

VI 総合考察

ミカンキイロアザミウマは、1990年に国内で初発生が確認されて以来、果菜類、花き類、果樹類と多くの作物に甚大な被害を発生させ、急激に生息域を拡大していった。また、西日本を中心にトマト黄化えそウイルス (TSWV) が蔓延し、本種はTSWVの主たる媒介者として認識されている (花田, 1999)。

ミカンキイロアザミウマについては、1980年代に世界的に分布を拡大したことから、欧米を中心に数多くの研究が行われてきた。さらにTSWVおよび媒介種であるミカンキイロアザミウマと関連した基礎研究分野においても、1990年代にアメリカ合衆国のUlmanら、オランダのPetersらのグループによって飛躍的に解明された経緯がある。また、アメリカ合衆国西南部を中心に冬期間におけるミカンキイロアザミウマの野外生態調査で、本種は露地で越冬しており冬期間中も増殖することが明らかにされた (Chamberlin et al., 1993; Cho et al., 1995; Bautista et al., 1995)。2000年以降は、TSWVに感染した雑草上のアザミウマが春期でのウイルス初期感染をもたらすこと (McPherson et al., 2003)、冬期間から春期における一年生雑草がTSWV獲得源として潜在能力を有していること (Groves et al., 2001) など、疫学的なアプローチによる圃場レベルでの発生実態が明らかにされた。国内では、片山 (2006) によって静岡県のカキ圃場でのTSWVの発生とミカンキイロアザミウマ保毒虫の発生生態が調査され、実際に防除対策を講じたことから被害許容水準以下まで減少した事例がある。

大分県でのミカンキイロアザミウマ初発生は、1995年に湯布院町 (現 由布市) の花き類で確認され、翌年の1996年には県内全域で認められるようになった。TSWVも1998年に玖珠町のピーマンで初確認されて以降、県内各産地のピーマン、トマト、花き類等で認められ、特にピーマン産地では甚大な被害を被った。ピーマン圃場におけるTSWVの発生は、片山 (2006) およびMatsuura et al., (2004) の報告によるカキ圃場での事例とは若干発生様相が異なっていた。つまりは、カキにおいては冬期間でも親株が存在するのに対して、ピーマンでは夏秋栽培のため一旦冬期に作付けが切れるにもかかわらず、次年度の作付け直後のピーマンでTSWV発生が認められた。この現象を解明するため、ピーマン圃場でのTSWV伝染環を明らかにしたうえで、防除対策を講じる必要があった。

このことから、II章では実際にTSWVが多発生していた豊後大野市のピーマン圃場において、冬期間中のTSWV伝染環を中心に調査した。III章では、ミカンキイロアザミウマとTSWVと宿主に関する諸特性について述

べ、基礎研究分野のなかでもこれまでに知見のない項目について調査した。そのなかでは大分県で採集したミカンキイロアザミウマおよびヒラズハナアザミウマのTSWV媒介能力、ミカンキイロアザミウマのTSWV獲得と宿主となる植物体中のTSWV量の関係について明らかにした。さらには雑草種ごとにTSWV獲得源としての潜在性を評価し、ウイルス伝染環における雑草の位置づけを明確にした。III章では、TSWV保毒虫のモニタリング手法の開発について述べた。通常、黄色粘着板はアザミウマ類成虫を捕殺し発生消長を把握するためのみに用いるが、本研究では粘着板に捕殺されたミカンキイロアザミウマ成虫体からTSWVが検出できるか、さらにはウイルス病の蔓延を阻止するためのモニタリング手法となりうるか検討した。IV章では、ミカンキイロアザミウマに対する防除対策について検討し、大分県の個体群に対する有効薬剤を明らかにし、使用頻度の高い薬剤について感受性低下レベルを明らかにした。さらには有望な生物防除資材であるスワルスキーカブリダニの防除効果について検討した。ここでは、これまでに得られている研究成果を踏まえてミカンキイロアザミウマとTSWVの発生生態の特徴、両者の関係、これらの観点から防除対策について総合的に考察したい。

