キクに発生するトスポウイルス

広島県立総合技術研究所農業技術センター 松 浦 昌 平

はじめに

キク(Dendranthema grandiflorum)は,江戸時代より育種がすすみ,多様な品種が育成されてきた。近年では,電照栽培の導入なども相まって,国内の栽培面積は5,500 ha を上回る最も重要な花き類の一つである。日本における切花生産では,スタンダード型の輪ギクに人気があり約55%を占める。

キクに発生するウイルス、ウイロイド病には数種が知られており、そのうちトスポウイルス属のトマト黄化えそウイルス(Tomato spotted wilt virus: TSWV)によるキクえそ病、キク茎えそウイルス(Chrysanthemum stem necrosis virus: CSNV)によるキク茎えそ病およびポスピウイロイド属のキクわい化ウイロイド(Chrysanthemum stunt viroid: CSVd)によるキクわい化病(松下、2006)は症状が激しく、実被害を伴うことが多いため、切花生産上、特に重要視される病害である。キクでのトスポウイルス発生の歴史は古く、1930年代にオーストラリアでTSWVの初発生が報告されている。日本では1993年に静岡県で発生し(加藤・花田、2000)、その後、主要媒介虫ミカンキイロアザミウマの分布拡大に伴って全国に被害が及んでいる。

トスポウイルスは、アザミウマの体内で増殖し、保毒した成虫は、ほぼ生涯を通じてウイルスを媒介(永続性伝染)する。トスポウイルス種と媒介アザミウマ種との間には一定の特異性が見られる。感染した植物は、本属に特徴的な輪紋症状を呈することが多い。現在では、ウイルス N タンパク質の血清学的性質および遺伝子から推定されるアミノ酸配列の相同性等から 15 種のトスポウイルスが記載され、少なくとも 12 種のアザミウマがトスポウイルスを媒介するとされている。うち、日本には7種のトスポウイルスと6種の媒介アザミウマが報告されている(奥田、2002;櫻井、2006;津田、2006)。

トスポウイルスの防除法には、多くの植物ウイルスと 同様、媒介虫の農薬による化学的防除、防虫ネットや紫 外線カットフィルム等の媒介虫の侵入を防ぐ物理的防 除、抵抗性品種の利用や施設内外の除草等の耕種的防 除、そして媒介虫に対する天敵昆虫、糸状菌等による生

Tospoviruses in Chrysanthemums. By Shohei Matsuura (キーワード:キク,トスポウイルス,アザミウマ,トラップ植物)

物的防除が挙げられる。なかでも近年、弱毒化トスポウイルスによる植物ワクチンや天然資材の利用による抵抗性誘導に立脚したトスポウイルス病防除の研究開発は、新しい環境保全型防除技術として注目される(花田、2009)。トスポウイルスでは、アザミウマが1齢幼虫時にウイルスを獲得し、成虫期に媒介するので、いかに保毒虫を羽化させないかということが防除戦略を立てるうえで鍵となる。いずれにせよ、これらの諸技術を矛盾することなく合理的に組み合わせて使用することが、トスポウイルスの防除にとって重要といえる。

I キクのトスポウイルス診断

日本でキクに発生しているトスポウイルスは、TSWV と CSNV の 2 種類のみであり (Impatience necrotic spot virus: INSV の自然感染は報告されていない). いずれも 葉の退緑, えそ斑や輪紋, そして茎えそ等の症状を呈す る。また、感染時期にもよるが、中~上位葉に症状が出 やすいため、下葉から枯れ上がっていく立枯性病害との 判別が可能である。TSWV の発病程度には、キクの品 種間差が認められているが (ALLEN et al., 1990), CSNV では不明である。TSWV の診断にはウイルス抗体を用 いた ELISA 法, DIBA 法および RIPA 法が,遺伝子診断 では特異的プライマーによる RT-PCR 法および LAMP 法が開発されており、状況に応じた使い分けが可能とな っている。特に, RIPA 法に基づくイムノストリップ® は作業工程の簡易さから、現場での使用が可能である。 TSWV は、キク体内で局在するため (VAN DE WETERING et al., 1999), 無病徴株の診断には、複数葉を混合して 検定するなど、ウイルスの局在性を均質化することが偽 陰性判定を避けるうえで重要である。また、根では地上 部茎葉よりも比較的高率にウイルスが検出されるため, 無病徴感染親株の診断には有効である (図-2)。

次に、2006年に日本に新たに発生したキク茎えそ病 (CSNV, Matsuura et al., 2007) の診断について概説する。 CSNV は、1990年代にブラジルのキク栽培で初めて被 害が確認された。その後、輸入苗を介してイギリス、オランダ等ヨーロッパへも拡大したが、現在は根絶されている。海外での主要媒介虫は、ミカンキイロアザミウマおよび同属の Frankliniella schultzei (日本では未発生)である。CSNV のキクでの病徴は、TSWV のそれと酷似

