

特集：最近問題になっている虫媒ウイルス病

キュウリ黄化病の発生と診断法

愛媛県農業試験場 **奈 尾 雅 浩**

はじめに

キュウリ黄化病は、国内では1977年に埼玉、群馬の両県に位置する利根川流域の越冬から半促成栽培（施設栽培）のキュウリで発生と被害が初めて問題となった（吉野ら, 1979）。その後、関東地方では栃木、千葉、神奈川、茨城で発生が確認され、1982年までに東北地方の福島、中部地方の長野、岐阜の各県まで発生地域が拡大した（茨城県農林水産部, 1979；遠藤・長谷川, 1981；川越・岡田, 1984）。その後も発生は広がり、1980年には四国地方の愛媛県でも確認された。愛媛県病害虫発生予察特殊報には、1980年2月に県内の1ハウスで発生を確認したことが記載されている（愛媛県, 1980）。なお、最近では九州地方まで発生が拡大し、熊本県の発生確認も報告されている（花田, 2005）。

本病の病名はYAMASHITA et al. (1979)により黄化病と命名され、病原は新発生ウイルスのキュウリ黄化ウイルス (Cucumber yellows virus: CuYV) と同定された。これより先にDUFFUS (1965)は、カリフォルニア州のSalinas Valleyで未報告の黄化症状をテンサイ、ホウレンソウ、キュウリ等に認め、オンシツコナジラミで媒介されるウイルス病として病原ウイルスを *Beet pseudoyellows virus*: BPYV と同定した。当初、吉野ら (1979)は宿主範囲の違いからCuYVとBPYVは別種のウイルスと考えていた。しかし、その後、善林ら (1984)、WISLER et al. (1998)が指摘しているように、CuYVはBPYVと同種またはこの1系統であると判断されている。なお、国際ウイルス分類委員会の8次報告では、Cucumber yellows virusは、*Beet pseudoyellows virus*のシノニムとなっている (FAUQUET et al., 2005)。

このBPYVは海外でも広く発生し、オランダのレタス、エンダイブ (Van DORST et al., 1980)、イギリスのレタス (COFFIN and COUTTS, 1990)、ニュージーランドのキュウリ (CLOVER et al., 2002)等多数の発生報告がある。また、最近では新しい感染植物も確認されておりイチゴ

(TZANETAKIS et al., 2003)、カボチャ (*Cucurbita maxima*, *C. pepo*) (WINTERMANTEL, 2004)、セイヨウヤブイチゴ (ブラックベリー) (TZANETAKIS and MARTIN, 2004)等の発生が報告されている。

以上のように初発生から四半世紀以上経過した病害であるが、近年でも国内外で本病の被害が継続していると判断される。

I 夏秋キュウリにおける黄化病の発生と病徴

愛媛県内のキュウリ黄化病の発生は初確認以降、最近まで沈静化していた。しかし、2002年より夏秋キュウリでの発病が突然顕在化した。従来、本病は施設の厳寒期を中心に多発生すると考えられていた (川越・岡田, 1984)ため、夏秋栽培での目立った被害は報告されていなかった。しかし県内の発生情報は1地区だけではなく各地から寄せられていたため、2003年の6月から8月に県内の発生状況を調べたところ、1市5町 (当時の市町村名)の広範囲な発生を確認した。

夏秋栽培で見られた本病の病徴は、葉脈間の退緑症状やその後の黄化症状が目立った (口絵写真-1)。病勢が進展しても枯死する株はなかったが、黄化葉では葉縁が巻き込み、粗剛となった。

黄化病の病徴は、健全葉の緑色が黄変していくものである。そこで2003年に、本病の病徴を客観的にかつ早期の把握が可能かどうかを、色彩色差計 (M社製、CR-200b)を用いて検討した。採集葉で最も黄化した箇所を、 $L^*a^*b^*$ 表色系で測定した。その結果、黄化の程度が進むにつれて L^* 値はプラスになり黒から白の方向へ色差が移行し、 b^* 値もプラスになり青から黄の方向へ色差が移行した。しかし、 a^* 値は予想に反してマイナスとなり、赤から緑方向へ色差が移行した。なお、早期の発病把握では、定植直後の一時的な肥切れ状態を示す葉と本病の黄化葉の $L^*a^*b^*$ 値が同様の数値を示し識別できなかったり、外観健全葉と葉脈間の退緑斑の $L^*a^*b^*$ 値に有意差が見られないこともあった。このことから、本病の色調を機械的に把握することは困難であると判断されたことから、本病の病徴把握は肉眼観察に頼るしかないと結論付けた。

