

特集：ネギアザミウマが媒介するアイリス黄斑ウイルス (IYSV) 防除対策

ネギアザミウマの IYSV 獲得・媒介特性

独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 いし かわ こう いち*
近畿中国四国農業研究センター 石 川 浩 一*

はじめに

アイリス黄斑ウイルス (Iris yellow spot virus: IYSV) はトスボウイルス属のウイルスであり、オランダにおいてダッチアイリスから初めて分離された (CORTÈS et al., 1998)。我が国においては、千葉県におけるアルストロメリアからの検出報告が最初であり (OKUDA and HANADA, 2001)、トルコギキョウからも検出された (土井ら, 2003)。その後、ネギ、タマネギ、ニラに代表されるユリ科作物での被害 (えそ条斑病) が各地から相次いで報告された。四国地域においては、高知県でニラとトルコギキョウ (高知県病害虫防除所, 2003)、香川県でトルコギキョウ、ネギ、タマネギ、テッポウユリ (香川県農業試験場病害虫防除所, 2007)、愛媛県でネギ、タマネギ (愛媛県, 2011)、徳島県でネギ (徳島県, 2011) での発生が報告されている。

そのような状況下、IYSV 防除対策として徳島県、香川県、愛媛県および高知県の農業試験研究機関を核として農林水産省の新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業「四国4県連携による IYSV の緊急防除対策技術の開発 (2010～12)」に3年間取り組んできた。本事業では IYSV 防除対策の構築を目標とし、そのための課題の一つが発生地における伝染環の解明だった。香川県観音寺市のネギ、タマネギ栽培地域では年間を通してこれらの作物が栽培されている。また、高知県香美市の施設栽培を中心としたニラ栽培地域でも通年でニラが栽培されている。しかし、IYSV の発生が認められる時期は限定されており、しかも毎年その時期に発病している。栽培地域内で伝染環は成立しているのか、毎年地域外から保毒媒介虫が侵入しているのか、伝染源としての雑草の可能性はどの程度あるのか、関連する事項として伝搬特性が異なる媒介虫系統が存在するのかなど、多方面からのアプローチにより伝染環について解明することにな

った。ここでは、「地域内で伝染環は成立している」という仮説の是非を明らかにするために現地での発生調査、ネギアザミウマの IYSV 獲得・媒介特性について検討して得られた知見について紹介させていただく。

I 野外での IYSV 発生動態

1 発生圃場での保毒虫率の変動

前述のように香川県観音寺市のネギ科作物栽培地域では、ほぼ年間を通して栽培されているが、IYSV による条斑病の発生は時期が限定されている。5月中旬にタマネギ圃場で発生が認められ、その後、隣接した青ネギ圃場で発生して6月下旬にピークとなる。以降、発生株は徐々に減少し、10月にはほとんど認められなくなる。また、徳島県吉野川市の白ネギ栽培地域での発生は8月にピークを迎え、11月以降ではほとんど認められない。両地域でのえそ条斑病発生パターンはここ数年続いている。そこで、この地域での伝染環が成立しているのは発病の有無にかかわらず感染株が常に存在し (植草ら, 2005)、それが次の伝染源になることで伝染環が成立しているのではないかと仮定した。

2011年に観音寺市栽培地において6月上旬～11月上旬までの保毒虫率の変動について調査した。この地域の青ネギ栽培では圃場ごとに作付け時期が異なっており、調査は生育段階の異なるネギ圃場5～7箇所から一圃場当たり20頭のネギアザミウマを採集して行った。保毒虫率は調査期間を通して10～30%であり (図-1)、えそ条斑病の発生程度に関係なく一定の保毒虫がこの地域では維持されているものと考えられた。しかし、圃場間での保毒虫率には差が認められ、多発時期の発病圃場で15.0%だったのに対して無発病圃場では5.0%、また、少発時期のネギ栽培後期圃場と生育中期圃場ではそれぞれ30.0%、16.7%だった。

2 発病地におけるネギおよびタマネギでの IYSV 組織内分布

えそ条斑病発生程度にかかわらず保毒虫率が栽培期間中ほぼ一定であったことから、IYSV の無病徴感染、作物組織内分布について検討した。発病ネギ株およびタマネギ株の病徴出現葉およびその上位葉2枚を対象とし、葉を20×5mmに裁断した各切片での IYSV 存在

Characterization of Iris yellow spot virus Acquisition and Transmission by *Thrips tabaci*. By Koichi ISHIKAWA

(キーワード: アイリス黄斑ウイルス, ネギアザミウマ, 伝染環, 無病徴感染, 成虫獲得)

