

# 抵抗性打破能を有するトマトモザイクウイルスの 近年の発生

農研機構中央農業研究センター 久保田 健 嗣

## はじめに

トマトモザイクウイルス (*Tomato mosaic virus*, 以下 ToMV) によるトマトのモザイク病は、1970 年代まで全国で発生して大きな問題となっていたが、近年は抵抗性品種の導入や消毒種子の普及等により発生は少ない。しかしながら、平成 23 年 (2011 年) ごろから、国内のトマト栽培施設において抵抗性品種を打破する能力をもつ ToMV による被害が相次いで報告された。本稿ではそれらの抵抗性打破ウイルスの発生事例と、海外における新種のトバモウウイルスの発生状況について紹介する。

## I トバモウウイルスと ToMV

ToMV は、タバコモザイクウイルス (TMV) と同じく *Virgaviridae* 科、*Tobamovirus* 属に分類される。国際ウイルス分類委員会 (ICTV) の分類ではトバモウウイルス属には現在 35 のウイルス種が登録されている (ICTV, 2015)。ナス科、ウリ科、アブラナ科等、農業上重要な作物で被害をもたらしているほか、近年ではハイビスカス、パッションフルーツ、サボテン等からも新たなトバモウウイルスが見つかっている。

トバモウウイルスは、1 本鎖 RNA をゲノムとし、RNA を外被タンパク質が取り囲むことで、長さ約 300 nm の棒状粒子を形成する。ウイルス粒子は感染植物体内で高濃度に蓄積し、粒子の物理的安定性も極めて高い。

このような性質から、圃場でいったん発生すると、摘心作業などにおいて汁液伝染により容易に感染が拡大する。また、感染植物残渣が土壌中に残ることによって長期にわたって残存し、次作に苗を定植した際に根部の傷口から感染する。種子伝染も起こすことが知られており、その割合はウイルス種と宿主の組合せによって差異はあるものの、トマトと ToMV の組合せでは 16.7% と (SASTRY, 2013)、かなり高い頻度で起こることが報告されている。

ToMV は、トバモウウイルスの中での遺伝子系統分類上

は、TMV やトウガラシ微斑ウイルス等、ナス科を宿主とするトバモウウイルスと同じサブグループを形成する (GIBBS, 1999; HEINZE et al., 2006)。

ToMV は世界中に広く分布しており、ToMV により被害が発生する作物はトマトが主であるが、ナス科で栄養繁殖するペチュニアからも頻繁に検出され (COHEN et al., 1999)、モクセイ科のジャスミンでも ToMV による被害が報告されている (FILLMER et al., 2015 b)。

## II トマトのトバモウウイルス抵抗性遺伝子と打破株

ToMV が感染してモザイク病となったトマトには、葉のモザイク症状や細葉奇形が現れる。また、着果が不良となるとともに、着果した果実も茶色の着色や内部汚斑が生じるため、品質が大きく低下してしまう。

日本国内における ToMV によるトマトのモザイク病の発生はすでに戦前から報告されており、1960 年代までは全国で広く発生していたようである (小室ら, 1966)。しかし 1970 年代に入ってから抵抗性品種が普及しはじめるとともに、徐々に発生はおさまり、現在では発生は散発的なものにとどまっている。2015 年版の野菜品種名鑑によれば、掲載されている 597 のトマト品種のうち半数弱には、トバモウウイルス (ToMV) に対する抵抗性が付与されている (日本種苗協会, 2015)。

トマト品種に導入されているトバモウウイルス抵抗性遺伝子は、*Tm-1*、*Tm-2* および *Tm-2<sup>a</sup>* の三つである (*Tm-2<sup>a</sup>* は *Tm-2<sup>2</sup>* と呼ばれる) (PELHAM, 1966; HALL, 1980)。

