

タバコウイルス病に関する研究

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者	久保, 進
巻/号	52巻3号
掲載ページ	p. 377-380
発行年月	1986年7月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



学会賞受賞者講演

タバコウイルス病に関する研究

久保 進

Susumu Kubo : Studies on Virus Diseases of Tobacco Plants in Japan

わが国のタバコに発生するウイルスについては、タバコモザイクウイルスをはじめとして、その種類、性状等は比較的良好に研究されてきたが、1970年代以降にも数年おきに新しいウイルスあるいは新しいウイルス系統の発生があった。また、近年の連作、被覆栽培、省力耕作等、タバコ栽培環境の変化が、ウイルス病の発生様相に変化をもたらしている面があった。これらは、ウイルス病防除の見地から、それぞれに新たな対応を要する問題であった。

本研究は、筆者が日本専売公社（現日本たばこ産業株式会社）の研究機関において、タバコのウイルス病防除に資する目的で行ったものであり、わが国のタバコに発生するウイルスの分類、感染、増殖機作、発生

生態、抗ウイルス剤等に関する研究を内容とする。本研究は前秦野たばこ試験場および中央研究所において行われたが、その間、日高 醇博士、都丸敬一博士はじめ多くの方々からご指導、ご鞭撻を賜った。また、高浪洋一博士ほか同僚諸氏には、終始ご協力いただいた。これらの方々に対し心から御礼を申し上げる。

1. ウイルスの種類

わが国のタバコでは、これまでに13種のウイルスの発生が確認されている（第1表）。それらはウイルスの種類数としては必ずしも多くはないが、未分類のタバコわい化ウイルスを含めると12のウイルス群に属しており、多様性に富んでいるといえる。表中の13種の

第1表. 日本のタバコに発生するウイルスの種類

ウイルス群	ウイルス	(初記載)	サイズ(nm)	伝染
Tobamovirus	タバコモザイクウイルス		300×18	接触
Tobravirus	タバコ茎えそウイルス	(1964)	40~80, 180~210×18	線虫
	タバコわい化ウイルス	(1950)	300~340×18	オルピディウム
Potexvirus	ジャガイモXウイルス		515×13	接触
Potyvirus	ジャガイモYウイルス		740×11	アブラムシ
"	" えそ系統	(1972)	"	"
"	タバコ脈緑モザイクウイルス	(1977)	770×13	"
Cucumovirus	キュウリモザイクウイルス		30	"
Ilarvirus	タバコ条斑ウイルス	(1984)	27~35	スリップス
Luteovirus	タバコえそ萎縮ウイルス	(1976)	25	アブラムシ
Necrovirus	タバコネクロシスウイルス	(1963)	26	オルピディウム
Alfalfa mosaic	アルファルファモザイクウイルス		18, 29, 38, 49, 58×18	アブラムシ
Tomato spotted	トマト黄化えそウイルス		85	スリップス
Geminivirus	タバコ巻葉ウイルス	(1935)	25~30×15~20	コナジラミ

()内の数字は日本で最初に、タバコから分離し、記載された年を示す。

ウイルスのうち、タバコ茎えそウイルス等8種は、わが国では最初に、それもタバコから分離されたウイルスである。ジャガイモYウイルスえそ系統(PVY-T)もタバコで最初に確認された。このウイルスはPVYの1系統であるが、タバコ上で他のPVY系統には見られない激しいえそ症状をおこすことから、ヨーロッパでは tobacco vein necrosis virus, Tabak Rippenbräune Virus などと呼ばれているものである。筆者はこれまでに、タバコえそ萎縮ウイルス(tobacco necrotic dwarf virus, TNDV)、タバコ脈緑モザイクウイルス(tobacco vein banding mosaic virus, TVBMV)、トマト黄化えそウイルス(tomato spotted wilt virus, TSWV)、タバコ条斑ウイルス(tobacco streak virus)、PVY-Tの分離、同定に関与してきた。