* 現所属: 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 野菜茶業研究所

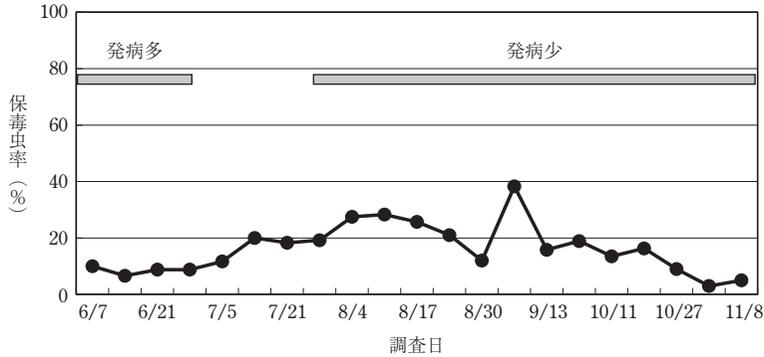


図-1 IYSV 発生地でのネギアザミウマ保毒虫率の推移 (2011 年, 香川県観音寺市) 4~5 圃場から各 20~30 頭採集して ELISA 法で検定. 保毒虫率は平均値で表示.

ネギ	第 3 葉			0.089	1.956					
		0.052	0.087	0.100	0.077	0.078				
				0.071	0.236					
	次葉								0.099	
				0.058						
発病葉	0.075	0.078	0.057		0.493					
	0.091	0.102	0.063		0.073					

タマネギ	第 3 葉	0.052	0.079	0.054	0.078	0.107	0.052	0.083		0.083	0.088
					0.071	0.058	0.031	0.089			0.085
	次葉			0.141	0.140	0.174	0.519	0.076	0.103	0.550	0.121
		0.101	0.083	0.107	0.103	0.081	0.095	0.077	0.087	0.371	0.117
発病葉	0.051	0.266	0.479	0.072		0.060	0.119	0.121	0.676	0.197	
						0.727	0.320	0.430	0.883	0.163	

図-2 発病ネギおよびタマネギでの IYSV 組織内分布 葉を裁断した切片 (20 × 5 mm) を ELISA 法で検定. 枠内の数値は吸光値を示す (空欄は 0.05 以下). ■は病斑部を示す.

の有無および濃度を ELISA 法で調べた。なお、使用した抗 IYSV-IgG、酵素標識抗体は日本植物防疫協会販売のものを使用した。

結果の一例を図-2 に示す。IYSV は病斑部から検出されるとともに、病斑出現葉の非病斑部および無症状上位葉の切片からも検出された。そして、陽性を示した切片 (吸光値 0.1 以上) に隣接した切片の吸光値は低く、IYSV は組織内で局在化していること (Smith et al., 2006) が改めて確認された。ネギとタマネギでの IYSV の様態を比較すると、タマネギのほうが病斑部を含めた陽性切片での IYSV 濃度は高く、陽性切片の周辺切片での濃度も高かったことからタマネギのほうが感受性が高いものと考えられた。

これらのことから、IYSV がネギ科作物に感染した場

合、えそ斑を形成するだけでなく無病徴局在化するものと考えられた。現地圃場から無症状株を採集し、各株から無作為に切り出した 10 切片を検定したところ、発病が認められる 6 月から発病の少ない 7 月下旬においても 10~30% の株で IYSV が検出された (表-1)。

II ネギアザミウマ体内での IYSV の動態

1 ネギアザミウマの非病斑部からの IYSV 獲得

IYSV は野外において無病徴感染もしていることが示唆されたことから、ネギアザミウマがこの非病斑部から IYSV を獲得できるのかを検討した。野外で採集した発病株の病斑部および非病斑部から切片 (20 × 5 mm) を作製し、ネギアザミウマふ化幼虫を 2 日間獲得吸汁させた後、ソラマメで成虫になるまで飼育した。保毒虫検定

表-1 IYSV 発生地は無発病株からの IYSV 検出

採集日	検出数/供試数	感染株率 (%)
6. 7	2/20	10.0
6.14	6/20	30.0
6.21	5/30	16.6
6.28	4/20	20.0
7. 5	4/30	13.3
7.12	5/30	16.6
7.21	3/20	15.0

無病徴株の上位3葉から無作為に切り出した10切片をELISA法で検定し、1枚でも陽性となった株を感染株と判断。

(2011年, 香川県観音寺市)

