

神奈川県内のネギとタマネギにおける アイリスイエロースポットウイルス (IYSV) の感染状況¹

植草秀敏・草野一敬・小川潤子・深澤智恵妙・野村 研・鯉沼咲衣*・折原紀子*・鈴木 誠*
(神奈川県農業技術センター・*神奈川県病害虫防除所)

Detection of *Iris Yellow Spot Virus* on Welsh Onion and Onion in Kanagawa Prefecture

Hidetoshi UEKUSA², Kazutaka KUSANO, Jyunko OGAWA, Chiemi FUKASAWA, Ken NOMURA,
Sakie KOINUMA, Noriko ORIHARA and Makoto SUZUKI

Abstract

トルコギキョウ及びアルストロメリア等に発生の認められるアイリスイエロースポットウイルス (IYSV) について、感染源植物の調査を行ったところ、神奈川県内のほとんどの地域でネギ及びタマネギにIYSVの感染が認められた。2004年5月の神奈川県農業技術センター圃場のネギにおけるIYSV感染率は5割であり、9月では若干感染率は高くなるが大きな変化はなかった。この圃場より10月に本ウイルスの媒介昆虫であるネギアザミウマを採集し、媒介率を検定した結果、一割以上が媒介能力を保持していた。IYSVによる被害が懸念される植物は、感染源として周辺のネギ及びタマネギほ場からネギアザミウマの侵入に注意が必要である。

アイリスイエロースポットウイルス (IYSV) は1998年にオランダのダッチアイリスとリーキにおける初発生が報告され (Cortesら, 1998), 同年イスラエルのタマネギ (Geraら, 1998), 1999年にブラジルのタマネギ (Poizzerら, 1999), 2001年にイスラエルのトルコギキョウ (Kritzmanら, 2001) で発生が報告されている。近年、わが国の各地でもトルコギキョウ (土井ら, 2003), アルストロメリア (Okudaら, 2001), タマネギ及びニラ等 (善ら, 2005) にアイリスイエロースポットウイルス (IYSV) の発生が認められ、発生の報告は年々増加している。神奈川県内においては2003年にトルコギキョウとアルストロメリアに被害が認められ、2004年には神奈川県農業技術センター圃場のタマネギとネギで感染が認められた。ネギ及びタマネギはIYSVの媒介昆虫であるネギアザミウマが多く寄生するため (今井ら, 1988), 感染源植物として懸念される。そこで、神奈川県内各地域のネギ及びタマ

ネギのIYSV感染の状況と当神奈川県農業技術センターネギ圃場のネギアザミウマのIYSV媒介率を調査したのでここに報告する。

材料および方法

1. ネギ及びタマネギ葉の採取

神奈川県内各地域のほ場よりネギ及びタマネギ葉片を2004年5月から9月の間に、1圃場につき数株あるいは20株の葉先端10cm程度を切り取り採取した。なお、採取株数が少ないほ場では、アザミウマ類の食害痕が多い葉あるいはウイルス病徴と思われる条斑壊死部分を含む葉を、20株を採取したほ場では無作為に選り採集した。

2. 葉片からのウイルス検出法

アマシャムバイオサイエンス社製QuickPrep™ Total RNA Extraction Kitを用い葉片から全RNAを抽出して、RT-PCR法により病原ウイルスを検出した。RT-PCRはOne Step RNA PCR Kit (TAKARA) により行った。プ

1 本報の要旨は第52回関東東山病害虫研究会 (2005年3月3日茨城県水戸市) において発表した。

2 Address: Kanagawa Agricultural Technology Center, Kamikisawa 1617, Hiratsuka, Kanagawa 259-1204, Japan
2005年5月9日受領

ライマーはIYSVのN遺伝子領域を増幅するように設計されたプライマーセット (Okuda *et al.* 2001) を用い、想定される930bpの増幅産物の有無によりIYSVの存在を確認した。

3. 遺伝子の解析

罹病葉からRNAを抽出後、上記プライマーセットを用いてRT-PCRを行ない、得られた増幅産物をpT7Blueベクター (Novagen) にクローニングし、DNAシーケンサー (ABI373) を用いてダイデオキシ法により塩基配列を決定した。塩基配列の解析は遺伝子解析用アプリケーションソフト (GENETYX™) を用い、本ウイルスN遺伝子とジーンバンク等データベースに登録されている塩基配列との相同性を算出した。