TNDVは1975年に関東地方の黄色種タバコに集団発生して問題となった。畑に定植後1か月半ごろから生育が止まって下葉から枯れ上がり、甚だしい場合は枯死する激しい病害で、当初は原因不明のままで「心止まり」とか「奇病」と呼ばれていた。病原について検討した結果、内外を通して未記載のLuteovirusの1種によることが判明した。TNDVはアブラムシによって永續伝搬され、野外での伝搬の主役はモモアカアブラムシである。宿主範囲は比較的狭く、ナス科を中心として5科20種に寄生性が認められた。TNDVは罹病植物の節部組織に局在する直径25nmの球形ウイルスで、血清学的にはジャガイモ葉巻ウイルス、ダイズわい化ウイルス、ニンジン黄化ウイルスなどと類縁関係が認められている。本ウイルスは分子量 2×10^6 の単鎖RNAを含み、外被タンパクサブユニットは分子量約25,700、18種219個のアミノ酸から構成されている。TNDVの研究に着手した当時、Luteovirus群に属するウイルスの性状については、タイプメンバーのオオムギ黄化萎縮ウイルスを除いては、不明な点が多かった。しかしながら、TNDVに関して上記のような諸性質が明らかとなったことについては、新しいウイルス精製法の開発が大きく貢献した。植物組織溶解酵素(ドリセラゼ)を用いる方法によって、ウイルス収量は従来法の10~20倍に増大した。以後本法は他のLuteovirusにも応用されるようになった。

タバコ脈緑モザイクウイルス(TVBMV)は1976年に沖縄県宮古島のタバコから分離された。TVBMVは台湾のタバコで報告されていたPotyvirus群に属するウイルスと同一であることが判明し、中国名“菸

草脈緑嵌紋病病毒”から前記のように命名した。本病は台湾のタバコに広く分布し、重要病害のひとつとされているが、わが国では宮古島、石垣島、沖縄本島のタバコに発生している。TVBMVに感染したタバコは軽い葉脈緑帯をあらわすのみで、タバコの生育に及ぼす影響は比較的軽微であるが、罹病するとオキシダントに鋭敏となり、それによって白色斑点を併発することが多い。TVBMVと類似した病徴を示す tobacco vein mottling virus が米国のタバコで報告されていたが、宿主範囲が異なり、血清学的にもTVBMVとは別種であることが判明した。

わが国のタバコで最近発見されたウイルスとしてタバコ条斑ウイルスがある(都丸ら, 1984, 1985)。また、1971年、香川県下のタバコで初めて発生したPVYのえそ系統が1984年、1985年には、沖縄を除く全国のタバコ産地で発生するようになった。

2. ウイルスの感染・増殖

主としてタバコモザイクウイルス(TMV)、タバコ茎えそウイルス(TRV)およびTNDVを対象に、葉組織あるいはプロトプラスト実験系を用いてウイルスの感染・増殖機作を検討してきた。

TMVに関しては、放射性TMVを調製し、通常の塗抹接種法でタバコ葉(Xanthi)に接種されるウイルス量を推定した。また、Xanthi葉に1個の感染を成立させるに要するウイルス粒子数、Xanthiの展開葉の接種面に存在するウイルス感受部位の数などを推定した。さらに、タバコの接種葉におけるTMVの増殖速度の推移およびそれに影響を及ぼす接種ウイルス量、温度、タバコの品種、葉令等の要因を明らかにした。TMV抵抗性タバコ品種AmbalemaおよびTI448Aは個体あるいは組織レベルだけでなく、細胞レベルでも抵抗性を示した。また、罹病組織やプロトプラストの核酸あるいは核タンパクを分離し、ウイルス成分と宿主成分とを識別して捉える方法の確立につとめ、ウイルスRNAの生成系が宿主のそれと異なること、ウイルス増殖に伴ってリボソーム合成も増大することなどを明らかにした。カラムクロマトグラフィー、密度勾配遠心、電気泳動などによって、ウイルス成分と宿主成分とを分別する方法は、抗ウイルス物質、特に増殖阻害活性を有する物質の検定や作用性の検討に有用であることを示した。

TRVに関しては、タバコプロトプラストに対する効率のよい接種法を開発した。本法は従来のクエン酸バッファーに替えてリン酸バッファーを用いる方法

で、これによって高率な感染が安定して得られるようになった。リン酸バッファー法では、1個のプロトプラスト当たり30個の TRV 長粒子が吸着されたとき、50%の細胞に感染が成立すると推定された。プロトプラストにおける TRV および TRV-RNA の増殖の推移を調べた結果、長粒子の増殖は短粒子のそれより先行すること、最終的に細胞当たり 2×10^5 個の長粒子と 6×10^5 個の短粒子が生成されることなどを明らかにした。TRV 粒子の増殖には長、短両粒子を接種する必要があるが、それぞれの接種時間を数時間ずらしても感染が成立し、TRV 粒子が形成された。

