

## アイリスイエロースポットウイルス (IYSV) による ネギえそ条斑病 (新称)

福田 充・中山喜一  
(栃木県農業試験場)

### Occurrence of Necrotic Streak Disease of Welsh Onion Caused by *Iris Yellow Spot Virus* (IYSV)

Takashi FUKUDA<sup>1</sup> and Kiichi NAKAYAMA

#### 摘 要

2005年、栃木県南部のネギ栽培で葉身に退緑斑やえそ条斑症状が発生し、これらの罹病葉からアイリスイエロースポットウイルス (IYSV) が検出された。本IYSVネギ分離株 (Na6-3) を保毒させたネギアザミウマによる接種試験を行ったところ、ネギでの原病徴が再現され、本病徴はIYSVが原因であることが明らかとなった。現地ネギ圃場でのえそ条斑症状の発病株率は0~82%、IYSV保毒虫率は8~41%であったが、えそ条斑症状の発生と保毒虫率との関係は判然としなかった。本ネギ分離株のN遺伝子領域の塩基配列はオランダで分離されたIYSV<sub>NL</sub>と高い相同性を示した。

2005年、栃木県南部のネギ (*Allium fistulosum*) 栽培で、葉身に退緑斑やえそ条斑を伴う病害が発生した (第1, 2図)。被害圃場では大量のネギアザミウマ (*Thrips tabaci*) が捕獲されたことから、既報のネギアザミウマ媒介性のアイリスイエロースポットウイルス (*Iris yellow spot virus*: IYSV) (土井ら, 2003; 奥田ら, 2005; 善ら, 2005) が病原ウイルスであると推察された。

ネギでは機械的接種により明瞭な病徴は示さないが、接種葉からはRT-PCRによりIYSVが検出されている (善ら, 2005)。また、感染株でもほとんどが無病徴であり、まれに条斑壊死症状が認められるがウイルスによる病徴かどうかは明らかになっていない。(植草ら, 2005)。

そこで、えそ条斑症状を呈するネギの病斑部から病原ウイルスを分離・同定した結果、IYSVによるネギの新病害であることが確認されたので報告する。

#### 材料および方法

##### 1. 病徴の観察

2006年8~10月に栃木県内全域の主要なネギ栽培地帯34圃場において病徴等を調査した。

##### 2. ネギ罹病葉からのIYSV検出

現地地で採集したIYSVによると思われる病徴を示すネギ葉から全RNAをRNeasy Plant Mini Kit (Qiagen製) で抽出し、SuperScript First-strand Synthesis System (invitrogen製) で逆転写後、既報のN遺伝子領域を増幅するように設計されたIYSVに特異的なプライマー (IYSV\_N5およびIYSV3'T) (土井ら, 2003; 奥田ら, 2005) を用いてRT-PCR法により検出した。

##### 3. 病原ウイルスの分離, 病徴の再現と病原ウイルスの再確認

ネギ罹病葉を0.1Mリン酸緩衝液 (pH7.0) で磨砕した粗汁液をインパチエンス (*Impatiens sultani*) にカーボラダム法により接種し、接種葉の局部病斑から単

<sup>1</sup> Address: Tochigi Prefectural Agricultural Experiment Station, 1080 Kawaraya-cho, Utsunomiya, Tochigi 320-0002, Japan  
2007年5月7日受領  
2007年7月19日登載決定

一局部病斑分離を行い、*Nicotiana benthamiana*で増殖させ、分離株Na6-3を得た。Na6-3を*N. benthamiana*で増殖させた後、0.1Mリン酸緩衝液（pH7.0，0.1%メルカプトエタノール加用）で磨砕し、カーボランダム法によりネギ品種‘ホホワイトタワー’に接種し、人工気象器（27）内で発病経過を観察した。また、前述と同条件でRT-PCRし、IYSVの検出を試みた。

さらにIYSVのネギアザミウマ伝搬試験を行うため、Na6-3が感染したトルコギキョウ（*Eustoma grandiflorum*）葉に村井（2002）の方法により無毒のネギアザミウマ幼虫を放飼し2日間獲得吸汁させた後、催芽ソラマメで成虫まで飼育し、保毒させた。健全なネギ実生苗‘ホホワイトタワー’4株に1株当たり10頭の保毒成虫を5日間接種吸汁後、殺虫剤（ニテンピラム粒剤）で成虫を駆除し、発病状況を観察した。また、病斑部から前述のRT-PCR法によりIYSVを検出した。

