

千葉県のキク圃場におけるキク茎えそ病の発生状況及び *Chrysanthemum stem necrosis virus* 寄生植物の探索

國友映理子・牛尾進吾

キーワード：キク茎えそ病, CSNV, ミカンキイロアザミウマ, CSNV寄生植物

I 緒 言

キク茎えそ病は, *Chrysanthemum stem necrosis virus* (CSNV) によって引き起こされる病害である (松浦ら, 2007) . 発病すると, キクの中位葉に黄化, えそ症状がみられ, 症状が進行すると茎にもえそが発生し萎れや折れが発生する. CSNVは, トスポウイルス属に属し, ミカンキイロアザミウマ (*Frankliniella occidentalis*) 及び同属の *F. schultzei* (日本未発生) によって媒介される (Nagata and De Ávila, 2000) . トスポウイルスは幼虫期のアザミウマが感染した植物を吸汁することで体内に取り込まれ, 虫体内で増殖し成虫期に他の植物へ伝搬される. 一度ウイルスを獲得したアザミウマは生涯にわたってウイルス伝搬能力を発揮する (山下, 2011) . 当該ウイルスは種子伝染, 土壌伝染及び管理作業による汁液伝染はしないが, キクは栄養繁殖するため, 感染した親株から採取した挿し穂が伝染源となり被害が大きくなることがある.

千葉県では2007年にキクで本病の発生が初めて確認され (千葉県, 2007) , 2009年にトマト (千葉県, 2009) , 2011年にピーマン (小塚ら, 未発表) , 2015年にアスター (國友ら, 未発表) で同ウイルスによる茎えそ病が発生した. また, 富山県ではトルコギキョウでの発生も確認されており (桃井, 2011) , 新たな作物での発生も懸念される.

県内では, CSNVによる茎えそ病の地域及び発生品目が徐々に拡大しているが, どのように発生が広がっているのか明らかとなっていない. またCSNV寄生植物は, 汁液接種試験によりキク科及びナス科を中心に報告されているが (Bezerra et al., 1999) , 雑草への感染及び自然感染する植物について詳細な報告はない. そこで, 本病の発生歴のあるキク栽培施設を中心に, キク茎えそ病と媒介虫であるミカンキイロアザミウマの発生状況, CSNV保毒虫の有無について調査し, 本病の発生動態を明らかにする. さらに施設内部及びその周辺に生息する各種植物のCSNV感染の有無を調査し, 新たなCSNV寄生植物の探索を行い, これら得られた

知見をもとに効果的な本病の防除対策を構築することを目的に本研究を実施した.

本研究を行うにあたり, 現地調査にご協力いただいた山武農業事務所の綿貫俊貴氏, 丸朝園芸農業協同組合花卉部の皆様に深く感謝の意を表する.

II 材料及び方法

1. 調査地点

調査は, 2013年は夏秋キク栽培圃場, 2014年は親株養成圃場において実施した. いずれも山武郡芝山町のキク茎えそ病発生履歴のある施設で, 周年でキクや球根切り花等の花き栽培を行っている. 夏秋キク栽培圃場は, 自家採種苗 (品種「セイエーグ」) を使用し, 定植が2013年4月20日, 開花が7月下旬の作型であった. この圃場でキク茎えそ病は2012年に初めて発生した. 防虫ネットは展開していなかった. キク親株養成圃場は, 2014年2月に前年作の切下株 (ピンク系品種) を定植し, 種苗会社から購入した「セイエーグ」を4月に, 「オーシャン」を7月に採穂用として穂を定植していた. この圃場では2009年からキク茎えそ病が発生したため, 2012年頃から0.8mm目合いの防虫ネットを使用していたが, その後も継続的に本病が発生していた. なお, いずれの調査圃場でも, 7~14日間隔で登録のある薬剤を散布し, 定期的にミカンキイロアザミウマの防除は行っていた.

2. 調査方法

(1) キク茎えそ病の発生推移

夏秋キク栽培圃場は2013年5月16日から7月14日まで, 親株養成圃場は2014年2月20日から11月4日まで, 2週間毎に調査圃場の発生状況を発病株率 (発病株率/調査株数×100) により調査した. 2013年の調査では毎回30株ずつ, 2014年の調査では100株ずつ調査した. 感染株の初発生の確認は二重抗体サンドイッチ法 (DAS-ELISA法) で実施し, その後は目視により発病の有無を確認した.