ただし病原体と宿主がもつ抵抗性の関係の常として、これらの抵抗性遺伝子も万能ではなく、抵抗性を打破する能力をもったウイルス株の発生は常に問題となる。

ToMV のゲノム RNA はおよそ 6,383 塩基からなり、そこには四つの遺伝子 (タンパク質) がコードされている (図-1 a)。これらのうち 130 K/180 K タンパク質はウイルス RNA の複製に関与し、移行タンパク質 (movement protein, MP) は複製したウイルス RNA が感染細胞から隣の細胞に移行するために必要である。外被タンパク質 (coat protein, CP) は、ウイルス RNA を取り囲んでウイルス粒子を形成する。

抵抗性遺伝子 *Tm-1* がコードするタンパク質は、130 K/180 K に直接結合することにより、ウイルスの複

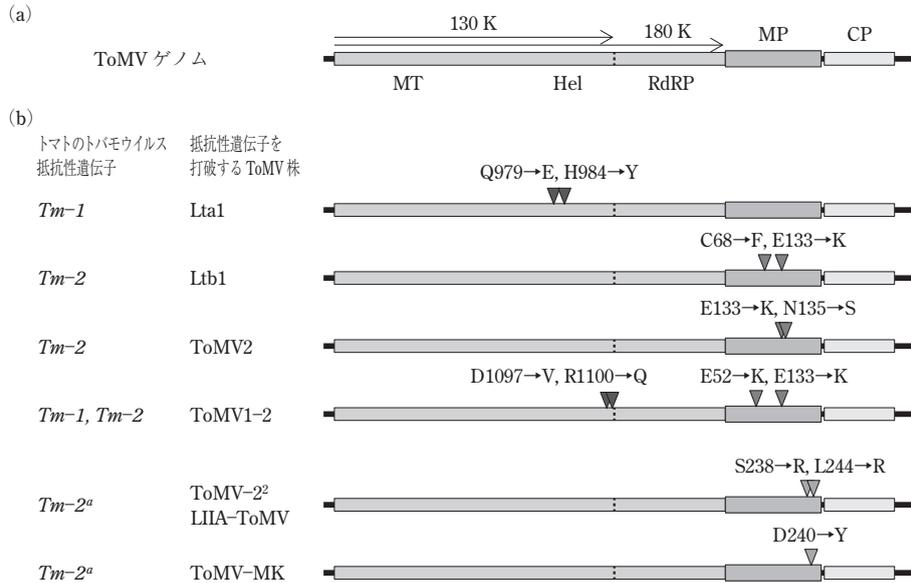


図-1 (a) トマトモザイクウイルス (ToMV) ゲノムの遺伝子構造. 130 K と 180 K は複製酵素, MP は移行タンパク質, CP は外被タンパク質. 130 K/180 K タンパク質の, MT はメチルトランスフェラーゼドメイン, Hel はヘリカーゼ様ドメイン, RdRP は RNA 依存 RNA ポリメラーゼドメイン. (b) ToMV の抵抗性遺伝子打破株と, ゲノム中に存在する打破に関与するアミノ酸置換変異.

製を阻害する。一方, *Tm-2* と *Tm-2<sup>a</sup>* は, MP を認識することで, 細胞死を誘導すると考えられている (ISHIBASHI et al., 2007; KOBAYASHI et al., 2011)。これらの抵抗性遺伝子を打破できない ToMV 株と, 打破できる ToMV 株との遺伝子配列を比較することにより, どのような遺伝子変異がおれば抵抗性打破能を獲得することができるかが明らかとなっている (図-1 b)。

