

6) 遺伝子でわかる！球根花きの病原ウイルス

(遺伝子解析による球根花きの病原ウイルスの診断)

北海道立中央農業試験場 遺伝子工学科

1. はじめに

北海道での球根花き栽培は代表的な花ゆりをはじめ、フリージア、グラジオラスなどさまざまです。球根花きの生産地では以前からさまざまなウイルス症状が発生して問題となっていました。その理由はウイルスが植物に感染してしまうと球根で次世代に年々広がってしまうからです。また、従来の方法では、原因となるウイルスを突き止める手段に苦労していたのが現状です。

そこで、ウイルスの遺伝子を直接抽出し、遺伝子配列を明らかにし、データベースのウイルス遺伝子配列と比較することで特定することとしました。この時に、大きな手助けとなるのが植物ウイルスを検出するユニバーサルプライマー(注1)です。植物ウイルスの分類は科あるいは属に分けられていますが、それぞれに属するウイルスならばすべて検出できるという優れたプライマー(注1)です。本課題では植物ウイルスの主要な1科6属の各ユニバーサルプライマーを利用して、球根花きに発生するウイルスをリストアップすることができましたので、ご紹介します。

2. 試験の方法

- 1) ユニバーサルプライマーの利用条件の設定
- 2) 球根花きに発生する病原ウイルスの診断

3. 試験の結果

1) 中央農試で保存している1科6属の植物ウイルスのサンプルを用いて各ユニバーサルプライマーの検出条件を明らかにしました。これらを用いた診断体系の流れは図1のようになります。既存のカルラウイルス属を検出するユニバーサルプライマーは一部サンプルで増殖できない場合があることから、新しく設計して、利用できるようにしました。また、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遺伝子増幅(PCR)条件で検出できるようにし、効率化しました。

2) 一般農家圃場から採取した球根花き6品目のウイルス症状株をユニバーサルプライマーを用いて診断したところ、表1に示すとおり、延べ11ウイルスを検出することができました。これらは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す。

3) このうち、フリージアで問題となっている退緑斑紋症状株から *Freesia mosaic virus* (FreMV) が、ランタンキュラスで問題のモザイク症状株から *Ranunculus mild mosaic virus* (RMMV) が検出され、これらは日本で初めてのウイルスです。

4) また、カラーから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が検出され、これらウイルスはカラーで初めての発生です。

5) サンダーソニアのキュウリモザイクウイルスはユニバーサルプライマーによる検出のほか、エライザ検定、サンダーソニアや検定植物への再接種により、本州で報告のある条斑モザイク病(北海道で新発生)と同定しました。

このような手法を球根花きやその他植物のウイルス検出に活用することによって、今まで診断できなかった未知のウイルス症状の解明を進めることができます。

注1 プライマー、ユニバーサルプライマー

プライマーは特定のウイルス遺伝子をPCR法などで増幅させる短いDNA断片。ユニバーサルプライマーは科あるいは属に属するウイルスの遺伝子を幅広く検出するためのプライマー。

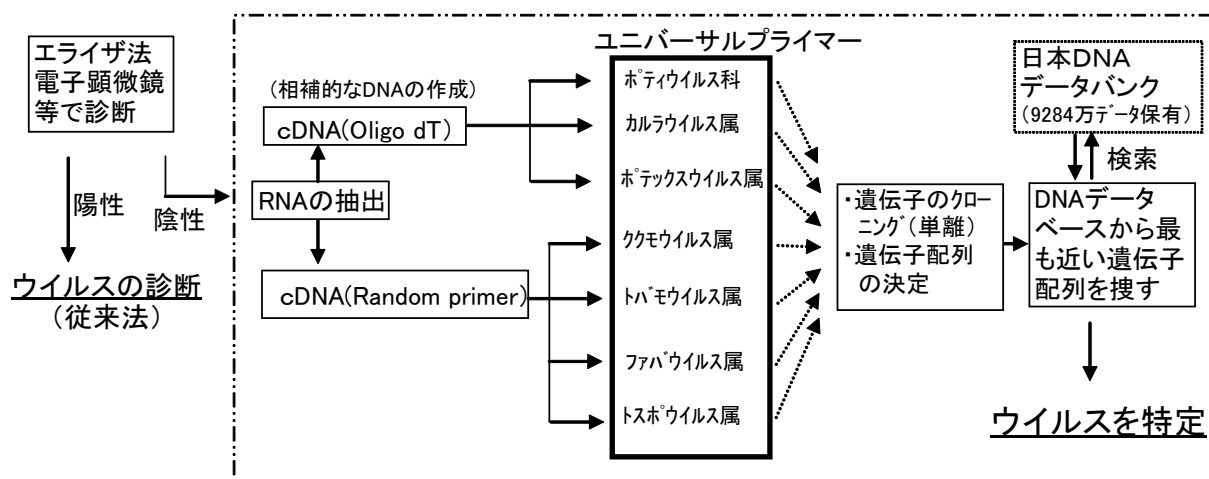


図1 ユニバーサルプライマーを利用した新しい病原ウイルス診断

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	○	ポティウイルス科プライマー
	2	<i>Freesia mosaic virus</i> (FreMV)	モザイク症状, 退緑斑紋症状	★	ポティウイルス科プライマー
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	○	ポティウイルス科プライマー
	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	○	ククモウイルス属プライマー
カラー	1	サトイモモザイクウイルス (DaMV)	モザイク症状	○	ポティウイルス科プライマー
	2	コンニャクモザイクウイルス (KoMV)	モザイク症状	◎	ポティウイルス科プライマー
	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	◎	トスポウイルス属プライマー
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**	○	ククモウイルス属プライマー
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	○	ファバウイルス属プライマー
	2	<i>Ranunculus mild mosaic virus</i> (RMMV)	モザイク症状	★	ポティウイルス科プライマー
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	○	ポティウイルス科プライマー

* ★: 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

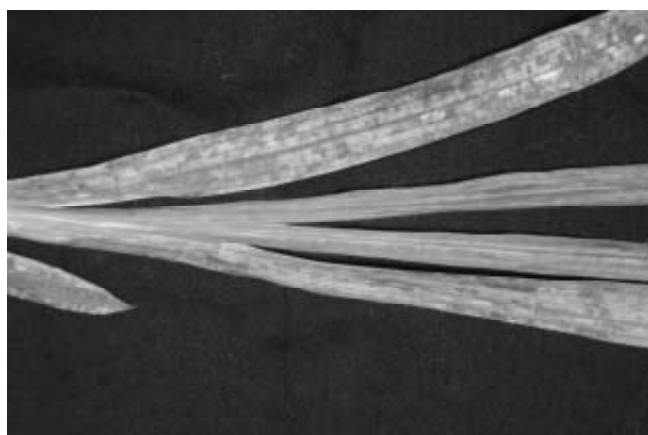


図2 フリージアの FreMV による退緑斑紋



図3 ラナンキュラスの RMMV によるモザイク症状