

アブラムシ口針媒介ウイルス（クローバ葉脈黄化ウイルス）の 個体別保毒虫診断法

農業・園芸総合研究所

1 取り上げた理由

ウイルス病の伝染経路で最も多いアブラムシ口針媒介（非永続型）により伝搬するウイルスを効果的に防除するためには、その伝染環を明らかにする必要がある。しかしながら、口針媒介ウイルスについては、これまで保毒アブラムシを診断する手法がなかった。そこで、ほ場に飛来するアブラムシのウイルス保毒診断と種の推定を行うため、ソラマメ等に被害を及ぼすクローバ葉脈黄化ウイルス（C1YVV）をモデルとして、アブラムシ1個体を供試し、非破壊的に保毒ウイルスを簡易に検出する手法を開発したので、参考資料とする。

2 参考資料

- 1) アブラムシ1個体を直接RT-LAMP反応に用いると、C1YVVの保毒の有無を確認できる（直接法、図1）。
- 2) アブラムシ1個体を20 μ lの0.05%Tween20に浸漬し、63 $^{\circ}$ C、10分間処理して得られた溶出液1 μ lを用いてRT-LAMP反応を行うと、直接法と同等にC1YVVの保毒の有無を確認できる（リリース法、表1）。この場合、10個体程度の抽出液をバルクとしても、C1YVVを検出できる（データ省略）。
- 3) 溶出後の虫体を用いて、同定のためのプレパラート標本作成もしくはDNA診断による種の推定が可能である。

3 利活用の留意点

- 1) 直接法及びリリース法は、RT-LAMP法で検出可能な他の口針型媒介ウイルスの検出に応用可能であると考えられ、ウイルス保毒虫の発生予察に活用できる。
- 2) C1YVVの検定は、竹澤ら（平成17年度東北農業研究成果情報）によるC1YVV検出用プライマーを用いてRT-LAMPキット（栄研化学）により、63 $^{\circ}$ Cの恒温槽で30分間の反応で実施できる。
- 3) 口針に付着したウイルスは分解しやすいため、直接法では、アブラムシを捕獲後、直ちにRT-LAMP反応に供する。リリース法では、アブラムシを捕獲後、直ちに0.05%Tween20に浸漬し、速やかに溶出及びRT-LAMP反応を行う。

（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

遺伝子診断を利用したアブラムシ伝搬性ウイルス病防除技術の確立 (3) 有翅虫のウイルス保毒診断 平成19~21年度

2) 参考データ

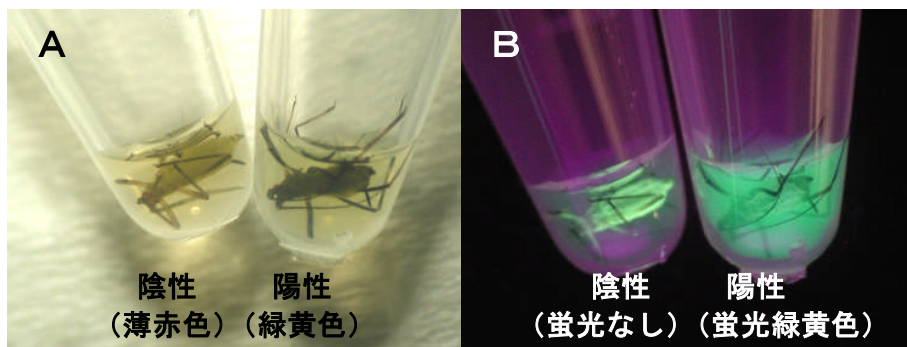


図1 直接法によるアブラムシが保毒したCIYVVの検出例
A ; 蛍光灯, B ; 紫外線照射
供試虫はソラマメヒゲナガアブラムシ

表1 ウイルス感染葉を吸汁したアブラムシよりウイルスをリリースする方法の検討

獲得吸汁植物	CIYVV感染ソラマメ葉			健全ソラマメ葉
	なし	0.05% Tween20 10分間 室温	0.05% Tween20 10分間 63°C	
獲得吸汁後処理	なし			なし
RT-LAMP検定陽性率 (虫体)	4/8 (50%)			0/5 (0%)
RT-LAMP検定陽性率 (抽出液)		0/8 (0%)	5/8 (63%)	

陽性個体数/供試個体数で表記
獲得吸汁前の絶食は2時間, 獲得吸汁時間は10分間
供試虫はマメアブラムシ

3) 発表論文等

平成22年度日本植物病理学会発表 (予定)

4) 共同研究機関

なし