

Iris yellow spot virus (IYSV)によるトルコギキョウ(*Eustoma grandiflorum*)えそ輪紋病

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	土井,誠 善,正二郎 奥田,充 中村,宏子 加藤,公彦 花田,薫
発行元	日本植物病理學會
巻/号	69巻3号
巻号補足	
掲載ページ	p. 181-188
発行年月	2003年8月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター

Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



Iris yellow spot virus (IYSV) によるトルコギキョウ (*Eustoma grandiflorum*) えそ輪紋病

土井 誠^{1,2*}・善 正二郎³・奥田 充⁴・中村 宏子⁵・加藤 公彦¹・花田 薫^{4,6}

ABSTRACT

DOI, M.^{1,2*}, ZEN, S.³, OKUDA, M.⁴, NAKAMURA, H.⁵, KATO, K.¹ and HANADA, K.^{4,6} (2003). Leaf necrosis disease of lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) caused by *Iris yellow spot virus*. Jpn. J. Phytopathol. 69: 181-188.

Lisianthus plants [*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn] with necrotic spots and rings on the leaves were found recently in greenhouses in Shizuoka and Saga Prefectures. From diseased leaves collected in Shizuoka and Saga, we isolated four virus isolates by the single-lesion isolation method. Some or all isolates had the following properties: (1) they reproduced necrotic spots and rings on healthy lisianthus plants after mechanical inoculation, (2) their virion morphology was similar to the tospovirus virion with irregular spherical particles with an average diameter of 85 nm, (3) they were serologically closely related to *Iris yellow spot virus* (IYSV) but not to *Tomato spotted wilt virus* or to *Impatiens necrotic spot virus* in the genus *Tospovirus*, (4) they were transmitted by *Thrips tabaci* but not by *Frankliniella occidentalis*, (5) their host ranges were narrow unlike *Tomato spotted wilt virus*, and (6) nucleotide and deduced amino acid sequence analyses in the nucleocapsid protein genes revealed that they are nearly identical to a Dutch isolate or to a Brazilian isolate of IYSV. These results indicate that the leaf necrosis disease of lisianthus was caused by IYSV. This is the first report of IYSV disease on lisianthus in Japan.

(Received September 27, 2002; Accepted December 10, 2002)

Key words: lisianthus, leaf necrosis disease, *Iris yellow spot virus*, thrips.

緒 言

トルコギキョウ (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn) はアメリカ合衆国原産のリンドウ科の花きで、主に切り花として利用されている。わが国のトルコギキョウの栽培面積は年々増加しており、1990年の219 ha から2000年には461 ha になり倍増している。わが国では、トルコギキョウには多種類のウイルスの発生報告があるが (土井・加藤, 2002; 藤・山本, 2000; 花田・岩木, 1985; 井上ほか, 1995;

岩木ほか, 1985; 黒田ほか, 1999; 松尾・太田, 1992; 竹内・古谷, 1993; 内川ほか, 2002; 山下・杉山, 1998; 山下・福井, 2002), このうち、トスポウイルスは、トマト黄化えそウイルス (TSWV) (黒田ほか, 1999) 及びインパチエンスネクロティックスポットウイルス (INSV) (土井・加藤, 2002; 藤・山本, 2000) の2種であった。

1998年1月及び1999年6月に静岡県で、また2001年には佐賀県で施設栽培のトルコギキョウに、葉のえそ斑点やえそ輪紋等のウイルス性病害と考えられる症状 (Fig. 1-A)

¹ 静岡県農業試験場 (〒438-0803 静岡県磐田郡豊田町678-1) Shizuoka Agricultural Experiment Station, Toyoda, Iwata, Shizuoka 438-0803, Japan

² 現在: 静岡県西部農林事務所 (〒430-0915 静岡県浜松市東田町87) Present address: Shizuoka Seibu Agriculture and Forestry Office, Higashitamachi, Hamamatsu, Shizuoka 430-0915, Japan

³ 佐賀県上場営農センター (〒847-0326 佐賀県東松浦郡鎮西町大字早田1471-6) Saga Prefectural Upland Farming Research and Extension Center, Chinzeicho, Saga, 847-0326, Japan

⁴ 九州沖縄農業研究センター (〒861-1192 熊本県菊池郡西合志町須屋2421) National Agricultural Research Center for Kyushu Okinawa Region, Nishigoushi, Kumamoto 861-1192, Japan

⁵ 佐賀県農業技術防除センター (〒840-2205 佐賀県佐賀郡川副町南里1088) Saga Prefectural Agriculture Support Center, Kawasoecho, Saga, 840-2205, Japan

⁶ 現在: 独立行政法人農業生物資源研究所 (〒305-8602 つくば市観音台2-1-2) Present address: National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba 305-8602, Japan

* Corresponding author (E-mail: makoto1_doi@hq.pref.shizuoka.jp)

