

# トマト退緑萎縮病の発生とその特徴

—本邦のトマトで発生した新規ウィロイド病—

花き研究所 松<sup>まつ</sup>下<sup>した</sup>陽<sup>よう</sup>介<sup>すけ</sup>  
中央農業総合研究センター 津<sup>つ</sup>田<sup>だ</sup>新<sup>しん</sup>哉<sup>や</sup>

## はじめに

2006年、広島県内の施設栽培トマトにおいて上位葉の退緑、黄化、えそを伴う葉巻症状が発生した（広島県、2007）。その発生は、栽培管理作業の方向と一致しながら時間経過とともに徐々に拡大していった。現場圃場における発病実態の経過から、単なる生理障害ではなく植物病原体による感染症が疑われた。そこで、圃場で発症したトマトの病徴と既報の発生病原記録とを照らし合わせ、トマト黄化葉巻ウイルスまたはファイトプラズマを病原として疑いながら顕微鏡観察を試みたが、いずれも病原体らしき構造物は発見できず、また血清試験も陰性だった。ところが、罹病トマト枝の接木接種や罹病葉の汁液接種では感染が成立した。このことから、急遽、ウィロイド病原体説が浮上した。そこで、トマトなどのナス科植物に感染するジャガイモスピンドルチューバーウィロイドを代表種とするポスピウロイドを広く検出する共通プライマーを用いたRT-PCR法によって検出を試みた。その結果、想定される分子量の位置に増幅されたcDNAバンドが検出された。そのPCR産物の全塩基配列を解析したところ、我が国では未記載の *Tomato chlorotic dwarf viroid* (TCDVd) であることが判明し、その和名をトマト退緑萎縮ウィロイド、本病をトマト退緑萎縮病と名付けた（津田ら、2007）。残念なことに、本病は2007年に千葉県においても発生が確認され（千葉県、2007）、今後の我が国でのトマト栽培においては注意を要する病害になってしまった。以下に本病の発生経緯、特徴、防除法について解説する。

## I これまでの発生経緯

トマト退緑萎縮ウィロイド (TCDVd) は、1999年に SINGH et al. により世界で初めてトマトでの発生が確認された。同報告では、苗はオランダ産の種子から育成されたものであるとしている。また、アメリカのトマトとベ

チュニア (VERHOEVEN et al., 2004 ; 2007)、インドのバーベナ (SINGH et al., 2006)、イギリスのペチュニア (JAMES et al., 2008) で発生報告されている（表-1）。しかし、罹病したペチュニアやバーベナでは、植物体上に病徴を示さない。トマトを含むナス科植物に感染する既報のウィロイドは、TCDVd, *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd), *Tomato apical stunt viroid* (TASVd), *Tomato planta macho viroid* (TPMVd), *Mexican paita viroid*, *Citrus exocortis viroid*, *Chrysanthemum stunt viroid*, *Columnea latent viroid* (SINGH et al., 2004) とされているが、その中でトマトに経済被害を引き起こすウィロイドは、TCDVd, PSTVd, TASVd および TPMVd に限られている。これらトマトに感染するウィロイドは、我が国の植物検疫上、生のナス科植物の輸入を厳重に制限していることから、国内での発生はこれまで皆無であった。

## II トマト退緑萎縮病

トマト退緑萎縮病は、TCDVd がトマトへ感染することによって発生する。感染トマトは上位葉の退緑、黄化、えそを伴う葉巻症状、植物体全体の萎縮症状を示す（図-1A）。また、重篤の感染株では果実の小型化や奇形の発生、また着色不良などの発症により市場価値が失われる（図-1B）。本病は、ハサミなどの器具による栽培管理作業で容易に伝染する。感染トマトの汁液を健全トマトに接種すると約3～4週間で葉が縮れ始め、黄化症状が顕在化する。トマトでの発症程度には品種間で差異があり、中には感染しても激しい病徴を示さない品種もある。また、環境条件（日照・温度など）によっても病徴発現とその程度が変化すると見られる。本ウィロイドは、トマトでの種子伝染が確認されている (SINGH et al., 2008)。媒介生物や土壌伝染の報告はない。

