

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

高知県の施設ニラにおけるアイリス黄斑ウイルス (IYSV) の伝染環

高知県農業技術センター 矢野和孝

はじめに

ニラえそ条斑病を引き起こすアイリス黄斑ウイルス (Iris yellow spot virus; IYSV) は、ネギアザミウマによって媒介され、ニラのほかにネギ、タマネギ、トルコギキョウ等にもえそ症状を引き起こすことが知られている (土井, 2003; 福田ら, 2007a; 福田・中山, 2007)。高知県では、2003年に初めてニラで本病の発生が確認されたが、施設栽培では春に定植した後の株養成期に大発生した後、冬にはネギアザミウマの発生が認められなくなるとともに、発病も認められなくなることが観察されている。しかし、春には再び発病が見られることから、春に野外から保毒虫が飛来すると考えられているが、詳しい伝染源については不明である。施設ニラ栽培地帯では露地ネギが栽培されていることが多く、ネギから保毒虫が飛来することが予想される。しかし、オランダ型とブラジル型の2系統が存在することが知られている (土井, 2003) 本ウイルスでは、各系統の分布や作物に対する感染性は明らかにされておらず、露地ネギが伝染源である証拠はどこにもない。また、ニラの地上部を刈り取って収穫した後の再生株には、本ウイルスの保毒虫が寄生しない限り病斑が出現しないことが知られている (下元ら, 2006) が、この無病徴感染株から保毒虫が発生する可能性についても明らかでない。さらに、雑草からも本ウイルスが検出される事例があり (福田ら, 2009)、雑草から保毒虫が飛来する可能性も考えられる。このようないくつかある本ウイルスの伝染源の可能性について明らかにしない限り、ニラえそ条斑病を効果的に防除し、被害を抑えることは困難と考えられる。

そこで、2010年から3年間実施した農林水産省委託事業、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」において、高知県では施設ニラ圃場内外における保毒虫の推移を調査し、発病ニラ株を刈り取った後に再生して

くる無病徴感染株からのウイルス伝搬調査および保毒虫から検出されるウイルスの系統調査を実施した。その結果と連携先の結果を併わせて本ウイルスの施設ニラにおける伝染環を推定したので、その概要を紹介したい。

I 施設ニラ圃場内外における保毒虫調査

2010年9月から2年間、高知県香美市土佐山田町および香南市野市町の施設ニラ圃場、ならびに香美市土佐山田町の露地ネギ圃場と露地ニラ圃場において、約1か月間隔で各圃場100株の発病の有無を調査し、発病株率を算出するとともに、ネギアザミウマを採取し、直ちに -20°C で凍結保存した後、IYSVの保毒の有無をDAS-ELISAによって調査した。コーティング抗体 (日本植物防疫協会製) は500倍希釈液 ($1\mu\text{g}/\text{ml}$) を用い、タイタープレートに吸着させた。ネギアザミウマ1頭を $120\mu\text{l}$ の5%ブロッキングワシ (ナカライテスク) を加えたPBST (PBSTB) で磨砕後、その $100\mu\text{l}$ を各ウェルに入れ、 4°C で一晩静置した。アルカリホスファターゼで標識したコンジュゲート抗体 (愛媛農林水研作製) は250倍希釈液を用い、 37°C で2時間反応させた。最後に基質を 37°C で1時間反応させた後、 405nm の吸光度を測定し、 0.1 以上のものを陽性とした。なお、各処理の間にはPBSTでウェルを3回洗浄したが、最後の反応の前には5回洗浄した。

その結果、香美市土佐山田町の施設および露地のニラでは、全体的に発病が少なく、保毒虫も時々検出される経過を示したが、翌春には最初に保毒虫が検出され、その後発病株が見つかる事例が見られた。すなわち、施設の圃場Bでは2011年5月9日に、露地では2011年4月5日と2012年3月22日に保毒虫が検出され、いずれもその約2か月後に発病株が見つっている。このことは、一般的なニラ圃場では、えそ条斑病が発生した後に、そこでネギアザミウマがウイルスを獲得したのではなく、既にIYSV保毒したネギアザミウマが飛来して、その年の初感染を引き起こす可能性を示唆している。