すなわち, *Tm-1* 打破株 (Lta1) では, 130 K/180 K のヘリカーゼ様ドメイン (HEL) と呼ばれる領域の特定のアミノ酸残基が 1~2 箇所と異なっており, これらの変異が打破能に必要である (MESHI et al., 1988)。一方, *Tm-2* 打破系統 (Ltb1, ToMV2) では MP の中央領域に変異が存在し, (MESHI et al., 1989; STRASSER and PFITZNER, 2007), *Tm-2<sup>a</sup>* 打破系統 (ToMV-2<sup>2</sup>, LIIA-ToMV, ToMV-MK) では同じく MP の C 末端領域に変異が認められた (CALDER and PALUKAITIS, 1992; WEBER et al., 1993; PARRELLA and VOVLAS, 2002)。また, *Tm-1* と *Tm-2* の両方を打破できる ToMV1-2 では, 130K/180K と MP のそれぞれに該当する変異を有している (STRASSER and PFITZNER, 2007)。

これらの抵抗性遺伝子のうち, *Tm-1* と *Tm-2* は比較的打破株が出現しやすいのに対して, *Tm-2<sup>a</sup>* を打破する株は比較的出現しにくく, 特に *Tm-2<sup>a</sup>* をホモで保有するトマト品種を打破できる系統の出現は世界的に見ても数例しか知られていない。したがって, 現在国内外で

利用されているトバモウイルス抵抗性トマトは, *Tm-2<sup>a</sup>* 型品種が主流となっている (HALL, 1980)。

### III 国内における近年の打破系統発生事例

以下, 2011~14年に国内で相次いで発生した *Tm-2<sup>a</sup>* 型品種を打破する ToMV 株の事例を見ていきたい。

#### 1 栃木県の発生事例

2011年5月, 栃木県の施設で栽培されていた *Tm-2<sup>a</sup>* をもつトマト品種において, 葉にえそ症状が現れ, 症状がひどくなると枯死寸前にまで至る事例が生じた。原因を調査したところ, 遺伝子診断により ToMV の感染が認められ, このウイルスを接種した *Tm-2<sup>a</sup>* 品種にも全身感染してえそを呈することが示された。ただし後述する他県の *Tm-2<sup>a</sup>* 打破系統と異なり, 果実のえそ症状は引き起こさなかったということである (栃木県, 2011)。

#### 2 福岡県の発生事例

2012年12月ごろから, 福岡県の *Tm-2<sup>a</sup>* を保有する施設栽培トマトにおいて, 葉のモザイク, 退緑斑, 茎の空洞化, 株の萎凋, 果実えそ等の症状が発生し, RT-PCR 法などで検定した結果, ToMV が感染していることが確認された (福岡県, 2013)。さらに, 単病斑分離して得られた分離株を *Tm-2<sup>a</sup>* を保有する一連の市販品種に接種したところ, 6品種中5品種に全身感染し, えそ斑点またはモザイクが再現され, 少なくとも *Tm-2<sup>a</sup>* がヘテロで

あれば打破する能力があると判断された。しかし *Tm-1* を打破する能力はないものと推定された(大貫ら, 2014)。

### 3 広島県の発生事例

2012年11月、広島県内の施設栽培(養液栽培)の抵抗性を有さないトマト品種において、葉のモザイク、糸葉、果実えそを呈する病害が発生し、ToMVの感染が認められた(広島県, 2013)。また、このとき採取したToMVを市販の *Tm-2a* 型品種に接種したところ、全身感染したことから、抵抗性打破能をもつことを疑い、我々はより詳細に解析することとした。

まず、このToMVを単病斑分離を3回繰り返して分離株とし、抵抗性をもたないトマトまたはタバコで増殖した感染葉粗汁液を接種源とした。抵抗性打破能の解析のため、トマトの検定品種 GCR237 (*Tm-1/Tm-1*)、GCR526 (*Tm-2/Tm-2*)、GCR267 (*Tm-2<sup>a</sup>/Tm-2<sup>a</sup>*) および抵抗性遺伝子をもたない GCR26 (+/+) に接種した。これらに加え、*Tm-1* または *Tm-2<sup>a</sup>* をヘテロにもつ市販品種にも接種し、その後の病徴を観察した。

