

トマト黄化葉巻病の 病原ウイルスを簡易に検出するキットの開発

■はじめに

県内のトマト産地では、TYLCV（以下、ウイルス）によるトマト黄化葉巻病（図1（左））の被害が拡大して大きな問題となっています。この病気は治療する方法がないことから、発病後は収穫がほとんどできなくなります。ウイルスは、タバココナジラミ（図1（右））という体長0.8 mm程度の小さな虫によってトマトに伝搬されます。ウイルスに感染したトマトは新たな伝染源となることから、感染拡大防止のためには、発病株を早期に発見して抜き取るとともに、ウイルスを媒介するタバココナジラミを防除することが重要です。園芸研究所ではこの病気の早期発見のために、目視による診断が困難な場合は、遺伝子診断法（PCR法）により検定を行ってきました。しかし、専用の機器・試薬と技術が必要であるため研究所等でしか実施できず、診断結果が出るまでに時間がかかっていました。そこで、生産現場で迅速に診断できる簡易検出キットを株式会社ニップンと共同で開発しました。

以後、キット開発に至るまでの研究の流れと株式会社ニップンと共同で開発したキットについて説明します。なお、本成果は農林水産省の「最新農業技術・品種2021」に選定され、代表的な成果として公表されていますので、以下のURLからご覧ください。

（トマト黄化葉巻ウイルス（TYLCV）の簡易検出キットの開発と迅速診断

https://www.maff.go.jp/j/kanbo/kihyo03/gityo/new_tech_cultivar/2021/2021seika-08.html）

■ウイルス抗体の作製

簡易検出キットでは、抗体（ウイルス抗体）が抗原（ウイルス）にのみ強く結合するという、



図1 トマト黄化葉巻病(左)とタバココナジラミ成虫(右)

「抗原抗体反応」を利用しています。感染したトマト植物体からこのウイルスだけを取り出し、大量に集めることが難しいため、今回は遺伝子工学的な手法により大腸菌を利用してウイルスの殻の部分と同じタンパク質を作り、免疫動物を用いてウイルス抗体を得ました。

■ウイルス検定法の開発

本研究で開発したウイルス検定法は、ウイルス抗体を使用して、特別な機器を必要とせず、ろ紙と試薬だけでウイルスの感染の有無を目で「見て」判断することができます（図2）。このため、農業改良普及センター等でも実施することができ、この検定法の結果に基づく迅速な対応が可能となりました。しかし、この方法は診断に半日以上要する点が普及推進上の課題とされ、「短時間で診断できるキットであればさらに利用しやすい」との意見が挙げられました。これを受けて、展示会等でキット化を担う民間企業を募集し、株式会社ニップンと共同研究に取り組みました。その成果を基に、2019年12月に株式会社ファスマックより簡易検出キットの販売に至りました。

■開発した簡易検出キット

簡易検出キットには試験紙本体の他に、摩砕袋とスポイトが添付されているため、このセット1つで迅速なウイルスの検出が可能です（図3）。

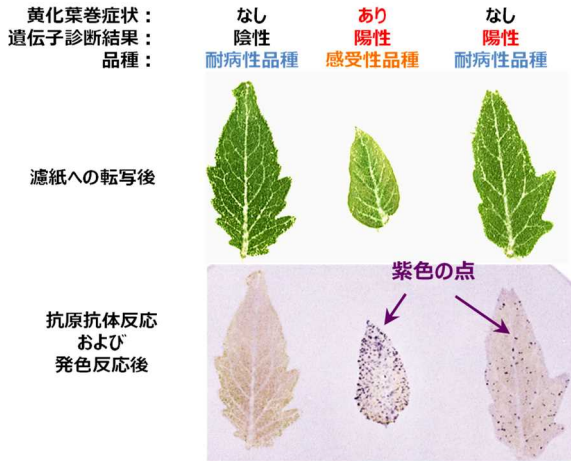


図2 ろ紙を用いた簡易ウイルス検定法

発色反応後の紫色の点が、ウイルスが多く存在しているところを示しています。この紫色の点は、発病している葉では多く、ウイルスが感染していない葉では全く見られません。さらに、耐病性品種で病徴が出ていない葉でもウイルスが感染している場合は、数は少ないですが紫色の点が現れ、陽性と判断できます。

