

# 栃木県に発生した *Tomato chlorosis virus* による トマト黄化病

栃木県農業試験場 <sup>ふく</sup>福 <sup>だ</sup>田 <sup>たかし</sup>充  
宇都宮大学農学部 <sup>ひろ</sup>廣 <sup>た</sup>田 <sup>とも</sup>知 <sup>なつ</sup>記・<sup>とも</sup>夏 <sup>とも</sup>秋 <sup>ひで</sup>知英

## はじめに

最近、エマージングウイルスという言葉をしばしば目にするようになった。世界保健機関 (WHO, World Health Organization) によれば、エマージング感染症 (emerging infectious disease) は「かつて知られていなかった、新しく認識された感染症で、局地的、あるいは国際的に公衆衛生上問題となる感染症」(emerging) と「既知の感染症で、すでに公衆衛生上問題とならない程度まで患者数が減少していた感染症のうち、再び流行し始め、患者数が増加している感染症」(re-emerging) とされている。要するに、全く新規、あるいは既知だが新型の病害が突発的に流行することである。エマージングウイルスとしては、新型インフルエンザウイルスの大発生は記憶に新しいところである。このようなエマージング感染症の発生は人だけに限らず、最近では動物や植物でも起きている。そして、植物におけるエマージング感染症の半数はウイルスが原因と言われている (ANDERSON et al., 2004)。このように、エマージングウイルスという用語が広く植物ウイルスでも使われるようになってきている。

2008年に栃木県大田原市の水耕栽培トマト温室で、下葉から黄化を示す原因不明の病害が大発生して問題となった (口絵)。栽培者によると、このような黄化症状の発生は数年前から認識していたが、当初は生理障害と思い込んでウイルス病とは予想もしていなかった、とのことであった。

ところで、国内で既に発生が報告されているトマトに黄化を示す病原ウイルスとしてトマト黄化えそウイルス (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV; 津田, 2006)、トマト黄化葉巻ウイルス (*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV; 本多, 2010)、トマトインフュクシヤスクロロシウイルス (*Tomato infectious chlorosis virus*, TICV; HARTONO et al., 2003) 等が知られている。

今回、大田原市にて発生していた症状は、クロステロウイルス科クリニウイルス属の TICV によるトマト黄化病 (HARTONO et al., 2003) と酷似していた。しかし、研究を進めた結果、TICV と同じクリニウイルス属ではあるが別種で国内未報告のトマトクロロシスウイルス (*Tomato chlorosis virus*, ToCV) であることが判明した (HIROTA et al., 2010)。この ToCV は、TICV や TYLCV 等とともに、トマトのエマージングウイルスとして世界的に重要視されている (HANSEN et al., 2010)。

その後、本ウイルスは栃木県内で広く発生していることが判明し (福田ら, 2010)、群馬県でも発生が確認された。そこで本稿では、栃木県で新たに見出された ToCV について病徴やウイルスの性状、発生実態、被害状況、遺伝子診断法等について紹介する。

## I 病徴およびウイルスの性状

### 1 ToCV 感染による病徴

トマトの黄化症状 “yellow leaf disorder” はフロリダの温室栽培トマトで 1989 年に最初に報告され、当初は原因不明で、生理病か栄養障害、農業による葉害等と考えられていた。症状は、最初は下葉から黄化が始まり、徐々に上葉へ移り、しばしば褐色のえそ斑をともなう。花や果実には明白な病徴はないが収量減が生じる。

このような黄化症状の病原として 1996 年に TICV が、1998 年に ToCV が正式に報告された。その後すぐに両ウイルスともヨーロッパでも発生が確認され、現在ではエマージングウイルスとして警戒されている。