II章で述べたように、本研究ではピーマン圃場内に放置された前作のピーマン果実残渣がTSWVの主たる伝染源であると結論づけた (Okazaki et al., 2007)。さらに、数種の雑草でもTSWV感染が確認されたものの、果実残渣と比較してもその感染頻度は低く、雑草がTSWV伝染環の中で果たす役割は低いと考えられた。一方で、III章では室内試験レベルにおいて、雑草種によってはTSWV獲得源として高いと評価された種が認められた (岡崎ら, 2009)。これらの雑草種はコハコベ、ハキダメギク、イヌホオズキ、オランダミミナグサであり、大分県のピーマン圃場周辺でも比較的恒常的に発生が認められる。このことは、第I章で結論づけたことと異なるが、圃場レベルでは主なTSWVは果実残渣であったとしても、ウイルス伝染環を遮断するためには除草も重要な対策であると示唆された。

III章では、感染葉中のウイルス量とミカンキイロアザミウマによる獲得頻度の関係を明らかにしており、一定量以上のTSWV濃度の感染葉を摂食したミカンキイロアザミウマ1齢幼虫は確実に保毒虫になることが示唆された (Okazaki et al., 2011)。DAS-ELISAによる吸光度値では1.0Abs、定量PCRによるTSWVヌクレオカプシドタンパク質量は $1.29 \times 10^2 \text{ ng/cm}^2$ 以上であればウイルス獲得頻度は急激に増加するといった具体的な数値を示して、ウイルス獲得域値が存在することを明らかにした。このような現象を明らかにした研究成果はこれまでに報告されていない。この結果についてはト

スボウイルスを含め、その他の虫媒伝染性ウイルス病の基礎分野において今後有用な知見として活用されることが考えられる。さらに、大分県内で採集されたミカンキイロアザミウマおよびヒラズハナアザミウマの媒介能力について調査し、ミカンキイロアザミウマの個体群間ではTSWV媒介率に大きな差異が認められ、なかでも豊後大野市および国東市の個体群のうち3個体群は既報の値と比較しても大きく超えていたことが判明した(岡崎・櫻井, 2005)。このことから、地域によっては今後TSWVの発生动向に注意が必要と考えられ、このような媒介能力の高い個体群が棲息していることもTSWVが蔓延した一因であることが示唆された。同様にヒラズハナアザミウマのTSWV媒介率も、既報の値より高い媒介率を示していた。ヒラズハナアザミウマはミカンキイロアザミウマに比べて発育零点が高く(片山, 2006)、短日条件ではミカンキイロアザミウマとは異なり生殖休眠する(村井, 1988)。通常冬期から春期にかけてまずミカンキイロアザミウマが優占種となり、その後種間競争により夏期ではヒラズハナアザミウマが優占していく(片山, 2006)。このため、ヒラズハナアザミウマも発生時期によってはTSWV蔓延に何らかの関与している可能性もあるため、防除対象をアザミウマ種全体としてとらえることも必要かもしれない。

IV章では、粘着板に捕殺されたTSWV保毒アザミウマ死亡個体から、ヌクレオカプシドタンパク質を対象とした抗原抗体反応の日数経過に伴う減少度合いを調査した。アザミウマのELISA吸光度値は捕殺5日後まで急激に減少したが、その後の減少度合いは緩やかであり、25℃より低い条件では捕殺20日後まで保毒虫が検出可能であった(Okazaki et al., 2011)。実際に夏期の高湿時期を除けば、圃場レベルでの保毒虫モニタリングは粘着板からの保毒虫検出は可能であると考えられ、この手法は保毒虫の発生時期を把握し防除対策を構築するうえで十分活用できると考えられた。

V章では、ミカンキイロアザミウマに対する防除対策について述べ、まず有効な薬剤をスクリーニングするとともに、新規薬剤を中心に感受性低下事例を調査した(岡崎ら, 2007)。これまでの報告では、ネオニコチノイド系薬剤は効果にふれがあるが総じて殺虫効果が低く(鶴田ら, 1999; 羽室・柴尾, 2000; 西本ら, 2006)、有機りん系薬剤では比較的殺虫効果の高いものがあり(多々良・古橋, 1993; 鶴田ら, 1999; 羽室・柴尾, 2000; Morishita et al., 2001; 西本ら, 2006)、合成ピレスロイド系薬剤に対しては本種が侵入した当初から低く(多々良・古橋, 1993)、その後の報告も同様の傾向である(片山, 2006; Morishita et al., 2001)。新規薬剤では、エマメクチン安息香酸塩乳剤およびクロルフェナピル水和剤で

