

[成果情報名] マーガレットに発生する2種のウイルスおよび1種のウイロイドのマルチプレックス RT-PCR による同時検出法の開発

[要 約] マルチプレックス RT-PCR 法により、マーガレットに感染が確認された CVB、TSWV、CSVd のウイルス、ウイロイドを同時に検出する手法を開発した。本法により、これらウイルス、ウイロイドの迅速かつ正確な検定および検出に要するコストの低減が可能である。

[キーワード] マーガレット、ウイルス、ウイロイド、RT-PCR

[担 当] 静岡農林技研・伊豆研セ・生育・加工技術科

[連絡先] 電話 0557-95-2341、電子メール agriizu@pref.shizuoka.lg.jp

[区 分] 関東東海北陸農業・花き

[分 類] 研究・参考

[背景・ねらい]

マーガレットは栄養繁殖性で、挿し芽により増殖を行い生産用の株を得る。増殖用の親株にウイルスやウイロイドが感染することで、生産性や品質の低下を引き起こすことが懸念される。一方、マーガレットにおけるウイルス、ウイロイドの発生状況を調査した事例はなく、また、これらの感染株を効率的に検出する方法もない。そこでマーガレットにおけるウイルスおよびウイロイドの感染状況を調査し、マーガレットに感染が確認されたウイルス、ウイロイドの同時検定法を開発する。

[成果の内容・特徴]

- 1 マーガレットおよび近縁のキク科植物で感染報告のある主要なウイルスおよびウイロイドの感染状況を調査したところ、トマト黄化えそウイルス (tomato spotted wilt virus、TSWV) とキク B ウイルス (chrysanthemum virus B、CVB)、キク矮化ウイロイド (chrysanthemum stunt viroid、CSVd) の感染が確認された (データ略)。
- 2 これら3種のウイルス、ウイロイドを同時に検出するための方法を検討し、表1のプライマーセットを用いたマルチプレックス RT-PCR 法により、CVB、TSWV、CSVdの3種を同時に検出することが可能となった (表1、図1、図2)
- 3 この同時検出法は、既存の方法と同程度以上の検出精度を持っていることが確かめられた (データ略)。本手法は、上記3種のウイルス、ウイロイドを同時に検出することが可能なため、1種ごとに検出を行う必要のある既存の方法と比較し、検出に要するコストと時間の低減が可能で、母株の健全性の迅速かつ正確な検定に有効である。

[成果の活用面・留意点]

- 1 本研究は農研機構生研支援センター「革新的技術開発・緊急展開事業 (うち地域戦略プロジェクト)」の支援を受けて行った。
- 2 本技術ではウイルスおよびウイロイドに感染している株からこれらの病原体を除去することはできない。生産用の親株等の診断に本技術を用い、感染株の除去を行うことで健全な栽培株の確保が可能である。

[具体的データ]

表 1 マルチプレックス RT-PCR に用いたプライマーセット

検出対象	プライマー名	配列 (5' - 3')	増幅サイズ	出典
CVB	CVB-ML-F	AATATGGCTACTTCTGAAG	299 bp	新規プライマー
	CVB-ML-R	GCCGACCAATCAGAAGG		
TSWV	TsCP5'	CTGCTTTAAGCAAGTTCTGC	950 bp	Hayashi et al., 2018
	TsCP3'	AGAGCAATTGTGTCAAATTT		
CSVd	CSVd-F	GGAGTAAGCCCGTGGAACCTTAG	249 bp	Asano et al., 2015
	CSVd-R	TCTCCAGGAGAGGAAGGAAACTA		

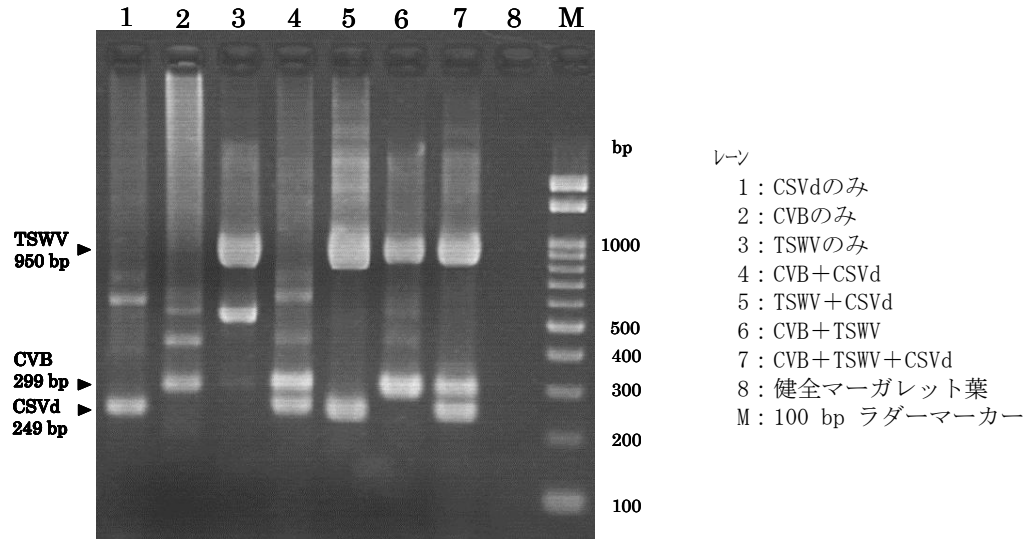


図 1 マーガレットにおけるマルチプレックス RT-PCR による CVB・CSVd・TSWV の検出結果^{1) 2)}

- 1) 各プライマーの増幅サイズ：TSWV 検出用プライマー (TsCP5' /3') 950 bp、CVB 検出プライマー (CVB-ML-F/R) 299 bp、CSVd 検出用プライマー (CSVd-F/R) 249 bp。
- 2) 各ウイルス、ウイロイドに単独感染した株から抽出した RNA 溶液を用いた。2 種または 3 種の同時検出 (レーン 4～7) では、それぞれの RNA 溶液を等量ずつ混合して検出に用いた。

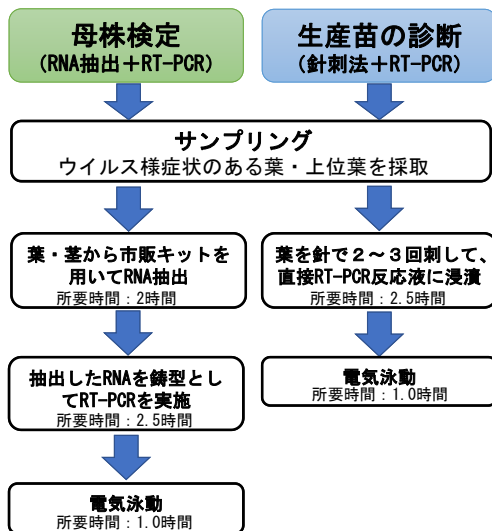


図 2 開発したウイルス、ウイロイドの検出法の流れ

[その他]

研究課題名：マーガレット新品種育成と伊豆特産花きの生育特性の解明

予算区分：県単、国庫

研究期間：2016～2020 年度

研究担当者：勝岡弘幸、加藤智恵美、柳澤広宣（農研機構中央農業研究センター）

発表論文等：勝岡弘幸ら (2019) 関東東山病害虫研究会報第 66 集:46-51