一方、施設ニラから300m程度離れた露地のネギ圃場では、保毒虫は時々検出されたが、発病は全く認められなかった。高知県に分布するIYSVの系統はオランダ

Infection Cycle of Iris yellow spot virus on Chinese Chive Cultivated in Plastic Greenhouses in Kochi Prefecture. by Kazutaka YANO

(キーワード：ニラ, ネギ, IYSV, 伝染環)

型で、本系統はネギに対する感染力が弱いことが知られており（下元ら，2012），露地ネギでは本病による被害はほとんどないと考えられる。

香南市野市町の施設ニラでは，調査を開始した2010年9月にはえそ条斑病が大発生しており，保毒虫も多数検出されたが，冬には発病が見られなくなり，保毒虫も検出されなくなった。翌春の5月には栽培が終了し，その2か月後に新たな苗が植えられたが，栽培当初から発病と保毒虫が見られる高知県の施設ニラにおける典型的な発病経過を示した。しかし，この圃場では，2012年の

冬には発病が継続し，保毒虫も検出され続けた（表-1）。

この結果から，冬期にも発病が継続し，保毒虫が残存する圃場がほかにあるのではないかと考えられた。また，露地のニラでは，冬期に地上部の葉が枯れてしまうが，ネギアザミウマは地際の葉鞘間隙で越冬することが知られているため，越冬個体からウイルスの検出を試みた。その結果，冬期にも発病が継続し，保毒虫が残存している施設圃場がほかにも見つかった。また，露地圃場においても越冬個体からウイルスを検出することができた（表-2）。

表-1 ニラおよびネギえそ条斑病の発生と DAS-ELISA によるネギアザミウマの保毒虫率の推移

調査月日	香美市土佐山田町								香南市野市町	
	施設ニラ				露地ニラ		露地ネギ		施設ニラ	
	圃場 A		圃場 B		植物 ^{a)}	虫 ^{b)}	植物 ^{a)}	虫 ^{b)}	植物 ^{a)}	虫 ^{b)}
2010年										
9/6	1	— ^{c)}	—	—	—	—	0	2/52	20	46/156
10/1	0	2/33	—	—	—	—	0	7/28	68	8/60
10/22	0	—	—	—	—	—	0	2/40	31	8/28
12/10	0	—	—	—	—	—	0	0/1	18	3/27
2011年										
1/12	0	—	—	—	—	—	0	—	1	0/5
2/7	0	—	—	—	—	—	0	—	0	—
3/8	0	0/31	—	—	—	—	0	0/19	0	—
4/5	0	0/32	—	—	0	1/31	0	2/24	0	0/31
5/9	—	—	0	4/27	0	0/24	0	2/30	0	0/24
6/6	—	—	0	0/54	3	2/30	0	5/30	—	—
7/4	4	0/44	1	0/7	1	0/3	0	2/30	—	—
8/5	0	—	0	1/47	0	0/7	0	—	6	2/54
9/7	0	—	—	—	0	—	0	0/24	4	1/54
10/6	0	0/11	0	—	0	1/10	0	0/9	23	7/28
11/7	0	0/5	0	0/10	0	0/15	0	0/19	57	17/26
12/9	—	—	—	—	0	—	—	—	87	25/36
2012年										
1/11	0	—	0	0/7	—	—	0	0/1	28	9/18
2/8	0	0/4	0	—	—	—	0	—	7	12/35
3/7	—	—	—	—	—	0/13	0	2/41	8	7/35
3/12	0	—	0	—	—	—	—	—	—	—
3/22	—	—	—	—	—	1/24	—	—	3	2/38
4/4	0	0/1	0	—	—	—	—	—	2	5/35
4/9	—	—	—	—	0	0/9	0	0/1	—	—
5/8	0	0/36	0	0/26	5	1/40	0	—	1	1/32
6/11	0	0/32	0	0/7	0	0/61	0	0/39	6	2/34
7/6	0	—	0	0/43	0	1/11	0	—	6	10/40
8/7	0	1/24	—	—	0	1/30	0	0/24	5	7/30
9/13	0	—	0	—	0	0/21	0	0/49	1	0/44