が発生した。本病害の病原の諸性質を検討した結果、病原は *Iris yellow spot virus* (IYSV) であると考えられた。

IYSV はオランダのダッチアイリスから初めて分離されたトスポウイルス属に属するウイルスである (Cortes *et al.*, 1998)。その後、本ウイルスはブラジルのタマネギ (Pozzer *et al.*, 1999) やイスラエルのトルコギキョウ (Kritzman *et al.*, 1999) で発生が認められた。日本では、千葉県のアルストロメリアから本ウイルスが検出されている (Okuda *et al.*, 2001)。

本研究では、静岡県と佐賀県に発生したトルコギキョウの新病害の病原を同定するとともに、栽培上重要となるトルコギキョウ主要品種の IYSV 感受性を検討したのでここに報告する。

材料および方法

病原の分離 静岡県及び佐賀県で施設栽培のトルコギキョウに発生した葉にえそ斑点やえそ輪紋症状を生じた株を採取した。静岡県の発病株から *Chenopodium quinoa* で2回単病斑分離を行って2分離株 (1998年に静岡市で採集した株 (品種: あずまの調) より分離: T2 分離株, 1999年に西伊豆町で採集した株 (品種: プラチナキング) より分離: T3 分離株) を得て、*Nicotiana benthamiana* で増殖した。また、佐賀県の富士町での発病株 (品種: キュートイエロー) から *C. quinoa* で1回単病斑分離を行ってSG1を分離し、鎮西町での発病株 (品種: つくしの波) から同様にSGAを分離して、*N. benthamiana* で増殖した。感染葉に10倍量 (W/V) の 10 mM Na_2SO_3 含有 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) を加え、氷上で冷却した乳鉢中で発病葉を磨碎して粗汁液を作成し、カーボランダム法により汁液接種を行った。

原病徴の再現 単病斑分離により得た T2, T3, SG1 及びSGA 分離株が本病の病原であることを確認するため、健全なトルコギキョウ品種‘あずまの調’または‘ブローネブルー’の葉に汁液接種し、ガラス温室内で約1か月にわたり病徴を観察した。接種にはそれぞれ3株を供試し、対照として無接種区を設けた。病徴が再現された株は *C. quinoa* へ戻し接種を行うとともにRT-PCR法により病原の存在を確認した。RT-PCRは、RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen) を用いて発病葉からRNAを抽出し、OneStep RT-PCR Kit (Qiagen) により行った。プライマーは、ヌクレオキャプシドタンパク質 (N) 遺伝子を含む約900 bpをS RNAの3'末端から増幅するように、既報のIYSVのS RNAの塩基配列 (Cortes *et al.*, 1998) をもとに設計した相同プライマー (IY-NP-V: 5'-CTTAACCTAACACAAATACTG-3')

とOkuda *et al.* (2001) がトスポウイルスのS RNAの3'末端配列に基づき設計した相補プライマー (3'T12) を用いた。PCRは94°C 1分, 48°C 1分, 72°C 2分を1サイクルとして合計40サイクル行った。

宿主範囲 T2とT3分離株の宿主範囲を調査するため、13科25種の植物に汁液接種し、ガラス温室内で約1ヶ月間病徴を調査した。接種には植物種当たり3~5株を供試した。病徴が不明瞭な場合は、*C. quinoa* への戻し接種またはRT-PCRにより感染を確認した。

2種のアザミウマによる伝搬 伝搬試験にはT2及びSG1分離株を用い、アザミウマはネギアザミウマ (*Thrips tabaci*) とミカンキイロアザミウマ (*Frankliniella occidentalis*) を供試した。T2分離株を汁液接種し、全身感染したトルコギキョウ上葉を各アザミウマの卵とともにプラスチックシャーレに入れ、それを25°C, 16時間照明のインキュベータに保持した。その後、孵化した幼虫が成虫になるまでの間トルコギキョウ発病葉を餌として継続的に摂食させることによりウイルスを獲得吸汁させた。発病葉は3日おきに交換した。羽化成虫を採集し、それを健全なトルコギキョウ3株当たり5頭の割合で放飼して、2週間接種吸汁させた。対照として健全トルコギキョウ葉で飼育した各アザミウマを用いた。トルコギキョウは各区6株を供試した。殺虫剤散布によりアザミウマを除去した後、ガラス温室内で管理し、病徴を観察した。発病株はRT-PCRにより病原の存在を確認した。

また、SG1についてはトルコギキョウ発病株にソラマメで飼育した各アザミウマ成虫を放飼して産卵させ、孵化した幼虫に7日間獲得吸汁させた。発病株からその2齢幼虫を採集し、株当たり5頭ずつ健全なトルコギキョウに放飼し、そのアザミウマが死ぬまで接種吸汁させた。トルコギキョウは25°C, 16時間照明のインキュベータに保持した。対照として健全ソラマメで飼育した各アザミウマを用いた。トルコギキョウは各区4株または5株を供試した。その後、病徴を30日間にわたって観察し、発病した株はRT-PCRによって病原の存在を確認した。

電子顕微鏡観察 T2またはT3分離株の接種により発病したトルコギキョウ上葉を、0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) で磨碎し2%グルタルアルデヒドで固定後、2%リタングステン酸で染色し電子顕微鏡で観察した。

血清学的性質 T2またはT3分離株のIYSV (Agdia), INSV (Agdia) 及びTSWV (日本植物防疫協会) 抗血清に対する反応を、各分離株のトルコギキョウ感染上葉を用いてDAS-ELISA法により検討した。粗汁液の希釈濃度は50倍 (w/v) とし、各抗体の希釈濃度はキットに添付の

プロトコールに従った. 対照として INSV (谷名ほか, 2001) 及び TSWV (Tospo-C) (加藤・花田, 2000) を供試した.

