

栃木県の各種*Allium*属植物における アイリスイエロースポットウイルス (IYSV) の発生状況

福田 充・中山喜一・黒崎 良*

(栃木県農業試験場・*栃木県農業環境指導センター)

Incidence of Iris Yellow Spot Virus (IYSV) of Allium spp. in Tochigi Prefecture

Takashi FUKUDA¹, Kiichi NAKAYAMA and Ryou KUROSAKI

摘 要

栃木県内の主要なニラ、ネギ、タマネギ産地でアイリスイエロースポットウイルス (IYSV) が高率に発生していることを明らかにした。ネギアザミウマのIYSV媒介虫率および保毒虫率は、ニラから採取した個体群ではそれぞれ3.1%, 18.6~22.4%, ネギ個体群ではそれぞれ6.0~12.5%, 22.0~30.0%であり、ニラに比較しネギから採取した個体群のIYSV媒介虫率が高い傾向が認められた。現地圃場から採取したニラを部位別に分けてnested-PCRした結果、葉、鱗茎および根からIYSVに特異的なcDNAの増幅が認められ、IYSVがニラで全身感染している可能性が示唆された。ニラ、ネギ、タマネギから分離されたIYSVのN遺伝子領域の配列はオランダで分離されたIYSV_{NL}と高い相同性を示した。

栃木県内でのアイリスイエロースポットウイルス (IYSV) の発生は、2004年にトルコギキョウ (*Eustoma grandiflorum*), 2005年にニラ (*Allium tuberosum*), ネギ (*A. fistulosum*) およびタマネギ (*A. cepa*) で確認された。なお、トルコギキョウは県南部の一部、タマネギは県中南部で、ニラおよびネギはほぼ県内全域で栽培されている。

IYSVの発生要因については、藤永ら (2006) がタマネギ圃場周辺におけるトルコギキョウ施設内外のネギアザミウマ (*Thrips tabaci*) 発消長とIYSV保毒虫率との因果関係、善ら (2006) がタマネギえそ条斑病の発生とネギ、タマネギでのIYSV保毒虫の越冬との関係を報告している。しかし、ニラにおけるIYSVの発生要因については、明らかとなっていない。

そこで、ニラでの発生要因解明の一環として、ニラおよび同じ*Allium*属植物であるネギ、タマネギでのIYSVの発生状況、ネギアザミウマのIYSV媒介虫率等

を調査した。

材料および方法

1. ニラ、ネギおよびタマネギでのIYSV発生状況

2005年から2006年に県内の主要なニラ、ネギおよびタマネギ産地から発病葉を採取し、DAS-ELISA法によりIYSV感染状況を調査した。なお、IYSV検出用の - グロブリンおよびコンジュゲート (Aglia製) はそれぞれ500~1000倍で使用した。基質液添加30分後の吸光度 (波長405nm) が健全株の3倍以上を示したものを陽性と判定した。

2. ニラ、ネギ圃場から採取したネギアザミウマのIYSV媒介虫率、保毒虫率

媒介虫率は、2006年県内のニラ、ネギ圃場から採取したネギアザミウマを供試し、井上ら (2007) の方法により調査した。インパチエンス (品種: エクストリームピンク) 小葉をキッチンペーパーで挟み、1.5ml マイクロチューブに入れ、ネギアザミウマを1頭ずつ

¹ Address : Tochigi Prefectural Agricultural Experiment Station, 1080 Kawaraya-cho, Utsunomiya, Tochigi 320-0002, Japan

2007年5月7日受領

2007年6月27日登載決定

入れて25℃, 12L:12D条件下で48時間吸汁させたのち、ネギアザミウマを除去した。次に、ELISAプレート(4×6:直径1.8cm)の各穴へ蒸留水を入れ、インパチエンス小葉を浮かべ前述と同条件下で3日間培養し、インパチエンス葉に黒褐色えそ斑が形成された試料をIYSV媒介個体として判定した。

保毒虫率は、インパチエンス葉での媒介虫率調査に供試したネギアザミウマと同一個体を用いてDAS-ELISA法により調査した。なお、IYSV検出用のβ-グロブリンおよびコンジュゲートはそれぞれ1000倍で使用した。基質液添加1時間後に吸光度(波長405nm)が健全虫の3倍以上を示した個体を陽性と判定した。