a) 100株当たりの発病株率(%)。

b) 保毒虫数/調査虫数，DAS-ELISAによる検定で吸光度が0.1以上のものを保毒虫とした。

c) 調査を実施せず。

表-2 冬期ニラ圃場におけるえそ条斑病の発生と DAS-ELISA による保毒虫の検出

調査年	露地・施設	調査圃場	調査月日	発病株率 (%)	保毒虫数 ^{b)} /調査虫数
2012 年	露地	農技センター	1/13	— ^{a)}	2/69
			2/ 8	—	0/24
			3/22	—	2/ 9
	施設	農家 A	4/ 9	—	0/11
			1/31	—	6/43
			1/31	—	1/ 7
			2/24	—	1/24
			1/31	76	35/53
			2/21	—	19/39
			4/ 4	29	8/41
2013 年	露地	農家 C	2/ 8	7	12/35
			2/24	8	8/19
	施設	農家 D	1/18	—	0/ 7
			1/18	—	1/53
			1/18	20	2/48

a) 調査を実施せず。

b) DAS-ELISA による検定で吸光度が 0.1 以上のものを保毒虫とした。

これらの結果から、露地ネギが伝染源となり、そこから保毒虫が飛来している可能性は低いと考えられた。一方、一部の施設や露地圃場の冬期のニラが伝染源となり、そこに残存していた保毒虫が飛来して春の感染を引き起こす可能性が高いと考えられた。また、米本ら(2012)は、36種の雑草から本ウイルスの検出を試みたが、ほとんど検出できなかったことを報告している。したがって、雑草から保毒虫が飛来する可能性は低いと考えられる。

II 無病徴再生ニラ株の伝染源としての役割

ニラは株養成後に刈り取ると、同じ株から葉が再生してくるので、これを生育させた後に刈り取って収穫する。施設では、これを1年間に9～10回繰り返すが、えそ条斑病が発生した株を刈り取った後の再生株では、ネギアザミウマを完全に防除すると病斑は出現しない。しかし、ニラ株内には低濃度ながらウイルスが存在していることが知られている(福田ら, 2007b)。この無病徴感染株で無毒のネギアザミウマが繁殖した場合に、保毒虫が発生する可能性について調査した。

現地農家圃場のえそ条斑病が発生したニラ株を1/2,000 a ワグネルポット8ポットに1株ずつ移植し、ガラス温室内で発病を維持した。ニラに殺虫剤を3回散布してネギアザミウマを完全に防除した後、4株を刈り取り区、残りを無刈り取り区とした。2011年11月18日に刈り取り区の地上部を刈り取り、11月21日に室内

で累代飼育した無毒のネギアザミウマを50頭/株の割合で両区に放飼し、12月15日、1月5日、1月25日、2月16日、3月1日、3月15日、4月2日および5月4日に各区からネギアザミウマの成虫および幼虫を払い落として採取した。さらに6月25日にはニラの地上部を刈り取ってネギアザミウマを採取した。採取したネギアザミウマは-20℃で保存し、適宜 DAS-ELISA によって保毒の有無を調査した。なお、1区2株2反復とし、区ごとに0.4 mm 目合いのナイロンネットで被覆し、刈り取り区と無刈り取り区は別々のガラス温室内で管理した。

その結果、無刈り取り区では、最初は成虫、幼虫とも全く採集されなかったが、1月25日以降に採集され、IYSVの保毒も確認された。刈り取り区では、3月1日に保毒虫が確認されたが、いずれも吸光度が0.1をわずかに超えたものばかりであった。DAS-ELISAによるネギアザミウマからのIYSVの検出強度とインパチエンスのリーフディスクを用いたネギアザミウマの媒介能の関係を調査したところ、リーフディスクに病斑を出現させたものはDAS-ELISAの吸光度が高いもののみであった(データ省略)。したがって、3月1日に検出された吸光度が0.1をわずかに超えたネギアザミウマのIYSV媒介能はないと考えられた。そのほかの調査日には、IYSV保毒虫は認められなかった(表-3)。なお、病徴観察も実施したが、刈り取り区では、全く病斑が観察されなかった(データ省略)。

