

佐賀県研究成果情報

高感度検出法 PCR-ELISA によるカンキツウイルス SDV、ASGV の年間を通した同時診断法の確立				
〔要約〕カンキツウイルス <u>SDV</u> 、 <u>ASGV</u> を、年間を通して同時診断できる手法として、高感度検出法の <u>PCR-ELISA</u> が有効である。				
果樹試験場・病害虫研究担当			連絡先	0952-73-2275 kajushiken@pref.saga.lg.jp
部会名	果 樹	専 門	果樹病害	対 象 カンキツ

〔背景・ねらい〕

カンキツ栽培では、接ぎ木伝染し樹勢を著しく低下せる温州萎縮病ウイルス（SDV：satsuma dwarf virus）と、リンゴステムグルーピングウイルス（ASGV：apple stem grooving virus，旧称 CTLV）が問題となり、苗木や穂木等で優良系統を増殖する場合などには、これらウイルスを予め診断することが重要である。

これらウイルスの診断法として、これまで ELISA 法（Enzyme Linked Immunosorbant Assay，酵素抗体結合法）が用いられてきたが、検定に供試できる試料はウイルス濃度の高い春期に採取した新梢葉に限定されるという問題点があった。

生産現場では、カンキツの品種更新等を早く行うことなどを目的として、年間を通した複数ウイルスの診断技術の確立が切望されていることから、診断技術の確立を図る。

〔成果の内容・特徴〕

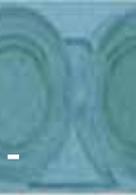
- 1 従来法の ELISA で診断可能な試料は、ウイルス濃度の高い春期に採取した新梢葉に限定されるが、高感度診断法の PCR-ELISA を用いると、ウイルス濃度の低い夏期～冬期の時期でも診断可能である（表 1）。
- 2 PCR-ELISA は、従来の遺伝子診断法 RT-PCR よりも検出感度が高いことから、ウイルス濃度が低い場合でも診断が可能である（図 1）。

〔成果の活用面・留意点〕

- 1 品種更新等を行う場合は、必ずウイルスの診断を行い、ウイルスフリーの母樹から穂木を採取すること。
- 2 検定には新梢葉または硬化葉を用いる。硬化枝は検出感度が落ちる場合があるので使用しない。

表1 試料の採取時期がPCR-ELISAの検定結果におよぼす影響

採取時期	樹 NO.	SDV		ASGV	
		感染樹	健全樹	感染樹	健全樹
2005秋	樹1	+	-	+	-
	樹2	+	-	+	-
2005冬	樹1	+	-	+	-
	樹2	+	-	+	-
	樹3	+	-	+	-
2006春	樹1	+	-	+	-
	樹2	+	-	+	-
	樹3	+	-	+	-
2006夏	樹1	+	-	+	-
	樹2	+	-	+	-
	樹3	+	-	+	-

方法	希釈倍数ごとの陽性試料の判定結果					
	原液	(1/5)	(1/25)	(1/125)	(1/625)	(健全)
PCR-ELISA						
吸光度 ¹⁾	1.47	1.19	0.83	0.43	0.17	0.25
RT-PCR (従来法)						

第1図 PCR-ELISAとRT-PCRの検出感度の比較(ASGV)

1) 吸光度が健全サンプルの2倍以上であれば陽性(+)判定

[その他]

研究課題名：難防除ウイルス病から柑橘農家を救う画期的な診断法と台木の開発

予算区分：国庫補助

研究期間：平成16年～平成18年

研究担当者：井手洋一、田代暢哉（現在 上場営農センター）

発表論文等：佐賀県果樹試験場 業務年報（平成16年度、18年度）