異性を決定していると結論した (CHIBA et al., 2008)。つまり、BNYVV p25 (RNA3) は、感受性の植物では黄色斑形成を誘導し、抵抗性の植物では抵抗性誘導因子 (エリシター) として機能することが明らかにされた。

VII 抵抗性品種の罹病化

1 抵抗性を打破するウイルス変異株の出現

2002 年に米国カリフォルニア州インペリアル・バレー地区で、*Rz1* 抵抗性品種が罹病化する現象が見られた (Liu et al., 2005; RUSH et al., 2006)。米国で初めてそう根病の発生が確認されたのは、1983 年カリフォルニア州である。その後 1987 年にテキサス州、1992 年にミシガン州、さらにその後 3 年の間にコロラド、アイダホ、ネブラスカ、ワイオミングの各州で本病の発生が認められた (表-1; RUSH, 2003)。ウイルスが持ち込まれた経緯や正確な時期・場所は明らかでないが、おそらくヨーロッパ経由で侵入したと考えられている。BNYVV の 4 種の米国産分離株を調べた結果、すべてがイタリア系統に属し、p25 タンパク質の 68 番目のアミノ酸残基はカリフォルニア産分離株では L、テキサスとミネソタ産分離株では C であった (CHIBA et al., 2011)。米国産の BNYVV には、さらに 67 番目の A がバリン (V) に変化した p25 をもつ分離株も多く検出されており (Liu and LEWELLEN, 2007)、これらのアミノ酸置換が抵抗性テンサイ品種の罹病化に関与している可能性が示唆された (ACOSTA-LEAL et al., 2008)。

2 抵抗性打破の機構

筆者らは、抵抗性を打破するウイルスの出現機構を調べるため、世界各地の BNYVV 分離株から p25 のアミノ酸残基の異なる代表株を選び、媒介菌 *Polymyxa betae* を用いて感受性品種‘モノドリ’と *Rz1* をもつ抵抗性品種‘シュベルト’に接種を行った (CHIBA et al., 2011)。接種された植物は人工気象室 (恒温: 23℃) 内で 1 か月育成し、その後移植し、温室内で 2~3 か月間病徴を観察した。地上部に現れた病徴 (黄化、萎縮) と、根のそ

う根症状の程度を指標として抵抗性の強弱を判定した。その結果の一部を表-3 に示す。抵抗性品種‘シュベルト’のウイルス症状は BNYVV の分離株で異なり、O11 など 6 分離株は無病徴、SLN1、IP7 および USTH は軽い症状、SPC はそれらより明らかに強い、中程度の症状を示した。これらの結果に加え、その他の逆遺伝学的手法を用いたウイルス解析のデータから、筆者らは p25 の 67 番目の A から V への変化が *Rz1* 抵抗性の打破に強く関与していることを証明した。また、68 番目の、H、C、リジン (L)、グルタミン (Q) への変化も *Rz1* 抵抗性の打破に関与していることを示した (表-3)。以上から BNYVV の病原性を左右する変異株を区別するため、図-4 と表-3 に示すように 68 番目 (または 67 番目と 68 番目) のアミノ酸残基の略称を p25 変異型名として記した。

興味深いことに、テンサイ品種の抵抗性を打破する BNYVV 系統がどのように出現してきたかは、図-6 に示した p25 遺伝子の塩基置換の出現パターンから推測可能である。まず、中国、日本のウイルス株であるが、p25 の 68 番目が Y (UAU) また F (UUU) であることから、前述の BNYVV 東アジア起源説よりこれらを祖先型とみなすことができる (図-4)。68 番目の F (UUU) から Y (UAU) への変化は、転換型 (トランスバージョン) 塩基置換による。最初のステップでは、転換型変異により F (UUU) から C (UGU) に、転位型 (トランジション) 変異により F (UUU) から L (CUU) に変化する。第 2

表-3 各種 BNYVV 分離株の病原性検定: *P. betae* を用いたテンサイへの接種試験^{a)}

BNYVV 系統	分離株 (原産国)	p25 変異株 ^{b)}	テンサイ品種 ^{c)}	
			モノミ ドリ	シュベ ルト
Japan-O	O11 (日本)	F	3	0
Japan-D	S113 (日本)	Y	3	0
China-H (Japan-T)	T41 (日本)	Y	3	0
Germany	GW (ドイツ)	Y	3	0
Italy	SLP2 (スロバキア)	F	3	0
Italy	HUA5 (ハンガリー)	Y	3	0
Italy	SLN1 (スロバキア)	H	3	1
Italy	IP7 (イタリア)	L	3	1
Italy	IV1 (イタリア)	Q	3	1~2
Italy	USTH (USA)	C	3	1
Italy	SPC (スペイン)	VC	3	2