表-3 IYSV 発病ニラ株の刈り取り再生株で飼育したネギアザミウマからの IYSV の検出 a)

調査月日	保毒虫数 ^{b)} /調査虫数			
	刈り取り区		無刈り取り区	
	反復 A	反復 B	反復 A	反復 B
12/15	0/ 2 (0/ 3) ^{c)}	0/ 2 (0/ 5)	nt (nt)	nt (nt)
1/ 5	0/ 6 (0/ 8)	0/10 (0/10)	nt (nt)	nt (nt)
1/25	0/ 8 (0/ 7)	0/12 (0/ 8)	1/ 3 (1/ 4)	0/1 (0/ 3)
2/16	0/13 (0/10)	0/25 (0/ 6)	2/ 3 (0/ 6)	0/3 (1/ 3)
3/ 1	0/17 (0/10)	1/36 (2/26) ^{d)}	0/11 (1/ 8)	1/5 (1/ 6)
3/15	0/26 (0/10)	0/17 (0/12)	2/10 (4/16)	1/5 (1/15)
4/ 2	0/10 (0/14)	0/ 9 (0/ 6)	3/ 4 (5/ 9)	1/1 (4/16)
5/ 4	0/ 1 (0/11)	nt (0/19)	0/ 1 (0/ 3)	0/1 (nt)
6/25	0/ 2 (nt)	0/ 6 (nt)	0/17 (nt)	0/4 (nt)

a) ニラに殺虫剤を 3 回散布してネギアザミウマを完全に防除した後、刈り取り区は 11 月 18 日に地上部を刈り取り除去し、無刈り取り区はそのまま放置した。11 月 21 日に室内で累代飼育した無毒のネギアザミウマを 50 頭/株の割合で両区に放飼した。

