

RIPA法を利用した果菜類ウイルス病の簡易診断法

[要約] トマト、ピーマン、メロン、キュウリにおけるモザイク病や黄化えそ病などのウイルス病は、RIPA（迅速免疫ろ紙検定）法により、簡易かつ迅速な診断が可能である。

農業総合センター園芸研究所

成果
区分

指導

1. 背景・ねらい

トマト、ピーマン、メロン、キュウリ等の施設果菜類で発生するウイルス病の症状は、ホルモン剤等による薬害や生理障害と類似するため、判別が困難な場合が多く、また、診断に時間と労力を要する。そこで、近年開発された RIPA(迅速免疫ろ紙検定)法によるウイルス診断キット（東北化学薬品（株））を用い、現地においてウイルス病を簡易かつ迅速に診断する技術を確立する。

2. 成果の内容・特徴

- 1) RIPA 法により検出可能な植物ウイルスの種類は、表 1 のとおりである。
- 2) ウイルス検定の手順は図 1 のとおりである。
- 3) PMMV 感染ピーマン葉を緩衝液で磨砕し、段階希釈して RIPA 法を行うと、1,000 倍希釈まで明瞭なバンドが確認された（図 2）。
- 4) 検定に要する時間は 30 分程度であり、検定に要する費用は、1 検体当たり 200 円と、現在のウイルス診断キットの中では、最も迅速かつ安価である。

3. 成果の活用面・留意点

- 1) 普及センターでの診断が可能であり、現地からの診断要請に、簡易かつ迅速に対応することができる。
- 2) ウイルスの検定部位は、生長点付近や脇芽の新鮮な上位葉とする。病徴が進展した葉や老化葉は、ウイルス活性の低いことが多く、検定葉として使用しない。また、検定葉は、葉片がなくなるまで十分に磨砕する。
- 3) 緩衝液で磨砕した粗汁液に試験紙の先端を浸漬し、粗汁液が試験紙の 3 分の 2 まで吸い上がったことを確認する（図 3）。キットの説明書では、「粗汁液を試験紙に 3 滴、滴下する」とあるが、この場合、粗汁液の量が不足し、ウイルスが検出されない場合があるので注意する。
- 4) 現地で植物体を採集する場合、生長点付近を含め上位 4~5 葉程度長めに切除し、水にさすか、湿らせたティッシュペーパーなどで切断部を包み、しおれを防ぎながら持ち帰る。検定は速やかに行うことが望ましいが、やむを得ず保存する場合は、冷凍庫で凍結保存し、1 週間以内に検定に供する。
- 5) 検定用ろ紙並びに検出用試薬は、4℃で保存すれば、6 ヶ月間使用可能である。なお、検定用ろ紙は、乾燥状態で保存する。

4. 具体的データ

表1 RIPA法により検出可能なウイルスと感染植物上での症状

ウイルス名	略号	主な感染植物	症状
キュウリ モザイク ウイルス(-Y系)	CMV-Y	トマト、ピーマン、メロン、キュウリ	葉のモザイク、糸葉症状
トマト モザイク ウイルス (=タバコ モザイク ウイルス-トマト系)	ToMV	トマト	葉のモザイク,抵抗性品種にえそ・黄化
トウガラシ マイルド モットル ウイルス (=タバコ モザイク ウイルス-トウガラシ系)	PMMoV	ピーマン	新葉の黄化、葉のモザイク、果実の黄色条斑
トマト黄化えそウイルス	TSWV	トマト、ピーマン	葉の黄化・えそ斑点、茎のえそ条斑

◎その他のウイルスとして、インパチェンス ネクロティック スポット ウイルス(INSV)、メロンえそ斑点ウイルス(MNSV)等がある。

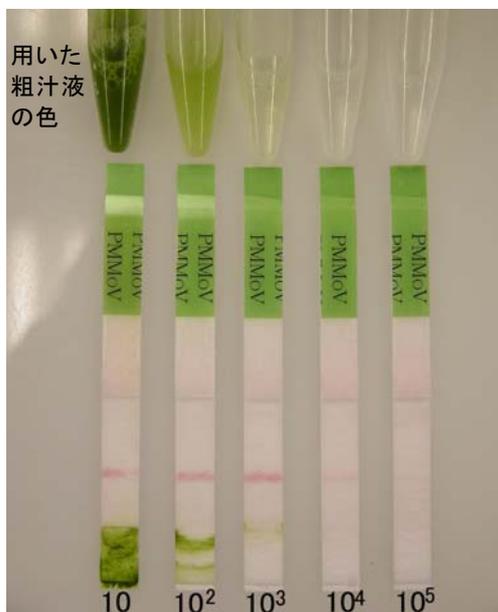
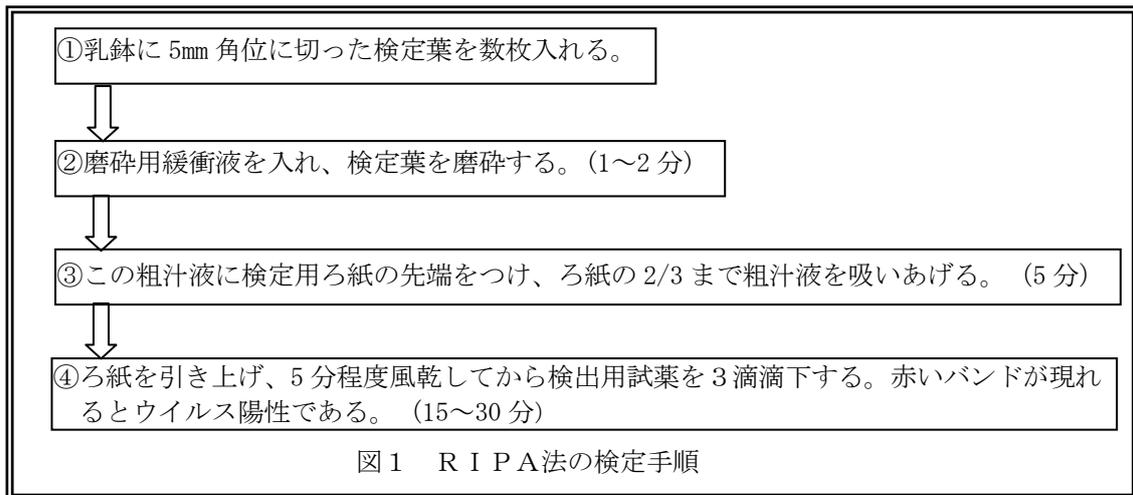


図2 PMM₀V感染ピーマン葉の希釈倍数の違いによるRIPAの反応



図3 磨砕液の吸い上げ位置

5. 試験課題名・試験期間・担当研究室

農作物有害動植物発生予察事業・平成15年度・病虫研