

非虫媒性トマト黄化葉巻ウイルスの特性と トマト黄化葉巻病防除への取り組み

キッコーマン株式会社 研究開発本部 ^{あたら}新 ^し子 ^{ひろ}泰 ^き規
 熊本県農業研究センター 生産環境研究所 ^{もり}森 ^{やま}山 ^み美 ^ほ穂
 ベルグアース株式会社 技術開発部 ^{かわら}瓦 ^{とも}朋 ^こ子
 宇都宮大学農学部 生物資源科学科 ^{にし}西 ^{がわ}川 ^{ひさ}尚 ^し志

はじめに

トマトは日本国内で年間74万トン生産され、国内野菜総算出額の1割を占める重要な農作物である。また、どの年齢世代の消費者からも好きな野菜順位で常に上位に挙げられており、非常に人気の高い野菜である。機能性成分リコピンやカロテノイド系色素等を含み、栄養価も高く、生でも加熱調理しても食べられるトマトは食の多様化が進む現代において、今後ますます食卓を支える野菜として重要になると思われる。

このように重要作物であるトマトの生産はほとんどを国内で賄っているが、その安定的な生産において、脅威となる病害がいくつか存在する。なかでもトマト黄化葉巻ウイルス (*Tomato yellow leaf curl virus*; 以下 TYLCV) によるトマト黄化葉巻病は1996年に九州、東海地方で初発生して以来、2009年には発生は36都府県に拡大し(本多, 2010)、昨今のトマト栽培において最も重要な病害となっている。TYLCVは体長0.8mm程度の微小な昆虫タバコナジラミによって伝染し、トマトに黄化、萎縮症状を引き起こし、生長を止めて収穫量が激減し多大な減収となる(図-1, 図-2)。植物ウイルスに効果のある農薬はないため、本病害の被害拡大を防ぐためには、ウイルスを保有したタバコナジラミがトマト栽培地域を移動することによる「ウイルスの伝染環」を断ち切ることが重要である。具体的には、伝染源となるウイルス感染トマトを早期に廃棄すること、媒介虫であるタバコナジラミを防除することである。そこでトマト産地ではタバコナジラミをハウスに「入れない」、ハウ

ス内で「増やさない」、ハウス内から「出さない」対策*に取り組んできた。これらの対策とともに、熊本県では、地域で一定の期間トマトを栽培しない時期を設ける取り組みも行っている。しかし、「入れない」対策の一つである0.4mm目合いの防虫ネットは換気効率が悪く、ハウス内が高温になるため、トマトの生育に影響を及ぼすだけでなく、生産者にとっても作業環境の悪化が懸念されている。また「増やさない」対策の一つである



図-1 トマト黄化葉巻病発生圃場(熊本)



図-2 TYLCVの症状

Property of Whitefly Non-Transmissible *Tomato yellow leaf curl virus* Isolate and Approach to Tomato Yellow Leaf Curl Disease Control. By Hiroki ATARASHI, Miho MORIYAMA, Tomoko KAWARA and Hisashi NISHIGAWA

(キーワード: トマト黄化葉巻病, TYLCV, トマト, 非虫媒性分離株, 防除効果)

*「トマト黄化葉巻病の防除に関する技術指針」(2009)

薬剤防除については、薬剤の感受性が低いタバコナジラミバイオタイプQがまん延してきていることや、一部の薬剤では効果が低下しているといった問題がある。

さらに、トマト黄化葉巻病は、日本のみならず世界的にも重要なエマージング病であるため (MORIONES and NAVAS-CASTILLO, 2000), 世界各国で抵抗性トマト品種の開発が試みられているが、いまだに本病に対する効果的な抵抗性遺伝子は見つかっていない (斎藤, 2006)。耐性遺伝子を導入した耐性品種が実用化されているものの、耐性品種はTYLCVが感染でき増殖する一方で、罹病していても症状が見えにくい。そのため、そのまま栽培され伝染源になることが指摘されていて (本多, 2006), 生産現場では新たな対策が求められている。

これらの問題点を解決すべく、本研究は、2012年度から2014年度にかけ、農林水産省の「農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業」として、宇都宮大学、ベルグアース(株)、熊本県、キッコマン(株)の4者で、タバコナジラミによって伝染(伝搬)されないTYLCVを接種した苗を利用したトマト黄化葉巻病の新規防除・まん延防止技術の実用化を目指して取り組んだ。

I 非虫媒性ウイルスを利用した防除法開発の発想

虫で伝搬しないことを非虫媒性という。非虫媒性TYLCV(以下17G分離株;特許WO2012/105696)は、弱毒ウイルス(ワクチン)の開発途中で偶然発見された。これまでも筆者ら(キッコマン(株))は、弱毒ウイルスを開発するには大量のウイルス感染株を圃場よりサンプリングし、自然界の中からよい分離株を選抜する方法を基本としてきた。日本国内のトマト圃場から多くのTYLCV分離株を収集し、選抜する中で、虫媒性の試験を行う機会があり、その過程でタバコナジラミに保

