

急性萎凋症を示したキュウリからの ズッキーニ黄斑モザイクウイルスの迅速検出

農業・園芸総合研究所

1 取り上げた理由

県内のキュウリ産地では、夏秋期にモザイク病や急性萎凋症が発生しており、ズッキーニ黄斑モザイクウイルス（ZYMV）が主要な病原の一つとなっている（普及に移す技術第80号：普及情報）。キュウリの萎凋症は、ZYMV以外にも生理障害や糸状菌、センチュウ等によって生じることが知られており、適切な対策を取るためには正確な診断が必要である。従来、キュウリからのZYMVの検出にはDAS-ELISA法により10時間程度要していたが、市販のイムノクロマト法による簡易診断キットを使用することで、ZYMVをはじめとした4種のウイルスが検出できることを明らかにしている（普及に移す技術第82号：普及情報）。今回、ZYMVの検出に関して、萎凋症状を示したキュウリの側枝からの検出率やイムノクロマト法とELISA法による検出比較を明らかにしたので、参考資料とする。

2 参考資料

- 1) 簡易診断キットの商品名はImmunoStrip Test（Agdia社製）である。機器を必要としないため、ほ場で実施可能である。萎凋症状を示したキュウリからの検出手順は図1のとおりであり、ZYMVに感染したキュウリの診断は、試料調製から検出まで早ければ数分程度の所要時間である。

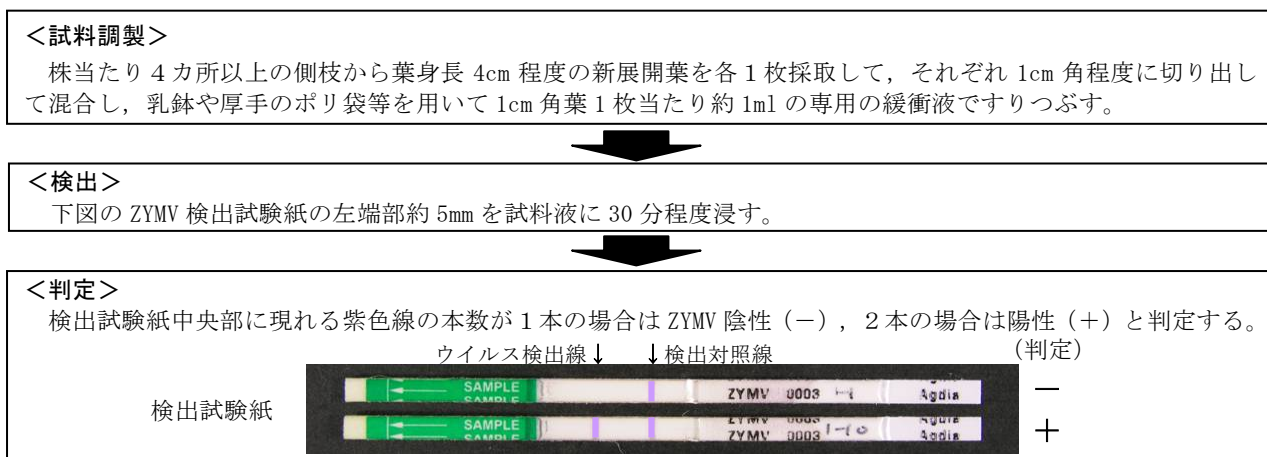


図1 ImmunoStrip TestによるZYMV検出手順

- 2) 接ぎ木栽培キュウリがZYMVに感染すると10日程度で萎凋症状が発生し、一部の新展開葉で葉脈が明瞭になり葉脈間が隆起する葉脈透化症状が観察される（表1、図2）。この時、症状が不明瞭、あるいは、萎凋症状を示さない場合であっても、ZYMVに感染していれば複数の側枝から試料を採取することにより本キットでZYMVが検出できる（表1、2）。

3 利活用の留意点

- 1) 本キットの詳細は、普及に移す技術第82号：普及情報を参照する。
- 2) 急性萎凋症の診断をする際は根部の観察も行い、総合的に判断する。ZYMVが検出された場合は、2次伝染を防ぐため被害株を早急に抜き取り処分するとともに、媒介虫であるアブラムシの防除を徹底する。
- 3) ウイルス症状が明瞭でも本キットでZYMVが検出されない場合は、キュウリモザイクウイルス（CMV）やカボチャモザイクウイルス（WMV）など、他のウイルスが感染している可能性がある。CMVは本キットのCMV検出試験紙等、WMVはDAS-ELISA法を用いて診断する。

（問い合わせ先：農業・園芸総合研究所バイオテクノロジー開発部 電話022-383-8131）

4 背景となった主要な試験研究

1) 研究課題名及び研究期間

遺伝子解析による品種識別と病害診断技術の開発 (平成16～20年度)

2) 参考データ

表1 ZYMVを接種したハウス抑制栽培キュウリにおける株別の側枝新展開葉でのウイルス検出状況 (平成19年, DAS-ELISA法)

接種日	試料採取日 ¹ (接種後日数)	株番号	試料採取時の 主な症状	供試側枝数	ZYMV検出側枝率 (%)
9月11日	9月19日 (8日)	1	萎凋・葉脈透化	7	100
		2	葉脈透化	9	77.8
		3	葉脈透化	13	92.3
		4	萎凋・葉脈透化	4	100
9月18日	9月27日 (9日)	5	萎凋・葉脈透化	11	90.9
		6	萎凋・葉脈透化	7	100
		7	萎凋・葉脈透化	10	100
		8	萎凋・葉脈透化	8	87.5
9月25日	10月7日 (12日)	9	(葉脈透化) ²	12	8.3
		10	萎凋・葉脈透化	8	100
		11	(葉脈透化) ²	13	7.7
		12	萎凋・葉脈透化	12	100

1) 試料採取は萎凋初発生日またはその翌日に行った。

2) ほとんどの側枝が無病徴だがZYMV接種側枝のみ葉脈透化
※定植日8月9日, 穂木「オーシャン」・台木「ゆうゆう一輝(黒)」



図2 ZYMVによる萎凋症状の発生初期(ZYMV感染初期)に観察される葉脈透化症状
※これ以後に展開する葉ではモザイク症状となる。

表2 ZYMVを接種したハウス抑制栽培キュウリの株・側枝別のイムノクロマト法, ELISA法によるウイルス検出法の比較

株番号 ¹	側枝番号	症状	イムノクロマト ²	DAS-ELISA ³
1	1	葉脈透化	+++	+++
	2	葉脈透化	++	++
2	1	無	++	++
	2	無	-	-
	3	無	++	++
	4	無	-	-
3	1	無	+	+
	2	無	-	-
5	1	無	++	+
	2	無	±	+
6	1	無	-	-
7	1	無	+	+
8	1	無	-	-
9	1	葉脈透化	++	+
	2	無	-	-
10	1	無	++	+
	2	無	+	+
11	1	葉脈透化	+	+
	2	無	-	-
12	1	葉脈透化	+	+

1) 表1の試験と同じ株を用いた。イムノクロマト法には主にDAS-ELISA法で吸光度値が低かった側枝試料を供試した。

2) 発色程度 +++: 明瞭, ++: やや明瞭, +: 薄い, ±: ごく薄い, -: なし

3) 吸光度値(405nm) ++: 0.5~0.1, +: 0.1~陽性基準値(健全対照の3倍), -: 陰性

3) 発表論文等

a 関連する普及に移す技術

a) キュウリのウイルスによる急性萎凋症の現地発生実態 (第80号普及情報)

b) 簡易診断キットを利用した園芸作物で発生するウイルスの診断 (第82号普及情報)