抵抗性をもたない GCR26 では、モザイクとともに強烈な糸葉症状を生じた。*Tm-1* をホモにもつ GCR237 およびヘテロの市販品種では、いずれの分離株も全身感染し、モザイクを生じたが、糸葉にはならなかった。GCR526 (*Tm-2/Tm-2*) および GCR267 (*Tm-2<sup>a</sup>/Tm-2<sup>a</sup>*) では上位葉には無病徴であり、打破できないと判断された。しかし、*Tm-2<sup>a</sup>* をヘテロで保有する市販品種には、分離株によっては全身感染して上位葉にえそを生じるものが現れた。以上の結果から、広島の株は *Tm-1* (ヘテロおよびホモ) と *Tm-2<sup>a</sup>* (ヘテロ) を打破する能力があることが明らかとなった(久保田ら, 2013; 2015)。

### 4 岐阜県の発生事例

2014年6月に、岐阜県の施設栽培トマトにおいて、*Tm-2<sup>a</sup>* を保有する品種の茎、葉のえそ、果実の着色不良やえそ症状が認められ、ToMVの感染が確認された(岐阜県, 2014)。

そこで我々は広島株と同様に分離株を作製し、検定品種および市販品種への接種試験を行ったところ、*Tm-1* ホモの GCR237 では接種した個体の一部でモザイクとなるものがあり、ヘテロの市販品種は接種個体すべてでモザイクとなった。また、*Tm-2* ホモの GCR236、GCR526 にも接種上位葉にえそ症状を引き起こしながら全身感染した。*Tm-2<sup>a</sup>* に対しては、ヘテロの市販品種には同様に抵抗性を打破し、上位葉のえそを生じたが、ホモである GCR267 には上位葉に感染せず、抵抗性は打破されなかった(久保田ら, 2015)。したがって岐阜の株は三つの抵抗性遺伝子を同時に打破する能力を有していた。

### 5 茨城県の発生事例

ほぼ同時期の2014年7月、茨城県の中玉トマト栽培施設において、圃場の大部分に葉のモザイクやえそを生じたり、生長点が萎縮する症状が発生した。この品種は *Tm-2<sup>a</sup>* 保有品種であったため同様に抵抗性打破能を調査したところ、*Tm-1* に対してはホモ、ヘテロ品種ともに完全に打破してモザイクとなった。*Tm-2<sup>a</sup>* ヘテロ品種でも上位葉えそを生じたが、岐阜県、広島県の株と比較して、生長点部分の萎縮が顕著であった。*Tm-2* または *Tm-2<sup>a</sup>* がホモであれば打破されなかった。

## IV 打破ウイルスの由来と打破能の獲得

2011~14年にかけて *Tm-2<sup>a</sup>* 型品種を打破する系統が相次いで発生した理由は明らかではないが、それらの由来が同一である可能性を想定し、ウイルスの塩基配列の解析からその可能性を探った。広島県、茨城県および岐阜県での発生株(単一病斑分離前の株)の全長塩基配列を決定し、データベース上に登録されているToMV株と比較したところ、3株とも登録されているToMV株と99%以上の配列類似性を示したが、特に一致する配列は見いだされなかった。また、国内で相次いで発生したこれら3株同士が遺伝的に近縁というわけでもなかったことから、それぞれの由来は異なると推測され、同一由来の打破系統が国内に入ってから拡散したというシナリオは否定されたと考えている。しかしこのことは、打破株の発生または侵入経路が複数あるということを示唆しており、発生を予防するために警戒すべきポイントが多いと考えられる。

また、これらの株が抵抗性打破能を獲得した原因については、遺伝子配列の解析から、一部は既報の変異と同様であることを明らかにしているが、そうでないものもあり、今後より詳細に解析する予定である。

