

アスター、トルコギキョウで発生した CSNV による 新病害 (茎えそ病)

富山県農林水産総合技術センター園芸研究所 ^{ももの} 桃 ^い 井 ^{かず} 千 ^み 巳

はじめに

アスター (*Callistephus chinensis* (L.) Nees) は、キク科に属し、和名は「エゾギク」と呼ばれる。切り花では季咲き栽培を基準に、通年採花が可能であるため、施設でのローテーションに取り入れやすい品目である。アスターの病害に関しては、糸状菌や細菌によるものが多く、ウイルス病に関しては *Tobacco rattle virus* (TRV) による黄色輪紋病 (小室ら, 1970)、トスポウイルス属の *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) による黄化えそ病が知られている。

一方、トルコギキョウ (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.) はリンドウ科に属し、国内の切り花生産においてキク、カーネーション、バラに次ぐ基幹品目である (農林水産省, 2010)。トルコギキョウに発生するウイルス病の種類は多く、これまでに 10 種のウイルスの発生が報告されている (日本植物病理学会, 2000)。中でもトスポウイルスは TSWV による黄化えそ病 (黒田ら, 1999)、*Impatiens necrotic spot virus* (INSV) によるえそ斑紋病 (土井・加藤, 2003)、*Iris yellow spot virus* (IYSV) によるえそ輪紋病 (土井ら, 2003) が知られており、いずれも被害が大きい。

トスポウイルスは TSWV をタイプウイルスとする *Bunyaviridae* 科 (トスポウイルス以外は動物ウイルス) に属し、現在までに 20 種以上の報告がある (CIUFFO et al., 2009; HASSANI-MEHRABAN et al., 2010)。宿主範囲は植物ウイルスの中でも群を抜いて広く、特にナス科、マメ科、キク科、ウリ科の作物に世界中で甚大な被害を及ぼしている。ウイルスの種によって媒介するアザミウマ種が異なり、TSWV や INSV ではミカンキイロアザミウマのウイルス媒介能力が高いことが知られている (INOUE et al., 2004; SAKURAI et al., 2004)。いずれも発生地域や発生する植物種は年々増加しており、多くの場合、大きな被害をもたらしている。

2009 年、富山県においてトスポウイルスの一種であ

る *Chrysanthemum stem necrosis virus* (CSNV) が、キク、トマトで確認された。その後、同一栽培地において、ここで紹介するアスター、トルコギキョウにおける CSNV による被害が確認された。本ウイルスによるアスター、トルコギキョウの被害は海外も含めて初確認である (MOMONOI et al., 2011)。そこで、本稿では、アスター、トルコギキョウで発生した茎えそ症状の病徴と被害、病原の性状を紹介するとともに、その発生経緯から今後の防除対策について述べてみたい。

I CSNV とは

CSNV はトスポウイルス属に属し、ミカンキイロアザミウマ (*Frankliniella occidentalis*) および *F. schultzei* (国内未発生) によって媒介される (NAGATA and de ÁVILA, 2000)。1990 年代にブラジルのキクで初確認され (DUARTE et al., 1995)、海外ではキクのほか、トマト (NAGATA et al., 1998) で発生が確認されている。国内では 2006 年に広島県のキクで初確認され (MATSUURA et al., 2007)、その後 2007 年に群馬県のトマト (桑原・酒井, 2008)、2010 年に茨城県のピーマンで発生が報告されており (茨城県, 2010)、特に近年キクでの発生が全国的に増加している。キクでは感染した親株からの挿し穂も伝染源となるが、種子伝染、土壌伝染、管理作業等による汁液伝染の報告はない。キク茎えそ病およびトマト茎えそ病ともに、TSWV による症状と酷似し、病徴による識別は困難である。トマトでは果実にもえそが生じ、重症株は枯死するため被害は甚大である。