3. ニラにおける越冬ネギアザミウマの媒介虫率および保毒虫率とニラからのIYSV検出

2007年1月に県内のニラ圃場から採取したネギアザミウマを供試し、前述と同条件下でIYSVの媒介虫率および保毒虫率を調査した。

また、同一圃場からニラ株を採取し、部位別(葉、鱗茎、根)に分け、全RNAをRNeasy Plant Mini Kit(Qiagen製)を用いて抽出し、SuperScript First-strand Synthesis System(invitrogen製)を用いて逆転写後、既報のN遺伝子領域を増幅するように設計したIYSVに特異的なプライマー(IYSV_N5およびIYS3'T)(土井ら, 2003; 奥田ら, 2005)と、その内側に設計したプライマーIYS-NL(5'CTGCAGCGAAGATGTCAAGA3'), IYS-NR(5'AAACTTCTGTCTGGCGGAGA3')によるnested-PCRでIYSVの検出を行った。

4. ニラ, ネギ, タマネギからのIYSV分離株の塩基配列解析

IYSVのニラ分離株MK-01, ネギ分離株NA6-3およびタマネギ分離株MK-T01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

1. ニラ, ネギおよびタマネギでのIYSVの発生状況

県内各地からニラ, ネギおよびタマネギの発病葉を計91点採取し、IYSVの検出を行った結果、発生圃場率は、それぞれ73.7%(28/38), 70.6%(24/34)および68.4%(13/19)であり、広範囲に分布していることが明らかとなった(第1表)。

2. ネギアザミウマのIYSV媒介虫率, 保毒虫率

県内のニラ, ネギ圃場から採取したネギアザミウマ

を供試し、IYSVの媒介虫率・保毒虫率を検定したところ、ニラから採取したネギアザミウマの媒介虫率は3.1%, 保毒虫率は18.6~22.4%であった。一方、ネギから採取したネギアザミウマの媒介虫率は6.0~12.5%, 保毒虫率は22.0~30.0%であり、ニラ個体群と比べてネギ個体群のIYSV媒介虫率および保毒虫率が高い傾向であった(第2表)。

3. ニラにおける越冬ネギアザミウマの媒介虫率および保毒虫率とニラからのIYSV検出

ニラ圃場で越冬中のネギアザミウマのIYSV媒介虫率および保毒虫率はそれぞれ1.9~6.4%, 7.5~12.8%であった(第3表)。同一圃場内からニラ株を採取し、部位別に分けてnested-PCRした結果、葉, 鱗茎, 根の各部位からIYSVに特異的なcDNAの増幅が認められた(第4表, 第1図)。なお、PCR検定に供したニラ株は無病徴であった。

第1表 栃木県内でのIYSV発生状況

供試植物	IYSV発生圃場率(%)
ニラ	73.7(28/38) ^{a)}
ネギ	70.6(24/34)
タマネギ	68.4(13/19)

a) IYSV検出圃場数 / 調査圃場数

第2表 ネギアザミウマの媒介虫率と保毒虫率

採取植物	媒介虫率(%)	保毒虫率(%)
ニラ	3.1(3/97) ^{a)}	18.6(18/97) ^{b)}
ニラ	3.1(3/98)	22.4(22/98)
ネギ	12.5(6/48)	27.1(13/48)
ネギ	6.0(3/50)	22.0(11/50)
ネギ	6.7(2/30)	30.0(9/30)

a) IYSV媒介虫数 / 供試虫数

b) IYSV保毒虫数 / 供試虫数

第3表 ニラ圃場での越冬ネギアザミウマの媒介虫率と保毒虫率

圃場No.	媒介虫率(%)	保毒虫率(%)
1	3.3(4/120) ^{a)}	7.5(9/120) ^{b)}
2	6.4(3/47)	12.8(6/47)
3	1.9(1/52)	7.7(4/52)

a) IYSV媒介虫数 / 供試虫数

b) IYSV保毒虫数 / 供試虫数

4. ニラ, ネギ, タマネギ分離株の塩基配列解析

ニラのIYSV分離株MK-01 (Accession No. AB286063) は, オランダで分離されたIYSV_{NL} (Cortes et al., 1998) と塩基配列で96.1%の高い相同性が認められることが明らかとなっている (福田ら, 2007)。