Occurrence and Diagnosis of *Beet pseudoyellows virus* (Cucumber yellows virus) in Cucumber. By Masahiro NAO

(キーワード：キュウリ黄化病、夏秋キュウリ、遺伝子診断、オンシツコナジラミ伝搬)

本病は病勢が進展しても果実奇形を生じない。発病圃場の圃主に聞き取りしたところ、発病株では側枝の伸長が悪くなり減収するとのことであった。このような特徴は、施設栽培の病徴を中心に述べた吉野ら（1979）、善林ら（1984）の報告と一致する。

II 夏秋キュウリにおける病徴発現

現地の発病状況を観察すると、本病の病徴は定植後30日ごろから見られることが多かった。また、定植直後の保毒オンシツコナジラミの大量寄生が、その後の病勢進展における重要な要因であることも推察された。そこで、県内の主要キュウリ品種を対象にして保毒オンシツコナジラミをポット苗に人工接種し、病徴の経時変化を明らかにした。人工気象室内で保毒オンシツコナジラミを飼育し、この中でキュウリ品種の‘夏すずみ’、‘Vロード’、‘T-191’、‘ステータス夏III’のポット苗を5日間暴露した。1株当たり30～40頭の寄生を確認した後、寄生虫を殺虫して定植した。その結果、接種20日前後に口絵写真に示した黄化ウイルスが感染したと見られる部分黄化症状（口絵写真2-A）が下位葉に発生した。ただし、本葉は栽培管理による摘葉や老化に伴う枯死で退緑斑を生じるなどの典型的な病徴まで移行しなかった。次に、淡黄色症状（口絵写真2-B）が接種約25日後に見られた。この症状が現地で最初に現れる病徴である。退緑斑症状（口絵写真2-C）、黄緑色症状（口絵写真2-D）は接種後30～60日に継続して発生した。最終的な病徴となる黄化粗剛症状（口絵写真2-E）は接種55日以降に見られた。今回の供試品種における病徴発現時期に大差はなかった。

III 夏秋キュウリにおける黄化病の病勢進展

2003年に、多発地区である大洲市（旧 喜多郡肱川町）に調査圃場を設定し、発病推移を調査した。病徴は吉野ら（1979）が示した葉脈間の退緑色、不整形の小斑点、黄緑色から黄色への変化、葉全体の粗剛、葉縁の巻き込み症状を指標とした。6月から8月にかけて約7日間隔で調査した結果、図-1に示すように圃場Aでは最終の発病株率が71.7%まで増加するなど、定植日の早い圃場ほど病勢が進展した。この圃場Aでは7月9日～7月24日調査で、1週間に約100株ずつ発病株が増加した（定植株数：611株）。その後に定植されたハウス抑制栽培ではここまで病勢が進展しなかったことから、夏秋キュウリで本病が発生した場合、環境条件にもよるが急増する印象を受けた。夏秋栽培では、5月定植の方が6月定植よりも作期が長くなる。本病は収穫末期まで病勢が進展するため、定植時期の早い圃場で被害が増大する危険性が示唆された。

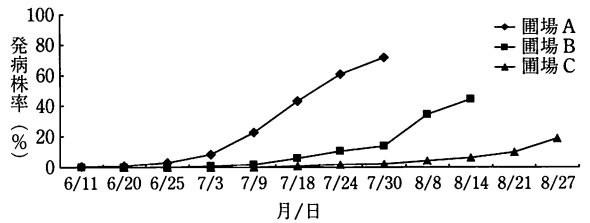


図-1 キュウリ黄化病の発生と定植後日数の関係（2003）
圃場場所：愛媛県大洲市、品種：ステータス夏III＋ニュースーパー雲竜（露地夏秋栽培）、定植日：圃場A、5月8日、圃場B、6月8日、圃場C、6月16日。

