

群馬県におけるトマト黄化葉巻病および タバココナジラミバイオタイプQの発生状況¹

桑原克也・蓼沼 優・酒井 宏*
(群馬県農業技術センター・*群馬県農政課)

Occurrence of Tomato Yellow Leaf Curl Disease and *Bemisia tabaci* Q-Biotype in Gunma Prefecture

Katuya KUWABARA², Masaru TADENUMA and Hiroshi SAKAI

摘 要

群馬県におけるトマト黄化葉巻病の発生は、2000年の初確認後、6年間は発生が確認されていなかった。しかし、2006年2月に再び本病の発生を確認した。2006年2月～12月までに各普及指導機関から持ち込まれた検体をPCR法により検定した結果、本病感染株と診断された検体数は、2006年2月は1検体のみであったが、8月から12月まで毎月確認され、特に10月が37検体と最も多くなった。2006年12月現在、県内平坦部9市2町で本病の発生が確認され、県内平坦部のトマト栽培圃場に広く発生していたことが明らかとなった。また、トマト黄化葉巻病の簡易検査キット「ポケット診断PD」(キャッツ・アグリシステムズ株式会社)を用いた診断は、PCR法とほぼ同等の結果が得られ、さらに、接種開始20～30日後に診断が可能であった。一方、2006年2月～11月にかけて、県内平坦部のトマト栽培圃場から、本病の媒介虫であるタバココナジラミを採取したところ、約90%の個体がタバココナジラミ バイオタイプQであり、本バイオタイプが県内平坦部に広く分布していることが明らかとなった。

トマト黄化葉巻病は、トマト黄化葉巻ウイルス (*Tomato yellow leaf curl virus*; 以下TYLCV) を病原とするウイルス病である。病徴は、初めに新葉が葉縁から退緑しながら葉の巻き上がり症状となり、病勢が進行すると頂部の叢生や株全体の萎縮が起こり、発病後は開花しても結実しないことが多い。我が国では、1996年に静岡県、愛知県および長崎県において初めて発生が確認された (Kato et al., 1998; 大貫ら, 1997)。その後、西日本を中心に急速に発生が拡大し、2007年1月までに31都府県で、本病の発生が確認されている。関東地域では、2000年に群馬県、2005年に埼玉県、神奈川県、千葉県、2006年に栃木県、茨城県、2007年には東京都とすべての都県で発生が確認されている。一

方、TYLCVの媒介虫であるタバココナジラミ (*Bemisia tabaci*) は、数多くのバイオタイプに分類されており、我が国において、タバココナジラミ バイオタイプB (*B. tabaci* B-biotype) (大戸, 1990)、タバココナジラミ バイオタイプQ (*B. tabaci* Q-biotype) (上田, 2006) の発生が確認されている。特に、国内のタバココナジラミ バイオタイプQ個体群については、ピリプロキシフェン剤やネオニコチノイド系の薬剤に対する感受性が低下している個体群が存在することが報告されている (樋口ら, 2005; 松浦, 2006)。

群馬県では、2000年に本病の発生が初確認されたが、その後6年間は発生が確認されていなかった。しかし、2006年になり、再び本病の発生が確認されたため、発

1 本報の一部は、第54回関東東山病害虫研究大会 (2007年3月2日) において発表した。

2 Address: Gunma Agricultural Technology Center, 493 Nishiobokata-cho, Isesaki-shi, Gunma 379-2224, Japan
2007年5月14日受領
2007年10月22日登載決定

生状況を把握し、早急に防除対策を講じる必要が生じた。そこで、県内で発生したトマト黄化葉巻病の発生状況調査を行うとともに、防除対策の基本である早期発見・早期抜き取りの一助とするため、本病の簡易診断法についての検討も行った。また、本県で採取したタバコナジラミのバイオタイプ識別を行い、バイオタイプ別に発生状況を調査した。

材料および方法

1. トマト黄化葉巻病の発生状況調査

1) 供試植物

2006年2月～12月に各普及指導機関より群馬県内9市2町から持ち込まれた葉縁部からの退緑・黄化症状あるいは、葉の巻き上がり症状を示すトマトおよびミニトマト105検体について、生長点周辺の展開葉を採取し、本病の検定に供試した。

