

トマト黄化葉巻病抵抗性育種の現状と問題点

齋 藤 新

独立行政法人 農業・生物系特定産業技術研究機構野菜茶業研究所

The Present Situations and Problems of Tomato Breeding Resistant to Yellow Leaf Curl

Atsushi SAITO

National Agriculture and Bio-oriented Research Organization
National Institute of Vegetable and Tea Science

キーワード：トマト黄化葉巻病，TYLCV，抵抗性，育種，トマト近縁種

1 はじめに

トマト黄化葉巻病は1940年頃にイスラエルにおいて発生が最初に確認され¹⁾、地中海沿岸、オセアニア、アジア、中南米、北米など、世界各地の温暖な地域で発生が確認されている。本病はタバココナジラミ (*Bemisia tabaci*) により伝搬する²⁾。このタバココナジラミの系統 (バイオタイプ B) は後に、別種のシルバーリーフコナジラミ (*B. argentifolii*) として区別されることになった³⁾。病原体はジェミニウイルスの一種である Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV) である⁴⁾。病徴は初期に新葉の葉縁が退緑して黄化し、葉巻状になる (図1)。病徴が進行すると成長点付近の葉が変形して縮葉となり、トマトの成長が著しく抑制されるため、収量が大幅に減少する。日本では1996年に静岡県、愛知県⁵⁾ および長崎県⁶⁾ において本病の発生が確認され、その後関東以西の温暖な地域、特に九州、四国、中国地方において被害が拡大している。

トマト黄化葉巻病による被害を回避するため、耕種的な方法や薬剤の散布を組み合わせた総合防除体系の確立が検討されているが、完全な防除を行うことが難しく、抵抗性品種に対する期待は大きい。そこで、本稿におい

てはトマト黄化葉巻病抵抗性育種の現状と問題点を取りまとめた。なお、病害虫に対する抵抗性の新たな定義が国際種子連盟 (ISF: International Seed Federation) において2004年に採択された (表1)⁷⁾。本稿では、ウイルスに感染するが病徴の発現は抑制されるものを抵抗性、ウイルスの感染または増殖を阻止するものを免疫 (抵抗性) と表記した。

2 接種検定方法について

接種方法として汁液接種法、保毒虫を用いた方法、接ぎ木による方法およびアグロバクテリウムによる方法が検討されている。汁液接種法については特定の条件でトマトへの感染が成立したと報告されているが⁸⁾、一般的



図1 トマト黄化葉巻病の病徴 (初期)

表1 国際種子連盟 (ISF) による抵抗性程度の表記 (2004)

抵抗性程度	定義
Immunity	免疫 (抵抗) 性 病害虫による攻撃や侵入による影響がない。
High/standard resistance (HR)	高度抵抗性 * 病害虫の成長や発達を強く阻止する。病害虫の量により病徴や被害が現れることがある。
Moderate/intermediate resistance (IR)	中度抵抗性 * 病害虫の成長や発達を阻止する。病徴や被害が現れる。
Susceptibility	罹病性 病害虫の成長や発達を阻止できない。

Tolerance は非生物的なストレスに対して使用する。

* 日本語の表記については今後、議論が必要である。

には非常に困難である。保毒虫を用いた方法は、ガラス温室や接種箱のような閉鎖的な空間内においてはすべての個体を感染させることが可能であったが、常発圃場のような開放的な空間においては困難であった⁹⁾。接ぎ木による方法はTYLCVに感染したトマトを台木または穂木に用いて、穂木または台木を確実に感染させることが可能である¹⁰⁾。感染性クローンをアグロバクテリウムにより接種を行う方法も開発されているが¹¹⁾、保毒虫を用いた接種の結果と異なることが指摘されている¹²⁾。抵抗性育種においては選抜を行う過程ですべての個体に接種を行う必要があり、保毒虫を用いた方法と接ぎ木による方法を場面に応じて使い分けしている例が多い。

一般的に抵抗性程度は病徴の観察とウイルスの検出によって評価される。ウイルスの検出方法には抗血清を利用した方法としてDAS-ELISA法、DIBA法およびTPI法などが、DNAの増幅を利用した方法としてLAMP法^{13, 14)}およびPCR法¹⁵⁾などがあり、それぞれ利用する場面で使い分けされている。当研究所ではLAMP法およびPCR法を用いて検出を行っている。

