

夏秋ピーマン圃場でのトマト黄化えそウイルス (TSWV) とミカンキイロアザミウマを含めた総合防除の取り組み

—2. 宿主内の TSWV 量とミカンキイロアザミウマによる獲得頻度の

関係および TSWV 保毒虫のモニタリング手法の開発—

大分県農林水産研究指導センター ^{おか}岡 ^{ざき}崎 ^{しん}真 ^{いち}一郎

はじめに

大分県の夏秋ピーマン産地では、1996年に産地全域でミカンキイロアザミウマの発生が、また1998年にはTSWVによるピーマン黄化えそ病の発生が確認され、その後本病は県内全域の夏秋ピーマン産地で恒常的に発生し問題となった(吉松ら, 1999)。この原因については、冬期間中に前作のピーマン果実残渣でミカンキイロアザミウマが越冬しており、TSWV保毒虫となって次期作のピーマンに媒介することが主原因であると解説した(岡崎, 2014)。

今回は、TSWVとミカンキイロアザミウマの両者の関係について、実際に様々な濃度でTSWVに感染した植物を用い、ミカンキイロアザミウマによる獲得頻度について検証した。さらに粘着板を用いたTSWV保毒アザミウマのモニタリング手法を検証した試験結果を紹介する。

I 宿主内の TSWV 量とミカンキイロアザミウマによる TSWV 獲得の関係

1 供試アザミウマおよびウイルス

ミカンキイロアザミウマは2004年に大分県豊後大野市のピーマン圃場で採集した個体群からTSWV媒介率が雌雄とも90%以上になるように選抜した系統(櫻井, 2006)を用いた。供試したTSWV株は、2000年に福岡県で自然感染していたパブリカ葉から分離したTSWV-FoPaTs1株(石井ら, 2003)を使用した。本株は、ヌクレオカプシドタンパク質のアミノ酸および塩基配列の相同性から、国内の様々な作物に発生したTSWVと遺伝的に近縁であると推定されている(奥田ら, 2001)。

Integrated Control of Tomato spotted wilt virus (TSWV) and Western Flower Thrips *Frankliniella occidentalis* (Pergande) as a Vector in Spring-Autumn Green Pepper Fields. By Shinichiro OKAZAKI

(キーワード: ウイルス獲得頻度, 黄色粘着板, ミカンキイロアザミウマ, TSWV)

2 ミカンキイロアザミウマ虫体と植物葉での TSWV 定量

TSWVの宿主として、播種14~30日程度経過したダチュラ *Datura stramonium* を用いた。ダチュラはTSWVを汁液接種後、25±1°C, 16L8D条件で4~10日間経過させ、経過日数および採集部位を変えることでTSWV感染程度の異なる葉を準備した(図-1)。各3cm角葉から直径6mmのリーフディスクを生研トレパンで葉の4箇所から抜き取り、リーフディスク1枚をDAS-ELISA用に、3枚を定量RT-PCR(以下、qRT-PCR)の分析用に供試した。

ミカンキイロアザミウマは、ふ化をそろえた1齢幼虫を準備し、リーフディスクを抜き取った残りのダチュラ感染葉を8時間摂食させ、成虫になるまで健全なソラマメ催芽種子を餌に飼育し、DAS-ELISAにより、TSWVの獲得検定を実施した。各1葉からの獲得試験につき36個体のアザミウマ成虫を検定し、吸光度値が健全虫の値と比較して3倍以上を陽性とし、その個体はTSWV保毒虫と見なした。保毒虫率は摂食させた各感染葉で算出し、うち1枚のリーフディスクをDAS-ELISA検定に用いた(図-1)。

TSWVの総RNA量は、ミカンキイロアザミウマに摂食させたダチュラ感染葉から削り抜いたリーフディスク3枚からISOGEN中で抽出し、最終的なRNA溶液量は50μlに調整した。qRT-PCRは、TSWVヌクレオカプシド遺伝領域350-bp断片を増幅させるプライマーLC-TSWV-N3' (5'AAACGACTGCGGAATAC³)、LC-TSWV-N5' (5'GTGGCTCCAATCCTGT³)を用いて実施した。反応条件は、逆転写反応42°C 5分間の後、94°C 5秒間、60°C 10秒間、72°C 15秒間を1サイクルとするPCRを50サイクル実施し、各サイクルの最終段階でSYBR Green Iの蛍光強度(波長497 nm)を計測した。反応後、機器に付属の解析ソフトウェア(LightCycler Software Ver. 3)を用いて増幅曲線を解析し、second derivative maximum法により閾値サイクル(Ct値)を算出した。TSWVヌクレオカプシド(43 ng/μl)(河野敏郎博士より分譲)から抽出したRNAを連続希釈し、検量線を作