

1. トマト

7. ネモグリセンチュウ類

(1) バナナネモグリセンチュウ (*Radopholus similis*、以下「Rs」という。)

(2) カンキツネモグリセンチュウ (*Radopholus citrophilus*、以下「Rc」という。)

- ※ ネモグリセンチュウ類は調査方法が似ているため、ここではバナナネモグリセンチュウとカンキツネモグリセンチュウをまとめて記述する。

※ 本線虫をバナナネモグリセンチュウの1レース (*R. similis citrus* race) とするのが現在の主流であるが本稿では便宜上別種として扱う。

ア 調査

【調査対象植物】

1) Rs：トマト、サトイモ及びショウガ

2) Rc：トマト及びカンキツ類

(上記調査対象植物での調査が困難な場合は、オクラ、トウモロコシ、ナス、バレイショ、チャ、ラッカセイでも調査可能。また、サトイモ科(アンズリュウム属、エピプレムヌム・アウレウム、フィロデンドロン属等)、クズウコン科(カラテア属、クズウコン属)などの観葉植物でも調査可能。)

【調査時期】

調査は、対象植物の生育期間中に年1回以上実施する。

なお、栽培期間中の実施が困難な場合は、栽培終了後の植物体が残っている時期(栽培終了直後)に実施してもよい。

【調査方法及び調査内容】

1) 調査は、上記の調査対象植物の中から選定した上で、調査地点を設定する。

なお、調査地点は各都道府県内で偏りが生じないように留意する。

2) 設定した調査地点あたり10株を対象に、被害写真を参考にしつつ、葉の黄化や倒伏などの普段見慣れない症状がないか目視で調査する。

3) 異常株があった場合は、異常を示す株の抜き取り又は周囲を掘り返して、根茎のようすを確認する。なお、基本的に植物の生育期間中株の抜き取りを行うこととするが、生育期間中の抜き取り等が難しい場合には、栽培終了直後の抜き取りでも確認可能である。根系に赤紅色の条斑、褐色ないし黒色の変色及び陥没、縦列孔などの病徴を確認した場合は、追加調査のために、すぐに根圏土壌および症状を示した根及びその周辺部を採取し、持ち帰る。また、アンズリュウム属植物では茎・葉等の地上部への寄生も報告されていることから、植物体及び根圏土壌全体をそのまま採取することも可能。

なお、採取した試料はポリエチレン袋に収納し、日射を避けて段ボール箱あるいはクーラーボックスに保存して調査地点を回る。

採取した試料は、試料の確認に必要な事項(採取月日、採取場所、写真

等)を記録した試料採取票(別記様式)を添付した上で、ビニール袋に入れ、輸送するまでクーラーボックス等(10℃)もしくは冷暗条件で保管する。採取後はなるべく1週間以内に分離作業を行う。

試料の採取部位、病徴及び採取票に記録した内容等は、調査野帳に記録する。

(参考)

- ・カンキツなど大型の地植えの植物：

根張りの多い地下10～20cmの部分から根を採取し、根張りの悪い植物は40～50cmのかなり深部の根を採取する。

- ・小型の植物：

株全体を掘り取り、根の全量またはその一部を採取する。

- ・鉢植え植物：

植木鉢から根を土壌またはミズゴケごと抜き取り、変色・壊疽などの異常部分をなるべく多く含むよう根の一部を採取する。

【調査に当たっての留意事項】

- 1) 本種が寄生した植物は次第に根系が浅くなり、干ばつや風による倒伏が多く起きる。また、葉の黄化がみられる。しかし病原菌類によっても同様の症状を示すことがあるため、発生の状況が平時と同じ場合は積極的に試料を採取する必要はない。一方、通常の栽培環境下で平時よりも症状の出方が異常である場合には、*Radopholus* 属ネモグリセンチュウの寄生を疑い、試料採取、生物顕微鏡による形態観察を実施する。

なお、調査終了後、使用した道具類や靴、服等についた土等はできる限り落とし、別の調査地点へ土等を持ちこまないよう注意する。

- 2) 発見のポイント

主な症状は以下のとおり。

- ・地上部：葉の変色・黄化・萎凋、小形化、異常落葉、小枝の枯れ込み、果実の小形化、植物体の矮化、早期の樹勢低下、根元から引き抜かれたような倒伏
- ・地下部：根系の皮層部に褐変・壊死条斑、根系の減少、塊茎・根茎等栄養器官内部の腐敗・変色、表層の病斑・変色

また、作物ごとに以下の症状が知られている。

- ア) トマト：地上部の被害に関する情報はないが、接種試験による根茎の被害(図1)から、地上部の被害は葉の変色・黄化・萎凋、小形化、異常落葉、小枝の枯れ込み、果実の小形化、植物体の矮化、早期

の樹勢低下、根元から引き抜かれたような倒伏に準じるものと考えられる。

イ) サトイモ: 地上部の被害に関する情報はないが Murukesan et al. (2005) によると同じサトイモ科の giant swamp taro では地上部に被害は見られないとの報告がある。したがって、サトイモも顕著な被害は示さない可能性があるが、生育の悪い株を中心に調査するとよいと考えられる。根茎の被害は根系の皮層部に褐変・壊死条斑、根系の減少、塊茎・根茎等栄養器官内部の腐敗・変色、表層の病斑・変色が見られる (図 2、3)。

ウ) ショウガ: 発育不良、活力低下および分げつが起こり、最上葉において葉端に焼け症状をとともなう退緑が起こる。また、寄生されていない植物よりも早熟し乾燥する傾向がある。寄生初期の根茎は、小さな浅く窪んだ水浸状の病斑が見られる。センチュウが細胞間を移動するため根茎内部に病変が拡大する。

エ) アンスリウム: 根腐れと倒伏が典型的な症状。本種によって引き起こされる根腐れ症状は褐変または黒褐変から黒変で、比較的ゆっくりと進行する。初期は古い根から寄生し根腐れを起こすが、新たな根が生育するため、植物体はしばしば良好に生育を続ける。しかし健全な植物と比較すると、罹病した植物の機能する根の量は大きく減少する。時間とともに、新たな根の発生は少なくなり、徐々に進行する根系の崩壊は、2～4年目に倒伏を起こす。葉は黄化し、他の養分欠乏症を引き起こす。植物体は矮化し、発育の低下、着花が減少し、花が小さくなる (図 5)。

オ) カンキツ: 本種の活動は砂質土壤中で助長され、根は、センチュウの摂食による細根の減少、根の空洞化により大きな被害を受ける。地上部の被害には、やけ症状・黄化、発育障害・矮化、枝枯れ、葉・果実の小型化、樹冠の葉の減少が見られる。このようなカンキツの症状は拡大性衰弱病 Spreading decline Disease と呼ばれ、カンキツ園内で樹勢低下、樹冠の葉の減少、葉や果実の小型化を示し始めた数本から被害が周辺へ拡大する。本種の地上部の被害の進行は土壌水分が低くなる時期 (フロリダでは冬季から春季) に急速に進む (図 4)。

イ 同定診断手法

1) 形態観察

分離した虫体は生物顕微鏡下で観察する。当該センチュウの同定は主に雌成虫及び雄成虫で行う。(プレパラートの作成方法は参考情報の 2 を参照)

Rs と Rc の形態的な差は無い。また、現時点では分子生物学的手法による両種

の識別も不可能である。Rcはカンキツ類に寄生するが、Rsはカンキツ類に寄生しない。以下に本2種と他のセンチュウ類との形態的な識別法を記す。

・形態的特徴（簡易）

同じくネモグリセンチュウと称される *Hirschmanniella* 属とは、体長、食道（厳密には食道腺葉）と腸が重なる位置、および雌雄間における形態的特徴の差により識別可。体長については、*Hirschmanniella* 属の成虫が1 mm 以上となるのに対して *Radopholus* 属の成虫では0.7mm 程度にとどまる。そのため *Radopholus* 属は一見同科（Pratylenchidae）のネグサレセンチュウ類（*Pratylenchus* 属）のように見えるが、*Radopholus* 属の尾端部には特徴的な先細りが見られる。*Hirschmanniella* 属及び *Pratylenchus* 属は食道と腸が腹部側で重なり、*Radopholus* 属は食道（B-g）と腸（B-f）は背部側で重なる。雄では雌に比して唇部が顕著に発達する（E）。

・形態的特徴（詳細）

①雌成虫

- 1) 体長は0.5～0.9mmで、糸状である（A）。
- 2) 唇部骨格（頭部骨格）は発達し（E-g）、唇部は低い（B-a, E-a）。
- 3) 口針長（B-b, E-c）は16～20 μm （平均17～18 μm 程）で、口針節球は丸～横長である（B, E-e）。
- 4) 食道の後端は、背側で腸と重なる（B-g）。
- 5) 陰門から前後に一对の生殖器官が伸びる（A-c, C）。V値は通常52-61%。
受精のうは2個で、受精雌はひも状の精子を持つ※1（C, F）。
- 6) 尾は円錐形で（D）、尾長（D-e）は50～100 μm （多くは60～80 μm ）である。
- 7) 尾端透明部（D-d）は3.6～23.0 μm （平均6～10 μm ）である。
- 8) 幻器は尾の前部に位置する（D-c）。
- 9) 側線（側帯溝）は4本（D-b, J）。側帯の中央の帯は顕著に幅が狭くならない（J）。
- 10) a値=17-36, b値=4.7-9.3, b' 値= 3.2-5.2, c値=6.8-13, c' 値=2.4-6.3※2

②雄成虫

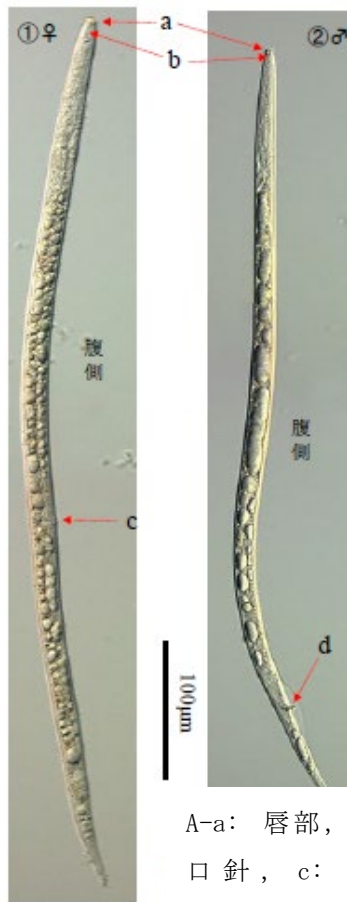
- 1) 体長は0.5～0.7 mmで、糸状である（A）。
- 2) 唇部は高く突き出し、ドアのノブ状であり、明瞭なくびれがある（E-b, G-a）。唇部骨格は発達しない（E-b, G-a）。
- 3) 口針は細く、口針節球は微小で、長さは10.2～17 μm （平均11～13） μm である（E-d, G-b）。中部食道球や食道腺は退化して不明瞭である（G-c, e）。

- 4) 側線（側帯溝）は4本（D-b, J）。
- 5) 尾長は52.0～86.3 μm （平均70～80） μm で（If）、尾端透明部長は2.5～13.5 μm である（I-e）。
- 6) 交接刺は長さ15.3～24 μm で、先端は鋭く尖る（I-b, K-a）。交接のう（尾翼）（I-a, I-③）及び副刺（I-d, K-b）がある。
- 7) 精巣内の精子はひも状※1（H）。
- 8) a値=25.3-48.6, b値=5.5-10.3, b' 値= 3.7-6.8, c値=7.2-10.8, c' 値=3.9-8.5※2

※1. 見慣れない場合、粒子状に見えるので要注意。

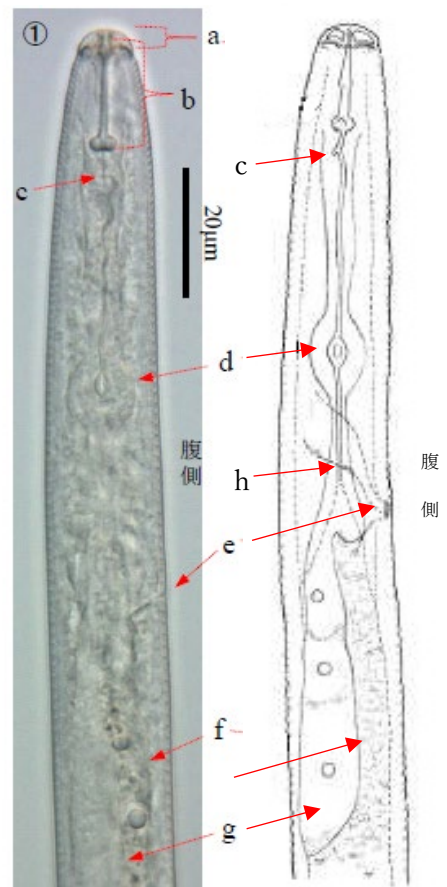
※2. a値：体長÷最大体幅、b値：体長÷食道長（頭端から食道と腸の接合部分（図B-h）までの長さ）、b' 値：体長÷頭端から食道延長部分の端までの長さ、c値：体長÷尾長（肛門又は総排出腔から尾端までの長さ）、c' 値：尾長÷肛門又は総排出腔部分の体幅

A. 成虫全体（左：雌成虫、右：雄成虫）



A-a: 唇部, b: 口針, c: 陰門, d: 総排出腔

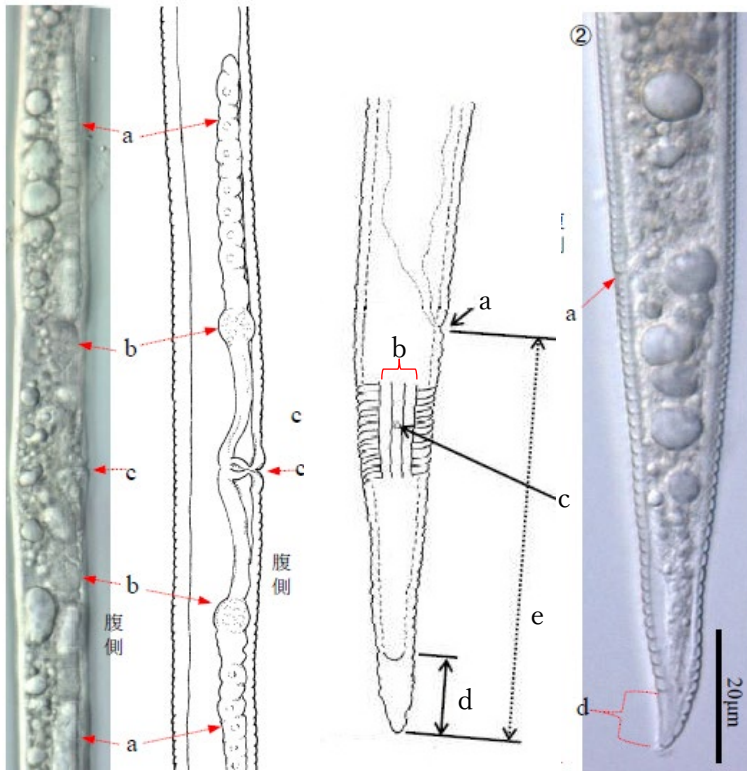
B. 雌成虫体前部



B-a: 唇部, b: 口針, c: 背部食道腺開口部, d: 中部食道球, e: 排泄口, f: 腸, g: 食道腺, h: 食道と腸の接合部分

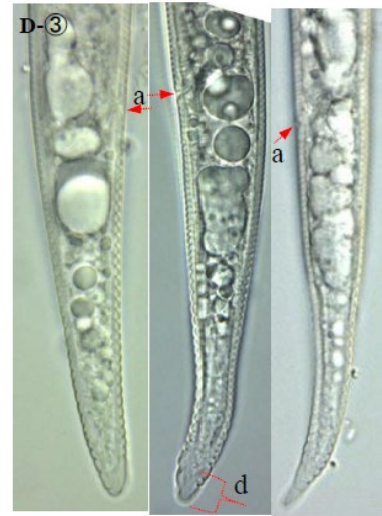
C. 雌成虫生殖器

D. 雌成虫尾部

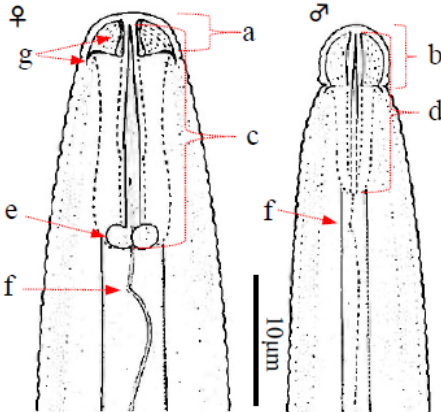


C-a: 卵巣, b: 受精のう, c: 陰門

D-a: 肛門, b: 側線, c: 幻器, d: 尾端透明部, e: 尾 (長)

