

植物防疫所

病害虫情報

NO. 4

1981・3・1

カンキツモザイク病（トラミカン）の
検定結果と今後の問題点

本情報第2号及び第3号で既報のとおり、極早生系温州みかん「宮本早生」苗木の流通に伴って、カンキツモザイク病が全国的にまん延するという事態が生じたが、本病は土壌伝染することもあり早急な対策が要請された。昨春以来、果樹試験場、各県の園芸試験場等を中心に、エライザ法による宮本早生のカンキツモザイク病ウイルス保毒状況調査が進められていたが、昨年12月、果樹試験場の主催で、「カンキツモザイク病ウイルス保毒状況検定結果に関する検討会」が開催された。

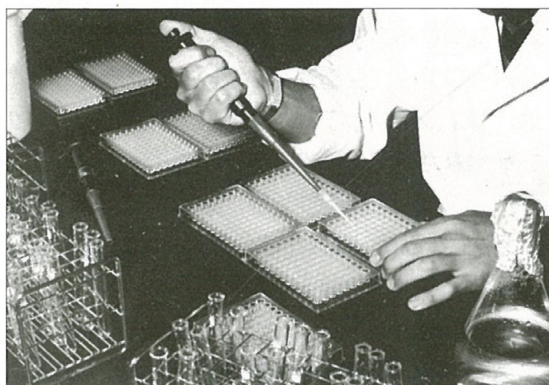
果樹試験場興津支場山口昭病害研究室長の司会により、検定結果、検定実施上の問題点、今後の問題点について検討がなされたが、新しい知見が数多く報告され、今後の検定や防除対策を進める上で参考となる点が多いので、その概要を紹介する。

カンキツモザイク病ウイルス保毒検定の結果

検定結果の概要は、別表のとおりであり、エライザ法により19府県で53,054点、シロゴマ検定により9県で7,720点の検定が実施された。

その結果、エライザ法では総検体数の28.5%に当たる15,138点が陽性(+)と判定された。また、疑陽性(±)と判定されたものが2,261点あり、これも保毒の疑いがあるものとして扱うと、検出率は32.8%に達する。検出率は県によって相当差があり、最高は長崎県の77.7%、最低は高知県の4.2%である。

これは、苗木導入ルート之差によると考えられるが、長崎の場合、判定に際し、プレートの下にアルミ箔をしき反応を見やすいようにしたため、判定が1ランク上がったということも影響してい



エライザ法による検定

るようである。

シロゴマによる接種検定では、7,720検体中11.4%に当たる 879 本が陽性(+)と判定され、疑陽性(±)の1,092本を含めると25.5%の検出率であった。いくつかの県では、エライザ法とシロゴマの両方で検定を行なっているが、その結果、シロゴマによる検定はエライザ法に比して精度が落ちるか、又は検定が困難であると報告された。しかし、徳島県では比較試験の結果、シロゴマで陰性を示したものは、エライザ法でも陰性を示したことから、必ずしもシロゴマ検定は精度が落ちるとはいえず、逆にシロゴマ検定で陽性、エライザ法で陰性になったものが99点中44点あり、これはシロゴマ上の病徴を判定する場合、モザイクウイルス以外のものがあって、それがゴマに反応を示す可能性もあると説明された。

エライザ法による検定実施上の問題点と改善策

エライザ法そのものについては、本情報第2号で紹介したので、ここでは省略するが、昨年行わ

れた検定を通じて、検定実施上の問題点やその改善策についての知見が明らかにされた。概要は次のとおりである。

①使用するマイクロプレートとその洗浄について

検定に使用するマイクロプレートの種類や新旧によって発色が思わしくない。また、使用後の洗浄の仕方によっても発色に差の出ることが明らかになった。これに対する対応としては、新品のマイクロプレートでも最初にクロム硫酸で洗浄する必要がある。(K社のUタイプのプレートは洗浄なしで使える。)洗浄は、超音波洗浄器に洗剤を入れて洗浄する方法もある。

②バッファー(緩衝液)について：エライザ法では、クエン酸/バッファー及びリン酸/バッファーのいずれかが使用されている。一部の県からクエン酸/バッファーを使用すれば、遠心分離の手間が省けるとの意見も出たが、リン酸/バッファーでも遠心分離せず検定できるとの報告があった。

③検定処理時の温度について：従来、酵素をウイルスに結合させる時の温度は37℃に設定した方が良いとされていたが、28℃～30℃、4時間で十分鋭敏な反応が得られることが判った。また全処理段階を通じて、28～30℃でも差し支えないことが報告された。

④試料について：検定試料を採る場合、芽があまり若すぎると反応が出ない場合があるので、少なくとも10cm位伸びた芽の先端から採取した方が良い。また、採取時期は、春芽、夏・秋芽いずれでも良いが、夏・秋芽は発芽が不整一なためサンプリングが困難なようである。また、根を使用できれば、一年を通じて検定が可能となることから、根を使った検定について検討されたが、根毛の先端は、エライザ法では健全なものを含めて、全て発色反応が出るため使用できないことが判った。しかし、シロゴマ検定では、芽より根の方が鋭敏な反応を示すことも報告された。

⑤エライザ法による反応の判定について：現在、SDV 抗血清を使ってエライザ法による CiMV の検定を行っているが、発色が淡いため、判定が非常に困難であるとの意見が多かった。またウイル

スフリーの苗木のものが発色したり、非特異反応を生じることがあり、これらのことから、さらに検定の安定性、感度の向上を望む声が強かった。

今後の問題点

カンキツモザイク病ウイルスが温州萎縮病ウイルスと同一抗原抗体反応を示すことから、急務の対策として、SDV 抗血清を使って CiMV の検定が開始されたわけであるが、前述の検出感度、安定性等の問題から、力価の高い CiMV 抗血清の作成が必要と考えられる。母樹については、エライザ法、シロゴマ検定、ラテックス法等あらゆる手段により、何年も継続して無毒を確認しなければならない。万一、保毒が確認されたものについては、単にその苗木、穂木だけでなく、その導入系統全てを廃棄する必要がある。全国に流通している宮本早生の苗木等は30万本を超えるといわれ、これらの検定に当っては、大量の検体のある程度まとめて検定する/バルク法の導入等についても検討を進める必要がある。

また、今のところ Vector が明らかになっていないため、防除対策も火えん放射器による焼土や農薬による土壌消毒等さまざまであるが、検定結果を防除に的確に反映させるためには、土壌伝染機構の解明が不可欠と考えられる。

「宮本早生」の保毒検定結果

県 名	エライザ法			シロゴマ検定		
	検定数	+	±	検定数	+	±
静 岡	503	219	69	503	148	59
愛 知	285	145	7	249	96	44
三 重	376	161	72	163	10	35
大 阪	805	105	35			
和歌山	10,905	1,429	204			
兵 庫	246	157	0			
広 島	3,412	1,850	432	762	87	24
山 口	175	24	6	30	0	3
香 川	2,749	1,121	830	2,331	424	842
愛 媛	3,628	480	288	2,602	181	33
徳 島	440	51	37	871	112	42
高 知	285	6	6	209	3	10
福 岡	559	0	11			
佐 賀	2,816	343	60			
長 崎	2,472	1,920	0			
熊 本	10,388	2,508	0			
大 分	2,320	718	102			
宮 崎	995	517	113			
鹿児島	9,695	3,384	0			
計	53,054	15,138	2,272	7,720	1,061	1,092

注) 神奈川県は、比較試験のため省略した。