

新潟県におけるイネ縞葉枯病の発生生態 (予報)

藤 晋一・小島 誠

Sinichi FUJI and Makoto KOJIMA: Ecological aspect of rice stripe disease in Niigata Prefecture

Summary

This paper deals with the occurrence of rice stripe virus (RSV) and the incidence of viruliferous small brown planthopper, *Laodelphax striatellus* in Niigata Prefecture. The plant-hoppers which had been collected from several districts were assayed for RSV by ELISA.

イネ縞葉枯病は、イネ縞葉枯ウイルス (Rice Stripe Virus, RSV) によって引き起こされ、日本における稲作の重要病害の一つである。新潟県においては1958年にその発生が認められているが^{1,3,4,8)}、それ以降の発生に関する詳しい調査はなされていない。しかしながら、被害の中心となっている関東地方の群馬県に隣接している本県におけるその発生生態の把握は、重要な今日の問題と考えられている (因に1987年、関越自動車道も開通している)。そこで、本研究においては本県におけるその実態を明らかにすべく調査を着手した。

RSV は媒介虫であるヒメトビウンカによって永続伝播 (増殖型) し、経卵伝染もするため、媒介虫であるヒメトビウンカが、本病の発生の鍵となっている。本県においてもヒメトビウンカは県下全域において発生している。そしてムギ類の栽培が、近年盛んになってきたため、越冬虫の棲息もまた可能と考えられる。それ故、年によっては多発生の可能性も考えられる。本研究では、酵素結合抗体法 (ELISA) による保毒虫率検定法を導入し、ウンカからのウイルス抗原検出によって、本県におけるイネ縞葉枯病の地域的発生状況の推測を行った。なお、本研究を行うに当たり、RSV に対する抗血清 (γ -グロブリン、同コンジュゲート) を分譲して下さった、日本植物防疫協会研究所高橋義行氏、また一部供試ウンカを送付して下さった、新潟県農業試験場環境科小嶋昭雄氏、藤巻雄一氏、原沢良栄氏、新潟県魚沼病害虫防除所小野塚清氏、小幡武志氏、新潟県中越病害虫防除所大崎正雄氏、新潟県佐渡病害虫防除所池善世氏、新潟県新潟病害虫防除所中野潔氏に対し厚く御礼申し上げる。

材料と方法

供試虫の採集と保存

新潟大学農学部 Faculty of Agriculture, Niigata University, Niigata 950-21

63年度、県内41市町村から供試虫を採集し、検定をおこなうまで、 -20°C で保存した。

ELISA によるウイルスの検出

ELISA の手順は基本的には Clark and Adams²⁾ の方法に従った。

1 供試試薬

PBS-Tween 液: 8.0g NaCl, 0.2g KH_2PO_4 , 2.9g Na_2HPO_4 , 0.2g KCl, 0.2g NaN_3 , 0.05% Tween 20/1l H_2O , pH 7.4とした。

コーティング用緩衝液: 1.59g Na_2CO_3 , 2.93g NaHCO_3 , 0.2g NaN_3 /1l H_2O , pH 9.6とした。

洗浄用緩衝液: PBS-Tween, 0.05% polyvinylpyrrolidone とした。

希釈用緩衝液: PBS-Tween, 0.05% albumin とした。

基質用緩衝液: 9.7ml Diethanolamine, 80ml H_2O , 0.2g NaN_3 , pH 9.8とした。

2 グロブリンとRSVコンジュゲート

グロブリンと RSV コンジュゲートは日本植物防疫協会研究所の高橋義行氏より分譲を受けた。また、希釈率は、高橋らの報告に基づき、それぞれ1,000倍希釈とした。

3 二重抗体法によるウンカからのウイルスの検出

高橋ら⁶⁾による二重抗体におけるウンカからの検出方法を一部修正することによって行った。

1) コーティング

グロブリンをコーティング用緩衝液で希釈し各 well に $100\mu\text{l}$ ずつ分注し、4時間 37°C で静置した。

2) 洗浄

洗浄用緩衝液で4回洗浄した。

3) 試料処理

PBS-Tween 液を各 well に $100\mu\text{l}$ ずつ分注し、検定ウンカをピンセットで各 well に入れた後、 $\phi 6$ のピニ

ル棒を使用して well 内で磨砕し、4 Cで一晩静置した。

4) 洗浄

2) に同じ

5) 酵素結合抗体処理

希釈用緩衝液で希釈したコンジュゲートを 100 μ l ずつ分注し、4時間37Cで静置した。

7) 洗浄

2) に同じ

6) 基質処理

1 mg/ml になるように p-nitrophenylphosphate を加えた、基質用緩衝液を 200 μ l ずつ分注し、1時間室温に静置した。

マイクロプレート光度計 (MTP-12 コロナ社) により吸光度 (405nm) を測定した。

以上の方法により2,682個体を検定材料として、検定を行った。

結果及び考察

ELISA において、人工的にウイルスを獲得させた保毒虫、及び無毒虫を使用して、予備実験を行ったところ保毒虫の吸光度は、0.1以上の値を、無毒虫の吸光度が0.00に限りなく近い値を示し、保毒虫と無毒虫とを、明瞭に判別できることが判った。さらに採集したウンカによる県内の保毒虫検定の結果から、三国山脈を隔て、群馬県に隣接する湯沢町、及び塩沢町において、かなり高率で保毒虫が棲息していることが判明した。新潟市、燕市、巻町などの、西蒲原地区からの保毒虫の検定の結果、他の県内の地域とくらべ、かなり高率であることが判明した。さらに佐渡においては低率ながら、保毒虫が棲息していることが明らかとなった(第1表)。しかしながら、

