

トマト退緑萎縮病病原ウイルスの 宿主範囲等の諸性質

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

トマト退緑萎縮病は、トマト退緑萎縮ウイルス (*Tomato chlorotic dwarf viroid*; TCDVd) の感染によって引き起こされる。その病徴は、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である。TCDVd は 1999 年にカナダで初めて発見され、その後、アメリカやインド、イギリス等から報告が続き、我が国では 2006 年に初めてトマトで確認された (MATSUSHITA et al., 2008)。

本ウイルスは *Potato spindle tuber viroid* (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、我が国では植物防疫上の輸入検疫有害菌として特定重要病害の一つに指定されており、ジャガイモに感染すると塊茎収量の減少や奇形化を引き起こす。TCDVd の RNA の塩基配列は PSTVd のそれと 85~89% の高い相同性を示すが、塩基配列上に特徴的な可変領域を有することなどが考慮され、TCDVd は PSTVd とは別種として位置付けられた (SINGH et al., 1999)。これまでの発生経緯や病徴、検定方法については筆者らの先の総説を参考にされたい (松下・津田, 2008)。本稿では、宿主範囲や耐熱性など物理的諸性質について、最近明らかになった TCDVd の特性を紹介する (MATSUSHITA et al., 2009)。

I TCDVd の宿主範囲

一般的に、植物病原性ウイルスの土壌伝染や媒介生物の報告は皆無に近く、主な伝染手段は汁液伝染や種子伝染とされている。TCDVd も、他のウイルス同様ハサミなどの器具による栽培管理作業で容易に伝染拡大する。したがって、トマトにおける TCDVd の発生を未然に防ぐためには、本ウイルスの宿主植物を明らかにし、トマト栽培圃場において潜在的感染が疑わしい宿主植物との混植を極力避ける必要がある。

Host Range and Properties of Tomato Chlorotic Dwarf Viroid.
By Yosuke MATSUSHITA and Shinya TSUDA

(キーワード: トマト退緑萎縮ウイルス, 宿主範囲, 耐熱性, 耐希釈性)

TCDVd の宿主範囲を調査するために、本ウイルスに感染したトマトの葉をリン酸緩衝液で磨砕し、各種植物にカーボランダムで機械的に接種した。その後、接種植物の発症経過を観察するとともに RT-PCR で感染の有無を調べた。接種植物種は 12 科 30 種 (キョウチクトウ科, アブラナ科, ツルナ科, ヒユ科, アカザ科, キク科, ウリ科, マメ科, リンドウ科, ゴマ科, ナス科, クマツヅラ科) を用いた。TCDVd の RT-PCR 検定は松下・津田 (2008) の方法に従った。その結果、TCDVd はほとんどのナス科と一部のキク科で全身感染し、その他の接種植物では感染しなかった (表-1)。ナス科では、*Datura metel* を除くすべての接種植物で感染したが、感染植物ではトマトと *Nicotiana glutinosa* のみで発症し、その他は無病徴感染であった。また、キク科ではシエンギクとノースポールで感染が確認されたがほとんどのナス科と同様に無病徴であった。文献上では上記の宿主植物以外に、バーベナやキョウチクトウ科のヒメツルニチニチソウ (*Vinca minor*) が TCDVd の宿主植物であると報告されている (SINGH et al., 2006; 2009)。実際に、TCDVd はアメリカ (2007)、イギリス (2008)、フィンランド (2009)、チェコ (2008) においてベチュニアから、インド (2006) ではバーベナから検出されているが、それら植物ではいずれも無病徴感染である。このような、潜在的感染リスクの高い無病徴植物の流通が TCDVd の世界的な広域拡散に連携していると懸念される。

II TCDVd の物理的性質

一般的にウイルスは熱に対して安定であり、例えば、ホップわい化ウイルス (*Hop stunt viroid*; HSVd) の耐熱性は 84℃ 以下であることが報告されている (佐々木・四方, 1978)。このようなウイルスの物理的性質に関する情報は、ウイルスに感染した植物体や付着した資材等の処理など実際の農業現場におけるウイルス病対策の立案に欠かせない。そこで、TCDVd についてもその感染性を失活させるために必要な物理的条件を調査した。本実験では、TCDVd に感染したトマト葉の磨砕液に各処理を施し、その汁液を健全トマトに接種して病徴観察と RT-PCR による検定で評価した。

