

メロンの *Squash mosaic virus* (**SqMV**)
汚染種子作製法

マニュアル

作製の手順

病 原 : *Squash mosaic virus* (SqMV)

対象作物 : メロン

I. 準備する器具・機器等

培養土 … 市販の培養土

ポリ鉢 … 径 9 cm、30cm

支柱、又は吊り下げ用ひも

メロン種子 … 病徴が出やすい品種：例えば、アンデス（株）サカタのタネ等

ウイルス … SqMV 分離株

カーボランダム … #6000

発芽試験用プリーツろ紙及び箱

CGMMV 用 ELISA キット…（社）日本植物防疫協会

その他 … ○ピンセット ○マイクロピペット ○0.1M リン酸緩衝液, pH7.2

II. 栽培管理

1. 種子を径 9 cm のポットに播種し、第 4 本葉が展開し始めた頃に径 30cm の鉢に移植する。その際、支柱又は吊り下げひもで弦を誘引する。
メロンの発芽適温は 25～30℃であり、温度管理に注意する。また、メロンは多湿を嫌うため、灌水は用土が乾いた時に行う。株元が湿りすぎると病気にかかりやすくなるので、灌水はポットの際に沿って行うようにする。
2. 10 節までは小弦を除去し、11 節～20 節まで小弦を延ばし、小弦の 3 節目で摘心する。
3. 12 節～15 節の間に咲いた雌花に授粉する。授粉は午前 9 時くらいまでに行い、月日を記しておく。
4. 適度に追肥、灌水を行って管理する。
5. 果柄に離層が出来た頃に果実を収穫する。
6. 播種から収穫まではおおよそ 4 ヶ月かかる。

III. ウイルスの接種

1. 病徴の明瞭な SqMV に感染したメロン葉を用意し、葉重量の約 5 倍の 0.1M リン酸緩衝液、pH7.2 (0.1M PB) を加えて乳鉢で磨砕する。この磨砕液を接種源とする。
2. 接種は、子葉期の子葉に、又は第一本葉期の第一本葉に接種する。接種の行い方は、まず、メロンの葉にカーボランダムをふりかけ、接種源に触れた指で子葉を優しくこすりつけた後、直ちに水で子葉を洗い流す。

3. 接種後 5～10 日目、上葉にモザイクが現れるのを確認する。

IV. 採種

1. 果実を切断し、種子を含む内容物を水中で解きほぐし、種子以外の内容物及び水に浮く種子を取り除く。水に沈んだ種子を集めて自然乾燥させる。
2. 乾燥後、種子を袋に収めて低温の種子貯蔵庫等で保管する。

V. 汚染種子の確認

1. 発芽用のプリーツろ紙に約 40ml の蒸留水を加え、メロン種子を置床する。約 28℃、12 時間照明で 6～7 日間置く。
2. 発芽した実生苗を一本ずつビニル袋に入れ、磨砕して汁液を作製する。この汁液を ELISA 用の PBS-Tween で 5 倍の希釈汁液を作製し、ELISA 法でウイルスを検出する。
3. ELISA は（社）日本植物防疫協会販売する SqMV の ELISA キットを使用し、プロトコルに従って ELISA を行う。
4. 汚染種子率を算出する。

VI. 図版



図 1. SqMV によるメロンの病徴

図 2. プリーツろ紙によるメロンの実生苗