4. ほ場におけるネギアザミウマの媒介率

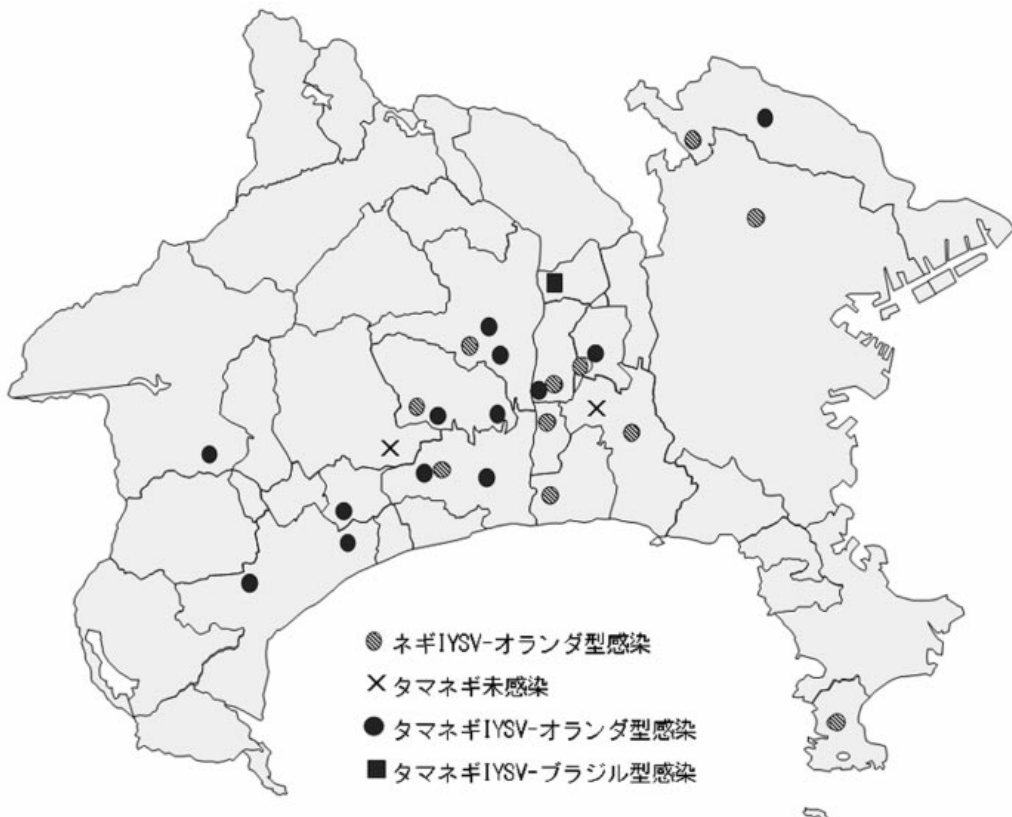
2 cm長に切りとった無病のネギ苗 (播種後2ヶ月) の葉片を2~3本とアザミウマ1頭をエッペンドルフチューブに入れ、照明下25℃に24時間おき、アザミウ

マを回収後、葉片のみを蒸留水に浮遊させ3~4日間照明下25℃で培養し、前記のプライマーセットを用いたRT-PCR法によりIYSV感染の有無を調査した。採集したアザミウマは検定後に刺毛と腹部背板端側の形態によりネギアザミウマであることを同定した (采川, 1988)。

結 果

1. 神奈川県内各地域のネギ及びタマネギにおけるIYSV感染状況

平成16年5月に当センターのタマネギほ場でIYSVの発生が確認された。隣接するネギとアスパラガスほ場に多数のネギアザミウマの寄生が認められたので、IYSVの感染について調査したところ、ネギからIYSVの感染が認められた。そこで、県内各地域のネギ及びタマネギにおけるIYSVの感染状況を調査したところ、第1図に示したように神奈川県内ほとんどの地域のネギあるいはタマネギにおいてIYSVの感染が認められた。ネギの場合は、感染した株でもほとんど無病徴で



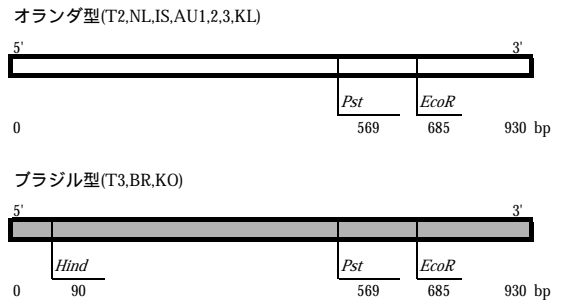
第1図 神奈川県内のネギ及びタマネギ圃場におけるIYSVの感染状況

あり、若干条斑壊死症状の認められるものもあったが、ウイルスによる病徴かどうかは明らかではなかった。タマネギでも病徴を示さないか、軽度な病徴であり、ほとんどの地域で被害は認められなかった。