(2) ミカンキイロアザミウマの発生推移

調査期間は上記 (1) と同様とした. 黄色粘着トラップ3枚を調査ハウスの入口から等間隔に作物の直上に設置し, 生育とともに黄色粘着トラップ設置か所の高さを変えた. 2週

受理日 2015 年 8 月 4 日

本報の一部は, 第 61 回関東東山病虫害研究会発表会 (2014 年 3 月, 長野県長野市) において発表した.

間毎に粘着トラップを交換し、実体顕微鏡を用いてミカンキイロアザミウマ成虫の誘殺数を計数した。

(3) 周辺植物のCSNV感染確認

2013年5月から2014年12月まで、概ね1か月毎に調査圃場内部及び圃場周辺植物を採取した。ウイルス様症状(黄化、えそ、退緑)が見られる部位を中心に剃刀で切り取り、各サンプルを0.1gに調製した。それらを-20℃で凍結させた後、DAS-ELISA法でCSNV感染の有無について調査した。

3. ウイルス検定方法

(1) 植物体のウイルス検定

採取した植物を-20℃で凍結保存した後、CSNVの感染の有無をDAS-ELISA法によって調査した。コーティング抗体(Neogen Europe Ltd製)は0.05M炭酸バッファー(pH9.6)で1,000倍に希釈し、各ウェルに50μlずつ入れ、マイクロプレートに吸着させた。0.1gの植物体に対して、1mlのブロッキング液(PBSTに5%PVP, 0.5%BSAを溶解させたもの)を加え磨砕後、各ウェルに50μl入れ、37℃で2時間インキュベーションした。抗CSNV IgGウサギエンザイムコンジュケート抗体(Neogen Europe Ltd製)は、ブロッキング液で1,000倍に希釈し、各ウェルに50μlずつ入れ、37℃で2時間反応させた。最後にp-ニトロフェニルリン酸二ナトリウムをジエタノールアミン液に1mg/mlになるよう溶かし発色試薬とし、各ウェルに50μlずつ入れ、25℃で1時間反応させた。診断は、405nmの波長での吸光度をマイクロプレートリーダー(BIO-RAD社, Model 550)で測定した。健全キク葉もしくは健全トマト葉をネガティブコントロール(ネガコン)とし、ネガコンの吸光度値の2倍以上を陽性とした。なお、各処置の間には、PBSTでウェルを4回洗浄した。

(2) ミカンキイロアザミウマのウイルス検定

黄色粘着トラップに誘殺されたミカンキイロアザミウマを-20℃で凍結保存させた後、DAS-ELISA法によってCSNVの保毒の有無を検定した。ミカンキイロアザミウマは、黄色粘着トラップから30頭ランダムに選出し、ウイルス検定に供した。コーティング抗体液を各ウェルに100μl入れ、マイクロプレートに吸着させた後、5倍希釈のブロッキング液(ナカライテスク)100μlを各ウェルに入れ、37℃で1時間インキュベーションした。ミカンキイロアザミウマ1頭を1.5mlチューブに入れ、120μlの5%ブロッキング液を加えたPBSTで十分に磨砕した後、各ウェルに100μlずつ入れ、4℃で一晩静置した。コンジュケート抗体液を、各ウェルに100μlずつ入れ、37℃で2時間反応させた。最後に3.(1)と同じ発色試薬を各ウェルに100μlずつ入れ25℃で1~2時間反応させた後、マイクロプレートリーダーで吸光度を測定した。非保毒アザミウマをネガコンとし、その吸

光値の2倍以上のものを陽性とした。なお、コーティング抗体及びコンジュケート抗体の希釈、発色試薬の作成、各処置間の洗浄は3.(1)と同様とした。

Ⅲ 結果及び考察

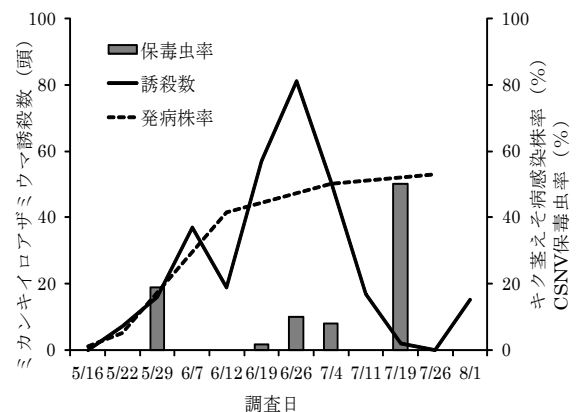
1. キク茎えそ病とミカンキイロアザミウマの発生状況及びCSNV保毒虫の有無について