a) CHIBA et al. (2011) の表-3 より一部抜粋して作成。

b) p25 の 68 番目 (SPC 株は 67 番目と 68 番目) のアミノ酸残基の変異を示す。

c) 病徴の程度: 0, 無病徴; 1, 軽い症状; 2, 中程度の症状; 3, 強い症状。

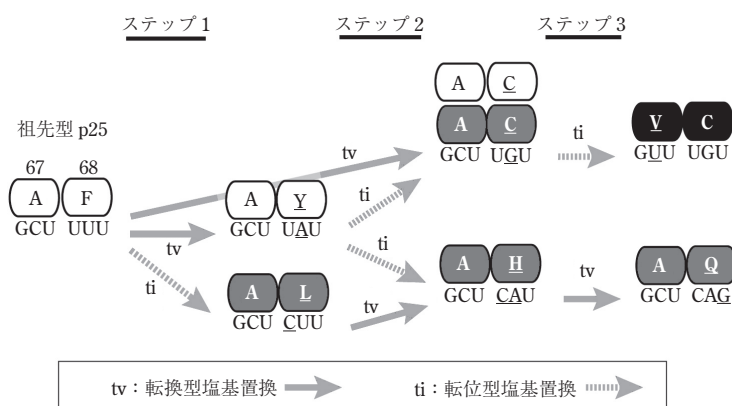


図-6 *Rz1* 抵抗性打破 p25 変異型の出現経路: BNYVV p25 遺伝子の 67 と 68 番目のアミノ酸配列変化にかかわる塩基置換のパターン (CHIBA et al. (2011) より改変).

白枠は *Rz1* 抵抗性品種に非病原性, 灰色枠は弱い病原性, 黒枠は強い病原性を示す.

下線は置換した塩基配列とアミノ酸配列を示す.

ステップでは、転位型変異により Y(UAU) から C(UGU) に、Y(UAU) から H(CAU) に変化、転換型置換により L(CUU) から H(CAU) に変化する。第3ステップでは、転換型置換により H(CAU) が Q(CAG) に、このステップでは、さらに 67 番目の A(GCU) から V(GUU) への変化が転位型置換により生じる (転位型塩基置換とは、ピリミジンあるいはプリン同士の変化、転換型置換とは、ピリミジンからプリン、またはその逆の場合の変化のことをいう)。

なお、RNA5 をもつウイルス分離株は、RNA5 フリーの株より感受性テンサイ品種により激しい症状を示したが、そのメカニズムは不明である (CHIBA et al., 2011)。

おわりに

近年の地球環境の変動と高度の集約農業は、土壤生態系のバランスを崩し、土壤病害を多発させる原因となっている。特に土壤中で生息するネコブカビ類 (*Polymyxa* 属) やツボカビ類 (*Olpidium* 属) で媒介される植物ウイルス病は、ウイルスを保持した媒介菌が土壤中で長期間生存する。そのため、圃場内へウイルスの侵入を一旦許してしまうと、それらを排除することは非常に難しい。加えて、土壤伝染性ウイルスの的確な防除法がいまだに確立されていないことから、世界的にウイルス病の発生が拡大し、農業上重要な問題となっている (TAMADA and KONDO, 2013)。テンサイそう根病は、その代表的なウイルス病であるが、ムギ類の土壤伝染性ウイルス病、メロンえそ斑点病等日本で初めて発見されたウイルス病

も多い。

病原体がいつ、どこから由来し、どのように変異し、適応していくかについての研究は、植物のみならずヒトやその他の生き物にとっても極めて重要であり、興味深い。筆者 (玉田) は、テンサイそう根病の発生当初よりほぼ半世紀にわたって、世界的発生拡大の現状に接し、ウイルス学的な研究にも携わることができた。BNYVV 発見当時の 40 年前には、上記のような詳細なウイルスの起源や進化、寄主への適応について知ることができるとは予想もできなかったことである。このように一つの病害について、分子から圃場レベルまでの全体像が明らかにされたケースはそう多くはない。この研究がケーススタディとして、他の病害研究の参考になれば幸いである。