2. 神奈川県内で発生したIYSVの系統

県内で発生したIYSVとこれまでに報告のあるIYSVのN遺伝子塩基配列の相同性を相互比較した(第1表)。系統はCortesら(1998)が報告したオランダ型とPozzerら(1999)の報告したブラジル型の2系統に類別される。系統を識別するため、既報のN遺伝子配列とアライメント解析を行ったところ、増幅断片のHind処理により系統の識別が可能であることが示唆された(第2図)ので、各地域から得られたIYSVの系統について調査した。その結果、座間市新田宿のタマネギから検出された増幅産物のみがHind処理により切断されブラジル型と判定された。これ以外のネギ、タ

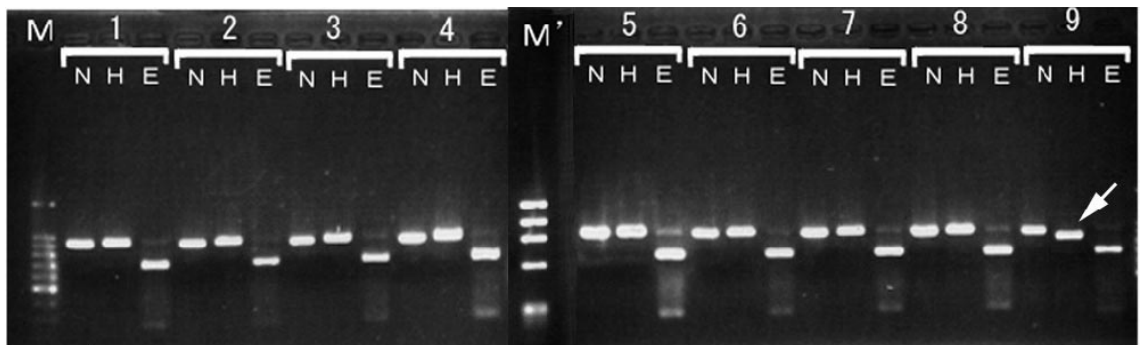
マネギから検出された増幅産物はすべてオランダ型と判定された。タマネギにおける結果の一部を示した(第3図)。座間市新田宿のIYSV分離株については塩基配列を決定し、相同性を比較したところブラジル型



第2図 IYSVのN遺伝子部分PCR増幅産物における各系統の制限酵素地図

第1表 神奈川県に発生したIYSV及びこれまで報告されているIYSVのN遺伝子塩基配列の相同性相互比

| 発生地 | 発生寄主 | 登録番号 | 系統記号 | T2 | T3 | NL | BR | IS | AU1 | AU2 | AU3 | SL | KO |
|---------|---------|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 静岡 | トルコギキョウ | AB121025 | T2 | - | | | | | | | | | |
| 静岡 | トルコギキョウ | AB121026 | T3 | 89.2 | - | | | | | | | | |
| オランダ | ダッチアイリス | AF001387 | NL | 97.1 | 89.3 | - | | | | | | | |
| ブラジル | タマネギ | AF067070 | BR | 89.4 | 97.8 | 89.7 | - | | | | | | |
| イスラエル | トルコギキョウ | AF271219 | IS | 94.8 | 88.5 | 95.9 | 89.4 | - | | | | | |
| オーストラリア | タマネギ | AY341825 | AU1 | 97.3 | 88.1 | 96.3 | 87.6 | 93.6 | - | | | | |
| オーストラリア | タマネギ | AY345226 | AU2 | 97.7 | 88.0 | 96.4 | 88.3 | 94.3 | 98.7 | - | | | |
| オーストラリア | タマネギ | AY345227 | AU3 | 98.4 | 88.2 | 97.1 | 88.8 | 95.0 | 98.8 | 99.3 | - | | |
| スロベニア | リーキ | AY377428 | SL | 85.4 | 85.6 | 85.0 | 86.6 | 85.4 | 85.1 | 84.7 | 85.0 | - | |
| 神奈川県座間市 | タマネギ | - | KO | 81.8 | 90.8 | 82.3 | 89.3 | 81.3 | 79.8 | 80.6 | 81.1 | 77.9 | - |
| 神奈川県秦野市 | トルコギキョウ | - | KL | 99.1 | 89.0 | 96.7 | 89.2 | 94.6 | 97.0 | 97.6 | 98.3 | 85.2 | 81.8 |



第3図 神奈川県各地域タマネギからのRT-PCR-RFLPによるIYSV系統の判別
 1: 綾瀬市早川, 2: 海老名市本郷, 3: 厚木市温水, 4: 山北町谷峨, 5: 伊勢原市三ノ宮, 6: 厚木市津古久, 7: 横浜市鴨居, 8: 川崎市岡上, 9: 座間市新田宿
 N: 無処理, H: Hind III, E: EcoRI, M: 100bpラダーマーカー, M': 174/Hae IIIマーカー
 矢印はHind IIIによる切断で90bp短くなった増幅産物を示した

