

トマト黄化葉巻病の病原ウイルス および媒介虫の生態解明に基づいた防除

内川 敬介・小川 恭弘

キーワード：トマト，黄化葉巻病，TYLCV，シルバーリーフコナジラミ，診断，生態，防除

Control of *Tomato yellow leaf curl disease* based on ecology
of pathogenous virus and insect vector.

Keisuke Uchikawa, Yasuhiro Ogawa

目 次

1. 緒 言	30
2. 病原ウイルスの遺伝子診断技術の開発	31
1) 市販 DNA 抽出キット利用による検出	31
(1) カラム抽出キットを利用した検出	31
(2) P-PCR キットを利用した検出	32
2) トマト遺伝子を内部標準とした検出	33
3) 媒介虫からの検出	34
(1) 活成虫からの検出	35
(2) 死成虫からの検出	36
4) 考 察	36
3. 媒介虫と黄化葉巻病の発生生態解明	38
1) 宿主の探索	38
2) 定植時期と媒介虫および黄化葉巻病の発生推移	39
3) 促成栽培における媒介虫と黄化葉巻病の発生推移	40
4) TYLCV 感染時期と病徴発現時期との関係	46
5) 媒介虫の越冬	47
6) 考 察	49
4. 媒介虫モニタリング技術の開発	51
1) コナジラミ類の分類可能なモニタリングトラップの検討	51
2) トラップ捕獲虫の種の識別と TYLCV 保毒虫の検出	51

3) 考 察	54
5. 媒介虫の物理的防除による媒介防止	55
1) 媒介虫の飛翔高度	55
2) 防虫ネット被覆および近紫外線除去（UVA）フィルムの防除効果	55
3) 育苗圃に敷設した光反射シートの防除効果	58
4) 考 察	59
6. 媒介虫に対する有効薬剤の特性の把握と効果的使用技術の検討	60
1) 粒剤の鉢上げ時処理による媒介防止	60
2) 粒剤の育苗後期処理による媒介防止	63
3) 散布剤による媒介防止	68
4) 考 察	70
7. 有用昆虫との組み合わせが可能な媒介防止体系の検討	70
8. 摘 要	74
9. 謝 辞	75
10. 引用文献	75
Summary	81

1. 緒 言

トマト黄化葉巻病は、国内では1996年に長崎県、愛知県、静岡県で初確認された、*Tomato yellow leaf curl virus*（以下：TYLCV）を病原とするウイルス病である^{8), 9), 23)}。本ウイルスに感染したトマトは上位葉に黄化、巻葉症状を呈する（写真1, 2, 3）。激しい場合には新葉が萎縮、叢生するためその上位の花は着花（果）せず、以後の収穫は皆無になることもある（写真4）。そのため、栽培期間が長い促成栽培を中心に大きな被害を及ぼし、近年トマト栽培ではもっとも警戒されているウイルス病である。

日本で発生している TYLCV には現在少なくとも4系統が確認されており、それぞれの系統により宿主範囲や病徴の現れ方に違いが認められる（上田ら未発表）^{8), 9), 24)}。沖縄を除く九州全県で発生している TYLCV は、イスラエル系統（TYLCV-Is）との相同性が、塩基配列レベルで98%と極めて高く、大貫らは TYLCV-Is 長崎株としている^{23), 24), 27)}。

TYLCV は、シルバーリーフコナジラミ（写真5, silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii* Bellows

& Perring, 以下シルバーリーフ）により永続的に伝搬される¹¹⁾。そのため黄化葉巻病の発生地域では、当初から病原ウイルスの伝染源や媒介虫の増殖源の除去を基本に、媒介虫の防除を育苗期から体系的に行うよう指導されてきた⁹⁾。しかし、国内における病原ウイルスや媒介虫の発生生態に不明な点が多く、早期診断や発生予察も困難なため、生産現場では過剰な農薬散布に頼っているのが現状である。トマトは IPM（総合的病害虫管理）が最も進んだ品目の一つであったが、農薬散布の増加は、生産物の有利販売に支障をきたしたほか、マルハナバチや天敵類などの有用昆虫の利用にも影響を及ぼしており、防除体系の再構築が緊急の課題となった。

そこで本研究では、病原ウイルス TYLCV の国内での生存、伝搬、感染等の発生生態解明とともに、TYLCV の簡易検出・診断技術、媒介虫のモニタリング技術開発、媒介虫の生態特性をふまえた防除技術の開発および媒介防止体系の構築に取り組んできたので、その成果について報告する。研究成果の一部は既に報告済み^{19), 20), 34)}であるが、

本報は、その内容も含め総括的にとりまとめたものである。

なお、本報告は2001年から2003年まで3年間、

長崎県、福岡県、熊本県の3県が取り組んだ、農林水産省先端技術等地域実用化研究促進事業（農林水産新技術実用化型）に基づくものである。

2. 病原ウイルスの遺伝子診断技術の開発

本病の圃場内での被害蔓延を防ぐためには、早期発見による発病株の抜き取り処分が一つの手段となる。しかし、本症状はホウ素やカルシウムなどの欠乏症状に類似しており、栽培現地での的確な見極めが困難な場合がある。また、TYLCVは汁液伝染をしないため、判別宿主への人工接種ができず、血清反応による診断についても本ウイルスは血清作成が困難なことから、当初、未確立であった。このため本ウイルスの診断技術として大貫ら^{21), 22), 24), 26), 27)}により polymerase chain reaction (以下、PCR) を用いた簡易な遺伝子診断法が確立された。ここでは同法を基にしてさらなる簡易化およびこれによる多くの検体への対応技術について検討を行った。

1) 市販 DNA 抽出キット利用による検出

(1) カラム抽出キットを利用した検出

診断を行う機関は病害虫防除所等に限られており、多くの検体が集中して持ち込まれることやスタッフの入れ替わりなどで専門的な技術、操作の必要性を最小限に留めた診断法確立の必要性を考

え、ここでは市販のカラム抽出キットについて有効性を検討した。

材料および方法

サンプルは、TYLCV 感染トマト上位展開葉の生重50mgを用い、全ゲノム DNA の抽出に、カラム抽出キットの一つである DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN 社) を使用した。抽出は製品プロトコール (定法) およびその一部を簡略化した系で行った (図1)。抽出した全ゲノム DNA の内 1 μl を PCR 反応20μl のテンプレートとした。

ゲノム DNA 合成のため大貫ら^{21), 24)}の TY プライマーを用いた (表1)。PCR 反応液は2.5mM dNTPs 1.6μl, 10×ExTaq buffer (MgCl₂含) 2.0μl, 10μM プライマーをそれぞれ1.0μl, DNA polymerase (TaKaRa ExTaq) 0.1μl とした。PCR 条件は変性94℃30秒, アニーリング52℃30秒, 伸長72℃90秒を35サイクル行い, 続けて7分の伸長を行った (BioRad 社, iCycler)。増幅後の DNA 断片はアガロースゲル (TAE, pH8.0) 電気泳動により解析した。

表1 TYLCV 検出に用いた各プライマーの配列およびバンドサイズ

名前	配列	バンドサイズ
TYV (プラス鎖)	5' -CTCGAAGGTTGCCGAAGG- 3'	約1.3kb
TYC (マイナス鎖)	5' -TTGAAAAATTGG(G/A)CTCTCAA- 3'	...
NTG-V (プラス鎖)	5' -CTCAAAGCTCTATGGCAATC- 3'	約2.4kb
NTG-C (マイナス鎖)	5' -GACTTCATTGATTTTGGAGT- 3'	...

定 法	改変法
1. AP1, 400 μ l と RNase (100mg/ml), 4 μ l を入れた乳鉢内でサンプル葉 (0.1g) を磨砕し、滅菌した1.5ml チューブに移す。	1. 1.5ml チューブにサンプル葉 (0.1g) を入れ、ベッスルで磨砕し、AP1, 400 μ l と RNase (100mg/ml), 4 μ l を入れる。
2. 65 $^{\circ}$ C, 10min インキュベート (インキュベート中2, 3 回転倒混和)	2. 65 $^{\circ}$ C, 10min インキュベート (インキュベート中2, 3 回転倒混和)
3. AP2, 130 μ l を加え、混和し、5 min 氷中へ	3. AP2, 130 μ l を加え、混和し、5 min 氷中へ
4. 15,000rpm 5 min, 遠心	4. 15,000rpm 5 min, 遠心
5. スピнкаラム (QIAshredder) に上清を入れ、2 min, 15,000rpm 遠心。	5. スピнкаラム (QIAshredder) に上清を入れ、2 min, 15,000rpm 遠心。
6. ペレットを乱さないように、下液を滅菌チューブに移す。	6. ペレットを乱さないように、下液を滅菌チューブに移す。
7. 回収した下液の1.5倍量の AP3 /E を入れ、ピペッティングする。	7. 回収した下液の1.5倍量の AP3 /E を入れ、ピペッティングする。
8. 7 で得た溶液の650 μ l をスピнкаラム (DNeasy minispincolumn) に入れ、8,000rpm 1 min 遠心し、下液を捨て、 <u>残液については、同様の操作を繰り返す。</u>	8. 7 で得た溶液の650 μ l をスピнкаラム (DNeasy minispincolumn) に入れ、8,000rpm 1 min 遠心し、下液を捨てる。
9. DNeasy column を 2 ml チューブに入れ、AW を500 μ l 入れ、8,000rpm, 1 min 遠心。	9. DNeasy column を 2 ml チューブに入れ、AW を500 μ l 入れ、8,000rpm, 1 min 遠心。
10. 下液を捨て、AW を500 μ l 入れ、15,000rpm, 2 min 遠心。	10. 下液を捨て、AW を500 μ l 入れ、15,000rpm, 2 min 遠心。
11. DNeasy column を滅菌した1.5ml チューブに入れ、65 $^{\circ}$ C に加温した AE buffer 50 μ l をカラムのメンブランに落とし、室温、5 min 置く。	11. DNeasy column を滅菌した1.5ml チューブに入れ、65 $^{\circ}$ C に加温した AE buffer 50 μ l をカラムのメンブランに落とし、室温、5 min 置く。
12. 8,000rpm, 1 min 遠心し、下液を DNA 抽出液とする。	12. 8,000rpm, 1 min 遠心し、下液を DNA 抽出液とする。

図1 カラム抽出キット (QIAGEN 社 DNeasy plant mini kit) によるトマト罹病葉からの TYLCV ゲノム DNA 抽出法とその改変法

※波線部は定法の改変箇所を示す。

結果

DNeasy Plant Mini Kit により、トマト葉から抽出された TYLCV ゲノム DNA は、TY プライマーを用いた PCR により1.3kb の増幅断片を示した (図2)。また、サンプル磨砕など一部の操作を簡略化した改変法でも、定法と同様に1.3kb の増幅断片を示した (図2)。この改変法の抽出に要する時間は約50分であった。

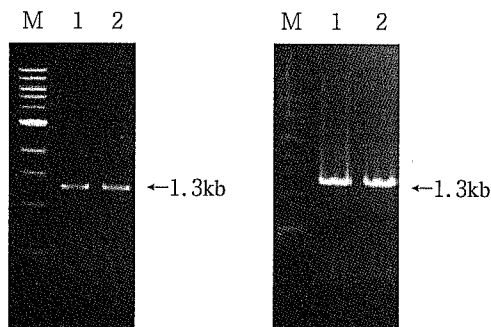


図2 トマト罹病葉からの TYLCV の PCR 検定
左:定法, 右:改変法によって抽出したゲノム DNA を使用
M:分子量マーカー (1 kb ラダー), 1:罹病株 A, 2:罹病株 B

(2)P-PCR キットを利用した検出

大貫ら^{22),26)}により報告のある Print captuer PCR 法 (以下, P-PCR)による TYLCV 検出を基に、本法を利用したキット (以下, P-PCR キット) を用いた TYLCV 検出について検討した。

材料および方法

サンプルは、TYLCV 感染トマトの上位展開葉を用い、全ゲノム DNA の抽出には AmpliCARD™ Sampling Kit (CHEMICON 社) を使用した。抽出はまず、本キット専用濾紙にサンプルの展開葉を載せ、その上に厚手のポリビニルを被せ、濾紙へトマト葉の粗汁液が残るようマジックペンの裏で圧力をかけた。その後カミソリを用い、葉の先端、主脈、葉柄および葉肉部分の2カ所の合計5カ所から濾紙を約2mm四方に切り取りとった (図3)。切り取ったゲノム DNA を含むそれぞれの濾紙は、200 μ l の PCR チューブ内でキットの専用洗浄液にて5分間2回、次いで滅菌蒸留水で5分間2回の洗浄 (図3)、アスピレーターにて5分間の乾燥

を行い、PCR 反応40 μ l のテンプレートとした。ゲノム DNA の合成には TY プライマーを用いた (表 1)。PCR 反応液は 2.5mM dNTPs 3.2 μ l, 10 \times ExTaq buffer (MgCl₂ 含) 4.0 μ l, 10 μ M プライマーをそれぞれ 1.0 μ l, DNA polymerase (TaKaRa Ex-Taq) 0.2 μ l とした。PCR 条件は変性 95 $^{\circ}$ C 50 秒, アニール 58 $^{\circ}$ C 60 秒, 伸長 72 $^{\circ}$ C 180 秒を 35 サイクル 行い, 続けて 10 分の伸長を行った (BioRad 社, iCycler)。増幅後の DNA 断片はアガロース

ゲル (TAE, pH8.0) 電気泳動により解析した。

結果

AmpliCARD™ Sampling Kit により トマト葉から抽出された DNA は NTG プライマーを用いた PCR により 2.4kb の増幅断片を示した (図 4)。また, 葉の先端, 主脈, 葉柄および葉肉部分とも同様の増幅断片が得られた (図 4)。本法による DNA 抽出には遠心分離等の操作を必要とせず約 30 分で PCR に供試することができた。

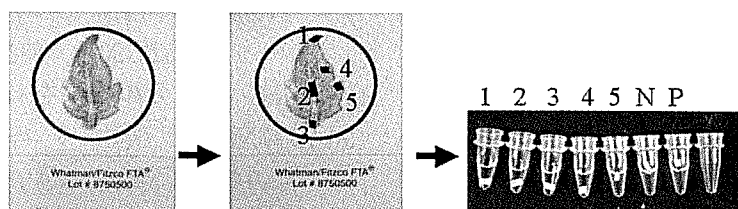


図 3 P-PCR キットによる TYLCV 感染トマト葉各部位からの DNA 抽出

1 : 先端, 2 : 葉脈, 3 : 葉柄基部, 4 : 葉肉部 1, 5 : 葉肉部 2
N : 健全トマト葉
P : TYLCV 感染葉

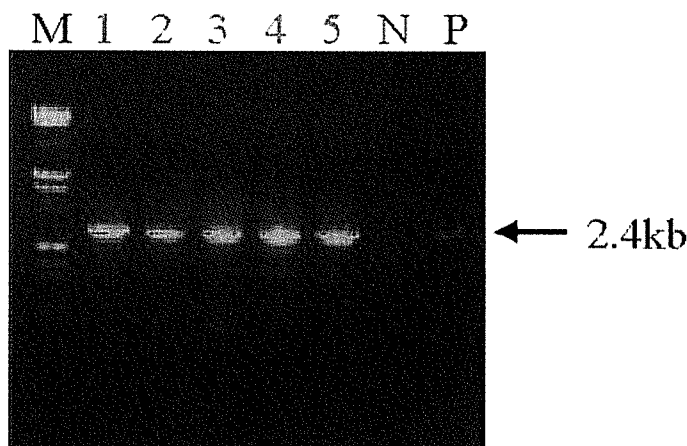


図 4 P-PCR キットによるトマト葉からの TYLCV 検出

M : 分子量マーカー (λ EcoRI + HindIII)
1 : 先端, 2 : 葉脈, 3 : 葉柄基部, 4 : 葉肉部 1, 5 : 葉肉部 2
N : 健全トマト葉
P : TYLCV 感染葉

2) トマト遺伝子を内部標準とした検出

PCR を用いた遺伝子診断は, 技術的な習熟が必要であり, 特に新たに診断システムを立ち上げる際には様々な問題が生じる場合がある。TYLCV に感染しているものと思われる検体を遺伝子診断に用いた場合でも想定するバンドが得られない場合は陰性判断を行うが, DNA の抽出にミスがあったことも考えられ判定に支障を来すこともある。そこで, トマトの遺伝子を同時に確認することで, DNA 抽出が適正に進んだことを確

認し, 陰陽性の判断がより適切に行えるようトマトの遺伝子を内部標準とした TYLCV との同時検出法について検討した。

材料および方法

供試品種は「ハウス桃太郎」, 「ハウス桃太郎コルト」, 「桃太郎 J」, 「麗容」, 「優美」, 「レディーファースト」, 「千果」の計 7 品種を用いた。また, 陽性対照として TYLCV 感染トマト葉および TYLCV 感染葉より抽出し, 凍結保存した DNA を用いた。大貫ら²⁷⁾の簡易抽出法に従い, 各品種

のトマト葉（約1平方センチメートル）を乳鉢に入れ、抽出 buffer（50mM EDTA, 0.5M NaCl, 10 mM 2-メルカプトエタノール）1 ml 中で磨砕し、その磨砕液500μl に33μl の20% SDS を加えよく攪拌した。65℃, 10分間処理し、160μl の5 M 酢酸カリウムを加え攪拌し、15000rpm で10分間遠心した。上清450μl を15000rpm で5分間遠心し、上清をマイクロチューブに移し、1/2容量のイソプロパノールを加えて、軽く攪拌し15000rpm で5分間遠心した。遠心後すぐに上清を捨て、500μl の70%エタノールを入れ、15000rpm で5分間遠心し、上清を捨て、沈殿の乾燥後20μl の滅菌蒸留水を加え PCR 反応20μl のテンプレートとした。TYLCV 同時検出のためのプライマーは大貫ら²¹⁾²⁷⁾によりデザインされている TY および NTG プライマーを用いた（表1）。Hsc プライマーについては DNA Data Bank of Japan (DDBJ) のデー

タベースに Sun ら³¹⁾によって報告されている *Lycopersicon esculentum* の hsc70gene を参考に設計した（表2）。

PCR 反応液は2.5mM dNTPs1.6μl, 10×ExTaq buffer (MgCl₂含) 2.0μl, 10μM プライマーをそれぞれ1.0μl, DNA polymerase (TaKaRa ExTaq) 0.1 μl とした。なお、プライマーについては TY, Hsc および NTG, Hsc を等量混合して行った（表3）。PCR 条件は、TYLCV 検出プライマーの至適温度条件に従い、TY, Hsc については変性94℃30秒、アニーリング52℃30秒、伸長72℃90秒を35サイクル、続けて7分の伸長を行った。NTG, Hsc については変性95℃50秒、アニーリング58℃60秒、伸長72℃180秒を35サイクル、続けて10分の伸長を行った（BioRad 社, iCycler）。増幅後の DNA 断片はアガロースゲル（TAE, pH8.0）電気泳動により解析した。

表2 トマト遺伝子増幅用プライマーの配列およびバンドサイズ

名 前	配 列	バンドサイズ
Hsc-s (プラス鎖)	5' -GTCAGGCTACTAAGGATGCTGGAA- 3'	約1.0kb
Hsc-a (マイナス鎖)	5' -CGAAGCATACAGTGATTGGGGG- 3'	...

表3 トマト遺伝子と TYLCV との同時検出に用いたプライマーの構成とバンドサイズ

TYLCV 検出用	トマト 検出用	バンドサイズ (kb)
TY	Hsc	1.3, 1.0
NTG	Hsc	2.4, 1.0

結果

TY (TYV, TYC), Hsc (Hsc-a, Hsc-s) プライマーセットを用い、現地慣行栽培の7品種を PCR に供試した結果、図5に示すように、トマト各品種より植物体由来の DNA を単一のバンド (1.0kb) として得ることができた。このことより、今回用いた Hsc プライマーにより現地慣行栽培7品種のトマトについてはトマト遺伝子の検出が可能となった。しかし、TYLCV 感染葉については、ウイルス DNA のバンドとして想定される1.3kb のバンドは得られなかった（図5）。このことについては、原因は判然としなかった。

一方、NTG-V, NTG-C, Hsc-a, Hsc-s プライマーセットを用い、TYLCV 感染トマト葉、健全葉および感染葉より抽出後に凍結保存した DNA（凍結保存 DNA）を PCR に供試したものについては、図6に示すように感染葉および凍結保存 DNA で想定された TYLCV (2.4kb) およびトマト由来 (1.0kb) の2本のバンドが得られた。健全葉については、トマト由来のバンドのみが検出された。

3) 媒介虫からの検出

媒介虫の保毒率モニタリングなどに活用するため、死後、時間の経過した死虫からの TYLCV 検出の可否等について検討した。

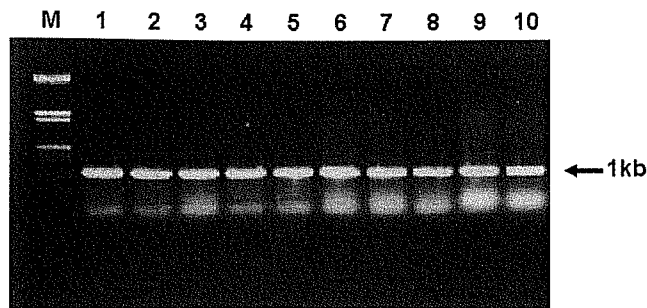


図5 トマト各品種を用いた TY, Hsc プライマーにおける遺伝子の増幅

M: 分子量マーカー (λ EcoRI + HindIII)

1: ハウス桃太郎, 2: 麗容, 3: 優美, 4: 千果, 5: ハウス桃太郎コルト, 6: レディーファースト
7: ハウス桃太郎コルト, 8: 健全葉 (ハウス桃太郎), 9: 感染葉 (ハウス桃太郎), 10: 桃太郎 J

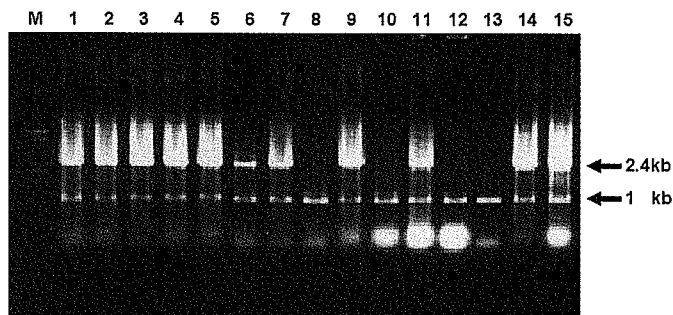


図6 NTG および Hsc プライマーによる TYLCV およびトマト遺伝子の同時検出

M: 分子量マーカー (λ EcoRI + HindIII)

13: 健全トマト葉 (ハウス桃太郎), 14: 感染生葉 (ハウス桃太郎),
15: 感染葉抽出 DNA (凍結保存)

(1) 活成虫からの検出

材料および方法

サンプルは、TYLCV 推定保毒虫および非保毒虫をそれぞれ10頭ずつ用いた。なお、ここでは、トマト黄化葉巻病罹病株を置いたケージ内で、継代飼育しているシルバーリーフ成虫を TYLCV 推定保毒虫とし、また、キャベツを置いたケージ内で継代飼育している同成虫を非保毒虫とした。DNA 調製には、AmpliCARD™ Sampling Kit (CHEMICON 社) を使用した。本キット専用濾紙へのプリント前に、吸虫管を用い採集したシルバーリーフは -20°C で5分間処理し行動を停止させ、プリントを行った。その後濾紙を約2mm四方に切り取り、以下は本項の1) - (2) P-PCR キットを利用した検出に従い洗浄し PCR へ供試した。プライマーは、TY プライマーを用い (表1), PCR 反応液は2.5 mM dNTPs 3.2 μl , 10 \times ExTaq buffer (MgCl₂含)

4.0 μl , 10 μM プライマーをそれぞれ1.0 μl , DNA polymerase (TaKaRa ExTaq) 0.2 μl とした。PCR 条件は変性 94°C 30秒, アニーリング 52°C 30秒, 伸長 72°C 90秒を35サイクル行い, 続けて7分の伸長を行った (BioRad 社, iCycler)。増幅後の DNA 断片はアガロースゲル (TAE, pH8.0) 電気泳動により解析した。

結果

P-PCR キットを用いて活きた TYLCV 推定保毒虫および非保毒虫から検出を試みた結果, 推定保毒虫のいずれにおいても TYLCV と推定される約1.3kb のバンドが得られた。しかし, 推定保毒虫および非保毒虫においては3.5kb と1.5kb に非特異の遺伝子増幅が認められた (図7)。そこで, プライマーを NTG プライマーに変えて PCR を試みた結果, 非特異遺伝子の増幅は認められなかった (データ未掲載)。



図7 シルバーリーフコナジラミ活成虫の推定保毒虫および非保毒虫単体からの P-PCR キットによる TYLCV 検出 (TY プライマー利用)

M: 分子量マーカー (λ EcoRI + HindIII)
 1~10: 推定保毒虫
 A~J: 非保毒虫

(2) 死成虫からの検出

材料および方法

サンプルは黄化葉巻病罹病株を設置したケージ内において飼育している TYLCV 推定保毒虫を用い、捕虫後、直ちに炭酸ガスを充満させた容器内に入れ、検定まで27℃の恒温器内へ置いた。保存期間は、それぞれ1, 3, 5および7日とした。

DNA 抽出については P-PCR キットを使用し、プライマーは TY プライマーを用いた。所定の保存期間を経たシルバーリーフ単体を1サンプルとし、専用濾紙へのプリント後、約2mm四方に切り取り、本報告3) - (1) に従い洗浄からアガロースゲルによるバンド検出までを行った。

結果

P-PCR キットを用いて死亡した TYLCV 推定保毒虫から検出を試みた結果、TYLCV と推定される約1.3kb のバンドが高率に得られた。しかし、推定保毒虫および非保毒虫においては3.5kb と1.5kb に非特異の遺伝子増幅が認められた(図8)。死後の経過日数別での TYLCV 検出割合は1日後で87.5%, 3日後で100%, 5日後で90%, 7日後で90%であった(表4)。

