

侵入に警戒を要するポスピウイルス

～その特徴と海外の発生事例～

花き研究所 ^{まつ}松 ^{した}下 ^{よう}陽 ^{すけ}介
中央農業総合研究センター ^つ津 ^だ田 ^{しん}新 ^や哉

はじめに

ウイルスは1971年にDIENERによって初めて分離・同定されたタンパク質遺伝子をコードしない核酸のみの植物病原体である。それ以降、我が国でも、*Chrysanthemum stunt viroid* (CSVd) や *Citrus exocortis viroid* (CEVd), *Hop stunt viroid* (HSVd) 等が分離・同定された。ウイルス病害は、特定重要病害の一つ *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd) に代表されるように、汁液伝染で容易に感染拡大し感染植物の生長を著しく抑制する。そのため、本来見込める収益性を完全に損なうことから、各種種苗などを通じた我が国への侵入が強く警戒されている。ところが、2006年に、広島県内の施設栽培トマトにおいて上位葉の退緑、黄化、萎縮、えそを伴う葉巻症状などを示す病害が発生し(広島県, 2007)、本邦未発生の *Tomato chlorotic dwarf viroid* (TCDVd, 和名: トマト退緑萎縮ウイルス) であることが確認された(MATSUSHITA et al., 2008)。本ウイルスは、先の PSTVd と塩基配列で 85 ~ 89% の相同性がある近縁種である。さらに2009年には、その本家本元である PSTVd の発生が我が国で初めてトマト圃場で確認された(福島県, 2009)。今後これらのように、国内未発生でトマトなど園芸作物に激しい病徴を発症するウイルスが、諸外国から輸入する種苗などとともに国内に侵入してくる可能性は十分想定される。したがって、これらウイルスの水際での防疫は極めて重要な課題である。

I ポスピウイルス

ウイルスは環状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依存して親RNAから子孫RNAを自律的に複製・増殖する。また、ウイルスとは異なり、RNAを包む外被タンパク質をもたず、そのRNAはタンパク質を一切コードしていない(佐野, 2007)。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種のウイルスが登録されている(佐野, 2007)。その中でポスピウイルス属には、TCDVd, PSTVd, *Tomato apical stunt viroid* (TASVd), *Tomato planta macho viroid* (TPMVd), *Mexican paita viroid* (MPVd), CEVd, CSVd, *Columnea latent viroid* (CLVd), *Iresine viroid 1* (IrVd) があり(図-1)、これらは IrVd を除き(SINGH et al., 2006)、すべてトマトに感染する。また、2009年には、新種ウイルスとして *Pepper chat fruit viroid* (PCFVd) が発見された(VERHOEVEN et al., 2009 b)。これらポスピウイルスのうち、TASVd, TPMVd, MPVd, CLVd, PCFVd は国内未発生である。

ポスピウイルスの検出・同定

ポスピウイルスの感染により発症するトマトの病徴は、主に葉の黄化や退緑、植物体の萎縮等が見られるが(SINGH et al., 2004; ANTIGNUS et al., 2007)、トマトの品種や栽培時の気温によっても病徴は変化し、ウイルス病との区別も困難な場合が多い。さらに、ウイルスには、

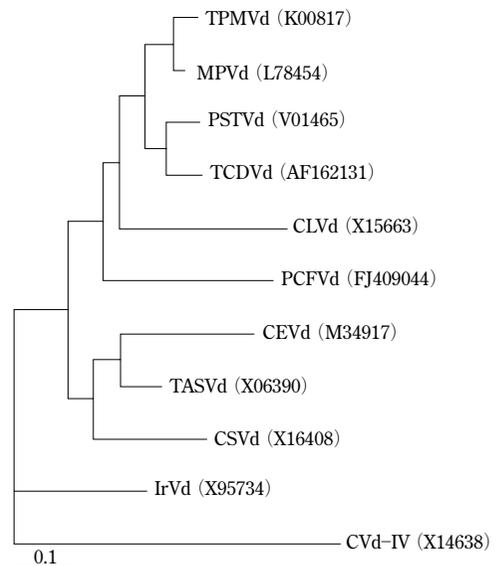


図-1 ポスピウイルスの系統樹
Out group: CVd-IV.