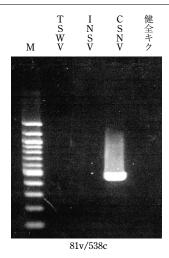


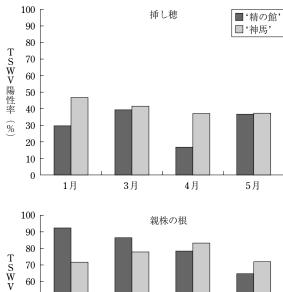
図-1 RT-PCR 法による CSNV の検出

M: 100 bp マーカー, TSWV: TSWV 発病タバコ, INSV: INSV 発病タバコ, CSNV: CSNV 発病タバコ, 健全キク: 健全キク '神馬'. 特異的プライマーは CSNV N タンパク質遺伝子に基づいて, 458 bp の DNA 断片が増幅されるように設計. CSNV81v: 5′-CGGAATACTCTGCACGACTT-3′, CSNV538c: 5′-GCCTGAACTAGAGGGTGAGA-3′. 各種ウイルスに感染した Nicotiana rustica を 100 倍量の TE 緩衝液で磨砕し, 65℃ 5 分間熱処理後, $1\mu l$ を鋳型に RT-PCR (One-Step RNA PCR Kit®) を実施. プライマーの最終濃度は 0.4μ M とし, 94℃ 30 秒, 55℃ 30 秒, 72℃ 1 分を 30 サイクル反応. 本法はキク感染葉から 6 CSNV を検出可能.

しており、病徴からの診断は困難といえる。CSNVは、 TSWV 用のイムノストリップ診断では全く反応しない ため、これにより消去法的に診断することも可能であ る。一方, CSNVのNタンパク質アミノ酸配列は, TSWV と約75%の相同性があるため、感度の高い ELISA 法では交差反応を起こすことがあり、誤診に注 意が必要である。CSNVの診断には、Nタンパク質遺伝 子に基づいて本ウイルスを特異的に検出するプライマー を用いた RT-PCR 法が利用可能である (図-1)。また、 本法では, 感染植物から核酸を抽出, 精製しないで, 直 接粗汁液を鋳型にしても正確に検出できることから,よ り簡易な診断法として利用可能である。CSNVの防除対 策は、基本的にTSWVと変わらないと思われるが、本 病は近年日本でも増加傾向にあるため、感染ルートや伝 染環等を明らかにし, 防除対策を構築することが急務で ある。

Ⅱ キクえそ病の発生要因

キクは、親株の冬至芽や地上芽から挿し穂を採穂する



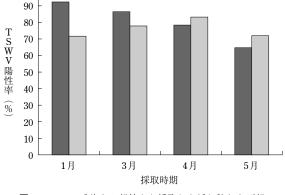


図-2 TSWV 感染キク親株から採取した挿し穂および親株の根におけるウイルス陽性率の推移
TSWV 現地発病ギクの切り下株を親株として無加温ガラス温室栽培し(各品種6株),時期別に挿し穂(n=18~27)と親株の根(n=13~18)を採取、採取個体は完全に磨砕し、DAS-ELISA法で検定。ELISA 陰性挿し穂は高感度検出法 RT-PCR-ハイブ

リダイゼーション法でも陰性を確認.

栄養体繁殖によって増殖することが多いため、ウイルス感染した親株からの垂直伝搬は、重要なウイルスの第一次伝染源になる。前章で述べたようにキク植物体内でTSWV は局在する。このため、TSWV に感染した親株から採穂した挿し穂がすべてウイルス陽性であるわけではない。筆者らの調査では(Matsuura et al., 2004)、TSWV に感染した感受性キク品種の親株から採穂した挿し穂のウイルス陽性率は採穂時期,世代にかかわらず約 $20\sim50\%$ であった(図-2)。この陽性率は、親株にミカンキイロアザミウマが寄生している場合はさらに上昇すると考えられる。

栽培圃場でのキクえそ病被害発生の要因を明らかにする目的で、TSWV感受性品種を対象に、親株のTSWV感染率、本圃定植後のミカンキイロアザミウマの発生量

品種	親株感染率 b) (%)	本圃での媒介虫発生量 ^{c)} (頭/頂芽)	最大保毒虫率 d) (%)	キクえそ病発病株率 ^{e)} (%)
氷山	6.0	$0.5\sim 1.5$	3.5	43.1
神馬	< 1.0	$0.3\sim1.2$	1.9	2.3
栄冠	8.0	$0\sim 0.1$	0	1.0

