

| トマト黄化葉巻ウイルスの簡易検出キットの開発と迅速診断  |       |      |    |
|--|-------|------|----|
| [要約]<br>トマト黄化葉巻ウイルスを生産現場で簡易に検出するために開発したイムノクロマトキットは、キット以外に特別な機器や試薬が不要であり、本ウイルスを30分程度で診断できる。 |       |      |    |
| 茨城県農業総合センター 園芸研究所  | 令和元年度 | 成果区分 | 普及 |

### 1. 背景・ねらい

トマト黄化葉巻ウイルス (*Tomato yellow leaf curl virus*; TYLCV) による病害の防除には迅速な診断が不可欠であり、本県では TYLCV の検出には PCR 法やティッシュロット法 (平成 27 年度主要成果) が活用されている。しかし、専用の機器・試薬と技術が必要で、検定に半日程度要していた。そこで、生産現場でさらに迅速に検定できる簡易検出キットを民間企業と共同で開発する。

### 2. 成果の内容・特徴

- 1) イムノクロマトキットは金コロイド標識抗体のパッドと捕捉抗体を塗布したメンブレンを組み合わせて作製されたもので、摩砕袋とスポイトが添付されている (図 1)。
- 2) TYLCV 感染の疑いのある植物体の葉柄 0.2g を摩砕袋に入れて摩砕する。その摩砕液をスポイトでテストストリップに滴下すると、30 分程度でラインが現れ、2 本のラインが現れば陽性、1 本だと陰性と判断できる (図 2)。
- 3) 現地圃場のトマトを検定すると、大玉、中玉、ミニトマトにおいて広く TYLCV を検出できる (表 1)。
- 4) TYLCV のイスラエル系統 (TYLCV-IL)、マイルド系統 (TYLCV-Mld) の両方を区別なく検出できる (表 1)。
- 5) 感受性品種だけでなく耐病性品種においても TYLCV を検出できる (表 1)。

### 3. 成果の活用面・留意点

- 1) 本イムノクロマトキット「Agripalette アグリパレット (トマト黄化葉巻ウイルス) (商標出願中)」は日本製粉株式会社との共同研究の成果で、株式会社ファスマックより販売されている。
- 2) 本キットは迅速かつ簡易に検定できることから、ほ場で活用できるほか、緊急を要する診断にも対応できる。
- 3) 黄化葉巻病の診断は、病徴を含めた総合的な判断により行う。
- 4) 検定試料は生長点付近の新鮮な葉の葉柄を用いる。特に耐病性品種では TYLCV の蓄積量が少ないため、古い葉を用いると検出できない場合がある。
- 5) 感受性品種では 30 分以内で十分に判定可能であるが、耐病性品種の検定では 30 分～2 時間程度経ってから判定する。TYLCV の蓄積量が少ない場合、判定に 1 晩かかることもある。
- 6) 検定結果の判断が困難な場合や TYLCV の系統 (イスラエル系統、マイルド系統) を識別するためには、PCR 法による検定を行う必要がある。
- 7) 生産者が本キットによる検定を初めて行う場合は、普及指導員等による指導のもと行うことが望ましい。
- 8) 対象地域は県全域のトマト生産地である。

#### 4. 具体的データ

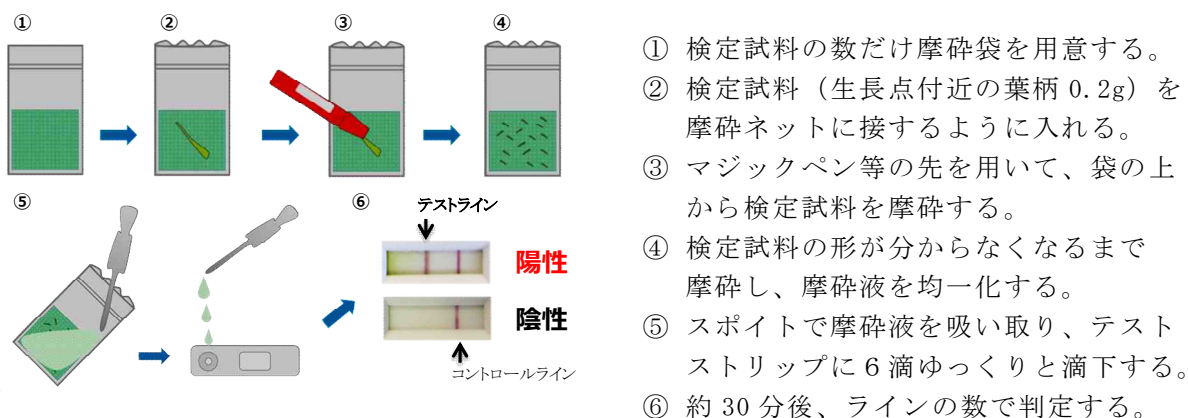
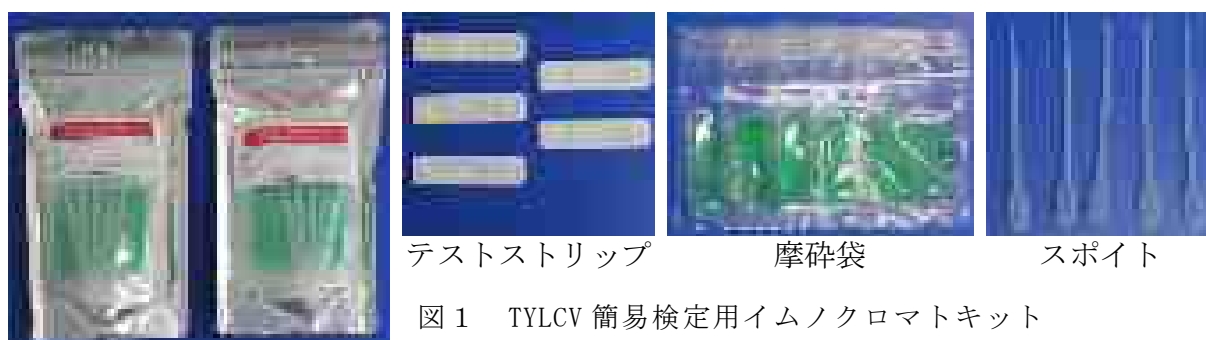