N 遺伝子の塩基配列の解析 RT-PCR の増幅産物を 1% アガロースゲルで電気泳動して, 約 900 bp の特異的増幅断片をゲルから切り出した. それを QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen) で精製後, pGEM-T Easy vector (Promega) または *EcoRV* 処理後 dT を付加した pBluescript II にクローニングした. DNA 塩基配列は Dye Primer Cycle Sequencing Kit (Perkin-Elmer) を用いて決定した. 塩基配列の解析は GENETYX-MAC ソフトウェア (ソフトウェア開発) により行った.

IYSV に対するトルコギキョウ品種の感受性 トルコギキョウ 21 品種の葉に T2 及び T3 分離株を汁液接種した後, 現れてくる病徴をガラス温室内で約 1 ヶ月間にわたり観察した. 接種は 1 品種当たり 3 株, 株当たり 2 葉に行った.

結 果

病徴の再現

単病斑分離により得た T2, T3, SG1 及び SGA 分離株をトルコギキョウに戻し接種したところ, 4 分離株ともに接種 4~7 日後には接種葉にえそ斑点やえそ輪紋が生じた. 全身感染病徴は接種 7~20 日後から発生し, 茎のえそ

条斑や葉のえそ斑点, えそ輪紋及び黄化が観察され, それらは原病徴に類似していた (Fig. 1-B). 病徴が再現された株を *C. quinoa* へ戻し接種を行うと局部感染が観察され, さらに, RT-PCR により発病株に特異的な約 900 bp の DNA 断片が増幅されたことから (Fig. 2), 発病部位に病原が存在することが確認された.

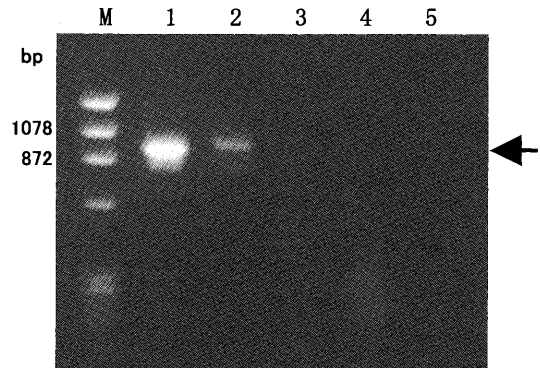


Fig. 2. Detection of IYSV from infected leaves of lisianthus by RT-PCR. Samples of the reaction mixture were subjected to 1% agarose gel electrophoresis. Lane M, DNA size markers (Takara); lane 1, lisianthus infected with T2 isolate; lane 2, lisianthus infected with T3 isolate; lane 3, lisianthus infected with TSWV; lane 4, lisianthus infected with INSV; lane 5, healthy lisianthus. An arrowhead indicates expected size.