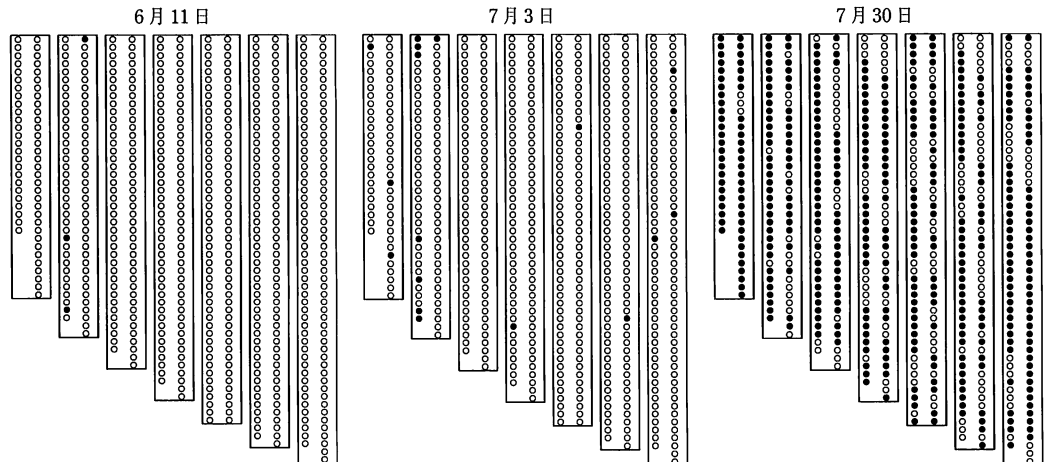


図-2 圃場Aにおけるキュウリ黄化病発生株の時期別分布（2003）

調査は6月11日から7月30日まで8回実施。●：発生株、○：外観健全株、畦は2条植え。

施設栽培では開口部となる側窓，出入口，天窓からオンシツコナジラミが侵入し，その付近にある栽植株から発病するとされている（吉野ら，1979；善林ら，1984）。このことから，圃場内の発病分布を時期別に調査した。その結果，圃場 A では 7 月 3 日の調査で周辺畦から発病する傾向を示したが，その後周辺畦の発病株が増加す

る前に内側の畦でも発病が増加した（図-2）。また，圃場 B, C では周辺畦から発病することはなく，圃場全体で同時に発病株が増加した（図-3, 4）。

以上の結果と細田・那波（1980）が示したオンシツコナジラミの飛翔特性を考慮すると，露地栽培では施設栽培のように周辺株から発病することはなく，圃場内のい

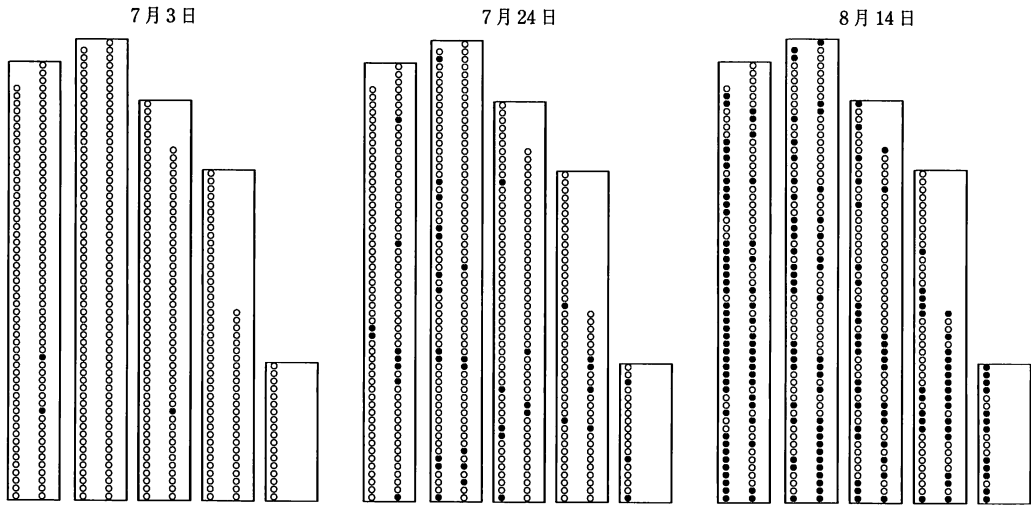


図-3 圃場 B におけるキュウリ黄化病発生株の時期別分布 (2003)

