

## 香川県におけるカンキツモザイク病ウイルス(CiMV)と 温州イシユク病ウイルス(SDV)に感染した 温州ミカン「宮本早生」苗木の導入実態<sup>1)</sup>

大広 悟・尾崎幸三郎\*  
(香川農試府中分場)

安藤 昭憲・久保恵三郎  
(香川県青果販売農協連)(三豊みかん)

### 緒 言

温州ミカンの極早生系統の1種である「宮本早生」は熟期が早く、しかも外観、品質ともに優れており、柑橘栽培農家の間では収益性の高い温州ミカンとして有望視されている。しかし、宮本早生の苗木や穂木がカンキツモザイク病ウイルスに汚染されているものが各地で認められ、この系統を普及させる上で大きな障害になっている(山口, 山本, 1979)。香川県でも1979と'80年に宮本早生の苗木を導入したが、カンキツモザイク病ウイルスの県内への拡散を防止すをため、一般栽培農家に配布する前に、導入苗木のウイルス感染の有無を調べ、非感染苗木を選抜した。選抜した苗木は念のためもう一度ウイルス感染の有無を調べ、希望農家に配布するための増殖に供することになっているが、ここにこれまでの検定結果を取りまとめて報告し、今後におけるカンキツモザイク病ウイルスの拡散防止の参考に供する。

なお、この検定を実施するに当っては香川県の各農業改良普及所と農業協同組合の果樹担当職員に多大の協力を賜わり、また農林水産省果樹試験場口之津支場と安芸津支場からは検定方法の教示とSDV抗血清の分譲を受けた。ここに銘記して謝意を表する。

この検定には1979と'80年に導入された4,181本の宮本早生の苗木を供試した。ウイルス感染の有無は、1979年には白ゴマ接種法で、1980年にはELISA法で検定した。検定には、両方法とも、春梢の若葉を用いた。

白ゴマ接種法による検定は今田ら(1976)の方法により、若葉1gに緩衝液5mlを加えて乳鉢で磨砕し、磨砕液を白ゴマの子葉と本葉2葉に接種した。接種後は、感染効率を高めるため、20℃、全暗条件下に24時間保持し、その後は網室に移した。ウイルス感染の有無は、接種後1, 2, 3及び4週間の各時期に、白ゴマに発現する局部病斑と全身病徴を肉眼観察して判定した。この方法では温州イシユク病ウイルスも同様な症状を現わすので、ウイルス感染苗木としての検出率は両ウイルスの合計で評価される。

ELISA法による検定は久原ら(1980)が示した常法どおりに実施した。検定試料(若葉, 果実, 細根)

---

1) On the actual condition of the satsuma orange sapling "Miyamoto Wase" infected with Citrus Mosaic Virus (CiMV) and Satsuma Dwarf Virus (SDV) imported into Kagawa prefecture.

By Satoru OHIRO, Kozaburo OZAKI, Akinori ANDO and Keizaburo KUBO  
Proc. Assoc. Plant Protec. Shikoku, No. 16: 75~79 (1981)

\*現在 香川農業試験場三木分場

1 g に Carbonate Buffer 10ml を加え、乳鉢でよく磨砕し、冷却遠心機にて 3,500 rpm で 20 分間遠心分離した上清を用いた。乳鉢と乳棒は使用に先立って熱湯と乾熱で殺菌した。この ELISA 法には SDV 抗血清 (Titrel, 700) を使用したが、Coating 用抗体液は 1,000 倍、Conjugate 用抗体液は 600 倍とした。なお、この方法でもカンキツモザイク病ウイルスと温州イシユク病ウイルスが類別できないので、検出率は両ウイルスの合計として評価される。

## 結果および考察

### 1. 感染の実態

1979 年に香川県に導入された宮本早生の苗木は 3,495 本であったが、そのうちの 2,331 本を対象に白ゴマ接種法で検定した。結果は第 1 表のとおりである。

検定した苗木のうち白ゴマに明瞭な局部病斑あるいは全身病徴を発現した苗木は 424 本のみであったが、子葉や本葉に異常な症状が現われたものを含めると、ウイルス感染と判定された苗木の検出率は 54.3% であった。一般に、

第 1 表 白ゴマ接種法による検定での検出率 (1979 年)