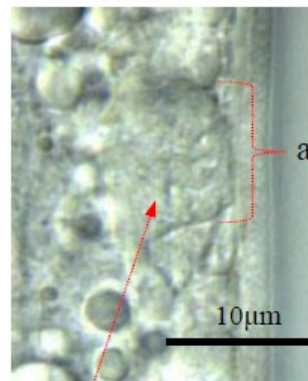


E. 雌雄成虫頭部



E-a, b: 唇部, c, d: 口針, e: 口針節球
f: 背部食道腺開口部, g: 唇部骨格

F. 受精のう (♀)

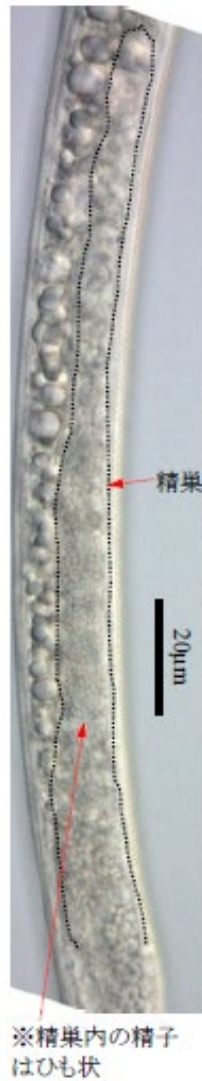


F-a: 受精のう
※ひも状の精子を保持する

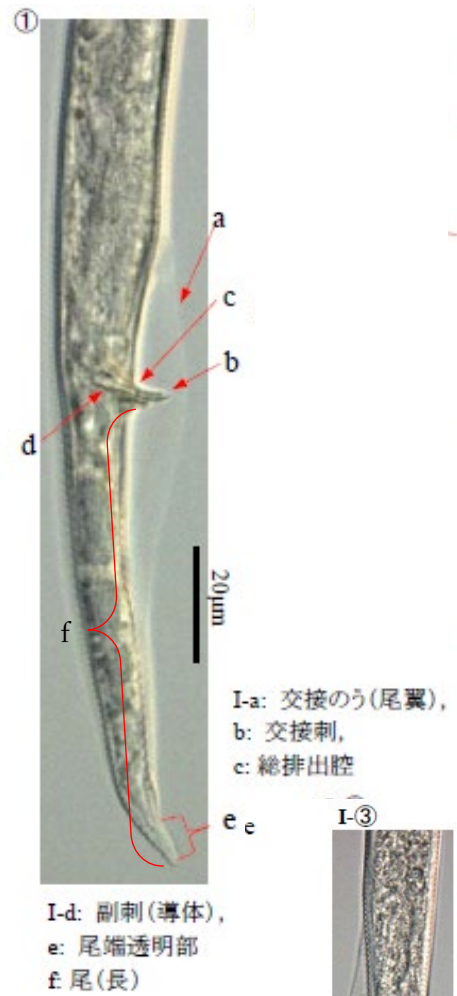
G. 雄成虫体前部



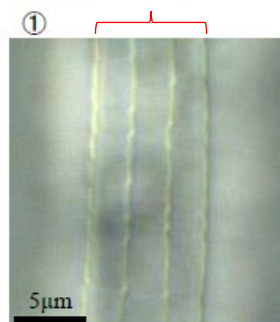
H. 精巢 (♂)



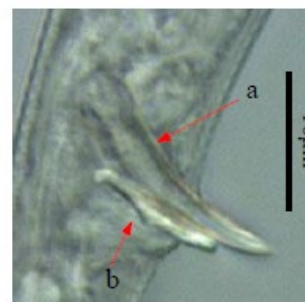
I. 雄成虫尾部



J. 側線 (♀)



K. 交接刺及び副刺 (♂)



図K-a: 交接刺、b: 副刺

※交接のうは長く伸長するが、後方は幅が狭く、分かりづらい。

(図A—K: 植物防疫所原図)

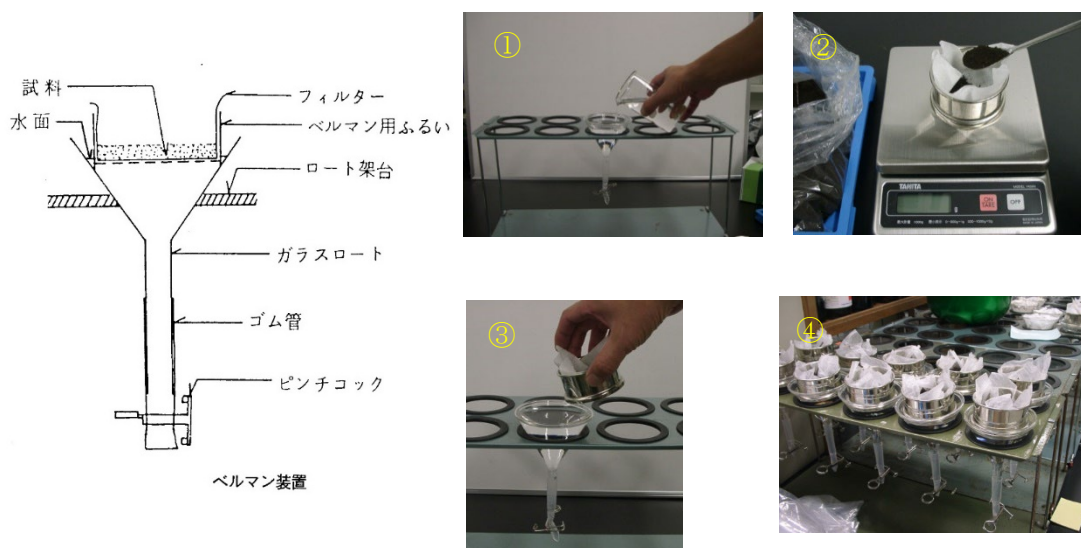
2) センチュウの分離法

採取した根等の植物体は小片に細断のうえ、ベルマン法又はミキサー・ふるい分け法で分離する。土壌についてはベルマン法又は篩い分け法で分離する。

より簡易的な検出方法としては、植物体を1～2 cmに細断し、シャーレに入れて水に浸す。これを20～25℃で72時間静置することで試料中のセンチュウが遊出する。

ア) ベルマン法

ベルマン法は簡便な方法であるため、最も広く利用されている分離法である。センチュウ自身の活動性及び重力を利用して、水に浸した土壌等のサンプルからセンチュウを分離する方法である。



手順

- ① 直径9～15 cm程のロートの端にゴム管をつないで ピンチコックで止め、ロート架台にセットし、ロートに水を満たす。
- ② 実験用ティッシュペーパーをベルマン用ふるいに敷き、その中に混合した土壌などの試料（土壌の場合は1反復当たり20gまで）ずつ入れる。
- ③ ベルマン用ふるいの底に気泡ができないように注意しながら、ロートの中に置く。
- ④ 試料中のセンチュウが徐々に遊出し、フィルターの目を通り抜けてロートの管の底まで沈降する。24～48時間静置した後、ベルマン用ふるいを取り外し、ロートの管の部分の水を残して、その他の水を捨てる。
なお、静置中は乾燥を防ぐため上側をラップ等で覆い、ベルマン用ふるいの下部が常に浸るよう、不足した水は適宜補給する。
- ⑤ ピンチコックを開いてシラキース時計皿にセンチュウを集め、実体顕微鏡下で検鏡する。

イ) (2) ミキサー・ふるい分け・ベルマン法

家庭用ミキサーを用いて根を砕き、網目の大きさの違うふるい（目開き 1 ～ 2 mm、目開き 25 μ m）を使用するかベルマン法を用いて根から線虫を分離する方法である。ベルマン法は線虫自身の活動性及び重力を利用して線虫を分離する方法であるが、ミキサーによる破碎作業を追加すると根内部に侵入した線虫の分離に有効である。以下にその手順を示す。

手順

- ① 植物体をよく水洗し、ハサミ等で 1 cm ぐらいの小片に切断した後、2 ～ 3 g をミキサーに入れ、植物体が浸る程度の水を加えて低速で 10 秒間植物体を破碎する。
- ② 目開き 1 ～ 2 mm のふるい、又はベルマン用ふるいに実験用ティッシュペーパーを敷き、破碎物をこしとり、ろ液は捨てる。ミキサー内に残さが残らないよう洗淨瓶ですべて洗い出す。
- ③ ベルマン用ふるいを用いた場合は、そのままベルマン法により線虫を回収する（前頁「ベルマン法」の手順③から始める）。
ふるいを用いる場合には、ふるいが収まる大きさのボールに水を張り、目開き 1 ～ 2 mm のふるいをセットする。水位は破碎物が浸る高さに調整する。
- ④ 水の蒸発を防ぐためラップ等でふるいを覆い、24 ～ 48 時間静置する。
- ⑤ ふるいを使用した場合、静置が終了したらボールの水を 25 μ m の目のふるいに注ぐ。ふるいに線虫が回収されるので、洗淨瓶でビーカーに洗い落とす。ベルマン装置を利用した場合はピンチコックを開いてシラキューズ時計皿に線虫を集める。

3) センチュウの標本作製

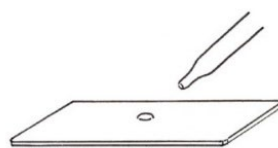
分離されたセンチュウをすぐに観察するには、水封入による一時プレパラートを作製することとなる。一時プレパラートは、カバーガラスの周りをマニキュア等でシールしても水分が蒸発するため、観察が可能な期間は一日程度である。

準備：透過可能な実体顕微鏡、スライドガラス、カバーガラス、水、ピンセット、柄付き針（先端を曲げたもの）、ガラス繊維、ろ紙片、マニキュアなどを準備する。

手順

- ① スライドガラスの上にスポイトで水を一滴置き、実体顕微鏡の傍に置いておく。

（水滴の径が3～4 mm 程度になるのが目安。しかし、水の広がり具合で量は違うので、ちょうど良い水の量を置くには練習が必要。）



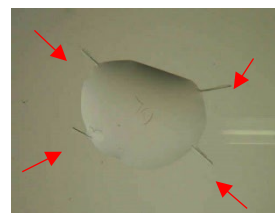
- ② 実体顕微鏡で透過照明（下からの光）を当てながらシラキウス時計皿のセンチュウを観察する。以下の点に注意しながら、生物顕微鏡で観察すべきセンチュウを見つける。

a) 口針の有無（口腔の形態）、b) 雌雄の確認 c) 食道部、d) 生殖器官（陰門の位置）等を観察する。（雌成虫での同定が主体となる）



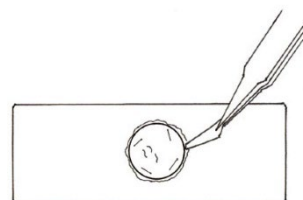
- ③ 上記②で見つけたセンチュウを、柄付き針で釣り上げ、スライドガラスの上に置いた水滴の中に沈める。

- ④ 水滴の周りにガラス繊維を4本程度置く（右写真）。

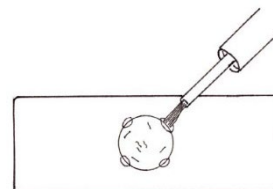


矢印はガラス繊維

- ⑤ カバーガラスを静かに被せる。カバーガラスから水が余分にはみ出すような場合は、ろ紙片で水を吸い取る。（このときセンチュウも一緒に吸い取られることがあるので、センチュウの位置を確かめ、センチュウから遠い位置で水を吸い取る。）



- ⑥ カバーガラスの周りをマニキュアでシールする。
まず4点にマニキュアを置き(右図)、固まってから
周囲に塗ると、カバーガラスがずれない。



- ⑦ ホットプレート(約70℃)上に数秒置き、熱殺して動きを止める。
ライターで炙るとセンチュウの内部構造が変形したり、体が破裂するの
で、ライターは使わない。

ウ 試料採取及び送付時の注意事項

- 1) 採取した試料(植物体及び土壌)を送付する場合、散逸しないように厳重に
梱包し、試料採取票(別記様式)を添付し、夏季の場合は保冷剤を入れて低温
に保った保冷箱等に収容して冷蔵のまま送付する。

また、植物体は、採取時の水分含量を極力、減少させないように、地下部に
土壌が付着している場合は土壌を落とさずそのままポリエチレン袋に入れる。

土壌のみを送付する場合は、表面が軽く乾いていて、手で握っても手が濡れ
ず、土壌が固まらない程度の含水状態が望ましい。余裕があれば、霧吹き等
による加湿や、室温風乾により水分含量を調節する。

- 2) ベルマン法等で分離したセンチュウを送付する場合、分離後2、3日中に送
付先で検鏡・同定ができるようにする。分離したセンチュウ懸濁液を容量3～
5ml程度のパッキング付きの硬質ガラス製ねじ口管瓶に入れて送付する。ただ
し、夏季の高温時には、新鮮な状態を保つために保冷容器等を使用することが
望ましい。

なお、ラベルは管瓶内に入れず、管瓶の表面に貼付するか、管瓶に整理番号を付し
て別紙一覧用を添付する。

エ 被害写真等

- 1) 寄主植物における症状
ア) トマト



図1. バナナネモグリセンチュウ
1,000頭接種2か月後のトマト
の根の状況。CK:線虫無接種;
WT:線虫接種

【引用文献】

Ke Wang, Yu Li, Xin Huang, Dong-Wei Wang, Chun-Ling Xu, Hui Xie (2016)
The cathepsin S cysteine proteinase of the burrowing nematode
Radopholus similis is essential for the reproduction and invasion
Cell Biosci. 2016 Jun 10;6:39. doi: 10.1186/s13578-016-0107-5.
eCollection 2016.

イ) サトイモ

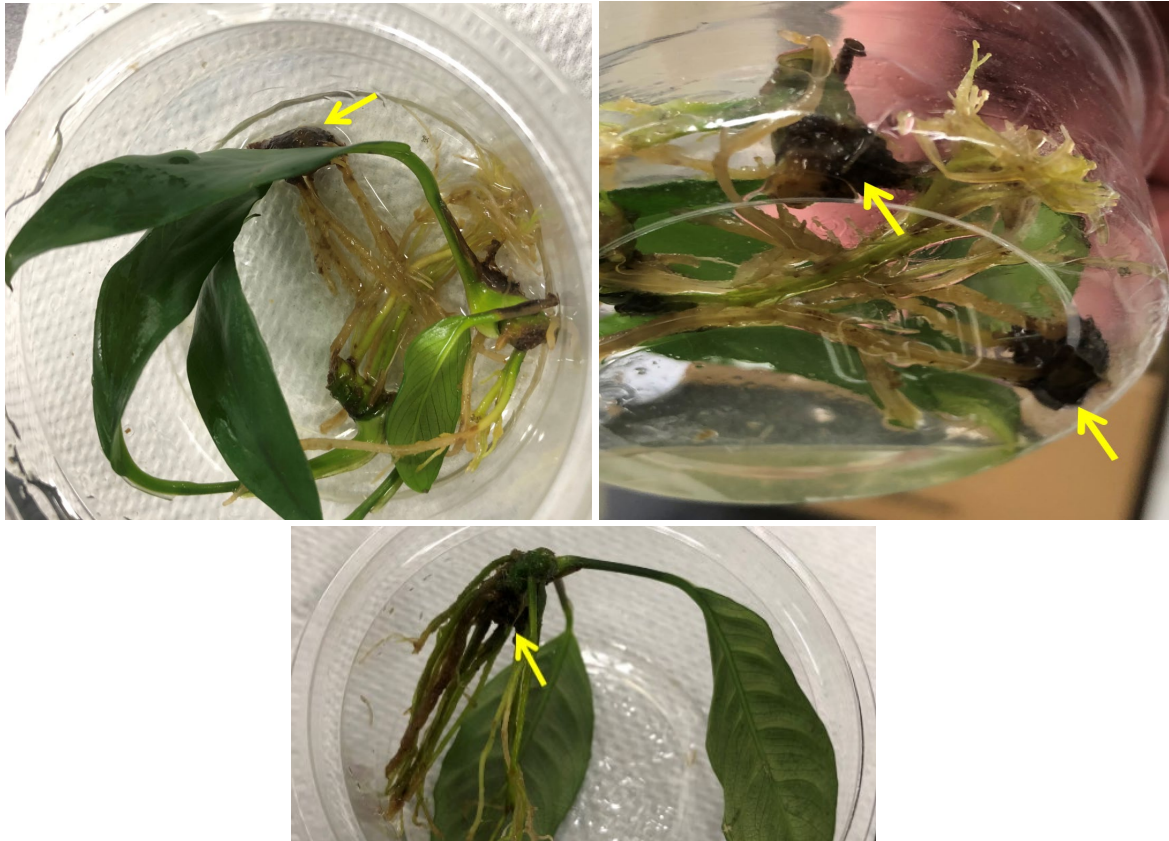


図2. サトイモ

Radopholus similis による被害（黄色矢印、根系中の
褐色根、褐色塊茎）（防除指針委託事業成果）

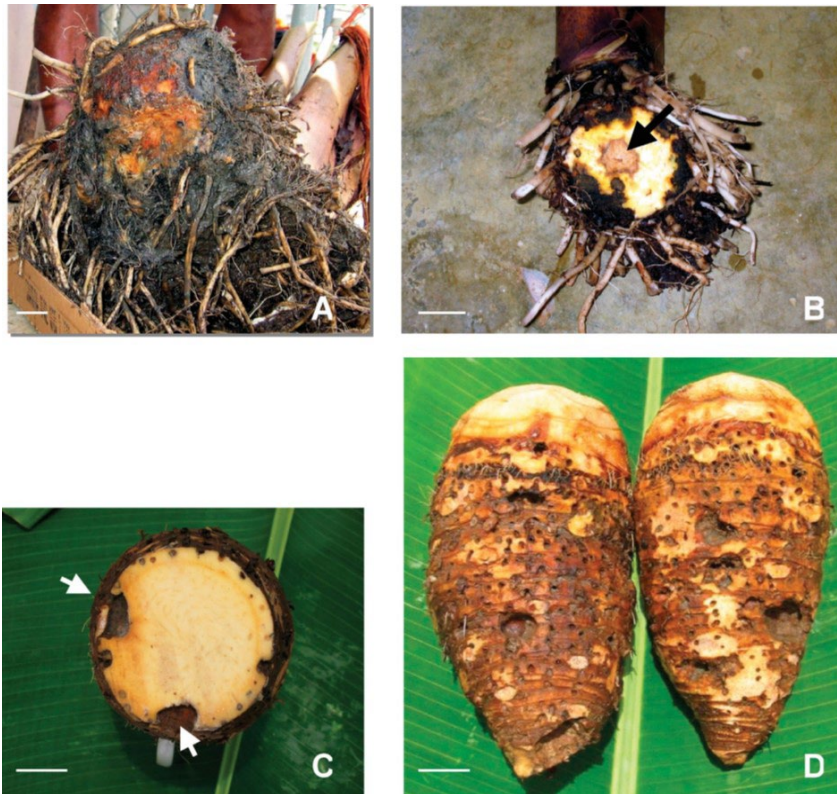


図3. *Radopholus similis* の寄生を受けたタロイモの1種 *Cyrtosperma merkusii*.
 A: 9年生の球茎、褐色に壊死した組織の腐敗部；B: 表層を斜めに切断した2年生の球茎、内部に黒褐色の壊死部；C: 半分に切断した8年生の球茎、組織が壊死、空洞化し、症状が内部に向かって進行する；D: 全体に寄生した球茎、表面に点刻のような穴が見られる。

