

TSWV トマト黄化えそウイルスの 特性と昆虫伝搬について

茨城県農業総合センター生物工学研究所 津田 新哉

はじめに

トマト黄化えそウイルス (tomato spotted wilt virus; TSWV) は、1915年にオーストラリアで初めて発見された。TSWVは熱帯、亜熱帯および日本を含む温帯地域を中心に全世界的に分布している。TSWVは汁液接種が可能であり、宿主域は双子葉植物、単子葉植物、合わせて95科1050種 (1998年5月現在) と広く、ナス科、マメ科、キク科、ウリ科などの主要農作物に甚大な被害を与えている。1990年のベルリンにおける国際ウイルス分類委員会で動物ウイルスを中心とする *Bunyaviridae* 科に *Tospovirus* 属として分類された。

TSWVの媒介生物はアザミウマ類に限定され、少なくとも10種のアザミウマ類により持続伝搬される。ところで、アザミウマによるTSWVの伝搬様式は極めて特異である。幼虫期のアザミウマがウイルスを獲得した後、蛹期を経て成虫期になって初めて伝搬能を発揮する。成虫期にTSWVを獲得した成虫個体はウイルス伝搬能をもたない。植物ウイルスの昆虫伝搬様式の中では、唯一昆虫の生育期に依存した極めて特異な伝搬様式を採る。TSWVはアザミウマ体内で増殖し虫体内を循環するが、このような生育期に依存した伝搬様式と虫体内でのTSWVの動態との関係については不明であった。

1 TSWVの特性

a TSWVの一般的性状

TSWV粒子は、直径80~100nmの球状粒子であり、植物ウイルスとしては珍しい外被膜を有し、内部の電子密度が高い部分にひも状のヌクレオキャプシドが収

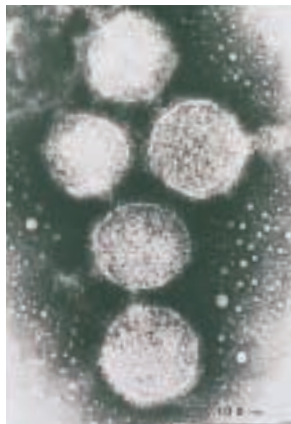


写真1 TSWVのウイルス粒子。

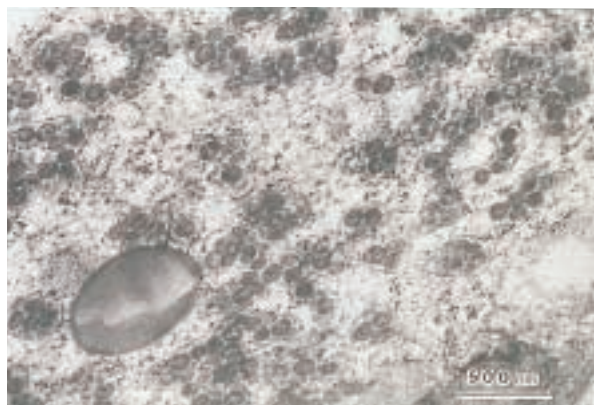


写真2 TSWV感染タバコ細胞内に観察されるウイルス粒子。

まっている (写真1)。このウイルスの宿主細胞内での合成の場合は細胞質であり、そこから小胞体内に向けて発芽する。その際、小胞体を形成している膜の一部を取り込み完全粒子となる (写真2)。

s TSWVのゲノムおよびタンパク質

TSWVのゲノムは3分節の1本鎖RNAであり基本的にマイナス鎖としてのゲノム複製を行う。ウイルスゲノムは、最短からS、MおよびL-RNAと呼ばれ、分子量はS-RNAから順に約1.02、1.56および 3.08×10^6 である。TSWVの粒子内タンパク質は3種類の構造タンパク質 (N、G1およびG2) および1種類の機能タンパク質 (L) の4種類である (写真3)。Nタンパクは分子量約28kダルトン (Da) で、ウイルスRNAと結合することにより閉環ひも状のヌクレオキャプシドを構成し、S-RNAにコードされている。G1 (分子量約75kDa) およびG2 (分子量約46kDa) と呼ばれる2種