はELISA法で行い、吸光値0.1以上を保毒虫とした。その結果、非病斑部からも獲得できることが明らかになった(表-2)。病斑部からの獲得率は73.9%で非常に高かったのに対して非病斑部では10.8%だったが、非病斑部切片には非感染切片も含まれていることから実際の無病徴感染部からの獲得率はかなり高いことが推察された。この試験では非病斑部から獲得したネギアザミウマの媒介試験は行っていない。したがって、非病斑部が伝染源になり得るかについては明言できないが、病斑部、非病斑部どちらを獲得源としても獲得したネギアザミウマ個体の吸光値がほとんど1.0以上であったことから、非病斑部からIYSVを獲得した個体は媒介できるのではないかと考えている。

2 ネギアザミウマ成虫体内でのIYSVの増殖

2011年9月に徳島県吉野川市のIYSV発生源圃場で採集したネギアザミウマ成虫を採集直後に保毒虫検定せず、3日間飼育した後にELISA検定したところ、吸光値が高くなる傾向が見られた。そこで、2011年12月、2013年2月に徳島県吉野川市および香川県観音寺市のネギ圃場でネギアザミウマ成虫を採集し、採集直後に凍結した個体と25℃で3日間ソラマメ飼育した個体で保毒虫率および虫体内IYSV濃度を比較した。ソラマメ飼育した個体では保毒虫率が明らかに高くなった(表-3)。加えて、疑陽性とみなした吸光値0.05~0.1を示す個体の割合も増加した。この現象は虫体内に存在したわずかなIYSVの増殖途中の段階を示すものであり、飼育期間を長くすると陽性になる個体がさらに出現することを示唆しているものと考えた。また、採集後に10℃で3日間飼育した個体では保毒虫率、IYSV濃度の上昇はほとんど認められなかった(データ省略)。これらのことから、ネギアザミウマ成虫体内での増殖には温度が関与しており、図-1で示した野外での保毒虫率推移において10月下旬以降に低くなったのは、保毒はしているが十分な増殖が

表-2 ネギアザミウマ孵化幼虫のIYSV獲得

獲得源	供試虫数	獲得虫数	獲得率 (%)
病斑部	153	113	73.9
非病斑部	361	39	10.8

獲得源切片にふ化幼虫を2日間着生後、ソラマメ飼育し、成虫時に検定。吸光値0.1以上を陽性と判定。非病斑部切片には非感染切片も含む。

表-3 ネギアザミウマ成虫でのIYSV濃度

	個体数		
	陽性	疑陽性	陰性
3日間凍結個体	20	2	128
3日間飼育個体	38	20	92

徳島県吉野川市、香川県観音寺市で採集した成虫を試験ごとに2分割して各区に供試。数値は合計で表示。陽性は吸光値0.1以上、疑陽性は0.05~0.1、陰性は0.1未満を示す。

認められず、IYSVが検出できない個体が存在したためではないかと考えられた。

3 ネギアザミウマ成虫によるIYSVの獲得と媒介

秋冬期に採集したネギアザミウマ成虫は数日間飼育することでIYSV濃度が高まることが明らかになったが、保毒したのがいつなのか問題となる。IYSVが属するトスポウイルス属は幼虫時(ふ化直後)にウイルスを獲得し、成虫になって初めて媒介するとされている。さらにIYSVに関しては幼虫でも媒介することが報告されている(井上ら, 2010)。すなわち、3日間の飼育により新たにIYSVが検出された個体は幼虫時にIYSVを獲得したのか、成虫時に獲得したのか、そして、成虫時に獲得した場合には媒介しないのか、これらのことはえそ条斑病の発生地におけるIYSVの伝染環を解明するうえで重要な要因となると考えられた。そこで、継代飼育している吉野川市産および観音寺市産のネギアザミウマ成虫をIYSV感染タマネギ苗で2日間獲得吸汁させ、ソラマメで一定期間飼育した後、IYSVの検出を行った。その際、ウイルスの媒介には唾液腺でのウイルス増殖が不可欠であることから、検定はネギアザミウマの唾液腺を含む頭胸部と腹部とに分けて実施した。2日間獲得吸汁させた直後の成虫でも腹部からはIYSVが検出された(吸光値0.1以上が100個体中31個体)が頭胸部から検出される個体はなかった。一方、獲得吸汁後7日間ソラマメ飼育した成虫では84個体の腹部から検出され、そのうちの3個体は頭胸部も陽性を示した。14日間飼育個体では71個体の腹部から、そのうちの15個体が頭胸部

からも IYSV が検出された (図-3)。なお、これは吉野川市産のネギアザミウマを用いての結果であるが、観音寺市産の個体でも同様の結果が得られた (データ省略)。

