

## DIBA法によるニンニクモザイクウイルス検定の現場への適用

忠 英一・平井 輝悦・庭田 英子・森行 勝也

(青森県畑作園芸試験場)

Application for Detection of Garlic Mozaic Virus by DIBA Procedure in the Field

Eiichi CHU, Kietu HIRAI, Eiko NIWATA and Katsuya MORIYUKI

(Aomori Field Crops and Horticultural Experiment Station)

### 1 は じ め に

当試験場で作成したニンニクモザイク病のウイルスに対する抗血清を用いたDIBA法の開発により、ニンニクのウイルス検定を簡便で大量に行うことが可能となった。そこで、ほ場で栽培中のニンニクについてDIBA法によるウイルス検定を行ったところ、現場でも短期間で大量に検定でき、大量に検定する場合の労力等の面で知見を得たので報告する。

### 2 試 験 方 法

#### (1) 検定方法

DIBA法：山下・及川<sup>1)</sup>に準じて行った。

#### (2) 供試材料

青森県畑作園芸試験場で栽培中の1985年に茎頂培養したニンニク3,610株を供試した。

#### (3) 試料の調整

2月下旬及び4月上旬にニンニクの新葉の先端約1cmを採取して容量1.5mlのマイクロチューブに入れ、磨砕作業まで-20℃の冷凍庫で保管した。

保管した試料はそのままマイクロ乳棒で磨砕してマイクロチューブごと小型遠心分離機にかけた。

### 3 試験結果及び考察

(1) 検定作業は3月下旬から4月中旬にかけて研究員1人、補助5人の計6人の組作業で行った。

表1 検定の行程と処理時間

| 行 程        | 処理時間<br>(時間/3,610株) | 処理量<br>(株/人・時) |
|------------|---------------------|----------------|
| 試 料 の 採 取  | 20.0                | 180.5          |
| 試 料 の 磨 砕  | 160.4               | 22.5           |
| 遠心分離と乳棒の消毒 | 60.0                | 60.2           |
| 試 料 の 滴 下  | 100.3               | 36.0           |
| 陽性反応株の抜き取り | —                   | 44.3           |

注. 陽性反応株の抜き取りは4月中旬に行った。

表1に検定作業の各行程別の処理時間を示した。

(2) 検定試料の調整にあたっては、表1に示した様に磨

砕行程が時間を要する行程で、3人が磨砕を受け持った。マイクロチューブ内の試料をマイクロ乳棒で磨砕する方法は、1人1時間に22株分可能である。作業は容易で、しかも間違いがなかった。マイクロ乳棒は1本400円強と高価なこともあり、40本用意して1回ごとに洗浄し煮沸消毒しながら使用した。この洗浄・煮沸消毒と試料の遠心分離を1人が受け持った。マイクロチューブは必要数を準備して対応した。当初、乳鉢と乳棒を用いた磨砕方法を検討した。能率は、乳鉢と乳棒を使用した場合には1人1時間に50株可能である。しかし、乳鉢、乳棒を洗う時間と磨砕後にマイクロチューブに移す時間を考えると、マイクロチューブとマイクロ乳棒を使用したほうが、作業時間が少ない等から、マイクロ乳棒でマイクロチューブ内の試料を直接磨砕する方法とした。

(3) 遠心分離後の試料をニトロセルロース紙に滴下する作業は2人で受け持った。

ニトロセルロース紙に試料を滴下した後は、約5℃の冷蔵庫内に1日～1週間保管した。1枚に35株分を滴下したために、1,000株分でも29枚になり、その後に抗血清を使用して陽性の試料を発色させるまでの行程は1人、1日あれば可能であった。

(4) 判定は、研究員が行い、1日に約1,000株分の判定が可能であった。

発色は薄いものもあったが、判定は容易であった。発色の濃かった株と薄かった株を分けて病徴観察したところ、発色の濃かった株の方が明確な病徴を示している株が多く(72%)、発色の薄かった株は明確な病徴を示している株が少なかった(53%)。

(5) 陽性反応株の抜き取りは試料の番号と前もってつけておいたほ場の株の番号とを照合することにより容易に行うことができた。

(6) 表2に主要な検定資材の1,000株分の費用を示した。1,000株当たり38,730円であった。

### 4 ま と め

最初に、試料の採取を6人でない、その後に磨砕作業

表2 主要な検定資材の費用

| 資 材 名      | 数量<br>(1,000株当り) | 金 額<br>(円/1,000株) | 備 考                    |
|------------|------------------|-------------------|------------------------|
| マイクロチューブ   | 1,000個           | 6,800             | 容量1.5ml<br>採取・試料保存     |
| ニトロセルロース紙  | 10枚              | 8,000             | 15×9.2cm               |
| ディスポザブルチップ | 1,000本           | 6,650             | ニトロセルロース紙への試<br>料滴下中使用 |
| マイクロ乳棒     | 40本              | 17,280            | 磨砕用                    |
| 合 計        |                  | 38,730            |                        |

を3人、磨砕した試料を遠心分離機にかけたりマイクロ乳棒を洗浄・煮沸消毒する作業を1人、遠心分離にかけた試料をニトロセルロース紙に滴下する作業を2人という形の組作業を行えば、ニトロセルロース紙に試料を滴下するまでの作業を、1日400株は可能であった。

#### 引 用 文 献

- 1) 山下 一夫, 及川 健. 1992. DIBA法および間接ELISA法によるニンクモザイクウイルスの検出. 北日本病虫研報 43: (印刷中)