侵入した当初より感受性が低下していた一方で、スピノサド水和剤のみが全ての個体群に対して高い殺虫効果を示し、感受性低下個体群は認められなかった(岡崎ら, 2007)。しかし、2003年にスペインのアルメニア地方および2004年にトルシヤ地方で採集した個体群において、スピノサド水和剤に対する感受性低下が認められている(Bielza et al., 2007)。この原因として、これら地域内の施設圃場においてスピノサド水和剤が過度に使用されたためとしている。大分県の夏秋ピーマンにおける防除暦では、定植後20日以内にあたる4月上旬にスピノサド水和剤を散布し、スワルスキーカブリダニを放飼しない場合は、6月下旬に2回目散布することを推奨し、登録基準である総使用回数2回を厳守するよう指導している。2013年時点において、本種がスピノサド水和剤に対して防除効果がないもしくは低下したといった事例は確認していないが(岡崎, 未発表)、今後とも薬剤感受性の動向についてモニタリングし、新規薬剤を含めて有効な薬剤を選定していく必要がある。

薬剤感受性低下の問題を回避するため、化学薬剤のみならず生物的防除資材についても検討する必要がある。なかでもスワルスキーカブリダニは夏秋ピーマン栽培で、5月下旬から6月上旬に50,000頭/10aを1回放飼のみで定着性は極めて高く、ミカンキイロアザミウマに対して高い密度抑制効果が認められた(岡崎ら, 2012)。これまで生物農薬を現地圃場で使用する際には、それぞれの害虫種の要防除水準を目安にして天敵を放飼するタイミングを図っていた。実際には、圃場によって害虫の発生は異なっており、生産者にとって放飼時期を把握することは困難であったと推察される。しかし、本天敵は花粉やホコリダニを餌とするため(山中, 2011)、タバココナジラミやアザミウマ類が同時に発生する場合、その発生前から初期に導入でき、栽培防除暦中での放飼時期を明確に示すことが可能である。さらに本天敵と併用できる化学薬剤も殺虫殺菌剤を含めてある程度は充実している(農薬影響表 日本バイオリジカルコントロール協議会第21版, 2012)。また本天敵の生息密度は、ピーマン花数と相関があることが明らかになっており、ピーマンの花を平準化する管理も安定した防除効果を得るためには重要であろう(岡崎ら, 2013)。

TSWVの蔓延防止策としてこれまでに、感染株の持ち込み防止(花田, 1999)、罹病残渣の除去、アザミウマ類と周辺雑草の防除(片山, 2006)が奨励されており、なかでも片山(2006)はミカンキイロアザミウマの越冬場所となる周辺雑草の管理が重要であると指摘している。トスボウイルスを媒介するアザミウマ類にとって、雑草は重要な越冬場所であると同時にウイルスの獲得源になっていることが報告されている(Cho

et al., 1995; Groves et al., 2001)。また、ミカンキイロアザミウマの寄主範囲は極めて広く(村井、1991)、数多くの雑草種で冬期に生息が確認され、幼虫の増殖も認められている(Stewart et al., 1989; 片山、2006)。本種は、冬期間に生殖休眠するヒラズハナアザミウマより早く発育する(片山、2006)ため、4～6月に開花する雑草の花では本種の高い寄生密度が認められる(行徳・横山、1999; 片山、2006)。このことから、この時期の雑草はTSWVの獲得源のみならずミカンキイロアザミウマの増殖源としても重要と考えられる。