#### 4. ネギでのえそ条斑症状の発生とIYSV保毒虫率との関係

現地ネギ圃場で、えそ条斑症状の発生調査を行うとともに、ネギアザミウマのIYSV保毒虫率をDAS-ELISA法により調査した。なお、IYSV検出用の $\alpha$ -グロブリンおよびコンジュゲート（Agdia製）はそれぞれ1000倍で使用した。陽性判定は、基質液添加1時間後に吸光度（波長405nm）を測定し、健全虫の3倍以上の吸光度を示した個体を陽性として判定した。

#### 5. ネギ分離株の塩基配列解析

前述のIYSV保毒ネギアザミウマを接種したネギ葉身の病斑部から得られたN遺伝子領域のcDNAをクローニング後、塩基配列を決定した。

#### 結果および考察

##### 1. ネギでの病徴とRT-PCRによるIYSV検出

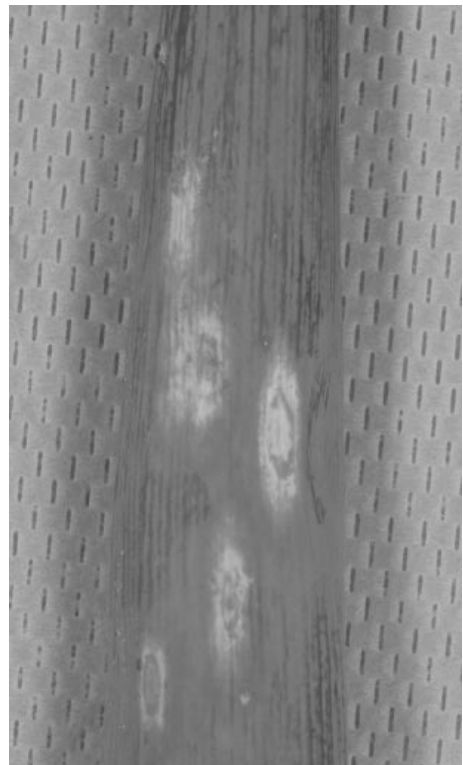
ネギでは、はじめ葉身に退緑斑を生じ、後に黄白色の小型のえそ条斑や大型のえそ条斑を呈する（第1、2図）。これらの症状は、善ら（2005）が報告しているタマネギえそ条斑病の症状に類似していた。RT-PCRにより罹病葉からIYSVの検出を試みたところ、約0.9kbpのIYSVに特異的なcDNAの増幅が認められた。

##### 2. 病原ウイルスの分離、ネギアザミウマ伝搬試験による病徴の再現と病原ウイルスの再確認

ネギ分離株Na6-3をカーボランダム法によりネギ実生苗に接種後、人工気象器（27）内で30日間観察したが、接種葉および新葉とも病徴は見られなかった。



第1図 秋冬ネギでの夏季病徴（えそ条斑症状）



第2図 初期病徴（退緑斑および小型のえそ条斑）

また、前述と同条件で接種葉および新葉をRT-PCRしたがIYSVは検出されなかった。善ら(2005)は、IYSVタマネギ分離株(SgOniD1)とアルストロメリア分離株(CbAlsD1)をネギ5品種にカーボランダム法により接種しているが、病徴は認められていない。

一方、保毒ネギアザミウマを用いて接種試験を行ったところ、接種7日後に4株中3株に原病徴と同様な退緑斑(その後、えそ条斑化)が再現された(第3図)。接種14日後に病斑部とネギアザミウマの食害部をRT-PCRした結果、約0.9kbpのIYSVに特異的なcDNAの増幅が認められた(第4図)。無毒ネギアザミウマを用いて同様にネギ実生苗2株に接種したところ、ネギアザミウマによる食害痕は見られるものの、病徴は認められず、RT-PCRでもIYSVに特異的な増幅は確認されなかった(第1表)。