## III トマト退緑萎縮ウィロイド

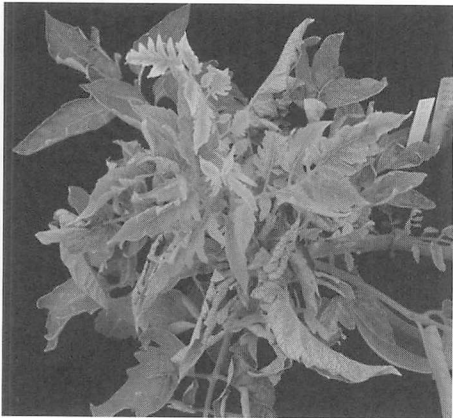
TCDVd は、最小の植物病原体として知られているウィロイドの一種である。ウィロイドは環状1本鎖の裸のRNA (246～399塩基) からなる病原体であり、感染した宿主植物細胞内の遺伝子転写系に便乗して親RNAから子孫RNAを自律的に複製・増殖する。また、ウイル

Occurrence and Properties of a Tomato Chlorotic Dwarf Disease on Tomato. By Yousuke MATSUSHITA and Shinya TSUDA

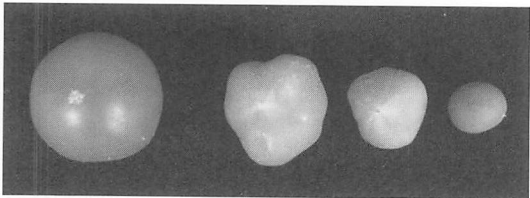
(キーワード：トマト退緑萎縮病、トマト退緑萎縮ウィロイド、ナス科)

表-1 トマト退緑萎縮ウィロイドの発生報告

| 報告年次 | 宿主    | 発生地  | 報告者               | 塩基数     | DDBJ accession number |
|------|-------|------|-------------------|---------|-----------------------|
| 1999 | トマト   | カナダ  | SINGH et al.      | 360     | AF162131              |
| 2004 | トマト   | アメリカ | VERHOEVEN et al.  | 360     | AY372399              |
| 2006 | パーベナ  | インド  | SINGH et al.      | no data | DQ846883              |
| 2007 | ペチュニア | アメリカ | VERHOEVEN et al.  | 359     | DQ859013              |
| 2008 | トマト   | 日本   | MATSUSHITA et al. | 359     | AB329668              |
| 2008 | ペチュニア | イギリス | JAMES et al.      | 359     | EF582392, EF582393    |



(A) トマト退緑萎縮病の症状



(B) トマト退緑萎縮病の症状 (果実)

図-1 トマト退緑萎縮病

表-2 トマト退緑萎縮ウィロイドの宿主植物

| 科名     | 和名                                                                                                                                                                                                                               |
|--------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| キク科    | シュンギク <sup>a)</sup> , ノースポール <sup>a)</sup>                                                                                                                                                                                       |
| ナス科    | ピーマン <sup>a)</sup> , シロバナヨウシュチョウセンアサガオ <sup>a)</sup> , トマト <sup>b)</sup> , オオセンナリ <sup>b)</sup> , ペチュニア <sup>a)</sup> , ワルナスビ <sup>a)</sup> , イヌホウズキ <sup>a)</sup> , ナス <sup>a)</sup> , ツノナス <sup>a)</sup> , ジャガイモ <sup>b)</sup> |
| クマツヅラ科 | パーベナ <sup>c)</sup>                                                                                                                                                                                                               |

<sup>a)</sup> 松下ら, 未発表, <sup>b)</sup> SINGH et al., 1999, <sup>c)</sup> SINGH et al., 2006.

が考慮され、TCDVd は 1999 年に PSTVd から分離され別種に位置付けられた。

TCDVd の宿主は、ナス科植物および一部のキク科植物である (表-2)。それらの病徴は、トマト以外では *N. glutinosa* で発生する花きの斑入り、ジャガイモの塊茎に見られるやせいも化および亀裂症状と報告されている (SINGH et al., 1999)。ペチュニアなどの栄養繁殖性植物やイヌホウズキやワルナスビなどの雑草は、本ウィロイドの宿主になるが無病徴感染である。このことから、それら TCDVd の無病徴感染植物が汚染源となり、我々の知らないうちにトマトなどの食用作物に感染拡大している可能性が考えられた。過去に発生した 2 件の本病の被害を二度と繰り返さないためにも、それら無病徴感染植物の取り扱いには注意が必要である。