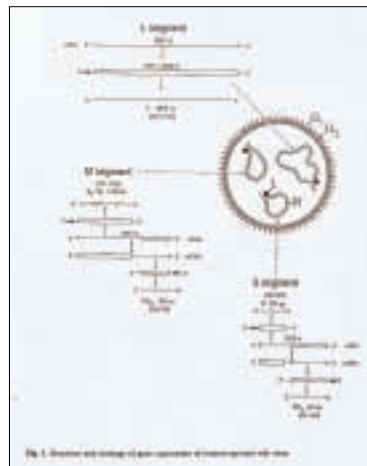


写真3 TSWVのゲノム構造と翻訳されるタンパク質。

類の構造タンパク質は、ヌクレオキャプシドを包む外被膜を貫通するように突出している。両者とも糖タンパク質であることから、構造タンパク質としてだけではなく機能にも関与していることが示唆されている。これらは、M-RNAにポリプロテインとしてコードされ、ウイルス自身が有する分解酵素により一定の位置で切断されて機能すると考えられている。一方、Lタンパクは、分子量が約335 kDaであり、L-RNAにコードされる。これは、ウイルスRNAを複製するRNA依存RNAポリメラーゼであることがそのアミノ酸配列から推定されている。

TSWVは、粒子を構成するタンパク質以外に2種類の非構造タンパク質(M-RNA上にNSmタンパク、S-RNA上にNSsタンパク)をコードしている。近年、NSmタンパクは植物感染細胞間でウイルスがプラズモデスマータを使って移動する際の移行に関与するタンパク質であることが判明したが、NSsタンパクの機能は今もって不明である。

2 TSWVの系統判別

TSWVの属するBunyaviridae科は、Tospovirus属を含む5属に分類されており、その中の4属は脊椎または無脊椎動物を宿主とするウイルスである。近年、TSWVの分子生物学的性状が明らかになるにつれて、Tospovirus属内のウイルス種としての分類が示されるようになった。

Law and Moyerは、観賞植物ニューギニアインパチェンス(*Impatiens* sp.)分離株(TSWV-I)がTSWV-L

写真4
TSWVによるトマト黄化えそ病。



写真5
TSWVによるトマト黄化えそ病 (果実)。

(アメリカ普通系統)のMおよびS-RNAについて、分子生物学的、生化学的ならびに血清学的実験結果からNタンパクの電気泳動的易動度の違い、またTSWV-Lとこの分離株のNタンパク抗体によるウェスタンブロッティングの反応性に相異があることから、従来のTSWVから一時的に系統として分けられた。現在このウイルスは、*Tospovirus*属内で*impatiens* necrotic spot virus (INSV)と命名され、種として分類されている。それ以降、南米およびヨーロッパを中心に多くのTospovirusが分離されており、先の第4回Tospovirusと伝搬アザミウマの国際会議(1998年)において、血清型で10タイプ、ウイルス種として14種に分類されるべきとの提唱がなされた。

日本で分離された株は、ウイルス粒子内のヌクレオキャプシドの生化学的特性およびウリ科植物での感染性の違いから、少なくとも2グループに大別することができる。九州以北で発生した分離株のうちトマト、ピーマンおよびタバコ分離株は、ヌクレオキャプシドの抗原性、S-RNAの相同性が高く、NタンパクとS-RNAの電気泳動的易動度が同様であることから、同一群とし普通(O)系統とした。O系統は、国際的に最も研究が進んでいるTSWV-L、ブラジル普通系統のNタンパク領域のS-RNA塩基配列の相同性が98%以上と極めて高い。以上の結果から、これらの分離株は国際的にタイプウイルスと判断されている。

沖縄県のスイカ分離株および鹿児島県のトウガン分離株は、TSWVの局部病斑宿主であるペチュニアで接種葉に局部えそ斑を生じさせた後全身感染、ウリ科植物で全身感染、さらに全身感染宿主のタバコで接種葉に黄色斑点後軽い全身感染症状を呈する。モノクローナル抗体により系統特異的抗原決定基の存在、およびノーザンハイブリダイゼーションによりS-RNA間に本邦O系統との

へ(38頁左上へ)

写真6 TSWVによるピーマン黄化えそ病



写真7 TSWVによるキクえそ病



(35頁より)

相同性がないことが証明された。また、NタンパクおよびS-RNAの電気泳動的易動度も異なることから、明らかに別種のウイルスであることが証明され、これはwatermelon silver mottle tospovirus (WSMV) と命名された。近年、静岡県と高知県でウリ科植物に全身感染し、前出のWSMVと血清学的に異なるTospovirusが分離された。この分離株が、世界で既に分離された14種のTospovirusとどのような遺伝的関係にあるのか、今後の更なる解析が待たれるところである。