調査は 6 月 11 日から 8 月 14 日まで 10 回実施。●：発生株，○：外観健全株，畦は 2 条植え。

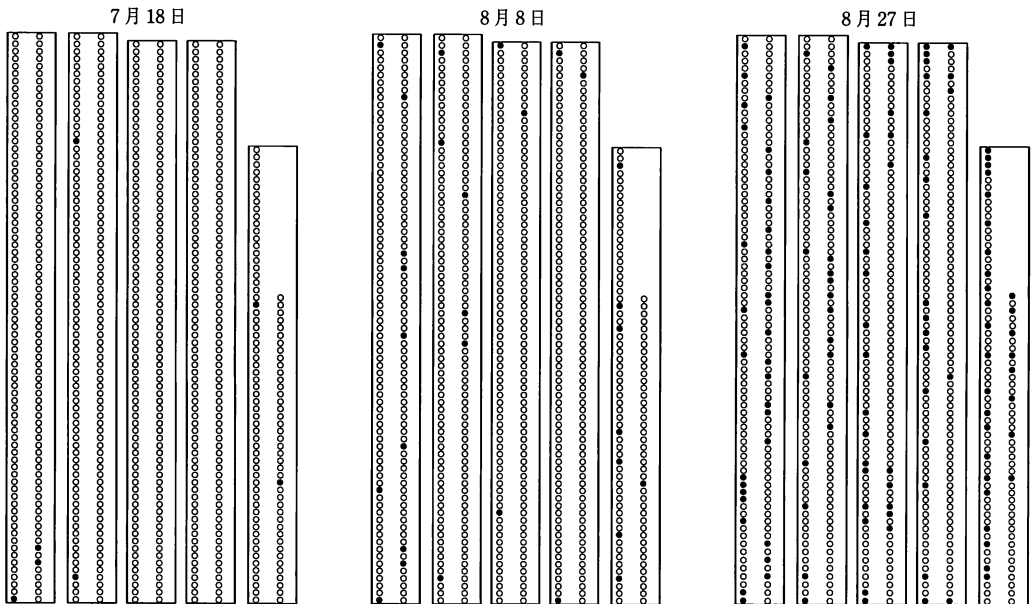


図-4 圃場 C におけるキュウリ黄化病発生株の時期別分布 (2003)

調査は 6 月 20 日から 8 月 27 日まで 11 回実施。●：発生株，○：外観健全株，畦は 2 条植え。

ずれの箇所からでも発病するものと判断した。

IV 黄化ウイルス診断法

Liu and DUFFUS (1990) は、BPYV の抗血清を作成し間接 ELISA による検出を可能にしたことを報告している。また、この抗血清の分譲を受け COFFIN and COUTTS (1990) がイギリスのレタスにおける BPYV 感染の有無を間接 ELISA で検定している。しかし、国内では BPYV (CuYV) の抗血清は作成されていないため、本ウイルスの診断では RT-PCR による遺伝子診断が試みられている (植草ら, 2002)。

2003 年から 04 年に現地のキュウリサンプルの 1,512 個体について、RT-PCR によりウイルス検出を試みた。

同時に、間接 ELISA によって県内で発生するキュウリモザイク病の病原ウイルスである CMV, ZYMV, WMV2, PRSV-W (抗血清は近畿中国四国農業研究センターより分譲), 黄化えそ病の MYSV (抗血清は高知県農業技術センターより分譲) を検定し、感染ウイルス種を明らかにした。表-1, 2 にその検定結果の一部を示した。圃場 B, C (各 6 月定植) では 8 月中旬以降、病徴発現にかかわらず黄化ウイルスが検出されなくなった。この現象はその他の現地調査でも見られており、収穫後期の株から採集した発病葉や黄化が進んだ葉では、黄化病の病徴を示すにもかかわらず黄化ウイルスが検出されることが多かった。黄化病の病徴は成熟葉に発現し、展開直後葉には発現しない (善林ら, 1984) ため、

表-1 キュウリ採集葉における黄化病の病徴確認 (2003)