(1) 夏秋キク生産圃場

キク茎えそ病発病株率とミカンキイロアザミウマの誘殺数及びCSNV保毒虫率の推移を第1図に示した。2013年5月16日の調査で、すでにキク茎えそ病が発生していた。その後、発病株率は徐々に増加し、植物体に負担がかかりやすい花蕾形成期となった6月中旬には41.6%、収穫時には53%まで増加した。

ミカンキイロアザミウマの誘殺数は5月から気温の上昇とともに徐々に増加し、6月下旬にピークとなった。7月上旬に開花が始まると、ミカンキイロアザミウマは花に集まるため黄色粘着トラップへの誘殺数は減少し、採花後の8月上旬に再び増加した。CSNV保毒虫は5月29日の調査で初確認され、保毒虫率は約1.8~50%の間で推移した。生産者聞き取りによると、2012年にキク茎えそ病が発生した品種は抜き取り処分したが、その他の品種は親株として残し、調査圃場に定植した穂はその親株から採取していた。この調査圃場では定植後2週間頃には葉が黄化し、えそとなる症状が確認されていた。

CSNVと同じトスボウイルス属のTomato spotted wilt virus (TSWV)では、ウイルス感染後ピーマンやトマトなどのナス科では、感染症状が速やかに現れて黄化や萎縮により植物体が壊死していくのに対し、キクなどの花きでは



第1図 夏秋キク生産圃場内のキク茎えそ病発病株率、ミカンキイロアザミウマ誘殺数及びCSNV保毒虫率の推移

- 注 1) ミカンキイロアザミウマ誘殺数及びCSNV保毒虫率は2013年5月16日から8月1日まで、キク茎えそ病感染株率は2013年5月16日から7月26日まで調査した。
2) 誘殺数は黄色粘着トラップ3枚の合計数である。

病徴発現までの期間が長く、場合によっては感染しているにもかかわらず無症状のまま株も存在する(櫻井, 2006)。またトスボウイルス属のピーマン退緑斑紋病ウイルス(*Capsicum chlorosis virus*, CaCV)ではウイルスの感染から発病までの期間が2週間程度と報告されている(高知県, 2005)。一方、カキにおけるCSNVの感染から発病までの期間の報告は見当たらないが、以上の知見からカキでの病徴発現期間は2週間より長いと推測される。調査園場では、定植後2週間頃にはすでにウイルス症状が見られていたことから、初発生の原因は、本圃定植後のCSNV感染ではなく、CSNVに感染した親株から採取した挿し穂の使用であると考えられた。

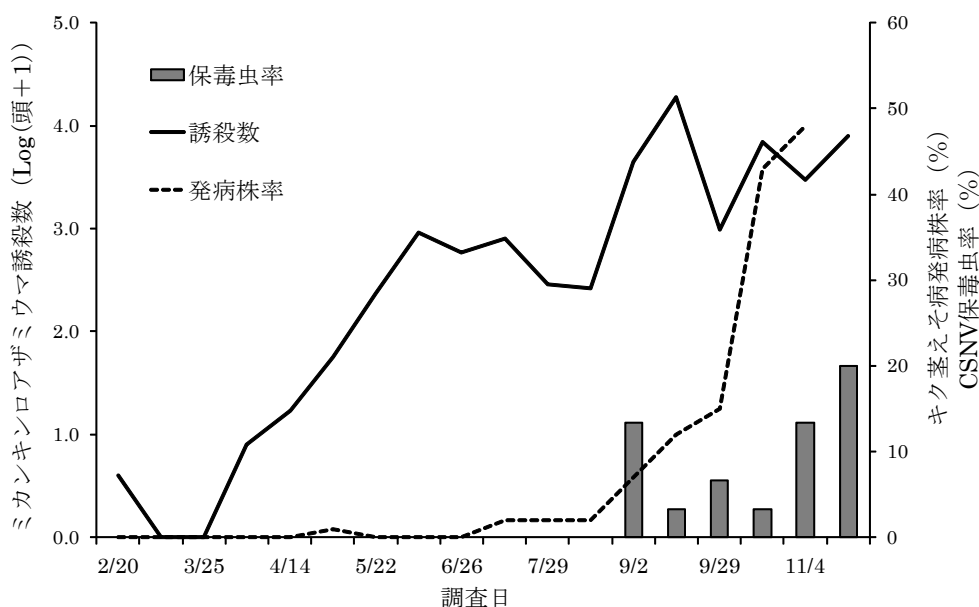
カキ栽培終了後に、施設周辺のアザミウマが寄生していた植物(カラー、ルリフタモジ)からミカンキイロアザミウマを採取し、DAS-ELISA検定を行った結果、採取したミカンキイロアザミウマからCSNVの保毒を確認した。保毒虫率は6.7%(4頭/58頭)であった。なお、ミカンキイロアザミウマが寄生していたカラー、ルリフタモジからはCSNVは検出されなかった。以上から、CSNV保毒虫は調査園場から飛散したアザミウマである可能性が高いと推察された。