【引用文献】

Murukesan, V. K., E. van Den Berg, L. R. Tiedt, P. C. Josekutty and D. de Waele (2005) Corm rot of giant swamp taro (*Cyrtosperma merkusii*) caused by the burrowing nematode *Radopholus similis* (Nematoda: Pratylenchidae) in the Pacific. *Nematology*, 7(4), 631-636

ウ) ショウガ ※転載の許諾が得られなかったことから URL 等を示す。

J. A. Cobon, A. B. Pattison, L. D. J. Penrose, K. A. Chandra, W. T. O' Neill and M. K. Smith (2019). Comparison of the reproduction and pathogenicity of isolates of *Radopholus similis* (burrowing nematode) from Australia and Fiji on ginger (*Zingiber officinale*) and banana (*Musa* spp.) Australasian Plant Pathology 48:529-539. <https://doi.org/10.1007/s13313-019-00656-w>

エ) カンキツ

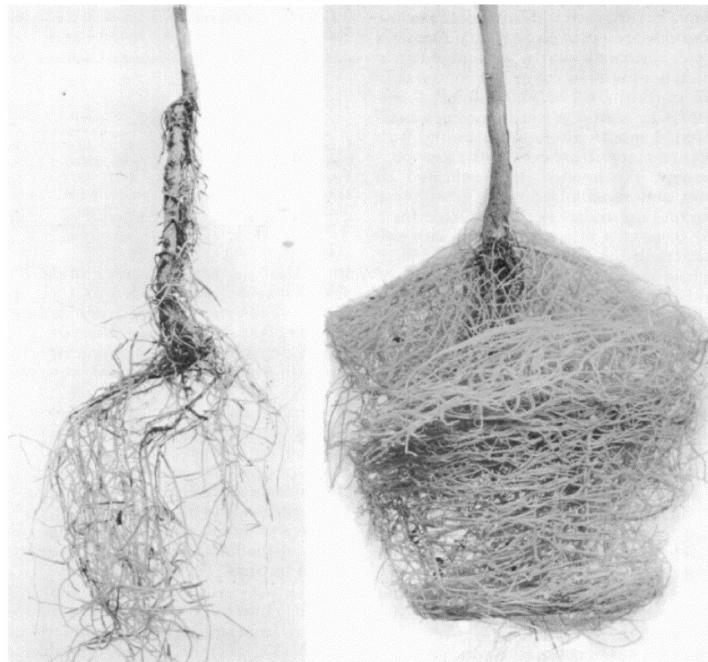


図4. *Radopholus citrophilus* 接種後5カ月のダイダイ *Citrus aurantium* の根系
左：フロリダ産 *R. citrophilus* 接種；右：オアフ産アンスリュームから分離された *R. citrophilus* 接種

【引用文献】 Huettel R. N., D. T. Kaplan and D. W. Dickson (1986)

Characterization of a New Burrowing Nematode Population, *Radopholus citrophilus*, from Hawaii. Journal of Nematology 18(1):50-54.

PMCID: PMC2618493



(その他写真) ※転載の許諾が得られなかったことからURL等を示す。

・カンキツの拡大性衰弱症状の写真

Sekora N. and Crow W. (2012). “Burrowing Nematode *Radopholus Similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949 (Nematoda: Secernentea: Tylenchida: Pratylenchidae: Pratylenchinae)” . EDIS 2012 (11).

<https://journals.flvc.org/edis/article/view/120297>.

オ) アンズリウム



図5. *Radopholus similis* による被害根（黄色矢印、根系下部の褐色根）
（防除指針委託事業成果、龍谷大学岩堀教授写真提供）

（その他写真）※転載の許諾が得られなかったことからURL等を示す。

Uchida J.Y, Sipes B.S. and Kadooka C.Y. (2003) Burrowing nematode on Anthurium: recognizing symptoms, understanding the pathogen, and preventing disease. College of Tropical Agriculture and Human Resources, PD-24.

カ) トウモロコシ

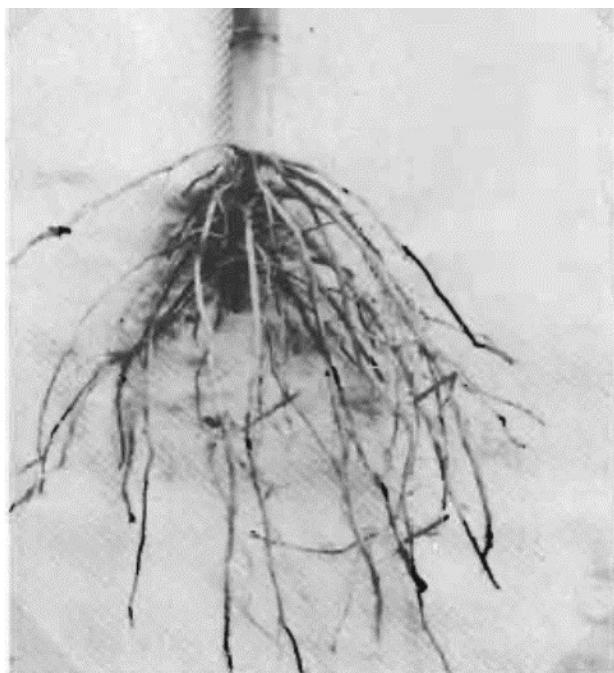


図6. *Radopholus similis* 接種 111 日後のトウモロコシの根の被害。暗褐色部が被害部

【引用文献】

Keetch D.P. (1972) Some host plants of the burrowing eel worm, *Radopholus similis* (Cobb) in Natal. *Phytophylactica* 4, 51-58.

キ) ラッカセイ



図7. *Radopholus similis* 接種 90 日後のラッカセイの根の被害。根と莢の暗褐色部が被害部

【引用文献】

Keetch D.P. (1972) Some host plants of the burrowing eel worm, *Radopholus similis* (Cobb) in Natal. *Phytophylactica* 4, 51-58.

ク) クズウコン属



図8. 右が健全株、左が被害株

【引用文献】

CABI (2021) *Radopholus similis*. In: Crop Protection Compendium. CAB International, Wallingford, UK. (Online) available from <<https://www.cabdigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.46685>> (Last modified: 2021-11-16)

オ 対象病害の解説

1) バナナネモグリセンチュウ

学名：*Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne. 1949

英名：banana burrowing nematode

分布：

アジア：インド、インドネシア、タイ、中華人民共和国、パキスタン、フィリピン、ベトナム、マレーシア、オマーン等

ヨーロッパ：英国、オランダ、デンマーク、ドイツ、フランス等

アフリカ：エジプト、エチオピア、カメルーン、タンザニア、ナイジェリア、マダガスカル、南アフリカ共和国等

北米：アメリカ合衆国、カナダ

中南米：エクアドル、グアテマラ、コスタリカ、コロンビア、パナマ、ブラジル、ペルー、メキシコ等

大洋州：オーストラリア、サモア、トンガ、パプアニューギニア、ハワイ諸島、フィジー等

寄主植物：アボカド、うこん、おくら、ココやし、さといも、さとうきび、しょうが、しょくようかん、だいしょ、ちゃ、とうもろこし、トマト、なす、ばれいしょ、ばんれいし、びんろうじゅ、めきしこいとすぎ、らっかせい、カラテア属植物、くずうこん属植物、コーヒーノキ属植物、こしょう属植物、ばしょう属植物、フィロデンドロン属植物、ブセファランドラ属植物、ふだんそう属植物、ほうらいしょう属植物、アヌビアス属植物及びアンスリウム属植物等

2) カンキツネモグリセンチュウ

学名：*Radopholus citrophilus* Huettel, Dicson & Kaplan 1984

英名：citrus burrowing nematode

分布：アメリカ合衆国、ハワイ諸島

寄主植物：アボカド、アルファルファ、いんげんまめ、オクラ、きだちとうがらし、こしょう、さつまいも、さとうきび、すいか、だいこん、だいず、テーダまつ、とうがらし、とうもろこし、トマト、にがうり、ピンアップル、ペポかぼちや、メロン、らっかせい、リーキ、れいし、アンスリウム属植物、ばしょう属植物、ふだんそう属植物及びみかん科植物

(以下、バナナネモグリセンチュウ及びカンキツネモグリセンチュウ共通)

生態：根の組織内部を移動する内部寄生性線虫である。多くの場合根端から侵入し、皮層の中を移動しながら摂食し、さらに、篩部と形成層を加害する。加害部の組織が壊死すると新鮮な組織へと移動する。

1) 繁殖様式

通常受精（有性生殖）により繁殖するが、単為生殖することもあるとされる。雌成虫は一生のうち2週間の産卵期間があり、寄生した組織で1日当たり平均4～5個の卵を産む。

2) 年間世代数

卵から次世代の卵まで生活環は24～32℃の時、20～25日で完了するため、年間複数世代が起きる。卵は産卵後8～10日後にふ化し、幼虫の期間は10～13日とされる。

3) その他

本種は湿潤土壌（27～36℃）で6箇月、乾燥土壌（29～39℃）では1箇月生存することができる。ガラス室の環境下では、より長期間（湿潤土壌（25.5～28.5℃）で15箇月、乾燥土壌（27～31℃）で3箇月）生存する。

分散：

1) 自然分散

一般に、土壌中におけるセンチュウ自身の移動は、ハガレセンチュウ類*Aphelenchoides* spp.) の例を除くと、1頭のセンチュウが1年又は一生のうちに移動する距離は、数cmから数十cm程度と考えられている。

2) 人為分散

本種は、寄生を受けた苗、塊茎、球茎等の寄主植物体地下部により移動分散するとされており、汚染された土壌、園芸資材等の移動でも伝搬される。

日本の例として、1966年、ハワイから八丈島に導入したアンスリウム苗を介し、本種が侵入したが、早期に緊急防除が行われた結果、翌年までに根絶作業は完了した。

防除：

防除手法として以下のものがある。

- ①化学的防除：くん蒸剤等の薬剤による防除
- ②耕種的防除：非寄主植物との輪作や抵抗性品種の利用等
- ③物理的防除：8週間の湛水处理、種苗の温湯処理等
- ④生物的防除：菌根菌等の利用

<参考文献>

- CABI (2020). Plantwise Knowledge Bank. burrowing nematode *Radopholus similis* <https://www.plantwise.org/knowledgebank/datasheet/46685>
- EFSA (2014). Scientific opinion on the pest of *Radopholus similis* (Cobb) Thorne and *Radopholus citrophilus* Huettel, Dickson and Kaplan. EFSA Journal 2014 12, 3852.
<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/j.efsa.2014.3852>
- EPP0 (2008). Diagnostics *Radopholus similis*. EPP0 Bulletin 38, 374-378.
- Fogain R. (2000). Effect of *Radopholus similis* on plant growth and yield of plantains (Musa, AAB). *Nematology* 2, 129-133.
- Gebremichael G.N. (2015). A review on biology and management of *Radopholus similis*. *Advances in Life Science and Technology* 36, 91-96.
- Haegeman A., Elsen A., Waele D.D., and Gheysen G. (2010). Emerging molecular knowledge on *Radopholus similis*, an important nematode pest of banana. *Molecular Plant Pathology* 11, 315-323
- Kaplan D.T. (1990). Screening for resistance to *Tylenchulus semipenetrans* and *Radopholus species*. In: Starr J.L. (ed.) Methods for evaluating plant species for resistance to plant-parasitic nematodes. The Society of Nematology, Hyattsville, Maryland, pp. 51-57.
- Krishana P.B. & Eapen S.J. (2019). Development of a real-time PCR based protocol for quantifying *Radopholus similis* in field samples. *Journal of Species and Aromatic Crops* 28: 52-60.
- Mai W.F., Mullin P.G., Lyon H.H., and Loeffler K. (1996). Plant-parasitic nematodes a pictorial key to genera. *Cornell University Press*, 140-144
- 三枝敏郎・松本安生・堀江典昭・永沢実 (1968) 八丈島におけるミカンネモグリセンチュウ *Radopholus similis* (Cobb) Thorne の分布と寄生植物. 植物防疫所調査研究報告 6: 41-42.
- 水久保隆之・二井一禎 (編) (2014) 線虫学実験. 京都大学学術出版会、京都、324pp.
- Murukesan V.K., VAN DEN Berg E., Tiedt L.R., Josekutty P.C. and DE Waele D. (2005). Corm rot of giant swamp taro (*Cyrtosperma merkusii*) caused by the burrowing nematode *Radopholus similis*

- (Nematoda: Pratylenchidae) in the Pacific. *Nematology*, Vol. 7(4), 631-636.
- Myers R., Bushe B., Mello C., Lichty J., Hara A., Wang K., and Sipes B. (2020). Yield increases in burrowing nematode-infested Anthurium with Fluopyram and Trifloxystrobin applications. *Hort Technology*
- NEMAPLEX (2020). Nematode Host Range Search. Host Range of a Genus and species of Plant-feeding Nematodes.
<http://nemaplex.ucdavis.edu/Nemabase2010/NematodePageHostRangeResults.aspx?NgenusNspec=Radopholus+similis> (access 20201022)
- 農林省横浜植物防疫所・東京都 (1968) 八丈島におけるミカンネモグリセンチュウの緊急防除事業実績報告
- Plowright R, Dusabe J, Coyne D, Speijer P. (2013). Analysis of the pathogenic variability and genetic diversity of the plant-parasitic nematode *Radopholus similis* on bananas. *Nematology* 15, 41-56.
- Siddiqi M.R. (2000). Tylenchida parasite of plants and insects 2nd edition, 340-358
- Seenivasan N. (2017). Management of *Radopholus similis* and *Helicotylenchus multicinctus* in ratoon banana grown under high density planting systems. *International Journal of Fruit Science* 17, 41-62.
- Seenivasan N., Manoranjitham S.K., Auxilia J., and Soorianathasundaram K. (2013). Management of nematodes in banana through bio-rational approaches. *Pest Management in Horticultural Ecosystems* 19, 38-44.
- Sekora N. and Crow W. (2012). “Burrowing Nematode *Radopholus Similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949 (Nematoda: Secernentea: Tylenchida: Pratylenchidae: Pratylenchinae)” . EDIS 2012 (11).
<https://journals.flvc.org/edis/article/view/120297>.
- Shanthi A., and Rajendran G. (2006). Biological control of lesion nematodes in banana. *Nematologia Mediterranea* 34, 69-75.
- Thammaiah N., Shirol A.M., Kanamadi V.C., and Swamy G.S.K. (2007.) Control of banana nematodes (*Radopholus similis*) using intercrop. *Asian Journal of Horticulture* 2, 24-28.
- Tennant P.F., Robinson D., Fisher L., Bennett S., Hutton D., Coates-Beckford P., and Laughlin W.M. (2009). Diseases and pests of citrus (*Citrus* spp.). *Tree and Forestry Science and Biotechnology*

3, 81-107.

東京都農林部（1969）八丈島におけるミカンネモグリセンチュウの緊急防除事業実績報告（II）

Uchida J.Y., Sipes B.S. and Kadooka C.Y., 2003. Burrowing nematode on Anthurium: recognizing symptoms, understanding the pathogen, and preventing disease. College of Tropical Agriculture and Human Resources, PD-24.

横浜植物防疫所（2020a）*Radopholus similis*（バナナネモグリセンチュウ）に関する病害虫リスクアナリシス報告書. 農林水産省.