II アスター、トルコギキョウにおける病徴と被害

2009 年 9 月、富山県内の園芸施設において 7 月定植 10 月出荷予定のアスター (品種: ステラ シリーズ) の茎葉や葉柄に全身性のえそ、黄化、褐変の症状が発生した (口絵①)。8 月定植 11 月出荷予定の株では、葉柄にのみえそが発生した。また同時期に、隣接した施設のトルコギキョウの中位~上位に、茎にえそ、葉にえそ、えそ斑点、えそ輪紋の症状を呈する株が発生し、重症株は折れ曲がった (口絵②)。アスターでは施設 (2a) の 6,000 株のほぼすべてに症状が確認され、被害が甚大であった。一方、トルコギキョウでは数株程度の発生であ

Stem Necrosis of Aster and Russell Prairie Gentian Caused by *Chrysanthemum stem necrosis virus*. By Kazumi MOMONOI

(キーワード: アスター (えぞぎく), トルコギキョウ, *Chrysanthemum stem necrosis virus*, 茎えそ病)

った。施設内ではミカンキイロアザミウマの発生が認められた。なお、同年5月、同一栽培地の別の施設ではキク、トマトに CSNV の発生が確認されていた。

III ウイルスの同定

前作のキク、トマトで CSNV が発生していたことから、本ウイルス特異的プライマー (MATSUURA et al., 2007) による RT-PCR を行った。すなわち、病斑部に 10 回程度注射針 (テルモ, 25G) の先端部を挿入し、PrimeScript One Step RT-PCR Kit Ver.2 (タカラバイオ) を用いた反応液に懸濁し、プライマー (5'-CGGAAT-ACTCTGCACGACTT-3'および 5'-GCCTGAACTA-GAGGGTGAGA-3') を用いて 50°C, 30 分の逆転写反応後、94°C, 30 秒, 55°C, 30 秒, 72°C, 30 秒を 35 サイクルの条件で PCR を行った。その結果罹病株から、想定されるサイズ (458 bp) の DNA 断片が増幅された。なおこの方法でキク、トマト、アスター、トルコギキョウすべての罹病株からの検出が可能であった。次に、アスター、トルコギキョウの罹病株からそれぞれウイルスを分離し、N タンパク質遺伝子の全長をシーケンスしたところ、いずれもすでに報告されている CSNV と 99 ~ 98% の相同性があった。

また、両分離株の接種葉を亜硫酸ナトリウムを含む 0.1M リン酸緩衝液 (pH7.0) 中、氷上で磨砕し、磨砕液をグリッドにのせ、1% グルタルアルデヒドにより固定した後、2% リンタングステン酸溶液 (pH6.5) で数分間染色した。電子顕微鏡により、径約 100 nm の亜球状で、エンベロープ (脂質膜) をもつトスポウイルス特有の粒子が観察された (図-1)。

以上のことから、アスターおよびトルコギキョウから

分離されたウイルスは CSNV と同定された。

IV 植物寄生性

アスター、トルコギキョウから分離した CSNV 株をそれぞれ汁液接種で戻し接種すると、接種 2 週間後のアスターでは接種葉にえそ斑が生じたが、全身に感染しなかった。一方、トルコギキョウでは全身感染し、原病徴と同様の全身のえそ症状が再現された。次に、アスターに対してミカンキイロアザミウマによる媒介試験を試みた。すなわち、アスター分離株を感染させた *Datura stramonium* に無毒のミカンキイロアザミウマ幼虫 (1 齢) を放飼し 2 日間獲得吸汁させた後、村井 (1998) の方法により催芽ソラマメで成虫まで飼育し、健全なアスター苗に 1 株あたり 10 頭の成虫を 7 日間放飼した。その後、殺虫剤で駆除し病徴の発現を観察した。その結果、接種約 1 か月後、アスターでは全身にえそが生じ原病徴が確認されたが、ウイルスの全身移行は確認できなかった。以上から、アスターでは、本ウイルスは局部感染でとどまるものの、媒介虫が植物体の全身に寄生し、ウイルスを伝搬することによって、全身的にえそ症状が生じるものと推察された。これは、タマネギにおける IYSV による被害と同様な発生様相と考えられた (善ら, 2005)。また、両分離株の宿主範囲を汁液接種により調査した。結果は表-1 のとおりで、8 科 25 種の植物で感染が認められ、キク科、ナス科植物等に全身感染が認められた。CSNV の宿主範囲は TSWV と同様に広いことが示唆された。ジニア、シネリアア等では病徴が激しいことから、今後の発生には注意が必要である。また、アスターのような局部感染植物においても本ウイルスによる被害が生じうることに留意する必要がある。