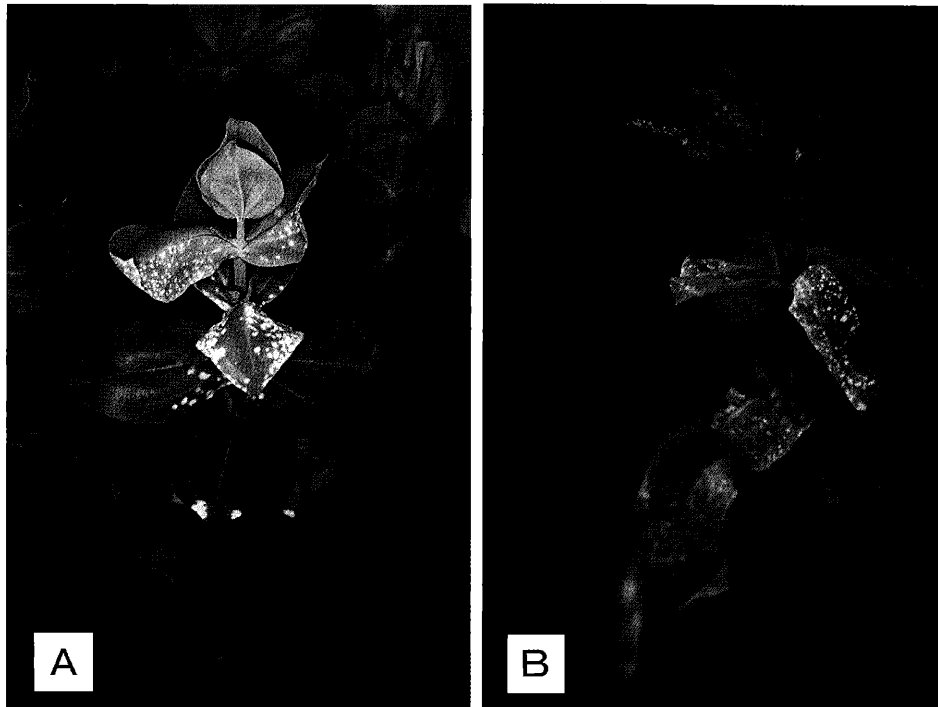


Fig. 1. Necrotic spots of *Iris yellow spot virus* (IYSV) on (A) naturally infected and (B) mechanically inoculated plant of lisianthus.

宿主範囲

T2 及び T3 分離株の宿主範囲は調査した範囲では限られていた. 両分離株とも接種した13科25種の中で全身感染した植物は, ホウレンソウ(アカザ科), *N. benthamiana*, *N. glutinosa* (ナス科) 及びトルコギキョウ (リンドウ科) の3科4種のみであった (Table 1). 両分離株ともにネギ (ユリ科) には感染しなかった. T2 分離株はササゲ及びレタスで接種葉に局部病斑が認められたが, T3 分離株では認められなかった.

アザミウマ類による伝搬

T2 分離株を用いたアザミウマ伝搬試験の結果, ネギアザミウマによってトルコギキョウ 6 株中 2 株で伝搬が認められた (Table 2). また, SG1 分離株についてもネギアザミウマによって 5 株中 4 株で伝搬が確認された. さらに, RT-PCR によりこれらの発病株で病原の存在が確認された. これらの結果から本ウイルスはネギアザミウマにより伝搬されることが判明した. 一方, ミカンキイロアザミウ

マでは両分離株ともに伝搬が確認されなかった.

電子顕微鏡観察

T2 または T3 分離株の接種により発病したトルコギキョウ上葉には, 直径 60~100 nm (平均 85 nm) の被膜を持つ球状粒子が観察された (Fig. 3). この粒子の形態はトスボウイルスで報告されているものとよく類似していた.

血清学的性質

DAS-ELISA 検定において T2 及び T3 分離株ともに, IYSV 抗血清とのみ明瞭な反応が認められ, INSV 及び TSWV 抗血清とは反応しなかった (Table 3). この結果から, 両分離株は IYSV であるか, 血清学的に IYSV に近縁なウイルスであることがわかった.

N 遺伝子の塩基配列の解析

RT-PCR により増幅された約 900 bp の DNA 断片の塩基配列を解析した結果, T2 及び T3 分離株ともに 273 アミノ酸より成る N タンパク質をコードすると考えられる読

Table 1. Host range and symptomatology of test plants mechanically inoculated with one of two virus isolates: T2 and T3 from diseased lisianthus

Plants		Symptoms ^{a)}	
		T2	T3
Amaranthaceae	<i>Gomphrena globosa</i>	NS/— ^{b)}	NS/—
Balsaminaceae	<i>Impatiens sultani</i>	NS/—	NS/—
Chenopodiaceae	<i>Chenopodium quinoa</i>	NS/—	NS/—
	<i>C. amaranticolor</i>	NS/—	NS/—
	<i>Spinacia oleracea</i> (cv. Titan)	NS/M, NS	NS/M, NS
Compositae	<i>Lactuca sativa</i> (cv. Gokuwaseshisuko)	NS/—	—/—
Cruciferae	<i>Brassica campestris</i> : pekinensis group (cv. Seikai)	—/—	—/—
	<i>Brassica oleracea</i> : capitata group	—/—	—/—
	<i>Raphanus sativus</i> var. <i>hortensis</i> (cv. Keitoku)	—/—	—/—
Cucurbitaceae	<i>Cucumis sativus</i> (cv. Shimoshirazujibai)	—/—	—/—
	<i>Cucurbita pepo</i> (cv. Butternuts)	—/—	—/—
Gentianaceae	<i>Eustoma grandiflorum</i>	NS/RSn, NS, Str	NS/RSn, NS, Str
Labiatae	<i>Perilla ocymoides</i>	—/—	—/—
Liliaceae	<i>Allium fistulosum</i> : porrum group (cv. Ishikurahutonegi)	—/—	—/—
Leguminosae	<i>Vicia faba</i>	(N) /—	(N) /—
	<i>Vigna unguiculata</i>	NS/—	—/—
Pedallaceae	<i>Sesamum indicum</i>	NS/—	NS/—
Solanaceae	<i>Datura stramonium</i>	—/—	—/—
	<i>Lycopersicon esculentum</i> (cv. Zuiken)	—/—	—/—
	<i>Nicotiana benthamiana</i>	(CS)/M, N, Y	(CS)/M, N, Y
	<i>N. glutinosa</i>	—/M	—/(M)
	<i>N. rustica</i>	NS/—	(NS)/—
	<i>N. tabacum</i>	—/—	—/—
	<i>Petunia</i> × <i>hybrida</i>	NS/—	NS/—
Umbelliferae	<i>Daucus carota</i> var. <i>sativus</i> (cv. Ogatagosun)	—/—	—/—

a) N, necrosis; RSn, necrotic ringspot; NS, necrotic spot; Str, streak; CS, chlorotic spot; M, mosaic; Y, yellowing; —, no symptom. Parentheses indicate occasional infection.

b) Inoculated/upper leaves.