表-1 露地キク圃場におけるキクえそ病 (TSWV) の発生推移 a)

a) 調査は広島県江田島市の露地圃場で 2000 年 4 月~ 10 月まで実施。b) 4 月に親株の葉を RT-PCR 法で検定。c) ミカンキイロアザミウマ成幼虫数。d) 圃場で無作為に採集した成虫を DAS-ELISA 法で検定。e) 着蕾期~破蕾期に調査。

等を経時的に調査した (Matsuura et al., 2002)。その結 果, 親株のウイルス感染率が高く, かつ, 本圃で媒介虫 が多発した場合,被害が甚大となることがわかった。一 方,ある程度親株感染が見られても、作期を通して媒介 虫密度が低い場合は、被害が顕在化しにくく、また逆に、 親株感染率が低くても,媒介虫が多発し,かつ,保毒虫 率が高い場合は、被害に結びつくことが観察された (表-1)。以上のように、親株感染と媒介虫の多発がウ イルス病被害発生の必須要因となるため, この双方を制 御することがキクえそ病の防除に不可欠といえる。すな わち, 少しでも発病の見られた圃場からは, 広く潜在感 染している可能性があるため, 病徴を呈していなくても 採穂せず、健全な親株に更新することが必要である。ま た. 親株床や本圃での有効積算温度に基づいたミカンキ イロアザミウマ幼虫発生初期~盛期の薬剤散布などによ り、媒介虫を低密度時から防除することが重要である。

Ⅲ トラップ植物による防除の試み

化学合成農薬が病害虫防除の主流になってまもなく, 抵抗性害虫の出現、リサージェンスと呼ばれる特定害虫 勢力の増大といった種々の弊害が現実問題となり, 1980年代から化学農薬一辺倒の防除に対する改善策が 打ち出され始めた。こうした中、筆者らはバーベナ (Verbena hybrida) がシス型リナロール・オキシド (ピ ラノイド) などの二次代謝物を介してミカンキイロアザ ミウマを誘引する機能をもっていることに着目し、トラ ップ植物(害虫誘引植物)としてキク施設に混植するこ とで媒介虫をバーベナに引き寄せ、結果としてキクえそ 病を抑制できないだろうかと考え実験を行ってきた (Matsuura et al., 2006)。その結果、キクの栽植株数に対 して1割程度のバーベナをキク近傍に栽植することで, キクに寄生する媒介虫の発生を長期間抑制し、キクえそ 病の発生を無栽植区の40~50%程度に抑制することが できた(図-3)。この実験では、トラップ植物のみの利 用であるが, 近年, 害虫を寄せ付けない忌避植物 (また

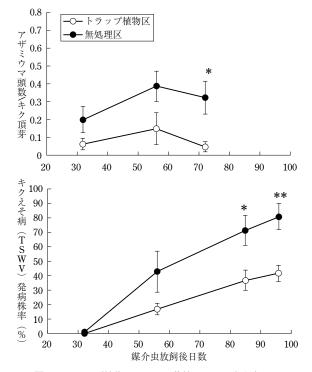


図-3 トラップ植物バーベナの栽植がキクに寄生するミカンキイロアザミウマ密度およびキクえそ病の発病に及ぼす影響

は忌避剤)を併用する Push – pull 法が注目され始めている(Cooκ et al., 2007)。アザミウマ類では、ネギアザミウマにおいて誘引剤としてエチル・イソニコチネート、忌避植物としてシソ科のマジョラム(オレガノと同属)を用いた Push – pull 法の有効性が報告されている

(Van ToL et al., 2007)。ミカンキイロアザミウマに対す る卓効農薬が限られる中、キクえそ病の防除において も、 施設内外にバーベナやペチュニア等のトラップ植物 を植生管理し、媒介虫の忌避植物 (忌避剤) や防虫ネッ トの展張等を組み合わせた Push-pull 法の実証試験が 今後必要であると考える。

最後に、これらの研究に対して、有益なご助言をいただ いた鹿児島大学農学部の岩井久博士に感謝申し上げる。

引用 文献

1) Allen, W. R. et al. (1990): Can. J. Plant Pathol. 12:417 ~ 423.

- 2) Соок, S. M. et al. (2007): Annu. Rev. Entomol. **52**: 375 ~ 400.
- 3) 花田 薫 (2009):植物防疫 63:686~689.
- 4) 加藤公彦・花田 薫 (2000): 九病虫研会報 46:61~65.
- 5) 松下陽介 (2006):植物防疫 60:455~456.
- 6) Matsuura, S. et al. (2002): J. Gen. Plant Pathol. **68**: 99 ~ 102. et al. (2004): J. Phytopathology **152**: 219 \sim 223. 7)
- 8) -– et al. (2006): J. Gen. Plant Pathol. 72: 180 ~ 185.
- 9) et al. (2007): Plant Dis. 91: 468.
- 10) 奥田 充 (2002):植物防疫 56:18~21.
- 11) 櫻井民人 (2006): 同上 60:356~360. 12) 津田新哉 (2006): 同上 60:597~601.
- 13) Van De Wetering, F. et al. (1999) : Plant Pathol. $48:693 \sim 699$.
- 14) Van Tol, R. W. H. M. et al. (2007): Entomol. Exp. Appl. 122:69 ~ 76.