毒されるものの媒介されない(もしくは非常にされにくい)株が数分離株見つかった。そのうちの一つである17G分離株はあらかじめトマトに感染させておくと、後から虫媒性野生分離株を虫によって感染させようとしても感染しないことも明らかになった。

そこで、筆者らはこの17G分離株をトマト栽培現場で役立てないかを考えた。これまでキッコマングループ(日本デルモンテアグリ(株))では弱毒キュウリモザイクウイルス(以下、CMVワクチン)を開発し、家庭菜園トマト苗に予防接種する形で実用化し、年間数百万本を販売している。このCMVワクチンは1株単位で購入する家庭菜園苗で利用されているため、トマト1株ごとにウイルス防除効果が得られる。一方で、TYLCVのワクチンを開発する際、筆者らはトマト1株1株を守ることも重要であるが、前述の「入れない」「出さない」「増やさない」の対策のように、株単位ではなく、栽培地域単位で病害から守ることがより重要であると考えた。しかし、ワクチン接種苗は通常の苗より高価格になることが予想され、生産コストの増大により本ワクチン接種苗の普及が一部の農家にとどまれば地域全体の病害発生リスクの低減につながりにくい。そこで、ワクチン接種苗をハウス内の一部に定植する「障壁作物」として利用する防除方法を考案した。これにより、コストを抑えながら、本ワクチン接種苗を地域全体へ普及することで、一生産者のみならず地域全体での病気発生リスクの低減と、かつ栽培管理環境の改善も図れる。また17G分離株は弱毒株ではないが、本研究のように利用すれば十分農業上の効果を上げられるのではないかと考えた。

II 非虫媒性TYLCV分離株17Gの特性

筆者らは熊本県、三重県、千葉県等から545のTYLCV分離株を収集し、隔離室内で挿し木や接木をし

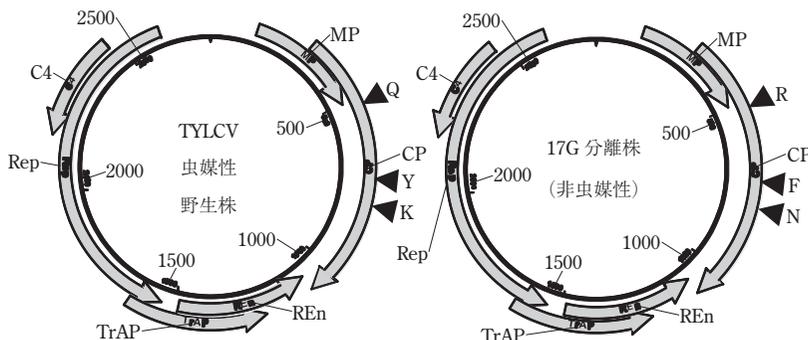


図-3 17G分離株のCP領域における非虫媒性にかかわる3アミノ酸の変異

Q; グルタミン Y; チロシン K; リシン

R; アルギニン F; フェニルアラニン N; アスパラギン。

ながら選抜してきた。そのうちいくつかの分離株のタバココナジラミによる虫媒性を検証したところ、二つの分離株が全く虫媒されず (=非虫媒)、1分離株がほとんど虫媒されなかった。日本では主に、イスラエル系統とイスラエルマイルド系統 (以下マイルド系統) の2系統のTYLCVが感染拡大している (UEDA et al., 2004) が、非虫媒株の一つ17G分離株はイスラエル系統で、宇都宮大学の解析ではその塩基配列のうち、外被タンパク質 (CP) をコードする遺伝子の3箇所のアミノ酸で、既報の虫媒性野生株と相違があり、この相違が虫媒性に関与していることが明らかになった (図-3)。17G分離株の非虫媒性は初めて確認されてから5年を経過しても変化がなく、経時変化の塩基配列解析でも当該3箇所には変異が見られなかったことから、17G分離株の非虫媒性は遺伝子レベルでも変異しにくい安定的なものと考えられる。

また、実験室内で行った干渉効果試験では、あらかじめ17G分離株を感染させたトマト株に大量の虫媒性野生株イスラエル系統を保毒したタバココナジラミを放っても、17G分離株感染トマトには虫媒性野生株イスラエル系統の感染が認められなかった。さらにその17G分離株感染トマト株に新たに無保毒のタバココナジラミを吸汁させ、虫媒試験を行っても、全くなにも伝搬されなかった。このことは、17G分離株が非虫媒性であることはもちろん、虫媒性野生株イスラエル系統の感染を阻害し、干渉効果があることを示していた。同様の試験を虫媒性野生株マイルド系統に対しても行ったところ、完全な干渉効果はないものの、虫媒性野生株マイルド系統の感染とその後の伝搬を抑制するような効果も確認できた。