5回分ずつ個包装され、10回分（2包装）で販売されています。「Agripalette トマト黄化葉巻ウイルス」という商品名で、株式会社ファスマックより販売されていますので、詳しくは以下のHPをご覧ください。

(<http://fasmac.co.jp/product/agripalette>)



図3 開発した簡易検出キット
「Agripalette トマト黄化葉巻ウイルス」

■キットの作業手順と判定

キットの作業手順は簡単で、誰でもどこでも行うことができます（図4）。まず、黄化葉巻病の疑いのあるトマトの葉柄部分 0.2 gを量り取り、キットに付属している摩砕袋に入れます（①、②）。袋のチャックを閉め、ペン先などでトマトの葉柄部分を袋の上から擦ることで摩砕します（③、④）。その摩砕液を付属のスポイトで試験紙本体に滴下すると（⑤）、5～30分程度でラインが現れ、2本のラインが現れば陽性、1本だと陰性と判断できます（⑥）。なお、コントロールラインにラインが現れなかった場合は検定失敗と判断し、やり直します。

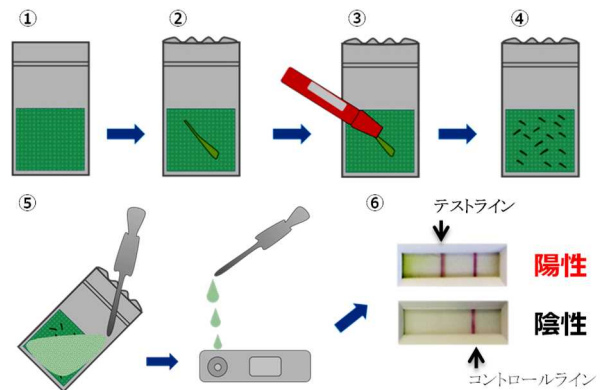


図4 キットの作業手順と判定

■キットの有効性の検討

現地圃場のトマトをこのキットを用いて検定すると、大玉、中玉、ミニトマトの全てにおいてウイルスを検出できました。また、ウイルスの2つの系統（イスラエル系統、マイルド系統）の両方を区別なく検出できました。さらに、黄化葉巻病感受性品種だけでなく、症状の出にくい耐病性品種においてもウイルスの検出が可能でした。

■おわりに

今回開発したキットでは、専用の機器を使わず、従来のPCR法（検定時間：約4時間）に比べて迅速にウイルスの検出ができました（検定時間：約5～30分）。今回開発したキットを使用することで黄化葉巻病の早期診断が可能となり、発病株の抜き取りや媒介虫の防除等により本病のまん延を防止することで、トマトの安定生産に寄与できると考えています。病虫研究室では、他の重要ウイルスについても商品化を目指して開発を続けています。（病虫研究室 岡田 亮）

ブドウ「クイーンニーナ」における着色向上技術

本県のブドウ経営は観光直売型の多品種栽培を行っており、赤色系品種の需要も高いですが、赤色系品種は年により着色が不安定になりやすいことが課題です。そこで、大粒で食味が優れる赤色系4倍体品種「クイーンニーナ」において、着色向上を目的としたジベレリン処理方法を検討しました。

巨峰系4倍体品種（サニールージュを除く）では、ジベレリン錠剤（GA※）を満開時～満開3日

後及び満開10～15日後の『2回処理』が一般的ですが、満開3～5日後にジベレリンにホルククロルフェニユロン（CPPU、商品名：フルメット液剤）10ppmを加用し1回処理する方法（『1回処理』）もあります。2回処理（1回目GA25ppm+CPPU2ppm、2回目GA25ppm）と1回処理（GA25ppm+CPPU10ppm）を比較したところ、1回処理では、着色が良好な果房の割合が高く、カラーチャート値2.0以下の着色不良果房の割合が低くなることがわかりました。（果樹研究室）