3 TSWVのアザミウマ媒介特性

a TSWV伝搬アザミウマ

TSWVのアザミウマによる媒介様式は、特異的である。アザミウマは、幼虫時にのみTSWVを獲得し、蛹から羽化までの10日前後の潜伏期間を経た後、成虫になって5分間以上の加害吸汁で初めてウイルスを伝搬する。また、一度保毒したアザミウマは終生ウイルス伝搬能力を保持するが、経卵伝染はしない。このような伝搬様式を示す媒介虫は他に類を見ない。TSWVの媒介虫は、ダイズウスイロアザミウマ、ネギアザミウマ、ヒラズハナアザミウマ、ミナミキイロアザミウマ、チャノキイロアザミウマ

マ(*Scirtothrips dorsalis*)、ミカンキイロアザミウマ(*Frankliniella occidentalis*)、*F. schultzei*、*F. fusca*、*F. bipinosa*、*Thrips flavus*の10種類が知られており、その食性の違いにより葉棲性(ダイズウスイロアザミウマなど)と花棲性アザミウマ(ミカンキイロアザミウマなど)とに大別される。

媒介昆虫体内で増殖し永続型伝搬をする植物ウイルスは、TSWVを含めて5属49種のウイルスが報告されているが、その中であたかも媒介昆虫の生育期に依存した伝搬様式を示すものはTospovirusとアザミウマ類の組み合わせだけである。Tospovirus伝搬性アザミウマ類の一種であるダイズウスイロアザミウマは日本固有種であり、ピーマンやトマトなどのナス科植物にTSWVを伝搬する媒介昆虫として日本で初めて報告された(写真8)。

TSWVのアザミウマ類による媒介に関する研究は少なく、伝搬機構の詳細は今もって不明である。最近、保毒したミカンキイロアザミウマの超薄切片による電子顕微鏡観察で、中腸および唾液腺などにウイルス構成成分並びにウイルス遺伝子がコードするタンパク質が確認された。これは、昆虫体内に侵入したウイルスがどのような経路で植物への感染に結びつくかという観点から、興味深い。



写真8 TSWVを媒介するダイズウスイロアザミウマ。左から、卵、第1齢幼虫、第2齢幼虫、前蛹、後蛹、成虫(雌)、成虫(雄)。

s ダイズウスイロアザミウマ体内におけるTSWVの移行と伝搬能

我々の研究室では、アザミウマがウイルスを獲得した後伝搬能を獲得するまでに、その体内でウイルスがどのような量的変化を示すか、またその際の主要感染臓器は何であることを確かめるために、血清学的あるいは組織免疫学的手法を用いて実験を行ってきた。アザミウマ体内でのTSWVタンパク質の蓄積量変化とその局在変化を、獲得吸汁後から継日的にELISA法を使って解析した。

