

佐賀県におけるトマト黄化葉巻病の発生経過とその要因について

善 正二郎¹⁾・吉田 明子²⁾・糸山 享^{3)*}・篠田 徹郎^{3)*}・河合 章^{3)*}
(¹⁾ 佐賀県上場営農センター・²⁾ 佐賀県農業技術防除センター・³⁾ 野菜・茶業試験場)

Occurrence of Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) in Saga Prefecture.

Syōjirou Zen¹⁾, Akiko Furuta²⁾, Kyo Itoyama³⁾, Tetsuro Shinoda³⁾ and Akira Kawai³⁾ (¹⁾ Saga Upland Farming Experiment Station, Chinzeicho, Saga, 847-0326. ²⁾ Saga Prefectural Agriculture Support Center, Kawasoecho, Saga, 840-2205. ³⁾ National Research Institute of Vegetable, Ornamental Plants and Tea, Anouchō, Mie, 514-2328)

Key words: host range, silver leaf whitefly, Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV)
transovarial transmission

緒 言

トマト黄化葉巻病は、トマトの生長点付近の葉を黄化、萎縮させ、生育を著しく抑制するため、収量が減少し経済的に大きな被害をもたらす病害である。病原ウイルスはトマト黄化葉巻ウイルス (TYLCV) であり、シルバーリーフコナジラミ (以後、コナジラミと略す) *Bemisia argentifolii* Bellows and Perring により媒介される。本邦では、1996年に静岡県、愛知県 (Kato et al., 1998) および長崎県 (大貫ら, 1997) において初めて発生が確認された。発生は、2001年2月末までに九州北・中部、東海ならびに関東の計9県に拡大し、トマト栽培上の最重要病害になっている。

しかしながら、本病の拡大した経過については不明な点が多く、それを明らかにすることは防除対策を講じるうえで重要である。そこで、本報では、佐賀県における本病の発生経過を述べるとともに、発生に関連する要因として経卵伝染の有無およびTYLCVの宿主範囲について検討を行った。

本試験の実施に当たり、TYLCV 感染トマト株を分譲していただいた九州農業試験場（現、九州沖縄農業研究センター）病害遺伝子制御研究室に厚く感謝を申し上げる。

材 料 お よ び 方 法

1. PCR による検定

TYLCV検出プライマーは、5'-CTCGAAGGTTCCGA A-3' と 5'-TTGAAAAATTGG (G/A) CTCTCAA -3' を用いた。

PCR 反応には *Ex Taq* DNA polymerase (TaKaRa) を用い、方法は *Ex Taq* に添付されているプロトコールに従った。PCR の温度条件は 95°C 2 分間を 1 サイクル、95°C 50 秒 → 55°C 1 分 → 72°C 1 分 30 秒を 35 サイクル行い、最後に 72°C, 10 分間処理した。PCR 反応液はアガロースゲル電気泳動に供試し、PCR 産物の有無を確認した。

2. 佐賀県における TYLCV の発生状況

佐賀県農業試験研究センターおよび農業技術防除センターに現地圃場から持ち込まれた株または現地調査で採集した TYLCV 類似症状の株について、PCR で TYLCV の有無を検定し、陽性の株が採集された市町村を発生地域とした。

3. 佐賀県から採集したシルバーリーフコナジラミによる TYLCV の経卵伝染の確認

佐賀郡川副町からウイルス無病徵トマトに寄生するコナジラミ幼虫を採集し、その次世代の成虫を供試した。

ウイルス源として佐賀県および静岡県で採集した感染トマトをもとにトマトで継代した株を用いた。コナジラミ成虫 20~30 頭を感染株に接種し、3 日間獲得吸汁させた後、キャベツに移し、産卵させた。次に、キャベツに産下された卵から得られた 1 歳の歩行幼虫 3~12 頭を健全なトマト株に接種した。なお、同一の雌成虫から得られた幼虫は同一のトマト株に接種し、幼虫を接種したト

*現在 野菜茶業研究所

*Present address : National Institute of Vegetables and Tea Science

マトは、内側を0.6mm目合の防虫ネットで仕切ったガラス室内で隔離栽培した。

コナジラミの成虫はキャベツ上の産卵を確認した後に、雌雄とも回収し、幼虫は成虫の接種から9~12日後に回収した。成虫、幼虫とも全核酸を抽出した後、PCRによりTYLCVの有無を検定した。また、1齢幼虫の接種20日後に幼虫を接種したトマト株の黄化または葉巻状の発生を調査し、あわせてPCRによってもTYLCVの感染の有無を検定した。