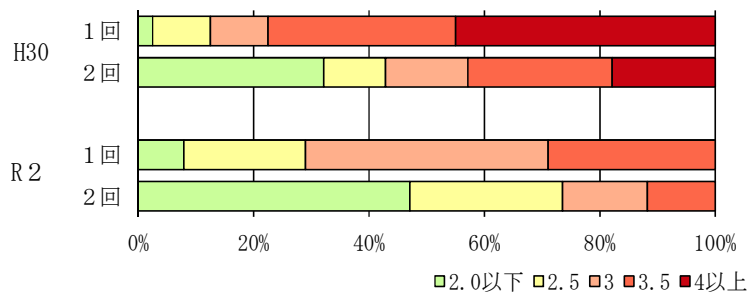


図 植調剤処理方法の違いが「クイーンニーナ」果房の着色に及ぼす影響
※ジベレリン錠剤の登録情報は令和3年9月8日現在のものです。
※果皮色は、ゴルビー専用カラーチャート値（山梨県作成、0（緑）～6（赤））

夏秋どりキャベツは 収穫前に結球部直径から結球部の重さを推定できる

加工・業務用キャベツ経営において、精度の高い出荷予測を行うことは、定時定量出荷を実現するための重要な出荷管理技術の一つです。当研究室では、令和2年度より、夏秋どりキャベツ品種「初恋」「おきな」等の試験栽培を行って、生育・環境データを収集し、出荷予測及び生育診断を行うシステムを開発する取り組みを進めており、1年目は結球部直径から結球部の重さを推定できることを明らかにしました。

供試品種の収穫時の結球部直径と結球部の重さには、高い正の相関関係が認められ、収量約8t/10a（4,200～4,400株）を目標とすると、結球部の直径で約22～23cmのとき収穫すると良いことがわかりました（図、写真）。

また、収穫期までの有効積算気温を明らかにしたことにより、収穫の約1ヵ月～2週間前から目標の結球部重量となる収穫適期の予測を可能とし、2年目となる令和3年度は出荷予測精度向上

を目的として試験栽培に取り組んでいます。

なお、夏秋どり向けキャベツ品種の中には、収穫が遅れると結球部表面の割れが多く発生するものがあること、また定植時期が9月中旬を過ぎると収穫前に凍霜害に遭遇することがあるので、注意が必要です。（野菜研究室）

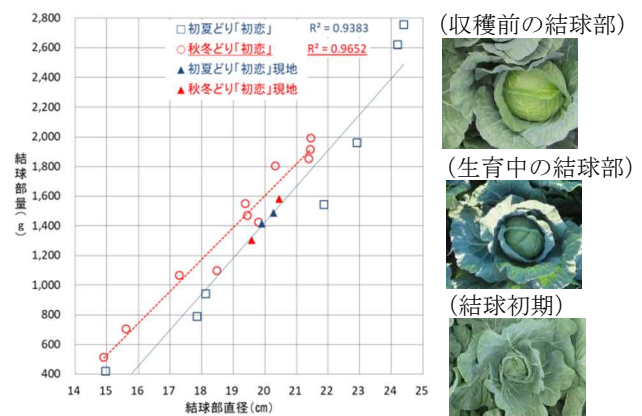


図 夏秋どりキャベツ「初恋」の結球部直径と結球部の重さとの関係（写真はキャベツ結球部の経時的変化（下→上）の様子）

バラの改良切り上げ方式による 増収効果及び切り上げ時期の影響

バラ切り花生産において、高単価で取り引きされる冬季は低日照等の影響で生産量が減少するため、多収栽培技術の開発が望まれています。そこで、アーチング方式をベースに、主流品種に適した整枝剪定方法（採花方式及び時期）を検討しました。