図2 キットの検定手順

表1 現地診断サンプルを用いたキットの有効性の検討

| 品種名           | 耐病性 | 葉の病徴   | キット判定           | PCR検定結果（系統）      |
|---------------|-----|--------|-----------------|------------------|
| ごほうび（大玉）      | なし  | 退緑     | + <sup>1)</sup> | 陽性（TYLCV-IL/M1d） |
| ごほうび（大玉）      | なし  | 退緑     | +               | 陽性（TYLCV-M1d）    |
| 桃太郎ファイト（大玉）   | なし  | 黄化葉巻初期 | +               | 陽性（TYLCV-IL）     |
| 桃太郎はるか（大玉）    | なし  | 退緑     | +               | 陽性（TYLCV-IL）     |
| アニモ TY-12（大玉） | あり  | 黄化奇形   | +               | 陽性（TYLCV-IL/M1d） |
| アニモ TY-12（大玉） | あり  | 黄化     | +               | 陽性（TYLCV-IL/M1d） |
| アニモ TY-12（大玉） | あり  | 黄化     | +               | 陽性（TYLCV-M1d）    |
| はれぞら（大玉）      | あり  | 黄化奇形   | +               | 陽性（TYLCV-M1d）    |
| はれぞら（大玉）      | あり  | 黄化     | +               | 陽性（TYLCV-M1d）    |
| 麗旬（大玉）        | あり  | 退緑     | +               | 陽性（TYLCV-M1d）    |
| 桃太郎ピース（大玉）    | あり  | 黄化     | +               | 陽性（TYLCV-M1d）    |
| 桃太郎ピース（大玉）    | あり  | 退緑     | +               | 陽性（TYLCV-IL/M1d） |
| 桃太郎ピース（大玉）    | あり  | 退緑     | +               | 陽性（TYLCV-M1d）    |
| 桃太郎ピース（大玉）    | あり  | 奇形     | +               | 陽性（TYLCV-IL/M1d） |
| 桃太郎ピース（大玉）    | あり  | なし     | ± <sup>2)</sup> | 陽性（TYLCV-M1d）    |
| 桃太郎ピース（大玉）    | あり  | なし     | - <sup>3)</sup> | 陰性               |
| シンディースイート（中玉） | なし  | 黄化葉巻初期 | +               | 陽性（TYLCV-IL）     |
| アイコ（ミニ）       | なし  | 黄化葉巻初期 | +               | 陽性（TYLCV-IL/M1d） |
| キャロル（ミニ）      | なし  | 退緑     | -               | 陰性               |
| サンチェリーピュア（ミニ） | なし  | 黄化     | +               | 陽性（TYLCV-IL）     |
| サンチェリーピュア（ミニ） | なし  | 黄化葉巻初期 | +               | 陽性（TYLCV-IL/M1d） |
| サンチェリーピュア（ミニ） | なし  | 黄化葉巻初期 | +               | 陽性（TYLCV-IL）     |
| 千果（ミニ）        | なし  | 退緑     | +               | 陽性（TYLCV-IL）     |
| フロランティノー（ミニ）  | なし  | 退緑     | +               | 陽性（TYLCV-IL）     |
| ぷちぶよ（ミニ）      | なし  | 退緑     | -               | 陰性               |

1) 陽性と判断、2) 2時間では判断つかず、1晩後に陽性と判断、3) 陰性と判断

#### 5. 試験課題名・試験期間・担当研究室

トマトウイルス診断キットの実用化・平成30～令和2年度・病虫研究室