

リンゴステムグルーピングウイルスの抗血清を用いたF(ab')₂間接ELISAによる カンキツタターリーフウイルスの検出

大津善弘・柳瀬春夫(果樹試験場口之津支場)

Yoshihiro OHTSU and Haruo YANASE: Detection of Citrus Tatter Leaf Virus by Modified Indirect ELISA(F(ab')₂ Procedure) Using Antiserum against Apple Stem Grooving Virus

リンゴステムグルーピングウイルス(ASGV)はリンゴ高接病の病原ウイルスの1つであり、ナシ及びウメ苗木からも検出されている。一方カンキツタターリーフウイルス(CTLV)は近年わが国のカンキツ栽培で問題となっている接木部異常病の病原である。

最近、CTLVがASGV抗血清と反応することが明らかにされた。また、越智ら(1990)は島津らのCTLV抗血清を用いて、CTLVとASGVとの間で遠い関係を認めた。CTLVのELISAについてはCTLV K-1株の抗血清を用いたペルオキシダーゼの変法ELISA(川合ら, 1988, '90)とCTLV徳島株の抗血清を用いたアルカリフォスファターゼのELISA(島津ら, 1988, '90)が報告されているがいずれも直接法である。直接ELISAではウイルスの系統により、検出が難しい場合のあることが報告されており、一方、間接ELISAではより多くの系統が検出できることが明らかにされている。ASGVも直接ELISAでは検出できない系統がF(ab')₂間接ELISAでは検出されること(柳瀬ら, 1986)¹⁾が明らかにされている。

筆者らはCTLVの抗血清が手に入らない場合でもASGVの抗血清を用いたF(ab')₂間接ELISAでCTLVの異なった分離株を広く検出できることを明らかにしたので報告する。

CTLVのユリ分離株Li-23を分譲された岡大資源生物研の井上先生に御礼を申し上げる。

1. 材料及び方法

供試ウイルス: CTLVとしてLi-23とI分離株を*C. quinoa*接種葉で供試, CTLV-Iは罹病原木の葉で供試した。CTLV丹生系は口之津保存樹のカンキツ罹病葉で供試し, 口之津支場の圃場で栽培されているCTLV罹病ポンカン樹については3樹の葉を1990年2月, 4月, 5月, 6月, 9月に採集して凍結保存したものを供試した。SGVは*C. quinoa*接種葉汁液の凍結乾燥標品を用いた。

以上の供試ウイルスを使用して行ったASGVの抗血清を用いたF(ab')₂間接ELISAは柳瀬ら(1986)¹⁾によった。

諸条件はいずれもナシのASGV検出に適量であった値である²⁾。ペルオキシダーゼ結合プロテインAは0.01%で, 基質のO-phenylenediamineは0.04%を用いた。

2. 結果及び考察

CTLVの口之津保存株(吸光度0.95), ユリ分離株のLi-23(吸光度1.43)も共に明瞭な発色が認められ, 健全キノアでは発色がなかった。本ELISAによりCTLV

Vが検出されることが判明した(第1図)。

罹病太田ポンカンのCTLVの時期別検出を行ったところ, 4月の春葉(吸光度1.22~1.31)と9月の若い秋葉(同0.97~1.34)の発色が強く, 春葉とともに秋葉も診断に用い得ることが判明した。以後の試験は春葉または秋葉を用いた。

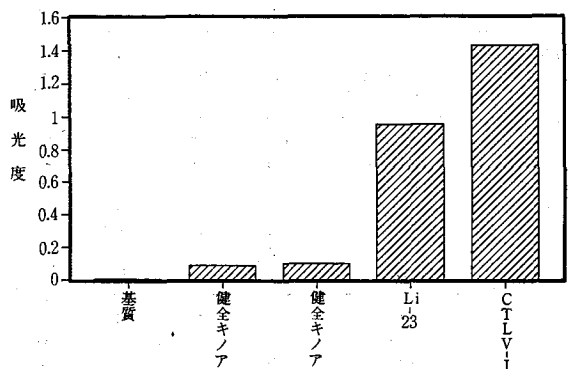
健全キノアでは発色がないが, 健全甘夏では少し非特異発色がみられた。そこで, 汁液とコンジュゲートを同時に注入した結果, 甘夏実生では発色が認められなくなり, 罹病ポンカンは健全の2倍以上の吸光度0.24~0.25を示した。甘夏実生の発色は, 20倍汁液では認められないか, 土程度となった。反応時間が30分以内では発色が認められなかった。20倍汁液を供試して罹病温州からCTLV-1(岩崎)と丹生系CTLVの検出を試みたところ, 健全カンキツ実生ではいずれも吸光度が低く, CTLV岩崎, CTLV丹生系及び対照の凍結乾燥したSGV標品では0.2以上の吸光度を示し, 発色が認められた。

以上の結果, ASGVのF(ab')₂間接ELISAによって, CTLVのユリ分離株Li-23, CTLV丹生系をはじめ口之津分離株I, 圃場の罹病ポンカンのCTLVのすべてが陽性反応を示すことが明らかになった。すなわち, ASGVのF(ab')₂間接ELISAの検定試薬一式があれば, リンゴ・ナシのASGVとカンキツのCTLVを検出できることが明らかになった。

九州ではナシとカンキツの両ウイルスの検定に役立つものと思われる。

引用文献

- 1) 柳瀬春夫・仲谷房治・宗形隆・町田郁夫: 果樹試報 A. 13, 69-81, 1986.
- 2) T. MORIGUCHI, Y. OHTSU and K. TAKANASHI: Bull. Fruit Tree Res. stn. A. 16, 25-30, 1989.



第1図 ASGVのF(ab')₂間接ELISAによる罹病キノアのCTLVの検出