Table 2. Transmission tests of T2 and SG1 isolates by *Thrips tabaci* and *Frankliniella occidentalis*^{a), b)}

Expt I using T2			Expt II using SG1		
Thrips	Acquisition of the virus	Transmission	Thrips	Acquisition of the virus	Transmission
<i>Thrips tabaci</i>	+	2/6 ^{c)}	<i>Thrips tabaci</i>	+	4/5 ^{c)}
	—	0/6		—	0/5
<i>Frankliniella occidentalis</i>	+	0/6	<i>Frankliniella occidentalis</i>	+	0/4
	—	0/6		—	0/5

a) Five adults of *T. tabaci* or *F. occidentalis* were transferred to three healthy lisianthus plants for Experiment I, and five larvae of each species were moved to a healthy plant for Experiment II.

b) For Experiment I, eggs were placed with infected lisianthus leaves in a petri dish. Larvae after hatching were reared on infected leaves for acquisition access, and subsequent adults were moved to healthy lisianthus. Inoculation access period was 14 days. For Experiment II, adults were moved to infected lisianthus plants to lay eggs and larvae allowed to acquire virus for 7 days. Then 2nd instar larvae were transferred to healthy lisianthus plants for inoculation access and allowed to transmit virus until they died.

c) Number of infected/tested plants.

Table 3. Serological reactions of two virus isolates: T2 and T3 from diseased lisianthus in double-antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay with *Iris yellow spot virus* (IYSV), *Impatiens necrotic spot virus* (INSV) and *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) antibodies

Antibody ^{a)}	Antigen ^{b)}				
	T2	T3	INSV	TSWV	Healthy
IYSV	1.357 ^{c)}	1.192	0.014	0.009	0.013
INSV	0.010	0.013	1.383	0.012	0.014
TSWV	0.005	0.010	0.011	1.484	0.011

a) Antibodies against IYSV and INSV were purchased from Agdia and an antibody against TSWV from Japan Plant Protection Association. Each antibody was used according to the Kit protocol.

b) A 1:50 dilution of sap prepared from each sample was tested.

c) Absorbance value at 405 nm.

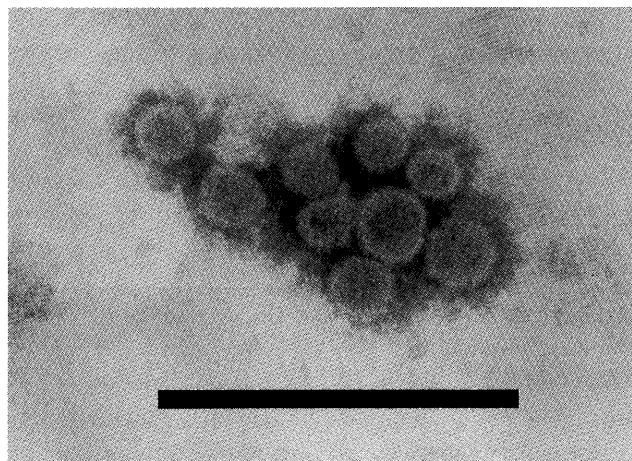


Fig. 3. Electron microscopy of infected leaves of lisianthus. Quasi-spherical particles with envelopes were abundant in a dip preparation. The average diameter of particles was 85 nm. Bar represents 500 nm.

み梓がウイルス相補鎖に検出された。両分離株のN遺伝子領域の塩基配列及び推定アミノ酸配列を既報のIYSVと比較した結果、T2分離株はオランダで発生したIYSV

(Cortes *et al.*, 1998) と塩基配列で97.1%, アミノ酸配列で97.8%の相同性であった (Table 4)。一方、T3分離株はブラジルで発生したIYSV (Pozzer *et al.*, 1999) と塩基配列で97.2%, アミノ酸配列で97.4%の相同性であった。T2とT3分離株間の相同性は塩基配列及びアミノ酸配列ともに約90%であった。

また、佐賀県のSG1及びSGA分離株についても同様の解析を行った結果、SG1分離株はオランダで発生したIYSV (Cortes *et al.*, 1998) と塩基配列で96.5%, アミノ酸配列で97.1%の相同性であった (Table 4)。一方、SGA分離株はブラジルで発生したIYSV (Pozzer *et al.*, 1999) と塩基配列で97.6%, アミノ酸配列で97.8%の相同性であった。SG1分離株はT2分離株と、また、SGA分離株はT3分離株とアミノ酸配列の相同性が99%以上ときわめて高く、非常に近縁であることが判明した。