<https://www.maff.go.jp/j/syouan/keneki/kikaku/attach/pdf/prareport-56.pdf>

横浜植物防疫所（2020b）統計レポート 11. 輸入植物品目別・国別検査表 栽植用植物 2019（令和元）年

<http://www.pps.go.jp/TokeiWWW/Pages/report/index.xhtml>

【更新履歴】

2023 年 12 月 4 日 クズウコン属写真を追加

参考：（CPC にクリエイティブコモンズのマークあり）（↓は確認用参考であり、最終的に消します）

 | Datasheet | Enhanced |     | 16 November 2021

Radopholus similis (burrowing nematode)

Author: CABI | [AUTHORS INFO & AFFILIATIONS](#)

8. ネコブセンチュウ類

①コロンビアネコブセンチュウ (*Meloidogyne chitwoodi*)

②*Meloidogyne enterolobii*

〔※ ネコブセンチュウ類は調査方法が似ているため、ここではコロンビアネコブセンチュウと*Meloidogyne enterolobii*をまとめて記述する。〕

ア 調査

【調査対象植物】

- ①馬鈴しょ、トマト
- ②トマト

【調査時期】

調査は、対象植物の生育期間中に年1回以上実施する。

【調査方法及び調査内容】

- 1) 調査は、上記の調査対象植物の中から選定した上で、調査地点を設定する。なお、調査地点は各都道府県内で偏りが生じないように留意する。
- 2) 設定した調査地点当たり10株の十分生育した植物体を対象に、生育不良等の異常株がないか目視で調査する。
- 3) 異常株があった場合は、異常を示す株の抜き取り又は周囲を掘り返すことにより、根系への根こぶの有無を確認し、根系にこぶが形成され、他の病害や生理障害の関与がないか目視で確認する。なお、基本的に植物の生育期間中に異常株の抜き取り等を行うこととするが、生育期間中の抜き取り等が難しい場合には、栽培終了直後の抜き取りでも確認可能である。寄生が疑わしい場合は、症状を示している部位や株全体、周囲の様子等をデジタルカメラ等で撮影した上で、試料を採取する。
- 4) また、馬鈴しょ塊茎を用いた調査を行う場合は、調査対象の地域やほ場から収穫し貯蔵中の塊茎について、ほ場当たり10株分程度を確認し、病徴写真を参考にして、寄生による症状の有無を確認する。寄生が疑わしい症状があった場合は、デジタルカメラ等で撮影した上で、塊茎の皮をむいて線虫を採取する。

【調査に当たっての留意事項】

1) 発見のポイント

地下部の特徴的な病徴である根こぶの観察からネコブセンチュウの寄生を確認する。特に在来のネコブセンチュウ種が寄生しにくい馬鈴しょで被害症状が発生した場合は本種の寄生を疑う。

ア) 馬鈴しょ：塊茎表面に小さな吹き出物のような多数の隆起を引き起す。

寄生が多いと地上部に生育不良が出る。

イ) トマト : 寄生が著しい場合、地上部に生育不良、萎ちょう、葉の黄化が見られる。

イ 同定診断手法

採取または送付された試料について、以下の手順で検定を実施する。なお、寄主植物での症状及び線虫の形態的特徴はネコブセンチュウ種間で類似するため、簡易同定法として遺伝子診断（PCR検定）を行う。

また、雌成虫の会陰門や第2期幼虫の形態によっても同定が可能であるが同定には熟練を要するため、線虫の専門知識を有する者に同定を依頼する。

1) 線虫の分離

調査によって得られた線虫寄生根の根こぶ部分をメス等を用いて解剖して雌成虫を取り出すか、根に付着した卵のうを25℃程度の水中に保存してふ化させて第2期幼虫を得る。馬鈴しょ塊茎では、線虫が小さな吹き出物のような多数の隆起を引き起こすので、当該部分をメス等で解剖して雌成虫を取り出す。根等が利用できない場合は、土壌からベルマン法で第2期幼虫を分離する。

<参考情報>

ネコブセンチュウの解剖方法

- ① 肉眼又は実態顕微鏡を用いて、根こぶ（ゴール）のある根や塊茎のこぶの部分を解剖ばさみやメスで切り取り水を入れたシャーレやシラキウス時計皿等に移す。
- ② 雌成虫は根こぶの組織内部に埋まった状態に入っている。メスとピンセットを用いて根こぶの入った組織を少しずつ切開して、1mm弱（0.43～0.74mm）の乳白色で洋ナシ形をした雌成虫を摘出する。

2) 遺伝子診断

調査によって得られた線虫からDNAを抽出しPCR等の遺伝子調査によって種を判別する。尚、同定診断については専門家あるいは最寄りの植物防疫所に相談すること

ウ 試料採取及び送付時の注意事項

- 1) 採取した試料は、試料の確認に必要な事項（採取月日、採取場所、写真等）を記録した試料採取票（別記様式）を添付した上で、ビニール袋に入れ、輸送するまでクーラーボックス等（10℃）もしくは冷暗条件で保管する。
- 2) 試料の採取部位、病徴及び採取票に記録した内容等は、別途、調査野帳等に記録する。
- 3) 採取した試料は、散逸しないように厳重に梱包し、保冷剤を入れて低温に保った保冷箱等に収容して冷温のまま速やかに送付する。

エ 病徴写真等

1) 寄主植物における病徴

ア) コロンビアネコブセンチュウ

a) トマト



図1．根上の卵のう（スケールは最小メモリが0.5mm）
（防疫指針委託事業成果）



図2．根上の根こぶ
（防疫指針委託事業成果）



図3．根上の卵のう（ブリリアントブルーで染色）
（防疫指針委託事業成果）

b) 馬鈴しょ



図4．塊茎での症状（右：健全サンプル）
（NPP0 of the Netherlands、EPP0 より）



Meloidogyne chitwoodi (MELGCH) = <https://gd.eppo.int>

図5. 塊茎の表皮下の寄生痕
(NPP0 of the Netherlands、EPP0 より)

イ) *Meloidogyne enterolobii*

a) トマト



図6



図7

*Meloidogyne enterolobii*による根こぶ（こぶが大きく発達する）
(龍谷大学岩堀英晶教授提供)

2) 線虫

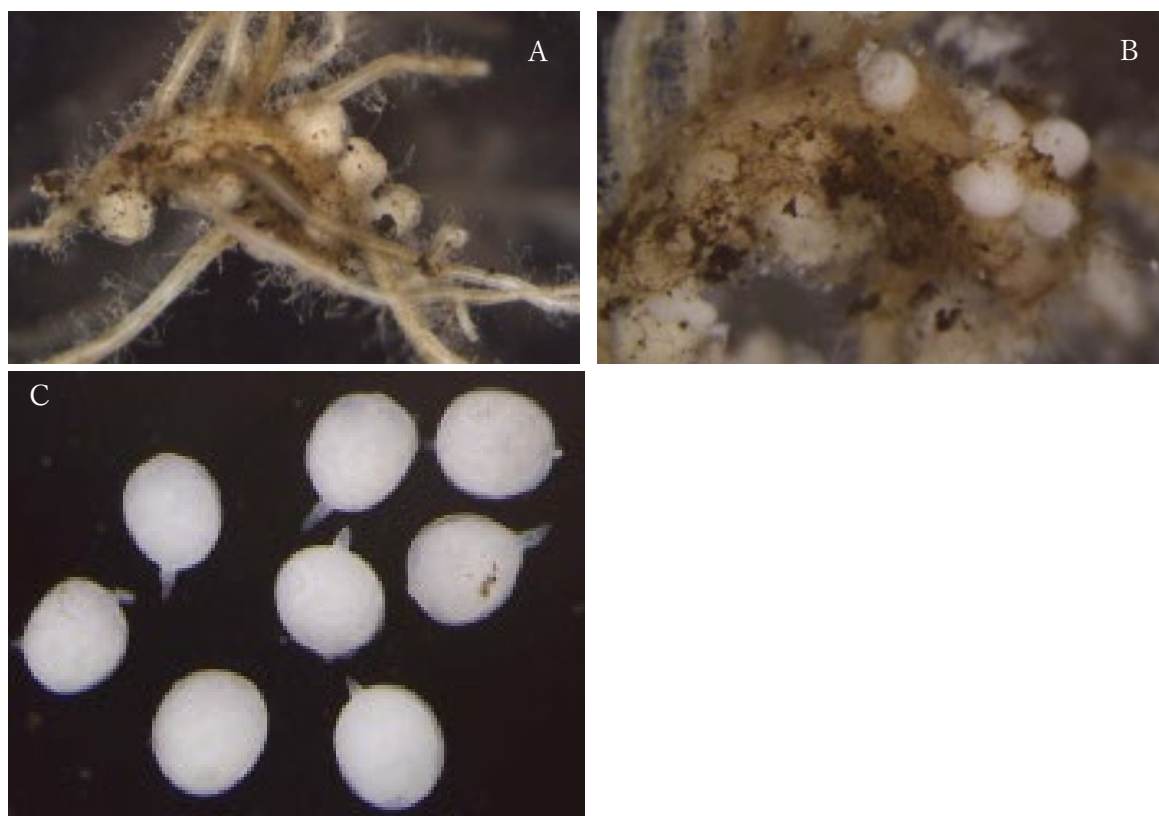


図 8. コロンビアネコブセンチュウ (植物防疫所原図)

A: コブのできた被害根 (コブの上に卵のうが見られる)、B: 雌成虫 (卵のうを除去したところ)、
C: 根から摘出した雌成虫



図 9. *M. enterolobii* の第 2 期幼虫
(龍谷大学岩堀英晶教授提供)

オ 対象害虫の解説

①コロンビアネコブセンチュウ

学名：*Meloidogyne chitwoodi* Golden, O'Bannon, Santo & Finley, 1980

英名、和名等：Columbia root-knot nematode

分布：トルコ、オランダ、スウェーデン、ドイツ、フランス、ベルギー、ポルトガル、南アフリカ共和国、アメリカ合衆国、アルゼンチン、メキシコ

寄主植物：テンサイ、ドイツアヤメ、エンバク、オオムギ、コムギ、トウモロコシイロハモミジ、コブカエデ、ヨーロッパカエデ、ヨーロッパシラカンバ、キクゴボウ、キミキフガ・ラケモサ、ケマンソウ、ハナケマンソウ、ロニケラ・クシロステウム、ニンジン、エリカ・キネレア、トマト、バレイショ、ポテンティラ・フルティコサ、アルファルフア、インゲンマメ、エンドウなど

形態：雄成虫と第2期幼虫は糸状、雌成虫は特徴的な洋なし型をしており、真珠光沢のある白色を示す。雌は体長430～740 μm 、体幅344～518 μm である。第2期幼虫は、体長336～417 μm 、体幅12.5～15.5 μm 、尾は短く39～47 μm で、先端部分は透明な円筒状である。雄は体長887～1268 μm 、体幅は22～37 μm で両端は次第に細くなっている。尾は短く4.7～9.0 μm で先端は丸くなっている。体環は明瞭である。卵は、長さ79～92 μm 、幅40～46 μm である。

生態：雄成虫と第2期幼虫は運動性があるが、雌成虫は寄主植物の根に定着して寄生する。適切な環境下であれば、1世代は約3～4週間であり、年間3～5世代の発生であると考えられている。*Meloidogyne*属の幼虫は寄主植物なしでも1年以上生き続けることができる。本種は卵または幼虫で越冬し、氷点下でも生き残ることができる。本種はふ化及び根へ入り込むには最低4℃の温度が必要で、発育のためには最低6℃が必要である。

(Inserra et al., 1985 ; Charchar and Santo, 2001)

分散：

1) 自然分散 (CABI, 2019)

土壌伝搬する。本種の移動分散能力は非常に限定されている。第2期幼虫及び雄成虫は移動能力を有するがその距離は数十cmほどである。灌漑水により線虫が移動する。

2) 人為分散 (CABI, 2019)

本種が新しい地域へ侵入するための主な方法は、被害を受けた植物又は汚染された培養資材の移動によるものであり、本種が寄生した球根や

地下茎又は生産物により運ばれる。更に、非寄主植物の苗類や農機具等に当該線虫の汚染土壌が付着して移動することによっても、本種は分散する。

防除：クロルピクリン、DD 剤、ダゾメット粒剤、イミシアホス剤などの土壌くん蒸剤などによる防除及び非宿主作物の3年以上の栽培等、他のネコブセンチュウ種に準じた防除を行う。また、発生ほ場からの土壌の持ち出しを防ぐため、使用農機は移動前に当該ほ場で付着土壌を確実に落とす、作業者はオーバーシューズを着用するなどの措置を講じる。線虫汚染の可能性のあるほ場資材、植物残渣などは焼却処分する。

② *Meloidogyne enterolobii*

学名：*Meloidogyne enterolobii* Yang & Eisenback, 1983

英名、和名等：Pacara earpod tree root-knot nematode, Guava root-knot nematode

分布：インド、スリランカ、タイ、中華人民共和国（香港を除く。）、台湾、ベトナム、スイス、ポルトガル、コートジボワール、セネガル、ブルキナファソ、マラウイ、南アフリカ共和国、ケニア、ナイジェリア、ニジェール、アメリカ合衆国（ハワイ諸島を含まない。）、グアテマラ、コスタリカ、ブラジル、ベネズエラ、メキシコ、キューバ、トリニダード・トバゴ、プエルトリコ、マルティニーク

寄主植物：アラビアコーヒー、クチナシ、スイカ、キュウリ、ペポカボチャ、アセロラ、ナツメ、パラミツ、ショウガ、ニンジン、キャッサバ、トウガラシ、トマト、タバコ、ナス、サツマイモ、バンジロウ、ダイズなど

形態：第2期幼虫は細長く、環状で両方の先端はさらに細くなっている。体長は250～700 μm 、体幅は12～18 μm 、尾の長さは15～100 μm で、尾端透明部長が5～30 μm である。雌は洋梨型の球状、真珠のような白色を示す。体長は400～1,300 μm で、体幅300～700 μm である。雄は細長く、体長700～2,000 μm 、体幅25～45 μm である。

生態：雌成虫は400～600 個の卵を産む。なお、本種の単為生殖に関する情報はないが、他の *Meloidogyne* 属はほぼ単為生殖である。

1世代の期間は好適環境下で4～5週間。幼虫は成虫になるまで、3回脱皮を繰り返す(EPP0, 2014a)。20℃の環境の場合、1世代6週間となる(Karssen & Moens, 2006)。

分散：

1) 自然分散

土壌伝搬する。土壌中における線虫自身の移動は数十cm 程度に限られる (EPP0, 2014a) が、年間で数m との報告もある。(EPP0, 2011)

2) 人為分散 (EPP0, 2014a)

主要な分散方法は、汚染された園芸資材や土、寄主となる根付き植物や、車両、機械、植物に付着した土壌、灌水である。

防除：寄主でない植物の栽培又は休耕を実施することが、密度の低減に最も効果的である。一般的に侵入したネコブセンチュウの根絶は困難である。

<参考文献>

EPP0 文書、<https://gd.eppo.int/taxon/MELGCH/documents>、PM9/017 (1)

Meloidogyne chitwoodi and *Meloidogyne fallax*

EPP0 文書、<https://gd.eppo.int/taxon/MELGCH/documents>、Data sheet on *Meloidogyne chitwoodi*

EPP0 文書、<https://gd.eppo.int/taxon/MELGCH/documents>、PM3/069 (2)

Meloidogyne chitwoodi and *M. fallax*: sampling potato tubers for detection

EPP0 文書、<https://gd.eppo.int/taxon/MELGCH/documents>、PM7/041 (3)

Meloidogyne chitwoodi and *M. fallax*

日本植物防疫協会ウェブサイト JPP-NET、<http://web1.jppn.ne.jp/member/>

EPP0 (2014) *Meloidogyne enterolobii*. EPP0 Bulletin, 44 (2), 159-163.

Cetintas, R, Kaur R, Brito JA, Mendes ML, Nyczepir AP and Dickson DW

(2007) Pathogenicity and reproductive potential of *Meloidogyne mayaguensis* and *M. floridensis* compared with three common *Meloidogyne* spp. Nematropica, 37, 21-31.

EPP0 (2018) Pest Risk Analysis report for *Meloidogyne enterolobii* (10-16246rev). <https://pra.eppo.int/pra/b3f5ee8e-0551-4c8f-84fc-2fb729bb3dd8> ※出版年は左記ページの記載に従ったが、内容は2019年に一部改訂されている。

Kiewnick S, Frey JE and Braun-Kiewnick, A (2015) Development and validation of LNA-based quantitative real-time PCR assays for detection and identification of the root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii* in complex DNA backgrounds. Phytopathology, 105, 1245-1249.

Braun-Kiewnick A, Viaene N, Folcher L, Ollivier F, Anthoine G, Niere B, Sapp M, van de Vossenberg B, Toktay H and Kiewnick S (2016)

- Assessment of a new qPCR tool for the detection and identification of the root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii* by an international test performance study. *European Journal of Plant Pathology*, 144, 97-108.
- EPP0 (2013) PM 9/17(1) *Meloidogyne chitwoodi* and *Meloidogyne fallax*. EPP0 Bulletin, 43(3), 527-533.
- Quesada-Ocampo (2018) Sweetpotato Root Knot Nematode, Vegetable Pathology Factsheets. <https://content.ces.ncsu.edu/sweetpotato-root-knot-nematode>.
- EPP0 (2018) Pest Risk Analysis record for *Meloidogyne enterolobii*. <https://pra.eppo.int/pra/b3f5ee8e-0551-4c8f-84fc-2fb729bb3dd8>
- Gamon A and Lenne N (2012) *Meloidogyne chitwoodi* and *Meloidogyne fallax* in France: initial management experiences. EPP0 Bulletin, 42, 122-126.
- DeBrida AL, Castro BMC2, Zanuncio JC, Serrao JE and Wilcken SRS (2018) Oat, wheat and sorghum cultivars for the management of *Meloidogyne enterolobii*. *Nematology*, 20, 169-173.
- Guimaraes LMP, Moura RM de and Pedrosa EMR (2003) *Meloidogyne mayaguensis* parasitism on different plant species. *Nematologia Brasileira*, 27, 139-145.
- Hajihassani A, Rutter WB, Schwarz T, Woldemeskel M, Emran Ali ME and Hamidi N (2020) Characterization of resistance to major tropical root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in *Solanum sisymbriifolium*. *Phytopathology* 110, 666-673.
- Rodriguez MG, Sanchez L & Rowe J (2003) Host status of agriculturally important plant families to the root-knot nematode *Meloidogyne mayaguensis* in Cuba. *Nematropica*, 33, 125-130.
- Tiango M, de Siqueira K, Castagnone-Sereno P, Mulet K, Queiroz P, dos Santos M, Teixeira C, Almeida M, Silva J and Carneiro R (2010) Genetic diversity of the root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii* and development of a SCAR marker for this guava-damaging species. *Plant Pathology* 59, 1054-1061
- Orui Y (1998) Identification of Japanese species of the genus *Meloidogyne* (Nematoda: Meloidogynenidae) by PCR-RFLP analysis. *Applied Entomology and Zoology* 33, 43-51.
- 水久保隆之・二井一禎 (編) (2014) 線虫学実験. 京都大学学術出版会、京都、 324 pp.
- Hu MX, Zhuo K and Liao JL (2011) Multiplex PCR for the simultaneous