2008 年春に栃木県大田原市の水耕栽培トマト温室で認められた病害では、モザイク症状は全く認められず、下葉から黄化や葉巻、え死の症状を示していた (口絵)。その症状は 2003 年に発生した TICV の病徴と酷似していたため、TICV 検出用プライマー (HARTONO et al., 2003) を用いて SDT-RT-PCR (SUEHIRO et al., 2005) を行ったが TICV は検出されなかった。しかし、トマトの黄化症状がクロステロウイルス科のクリニウイルス属による可能性が高いと予想されたので、クロステロウイルス科のウイルスを広く検出する HSP 検出プライマー (HSP-1: GGNTTNGANTTNGGNACNAC; HSP-2: TCNAANGT-

Occurrence of *Tomato chlorosis virus* in Tochigi Prefecture.  
By Takashi FUKUDA, Tomoki HIROTA and Tomohide NATSUAKI

(キーワード: *Tomato chlorosis virus*, トマト, コナジラミ, エマージングウイルス)

NCCNCCNCCN ; Wisler et al., 1998) を用いて、RT-PCR を行った。その結果、目的の位置に増幅産物が得られ、その塩基配列は我が国で未報告の ToCV と高い相同性を示した。一方、TICV とは相同性が低かった。そこで、ToCV のゲノム構造から外被タンパク質を含む 3 領域において塩基配列を決定し、すでに全塩基が登録されていたフロリダ、スペイン、ギリシャの 3 分離株と比較した結果、いずれの領域も栃木株と既報の分離株は高い相同性を示し、特にフロリダ株と栃木株の外被タンパク質領域はアミノ酸配列で 100% の相同性を示した (Hirota et al., 2010)。このことから、この大田原市で発生したトマトの黄化症状の病原ウイルスは、国内では未発生の ToCV によるものと考えられた。さらに、決定した塩基配列を用い、ToCV を遺伝子診断するために、コピー数の多い外被タンパク質領域に検出用プライマーを設計した。

## 2 ToCV の性状

ToCV が属するクロステロウイルス科にはアブラムシ伝搬、コナジラミ伝搬、コナカイガラムシ伝搬のウイルスが含まれる。ToCV は、TICV や最近話題となっているウリ類退緑黄化ウイルス (*Cucurbit chlorotic yellows virus*, CCYV ; 行徳ら, 2009) とともにクリニウイルス属に分類され、いずれもコナジラミによって伝搬されるが汁液伝染、土壌伝染、種子伝染はしない。

そこで、ToCV 感染トマトから健全トマトへの接種実験を行った。媒介昆虫にはオンシツコナジラミおよびタバココナジラミ・バイオタイプ B を用いた。接種後、3 週間から 1 か月ほど観察したところ、ToCV によると思われる黄化症状が現れた。作製した検出用プライマーを用いてウイルスの検出を行ったところ、ToCV の感染が確認され、タバココナジラミ・バイオタイプ B による媒介が確認された。なお、トマトの品種間差異はほとんど見られず、すべて下葉からの黄化、葉巻、およびえ死症状を示した。

ToCV に感染したトマトは下葉からの黄化を示すことから、ウイルスが下葉に局在して上葉にはいない可能性が考えられたので、接種後 2 か月ほど経過したトマト苗について下葉から上葉までの葉において ToCV の有無を調査した。その結果、ほとんどの葉でウイルスが検出され、黄化を示さない上位葉でもウイルスが感染増殖していることが確認された。

同様に、ToCV の宿主植物で TICV の宿主植物ではない *Nicotiana glutinosa* に接種したところ、3 週間ほどではっきりとした葉脈間の黄化が観察され、ウイルスも検出された。*N. benthamiana* においては病徴はマイルド

で、え死症状は観察されなかったが、ウイルスは検出された。検出されたサンプルについては塩基配列を決定して、ToCV であることを確認した。

最後に、感染が確認された *N. glutinosa* を用いて、ToCV のウイルス粒子を電子顕微鏡で観察した。その結果、既報のような 800 ~ 850 nm の長い屈曲性のひも状粒子が確認された (Hirota et al., 2010)。

## II 栃木県における発生状況

### 1 発生実態

2009 年 4 月 ~ 2010 年 5 月に栃木県内主要トマト産地における ToCV の発生を解明するため、冬春トマト、越冬トマト、夏秋・抑制トマトから、葉脈間の黄化やえ死した罹病葉を 1 圃場あたり 3 ~ 5 複葉採取した。