対照を含め、各処理区においても非特異的な DNA 増幅が認められたが、陽性対照等があれば検定に支障はないものと思われた(図8)。

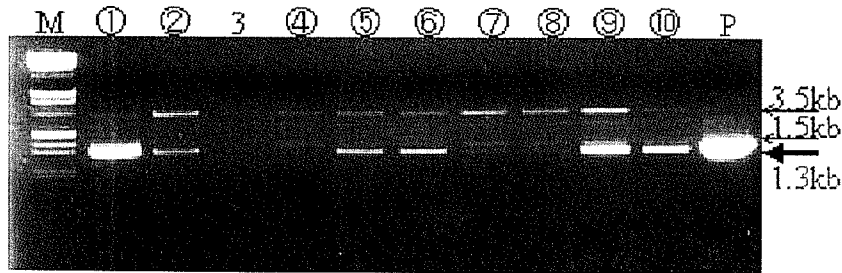


図8 死後7日経過したシルバーリーフコナジラミからの TYLCV 検出

M: 分子量マーカー (λ EcoRI + HindIII)
 ①~⑩: 推定保毒虫
 P: 捕捉直後の保毒虫
 レーン上の○数字は特異的バンド検出を示す

表4 死亡後保存期間が異なるシルバーリーフコナジラミからの P-PCR キットによる TYLCV 検出

死後保存期間	PCR 陽性頭数/供試頭数	検出割合(%)
0 日	10/10	100
1	7/8	87.5
3	6/6	100
5	9/10	90.0
7	9/10	90.0

保存温度: 27℃

4) 考察

カラム抽出キット (DNeasy Plant Mini Kit, QIAGEN 社) を用いて DNA を抽出する方法は、試薬などの調整が省略でき、抽出操作開始までに行う準備に掛かる時間などについても短縮できることや操作ミスによる DNA の廃棄等の心配も少ないなどの利点がある。しかし、抽出コストについては1検体約300円掛かることなど多検体を扱

う場合に問題がある。一方、P-PCR キット (AmpliCARD™ Sampling Kit, CHEMICON 社) では約30分でDNAの抽出が可能であり1検体あたりのコストについても約70円とカラム抽出キットに比べ利点が多い。また、筆者らが行った試験において、あらかじめ陽性サンプルをプリントした本キット専用濾紙を27℃、1週間保存したのからPCRを行った結果、バンドが検出された(データ未掲載)。大貫ら²⁹⁾によると3MM濾紙を用いたP-PCRでも室温下2ヶ月以上経過したのから陽性の結果が得られている。このことから、診断機関より離れた地域からは植物自体の送付や持ち込みなどを行わなくてもプリントした濾紙を送付することでPCRによる診断が行える可能性がある。しかし、これら濾紙を保存して検出する方法については保存温度や期間について、検出限界などの試験が十分でないため、今後さらなる検討の必要がある。

本試験に用いたTYプライマーはTYLCV-Isが特異的に検出され、NTGプライマーではTYLCV-Is長崎株のみが特異的に検出される^{21), 27)}。九州において発生しているTYLCVについては今のところ全てTYLCV-Is長崎株であるため、九州内の黄化葉巻病サンプルについては、いずれのプライマーを用いても検出に支障はないと思われる。PCRの反応時間については、TYプライマーが約2.5時間でNTGプライマーは約3.5時間でありTYプライマーの方がやや効率的と思われるが、TYプライマーについてはトマトの遺伝子を内部標準とした検出に利用できないこと(図5)や特に虫体からの検出において非特異DNAの合成が認められる(図7, 8)ことなど利用へは留意が必要である。この原因については判然としないが、用いたTYプライマーが混合塩基を含む(表1)ことやアニーリング温度に原因があると推測される。一方、NTGプライマーについては本試験を通し、安定した単一バンドの増幅が認められた。非特異DNAの増幅については陽性対照および健全対照を検定に用いることで目的の1.3kbのDNAと判別ができると思われるため、検出時間から判断すればTYプライマーを用いる方が効率

的と思われる。DNA合成酵素やサーマルサイクラーなど本項に述べたものと同じものが利用できない場合は必ずしも同一の結果が得られない可能性もあり、初めて検定を行う際には、それぞれのプライマーでの検出を確認し、使用場面に応じた使い分けの必要がある。

また、これらトマトからのTYLCV検定を行う際に陰陽性判断が行いやすいように検討したものがトマト内部標準を用いた検出法である。検定には陽性および健全対照を用いることが基本であるが、本法では健全対照および健全サンプルであってもトマト遺伝子由来のバンドが得られるため、よりの確な陰陽性の判断が可能である。この方法で用いたHscプライマーは真核生物で保存性の高い領域を増幅するため、各品種間でも安定した増幅が可能と思われる。今回用いた7品種についても想定される単一バンドが得られた(図5)。ただし、今回確認を行った品種以外については事前の検討が必要であると思われる。また、症状が軽微な場合など、TYLCVに感染していても抽出された全DNAの中にトマトの遺伝子が圧倒的に多い場合にはPCRの際にトマト遺伝子のみを増幅してしまうことも考えられるため、検出限界について検討を行う必要がある。

P-PCRによるTYLCVの保毒虫簡易検定については大貫ら²⁹⁾によりすでに報告されている。今回は前述したように、同法の市販キットによる植物体からの検出と保毒虫からの検出について検討した。保毒虫については、トラップを用いたモニタリングの都合上、死亡し常温で放置されたものからの抽出が必要であったため、常温保存の死亡虫についても併せて検討を行った。保毒虫を死亡直後に本法によって検定した場合、100%の検出が可能であった。この結果は大貫ら²⁹⁾の3MM濾紙を用いたP-PCRと同様の結果であった。一方、死亡し1~7日経過した保毒虫からも100%には満たなかったものの87.5~100%と高率にTYLCVが検出された(表4)。このことより以下の4.媒介虫のモニタリング技術の開発で述べる吸引トラップを用いたモニタリングに利用できるものと思われる。

3. 媒介虫と黄化葉巻病の発生生態解明

本病の防除対策上、ハウス周辺の伝染源の除去は重要であるが、自然感染植物に関する知見は少なく、北部九州で発生が認められる TYLCV-Is 長崎株については、これまで雑草のウシハコベとエノキグサ²⁵⁾、トルコギキョウ^{35),36)}に自然感染し、虫媒接種でノゲシに感染する³⁷⁾ことが明らかになっているだけである。そこで、さらなる宿主の探索により防除に資するため、本病発生圃場内および周辺部に自生している植物を採集し、TYLCV の感染の有無を調査した。また、石井ら^{6),15)}は長崎県内の主要栽培作物でありトマトと同じナス科に属するジャガイモ（品種：「メークイン」）への TYLCV 虫媒接種試験において感染を確認しており、ジャガイモの県内主要品種における TYLCV の感染、発病についての調査を行った。

1) 宿主の探索

材料および方法

TYLCV 発生圃場周辺植物からの TYLCV 検出および虫媒接種試験

サンプリングは、1999年6月19日、7月11日に大村市および9月26日に琴海町のトルコギキョウ葉巻病^{35),36)}、トマト黄化葉巻病発生圃場周辺部で行った。なお、サンプリングした植物はシルバーリーフの寄生が確認されたものを対象とした。7月11日および9月26日採集分については、黄化葉巻病罹病トマトを配置し、シルバーリーフを放飼したガラス網室内のプランターに移植した。採集した植物および接種試験に供試した植物については、随時 PCR により、TYLCV の感染の有無を調査した。DNA 抽出は DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN 社) を使用し、プライマーは TY プライマーを用い、その他の条件は 2-1) -(1) と同様に行った。

ジャガイモ各品種への虫媒接種試験

「農林1号」、「デジマ」および「ニシユタカ」のいずれも原々種（長崎県総合農林試験場愛野馬鈴薯支場より分譲）、各8株を用いた。2000年9月26日、大型プランター（50×25×30cm）に2株

ずつ植え付け、ガラス網室内で管理した。なお、施肥量はプランターあたり堆肥 1 kg・馬鈴薯特号 20 g とした。接種は2000年12月2日に、トマト黄化葉巻病罹病株において飼育しているシルバーリーフ成虫を株あたり5頭、ゴース被覆したジャガイモに放飼することにより行った。なお、接種株数は各品種6株ずつ、放飼期間は4日間とした。放飼期間終了後速やかにピリダベン水和剤を散布してゴースを除去し、その後も定期的に同水和剤散布により管理した。検定は接種終了20日後の12月25日に P-PCR により行った。プライマーは TY プライマーを用い、その他の条件は 2-1) -(2) と同様とした。

結果

表5に示すように、採集した20種の植物のうちハコベ (*Stellaria media*) では3検体中2検体から、PCR によって TYLCV の感染が確認された。また、表6に示すように15種の植物に虫媒接種を

表5 野外自生植物からの TYLCV 検出

草種	病徴/PCR	採集地
ハコベ	-/+	琴海町
ホトケノザ	-/-	大村市
ヒメジョオン	-/-	大村市
ノゲシ	-/-	大村市
ニシキソウ	-/-	大村市
オオイヌノフグリ	-/-	大村市
タビラコ	-/-	大村市
ナズナ	-/-	大村市
ツユクサ	-/-	大村市
マルバツユクサ	-/-	大村市
セイトカアワダチソウ	-/-	大村市, 琴海町
オオアワダチソウ	-/-	大村市, 琴海町
ベニバラボロギク	-/-	大村市
アキノノゲシ	-/-	大村市
ヒメムカシヨギ	-/-	大村市
コニシキソウ	-/-	大村市, 琴海町
ツルマメ	-/-	大村市
ジャガイモ	-/-	大村市
シソ科トウバナ属	-/-	琴海町
シソ科	-/-	琴海町

行った結果、キク科のノゲシ (*Sonchus oleraceus*), ベニバラボロギク (*Crassocephalum crepidioides*), シソ科トウバナ属の一種およびトウバナ属に属しないシソ科雑草から TYLCV が検出された。しかし、野外自生および接種試験において TYLCV が検出されたいずれの植物についても病徴は確認されなかった。

ジャガイモへの接種試験では、供試した3品種とも、TYLCV の感染および発病は認められなかった (表7)。

2) 定植時期と媒介虫および黄化葉巻病の発生推移

本病の防除対策を講じる上では、発生時期を把握することが重要であり、ここでは促成栽培における媒介虫の発生消長と本病の発生との関係を明らかにするため、定植時期別に施設内のシルバーリーフの発生状況と黄化葉巻病の発生推移を調査した。

材料および方法

試験は総合農林試験場内のビニルハウスで行った。供試品種は「ハウス桃太郎」で、大型プランター (50×25×30cm) に2株植えとし1期16~20株とした。1999年6月15日、7月16日、8月15日および9月17日に30粒ずつ播種し、定植までガラス網室内のケージで管理した。

定植は、それぞれの播種約60日後の同年8月6日、9月6日、10月15日、11月21日に行い、ビニルハウスに移した。肥培管理は本県基準に準じて行った。栽培期間中は、ビニルハウスのサイドは当初開放状態で行い、晩秋から冬季にかけては、晴天時に開放、夜間は12℃で管理した。シルバーリーフについては、無防除条件で行った。各定植日の7日後より、1週間間隔で4回、トマト黄化葉巻病の発生の有無と株ごとのシルバーリーフ成虫の寄生数を調査した。なお、本試験のトマト黄化葉巻病およびシルバーリーフについては自然発生条件で行った。

結果

長崎県内のトマト促成栽培における主な植え付け時期は、9月下旬~10月中旬であり、その前後1ヶ月を含む定植期別に試験を行った。その結果、トマト黄化葉巻病の発病が9月6日定植で90%と最も多かった。また、この時期をピークとし、定植時期が遅くなると本病発生株率は減少する傾向

表6 虫媒接種による TYLCV 検出

草種	病徴/PCR
ハコベ	-/+
ノゲシ	-/+
ベニバラボロギク	-/+
ソ科トウバナ属	-/+
シソ科, 属種は不明	-/+
ホトケノザ	-/-
ツユクサ	-/-
マルバツユクサ	-/-
セイトカアワダチソウ	-/-
オオアワダチソウ	-/-
アキノノゲシ	-/-
ヒメムカシヨギ	-/-
コニシキソウ	-/-
ツルマメ	-/-
ジャガイモ(品種:不明)	-/-

表7 各種ジャガイモ品種への TYLCV 接種試験

試験区 品種	株 No.	接種時の生育 ステージ	病徴 調査	PCR 検定
接種区		複葉		
農林1号	1	4	-	-
	2	6	-	-
	3	8	-	-
	4	8	-	-
	5	8	-	-
	6	5	-	-
ニシユタカ	1	6	-	-
	2	8	-	-
	3	6	-	-
	4	6	-	-
	5	6	-	-
	6	7	-	-
デジマ	1	7	-	-
	2	9	-	-
	3	9	-	-
	4	7	-	-
	5	7	-	-
	6	8	-	-
無接種区				
農林1号	1	N.D	-	-
	2	N.D	-	-
ニシユタカ	1	N.D	-	-
	2	N.D	-	-
デジマ	1	N.D	-	-
	2	N.D	-	-

にあった（図9）。

シルバーリーフは、8月6日定植で最も多く、定植時期が遅くなるほど減少した（図10）。

これらの結果、黄化葉巻病の発病と媒介虫の発

生は、定植時期が遅くなるほど減少する関係が見られたが、それぞれがピークとなる時期は一致しなかった。

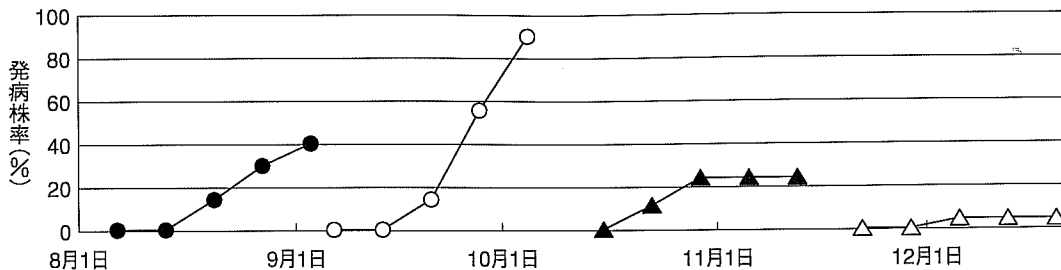


図9 促成栽培トマトにおける定植時期別の黄化葉巻病発生推移
定植日 ●：8月6日，○：9月6日，▲：10月15日，△：11月21日
品種：ハウス桃太郎，10月15日定植以降加温（夜温12℃）

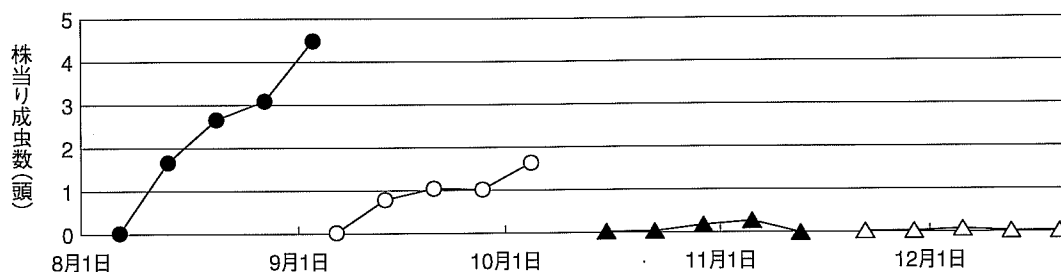


図10 促成栽培トマトにおける定植時期別シルバーリーフコナジラミの発生推移
定植日 ●：8月6日，○：9月6日，▲：10月15日，△：11月21日
品種：ハウス桃太郎，10月15日定植以降加温（夜温12℃）

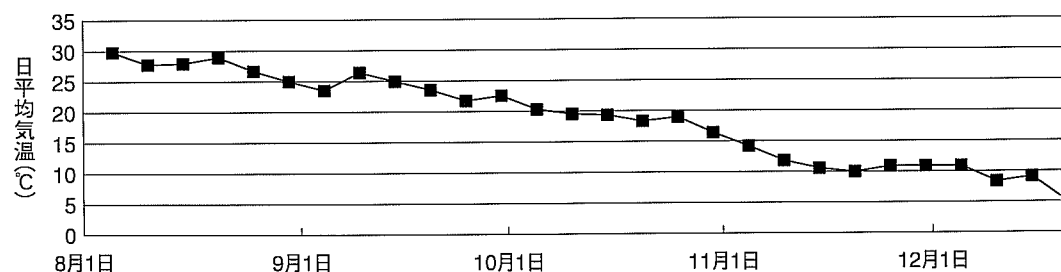


図11 促成栽培トマトにおける定植時期別シルバーリーフコナジラミおよび黄化葉巻病の発生推移試験時の日平均気温推移（長崎県総合農林試験場気象観測データ）
※データは半月毎の平均

3) 促成栽培における媒介虫と黄化葉巻病の発生推移

本病の防除対策上、シルバーリーフの防除は重要であるが、北部九州における年間発消長は解明されておらず、また、トマト黄化葉巻病の発生推移との関係も不明である。そこで、防除対策に資する基礎知見を得るため、現地農家圃場における本病および媒介虫の発消長調査を行った。

材料および方法

調査は大村市黒丸町の促成栽培トマト（以下、

圃場 A）および諫早市川内町のミニトマト（以下、圃場 B）で行った。栽培の概要は、表 8 に記した。調査はコナジラミ類および黄化葉巻病について行った。

コナジラミ類については、10cm×10cmの両面黄色粘着トラップ（日東電工（株）製 IT シート（黄）利用）をハウス外 2 カ所、ハウス内 2 カ所の計 4 カ所に高さ 150cm に設置し、誘殺数を原則 7 日毎に調査した。トラップ回収日にはあわせて寄生調査を行い、2001 年産ではハウス内 2 カ所のトラッ

表8 調査圃場の概要および管理実績

		A 圃場 (大村市黒丸町)	B 圃場 (諫早市川内町)
2001 ～ 2002 年産	面積	10 a	20 a
	品種	桃太郎J	サンチェリー-250
	育苗	セル苗購入 (8/10播種) 自家でポット育苗 (9/4鉢上げ)	セル苗購入
	播種	8/10	
	鉢上げ	9/4	
	定植	10/10	8/25
	管理実績 (殺虫剤のみ)	9/4 ネオニコチノイド系粒剤 10/10 ネオニコチノイド系粒剤 ピリプロキシフェンテープ 10/中 約10日間隔で散布 (順不同) イミダクロプリド水和剤 ニテンピラム水溶剤 ～ピメトロジン水和剤 エトフェンプロックス乳剤 エマメクチン安息香酸塩乳剤 シロマジン液剤 12/下 フルフェノクスロン乳剤	8/25 イミダクロプリド粒剤 9/17 エマメクチン安息香酸塩乳剤 10/17 クロロフルアズロン乳剤 エマメクチン安息香酸塩乳剤 10/31 BT 水和剤 11/22 アセタミプリド水溶剤 1/20 アセタミプリド水溶剤 2/7 シロマジン液剤 2/28 ビリダベンフロアブル
2001 ～ 2002 年産	面積	6 a	20 a
	品種	桃太郎ヨーク	サンチェリー-250
	育苗	セル苗購入 (9/1播種) 自家でポット育苗 (9/26鉢上げ)	セル苗購入
	播種	9/1	
	鉢上げ	9/26	
	定植	10/25	8/20
	管理実績 (殺虫剤のみ)	9/26 ネオニコチノイド系粒剤 10/25 ネオニコチノイド系粒剤 ピリプロキシフェンテープ 10/中 約10日間隔で散布 12/下	8/25 イミダクロプリド粒剤 9/17 エマメクチン安息香酸塩乳剤 ピリプロキシフェンテープ 9/27 マルハナバチ導入 10/8 エマメクチン安息香酸塩乳剤 10/10 エマメクチン安息香酸塩乳剤 11/7 エマメクチン安息香酸塩乳剤
立地	平坦地の圃芸地帯。トマト、キュウリの施設が点在するほか、露地野菜 (キャベツ、ダイコン、ニンジン、ナスほか多数。) も多い。圃場は水田および転換畑、住宅に隣接。圃場横に自家用のさまざまな野菜を栽培している (カンショ、キャベツ、メロン、キュウリ、ナス、etc)。	平坦地の水田地帯。圃場は水田および住宅に隣接。圃芸作物は、約300m離れたミニトマトのみ。	

プ付近の5株から、上、中、下位葉それぞれ1小葉ずつ、計30葉を採集して持ち帰り、実体顕微鏡下で葉上のコナジラミ類幼虫・蛹数および卵数を種別に計数した。2002年産では、圃場内3カ所の任意の75複葉について寄生成虫数を見取り調査した。

黄化葉巻病については本病の発生がみられた圃場Aのみ実施した。2001年産では前作 (2000年定植) についても調査を行い、2001年6月5日から6月26日まで、おおむね7日間隔で、ハウス内2カ所のそれぞれ固定の120株について発病の有無

を見取りで調査した。2002年産については、9月26日および10月3日に定植前のトマト苗2,300株について発病株数を調査し、定植後は、10月11日から概ね7日間隔で出入り口付近および圃場中央部のそれぞれ固定の256株について発病の有無を調査した。2002年産については各調査日ごとに、1,200株すべてについて発病の有無を見取り調査した。

本調査においては、黄化葉巻病の発病株が農家により一部抜き取られたため、聞き取りによりこれらも発病株とした。

結果および考察

2001年産 圃場 A（大村市トマト）

前作栽培後期

5～6月は、オンシツコナジラミ (*Trialeurodes vaporariorum*, 以下オンシツ) が多発生であった。シルバーリーフは5月に寄生を認めたが、オンシツに比べ非常に低い密度であった。防除に熱心な農家であり、この時期は約7日間隔で殺虫剤散布を行っていたが、施設外からのオンシツ成虫の飛び込みが多かったために密度を抑制できなかったものと思われた。黄化葉巻病の発生は、6月上旬に1株のみ確認した。栽培終了後は蒸し込みが実施され、その後はビニルを開放、除去するまでトラップへの誘殺が認められなくなった(図12)。野外トラップのコナジラミ類誘殺数は、6月下旬から7月上旬にかけて激減し、以後極少発生で推移した。

前作終了後～育苗期

トラップへの誘殺は7月下旬から増加し始め、9月上旬～10月上旬がピークとなった(図12)。苗はセル苗を購入し、9月4日～10月10日の37日間、本圃施設の一部を防虫ネットで仕切って、ポット育苗が行われた。コナジラミ類の防除対策として、防虫ネットの展張およびニテンピラム粒剤の鉢上げ時処理、約7日間隔の殺虫剤散布が行われた。しかし、育苗床周囲を囲んでいた1mm目のネットは、裾をきちんと止めておらず、風が吹くとネットと裾ビニルの間に大きな隙間ができていた。また、ハウス谷部の換気口にはネットが設置されておらず、常時開放されていた。育苗床に設置した黄色粘着版には、一日当たり10頭前後のコナジラミが誘殺された。これらの開口部から、多数のコナジラミが侵入したものと思われた。黄化葉巻病は育苗後期に発病株が散見され、育苗終了までに抜き取り処分された株は、株率にして約1%と高くはなかったが、定植直後には、シルバーリーフの卵および幼虫・蛹の寄生が多数認められた。

本圃初期

定植後、野外におけるコナジラミの誘殺は10月上旬以降減少し、11月中旬まで認められた。施設内におけるコナジラミの誘殺は11月中旬まで、卵および幼虫・蛹の寄生は11月下旬まで認め、以後は認められなかった(図12, 13)。これは、10月以降野外での密度が低下し、施設内へのコナジラ

ミの侵入が減少したことに加え、粒剤の定植時処理および殺虫剤散布により本種の密度が抑制されたものと思われた。一方、黄化葉巻病の発生は、定植約1ヶ月後の10月下旬から11月中旬にかけて急激に増加した(図14)。TYLCVの一般的な潜伏期間が14日間以上¹³⁾であることを考えると、育苗成中に本ウイルスが感染し、発症しないまま本圃に持ち込まれた苗がその後の感染源になったものと思われた。ただし、定植後の苗が活着し、成長が盛んになった頃と発病が目立ち始めた時期とが一致することから、この急激な発病の増加には、育苗後期の感染によるものも多く含まれる可能性がある。

本圃中期～後期

11月下旬以降3月中旬現在までは、コナジラミ類の発生はほとんど認められなかった。ピリプロキシフェンテープと殺虫剤散布の併用により、定植後コナジラミの密度が速やかに低下したものと思われた。しかしながら、黄化葉巻病は2月中旬頃から緩やかに増加し、累積発病株率は約15～17%に達した。この期間に発病した株の感染時期は判然としないが、媒介虫の密度推移から考えると、11月に感染したものがほぼ無病徴で経過し、気温、日照の増加に伴い、病徴が明瞭になった可能性がある(図14)。同じ県央地域に位置する当試験場の気象観測データでは、2月2～4半旬の日照時間および日射量がそれぞれ平均26.7h(1月平均9.6h)、58.8MJ/m²(1月平均32.5)となっており(表9)、日照および気温の季節変化にと

表9 2002年1, 2月の日照時間と日射量(西諫早)

半旬	日照時間(h)	日射量(MJ/m ²)
1月1	9.0	32.4
2	14.7	35.4
3	9.0	24.1
4	7.3	27.0
5	2.9	30.7
6	14.8	45.6
2月1	11.9	42.2
2	28.2	60.1
3	22.5	56.2
4	29.4	60.0
5	27.2	64.7
2月2～4半旬平均	26.7	58.8
1月平均	9.6	32.5

もなうトマトの生育の変化が、黄化葉巻病の病徴発現に何らかの影響を及ぼしたものと推察される (TYLCV 感染時期と病徴発現時期との関係の項参照)。

栽培後期の5, 6月は、オンシツが少発生で

あった。シルバーリーフは6月に発生を認めたが、オンシツに比べ低密度であった。黄化葉巻病の発生は、5月まではほとんど増加しなかったが、6月上中旬に急増した。これは、施設外からの成虫の飛び込みが原因であった。

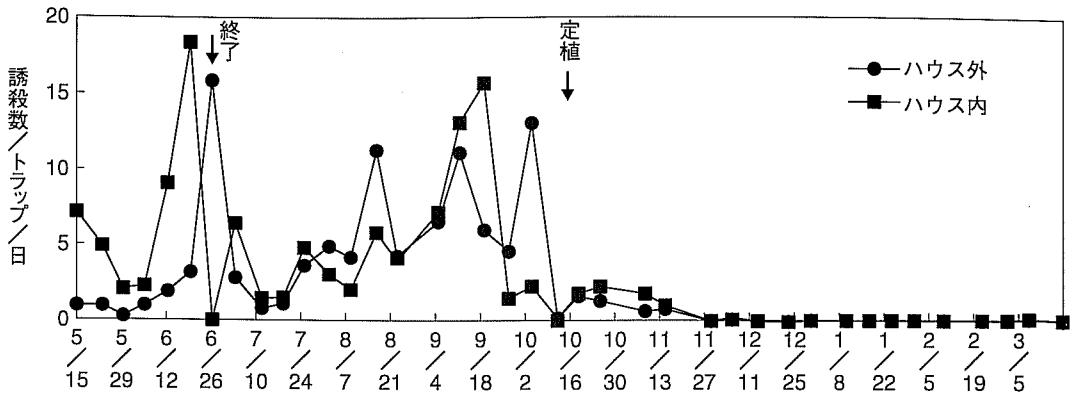


図12 促成栽培トマトにおけるコナジラミ類の誘殺消長 (大村市, トマト, 2001~2002年)