2) ウイルス診断

上記症状を示す葉を供試し、PCR法によりTYLCV感染の有無を調査した。供試葉から、DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen社製)を用いて全DNAを抽出し、鋳型DNAとしてPCR反応に供試した。PCR反応については大貫ら(2000)の方法に準じて行った。PCR反応液にはGoTaq® Green Master Mix (Promega社製)、TYLCV検出用プライマー(TYCおよびTYV)および抽出DNAを混合し、Nuclease-Free Water (pH7.0)を適量加えて、全量を25 μ lに調整した。PCR反応条件として、94 3分間を1サイクル、94 30秒間、52 30秒間、72 90秒間を35サイクル、さらに、72 7分間を1サイクルに設定し反応を行った。PCR産物を1%アガロースゲル電気泳動によりDNA増幅の有無を確認し、予想される1.2kbpのバンドが確認された検体をトマト黄化葉巻病と判定した。

2. 簡易診断キットの有効な利用法の検討

1) PCR法との診断精度の比較

トマト黄化葉巻病の簡易診断キット「ポケット診断PD」(キャッツ・アグリシステムズ社製)による診断(以下、簡易診断法)について、各地域から持ち込まれた105検体のうち、病徴の異なる25株の生長点周辺の展開葉を用いて、定法により検定を行い、PCR法による診断結果と比較した。

2) 感染初期における診断精度の検討

TYLCVを接種したトマト苗を用い、初期感染時の診断精度を検討した。ウイルス接種は、トマト苗(品種:桃太郎はるか、1段花房開花前、4株)の生長点

付近をコースで覆い、本病甚発生圃場(保毒虫率37.5%)より採取したタバコナジラミ成虫を1株あたり30頭程度放飼して行った。接種期間は6日間とし、接種終了後にニテンピラム水和剤1,000倍を散布して、タバコナジラミを死滅させた。接種開始10日後から約5日間隔で、生長点周辺の展開葉を採取し検定に供試した。なお、試験期間中のトマト苗は25 , 16L-8D条件に設定した人工気象器内で管理した。

3. タバコナジラミバイオタイプの発生調査

1) タバコナジラミの採取

2006年2月から12月に、群馬県内平坦部6市1町の施設栽培トマト17圃場、雨よけ栽培トマト7圃場、計24圃場から無作為にタバコナジラミ成虫を採集した。ただし、トマト黄化葉巻病が発生している14圃場では、本病の検定用サンプルとして幼虫も採取した。

2) タバコナジラミのバイオタイプ識別

タバコナジラミのバイオタイプ識別は上田(2006)の方法に準じて行った。PCR用チューブに供試虫1頭、DNA抽出バッファ(1M NaCl 2 μ l, 0.5M EDTA 2 μ l, 1M Tris-HCl 2 μ l, 滅菌蒸留水 888 μ l) 9 μ lを入れ、滅菌した爪楊枝で虫体を磨りつぶした。その後、プロキナーゼK (Progema社製)を1 μ l加え、37 で30分間酵素処理の後、95 で1分間熱処理を行い、鋳型DNAとした。PCR反応液にはGoTaq® Green Master Mix (Promega社製)、ミトコンドリアDNA COI 遺伝子領域を増幅するように設計されたプライマーセット(MD-10, MD-12)、抽出DNA 3 μ lを混合し、Nuclease-Free Water (pH 7.0)を適量加えて、全量を25 μ lに調整した。PCR反応条件として、96 3分間を1サイクル、96 30秒間、52 30秒間、72 1分間を35サイクル、さらに、72 5分間を1サイクルに設定し反応を行った。PCR産物を2種類の制限酵素*Stu*Iおよび*Sty*I(共にTaKaRa社製)で処理し、1%アガロースゲル電気泳動により、*Stu*Iで切断された検体をタバコナジラミバイオタイプB(以下バイオタイプB)、*Sty*Iで切断された検体をバイオタイプQ(以下バイオタイプQ)、どちらの制限酵素でも切断されない検体をその他のバイオタイプとした。

結果および考察

1. トマト黄化葉巻病の発生実態調査

供試した105検体のうち、PCR法の検定により、70検体(66.7%)がトマト黄化葉巻病と診断された。本病の発生は県内平坦部に位置する9市2町のトマト栽培

発生が増加したものと考えられる。また、発生圃場におけるトマト黄化葉巻病の発病株率は1%程度であり、軽度な圃場がほとんどであったが、発病株率50%を超えるような甚発生圃場が2地点確認された(データ省略)。