SDT 法 (石川ら, 2008) により罹病葉から全 RNA を抽出し、First-Strand cDNA Synthesis Kit (GE Healthcare) を用いて逆転写後、ToCV に特異的なプライマー (ToCV-CF: GTGTCAGGCCATTGTAAACCAAG ; ToCV-CR: CACAAAGCGTTTCTTTTCATAAGCAGG ; Hirota et al., 2010) による PCR を行い、360 bp の特異的な増幅産物が認められたものを感染葉と判定した。

県内トマトでの ToCV の発生圃場率は、2009 年、2010 年でそれぞれ 35.4%、18.9% であった (表-1)。また、2009 年の夏秋・抑制トマトでは 46.7% の発生圃場率であった (表-2)。

トマトでの ToCV は、栃木県内の越冬・冬春トマトにおいて広く発生していることが明らかとなった (福田ら, 2010) (図-1)。なお、ToCV と同属で、過去に本県での発生が確認されている TICV (Hartono et al., 2003) についても ToCV 調査と同一のサンプルを用いて検出を試みたが、今回の調査では発生が全く認められなかった。

表-1 栃木県内のトマトにおけるトマトクロシスウイルス (ToCV) の発生状況 (越冬、冬春作型)

|     | 発生圃場率 (%)                  |              |
|-----|----------------------------|--------------|
|     | 2009 年 a)                  | 2010 年 b)    |
| 県北部 | 32.1 ( 9/28) <sup>c)</sup> | 26.3 ( 5/19) |
| 県中部 | 52.4 (11/21)               | 15.0 ( 3/20) |
| 県南部 | 18.8 ( 3/16)               | 14.3 ( 2/14) |
| 県計  | 35.4 (23/65)               | 18.9 (10/53) |

a) 2009 年 4 ~ 6 月調査。

b) 2010 年 4 ~ 5 月調査。

c) ToCV 発生圃場数/調査圃場数。

表-2 栃木県内のトマトにおける (ToCV) の発生状況 (越冬, 冬春作型)

|     | 発生圃場率 (%)                 |
|-----|---------------------------|
|     | 2009 年 <sup>a)</sup>      |
| 県北部 | 83.3 (5/ 6) <sup>b)</sup> |
| 県中部 | 22.2 (2/ 9)               |
| 県計  | 46.7 (7/15)               |

<sup>a)</sup> 2009 年 9 ~ 10 月調査.

<sup>b)</sup> ToCV 発生圃場数/調査圃場数.

国土地理院承認 平14総複 第149号

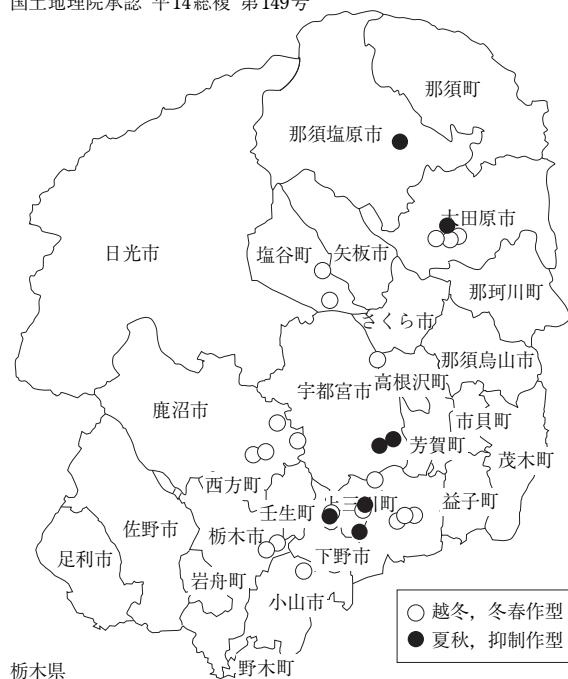


図-1 栃木県内におけるトマトクロロシスウイルス (ToCV) の発生状況 (2009 年)