IYSVに対するトルコギキョウ品種の感受性

T2及びT3分離株を汁液接種したトルコギキョウ21品種のすべてで、接種葉にはえそ斑点やえそ輪紋等の症状が発生したが、全身感染については品種間差が認められた

Table 4. Comparison of nucleotide (above diagonal) and derived amino acid (below diagonal) sequences of nucleocapsid proteins of the viruses isolated from diseased lisianthus with those of two isolates of *Iris yellow spot virus* (IYSV)

	T2	T3	SG1	SGA	IYSV _{NL}	IYSV _{BR}
T2	—	88.7	98.8	88.8	97.1	89.4
T3	91.2	—	88.2	99.6	88.8	97.2
SG1	99.3	90.5	—	88.3	96.5	88.9
SGA	91.6	99.6	90.8	—	88.9	97.6
IYSV _{NL}	97.8	90.1	97.1	90.5	—	89.7
IYSV _{BR}	91.6	97.4	90.8	97.8	90.5	—

IYSV_{NL}, IYSV from the Netherlands (accession no. AF001387); IYSV_{BR}, IYSV from Brazil (accession no. AF067070).

Table 5. Symptomatology of lisianthus cultivars mechanically inoculated with two virus isolates: T2 and T3 from diseased lisianthus

Cultivar	Symptoms ^{a)}		Date of inoculation
	T2	T3	
Cute Pink	NS/NS, Str, CB ^{b)}	NS/—	26 Aug
Cute White	NS/NS	NS/—	26 Aug
Cute Blue Picotee	NS/NS, Str, CB	NS/—	26 Aug
Cute Pink Picotee	NS/NS, Str	NS/—	26 Aug
Lination Blue	NS/NS, Str, CB	NS/—	26 Aug
Lination Pink	NS/NS, Str, CB	NS/—	26 Aug
Tukushinokaori	NS/—	NS/—	26 Aug
Tukushinoyuki	NS/—	CS/—	26 Aug
King of Snow	NS/N, NS, Str	NS/N, NS, Str	13 Jan
Azumanoshirabe	NS/(NS)	NS/N, NS, Str	13 Jan
Azumanonami	NS/(NS)	NS/N, NS	13 Jan
Ayanonami	NS/NS, N	NS/N	13 Jan
Ayanonami	NS, RSn/NS, Str	NS, RSn/NS, N, CB	6 Sept
Ayanomurasaki	NS, RSn/N, Str, CB	RSn/NS	6 Sept
Ayanoyosooi	RSn/RSn, N, NS, Str	NS/NS, RSn, Str, CB	6 Sept
Ayanoharu	NS, RSn/NS, N, Str	NS, RSn/NS	6 Sept
Hamanoyosooi	RSn/RSn, NS	RSn/NS, RSn	6 Sept
Hamanoyuki	NS, RSn/RSn, NS, Str	RSn/NS, RSn, Str	6 Sept
Azumanokaori	NS, RSn/RSn, NS, Str	NS, RSn/—	6 Sept
Azumanoshirabe2gou	NS, RSn/RSn, NS, Str	RSn/NS, RSn, Str, CB	6 Sept
Azumanonagi2gou	NS, RSn/RSn, NS, Str	RSn/NS, RSn, Str, CB	6 Sept
Asukanoibuki	NS, RSn/RSn, NS	RSn/NS, N, Str	6 Sept

a) N, necrosis; RSn, necrotic ringspot; NS, necrotic spot; Str, streak; CS, chlorotic spot; CB, petal color-breaking; —, no symptom. Parentheses indicate occasional infection.

b) Inoculated/upper leaves.

(Table 5). また、T2 と T3 分離株を比較すると T2 分離株の方がより多くの品種に全身感染した。両分離株のどちらが感染しても「つくしの薫」と「つくしの雪」の2品種は全身感染病徴を示さなかったことから、この2品種は IYSV に対して抵抗性を持つ可能性が示唆された。

考 察

静岡県及び佐賀県で発生したトルコギキョウにえそ斑点

や輪紋を生じる病害は、その病徴などから既報の病害とは異なるものと考えられた。汁液伝染性であることからウイルスによる病害であることが判明した。両県の発病株から各々2つのウイルス分離株 (T2 と T3, SG1 と SGA) を単離して、トルコギキョウに原株と同様な病徴を生じることを確認後、それらの特性を検討して既報のウイルスと比較した。