本研究では、日本で広く見られる雑草の中に、TSWVの獲得源として重要な雑草が数種確認されたことから、除草対策が有効な手段のひとつと考えられた。実際に豊後大野市では、2004年作の終了時から生産部会をあげて収穫終了後にピーマン残渣圃場内から除去することとした。なかでもTSWVの主要な伝染源であったピーマンの果実を完全に除去することに重点を置き、さらには周辺雑草も含めて収穫終了後直ちにトラクター等のロータリーで耕耘しすぎ込むなど耕種的防除対策を徹底し(岡崎、2006)(写真10)、現地研修会で生産部会員に周知した(写真11)。これらの取り組みによって豊後大野市では2006年作以降TSWVの発生が認められなくなった。その後、このような取り組みは周辺のピーマン産地へ波及し、白杵市および竹田市でも2006年以降ピーマン黄化えそ病の発生は認められなくなった。玖珠町では、2006年に0.2haの2圃場で発生が確認されたのみで、2007年以降ピーマン黄化えそ病の発生は認められなくなった。さらに、2009年には県内のピーマン圃場でTSWVの発生は認められなくなった。現地圃場においてTSWVの感染源を明らかにし、これらを取り除くことによって、ウイルス伝染環を絶つことが重要であると示唆された。しかし、2010年作では大分県内の半径5kmに収まる一部の地域内において、キク、トマト、ピーマンでTSWVの多発生が認められた。現地で原因を調査した結果、新たに海外から導入したキクの新品種があり、その親株床が高頻度でTSWVに感染していることが判明した(岡崎、未発表)。このように、一旦地域内に侵入した場合は、伝染源を解明したうえで伝染環を絶つ対策と併せて、新たに感染株が持ち込まれるケースも想定していくことも必要である。

以上のとおり本研究によって、大分県の夏秋ピーマンで発生していたTSWVの伝染源を冬期間中の果実残渣であることを明らかにし、残渣処理を徹底するとTSWVの伝染環が絶てること、雑草も種類によってはTSWVの獲得源になりミカンキイロアザミウマも多種の雑草で生息することから除草対策も重要であることが明らかになった。大分県のミカンキイロアザミウマおよびヒ

ラズハナアザミウマの2種は高いTSWV媒介能力を持つため、両種の発生消長を把握したうえで、アザミウマ種全体としてとらえ防除する必要性を示すことができた。さらに、TSWVがミカンキイロアザミウマによって獲得される際にいわゆる獲得閾値が存在することが判明し、保毒虫になるために一定以上のウイルスを取り込む必要があるといった、疫学面から基礎研究的なアプローチから重要な項目を解明することもできた。また、発生モニタリングをするうえで、黄色粘着板を用いてアザミウマの発生消長のみならずウイルス保毒虫も把握できる技術を開発した。これまでに佐賀県のトルコギキョウ圃場において、粘着板に捕殺されたネギアザミウマから*Iris yellow spot virus* (IYSV)保毒虫を検出した事例があり(Zen et al., 2009)、これから他の虫媒伝染性ウイルスでも活用されるものと考えられる。最後に防除対策として、非作付け期間中での残渣処理や雑草除去のみならず、ピーマン生育期間中ではミカンキイロアザミウマに対して、有効な薬剤による防除と併せてスワルスキーカブリダニの高い防除効果が認められた。従ってTSWV発生地域では、保毒虫のモニタリングと併せてこれらの防除対策を総合的に実施しIPM体系を構築していかなければならない。本研究はその指針となり、基礎から応用研究まで含めた重要な知見を提示できるものである。

VII 摘 要

ミカンキイロアザミウマは、作物を直接加害する害虫としてだけでなく、野菜類および花き類の重要病害、トマト黄化えそウイルス *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) などの数種のトスポウイルスの媒介種としても経済的に重要である。このTSWVは、1990年代後半になってから我が国全域に急速に分布域を拡大し、主として施設栽培の野菜および花き類での最も深刻な病害となった。そこで本研究では、大分県の夏秋ピーマン産地全域で恒常的に発生したTSWVの冬期間中の伝染環を解明し、その媒介者であるミカンキイロアザミウマとの関係を明らかにし、さらに夏秋ピーマンのTSWV発生を最小限に抑制するためにミカンキイロアザミウマの防除体系の確立を目指した。これらの結果をもとに、ミカンキイロアザミウマを対象に総合防除体系の構築をめざした。