調査株 番号	圃場 A					圃場 B					圃場 C					
	6/18	7/3	7/18	7/30	8/8	6/18	7/3	7/18	7/30	8/14	6/18	7/3	7/18	7/30	8/14	8/27
1	—	—	◎	○	◎	—	—	○	○	○	—	—	—	—	—	—
2	—	—	◎	○	○	—	—	—	—	○	—	—	—	—	—	—
3	—	◎	○	○	◎	—	—	○	○	◎	—	—	—	—	—	—
4	—	○	○	○	○	—	—	—	—	○	—	—	—	—	—	—
5	—	○	◎	○	◎	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	—	—	○	○	◎	—	—	—	—	◎	—	—	—	—	—	—
7	—	○	○	○	○	—	—	—	○	○	—	—	—	—	—	○
8	—	—	○	○	◎	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
9	—	—	—	○	○	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10	—	○	○	○	○	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	○
11	—	—	◎	○	○	—	—	—	—	○	—	—	—	—	—	○
12	—	—	◎	○	○	—	—	—	—	—	—	—	—	—	○	◎
13	—	—	◎	○	◎	—	—	—	—	○	—	—	—	—	—	○
14	—	○	○	○	○	—	—	—	○	◎	—	—	—	—	—	—
15	—	○	◎	○	○	—	?	?	○	○	—	—	—	—	—	—
16	—	—	○	○	○	—	?	—	—	○	—	—	—	—	—	—
17	—	—	○	○	○	—	—	—	—	?	—	—	—	—	—	—
18	—	○	—	○	?	—	—	—	—	○	—	—	—	—	—	—
19	—	—	—	◎	?	—	—	—	—	○	—	—	—	—	—	—
20	—	—	—	—	?	—	—	—	○	○	—	—	—	—	—	—
21	—	—	—	—	○	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	○
22	—	—	◎	○	?	—	—	—	—	○	—	—	—	—	—	—
23	—	—	—	◎	?	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	○
24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	○	—	—	—	—	—	○
25	—	—	—	—	—	—	—	—	○	○	—	—	—	—	—	—
26	—	—	—	—	?	—	—	—	—	○	—	—	—	—	—	—
27	—	—	—	—	?	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	○
28	—	—	—	—	?	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
29	—	—	○	○	◎	—	—	—	—	○	—	—	—	—	—	◎
30	—	—	—	—	—	—	—	○	○	○	—	—	—	—	—	—

○：退緑斑症状，◎：黄化・粗剛葉，これらはキュウリ黄化病の典型的病徴。?：その他のウイルス病の病徴または黄化病と断定できない症状。—：外観健全葉。圃場場所：愛媛県大洲市。定植日：圃場 A, 5 月 8 日，圃場 B, 6 月 8 日，圃場 C, 6 月 16 日。

表-2 キュウリ採集葉における黄化ウイルスおよび他のウイルスの検出 (2003)

調査株 番号	圃場 A					圃場 B					圃場 C						
	6/18	7/3	7/18	7/30	8/8	6/18	7/3	7/18	7/30	8/14	6/18	7/3	7/18	7/30	8/14	8/27	
1	—	—	●	●	●	—	—	●	—	—	—	—	—	—	—	—	
2	—	—	●	●	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
3	—	●	●	●	●	—	—	●	●	—	—	—	—	—	—	—	
4	—	●	●	●	—	—	—	—	—	M	—	—	—	—	—	—	
5	—	●	●	●	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
6	—	—	●	●	●	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
7	—	●	●	●	—	—	—	—	●	—	—	—	—	—	—	—	
8	—	—	—	●	●M	—	—	—	—	C, M	—	—	—	—	—	—	
9	—	—	—	●	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
10	—	●	●	●	●	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
11	—	—	●	●	●	—	—	—	—	—	—	—	●	—	—	—	
12	—	—	●	●	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
13	—	—	●	●	●	—	—	—	—	M	—	—	—	—	—	—	
14	—	●	●	●	●	—	—	—	●	—	—	—	—	—	—	—	
15	—	●	●	●	●	—	●	●	●	—	—	—	—	—	—	—	
16	—	—	●	●	—	—	●	—	●	M	—	—	—	—	—	—	
17	—	—	●	●	●	—	—	—	●	M	—	—	—	—	—	—	
18	—	●	—	●	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
19	—	—	—	●	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
20	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
21	—	—	—	—	●	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
22	—	—	●	●	—	—	—	—	●	—	—	—	—	—	—	—	
23	—	—	—	●	●M	—	—	—	●	—	—	—	—	—	—	—	
24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
25	—	—	—	—	—	—	—	—	●	—	—	—	—	—	—	—	
26	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
27	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
28	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
29	—	—	●	●	●	—	—	—	●	—	—	—	—	—	—	—	
30	—	—	—	—	—	—	—	—	●	—	—	—	—	—	—	—	