3 抵抗性素材について

トマト栽培種 (*Lycopersicon esculentum*) では現在のところ、十分な抵抗性を示す素材はないが¹⁶⁾、トマト近縁種において複数の抵抗性素材が見出されている (表2)。

L. pimpinellifolium である‘LA121’の有する抵抗性は単因子による不完全優性と推定され、それを素材に育成された系統はTYLCV感染時に病徴の発現が軽減するものの、生育の抑制と収量の減少が生じた¹⁷⁾。*L. peruvianum* である‘PI-126935’を用いて育成された‘TY-20’ではTYLCV感染時に病徴の発現が抑制され、ウイルスの蓄積が軽減した²¹⁾。抵抗性は劣性であり、複数の因子によると推定された²²⁾。異なる*L. peruvianum*を用いて育成された‘TY172’は接ぎ木による接種を行っても、病徴の発現が抑制され、収量の減少も少なかった^{23, 24)}。*L. chilense* である‘LA1969’では不完全優性の抵抗性遺伝子 *Ty-1* が第6染色体上に存在すると報告されている²⁵⁾。*L. hirsutum* である‘B6013’を用いて‘H24’が育成され、抵抗性遺伝子 *Ty-2* が第11染色体上に存在すると報告されている²⁶⁾。この他に*L. cheesmanii* においても素材が見出されている²⁶⁾。

虫に対する抵抗性としては物理的障壁(毛茸)により、シルバーリーフコナジラミとの接触(吸汁)を阻害し、シルバーリーフコナジラミの増殖を抑制する素材が見出された。*L. peruvianum* および*L. hirsutum* では抑制効果が高かったが、これらと栽培種との交雑後代では抑制効果が低下した²⁹⁾。

このように複数の素材が見出されており、抵抗性遺伝子は複数存在すると考えられる。今後はそれぞれの素材の抵抗性程度を評価するとともに、場合によっては遺伝

表2 トマト黄化葉巻病抵抗性素材および育成品種・系統

系統名もしくは‘育成品種名’ (素材系統名)	特徴	文献 番号
<i>Lycopersicon pimpinellifolium</i>		
LA 121	病徴の発現が軽減されるが、ウイルスの蓄積が確認される。抵抗性は不完全優性の単因子による。	17
Hirsuto-INRA	抵抗性は優性で、単因子 (<i>Ty1c</i>) による。	18
‘Rty Azur’ (Hirsuto-INRA)	RAPD マーカーによる解析では抵抗性遺伝子が第6染色体上に存在するが、 <i>Ty-1</i> とは遺伝子座が異なる。	19
<i>Lycopersicon peruvianum</i>		
LA385	接ぎ木による接種では病徴の発現が抑制される。	20
‘TY20’ (PI-126935)	病徴の発現とウイルスの蓄積が軽減され、収量の減少も軽減される。	21
‘M60’ (PI-126935)	抵抗性は劣性の5つの因子による。	22
‘TY172’ (不明)	接ぎ木および保毒虫による接種では病徴の発現が抑制され、収量の減少は軽減される。 抵抗性は少なくとも3つの主働遺伝子による。	23 24
<i>Lycopersicon chilense</i>		
LA1969	不完全優性の主働遺伝子 <i>Ty-1</i> が第6染色体上に存在し、2つの修飾遺伝子が第3染色体上と第7染色体上に存在する。病徴の発現が抑制され、ウイルスの蓄積が軽減される。	25
<i>Lycopersicon hirsutum</i>		
LA386	抵抗性は優性の1つ以上の遺伝子による。	26
‘902’ (LA386, LA1777)	抵抗性は優性の主働遺伝子と2~3の劣性遺伝子による。	27
‘H24’ (B6013)	抵抗性遺伝子 <i>Ty-2</i> が第11染色体上に存在する。	28
<i>Lycopersicon cheesmanii</i>		
LA1401	抵抗性は劣性である。	29