供試苗木数	陽性苗木数	検出率 (%)
2,331	1,266	54.3

カンキツモザイク病ウイルスと温州イシユク病ウイルスは相互に類似した性質をもっており、血清学的には同一抗原を有し、草本植物の宿主範囲や反応もよく似ていることから (今田ら, 1977), カンキツモザイク病ウイルス感染の検定にも白ゴマ接種法が適用されているが、この方法では、検体のウイルス濃度が濃い場合は白ゴマの新葉が黄化萎縮するなどの全身病徴が現われるので、感染の有無の判定は容易である。しかしウイルス濃度の薄い場合には、白ゴマの生育状態や検定時の環境条件などの影響を受け、明瞭な病徴の現われないことが多い。このような場合、ウイルス感染の有無の判定は困難であるため、今回の検定では白ゴマの葉に異常を認めたものはすべて感染苗として取扱うことにした。第 2 表は 1980 年に行なった。ELISA 法による検定結果であるが、この方法による検定では供試した苗木 1,850 本のうち、1,314 本が陽性反応を示し、ウイルス感染と判定される苗木の検出率は実に 71% に達した。この数値は 1979 年に白ゴマ接種法で検定した場合のウイルス感染苗木検出率が 54.3% であったのに比べると、非常に高率で検出されたことになるが、これは、ELISA 法ではウイルスに対する感度がきわめて高いためである (久原ら, 1980)。

第 2 表 ELISA 法による検定での検出率 (1980 年)

供試苗木数	陽性苗木数	検出率 (%)
1,850	1,314	71.0

感度がきわめて高いためである (久原ら, 1980)。そこで 1979 年に白ゴマ接種法で検定し、非感染と判定された苗木についてもあらためて ELISA 法で検定したが、その結果、1979~'80 年に香川県へ導入された宮本早生のウイルス感染苗木の検出率は 72.1% であった。この値は、この時期に出廻った宮本早生の苗木のウイルス感染の実態に近いものと考えられる。

香川県の場合、宮本早生の苗木は数ヶ所から導入されたものであったが、第 3 表は ELISA 法で検定した結果を導入先別に区分けして示したものである。これによると、ウイルス感染苗木の検出率は 57.8% から 82.2% の範囲で導入場所間の差異がみられたが、C 地と F 地から導入した苗木では検出率が特に高かった。ELISA 法でも、カンキツモザイク病ウイルスと温州イシユク病ウイルスが類別できないので、このことから宮本早生の苗木のカンキツモザイク病ウイルスの感染が苗木の育成場所によって大きく異

なるとはいえないが、このような結果は、苗木購入に際し、購入先の選択に留意しなければならないことを示唆しているといえる。

## 2. 白ゴマ接種法とELISA法による検出率の差異

先述したように、白ゴマ接種法で検定した場合のウィルス感染苗木の検出率はELISA法によるそれより著しく低かった。そこで両検定法間におけるウィルス感染苗木の検出精度を比較するため、白ゴマ接種法で明瞭な病徴を発現した苗木、白ゴマ接種法による2回検定でいずれも不明瞭な症状を発現した苗木、2回の検定でいずれも症状を全く現わなかった苗木をそれぞれ10本ずつ供試し、ELISA法で検定したが、結果は第4表に示すとおりである。

白ゴマ接種法で明瞭な病徴を発現した苗木はELISA法でもすべて陽性反応を示した。

しかし、白ゴマ接種法で不明瞭な症状を発現した苗木は90%が陽性反応を示し、症状を全く発現しなかった苗木でも20%は陽性反応を示した。

第5表は白ゴマ接種による1回の検定で症状の全く現われなかった苗木、2回の検定ともに症状の全

第3表 宮本早生の苗木導入先による検出率の差異

導入先	供試苗木数	陽性苗木数	検出率(%)
A	16	12	75.0
B	490	283	57.8
C	270	219	81.1
D	172	110	64.0
E	83	51	61.4
F	45	37	82.2
計(平均)	1,076	712	66.2

第4表 白ゴマ接種法とELISA法による検定結果の差異

白ゴマ接種法検定結果	供試苗木数	ELISA法検定結果	
		-	+
+	10	0	10
±	10	1	9
-	10	8	2

第5表 無検定苗木および白ゴマ接種法による検定苗木をELISA法で検定した結果

供試苗木	供試苗木数	陽性苗木性	検出率(%)
無検定苗木	398	292	73.4
白ゴマ接種法	1回検定無症状苗木	101	66.9
	2回検定無症状苗木	78	45.9