V 新興ウイルスのエピデミックに接して

最初に本ウイルスの発生を確認したトマトでは、その病徴から TSWV や INSV の関与が強く疑われたが、血清診断の結果は陰性であった。一方で、汁液接種した数種検定植物のいくつかにえそ性の激しい病徴が生じた。また、未固定の試料を電子顕微鏡観察してもウイルス様の粒子を観察することはできなかったことから、その他のトスポウイルスの関与が強く示唆された (一般に、トスポウイルス粒子は固定処理を行わないと観察が難しい)。そこで、再度文献調査を行うとともに、トマトで記載のある CSNV を対象にした遺伝子診断を行い、ウイルスの同定に至ることができた。このことから、ウイルス診断の基礎は、検定植物への接種と電子顕微鏡観察であると考えられる。

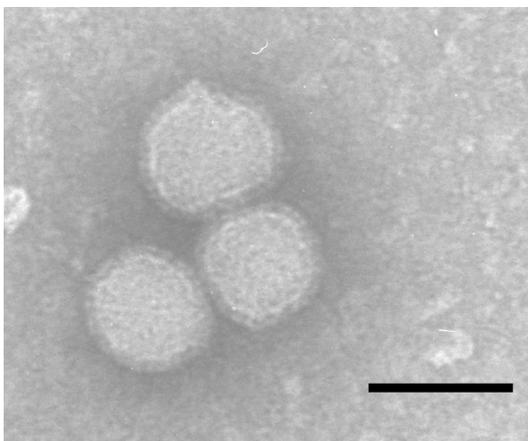


図-1 アスター分離株の CSNV 粒子 (Bar = 100 nm)

表-1 CSNVの宿主範囲

供試植物		CSNV *		アスター分離株			
科	種	接種葉	上位葉	接種葉	DIBA	上位葉	DIBA
ツルナ	ツルナ	na	na	CS	+	—	—
ヒユ	センニチコウ	CS, NS	—	NS, NR	+	—	—
ツリフネソウ	インパチエンス	NS	—	CS, NR, NS	+	—	—
アカザ	<i>Chenopodium quinoa</i>	NS	—	CS, NS	+	—	—
	<i>Chenopodium amaranticolor</i>	NS	—	CS, NS	+	—	—
	ホウレンソウ	na	na	CL, NR	+	CS, NR, NS	+
キク	ヒマワリ	—	—	—	—	—	—
	レタス	na	na	N	+	—	—
	シネラリア	na	na	CL, CS, NR, NS	+	NR, StN	+
ウリ	ジニア	CL	Mo	CL, NR	+	—	+
	キュウリ	CL	—	NS, NR	+	—	—
	マクワウリ	na	na	—	—	—	—
マメ	カボチャ	na	na	—	—	—	—
	ダイズ	na	na	—	—	—	—
	インゲンマメ	CL	VC	—	—	—	—
ナス	エンドウ	NR	Mo, W	(NR)	+	—	—
	ササゲ	CL	Mo, LD	CL, NR, NS	+	—	—
	ピーマン	na	na	NR	+	CL, CS, M, TN	+
	<i>Datura stramonium</i>	NS, NR	VC, M, E	CS, LA, NR, NS	+	CL, CS, M	+
	トマト	NS, NR	CS, VN	CL, NS, NR	+	CS, N, NS, PD, StN	+
	<i>Nicotiana benthamiana</i>	CS	VC, M, LD	CS, NR	+	PD, W	+
	<i>Nicotiana debneyi</i>	na	na	NR	+	—	+
	<i>Nicotiana glutinosa</i>	NS	—	NR, NS	+	—	—
	<i>Nicotiana rustica</i>	CS	VC, M	NR	+	—	—
	<i>Nicotiana sylvestris</i>	na	na	NR	+	—	+
タバコ	NR	VC	NR	+	—	+	
<i>Nicotiana velutina</i>	na	na	NR	+	CL, NR, NS, TN	+	
<i>Physalis floridana</i>	na	na	NR, LA	+	—	+	
ベチュニア	NS	—	NR, NS	+	—	—	
ナス	na	na	NR	+	—	+	