一方, ネギ, タマネギからのIYSV分離株は, IYSV_{NL} やニラ分離株MK-01 (福田ら, 2007) と塩基配列でネギ分離株がそれぞれ96.0%, 98.9%, タマネギ分離株がそれぞれ95.8%, 98.9%の高い相同性が認められた (第5表)。

考 察

本調査により, 栃木県内のニラ, ネギおよびタマネギからIYSVが高率に検出され, 県内に広く分布していることが明らかとなった。また, ニラに比べてネギから採取したネギアザミウマのIYSV媒介虫率および保毒虫率が高い傾向が認められ, IYSV伝染源植物としてのネギの重要性が示唆された。

ニラ圃場で越冬中のネギアザミウマからIYSVが検出され, さらに同一圃場内のニラ株の各部位からIYSVが検出された。下元ら (未発表) はイムノキャプチャー-RT-PCR後にサザンハイブリダイゼーションを行うことにより, RT-PCRでは検出できなかった葉鞘基部や茎盤部からIYSVを検出している。我々はこれまで, 現地から採取した発病株の刈り取りを数回行い, 葉での病徴を観察するとともに, ニラ株を部位別に分けRT-PCRによりIYSV検出を試みてきたが, 再生葉での病徴は認められず, 鱗茎および根からIYSVは検出されなかった (データ省略)。しかし, 今回の調査で冬季の保温開始前~保温開始直後のニラの鱗茎および根から本県では初めてIYSVが検出され, ニラでIYSVが全身感染している可能性が示唆された。秋期に地上部から鱗茎へ養分が転流するニラの生育特性との関係が考えられ, 今後さらに検討が必要である。

引用文献

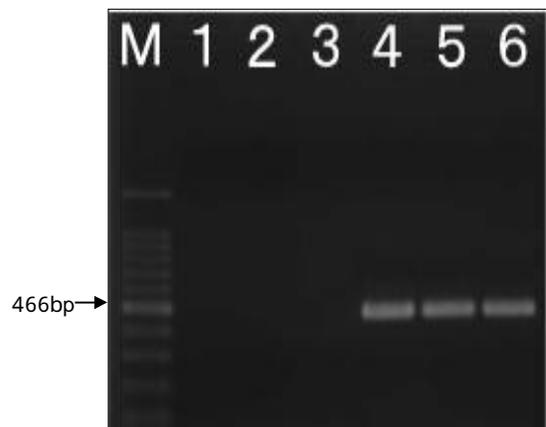
Cortes, I. et al. (1998) *Phytopath.* 88 : 1276 - 1282.
 土井 誠ら (2003) *日植病報* 69 : 181 - 188.
 藤永真史ら (2006) *関東病虫研報* 53 : 167 - 168 (講要)。

第4表 RT-PCRによる冬季ニラ株からのIYSV検出

	葉	鱗茎	根
現地からの採取株 ^{a)}	3/3 ^{b)}	3/3	3/3
健全株	0/2	0/2	0/2

a) 下野市, 上三川町, 清原町で夏季にIYSVによるえそ条斑症状が認められた圃場から採取。ただし, 2007年1月時点では無病徴。

b) IYSV検出個体数 / 供試個体数



第1図 PCR産物の電気泳動パターン

M : 100bpラダー

- 1 : 健全株 (葉) 4 : 下野市採取株 (葉)
- 2 : 健全株 (鱗茎) 5 : 下野市採取株 (鱗茎)
- 3 : 健全株 (根) 6 : 下野市採取株 (根)

第5表 栃木県の各IYSV分離株と既報の分離株との相同性比較^{a)}

発生地	寄主植物	登録番号	ニラ分離株 (%)	ネギ分離株 (%)	タマネギ分離株 (%)
オランダ	ダッチアイリス	AF001387 ^{b)}	96.1	96.0	95.8
ブラジル	タマネギ	AF067070	88.4	88.3	88.0
静岡県	トルコギキョウ	AB121025	98.2	98.1	97.9
静岡県	トルコギキョウ	AB121026	88.4	88.3	88.1
栃木県	ニラ	AB286063	-	98.9	98.9

a) N遺伝子での塩基配列における相同性比較

b) IYSV_{NL}

福田 充ら (2007) 日植病報 (印刷中).

井上登志郎ら (2007) 日植病報 (印刷中).

奥田 充ら (2005) 日植病報 71 : 119 - 122.

善 正二郎ら (2006) 日植病報 72 : 277 (講要).