

論文の内容の要旨

論文題目 トスポウウイルスおよびジェミニウイルスによる数種
新病害の病原の性状とその防除に関する研究

氏 名 加藤公彦

農産物の貿易が盛んになるのに伴い、かつては地域的に局在化していたウイルス病が世界規模で多発するようになった。その代表的なものがトスポウウイルスと *Begomovirus* 属のジェミニウイルスで、両ウイルスは世界各国で各種の作物に著しい被害を発生させている。トスポウウイルスはアザミウマ類により、またジェミニウイルスはタバココナジラミ類により主に伝搬されるため、世界規模で両ウイルスが多発するようになった大きな原因は、両ウイルスの重要な媒介虫が世界規模でその分布を拡大したことによると考えられている。

このように、世界的にトスポウウイルスや *Begomovirus* 属のジェミニウイルスの多発が、また両ウイルスの媒介虫の分散が問題となっている中で、両ウイルスの重要な媒介虫であるミカンキイロアザミウマ、ミナミキイロアザミウマ及びシルバーリーフコナジラミが 1980 年から 1992 年にかけて相次いで静岡県に侵入した。静岡県では 1980 年代までは幸いなことに、トスポウウイルスや *Begomovirus* 属のジェミニウイルスによる病害発生が全く問題となっていなかった。ところが、1992 年から 1996 年にかけて、静岡県の主要作物であるメロン、トマト、キク及びガーベラにこれら 3 種の媒介虫により伝搬される新し

いウイルス病が相次いで発生した。

新ウイルス病により農家が受けた被害は甚大で、防除対策の確立が急務となった。そこで、防除対策策定の基礎資料を得るため、これら4作物に発生した新ウイルス病の病原ウイルスを同定した。さらに、メロンの新ウイルス病の根絶防除対策及びトマトの新ウイルス病の拡散要因についても検討した。

1. メロン黄化えそウイルス (Melon yellow spot virus; 新種) によるメロン黄化えそ病 (新称)

メロンが本ウイルスに罹病すると、葉は黄化するとともにえそ斑点が発生し、果実はモザイク症状を呈した。これらの病徴は株へのウイルスの感染時期が早いほど激しくなり、また、果実の病徴は交配の約20日後までの感染で認められた。本ウイルスに対する抵抗性をメロン12品種で調査したが、抵抗性を示す品種はなかった。メロン発病株から単病斑分離したウイルス分離株により、メロンでの原病徴が再現された。本ウイルスは22科68種の植物のうち、6科14種の植物に全身感染するのみで、宿主範囲は広くはなかった。本ウイルスの粗汁液中での安定性は、耐希釈性が $2 \times 10^{-4} \sim 10^{-4}$ 、耐保存性が20°Cで12~14時間、また耐熱性が45~50°C(10分間)であった。本ウイルスはミナミキイロアザミウマにより永続伝搬されるが、土壌伝染と種子伝染はしなかった。感染細胞には、平均粒子径が135nmの2重被膜を持つ球状粒子が細胞質に散在して観察され、この球状粒子が本ウイルスのウイルス粒子であると考えられた。感染細胞には球状粒子の他に、ヌクレオキャプシドの凝集体と思われるウイロプラズムと2重平行膜が観察された。ウイルスゲノムは3分節(S、M、L)の1本鎖RNAで構成され、各分節の大きさはそれぞれ3.2kb、4.8kb及び8.9kbであった。S RNAとM RNAはアンビセンスで2つのオープンリーディングフレーム(ORF)がそれぞれのRNA上に、また、L RNAには1つの大きなORFがウイルス相補鎖に存在した。本ウイルスのS RNAの3'末端側のORFはヌクレオキャプシドプロテイン(NP)をコードすることを証明した。ウイルスゲノムの各分節の両末端配列は互いに相補的で、かつ、M RNAとS RNAの遺伝子間領域はA-Uリッチであった。S RNAとL RNAには、トスポウイルスが共通して持つ3'末端の8塩基の保存配列(5'-AUUGCUCU-3')が存在したが、M RNAには、

