

**[成果情報名]食用ゆりのウイルスフリー種苗生産に使えるユリモットルウイルスの系統に対応した効率的検出法**

**[要約]**花ゆりから分離されたユリモットルウイルス (LMoV) 抗体 (花ゆり系抗体) を作製し、これと既存の抗体 (食用ゆり系抗体) を混合してエライザ法を行うと、両系統共に生体重の 100 倍希釈まで検出することができ、種苗生産でウイルス検査が簡便化できる。

**[キーワード]**食用ゆり、LMoV、花ゆり系、エライザ法、ウイルス検査

**[代表連絡先]**電話 0123-89-2290

**[研究所名]**道総研中央農業試験場・病虫部・予察診断グループ

---

**[背景・ねらい]**

食用ゆり (ゆりね) は全国生産量の約 99%が北海道で生産される地域特産作物で、その生産額は約 12 億円と推定される重要品目である。現在、道内における食用ゆりのウイルスフリー種苗生産では、既存の抗体で検出困難な、花ゆりから分離された LMoV の系統 (花ゆり系) の対応に苦慮している。LMoV (花ゆり系) の抗体を作製し、エライザ法を用いた食用ゆり種苗のウイルス検査法を確立する。

**[成果の内容・特徴]**

1. 食用ゆりから分離された系統 (食用ゆり系) の LMoV と LMoV (花ゆり系) は外被タンパク質 (CP) 領域のアミノ酸配列が 9.1%異なる。
2. LMoV (花ゆり系) CP 領域の大腸菌発現タンパク質を抗原として家兎に免疫すると、抗体が得られる。この花ゆり系抗体を用いた直接エライザ法 (DAS-ELISA 法) により、LMoV (花ゆり系) を検出可能であり、花ゆり系罹病葉を生体重あたり 100 倍まで希釈して検出できる。しかし、食用ゆり系罹病葉では 10 倍希釈までしか検出できない。
3. 一方、食用ゆり系抗体は DAS-ELISA 法により食用ゆり系罹病葉を 1,000 倍まで希釈して検出できるが、花ゆり系罹病葉では 10 倍希釈までしか検出できない。
4. 花ゆり系と食用ゆり系の抗体を混合してエライザ法を行うと、両系統共に生体重の 100 倍希釈まで検出することができる (図 1)。
5. 花ゆり系に罹病した食用ゆりのサンプリング時期および部位別による検出限界は、萌芽 6 週間後の中位葉で生体重の 100 倍希釈までである (表 1)。萌芽 6 週間後の中位葉をサンプリングすることで、食用ゆりに感染する他の 4 種のウイルス (食用ゆり系、オオバコモザイクウイルス (PIAMV)、ユリ潜在ウイルス (LSV)、キュウリモザイクウイルス (CMV)) と同時にウイルス検査が可能となる。なお、萌芽 2 週間後においても上位葉では 10 倍希釈まで検出できたが、その検出感度は萌芽 6 週間後に劣る。
6. LMoV の花ゆり系ならびに食用ゆり系に対応可能な検査法のマニュアルを図 2 に示す。食用ゆりのウイルスフリー種苗生産ほ場において、その実用性について検討を行ったところ、サンプリングやエライザ検査について作業上の問題は認められない。
7. 道内のモザイク症状を示した花ゆり 13 株についてエライザ法による検出を行ったところ、食用ゆり系抗体では 4 株のみ陽性であったのに対し、花ゆり系抗体ではいずれも陽性を示した。本抗体は花ゆりのウイルス診断にも利用可能である。

**[普及のための参考情報]**

1. 普及対象は北海道内の食用ゆりのウイルスフリー種苗生産団体である。
2. 普及予定の種苗検査は、ウイルスフリー球 (原種) 約 2 万球を対象に行われる予定である。
3. 本試験で作製した LMoV (花ゆり系) のエライザ用抗体は道総研中央農業試験場における「エライザ検定用抗体キットの管理および提供要領」に基づき、配布可能である。

[具体的データ]