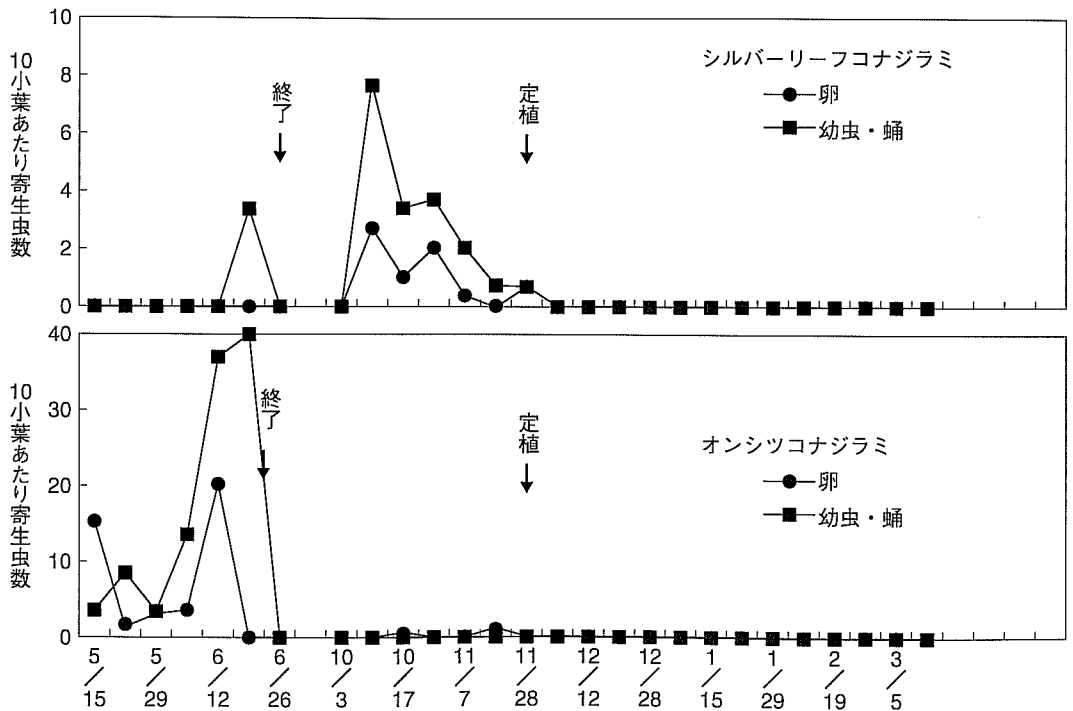


図13 促成栽培トマトにおけるコナジラミ種別寄生虫数の推移 (大村市, トマト, 2001年~2002年)

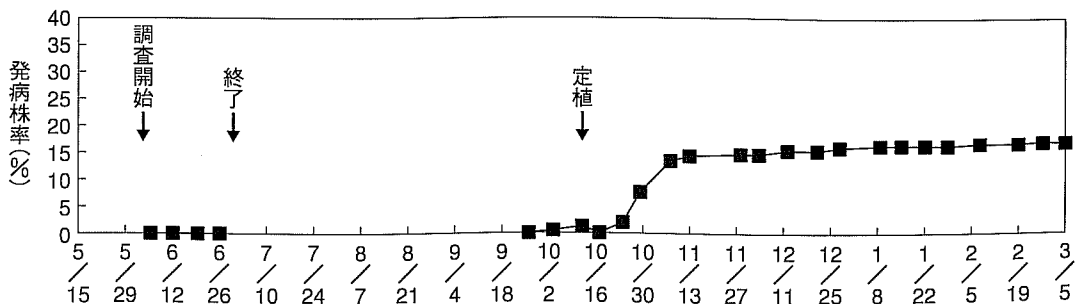


図14 促成栽培トマトにおける黄化葉巻病発病株の累積推移 (大村市, トマト, 2001年~2002年)

2001年産 圃場 B（諫早市ミニトマト）

前作栽培後期

5～6月は、オンシツが多発生であった。シルバーリーフは6月に発生を認めたが、オンシツに比べ非常に低い密度であった。栽培終了後は蒸し込みが実施され、圃場Aの場合と同様に、施設内のコナジラミは死滅したものと思われた（図15, 16）。

前作終了後～本圃中期

野外トラップへのコナジラミの誘殺は、前作終了後ほとんど認められなくなった。7～8月および9月中旬～11月上旬にわずかに認められたが、極少発生で推移した。圃場は水田地帯に位置し、周囲にコナジラミの増殖源が極めて少なかったものと思われた（図15）。本年産の定植（8月25日）後の9月に、施設内ではシルバーリーフが誘殺されるようになり、卵および幼虫・蛹の寄生も9月上旬以降認められた。本圃ではコナジラミ類を対象に、施設側面の1mm目防虫ネット展張、定植時粒剤処理および殺虫剤散布が行われたが、購入苗に寄生して持ち込まれたコナジラミに対して、これらの防除対策の効果は必ずしも高くなかったものと思われる。その後シルバーリーフは11月に減少し、12月以降確認されなくなった。かわってオンシツの寄生が11月中旬から認められ、12月下旬以降緩やかに増加した。本圃場では、定植以降のコナジラミ類の発生は比較的低密度で推移し、施設周辺における発生が少ないことが最大の要因であると思われた（図15, 16）。

栽培後期

5, 6月におけるコナジラミ類の発生は、オンシツが多発生であった。シルバーリーフは6月に発生を認めたが、オンシツに比べ非常に低い密度

であった。栽培終了時には、前作同様蒸し込みが実施された。

なお、本圃場では黄化葉巻病の発生は確認されなかった。

2002年産 圃場 A（諫早市トマト）

育苗期

苗はセル苗を購入し、9月26日～10月25日の間、本圃施設の一部を防虫ネットで仕切り、ポット育苗が行われた。ニテンピラム粒剤の鉢上げ時処理に加え、育苗施設側面および入口は1mm目のネットで被覆し、ハウス谷部は30～40cmを開放していた。育苗床に設置した黄色粘着版には、7日当たり1～2頭のコナジラミが誘殺され、苗への寄生も認められたことから、低密度ではあるが施設外から本種が侵入していたものと思われた。黄化葉巻病は育苗後期に発病株が数株発生し、育苗終了までに抜き取り・処分された。

本圃初期～中期

定植時に、粒剤の植穴処理およびピリプロキシフェンテープの処理が行われた結果、翌年3月までの調査期間中、コナジラミの寄生はほとんど認められなかった（図17）。黄化葉巻病は定植約1ヶ月後に数株が発生した後、3月まで新たな発生はなかった（図18）。発病株の感染時期は定かではなかったが、前作と同様に、定植後の苗が活着し、成長が盛んになった頃と発病が目立ち始めた時期とが一致したことから、育苗後期の感染によるものも含まれる可能性がある。

2002年産 圃場 B（諫早市ミニトマト）

調査は定植6週間後の10月中旬に開始した。当初はシルバーリーフの発生が認められたが、以後減少し、翌年1月以降はほとんど認められなかった（図19）。定植時から設置したピリプロキシフェ

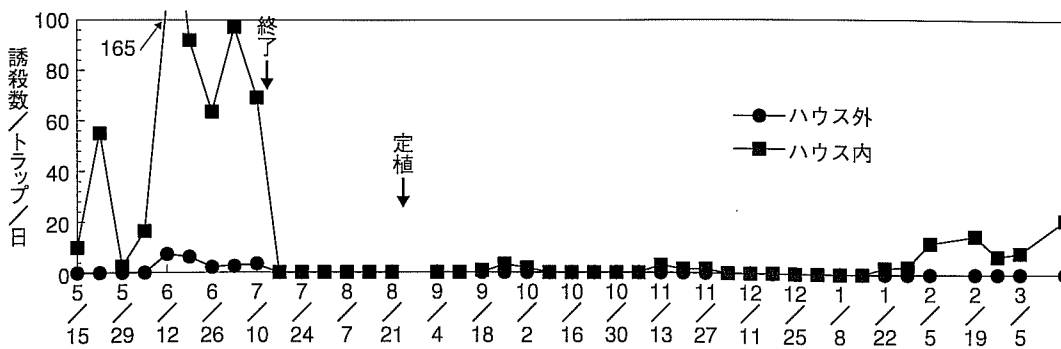


図15 促成栽培トマトにおけるコナジラミ類の誘殺消長（諫早市，ミニトマト，2001年～2002年）

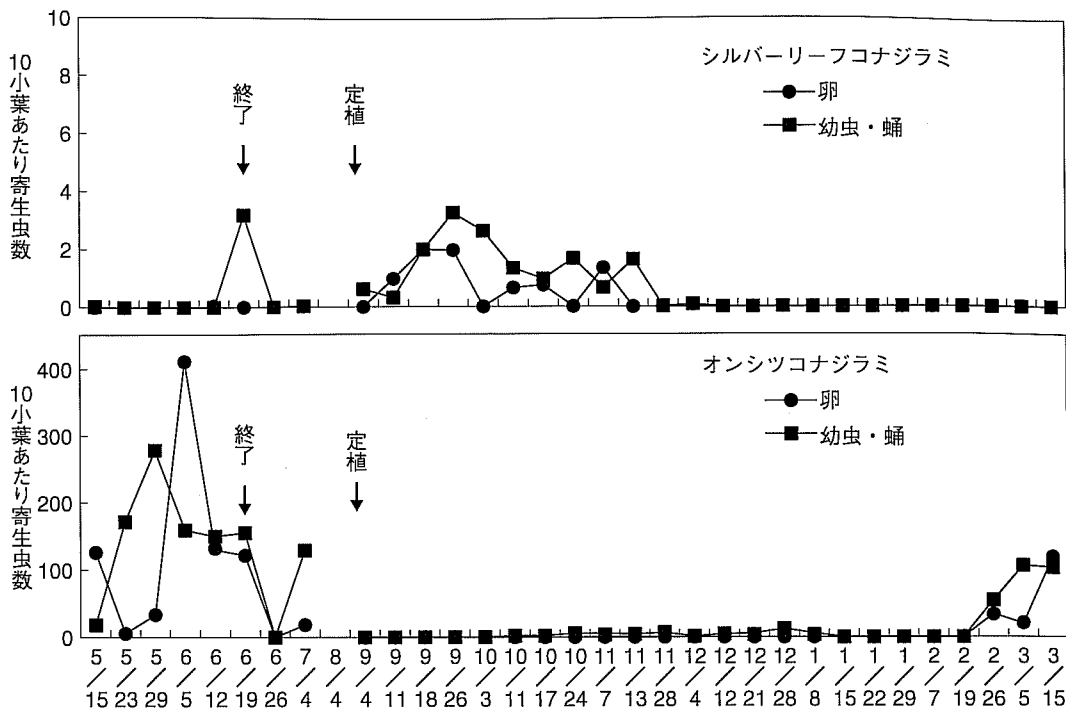


図16 促成栽培トマトにおけるコナジラミ種別寄生虫数の推移 (諫早市, ミニトマト, 2001年~2002年)

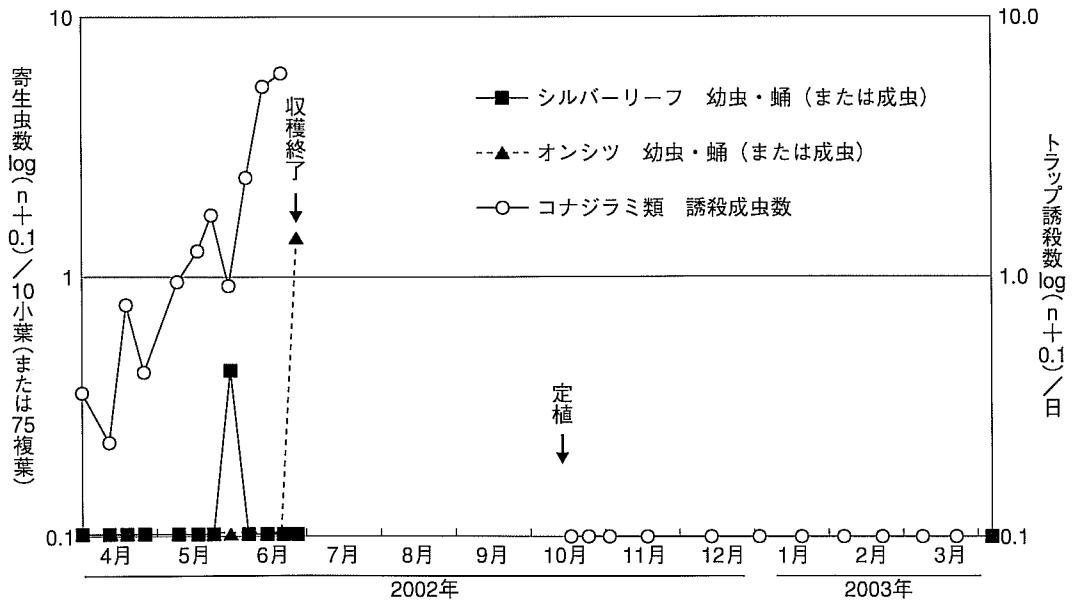


図17 促成栽培トマトにおけるコナジラミ類の発生推移 (大村市, トマト, 2002年~2003年)
注) 2002年10月以降の寄生虫数は, 見取り調査による75複葉当たりの成虫の寄生虫数を示す.

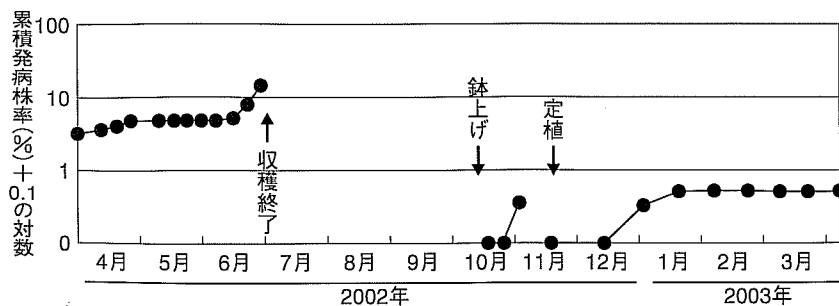


図18 促成栽培トマトにおける黄化葉巻病の発生推移 (大村市, トマト, 2002~2003年)

71 - S) で測定した。

結果

定植時期を変えて、TYLCV を虫媒接種した結果、図21, 22に示すように定植直後（接種期間中の平均気温21.9℃）の接種では、接種15日後までにほとんどの株で発病が認められ、その後は増加

しなかった。定植40日後（同14.0℃）の接種においては、接種49日後より発病が認められ始め、その後5ヶ月後まで漸増した。また、定植100日後（同10.6℃）の接種においては、発病した株のほとんどが約3ヶ月後に病徴を発現した。

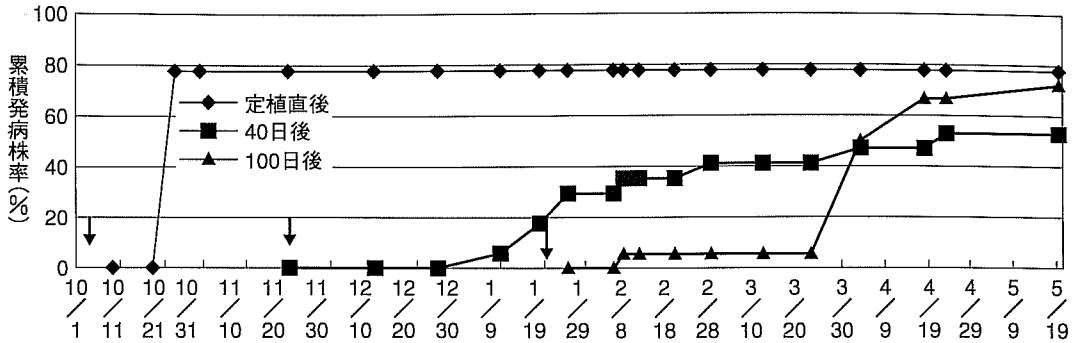


図21 接種時期の違いによるトマト黄化葉巻病の発生推移

定植日：2002年10月9日，↓は接種日，左から10/9（定植直後），11/20（40日後），1/20（100日後）
 調査：概ね10日間隔で発病株の有無を見取りで調査。接種方法：保毒虫5頭/株，3日間接種。
 その他：試験期間中は薬剤散布によるコナジラミの防除を定期的実施。

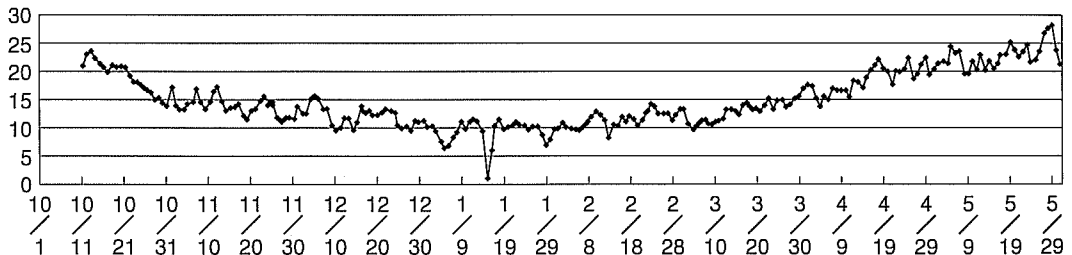


図22 試験期間中の施設内気温の推移（地上70cm）

5) 媒介虫の越冬

材料および方法

2002年12月から2003年2月にかけて、長崎県諫早市（長崎県総合農林試験場内）および口之津町（独立行政法人果樹研究所カンキツ研究部口之津場内）で行った。供試虫には、2001年に長崎県総合農林試験場内のトマトで採集したシルバーリーフを、キャベツで累代飼育して用いた。試験は、成虫とそれ以外の生育ステージに分けて、それぞれ異なる方法で野外条件に置いて越冬の可否を検討した。成虫については、キャベツ苗3株をプランターに定植し、株ごとにゴースを被覆したうえで口之津町の屋外に置き、2002年12月13日および26日に、羽化後3日以内の成虫をゴース内に放虫して、翌年1月15日にゴース内のキャベツ株に寄生する虫数を調査した。成虫以外の生育ステージについては、成虫に産卵させたキャベツ苗を、25℃の人工気象器内に7~20日間維持し、卵~4令

幼虫(蛹)の各態のシルバーリーフが寄生したキャベツ苗を作出した。これを室温条件で1~2日間馴化させた後、12月13日に1/5,000a ワグネルポットに定植した。ワグネルポットは、各試験地屋外の平坦な裸地上に静置し、100cm×100cm×50cmの網かご（約1mm目）を上からかぶせた。調査は、寄生部位の一部を数カ所マークし、各調査日に寄生虫数をヘッドルーベを用いて齢期別に計数し、生育が進んだ個体の有無を調べた。また、最終調査後に寄生葉を採取し、水差して室温条件で1~2日間馴化させた後、25℃の人工気象器内に約20日間維持し、生存虫の有無を調査した。

結果

成虫については、12月13日に放虫した個体のうち、12月26日には4割程度がキャベツ葉上に寄生していたが、全く静止した状態で、触れると葉から容易に落下した。放虫から約1ヶ月後の1月15日には寄生は認められなかった。また、12月26日

に放虫した個体も、20日後の1月15日には寄生が認められなかった（表10）。卵および各齢期の幼虫は、12月13日から1月15日までに生育が進んだと思われる個体が数個体認められた。1齢幼虫の減少は、2齢への成長のほかにマーク外への移動や定着できなかった個体があったものと思われる。蛹殻数は2地点ともわずかに増加しており、4令幼虫から羽化した個体があったものと思われた。また、1月15日から2月18日にかけて生育が進ん

だ個体は認められなかった。一部幼虫に変色が認められるなど死亡した様子が認められたが、生死の判定が困難であったため、寄生葉を持ち帰り加温したところ、羽化した個体は認められなかった（表11）。試験期間中の日別最低気温は、諫早市では12月下旬以降0℃以下の日が多く、たびたび降霜が認められたのに対し、口之津町では1月上旬に0℃以下が4日あった以外は、2℃以上の日がほとんどで（図23）、降霜は認められなかった。

表10 屋外においたキャベツ株上のシルバーリーフコナジラミの寄生虫数（成虫）

株 No	2002年		2003年
	12月13日	12月26日	1月15日
1	100*	39	0
2	—	25*	0
3	—	50*	0

試験地：長崎県口之津町
*は放虫数を表す。

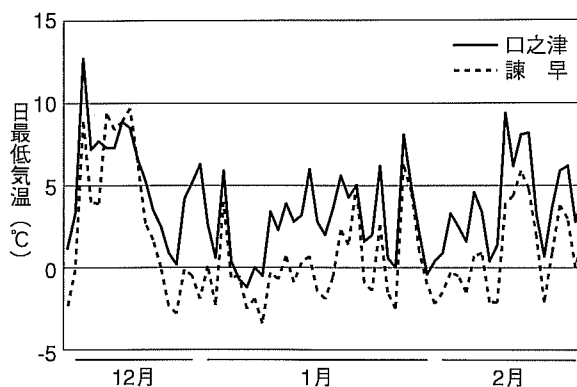


図23 シルバーリーフコナジラミ越冬試験期間中の日最低気温の推移
(2002年12月14日～2003年2月18日)

表11 屋外においたキャベツ株上のシルバーリーフコナジラミの寄生虫数（卵，幼虫，蛹殻）

試験地	葉 No	生育 ステージ	2002年			2003年	加温後の羽化虫数
			12月13日	1月15日	2月18日	2月18日	
諫早市	1	蛹殻	4	5	—	—	
		4 齢	34	34	—	0	
		3 齢	9	9	—	0	
		2 齢	5	4	—	0	
	2	1 齢	79	41	—	0	
		卵	301	297	—	0	
	3	蛹殻	6	6	6	—	
		4 齢	25	24	24	0	
		3 齢	17	17	17	0	
		2 齢	21	18	18	0	
	4	1 齢	25	19	9	0	
		卵	219	218	202	0	
口之津町	1	蛹殻	11	12	—	—	
		4 齢	24	27	—	0	
		3 齢	14	11	—	0	
	2	2 齢	0	0	—	—	
		1 齢	21	11	—	0	
		卵	44	44	—	0	
	3	蛹殻	21	21	21	—	
		4 齢	16	18	18	0	
		3 齢	17	15	15	0	
	4	2 齢	8	7	6	0	
		1 齢	29	16	13	0	
		卵	23	23	21	0	

6) 考 察

野外宿主探索および接種試験において新たにハコベ (*Stellaria media*), ベニバラボロギク (*Crassocephalum crepidioides*), シソ科トウバナ属の一種およびトウバナ属に属しないシソ科雑草が TYLCV-Is に感染することが明らかとなり, 自然感染が確認されたのはハコベのみであった。他県で行われた同様の調査において, ノゲシ, センナリホウズキ, タカサブロウ, ホソバツルノゲイトウおよびノボロギクについて TYLCV が自然感染することが新たに明らかになっている¹⁵⁾。また, 大貫ら²⁵⁾は先にウシハコベ, エノキグサに自然感染することを報告しており, これも含めると TYLCV-Is 長崎株は合計 8 種の雑草に自然感染することが明らかとなった。これら TYLCV が認められる圃場内および周辺の雑草からの TYLCV 検出率については, ハコベでは本試験では高率であったものの, 3 県共同の一連の調査では 3 カ年累計で 5.4% であった¹⁵⁾。また, 国内においては接種でノゲシに TYLCV が感染することが報告²⁷⁾されているが, 黄化葉巻病発生圃場周辺においても自然感染は認めていない。これらのことから, 黄化葉巻病発生圃場周辺調査で自然感染が認められた雑草については, TYLCV の感染は認められるもののその割合は低く, 本病の伝染源や伝染環においての重要性は低いものと思われた。一方, 熊本県における本病発生圃場内および周辺において採集された野良トマトの感染率は 100% であった¹⁵⁾ことから, 防除対策上, 重要となるものはトマトと考えられる。しかし, 雑草は媒介虫の発生および増殖源となることは十分考えられるため, ハウス内外の環境整備は重要と言える。雑草以外の経済作物については, イスラエルの TYLCV-Is および TYLCV-Is 長崎株でトルコギキョウに感染, 発病する^{3), 36)}ことが報告されている。また, 石井ら⁶⁾の行った接種試験により TYLCV-Is 長崎株では新たにチョウセンアサガオ, ペチュニア, ピーマン, インゲンマメ, ジャガイモ (品種: 「メイクイン」) に感染することが判明した。ジャガイモについては本県の主要品目であるため, 主要品種の「ニシユタカ」や「デジマ」, 「農林 1 号」について接種試験を行ったが, 感染は認めなかった。これらの結果より, ジャガイモについては品種間差があることが示唆され, 「メイクイン」につい

ては, 県内でも栽培されている地域があるものの, 国内での自然感染は報告がなく, シルバーリーフのジャガイモにおける発生量からみても感染の機会是非常に少ないと思われるので, 今のところ伝染源としての重要性は低いと考えられる。

ここまで述べた国内において新たに認められた TYLCV-Is の感染植物からトマトへの感染については知見が少なく, 伝染環をより明らかにするうえでも今後の課題である。

長崎県病害虫防除所が行った大村市における現地発生状況調査^{12), 13)}においては, 定植時期が高温時である場合は発生圃場率, 発病株率が高く, また低温期に向かうにつれて少なくなるなど, 本病の発生と定植時期に関係があることが確認されている。今回行った定植時期別での発生推移は, この現地調査とほぼ同様の結果となった。また, 併せて行った媒介虫の発生推移調査においては 8 月定植で発生量が最も多く, 発病株率が最も多いのは 9 月定植であった。8 月上旬定植については調査後半 (8 月下旬) に媒介虫の発生が多く認められ, 9 月上旬定植時にもそのピークを維持していたものと推測される。よって 9 月定植において黄化葉巻病の発病が最も多く認められたものと考えられた。このことは潜伏期間が 14 日以上である¹¹⁾ことも関係していると考えられる。これらのことから, 8 月上旬~10 月中旬にかけて本病への感染の危険性が高いと考えられ, この時期を外して定植することにより耕種的防除が可能であると考えられる。ただし, 本試験の育苗はガラス網室内の大型ケージで行い, 苗の時期での感染が起きないように行った。トマトの育苗期間は 2 ヶ月にわたるため, 定植を遅らせることのみでなく, 育苗期間の防除についても留意する必要がある。

国内のトマト栽培におけるシルバーリーフの発生消長については, これまで詳しい報告が見あたらない。今回, 現地農家圃場での 2 カ年にわたる調査結果より, 促成栽培トマト圃場における媒介虫および黄化葉巻病の年間発生消長が明らかになった。シルバーリーフは, 8~9 月に育苗が始まると同時に栽培施設内へ侵入, あるいは苗とともに持ち込まれ, 定植後も 10 月頃までは寄生が認められたが, 以後は減少して低密度で推移した。栽培後期の 5~6 月にはコナジラミの密度が急激に高まったが, 12 月頃から本種に代わって優占種