(2) 親株養成圃場

カキ茎えそ病発病株率とミカンキイロアザミウマの誘殺数及びCSNV保毒虫率の推移を第2図に示した。カキ茎

えそ病発病株は、5月に「セイエーグ」で初めて確認された。圃場全体の発病株は6月から徐々に増え、9月以降急激に増加し、11月まで発生を確認した。ミカンキイロアザミウマは、厳冬の2月からハウス内の黄色粘着トラップで確認された。4月以降気温の上昇とともに増加し、6月には900頭を超えた。7月から8月は高温期になるため、誘殺数は減少したが、9月以降再び増加し、12月まで高く推移した。CSNV保毒虫は9月2日に初めて確認され、保毒虫率は3.3~20%の間で推移した。12月の保毒虫率が一番高く20%となった。

ミカンキイロアザミウマは花粉の摂取により産卵能力が著しく高まるため(片山, 1998)、採穂の終了した親株の放置は、アザミウマの増加を助長させる。調査園場では、9月以降採穂が行われておらず、採穂が終了した親株が開花し、そこへミカンキイロアザミウマが寄生したため発生量が増加したと考えられた。また採穂期間中は5~10日間隔でアザミウマ防除を実施していたが、9月以降は実施されておらず、発病株の抜き取りも行われていなかった。そのため、大量発生したアザミウマが既に発生していたカキ茎えそ病発病株に寄生し、9月以降CSNV保毒虫が増加し、それに伴い発病株率が急激に増加したと考えられた。また0.8mm目合いの防虫ネットを展開していたが、採穂期間中の6月までアザミウマが増加したためこの目合いでは侵入防止効果が不十分であることがわかった。



第2図 親株養成ハウス内のカキ茎えそ病株率、

ミカンキイロアザミウマ誘殺数及びCSNV保毒虫率の推移

注 1) 発病株率は2014年2月20日から4月14日まで前作切下株(ピンク系品種)、

5月1日から11月4日まで「セイエーグ」のデータである。各品種100株を調査した。

2) 誘殺数は黄色粘着トラップ3枚の合計数である。誘殺数は対数(Log(頭+1))に変換した。

2. CSNV寄生植物

2013年から2014年にかけて、キク生産施設内部及びその周辺で23科42種類の植物を採取し、DAS-ELISA法によりCSNV感染の有無を調査した(第1表)。その結果、キク科チチコグサモドキ、トウダイグサ科エノキグサ及びマメ科インゲンが陽性となった。チチコグサモドキは芝山町内の複数の生産者圃場でもCSNV感染株が確認され、ウイルス症状(黄化もしくはえそ)が出ていない無病徴株からも検出された。一方、エノキグサ及びインゲンはウイルス症状が出ていない株からのみ検出された。チチコグサモドキ及びエノキグサにおけるCSNV感染の報告はなく、今回の調査で初めて明らかとなった。また、インゲンは汁液接種により接種葉に退緑、上葉に葉脈透化を示すことが報告されている(Bezerra et al., 1999)。しかし、自然感染インゲンを確認した報告はなく、今回の調査でCSNVの寄生植物となることが新たに明らかとなった。