これらの分離株は汁液伝染可能で、ネギアザミウマによ

り伝搬され、ミカンキイロアザミウマによっては伝搬されなかった。この伝染方法は IYSV の伝染方法 (Cortes *et al.*, 1998) と同一である。また、これらの分離株の宿主範囲は TSWV と比較して狭く、既報の IYSV のもの (Cortes *et al.*, 1998; Kritzman *et al.*, 1999; Pozzer *et al.*, 1999) に類似していた。さらに、電子顕微鏡で観察されたウイルス粒子の特徴は IYSV が属するトスポウイルス属のものと一致した。また、本分離株は DAS-ELISA で IYSV 抗血清とのみ強く反応し、INSV 及び TSWV 抗血清とは反応が認められなかった。これらの結果から、本ウイルスは IYSV かそれに極めて近縁なウイルスであると考えられた。このことをさらに確認するために、ウイルスの N 遺伝子の塩基配列を決定して、既報のトスポウイルスと比較した。その結果、T2 と SG1 分離株はオランダで発生した IYSV (Cortes *et al.*, 1998) と、また T3 と SGA 分離株はブラジルで発生した IYSV (Pozzer *et al.*, 1999) とアミノ酸配列の相同性がそれぞれ 97% 以上であることが判明した。

以上の結果から、トルコギキョウにえそ輪紋やえそ斑点等の症状を起こす病原ウイルスは IYSV と同定された。トルコギキョウでの IYSV の発生報告はわが国で初めてであるので、本病をトルコギキョウえそ輪紋病と命名することを提案したい。わが国では IYSV は千葉県のアルストロメリアから検出されているが、戻し接種には成功していない (Okuda *et al.*, 2001)。従って、わが国で IYSV による病害を確認したのは本報が最初である。そこで、IYSV の和名をアイリスイエロースポットウイルスと呼ぶこととした。

本研究により、N 遺伝子の塩基配列の相同性が約 90% である 2 つの異なる系統の IYSV が静岡及び佐賀の両県で発生していることが明らかとなった。Pozzer *et al.* (1999) は他のトスポウイルスの系統間における N 遺伝子のアミノ酸配列の相同性と比較して、ブラジルとオランダで発生した IYSV の 2 系統間の相同性が低いことから、本ウイルスが最近になって一方の国から他方へ広がったとは考えられないと指摘している。また、IYSV の発生が確認されている外国において、同一国内での 2 系統の発生は報告されていない。直接的な証拠はないが、これらのことから、日本で発生した 2 系統はそれぞれ別の国や地域から我が国に侵入したと考えられる。一方、地理的に隔たった静岡県と佐賀県で 2 系統がトルコギキョウではほぼ同時に発生したことから、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に流通することにより広がったと推測される。このため、本ウイルスはすでに日本国

内で広く発生している可能性が考えられるので、本ウイルスによる被害調査を全国規模で、今後実施する必要がある。IYSV は海外では、トルコギキョウ以外にもタマネギでの発生が認められており、本研究により全身感染することが明らかとなったハウレンソウも含め、今後、本ウイルスによる他作物での被害発生が懸念される。

トルコギキョウ 21 品種への IYSV 2 分離株の汁液接種試験により、IYSV のトルコギキョウへの病原性は系統により多少異なることと、IYSV に対するトルコギキョウの感受性には品種間差があることが明らかとなった。供試品種の中には両系統ともに全身感染病徴が現れず、明らかに抵抗性であると考えられる品種が存在した。実際のは場での発病には、汁液接種で明らかとなった抵抗性だけでなく、品種によるアザミウマの選好性や増殖の差異も関与していると考えられる。今後はこれらを加味した IYSV に対する感受性が低く、かつ商品価値の高い品種の育成が望まれる。

わが国では 1990 年代半ば以降、多くの野菜や花き類に IYSV と同属の TSWV と INSV が多発し全国的に問題となっているが、これらは侵入害虫であるミカンキイロアザミウマの発生拡大に伴うものであった (加藤・片山, 1998)。海外の研究では IYSV はミカンキイロアザミウマによって媒介されず、ネギアザミウマによってのみ媒介されることが報告されている (Cortes *et al.*, 1998; Kritzman *et al.*, 2001; Pozzer *et al.*, 1999)。本研究によりわが国で発生した IYSV も同様にネギアザミウマによって伝搬されることが確認された。トルコギキョウでの IYSV の現地での発生状況や本研究での伝搬試験の結果から、ネギアザミウマによる IYSV の伝搬効率は低いとは思えない。したがって、わが国でのトスポウイルスの流行を防ぐために、今後はミカンキイロアザミウマに加え、ネギアザミウマの発生動向にも注意をする必要があると考えられる。

摘 要

1998 年 1 月及び 1999 年 6 月に静岡県で、また 2001 年には佐賀県で施設栽培のトルコギキョウに、葉にえそやえそ輪紋等の症状が発生した。これら発病株からウイルスを分離し、T2, T3, SGA 及び SG1 分離株を得た。4 分離株の汁液接種によりトルコギキョウで原病徴が再現された。T2 及び T3 分離株の宿主範囲は狭く、13 科 25 種の植物のうちで、3 科 4 種のみにより全身感染した。T2 及び SG1 分離株はミカンキイロアザミウマでは媒介されず、ネギアザミウマのみにより媒介された。発病株を電子顕微鏡で観察した結果、平均粒子径 85 nm の球状粒子が認められた。