となるオンシツが大半を占め、シルバーリーフの密度は高くならなかった。

一方、本種は野外では主に7月から11月にかけて発生し、特に8～10月の発生が多かった。熊本県における調査でも、雑草における本種の寄生は4～9月に認められ、8～9月に密度が高まっている¹⁵⁾。今回は野外の植物における寄生状況は詳しく調査していないが、大村市では、トマトの未作付け期間に、調査地点近辺の露地ナスやサツマイモ、アキノノゲシなどの雑草で本種成幼虫の寄生が観察された。また、熊本県の調査では12～3月には本種を野外で認めておらず¹⁵⁾、本県においても本種の越冬を認めなかった（媒介虫の越冬の項参照）ことから、本種は施設内で越冬したあと、野外へ分散すると考えられる。

本種の発生活長にはいくつかの要因が強く関与していると考えられる。本種は、その発育零点がオンシツより高く、低温での発育期間は長いことから高温適応性の種であると考えられている⁹⁾。この特徴は、8～10月に多く、以後減少した本種の発生推移とよく一致する。また、調査圃場では育苗期から栽培初期にかけて薬剤による本種の防除が徹底されていた。特に定植時粒剤施用やピリプロキシフェンテープの防除効果は高く、10月以降の密度の減少には、これらの効果も大きいと考えられる。

以上のことから本種の一般的な生活環としては、施設内で越冬したものが4月以降野外で生活し、8～9月の密度が最も高まる時期に、圃場周辺の作物や雑草から促成栽培トマトへ飛来し、気温の低下および防除圧によって密度が低下するものと推定される。

黄化葉巻病の発生は育苗後期から認められ、定植後約1ヶ月が経過した頃に急増したが、その後の低温期の増加は緩慢であった。このことから、促成栽培トマトにおける本病の主な感染時期は、育苗期～本圃初期であると考えられる。8～10月にあたるこの時期は、媒介虫の多発時期とも一致し、本病の防除対策上最も重要な期間であると言える。

TYLCVのトマトへの潜伏期間については14日

以上とされている¹¹⁾。定植時（10月9日）接種については、この最短日数である約14日の潜伏期間を経て発病が認められた。しかし、定植40日後（11月20日）の接種においては早いものでも約50日、遅いものでは5ヶ月後に病徴を表したものもあった。このことから、冬場の低温時に感染すると温暖時に比べて潜伏期間が長期化し、その後の気温の上昇とともに病徴を発現するものと考えられた。本項3）で述べたように媒介虫の発生がほとんど認められなかった2月3～4半月頃から黄化葉巻病が漸増することが現地発生状況調査で認められているが、このことはシルバーリーフ成虫が発生していた11月に感染したものが、ほぼ無病徴で経過し、気温、日照の増加に伴い、病徴が明瞭になったとの推測を説明する結果といえる。また、熊本県では、3月上旬定植において生育ステージ別に接種した試験では、育苗期接種で14～24日後、第二花房開花期で30～40日、第三花房開花期で42～52日後に発病する¹⁵⁾ことが解っており、TYLCVの潜伏期間の差には、感染時のトマトの生育ステージが影響することも明らかとなっている。

収穫終了時の各区累積発病率は、定植直後の接種で77.8%、40日後で53.0%、100日後で72.3%となり、同一のケージにて飼育をしている保毒虫を用い、接種期間についても同様としたたにもかかわらず、ばらつきが生じた。低温時には媒介虫の吸汁行動が緩慢となることが理由として考えられるが、今回の接種での厳寒期にあたる100日後接種区では同率が回復していることもあり、本試験のみではこの理由については判然としなかった。

キャベツを寄主に用いて、シルバーリーフの野外越冬の可否を検討した結果、本県の諫早市および口之津町の屋外で越冬した個体は認められなかった。1シーズンのみの結果ではあるが、降霜がない温暖地での結果を含むことから、本種が長崎県内において野外越冬する可能性は低いと考えられる。四国地方においても越冬は困難とされている¹⁷⁾ことから、本種は、少なくとも長崎県以北では、ほとんどがビニルハウス等の施設内で越冬するものと推察される。

4. 媒介虫モニタリング技術の開発

TYLCV 媒介虫の動態および保毒状況を知ることは、本病の感染生態解明やトマト産地における本病の発生を予察するうえで、重要である。媒介虫の保毒の有無は、PCRにより高い精度で迅速に知ることができるが、これに供する媒介虫を野外でできるだけ簡便に、効率よく捕獲する必要がある。コナジラミ類のモニタリングには、一般に黄色粘着トラップが多く用いられるが、虫体をPCRに供する場合は粘着剤がべたついて虫体の取り扱いが容易ではない。また、トマトにはシルバーリーフとオンシツの2種が発生するが、後者はTYLCVを媒介しないことから、同時にこれら主要なコナジラミ種を識別できることが望ましい。これらをふまえ、本試験では、採集したコナジラミの種が外部形態により識別でき、かつPCRに容易に供試できるよう、トラップを試作した。このトラップを用いて実際に捕獲虫からTYLCVの検出が可能か検討するとともに、捕獲能力を既存のトラップと比較した。さらに、PCRにより保毒虫検定を行う際に、同時にコナジラミの種を識別するための分子マーカーを開発し、これを用いたコナジラミ主要2種の識別法が、TYLCVの検出と同時に単一のPCR反応において利用できるか検討した。

1) コナジラミ類の分類可能なモニタリングトラップの検討

材料および方法

2001年に、長崎県総合農林試験場内の約37m²のガラス網室で実施した。試作したトラップ（以下黄色吸引トラップ）は、コナジラミ類の黄色への走性を利用し、黄色のビニル製円筒に飛来したコナジラミを、電動ファンでゴース袋に吸い込み、捕獲する構造とした（図24）。TYLCV保毒虫発生施設内に、黄色吸引トラップを3日間設置し、1日後および3日後に捕獲したコナジラミ成虫数を調査した。あわせて施設内のトマト（品種：「ハウス桃太郎」、60株）の黄化葉巻病発生株率およびシルバーリーフ寄生成虫数を調査した。捕獲虫

についてはPrint capture-PCRによりTYLCVの保毒の有無を検定した。

次に黄色吸引トラップの捕獲能力を従来のトラップと比較した。ガラス網室内に、黄色吸引トラップおよび植物トラップ（キュウリ苗：品種「つばさ」、本葉4葉期）、黄色水盤トラップ（直径15cm）各1基を、高さ約30cmの枠上に、2m間隔で1列に配置した。トラップの列から5.5mの距離で、これと平行に並んだ3地点から、シルバーリーフ成虫各100頭、計300頭を一斉に放飼し、1日後および3日後に捕獲または寄生したコナジラミ成虫数を調査した。同様の方法で、両面黄色粘着トラップ（日東電工（株）製ITシート（黄）利用、10cm×10cm）との比較もおこなった。

結果

黄色吸引トラップでは、シルバーリーフの寄生密度がトマト1複葉あたり0.94頭の時、1日間で9頭、3日間で51頭のシルバーリーフ成虫を捕獲した。このうち37頭について保毒の有無を検定したところ、19頭が陽性であった（表12）。また、従来のトラップと捕獲頭数を比較した結果、黄色吸引トラップの捕獲能力は植物トラップとほぼ同等で、黄色水盤トラップに優った（図25）。しかし、黄色粘着板には劣った（図26）。黄色吸引トラップは、ゴース袋を本体からはずして捕獲虫を容易に回収することができた。ただし、捕獲虫は死亡、乾燥して縮んだため、形態的特徴による種の識別は困難と思われた。

2) トラップ捕獲虫の種の識別とTYLCV保毒虫の検出

材料および方法

試験1 分子マーカーを用いた媒介虫の識別

2001年6月から8月にかけて、茨城県つくば市の独立行政法人農業生物資源研究所で行った。供試虫には、シルバーリーフは三重県桑名市トマト系統（野菜茶業研究所より分譲）および長崎県諫早市トマト系統、オンシツは茨城県つくば市ランタナ系統および長崎県諫早市トマト系統を用いた。

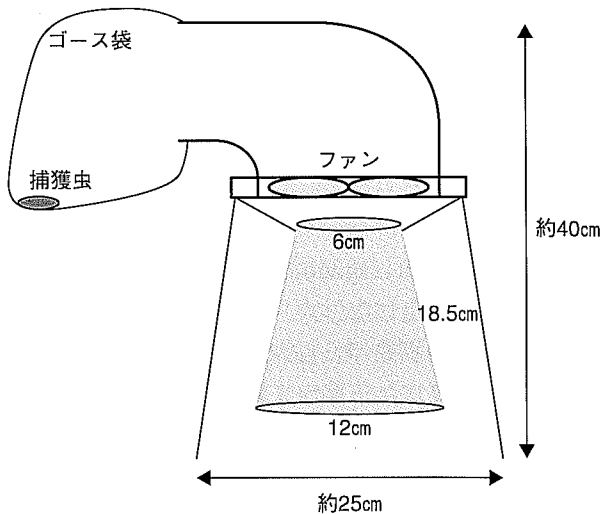


図24 試作トラップ（黄色吸引トラップ）の模式図

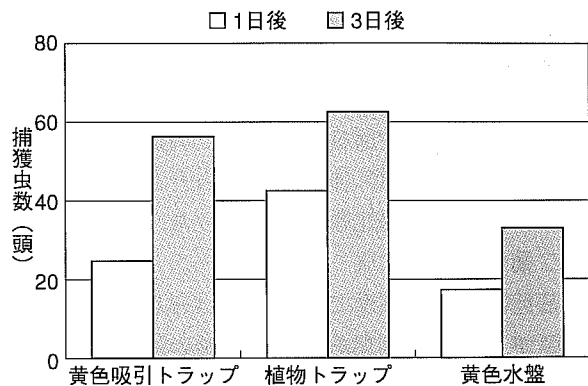


図25 各種トラップによるシルバーリーフコナジラミの捕獲効率の比較(1)

表12 トマト黄化葉巻病多発施設での黄色吸引トラップによる媒介虫の捕獲および保毒虫からのTYLCV検出

	1日後 (頭)	3日後 (頭)	PCR 検定	
			検体数	陽性
トラップによる捕獲成虫数	9	51	37	19
トマト寄生成虫数 (1 複葉当たり)	—	0.94 (頭)	—	—
トマト黄化葉巻病 発病株率	—	100 (%)	—	—

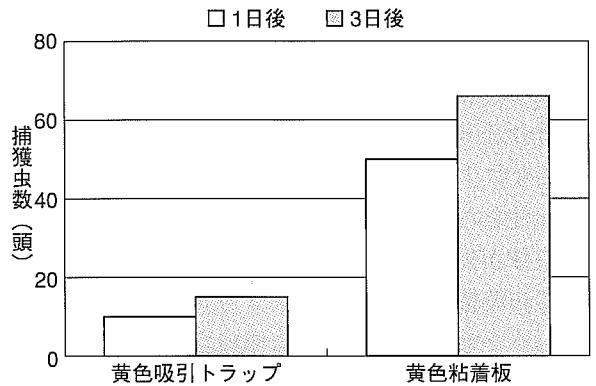


図26 各種トラップによるシルバーリーフコナジラミの捕獲効率の比較(2)

まず鋳型 DNA を調製した。供試虫は、個体毎に 1 個体すべてを材料とし、GenomicPrep Cells and Tissue DNA Isolation Kit (Amersham Pharmacia Biotech (株)製) を用いて、説明書に従って DNA を精製した。ただし、虫体が微小なため、DNA のロスを防ぐために Rnase 処理は省略した。得られた DNA は個体毎に 20µl の滅菌超純水 (miliQ) に溶解し、-20℃で保存した。

次に PCR 増幅を行った。プライマーは、mtDNA の rDNA 付近および A+T rich Regeon, CO 1 と CO 2 のスペーサー領域、そして核の rDNA の ITS 領域を増幅する、農業生物資源研究所分子進化研究チーム保有の未発表のユニバーサル・プライマーを用いた。PCR には TaKaRa Ex Taq (宝酒造) の Taq DNA ポリメラーゼを用いた。

試験 2 コナジラミと TYLCV のプライマーによるマルチプレックス PCR

2001年10月から3月にかけて、長崎県総合農林

試験場で行った。供試虫には、シルバーリーフは長崎県諫早市トマト系統を、オンシツは長崎県諫早市トマト系統（プリムラで累代飼育）を用いた。

供試虫は、個体毎に 1 個体すべてを材料とした。吸虫管で捕獲した直後に炭酸ガスで軽く麻酔した新鮮な個体、または黄色粘着板をコナジラミ発生施設内に所定の期間設置して得られた捕獲虫を、Amplificard™ (Chemicon 社製) を使用し、説明書に従って DNA を抽出した。

PCR 増幅は、コナジラミを識別するプライマーと TYLCV を検出するプライマーを同一の反応液に混合して行った。前者のプライマーは、mtDNA の rDNA 付近を増幅する、農業生物資源研究所分子進化研究チーム保有の未発表のユニバーサル・プライマー MT62, MT33 (図27) を、TYLCV の検出には TYV, TYC (表 1) を用いた。PCR 増幅には TaKaRa Ex Taq (宝酒造) の Taq DNA ポリメラーゼを用いた。反応条件は図28の通りであった。

結果

試験1 分子マーカーを用いた媒介虫の識別

ユニバーサル・プライマーにより DNA の増幅を試みた結果, mtDNA の rDNA 付近を増幅するプライマーセット (MT50, MT33) により, シルバーリーフは約1.3kbp, オンシツは約1.2kbp の DNA 断片を特異的に増幅することができた。さらに, rDNA に挟まれた tRNA 付近を増幅するプライマーセット (MT62, MT27) によって, 両種の DNA 断片の長さに明瞭な違いが検出された (図29)。このことにより, rDNA 付近の両種の種間差異は, tRNA 付近に存在し, この領域を含む DNA 断片の長さの違いから両種を識別できることが明らかになった。

試験2 コナジラミと TYLCV のプライマーによるマルチプレックス PCR

単一の PCR 反応においてコナジラミ (MT62, MT33) と TYLCV (TYV, TYC) それぞれのプライマーを同時に使用するマルチプレックス PCR により, シルバーリーフ (約800bp), オンシツ (約600bp), TYLCV (1.3kbp) のそれぞれに特異的な DNA 断片を, 同時に増幅することができた (図30)。本法は黄色粘着板に誘殺5日後の媒介虫からは高率に TYLCV を検出できるとともに, 2種の明瞭な識別が可能であったが, 誘殺12日後の媒介虫からは TYLCV をほとんど検出できなかった (図31)。

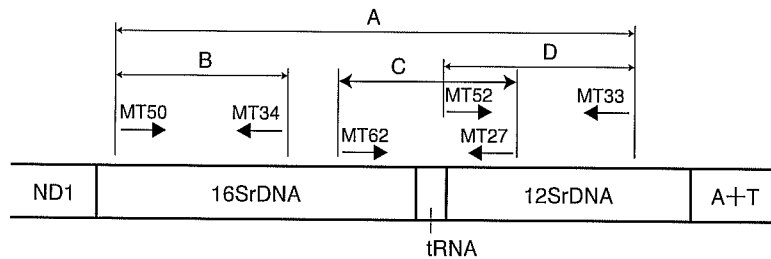


図27 mtDNA の rDNA 周辺のプライマー (村路ら, 未発表)

反応条件

92°C - 2 min
↓
92°C - 1 min
47°C - 30sec
72°C - 1 min
↓
4°C - ∞

} 35cycle

図28 マルチプレックス PCR の反応条件

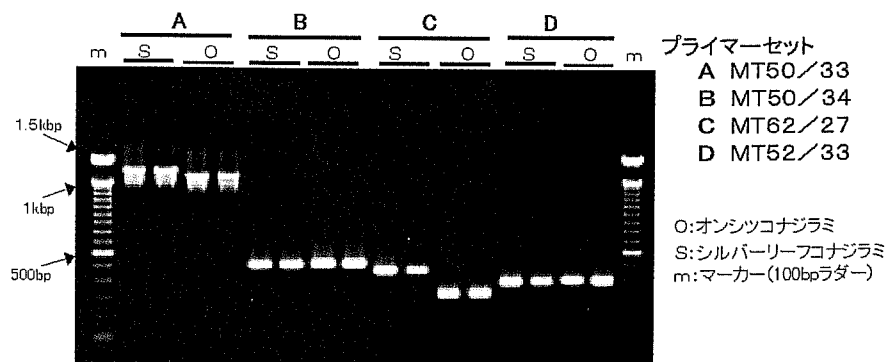


図29 mtDNA の rDNA 周辺のプライマーによるコナジラミ 2 種の PCR 産物の電気泳動像

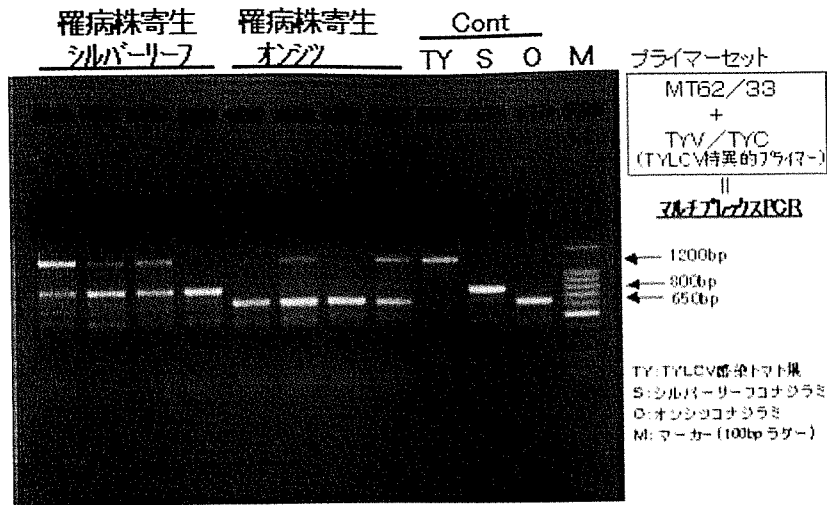
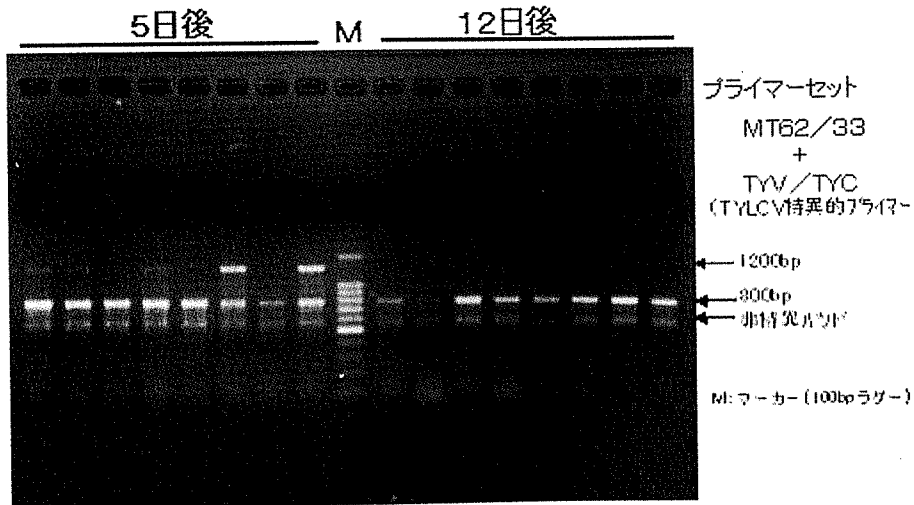


図30 マルチプレックス PCR による TYLCV 罹病株寄生コナジラミおよび PCR 産物の電気泳動像



※トマト黄化葉巻病発生施設内に黄色粘着板を24時間設置してコナジラミ成虫を誘殺した後、室温で一定期間保持し、供試した

図31 黄色粘着板で捕獲したシルバーリーフコナジラミを用いたマルチプレックス PCR のテスト

3) 考 察

試作した黄色吸引トラップは、誘殺したコナジラミ成虫を保毒虫検定に容易に供試でき、キュウリ苗を用いた植物トラップと同等の捕獲能力を持つことから、媒介虫のモニタリングトラップとして利用できると思われる。しかし、捕獲能力が粘着板に劣ることから、実用化のためにはさらに改良を加える必要がある。

植物トラップ以外のトラップでは、捕獲虫が死亡、乾燥して縮むため、形態的特徴による種の識別は困難と考えられた。黄化葉巻病の発生を警戒する目的であれば、種を識別しなくてもよいが、野外における媒介虫の動態を詳しく知るためには、捕獲虫の種を明らかにする必要がある。そこで

PCRにより虫体からウイルスを検出する際に、同時にコナジラミの主要2種を識別する方法を検討した結果、マルチプレックスPCRにより、TYLCVを検出すると同時に、主要なコナジラミ2種を識別できることが明らかとなった。黄色粘着版で捕獲12日後に検出率が低下した原因としては、日数の経過によるTYLCVの不活化や、粘着剤などほかの要因の影響が考えられる。しかし、本試験で行ったマルチプレックスPCRの反応条件が、2つのプライマーセットそれぞれの至適条件とは差があることから、今後は、本法の目的に叶った専用のプライマーを開発することにより、検出精度を改善することが望ましい。

以上の点をふまえて本モニタリング技術を改良

し、野外における保毒虫率について時系列データを積み重ねることで、黄化葉巻病の発生程度との

関係を明らかにでき、本病の要防除水準の検討など発生予察への展開が可能と考えられる。

5. 媒介虫の物理的防除による媒介防止

TYLCVの伝搬方法としては、虫媒伝染のみが知られている¹¹⁾。よって、トマトへの本ウイルスの感染を防ぐためには、まず外部からの媒介虫の侵入を遮断する、あるいは極力減少させることが重要である。ここでは、シルバーリーフに有効な物理的防除技術のうち、施設栽培において侵入防止効果が高く、かつコスト面や処理の簡便性など生産現場へのスムーズな普及が期待できるものを中心に、黄化葉巻病に対する防除効果を検討した。

1) 媒介虫の飛翔高度

材料および方法

長崎県総合農林試験場の環境部ビニルハウス群内において、2001年7月18日～9月10日の間、野外に垂直に立てた高さ5mのポールの、地上からの高さ0.5m、1.5m、2.5m、3.5mおよび4.5mの位置に両面黄色粘着版(ITシート(黄)、10cm×10cm)を垂直方向に設置し、原則7日ごとに交換してコナジラミ類の誘殺数を調査した。

結果

野外に高さ別に設置した黄色粘着板(以下YST)へのコナジラミの誘殺数は、低い位置ほど多く、0.5mで最も多かった。また、高い位置では数は少ないが3.5mまで誘殺が認められた(図32)。

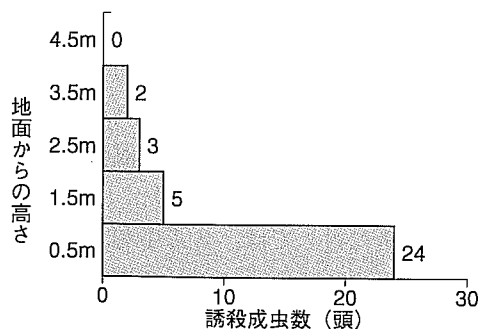


図32 黄色粘着板によるシルバーリーフコナジラミ成虫の高さ別誘殺数
(2001年7月18日～9月10日の累計)

2) 防虫ネット被覆および近紫外線除去(UVA)フィルムの防除効果

材料および方法

長崎県総合農林試験場内の天窓付きビニルハウス(間口6m、長さ9m、高さ3.1m、施設面積54㎡)2棟を用いた。当場内では1999年頃から本病の発生が認められ、試験当時はトマト黄化葉巻病が恒常的に発生する状況であった。

試験1 ネット側面被覆+UVAフィルム被覆による防除効果

2001年に定植時期を分けて2回行った(1回目2001年7月24日定植, 2回目 同9月28日定植)。いずれもトマトを57株ずつ定植し(品種:「ハウス桃太郎」, 畦幅160cm, 株間45cm, 1条植え), 一方を物理的防除区, もう一方を無防除区とした。物理的防除区には被覆資材にUVAフィルム(商品名:ノービカットエース)を使用し, サイドビニル内側には0.6mm目の防虫ネット(商品名:サンサンネットN3000)を展張した。試験期間中は, サイドビニルおよび天窓を開放状態とした。無防除区には一般の農ビ(商品名:ノービエースみらい)を使用し, 試験期間中はサイドビニルを開放状態とした。調査は約7～10日間隔で行い, シルバーリーフについては各区2カ所のトマト株直上部にYSTを設置し, 誘殺虫数を調査した。この際, コナジラミの種を識別できなかったため, コナジラミ類としてすべての個体を計数した。黄化葉巻病については, 各区全株を対象に, 病徴により発病株数を調査した。

試験2 ネット開口部被覆+UVAフィルム被覆による防除効果

2002年に定植時期を分けて2回行った(1回目2002年8月15日定植, 2回目 同10月17日定植)。物理的防除区の防虫ネットを, 施設側面に加え, 施設入り口および天窓開口部にも展張した。この他は試験1に準じ, 調査は定植後10～14日間

隔で行った。また、9月11日～10月7日の間、圃場中央の高さ1.5mの位置の気温を、サーモレコーダーを用いて1時間毎に記録した。

試験3 天窓からの侵入の有無の検討

試験1、2において、ハウスの天窓内側（高さ3m）に、YSTを水平に設置し、定植時から原則7日毎に誘殺成虫数を調査した。2002年10月定植ではこれに加えて片面YSTを、天窓外側へ向けて垂直に設置し、同様に調査した。トラップの設置位置を図33に示した。

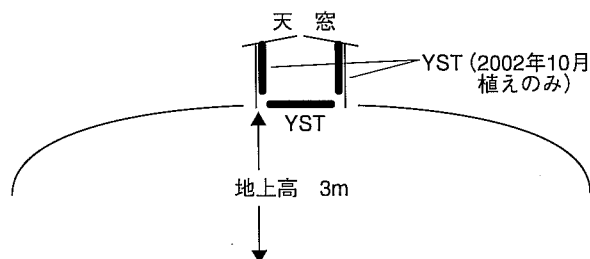


図33 天窓直下の黄色粘着板(YST)の位置

結果

試験1 ネット側面被覆+UVAフィルム展張による防除効果

黄色粘着板によるコナジラミ類の誘殺数は、7月下旬定植の無防除区で定植29日後にかけて着実に増加したのに対し、同物理的防除区では14日後まで成虫の誘殺が認められず、これ以後誘殺数は漸増したが、増加の程度は非常に緩やかであった。同様に、9月下旬定植においても無防除区の誘殺数が定植20日後にかけて急速に増加したのに対し、物理的防除区における誘殺数の増加は緩やかであった（図34）。物理的防除区におけるコナジラミ類誘殺数の無防除区に対する比率は、定植20日後までの累計で、7月下旬定植が6%、9月下旬定植が26%と低かった。また、試験期間の累計では7月下旬定植が26%、9月下旬定植が46%であった。コナジラミ類の発育期間を考慮すると、定植20日頃までの誘殺虫は、ほとんどが施設外から侵入したものと思われ、定植初期におけるコナジラミ類の侵入防止効果が高かったことを表している。