2. 簡易診断キットの有効な利用法の検討

1) PCR法との診断精度の比較

病徴の異なる25株について、簡易診断法により診断を行ったところ、TYLCV陽性反応が15検体、陰性反応が7検体の合計22検体でPCR法と診断結果が一致した。葉の黄化や葉の巻き上がりといったトマト黄化葉巻病の特徴的な症状を示した検体については、すべて陽性反応を示し、PCR法の診断結果と一致した。一方、生長点付近のみ僅かな退緑がみられた3検体はPCR法の診断結果と一致しなかった(第1表)。この3検体については、病徴が生長点付近のみわずかな退緑症状であり、非常に軽微であったため、PCRではTYLCVが検出されたが、簡易診断法では診断できなかったと考えられる。なお、簡易診断法による擬陽性反応はなかった。このことから、上位葉の黄化・葉の巻き上がり症状を示す株では簡易診断法による診断精度は高いと考えられる。

2) 感染初期における診断精度の検討

ウイルス接種開始15日後までは陽性反応は確認されなかったが、接種開始20日後に、生長点付近の葉に黄化症状が見られた2検体でTYLCV陽性反応が確認された。25日後には葉の巻き上がり症状が確認された3検体で陽性反応が確認された。さらに、接種開始30日後にはすべての検体で葉の黄化・巻き上がり症状が確認され、すべて陽性反応が確認された(第2表)。一方、PCR法による診断では、接種開始20日後にすべての検体で陽性反応が確認された。このことから、簡易診断法によるトマト黄化葉巻病の診断は、25、16L-8D条件下に保護したトマトでは、PCR法による診断と比較して、やや精度が劣るものの特徴的な病徴が現れ始める感染20日~30日後にTYLCVを検出することが可能であると判断された。したがって、トマト栽培圃場において、簡易診断法により葉の黄化・巻き上がり症状が見られ始めた疑わしい株のトマト黄化葉巻病の診断が可能となり、診断された株の随時抜き取り処分をすることで2次感染を未然に防ぐことができると考えられる。

3. タバココナジラミパイオタイプの発生分布調査 県内平坦部6市1町のトマト栽培圃場24圃場から採

第1表 簡易診断法とPCR法によるトマト黄化葉巻病診断結果^{a)}

症 状	PCR 検定結果	簡易検定結果	検体数
無病徴(健全植物)	-	-	1
	-	-	6
生長点付近のみにわずかな退緑	+	+	2
	+	-	3
上位葉の黄化・葉巻き	+	+	13

a) + は陽性反応, - は陰性反応を示す。

第2表 トマト黄化葉巻病感染初期における簡易診断法の診断結果^{a)}

TYLCV 接種した トマト ^{b)}	検定法	接種開始				
		10日後	15日後	20日後	25日後	30日後
No.1	簡易診断法	-	-	-	+	+
	PCR法	-	-	+	+	+
No.2	簡易診断法	-	-	-	-	+
	PCR法	-	-	+	+	+
No.3	簡易診断法	-	-	+	+	+
	PCR法	-	-	+	+	+
No.4	簡易診断法	-	-	+	+	+
	PCR法	-	-	+	+	+

a) + は陽性反応, - は陰性反応を示す。

b) 人工気象器(25、16-8D)で管理した。

取したタバコナジラミについてバイオタイプの識別を行ったところ、すべての圃場でバイオタイプQの発生が確認され、本バイオタイプは県内平坦部に広く分布していることが明らかとなった。さらに、検定した119個体の約90%がバイオタイプQであり、県内平坦部のトマト栽培圃場では優占系統となっていることが明らかとなった(第3表)。また、トマト黄化葉巻病の発生が確認された圃場から採取したタバコナジラミのバイオタイプの識別を行った結果、全個体がバイオタイプQであった(第3表)。発生時期別にみた場合、2月~4月に採取したタバコナジラミでは、バイオタイプQ、バイオタイプBおよびその他のバイオタイプの発生が確認され、6月以降はバイオタイプQの発生割合が高くなり、9月以降に採取したタバコナジラミは全てバイオタイプQであった(第4表)。このことから、群馬県平坦部のトマト栽培圃場ではバイオ