DAS-ELISA 法で T2 及び T3 分離株ともに IYSV 抗体と強く反応したが、TSWV 及び INSV 抗体には反応しなかった。4 分離株のヌクレオキャプシドタンパク質のアミノ酸配列を解析した結果、T2 及び SG1 分離株はオランダで発生した IYSV と相同性がそれぞれ 97.8%, 97.1% であり、T3 及び SGA 分離株はブラジルで発生した IYSV とのそれが 97.4%, 97.8% であった。以上から、4 分離株を IYSV と同定した。本病害をえそ輪紋病と命名する。IYSV のトルコギキョウへの病原性は系統により多少異なることと、IYSV に対するトルコギキョウの感受性には品種間差があることが明らかとなった。

謝 辞

本試験を行うにあたり貴重な INSV 分離株を分譲いただいた岡山県農業総合センター農業試験場の谷名光治氏および井上幸次氏に深謝申し上げる。

引用文献

- Cortes, I., Livieratos, I.C., Derks, A., Peters, D. and Kormelink, R. (1998). Molecular and serological characterization of Iris yellow spot virus, a new and distinct tospovirus species. *Phytopathology* 88: 1276-1282.
- 土井 誠・加藤公彦 (2002). *Iris yellow spot virus* (IYSV) によるトルコギキョウえそ輪紋病 (新称) およびインパチエンスネクロティックスポットウイルス (INSV) によるトルコギキョウえそ斑紋病 (新称). 日植病報 68: 231 (講要).
- 藤 晋一・山本英樹 (2000). 秋田県における *Impatiens necrotic spot virus* (INSV) の発生. 北日本病虫研報 51: 122-125.
- 花田 薫・岩木満朗 (1985). トルコギキョウえそウイルスの諸性質について. 日植病報 52: 153 (講要).
- 井上幸次・粕山新二・畑本 求 (1995). トルコギキョウから分離されたカボチャモザイクウイルス (WMV2) について. 日植病報 61: 274 (講要).
- 岩木満朗・Maria, E.R.A.・花田 薫・小野木静夫・善林六朗 (1985). トルコギキョウに発生した 3 種ウイルス. 日植病報 51: 355 (講要).
- 加藤公彦・片山晴喜 (1998). ミカンキイロアザミウマが媒介するウイルス病. 植物防疫 52: 180-182.
- 加藤公彦・花田 薫 (2000). 日本に発生したトマト黄化えそウイルス (TSWV) によるキク (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) えそ病. 九病虫研報 46: 61-65.
- Kritzman, A., Beckelman, H., Alexandrov, S., Cohen, J. and Lampel, M. (2000). *Lisianthus* leaf necrosis: a new disease of *lisianthus* caused by iris yellow spot virus. *Plant Dis.* 84: 1185-1189.
- Kritzman, A., Lampel, M., Raccach, B. and Gera, A. (2001). Distribution and transmission of Iris yellow spot virus. *Plant Dis.* 85: 838-842.
- 黒田智久・勝部和則・鈴木一実 (1999). トマト黄化えそウイルス (TSWV) によるトルコギキョウ (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.) 黄化えそ病. 日植病報 65: 490-493.
- 松尾和敏・太田孝彦 (1992). キュウリモザイクウイルスによるトルコギキョウえそモザイク病 (新称). 日植病報 58: 113 (講要).
- Okuda, M. and Hanada, K. (2001). PT-PCR for detecting five distinct Tospovirus species using degenerate primers and dsRNA template. *J. Virol. Methods* 96: 149-156.
- Pozzer, L., Bezerra, I.C., Kormelink, R., Prins, M., Peters, D., Resende, R. de O. and de Avilla, A.C. (1999). Characterization of a tospovirus isolate of Iris yellow spot virus associated with a disease in onion fields in Brazil. *Plant Dis.* 83: 345-350.
- 竹内繁治・古谷眞二 (1993). トルコギキョウ (*Eustoma grandiflorum*) におけるインゲンマメ黄斑モザイクウイルスの発生. 高知農技セ研報 2: 1-6.
- 谷名光治・井上幸次・伊達寛敬・奥田 充・花田 薫・那須英夫・粕山新二 (2001). インパチエンスネクロティックスポットウイルスによるシネラリアえそ斑紋病. 日植病報 67: 42-45.
- 内川敬介・上田重文・大貫正俊・花田 薫 (2002). Tomato yellow leaf curl virus によるトルコギキョウ葉巻病 (新称) の発生. 日植病報 68: 50 (講要).
- 山下一夫・杉山 悟 (1998). トルコギキョウから分離されたカブモザイクウイルス (TuMV) およびトマトモザイクウイルス (ToMV) について. 日植病報 64: 605-606 (講要).
- 山下一夫・福井要子 (2002). トルコギキョウから分離されたトバモウイルスは *Youcai mosaic virus* (YoMV) である. 日植病報 68: 235 (講要).