黄化葉巻病に対しては、7月下旬定植では無防除区の発病株率が定植21日後に28%、50日後には40%と増加したのに対し、物理的防除区では定植

21日後で9%、50日後で12%と低く抑えた。9月下旬定植では、定植20日後には無防除区の発病株率13%に対し、物理的防除区7%と少なく、定植初期の感染を抑制する傾向が認められた。しかし、定植31日後以降発病が増加し、44日後、62日後には無処理区と同等の発病株率で推移した（図34）。本試験では発病株を抜き取らずそのまま放置したが、黄化葉巻病の一般的な潜伏期間は約14日以上であることから¹¹⁾、定植20日後頃までの発病株のほとんどは、施設外から侵入したTYLCV保毒虫により定植初期に感染したものと言える。よって本試験では、外部から侵入した媒介虫による感染を7月下旬定植では約1/3に、9月下旬定植では約1/2に抑える防除効果があったと考えられる。

試験2 ネット開口部被覆+UVAフィルム展張による防除効果

コナジラミ類の誘殺数は、8月中旬定植では、無防除区で試験期間を通して増加傾向で推移し、定植39日後には2.5頭/日であったのに対し、物理的防除区では終始0.3頭/日前後で少なく推移した。10月中旬定植では、無防除区における誘殺数のピークが定植20日後の0.6頭/日と、コナジラミ類の発生が少なかったが、物理的防除区ではこれよりさらに少ない0.3頭/日であった（図35）。物理的防除区におけるコナジラミ類誘殺数の無防除区に対する比率は、8月中旬定植が定植26日後までの累計で22%、10月中旬定植が定植22日後までの累計で50%と、定植初期におけるコナジラミ類の侵入防止効果が認められた。本試験では、施設側面に加え、コナジラミ類が侵入する可能性のある施設入口および天窓にも防虫ネットを展張したが、コナジラミ類に対する侵入防止効果は試験1の場合と同程度の結果であった。

施設内気温については、9月中旬～10月上旬の高さ150cmの位置の気温を比較したところ、物理的防除区における晴天日の最高気温は、無処理区に比べて約4℃高かった（図36）。

黄化葉巻病に対しては、8月中旬定植、10月中旬定植とも、すべての区において本病の発生がなかったため、防除効果は確認できなかった。

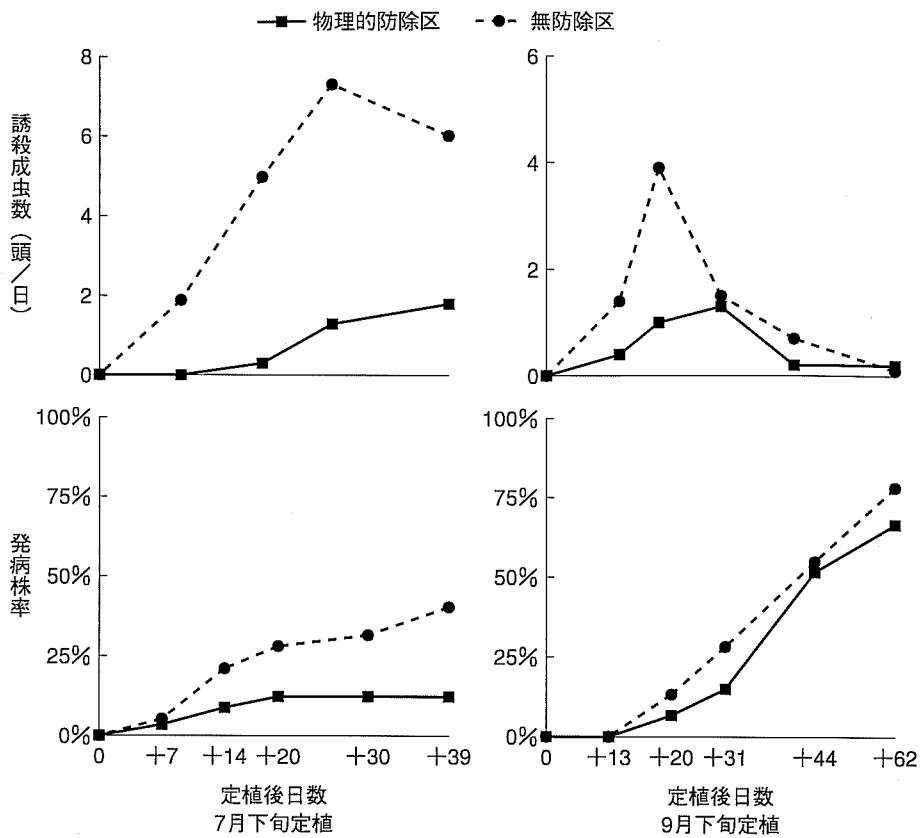


図34 防虫ネット側面被覆とUVAフィルム被覆によるコナジラミ類およびトマト黄化葉巻病の防除効果(試験1)

上段：コナジラミ誘殺数， 下段：トマト黄化葉巻病発病株率 8月中旬定植10月中旬定植

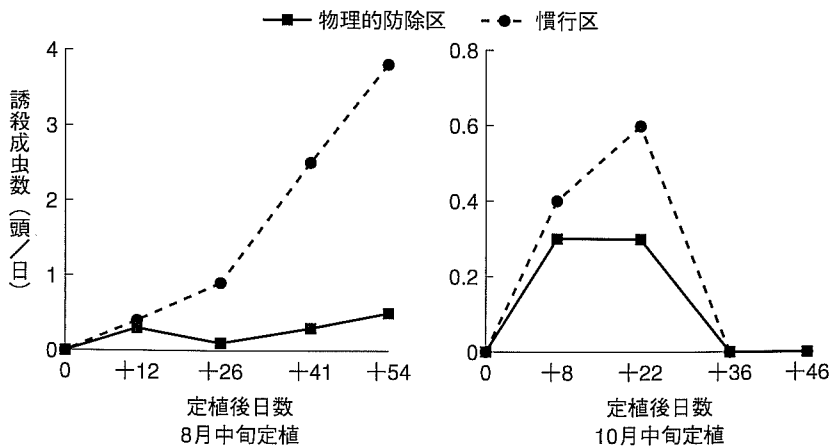


図35 コナジラミ類に対する防虫ネット開口部被覆とUVAフィルム被覆の防除効果(試験2)

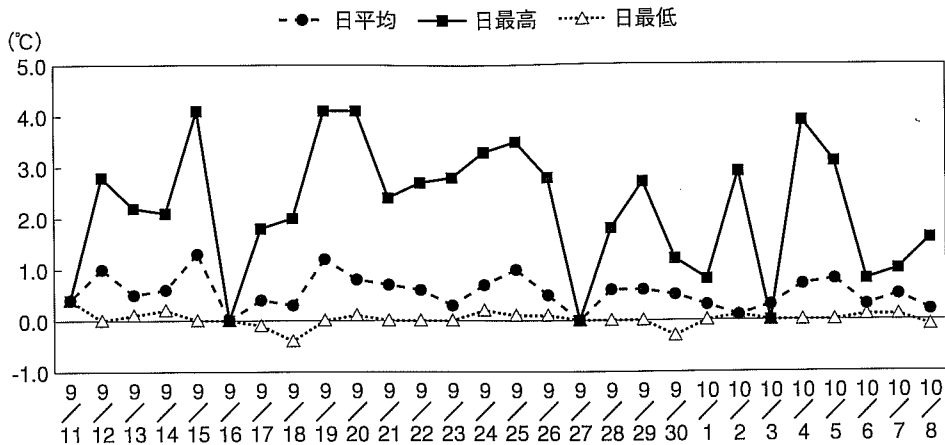


図36 物理的防除区と無防除区の施設内温度較差（試験2）

物理的防除区：防虫ネットを施設開口部に被覆（0.6mm目，商品名 サン サンネットN3000），近紫外線除去フィルム（商品名 ノービカットエース）使用
 無防除区：防虫ネットなし，一般農ビ（商品名ノービエースみらい）使用

試験3 天窓からの侵入の有無の検討

天窓直下に設置したYSTへのコナジラミ誘殺数は，天窓にネットを設置しなかった試験1では慣行区に比べ開放区で明らかに多く（図37），ネットを設置した試験2の8月定植では両区でほとんど差が認められなかった（図38）．しかしこの調査方法では，水平に設置したYSTに，ハウス内

部から上昇気流に乗ってきたコナジラミが多く誘殺された可能性がある．そこで，試験2の10月定植ではYSTを天窓外側へ向けて垂直に設置し，調査を行った．その結果，コナジラミ類誘殺数は試験期間を通して少なく推移し，物理的防除区の誘殺数が慣行区に比べてやや多かったが，両区の間で侵入量に明瞭な差は認められなかった（図39）．

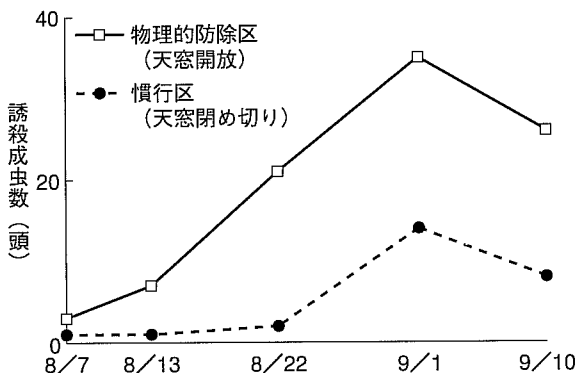


図37 天窓内側に設置した黄色粘着板によるシルバリーフコナジラミ誘殺数（2001年）

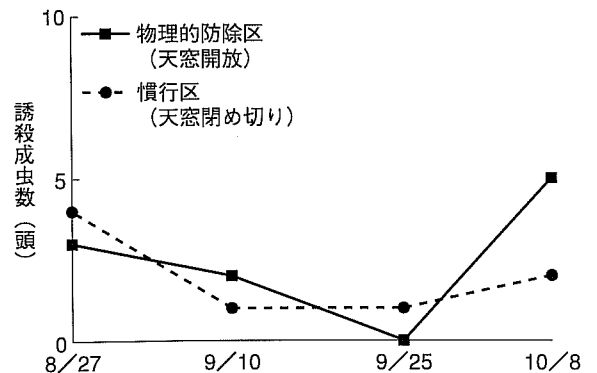


図38 天窓直下に設置した黄色粘着板によるコナジラミ類誘殺成虫数の推移（2002年）

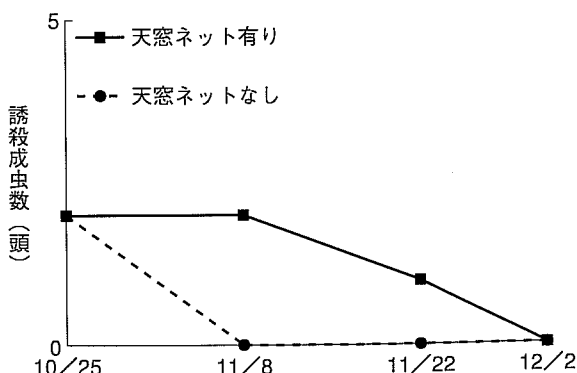


図39 天窓内側に外向け設置した黄色粘着板によるコナジラミ類誘殺成虫数の推移（2002年）

3) 育苗圃に敷設した光反射シートの防除効果材料および方法

2003年に長崎県総合農林試験場内の間口6m，長さ15mの雨よけパイプハウス内で行った．光反射区と慣行区の2区を設け，光反射区には農業用タイベック®ソフトタイプ（デュボン社製）を，慣行区には，古ビニル（外張り被覆に使用した一般農ビ）を，3m×3mの大きさに敷設した（図40）．2003年8月28日に，各区の中央1m×1mに，8月11日に播種，8月26日に10.5cmポリポット鉢上げしたトマト苗（品種：「ハウス桃太郎」）

30ポットを配置し(写真7),直後にTYLCV保毒シルバーリーフが多数寄生したトマト黄化葉巻病罹病株を区間に静置した.試験は2連制で行い,試験開始から5日後および10日後,15日後にシルバーリーフ成虫の寄生数を全株調査した.また,15日後の調査終了後,ピリダベン水和剤を散布してコナジラミを殺虫後,ガラス室内に隔離し,試験開始23日後の9月20日に全株について病徴により発病株数を調査した.

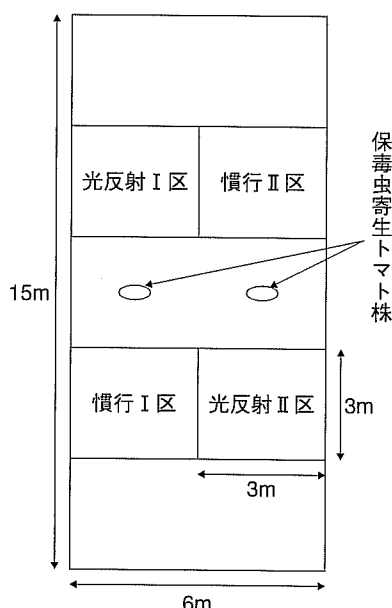


図40 光反射シートの防除効果試験の区配置図

4) 考察

防虫ネット被覆とUVAフィルムは,それぞれ単独でのシルバーリーフに対する防除効果は知られていた^{2),7),30)}.本試験では,これらを組み合わせた場合の防除効果が確認されるとともに,トマト黄化葉巻病に対しても防除効果があることが明らかになった.ただし,本防除法はあくまでも媒介虫の侵入を抑制するものであり,完全に遮断することはできない.よって施設周辺における媒介虫の密度が高まるほど,施設内へ侵入する個体数は相対的に増加し,黄化葉巻病に対する防除効果が低下することが予想される.このような条件下で本法の効果を最大限に発揮させるための要点として,次の2点があげられる.一つは,防虫ネットをどの開口部まで被覆するかである.試験1の9月下旬定植において,定植初期の発病を抑制する傾向が認められたが,定植約30日後以降の発病

結果

光反射区では,慣行区に比べシルバーリーフ成虫の寄生を約9%に,黄化葉巻病の発病株率を約44%に抑制する防除効果が認められた(表13).ただし光反射区では,慣行区に比べトマト葉の矮小化および草丈の抑制が観察されたことから,処理方法については,トマト苗の生長への影響などとあわせて今後詳細な検討が必要である.

表13 育苗圃に敷設した光反射シートのシルバーリーフコナジラミおよびトマト黄化葉巻病に対する防除効果

区	反復	シルバーリーフコナジラミ寄生成虫数			黄化葉巻病発病株数
		9月2日	9月7日	9月12日	9月20日
光反射区	I	3	1	1	14
	II	2	0	5	12
	平均	2.5	0.5	3	13
	無処理比	8.6	2.6	8.0	44.1
慣行区	I	29	16	46	30
	II	29	23	29	29
	平均	29	19.5	37.5	29.5

注) 数字は30株当たり

が無処理区と同程度に増加した.この原因の一つに,天窓に防虫ネットを展張しないまま,終始開放していたことが考えられる.森本ら¹⁴⁾は,天窓内側に設置した粘着トラップへのコナジラミ類の誘殺数は極めて少ないとしている.しかし,太田ら²⁸⁾はシルバーリーフの飛翔高度について,5.5mまで飛翔可能であり,天窓部からの本種の侵入の可能性を指摘している.本試験においても,3.5mの高さまでコナジラミの飛翔が認められ,太田ら²⁸⁾と同様の結果が得られた.天窓へ展張したネットの防除効果については明らかにできなかったが,以上のことからTYLCVの感染防止を目的に物理的防除を行う場合,媒介虫の侵入を可能な限り遮断するために,開口部すべてに防虫ネットを設置することは重要であると考えられる.もう一つは,防虫ネットの目合いである.ネットの目合いが小さくなるほど通気性が悪化し,昇温

によるトマトの花芽分化への悪影響が懸念されることから、目合いの大きさと防除効果の兼ね合いが重要になる。杉山ら（未発表）は、室内実験において0.6mm目合いで68.9%、0.4mm目合いで1.2%のシルバーリーフがネットを通過したことから、シルバーリーフの侵入防止には目合いが0.4mm以下のネットが有効としている。しかし、熊本県における圃場試験では、ネットのみを施設全体に被覆した場合に、1.0mm目で32%、0.8mm目で76%の侵入抑制効果が得られている¹⁵⁾。これらのことから、ネットの目合いが小さいほど黄化葉巻病に対する防除効果は高いが、圃場レベルでは0.4mm目以下でなくとも一定の防除効果は得られると考えられる。本病の主な感染時期は、高温期を含む8～10月である³⁴⁾ことから、現状では目合い0.8～1mmのものを中心に、作型や圃場条件に合わせてネット資材を選択することが妥当と考えられる。

光反射シートは、空からの光を背面に受けて歩行や飛翔等の行動を行う昆虫の“光背反応”を、

シートからの強い反射光によってかく乱すると考えられており¹⁰⁾、トマトでは施設外周に敷設することでコナジラミ類に対し高い侵入防止効果があることが知られている¹⁶⁾。ここでは、本シートを育苗圃に敷設したところ、トマト苗への媒介虫の寄生を抑制し、黄化葉巻病に対して防除効果が認められた。処理方法については、トマトの生長への影響と併せて今後詳細な検討が必要であるが、本シートの利用は、媒介虫に対する有望な防除技術の一つと思われる。

これら物理的防除技術は媒介虫の侵入および寄生を完全に防ぐことはできないが、一定の割合で減少させ、感染機会を減少させる。これにより、化学的防除による媒介抑制効果を高める重要な役割を果たすものと考えられる。ただし防虫ネットについては、より高い防除効果を得るために、目合いのさらに小さいネットが利用可能な昇温抑制技術あるいは栽培システムの開発が必要であろう。

6. 媒介虫に対する有効薬剤の特性の把握と効果的使用技術の検討

シルバーリーフは15分間の吸汁によってTYLCVを感染させることが可能である²⁹⁾。したがって、媒介防止に用いられる防除薬剤は、本種に対して殺虫活性が強く、特に成虫に対しては速効的に作用する必要があると考えられる。本試験では、本種の有効薬剤の中から、速効性が期待できるものを中心にTYLCV媒介抑制効果を検討し、各薬剤の特性を明らかにするとともに、効果的使用技術について検討した。

1) 粒剤の鉢上げ時処理による媒介防止

材料および方法

2001から2002年にかけて、長崎県総合農林試験場内ガラス網室で2回の試験を行った。試験には品種「ハウス桃太郎」を用い、本葉2葉期に12cmポリポットへ鉢上げした。試験開始までは、コナ

ジラミの発生がないガラス室の隔離ケージ内で育苗し、鉢上げ時に次の2通りの方法で供試薬剤を処理した。株元散布：鉢上げ直後に所定の薬量を株元散布し、軽く灌水した(写真8)。培土混和：育苗培土1Lあたりに5gを混和して、ポリポットに詰めて鉢上げした。各試験における供試薬剤および試験区の構成、調査項目を表14および15に示した。薬剤処理後は試験設計にしたがい、保毒虫を隔離飼育しているガラス網室内(暴露室)に順次移して、保毒虫に暴露した。暴露終了時には、屋外に設置した隔離ケージ内にトマト苗を移し、ピリダベンフロアブル1,000倍を散布してコナジラミを殺虫した。1区当たりの株数は18～20株とし、施肥、その他の一般管理は慣行に準じた。

表14 粒剤の鉢上げ時処理による TYLCV 媒介防止試験の供試薬剤及び試験区の構成 (2001年)

薬剤名 および 処理量・方法	暴露期間 ¹⁾			
	0～ 10日	15～ 25日	30～ 45日	0～ 45日
クロチアニジン粒剤 2 g/株株元散布	○			
〃		○		
〃			○	
〃				○
チアメトキサム粒剤 1 g/株株元散布	○			
〃		○		
〃			○	
〃				○
イミダクロプリド粒剤 1 g/株株元散布	○			
〃		○		
〃			○	
〃				○
無処理	○			
〃		○		
〃			○	

1) 暴露室内にトマト苗を置いた期間、鉢上げ後の日数で表す。

表15 粒剤の鉢上げ時処理による TYLCV 媒介防止試験の供試薬剤及び試験区の構成、調査項目 (2002年)

薬剤名 および 処理量・方法	暴露期間 ¹⁾		調査項目			発病 ³⁾ 株数	媒介虫 ⁴⁾ 密度	伸長 ⁵⁾ 量
	5～ 15日	5～ 35日	感染株数 ²⁾					
			10日	20日	30日			
ニテンピラム粒剤 2 g/ℓ培土混和	○				○	○	○	○
〃		○	○	○	○			
ニテンピラム粒剤 5 g/株株元散布	○				○	○	○	○
〃		○	○	○	○			
クロチアニジン粒剤 1 g/株株元散布	○					○	○	○
ジノテフラン粒剤 1 g/株株元散布	○					○	○	○
チアメトキサム粒剤 1 g/株株元散布	○					○	○	○
イミダクロプリド粒剤 1 g/株株元散布	○					○	○	○
ピメトロジン粒剤 1 g/株株元散布	○					○	○	○
無処理	○				○	○	○	○
〃		○	○	○	○			

- 1) 暴露室内にトマト苗を置いた期間、鉢上げ後の日数で表す。
- 2) 暴露開始後10日間隔で生長点付近の未展開葉を採取し、PCR法により感染有無を調査した。
- 3) 5月20日(鉢上げ47日後)に全株について病徴の有無を調査した。
- 4) 4月18日に、全株の展開葉に寄生するシルバーリーフコナジラミ成虫数を調査した。
- 5) 4月5,18日の2回、全株の草丈を調査し、この間のトマト苗の伸長量を求めた。

結果

2001年

クロチアニジン粒剤の2g/株鉢上げ時株元散布は、鉢上げ当日～10日後、15～25日後に暴露した区において、無処理区に比べ罹病株率を低く抑え、高い媒介防止効果が認められた（表16）。本剤は処理後速やかにトマト苗に吸収されて保毒虫に対して速効的に作用し、ウイルス感染を防ぐものと思われた。処理30～45日後に暴露した区では、無処理区に比べると効果は認められるものの、罹病株率が上昇したことから、本剤のウイルス感染防止効果の持続期間は25日程度であると思われた。チアメトキサム粒剤およびイミダクロプリド粒剤の1g/株鉢上げ時株元散布は、無処理に比べ顕著なウイルス感染防止効果が認められず、本試験のように保毒虫が高密度で寄生する条件では、単独での実用的な効果は期待できないと思われた。

各区とも、処理30～45日後に暴露した区では、感染は認められるが病徴が明瞭に現れない株が多かった。これは、暴露終了後、調査日に至るまでポット植えのまま長期間保持したためトマト苗の生長に影響し、新葉の展開が十分でなかったことが原因と思われた。このことから、移植適期を過ぎた苗は病徴が現れにくく、罹病株を本圃へ持ち込む危険性が増すものと思われた。

2002年

ニテンピラム粒剤培土混和の処理後5～35日暴

露区では、鉢上げ後20日目まで、罹病株率が株元散布と同程度に推移した（表17）。しかし処理後5～15日暴露区では、株元散布に比べ防除価が高かったことから、培土混和の防除効果が優る可能性が示唆された（表18）。本試験における培土混和の薬量は、株当たりで換算すると3.5g/株となり、株元散布の薬量に比べ多い。両区の防除価の差が、処理方法の違いによるものか、薬量の差によるものかは明らかでなく今後検討を要する。また、育苗培土混和処理区は鉢上げ後15日を過ぎると感染防止効果が弱まる傾向が認められ（表17）、株元散布に比べ残効性は劣ることが示唆された。

ニテンピラム粒剤およびクロチアニジン粒剤、ジノテフラン粒剤、チアメトキサム粒剤、イミダクロプリド粒剤の鉢上げ時株元散布は、無処理区に比べ発病株率を低く抑え、トマト黄化葉巻病に対する防除効果が認められた。ただしその防除価は、53～80の範囲で薬剤により差があった。ピメトロジン粒剤については防除価が33と低く、本試験のように保毒虫が高密度で寄生する条件では、本処理単独での実用的な防除効果は期待できないと思われた。

また、一部の薬剤処理区では無処理区に比べ生育遅延が観察され、特にクロチアニジン粒剤の2g/株は顕著であった（図41）。しかしいずれも途中からは順調に生育し、栽培上の問題はないと思われた。

表16 粒剤の鉢上げ時株元散布による TYLCV 媒介防止効果（2001年）

薬剤名	処理量	暴露時期	調査株数	病徴		PCR検定		防除価
				罹病株数	罹病株率 %	罹病株数	罹病株率 %	
クロチアニジン粒剤	2g/株	当日～10日	19	1	5.3	1	5.3	80.3
〃	〃	15～25日	19	1	5.3	3	15.8	80.9
〃	〃	30～45日	18	0	0.0	12	66.7	29.8
〃	〃	当日～45日	20	8	40.0	17	85.0	
チアメトキサム粒剤	1g/株	当日～10日	20	4	20.0	4	20.0	28.1
〃	〃	15～25日	20	3	15.0	16	80.0	0
〃	〃	30～45日	20	0	0.0	17	85.0	10.5
〃	〃	当日～45日	20	20	100.0	20	100.0	
イミダクロプリド粒剤	1g/株	当日～10日	20	4	20.0	4	20.0	28.1
〃	〃	15～25日	20	1	5.0	11	55.0	31.3
〃	〃	30～45日	20	1	5.0	18	90.0	5.3
〃	〃	当日～45日	20	12	60.0	20	100.0	
無処理	—	当日～10日	18	5	27.8	5	27.8	—
〃		15～25日	20	20	100.0	16	80.0	—
〃		30～45日	20	0	0.0	19	95.0	—

注) 防除価は罹病株率より算出した。

表17 ニテンピラム粒剤の鉢上げ時の異なる処理方法による TYLCV 媒介防止効果 (2002年)

薬剤名	処理量	処理方法	暴露期間	調査株数	罹病株数			罹病株率 (%)		
					4/18	4/28	5/8	4/18	4/28	5/8
					10日目	20日目	30日目	10日目	20日目	30日目
ニテンピラム粒剤	5 g / 1L	培土混和	処理後 5 ~ 15日	20			1			5.0
〃	〃	〃	処理後 5 ~ 35日	20	0	4	19	0.0	20.0	95.0
〃	2 g / 株	株元散布	処理後 5 ~ 15日	20			6			30.0
〃	〃	〃	処理後 5 ~ 35日	20	0	5	11	0.0	25.0	55.0
無処理	—	—	処理後 5 ~ 15日	20			19			95.0
〃	〃	〃	処理後 5 ~ 35日	20	0	7	20	0.0	35.0	100.0