表-1 TCDVdの宿主植物域

接種植物種	感染	病徴
キク科		
アゲラタム	— a)	
ゴボウ	— a)	
シュンギク	+ a)	— a)
キク	— a)	
ヒマワリ	— a)	
レタス	— a)	
ノースポール	+ a)	— a)
キョウチクトウ科		
ヒメツルニチニチソウ	+ b)	— b)
クマツヅラ科		
バーベナ	+ c)	— c)
ナス科		
ピーマン	+ a)	— a)
チョウセンアサガオ	— a, d)	
シロバナヨウシュチョウセンアサガオ	+ a)	— a)
		+ a, d) (上位葉の退緑, 黄化, 植物体全体の萎縮症状)
トマト	+ a, d)	
オオセンナリ	+ a, d)	— a, d)
<i>Nicotiana benthamiana</i>	+ a)	— a)
<i>N. clevelandii</i>	+ a)	— a)
<i>N. debneyi</i>	+ d)	— d)
<i>N. glutinosa</i>	+ a, d)	+ a, d) (花卉の斑入り)
<i>N. occidentalis</i>	+ a)	— a)
<i>N. physaloides</i>	+ d)	— d)
<i>N. rustica</i>	+ a)	— a)
タバコ ‘サムスン’	+ a)	— a)
タバコ ‘キサンチ’	+ a)	— a)
<i>Physalis floridana</i>	+ a)	— a)
ベチュニア	+ a)	— a)
ワルナスビ	+ a)	— a)
ナス	+ a)	— a)
ツノナス	+ a)	— a)
イヌホウズキ	+ a)	— a)

a) MATSUSHITA et al. (2009), b) SINGH et al. (2008), c) SINGH et al. (2006), d) SINGH et al. (1999).

(1) TCDVdの耐熱性・耐希釈性

まず初めにTCDVdの耐熱性を調査した。感染磨砕液を100℃で各10, 20, 30, 40分間煮沸処理し、その後の感染性を検定した。その結果、TCDVd磨砕液は100℃で10～30分煮沸処理してもその感染性を有しており、本ウイロイドの感染性を失活させるためには100℃で40分間以上の処理が必要であることがわかった(表-2)。次に、TCDVdの希釈限界を調べるため、感染磨砕液を10～10⁷倍まで段階的に希釈し、それら希釈

表-2 TCDVdの耐熱性

処理時間 ^{a)} (分)	発病個体数/供試個体数
無処理	9/9
10	4/9
20	1/9
30	1/9
40	0/9

a) 100℃での処理時間。

表-3 TCDVdの耐希釈性

接種源の希釈系列 ^{a)}	発病個体数/供試個体数
10 ⁻¹	8/8
10 ⁻²	7/8
10 ⁻³	5/8
10 ⁻⁴	5/8
10 ⁻⁵	2/8
10 ⁻⁶	0/8
10 ⁻⁷	0/8

a) リン酸緩衝液 (pH7.0) で希釈。

表-4 感染トマトの磨砕液中におけるTCDVdの耐保存性・保存期間

保存期間 ^{a)} (日)	発病個体数/供試個体数
0	3/3
1	1/3
2	1/3
3	2/3
4	0/3

a) TCDVd感染液をリン酸緩衝液で磨砕し、その磨砕液を室温で静置。

液を健全トマトに各々接種した。その結果、10,000, 100,000倍の極めて低い磨砕液でもTCDVdの感染性が残存していることが判明した(表-3)。HSVdの耐熱性が84℃、耐希釈性が10⁻³～10⁻⁴であるが、TCDVdはそれ以上に高い耐熱性や耐希釈性を有していることが明らかになった。

(2) TCDVdの保存性・耐乾燥性

TCDVdの感染磨砕液は高い耐熱性や耐希釈性を有しているが、一方、室温で1～2日程度放置することで感染性は失われた(表-4)。そこで、感染磨砕液を-75℃で真空凍結乾燥させ室温で保存することで、本ウイロイドの耐乾燥性を調査した。その結果、少なくとも室温保存50日まで感染性を示した(表-5)。以上の結果は、

表-5 乾燥状態における TCDVd の保存性

保存期間 ^{a)} (日)	発病個体数/供試個体数
0	3/3
1	2/3
3	1/3
5	2/3
20	3/3
30	3/3
40	3/3
50	3/3

^{a)} TCDVd 感染葉をリン酸緩衝液で磨碎し、-75℃で凍結乾燥したのちに真空乾燥器で1夜乾燥した。接種試験に際して蒸留水を加えて再溶解後に接種した。

磨碎液の状態では植物組織液中の RNase などのリボ核酸分解酵素の影響でウイルスの感染性が短期間で失われるが、一方、乾燥状態ではこれらの酵素などの影響が及ばないために感染性が保たれるのであろうと考えられた。TCDVd に限らず多くのウイルスは乾燥状態では非常に安定していることから、植物の乾燥残渣やウイルス感染植物汁液等が付着した資材や手袋、ハサミ等の取り扱いには十分な注意が必要であることが示唆される。そこで、圃場での管理作業を想定し、ハサミなどの栽培管理器具に付着した TCDVd の感染性の維持期間を調査した。