ベーサルシュートを株元から 15cm 残して採花し、その後切り上げ採花を行う「改良切り上げ方

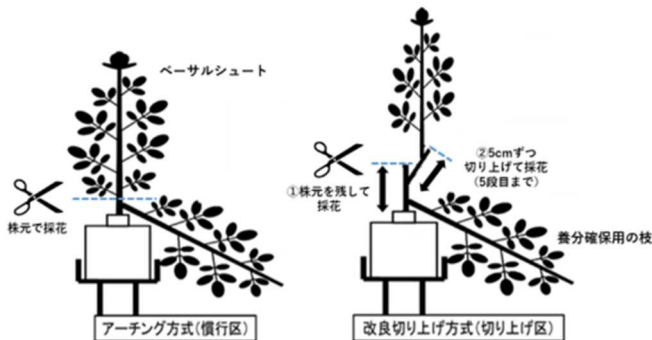


図 左：アーチング方式（慣行区）及び
右：改良切り上げ方式（切り上げ区）の株元

式（切り上げ区）」（図）では、慣行のアーチング方式と比較して、切り花長、切り花重、茎径等の切り花品質がやや低下するものの、いずれの品種においても採花本数が増加しました（表）。また、70cm 以上の切り花の減少が顕著であった「アバランチェ+」及び「ヴァニティールージュ+」では、切り上げ開始時期を 11 月にするだけで、70cm 以上の切り花の割合が改善され、また、茎径が細くなることによる折れの発生が軽減されました。

（花き研究室）

表. バラ栽培における改良切り上げ方式が採花本数と切り花品質に及ぼす影響

品種	整枝剪定方法	採花本数 ¹⁾ (本/株)	増収率 ²⁾ (%)	切り花長 (cm)	切り花重 (g)	茎径 (mm)
アバランチェ+	慣行	11.0	-	70.8	47.3	6.4
	切り上げ	15.4	40.0	62.0	35.4	5.6
ヴァニティールージュ+	慣行	8.9	-	77.4	50.4	6.7
	切り上げ	10.8	20.9	68.8	42.0	6.3
ゴールドラッシュ	慣行	8.5	-	75.1	53.3	8.4
	切り上げ	15.5	83.1	68.1	40.4	6.0
サムライ08	慣行	7.3	-	90.3	70.6	8.1
	切り上げ	11.9	62.7	81.2	50.4	6.5

注) プランターに培養土を入れた少量土壌培地耕、アーチング仕立て

¹⁾ 採花は令和元年10月4日から令和2年5月1日(2年生株)

²⁾ 慣行に対する採花本数の増収率

県内ナシ難改植ほ場における 若木の枯死・生育不良は白紋羽病が主原因である

近年、ナシ栽培では改植しても若木のうちに枯死や生育不良が発生する「難改植ほ場」が多く認められ、改植意欲や生産性向上の妨げとなっています。枯死や生育不良の原因として、病害（白紋羽病）や連作障害（いや地現象）が考えられます。そこで、県内の主要なナシ産地を対象に難改植ほ場を 15 園選定し、これらの園において改植後の若木株元のいや地リスクと若木が白紋羽病に罹病しているかどうかの検定を行いました。

改植後のナシ若木株元のいや地リスク値は、枯死・生育不良樹と健全樹に分けて調査した結果、それらに明確な差はありませんでした（図 1）。一方、枯死や生育不良樹の 67% で、特に枯死樹は 100% で白紋羽病の感染が確認されました（図 2）。

これらのことから、本県ナシ難改植ほ場における改植苗の枯死・生育不良の主原因は白紋羽病であることがわかりました。今後、白紋羽病対策を含め、改植後の生育不良を低減させる技術開発に取り組みます。（土壌肥料研究室）