- identification and detection of *Meloidogyne incognita*, *M. enterolobii*, and *M. javanica* using DNA extracted directly from individual galls. *Phytopathology* 101, 1270-1277.
- EPP0 (2016) PM 7/103 (2) *Meloidogyne enterolobii*. EPP0 Bulletin, 46, 190-201.
- Plant Pests and Diseases Programs / Golden Nematode.
<https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/planthealth/plant-pest-and-disease-programs/pests-and-diseases/golden-nematode/nematodes>
- Plant Pests and Diseases Programs / Pale cyst Nematode.
<https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/planthealth/plant-pest-and-disease-programs/pests-and-diseases/nematode/pcn>
- EPP0 (2018) PM 9/26 (1) National regulatory control system for *Globodera pallida* and *Globodera rostochiensis*. EPP0 Bulletin 48 (3), 516-532.
- 農林水産省 (2020) *Meloidogyne chitwoodi* (コロンビアネコブセンチュウ) に関する病害虫リスクアナリシス報告書
- 農林水産省 (2020) *Meloidogyne enterolobii*に関する病害虫リスクアナリシス報告書
- EPP0 (2011) *Meloidogyne enterolobii*. Bulletin OEPP/EPP0 Bulletin, 41, 329-339
- CABI (2019) *Meloidogyne chitwoodi*. In: Crop Protection Compendium. CAB International, Wallingford, UK. (Online) available from
 <<https://www.cabi.org/cpc/datasheet/33235>> (Last modified: 2019-11-22)

20. *Pepino mosaic virus*（以下「PepMV」という。）

ア 調査

【調査対象植物】

トマト

【調査時期】

調査は、対象植物の生育中期から後期に年1回実施する。なお、伸長期又は着果期に症状が確認しやすいので、必要に応じて中期と後期の2回調査を実施する。

【調査方法及び調査内容】

- 1) 上記の調査対象植物について、調査地点を設定する。なお、調査地点は各都道府県内で偏りが生じないように留意する。
- 2) 設定した調査地点において、生育不良株等を中心に10株（なければランダムに10株）を対象に、病徴写真を参考にしつつ、PepMVに感染した植物で見られるような葉のモザイク症状、黄斑・葉の奇形及び果実の着色不良等の症状の有無を目視で調査する。
- 3) PepMVの感染が疑わしい場合は、発症部位や発症部位を含む茎葉や株全体、周囲の様子等をデジタルカメラ等で撮影した上で、試料を採取し遺伝子診断等を実施する。

【調査に当たっての留意事項】

- 1) 症状が似ている場合でも発生が平時と変わらなければ積極的にサンプリングしなくて良い。
- 2) PepMVの系統とトマトの品種により、無病徴感染する場合がある。

イ 同定診断手法（P）

採取または送付された試料について、以下の手順でコンベンショナルRT-PCR法又はリアルタイムRT-PCR法による遺伝子診断を実施する。なお、簡易同定法として、イムノクロマト法によりトマト罹病葉からPepMVの検出が可能であるが、陽性が確認された場合はコンベンショナルRT-PCR法又はリアルタイムRT-PCR法による遺伝子診断を実施する。

1) 血清学的診断

簡易検出キット（イムノクロマト法）が販売されているため、キット付属の取扱説明書に従って検定する。

2) 遺伝子診断

2) — 1 コンベンショナル RT-PCR 法

- ア) 市販のキット等を用い、採取したサンプルから RNA を抽出する。RNA 抽出は、キット付属のプロトコルに従い実施する。
- イ) 抽出した RNA を鋳型にして RT-PCR を表 1 のプライマーセットを用いて行う。RT-PCR は市販のキット等を用いて行う。
- なお、反応液の組成及び反応条件はキット付属のプロトコルを参照のこと。
- ウ) 電気泳動によって増幅産物のサイズが PepMV の予定長の増幅サイズ (202 bp) であるか確認する。

表 1 PepMV 検出用プライマー (コンベンショナル RT-PCR 法)

名前	塩基配列 (5' -3')	増幅 サイズ	アニーリング 温度	参考文献
KL05-13	GTC CTC ACC AAT AAA TTT AG	202	55℃	Ling et al., 2008
KL05-14	AGG AAA ACT TAA CCC GTT C			

(プライマー終濃度各 0.2uM)

2-2) リアルタイム RT-PCR 法

- ア) 2) - 1 のア) と同様に RNA 抽出を行う。
- イ) 抽出した RNA を鋳型にしてリアルタイム RT-PCR を表 2 のプライマー・プローブを用いて行う。リアルタイム RT-PCR は市販のキット等を用いて行う。
- なお、反応液の組成及び反応条件はキット付属のプロトコルを参照のこと。
- ウ) ISHI (2023a, b) の方法で実施した場合、Ct 値が 37 以下の検体を陽性とし、それ以外の検体を陰性とする。なお、ISHI (2023a, b) 記載の反応試薬以外を使用した場合、判定法に変更を要する場合がある。

表 2 PepMV 検出用プライマー・プローブ (リアルタイム RT-PCR 法)

名前	塩基配列 (5' -3')	参考文献
KL05_48	ACT CCT AGA GCT GAC CTC AC	ISHI, 2023a, b
KL05_49	ACT CCT AGA GCT GAT CTT AC	
KL05_51	TCT CCA GCA ACA GGT TGG TA	
KL05_52	TCA CCT GCA ACT GGT TGA TA	
NAKT05_50	FAM - TGT CAG CTT GCA TTT ACT TC - MGB	

(プライマー・プローブ終濃度各 0.2uM)

ウ 試料採取及び送付時の注意事項

- 1) 試料を採取する宿主植物には、PepMVが検出された場合を想定し、試料採取前に目印を付ける。

- 2) 試料の採取に当たっては、症状のある部位を含むよう 1 株あたり 5 枚の若葉を採取する。検定には葉柄または中肋（葉の中央の主脈）が適していることから、その部分を確実に採取できるよう留意する。
- 3) 調査を実施したほ場内に病徴を示す株が複数ある場合は、株ごとに手袋を交換し、せん定ばさみ等の器具類についても、株ごとに有効塩素濃度 1%次亜塩素酸ナトリウム水溶液等に60秒以上浸漬することにより消毒して使用する。
- 4) 採取した試料は、試料の確認に必要な事項（採取月日、採取場所、写真等）を記録した試料採取票（別記様式）を添付した上で、ビニール袋に入れ、輸送するまでクーラーボックス等（4℃）に保管する。
- 5) 試料の採取部位、病徴及び採取票に記録した内容等は、調査野帳に記録する。
- 6) 採取した試料を送付する場合は、散逸しないように厳重に梱包し、保冷剤を入れて低温に保った保冷箱等に収容して冷温のまま送付する。
- 7) 採取した試料を長期保管する場合は、冷凍保管（-80℃）する。

エ 病徴写真等

宿主植物における病徴



図1 トマト葉の病徴（防除指針委託事業成果）
（モザイク症状、黄斑・奇形）



図2 トマト葉の病徴 (R. van der Vlugt, EPP0 より)
(左図：黄斑、右図：葉の奇形)

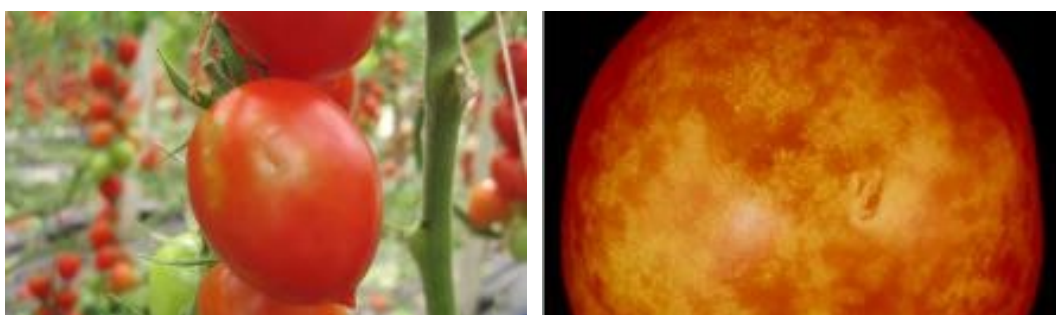


図3 トマト果実の病徴 (Dr Andrea Minuto, Centro di Saggio, CERSAA, Albenga, EPP0 より)
(果実の着色不良)

オ 対象病害の解説

学名：*Pepino mosaic virus* (PepMV)

英名、和名等：情報なし

分布： 中華人民共和国、イスラエル、シリア、トルコ、アイルランド、イタリア、英国、オーストリア、オランダ、キプロス、ギリシャ、スイス、スウェーデン、スペイン、チェコ、デンマーク、ドイツ、ハンガリー、フランス、ブルガリア、ベルギー、ポーランド、リトアニア、カナリア諸島、南アフリカ共和国、モロッコ、アメリカ合衆国、カナダ、エクアドル、チリ、ペルー、メキシコ、ニュージーランド

宿主植物：ノゲシ、トマト、ペピーノ、バレイショ等

分散：

1) 自然分散

ベクター(マルハナバチ、*Olpidium virulentus* (糸状菌) 及びコナジラミ) による伝搬、土壌伝染、水媒伝染及び接触(機械的) 伝染が知られている。感

染した植物が常に病徴を示すわけではないため、気づかないうちに急速にまん延するおそれがある。その他、染トマトにおける種子伝染の報告がある。

2) 人為分散

PepMVは通常の栽培作業で、手、道具、衣類、機械等を介して容易に伝染することが知られている。

防除：無病種子及び苗の使用や栽培用具（刃物類や農機具等）の消毒を徹底する。
発生ほ場ではマルハナバチを使用しない。

<参考文献>

- Alfara-Fernandez et al. (2009) Transmission of *Pepino mosaic virus* by the Fungal Vector *Olpidium virulentus*. *Journal of Phytopathology* 158(4):217-226.
- Blystad et al. (2015) Host range and symptomatology of *Pepino mosaic virus* strains occurring in Europe. *European Journal of Plant Pathology* 143:43-56.
- CABI (2021) Crop Protection Compendium. Data sheet on *Pepino mosaic virus*. (online), available from <<https://doi.org/10.1079/cabicompendium.43661>>, (Last accessed, 2024-10-28).
- EPP0 (2023) EPP0 Global Database. - *Pepino mosaic virus* (PEPMV0) (online), available from <<https://gd.eppo.int/taxon/PEPMV0/photos>>, (Last accessed, 2023-1-24).
- Hanssen et al. (2010) Seed transmission of *Pepino mosaic virus* in tomato. *European Journal of Plant Pathology* 126:145-152.
- ISHI (2023a) Detection of *Pepino mosaic virus*(PepMV) in tomato seed.
- ISHI (2023b) Detection of *Pepino mosaic virus*(PepMV) in tomato seed by seed extract RT-qPCR (SE-qPCR) .
- Ling et al. (2008) Genetic Composition of *Pepino mosaic virus* Population in North American Greenhouse Tomatoes. *Plant Disease* 92(12):1683-1688.
- Mehle et al. (2014) Survival and Transmission of *Potato Virus Y*, *Pepino Mosaic Virus*, and *Potato Spindle Tuber Viroid* in Water. *Applied and Environmental Microbiology* 80(4):1455-1462.
- Mumford RA, Jones RAC (2005) Descriptions of Plant virus: *Pepino mosaic virus*. (online), available from <<https://www.dpvweb.net/dpv/showdpv/?dpvno=411>>, (Last accessed, 2024-10-28).

- Noel et al. (2014) Transmission of the *Pepino mosaic virus* by whitefly. European Journal of Plant Pathology 138:23-27.
- 農林水産省 (2021) *Pepino mosaic virus* に関する病害虫リスクアナリシス報告書
- Salazar (2006) Emerging and Re-emerging Potato Diseases in the Andes. Potato Research 49:43-47.
- Sauiri et al. (2017) First report of *Pepino mosaic virus* in tomato in Morocco. New Disease Reports 35:10.
- Schwarz et al. (2010) Spread and interaction of *Pepino mosaic virus* (PepMV) and *Pythium aphanidermatum* in a closed nutrient solution recirculation system: effects on tomato growth and yield. Plant Pathology 59(3):443-452.
- Shipp et al. (2008) Vectoring of *Pepino mosaic virus* by bumble-bees in tomato greenhouses. Annals of Applied Biology 153(2):149-155.
- Soler et al. (2002) Natural Occurrence of *Pepino mosaic virus* in Lycopersicon Species in Central and Southern Peru. Journal of Phytopathology 150(2):49-53.
- Souiri et al. (2020) Chapter 38 - Emerging and Reemerging Viral Diseases of Solanaceous Crops and Management Strategies for Detection and Eradication. Emerging and Reemerging Viral Pathogens 1:847-877.

21. トバモウイルス属

① *Tomato brown rugose fruit virus* (以下、「ToBRFV」という。)

② *Tomato mottle mosaic virus* (以下、「ToMMV」という。)

※ *Tobacco mosaic virus*を含むトバモウイルス属は、タバコ、トマト、馬鈴しょ、かぼちゃなど様々な植物に被害を及ぼすウイルスで、世界中から多くの種が知られている。ここでは、侵入調査の対象であるToBRFV及びToMMVについて記述する。

ア 調査

【調査対象植物】

- 1) ToBRFV：トマト
- 2) ToMMV：トマト、ピーマン、ナス、エンドウ

【調査時期】

調査は、対象植物の生育期間中（定植後1ヶ月以降）に年1回以上実施する。なお、伸長期又は着果期に症状が確認しやすいので、できるだけこれらの時期に調査を実施する。

【調査方法及び調査内容】

- 1) 調査は、上記の調査対象植物の中から選定した上で、調査地点を設定する。なお、調査地点は各都道府県内で偏りが生じないように留意する。
- 2) 設定した調査地点当たり10株を対象に、エの病徴写真を参考にしつつ、ToBRFV及びToMMVに感染した植物で見られるような症状の有無を目視で確認する。
- 3) 感染が疑わしい場合は、発症部位や発症部位を含む枝や株全体、周囲の様子等をデジタルカメラ等で撮影した上で、試料を採取し遺伝子診断等を実施する。

【調査に当たっての留意事項】

- 1) 確認する症状は、他の病害と見分けることが難しい。このため、病徴写真と比較して、症状が似ている場合であっても、発生の状況が平時と同じ場合は積極的に試料を採取し遺伝子診断等を実施する必要はない。一方、通常の栽培環境下で、症状の発生時期が例年と大きく異なる、症状が見慣れない広がり方をしている等、平時よりも症状の出方が異常である場合には、ToBRFV及びToMMVの感染を疑い、試料を採取し遺伝子診断等を実施する。

2) 発見のポイント

ア) ToBRFV

トマト：品種によるが、葉では糸葉症状（leaf narrowing）、黄化、モザイク及び斑点の症状の有無を目視で確認する。また、花柄、がく及び葉柄にはえそ斑点が見られ、果実には凹凸表面を伴う黄色又は褐色の斑点及び奇形の症状が報告されている。

また、接種試験により、ToBRFVは同属のトバモウウイルスの一種である*Tomato mosaic virus*（以下「ToMV」という。）の抵抗性品種（抵抗性遺伝子Tm-2a、Tm-1及びTm-2を有する品種）の抵抗性を打破し、葉にモザイク症状を引き起こす。

イ) ToMMV

トマト：葉では壊死、緑色の濃淡となるモザイク、モットル（不正形な斑点）、奇形等の症状を示し、発病株には全身に萎ちょう等の症状が報告されている。

ナス：ToMMVとTobacco mild green mosaic virusとの混合感染により、花では濃紫色のモットルが、葉では微弱なモザイク、奇形、退緑等の症状が報告されている。

エンドウ：葉ではモットル、弱いモザイク、退緑、葉の奇形等の症状が報告されている。

3) 参考

抵抗性遺伝子Tm-2a/Tm-2aを有する品種の抵抗性を打破するToMVが国内に一部存在するが、極めてまれである。Tm-2a/+を有する品種の抵抗性を打破するToMVでは通常、上位葉にえそを伴うが、モザイク症状のみ認められた場合、ToBRFVである可能性が高い。

イ 同定診断手法

採取又は送付された試料について、以下の手順で1) 又は2) どちらかの検出法を用いて検定を実施する。

1) 遺伝子診断（RT-PCR 法）

ア) 採取したサンプルからRNAを抽出する。RNA抽出は市販のキット等を用い、キット付属のプロトコルに従い実施する。

イ) 抽出したRNAを鋳型にしてRT-PCRを表1のプライマーセットを用いて行う。RT-PCRは市販のキット等を用いて行う。なお、反応液の組成及び反応条件は、キット付属のプロトコルを参照する。

ウ) 電気泳動によって増幅産物のサイズが各ウイルスの予定長の増幅サイズであるか確認する。なお、ToBRFVの場合は、陽性となっても、当該プライマーのバリデーションが十分でないとの報告もあるため、さらに増幅産物の塩基配列解析が必要である。（ToMMVは塩基配列解析は不要。）

表1 ウイルス検出用プライマー

ウイルス	名前	塩基配列(5'-3')	増幅 サイズ	アニーリン グ温度	参考文献
ToBRFV	F R	AATGTCCATGTTTGTACGCC CGAATGTGATTTAAAACTGTGAAT	560	62℃	Alkowni et al. (2019)
ToMMV	F R	CGACCCTGTAGAATTAATAAATATT CACTCTGCGAGTGGCATCCAAT	289	55℃	Xuelian Sui et al. (2017)

2) 血清学的診断

ToBRFV と ToMMV はいずれも市販の血清学的診断キットで検出が可能だが、同属のウイルスと識別できないため、血清学的診断で陽性となった場合には、追加で RT-PCR 検定を行う必要がある。