## V 発生後の対策と予防

発生圃場でのその後の対策として、広島県での養液栽培圃場では養液槽の洗浄と消毒、岐阜県と茨城県においては残渣の持ち出し、土壌腐熟促進や資材の消毒、さらに2年間トマトを作付けしない等の対策を行っており、これらの産地では次作での発生や近隣圃場への拡大は起きていない。また幸いに、2015年以降は国内の他の地域でも *Tm-2<sup>a</sup>* 打破株の発生は報告されていない。

ToMVは、トマト黄化葉巻ウイルス(TYLCV)などと違って、媒介虫が関与するわけではないため、人為的にウイルスに感染した苗や汚染された器具を圃場に持ち込まないことが、発生を予防するための最大のカギとなる。

栽培圃場では、はさみなどを畝ごとに使い分け、摘心や収穫の管理作業を行う際は、作業方向を常に一定にしておくことで、感染拡大を最小限に食い止めることができる。

発生してしまった圃場では、次作での再発を防ぐため、可能であれば1作はトマトを栽培しないことが望ましい。そうでない場合は、植物残渣を地下部の根を含めてできるだけ取り除く。同じトバモウイルスであるキュウリ緑斑モザイクウイルス (KGMMV) の対策として宮崎県が中心となって開発した栽培マニュアルでは、ウイルス粒子を含む感染根の分解を促進するため、圃場に牛糞堆肥等有機質資材を投入し、適切な湿度に保ちつつ耕うんすることや、古株を短期間で枯死させるために、カーバマナトリウム塩剤 (商品名: キルパー) の土壌への散布または灌水を有効としており (宮崎県総合農業試験場, 2014), トマトにおいても ToMV の分解促進技術として応用できる可能性がある。

## VI トマトに感染する新種トバモウイルス

ToMV は世界的に、トマトを栽培している地域のどこでも古くから発生しているが、近年はトマトやナス科作物において ToMV 以外の新種のトバモウイルスの発見と短期間での各地への発生拡大が報告されている。

*Tomato mottle mosaic virus* (ToMMV) は、2009年にメキシコの温室トマトから発見された新種トバモウイルスであるが (Li et al., 2013), その後2010年にフロリダ、2013年にはニューヨークのトマトにも発生した (WEBSTER et al., 2014; FILLMER et al., 2015 a; PADMANABHAN et al., 2015)。同じく2013年には中国のトウガラシでも発生したほか (Li et al., 2014), さらに2014年にはイスラエル北部、2015年にはスペインのトマトにおいても発生した (TURINA et al., 2016; AMBRÓS et al., 2016)。

また、2015年にヨルダンの温室栽培トマトにおいて、果実に著しい褐変や奇形を引き起こす新種トバモウイルスの *Tomato brown rugose fruit virus* が発生している (SALEM et al., 2016)。

漢方薬の原料となるジオウ (地黄) に感染するトバモウイルス *Rehmannia mosaic virus* (ジオウモザイクウイルス, ReMV) が2003年以降中国、台湾、韓国で発生しているが、2010年には日本国内のトウガラシで大きな被害をもたらした、トマトにも全身感染することが明らかとなっている (KUBOTA et al., 2012)。

## おわりに

海外から国内への種苗の輸入は今後も増大すると考え

られ、ToMV や海外発生のトバモウイルスの侵入に備え種苗からの検出技術を用意する必要があると思われる。

また、新種トバモウイルスがトマトの抵抗性遺伝子を打破したとの報告はないが、トマトでの発生が拡大すれば ToMV のように打破株が出現する可能性は十分考えられる。

抵抗性遺伝子の利用に関して、*Tm-1*, *Tm-2*, *Tm-2<sup>a</sup>* は、高温になるほど打破されやすくなることから (CIRULLI and CICCARESE, 1975; FRASER and LOUGHLIN, 1982), 温暖化が進むと抵抗性が十分発揮されず、被害が拡大する可能性にも注意しておくべきであろう。