## 2 被害状況

ToCV の感染とトマトでの被害との関係については、まだ詳細に調査されていない。しかし、本県で初めて発生を確認した水耕栽培トマト温室は周年栽培をしていたので、本病の発生により数年前と比較して収穫量が年間で2割以上減少し、特に大玉の収穫量が激減した。

本病は生育が停滞するような激しい症状とはならないものの、葉の黄化や葉巻症状を起こし、症状が進展し生理障害、特に苦土欠乏症に似た症状となる。また、コナ

ジラミで容易に媒介されるので、2009 年、2010 年の調査において圃場全体で発生している例が多数認められた。しかし、本症状は生理障害と極めて酷似しており、生産現場においては本病の発生に気づかずに見逃している可能性が高いと考えられる。

## III 防除対策

栃木県内のトマト栽培ではこれまでトマト黄化葉巻ウイルス (*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV) 対策としてタバココナジラミを対象とした薬剤防除などを実施してきた。しかし、ToCV は、オンシツコナジラミ *Trialeurodes vaporariorum*, タバココナジラミ *Bemisia tabaci* バイオタイプ A, バイオタイプ B, bandedwinged whitefly (*Trialeurodes abutiloneus*) によって媒介されると報告されている (WINTERMANTEL and WISLER, 2006)。またタバココナジラミ・バイオタイプ Q も本病原ウイルスを媒介することが確認されている (福田ら, 未発表)。このため、ToCV の防除では、タバココナジラミに併せてオンシツコナジラミを対象とした防除を行う必要性が生じている。

### 1 物理的防除

栃木県では、トマト黄化葉巻ウイルスの発生によるタバココナジラミ類の防除対策として、コナジラミ類を施設に「入れない、増やさない、出さない」ための対策がとられてきた。

施設開口部への防虫ネット (目合い 0.4 mm 以下) の展開はコナジラミ類のハウス内への侵入抑制に有効である (松浦ら, 2005)。また、コナジラミ類による ToCV や TYLCV の伝染を絶つ取り組みとしては、圃場から「出さない」対策として、栽培終了時の施設内の高温処理 (むし込み) の徹底が必要である (水越ら, 2007)。

これら防除対策については、トマトでの ToCV に対しても有効であると考えられる。

### 2 薬剤防除

このように、ToCV はオンシツコナジラミとタバココナジラミによって媒介される。県内のオンシツコナジラミ (森島, 未発表), タバココナジラミ (山城, 2007) に対する各種薬剤の防除効果についてはすでに検討している。オンシツコナジラミについては特に薬剤防除効果の低下などは認められていない。しかし、タバココナジラミ・バイオタイプ Q については一部の薬剤で防除効果の低下が確認されている。

ToCV を対象としたコナジラミ類の防除を行う場合は、現時点で防除効果の認められる薬剤の輪播散布を行う必要がある。

### 3 コナジラミの総合防除

トマトは野菜の中でも最も重要な作物の一つであり、コナジラミ伝播して大問題となっているトマト黄化葉巻ウイルス (TYLCV) では防除マニュアルが報告されている (本多, 2010)。実際、天敵や物理的方法を利用したコナジラミの防除が公表されている。

ToCV の発生が初めて確認された大田原市の水耕栽培トマト温室では、以上のような様々な防除法を組合せてコナジラミの根絶に努めた結果、現在では本ウイルスの発生は見られていない。このように、地道な努力によるコナジラミの根絶が本ウイルス防除の基本である。

### 4 これからの研究課題

まず、検定法の開発があげられる。現在は RT-PCR による遺伝子診断法しかないので、大量のサンプルを安価に検定することは出来ない。そこで、組換え DNA 技法で ToCV の外被タンパク質を大腸菌で生産し、ウサギに注射して抗血清を作成し、血清学的手法で簡易に検出できるようにする必要がある。