タイプQが優占系統となっていることが明らかとなった。バイオタイプQは一部の薬剤に対する感受性が低下しているため(樋口ら, 2005; 松浦, 2006)、慣行防除による薬剤散布で、バイオタイプQ以外のタバコナジラミが死滅していったことが要因のひとつとして考えられる。このように、2006年に県内において本病が多発生した要因のひとつとして、バイオタイプQが優占系統であったことが考えられる。

群馬県内9市2町から持ち込まれた105検体を調査した結果、トマト黄化葉巻病が県内平坦部に広く分布していることが明らかとなった。また、同地域には、タバコナジラミバイオタイプQが優占していることが明らかとなった。本病の防除対策としては、目視による病徴観察や今回検討した簡易診断法により、発病株の早期抜き取りや適正な処分に努める必要がある。また、媒介虫であるタバコナジラミ防除においては、

第3表 トマト栽培圃場におけるタバコナジラミのバイオタイプ市町村別発生状況

採取地	圃場名 ^{a)}	供試虫数	バイオタイプ別虫数		
			Q	B	その他 ^{b)}
伊勢崎市西小保方町	No.1	4	0	0	4
伊勢崎市境町	No.2	7	7	0	0
伊勢崎市三室町	No.3	8	7	1	0
伊勢崎市豊受町	No.4	4	4	0	0
伊勢崎市田部井町	No.5	8	8	0	0
伊勢崎市西小保方町	No.6	2	2	0	0
伊勢崎市西小保方町	No.7	3	3	0	0
高崎市木部町	No.8	6	6	0	0
藤岡市下戸塚町	No.9	3	3	0	0
藤岡市上栗須町	No.10	4	4	0	0
藤岡市立石町	No.11	5	5	0	0
藤岡市森新田町	No.12	6	6	0	0
藤岡市森新田町	No.13	3	3	0	0
藤岡市上大塚町	No.14	7	7	0	0
藤岡市上栗須町	No.15	2	1	1	0
太田市新田町	No.16	4	4	0	0
太田市新田町	No.17	4	0	4	0
太田市新田町	No.18	6	6	0	0
太田市新田町	No.19	2	2	0	0
桐生市新里町	No.20	6	6	0	0
桐生市新里町	No.21	5	5	0	0
館林市当郷町	No.22	4	4	0	0
板倉町大高島町	No.23	8	5	3	0
板倉町大高島町	No.24	8	8	0	0
合計		119	106	9	4

a) 印のある圃場はトマト黄化葉巻病が発病した圃場を示す。

b) バイオタイプQおよびバイオタイプBとは異なるバイオタイプ。

第4表 トマト栽培圃場におけるタバコナジラミのバイオタイプ月別発生状況

採取時期	供試虫数	バイオタイプ別虫数		
		Q	B	その他 ^{a)}
2006年 2月	4	4	0	0
3月	4	0	0	4
4月	8	4	4	0
5月 ^{b)}	-	-	-	-
6月	43	39	4	0
7月 ^{b)}	-	-	-	-
8月	20	19	1	0
9月	18	18	0	0
10月	11	11	0	0
11月	11	11	0	0
合計	119	106	9	4

a) バイオタイプQおよびバイオタイプBとは異なるバイオタイプ。

b) 未調査又はタバコナジラミが採集されなかったことを示す。

優占系統であるバイオタイプQに対する有効薬剤の選定に留意し、施設開口部への防虫ネットの設置等の物理的防除法を組み合わせる必要があると考えられる。さらに、これらの防除対策については、トマト産地全体で取り組むことが重要であると考えられる。

引用文献

樋口聡志ら (2005) 第49回応動昆大会講要 118.
本多健一郎 (2006) 第50回応動昆大会講要 86.

Kato, K. et al. (1998) Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 64 : 552-559.

松浦 明 (2006) 今月の農業 50(2) : 57 - 61.

大戸謙二 (1990) 植物防疫 44 : 264 - 266.

大貫正俊ら (1997) 日植病報 63 : 482.

上田重文 (2006) 九病虫研会報 52 : 44 - 48.

Ueda, S. and J. Brown (2006) Phytoparasitica 34 : 405 - 411.