TNDV およびジャガイモ葉巻ウイルス (PLRV) がタバコの葉肉プロトプラストに対して試験管内で接種可能なことを明らかにした。節部局在性の Luteovirus は通常の塗抹接種が不可能なことから、それらの増殖様式等は不明のままであったが、プロトプラスト実験系の開発によって、TNDV, PLRV なども TMV と同様な取扱いができるようになった。TNDV を接種したタバコプロトプラストにおける TNDV 増殖を ELISA で定量したところ、ウイルス抗原は接種12時間後から検出され、その後12時間に指数函数的に上昇した。接種48時間後、感染プロトプラスト1個当たりのウイルス粒子数は 2×10^6 個と推定された。一方、TNDV を接種したプロトプラストにおける核酸合成について検討した結果、ウイルス感染に特異的な5種の RNA が検出された。それらの分子量は4 (I), 2 (II), 0.65 (III), 0.25 (IV), 0.12×10^6 (V) で、IIとVは単鎖 RNA、他は2本鎖 RNA であった。IIはTNDV の genomic RNA で、接種後12~18時間に最も盛んに合成され、その合成はアクチノマイシンDの阻害を受けなかった。また、ウイルスの外被タンパクをコードする subgenomic RNA およびサテライト RNA の存在を示唆する結果も得られた。

タバコの葉肉プロトプラストで増殖する TNDV が塗抹接種でタバコを発病させられないのはなぜであろうか。鉢植タバコに通常のカーボランダム法で TNDV を塗抹接種すると、外見上何ら病変は認められず、アブラムシによる回収も陰性であったが、接種葉の切片を TNDV の蛍光抗体で染色すると、表皮細胞の一部でウイルス抗原が検出され、第一次感染部位では増殖していることがうかがえた。TNDV 粒子は疎水性で、低温に置くと凝集、沈澱する性質がある。25°Cでも、pH 6 以下では凝集する。このような TNDV の凝集は溶媒の塩濃度が高くなると促進され、逆にショ糖を添加すると抑制された。一般に節管流

は糖濃度が高く、pH も高いことが知られている。TNDV の外被タンパクの特異な構成から、ウイルスの移行が節部のみに限られるため、結果的に節部に局在することになるものと考えられる。

3. ウイルス病の発生生態

野外におけるウイルスの伝染源ないし伝染環を把握することは防除対策を実行する上で重要なポイントとなる。筆者はこれまで TNDV, TSWV, TVBMV, PVY-T などについて伝染源の探索を行ってきた。

TNDV が多発した関東地方のタバコ畑を調査すると、本病はホウレンソウに近接したタバコで多いことが認められた。そのような地域で、タバコの定植期直前の3月に蛍光抗体を用いて周辺の野外宿主の検索を行ったところ、ホウレンソウから高率に、そしてごく一部のナズナから TNDV が検出された。この結果から、TNDV は、主として、ホウレンソウ→タバコ→ホウレンソウと循環していると考えられた。その後ホウレンソウとタバコとを極力遮断する対策が採られ、本病の発生はおさまった。

TSWV の発生は沖縄県および岩手県下で認められているが、常発地域である沖縄県のタバコ畑周辺で TSWV 保毒植物の検索を行った結果、イヌホウズキ、メジロホウズキ、トマト、メナモミ、リュウキュウボタンヅルなどから TSWV が検出された。イヌホウズキ、メジロホウズキ、リュウキュウボタンヅルはいずれも多年生化し、亜熱帯の環境では常時繁茂しているので、これらが TSWV の越冬宿主となり、タバコへの第一次伝染源となっていることが考えられた。TVBMV についても沖縄県下で野外宿主の探索を行った。TVBMV は宿主範囲がナス科植物に限られており、タバコ畑周辺ではイヌホウズキのみから本ウイルスが検出された。

前述のとおり、PVY-T は沖縄を除く全国のタバコ産地で発生するようになった。このウイルスによる病害が集団発生したタバコ畑に近接するジャガイモを ELISA 等で検定すると、必ず本ウイルスが検出された。また、種イモからもこのえそ系統が検出され、ジャガイモがタバコへの伝染源となっていることが考えられた。

4. ウイルス病の防除

TMV の弱毒系統による干渉作用を利用したタバコモザイク病防除の実用性の評価を行った。TMV の潜伏系 3 III (日高ら, 1965) およびそれを亜硝酸処理し

て得られた M₃ 株を用い、数種のタバコ品種を対象として試験を実施した。弱毒ウイルス接種は強毒ウイルスに対する極めて高い感染防止効果を示し、一方、タバコの生育、葉たばこの収量、品質、物性、香嗅味などに及ぼす影響は少ないことが確認された。

抗ウイルス剤の開発を目ざし、植物成分、微生物産

物等、主として天然物を対象に抗ウイルス物質の探索を続けてきた。その過程で筆者らはアルギン酸塩を主成分とするタバコモザイク病防除薬剤（モザノン）を開発、実用化した。本剤はタバコ用農薬として1976年以來タバコ産地で使用されている。