

平成 13 年度試験研究成果

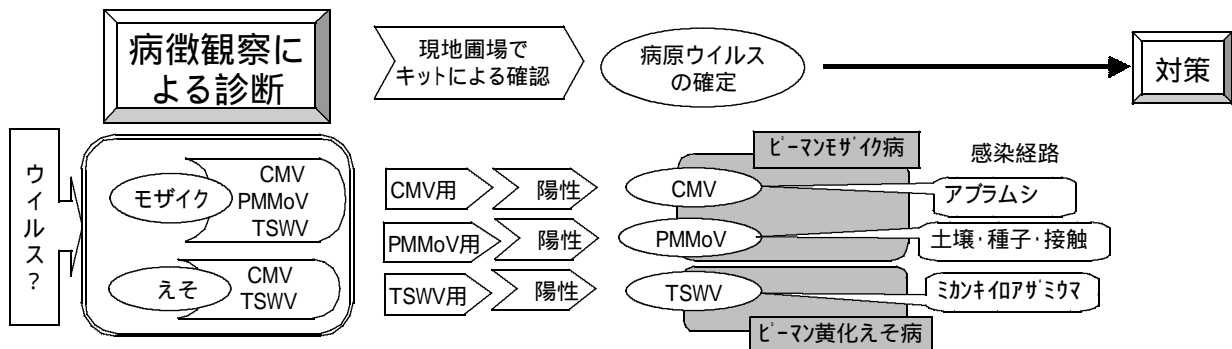
区分	指導	題名	ピーマン病原ウイルス CMV・PMMoV・TSWV の簡易迅速診断		
【要約】県内でピーマンへの感染が認められている病原ウイルス CMV・PMMoV・TSWV について、病徴観察と市販キットによる簡易な確認検定によって病原ウイルスを迅速に診断できる。					
キーワード	ピーマン CMV	ウイルス PMMoV	簡易診断 TSWV	農産部	応用生物工学研究室 病害虫部 病理昆虫研究室

1. 背景とねらい

県内でピーマンでの発生が確認されているウイルス病は、CMV(キュウリモザイクウイルス)・PMMoV(ペッパーマイルドモットルウイルス)によるピーマンモザイク病と、TSWV(トマト黄化えそウイルス)によるピーマン黄化えそ病であり、ウイルスの種類により感染経路・防除対策が異なるので診断に当たっては病原ウイルスを特定する必要がある。しかし、ウイルスによる病徴は類似しており診断が難しく、またウイルス検定には一般に時間を要するため検定結果を踏まえた迅速な病徴観察を行いにくい。この2点が現地での自立的な診断を妨げる要因となっており、これを解決する診断技術が求められている。

2. 技術の内容

- (1) 東北化学薬品から市販される「植物ウイルス診断キット」のウイルス検出効果を検証し、ピーマン病原ウイルスの診断に使用できると判断した。(表1、2)
- (2) 病徴観察をキットによりサポートする診断の手順を組み立てた。(下図)



病徴観察は岩手県病害虫防除技術情報No.13-5「病徴によるピーマンウイルス病の見分け方」による

図 病徴観察と市販キットによるピーマン病原ウイルスの診断手順

- ア. 診断株の病徴をつぶさに観察し、病原ウイルスをまず病徴から診断する。
- イ. キットによる確認検定を行う。(表3)
- ウ. 病原ウイルスを確定する。

3. 指導上の留意事項

- (1) 病原ウイルスを確定してから再度病徴観察し、ウイルスごとの病徴への理解を深める。
- (2) 一般にウイルス検定では病徴があっても老化した葉からはウイルスが検出されないことがあるので、検体とする葉は病徴のある上位葉が望ましい。特に TSWV は罹病株内でウイルスが局在することが知られているので、検定部位はよく吟味する。
- (3) 病原ウイルスを確定できない症例に対しては農研が ELISA 検定などでサポートする。
- (4) 多数の試料を同時に検定する必要がある場合は ELISA 検定のほうが効率的である。

4. 技術の適応地帯 県下全域

5. 当該事項に係る研究課題

(289) ピーマン病原ウイルスの検出・診断技術の利用(H.10-13、県単)