先述したが、TCDVd は虫媒伝染や土壌伝染の報告もない。このことから、本病の伝染は、種子伝染や、管理作業に用いる器具や刃物による接触伝染が主な伝播様式であると想定される。本ウィロイドに感染したトマトの罹病組織をリン酸緩衝液と共に磨砕し、完全に乾燥させて室温保存したものを健全トマトに機械的に接種すると、少なくとも、室温保存 50 日までは感染力を保持していた (松下ら, 未発表)。また、罹病トマトの茎に数回切りつけたカミソリを室温で放置し、数日後にそのカミソリで健全トマトに切り込み接種を行ったところ、少なくとも放置 1 週間後のカミソリでは発病した。これらことから、本ウィロイドは乾燥には非常に強い耐性を

スとは異なり、RNA を包む外被タンパク質をもたず、またその RNA はタンパク質を一切コードしていない。国際ウイルス分類委員会の第 8 次報告 (International Committee on Taxonomy of Viruses) では、現在のところ 2 科, 7 属, 28 種のウィロイドが登録されている (佐野, 2007)。

本ウィロイドは、PSTVd と同じポスピウイルス科ポスピウイルス属に分類される。PSTVd はジャガイモの塊茎収量の減少や奇形化により経済的価値を著しく減少させることから、我が国では植物防疫法上の規制対象病害として特定重要病害虫の一つに指定されている。また、TCDVd の RNA の塩基配列は PSTVd と近縁ではあるが、塩基配列の相同性は 85 ~ 89% であり種の基準値以下であること、特徴的な可変領域を有することなど

示すことが明らかとなった。このことは、本病が発生した圃場では、刃物に付着したウイロイドが健全トマトに次から次へと伝染することを容易に想像させる。また、TCDVdは植物病原体の中では、相当高い耐熱性も有している。罹病トマトの組織の磨砕液を調整し、それを100℃で10～30分間煮沸処理しても、その磨砕液は感染性を示した。先の耐乾性とこの耐熱性の両方の強さを併せて考えると、本ウイロイド病を防除するのは一筋縄ではいかないことがおのずとわかる。

#### IV トマト退緑萎縮病の防除方法

本病害の防除対策としては、本病原体の伝播様式が物理的な接触伝染であることから、それらを考慮した方法が有効と考えられる。具体的には、①定植には健全苗を用い、圃場の巡回調査を徹底し早期発見に努める。本病原体はナス科雑草にも無病徴感染することから、圃場周辺の雑草管理も重要である、②TCDVd罹病トマトでは、本ウイロイドが葉や茎以外にも根や果実など、植物体全体に感染分布していることから、どの組織であっても二次感染の汚染源となりうる。したがって、発病株は見つけ次第抜き取り圃場外で埋没処分などを行い、被害拡大防止に努める、③収穫終了後の残渣は適切に処理する、④摘芽・誘引・収穫などの管理作業などにおいては付着する汁液伝染を防ぐため、一定の間隔で手指洗いを励行し、採果用ハサミも頻繁に消毒する、などが考えられる。最後の④で示した、手指や器具の洗浄液にどのような資材が有効であるのかは、今後検討が必要である。本病の発生が報告された広島県および千葉県では、上記の②および③の措置を実施することにより、根絶に成功し、その後の発生が認められていない。

#### V トマト退緑萎縮ウイロイドの検出方法

ウイロイドを検出するには、本病原体がウイルスのような外被タンパク質をもたないので血清学的手法は利用できない。そのため、現在ではもっぱらRT-PCR法などによる核酸増幅法が主である。HOSOKAWA et al. (2005)は、植物体中に感染しているウイロイドを検出するためにdirect RT-PCR法による簡易検定法を開発した。この方法は煩雑なRNA抽出を行わずに注射針(25 G × 25 mm, テルモ)を検体に突き刺し、針に付着した汁液を逆転写(RT)溶液に浸すことでウイロイドRNAを検出する方法である。従来のRNA抽出法を用いたRT-PCR法と比較しても同等の検出結果が得られている。そこで筆者らは、その簡易検定法を基礎としてTCDVd検出用のRT-PCR法を開発した(MATSUSHITA et al.,

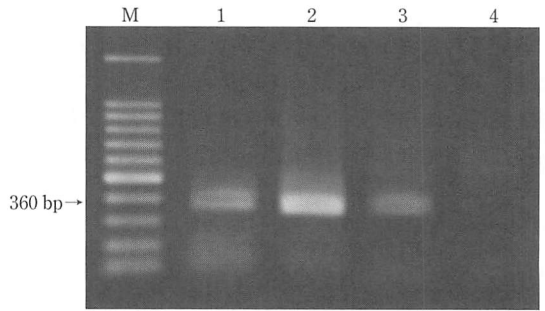


図-2 トマト退緑萎縮ウイロイドの検出(RT-PCR産物の電気泳動の写真)