4. TYLCV宿主範囲調査

5科14種の植物に保毒コナジラミを接種し、TYLCVの感染を調べた。接種には佐賀系統のTYLCV感染トマトを用い、3日間獲得吸汁させた。トマト、キクなどの小型の植物はプラスチック製の筒で株全体を覆い、ナス、キュウリなどの大型の植物は任意の上位葉をテトロンゴースで作った袋で覆い、獲得吸汁させたコナジラミ成虫を10頭ずつ接種し、調査日まで成虫は除去しなかった。接種株は、ガラス室内で隔離栽培し、コナジラミの接種27~36日後にウイルス症状の有無を調査するとともに、新葉を採取し、PCRによりTYLCVの有無を検定した。供試した植物のうちトマト（品種名：ハウス桃太郎）、ナス（品種名：千両）、タバコ、キュウリ（品種名：光3号P型）およびキャベツ（品種名：YRのどか）は自家育苗した苗を、キク、マリーゴールドおよびニチニチソウは購入苗を、その他の植物は、野菜・茶業試験場内に自生する野外雑草を供試した。

5. ノゲシのTYLCV自然感染調査

2000年9月または10月時点でTYLCVの発生を認めた佐賀郡川副町のトマトおよびトルコギキョウの圃場周辺に自生するノゲシを2000年11月5日に各圃場から9~15株、計45株を採集した。TYLCVの有無は、3株の新葉をまとめて1試料とし、PCRで検定した。

結果

1. 佐賀県におけるTYLCVの発生状況

佐賀県では、1999年2月に有明海沿岸の佐賀郡川副町と東与賀町の施設トマトにおいて初めて発生を確認した。その後、トマトでは同年11月までに佐賀市、唐津市、鹿島市、小城町、三日月町、神埼町、福富町、有明町、北方町、北茂安町および東脊振村の13市町村に発生が拡大し、2000年8月には七山村で新たに認められ、発生は14市町村となった（第1図）。

また、県内で最初に発生を認めた地域では、初発生年と比べると被害は小さくなっているが、初発生から3作目にあたる平成13年産トマトにおいても引き続き発生が



第1図 佐賀県内におけるトマト黄化葉巻病発生地域

認められている。2000年9月には、川副町においてトルコギキョウで新たに被害が認められた。

2. 佐賀県から採集したシルバーリーフコナジラミによるTYLCVの経卵伝染の確認

TYLCVを獲得吸汁させた供試成虫の保毒率は、佐賀系統、静岡系統でそれぞれ94.1%、91.7%と高く、系統間、雌雄間の差はみられなかった（第1表）。しかしながら、トマト苗に接種した次世代のコナジラミ幼虫の虫体からは佐賀系統、静岡系統とも特有のバンドが検出されず、TYLCVの保毒は認められなかった。ふ化幼虫を接種したトマトでは、佐賀系統、静岡系統とともに黄化、葉巻等の病徴は認められず、さらにPCRでも特有のバンドが検出されず、TYLCVの感染は認められなかった。

3. TYLCV宿主範囲調査

供試した5科14種の植物の中でトマト、タバコおよびノゲシは、PCRによって1.3kbにTYLCV特有のバンドが検出され、本ウイルスの感染が確認された（第2図）。トマトにおいては生長点付近の葉に黄化および葉巻の病徴を認めたが、タバコ、ノゲシでは病徴は認められなかった。他の11種の植物（ナス、イヌホオズキ、キュウリ、キャベツ、キク、ヨモギ、ハルジオン、ノボロギク、タカサブロウ、マリーゴールドおよびニチニチソウ）では病徴が認められず、PCRでもTYLCV特有のバンドが検出されなかった。

4. ノゲシのTYLCV自然感染調査

TYLCVが発生した佐賀郡川副町のトマトおよびトルコギキョウの圃場周辺に自生する45株のノゲシについて2000年11月に感染の有無を調査したが、秋期での本病の発生程度の違いまたは被害作物の違いに関係なくノゲシでは感染が認められなかった。



第2図 TYLCV伝搬試験に供試した各植物から增幅されたPCR産物

M: DNA分子量マーカー
 ①トマト ②ナス ③タバコ ④イヌホオズキ
 ⑤キュウリ ⑥キャベツ ⑦キク ⑧ヨモギ
 ⑨ハルジオン ⑩ノゲシ ⑪ノボロギク ⑫タカサゴロウ
 ⑬マリーゴールド ⑭ニチニチソウ

考 察

佐賀県で発生したコナジラミと静岡県および佐賀県で発生したTYLCVとを組み合わせた媒介試験により、佐賀県で採集したコナジラミは両県で発生したTYLCVを高い割合で獲得することが明らかとなった(第1表)。しかしながら、両県で発生したTYLCVは卵を介して次世代虫に伝搬されず(第1表)、TYLCVが縦卵伝染されるとするGhanim et al. (1998)のイスラエルの系統を用いた報告とは異なる。Ghanim et al. (1998)は縦卵伝染にはコナジラミ体内の共生微生物が関与しているとしており、佐賀県で発生しているコナジラミにおける共生微生物の有無等の検討が必要である。