## 引用文献

- 1) AMBRÓS, S. et al. (2016): bioRxiv (doi: <http://dx.doi.org/10.1101/063255>)
- 2) CALDER, V. L. and P. PALUKAITIS (1992): J. Gen. Virol. **73**: 165 ~ 168.
- 3) CIRULLI, M. and F. CICCARESE (1975): Phytopath. Medit. **14**: 100 ~ 105.
- 4) COHEN, J. et al. (1999): HortScience. **34**: 292 ~ 293.
- 5) FILLMER, K. et al. (2015 a): Genome Announc. **3**: e00167-15.
- 6) ——— et al. (2015 b): ibid. **3**: c00706-15.
- 7) FRASER, R. S. S. and S. A. R. LOUGHLIN (1982): Physiol. Plant Pathol. **20**: 109 ~ 117.
- 8) 福岡県 (2013): 平成25年度病害虫発生予察情報 特殊報 第2号.
- 9) GIBBS, A. (1999): Phil. Trans. R. Soc. Land. B **354**: 593 ~ 602.
- 10) 岐阜県 (2014): 平成26年度病害虫発生予察情報 特殊報 第1号.
- 11) HALL, T. J. (1980): Euphytica **29**: 189 ~ 197.
- 12) HEINZE, C. et al. (2006): Arch. Virol. **151**: 763 ~ 774.
- 13) 広島県 (2013): 平成25年度病害虫発生予察情報 特殊報 第2号.
- 14) ICTV. (2015): Virus Taxonomy: 2015 Release, <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp> (2016年10月25日アクセス確認)
- 15) ISHIBASHI, K. et al. (2007): Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **104**: 13833 ~ 13838.
- 16) KOBAYASHI, M. et al. (2011): J. Plant Phys. **168**: 1142 ~ 1145.
- 17) 小室康雄ら (1966): 日植病報 **32**: 130 ~ 137.
- 18) KUBOTA, K. et al. (2012): J. Gen. Plant Pathol. **78**: 43 ~ 48.
- 19) 久保田健嗣ら (2013): 日植病報 **80**: 17 ~ 18 (講要).
- 20) ———ら (2015): 同上 **81**: 273 (講要).
- 21) Li, R. et al. (2013): Genome Announc. **1**: e00794-13.
- 22) Li, Y. et al. (2014): Plant Dis. **98**: 1447.
- 23) MESH, T. et al. (1988): EMBO J. **7**: 1575 ~ 1581.
- 24) ——— et al. (1989): Plant Cell **1**: 515 ~ 522.
- 25) 宮崎県総合農業試験場 (編) (2014): 宮崎県のキュウリ産地のための脱臭化メチル栽培マニュアル (改訂版), (独) 農研機構 中央農業総合センター, つくば.
- 26) 日本種苗協会 (編) (2015): 野菜品種名鑑 (2015年版), 日本種苗協会, 東京.
- 27) 大貫正俊ら (2014): 日植病報 **80**: 76 ~ 77 (講要).
- 28) PADMANABHAN, C. et al. (2015): Genome Announc. **3**: e01523-15.
- 29) PARRILLA, G. and C. VOVLAS (2002): J. Plant Pathol. **84**: 189.
- 30) PELHAM, J. (1966): Euphytica. **15**: 258 ~ 267.
- 31) SALEM, N. et al. (2016): Arch. Virol. **161**: 503 ~ 506.
- 32) SASTRY, K. S. (2013): Seed-borne plant virus diseases, Springer India, New Delhi.
- 33) STRASSER, M. and A. J. P. PFITZNER (2007): Arch. Virol. **152**: 903 ~ 914.
- 34) 栃木県 (2011): 平成23年度病害虫発生予察情報 特殊報 第1号.
- 35) TURINA, M. et al. (2016): Nes Disease Reports. **33**: 1. (<http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2016.033.001>)
- 36) WEBER, H. et al. (1993): J. Virol. **67**: 6432 ~ 6438.
- 37) WEBSTER, C. G. et al. (2014): Plant Health Progress. **15**: 151 ~ 152.