感染の有無をDIBA法により確認した。CS; 退緑斑点, CL; 退緑斑紋, E; エピナスティール, LA; 落葉, LD; 葉の変形, M; モザイク, Mo; モットル, N; えそ, NS; えそ斑点, NR; えそ輪紋, PD; 枯死, StN; 茎えそ, TN; 生長点えそ, VC; 葉脈透化, VN; 葉脈えそ, W; しおれ, (); ときに現れる病徴, —; 無病徴, na; 試験せず。* BEZERRA et al. (1999). MOMONOI et al. (2011) より一部改変して, 引用。

トマトでのCSNVの発生確認後, 同一栽培地のキクを調査したところ, 茎えそ症状株が確認され, これらからもCSNVが検出された。どのような経路でCSNVが感染したかを断定するのは難しいが, 罹病苗等の移動により, 広域的な被害が生じたことが推定される。なお, 後に発生したアスター, トルコギキョウも含め, 分離されたCSNVのNタンパク質遺伝子の塩基配列は100%一致したことから, 今回のエピソードは一つの発生源から被害が拡大したものと推定された。

トマトあるいはキクで発生が認められた後, 罹病株の除去や施設の衛生管理が行われたものの, 残念ながらアスター, トルコギキョウで発生することとなった。栽培地では周年的に各種園芸作物が栽培されており, このよ

うな環境でウイルスを根絶することは容易ではないといえる。また, 本ウイルスが予想以上に, 宿主範囲が広く, 多数の植物に被害を及ぼしうることを想定できなかったことは, 反省すべき点である。なお, 本発生圃場では, 冬季にいったん, すべての作物が処分され, その後本ウイルスの発生は認められていない。

IV 防除対策

富山県では, 主に購入苗に由来するトスポウイルス病の発生事例が多いことから, 以下の予防対策が講じられている。

1 種苗管理

キクなどの栄養繁殖性の作物においては, 完全な伝染

源の除去が困難であり、さらにいったん感染率が高まると圃場でのまん延を防ぐことは不可能である。またトマトやキクは高効率にウイルスを伝搬するため、感染源となる事例が多い。特にキクが感染源の場合、他の作物にウイルスが伝搬する多発生事例になりやすい。そこで、苗は健全なものを導入（感染が疑わしい苗は直ちにウイルス検定を実施）し、栄養繁殖性作物と実生作物を同じ施設で栽培しない。

2 害虫管理

近年、トスポウイルス病害の発生が増加していることから、苗導入時に青（黄）色粘着シートを設置し、アザミウマ類の発生の監視・密度低減に努める。また、育苗期や生育初期のトスポウイルス病害の発生は被害が拡大しやすいことから、育苗期や定植時の殺虫剤の施用または定植直後の殺虫剤の散布をかかさないなどの対策を行う。