引用文献

- 1) 阿部秀夫 (1987): 北海道立農業試験場報告 60: 99 pp.
- 2) ACOSTA-LEAL, R. et al. (2008): Virology 376: 60 ~ 68.
- 3) ADAMS, M. J. et al. (2009): Arch. Virol. 154: 1967 ~ 1972.
- 4) ASHER, M. J. C. (1993): The Sugar Beet Crops, Chapman & Hall, London, p. 311 ~ 346.
- 5) BIANCARDI, E. et al. (2002): Euphytica 127: 383 ~ 397.
- 6) BOUZOUBA, S. et al. (1987): J. Gen. Virol. 68: 615 ~ 626.
- 7) CANOVA, A. (1959): Inf. Fitopatol. 9: 390 ~ 396.
- 8) CHARE, E. R and E. C. HOLMES (2004): J. Gen. Virol. 85: 3149 ~ 3157.
- 9) CHIBA, S. et al. (2008): J. Gen. Virol. 89: 1314 ~ 1323.
- 10) ——— et al. (2011): Mol. Plant Microb. Interact. 24: 207 ~ 218.
- 11) DE BIAGGI, M. et al. (2011): Sugar Tech. 12: 238 ~ 242.
- 12) 董一忱 (1989): てん菜研究会報 31: 179 ~ 186.
- 13) GAO, J. L. et al. (1983): Acta Phytopathol. Sin. 13: 1 ~ 4.
- 14) GIBBS, A. J. et al. (2011): J. Gen. Virol. 92: 2679 ~ 2690.
- 15) GIDNER, S. et al. (2005): Genome 48: 279 ~ 285.
- 16) GILMER, D. et al. (2013): Taxonomy Proposals-Plant. ICTV.
- 17) GRIMMER, M. K. et al. (2007): Theor. Appl. Genet. 114: 1151 ~

- 1160.
- 18) 北海道てん菜協会 (2011): てん菜糖業年鑑, 387 pp.
- 19) 神沢克一・宇井格生 (1972): 日植病報 **38**: 434 ~ 435.
- 20) KOENIG, R. and B.-L. LENNEFORS (2000): Arch. Virol. **145**: 1561 ~ 1570.
- 21) ——— et al. (2008): ibid. **153**: 2139 ~ 2144.
- 22) KONDO, H. et al. (2013): Virus Res. **177**: 75 ~ 86.
- 23) KRUSE, M. et al. (1994): J. Gen. Virol. **75**: 1835 ~ 1842.
- 24) LEIN, J. C. et al. (2007): Genome **50**: 61 ~ 71.
- 25) LEWELLEN, R. T. and E. D. WHITNEY (1993): Crop Science **33**: 882 ~ 883.
- 26) ——— et al. (1987): Proc. 50th Cong. IIRB, p. 139 ~ 156.
- 27) LI, M. et al. (2008): Virus Genes **36**: 429 ~ 432.
- 28) LIU, H.-Y. and R. T. LEWELLEN (2007): Plant Dis. **91**: 847 ~ 851.
- 29) ——— et al. (2005): ibid. **89**: 464 ~ 468.
- 30) McGRANN, G. R. D. et al. (2009): Mol. Plant Pathol. **10**: 129 ~ 141.
- 31) MEHRVAR, M. et al. (2009): Arch. Virol. **154**: 501 ~ 506.
- 32) MIYANISHI, M. et al. (1999): Arch. Virol. **144**: 879 ~ 892.
- 33) NEUHAUSER, et al. (2011): Mar. Freshw. Res. **62**: 365 ~ 371.
- 34) RICHARDS, K. and T. TAMADA (1992): Annu. Rev. Phytopathol. **30**: 291 ~ 313.
- 35) RUSH, C. M. (2003): Annu. Rev. Phytopathol. **41**: 567 ~ 592.
- 36) ——— et al. (2006): Plant Dis. **90**: 4 ~ 15.
- 37) SAITO, M. et al. (1996): Arch. Virol. **141**: 2163 ~ 2175.
- 38) SCHIRMER, A. et al. (2005): J. Gen. Virol. **86**: 2897 ~ 2911.
- 39) SCHOLTEN, O. E. and W. LANGE (2000): Euphytica **112**: 219 ~ 231.
- 40) ——— et al. (1996): ibid. **91**: 331 ~ 339.
- 41) ——— et al. (1999): Theor. Appl. Genet. **99**: 740 ~ 746.
- 42) 玉田哲男 (1976): 植物防疫 **30**: 190 ~ 193.
- 43) ——— (1991): 同上 **45**: 157 ~ 160.
- 44) ——— (2007): 同上 **61**: 586 ~ 591.
- 45) TAMADA, T. (1999): Encyclopedia of Virology. 2nd ed. Academic Press, San Diego, p. 154 ~ 160.
- 46) ——— (2002): CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses **391**. <http://www.dpvweb.net/dpv/showdpv.php?dpvno=391>
- 47) ——— (2007): J. Gen. Plant Pathol. **73**: 76 ~ 80.
- 48) ——— and T. BABA (1973): Ann. Phytopath. Soc. Jpn. **39**: 325 ~ 332.
- 49) ——— and H. KONDO (2013): J. Gen. Plant Pathol. **73**: 76 ~ 80.
- 50) ——— et al. (1999): Phytopathology **89**: 1000 ~ 1006.
- 51) WARD, L. et al. (2007): Arch. Virol. **152**: 59 ~ 73.