成虫で獲得吸汁したネギアザミウマ体内で IYSV が唾液腺に移行して増殖していることは明らかになったが、このような条件で獲得した成虫が実際に IYSV を媒介するのかを次に検討した。ソラマメで継代飼育した羽化2日後の成虫を病徴出現ネギ葉で2日間獲得吸汁させた後、播種1か月後の健全タマネギ苗 (1苗当たり5~7頭)

に移し、14日間飼育 (接種吸汁) した。接種吸汁後、タマネギ苗には明確な病徴が認められなかったため、株から無作為に切片を10枚切り出し、ELISA 検定を行った。3回の反復試験いずれでも感染株の確認ができ、媒介効率は76% (25株中19株で IYSV を検出) と非常に高かった (表-4)。ネギアザミウマの IYSV 媒介効率が低いことについては報告があり (善ら, 2007; 井上ら, 2010; INOUE et.al., 2010), その結果と比べてもかなり高いものだったが、それは検定苗に複数のネギアザミウマ

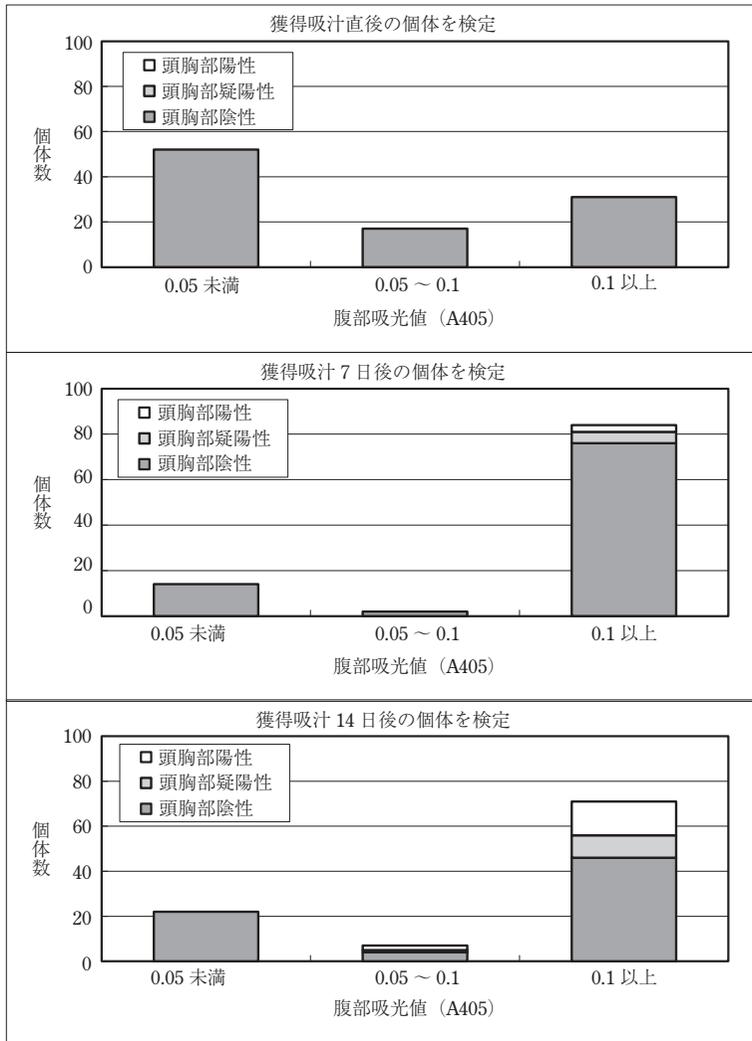


図-3 成虫で獲得吸汁させたネギアザミウマからの IYSV 検出

IYSV 感染タマネギ苗で2日間獲得吸汁させた直後 (上段) の個体、および吸汁後7日間ソラマメ飼育 (中段)、14日間ソラマメ飼育 (下段) した100個体を ELISA 法で検定。検定は頭胸部と腹部に分けて実施。頭胸部からの検出にあたっては、吸光値0.1以上を陽性、0.05~0.1を疑陽性、0.05未満を陰性とした。ネギアザミウマは吉野川市産の個体群を使用。

表-4 成虫獲得ネギアザミウマの IYSV 伝播性

反復	供試苗数	感染苗数	感染株率 (%)
1	13	12	92.3
2	6	3	50.0
3	6	4	66.7

タマネギ苗に獲得成虫 5～7 頭を放飼して 14 日後に 10 切片を検定。1 切片でも陽性となった株を感染株と判断。

を放飼したためと考えている。しかし、検出された切片での IYSV 濃度は低く、吸光値 (A405) が 0.1～0.3 の切片がほとんどだった。図-2 において病徴出現株の非病斑部から低濃度の IYSV が検出されることを示したが、病斑形成には一定量の IYSV が増殖することが不可欠なかもしれない。