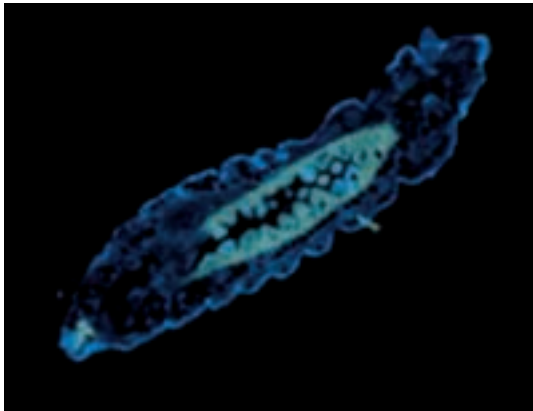


写真9 TSWV保毒ダイズウスイロアザミウマ(幼虫)。中央の黄色に輝いている部分がウイルス局在中腸。

幼虫期または成虫期のダイズウスイロアザミウマに各々獲得吸汁されたTSWVは虫体内で増殖した。特に、幼虫期に獲得吸汁行動した個体のその後の日数経過に伴う体内ウイルス濃度変化を観察すると、ウイルスの増殖に二つの時期、すなわち急性感染期と持続感染期があることが認められた。この二つの増殖期とTSWVの組織局在部位とを照らし合わせるため、免疫組織化学的手法による蛍光顕微鏡観察を時間経過に伴い行った。その結果、急激なTSWVの増殖期である幼虫期間の急性感染期では中腸組織がウイルスの増殖の場となり(写真9)、その後の低レベルでの増殖期である成虫期間の持続感染期では唾液腺組織がTSWVの増殖の場となっていた(写真10)。成虫期における永続的な唾液腺組織でのウイルスの増殖は、アザミウマによる伝搬様式が増殖型永続伝搬性であることを反映している。またTSWVが中腸組織から唾液腺組織へと移行し、その移行過程が急性感染期から持続感染期に移る蛹期間に行われることも明らかとなった。

これらのことから、アザミウマによるTSWVの増殖型永続伝搬、いわゆる伝搬能が発揮されるためには、中腸組織から唾液腺組織への組織間移行が成立しなければならないと結論できる。しかし、アザミウマをはじめ植物ウイルスの昆虫伝搬研究において、ウイルスの体内移行

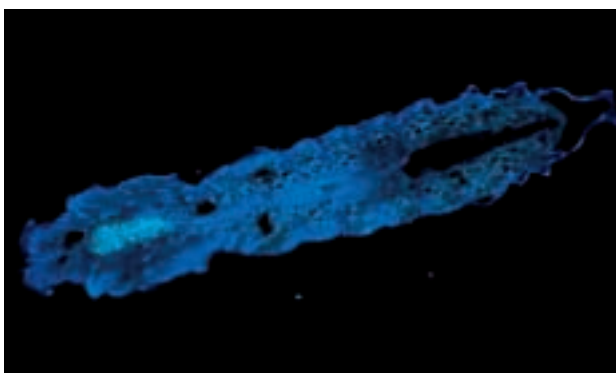


写真10 TSWV保毒ダイズウスイロアザミウマ(成虫)。胸部中央の黄色部分がウイルス局在唾液腺。

に関する詳細な研究はなく、この伝搬機構解明に向け、さらに慎重な解析を続けていかなければならない。

おわりに

Tospovirusの被害を受けた園芸栽培圃場では、必ずと言ってよいほど被害作物上にアザミウマ類の生息が確認される。アザミウマ類防除を目的として、紫外線カットフィルムやシルバーテープなどを利用した耕種的防除法や殺虫剤散布による化学的防除法が施行されるが、一時的効果しか得られていない。アザミウマ類の忌避を目的とした長期的かつ持続的な防除対策の開発が急務とされている。

近年、植物ウイルスとその宿主植物に関する研究、とりわけシロイヌナズナやトマトに代表されるような植物のウイルス抵抗性(遺伝子)に関する研究は欧米を中心として花盛りである。昨年、3種のTospovirusに対して抵抗性を示す野生トマト(*Lycopersicon peruvianum*)がもつウイルス抵抗性遺伝子(*Sw 5*)が、そのゲノムから単離された。これは今後のTospovirus抵抗性遺伝子の研究に一層の拍車をかけるであろう。

また、先のTospovirus抵抗性野生トマト(*L. peruvianum*)と同様なウイルス抵抗性を有するトマト野生種(*L. chilense*)と栽培種を交配して得られた育成種が、南アフリカにおける野外ウイルス抵抗性栽培試験において、そのF₂およびF₃世代でも高い抵抗性を発揮し、その遺伝様式は単一優性遺伝であることが報告された。そのような植物のウイルス病抵抗性に関する研究成果は、本病の被害減少あるいは撲滅に向け必須のものであろう。

しかし一方、現在現場圃場で問題とされている植物ウイルス病の90%以上は媒介昆虫により伝搬されるものである。我々はこの昆虫伝搬機構を解明することで、その生命現象の仕組みを逆手に取った新たな防除法が見つかるのではないかと期待を込め、現在この研究を遂行している。近い将来、植物のウイルス病抵抗性に関する研究と同じように、ウイルスと媒介昆虫の分子応答の研究成果から、ウイルス病防御に役立つ知見が得られるものと信じている。本ウイルスは、アザミウマ伝搬様式や遺伝子発現機構に代表されるように、極めてユニークな生物学的特性がある。また、動物ウイルスとの類似性も高いことから、アザミウマによる媒介機構の解明を含め、その性質をさらに明らかにしていく必要があると思われる。