### 3. ネギでのえそ条斑症状の発生とIYSV保毒虫率との関係

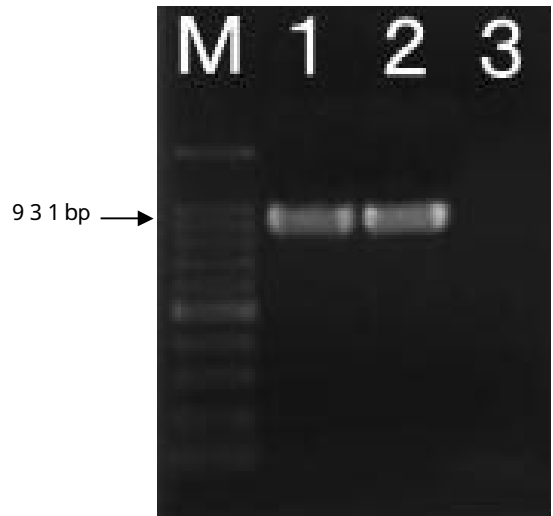
現地ネギ圃場でのえそ条斑症状は、発病株率で0~82%、同一圃場内でのネギアザミウマのIYSV保毒虫率は8~41%であった(第2表)。しかし、えそ条斑症状とIYSV保毒虫率との関係については判然としな



第3図 虫媒接種による病徴の再現

かった。

ネギではIYSVが感染した株でもほとんどが無病徴であったとの報告もある(植草ら, 2005)。今回の試験ではIYSVのネギでの感染状況は調査を実施していないため無病徴感染割合は不明である。IYSVの感染とネギでの病徴発現については、IYSVの系統、品種



第4図 PCR産物の電気泳動パターン

M: 100bpラダー

1: 病徴部分 (IYSV保毒ネギアザミウマ接種)

2: 食害部分 (IYSV保毒ネギアザミウマ接種)

3: 食害部分 (無毒ネギアザミウマ接種)

第1表 RT-PCRによるネギ接種株からのIYSV検出

	病徴	RT-PCR	
		病斑部	食害部
保毒ネギアザミウマ接種株	3/4 <sup>a)</sup>	3/3 <sup>b)</sup>	3/4 <sup>c)</sup>
無毒ネギアザミウマ接種株	0/2	0/2 <sup>c)</sup>	0/2

a) 発病株数 / 供試株数

b) IYSV検出株数 / 発病株数

c) IYSV検出株数 / 供試株数

第2表 ネギ圃場での発病株率とネギアザミウマ保毒虫率との関係

供試植物	発病株率	保毒虫率
ネギ	15%( 15/100 ) <sup>a)</sup>	41%( 29/70 ) <sup>b)</sup>
	82%( 82/100 )	18%( 9/50 )
	9%( 9/100 )	28%( 14/50 )
	0%( 0/100 )	8%( 4/50 )

a) 葉身にえそ条斑等の病徴が見られた株 / 調査株数

b) IYSV保毒虫数 / 供試虫数

間差等も含め、今後更に検討が必要である。

#### 4. ネギ分離株の塩基配列解析

ネギ分離株Na6-3のN遺伝子配列を既報のIYSV<sub>NL</sub>株と比較した結果、オランダで分離されたIYSV<sub>NL</sub> (Cortes et al., 1998) や本県で分離されたニラ分離株MK-01 (福田ら, 2007) と塩基配列でそれぞれ96.0%, 98.9%の高い相同性が認められた。

#### 5. ネギ分離株の同定

以上から、ネギに発生した退緑斑、えそ条斑症状はIYSVの感染によることが明らかとなった。ネギでの

IYSVによる病名提案に関する報告はないため、ネギえそ条斑病と呼称することを提案する。

#### 引用文献

- Cortes, I. et al. (1998) *Phytopath.* 88 : 1276 - 1282.  
土井 誠ら (2003) *日植病報* 69 : 181 - 188.  
福田 充ら (2007) *日植病報* 73 : (印刷中).  
村井 保 (2002) *植物防疫* 56 : 305 - 309.  
奥田 充ら (2005) *日植病報* 71 : 119 - 122.  
植草秀敏ら (2005) *関東病虫研報* 52 : 31 - 34.  
善 正二郎ら (2005) *日植病報* 71 : 123 - 126.