井上ら (2010) は成虫と幼虫の媒介効率がほぼ同じであることを明らかにし、IYSV のネギアザミウマ唾液腺への移行および増殖が早いのではないかと考察している。当研究室のネギアザミウマ飼育条件では、ふ化から羽化まで 12 日間、今回の試験で成虫で獲得した個体の唾液腺から IYSV が検出されたのが吸汁 7～14 日後であり、獲得吸汁したふ化幼虫が成虫になって媒介するまでの期間とほぼ一致する。ここで示した成虫での IYSV 獲得、その後の唾液腺への移行、そして媒介が供試した個体群特有の性質なのか、一般的なネギアザミウマの特性なのかについては非常に興味深い。

おわりに

ここで紹介した知見は発生地域での伝染環を解明するために検討した結果である。調査対象とした徳島県、香川県の発生地においては、発病時期にピークがあるが年間を通して一定の保毒虫率が維持されており、伝染環は発生地域内で成立していると考えられた。そして、その成立要因として無病徴感染株の存在、無病徴感染部からの獲得、成虫での獲得が関与していると推測された。しかし、一定量の伝染源が常にあるにもかかわらず発病株が時期によって変動する原因の解明には至らなかった。気温などの環境的な要因が発病に関与していることも考えられる。また、無病徴感染部での IYSV 濃度が低かった (図-2) ことから発病には一定量の IYSV 増殖が不可欠と考えることもできる。そして、その場合には抵抗性誘導という観点からの解明も切り口の一つと考えている。

防除という観点からは、単に病気の発生を抑えるだけではなく、栽培地から病原体をなくす、少なくとも減少させることが重要である。被害が一時的なものであっても、病原体密度が維持されているのは、問題の解決にはならないと考える。有効な防除法のない IYSV では、媒介虫の防除が唯一の有効手段となるが、IYSV 媒介性が非常に高いだけでなくネギ、タマネギに多く寄生するネギアザミウマの防除では、そのタイミングが重要だと考えている。今後の課題であるが、以下の理由で周年栽培地域においては 3 月上旬ころまでのネギアザミウマ防除がえそ条斑病対策としては有効なのではないかと考えている。①地域内で伝染環が成立している場合には、どこかで断ち切ることが必要であり、この時期のネギアザミウマ密度は比較的低い、②この時期のネギアザミウマ (越冬世代) は寄主の地際部に生息し、気温が低いために分散しにくい、③この時期には媒介能はないが気温の上昇に伴い媒介能を持つ個体が存在している (表-3)。

室内試験が主となる基礎情報の収集研究が単なる基礎研究の域にとどまっていたら、農業研究から距離を置いたものになってしまう。様々な要因が関与して現場で生じている問題について要因を絞った実験系を築き、個々の要因を解き明かして現場で検証することが必要である。ここではネギアザミウマが幼虫だけでなく成虫でも IYSV を獲得して媒介することについて紹介し、えそ条斑病の発生に関与することを提示したが、発生にどの程度関与しているのかは不明であり、今後の進展が望まれる。

本研究は 2010～2012 年新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業「四国 4 県連携による IYSV の緊急防除対策技術の開発 (22088)」において実施した。

引用文献

- 1) CORTÉS, I. et al. (1998): *Phytopathology* **88**: 1276～1282.
- 2) 土井 誠ら (2003): *日植病報* **69**: 181～188.
- 3) 愛媛県 (2011): 平成 22 年度病害虫発生予察特殊報 (第 3 号).
- 4) INOUE, T. et al. (2010): *Plant Pathol.* **59**: 422～428.
- 5) 井上登志郎ら (2010): *植物防疫* **64**: 453～458.
- 6) 香川県農業試験場病害虫防除所 (2007): 平成 19 年度香川県病害虫発生予察特殊報 1 号.
- 7) 高知県病害虫防除所 (2003): 平成 15 年度病害虫発生予察特殊報第 3 号.
- 8) OKUDA, M. and K. HANADA (2001): *J. Virol. Method.* **96**: 149～156.
- 9) SMITH, T. N. et al. (2006): *Plant Dis.* **90**: 729～733.
- 10) 徳島県 (2011): 平成 22 年度農作物病害虫発生予察特殊報第 2 号.
- 11) 植草秀敏ら (2005): *関東東山病害虫研報* **52**: 31～34.
- 12) 善 正二郎ら (2007): *九病虫研会報* **53**: 18～23.