

# 虫体圧搾処理と簡易 ELISA による簡便・迅速な イネ縞葉枯ウイルス保毒虫検定法の開発

茨城県農業総合センター 農業研究所 <sup>すぎ</sup>杉 <sup>やま</sup>山 <sup>あや</sup>恵 <sup>の</sup>乃  
農研機構 中央農業総合研究センター <sup>おくだ</sup>奥田 <sup>みつる</sup>充・<sup>しば</sup>柴 <sup>たくや</sup>卓也・<sup>ひらえ</sup>平江 <sup>まさひろ</sup>雅宏・<sup>おおとう</sup>大藤 <sup>やすお</sup>泰雄

## はじめに

我が国におけるイネを加害する主要なウンカ類として、トビイロウンカ、セジロウンカおよびヒメトビウンカが知られている。このうち、ヒメトビウンカは直接の吸汁害は少ないものの、イネ縞葉枯ウイルス (*Rice stripe virus*, RSV) を媒介する重要害虫と位置づけられている。RSV が引き起こすイネ縞葉枯病は、古くから我が国で発生が確認されており、戦後の食糧増産を目的とした米麦作振興に伴うヒメトビウンカ発生の増加が引き金となって、1960～70年に日本各地で大流行し、大きな減収をもたらした(鳥山, 2010)。その後、縞葉枯病抵抗性品種の開発および作付面積の増加並びに麦類の作付面積の減少に伴って徐々に発生が減少し、2000年初頭には極めて少発生となっていた。しかし、2000年代中ごろから、各地でイネ縞葉枯病の発生注意報が出されるなど、本病の発生面積が増大している。また、これまでヒメトビウンカは海外から大量飛来しないと考えられてきたが、2008年には西日本で中国江蘇省からの大量飛来が確認され、九州地方のイネ縞葉枯病の多発生を引き起こしたと考えられている(Otsuka et al., 2010)。これらはネオニコチノイド系殺虫剤に対して抵抗性が発達しており、今後、育苗箱処理による防除のみではヒメトビウンカの増殖が抑えきれず、さらなるイネ縞葉枯病の発生拡大も危惧される。

病虫害のまん延は、我が国の農業に重大な損害を与える恐れがあり、かつ、県境を越えて拡大するため、国と都道府県は協力して病虫害の防除とまん延の防止に取り組む必要があるとの考えから、発生予察事業により病虫害の発生状況などを調査し、発生予報などの情報を農業者などに提供している。発生予察事業に必要な病虫害の発生データは全国の病虫害防除所が収集するが、必要かつ十分な調査を的確に行うため発生予察事業の調査実施

基準(最終改正平成26年4月1日25消安第6177号)が定められている。我々は、RSVを保毒するヒメトビウンカの検定について、正確性を維持しつつ、より効率的に行うための迅速検定法を開発したので、ここに紹介する。

## I 検定に適した手法の選別

植物ウイルスの検出には、大きく分けて、①生物学的手法、②血清学的手法、③分子生物学的手法が用いられている。このうち、①の生物学的手法は接種試験や電子顕微鏡を用いた形態観察による検出法であるが、手間と時間を要するため、未知のウイルスを検出する場合を除いて、利用される場面は少ない。②の血清学的手法は、抗原抗体反応を利用する方法であり種々の方法が開発されているが、Double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (DAS-ELISA) が最も普及していると思われる。③の分子生物学的手法は、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)やLoop-mediated isothermal amplification (LAMP)により目的とするウイルスに特異的な塩基配列を増幅する手法であり、試薬の改良や機械の普及に伴い、病虫害防除所などでも普及が進みつつある。これらの方法は、感度、特異性、検定にかかる時間や費用に一長一短があり、目的に応じた使い分けが求められる。発生予察事業の調査実施基準によると、「RSV保毒ヒメトビウンカの検定には、芽出しイネ接種法2日間(吸汁)、赤血球凝集反応法、ラテックス凝集反応法等により保毒虫率を求める」とされている。既に、我々はDAS-ELISA法、ラテックス凝集反応法、reverse transcription (RT)-PCR法、RT-LAMP法を用いた場合におけるRSV保毒ヒメトビウンカからRSVを検出する感度や正確性を比較し、発生予察事業にかかるRSV保毒ヒメトビウンカの検定には、DAS-ELISA法が最も適していることを論じている(一木(植原)ら, 2013)。

## II 簡易 ELISA 法

### 1 簡易 ELISA 法による RSV の検出

簡易 ELISA 法は、DAS-ELISA 法の変法であり、コーティング抗体を固定したプレートに検体と酵素結合(コ

Simple and Rapid Assay to Detect Viruliferous Insects by Using Squeezing Insect Body and Simplified ELISA for Rice Stripe Virus.  
By Ayano SUGIYAMA, Mitsuru OKUDA, Takuya SHIBA, Masahiro HIRAE and Yasuo OHTO

(キーワード: 発生予察, ヒメトビウンカ, イネ縞葉枯病)