Pospiroviroids which are Necessary to Watch the Invasion to Japan.
By Yosuke MATSUSHITA and Shinya TSUDA

(キーワード: 種子伝染, 栄養繁殖, 貿易, RT-PCR, ナス科植物, 侵入病害)

弱毒系統や強毒系統が存在するため、外観による病害診断は困難である。トマトやジャガイモ以外のナス科植物もポスピウイルスの宿主となるが、病徴はほとんど見られない。このため、保毒植物の検定も目視での判断は不可能である。ウイルスの検出には生物検定法、ハイブリダイゼーション法、RT-PCR法、LAMP法およびICAN法等があるが、検出対象が新興ウイルスである場合には、最終的にシーケンス解析により塩基配列を決定しなければならない。特に、過去に使用実績の少ない検定方法や、これら検出法で非特異反応が出やすい植物体を用いる場合等は、上記の一つの検定法による診断結果だけで陽性と判断することは早急である。例えば、通常、過去の取り扱い経験が少ない植物の場合、非特異反応がどの程度発生するか不明である。そのような場合には、必ず非感染の同種植物体を陰性コントロールとして設定することが重要である。また、検定手法の各種条件の変更などは偽陽性や偽陰性を発生させる原因となるため、検定手法のプロトコールを遵守しなければならない。

VERHOEVEN et al. (2004) は、オランダ国内未発生のポスピウイルスを検出するために、CLVdを除くすべてのポスピウイルスを検出する共通プライマーセット (Posp1-FW : 5'-GGGATCCCCGGGAAAC-3'/Posp1-

RE : 5'-AGCTTCAGTTGTWTCCACCGGGT-3') を用いた RT-PCR 法を実施し、その後の産物の塩基配列を解析することでウイルス種を特定する方法を考案した。今後、我が国の植物検疫業務でも同様の検査態勢が必要になるかも知れない。以下に、我が国への侵入警戒を要するポスピウイルスの特徴と海外での発生状況について述べる。

II ポテトスピンドルチューバーウイルス

ポテトスピンドルチューバーウイルス (PSTVd) に感染したジャガイモは塊茎に奇形が生じ、また塊茎取量が減少する等の病徴を示す。本ウイルスは我が国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。宿主範囲はヒユ科、キク科、ナス科、ムラサキ科、キキョウ科、ナデシコ科、ヒルガオ科、マツムシソウ科、ムクロジ科、ゴマノハグサ科、オミナエシ科等広範囲にわたる (SINGH et al., 2004)。近年では、トマトやその他のナス科の園芸植物から多数検出されており、例として、ベルギーやイギリスのトマト (VERHOEVEN et al., 2007 a ; 2007 b)、チェコの *Solanum jasminoides* や *Brugmansia* spp. (MERTELIK et al., 2009) 等が挙げられる (表-1)。また、過去にペルーのアボカドからも PSTVd が検出され

表-1 近年の *Potato spindle tuber viroid* の発生報告

報告年次	検出国	検出植物	塩基数	DBBJ ^{a)} accession No.	参考文献
1992	インド	<i>Solanum sucrense</i>	—	—	OWENS et al., 1992
		<i>S. verrucosum</i>	—	—	
		<i>S. chancoense</i>	—	—	
		<i>S. multiinterruptum</i>	—	—	
1995	ペルー	アボカド	—	—	QUERCI et al., 1995
2001	ニュージーランド	トマト	358	AF369530	ELLIOT et al., 2001
2002	オーストラリア	トマト	—	—	MACKIE et al., 2002
2005	ニュージーランド	トウガラシ	358	AF369530	LEBAS et al., 2005
		トマト	—	—	
2004	イギリス	トマト	358	AJ583449	MUMFORD et al., 2004
2007	ベルギー	トマト	358	AJ583449	VERHOEVEN et al., 2007 a
		トマト	358	AY962324	
		トマト	358	AY962324	
2007	オランダ	<i>Brugmansia suaveolens</i>	373	EF192396	VERHOEVEN et al., 2007 b
		<i>S. jasminoides</i>	357	EF192393	
		<i>Streptosolen jamesonii</i>	357	EF580923	
2007	イタリア	<i>Solanum jasminoides</i>	—	—	Di SERIO et al., 2007
		<i>S. rantonnetii</i>	357	EF459700	
2009	オランダ	<i>Physalis peruviana</i>	357	EU862230	VERHOEVEN et al., 2009 a
		<i>P. peruviana</i>	358	EU862231	
2009	チェコ	<i>Brugmansia</i> spp.	357	EF459700	MERTELIK et al., 2009
		<i>S. jasminoides</i>	357	EF459700	
		<i>S. muricatum</i>	357	EF459700	
		<i>Petunia</i> spp.	357	EF459700	