子の集積を図ることが必要と考えられる。また、より高度の抵抗性を示す素材の検索を引き続き行う必要がある。

4 遺伝子組換え技術等の利用による抵抗性の付与

現在のところ、免疫（抵抗）性を示す素材が見出されていないことから、遺伝子組換え技術を利用した高度抵抗性の素材開発が行われている。TYLCVの外被タンパク質（V1）遺伝子を導入したトマトでは病徴の発現が遅延した³⁰⁾。TYLCVの複製関連タンパク質遺伝子（C4）を導入したトマトでは病徴の発現が見られず、TYLCVが検出されなかった³¹⁾。また、TYLCV複製関連タンパク質遺伝子（C1）のアンチセンスRNAを導入したタバコではTYLCVによる感染が抑制された³²⁾。この他に、RNA干渉（RNAi）の利用がジェミニウイルスに関してキャッサバなどで検討されている³³⁾。

このように、遺伝子組換えによって高度抵抗性の付与を確認できた事例もあるが、日本においては社会的受容性の問題もあることから、品種として利用に至るまでには時間を要すると考えられる。

5 抵抗性品種の利用について

産地においては海外で育成された抵抗性品種の栽培が始まっている。インターネットにおいて検索を行ったところ、表3に示したように、国内外の種苗メーカー4社から計15品種が発売されている。インターネット上に発表していないメーカーもあることから、実際にはさらに多くの品種が発売されていると考えられる。これらの品種については抵抗性（resistance）および耐病性（tolerance）という表記があるが、表1における中度もしくは高度抵抗性と考えられ、各品種の抵抗性程度を明らかにする必要がある。国内では複数のTYLCV系統が存在すると報告されている^{34,35)}。系統が異なることによって、各品種の抵抗性程度も異なる可能性があり、ウイルスの系統毎に抵抗性程度を評価する必要がある。さらに、現在発表されている抵抗性品種では病徴の発現がほとんど見られなくても、植物体内でTYLCVが増殖し、

病原となりうる点に注意が必要である。なお、これらの品種はすべて完熟果色が赤色の品種であることから、桃色である品種の育成が急がれている。

6 抵抗性育種の今後について

抵抗性育種は世界各地で精力的に行われ、素材の検索も行われているが、現在のところ、免疫（抵抗）性を示す素材は見つかっていない。当研究所も愛知県農業総合試験場との先端技術を活用した農林水産研究高度化事業「LAMP法と黄化葉巻病常発地を活用した抵抗性トマト選抜法」において素材の検索を行っているが、免疫（抵抗）性を示す素材の発見には至っていない。今後も継続するとともに、既存の抵抗性品種・系統の抵抗性程度を評価し、抵抗性遺伝子の集積による、より高度抵抗性の育種素材開発に取り組む予定である。また、遺伝子組換え技術を利用した抵抗性の付与も検討していく予定である。

摘要

トマト黄化葉巻病抵抗性育種の現状と問題点について取りまとめた。いくつかの接種方法が開発されているが、抵抗性育種においては保毒虫を用いた方法および接ぎ木による方法が利用されている。*L. pimpinellifolium* や *L. peruvianum* などのトマト近縁種から様々な抵抗性素材が見出されて品種が育成されているが、いずれも中度もしくは高度抵抗性と考えられ、各品種の抵抗性程度を評価する必要がある。また、これらの品種は免疫（抵抗）性ではないため、植物体内でTYLCVが増殖し、病原となりうる点に注意が必要である。今後も免疫（抵抗）性を示す素材の検索を継続するとともに、抵抗性遺伝子の集積や遺伝子組換え技術の利用による、より高度抵抗性の素材開発が必要である。

引用文献

- 1) Pico, B., Diez, M. J. and Nuez, F. 1996. Viral diseases causing the greatest economic losses to the tomato crop. II. The tomato yellow leaf curl virus - a review. *Scientia Horticulturae*. 67 (3-4) :151-196
- 2) Cohen, S. and Harpaz, I. 1964. Periodic, rather than continual acquisition of new tomato virus by its vector, the tobacco whitefly

表3 国内で販売されているトマト黄化葉巻病抵抗性品種

	果実タイプによる品種分類					品種数	抵抗性の表記
	大玉	中玉	プラム	小玉	ミニ		
A社	1	1			1	3	抵抗性
B社	2	1	1	2		6	耐病性
C社	1					1	耐病性
D社	2	3				5	抵抗性・耐病性
合計	6	5	1	2	1	15	