M: 100 bp サイズマーカー, 1: 発症株, 2: 接木接種株, 3: 機械接種株, 4: 健全株。

2008)。本法では、検出用プライマーとしてTCDVd-3P(5'-CCGGATCCCTGAAGCGCTCCTCCGAGC-3')とTCDVd-4P(5'-TCGGATCCCCGGGGAACCTG-GAGCG-3')を用い、DNA合成酵素としてKOD dash DNA polymerase(TOYOBO)を使う。PCRの条件は、98℃～45秒、62℃～10秒、74℃～45秒の35サイクルで、反応後のチューブ内溶液を電気泳動し、バンド(約360 bp)の有無を確認する(図-2)。本法は、注射針でサンプリングするだけで目的とする病原ウイロイドを検出できることから、使い勝手のいい省力化検定法である。

#### おわりに

TCDVdはベチュニアやバーベナへ感染するが、これらはいずれも無病徴である。筆者らの実験でも、トマトなど限られたナス科植物以外の宿主植物では全く発症しない。本病の発病圃場ではこのような無病徴感染宿主が汚染源となっている可能性があり、本ウイロイド病の防除対策を策定するためにも、その圃場周辺も含めた幅広い植物の検査を実施して汚染源を特定する必要がある。一方、このような無病徴感染植物の運輸手段による広域流通に伴って、本ウイロイドの感染植物が人知れず拡散してしまっていることも懸念される。

トマトに感染して病徴を示すウイロイドとしては、TCDVd以外にもPSTVdやTPMVd、TASVd等が存在する。PSTVdやTASVdは種子伝染、そしてTASVdはマルハナバチによって媒介されることが報告されている(ANTIGNUS et al., 2007)。これらは国内未発生ではあるが、TCDVdの発生を教訓として今後のそれらウイロイドの我が国への侵入警戒に注意を払う必要がある。

最後に、本稿の執筆に際し、多くの助言をいただいた

石川智基氏（農林水産省消費・安全局植物防疫課）、共同研究者の松浦昌平氏（広島県立総合技術研究所）、千葉県農業総合研究センターの関係各位へ感謝する。本稿の成果は、農林水産省「新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業」により得られたものである。

### 引 用 文 献

- 1) ANTIGNUS, Y. et al. (2007): Plant Dis. 91: 47 ~ 50.
- 2) 千葉県 (2007): 平成 19 年度病害虫発生予察特殊報, 第 4 号.
- 3) 広島県 (2007): 平成 19 年度病害虫発生予察情報特殊報, 第 5 号.
- 4) HOSOKAWA, M. et al. (2005): J. Virol. Meth. 131: 28 ~ 33.

- 5) JAMES, T. et al. (2008): Plant Pathol. 57: 400.
- 6) MATSUSHITA, Y. et al. (2008): J. Gen. Plant Pathol. 74: 182 ~ 184.
- 7) 佐野輝男 (2007): 植物防疫 61: 660 ~ 664.
- 8) SINGH, R. P. et al. (1999): J. Gen. Virol. 80: 2823 ~ 2828.
- 9) ——— et al. (2004): Viroids, HADIDI, A. et al., CSIRO Publishing, Colloingwood, p. 30 ~ 48.
- 10) ——— et al. (2006): Plant Dis. 90: 1457.
- 11) ——— et al. (2008): Eur. J. Plant Pathol. Online First.
- 12) 津田新哉ら (2007): 日植病報 73: 220 ~ 221 (講要).
- 13) VERHOEVEN, J. T. J. et al. (2004): Eur. J. Plant Pathol. 110: 823 ~ 831.
- 14) ——— et al. (2007): Plant Dis. 91: 3.

(新しく登録された農薬 8 ページからの続き)