表18 粒剤の鉢上げ時処理による TYLCV 媒介防止効果 (2002年)

薬剤名	処理量	処理方法	供試株数	葉当たり寄生虫数 ¹⁾	発病株率 ²⁾	防除価
ニテンピラム粒剤	5 g / L	培土混和	20	頭	5	93.3
〃	2 g	株元散布	20	0.17	30	60.0
クロチアニジン粒剤	1 g	株元散布	20	0.20	25	66.7
チアメトキサム粒剤	1 g	株元散布	20	0.22	20	73.3
ジノテフラン粒剤	1 g	株元散布	20	0.18	15	80.0
イミダクロプリド粒剤	1 g	株元散布	20	0.11	35	53.3
ピメトロジン粒剤	1 g	株元散布	20	0.68	50	33.3
無処理	—	—	20	1.43	75	

注) 各区とも処理 5 ~ 15日後 (10日間) に保毒虫へ暴露した

1) 4月18日調査

2) 5月20日調査

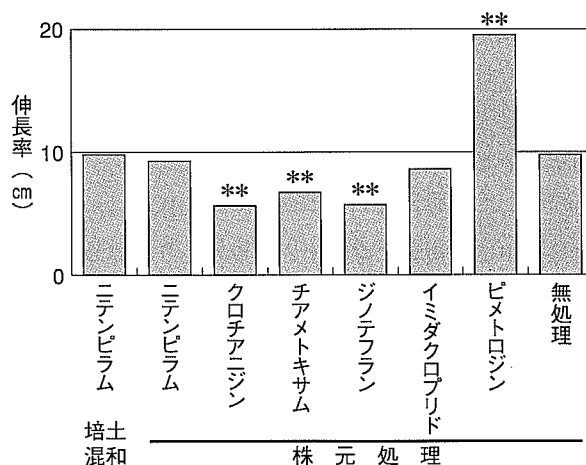


図41 粒剤の鉢上げ時処理試験における処理 2 日後から 13 日間のトマト苗伸長量

** : 無処理との間で 1% 水準で有意差有り (Dunnett 法)

2) 粒剤の育苗後期処理による媒介防止

材料および方法

試験は2001から2003年にかけて、長崎県総合農林試験場内ビニルハウスのトマト促成栽培圃場で3回行った。品種は「ハウス桃太郎」を用いた。各試験における供試薬剤および試験区の構成を表19に、調査項目および方法を表20に示した。トマト苗は、シルバーリーフの寄生を受けないようガラス室の隔離ケージ内で育苗した。試験設計にし

たがって薬剤を処理した後、定植した直後に、媒介虫の供給源として、シルバーリーフ成幼虫が多数寄生したキャベツ苗および黄化葉巻病発病株を、ハウス内通路に2~6カ所配置した。各試験における供給源の数および位置については、各区への距離に偏りが生じないように配慮した。耕種概要ならびに試験規模は表21のとおりであり、その他の一般管理は慣行に準じた。

表19 粒剤の育苗後期処理による TYLCV 媒介防止試験の供試薬剤及び試験区の構成

試験年	薬剤名および 処理量, 方法	処理時期 ¹⁾		
		-5~-4日 ²⁾	-1日	0日
2001年	アセタミプリド粒剤 1g/株株元散布	○	-	-
	ピメトロジン粒剤 1g/株株元散布	○	-	-
	アセタミプリド粒剤 1g/株植穴土壌混和	-	-	○
	無処理	-	-	-
	無処理	-	-	-
2002年	アセタミプリド粒剤 1g/株株元散布	○	-	-
	チアメトキサム粒剤 1g/株株元散布	○	-	-
	アセタミプリド粒剤 1g/株植穴土壌混和	-	ピリ ³⁾	○
	〃	-	-	○
	無処理	-	-	-
2003年	ジノテフラン粒剤 1g/株株元散布	○	-	-
	イミダクロプリド粒剤 1g/株株元散布	○	-	-
	無処理	-	-	-
	無処理	-	-	-

- 1) 定植日を基準にした日数で示す
- 2) 2001年は-4日, 2002, 2003年は-5日
- 3) ピリダベンフロアブル1000倍散布

表20 粒剤の育苗後期処理による TYLCV 媒介防止試験の調査項目及び方法

試験年	調査項目及び調査方法, 調査日
2001年	調査日: 定植時から7~14日毎 寄生密度調査: 各区5株の下位から1複葉をマークし, 調査日毎に1小葉を採取して寄生幼虫数および蛹数, 卵数を実体顕微鏡下で調査した. 発病株調査: 生長点の病徴により発病株数を調査した.
2002年	調査日: 定植時から原則10日毎 寄生密度調査: 各区全株の中位3複葉に寄生するシルバーリーフコナジラミ成虫について, 見取り調査を行った. また, 各区中央5株の下位2複葉からそれぞれ1小葉ずつを採取し, 実体顕微鏡下で寄生幼虫・蛹数を調査した. 罹病株調査: 成長点の病徴により発病株数を調査するとともに, 未発病株については成長点付近の未展開葉を採取し, PCR法により感染の有無を検定した.
2003年	調査日: 定植6日後から10日毎 罹病株調査: 病徴により各区の発病株数を調査した. また, 未発病株については成長点付近の未展開葉を採集し, Print-capture PCR法により感染の有無を検定した(定植6日後を除く). 媒介虫寄生調査: 各区全株の中位3複葉に寄生するシルバーリーフコナジラミ成虫について, 見取り調査を行った(定植25日後を除く).

表21 粒剤の育苗後期処理による TYLCV 媒介防止試験の耕種概要, 試験規模等

試験年	耕種概要及び試験規模
2001年	播種: 7月4日, 鉢上げ: 8月16日, 定植: 9月14日2条植え, 畦幅: 160cm, 株間および条間: 各40cm, 試験規模: 1区10株, 3反復
2002年	播種: 8月10日, 鉢上げ: 8月下旬, 定植: 9月25日1条植え, 畦幅: 130cm, 株間: 40cm, 試験規模: 1区10株, 3反復
2003年	播種: 7月31日, 鉢上げ: 8月中旬, 定植: 10月6日1条植え, 畦幅: 120cm, 株間: 35cm, 試験規模: 1区10株, 2反復 その他: 8月20日にピリダベンフロアブル1000倍, 9月1日にチアメトキサム顆粒水溶剤を散布した.

結 果

2001年

アセタミプリド粒剤およびピメトロジン粒剤の1g/株、定植4日前株元処理は、シルバーリーフに対し、定植21日後まで無処理に比べ卵および幼虫、蛹数を低く抑え、防除効果が認められた(表22)。いずれも定植35日後には幼虫数が増加しており、残効が失われたものと思われた。アセタミプリド粒剤は、黄化葉巻病に対して定植35日後まで対照の同剤当日処理および無処理に比べ発病株数を顕著に抑制した(表23)。定植49日後に発病株数が急激に増加したが、ウイルスの潜伏期間を考慮すると、本処理の感染防止効果は定植後30日前後まで持続した可能性が高い。これに対し、ピメトロジン粒剤は定植35日後までの発病株の増加が対照および無処理に比べ緩やかであったが、定植14日後から発病が認められ、本剤の感染防止効果はやや低いものと思われた。

2002年

シルバーリーフ成虫の密度は、無処理区では3複葉当たり約1頭で推移したのに対し、粒剤を処理したすべての区で、無処理区に比べ低い密度で推移した。幼虫・蛹についても各粒剤処理区では試験終了まで寄生がほとんど認められず、本種に対する高い防除効果が認められた(表24)。

黄化葉巻病の罹病株は、ピリダベン水和剤+アセタミプリド粒剤区を除いて、定植10日後から認められた。その後無処理区では定植30日後までに発病が急増したのに対し、各粒剤処理区では、反復間で差が生じたが本病の感染・発病を低く抑えた(表25)。定植30日後以降は無処理区での発病の増加がほとんど見られなかったため、防除効果の持続期間の推定は難しいが、黄化葉巻病の一般的な潜伏期間は14日である¹¹⁾ことから、各粒剤処理区では少なくとも定植後20日頃までは、媒介抑

制効果が発揮されたと考えられる。試験終了時の罹病株率もほぼ20%以内に収まったことから、本試験においては各処理区とも実用的な効果が得られたものと考えられる。薬剤間および施用時期による効果の差は認められず、本試験と同じ程度の密度条件においては、定植時処理でも育苗後期処理と同等の防除効果が得られる可能性が示された。ピリダベン水和剤定植前日散布+アセタミプリド粒剤定植時処理区では、定植10日後に罹病株が認められなかったことから、定植前日の薬剤散布により定植直後の感染を抑制した可能性はあるが、対照区の発病もわずかであり、両区の差は判然としなかった。

2003年

シルバーリーフ成虫の密度は、反復間の差は生じたが無処理区で3複葉当たり0.25~1.05頭と低い密度で推移した。ジノテフラン粒剤区の密度指数は、無処理比0~19.0で推移し、対照のイミダクロプリド粒剤区に優る高い防除効果が認められた(表26)。黄化葉巻病の防除効果は、定植15日後の罹病株率の無処理比が45.5%と、対照区にやや劣ると思われた(表27)。しかしその後は、両区とも無処理区と同程度まで感染、発病が増加したため、対照薬剤との差はあまり無いものと思われた。

本試験では、試験1、2に比べると媒介虫の密度の割に、対照薬剤の防除効果が低く、効果の持続期間も短い結果となった。この原因は判然としないが、媒介虫の密度、罹病株率とも反復間に差が生じたこと、また、試験区に配置した伝染源が、試験開始約10日後には枯死したことなどから、媒介虫の分布のバラツキや供試株に対する媒介虫の依存度が高まったこと等が影響したのではないかと推察された。

表22 粒剤の育苗後期処理のシルバーリーフコナジラミに対する防除効果（2001年）

区	反復	15小葉当たり寄生虫数																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																			
		9月21日 7日後				10月5日 21日後				10月19日 35日後				11月2日 49日後																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																							
		卵	幼虫	蛹	計	卵	幼虫	蛹	計	卵	幼虫	蛹	計	卵	幼虫	蛹	計																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																				
アセタミプリド粒剤 4日前 株元処理	1	0	0	0		3	0	0		12	0	0		6	11	0			2	0	0	0		0	0	0		3	16	2		9	23	3			3	0	0	0		0	0	0		0	3	0		0	3	0			計	0	0	0	0	3	0	0	3	15	19	2	36	15	37	3	55										(27.3)				(92.3)				(51.89)	ピメトロジン粒剤 4日前 株元処理	1	0	0	0		3	0	0		0	3	0		14	11	1			2	0	0	0		3	2	0		8	11	2		3	23	6			3	0	0	0		0	0	0		0	5	0	29	0	2	0			計	0	0	0	0	6	2	0	8	8	19	2		17	36	7	60										(72.7)				(74.4)				(56.6)	アセタミプリド粒剤 定植当日 植穴処理	1	0	0	0		0	0	0		0	3	1		15	14	5			2	0	0	0		0	0	0		6	2	0		2	7	0			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		5	2	0			計	0	0	0	0	0	0	0	0	6	5	1	12	22	23	5	50										(0)				(30.8)				(47.17)	無処理	1	0	0	0		3	3	0		0	3	0		10	8	0			2	0	0	0		0	5	0		8	22	6		31	41	6			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		3	7	0			計	0	0	0	0	3	8	0	11	8	25	6	39	44	56	6	106
	2	0	0	0		0	0	0		3	16	2		9	23	3			3	0	0	0		0	0	0		0	3	0		0	3	0			計	0	0	0	0	3	0	0	3	15	19	2	36	15	37	3	55										(27.3)				(92.3)				(51.89)	ピメトロジン粒剤 4日前 株元処理	1	0	0	0		3	0	0		0	3	0		14	11	1			2	0	0	0		3	2	0		8	11	2		3	23	6			3	0	0	0		0	0	0		0	5	0	29	0	2	0			計	0	0	0	0	6	2	0	8	8	19	2		17	36	7	60										(72.7)				(74.4)				(56.6)	アセタミプリド粒剤 定植当日 植穴処理	1	0	0	0		0	0	0		0	3	1		15	14	5			2	0	0	0		0	0	0		6	2	0		2	7	0			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		5	2	0			計	0	0	0	0	0	0	0	0	6	5	1	12	22	23	5	50										(0)				(30.8)				(47.17)	無処理	1	0	0	0		3	3	0		0	3	0		10	8	0			2	0	0	0		0	5	0		8	22	6		31	41	6			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		3	7	0			計	0	0	0	0	3	8	0	11	8	25	6	39	44	56	6	106																		
	3	0	0	0		0	0	0		0	3	0		0	3	0			計	0	0	0	0	3	0	0	3	15	19	2	36	15	37	3	55										(27.3)				(92.3)				(51.89)	ピメトロジン粒剤 4日前 株元処理	1	0	0	0		3	0	0		0	3	0		14	11	1			2	0	0	0		3	2	0		8	11	2		3	23	6			3	0	0	0		0	0	0		0	5	0	29	0	2	0			計	0	0	0	0	6	2	0	8	8	19	2		17	36	7	60										(72.7)				(74.4)				(56.6)	アセタミプリド粒剤 定植当日 植穴処理	1	0	0	0		0	0	0		0	3	1		15	14	5			2	0	0	0		0	0	0		6	2	0		2	7	0			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		5	2	0			計	0	0	0	0	0	0	0	0	6	5	1	12	22	23	5	50										(0)				(30.8)				(47.17)	無処理	1	0	0	0		3	3	0		0	3	0		10	8	0			2	0	0	0		0	5	0		8	22	6		31	41	6			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		3	7	0			計	0	0	0	0	3	8	0	11	8	25	6	39	44	56	6	106																																				
	計	0	0	0	0	3	0	0	3	15	19	2	36	15	37	3	55										(27.3)				(92.3)				(51.89)	ピメトロジン粒剤 4日前 株元処理	1	0	0	0		3	0	0		0	3	0		14	11	1			2	0	0	0		3	2	0		8	11	2		3	23	6			3	0	0	0		0	0	0		0	5	0	29	0	2	0			計	0	0	0	0	6	2	0	8	8	19	2		17	36	7	60										(72.7)				(74.4)				(56.6)	アセタミプリド粒剤 定植当日 植穴処理	1	0	0	0		0	0	0		0	3	1		15	14	5			2	0	0	0		0	0	0		6	2	0		2	7	0			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		5	2	0			計	0	0	0	0	0	0	0	0	6	5	1	12	22	23	5	50										(0)				(30.8)				(47.17)	無処理	1	0	0	0		3	3	0		0	3	0		10	8	0			2	0	0	0		0	5	0		8	22	6		31	41	6			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		3	7	0			計	0	0	0	0	3	8	0	11	8	25	6	39	44	56	6	106																																																						
									(27.3)				(92.3)				(51.89)	ピメトロジン粒剤 4日前 株元処理	1	0	0	0		3	0	0		0	3	0		14	11	1			2	0	0	0		3	2	0		8	11	2		3	23	6			3	0	0	0		0	0	0		0	5	0	29	0	2	0			計	0	0	0	0	6	2	0	8	8	19	2		17	36	7	60										(72.7)				(74.4)				(56.6)	アセタミプリド粒剤 定植当日 植穴処理	1	0	0	0		0	0	0		0	3	1		15	14	5			2	0	0	0		0	0	0		6	2	0		2	7	0			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		5	2	0			計	0	0	0	0	0	0	0	0	6	5	1	12	22	23	5	50										(0)				(30.8)				(47.17)	無処理	1	0	0	0		3	3	0		0	3	0		10	8	0			2	0	0	0		0	5	0		8	22	6		31	41	6			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		3	7	0			計	0	0	0	0	3	8	0	11	8	25	6	39	44	56	6	106																																																																								
ピメトロジン粒剤 4日前 株元処理	1	0	0	0		3	0	0		0	3	0		14	11	1			2	0	0	0		3	2	0		8	11	2		3	23	6			3	0	0	0		0	0	0		0	5	0	29	0	2	0			計	0	0	0	0	6	2	0	8	8	19	2		17	36	7	60										(72.7)				(74.4)				(56.6)	アセタミプリド粒剤 定植当日 植穴処理	1	0	0	0		0	0	0		0	3	1		15	14	5			2	0	0	0		0	0	0		6	2	0		2	7	0			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		5	2	0			計	0	0	0	0	0	0	0	0	6	5	1	12	22	23	5	50										(0)				(30.8)				(47.17)	無処理	1	0	0	0		3	3	0		0	3	0		10	8	0			2	0	0	0		0	5	0		8	22	6		31	41	6			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		3	7	0			計	0	0	0	0	3	8	0	11	8	25	6	39	44	56	6	106																																																																																										
	2	0	0	0		3	2	0		8	11	2		3	23	6			3	0	0	0		0	0	0		0	5	0	29	0	2	0			計	0	0	0	0	6	2	0	8	8	19	2		17	36	7	60										(72.7)				(74.4)				(56.6)	アセタミプリド粒剤 定植当日 植穴処理	1	0	0	0		0	0	0		0	3	1		15	14	5			2	0	0	0		0	0	0		6	2	0		2	7	0			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		5	2	0			計	0	0	0	0	0	0	0	0	6	5	1	12	22	23	5	50										(0)				(30.8)				(47.17)	無処理	1	0	0	0		3	3	0		0	3	0		10	8	0			2	0	0	0		0	5	0		8	22	6		31	41	6			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		3	7	0			計	0	0	0	0	3	8	0	11	8	25	6	39	44	56	6	106																																																																																																												
	3	0	0	0		0	0	0		0	5	0	29	0	2	0			計	0	0	0	0	6	2	0	8	8	19	2		17	36	7	60										(72.7)				(74.4)				(56.6)	アセタミプリド粒剤 定植当日 植穴処理	1	0	0	0		0	0	0		0	3	1		15	14	5			2	0	0	0		0	0	0		6	2	0		2	7	0			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		5	2	0			計	0	0	0	0	0	0	0	0	6	5	1	12	22	23	5	50										(0)				(30.8)				(47.17)	無処理	1	0	0	0		3	3	0		0	3	0		10	8	0			2	0	0	0		0	5	0		8	22	6		31	41	6			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		3	7	0			計	0	0	0	0	3	8	0	11	8	25	6	39	44	56	6	106																																																																																																																														
	計	0	0	0	0	6	2	0	8	8	19	2		17	36	7	60										(72.7)				(74.4)				(56.6)	アセタミプリド粒剤 定植当日 植穴処理	1	0	0	0		0	0	0		0	3	1		15	14	5			2	0	0	0		0	0	0		6	2	0		2	7	0			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		5	2	0			計	0	0	0	0	0	0	0	0	6	5	1	12	22	23	5	50										(0)				(30.8)				(47.17)	無処理	1	0	0	0		3	3	0		0	3	0		10	8	0			2	0	0	0		0	5	0		8	22	6		31	41	6			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		3	7	0			計	0	0	0	0	3	8	0	11	8	25	6	39	44	56	6	106																																																																																																																																																
									(72.7)				(74.4)				(56.6)	アセタミプリド粒剤 定植当日 植穴処理	1	0	0	0		0	0	0		0	3	1		15	14	5			2	0	0	0		0	0	0		6	2	0		2	7	0			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		5	2	0			計	0	0	0	0	0	0	0	0	6	5	1	12	22	23	5	50										(0)				(30.8)				(47.17)	無処理	1	0	0	0		3	3	0		0	3	0		10	8	0			2	0	0	0		0	5	0		8	22	6		31	41	6			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		3	7	0			計	0	0	0	0	3	8	0	11	8	25	6	39	44	56	6	106																																																																																																																																																																		
アセタミプリド粒剤 定植当日 植穴処理	1	0	0	0		0	0	0		0	3	1		15	14	5			2	0	0	0		0	0	0		6	2	0		2	7	0			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		5	2	0			計	0	0	0	0	0	0	0	0	6	5	1	12	22	23	5	50										(0)				(30.8)				(47.17)	無処理	1	0	0	0		3	3	0		0	3	0		10	8	0			2	0	0	0		0	5	0		8	22	6		31	41	6			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		3	7	0			計	0	0	0	0	3	8	0	11	8	25	6	39	44	56	6	106																																																																																																																																																																																				
	2	0	0	0		0	0	0		6	2	0		2	7	0			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		5	2	0			計	0	0	0	0	0	0	0	0	6	5	1	12	22	23	5	50										(0)				(30.8)				(47.17)	無処理	1	0	0	0		3	3	0		0	3	0		10	8	0			2	0	0	0		0	5	0		8	22	6		31	41	6			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		3	7	0			計	0	0	0	0	3	8	0	11	8	25	6	39	44	56	6	106																																																																																																																																																																																																						
	3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		5	2	0			計	0	0	0	0	0	0	0	0	6	5	1	12	22	23	5	50										(0)				(30.8)				(47.17)	無処理	1	0	0	0		3	3	0		0	3	0		10	8	0			2	0	0	0		0	5	0		8	22	6		31	41	6			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		3	7	0			計	0	0	0	0	3	8	0	11	8	25	6	39	44	56	6	106																																																																																																																																																																																																																								
	計	0	0	0	0	0	0	0	0	6	5	1	12	22	23	5	50										(0)				(30.8)				(47.17)	無処理	1	0	0	0		3	3	0		0	3	0		10	8	0			2	0	0	0		0	5	0		8	22	6		31	41	6			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		3	7	0			計	0	0	0	0	3	8	0	11	8	25	6	39	44	56	6	106																																																																																																																																																																																																																																										
									(0)				(30.8)				(47.17)	無処理	1	0	0	0		3	3	0		0	3	0		10	8	0			2	0	0	0		0	5	0		8	22	6		31	41	6			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		3	7	0			計	0	0	0	0	3	8	0	11	8	25	6	39	44	56	6	106																																																																																																																																																																																																																																																												
無処理	1	0	0	0		3	3	0		0	3	0		10	8	0			2	0	0	0		0	5	0		8	22	6		31	41	6			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		3	7	0			計	0	0	0	0	3	8	0	11	8	25	6	39	44	56	6	106																																																																																																																																																																																																																																																																														
	2	0	0	0		0	5	0		8	22	6		31	41	6			3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		3	7	0			計	0	0	0	0	3	8	0	11	8	25	6	39	44	56	6	106																																																																																																																																																																																																																																																																																																
	3	0	0	0		0	0	0		0	0	0		3	7	0			計	0	0	0	0	3	8	0	11	8	25	6	39	44	56	6	106																																																																																																																																																																																																																																																																																																																		
	計	0	0	0	0	3	8	0	11	8	25	6	39	44	56	6	106																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																				