キク親株養成圃場で時期別のCSNV保毒虫率とチチコグサモドキからのCSNV感染株の検出率を比較した結果、保毒虫率が高くなるとチチコグサモドキの感染株検出率が高くなる傾向であった(第2表)。11月は特に感染株検出率が高く、57%となった。チチコグサモドキとエノキグサは、栽培が終了しキクがなくなる11月以降もハウス内で確認されたため、次作の感染源となる危険性が示された。

3. キク茎えそ病の防除対策

TSWVでは、キク親株のウイルス感染率が高い場合、被害が甚大となることが報告されている(Matsuura et al., 2002)。本試験における2013年の現地調査も、感染した親株から採取した穂を定植したため大きな被害になったと考えられたことから、健全な(ウイルスフリー)親株を使用し、養成中は薬剤散布、ネット展帳によりアザミウマの防除を徹底することが重要であると考えられた。現地生産者の多くは商品性の高いキクの穂を種苗会社から購入しているため、今後被害を拡大させないためにウイルスフリー苗を育成する技術、安定供給できる技術が望まれる。またMatsuura et al. (2002)は、ある程度親株感染が見られても作期を通じて媒介虫密度が低い場合は被害が顕在化しにくく、また逆に親株感染率が低くても媒介虫が多発し、保毒虫率が高い場合は被害に結び付くことを観察しており、アザミウマの密度を低く抑えることが防除上重要であるとしている。本試験の2014年の現地調査でも媒介虫及び保毒虫の増加により発病株が急増したことから、ウイルス感染株の早期抜き取り、適切な目合いの防虫ネットの使用及び継続的な薬剤散布等を実施することにより、媒介虫及び保毒虫の密度制御することが本病の防除に不可欠であると考えられた。

第1表 キク栽培圃場内部及びその周辺植物のCSNV検出頻度

科	植物名	検出数/調査数	科	植物名	検出数/調査数
アカザ科	シロザ	0/3	サトイモ科	サトイモ	0/3
	ホウレンソウ	0/1		畑地性カラー	0/6
アブラナ科	キャベツ	0/1	シソ科	コリウス	0/2
	コマツナ	0/1		ホトケノザ	0/7
	ナズナ	0/3	スミレ科	スミレ	0/2
	ナバナ	0/3	セリ科	ニンジン	0/1
アルストロメリア科	アルストロメリア	0/2	ツユクサ科	ムラサキツユクサ	0/2
イヌサフラン科	サンダーソニア	0/1	トウダイグサ科	エノキグサ	2/3
イネ科	メヒシバ	0/3	ナス科	ジャガイモ	0/1
	イネ科雑草	0/1		トウガラシ	0/1
ウリ科	カボチャ	0/1		ピーマン	0/3
カタバミ科	カタバミ	0/5	ハエドクソウ科	ムラサキサギコケ	0/1
キク科	オニノゲシ	0/5	バラ科	イチゴ	0/1
	セイヨウタンポポ	0/2	ヒガンバナ科	ハナニラ	0/1
	チチコグサモドキ	11/112	ヒユ科	スベリヒユ	0/7
	ノゲシ	0/1	ブドウ科	ツタ	0/2
	マトリカリア	0/1	マメ科	インゲン	2/10
	レタス	0/1		クズ	0/1
	ハキダメギク	0/1		ラッカセイ	0/69
クサスギカズラ科	ヤブラン	0/1	ユリ科	ネギ	0/1
ケシ科	ポピー	0/1		リュウココリーネ	0/3
				ルリフタモジ	0/7

注) 調査植物の検出頻度を検出数/調査数で示した。

第2表 時期別のCSNV保毒虫率と

チチコグサモドキのCSNV検出頻度

採取時期	CSNV保毒虫率 (%)	検出数/調査数
2月	0	0/23
5月	0	1/14
6月	0	0/11
7月	0	0/2
8月	0	-
9月	7.8	0/18
10月	3.3	2/21
11月	13.3	4/7
12月	20.0	1/10

注 1) 調査場所は、山武郡芝山町カキ親株養成圃場である。

2) チチコグサモドキのCSNV検出頻度を
検出数/調査数で示した。

3) -はデータなしを示す。

本報により、圃場周辺でCSNV保毒虫及びいくつかの雑草でウイルスの感染を確認したことから、他作物及び他作型にCSNV感染を拡大させないために、栽培終了後の蒸し込みや施設内の除草を行うことも重要であると考えられた。

