

ウリ類退緑黄化ウイルスの簡易検出キットの開発と迅速診断			
[要約] ウリ類退緑黄化ウイルス (CCYV) 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 分程度で検出できる。			
茨城県農業総合センター園芸研究所	令和5年度	成果区分	普及

1. 背景・ねらい

ウリ類退緑黄化ウイルス (Cucurbit chlorotic yellows virus ; CCYV) によって引き起こされるウリ類の退緑黄化病は、その病徴が生理障害と類似しており、目視による診断は困難である。また、CCYV はタバココナジラミによって媒介され急速に感染が広がるため、本病の防除には迅速な診断が不可欠であり、本県では CCYV の検出には RT-PCR 法が活用されている。しかし、専用の機器・試薬と技術が必要で、検定に数日程度要していた。そこで、生産現場で迅速に検定できるイムノクロマト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、摩砕袋とスポイトも添付されている (図 1)。
- 2) CCYV 感染の疑いのある植物体の本葉 2 cm² (約 60 mg) 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 本のラインが現れれば陽性、1 本だと陰性と判断できる (図 2)。
- 3) CCYV に感染した株のうち、下位葉に現れる黄化葉よりも、中位葉や上位葉に現れる退緑葉を検定葉とした方が CCYV の検出感度が高い (図 3)。
- 4) 本キットは、生理的な退緑葉や黄化葉は CCYV 陰性と判断でき、CCYV による退緑黄化葉のみ陽性と判断できる (図 4)。

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(ウリ類退緑黄化ウイルス)」(15,000 円/10 テスト) は (株)ファスマックより販売されている。
- 2) キットの簡単な使用方法の動画は、JA グループ茨城公式 YouTube チャンネルから視聴することができる (<https://www.youtube.com/watch?v=y8MYHMvTgMw>)。
- 3) 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。
- 4) CCYV による退緑黄化病の診断は、病徴等を含めた総合的な判断により行う。
- 5) CCYV は植物体内での蓄積量が少ないウイルスであるため、検定試料は本葉の退緑小斑点等の初期病徴が明瞭に出ている部分を用いることが望ましい。
- 6) CCYV 感染初期の無病徴葉や感染後期の完全に黄化した古い葉では、CCYV の蓄積量が少なく本キットでは陰性と判断される場合がある。
- 7) 検定結果の判断が困難な場合は、RT-PCR 法による検定を行う必要がある。
- 8) 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。
- 9) 対象地域は県全域のメロンやキュウリ等のウリ類生産地である。

4. 具体的データ



図1 CCYV簡易検出用イムノクロマトキット

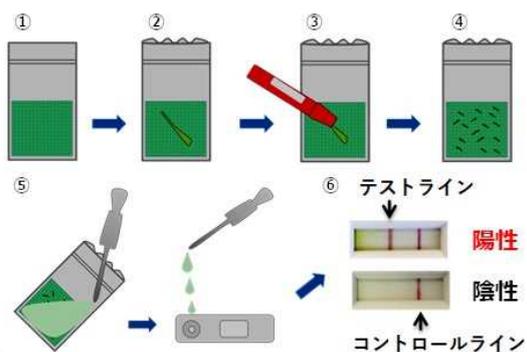


図2 キットの検定手順

- ① 検定試料の数だけ摩砕袋を用意する。
- ② 検定試料（生長点付近の葉 2 cm²）を摩砕ネットに接するように入れる。
- ③ マジックペン等の先を用いて、袋の上から検定試料を摩砕する。
- ④ 検定試料の形が分からなくなるまで摩砕し、摩砕液を均一化する。
- ⑤ スポイトで摩砕液を吸い取り、テストストリップに6滴ゆっくりと滴下する。
- ⑥ 約30分後、ラインの数で判定する。

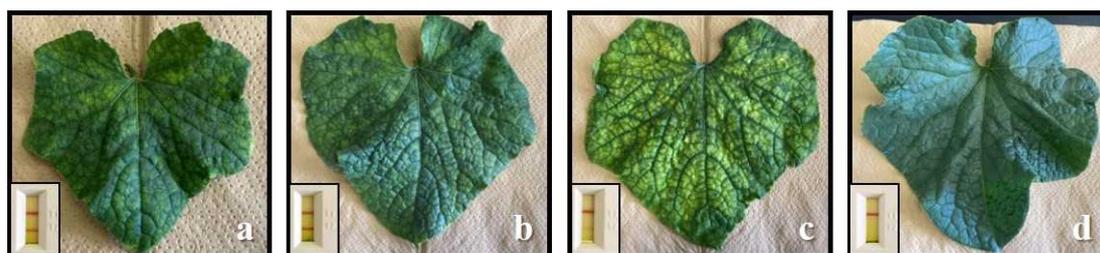
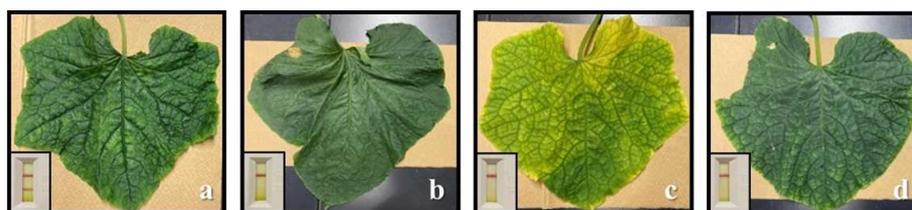


図3 異なる葉位における退緑黄化症状とキットの検定結果（キュウリ）

a: CCYV感染上位葉、b: 同中位葉、c: 同下位葉、d: 非感染株健全葉（対照）

注）各写真の左下にキットでの検定結果を示す。



RT-PCRの結果： **CCYV陽性** CCYV陰性 CCYV陰性 CCYV陰性
 キットの結果： **CCYV陽性** CCYV陰性 CCYV陰性 CCYV陰性

図4 現地発生診断依頼サンプルにおけるキットの検定結果（キュウリ）

a: 退緑葉、b: 健全葉、c: 黄化葉、d: 退緑葉

注）各写真の左下にキットでの検定結果を示す。

5. 試験課題名・試験期間・担当研究室

POCT を目指したウリ類ウイルス病の高精度な簡易検査技術の開発・

令和3～令和6年度・病虫研究室

本県主要果菜類のウイルス病の簡易検査キットの開発・

令和3～令和6年度・病虫研究室