成績概要書（2009 年 1 月作成）

課題分類：
研究課題：遺伝子解析による球根花きの病原ウイルスの診断
（球根花きに発生する未知ウイルスに対応した高精度遺伝子診断技術の開発）
（球根花きに発生する病原ウイルスの診断技術開発）
担当部署　中央農試　基盤研究部　遺伝子工学科
協力分担：なし
予算区分：外部資金（JST）・道費（一般）
研究期間：2006 年度・2007 ～ 2008 年度（平成 18 年・平成 19 ～ 20 年）

１．目的

球根花きに発生するウイルスは北海道で今までに取り組んだ事例が少なく、また、感染植物が限定的で同定が難しく、未解明のものが多い。これらウイルスを診断・同定するため、科あるいは属内のウイルスを広く検出できるプライマー（ユニバーサルプライマー）が開発されてきた。これらプライマーを積極的に用いて、球根花きに発生する未解明のウイルス検出を行う。加えて、病原ウイルスと各球根花きにおける症状を明らかにし、品目ごとに検出されたウイルスの情報を提供する。

２．方法

１）ユニバーサルプライマーの利用条件の設定

中央農試保存のウイルス株を用いてユニバーサルプライマーが報告されているウイルス科・属のうち、農業上特に重要なポティウイルス科、カルラウイルス属、ククモウイルス属、ポテックスウイルス属、トバモウイルス属、ファバウイルス属およびトスポウイルス属プライマーについて、利用条件を検討した。

２）球根花きに発生するウイルスの探索

道内の球根花きを栽培している産地からウイルス症状株を採取し、エライザ法などを用いた診断に加え、ユニバーサルプライマーを用いてウイルスの検出を行った。

３．成果の概要

１）植物ウイルスとして重要な１科６属について、既報のユニバーサルプライマーの検出条件を明らかにした。これらを用いた診断の流れを図１に示す。カルラウイルス属のユニバーサルプライマーは外被タンパク質を含む領域を増幅できるよう新たに設計し、条件を設定した。

２）このうち、ポティウイルス科およびカルラウイルス属、ククモウイルス属およびポテックスウイルス属は同じ PCR 条件で検出できた。

３）一般農家圃場で発生したウイルス症状株を用いて、ELISA 法・生物検定等による診断に加え、ユニバーサルプライマーによる遺伝子診断で球根花き６品目の延べ 11 ウイルスを検出した。いずれも北海道の球根花き栽培で初めて検出されたウイルスである。また、植物のウイルス症状と検出ウイルスについても整理した（表１）。

４）このうち、フリージアで問題となっている退緑斑紋症状は *Freesia mosaic virus*（FreMV）であった（図２）。また、ラナンキュラス産地で平成 20 年に多発したモザイク症状は *Ranunculus mild mosac virus*（RMMV）であった（図３）。いずれも本邦で初めて検出されたウイルスである。FreMV では種特異的プライマーも設計した。

５）また、コンニャクモザイクウイルスおよびトマト黄化えそウイルスはカラーから初めて検出された。

６）サンダーソニアのキュウリモザイクウイルスはプライマーによる検出のほか、エライザ検定、宿主への接種試験、検定植物接種で条斑モザイク病（新発生）と同定した。

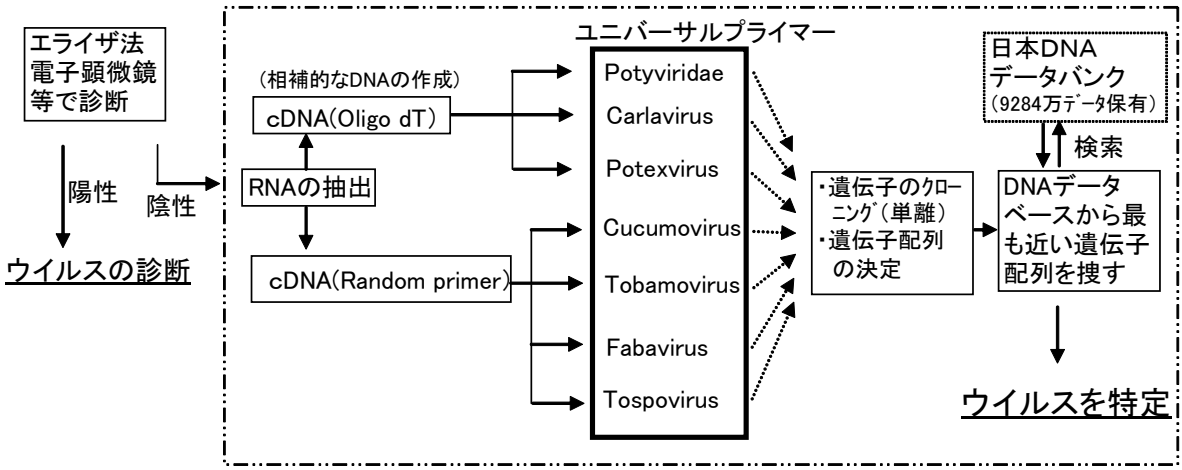

図１　ユニバーサルプライマーを用いた新しい病原ウイルス診断の流れ

部分が本成績での取り組み

表１　球根花きから検出された病原ウイルス一覧

球根花き	No.	ウイルス名	症　　状	報告*	検出プライマー
フリージア	1	インゲンマメ黄斑モザイクウイルス(BYMV)	淡いモザイク症状	○	Potyviridae primer
	2	*Freesia mosaic virus* (FreMV)	モザイク症状，退緑斑紋症状	★	Potyviridae primer
グラジオラス	1	インゲンマメ黄斑モザイクウイルス(BYMV)	無病徴，奇形，退緑斑紋症状	○	Potyviridae primer
	2	キュウリモザイクウイルス(CMV)	BYMVとの重複感染で湾曲葉	○	Cucumovirus primer
カラー	1	サトイモモザイクウイルス(DaMV)	モザイク症状	○	Potyviridae primer
	2	コンニャクモザイクウイルス(KoMV)	モザイク症状	◎	Potyviridae primer
	3	トマト黄化えそウイルス(TSWV)	えそ斑点，出すくみ花，白斑花	◎	Tospovirus primer
サンダーソニア	1	キュウリモザイクウイルス(CMV)	生育抑制，葉がかすり状	○	Cucumovirus primer
ラナンキュラス	1	ソラマメウイルトウイルス2(BBWV2)	生育抑制，赤褐色葉，奇形花	○	Fabavirus primer
	2	*Ranunculus mild mosaic virus* (RMMV)	モザイク症状	★	Potyviridae primer
花ゆり	1	ユリモットルウイルス(LMoV)	モザイク，濃淡のストライプ	○	Potyviridae primer

* ★:日本で初めて確認されたウイルス，◎:品目で初めて確認されたウイルス，○:報告があるが，北海道の球根花きで初めて確認されたウイルス

図２　フリージアの FreMV による退緑斑紋

図３　ラナンキュラスの RMMV による
モザイク症状

４　成果の活用面と留意点

１）検出されたウイルスの情報は球根花きウイルス症状の診断に活用する。

２）ユニバーサルプライマーを用いた検出法は球根花き以外の作物でも応用可能である。

５　残された問題とその対応

１）検出ウイルスの単離と病原性の確認、同定

２）新たな科・属ウイルスのユニバーサルプライマーの利用