佐賀県においてトマト黄化葉巻病の発生地域が初確認から1年以内にほぼ県内全域に拡大した要因としては、保毒成虫の飛翔もしくは風による移動が大きく影響していると思われた。このことから、本病の防除はコナジラミ成虫の防除を主体とし、圃場への侵入を防ぐための防虫ネット被覆と育苗期からの薬剤防除が重要であると考えられる。

県内で発生を初めて認めた地域では、初確認から3作目のトマトにおいても本病の発生が続いている。海外では野外雑草がTYLCVの重要な伝染源とされている(大貫, 2000)。佐賀県で発生したTYLCVの各種植物へのウイルス感染の可否を調査したところ、野外でよくみられるノゲシに無病徴感染することが明らかとなった(第2図)。これまでに、Cohen and Nitzany (1996)は、TYLCVがノゲシに無病徴感染することを報告しているが、静岡で発生したTYLCVは、接種試験においても感染が認められていない(Kato et al., 1998)。静岡県から分離されたTYLCVがTYLCV-Is-mild isolateと極めて相同性が高く(Kato et al., 1998)，一方、長崎県から分離されたものは病徴が激しいTYLCV-Isと極めて相同性が高く、ウイルスの系統が異なることが示されている。さらに、佐賀県から分離されたものは、PCR産物の制限酵素切断パターンから長崎県で発生したものと同一であることが示されている(大貫, 2000)。このようなウイルスの系統の違いがノゲシに対する感染に影響を与えた可能性がある。

次に、TYLCVが発生した現地圃場周辺のノゲシについてウイルス感染の有無を調査したが、調査した全ての株がウイルスに感染していないかった。ウイルス感染はコナジラミやウイルスの密度が影響すると考えられているが、TYLCVが甚発生した圃場周辺でもノゲシへの感染が認められていないことから、ノゲシが自然条件においてTYLCVの伝染源として重要である可能性は低いと考えられる。また、この地域では、8月中旬に播種し、9月下旬から10月上旬に定植、翌年の6月下旬に収穫が終了するトマトの促成栽培が主体であるが、一部では6月中旬に播種し、7月中旬に定植、11月下旬に収穫が終了する抑制栽培も行われており、TYLCVがトマトだけを宿主としても周年経過できる。一方、熊本県ではウシハコベとエノキグサで自然感染が認められており(大貫、私信)，雑草が伝染源となっている可能性もあり、雑草

第1表 佐賀県で発生したシルバーリーフコナジラミによるTYLCVの経卵伝染

TYLCV 採取地	保毒状況 ^{a)}			幼虫	供試株数	発病数	検出数
	♂	♀	計				
佐 賀	14/15 ^{b)}	18/19	32/34 (94.1%) ^{b)}	0/12 (0%)	19	0	0
静 岡	3/4	8/8	11/12 (91.7%)	0/7 (0%)	8	0	0
対 照	- / -	0/11	0/11 (0%)	0/10 (0%)	9	0	0

a) 保毒虫数 / 検定虫数 b) 表中の()内の数値は、保毒率を示す。

を含めた TYLCV の宿主範囲のさらなる調査が必要である。

摘要

佐賀県におけるトマト黄化葉巻病の発生に関連する要因として経卵伝染の有無および TYLCV の宿主範囲について検討を行った。

1. 佐賀県で発生したシルバーリーフコナジラミは、佐賀県と静岡県で発生した TYLCV を高い割合で獲得したが、経卵伝染は行わなかった。

2. 5科14種の植物を用い、保毒コナジラミによる TYLCV の感染を調査し、トマト、タバコおよびノゲシが TYLCV に感染することを明らかにした。病徵としてトマトにおいて生長点付近の葉の黄化および葉巻を認めだが、タバコ、ノゲシは無病徵感染であった。

3. TYLCV が発生したトマトおよびトルコギキョウ圃場周辺のノゲシでは、TYLCV の感染が認められなかつた。

引用文献

- Cohen, S. and F. E. Nitzany (1996) Transmission and host range of the tomato yellow leaf curl virus. *Phytopathology* 86 : 1127-1131.
- Ghanim, M., S. Morin, M. Zeidan and H. Czosnek (1998) Evidence for transovarial transmission of tomato yellow leaf curl virus by its vector, the whitefly *Bemisia tabaci*. *Virology* 240 : 295-303.
- Kato, K., M. Onuki, S. Fuji and K. Hanada (1998) The first occurrence of tomato leaf curl virus in tomato (*Lycopersicon esculentum*) in Japan. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 64 : 552-559.
- 大貫正俊 (2000) トマト黄化葉巻病. 農業および園芸 75 : 108-113.
- 大貫正俊・小川哲治・加藤公彦・花田薰 (1997) 長崎県のトマトに発生したジェミニウイルスの塩基配列. 日植病報 63 : 482 (講要).

(2001年4月30日 受領)