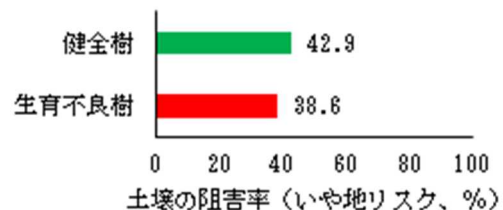


図 1 県内ナシ難改植ほ場における改植後若木株元のいや地リスク

注) いや地リスクは、「根圏土壌アッセイ法」（シラス種子による生物検定法）で検定した。値が大きいほどいや地リスクが高い。

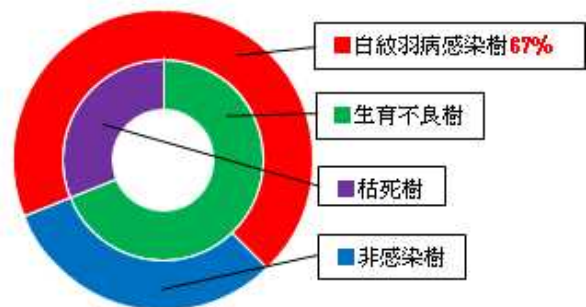


図 2 県内ナシ難改植ほ場における改植後の枯死・生育不良樹の白紋羽病感染率

注) 県内のナシ難改植ほ場 15 ほ場の若木、計 46 樹の調査結果

高電圧を付加した低温処理の クリシギゾウムシ防除とクリの糖度上昇

クリの害虫クリシギゾウムシはヨウ化メチルくん蒸により防除されていますが、ヨウ化メチル剤の供給不安のため、代替技術の開発が求められています。そこで、電極内蔵の冷蔵施設（氷感庫®）に着目しました。この施設は電気（3500-4500V、1.5-2.0mA）の付加によりクリ内の水分子を振動させ氷点下条件でもクリを凍結させない特長を

持ちます。この施設を-3℃に設定した場合の低温処理がクリシギゾウムシに与える防除効果および果実の糖度に与える影響を検討した結果、21日間処理した中にわずかな生存個体が認められましたが、28日処理した場合は幼虫を完全に防除でき、同時に、クリの糖度は無処理区と比較して上昇していました（表）。この方法は今後、代替防除

技術の一つとして期待されます。留意点として、クリの乾燥防止のため冷風が直接当たる箇所にも毛布等を敷設する、庫内温度の上昇防止のため冷蔵施設の扉の開閉の回数を減らすとともに入口にカーテンを設置し庫内の温度を維持する、等が挙げられます。

（病虫研究室）

表 氷感庫®を用いた保管期間の異なる低温処理がクリシギゾウムシおよびクリ果実の糖度に与える影響（-3℃、4500V条件）（令和2年調査）

試験区 ¹⁾	クリシギゾウムシ防除試験				糖度測定試験	
	試験果数(個) ²⁾	被害果率(%)	脱出幼虫数/100果(頭)	防除価 ³⁾	試験果数(個)	平均 Brix 値(最小値-最大値)
21日	200	1.5	4.0	90	12	13.7 (10.0-18.5)
28日	181	0	0	100	12	14.5 (12.0-17.5)
無処理	180	18.9	96.7	-	12	9.6 (7.0-11.0)

- 1) 試験区名はクリを低温処理した日数。
- 2) 2反復の合計値。クリシギゾウムシ幼虫の脱出孔がある果実を被害果として記録。
- 3) 防除価=100-100×処理区の被害果率/無処理区の被害果率。

使用機器：予冷庫型氷感庫®（底面積2坪タイプ、H社製：2-3tのクリを搬入可能）

試験方法：10月12日に収穫した「石鎚」をナイロン製ネットに入れ、10月21日に搬入。

ナシ「恵水」果実の1-MCP（1-メチルシクロプロペン） 処理による品質保持効果

本県オリジナル品種のナシ「恵水」は、糖度が高く、大果で収量性も高いことから、出荷規格や販売戦略に合わせた有利販売や海外輸出に向けた取組みが検討され、安定した品質の果実が求められています。そこで、長期冷蔵後の果実の日持ち性向上を目的に、エチレン作用阻害効果を持つ1-MCP（商品名：スマートフレッシュ™）の品質保持効果を検討しました。

9月中旬に果実を収穫し、2日後に0～1℃で20時間1-MCP処理を行いました。処理後12月上旬まで2.5か月冷蔵（0～1℃・90%RH）し、その後さらに21日間人工気象器内で保存（20℃・70～80%RH）しました。併せて、品質保持に關係の深い果実の呼吸速度と果実品質の変化を調査しました。