キュウリ黄化ウイルスは、RT-PCR法、他のウイルスのCMV、ZYMV、WMV2、PRSV-W、MYSVは間接ELISAで感染の有無を判別。●：黄化ウイルスのCPを検出。M：MYSVを検出。C：CMVを検出。—：ウイルス未検出。圃場場所：愛媛県大洲市。定植日：圃場A、5月8日、圃場B、6月8日、圃場C、6月16日。

検定には、はっきりした発病葉を供試しがちである。しかし、できるだけ新しい病徴を示す葉、あるいは発病葉よりも上位葉での黄化ウイルスの検出率が高いため、この葉位を供試すると診断精度が向上すると思われる。

現在、我々が行っている黄化ウイルスの検定では、近畿中国四国農業研究センターの野見山孝司氏が設計したCP遺伝子の759 bpを増幅するFWプライマー、CUYVCP-F (ATGGGAGATAATGATGATGGCAAGA), RVプライマー、CUYVCP-R (TCAGTTTCCATAA GAAGCCAATTGG) を使用している。以下にプロトコールを示すと、RNAはEppendorfチューブのふたで打ち抜いた約0.05 g量の葉からAGPC法 (Chomczynski and Sacchi, 1987) により抽出している。RT-PCR反応

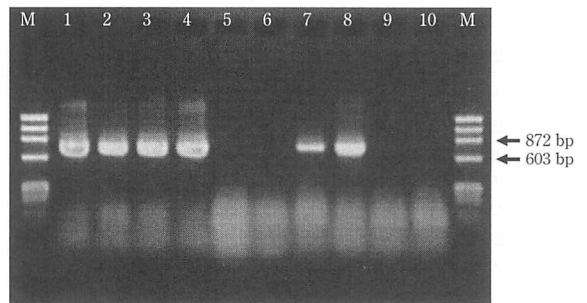


図-5 RT-PCRによるキュウリ黄化ウイルスの検出
 キュウリ黄化ウイルスのCP遺伝子の増幅 (759 bp)。
 レーン1～5：葉脈間に退緑斑を生じた発病葉。レ
 ーン6～10：黄化まで進んだ発病葉。M：サイズマ
 ーカー、Φ X174/Hae III digest。

はT社製キット (One Step RNA PCR kit (AMV)) を用い、10 μ l ボリュームで反応させている。プライマーは20 pmol/ μ l に調整したFW, RV プライマーを1チューブにそれぞれ0.2 μ l 添加している。温度設定は、逆転写反応を50 $^{\circ}$ C、30分とし、PCRに移行する前に94 $^{\circ}$ C、2分で逆転写酵素を不活性化する。続くPCR反応では94 $^{\circ}$ C、0.5分、55 $^{\circ}$ C、0.5分、72 $^{\circ}$ C、1.0分の40サイクル、さらに72 $^{\circ}$ C、10分で最終伸長させている。テンプレートは、RNA抽出原液 (50 μ l に溶解) を2 μ l 量添加している。PCR装置はB社製のiCycler (170-8720JA) を用い、アガロースゲル (濃度: 2.0%) で100 V, 30分間泳動した検定結果を図-5に示した。この検定でも黄化が進んだ葉からは黄化ウイルスの検出率が低くなることを示している。

おわりに

Wisler et al. (1998) はウリ科に発生するコナジラミ伝搬性ウイルスとして、BPYVの他に主にシルバーリーフコナジラミで媒介されるCYSDV (*Cucurbit yellow stunting disorder virus*) と、主にタバココナジラミで媒介されるLIYV (*Lettuce infectious yellows virus*) を記載している。CYSDVの宿主範囲はBPYVと異なりウリ科植物に限定されるが、病徴はBPYVと識別できないとされている。スペインでは1970年代にはBPYVが発生していたが、その後、CYSDVに置き換わった (CÉLIX et al., 1996)。CYSDVは国内未発生のウイルス病であるが、今後の発生を危惧する声もある。

最近、BPYVと同属の*Crinivirus*に属する*Tomato infectious chlorosis virus*が国内のトマトで新発生したことが報告されている (HARTONO et al., 2003)。このことか

らキュウリにおいてもコナジラミ伝染性の新しいウイルス病が突発する危険性を認識させられ、ウイルス検定体制の拡充が望まれる。

本稿は、愛媛県農業試験場栗坂信之氏、密田和彦氏との共同研究で得られた成果により作成した。また、試験遂行に当たりご指導いただいた東京大学大学院農学生命科学研究科の山下修一氏、元 埼玉県園芸試験場の善林六朗氏にこの場を借りて深謝する。