調査方法

Yahoo! JAPAN (<http://www.yahoo.co.jp/>) において2005年10月9日にキーワードを「トマト黄化葉巻病抵抗性品種」および「トマト黄化葉巻病耐病性品種」として検索を行った。

- (*Bemisia tabaci* Gennadius). Ent. Exp. & appl. 7:155-166
- 3) Bellows, JR. T. S., Perring, T. M., Gill, R. J. and Headrick, D. H. 1994. Description of a species of *Bemisia* (Homoptera: Aleyrodidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 87(2):195-206
 - 4) Czosnek, H., Ber, R., Antignus, Y., Cohen, S., Navot, N. and Zamir, D. 1998. Isolation of tomato yellow leaf curl virus, a geminivirus. Phytopathology. 78(5):508-511
 - 5) Kato, K., Onuki, M., Fuji, S. and Hanada, K. 1998. The first occurrence of tomato yellow leaf curl virus in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) in Japan. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 64(6):552-559
 - 6) 大貫正俊・小川哲治・加藤公彦・花田 薫. 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(6):482
 - 7) 塩見 寛・五十嵐充・村尾和則. 2005. ISFにおける病害虫コードと抵抗性に関する言葉の統一について. 種苗界. 58(7):10-12
 - 8) Makkouk, K. M., Shehab, S. and Majdakani, S. E. 1979. Tomato yellow leaf curl: incidence, yield losses and transmission in Lebanon. Phytopath. Z. 96(3):263-267
 - 9) Pico, B., Diez, M. J. and Nuez, F. 1998. Evaluation of whitefly-mediated inoculation techniques to screen *Lycopersicon esculentum* and wild relatives for resistance to tomato yellow leaf curl virus. Euphytica. 101(3):259-271
 - 10) Ioannou, N. 1985. Yellow leaf curl and other virus diseases of tomato in Cyprus. Plant Pathology. 34(3):428-434.
 - 11) Zeidan, M. and Czosnek, H. 1994. Acquisition and transmission of agrobacterium by the whitefly *Bemisia tabaci*. Mol. Plant-Microbe Interact. 7(6):792-798
 - 12) Kheyr-Pour, A., Gronenborn, B. and Czosnek, H. 1994. Agroinoculation of tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) overcomes the virus resistance of wild *Lycopersicon* species. Plant Breeding. 112(3):228-233
 - 13) Fukuta, S., Kato, S., Yoshida, K., Mizukami, Y., Ishida, A., Ueda, J., Kanbe, M. and Ishimoto, Y. 2003. Detection of tomato yellow leaf curl virus by loop-mediated isothermal amplification reaction. J. Virol. Methods. 112(1-2):35-40
 - 14) 福田至朗・穴井尚子・加藤政司・吉村幸江・深谷雅博・矢部和則・大矢俊夫・神戸三智雄. 2005. 簡易な鋳型調製による loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法を用いたトマト黄化葉巻ウイルスの検出. 関西病虫研報. 47:37-41
 - 15) Navot, N., Zeidan, M., Pichersky, E., Zamir, D. and Czosnek, H. 1992. Use of the polymerase chain reaction to amplify tomato yellow leaf curl virus DNA from infected plants and viruliferous whiteflies. Phytopathology. 82(10):1199-1202
 - 16) Nitzany, F. E. 1975. Tomato yellow leaf curl virus. Phytopath. medit. 14(2-3):127-129
 - 17) Pilowsky, M. and Cohen, S. 1974. Inheritance of resistance to tomato yellow leaf curl virus in tomatoes. Phytopathology. 64(5):632-635
 - 18) Kasrawi, M. A. 1989. Inheritance of resistance to tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) in *Lycopersicon pimpinellifolium*. Plant Dis. 73(5):435-437
 - 19) Kasrawi, M. A., Suwwan, M. A. and Mansour, A. 1998. Sources of resistance to tomato-yellow-leaf-curl-virus (TYLCV) in *Lycopersicon* species. Euphytica. 37(1):61-64
 - 20) Chague, V., Mercier, J. C., Guenard, M., de Courcel, A. and Vedel, F. 1997. Identification of RAPD markers linked to a locus involved in quantitative resistance to TYLCV in tomato by bulked segregant analysis. Theor. Appl. Genet. 95(4):671-677