それとは1塩基異なる配列(5'-AUUGCUCG-3')が認められた。本ウイルスと既報のトスポウイルスとのNPのアミノ酸配列の相同性は60%以下であった。以上の結果より、ウイルス粒子の形態に違いが認められるが、本ウイルスは *Tospovirus* 属に属する新種のウイルスであると同定された。そこで、本病の病名をメロン黄化えそ病、また、病原ウイルス名を Melon yellow spot virus と命名した。本ウイルスゲノムがコードすると考えられる5種類のタンパク質のアミノ酸配列を既報のトスポウイルスのものと比較した結果、本ウイルスは Serogroup IV に属するトスポウイルスと最も近縁であり、かつ、Serogroup IV の *Watermelon silver mottle virus* とは遠い血清学的な類縁関係が認められた。

次いで、メロン黄化えそ病の被害実態を把握し、防除対策を検討した。本病は1992年1月より発生し始め、翌年の3月には発生が終息した。本病は夏期に発生が拡大し、最終的には36戸の農家に約1億5000万円の損害をもたらした。温室内のクロープクリングアスクン蒸、温室内加温によるミナミキイロアザミウマの蛹の防除、ミナミキイロアザミウマの薬剤による体系防除及び野外宿主の除去を主体とした本病の冬期根絶防除対策を策定し、本病の発生が問題となっている現地農家で防除対策の有効性を実証した。この防除対策を適正に実施することにより、温室内のミナミキイロアザミウマの発生はほとんど皆無で、本病の発生も認められなかった。このことから、本病の冬期根絶防除対策は本病の防除に有効であると判断された。

2. トマト黄化えそウイルス (*Tomato spotted wilt virus*) によるキクえそ病 (新称) とガーベラえそ輪紋病 (新称)

キクの新ウイルス病の特徴的な病徴は、葉に発生するえそと茎に発生するえそ条斑であった。また、ガーベラの病徴は葉に発生する退緑輪紋、えそ輪紋及び退緑斑点であった。キク及びガーベラ発病株からそれぞれ単病斑分離したウイルス分離株により、それぞれの植物の原病徴が再現された。両ウイルス株は広い宿主範囲を持っており、ともにミカンキイロアザミウマにより伝搬され、感染植物には、小胞体中に集塊する平均粒子径が87~88nmの球状粒子が観察された。両ウイルス株は *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) に対する抗血清とウエスタンブロットで反応した。また、両ウイルス株と TSWV との NP のアミ

ノ酸配列の相同性は両株ともに 97.7%であった。これらの調査結果から、両ウイルス株はともに TSWV と同定された。TSWV は分離株によりキクに対する病原性が異なり、また、キクは品種により TSWV 感受性が大きく異なっていた。TSWV によるキク及びガーベラの病害発生の確認は本邦では初めてであるので、TSWV によるキク及びガーベラの病害をキクえそ病及びガーベラえそ輪紋病とそれぞれ命名した。

3. トマト黄化葉巻ウイルス (*Tomato yellow leaf curl virus-Israel*) による トマト黄化葉巻病 (新称)

本ウイルスによるトマトの病徴は、葉縁からの黄化、葉巻及び株の萎縮であった。本ウイルスはシルバーリーフコナジラミにより伝搬され、トマトにジェミニウイルス特有の病徴を発生させたが、汁液伝染性は認められなかった。ジェミニウイルスを特異的に検出するように設計されたプライマーを使用した PCR によって、感染植物からは特異的なバンドが検出された。本ウイルスの宿主範囲はかなり狭く、10 科 32 種の植物のうち、2 科 5 種の植物のみに感染した。トマトを除き野外植物からは、PCR により本ウイルスが検出されなかった。感染植物には平均粒子径が $17 \times 27 \text{nm}$ の双球形ウイルス粒子が観察された。本ウイルスは環状 1 本鎖 DNA をゲノムとして持ち、*Tomato yellow leaf curl virus-Israel* (TYLCV-Is) の M 系統と各領域の塩基配列及びアミノ酸配列の相同性が 93%以上と高かった。これらの調査結果から、本ウイルスは TYLCV-Is と同定された。TYLCV-Is の発生報告は本邦で初めてであるので、本病の病名をトマト黄化葉巻病と命名した。

次いで、トマト黄化葉巻病の拡散要因を調査した。本病が発生している 3 市で採取した本ウイルスの全塩基配列を比較した結果、相同性が 99.93~99.96% であることが判明した。本病は富士市に 1995 年 9 月より発生し始め、翌年 8 月には清水市に、さらに 11 月には沼津市に発生した。3 発生地域間で苗の移動はなかった。以上の調査結果から、本病の発生拡大は保毒したシルバーリーフコナジラミの移動により引き起こされたと推察された。