次に我が国および東南アジア各地でどの程度発生しているか、発生分布を正確に把握する必要がある。また、ToCV に対する感受性の差異を多くのトマト品種で調査すべきであろう。さらに、ToCV はレタスなどにも感染するなど比較的宿主範囲が広いので、雑草や他の作物での感染状況を調べ、トマト以外の伝染源植物を明らかにしなければならない。要するに、他の病害と同様に、正確な診断、的確な防除技術で伝染の拡大を阻止することが肝要である。

## おわりに

人間だけでなく、広く植物や動物でエマージングウイルスが数多く出現する背景には、さまざまな原因が考えられている。急激な人口増加や工業化による都市化と自然破壊、さらに物流の急速な増加等、人間活動の拡大と

いう側面もあろう。また、ウイルスの進化や変異のスピードからエマージングウイルス出現機構の解析も始まっている (ELENA et al., 2011)。今回の ToCV の場合、フロリダ株と外被タンパク質のアミノ酸配列が 100% 一致していた。このことは、新型インフルエンザの場合と同じように、農作物の世界でも感染力の強いウイルスが大発生して瞬く間に地球全体に広がっていくことを示している。

野菜のウイルス病で考えると、以前はアブラムシで伝播されるキュウリモザイクウイルスやポテトウイルスが主な病原であった。その後、アザミウマが伝播するトスポウイルス、そしてコナジラミが伝播する TYLCV 等のジュミニウイルス、さらに最近ではクリニウイルスが世界的に発生を拡大している。ToCV に関しても数年前まではアジアでは全く発生が認められなかったが、いまではインドネシアでも大発生している (口絵)。このため、常に世界に目を向け、海外で流行が急速に拡大している病害については情報収集と監視を怠らないようにするとともに、植物ウイルス病の防除でも国際協力が必須の時代になりつつある。

### 引用文献

- 1) ANDERSON, P. K. et al. (2004): Trends Ecol. Evolut. **19**: 535 ~ 544.
- 2) ELENA, S. F. et al. (2011): MPMI **24**: 287 ~ 293.
- 3) 福田 充ら (2010): 関東病虫研報 **57**: 27 ~ 29.
- 4) 行徳 裕ら (2009): 日植病報 **75**: 109 ~ 111.
- 5) HANSEN, I. M. et al. (2010): MPMI **23**: 539 ~ 548.
- 6) HARTONO, S. et al. (2003): J. Gen. Plant Pathol. **69**: 61 ~ 64.
- 7) HIROTA, T. et al. (2010): ibid. **76**: 168 ~ 171.
- 8) 本多健一郎 (2010): 植物防疫 **64**: 657 ~ 659.
- 9) 石川典子ら (2008): 同上 **62**: 387 ~ 390.
- 10) 松浦 明ら (2005): 九病虫研会報 **51**: 64 ~ 68.
- 11) 水越小百合ら (2007): 関東病虫研報 **54**: 109 ~ 112.
- 12) SUEHIRO, N. et al. (2005): J. Virol. Methods **125**: 67 ~ 73.
- 13) 津田新哉 (2006): 植物防疫 **60**: 597 ~ 601.
- 14) WINTERMANTEL, W. M. and G. C. WISLER (2006): Plant Dis. **90**: 814 ~ 819.
- 15) WISLER G. C. et al. (1998): Phytopathology **88**: 402 ~ 409.
- 16) 山城 都 (2007): 関東病虫研報 **54**: 113 ~ 115.

## 農林水産省プレスリリース (23.7.16 ~ 23.8.15)

農林水産省プレスリリースから、病害虫関連の情報を紹介します。

<http://www.maff.go.jp/j/press/syoutan> の後にそれぞれ該当のアドレスを追加してご覧下さい。

- ◆ 平成 23 年度病害虫発生予報第 5 号 (水稻特集) の発表について (7/21)  
/syokubo/110721.html

- ◆ 平成 23 年度病害虫発生予報第 6 号の発表について (8/11)  
/syokubo/110811.html