III 17G分離株接種接木苗の生産

TYLCVは虫媒伝染による接種以外では、接木でしか新たな植物に感染させることができず、機械的接種の報告は得られていない。このため、本研究において、17G分離株を接種する方法は接木で行うことにした。ベルグアース (株) でいくつかの方法を検討した結果、通常の台木と穂木を接ぐ際に、穂木の本葉葉柄に17G分離株の感染した複葉を接ぐ「葉接ぎ法」を開発した (図-4)。葉接ぎ法では、①接木苗に使用する準備苗は105穴セルトレイ育成する、②穂木の本葉第2葉に接ぐ、③接木する葉柄では穂木の主軸からできる限り近い位置で接木する、④17G分離株感染複葉は緑色で若々しく柔らかいものを用いる、ことで17G分離株の接種感染率を限りなく100%に近づけ、製品率を高めることができた。



図-4 17G分離株を接種する「葉接ぎ」法

IV 17G分離株を用いた『障壁作物』の効果

熊本県農業研究センターにおいて、17G分離株感染のトマト株をハウス内の一部に定植する「障壁作物」として利用し、さらに物理的防除技術と化学的防除技術を組合せた防除体系でのトマト黄化葉巻病防除効果を検証した。すなわち、トマト黄化葉巻病の被害が大きい促成栽培作型の三連棟ハウスにおいて、ハウスサイドに展開した防虫ネットに隣接する畝に17G分離株接種トマトを「障壁作物」として植え、内部の畝には通常のトマト株 (感受性品種) を植えた。これにより、野外から侵入したTYLCV保毒タバココナジラミはハウス内部への移動が制限され、内部に植えた通常のトマト株の黄化葉巻病発病も抑制されるのではないかと考えた。なお障壁作物として17G分離株を接種するトマトの品種には、副作用の影響や収量性を検討した結果、耐性品種「豊作祈願」を使用することにした。試験区は三連棟ハウスを畝の向きと垂直方向に半分に区切り、ビニールで仕切った。そのうちの一方を17G区とし、ハウスサイドに展開する防虫ネットを、現在推奨されている目合い0.4mmではなく、0.8mmの粗いものにした。そのうえで、障壁作物 (17G分離株感染豊作祈願) は防虫ネットのすぐ横の畝に千鳥状に植え、障壁作物の定植時の草丈をその内側に定植する感受性品種「ハウス桃太郎」よりも高くし、かつ感受性品種よりも1週間程度早く定植した。もう一方の仕切られた区は対照区として、0.4mm目合い防虫ネットをハウスサイドに展開し、感受性品種のみを定植した (図-5, 図-6)。両区とも栽培管理は熊本県野菜耕種基準に準じた。試験は9~12月まで行い、定期的に調査とサンプリングを行った。また、両試験区とも薬剤散

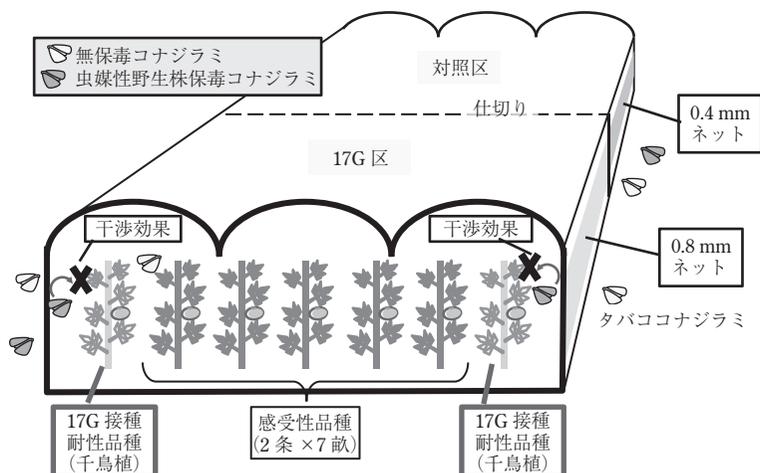


図-5 17G 分離株を接種したトマト苗を障壁作物として利用する概念図



図-6 実際の試験ハウスの様子
中央から右が障壁作物 (17G 感染株), 左が感受性ト
マト品種.