^{a)} DNA data bank of Japan (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/>).

たことがある (QUERCI et al., 1995)。トマトに感染すると葉の黄化や退緑等を示すが、系統 (例 Mild strain, PSTV-M) によっては不明瞭な病徴を示すことがあり、外観だけでは本ウイルスの病害診断は難しい (西尾ら, 1980)。現在では RT-PCR 法による検出が一般的である。RT-PCR 用の検出プライマーセットとしては、3P/4P (BEHJATNIA et al., 1996) が報告されているが、これは TCDVd もほぼ同じサイズのバンドで検出するため、両者を見分けるためには産物のシーケンス解析による塩基配列の確認が必要となる。

PSTVd はトマトとジャガイモで種子伝染する。トマトでは品種 Rutgers で伝染率が 4.3% (KRYCZYNSKI et al., 1988)、品種 Sheyenne で 2~23% に達すると報告されている (SINGH, 1970)。このことから、種子伝染率は品種によって異なると推定される。また、ジャガイモでは 35~66% の種子伝染になると報告されている (SINGH et al., 1992)。その他の植物種では本ウイルスの種子伝染に関する調査はされていないが、同じポスビウイルスの CEVd ではパーベナやペチュニアの種子を通じた国際的な病原体の拡散が報告されている (SINGH et al., 2009)。今後、我が国においても、海外から輸入される様々な罹病植物種における PSTVd の種子伝染の調査が必要になるとと思われる。

III トマト退緑萎縮ウイルス

トマト退緑萎縮ウイルス (TCDVd) の感染によって引き起こされるトマト退緑萎縮病は、上位葉の退緑、黄化、えそを伴う葉巻症状、さらに節間の萎縮による矮化等を生じる。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。その後、米

国やインド、英国等から報告が続き、我が国では 2006 年に初めて広島県のトマトで確認された (表-2; MATSUSHITA et al., 2008)。

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、なか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・温度等) によっても変化すると見られる。本ウイルスは、トマトでの種子伝染が報告されているが (SINGH et al., 2009)、我が国では未確認である。また、閉鎖空間の圃場で TCDVd 感染トマトとともに健全トマトを密植栽培し、そこに受粉用のクロマルハナバチを高密度に放飼した場合、感染トマトと接していない別畝のトマトに低頻度ながら TCDVd が伝染することが報告された (MATSUURA et al., 2010)。しかし、植物ウイルスのような特定の媒介生物などは認められておらず、さらに土壌伝染の報告もない。

TCDVd は、PSTVd と同じポスビウイルス属に分類される。本ウイルスの RNA の塩基配列は PSTVd の塩基配列と 85~89% の相同性であり、これはウイルス種を分類する基準値 (90%) 以下である。また、本ウイルスは他のウイルスには見られない特徴的な可変領域を有することから、TCDVd は 1999 年に PSTVd から分離され別種に位置付けられた (SINGH et al., 1999)。

TCDVd の宿主はナス科植物および一部のキク科植物である (MATSUSHITA et al., 2009)。それらの病徴は、トマト以外では *Nicotiana glutinosa* で発生する花卉の斑入り、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が報告されている程度で (SINGH et al., 1999)、文献上