く現われなかった苗木についてELISA法で検定した結果であるが、白ゴマ接種法での1回検定で症状の現われなかった苗木は66.9%が陽性反応を示し、2回の検定ともに症状の現われなかった苗木でも45.9%が陽性反応を示した。対照の無検定苗木でのウィルス感染苗木の検出率が73.4%であったことから考えると、白ゴマ接種法での検定済の苗木における陽性反応は予想以上の高率で現われた。

以上のような諸結果からみて、白ゴマ接種法による柑橘類のウィルスに対する感染の有無の検定は、精度が極めて低いものであるといえる。これは、検定のウィルス濃度が低い場合、白ゴマに症状が現われないことによると思われるが、ウィルス感染状況の検定ではこの事実を念頭におき、より精度の高い方法を適用して実施すべきであると考え。なお、香川県へは1980年に検定済と称する苗木が832本導入されていたが、それらをELISA法で検定したところ61.8%の高率で陽性反応を示した。このことは、苗木購入の場合、検定済といえどもその方法と内容を確認する必要があることを示している。

### 3. 検定部位による反応の差異

カンキツモザイク病ウイルスや温州イシユク病ウイルスは春芽の新葉でウイルス濃度の高いことが知られている。したがって今回の検定にはすべて春梢の若葉を供試したが、能率の面からは年間を通じて検定可能なことが望まれる。そこで、その可能性を探るため、ELISA法で陽性反応を示した苗木5本を供試し、葉（新、旧別）、葉柄、果皮、果肉、細根のそれぞれについてELISA法で検定した。その結果は第6表に示すとおりである。

第6表 苗木の部位による反応の差異（ELISA法）

保毒苗木番号	葉			葉柄	果皮	果肉	細根
	未展開葉	硬化葉	旧葉				
1	+	+	+	+	-	-	±
2	+	+	+	±	-	-	-
3	+	±	+	+	-	-	-
4	+	+	+	+	-	-	-
5	+	+	+	+	±	-	-

山本ら（1979）はELISA法で果実の組織別に検定し、果皮では陽性反応を示すが、果肉は、非特異的な反応を呈するので、ウイルスの検定部位として適当でないとして報じているが、第6表にみられるように、この検定では果皮と果肉ともにほとんど陽性反応を示さなかった。またこの検定では細根も陽性反応を示さなかったが、佐々木（1980）、真子（1980）は細根においても陽性反応を示すことを明らかにしている。このように、果実や細根での検定結果は既報のそれと一致しなかった。これは、苗木のウイルス濃度の違いによるものでなかろうかと想像されるが、この点についてはさらに検討し、これらの部位がウイルスの検定に供試可能か否かを明らかにしたいと考えている。

葉と葉柄は陽性反応を示した。葉の場合、硬化葉や旧葉でも、反応程度が未展開の若葉より低かったとはいえ、陽性反応を示した。このように硬化葉や旧葉でウイルス感染の有難が検知できることは、ELISA法の場合、年間を通じて温州みかんのウイルス感染状況の検定が可能なることを意味しているが、このことはウイルス対策上好都合なことである。

### 摘 要

1. 1979と'80年に香川県に導入された温州みかんの極早生系統「宮本早生」におけるカンキツモザイク病ウイルス病と温州イシユク病ウイルスの感染状況を検定したが、導入苗木におけるウイルス感染苗木の検出率は72.1%であった。なお検出率は苗木の購入場所によって大きな差異がみられた。

2. 白ゴマ接種法による2回検定のいずれも非感染と判定した苗木でも、ELISA法による検定では46%が陽性反応を示し、白ゴマ接種法は検定精度の著しく低いことがわかった。

3. ELISA法の場合、果実や細根では、ウイルスが検知されにくかったが、硬化葉、旧葉、葉柄ではいずれもその可能なことがわかった。ただ反応の程度は未展開の若葉より低かった。

## 引用文献

- 山口 昭 (1979) : カンキツモザイク病の拡散・植物防疫, 33 : 545~546.
- 今田 準 (1977) : 温州萎縮病及び類似病害の種類と研究の現状・植物防疫, 31 : 399~402.
- 久原重松 (1980) : 酵素結合抗体法 (ELISA) による植物ウイルス病の診断・植物防疫, 34 : 129~135.
- 農林水産省果樹試験場 : 常緑果樹試験研究打合せ会議資料 (病害) . (昭和54, 55年度) .
- 和歌山果樹試験場 (1979) : カンキツモザイク病伝染防止対策打合せ会議資料 .
- 宮川経邦・佐々木篤 (1977) : 原色 柑橘のウイルス病診断・農山漁村文化協会 . 99 . 83 .