注) () 内は密度指数

表23 粒剤の育苗後期処理のトマト黄化葉巻病に対する効果（2001年）

区	反復	調査 株数	発病株数																																																																																																																																																																							
			9/28	10/5	10/12	10/19	11/2	11/9																																																																																																																																																																		
			14日後	21日後	28日後	35日後	49日後	56日後																																																																																																																																																																		
アセタミプリド粒剤 定植4日前 株元処理	1	10	0	0	0	1	7	8		2	10	0	0	0	0	6	7		3	10	0	0	2	2	7	9		計	30	0	0	2	3	20	24				{0.0}	{0.0}	{10.5}	{13.0}	{76.9}	{85.7}	ピメトロジン粒剤 定植4日前 株元処理	1	10	1	3	4	5	9	9		2	10	1	2	2	4	7	10		3	10	0	0	2	2	5	7		計	30	2	5	8	11	21	26				{16.7}	{33.3}	{42.1}	{47.8}	{80.8}	{92.9}	アセタミプリド粒剤 定植当日 植穴処理	1	10	4	5	7	7	9	10		2	10	2	2	3	5	5	7		3	10	4	4	5	6	8	9		計	30	10	11	15	18	22	26				{83.3}	{73.3}	{78.9}	{78.3}	{84.6}	{92.9}	無処理	1	10	5	5	7	8	8	8		2	10	3	6	7	7	9	10		3	10	4	4	5	8	9	10		計	30	12	15	19	23	26	28
	2	10	0	0	0	0	6	7		3	10	0	0	2	2	7	9		計	30	0	0	2	3	20	24				{0.0}	{0.0}	{10.5}	{13.0}	{76.9}	{85.7}	ピメトロジン粒剤 定植4日前 株元処理	1	10	1	3	4	5	9	9		2	10	1	2	2	4	7	10		3	10	0	0	2	2	5	7		計	30	2	5	8	11	21	26				{16.7}	{33.3}	{42.1}	{47.8}	{80.8}	{92.9}	アセタミプリド粒剤 定植当日 植穴処理	1	10	4	5	7	7	9	10		2	10	2	2	3	5	5	7		3	10	4	4	5	6	8	9		計	30	10	11	15	18	22	26				{83.3}	{73.3}	{78.9}	{78.3}	{84.6}	{92.9}	無処理	1	10	5	5	7	8	8	8		2	10	3	6	7	7	9	10		3	10	4	4	5	8	9	10		計	30	12	15	19	23	26	28									
	3	10	0	0	2	2	7	9		計	30	0	0	2	3	20	24				{0.0}	{0.0}	{10.5}	{13.0}	{76.9}	{85.7}	ピメトロジン粒剤 定植4日前 株元処理	1	10	1	3	4	5	9	9		2	10	1	2	2	4	7	10		3	10	0	0	2	2	5	7		計	30	2	5	8	11	21	26				{16.7}	{33.3}	{42.1}	{47.8}	{80.8}	{92.9}	アセタミプリド粒剤 定植当日 植穴処理	1	10	4	5	7	7	9	10		2	10	2	2	3	5	5	7		3	10	4	4	5	6	8	9		計	30	10	11	15	18	22	26				{83.3}	{73.3}	{78.9}	{78.3}	{84.6}	{92.9}	無処理	1	10	5	5	7	8	8	8		2	10	3	6	7	7	9	10		3	10	4	4	5	8	9	10		計	30	12	15	19	23	26	28																		
	計	30	0	0	2	3	20	24				{0.0}	{0.0}	{10.5}	{13.0}	{76.9}	{85.7}	ピメトロジン粒剤 定植4日前 株元処理	1	10	1	3	4	5	9	9		2	10	1	2	2	4	7	10		3	10	0	0	2	2	5	7		計	30	2	5	8	11	21	26				{16.7}	{33.3}	{42.1}	{47.8}	{80.8}	{92.9}	アセタミプリド粒剤 定植当日 植穴処理	1	10	4	5	7	7	9	10		2	10	2	2	3	5	5	7		3	10	4	4	5	6	8	9		計	30	10	11	15	18	22	26				{83.3}	{73.3}	{78.9}	{78.3}	{84.6}	{92.9}	無処理	1	10	5	5	7	8	8	8		2	10	3	6	7	7	9	10		3	10	4	4	5	8	9	10		計	30	12	15	19	23	26	28																											
			{0.0}	{0.0}	{10.5}	{13.0}	{76.9}	{85.7}	ピメトロジン粒剤 定植4日前 株元処理	1	10	1	3	4	5	9	9		2	10	1	2	2	4	7	10		3	10	0	0	2	2	5	7		計	30	2	5	8	11	21	26				{16.7}	{33.3}	{42.1}	{47.8}	{80.8}	{92.9}	アセタミプリド粒剤 定植当日 植穴処理	1	10	4	5	7	7	9	10		2	10	2	2	3	5	5	7		3	10	4	4	5	6	8	9		計	30	10	11	15	18	22	26				{83.3}	{73.3}	{78.9}	{78.3}	{84.6}	{92.9}	無処理	1	10	5	5	7	8	8	8		2	10	3	6	7	7	9	10		3	10	4	4	5	8	9	10		計	30	12	15	19	23	26	28																																				
ピメトロジン粒剤 定植4日前 株元処理	1	10	1	3	4	5	9	9		2	10	1	2	2	4	7	10		3	10	0	0	2	2	5	7		計	30	2	5	8	11	21	26				{16.7}	{33.3}	{42.1}	{47.8}	{80.8}	{92.9}	アセタミプリド粒剤 定植当日 植穴処理	1	10	4	5	7	7	9	10		2	10	2	2	3	5	5	7		3	10	4	4	5	6	8	9		計	30	10	11	15	18	22	26				{83.3}	{73.3}	{78.9}	{78.3}	{84.6}	{92.9}	無処理	1	10	5	5	7	8	8	8		2	10	3	6	7	7	9	10		3	10	4	4	5	8	9	10		計	30	12	15	19	23	26	28																																													
	2	10	1	2	2	4	7	10		3	10	0	0	2	2	5	7		計	30	2	5	8	11	21	26				{16.7}	{33.3}	{42.1}	{47.8}	{80.8}	{92.9}	アセタミプリド粒剤 定植当日 植穴処理	1	10	4	5	7	7	9	10		2	10	2	2	3	5	5	7		3	10	4	4	5	6	8	9		計	30	10	11	15	18	22	26				{83.3}	{73.3}	{78.9}	{78.3}	{84.6}	{92.9}	無処理	1	10	5	5	7	8	8	8		2	10	3	6	7	7	9	10		3	10	4	4	5	8	9	10		計	30	12	15	19	23	26	28																																																						
	3	10	0	0	2	2	5	7		計	30	2	5	8	11	21	26				{16.7}	{33.3}	{42.1}	{47.8}	{80.8}	{92.9}	アセタミプリド粒剤 定植当日 植穴処理	1	10	4	5	7	7	9	10		2	10	2	2	3	5	5	7		3	10	4	4	5	6	8	9		計	30	10	11	15	18	22	26				{83.3}	{73.3}	{78.9}	{78.3}	{84.6}	{92.9}	無処理	1	10	5	5	7	8	8	8		2	10	3	6	7	7	9	10		3	10	4	4	5	8	9	10		計	30	12	15	19	23	26	28																																																															
	計	30	2	5	8	11	21	26				{16.7}	{33.3}	{42.1}	{47.8}	{80.8}	{92.9}	アセタミプリド粒剤 定植当日 植穴処理	1	10	4	5	7	7	9	10		2	10	2	2	3	5	5	7		3	10	4	4	5	6	8	9		計	30	10	11	15	18	22	26				{83.3}	{73.3}	{78.9}	{78.3}	{84.6}	{92.9}	無処理	1	10	5	5	7	8	8	8		2	10	3	6	7	7	9	10		3	10	4	4	5	8	9	10		計	30	12	15	19	23	26	28																																																																								
			{16.7}	{33.3}	{42.1}	{47.8}	{80.8}	{92.9}	アセタミプリド粒剤 定植当日 植穴処理	1	10	4	5	7	7	9	10		2	10	2	2	3	5	5	7		3	10	4	4	5	6	8	9		計	30	10	11	15	18	22	26				{83.3}	{73.3}	{78.9}	{78.3}	{84.6}	{92.9}	無処理	1	10	5	5	7	8	8	8		2	10	3	6	7	7	9	10		3	10	4	4	5	8	9	10		計	30	12	15	19	23	26	28																																																																																	
アセタミプリド粒剤 定植当日 植穴処理	1	10	4	5	7	7	9	10		2	10	2	2	3	5	5	7		3	10	4	4	5	6	8	9		計	30	10	11	15	18	22	26				{83.3}	{73.3}	{78.9}	{78.3}	{84.6}	{92.9}	無処理	1	10	5	5	7	8	8	8		2	10	3	6	7	7	9	10		3	10	4	4	5	8	9	10		計	30	12	15	19	23	26	28																																																																																										
	2	10	2	2	3	5	5	7		3	10	4	4	5	6	8	9		計	30	10	11	15	18	22	26				{83.3}	{73.3}	{78.9}	{78.3}	{84.6}	{92.9}	無処理	1	10	5	5	7	8	8	8		2	10	3	6	7	7	9	10		3	10	4	4	5	8	9	10		計	30	12	15	19	23	26	28																																																																																																			
	3	10	4	4	5	6	8	9		計	30	10	11	15	18	22	26				{83.3}	{73.3}	{78.9}	{78.3}	{84.6}	{92.9}	無処理	1	10	5	5	7	8	8	8		2	10	3	6	7	7	9	10		3	10	4	4	5	8	9	10		計	30	12	15	19	23	26	28																																																																																																												
	計	30	10	11	15	18	22	26				{83.3}	{73.3}	{78.9}	{78.3}	{84.6}	{92.9}	無処理	1	10	5	5	7	8	8	8		2	10	3	6	7	7	9	10		3	10	4	4	5	8	9	10		計	30	12	15	19	23	26	28																																																																																																																					
			{83.3}	{73.3}	{78.9}	{78.3}	{84.6}	{92.9}	無処理	1	10	5	5	7	8	8	8		2	10	3	6	7	7	9	10		3	10	4	4	5	8	9	10		計	30	12	15	19	23	26	28																																																																																																																														
無処理	1	10	5	5	7	8	8	8		2	10	3	6	7	7	9	10		3	10	4	4	5	8	9	10		計	30	12	15	19	23	26	28																																																																																																																																							
	2	10	3	6	7	7	9	10		3	10	4	4	5	8	9	10		計	30	12	15	19	23	26	28																																																																																																																																																
	3	10	4	4	5	8	9	10		計	30	12	15	19	23	26	28																																																																																																																																																									
	計	30	12	15	19	23	26	28																																																																																																																																																																		

| | は発病株率の無処理比

表24 粒剤の育苗後期処理のシルバーリーフコナジラミに対する防除効果 (2002年)

区	反復	寄生成虫数 / 3 複葉					寄生幼虫・蛹数 / 2 複葉				
		10/5	10/15	10/25	11/7	11/21	10/5	10/15	10/25	11/7	11/21
		10日後	20日後	30日後	43日後	57日後	10日後	20日後	30日後	43日後	57日後
アセタミプリド粒剤 定植5日前 株元処理	1	0	0.1	0	0.4	0.1	0	0	0	0	0
	2	0.3	0.2	0.3	0.2	0.2	0	0	0	0	0
	3	0.2	0.1	0	0	0.2	0	0	0	0	0
	平均	0.17	0.13	0.10	0.20	0.17	0	0	0	0	0
		(17.9)	(13.8)	(11.5)	(21.4)	(22.7)		(0)	(0)	(0)	(0)
チアメトキサム粒剤 定植5日前 株元処理	1	0	0	0	0.2	0	0	0	0	0	0
	2	0	0.2	0.1	0.3	0.2	0	0	0	0	0
	3	0.1	0	0	0.2	0.2	0	0	0	0	0.1
	平均	0.03	0.07	0.03	0.23	0.13	0	0	0	0	0.03
		(3.6)	(6.9)	(3.8)	(25.0)	(18.2)		(0)	(0)	(0)	(4.5)
ピリダベンフロアブル 定植前日散布 +アセタミプリド粒剤 定植当日植穴処理	1	0	0	0.1	0	0	0	0	0	0	0
	2	0.3	0.1	0.3	0.6	0.1	0	0	0	0	0
	3	0.1	0	0.5	0.4	0.3	0	0	0	0	0
	平均	0.13	0.03	0.30	0.33	0.13	0	0	0	0	0
		(14.3)	(3.4)	(34.6)	(35.7)	(18.2)		(0)	(0)	(0)	(0)
アセタミプリド粒剤 定植当日植穴処理	1	0	0	0.2	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0.1	0.3	0.2	0	0	0	0	0
	3	0.1	0	0.3	0.2	0	0	0	0	0	0
	平均	0.03	0	0.20	0.17	0.07	0	0	0	0	0
		(3.6)	(0.0)	(23.1)	(17.9)	(9.1)		(0)	(0)	(0)	(0)
無処理	1	1.0	0.8	1.2	1.6	1.0	0	0	1	1.0	0.2
	2	1.3	1.7	1.1	0.5	0.9	0	1.4	2.2	1.4	1.5
	3	0.5	0.4	0.3	0.7	0.3	0	0	0.2	0	0.5
	平均	0.93	0.97	0.87	0.93	0.73	0	0.47	1.13	0.80	0.73

() は密度指数

表25 粒剤の育苗後期処理のトマト黄化葉巻病に対する防除効果 (2002年)

区	反復	調査株数	10月5日		10月15日		10月25日		11月7日		11月21日	
			10日後		20日後		30日後		43日後		57日後	
			発病株数	罹病株数	発病株数	罹病株数	発病株数	罹病株数	発病株数	罹病株数	発病株数	罹病株数
アセタミプリド粒剤 定植5日前 株元散布	1	10	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1
	2	10	0	0	0	0	1	2	2	2	2	2
	3	10	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2
	計	30	1	1	1	2	3	4	5	5	5	5
			(32.2)		(19.3)		(25.8)		(30.2)		(28.4)	
チアメトキサム粒剤 定植5日前 植穴処理	1	10	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1
	2	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	10	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2
	計	30	1	1	1	2	3	3	3	3	3	3
			(32.2)		(19.3)		(19.3)		(18.1)		(17.1)	
ピリダベンフロアブル 定植前日散布 +アセタミプリド粒剤 定植当日植穴処理	1	10	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1
	2	10	0	0	1	4	4	4	4	4	5	5
	3	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	計	30	0	0	1	4	5	5	5	5	6	7
			(0.0)		(38.7)		(32.2)		(30.2)		(39.8)	
アセタミプリド粒剤 定植当日植穴処理	1	10	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1
	2	10	0	1	1	2	3	3	3	3	3	3
	3	10	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
	計	30	0	1	2	3	5	5	5	5	5	5
			(32.2)		(29.0)		(32.2)		(30.2)		(28.4)	
無処理	1	10	1	1	3	6	8	8	8	8	8	8
	2	9	1	2	3	3	3	4	4	4	4	5
	3	10	0	0	0	1	3	3	3	4	3	4
	計	29	2	3	6	10	14	15	15	16	15	17

() は罹病株率の対無処理比

表26 粒剤の育苗後期処理のシルバーリーフコナジラミに対する防除効果（2003年）

区	反復	寄生成虫数 / 3 複葉		
		10月12日 6日後	10月21日 15日後	10月31日 25日後
ジノテフラン粒剤	1	0	0	0.3
定植5日前株元散布	2	0	0.1	0.1
	平均	0	0.05	0.20
		{0.0}	{20.0}	{19.0}
イミダクロプリド粒剤	1	0	0.2	0.1
定植5日前株元散布	2	0.3	0.5	0.5
	平均	0.15	0.35	0.30
		{37.5}	{140.0}	{28.6}
無処理	1	0.1	0	0.4
	2	0.7	0.5	1.7
	平均	0.40	0.25	1.05

{ } は密度指数

表27 粒剤の育苗後期処理のトマト黄化葉巻病に対する防除効果（2003年）

区	反復	調査 株数	10月12日 6日後		10月21日 15日後		10月31日 25日後		11月10日 35日後	
			発病 株数	罹病 株数	発病 株数	罹病 株数	発病 株数	罹病 株数	発病 株数	罹病 株数
ジノテフラン粒剤	1	10	0	—	2	4	4	6	7	7
定植5日前	2	10	0	—	0	1	1	3	4	6
株元散布	計	20	0	—	2	5	5	9	11	13
						(45.5)		(75.0)		(100)
イミダクロプリド粒剤	1	10	0	—	1	2	1	2	2	2
定植5日前	2	10	0	—	1	1	4	8	8	8
株元散布	計	20	0	—	2	3	5	10	10	10
						(27.3)		(83.3)		(76.9)
無処理	1	10	1	—	2	3	2	4	3	4
	2	10	1	—	4	8	4	8	8	9
	計	20	2	—	6	11	6	12	11	13

—は未調査 ()は罹病株率の対無処理比

3) 散布剤による媒介防止

材料および方法

2003年に、粒剤による媒介防止試験と同一圃場で行った。品種は「ハウス桃太郎」を用い、定植直前までシルバーリーフの寄生を受けないようにガラス室の隔離ケージ内で育苗した。試験にはピリダベン水和剤1,000倍およびクロチアニジン水溶剤2,000倍、チアクロプリド顆粒水溶剤4,000倍の3剤を供試し、定植時および定植6, 10, 15日後の計4回、肩掛け式噴霧器を用いて散布した。また、対照としてイミダクロプリド粒剤の育苗後期処理区を設け、株あたり1gを定植5日前にトマト苗の株元に散布した。定植した直後に、媒介虫の供給源として、シルバーリーフ成幼虫が多数寄生した黄化葉巻病発病株を、各区への距離に偏りが生じないように、ハウス内中央の通路上の2カ所に配置した。耕種概要ならびに試験規模は表21の2003年の項のとおりである。その他の一般管理

は慣行に準じた。調査は定植6日後、15日後、25日後、35日後に行い、病徴により各区の発病株数を調査した。定植15日後、25日後、35日後の未発病株については、成長点付近の未展開葉を採取し、Print-capture PCR法により感染の有無を検定した。また、定植6日後、15日後、25日後には各区全株の中位3複葉に寄生するシルバーリーフ成虫について、見取り調査を行った。

結果

媒介虫の密度が低い条件での試験となった。各散布剤処理区では、6日後の成虫密度指数を無処理区0~37.5%と概ね低く抑え、15日後は無処理区の密度が低かったため無処理比が上昇したが、寄生密度は横這いもしくは微増した程度で、対照区と同等の防除効果が認められた(表28)。ただし、25日後にはピリダベン水和剤区およびチアクロプリド顆粒水溶剤区の密度が上昇し、無処理区に近い密度推移を示したのに対し、クロチアニジ

ン水溶剤区は微増でとどまり、対照のイミダクロプリド粒剤区と同等の効果を維持した。

黄化葉巻病に対する防除効果は表29に示した。ピリダベン水和剤およびチアクロプリド顆粒水溶剤区では、定植15日後までに5～7株の罹病が確認され、無処理区に比べ媒介抑制効果は認められたが、その程度は対照区に劣った。一方、クロ

チアニジン水溶剤区は定植15日後の罹病株率を対照区と同水準に抑制した。その後罹病株率の推移は、無処理区と同程度まで感染、発病が増加した他の区に比べ、クロチアニジン水溶剤区は感染、発病をやや抑制した傾向が認められたものの、35日後の罹病株数の無処理比と、顕著に高い効果ではなかった。

表28 散布剤による TYLCV 媒介防止試験におけるシルバーリーフコナジラミに対する防除効果

区	反復	寄生成虫数/3複葉		
		10月12日 6日後	10月21日 15日後	10月31日 25日後
ピリダベン水和剤	1	0.1	0.1	0.3
1000倍	2	0	0.1	0.9
5日間隔4回散布	平均	0.05 (12.5)	0.10 (40.0)	0.60 (57.1)
クロチアニジン水溶剤	1	0	0.3	0.6
2000倍	2	0	0.1	0.1
5日間隔4回散布	計	0.00 (0.0)	0.20 (80.0)	0.35 (33.3)
チアクロプリド顆粒水溶剤	1	0.2	0.3	1.2
4000倍	2	0.1	0.0	0.3
5日間隔4回散布	平均	0.15 (37.5)	0.15 (60.0)	0.75 (71.4)
イミダクロプリド粒剤	1	0	0.2	0.1
1g/株	2	0.3	0.5	0.5
定植5日前株元散布	平均	0.15 (37.5)	0.35 (140.0)	0.30 (28.6)
無処理	1	0.1	0.0	0.4
	2	0.7	0.5	1.7
	平均	0.40	0.25	1.05

() は密度指数

表29 トマト黄化葉巻病に対する殺虫剤散布の防除効果

区	反復	調査 株数	10月12日 6日後		10月21日 15日後		10月31日 25日後		11月10日 35日後	
			発病 株数	罹病 株数	発病 株数	罹病 株数	発病 株数	罹病 株数	発病 株数	罹病 株数
ピリダベンフロアブル	1	10	0	—	4	5	4	7	7	8
1000倍	2	10	1	—	1	2	1	2	2	4
5日間隔4回散布	計	20	1	—	5	7	5	9	9	12
						(63.6)		(75.0)		(92.3)
クロチアニジン水溶剤	1	10	0	—	1	2	3	4	4	6
2000倍	2	10	0	—	0	1	0	1	2	3
5日間隔4回散布	計	20	0	—	1	3	3	5	6	9
						(27.3)		(41.7)		(69.2)
チアクロプリド顆粒水溶剤	1	10	0	—	3	3	4	7	8	8
4000倍	2	10	0	—	1	2	3	3	3	6
5日間隔4回散布	計	20	0	—	4	5	7	10	11	14
						(45.5)		(83.3)		(107.7)
イミダクロプリド粒剤	1	10	0	—	1	2	1	2	2	2
1g/株	2	10	0	—	1	1	4	8	8	8
定植5日前株元散布	計	20	0	—	2	3	5	10	10	10
						(27.3)		(83.3)		(76.9)
無処理	1	10	1	—	2	3	2	4	3	4
	2	10	1	—	4	8	4	8	8	9
	計	20	2	—	6	11	6	12	11	13

—は未調査

() は罹病株率の対無処理比

4) 考 察

TYLCV 媒介抑制技術として、ニテンピラム粒剤、クロチアニジン粒剤などのネオニコチノイド系粒剤根域処理が、安定した効果を発揮することが明らかとなった。本系統剤は、媒介虫に速効的に作用し、短時間で吸汁行動を阻止あるいは致死するためにウイルスの感染を防ぐものと考えられる。育苗期間中の媒介抑制には鉢上げ時処理が有効であった。処理方法については、株元散布に比べ培土混和処理の効果が高いが持続期間は短い結果であった。今後さらに試験事例を積み重ねたうえで評価する必要がある。各薬剤間の効果の差については、試験間で結果が異なった。処理量と媒介抑制効果の関係も含めて、さらに多くのデータを元に検討する必要がある。ピメトロジン粒剤については、保毒虫の高密度条件ではネオニコチノイド系剤に比べ媒介抑制効果が劣った。媒介虫への作用がやや遅効的であるためと考えられ、感染防止目的での利用は難しいと考えられる。

これら粒剤の鉢上げ時処理は、薬剤によってはトマトの伸長量に影響があることが明らかとなった。特にクロチアニジン粒剤、チアメトキサム粒剤、ジノテフラン粒剤の株元散布は、トマト苗の伸長を抑制する作用があると考えられる。育苗にあたっては、この点に留意しながら生育を調節する必要がある。

ネオニコチノイド系粒剤の育苗後期処理は、定植直後から媒介虫が多発生する条件下で、定植当日処理に比べ高い感染防止効果が認められた。媒介虫の発生が少ない条件では、定植当日処理でも育苗後期処理と同等の効果が得られたが、本系統剤を定植前にあらかじめ処理することで、栽培管理上、感染の危険が高まる定植準備での苗の移動時や定植直後にも、安定した媒介抑制効果を発揮すると考えられる。したがって本処理方法は、従来一般的であった定植時植穴処理に代えて、本圃生育初期における一防除技術として期待できる。ピメトロジン粒剤の育苗後期処理は、媒介抑制効果はあるが実用的には十分でない。しかしネオニコチノイド系剤に偏重した防除を避ける上では貴重な薬剤であるので、体系防除における粒剤の選択肢の一つとして位置づけることが望まれる。

散布剤は3薬剤の効果を検討したが、比較的高い感染防止効果が認められたのは、粒剤と同じくネオニコチノイド系のクロチアニジン水溶剤であった。本剤を約5日間隔で散布することにより、同系統の粒剤処理と同等の媒介防止効果が得られると考えられる。その他の2薬剤は、直接の媒介防止効果は低かった。しかし密度抑制効果は高いため、TYLCVの主な感染時期以外で活用できるであろう。

7. 有用昆虫との組み合わせが可能な媒介防止体系の検討

緒言でも触れたように、黄化葉巻病の発生地域では、当初から発病株の早期抜き取りや周辺環境を含めた圃場衛生管理による媒介虫の増殖源および病原ウイルスの伝染源の除去を基本に、育苗期から体系的な防除を行うよう指導された^{9),12)}。その結果、一定の防除効果が得られているものの、本病の多発生地域や多発年においては、防除効果が十分でない事例も多い。芳賀ら⁴⁾の報告にもあるように、前述の指導が必ずしも徹底されていないことや、トマト栽培が周年化してTYLCVの伝染環を断ち切れていないことなどが、防除指導上の課題に挙げられる。一方で、生産現場からはト

マト栽培における体系防除の効果自体を向上させることが求められている。

本研究では、媒介虫の防除によるTYLCVの媒介抑制効果を個々に検討してきたが、媒介を完全に防ぐことは困難であった。当面の防除対策としては、比較的安定して高い防除効果が期待できる、個別技術を組み合わせることで対応せざるを得ないと考えられる。そこで本試験では、これまでの個別技術の検討結果をふまえて、あわせて現在のトマト栽培体系への適合性および経済性を考慮した、黄化葉巻病防除の基本的体系を組み立て、その有効性および普及性を検討した。

材料および方法

2003年に、長崎県総合農林試験場内ビニルハウスのトマト促成栽培圃場で行った。試験には、品種「麗容」を台木「がんばる根3号」に接ぎ木した、セルトレー苗を購入し供試した。試験規模ならびに試験区の構成を表30に示した。試験は鉢上げ時から開始し、粒剤処理2回と本圃のUVAフィルム外張り被覆および防虫ネット開口部被覆を組み合わせた‘体系区’、育苗期殺虫剤散布と粒剤処理1回および本圃の防虫ネット側面被覆を組み合わせた‘慣行区’、育苗期の薬剤防除を行わない‘無処理区’の3つの区を設けた。ただし、無処理区は育苗圃のみ設置し、本圃には設けなかった。育苗圃には間口6m、高さ3m、長さ12mのパイプハウス1棟を用い、開口部には1mm目合い防虫ネットを展張した。本圃には育苗圃とは別の、天窓を備えたパイプハウス2棟を用意し(写真9)、うち1棟を体系区としてUVAフィルムを被覆し、天窓と出入り口を含めた開口部すべてに防虫ネットを展張した。もう1棟の慣行区には一般農ビを被覆し、側面のみ防虫ネットを展張した。試験期間中は両ハウスともサイドビニルおよび天窓を開放状態とした。定植5日前に各区の健全苗から無作為に70株を選び出し、定植用の苗とした。その際、ネオニコチノイド系粒剤を各区の半数の株(35株)に株元散布し、本圃に定植後、粒剤なしをI区、粒剤ありをII区とした。残りの苗、すなわち体系区および慣行区の各20株と、無処理区の60株は、防虫ネットを展張したケージ内に移したあと、ピリダベン水和剤1,000倍液を散布してシルバーリーフを殺虫し、維持した。本試験における耕種概要は表31の通りであり、その他の一般管理は慣行に準じた。

調査は約10~15日間隔で行い、シルバーリーフについては、各区任意の20株の中位3葉における寄生成虫数を見取り調査した。黄化葉巻病は、各区全株について病徴により発病株数を調査した。ただし9月30日に行った、苗を対象とした最終調査は、ケージ内で維持した余り苗と、本圃に定植した株のすべてを対象に行った。黄化葉巻病発病株は確認した都度抜き取り、施設内のトマト間での伝染を防いだ。定植後はハモグリバエ類(各区20株における中位3葉の中サイズ以上の潜孔痕

数)およびチョウ目害虫(各区20株全葉の寄生幼虫数)についても併せて調査した。チョウ目害虫の発生種はハスモンヨトウとオオタバコガの2種であった。なお、ハモグリバエ類の発生種は調査しなかった。

結果

育苗期

鉢上げ32日後の発病株率は無処理区で21.7%、慣行区で4.4%だったのに対し、体系区では5.6%と無処理区の約1/4に抑制し、黄化葉巻病に対し慣行区と同等の防除効果が認められた(表32)。本圃生育初期

慣行I区におけるシルバーリーフ成虫の密度は、葉あたり0.1~0.4頭と低く推移し(第42図)、低密度条件下の試験となった。また物理的防除区、慣行区とも、I、II区間で成虫密度の推移に特異的な傾向はなく、本試験において育苗後期粒剤処理の効果は認められなかった。物理的防除区と慣行区のII区どうしの比較では、物理的防除区の定植21日後までの平均密度は慣行区の33%、試験期間中の平均密度は慣行区の31%と、物理的防除区の侵入抑制効果が高かった(図42)。

黄化葉巻病については、慣行I区では定植21日後から発病株が認められ、その後漸増したが定植79日後には発病株率20%と少ない発生であった。これに対し、物理的防除I区では定植79日後まで無発生で推移し、黄化葉巻病に対する防除効果が認められた。慣行II区では定植12日後に1株発病したが、定植79日後の発病株率は6%と慣行I区よりも低く、粒剤処理の効果が認められた。また、物理的防除II区ではI区と同様に無発生で推移し、高い防除効果が認められた(図42)。

ハモグリバエ類の潜孔痕数は、定植12~21日後に慣行I区で3.7~2.6個/葉認められたのに対し、物理的防除I区では全く認められず、慣行に比べ高い防除効果が認められた。慣行II区および物理的防除II区でも潜孔痕数は極めて低く推移し、粒剤処理による高い防除効果が認められた(図43)。チョウ目害虫の寄生幼虫数は、慣行区に比べ物理的防除区で少なく推移した。クロチアニジン粒剤は、発生した2種に対する効果はなく、I、II区間での寄生幼虫数の推移に異なる傾向は認められなかった(図44)。

表30 TYLCV 媒介防止体系試験の試験規模および試験区の構成

〈試験規模〉

		体系区	慣行区	無処理区
育苗圃	面積 株数	2.7m ² 90株	2.7m ² 90株	1.8m ² 60株
本圃	面積 株数	54m ² 70株	54m ² 70株	