ウ 試料採取及び送付時の注意事項

- 1) 試料を採取する宿主植物には、ToBRFV及びToMMVが検出された場合を想定し、どの個体から採取したか判別できるように、試料採取前に目印を付ける。
- 2) 試料の採取に当たっては、症状を示す株1株あたり5枚の葉を採取する。
- 3) 本病害は容易に接触伝搬するため、ほ場内に病徴を示す株が複数ある場合は、株ごとに手袋を交換し、せん定ばさみ等の器具類についても、株ごとに有効塩素濃度1%次亜塩素酸ナトリウム水溶液等に60秒以上浸漬することにより消毒して使用する。
- 4) 採取した試料は、試料の確認に必要な事項（採取月日、採取場所、写真等）を記録した試料採取票（別記様式）を添付した上で、ビニール袋に入れ、輸送するまでクーラーボックス等（4℃）に保管する。
- 5) 試料の採取部位、病徴及び採取票に記録した内容等は、調査野帳に記録する。
- 6) 採取した試料は、散逸しないように厳重に梱包し、保冷剤を入れて低温に保った保冷箱等に収容して冷蔵のまま送付する。

エ 病徴写真等

1) トマト検定品種におけるToBRFVイスラエル株の接種試験による上位葉及び果実の病徴（レギュラトリーサイエンス事業成果）



図1 モザイク、糸葉
(品種：GCR26 (+/+))



図2 健全（非感染）
(品種：GCR237 (Tm-1/Tm-1))



図3 モザイク
(Tm-1 型大玉品種)



図4 モザイク、糸葉
(品種：GCR526 (Tm-2/Tm-2))



図5 モットル
品種：GCR267 (Tm-2a/Tm-2a))



図6 モットル
(Tm-2a 型大玉品種)



図7 上位葉の病徴 (Tm-2a 型市販品種 (大玉品種))



図8 上位葉の病徴 (Tm-2a 型市販品種 (中玉品種))



図9 上位葉の病徴 (Tm-2a 型市販品種 (小玉品種))



図10 上位葉の病徴 (品種 : Rutgers (+/+))

2) トマトにおけるToBRFVの接種試験による葉の病徴（植物防疫所原図）



図11 葉のモザイク症状



図12 葉の糸葉症状



図13 葉の黄化症状及び糸様症状

3) 海外におけるToBRFVによるトマトの病徴



図 14 温室内での株の萎凋、枯死



図 15 苗のモザイク症状

(図 14: © Heike Scholz-Döbelin (LWK NRW) and EPP0 図 15: © Prof. Salvatore Davino and EPP0)

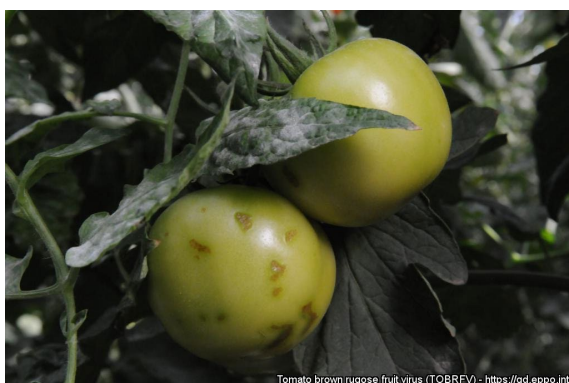


図 16 果実表面のえそ（左）及び果実の黄色斑紋（右）

(左: © Camille PICARD and EPP0 右: © Dr Aviv Dombrovsky and EPP0)



図 17 果実のマーブル症状（左）及び奇形（右）

(左: ©Tuba nur demir and EPP0 右: ©Dr Raed Alkowni and EPP0)

4) 海外における ToMMV による病徴

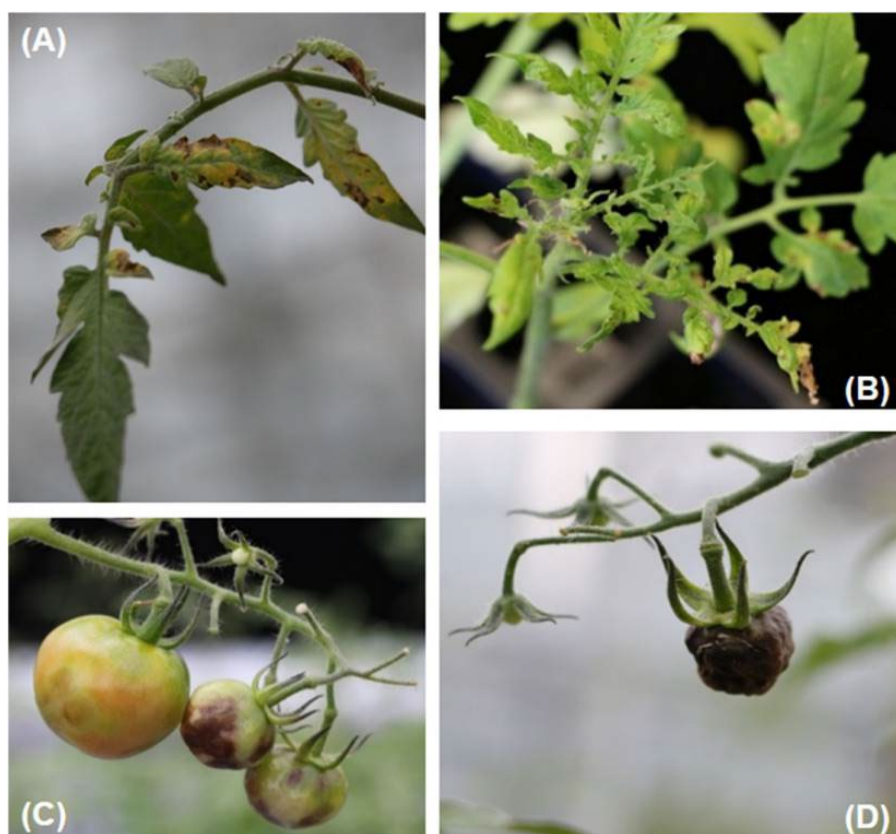


図 18 ToMMV に感染したトマトの病徴

A 葉の退緑及びえそ斑、B 葉の奇形、C 果実上のえそ斑、D 果実壊死
(© Sui et al. 2017)

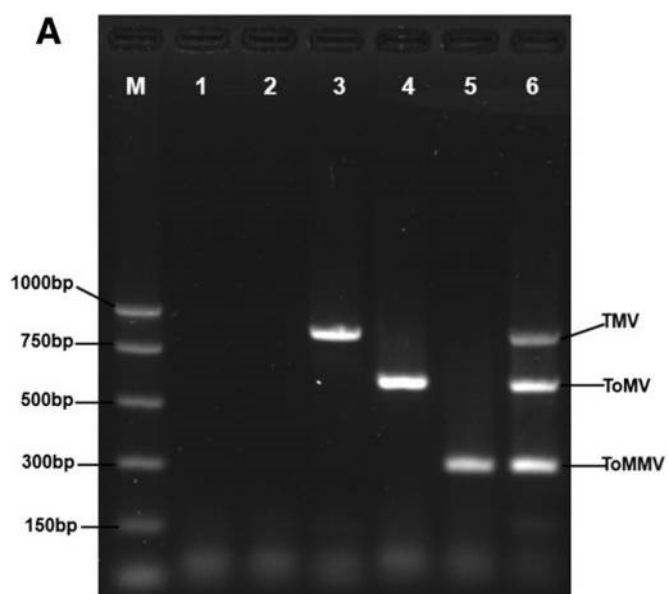


図 19 マルチプレックス RT-PCR による ToMMV、TMV、ToMV の特異的検出
(© Sui et al. 2017)

(その他写真) ※転載の許諾が得られなかったことから URL 等を示す。

- ・ ToMMV に自然感染したエンドウの病徴 (Zang et al. (2021) の e-Xtra Fig. 1)
(URL:<https://apsjournals.apsnet.org/doi/full/10.1094/PDIS-02-21-0280-PDN>)

5) 参考 ToMV による病徴写真 (レギュラトリーサイエンス事業成果)



図 20 ToMV の Tm-2a 打破系統による上位葉のえそ症状
(Tm-2a 型市販品種 (大玉品種))



図 21 ToMV の Tm-2a 打破系統による上位葉のえそ症状
(Tm-2a 型市販品種 (中玉品種))



図 22 ToMV の Tm-2a 打破系統による上位葉のえそ症状
(Tm-2a 型市販品種 (中玉品種))

オ 対象病害の解説

学名：*Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV)

Tomato mottle mosaic virus (ToMMV)

英名、和名等：なし

分布：

ToBRFV	アジア：中華人民共和国 中東：イラン、イスラエル、ヨルダン、サウジアラビア、シリア、ウズベキスタン 欧州：オーストリア、ベルギー、キプロス、チェコ、エストニア、フランス、ドイツ、ギリシャ、ハンガリー、イタリア、マルタ、オランダ、ノルウェー、ポーランド、ポルトガル、スロベニア、スペイン、スイス、トルコ、英国 北米：アメリカ合衆国、カナダ 中南米：メキシコ
ToMMV	アジア：中華人民共和国 中東：イラン、イスラエル 欧州：スペイン、チェコ 北米：米国 中南米：ブラジル、メキシコ

宿主植物：

ToBRFV	栽培宿主：トマト、トウガラシ (EPPO.,2020) 野生宿主：ミナトアカザ、イヌホオズキへの自然感染が知られている。(EPPO.,2020) その他：国内での接種試験によりホオズキ、ペチュニア、ハリナスビ、トマト野生種 (<i>Solanum peruvianum</i>)、ナス科雑草 (オオイヌホオズキ、アメリカイヌホオズキ、オオセンナリ、ヒロハフウリンホオズキ) に全身感染する。
ToMMV	ナス科：トマト、トウガラシ、キダチトウガラシ、ナス マメ科：エンドウ その他：接種試験により、タバコ、ペチュニア等の複数のナス科植物や、キノア (<i>Chenopodium quinoa</i>) 等でも感染が確認されている。

分散：

1) 自然分散

- ・近接植物間の接触伝染
- ・虫媒伝染：イスラエルのトマト生産において、授粉に利用されているセイヨウオオマルハナバチの振動しながら行う花粉収集行動により、ハチが傷つけた植物の部位からToBRFV が機械的に伝搬すると考えら

れる旨の報告がある。ただし、手作業による授粉、噴霧等による授粉作業では、花粉伝搬するとの情報は得られていない。

- ・ 土壌伝染：イスラエルにおいて、感染トマトを栽培していたほ場に作付けされたトウガラシが、ToBRFV が残っている土壌によって感染した報告がある。また、同属のToMV は数箇月も植物残さや土壌に留まることから、ToBRFV及びTOMMV もその可能性が示唆されている。ToMV の場合、発病株の根から土壌へウイルスが溢出しており、栽培終了後も土壌中の残さから溢出が続く旨の報告がある。
- ・ 水媒伝染：トバモウイルスは、施設栽培における循環水により分散するとの報告があることから、ToBRFV及びTOMMV もその可能性が示唆されている。

2) 人為分散

機械的伝搬（栽培作業、農作業用の道具や器具、作業員の手や衣服）、感染種子及び苗の移動により分散する。

防除：

ToBRFV及びToMMVの防除に関する報告はないが、以下のようなトバモウイルスの一般的な防除方法が有効と考えられる。なお、両ウイルスの抵抗性品種は知られていない。

- ・ 健全株への伝染を防ぐため、発病株を見つけたら直ちに抜き取る。
- ・ 作期の終了後は、土壌中の植物残さの腐敗を促し、ウイルスの不活化をはかる。
- ・ 湛水状態では植物組織の腐敗が遅れウイルスが不活化しにくくなるので、発病がみられた作期の終了後は湛水を控える。
- ・ 植物残さの持ち出しをしない。
- ・ 資材（床土、播種箱、育苗鉢、ロックウールマット、栽培槽等）の消毒を行う。
- ・ 接触伝染性が強いので、発病株に触れた手指は石鹸でよく洗う。また、発病株に触れたせん定ばさみ等の器具類についても消毒を行う。
- ・ 養液栽培ほ場では養液槽の洗浄と消毒を行う。
- ・ 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。栽培を中断できない場合は、
 - － 植物残さを地下部の根を含めできるだけ取り除く。
 - － ウイルス粒子を含む感染根の分解を促進するため、ほ場に牛糞堆肥等の有機質資材を投入し、適切な温度に保ちつつ耕うんする。
 - － 古株を短期間で枯死させるために、カーバナトリウム塩剤の土壌散布又は灌水を行う。

<参考文献>

- Alkowni et al. (2019) Molecular identification of tomato brown rugose fruit virus in tomato in Palestine. *J Plant Pathol* 101, 719–723.
- Ambros et al. (2017) Molecular and biological characterization of an isolate of Tomato mottle mosaic virus (ToMMV) infecting tomato and other experimental hosts in eastern Spain. *European Journal of Plant Pathology* 149: 261–268.
- Broadbent, L. (1976) Epidemiology and control of tomato mosaic virus. *Annual Review of Phytopathology* 14: 75–96.
- Chai et al. (2018) First report of a mixed Infection of Tomato mottle mosaic virus and Tobacco mild green mosaic virus on eggplants in China. *Plant Disease* 102: 2668.
- Chitambar (2015) California pest rating for Tomato Mottle Mosaic Virus (ToMMV). <https://blogs.cdфа.ca.gov/Section3162/?tag=tomato-mottle-mosaic-virus>.
- Chitambar, J. (2018) California pest rating for Tomato brown rugose fruit virus. (online), available from <<https://blogs.cdфа.ca.gov/Section3162/?p=5843>>.
- Department for Environment, Food and Rural Affairs (2020) Pest specific plant health response plan: Outbreaks of tomato brown rugose fruit virus. <https://planthealthportal.defra.gov.uk/assets/uploads/Tomato-brown-rugose-fruit-virus-contingency-plan-v6.pdf>
- EPP0 (2019) New data on quarantine pests and pests of the EPP0 Alert List <https://gd.eppo.int/reporting/article-6457>
- EPP0 (2022) Tomato brown rugose fruit virus. EPP0 datasheets on pests recommended for regulation. Available online. <https://gd.eppo.int>
- Levitzky et al. (2019) The bumblebee *Bombus terrestris* carries a primary inoculum of Tomato brown rugose fruit virus contributing to disease spread in tomatoes. *PLoS ONE* 14(1): e0210871. (online), available from <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210871>>.
- Li et al. (2013) Complete genome sequence of a new Tobamovirus naturally infecting tomatoes in Mexico. *Genome Announcement* 1, e00794–13. doi:10.1128/genomeA.00794–13.
- Li et al. (2014) First report of tomato mottle mosaic virus infection of pepper in China. *Plant Dis* 98:10: <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-14-0317-PDN>.

- Levitzky et al. (2019) The bumblebee *Bombus terrestris* carries a primary inoculum of Tomato brown rugose fruit virus contributing to disease spread in tomatoes. PLoS ONE 14: e0210871.
- Lovelock et al. (2020) Tomato mottle mosaic virus intercepted by Australian biosecurity in *Capsicum annuum* seed. Australasian Plant Disease Notes 15, 8. doi:10.1007/s13314-020-0378-x.
- Luria, N., E. Smith, V. Reingold, I. Bekelman, M. Lapidot, and I. Levin (2017) A New Israeli Tobamovirus Isolate Infects Tomato Plants Harboring Tm-22 Resistance Genes. PLoS ONE 12(1): e0170429. (online), available from <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170429>>.
- Nagai et al. (2018) First complete genome sequence of an isolate of Tomato mottle mosaic virus infecting plants of *Solanum lycopersicum* in South America. Genome Announc 6: e00427-18.
- Nagai et al. (2019) Tomato mottle mosaic virus in Brazil and its relationship with Tm-22 gene. Eur J Plant Pathol 155, 353-359.
- Salem, N., A. Mansour, M. Ciuffo, B. W. Falk and M. Turina (2016) A new tobamovirus infecting tomato crops in Jordan. Archives of Virology 161: 503-506.
- Sui et al. (2017) Molecular and biological characterization of Tomato mottle mosaic virus and development of RT-PCR detection. Plant Disease 101, 704-711.
- Turina et al. (2016) First report of Tomato mottle mosaic virus in tomato crops in Israel. New Disease Report 33, 1. doi: 10.5197/j.2044-0588.2016.033.001.
- USDA (Issued June 2020) Strategies for Preventing the Introduction and Spread of Tomato Brown Rugose Fruit Virus (online), available from <<http://calseed.org/1.%20ToBRFV%20Strategies%20for%20Preventing%20F%20IN%2006082020.pdf>>
- USDA (Last update 5/27/2021) Survey and Response Plan Tobamovirus: Tomato Brown Rugose Fruit Virus (ToBRFV) <[https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/planthealth/import information/federal-import-orders/tobrfv/tomato-brown-rugose-fruit-virus](https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/planthealth/import%20information/federal-import-orders/tobrfv/tomato-brown-rugose-fruit-virus)>
- Webster et al. (2014) First report of *tomato mottle mosaic virus* infecting tomato in the United States. Plant Health Progress 15: 151-152.
- Zang et al. (2021) First Report of pea as a natural host of *tomato*

mottle mosaic virus in China. Plant Disease doi:10.1094/PDIS-02-21-0280-PDN

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構中央農業研究センター
(2021)

令和2年度 国際基準を踏まえた防疫指針策定のための調査委託事業 事業報告書 (令和3年3月16日)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構中央農業研究センター
(2022)

令和3年度 国際基準を踏まえた防疫指針策定のための調査委託事業 事業報告書 (令和4年3月16日)

農林水産省 (2020) *Tomato brown rugose fruit virus* に関する病害虫リスクアナリシス報告書

農林水産省 (2021) *Tomato mottle mosaic virus* に関する病害虫リスクアナリシス報告書

農林水産省横浜植物防疫所 (2022) 令和4年度遺伝子診断法検査に係る検査実施標準作業書.