b) DAS-ELISA による検定で吸光度が 0.1 以上のものを保毒虫とした。

c) () 内は幼虫の結果、nt : アザミウマを採集できなかった。

d) いずれも吸光度が 0.1 ~ 0.103 で、媒介能力はないと考えられた。

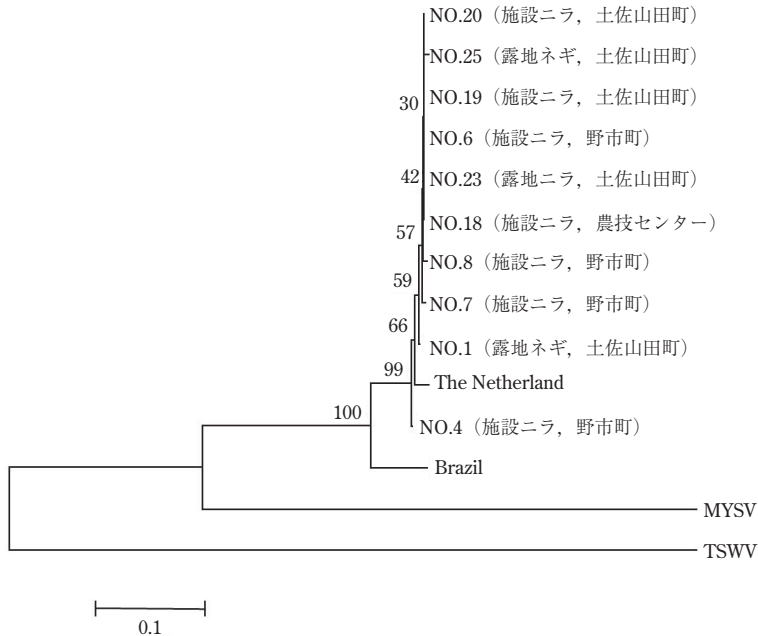


図-1 高知県内のニラおよびネギ圃場で採集されたネギアザミウマから検出された IYSV の系統樹

系統樹は近隣接合法を用いて作成し、各分岐上の数字はブートストラップ確率を示す。バーの長さは塩基の置換率 (10%) を示す。

III 保毒虫から検出されるウイルスの系統

高知県香美市土佐山田町の施設ニラ圃場およびその近隣の露地ネギ圃場、露地ニラ圃場並びに高知県香南市野市町、南国市にある農業技術センター内の施設ニラ圃場からネギアザミウマを採取し、 -20°C で凍結保存後、イムノキャプチャー RT-PCR によって IYSV の N タンパク質遺伝子領域を増幅させた。すなわち、 0.05 M 炭酸緩衝液で 500 倍 ($1\mu\text{g}/\text{ml}$) に希釈した IgG (日本植物防疫協会製) の $5\mu\text{l}$ で PCR チューブをコーティング処理し、 $120\mu\text{l}$ の PBSTB でネギアザミウマ 1 頭を磨砕した磨砕液 $5\mu\text{l}$ で処理した後、ワンステップ RT-PCR キット (TaKaRa 製) を用いた。 $2\times$ 緩衝液 $5\mu\text{l}$ を PCR チューブに入れ、 60°C 、5 分間加熱処理後、 $5\mu\text{l}$ の反応液 (1 step Enzyme Mix $0.4\mu\text{l}$ 、プライマー (PaPPV-F: $5'$ -TAAAACAAACATTTCAAACAA- $3'$ 、PaPPV-R: $5'$ -CTCTTAAACACATTTAACAAGCAC- $3'$) $0.2\mu\text{l}$ ずつ、RNase Free H_2O $4.2\mu\text{l}$) を入れ、 44°C で 30 分、 94°C で 2 分の後、 94°C で 30 秒、 44°C で 30 秒、 72°C で 1 分 30 秒

を 35 サイクル、最後に 72°C で 7 分反応させた。PCR 産物は、 1.5% アガロースゲルで電気泳動し、エチジウムブロマイド染色後、紫外線照射下で $1,100\text{ bp}$ のバンドの有無を肉眼観察した。

PCR 産物は、その $5\mu\text{l}$ に ExoSAP-IT (GEヘルスケア) を $1\mu\text{l}$ 添加し、 37°C 15 分、 80°C 15 分の反応を行ったのち、RT-PCR に使用したプライマーと混合し、グライナージャパン社に依頼してシーケンス解析を行った。解析後の塩基配列よりヌクレオカプシドタンパク質の読み枠を解析し、アミノ酸配列を推定したのち、同配列を用いて近隣結合法により系統樹を作製した。

その結果、調査した IYSV は、高知県内の植物から検出される IYSV と同様に、ネギに対する感染力が弱いことが明らかとなっている (石川, 2013) オランダ型に類別された (図-1)。