布は慣行で行った。

その結果、障壁作物を設けた 17G 区 (0.8 mm ネット) は対照区 (0.4 mm ネット) に比べ、タバココナジラミの侵入数が多く、1 葉当たりの虫数は障壁作物上で最も多かったが、ハウスの中心部に向かうほど次第に少なくなり、障壁作物がタバココナジラミのハウス内への移動を抑制していることが明らかとなった。ハウス内の黄色粘着板で補足したタバココナジラミは、対照区では虫媒性野生株保毒虫のみが検出されたのに対し、17G 区では 17G 分離株保毒タバココナジラミのみが検出され、障壁作物が虫媒性野生株のハウス中心部への拡大を抑制することを明らかにした (表-1)。さらに 17G 区と対照区の感受性トマト品種でのトマト黄化葉巻病の発病は同程度であった (表-2)。このように今回の三連棟ハウス試験

表-1 17G 区および対照区のタバココナジラミにおける 17G と虫媒性野生株の保毒虫数

	検定虫数	17G 保毒虫数 (%)	虫媒性保毒虫数 (%)
17G 区	71	9 (12.6)	0 (0)
対照区	43	0 (0)	2 (4.7)

2014 年 9 月 17 日～12 月 24 日の調査の総数。黄色粘着板に捕捉されたタバココナジラミを 1 頭ごとに調査した。

表-2 17G 区および対照区の感受性品種におけるトマト黄化葉巻病の発病株数

	調査株数	発病株数
17G 区	280	3
対照区	360	4

2014 年 9 月 18 日～12 月 26 日にほぼ 1 週間ごとに全株調査。発病株は調査終了後に抜き取り、PCR 法で確認した。

では、17G 分離株を用いた障壁作物と 0.8 mm 目合いの防虫ネットと併用すると、0.4 mm 目合いの防虫ネットを展張した慣行の防除対策と同等の防除効果が得られることが明らかとなった。障壁作物は防虫ネットに隣接した畝に植え付けるので、ハウス長が長いハウスで特に有効と考えられる。

おわりに

本研究では、圃場においても非虫媒分離株 17G には強い干渉効果があり、17G 分離株を用いた障壁作物の有

用性を明らかにした。最終的に、通常より粗い目合いの防虫ネットを使用し、17G分離株接種苗を障壁にすると、慣行防除の対照区よりも何倍ものタバコナジラミの侵入があったにもかかわらず、それらのハウス内部への移動を抑制し、黄化葉巻病の発病を抑える可能性があると考えられた。

一方で、本研究で開発した葉接ぎ法による接木接種では、通常の接木作業にもう1回接木しなければならないこと、数十万本程度の苗を生産することはできても百万本を超える苗を生産するには適していないことなどから、接種苗生産コストを圧縮することが難しい面がある。また接種源となるべき17G分離株の感染した親株を様々な病害から守りながら常時維持管理することにも注意を払う必要がある。今後もさらにいくつかの課題を解決しながら、安定的な接種苗生産システムを構築し、17G分離株接種トマト苗の生産に進んでいきたいと考えている。

トマト黄化葉巻病は、ウイルス病害の中でも特異的で、日本に上陸して以来、いくつかの防除対策にもかかわらず現在もお発生地域を拡大し続けている。タバコナジラミは1頭でも高確率でTYLCVを伝染させることができ、さらに薬剤の感受性が低く有効な薬剤が少ないタバコナジラミバイオタイプQが日本での占有率を高めてきている。トマト栽培地域ではトマト黄化葉巻病の脅威自体は一向に減少せず、現在も、農薬散布など

防除の手を少し緩めると黄化葉巻病が発生する環境にある。よって、全国のトマト栽培地域におけるTYLCVの存在濃度は一定量以上あると考えられ、トマト黄化葉巻病を減らすためには、TYLCVに感染した伝染源トマトを減らすことも重要である。

17G分離株を接種した障壁作物の利用は防虫ネットの目合いを0.4～0.8mmに広げてもトマト黄化葉巻病の発病率が慣行栽培と同程度で、かつハウス内の温度を少し下げることが明らかになり、黄化葉巻病を防除しながらハウス内での労働環境の改善が図れることも示唆された。

以上のことから、非虫媒性株を接種した苗を用いたトマト黄化葉巻病防除技術は、トマト黄化葉巻病が発生する全国のトマト生産地域において、作業環境が良好な条件下でトマト黄化葉巻病を防除するとともに、徐々にTYLCVの存在濃度を下げることが期待できると考えられる。さらにこの取り組みが広がることで、減農薬に貢献できる可能性があり、トマト栽培に対する消費者の安全・安心につながると信じている。

引用文献

- 1) 本多健一郎 (2006): 野菜茶業研究集報 (3): 115～122.
- 2) ————— (2010): 植物防疫 64 (10): 19～21.
- 3) MORIONES, E. and J. NAVAS-CASTILLO (2000): *Virus research* 71:123～134.
- 4) 斎藤 新 (2006): 野菜茶業研究集報 (3): 99～102.
- 5) UEDA, S. et al. (2004): *J. Gen. Plant Pathol.* 70: 232～238.
- 6) 野菜 IPM チーム (2009): トマト黄化葉巻病の防除に関する技術指針, 農研機構 野菜茶業研究所, 三重, p.1～3.