

## 抗体感作赤血球凝集反応による イネ黄萎病ウイルスの検定について

関 正 男・鬼塚 朗郎  
(佐賀県農業試験場)

SEKI, M. and ONITSUKA, S.  
Detection of Rice Yellow Dwarf Virus  
by Hemagglutination Test

### 緒 言

イネ黄萎病ウイルスを媒介するツマグロヨコバイなどの保毒率の検定は、主として個体飼育による植物検定が行なわれている。この方法は発生予察を行うためには不備な点があり、年間を通じて確実に迅速に検定しうる方法の確立が要望されている。

高橋ら(1964年)は沈降反応によって黄萎病ウイルス保毒虫の識別が出来ることを報告しているが、筆者らは抗体感作赤血球凝集反応によって黄萎病ウイルス保毒虫の検定を行なったのでその概略を報告する。

### 試験方法

#### 1 抗血清の作製

病徴の明瞭な病葉と同重量の生理食塩水を加え磨砕汁液をとり、遠心分離(3,500 rpm 15分)後、52°C 5分間の温湯浸漬、更に高速遠心(15,000 rpm 15分)したものを家兎の後肢筋肉に第1回3cc以後0.5ccずつ増量し、5回目は5cc注射後8日目に全採血した。得た血清は飽和硫酸液を加え遠心処理後沈澱物を生理食塩水で透析精製した。

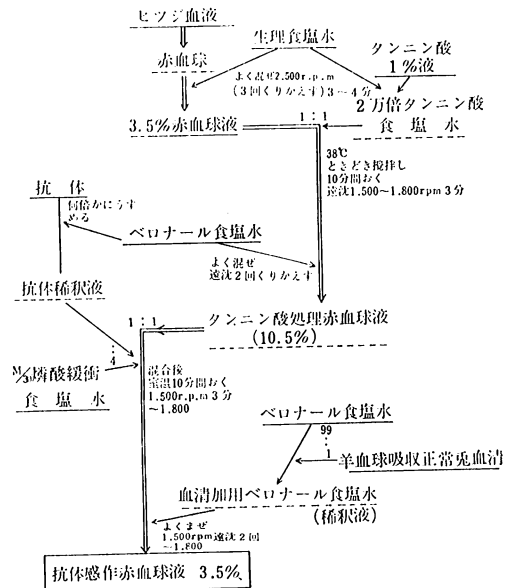
#### 2 抗体感作赤血球液の作製

ヒツジ赤血球浮遊液に等量の20,000倍希釈タンニン酸食塩水を加え、38°Cの温湯中で時々攪拌し10分間放置した後、低速遠心(1,500 rpm 3分)、更にペロナール食塩水で2回血球を洗い、タンニン酸処理赤血球液とした。このタンニン酸処理赤血球液と抗血清希釈液(ペロナール食塩水で薄める)及び燐酸緩衝食塩水との容量比を1:1:4の割合で混合し、室内放置10分間後、正常兔血清を加えた食塩水(希釈液)で洗い、抗体感作赤血球液とした。(第1表)

#### 3 検定方法

殺菌した丸底小試験管にツマグロヨコバイを1管1頭ずつ入れガラス棒ですりつぶし、希釈液で10倍に薄めた抗体感作赤血球液を0.5ccずつ分注、振盪した後室温に3時間あるいは冷蔵庫内に一夜放置後、管底に

第1表 抗体感作赤血球調製順序



生じた反応を一、士、十〜卅の5段階に分別した。すなわち反応陰性の場合、赤血球は管底中央に円形または環状に沈澱し、陽性反応程度の強い場合赤血球は管底のほとんど全面に飛び散って沈澱する。

### 実験結果ならびに考察

試験結果は第2表のとおりである。

農試験場に近接した水路畔に自生しているクサヨシの群生より拘取りによって越冬ツマグロヨコバイを採集し、血清反応を試みた。

1月27日採集の第1回成虫は24.1%、♀は46.1%の陽性反応率を示した。また、同日採集の越冬幼虫は第1回目5.6%、第2回は1.0%で成虫に比し反応率が低かった。

4月15日採集の第1回成虫は5.9%となっていた。5月29日採集の第1世代幼虫で0.9%、平坦部普通栽培の田植期直前の第2回成虫ならびに第2世代幼虫

第 2 表 抗体感作血球によるツマグロヨコバイの反応結果

試験 番号	採 集 地	検定月日	ツマグロヨコ バイ 世 代	供試虫数	血 清 反 応					陽性反応虫 率(卅~十) %	備 考
					卅	卅	十	十	一		
1	農 試	1. 27	{第 1 回成虫♂ 成虫♀	29 65	2 7	3 9	2 14	0 0	22 35	24.1 46.1	クサヨシ群生地
2	"	1. 27	{越冬幼虫 I (3~4令) " (〃) II 平 均	214	2	1	9	3	199	5.6	同 上
3	"			104 (318)	0 2	0 1	0 10	1 3	0 303	1.0 (3.3)	
4	"	4. 21	第 1 回 成 虫	271	0	0	16	8	247	5.9	
5	"	5. 29	第 1 世 代 幼 虫	110	1				109	0.9	
6	"	6. 23	第 2 回 成 虫	205							{6.13日採集 休閑田 再生稻の罹病株率 20% {6.13~18日 罹病株に放飼 {6.18~23日 健全苗で個体飼育 {6.13~18日 健全苗に放飼 {6.18~23日 健全苗で個体飼育
			A 同 上	103	14	8	6	1	74	27.8	
			B 同 上	102	8	6	4	7	77	17.6	
7	高木瀬町 現地圃場 同 上	5. 28	第 1 世 代 幼 虫	100	1	2	1	1	95	4.0	{不耕起刈跡圃場 {再生稻の罹病株率 26%
		6. 23	第 2 回 成 虫	92	1	1	2	1	87	4.4	

(6月13日採集, 6月23日検定)は, 17.6%の高率を示した。また, これと同一集団の約半数を黄萎病罹病再生稲に5日間室内で放飼したのち, 健全苗で個体飼育し血清反応を試みたところ27.8%を示し, 罹病株の放飼によって陽性反応率が増高した。

別に黄萎病罹病再生稲が多数認められた現地圃場(佐賀市高木瀬町東高木)より5月28日採集したツマグロヨコバイ第1世代幼虫で4.0%, 6月23日第2回成虫ならびに第2世代幼虫で4.4%を示しその間に大きな変動を認めなかった。

試験No. 6 A, Bにおいて植物検定との対照を試みたが, 植物検定は不成功に終わったので比較検討が出来

なかった。

### 結 語

抗体価の高い抗血清を得るための手技及び植物検定との比較など更に検討を要する種々の問題点が残されているが, 安尾ら(1963年)によつて発表されたイネ縞葉枯病ウイルス保毒虫の検定方法と同様な方法でイネ黄萎病ウイルスの検定を行なうことが出来た。

### 参考文献

- 1) 斎藤康夫, 外: 農技研報C17 (1964), 1~39
- 2) 安尾 俊, 外: 植物防疫17. (1963) 215~218
- 3) 高橋保雄: 日植病報29. 2 (1964) 73
- 4) 伝染病研究所学友会: 細菌学実習提要