3 診断・検査体制

富山県ではウイルス様症状が認められた場合に、まず広域普及指導センターにおいてイムノストリップ法によるウイルス検定が実施される。トスポウイルス属のうち、県内で発生が多い TSWV、INSV に関しては早期診断が可能である。イムノストリップは農家レベルでも診断可能な利点がある。イムノストリップで陰性を示した場合に、当研究所に持ち込まれ、必要に応じて RT-PCR 等による遺伝子診断を行っている。

おわりに

2009 年に富山県で発生したアスター、トルコギキョウ

ウの CSNV による茎えそ病の発生経緯および今後の防除対策について述べた。海外および県外からの苗の導入や広域的な苗の移動の大幅な増加により、今後も新たな侵入病害虫の発生が懸念される。いったん、ウイルスが発生してしまった圃場では作物を処分せざるを得ないが、発生するまでは警戒しないのが実情である。被害を未然に防ぎ、最小限にとどめるためにも、今後は侵入病害虫に対する情報を共有化し、現場の警戒意識を高める必要があると考える。

引用文献

- 1) BEZERRA, I. C. et al. (1999) : *Phytopathology* **89** : 823 ~ 830.
- 2) CIUFFO, M. et al. (2009) : *Plant Dis.* **93** : 467 ~ 474.
- 3) DUARTE L. M. L. et al. (1995) : *J Phytopathol.* **143** : 569 ~ 571.
- 4) 土井 誠ら (2003) : *日植病報* **69** : 181 ~ 188.
- 5) 土井 誠・加藤公彦 (2003) : *関東病虫研報* **50** : 83 ~ 87.
- 6) HASSANI-MEHRABAN, A. et al. (2010) : *Arch. Virol.* **155** : 423 ~ 428.
- 7) 茨城県病害虫防除所 (2010) : *茨城県病害虫情報* No. 12.
- 8) INOUE, T. et al. (2004) : *Bull. Entomol. Res.* **94** : 501 ~ 507.
- 9) 小室康雄ら (1970) : *日植病報* **36** : 17 ~ 26.
- 10) 黒田智久ら (1999) : *同上* **65** : 490 ~ 493.
- 11) 桑原克也・酒井 宏 (2008) : *同上* **74** : 225.
- 12) MATSUURA, S. et al. (2007) : *Plant Dis.* **91** : 68.
- 13) MOMONOI, K. et al. (2011) : *J. Gen. Plant Pathol.* **77** : 142 ~ 146.
- 14) 村井 保 (1998) : *植物防疫* **52** : 186 ~ 188.
- 15) NAGATA, T. et al. (1998) : *Plant Dis.* **82** : 1403.
- 16) NAGATA, T. and A. C. de ÁVILA (2000) : *J Phytopathol.* **148** : 123 ~ 125.
- 17) 日本植物病理学会 (2000) : *日本植物病名目録*. 日本植物防疫協会, 東京, p. 220 ~ 224.
- 18) 農林水産省 (2010) : *農林水産統計データ*.
- 19) SAKURAI, T. et al. (2004) : *Appl. Entomol. Zool.* **39** : 71 ~ 78.
- 20) 善 正二郎ら (2005) : *日植病報* **71** : 123 ~ 126.

発生予察情報・特殊報 (23.7.1 ~ 7.31)

各都道府県から発表された病害虫発生予察情報のうち、特殊報のみ紹介。発生作物：発生病害虫（発表都道府県）発表月日。都道府県名の後の「初」は当該都道府県で初発生の病害虫。

※詳しくは各県病害虫防除所のホームページまたは JPP-NET (<http://www.jpnp.ne.jp/>) でご確認下さい。

- トマト：トマトモザイクウイルス (ToMV) 新系統による病害 (栃木県：初) 7/8
- ナシ：フタモンマダラメイガ (山口県：初) 7/8
- キュウリ：退緑黄化病 (千葉県：初) 7/13
- トマト・ナス等：クロメンガタズメ (埼玉県：初) 7/26