(新しく登録された農薬22ページからの続き)

稲:いもち病,ウンカ類,カメムシ類:収穫21日前まで (散布,空中散布,無人ヘリコプターによる散布,)

● クロチアニジン・ジクロシメット・フェリムゾン粉剤 ※ 名称変更

22602: ホクサンブラストップダントツ粉剤 DL (北海三共) 10/02/17

クロチアニジン:0.15%、ジクロシメット:0.20%、フェリ ムゾン:2.0%

稲:いもち病、ウンカ類、ツマグロヨコバイ、カメムシ類: 収穫 21 日前まで

「殺菌剤」

●イミノクタジン酢酸塩液剤 ※名称変更

22579: ホクサンベフラン液剤 25 (北海三共) 10/02/03 イミノクタジン酢酸塩:25.0%

麦類 (小麦を除く): 雪腐大粒菌核病, 紅色雪腐病: 根雪前 麦類 (小麦を除く): 紅色雪腐病, 紅色雪腐病, 紅色雪腐病, 条斑病, 斑葉病, 網斑病, 斑葉病, なまぐさ黒穂病: は種前

小麦:雪腐大粒菌核病,紅色雪腐病:根雪前

小麦:赤かび病:収穫14日前まで

小麦:紅色雪腐病,紅色雪腐病,紅色雪腐病,条斑病,なま ぐさ黒穂病:は種前

りんご:モニリア病, 腐らん病:展葉期

りんご:腐らん病:休眠期

りんご:斑点落葉病:収穫前日まで

りんご:褐斑病,輪紋病,すす点病,すす斑病,黒星病:収 穫前日まで

りんご:紫紋羽病:苗木植付前

ぶどう: 晩腐病, 褐斑病, 黒とう病: 休眠期

ぶどう:黒とう病, 枝膨病:収穫60日前まで

日本なし:黒斑病:休眠期 西洋なし:黒斑病:休眠期

もも:縮葉病:休眠期

みかん: 貯蔵病害 (青かび病), 貯蔵病害 (緑かび病), 貯蔵 病害(黒腐病). 貯蔵病害(白かび病): 収穫前日まで

かんきつ (みかんを除く): 貯蔵病害 (青かび病), 貯蔵病害 (緑かび病), 貯蔵病害 (黒腐病), 貯蔵病害 (白かび病): 収穫前日まで

マルメロ:腐らん病:展葉期

かりん:腐らん病:展葉期

アスパラガス:茎枯病:収穫終了後(冬期まで)

りんどう:花腐菌核病,葉枯病:-

●ペンシクロン水和剤 ※名称変更

22581: ホクサンモンセレン顆粒水和剤 (北海三共) 10/02/03

ペンシクロン:50.0%

ばれいしょ: 黒あざ病: 植付前

てんさい:葉腐病

てんさい:根腐病:収穫30日前まで

てんさい:根腐病:定植前

●マンゼブ水和剤 ※名称変更

22582:ホクサングリーンペンコゼブ水和剤(北海三共) 10/02/03

マンゼブ:80.0%

ばれいしょ: 夏疫病、疫病: 収穫7日前まで てんさい: 褐斑病, 褐斑病: 収穫30日前まで

たまねぎ:べと病, 黒斑病, 灰色かび病:収穫3日前まで

だいず:べと病:収穫45日前まで

すいか:炭疽病、つる枯病:収穫7日前まで

メロン: つる枯病、べと病: 収穫7日前まで

きゅうり:べと病、炭疽病:収穫前日まで

キャベツ:べと病:収穫30日前まで ねぎ:べと病、黒斑病、さび病:収穫30日前まで

はくさい:べと病、黒斑病:収穫30日前まで

アスパラガス (露地栽培):斑点病,茎枯病:収穫終了後, 但し秋期まで

かぼちゃ:べと病:収穫30日前まで

● テブコナゾール・トリフロキシストロビン水和剤 ※新混 合剤

22585:デディケートフロアブル (バイエルクロップサイエ ンス) 10/02/17

テブコナゾール:18.2%, トリフロキシストロビン:8.8% 西洋芝 (ベントグラス): ダラースポット病、炭疽病: 発病

「除草剤」

クレトジム乳剤(有効成分含量記載を中央値に変更)

22577: セレクト乳剤 (アリスタライフサイエンス) 10/02/03

クレトジム:24.0%

あずき:一年生イネ科雑草 (スズメノカタビラを除く),ス ズメノカタビラ

いんげんまめ:一年生イネ科雑草 (スズメノカタビラを除 く), スズメノカタビラ

(43ページに続く)