表-2 トマト退緑萎縮ウイルスの発生報告

報告年次	検出国	検出植物	塩基数	DBBJ ^{a)} accession No.	参考文献
1999	カナダ	トマト	360	AF162131	SINGH et al., 1999
2004	アメリカ	トマト	360	AY372399	VERHOEVEN et al., 2004
2006	インド	パーベナ	部分配列	DQ846883	SINGH et al., 2006
2007	アメリカ	ペチュニア	359	DQ859013	VERHOEVEN et al., 2007 c
2008	日本	トマト	359	AB329668	MATSUSHITA et al., 2008
2008	イギリス	ペチュニア	359	EF582392	JAMES et al., 2008
			359	EF582393	
2009	フィンランド	ペチュニア	—	—	—
2009	フランス	トマト	360	EU729744	—
2009	チェコ	ペチュニア	—	—	—
2009	アメリカ	トマト	360	AF162131	LING et al., 2009 a
2009	メキシコ	トマト	—	—	LING et al., 2009 b
2010	オランダ	<i>Brugmansia sanguinea</i>	356	EF626530	VERHOEVEN et al., 2010

^{a)} DNA data bank of Japan (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/>).

の宿主植物で病徴を示す植物は上記以外には皆無である。

IV トマトアピカルスタントウイルス

トマトアピカルスタントウイルス (TASVd) はコートジボアールで発見され、その後、1987年に激しい病徴を示すインドネシア系統 (DDBJ accession no. X06390) が報告された (CANDRESSE et al., 1987)。本病害は、2010年現在、我が国未発生である。TASVdに感染したトマトは頂芽の伸長停止や葉の黄化等を引き起こす。宿主範囲はキク科やナス科等が知られている (SINGH et al., 2004)。近年では2002年にイスラエルのトマト (ANTIGNUS et al., 2002) で、07年にセネガルのトマト (CANDRESSE et al., 2007) で発生が報告されている (表-3)。また、主な感染ルートとして種子伝染が示されていることから、本ウイルスは種子内部まで侵入できることが示唆された (ANTIGNUS et al., 2007)。さらに、TCDVd同様にマルハナバチ (*Bombus terrestris*) による伝染も確認されている。一方、モモアカアブラムシ (*Myzus persicae*) や土壌での伝染は確認されていない (ANTIGNUS et al., 2007)。

V コルムネアラテントウイルス

コルムネアラテントウイルス (CLVd) はイワタバコ科の植物であるコルムネアの *Columnnea erythrophae* から分離されたウイルスで、日本では未発生である。CLVdはコルムネアでは無病徴であるが、ジャガイモではPSTVdに似た病徴、トマトでは葉の黄化と葉のねじれ等が生じると報告されている (NIXON et al., 2009; STEYER et al., 2009)。CLVdの宿主範囲はトマトやジャガイモのほか、*Gynura aurantiaca* (キク科)、*Brunfelsia undulata* (ナス科)、*Columnnea erythropha* (イワタバコ科)、*Nematanthus wettsteinii* (イワタバコ科) 等が知られており (VERHOEVEN et al., 2004)、これらの園芸作物が感染源となりトマトやジャガイモへと移行していると推察されている。近年の発生状況は、2004年のオランダ

とベルギーのトマトで (VERHOEVEN et al., 2004)、07年に英国とフランスのトマトで発生が確認されており (NIXON et al., 2009; STEYER et al., 2009)、今後、上記の宿主とともに日本へ侵入する危険性が高いと考えられるウイルスである。その他、DDBJ (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/index-e.html>) にはタイやポルトガルで発生した変異体も登録されている。機械接種による伝染は可能であるが、種子伝染はまだ調査されていない。ポスピウイルスを検出する共通プライマーセット (Pospi1-FW/Pospi-RE) では検出できないが、CLVd検出用プライマーセットとして、pCLV4/pCLVR4 (SPIEKER et al., 1996) が報告されている。