**豆類 (未成熟, ただし, さやえんどうを除く):** アザミウマ類, アブラムシ類, ハモグリバエ類, ヨトウムシ類, ナモグリバエ, ウラナミシジミ, フキノメイガ, マメシंकイガ: 収穫 14 日前まで

**さやえんどう:** ナモグリバエ, ヨトウムシ類, ウラナミシジミ: 収穫前日まで

**ほうれんそう:** アブラムシ類: 収穫 21 日前まで

**しそ:** ハスモンヨトウ, アブラムシ類, アザミウマ類, コナジラミ類: 収穫 5 日前まで

**トマト:** オンシツコナジラミ, アブラムシ類: 収穫前日まで  
**ミニトマト:** オンシツコナジラミ, アブラムシ類: 収穫前日まで

**なす:** アブラムシ類, オンシツコナジラミ, テントウムシダマシ類: 収穫前日まで

**とうがらし類:** アブラムシ類, タバコガ: 収穫 7 日前まで

**なばな:** コナガ: 収穫 14 日前まで

**ばれいしょ:** アブラムシ類, テントウムシダマシ類: 収穫 14 日前まで

**とうもろこし:** アワノメイガ, アブラムシ類: 収穫 14 日前まで

**あずき:** フキノメイガ, アブラムシ類: 収穫 7 日前まで

**やまのいも:** アブラムシ類, ヤマノイモコガ, アザミウマ類: 収穫 7 日前まで

**てんさい:** ヨトウムシ: 収穫 7 日前まで

**さといも:** ハスモンヨトウ, アブラムシ類: 収穫 7 日前まで

**かんしょ:** イモコガ: 収穫 7 日前まで

**茶:** チャノコカクモンハマキ, チャノミドリヒメヨコバイ, チャノホソガ, チャノキイロアザミウマ: 摘採 14 日前まで  
**そらめ:** アブラムシ類: 収穫 7 日前まで

**オクラ:** ハスモンヨトウ, アブラムシ類, カメムシ類: 収穫前日まで

**しろな:** アオムシ: 収穫 7 日前まで

**みずな:** アブラムシ類, ダイコンハムシ, ヤサイゾウムシ: 収穫 14 日前まで

**さるなし:** キイロマイコガ: 収穫 7 日前まで

**つるむらさき:** ヨトウムシ: 収穫 7 日前まで

**食用ゆり:** アブラムシ類: 収穫前日まで

**薬ごぼう:** アブラムシ類: 収穫 14 日前まで

**食用苜蓿:** ヨトウガ: 収穫 14 日前まで

**ごま:** アブラムシ類: 収穫 3 日前まで

**花き類・観葉植物 (はばたんを除く):** カメムシ類, ハマキムシ類, ヨトウムシ類: 発生初期

**はばたん:** カメムシ類, ハマキムシ類, ヨトウムシ類, アオ

ムシ: 発生初期

**くちなし:** アザミウマ類: 発生初期

### 「殺虫殺菌剤」

●シラフルオフェン・トリシクラゾール・フェリムゾン粉剤 22190: プラステクトジョーカー粉剤 DL (住友化学) 08/07/09

シラフルオフェン: 0.50%, トリシクラゾール: 0.50%, フェリムゾン: 2.0%

稲: いもち病, ごま葉枯病, 穂枯れ (ごま葉枯病菌), ウンカ類, ツマグロヨコバイ, コブノメイガ, カメムシ類: 収穫 21 日前まで

●クロチアニジン・トリシクラゾール・フェリムゾン粉剤 22191: プラステクトダントツ H 粉剤 DL (住友化学) 08/07/09

クロチアニジン: 0.50%, トリシクラゾール: 0.50%, フェリムゾン: 2.0%

稲: いもち病, 穂枯れ (ごま葉枯病菌), ウンカ類, カメムシ類, ツマグロヨコバイ: 収穫 21 日前まで

●エトフェンプロックス・トリシクラゾール・フェリムゾン粉剤

22194: プラステクトトレボン粉剤 DL (住友化学) 08/07/09  
エトフェンプロックス: 0.50%, トリシクラゾール: 0.50%, フェリムゾン: 2.0%

稲: いもち病, ごま葉枯病, 穂枯れ (ごま葉枯病菌), ツマグロヨコバイ, ウンカ類, カメムシ類: 収穫 21 日前まで

●フェンプロパトリン・テトラコナゾール液剤

22213: ダブルアタック (北興産業) 08/07/23  
フェンプロパトリン: 0.010%, テトラコナゾール: 0.0040%

ばら: アブラムシ類, ハダニ類, うどんこ病: 発生時

きく: アブラムシ類: 発生時

ペチュニア: アブラムシ類, うどんこ病: 発生時

ガーベラ: タバココナジラミ類 (シルバーリーフコナジラミを含む): 発生時

つばき類: チャドクガ: 発生時

きゅうり: アブラムシ類, うどんこ病: 収穫前日まで

トマト: アブラムシ類, オンシツコナジラミ: 収穫前日まで

### 「殺菌剤」

●アゾキシストロビン・ヘキサコナゾール水和剤

22186: シバンバ EX フロアブル (シンジェンタジャパン) 08/07/09

(19 ページに続く)