第2表 神奈川県農業技術センターネギほ場より採集したネギアザミウマのIYSV媒介率

| | 調査頭数 | 感染検出数 | IYSV媒介率(%) |
|------------------|------|-------|------------|
| 1 回目検定 (10/04採集) | 16 | 2 | 12.5 |
| 2 回目検定 (10/18採集) | 27 | 4 | 14.8 |

であった(第1表)。

3. 当センターネギほ場におけるIYSVの感染率とネギアザミウマの発生状況

当センターのネギほ場(播種:平成15年9月16日~平成16年1月20日,定植:平成15年12月14日~平成16年4月16日,面積約4a)から平成16年5月と9月にほ場全体から無作為に葉先端を採取してIYSVの感染率を調査しところ,5月では調査20株中10株が感染し,9月には10株中6株が感染していた。なお5月には,新葉を含め株全体にネギアザミウマによる食害痕が認められたが,7~8月の高温期では被害の軽減が認められ,その後は新葉と第二葉に若干の食害が認められる程度に落ち着いていた。また,ネギアザミウマは春から冬にかけて常に一定の寄生が観察された。

4. ネギアザミウマのIYSV媒介率

当センターネギほ場から10月4日(16頭)と10月18日(27頭)の2回,ネギアザミウマを採集してIYSV媒介率の検定を行った。その結果媒介率はそれぞれ12.5%と14.8%であった(第2表)。採集されたアザミウマはネギアザミウマのみであった。

考 察

今回の調査で神奈川県内のIYSVは,佐賀県や静岡県と同様にオランダ型とブラジル型の2系統が確認された。これら2系統が別々の国や地域で発生したのなら,少なくともいずれかが,別の地域から侵入したと考えられる(Pozzerら,1999)。土井ら(2003)は,佐賀県と静岡県の地理的に隔たった地域でほぼ同時に発生した2系統のIYSVは,それぞれ別の国や地域から侵入したと推察した。一方,これら2系統が同一植物の同一病斑から分離されることが報告されており(藤ら,2004),これら系統から発生地域や侵入について考察するにはさらに多くの調査や知見が必要と思われる。また,土井ら(2003)は侵入後の発生は,トルコギキョウあるいは他の特定の植物に感染し,人為的な流通で広がったと推察したが,本県での発生は全県的であり,花き等の栽培がほとんどない三浦半島地域

でも同様に発生が認められた。最近,北米太平洋側地域のタマネギにおいて,1,2年の間にかかなり広範囲にIYSVが拡散したと報告された(Crowe,2005)。そのことから,IYSVはいったん侵入すると短期間で広い範囲に拡散する可能性があり,人為的な要因に加え,近年のネギアザミウマの被害拡大と増加(神奈川県病害虫防除所の経年調査,結果未発表)がこれらIYSVの拡散に関わっていると考えられる。

ネギはIYSVの媒介昆虫であるネギアザミウマの寄生の多い植物(今井ら,1988)であるが,これまでネギにおけるIYSVの自然感染の報告はない。本研究で神奈川県におけるネギでのIYSV感染状況及び感染源としての可能性について検討した結果,ほとんど無病徴であるネギからIYSVが検出され,さらにIYSV感染ネギほ場から採集したネギアザミウマはウイルスの拡散に十分な媒介能力を保持しており,他作物への感染源となりうることが明らかとなった。

今後トルコギキョウへのIYSVの感染源であるタマネギ(善ら,2005)とともにネギもIYSVの感染源として十分な注意が必要であるとともに,ネギにおけるIYSV感染状況がどのように他作物に対する被害拡大に影響を及ぼすか検討する必要がある。

引用文献

- Cortes, I. *et al.* (1998) *Phytopathology* 88: 1276 - 1282.
 Crowe, F.J. (2005) *Plant Disease* 89: 105.
 土井 誠ら (2003) *日植病報* 69: 181 - 188.
 藤 晋一ら (2005) *日植病報* 71 (1): 47.
 Gera, A. *et al.* (1998) *Plant Disease* 82: 127.
 Kritzman, A. *et al.* (2001) *Plant Disease* 85: 838 - 842.
 Pozzer, L. *et al.* (1999) *Plant Disease* 83: 345 - 350.
 Okuda, M. *et al.* (2001) *J.Virol.Methods* 96: 149 - 156.
 采川昌昭 (1988) *植物防疫* 42: 362 - 367.
 今井國貴ら (1988) 農作物のアザミウマ(梅谷献二ほか編). 全国農村教育協会, 東京. pp.283 - 292.
 善正二郎ら (2005) *日植病報* 71 (2): 123 - 126.