- 1 大分県豊後大野市のピーマン圃場における冬期調査の結果、ピーマン施設内で発生が認められたいくつかの雑草種ではTSWV感染が確認されたが、TSWVの感染率は極めて低く、雑草が冬期のTSWV感染源として果たす役割は低いと考えられた。一方で、施設圃場および露地圃場に放置されていたピーマン果実残渣では、高頻度でTSWVに感染していることが認められた。さらに、これら果実残渣に生息していたミカンキイロアザミウマもTSWVを高率に保毒しており、TSWVに感染したピーマン果実残渣が主なウイルス獲得源であると特定した。この果実からTSWVを獲得したミカンキイロアザミウマは、周辺雑草に分散し、次期作のピーマンにウイルスを媒介したと考えられた。
 - 2 大分県で採集されたミカンキイロアザミウマ全個体群の平均媒介率は33.6%であったが、豊後大野市の光昌寺個体群では62.0%、竹田市の荻町藤渡個体群では15.6%であり、地域個体群間によって大きな差異が認められた。また、大分県のヒラズハナアザミウマについても、わが国での既報の数値と比較して高い比率でTSWV媒介能力を有しており、本県では広い地域で高いTSWV媒介能力を有するアザミウマ類の個体群が生息していることが示唆された。
 - 3 TSWVの獲得源として供試した雑草11種のうち、オランダミミナグサ、コハコベおよびイヌホオズキの3種では、ミカンキイロアザミウマのTSWV獲得率と媒介率が特に高かった。このことから、これらの雑草種はミカンキイロアザミウマにとって効率的な
- TSWV獲得源であり、TSWV伝染環において重要な役割を果たしていると考えられた。また、ハキダメギクにおけるTSWVの獲得率と媒介率も約30%であったことから、TSWVの獲得源として注意すべき雑草種と考えられた。
- 4 感染植物中のTSWV量と、それを吸汁したミカンキイロアザミウマが保毒虫になりうる比率の関係を、ダチュラ葉を用いて、DAS-ELISAおよびqRT-PCRによる手法を用いて測定した。その結果、摂食させた葉中のTSWV量がある一定の値を超えた場合において、その保毒虫率は90%以上と獲得能力のほぼ上限まで達した。その一方で、TSWV量が一定量以下の値を示した場合では、保毒虫になる個体はごくわずかであった。これらの現象は、ある一定量以上のTSWV粒子を摂食したミカンキイロアザミウマは確実に保毒虫になることを意味しており、ある一定量以上のTSWV粒子の取り込むことで媒介虫になるといった、いわゆるウイルスの獲得閾値が存在することが示唆された。
 - 5 施設圃場において粘着板で捕殺したミカンキイロアザミウマのTSWV保毒虫率モニタリングするために、TSWVを保毒したミカンキイロアザミウマ雄雌成虫を粘着板に付着させ5、15、25、35°C条件で20日後までTSWVが検出できるか検討した。その結果、25°C以下の温度条件では捕殺されてから20日後まで雄雌成虫ともに虫体からDAS-ELISAによってTSWVが検出できることを確認した。そこで、この方法を用いて、施設圃場におけるミカンキイロアザミウマのTSWV保毒虫率を調査した。その結果、冬期間ではあるが試験期間を通じて保毒虫を検出することができ、捕殺されたアザミウマの保毒虫率は直接採集した成虫の数値と比較しても大きく下回ることにはなかった。
 - 6 大分県内のピーマン圃場で採集した5個体群、トルコギキョウ圃場で採集した2個体群の計7個体群について薬剤の殺虫効果を調査した。その結果、アセタミプリド水溶剤、イミダクロプリド水和剤およびジノテフラン水溶剤の殺虫効果は、いずれの個体群に対しても低い傾向であった。一方、有機りん系薬剤では、総じて効果の高い薬剤が認められたが、薬剤によっては個体群間差異が認められた。また、合成ピレスロイド系薬剤に対する殺虫効果は、殺虫効果は総じて低かった。さらに従来は殺虫効果が高かったエマメクチン安息香酸塩乳剤およびクロルフェナピル水和剤において、今回の試験では両薬剤において感受性低下が認められた。すべての個体群