ウイルス病・細菌病・糸状菌病等の診断技術および防除基礎技術の確立
(岩手県生物工学研究センターとの共同研究)

6. 参考文献・資料

- (1) 岩手県病害虫防除技術情報 No.13-5 「病徴によるピーマンウイルス病の見分け方」
- (2) 「いわての農作物病害虫図鑑() 野菜・花き編」(平成7年版、TSWVの記載なし)
- (3) 平成10年度試験研究成果「トマト黄化えそウイルスによる野菜・花き病害の発生実態と症状の特徴」(指導)
- (4) 平成12年度試験研究成果「ピーマン黄化えそ病の発生特徴と伝染源」(指導)
- (5) 東北化学薬品株式会社「植物ウイルス診断キット」取扱説明書(キットに付属)

7. 試験成績の概要

表1 「植物ウイルス診断キット」のウイルス検出効果(ELISA法との比較)

試料 No.	採取地点	病徴観察	CMV		PMMoV		TSWV	
			キット	ELISA	キット	ELISA	キット	ELISA
1	石鳥谷町 大瀬川	凹凸/軽微なモザイク	-	-	+	+	-	-
2	石鳥谷町 八重畑	凹凸/緑黄コントラスト明瞭なモザイク	-	-	+	+	-	-
3	石鳥谷町 八重畑	凹凸/軽微なモザイク	-	-	+	+	-	-
4	石鳥谷町 新堀	緑黄コントラスト明瞭な激しいモザイク	+	+	+	+	-	-
5	石鳥谷町 新堀	凹凸/軽微なモザイク	-	-	+	+	-	-
6	北上市(農研)	縮れたモザイク/えそ斑点	+	+	-	-	-	-
7	北上市(農研)	縮れたモザイク/えそ斑点	+	+	-	-	-	-
8	北上市(農研)	縮れたモザイク/えそ斑点	+	+	-	-	-	-
9	北上市(農研)	縮れたモザイク/えそ斑点	+	+	-	-	-	-
10	北上市(農研)	縮れたモザイク/えそ斑点	+	+	-	-	-	-
11	北上市(農研)	縮れたモザイク/えそ斑点	+	+	-	-	-	-
12	北上市(農研)	軽微なモザイク	+	+	-	-	-	-
13	北上市(農研)	無病徴	-	-	-	-	-	-
14	北上市(農研)	無病徴	-	-	-	-	-	-
15	北上市(農研)	無病徴	-	-	-	-	-	-

*) ELISAは(社)日本植物防疫協会作製の抗血清を用い、直接法により行った。

(考察) CMV・PMMoV について、キットと ELISA の検定結果はよく一致しており、キットを診断に使用できると判断した。

表2 「植物ウイルス診断キット」を用いたTSWVの検定結果

(病害虫防除課調査)

地点	病徴観察		検体 数	キットによる 検定結果
	病徴	診断		
石鳥谷町 新堀	えそ・黄化	TSWV	5	全て陽性
石鳥谷町 新堀	激しいえそ・黄化・芽枯れ・芯止まり	TSWV(重症)	2	〃

(考察) TSWV について、現地での使用実績よりキットを診断に使用できると判断した。

表3 キットによる検定手順(詳細は付属の取扱説明書、アタラ-ラインはキットの構成品)

チャック付ポリ袋に磨砕用緩衝液を約 2ml とり、約 1cm 四方の葉片を軽く押しつぶすように磨砕する。

試験紙に の汁液をゆっくり 2 滴、滴下する。

試験紙に汁液が吸収されたら検出用試薬をゆっくり 3 滴、滴下する。

陽性の場合、滴下位置から上方約 1 cm の位置に、赤色バンドが現れる。

(発色までの時間は約 1 ~ 5 分で概ね早いほうから CMV・TSWV・PMMoV の順)

原理：ウイルス抗血清を用いた抗原抗体反応「二段階 RIPA 法」

費用：キットはウイルス別で 1 キット(25 検体)で ¥5,000 (3 ウイルスで ¥15,000)

1 ウイルス 1 検体で ¥200 (3 ウイルス同時検定だと 1 検体 ¥600)

東北化学薬品より 2002 年 1 月より発売(受注生産)