22. *Tomato leaf curl New Delhi virus* (以下、「ToLCNDV」という。)

ア 調査

【調査対象植物】

トマト、ピーマン、キュウリ、スイカ、メロン

【調査時期】

調査は、調査対象植物の生育期間中（定植後1ヶ月以降）に年1回以上実施する。媒介虫であるタバココナジラミの発生時期を中心に、症状が確認しやすい伸長期又は着果期に調査を実施する。

【調査方法及び調査内容】

- 1) 調査は、上記の調査対象植物の中から選定した上で、調査地点を設定する。
なお、調査地点は各都道府県内で偏りが生じないように留意する。
- 2) 設定した調査地点あたり10株を対象に、病徴写真を参考にしつつ、ToLCNDVに感染した植物で見られるような、モザイク症状、葉巻、葉脈の膨張、植物体の萎縮症状の有無を目視で調査する。
- 3) 感染が疑わしい場合は、発症部位や発症部位を含む植物全体、周囲の様子等をデジタルカメラ等で撮影した上で、試料を採取し遺伝子診断等を実施する。

【調査に当たっての留意事項】

1) 発見のポイント（病徴）

確認する症状は、他の病害と見分けることが難しい。このため、病徴写真と比較して、症状が似ている場合であっても、発生の状況が平時と同じ場合は積極的に試料を採取し遺伝子診断等を実施する必要はない。一方、通常の栽培環境下で症状の発生時期が例年と大きく異なる、症状が見慣れない広がり方をしている等、平時よりも症状の出方が異常である場合には、ToLCNDVの感染を疑い、試料採取、遺伝子診断等を実施する。一般的に、モザイク症状、葉巻、葉脈の膨張、植物体の萎縮が引き起こされる。ウリ科の果実では、果皮の粗面化及び縦方向の裂開が見られる。果菜類において、生育初期にToLCNDVに感染すると、植物は著しく萎縮し、果実生産は大きな影響を受ける。

ア) トマト：黄化症状及びモザイク症状等。

イ) ピーマン：黄化症状及び葉巻症状等。

ウ) キュウリ：黄化症状及びモザイク症状等。

エ) スイカ：葉巻症状、激しい黄化、葉脈の膨張、植物の萎縮及び節間の短縮化、果皮の粗面化、果実の縦方向の裂開等。

オ) メロン：葉巻症状、激しい黄化、葉脈の膨張、植物の萎縮及び節間の短縮化、果皮の粗面化、果実の縦方向の裂開等。

イ 同定診断手法

採取または送付された試料について、以下の手順で遺伝子診断（PCR検定）または血清学的診断（イムノクロマトキット等）による検定を実施する。

- 1) 罹病葉を 0.1 g 程度サンプリングする。陰性コントロールとして健全葉サンプルも用意する。
- 2) 市販のキット等を用い、キット付属のプロトコルに従って DNA を抽出する。
- 3) 抽出した DNA を鋳型にして PCR を行う。プライマーについて、既報の種特異的プライマーが有効であることから、そのうちの一例を示す。

・ ウイルス検出用プライマー (Panno et al. (2019))

名前	塩基配列 (5'-3')	増幅 サイズ	アニーリン グ温度
ToLCNDV-CP1	CTC CAA GAG ATT GAG AAG TCC	約 1,050bp	52℃
ToLCNDV-CP2	TCT GGA CGG GCT TAC GCC CT		

ウ 試料採取及び送付時の注意事項

- 1) 試料を採取する宿主植物には、ToLCNDVが検出された場合を想定し、試料採取前に目印を付ける。
- 2) 試料の採取に当たっては、症状を示す株 1 株あたり 5 枚の葉を採取する。
- 3) 調査を実施したほ場内に病徴を示す株が複数ある場合は、株ごとに手袋を交換し、せん定ばさみ等の器具類についても、株ごとに有効塩素濃度 1 %次亜塩素酸ナトリウム水溶液等に60秒以上浸漬することにより消毒して使用する。
- 4) 採取した試料は、試料の確認に必要な事項（採取月日、採取場所、写真等）を記録した試料採取票（別記様式）を添付した上で、ビニール袋に入れ、輸送するまでクーラーボックス等（4℃）に保管する。
- 5) 試料の採取部位、病徴及び採取票に記録した内容等は、調査野帳に記録する。
- 6) 採取した試料は、散逸しないように厳重に梱包し、保冷剤を入れて低温に保った保冷箱等に収容して冷温のまま送付する。試料の採取に使用したせん定ばさみ等の器具類は、有効塩素濃度 1 %次亜塩素酸ナトリウム水溶液等に60秒以上浸漬することにより消毒する。

エ 病徴写真等

1) 宿主植物における病徴

キュウリ

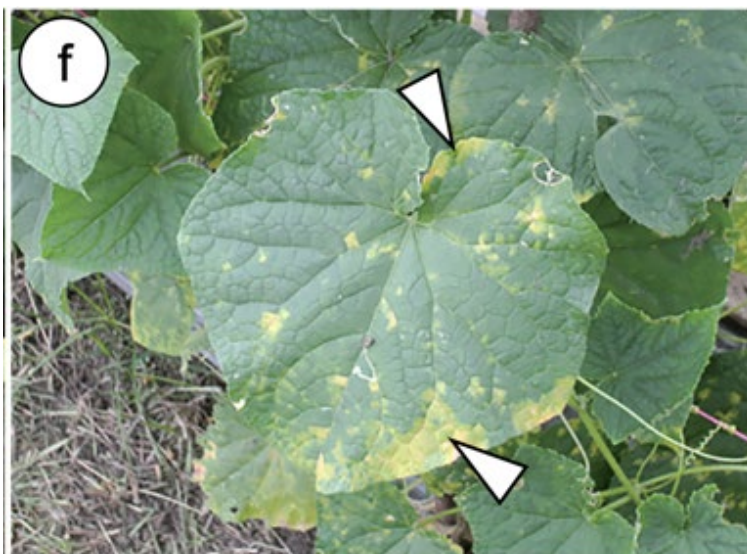


図1 キュウリの黄変葉巻症状

Kesumawati et al. (2020) Molecular Characterization of Begomoviruses Associated with Yellow Leaf Curl Disease in Solanaceae and Cucurbitaceae Crops from Northern Sumatra, Indonesia. Horticulture Journal doi: 10.2503/hortj.UTD-175



図2 キュウリ における退緑症状

2) ズッキーニ



図3 ズッキーニにおける萎縮症状

3) メロン



図 メロンにおける退緑症状

(その他写真) ※転載の許諾が得られなかったことから URL 等を示す。

ア) トマト、ペポカボチャ (ズッキーニ)

Ruiz et al. (2017) Biological characterization of Tomato leaf curl New Delhi virus from Spain. Plant Pathol. 66, 376-382.

イ) ペポカボチャ (ズッキーニ)、メロン、キュウリ、スイカ、トマト及びトウガラシ

Ruiz et al. (2017) Biological characterization of Tomato leaf curl New Delhi virus from Spain. Plant Pathol. 66, 376-382.

ウ) ピーマン

Luigi et al. (2019) First Report of Tomato Leaf Curl New Delhi Virus Causing Yellow Leaf Curl of Pepper in Europe. Plant Dis. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-19-1159-PDN>

https://apsjournals.apsnet.org/doi/suppl/10.1094/PDIS-06-19-1159-PDN/suppl_file/PDIS-06-19-1159-PDN.sfl.pdf

エ) キュウリ

Mnari-Hattab et al. (2015) First report of Tomato leaf curl New Delhi virus infecting cucurbits in Tunisia. New Disease Reports 31, 21. <http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2015.031.021>

オ) メロン

CABAS-CSIS blog

<https://cienciacebas.wordpress.com/2013/09/25/virus-del-rizado-amarillo-del-tomate-de-nueva-delhi-tomato-leaf-curl-new-delhi-virus-tolcndv-un-nuevo-virus-que-afecta-gravemente-cucurbitaceas-en-almeria-y-murcia/>

Mnari-Hattab et al. (2015) First report of Tomato leaf curl New Delhi virus infecting cucurbits in Tunisia. New Disease Reports 31, 21.
<http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2015.031.021>

カ) ペポカボチャ (ズッキーニ)

CABAS-CSIS blog

<https://cienciacebas.wordpress.com/2013/09/25/virus-del-rizado-amarillo-del-tomate-de-nueva-delhi-tomato-leaf-curl-new-delhi-virus-tolcndv-un-nuevo-virus-que-afecta-gravemente-cucurbitaceas-en-almeria-y-murcia/> 【

M. Juárez et al. (2014) First detection of Tomato leaf curl New Delhi virus infecting zucchini in Spain. Plant Dis. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-13-1050-PDN>

キ) カボチャ

Phaneendra et al. (2012) *Tomato leaf curl New Delhi virus* is Associated With Pumpkin Leaf Curl- A New Disease in Northern India. Indian J. Virol. 23:42-45.

ク) ハヤトウリ

Nagendran et al. (2017) Molecular evidence for the occurrence of tomato leaf curl New Delhi virus on chayote (*Sechium edule*) in southern India. VirusDis. 28, 425-429.

オ 対象病害の解説

学名 : *Tomato leaf curl New Delhi virus* (ToLCNDV)

(シノニム : *Bitter gourd yellow vein virus*, *Tomato leaf curl virus-New Dehli*)

分布 : インド、インドネシア、イラン、スリランカ、タイ、台湾、パキスタン、バングラデシュ、フィリピン、イタリア、エストニア、ギリシャ、スペイン、ポルトガル、アルジェリア、カナリア諸島、セーシェル、チュニジア、モロッコ

宿主植物 : キュウリ、スイカ、ニガウリ (ツルレイシ)、ニホンカボチャ、メロン、ニンジン、トウガラシ、トマト、ナス、バレイショ、パパイア等

分散 :

1) 自然分散

タバココナジラミ (*Bemisia tabaci*: 日本既発生) による永続伝搬が知られている (EPP0, 2021a; CABI, 2021; Espinosa Paz et al., 2019)。タバココナジラミは風により長距離移動する (CABI, 2020)。

2) 人為分散

感染した栽植用植物が経路となり分散する (EPP0, 2021a)。試験的に汁液接種により感染したとの報告がある (Chang et al., 2010)。

防除：EPP0 (2021a) 及び Moriones et al. (2017) によると、ToLCNDVに関する防除情報は以下のとおりである。

- 1) ベクターであるタバココナジラミの防除。農薬は、タバココナジラミの薬剤抵抗性の獲得や環境への影響等の問題があるため使用を控え、本虫の発生が少ない時期・場所で栽培する。連作を避け、本虫の密度増加を防ぐ。本虫に対する抵抗性品種の植え付けは、農薬の使用量を抑え、本虫密度を低く保つことができる。
- 2) ウイルスフリー苗の植え付け。
- 3) 感染植物の早期除去。
- 4) ToLCNDVの感受性品種を植え付けないことが好ましいが、抵抗性・耐性を有した栽培品種は無く、野生トマト、ウリ科、バレイショ、ヘチマ属で確認された抵抗性・耐性遺伝子の研究が行われている。また、遺伝子組み換えによる抵抗性・耐性品種の研究も行われている。

<参考文献>

- CABAS-CSIS blog, <https://cienciacebas.wordpress.com/2013/09/25/virus-del-rizado-amarillo-del-tomate-de-nueva-delhi-tomato-leaf-curl-new-delhi-virus-tolcndv-un-nuevo-virus-que-afecta-gravemente-cucurbitaceas-en-almeria-y-murcia/>
- Kesumawati et al. (2020) Molecular Characterization of Begomoviruses Associated with Yellow Leaf Curl Disease in *Solanaceae* and *Cucurbitaceae* Crops from Northern Sumatra, Indonesia. Horticulture Journal doi: 10.2503/hortj.UTD-175
- Luigi et al. (2019) First Report of Tomato Leaf Curl New Delhi Virus Causing Yellow Leaf Curl of Pepper in Europe. Plant Dis. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-19-1159-PDN>
https://apsjournals.apsnet.org/doi/suppl/10.1094/PDIS-06-19-1159-PDN/suppl_file/PDIS-06-19-1159-PDN.sf1.pdf
- M. Juárez et al. (2014) First detection of Tomato leaf curl New Delhi virus infecting zucchini in Spain. Plant Dis. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-13-1050-PDN>
- Mnari-Hattab et al. (2015) First report of Tomato leaf curl New Delhi

- virus infecting cucurbits in Tunisia. New Disease Reports 31, 21.
<http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2015.031.021>
- Nagendran et al. (2017) Molecular evidence for the occurrence of tomato leaf curl New Delhi virus on chayote (*Sechium edule*) in southern India. VirusDis. 28, 425-429.
- Panno et al. (2019) Emergence of *tomato leaf curl New Delhi virus* in Italy- estimation of incidence and genetic diversity. Plant Pathol. 68, 601-608
- Phaneendra et al. (2012) *Tomato leaf curl New Delhi virus* is Associated With Pumpkin Leaf Curl- A New Disease in Northern India. Indian J. Virol. 23:42-45.
- Ruiz et al. (2015) First report of *tomato leaf curl New Delhi virus* infecting tomato in Spain. Plant Dis. Doi: 10.1094/PDIS-10-14-1072-PDN
- Ruiz et al. (2017) Biological characterization of *Tomato leaf curl New Delhi virus* from Spain. Plant Pathol. 66, 376-382.
- Ruiz et al. (2017) Biological characterization of *Tomato leaf curl New Delhi virus* from Spain. Plant Pathol. 66, 376-382.
- 農林水産省横浜植物防疫所 (2020) *Tomato leaf curl New Delhi virus*に関する病害虫リスクアナリシス報告書)

23. ポスピウイロイド

①ジャガイモやせいもウイロイド : *Potato spindle tuber viroid*

②トマト退緑萎縮ウイロイド : *Tomato chlorotic dwarf viroid*

③ *Columnea latent viroid*

④ *Pepper chat fruit viroid*

⑤ *Tomato apical stunt viroid*

※ ポスピウイロイドは、ジャガイモやせいもウイロイド (*Potato spindle tuberviroid* 以下、「PSTVd」という。) を含むポスピウイロイド科ポスピウイロイド属に属するウイロイドで、これまでに10種類が報告されており、ほとんどがナス科植物に感染し、世界的に大きな被害をもたらしている。ここでは、侵入調査の対象となっている *Columnea latent viroid* (以下、「CLVd」という。)、 *Pepper chat fruit viroid* (以下、「PCFVd」という。)、 トマト退緑萎縮ウイロイド (*Tomato chlorotic dwarf viroid* 以下、「TCDVd」という。)、 *Tomato apical stunt viroid* (以下、「TASVd」という。) 及びPSTVdについて記述する。

ア 調査

【調査対象植物】

- 1) 全種：トマト
- 2) PSTVd：馬鈴しょ

【調査時期】

- 1) トマトでは、定植後1か月以降の栽培期間中に年1回以上調査を実施する。なお、気温25℃以上の条件で明確な病徴（葉の黄化・えそ、葉のねじれ、植物全体の矮化、果実の小型化など）が現れやすいため、できるだけ高温時が望ましい。
- 2) 馬鈴しょでは、萌芽後から収穫時の地上部を対象に栽培期間中に年1回以上調査を実施する。または収穫後の塊茎を対象に1回調査を実施する。なお、地上部を対象とした調査の場合、気温25℃以上の条件で明確な病徴（葉の黄化、小型化、葉の主脈や茎のえそ、植物全体の矮化など）が現れやすいため、できるだけ高温時が望ましい。

【調査方法及び調査内容】

- 1) 調査は、上記の調査対象植物の中から選定した上で、調査地点を設定する。なお、調査地点は各都道府県内で偏りが生じないように留意する。
- 2) 設定した調査地点当たり10株を対象に、エの病徴写真を参考にしつつ、ポスピウイロイドの感染植物に生じる葉の症状（黄化・奇形など）、葉の主脈や茎のえそ症状、植物全体の矮化等がないか、塊茎の調査の場合は奇形、

亀裂等がないかを目視で調査する。

- 3) 感染が疑わしい場合は、発症部位や株全体又は塊茎、周囲の様子等をデジタルカメラ等で撮影した上で、試料を採取し遺伝子診断等を実施する。

【調査に当たっての留意事項】

- 1) ポスピウイルスによる症状は、生理障害等と見分けることが難しい。
このため、通常の栽培環境下で平時と異なる発病状況であった場合に、ポスピウイルスの感染を疑い、試料を採取し遺伝子診断等を実施する。すなわち、病徴写真と比較して、症状が似ている場合であっても、発生の状況が平時と同じ場合は積極的に試料を採取し遺伝子診断等を実施する必要はない。

- 2) 発見のポイント（病徴・標徴）

ア) トマト：葉の黄化、ねじれ、小型化、葉の主脈や茎のえそ、植物全体の矮化、果実の小型化（小さいまま成熟すること。）、奇形果等。

イ) 馬鈴しょ：葉の黄化、小型化、葉の主脈や茎のえそ、植物全体の矮化等。塊茎の奇形、二次肥大によるこぶ症、亀裂等。

イ 同定診断手法

ウイルスは RNA のみで構成される病原体であるため、RT-PCR 等の遺伝子診断法のみが有効であり、ELISA 等抗原抗体反応による検出手法は利用できない。

採取又は送付された試料について、以下の手順 1) 又は 2) どちらかの検出法を用い検定を実施する。なお、初発の際は RT-PCR 検定後に塩基配列を確認する。

なお、試料として馬鈴しょの塊茎を用いる場合は、できる限り芽を含む表皮を採取する。

- 1) 遺伝子診断（コンベンショナル RT-PCR 法）

ア) 採取したサンプルから RNA を抽出する。RNA 抽出は市販のキット等を用い、キット付属のプロトコルに従い実施する。

イ) 抽出した RNA を鋳型にして RT-PCR を表 1 のプライマーセットを用いて行う。RT-PCR は市販のキット等を用いて行う。

なお、反応液の組成及び反応条件はキット付属のプロトコルを参照する。

ウ) 電気泳動によって増幅産物のサイズが各ウイルスの予定長の増幅サイズであるか確認する。

表1 ウイロイド検出用プライマー

ウィロイド 名前	塩基配列 (5' -3')	増幅 サイズ※	アニーリング 温度	参考文献
PSTVd, P3	CCGGATCCCTGAAGCGCTCCTCCGAGC	360	60°C	Behjatnia et al. (1996)
TCDVd, P4	TCGGATCCCCGGGGAACCTGGAGCG			
TASVd, TAV-R13	AAGGAAACCCGAAGAAAGGA	282	60°C	Matsushita et al. (2015)
TAV-F13	CCTCAGCGCTTTTCTCTA			
CLVd, CLV-R6	CTCTTCCGCCAATCTTTTT	239	60°C	Matsushita et al. (2015)
CLV-F6	GGTCGGAGGATCTTCTGGAG			
PCFVd, PCFV-FW	CGGCCGGGAGTGAAGCTAC	330	60°C	Yanagisawa & Matsushita (2017)
PCFV-RE	TGGAAGAAAAAGCACCTCTG			