 - 21) Rom, M., Antignus, Y., Gidoni, D., Pilowsky, M. and Cohen, S. 1993. Accumulation of tomato yellow leaf curl virus DNA in tolerant and susceptible tomato lines. Plant Dis. 77(3):253-257
 - 22) Pilowsky, M. and Cohen, S. 1990. Tolerance to tomato yellow leaf curl virus derived from *Lycopersicon peruvianum*. Plant Dis. 74(3):248-250
 - 23) Friedmann, M., Lapidot, M., Cohen, S. and Pilowsky, M. 1998. A novel source of resistance to tomato yellow leaf curl virus exhibiting a symptomless reaction to viral infection. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 123(6):1004-1007
 - 24) Lapidot, M., Friedmann, M., Lachman, O., Yehezkel, A., Nahon, S., Cohen, S. and Pilowsky, M. 1997. Comparison of resistance level to tomato yellow leaf curl virus among commercial cultivars and breeding lines. Plant Dis. 81(12):1425-1428
 - 25) Zamir, D., Ekstein-Michelson, I., Zakay, Y., Navot, N., Zeidan., Sarfatti, M., Eshed, Y., Harel, E., Pleban, T., van-Oss, H., Kedar, N., Rabinowitch, H. D. and Czosnek, H. 1994. Mapping and introgression of a tomato yellow leaf curl virus tolerance gene, *Ty-1*. Theor. Appl. Genet. 88(2):141-146
 - 26) Hassan, A. A., Mazayd, H. M., Moustafa, S. E., Nassar, S. H., Nakhla, M. K. and Sims, W. L. 1984. Inheritance of resistance to tomato yellow leaf curl virus derived from *Lycopersicon cheesmanii* and *Lycopersicon hirsutum*. Hortscience. 19(4):574-575
 - 27) Vidavsky, F. and Czosnek, H. 1998. Tomato breeding lines resistant and tolerant to tomato yellow leaf curl virus issued from *Lycopersicon hirsutum*. Phytopathology. 88(9):910-914
 - 28) Hanson, P. M., Bernacchi, D., Green, S., Tanksley, S. D., Muniyappa, V., Padmaja, A. S., Chen, H., Kuo, G., Fang, D. and Chen, J. 2000. Mapping a wild tomato introgression associated with tomato yellow leaf curl virus resistance in a cultivated tomato line. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 125(1):15-20
 - 29) Channarayappa, Shivashankar, G., Muniyappa, V. and Frist., R. H. 1992. Resistance of *Lycopersicon* species to *Bemisia tabaci*, a tomato leaf curl virus vector. Can. J. Bot. 70(11):2184-2192
 - 30) Kunik, T., Salomon, R., Zamir, D., Navot, N., Zeidan, M., Michelson, I., Gafni, Y. and Czosnek, H. 1994. Transgenic tomato plants expressing the tomato yellow leaf curl virus capsid protein are resistant to the virus. Bio/Technology. 12(5):500-504
 - 31) Yang, Y., Sherwood, T. A., Patte, C. P., Hiebert, E. and Polston, J. E. 2004. Use of *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) Rep gene sequences to engineer TYLCV resistance in tomato. Phytopathology. 94(5):490-496
 - 32) Bendahmane, M. and Gronenborn, B. 1997. Engineering resistance against tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) using antisense RNA. Plant Mol. Biol. 33(2):351-357
 - 33) Vanitharani, R., Chellappan, P. and Fauquet, C. M. 2005. Geminiviruses and RNA silencing. TRENDS Plant Sci. 10(3):144-151
 - 34) Ueda, S., Kimura, T., Onuki, M., Hnanada, K. and Iwanami, T. 2004. Three distinct groups of isolates of *Tomato yellow leaf curl virus* in Japan and construction of infectious clone. J. Gen. Plant Pathol. 70(4):232-238
 - 35) 上田重文. 2005. トマト黄化葉巻ウイルスと2004年の発生事例から見たトマト黄化葉巻病. 今月の農業. 49(2):20-23