VI その他のポスピウイルス

MPVdは1996年にメキシコで *Solanum cardiophyllum* から分離・同定されたウイルスである (MARTINEZ-SORIANO et al., 1996)。MPVdに感染した *S. cardiophyllum* は無病徴であるが、トマトに接種するとPSTVdまたはTPMVdと似た病徴が生じる (MARTINEZ-SORIANO et al., 1996)。*S. cardiophyllum* における1996年の初発生以来その後の発生報告はなかったが、2009年にカナダ (LING et al., 2009 b) およびメキシコ (LING et al., 2009 c) において初めてトマトで発生が確認された。2009年のメキシコでの発生事例では、TCDVdと混在状態ではあったが、確認初期で5haのトマト温室が感染し、その後急速に拡大してさらに5ha、合計で10haが被害を受けたとされる (LING et al., 2009 c)。MPVdに関する研究報告は少ないためその特性などは不明だが、一度発生するとその被害は甚大である。

また、TPMVdは1974年に初めて報告され、トマトに感染すると植物全体の激しい萎縮や葉のねじれ等が生じることが報告されている (GALINDO et al., 1982)。しかし、現在のところ、TPMVdはメキシコで発生が報告されているのみである (SINGH et al., 2004)。

Pepper chat fruit viroid (PCFVd) は2006年にオランダ

表-3 *Tomato apical stunt viroid* の発生報告

報告年次	検出国	検出植物	塩基数	DBBJ ^{a)} accession No.	参考文献
2002	イスラエル	トマト	363	AY062121	ANTIGNUS et al., 2002
2006	チュニジア	トマト	363	DQ144506	VERHOEVEN et al., 2006
2007	セネガル	トマト	361	EF551346	CANDRESSE et al., 2007
			362	EF051631	
2007	ドイツ	<i>Solanum jasminoides</i>	364	AM774355	VERHOEVEN et al., 2008 a
2008	オランダ	<i>Cestrum</i> sp.	360	EF192395	VERHOEVEN et al., 2008 b

^{a)} DNA data bank of Japan (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/>).

ダのピーマン (*Capsicum annuum*) から分離・同定された (VERHOEVEN et al., 2009 b)。PCFVdに感染したピーマンは、果実が小さくなり、生育不良になる。また、PCFVdはピーマンで種子伝染することが確認されている。PCFVdに感染したトマトは葉柄がネクロシスとなり、植物全体がわい化する。また、ジャガイモでは塊茎が小さくなることが報告されている (VERHOEVEN et al., 2009 b)。最近になって初めて同定されたこともあり、他の植物での発生例はまだないが、本ウイルスは種子伝染することから今後の侵入警戒を要する病原体である。

おわりに

表-1のように、近年 PSTVd はジャガイモではなく、トマトやナス科園芸植物から検出されることが多い。また、TASVd, TCDVd および CLVd は 2000 年代になってから国際的にも頻繁に検出されるようになった。その原因としては種子や苗の国際貿易が盛んになったこと、および、検出技術の簡易化と検出感度の高度化が考えられる。しかし、植物検疫業務において無病徴感染の植物体を選別することは不可能で、また、意図せぬ汚染種子の国際取引は実際に起きてしまっている (SINGH et al., 2009)。このことから、水際での侵入防止対策だけではなく、国内で発生した場合を想定した迅速な防除マニュアルの整備も必要である。そのためには、国内未発生のウイルスの特性調査や防除体系の構築等を早期に研究しなければならない。例えば、メキシコで突発的に発生した MPVd のように (LING et al., 2009 c), 未研究のウイルスがいったん国内に侵入したら瞬時に被害が拡大することが懸念される。ほとんどのウイルスは虫媒伝染や土壌伝染はしないことから、ウイルスの国内侵入は栄養繁殖体と種子に限られる。したがって、ウイルス病の水際での防疫対策は、この 2 点のスクリーニングがポイントとなるであろう。

引用文献

1) ANTIGNUS, Y. et al. (2002) : *Phytoparasitica* 30 : 502.