※増幅サイズは、分離株により数塩基の差が生じる。

2) 遺伝子診断 (リアルタイム RT-PCR)

ア) 1) のア) と同様に核酸抽出を行う。

イ) SYBR Green法

表2に示すユニバーサルプライマー、PCFVd及びCLVd用プライマーを使用し、市販のキットを用いて検出する。SYBR Green法は、本調査対象のウィロイド5種を網羅的に検出するための検定法である。なお、標的となるウィロイドの種が判明している場合にはイ) SYBR Green法及びウ) TaqMan法のうち、個別のウィロイド特異的プライマー・プローブを用いたリアルタイムRT-PCRのみを行っても問題ない。

表2 SYBR Green法に用いるウィロイド検出用プライマー

ウィロイド	名前	塩基配列 (5' -3')	参考文献
一次検定用ユニバーサル プライマー*	6pospi-F	TCCTGTGGTTCACACCTGACC	Yanagisawa et al. (2017)
	6pospi-R	TTCAGTTGTTCCACCGGGTA	
CLVd	CLV-F 1	AAGAGCAAGAGCGGTCTCAG	Yanagisawa et al. (2017)
	CLV-R 3	AGGAAAGGAAACCCGAAGAA	
PCFVd	PCFV-F 8	CCCGAAGCCCGCTTAGG	Yanagisawa et al. (2017)
	6pospi-R	TTCAGTTGTTCCACCGGGTA	

*ユニバーサルプライマーはCLVd及びPCFVd以外のPSTVd、TCDVd、TASVdを含む6種のウィロイドを検出可能

・判定

Yanagisawa et al. (2017)による SYBR Green法においては、PCR反応後に得られるAmplification Plot及びMelting Curveの2つの結果から、陽性・陰性の判定を行う。なお、文献に記載のメーカー以外の反応試薬を使

用した場合、下記の判定法に変更を要する場合がある。

- ・ユニバーサルプライマー（6Pospi-F/R）の場合

Amplification Plotにおいて、Ct値が38以内であり、かつ、Melting Curveのピーク値が82℃から87℃以内である場合には、陽性と判断し、2つの条件のいずれかのみが該当する場合には陰性と判断する。またこの時、Melting Curveの各ウイロイドのピーク値は以下の値に近似するが、同種のウイロイドであっても多くの変異体が存在するため、Melting Curveのピーク値には一定の幅が生じる。これは、CLVd及びPCFVdの場合も同様である。

（各ウイロイドのMelting Curveのピーク値の例）

PSTVd：約86.5℃付近、TASVd：約83.5℃付近、TCDVd：約85℃付近

- ・CLVd特異的プライマー（CLVd-F1/R3）の場合

Amplification Plotにおいて、Ct値が38以内であり、かつMelting Curveのピーク値が約84.8℃付近である場合には、陽性と判断し、2つの条件のいずれかのみが該当する場合には、陰性と判断する。

- ・PCFVd特異的プライマー（PCFVd-8/6Pospi-R）の場合

Amplification Plotにおいて、Ct値が38以内であり、かつMelting Curveのピーク値が約84℃付近である場合には、陽性と判断し、2つの条件のいずれかのみが該当する場合には、陰性と判断する。

ウ) TaqMan法

SYBR Green法によるユニバーサルプライマーで陽性のサンプルは、以下の表3に示すPSTVd、TCDVd、TASVdの各特異的プライマー・プローブを使用し、ウイロイドの種を特定する。

表3 TaqMan法に用いるウイロイド種識別用プライマー・プローブ

ウイロイド	名前	塩基配列（5'-3'）	参考文献
PSTVd	PS-F1	GTGCCCAGCGGYCGAC	Yanagisawa et al. (2017)
	SM-R1	TAGCCGAAGCGACAGCGC	
	P3R	[FAM]CCTGCGGGCGCGAGGAAGGA[TAMRA]	
TCDVd	TC-F3	CGGCAGGGAGCTTGTGGAA	Yanagisawa et al. (2017)
	TC-R2	GCCGAAGCGACAGCGCAAG	
	TC-P2	[FAM]CTTCCTTTCGCGCCACTCGAC[TAMRA]	

TASVd	TA-F3	GAGCTTCTCTCTGGAGACT	Yanagisawa et al. (2017)
	TA-R3	TCGCCCCGAGAGCAAC	
	329Pospi- -P2	[FAM] ACCCGGTGGAWACA[MGB]	

・判定

Yanagisawa et al. (2017)に記載の試薬を用いた場合、Threshold lineをオートからマニュアルに変更し、Threshold lineの値をいずれのウイロイドの場合にも0.128に設定した際、Ct値が38以下の検体を陽性とし、それ以外の場合は全て陰性とする。

なお、他メーカーの反応試薬を使用した場合、判定法に変更を要する場合がある。

ウ 試料採取及び送付時の注意事項

- 1) 試料を採取する宿主植物には、ポスピウイロイドが検出された場合を想定し、試料採取前に目印を付ける。
- 2) トマトについては葉を、馬鈴しょについては葉又は塊茎を採取する。
 - ア) 葉については症状を示す株1株あたり5枚の葉を採取する。ウイロイドは全身感染するため、上位葉であれば発病の有無にかかわらずどの部位でも問題ない。ただし、枯れたような葉は避ける。
 - イ) 馬鈴しょの塊茎については、外観の症状（奇形、二次肥大によるこぶ症、亀裂）があれば、複数個を採取する。なお、収穫直後の塊茎はウイロイド濃度が維持されているため、そのまま検定に使用できる。一方で冷蔵保存中又は保存後の塊茎においては、ウイロイドの濃度低下により偽陰性になるリスクがあるため、萌芽させることが望ましい。
- 3) 本ウイロイドは容易に接触伝搬するため、調査を実施した園地内に病徴を示す株が複数ある場合は、株ごとに手袋を交換し、せん定ばさみ等の器具類は、株ごとに有効塩素濃度1%次亜塩素酸ナトリウム水溶液等に60秒以上浸漬することにより消毒して使用する。なお、酸性薬品や消毒用アルコールは、当該ウイロイドに対してほとんど効果がないため、使用しない。
- 4) 採取した試料は、試料の確認に必要な事項（採取月日、採取場所、写真等）を記録した試料採取票（別記様式）を添付した上で、ビニール袋に入れ、輸送するまでクーラーボックス等（4℃）に保管する。
- 5) 試料の採取部位、病徴及び採取票に記録した内容等は、調査野帳に記録する。
- 6) 採取した試料は、散逸しないように厳重に梱包し、保冷剤を入れて低温に保った保冷箱等に収容して冷温のまま送付する。

エ 病徴写真等

1) 宿主植物における病徴

ア) トマト



図1、2、3 CLVdに感染したトマト（防疫指針委託事業成果）
上位葉の小型化、黄化、退緑



図4 CLVdに感染したトマト（植物防疫所原図）
上位葉の小型化



図 5、6、7、8 PCFVd に感染したトマト（防疫指針委託事業成果）
上位葉の小型化、黄化



図 9、10 PCFVd に感染したトマト（植物防疫所原図）
上位葉の小型化、巻葉、退緑



図 11、12 PCFVd に感染したトマト（植物防疫所原図）
退緑、えそを伴う葉巻症状



図 13 左：PCFVd に感染したトマト 右：健全なトマト（植物防疫所原図）
上位葉の小型化、植物全体の萎縮



図 14、15 TCDVd に感染したトマト（防疫指針委託事業成果）
上位葉の退緑、黄化、えそを伴う葉巻症状、植物全体の萎縮症状



図 16 左、中： TCDVd に感染したトマト 右：健全なトマト（植物防疫所原図）
株の萎縮、葉の黄化、奇形



図 17、18、19 TASVd に感染したトマト（防疫指針委託事業成果）
葉の奇形、黄化、えそ



図20 TASVdに感染したトマト（植物防疫所原図）
葉の奇形、退緑



図 21、22 PSTVd に感染したトマト（防疫指針委託事業成果）
巻葉、葉の黄化、縮葉（葉がちぢれること）



図 23 PSTVd に感染したトマト（植物防疫所原図）
巻葉、葉の黄化、縮葉（葉がちぢれること）



図 24、25 PSTVd に感染したトマト（植物防疫所原図）
上位葉の縮葉（葉がちぢれること）



図 26 PSTVd に感染したトマト（植物防疫所原図）
巻葉、縮葉（葉がちぢれること）、えそ、退緑



図 27 PSTVd に感染したトマト（植物防疫所原図）
縮葉（葉がちぢれること）及び葉の主脈のえそ



図 28 左： PSTVd に感染したトマト 右：健全なトマト（植物防疫所原図）
株の萎縮、巻葉、縮葉（葉がちぢれること）、えそ、退緑



図 29 PSTVd に感染したトマト（植物防疫所原図）
巻葉、縮葉（葉がちぢれること）、えそ、退緑

イ) 馬鈴しょ



図 30、31 PSTVd に感染した馬鈴しょ（植物防疫所原図）
上位葉の小型化、巻葉、退緑、縮葉



図 32 PSTVd に感染した馬鈴しょ（植物防疫所原図）
巻葉、退緑、えそ



図 33 PSTVd に感染した馬鈴しょ（植物防疫所原図）
塊茎の小型化、奇形



図 34 左：健全な馬鈴しょ 右： PSTVd に感染した馬鈴しょ（植物防疫所原図）
塊茎の奇形、こぶ症、亀裂



図 35 左：健全な馬鈴しょ 右： PSTVd に感染した馬鈴しょ（植物防疫所原図）
塊茎の細長化



図 36 左：健全な馬鈴しょ 右： PSTVd に感染した馬鈴しょ（植物防疫所原図）
塊茎の細長化

オ 対象病害の解説

学名：ポスピウイルス (*pospiviroid*) 属

Columnnea latent viroid (CLVd), *Pepper chat fruit viroid* (PCFVd),
Tomato chlorotic dwarf viroid (TCDVd), *Tomato apical stunt viroid* (TASVd), *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd)

英名、和名等：TCDVd (トマト退緑萎縮ウイルス)

PSTVd (ジャガイモやせいもウイルス)

その他については和名なし

分布及び宿主植物：

(植物防疫法施行規則別表 2-2 (一部改正〔令和四年三月農林水産省令・一八号〕版) から抜粋)

	発生国	宿主植物 * (種子伝染が知られているもの)
PSTVd	インド、中華人民共和国、パキスタン、バングラデシュ、アフガニスタン、イスラエル、イラン、トルコ、イタリア、ウクライナ、英国、オーストリア、オランダ、カザフスタン、ギリシャ、クロアチア、スペイン、スロベニア、チェコ、ドイツ、フランス、ベラルーシ、ベルギー、ポーランド、マルタ、モンテネグロ、ロシア、ウガンダ、エジプト、ガーナ、ケニア、ナイジェリア、アメリカ合衆国、コスタリカ、ドミニカ共和国、ベネズエラ、ペルー、メキシコ、オーストラリア、ニュージーランド	アボカド、いぬほおずき、おおせんなり、しまほおずき、せんなりほおずき、たまさんご、つるはななす、とうがらし、トマト、はりなすび、ばれいしよ、ペピーノ、カリブラコア属、ケストルム属、ダリア属、ブルグマンシア属及びペチュニア属等 * (とうがらし、トマト、はりなすび、ばれいしよ及びペチュニア属)
CLVd	イタリア、英国、デンマーク、ドイツ、フランス、マリ、アメリカ合衆国、カナダ、コスタリカ	グロキシニア(シーマニア)・ギムノストマ、グロキシニア(シーマニア)・ネマタントデス、グロキシニア(シーマニア)・ブルブラスケンス、コルムネア・エリトロファエア、ソラナム・ストラモニーフォルム、とうがらし、トマト、ネマタンツス・ウェッツティニ、ブルンフェルシア・ウンドウラタ * (とうがらし及びトマト)
TASVd	インドネシア、イスラエル、イタリア、オーストリア、オランダ、クロアチア、スロベニア、ドイツ、フィンランド、フランス、ベルギー、ポーランド、ガーナ、チュニジア、セネガル、コートジボワール	たまさんご、つるはななす、トマト、ケストルム属及びブルグマンシア属 * (トマト)
TCDVd	インド、英国、スロベニア、チェコ、フィンランド、フランス、アメリカ合衆国、メキシコ、ハワイ諸島	とべら、トマト、なす、ひめつるにちにちそう、カリブラコア属、パーベナ属及びペチュニア属 * (トマト、なす及びペチュニア属)
PCFVd	タイ、オランダ、カナダ	とうがらし及びトマト * (とうがらし、トマト)

一部改正〔令和四年三月農林水産省令・一八号〕版

分散：

1) 自然分散

接触（機械的）伝搬、種子伝搬、栄養繁殖体による伝搬、花粉伝搬及びベクターによる伝搬が知られている。アブラムシ類（ジャガイモヒゲナガアブラムシ (*Macrosiphum euphorbiae*)、モモアカアブラムシ (*Myzus persicae*)）による虫媒伝搬はジャガイモ葉巻ウイルス (*Potato leafroll virus*) や *Velvet tobacco mottle virus* と混合感染した場合に生じる。また、トマトの授粉に利用されるクロマルハナバチにより伝搬する。

2) 人為分散

接触（機械的）伝搬、接木伝搬、種子伝搬、栄養繁殖体による伝搬及び花粉伝搬が知られている。ハサミ、ナイフ等の器具、人の手などを介して栽培作業により感染拡大する。

3) 種子伝染

CLVd：トマト、とうがらしで種子伝染が確認されている。

PCFVd：トマト、とうがらしで種子伝染が確認されている。

PSTVd：トマト、とうがらし、ペチュニア等で種子伝染が確認されている。

TCDVd：ペチュニアで種子伝染が確認されている。トマトでの種子伝染は議論が分かれている。

TASVd：トマトで種子伝染が確認されている。

防除：本ウイロイドの防除には感染していない植物の作出及び増殖、ほ場の衛生管理が有効である。感染が確認された植物は、早期に根こそぎ抜き取り、栽培中の他の植物と接触しないようビニール袋等に入れてほ場外に持ち出し、地中深く埋没又は焼却する。薬剤による有効な防除方法は報告されていない。道具類の消毒には、有効塩素濃度 0.5%以上の次亜塩素酸ナトリウムに15秒以上浸漬することが有効である。

<参考文献>

Behjatnia et al. (1996) New Potato Spindle Tuber Viroid and Tomato Leaf Curl Geminivirus Strains from a Wild *Solanum* sp. Molecular Plant Pathology 86(8):880-886.

花田薫 (2021) 世界最小の植物病原であるウイロイドの特性と保存法. 微生物遺伝資源利用マニュアル (44) 農業・食品産業技術総合研究機構遺伝資源研究センター

広島県立総合技術研究所農業技術センター (2010) トマト退緑萎縮病 (TCDVd) 総合対策マニュアル

蚊爪竜一・大石盛伝・本蔵洋一 (2018) . ペチュニア種子からの Tomato chlorotic dwarf viroid 検出に関する検討. 植物防疫所調査研究報告 (植防研報) 54 : 89-93.

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構中央農業研究センター (2021)

令和2年度 国際基準を踏まえた防疫指針策定のための調査委託事業報告書 (令和3年2月8日)

Matsushita et al. (2015). Host ranges of Potato spindle tuber viroid, Tomato chlorotic dwarf viroid, Tomato apical stunt viroid, and Columnea latent viroid in horticultural plants. Eur. J. Plant Pathol. 141(1) 193 - 197.

- Matsushita・Tsuda (2016). Seed transmission of potato spindle tuber viroid, tomato chlorotic dwarf viroid, tomato apical stunt viroid, and Columnea latent viroid in horticultural plants. *Eur. J. Plant Pathol.* 145(4):1007-1011.
- 農林水産省(2013)Columnea latent viroid (CLVd) に関する病害虫リスクアナリシス報告書 (2021改訂)
- 農林水産省(2013)Pepper chat fruit viroid に関する病害虫リスクアナリシス報告書(2015改訂)
- 農林水産省(2013)Potato spindle tuber viroid (ジャガイモやせいもウイロイド) に関する病害虫リスクアナリシス報告書 (2021改訂)
- 農林水産省(2013)Tomato apical stunt viroid (TASVd) に関する病害虫リスクアナリシス報告書(2015改訂)
- 農林水産省(2013)Tomato chlorotic dwarf viroid (TCDVd) (トマト退緑萎縮ウイロイド) に関する病害虫リスクアナリシス報告書(2015改訂)
- Yanagisawa et al. (2017). Development of a comprehensive detection and identification molecular based system for eight pospiviroids. *Eur. J. Plant Pathol.* 149(1):11-23.
- Yanagisawa・Matsushita (2017). Host ranges and seed transmission of Tomato planta macho viroid and Pepper chat fruit viroid. *Eur. J. Plant Pathol.* 149(1):211-217.