引用文献

- 1) CÉLIX, A. et al. (1996): *Phytopathology* **86**: 1370 ~ 1376.
- 2) CHOMCZYNSKI, P. and N. SACCHI (1987): *Anal. Biochem.* **162**: 156 ~ 159.
- 3) CLOVER, G. R. G. et al. (2002): *Plant Pathol.* **51**: 389.
- 4) COFFIN, R. S. and R. H. A. COUTTS (1990): *ibid.* **39**: 632 ~ 635.
- 5) DUFFUS, J. E. (1965): *Phytopatolgy* **55**: 450 ~ 453.
- 6) 愛媛県 (1980): 昭和54年度普通作物等病害虫発生予察特殊報 (第1号).
- 7) 遠藤忠光・長谷川一朗 (1981): 北日本病虫研報 **32**: 162.
- 8) FAUQUET, C. M. et al. (2005): *Virus Taxonomy*, Elsevier Academic Press, San Diego, p. 1084 ~ 1087.
- 9) 花田 薫 (2005): 園芸新知識 2005. 12: 17 ~ 20.
- 10) HARTONO, S. et al. (2003): *J. Gen. Plant Pathol.* **69**: 61 ~ 64.
- 11) 細田昭男・那波邦彦 (1980): 広島農試報 **42**: 23 ~ 34.
- 12) 茨城県農林水産部 (1979): 病害虫発生予察特殊報第2号
- 13) 川越 仁・岡田 大 (1984): 野菜のウイルス病, 養賢堂, 東京, p. 116 ~ 124.
- 14) LIU, H. -Y. and J. E. DUFFUS (1990): *Phytopathology* **80**: 866 ~ 869.
- 15) TZANETAKIS, I. E. et al. (2003): *Plant dis.* **87**: 1398.
- 16) ——— and R. R. MARTIN (2004): *ibid.* **88**: 223.
- 17) 植草秀敏ら (2002): 神奈川農総研報 **143**: 61 ~ 69.
- 18) Van DORST, H. J. M. et al. (1980): *Neth. J. Plant Pathol.* **86**: 311 ~ 313.
- 19) WINTERMANTEL, W. M. (2004): *Plant dis.* **88**: 82.
- 20) WISLER, G. C. et al. (1998): *ibid.* **82**: 270 ~ 280.
- 21) 吉野正義ら (1979): 植物防疫 **33**: 498 ~ 502.
- 22) YAMASHITA, S. et al. (1979): *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* **45**: 484 ~ 496.
- 23) 善林六朗ら (1984): 埼玉園試研報 **13**: 11 ~ 40.

新しく登録された農薬 (18.6.1 ~ 6.30)

掲載は、種類名、登録番号: 商品名 (製造業者又は輸入業者) 登録年月日、有効成分: 含有量、対象作物: 対象病害虫: 使用時期等。ただし、除草剤・植物成長調整剤については、適用作物、適用雑草等を記載。(登録番号: 21709 ~ 21726) 下線付きは新規成分。

「殺虫剤」

●フィプロニル水和剤

21719: プリンスフロアブル (BASF アグロ) 2006/6/7

フィプロニル: 5.0%

キャベツ: コナガ, アオムシ, ハイマダラノメイガ, ネギアザミウマ: 収穫 14 日前まで

はくさい: コナガ, アオムシ, ハイマダラノメイガ, ネギアザミウマ: 収穫 21 日前まで

チンゲンサイ: コナガ: 収穫 28 日前まで

カリフラワー: コナガ: 収穫 14 日前まで

ブロッコリー: コナガ: 収穫 14 日前まで

未成熟とうもろこし: アワノメイガ: 収穫 14 日前まで

てんさい: テンサイトビハムシ: 定植前まで

ストック: コナガ, 発生初期

きく: ミカンキイロアザミウマ, 発生初期

カーネーション: ミカンキイロアザミウマ, 発生初期

ばら: ミカンキイロアザミウマ, 発生初期

●酸化フェンブタスズ水和剤

21720: オサダンフロアブル (BASF アグロ) 2006/6/7

酸化フェンブタスズ: 48.0%

(13 ページに続く)