- 2) ———— et al. (2007) : *Plant Dis.* 91 : 47 ~ 50.
- 3) BEHJATNIA, S. A. A. et al. (1996) : *Phytopathology* 86 : 880 ~ 886.
- 4) CANDRESSE, T. et al. (1987) : *Nucleic Acids Res.* 15 : 10597.
- 5) ———— et al. (2007) : *Plant Dis.* 91 : 330.
- 6) DI SERIO, F. et al. (2007) : *J. Plant Pathol.* 89 : 297 ~ 300.
- 7) ELLIOTT, D. R. et al. (2001) : *Plant Dis.* 85 : 1027.
- 8) 福島県 (2009) : 平成 21 年度病害虫発生予察特殊報, 第 1 号.
- 9) GALINDO, J. et al. (1982) : *Phytopathology* 72 : 49 ~ 54.
- 10) 広島県 (2007) : 平成 19 年度病害虫発生予察情報 特殊報 第 5 号.
- 11) JAMES, T. et al. (2008) : *Plant Pathol.* 57 : 400.
- 12) KRZYCZYBSKI, S. et al. (1988) : *J. Phytopathol.* 121 : 51 ~ 57.
- 13) LEBAS, B. S. M. et al. (2005) : *Plant Pathol.* 34 : 129 ~ 133.
- 14) LING, K. S. et al. (2009 a) : *Plant Dis.* 93 : 1075.
- 15) ———— et al. (2009 b) : *ibid.* 93 : 1216.
- 16) ———— et al. (2009 c) : *ibid.* 93 : 839.
- 17) MACKIE, E. et al. (2002) : *Plant Pathol.* 31 : 311 ~ 312.
- 18) MARTINEZ-SORIANO, J. P. et al. (1996) : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 93 : 9397 ~ 9401.
- 19) MATSUSHITA, Y. et al. (2008) : *J. Gen. Plant Pathol.* 74 : 182 ~ 184.
- 20) ———— et al. (2009) : *Eur. J. Plant Pathol.* 124 : 349 ~ 352.
- 21) MATSUURA, S. et al. (2010) : *ibid.* 126 : 111 ~ 115.
- 22) MERTELIK, J. K. et al. (2009) : *New Dis. Rep.* 15.
- 23) MUMFORD, R. A. et al. (2004) : *Plant Pathol.* 53 : 242.
- 24) NIXON, T. et al. (2009) : *New Dis. Rep.* 19.
- 25) 西尾 健ら (1980) : *植防研報* 16 : 1 ~ 9.
- 26) OWENS, R. A. et al. (1992) : *Plant Dis.* 76 : 527 ~ 529.
- 27) QUERCI, M. et al. (1995) : *ibid.* 79 : 196 ~ 202.
- 28) 佐野輝男 (2007) : *植物防疫* 61 : 660 ~ 664.
- 29) SINGH, R. P. (1970) : *Am. Potato J.* 47 : 225 ~ 227.
- 30) ———— et al. (1992) : *Plant Dis.* 76 : 951 ~ 953.
- 31) ———— et al. (1999) : *J. Gen. Virol.* 80 : 2823 ~ 2828.
- 32) ———— et al. (2004) : *Viroids* : 30 ~ 48.
- 33) ———— et al. (2006) : *Plant Dis.* 90 : 1457.
- 34) ———— et al. (2009) : *Eur. J. Plant Pathol.* 124 : 691.
- 35) SPIEKER, R. L. et al. (1996) : *Arch. Virol.* 141 : 1823 ~ 1832.
- 36) STEYER, S. T. et al. (2009) : *New Dis. Rep.* : 22.
- 37) VERHOEVEN J. Th. J. et al. (2004) : *Eur. J. Plant Pathol.* 110 : 823 ~ 831.
- 38) ———— et al. (2006) : *Plant Dis.* 90 : 528.
- 39) ———— et al. (2007 a) : *ibid.* 91 : 1055.
- 40) ———— et al. (2007 b) : *New Dis. Rep.* : 15.
- 41) ———— et al. (2007 c) : *Plant Dis.* 91 : 3.
- 42) ———— et al. (2008 a) : *ibid.* 92 : 973.
- 43) ———— et al. (2008 b) : *Plant Pathol.* 57 : 399.
- 44) ———— et al. (2009 a) : *Plant Dis.* 93 : 16.
- 45) ———— et al. (2009 b) : *Virus Res.* 144 : 209 ~ 214.
- 46) ———— et al. (2010) : *Plant Pathol.* 59 : 3 ~ 12.