IV 摘 要

CSNVの発生歴のあるカキ栽培施設を中心に、カキ茎えそ病と媒介虫であるミカンキイロアザミウマの発生状況、CSNV保毒虫の有無について調査し、CSNVの発生動態を明らかにした。さらに施設内部及びその周辺で各種植物におけるCSNVの感染の有無等を調査し、新たなCSNV寄生植物の探索並びに有効な防除対策の提案を行った。

1. 夏秋カキ生産圃場及び親株養成圃場の調査の結果から、感染苗の持ち込み及びCSNV保毒虫の増大・拡散媒介によりカキ茎えそ病の発生及びCSNVの感染が拡大していることが明らかとなった。
2. カキ生産施設内部及び周辺の23科42種類の植物を採取し、DAS-ELISA検定を実施した。その結果、カキ科チチコグサモドキ、トウダイグサ科エノキグサ及びマメ科インゲン今回の調査でCSNV寄生植物であることが初めて明らかとなった。
3. 本試験で得られた結果から、健全な苗の確保による圃場へのウイルスの持ち込みを防止することなどの耕種的防除、ミカンキイロアザミウマに有効な薬剤のローテーション散布などの化学的防除及び防虫ネットの利用などの物理的防除法を効果的に組み合わせることによりミカンキイロアザミウマを防除し感染を拡大させないこと、作物・雑草間の伝染サイクルを遮断し次作へ感染をつながないことが、カキ茎えそ病防除対策で重要であることがわかった。

V 引用文献

- Bezerra, I. C., R. de O. Resende., L. Pozzer., T. Nagata., R. Kormelink. and A. C. De Ávila (1999) *Phytopathology* 89 : 823-830.
- 千葉県農林総合研究センター (2007) 平成19年度病害虫発生予察特殊報第2号.
- 千葉県農林総合研究センター (2009) 平成21年度病害虫発生予察特殊報第1号.
- 片山晴喜 (1998) ミカンキイロアザミウマ-おもしろ生態とかしい防ぎ方-. 農山漁村協会. 東京. 126pp.
- 高知県病害虫防除所 (2005) 新しい病害虫VOL.4ピーマン退緑斑紋病 (CACV) .
<<http://www.nogyo.tosa.pref.kochi.lg.jp/info/dtl.php?ID=3129>>
- Matsuura, S., S. Hoshino., H. Hayashi., T. Kohguchi., K. Hagiwara. and T. Omura (2002) *J. Gen. Plant Pathol.* 68 : 99-102.
- 松浦昌平・久保田健嗣・奥田充 (2007) 日本植物病理学会報. 73 : 68
- 松浦昌平 (2010) 植物防疫64 : 23-26.
- 桃井千巳 (2011) 植物防疫65 : 18-21.
- Nagata, T. and A. C. De Ávila (2000) *J. Phytopathol.* 148 : 123-125.
- 櫻井民人 (2006) 植物防疫60 : 14-18.
- 山下修一 (2011) 植物ウイルス-病原ウイルスの性状-. pp115-118. 悠書館. 東京.

Seasonal Occurrence of Chrysanthemum Stem Necrosis in Chrysanthemum Fields in Chiba Prefecture and a Search for *Chrysanthemum stem necrosis virus*-Harboring Plants

Eriko KUNITOMO and Shingo USHIO

Key words: chrysanthemum stem necrosis, CSNV, *Frankliniella occidentalis*, CSNV parasitic plant

Summary

We researched the seasonal occurrence of *chrysanthemum stem necrosis virus* (CSNV), its vector insect, *Frankliniella occidentalis*, (Western flower thrips) and CSNV-viruliferous insects in chrysanthemum fields. We carried out a search for new CSNV-harboring plants to be able to suggest an effective CSNV control program.

1. The spreading of CSNV infection was caused by latent infection of seedlings and an increase in *F. occidentalis* and CSNV-viruliferous insects in chrysanthemum fields and chrysanthemum stock plant fields.
2. *Gamochaeta pensylvanica*, *Acalypha* L. and *Phaseolus vulgaris* L. in chrysanthemum fields were detected as CSNV-positive by DAS-ELISA. This is the first report of their being CSNV-harboring plants.