IV 伝染環の推定

以上の結果に基づいて、高知県の施設ニラにおける IYSV の伝染環を推定した (図-2)。

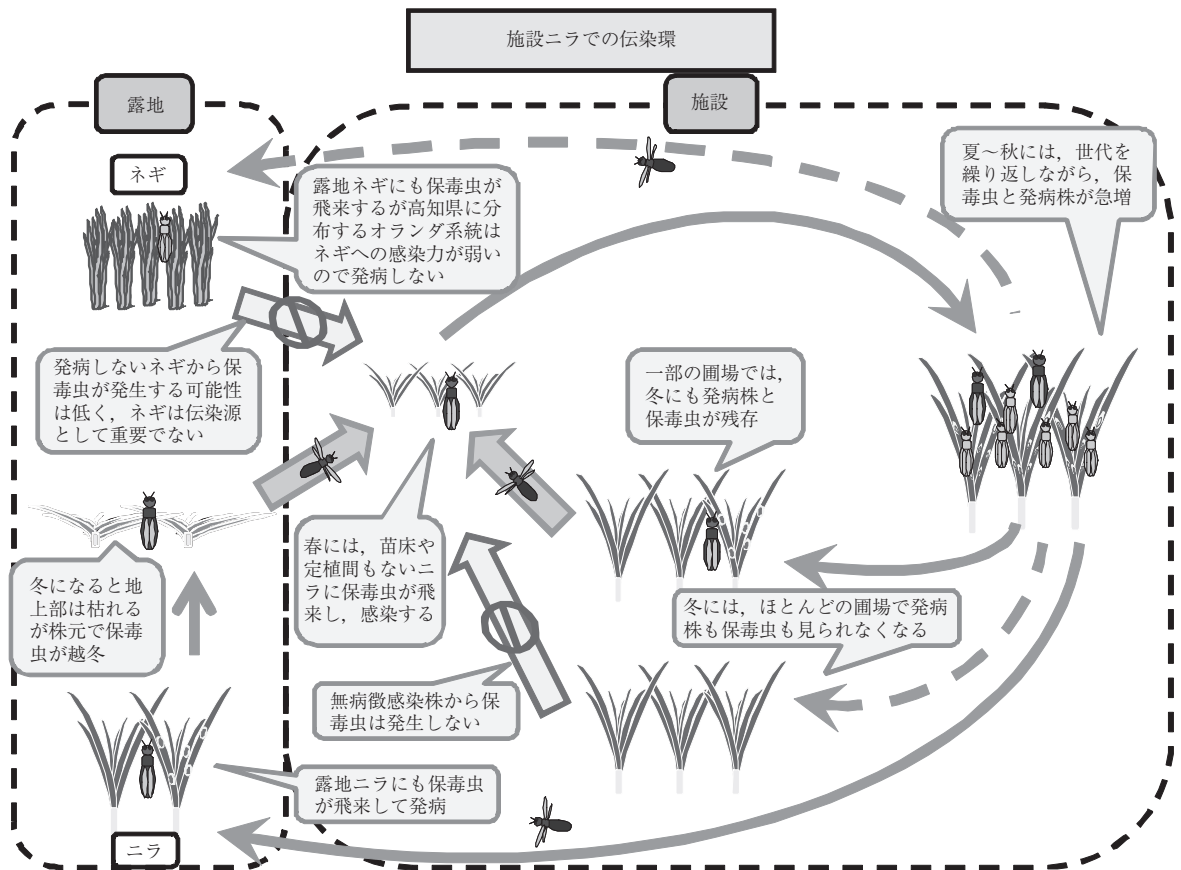


図-2 高知県の施設ニラにおける IYSV の伝染環の推定図

春～夏には、露地や施設に新植されたニラや苗に保毒虫が飛来して発病が見られるようになる。夏～秋には、ネギアザミウマが世代を繰り返しながら保毒虫が増加し、発病株も増加する。保毒虫は露地ネギにも飛来するが、高知県に分布するオランダ系統はネギに対する感染力が弱く、ネギでの発病は見られない。したがって、露地ネギを伝染源とする保毒虫が飛来する可能性は低いと考えられる。冬になると、施設ニラでは次第にネギアザミウマの密度が低下して保毒虫が見られなくなり、刈り取った後の再生株も病斑が見られなくなる。なお、この無病徴再生株に無毒のネギアザミウマが寄生し、世代を繰り返しても保毒虫になる可能性は低いと考えられる。しかし、一部の圃場では、防除の不徹底が原因と思われるが、保毒虫や発病株が残存する。一方、露地では冬期に地上部の葉は枯れてしまうが、株元の葉鞘間隙で保毒虫が越冬する。そして春になると、これらの保毒虫が飛来して感染を引き起こすと考えられる。

おわりに

高知県の施設ニラにおける本ウイルスの伝染環が明らかになったことで、防除の対象や時期を明確にすることができたと考えられる。すなわち、冬期には発病もネギ

アザミウマも減少することから、この時期の防除を徹底すれば本病の発生を劇的に抑制することができるかもしれない。施設圃場におけるネギアザミウマの防除徹底と露地圃場における栽培終了後のニラ株除去の徹底に期待したい。

最後に、以上に述べた高知県の施設ニラにおけるIYSVの伝染環は主に保毒虫調査の結果を基に推定したものであることをお断りしておきたい。したがって、圃場周辺の宿主探索などの調査によって、新たな伝染源が見つかる可能性もあると考えられる。また、本県に分布していないブラジル系統は、ネギに対する感染力が強く、本系統が高知県に侵入した場合にはネギが新たな伝染源となる可能性があることから、本系統の発生には十分注意する必要がある。