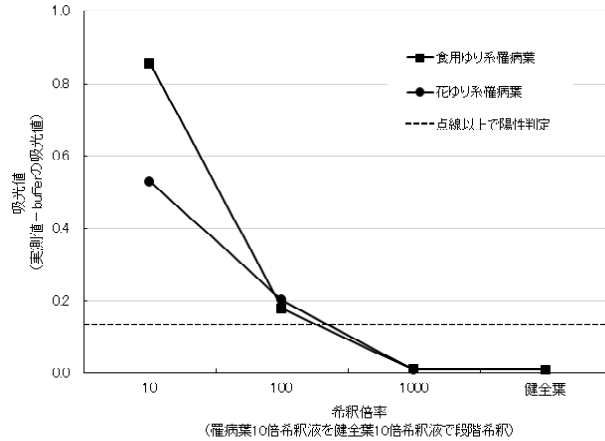


図1 LMoV（花ゆり系）抗体と LMoV（食用ゆり系）抗体の混合による各 LMoV 系統の検出

表1 食用ゆり（萌芽6週間後）からの採取葉位とエライザ法（花ゆり系と食用ゆり系抗体の混合）による検出精度

希釈倍率	A						B					
	上位葉		中位葉		下位葉		上位葉		中位葉		下位葉	
	吸光値 <sup>a)</sup>	判定 <sup>b)</sup>	吸光値	判定	吸光値	判定	吸光値	判定	吸光値	判定	吸光値	判定
10	0.285	+	0.409	+	0.327	+	0.321	+	0.493	+	0.151	+
100	0.070	-	0.144	+	0.109	±	0.061	-	0.145	+	0.029	-

a) 吸光値=実測値-BUFFERの吸光値(健全の吸光値 -0.003)

b) 吸光値0.140以上で陽性

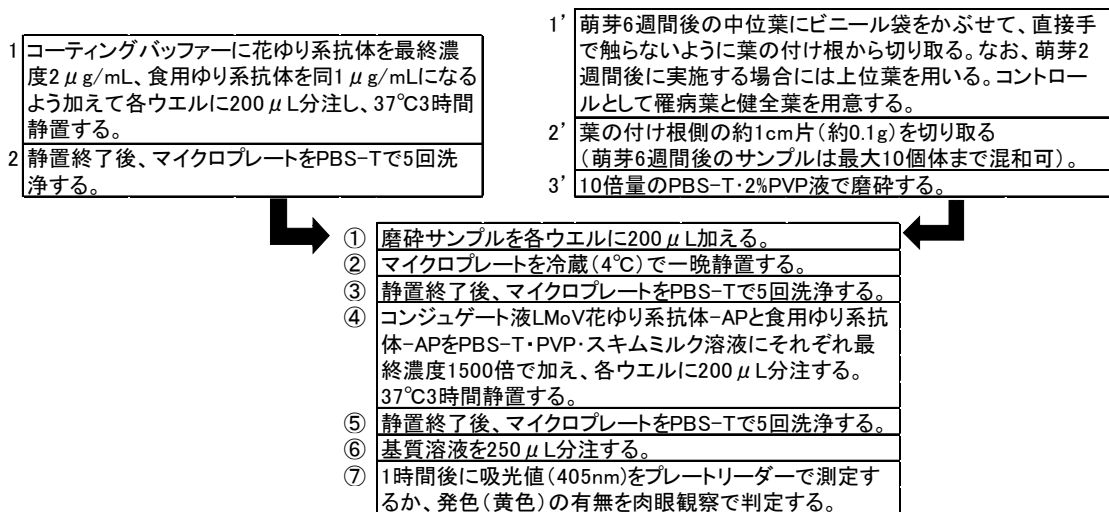


図2 食用ゆりの LMoV エライザ検査マニュアル

(佐々木 純)

[その他]

予算区分：重点研究

研究期間：2008～2010年度

研究担当者：佐々木 純、大山耕二（ホクレン農業協同組合連合会）、丹羽昌信（ホクレン農業協同組合連合会）、堀田治邦

平成23年度北海道農業試験会議（成績会議）における課題名および区分

「食用ゆりのウイルスフリー種苗生産のためのユリモットルウイルス（花ゆり系）検査法」（普及推進）