その結果、1-MCP処理した果実は、無処理よりも呼吸速度が低く推移しました（データ省略）。

また、冷蔵出庫後の保存日数の経過に伴う果肉硬度の低下、劣化・障害果の発生、食味評価の低下を抑制できることが明らかになりました（表）。

今後は輸出期間拡大等に向けて、より長期的な品質保持技術の開発に取り組んでいきます。

（流通加工研究室）

表 1-MCP処理が冷蔵後のナシ「恵水」の果実品質に及ぼす影響（R1）

収穫後日数 ¹⁾	冷蔵出庫後日数 ²⁾	試験区		重量減少率(%)	硬度 ³⁾ (lbs)	劣化・障害果の発生数 ⁴⁾	食味評価 ⁵⁾
		1-MCP	処理の有無				
1日	-	無	0.0	5.3	0/10	4.1	
78日	0日	無	1.0	4.9	1/10	3.2	
		有	1.0	4.8	1/10	3.5	
85日	7日	無	3.0	4.8	3/10	3.1	
		有	2.9	4.8	3/10	3.3	
91日	13日	無	4.6	3.9	10/10	2.0	
		有	4.3	4.7	2/10	3.2	
99日	21日	無	6.6	3.2	9/9	-	
		有	6.3	4.3	8/10	-	

注1) 9/18収穫（cc3）、収穫時の糖度は12.7±0.2%（平均値±標準誤差、n=10）
9/19～12/5まで0～1℃冷蔵、1-MCP処理は9/20～21日まで20時間実施

注2) 20℃（湿度70～80%）での保存開始後の日数を示す

注3) 有意性はt検定による（*：P<0.05、ns：有意差なし）

注4) 劣化・障害果数について各々種類別に集計

注5) 所内パネラー（15名程度）による、5（良好）～1（不良）の5段階評価
有意性はウィルコクソン符号付順位検定による（*：P<0.05、ns：有意差なし）

トピックス

所長室より — 着任のごあいさつ —



本年4月園芸研究所長に着任しました内藤和也と申します。日頃から当研究所の試験研究推進にご支援・ご協力を賜り、厚く御礼申し上げます。

さて、農業をとりまく情勢が厳しいと言われ

て久しい中、県では「儲かる農業の実現」という目標を掲げ、生産性向上や担い手となる経営体支援のための各種施策に取り組んでいるところです。

一方、昨年から全世界的な脅威となっている新型コロナウイルス感染拡大に象徴されるように、急激な情勢変化を伴う状況下においては適切かつ迅速な対応が求められるため、スマート農業等の先端技術をフル活用しながら生産や経営上の課題解決を講じていく必要があると考えております。

当研究所では、ICTを活用した園芸品目の生産技術の開発を当面の最重点課題とし、温度や湿度といった栽培環境に作物画像のAI解析を組み合

わせた、データに基づく生育・出荷予測等の研究を開始しました。併せて、生産現場の要望や外部の意見を取り入れ、技術確立による経済効果試算に基づいて有効性のある研究課題を選択し、真に現場で活かせるような技術開発を目指しております。

新たな課題に取り組む上では、各種先端技術を有する外部機関との連携が重要となります。国立研究機関である農業・食品産業技術総合研究機構（農研機構）とは平成30年度に連携協定を締結して以来、毎年度連携協議会を開催し、本県の農業振興に貢献できるような共同研究と、その成果の効果的な活用・普及に向けた協力を進めております。また、各大学やICT技術を有する民間企業等とも積極的に共同研究による技術開発を進めております。

このほか、地球温暖化に伴う気象変動への対策としての夏季高温障害対策や開花調節、環境負荷軽減に向けた栽培技術、県育成品種の特性を活かすための栽培方法、輸出や高付加価値を目指した流通・加工技術の開発にも、引き続き取り組んでまいります。

今後ともご支援・ご協力を賜りますようよろしくお願い申し上げます。