第1表 保毒虫採集地

採集日	場 所	頭/well	吸光度 ¹⁾
	塩沢町 五十嵐	10頭	.401
	" ガ=沢新田	"	.213
	" "	"	.132
	守門村 大沼	7頭	.748
	入広濃村 可鞘新田	10頭	.243
	" "	"	.300
	" "	"	.647
6月1日	佐和田町 二宮	1頭	.079
"	" "	"	.177
8月下旬	" 東野	10頭	.093
"	" 齊野	"	.217
"	" "	"	.111
"	" "	"	.265
8月上旬	羽茂町 大名	10頭	.067
"	" "	4頭	.091
"	阿津市 秋津	10頭	.103
8月下旬	" 梅津	"	.086
"	相川町 小川	"	.289
8月8日	白根市 古川	8頭	.419
8月23日	" 北田中	9頭	.097

9月8日	"	10頭	.511
"	"	"	.409
"	"	"	.926
"	"	"	.707
"	"	"	.078
9月8日	白根市 大野	10頭	.162
"	" 大野	"	.108
8月4日	燕市 長所	"	.087
8月25日	" "	"	.203
8月24日	新潟市 舞浜	"	.567
9月8日	" 谷内	"	.124
9月5日	巻町 漆山	"	.169
"	" 西野	"	.073
8月24日	三川村 五十沢	6頭	.122
8月30日	湯沢町 芝原	10頭	.246
"	" "	1頭	.138
8月30日	" 中屋	10頭	.440
"	" "	"	1.003
"	" "	"	.149
"	" "	"	.086
"	" "	"	.089

1) 吸光度は基質分注後1時間の測定値を示した。

調査を行った63年、県内において我々が、罹病株を見出したのは、十日町市馬場における1株のみであった。県内の各防除所による時期別すくい取り調査⁵⁾において県内全域において8月上旬までのすくい取り数は少なく、8月下旬から9月にかけてすくい取り数が多くなっており、保毒虫発生も8月下旬以降であることが示された(第2表)。これらの点から、RSVの発生は、県外から

第2表 白根市北田中における保毒虫発生状況

	7月		8月		9月
	上旬	下旬	上旬	下旬	上旬
すくい取り数	—	—	19	9	274
検定数	—	—	7	9	166
吸光度 ¹⁾	—	—	.014/7	.097/9	.180/10

1) 吸光度は吸光度/well 当たり頭数で示してある。

の保毒虫の飛来によって初めてその可能性が生ずるものと考えられる。また、保毒虫の捕獲が8月下旬以降に集中したことは、その時期のイネの生育状況から、罹病株の発生に至らなかったと考えられる。それ故本病の発生は、保毒虫の飛来の有無、あるいはその数、及び飛来時期によって左右されるものであると示唆され、こうした条件を満たしたウンカの飛来が、本病の間歇的発生の要因となっていると考えられる。同様なことが、イネ蒴葉枯病の発生の少ない他の北陸地区においても考えられる。本研究におけるウンカからの ELISA 検定は、簡略化を図るため1 well 当たり1~10頭グループとして行った。そのため、保毒率を正確に算出することができなかった。また63年度は、ヒメトビウンカの発生数が少なく、また県内全域に亘る詳細な調査がなされていないので、引き続き調査し、下越、及び頸城地方における調査も遂

行したい。更に本県におけるヒメトビウンカの生活環とウンカの季節毎の保毒率の変動の詳細についても、調査検討したい。

摘 要

- 1 63年度、新潟県の魚沼、西蒲原、佐渡の各地域においてウンカの RSV 保毒検定を行った。
- 2 保毒虫の検出された地区は、相対的にウンカ数が多かった。
- 3 保毒虫は、主に8月下旬以降採集した個体に多くみられた。
- 4 罹病株は、十日町市馬場において、一株のみ採集することができた。
- 5 RSV の発生は、保毒虫の飛来によって間歇的に起こるものとえられた。
- 6 一般に保毒虫発生時期が遅いため発病に至るイネが極めて少なかったと考えられる。

引用文献

- 1) 青柳和雄・矢尾板恒雄・小野塚清 (1959) 新潟県におけるイネシマハガレ病の発生. 北陸病虫研報 7 : 83~84.
- 2) Clark, M.F and Adams, A.N. (1977) Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant virus. J. gen. Virol 34 : 475~483.
- 3) 新潟県農作物病害虫発生予察事業年報(1957) 89~90.
- 4) 新潟県農作物病害虫発生予察事業年報(1958) 67~68.
- 5) 新潟県病害虫防除所年報(1988)
- 6) Takahasi, Y. Omura, T. Shohara, K. and Tsuchizaki, T. (1987) Rapid and simplified ELISA for routine field inspection of rice stripe virus. Ann. Phytopath. Soc. Japan 53 : 254~257.
- 7) Toriyama, S. (1983) Rice stripe virus CMI/AAB. Descriptions of Plant Viruses No. 269.
- 8) 矢尾板恒雄・小野塚清 (1961) 新潟県におけるイネシマハガレ病の発生 (第2報). 北陸病虫研報 9 : 39~41.

(1989年11月30日受領)