カミソリなどの採果器具で感染トマトの茎に20回切り込みを入れ、その汁液が付着した器具を試験日数分用意した。それらを室温で放置して、一定日数経過ごとに健全トマトに切り付け接種を行った。その結果、少なくとも1週間放置した器具でも感染性を示した(表-6)。PSTVd (MANZER et al., 1961) や *Citrus exocortis viroid* (BARBOSA et al., 2005) においても、汚染された刃物やその他の器具によって健全植物へ容易に伝染することが知られており、同様に TCDVd もそれら管理器具による接触で容易に伝染拡大することが明らかとなった。

ちなみに、感染葉を乾燥せずに-75℃で凍結保存した試料でも、少なくとも50日までは感染性を維持していた(データ省略)。

おわりに

本病原体の主な伝播様式は機械的伝染などの物理的接触である。本病害の防除対策はこれらのことを考慮して、ハサミ類など栽培管理器具の使用後はていねいに洗

表-6 TCDVd 感染トマトの汁液が付着したカミソリを室温乾燥状態で保存した場合の感染性

経過日数 ^{a)}	病徴判定
0	2/2
1	2/2
2	2/2
3	2/2
4	2/2
7	2/2

^{a)} 罹病トマトの茎を20回切りつけたカミソリを室温に放置し、毎日カミソリを取り換えて健全トマトの茎を20回切りつけ接種した。

浄するなどの圃場衛生を保つことが有効であると考えられる。最近の我々の研究では、本ウイルスの器具消毒には1~2%程度の次亜塩素酸溶液が効果的であることがわかってきた(未発表)。

TCDVd の宿主植物で無病徴感染するペチュニアやバーベナ等の園芸植物は同一圃場内での混植・栽培等は極力避けることが望ましい。やむを得ず混植する場合にはこれら潜在的感染植物からの万が一の伝染を防ぐため、剪定器具などは植物種それぞれに用意するべきであろう。また、ワルナスビなどのナス科雑草も宿主植物になることから、圃場周辺の衛生管理対策も重要である。TCDVd がいったん発生した場合には、本ウイルスが高い耐熱性や耐乾燥性を有することから、発生株は速やかに圃場外で埋没処分し、圃場内の残渣は確実に取り除く。さらに、TCDVd は非常に低濃度でも感染することから、摘芽・誘引・収穫等の管理作業時には手袋やハサミを定期的に交換することや消毒することを心がけたい。

TCDVd が種子伝染したとの報告は海外で1件だけあるが(SINGH et al., 2008)、我々の研究室では高濃度に感染したトマト種子からでも発芽幼苗への種子伝染は認められなかった(未発表)。国外でも本ウイルスの種子伝染はほとんど認められていない(私信)。もし種子伝染するとしてもその確率は相当に低いことが予想される。

一方、我々の研究では、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 が伝染した(MATSUURA et al., 2009)。これは、TCDVd が受粉用マルハナバチで媒介されることを証明した結果となった。したがって、本ウイルスがいったん発生した圃場では、被害の拡大を防止するため結果に

マルハナバチを利用することを中止し、ホルモン剤などの使用へ転換すべきであることを示唆している。

我が国の園芸作物におけるウイルス病の発生はごく最近の出来事である。しかしながら、国際的な農産物の流通拡大や食材の外国依存度が高くなってきている今日においては、国内圃場でいつ発生してもおかしくない状況にある。現に、本研究を展開している最中に、輸入検疫有害菌に指定されている 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)。植物防疫に携わる行政・研究の多くの職員には、極めて高いリスク管理が求められる予断を許さない時代に突入した。

最後に、本稿の執筆に際し、多くの助言をいただいた佐野輝男氏(弘前大学)、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、清水佐知子氏(広島県総合技術研究所)、小塚玲子氏(千

葉県農業総合研究センター)、宇村富雄氏(中央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(課題番号1976:国内初のトマトウイルス病に対応した診断・防除技術の新規の開発)」により得られたものである。

引用文献

- 1) BARBOSA, C. J. et al. (2005): *Plant Dis.* **89**: 749 ~ 754.
- 2) 福島県 (2009): 平成 21 年度病害虫発生予察特殊報, 第 1 号.
- 3) MANZER, F. E. et al. (1961): *Am. Potato J.* **38**: 346 ~ 352.
- 4) 松下陽介・津田新哉 (2008): *植物防疫* **62**: 461 ~ 464.
- 5) MATSUSHITA, Y. et al. (2008): *J. Gen. Plant Pathol.* **74**: 182 ~ 184.
- 6) ——— et al. (2009): *Eur. J. Plant Pathol.* **124**: 349 ~ 352.
- 7) MATSUURA, S. et al. (2009): *ibid.*: 10.1007/s10658-009-9515-2.
- 8) 佐々木真津生・四方英四郎 (1978): *日植病報* **44**: 570 ~ 577.
- 9) SINGH, R. P. et al. (1999): *J. Gen. Virol.* **80**: 2823 ~ 2828.
- 10) ——— et al. (2006): *Plant Dis.* **90**: 1457.
- 11) ——— et al. (2008): *Eur. J. Plant Pathol.* **123**: 111 ~ 116.