〈試験区の構成〉

物理的防除

		体系区	慣行区	無処理区
育苗圃	1mm目防虫ネット 側面 出入口	○ ○	○ ○	- -
本圃	UVカットフィルム 1mm目防虫ネット 側面被覆 開口部被覆	○ ○ ○	- (一般農ビ) ○ -	

化学的防除

処理時期	管理暦	体系区		対照区		無処理区
		I区 (35株)	II区 (35株)	I区 (35株)	II区 (35株)	
8月1日 8月24日	播種 鉢上げ時 - +10日 +20日	ニテンピラム粒剤 5g/L育苗培土混和		チアメトキサム顆粒水溶剤2000倍 イミダクロプリド顆粒水和剤 10000倍 ピリダベン水和剤1000倍		- - -
9月19日	定植5日前	-	クロチアニジン粒剤 2g/株株元散布	-	クロチアニジン粒剤 2g/株株元散布	

1mm目防虫ネット : 商品名 ライトロンネット
 UVカットフィルム : 商品名 カットエースクリーンキラナイン
 一般農ビ : 商品名 ノービエースみらいキラナイン

表31 TYLCV 媒介防止体系試験の耕種概要

耕種概要
品種：麗容，台木：がんばんる根3号，播種：2003年7月29日， 接木：8月18日，鉢上げ：8月24日，9cmポリポット使用， 定植：9月24日1条植え，畦幅：160cm，株間：45cm

表32 TYLCV 媒介防止体系の黄化葉巻病に対する防除効果（育苗圃）

調査日	鉢上げ後の 日数	体系区		慣行区		無処理区	
		発病株数	発病株率 %	発病株数	発病株率 %	発病株数	発病株率 %
8月29日	0	0	0	0	0	0	0
9月5日	+7	3	3.3	2	2.2	1	1.7
9月12日	+14	4	4.4	2	2.2	6	10.0
9月19日	+21	5	5.6	4	4.4	11	18.3
9月30日	(+32)	5	5.6	4	4.4	13	21.7

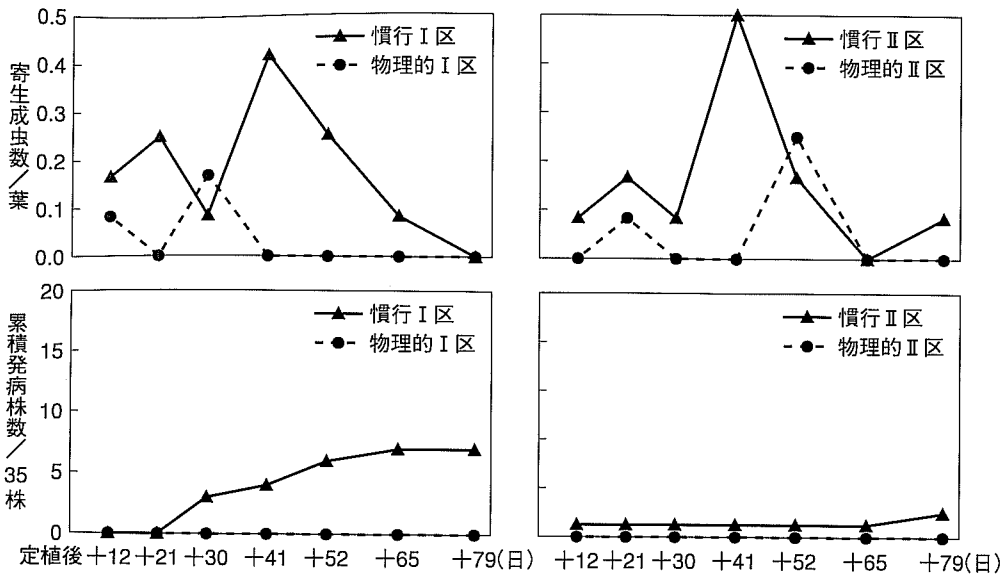


図42 シルバーリーフコナジラミおよび黄化葉巻病に対する防除効果 (本圃)
上段：シルバーリーフコナジラミ，下段：黄化葉巻病

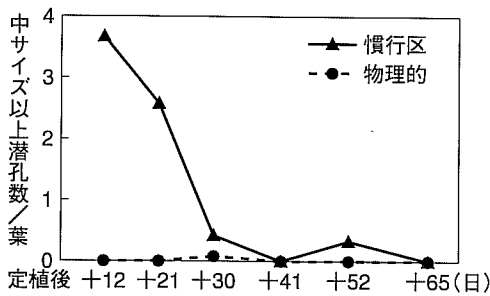


図43 ハモグリバエ類に対する防除効果

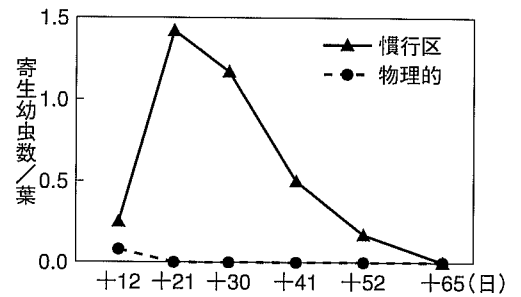


図44 鱗翅目害虫に対する防除効果

考 察

粒剤処理2回と本圃のUVAフィルム外張り被覆および防虫ネット開口部被覆を組み合わせた媒介防止体系は、トマト促成栽培において、育苗期から生育初期における黄化葉巻病の発生を、慣行体系区と同等の低い水準に抑制した。育苗期には5.6%の株が発病したが、鉢上げ時の1回の粒剤施用で、薬剤散布を3回行った慣行体系区と同等の効果が得られ、薬剤使用回数を低減することができた。本圃生育初期においては、黄化葉巻病の発生が少ない条件で、慣行体系区では主に育苗後期粒剤処理の効果により本病の発生を抑制した。これに対し総合区では育苗後期粒剤を使用せずに、1mm目防虫ネット開口部被覆とUVAフィルムの組み合わせによって本病を無発生に抑制したことから、体系防除の効果としては総合区が慣行区に優るものと推察された。

また本体系は、ハモグリバエ類およびチョウ目

害虫に対しても高い防除効果が認められた。さらにUVAフィルムは、灰色かび病の発生も抑制することが知られている³²⁾ことから、これら病害虫に対する薬剤使用回数も低減できると考えられる。以上のことから、黄化葉巻病の防除を主目的に検討した本体系は、トマト促成栽培において、ほかの主要病害虫を含めた基幹防除技術として位置づけることができ、栽培期間を通した農薬使用回数の低減が可能であると考えられる。UVAフィルムは、マルハナバチや天敵類の働きに対する影響は小さいと考えられており^{7),18)}、本体系では有用昆虫の利用も可能である。留意点としては、防虫ネット展張による昇温およびUVAフィルムがトマトの生育へ及ぼす影響が挙げられる。前者については、トマトの作期や施設の構造、圃場環境などに応じて、ネットの目合いの選択および遮光の要否や程度を検討する必要がある。後者については、雨ヶ谷ら¹⁾がトマト地上部の養分含有率を調

査した結果、果梗および茎の T-N 率が高くなった。実際にトマトの生育が旺盛になるとの報告³⁾もあることから、肥培管理や水管理に特に気を配り、草勢のコントロールに留意する必要がある。

本病の既発生地における経過を見ると、媒介虫の多発などによって本病の多発発生が警戒される場合は、初期防除に重点を置いて薬剤散布等の追加を検討する必要がある。ただし、本研究で明らかになったように、媒介抑制効果が高い薬剤の多くは、その化学組成からネオニコチノイド系に分類される。本系統剤は広い適用範囲を持ち、トマトでも登録薬剤数が増え、使用頻度が急激に増加している。本剤に対するコナジラミ類の感受性低下や、交差抵抗性の可能性についてはまだ知られていないが、本系統剤に偏重した防除は慎まなければならない。

今後の技術的な課題としては、本病の感染を受けやすい8～10月の防除効果を高めるために、光

反射シートや黄色粘着板など、他の物理的防除技術との組み合わせや、目合いがさらに小さいネットを利用できる栽培システムの開発、実用的な抵抗性品種の作出などが挙げられる。また、早くから本病による被害が問題になっているヨーロッパでは、天敵類による生物防除を積極的に導入することで本病の発生が少なくなった事例もある（和田、私信）。しかしながら、本病の防除が困難な背景には、経営的に有利な作型への早進化や、媒介虫防除が徹底しにくい有機栽培との混在化など、本病の多発を招く構造的な問題があり、媒介虫の防除のための技術開発と生産者個々の努力には限界がある。今後トマトの安定生産を維持していくためには、それぞれの産地が、発病株の抜き取りや圃場環境衛生の一斉取り組み、などを地域全体へ啓発、徹底できるシステムを、いかにして確立できるかが大きな課題と考える。

8. 摘 要

1. TYLCV-Is 長崎株の遺伝子診断に市販 DNA 抽出キット利用をすることで専門的知識を最大限に省略した簡易抽出が可能となった。
2. 死後、常温で放置した保毒媒介虫から P-PCR キット利用により、DNA を得ることができ TYLCV を検出することができた。これにより、媒介虫のモニタリングに利用することができると考えられた。
3. TYLCV-Is 長崎株は、1種の雑草に自然感染し、3種の雑草に接種による感染が明らかとなった。これも含め現在8種の雑草に自然感染することが明らかになった。ただし、TYLCV 発生圃場内および周辺での自然感染率は低く、伝染環の形成に対する重要性は低いと思われる。
4. 媒介虫シルバーリーフコナジラミおよび黄化葉巻病の発生推移調査により、本病への主な感染時期は8～10月であることが示唆された。
5. 促成栽培トマトにおける TYLCV の潜伏期間は、低温時には長期化する傾向が認められた。
6. 媒介虫のモニタリングトラップを試作したが、捕獲能力は慣行の黄色粘着トラップに比べ劣った。
7. 分子マーカーを用いたコナジラミ主要2種の識別が可能であった。これを用いたマルチプレックス PCR により、トラップで捕獲したコナジラミ2種の識別と、TYLCV の検出を同時に行うことができた。
8. 近紫外線除去フィルムと防虫ネットを併用した物理的防除法は、これらが無設置の場合に比べ、媒介虫および黄化葉巻病の発生を抑制した。
9. ネオニコチノイド系粒剤の鉢上げ時および育苗後期における根域処理は、TYLCV の媒介抑制効果が高かった。
10. ネオニコチノイド系粒剤の根域処理と近紫外線除去フィルムおよび防虫ネットを組み合わせた防除体系は、黄化葉巻病を無発生に抑えた。他の主要病害虫にも防除効果があり、トマトの基幹防除技術として利用できる。

9. 謝 辞

本研究を進めるにあたって、共同研究県の福岡、熊本両県の担当者ならびに独立行政法人農業・生物系特定産業研究機構九州沖縄農業研究センターの関係各位には終始綿密で懇切なご協力、ご鞭撻をいただいた。

独立行政法人農業生物資源研究所昆虫遺伝適応研究グループ分子進化研究チーム主任研究官村路雅彦氏には、コナジラミの種識別のための分子マーカーの作出にあたり、多大なご協力とご指導を賜った。

当场次長兼企画経営部長横溝徹世敏氏、病害虫科長松尾和敏博士には研究計画の立案から本稿の

査読まで終始懇切なご指導と数々のご助言を賜った。

元病害虫防除所長藤原帝見氏には、雑草の種同定において、多大なるご協力とご指導を賜った。

現地調査にあたっては、トマト生産農家黒川征治氏、鈴木孝治氏にご協力をいただいた。

当场病害虫科の臨時職員諸氏には、圃場管理や調査補助など、側面から多大なご支持をして頂いた。

本稿を草するにあたり、以上の各位および関係機関に対し深甚なる感謝の意を表します。

10. 引用文献

- 1) 雨ヶ谷洋, 小沼 寛, 中垣至郎: 近紫外線除去フィルムが作物の生育, 害虫の寄生に及ぼす影響 (第3報) トマトの生育に及ぼす影響, 茨城園試研報, 12, 81-88 (1984).
- 2) 青木克典, 下畑次夫, 野村康弘: 岐阜県におけるタバココナジラミの発生と被覆資材による防除効果, 関西病虫研報, 34, 55 (1992).
- 3) Cohen, J., Gera, A., Ecker, Ben Joseph, R., Perlsman, M., Gokkes, M., Lachman, O., and Antignus, Y. Lisianthus leaf curl a new disease of lisianthus caused by tomato yellow leaf curl virus. *Plant Dis*, 79, 416-420 (1995).
- 4) 芳賀 一, 土井誠: 静岡県におけるトマト黄化葉巻病の多発生要因と防除対策, 植物防疫, 56, 153-156 (2002).
- 5) 林 英明: コナジラミ類, 農業および園芸, 75-(1), 158-163 (2000).
- 6) 石井貴明・嶽本弘之・上田重文: トマト黄化葉巻ウイルス (TYLCV) の宿主範囲について (講要), 九病虫研会報, 49, 128 (2003).
- 7) 鹿島哲郎, 松井正春: 近紫外線除去フィルムがトマトの主要害虫およびその天敵の生存など活動に及ぼす影響, 関東東山病害虫研究会年報, 45, 185-189 (1998).
- 8) Kato, K., M. Onuki, S. Fuji and K. Hanada: The first occurrence of tomato yellow leaf curl virus in Japan. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.*, 64, 552-559 (1998).
- 9) 加藤公彦: トマトの新しいウイルス TYLCV の発生, 植物防疫, 53, 308-311 (1999).
- 10) 松本義明: 昆虫と紫外放射, 植物防疫, 52-(2), 77-78 (1998).
- 11) Mehta, P., Wyman, J. A., Nakhla, M. K. and Maxwell, D. P.: Transmission of Tomato Yellow Leaf Curl Geminivirus by Bemisia tabaci. *J. Econ. Entomol.*, 87, 1291-1297 (1994).
- 12) 道添英明: 長崎県におけるトマト黄化葉巻ウイルス (TYLCV) の発生について, 農薬研究, 46(2), 1-5 (2001).
- 13) 道添英昭・内川敬介・大貫正俊・平田憲二・

- 難波信行・小川哲治・早田栄一郎：長崎県におけるトマト黄化葉巻病の発生状況（講要），九病虫研会報，46，148（2000）。
- 14) 森本総子，矢野貞彦：夏季の施設栽培における微小害虫の侵入経路と防虫ネットによる遮断技術（講要）。関西病虫研報，41，71（2001）。
- 15) 長崎県総合農林試験場，福岡県農業総合試験場，熊本県農業研究センター：トマト黄化葉巻病の病原ウイルス及びシルバーリーフコナジラミの生態解明に基づく環境保全型防除技術の確立，九州新技術地域実用化研究成果No 47，p 8-119（2004）。
- 16) 長塚 久：光反射シートによるコナジラミ類およびアザミウマ類の行動抑制，植物防疫54-(9)，7-10（2000）。
- 17) 農林水産省農林水産技術会議事務局：タバココナジラミの防除に関する研究，研究成果シリーズ311集，p19-22（1996）。
- 18) 西口郁夫：紫外線除去フィルムが花粉媒介昆虫ツチマルハナバチの受粉活動に及ぼす影響，三重農技セ研報，26，7-12（1999）。
- 19) 小川恭弘，内川敬介，嶽本弘之，石井貴明，行徳 裕，古家 忠，江口武志：媒介虫の生態特性に基づいたトマト黄化葉巻病の防除技術，植物ウイルス病研究会レポート，7，111-120（2004）。
- 20) 小川恭弘，内川敬介：物理的防除法によるコナジラミ類およびトマト黄化葉巻病の防除効果，九州病害虫研究会報，50，72-76，2004。
- 21) 大貫正俊・酒井淳一・花田薫：ナス科作物に対する2種の類似ジェミニウイルス病害のPCR診断（講要），日植病報，65，382（1999）。
- 22) 大貫正俊・花田薫：Print-capture PCR (P-PCR) 法によるトマト黄化葉巻病の簡易診断（講要），日植病報，65，647（1999）。
- 23) 大貫正俊・小川哲治・加藤公彦・花田薫：長崎県のトマトに発生したジェミニウイルスの塩基配列（講要），日植病報，63，482（1997）。
- 24) 大貫正俊：トマト黄化葉巻病，農および園，75，108-113（2000）。
- 25) 大貫正俊・行徳裕・森山美穂・竹下佐和子・横山威・花田薫：トマト黄化葉巻ウイルスの自然感染宿主として新たに見出された2種雑草（講要），九病虫研会報，47，163（2001）。
- 26) 大貫正俊・花田薫：Print-capture PCR (P-PCR) 法によるジェミニウイルス保毒虫の簡易検定，九病虫研会報，46，54-57（2000）。
- 27) 大貫正俊・小川哲治・内川敬介・加藤公彦・花田薫：九州で発生したトマト黄化葉巻ウイルスの分子的特徴とその特異的検出，九州沖縄農研報告，44，55-77（2004）。
- 28) 太田光昭，小澤朗人：野外におけるシルバーリーフコナジラミの垂直方向への分散，関東東山病害虫研究会年報，44，229-230（1997）。
- 29) Pico B, Diez MJ, Nuez F.: Viral diseases causing the greatest economic losses to the tomato crop. II. The Tomato yellow leaf curl virus. *Sci Hort* 67, 151-196 (1996).
- 30) 嶋田知英：近紫外線除去フィルムによるタバココナジラミの防除効果と作用機作，関東病虫研報，41，213-216（1994）。
- 31) Sun, S.W., Chung, M.C., Lin, T.Y.: The structure and expression of an hsc 70 gene from *Lycopersicon esculentum*, *Gene*, 170, 237-241 (1996).
- 32) 竹内妙子，長井雄治：紫外線除去フィルムによる *Botrytis cinera* の孢子形成抑制ならびに野菜灰色かび病の防除（講要），日植病報，43，319（1977）。
- 33) 土岐知久：温度および紫外線管理による果菜類栽培の革新的技術開発，農業技術，46-(2)，10-14（1991）。
- 34) 内川敬介，小川恭弘：促成栽培トマトにおける黄化葉巻病の主な感染および発病時期（講要），日植病報，70，31（2004）。
- 35) 内川敬介・大貫正俊・田中俊憲・道添英昭・平田憲二・難波信行・早田栄一郎：TYLCV によるトルコギキョウの葉巻症状（講要），九病虫研会報，46，147（2000）。
- 36) 内川敬介・上田重文・大貫正俊・花田薫：Tomato yellow leaf curl virus によるトルコギキョウ葉巻病（新称）の発生（講要），日植病報，68，50（2002）。
- 37) 善正二郎・古田明子・糸山亨・篠田徹郎・河合章：佐賀県におけるトマト黄化葉巻病の発生経過とその要因について，九病虫研会報，47，25-28（2001）。



写真1 黄化葉巻病の病徴



写真2 黄化葉巻病の病徴2

手前：発病株

奥：健全株



写真3 黄化葉巻病激発圃場



写真4 着果異常

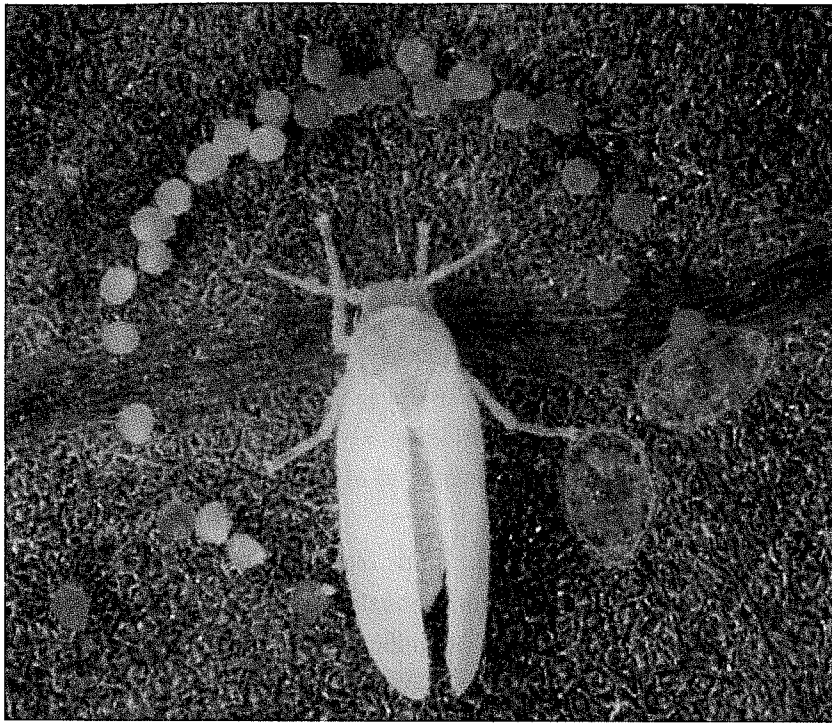


写真5 シルバーリーフコナジラミ成幼虫及び卵



写真6 シルバーリーフコナジラミによる TYLCV の接種

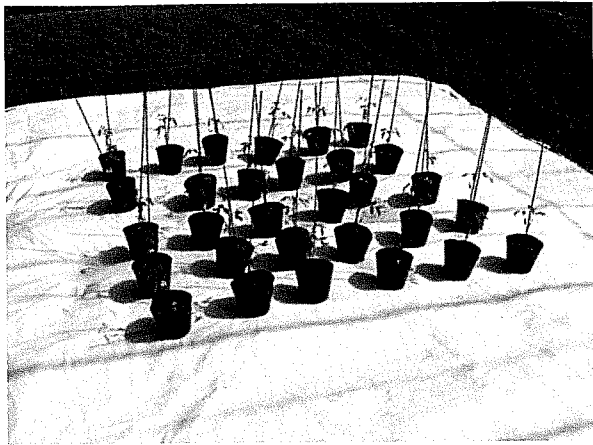


写真7 光反射シート上のトマト苗配置状況



写真8 粒剤鉢上げ時株元散布の処理状況

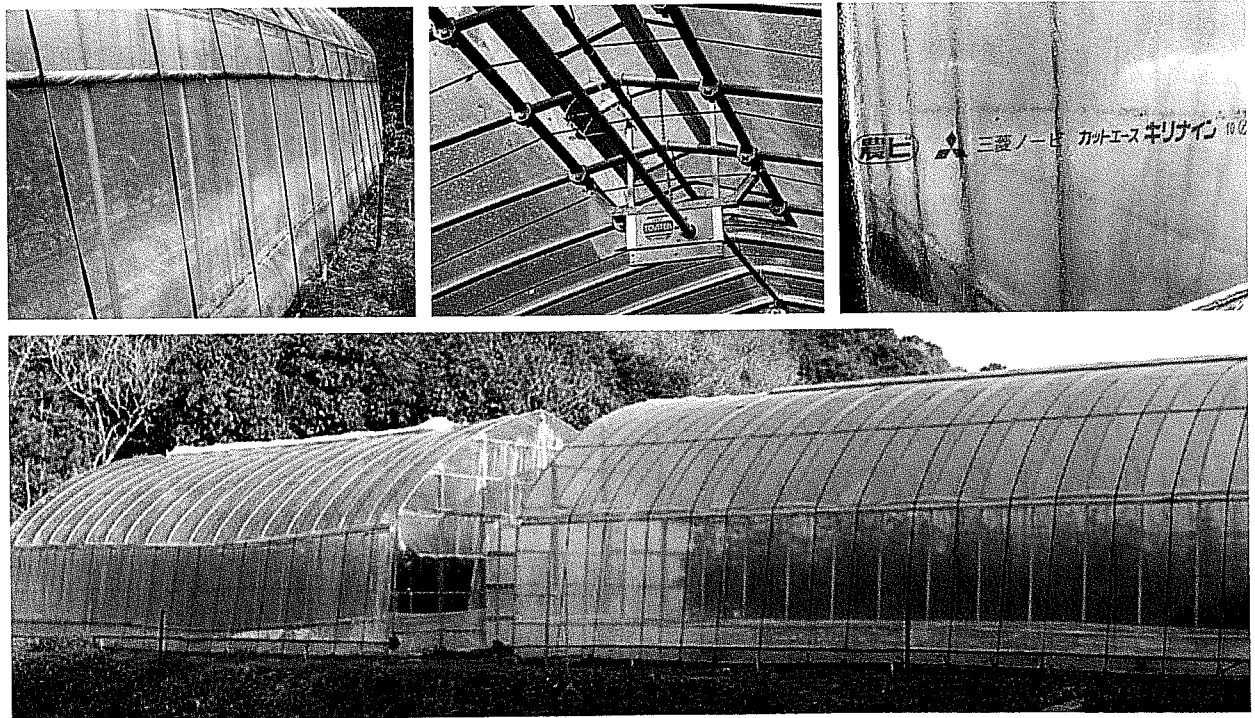


写真9 媒介防止体系試験施設

上段左及び中央：側窓及び天窓に展張した防虫ネット 上段右：近紫外線除去フィルム
下段左：体系区 下段右：慣行区

Control of *Tomato yellow leaf curl disease* based on ecology
of pathogenous virus and insect vector.

Keisuke Uchikawa, Yasuhiro Ogawa

Summary

- 1) The simple extraction which omitted special knowledge by carrying out commercial DNA extraction kit use to the gene diagnosis of a TYLCV-Is Nagasaki strain stock to the maximum extent was attained.
- 2) TYLCV genome-DNA was obtained from the viruliferous insect left in normal temperature by P-PCR kit use after death, and TYLCV was able to be detected. Thereby, it was thought that it could use for the monitoring of a viruliferous insect.
- 3) Natural infection of the TYLCV-Is Nagasaki strain stock was carried out at one sort of weeds, and it became clear infecting it according to inoculation at three sorts of weeds. Natural infection will be carried out now at eight sorts of weeds also including this. However, TYLCV generating field and the rate of detection in the circumference are 5.4%, and it is thought that the importance for formation of an infection ring is low.
- 4) It was suggested by generating transition investigation of a insect vectore and yellow leaf curl disease (TYLCD) that the infection time to TYLCD is in from august to October.
- 5) It was tended at the time of low temperature to protract the incubation period.
- 6) Although the trap for the monitoring of a viruliferous insect, was made as an experiment, compared with the yellow sticky trap, capture capability was inferior.
- 7) Distinction of main two species of whitefly, silverleaf whitefly and greenhouse whitefly, was completed using the molecule marker. By Multiplex PCR using this molecule marker, distinction of two species of whitefly and detection of TYLCV were able to be performed simultaneously.
- 8) The physical control method which used the ultraviolet absorbing film and the insect-proof net together suppressed viruliferous insect and TYLCD generating compared with the case where these are not used.
- 9) Treatment of neo-nicotinoid glanules, in potting and the seedling raising last, to the domain in which the root has grown had the high effect which prevents mediation of TYLCV.
- 10) TYLCD was not caused with the vector control system which combined the ultraviolet absorbing film, the insect-proof net and the treatment of the neo-nicotinoid glanules to the domain in which the root has grown. This system was effective also to other important pest, and it is thought that it could use as basic technology of pest management in tomato.