

## カンキツ休眠枝からの ELISA による温州萎縮ウイルス およびカンキツタターリーフウイルスの検出

草野成夫・下村克己 (福岡県農業総合試験場果樹苗木分場)

Nario KUSANO and Katsumi SHIMOMURA : Detection of Satsuma Dwarf Virus  
and Citrus Tatter Leaf Virus from Citrus Dormant Wood by ELISA

福岡県では、健全果樹の育成を目的として、苗木およびカンキツ産地の複製母樹を対象に、温州萎縮ウイルス (SDV) およびカンキツタターリーフウイルス (CTLV) の ELISA による検査を実施している。従来から、カンキツのウイルス検定試料は、栽培樹の場合では春芽新梢を利用し、苗木の場合では接ぎ木後の夏芽新梢で行っている。しかし、接ぎ木後にウイルス検定で保毒が判明した苗木は廃棄する必要がある、経済的な損失が大きかった。そこで、穂木 (秋枝) を検定試料として、接ぎ木前にウイルス感染の有無を検定するため、ピオチン・アビジンシステムを利用した ELISA の検討を行った。

### 1. 材料および方法

SDV 抗体は 1989 年に当試験場で作成した抗血清の IgG 画分を、CTLV 抗体は日本植物防疫協会研究所 (日植防) より販売されているコーティング抗体を用いた。ピオチン・アビジンシステムに利用するピオチン化抗体作成には、ピオチン標識法<sup>1)</sup>を用いた。また、試料とする秋枝皮層部の磨砕に適した緩衝液を明らかにするため、0.1%TGA 加用クエン酸緩衝液 (CB), 2%PVP・0.05% アルブミン加用 CB (CBT), 2%PVP・0.05% アルブミン加用リン酸緩衝液 (PB), 0.1%TGA 加用トリス緩衝液 (TB) について検討した。試料とした皮層部分は、秋枝の上端から基部までを、2~3cm 間隔で削り取り、液体窒素で凍結後磨砕して供試した。また、冬季カンキツ葉も試料として同様に処理して供試した。

### 2. 結果および考察

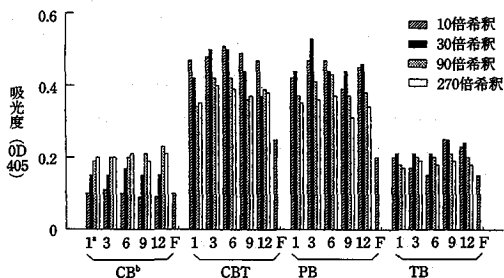
上記 4 種類の磨砕緩衝液について、冬季のカンキツ葉を試料として比較した場合、SDV では CB, PB が (第 1 図)、CTLV では CB および TB が優れた (データ略)。そこで、穂木となる秋枝の皮層部を試料として再度試験を行った結果、SDV では CB が、CTLV では TB が適することが明らかとなった (第 2 図, 第 3 図)。陽性試料では、吸光度でウイルスフリーコントロールの 2~5 倍を示した。ウイルス検定に供試する穂木となる秋枝の部位は、基部の方が先端部より高い吸光度を示したので、基部の方が適すると考えられた。実際に、接ぎ木後に従来の夏芽新梢を再検定した結果、接ぎ木前の検定で吸光度が 2 倍以下であった穂木は、全てウイルスに感染していなかった。

以上のことから、ウイルスフリー苗木の生産を行うには、あらかじめ穂木のウイルス検定を行うことで、接ぎ木前に健全穂木を確保できることが明らかとなった。本方法の確立は、苗木生産上の経済的側面からも有益と考

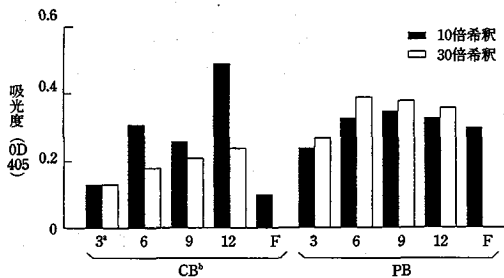
えられる。

### 引用文献

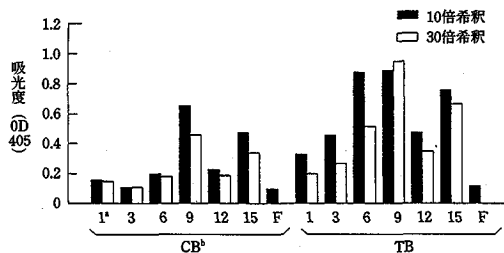
- 1) 草野成夫・下村克己: 九農研 58, 94, 1996.



第 1 図 磨砕緩衝液と秋枝の葉における SDV の検出感度  
注) a) 先端からの葉の位置 (枚目), F: ウイルスフリー (基部葉)  
b) CB: 0.1%TGA 加用クエン酸緩衝液, CBT: 2%PVP・0.05% アルブミン加用 CB, PB: 2%PVP・0.05% アルブミン加用リン酸緩衝液, TB: 0.1%TGA 加用トリス緩衝液



第 2 図 磨砕緩衝液と秋枝皮層部における SDV の検出  
注) a) 先端部からの皮層部位置 (芽数) F: ウイルスフリー (基部)  
b) CB: 0.1%TGA 加用クエン酸緩衝液, PB: 2%PVP・0.5% アルブミン加用リン酸緩衝液



第 3 図 磨砕緩衝液と秋枝皮層部における CTLV の検出  
注) a) 先端部からの皮層部位置 (芽数) F: ウイルスフリー (基部)  
b) CB: 0.1%TGA 加用クエン酸緩衝液, TB: 0.1%TGA 加用トリス緩衝液