に対して高い殺虫効果が認められたのは、スピノサド水和剤のみであり、 LC_{50} 値は1.4~9.1ppmと感受性個体群の2.8ppmと比較して、同等かやや高い値を示したものの、感受性低下レベルではなかった。国内において、スピノサド水和剤に対して殺虫効果の低下が認められた個体群の報告は2012年時点では認められておらず、今回の試験でも感受性低下は認められていない。このことから、今後は感受性動向に注意を払いながら本剤を中心とした防除体系を組む必要がある。

- 7 夏秋ピーマンにおけるミカンキイロアザミウマの生物的防除の効果を検討するために、現地施設において、スワルスキーカブリダニの放飼試験を行った。その結果、スワルスキーカブリダニは5月下旬から6月上旬に50,000頭/10aの1回放飼のみで、放飼120日後まで十分に定着することが確認され、ミカンキイロアザミウマおよびアザミウマ類幼虫に対して密度抑制効果があることが実証された。ただし、ヒラズハナアザミウマ成虫の発生推移を見る限り密度抑制効果は認められなかった。試験期間中の放飼施設の気温推移を見ると、最高気温が 40°C を超える時点があったが、スワルスキーカブリダニの密度は総じて減少せず高温が及ぼす悪影響はなかったと考えられる。このことから、本天敵は比較的高温時でも利用可能と考えられ、夏秋ピーマン栽培では重要な一資材となりうると示唆された。

VIII 謝 辞

本論文をとりまとめるに際して、懇切丁寧なご指導、ならびにご校閲を賜った九州大学農学研究院 高木正見教授、土屋健一教授、上野高敏准教授に対して厚くお礼申し上げます。また、本論文について多くの有益なご助言、ご校閲、ならびにご配慮を賜った独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構中央農業総合研究センター 奥田充博士、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構東北農業研究センター 櫻井民人博士に心からお礼申し上げます。

本研究を遂行するにあたり大分県東部振興局 吉松英明氏、大分県農林水産研究指導センターの病害虫チーム 小野元治氏を筆頭に、皆様には多くのご助言を賜った。ここに厚くお礼申し上げます。

国立環境研究所 生物・生態系環境研究センター 奥田しおり博士、高知県農業振興部環境農業推進課 古味一洋博士、大分県豊肥振興局山崎修一博士には、ウイルス検定もしくはRNA抽出等の実験を遂行するに当たりご協力をいただいた。大分県農林水産部研究普及課の太郎良健一氏、園芸振興室の山下大輔氏並びに木村真美氏、大分県南部振興局の今村香織氏、豊肥振興局の大坪亮介氏、西部振興局の神崎悠梨氏には、調査のご協力ならびに多くのご助言や励ましの言葉をいただいた。さらには、大分県のピーマン生産部会の皆様には試験圃場の提供および調査にご協力いただいた。ここに厚くお礼申し上げます。

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構果樹研究所 岩波徹博士には、冬期におけるウイルス感染源解明に関する研究をまとめる際にご校閲を賜った。独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 中央農業総合研究センター 浅井元朗博士には、TSWV獲得試験に用いた雑草種子を分譲いただいた。島根県農業技術センター 奈良井祐隆博士には、ミカンキイロアザミウマ薬剤感受性個体群を分譲いただいた。静岡県病害虫防除所 片山晴喜博士、元九州沖縄農業研究センター 柏尾具俊氏、宮城県農林水産部農産園芸環境課 宮田将秀氏には実験手法並びに関連文献の収集についてご助言賜った。宇都宮大学農学部教授 村井保博士には、アザミウマの飼育法並びに実験手法についてご教示賜った。アリストライフサイエンス株式会社の桃下光敏氏並びに山中聡博士には、天敵資材に関する助言をいただいた。元独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 中央農業総合研究センター 花田薫博士、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構東北農業研究センター 榎原充隆博士、独立行政法人

農業・食品産業技術総合研究機構九州沖縄農業研究センター 大貫正俊博士、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構北海道農業研究センター 上田重文博士には、多くのご助言と励ましのお言葉を賜った。ここに厚くお礼申し上げます。

本研究をまとめるにあたっては、元大分県農林水産研究センター長の挾間渉博士（現 住友化学株式会社）には多くの便宜をはかっていたいただき厚くお礼申し上げます。