(新しく登録された農薬 18 ページからの続き)

茶: チャノコカクモンハマキ, チャハマキ, ヨモギエダシヤク: 摘採 14 日前まで

たばこ: ヨトウムシ: 収穫 10 日前まで

きく: ミナミキイロアザミウマ, シロイチモジヨトウ: 発生初期

宿根かすみそう: シロイチモジヨトウ: 発生初期

● 燐酸第二鉄粒剤

22511: MIC ナメクジ退治 (エムシー緑化)

燐酸第二鉄水和物: 0.98%

ナメクジ類, カタツムリ類が加害する農作物等(温室, ハウス, 圃場, 花壇): ナメクジ類, カタツムリ類: —

● インドキサカルブ MP 水和剤

22518: MIC トルネードフロアブル (三井化学アグロ)

インドキサカルブ MP: 10.0%

キャベツ: コナガ, アオムシ, ヨトウムシ, ハスモンヨトウ, タマナギンウワバ, ハイマダラノメイガ: 収穫 7 日前まで

はくさい: コナガ, アオムシ, ヨトウムシ: 収穫 7 日前まで

だいこん: コナガ, アオムシ, ヨトウムシ: 収穫 21 日前まで

ブロッコリー: コナガ, アオムシ: 収穫 14 日前まで

ねぎ: シロイチモジヨトウ: 収穫 14 日前まで

いちご: ハスモンヨトウ: 収穫前日まで

なす: ハスモンヨトウ, オオタバコガ: 収穫前日まで

トマト: ハスモンヨトウ, オオタバコガ: 収穫前日まで

ピーマン: オオタバコガ: 収穫前日まで

レタス: ヨトウムシ, ハスモンヨトウ, オオタバコガ: 収穫 7 日前まで

だいず: ハスモンヨトウ: 収穫 7 日前まで

えだまめ: ハスモンヨトウ: 収穫 7 日前まで

てんさい: ヨトウムシ: 収穫 7 日前まで

かんしょ: ハスモンヨトウ, ナカジロシタバ: 収穫 7 日前まで

しょうが: ハスモンヨトウ, アワノメイガ: 収穫 7 日前まで

たばこ: タバコアオムシ, ヨトウムシ: 収穫 10 日前まで

「殺虫殺菌剤」

● クロチアニジン・フェンプロパトリン・メバニピリム水和剤
22506: ベニカ X ファインスプレー (住友化学園芸)

クロチアニジン: 0.0080%, フェンプロパトリン: 0.010%,
メバニピリム: 0.020%

花き類・観葉植物(ばら, マリーゴールド, プリムラ, ポトスを除く): アブラムシ類, うどんこ病: —

ばら: アブラムシ類, ハダニ類, チュウレンジハバチ, うどんこ病, 黒星病: —

マリーゴールド: アブラムシ類, ハスモンヨトウ, うどんこ病: —

プリムラ: アブラムシ類, うどんこ病, 灰色かび病: —

ポトス: アブラムシ類, ハダニ類, うどんこ病: —

おおむらさき: ツツジゲンバイ: —

つばき類(さざんかを除く): チャドクガ: —

さざんか: ツノロウムシ, チャドクガ: —

「殺菌剤」

● ポリカーバメート・ミクロブタニル水和剤

22512: リカバリー水和剤 (ダウケミカル日本)

ポリカーバメート: 50.0%, ミクロブタニル: 1.0%

西洋芝(ペントグラス): グラースポット病: 発病初期

西洋芝(ペントグラス): 藻類: 発生初期

● バチルスズブチリス水和剤

22516: アグロケア水和剤 (日本曹達)

バチルスズブチリス HAI-0404 株の生芽胞: 5 × 10⁹ CFU/g

野菜類(トマト, ミニトマトを除く): 灰色かび病, うどんこ病: 収穫前日まで

トマト: 灰色かび病, うどんこ病, 葉かび病: 収穫前日まで

ミニトマト: 灰色かび病, うどんこ病, 葉かび病: 収穫前日まで

かんきつ: 灰色かび病: 収穫前日まで

● イソプロチオラン・イミノクタジン酢酸塩粉剤

22517: フジワンベフラン粉剤 DL (日本農薬)

イソプロチオラン: 2.5%, イミノクタジン酢酸塩: 1.5%

稲: いもち病: 収穫 45 日前まで

(46 ページに続く)