引用文献

- 1) 土井 誠 (2003): 植物防疫 57: 69 ~ 71.
- 2) 福田 充ら (2007 a): 日植病報 73: 311 ~ 313.
- 3) ———ら (2007 b): 関東東山病虫研報 54: 43 ~ 46.
- 4) ———ら (2009): 同上 56: 13 ~ 16.
- 5) ———・中山喜一 (2007): 同上 54: 39 ~ 42.
- 6) 下元祥史ら (2006): 日植病報 72: 277 (講要).
- 7) ———ら (2012): 同上 78: 231 (講要).
- 8) 米本謙悟ら (2012): 同上 78: 231 ~ 232 (講要).

(新しく登録された農薬 41 ページからの続き)

前まで
 えだまめ: 紫斑病, 茨汚損症: 収穫 7 日前まで
 たまねぎ: 灰色腐敗病: 収穫 7 日前まで
 トマト, ミニトマト: 灰色かび病, 菌核病, 葉かび病: 収穫前日まで
 なす: 灰色かび病, 菌核病, 黒枯病: 収穫前日まで
 きゅうり: 褐斑病, 炭疽病, 灰色かび病, 菌核病: 収穫前日まで
 すいか: 炭疽病: 収穫 21 日前まで
 レタス: 菌核病, 灰色かび病: 収穫 7 日前まで
 キャベツ: 菌核病: 収穫 7 日前まで
 花き類・観葉植物 (ひまわり, ゼラニウムを除く): 灰色かび病: —
 ひまわり, ゼラニウム: 灰色かび病, 斑点病: —
 樹木類 (ハイドランジア, やなぎを除く): 灰色かび病: 感染期～発生初期
 やなぎ: 灰色かび病, 炭疽病: 感染期～発生初期
 ハイドランジア: 輪斑病: —
 ハイドランジア: 灰色かび病: 感染期～発生初期
 ●ペンフルフェン水和剤
 23367: オブティンフロアブル (バイエルクロップサイエンス) 13/10/21
 ペンフルフェン: 22.70%
 日本芝: 葉腐病 (ラージパッチ): 発生前～発生初期
 ●ピリオフェノン水和剤
 23368: プロパティフロアブル (石原産業) 13/10/22
 ピリオフェノン: 26.8%
 小麦: うどんこ病: 収穫 3 日前まで

きゅうり, いちご, なす: うどんこ病: 収穫前日まで
 ●ピリオフェノン水和剤
 23369: プロパティ SC (石原バイオサイエンス) 13/10/22
 ピリオフェノン: 26.8%
 小麦: うどんこ病: 収穫 3 日前まで
 ●ミクロブタニル液剤
 23374: マイロース殺菌スプレー (住友化学園芸) 13/10/23
 ミクロブタニル: 0.0080%
 花き類・観葉植物 (ばらを除く): うどんこ病: —
 ばら: うどんこ病, 黒星病: —
 ●オキシテトラサイクリン・ストレプトマイシン・銅水和剤
 23375: ゾエティスバクテサイド水和剤 (ゾエティス) 13/10/23
 オキシテトラサイクリン: 1.8%
 ストレプトマイシン硫酸塩: 12.5%
 水酸化第二銅: 38.4%
 ばれいしょ: そうか病, 黒あし病: 植付前
 ばれいしょ, たまねぎ: 軟腐病: 収穫 7 日前まで
 はくさい: 軟腐病: 収穫 14 日前まで
 樹木類: 枝枯細菌病: 新梢伸長期～発病初期

「殺虫殺菌剤」

●ジノテフラン・ベンチオピラド水和剤
 23372: スターガードプラス AL (北興産業) 13/10/23
 23373: MIC スターガードプラス AL (三井化学アグロ) 13/10/23
 ジノテフラン: 0.010%
 ベンチオピラド: 0.010%

(61 ページに続く)