

[成果情報名] RT-PCR 法及びリアルタイム RT-PCR 法によるカンキツウイルスの検出

[要 約] カンキツの代表的なウイルス病の原因ウイルスである SDV (温州萎縮病)、ASGV (接木部異常病) 及び CTV (カンキツステムピッチング病) について、RT-PCR 法による検出方法を確立し、樹内の各部位における SDV のウイルス濃度を明らかにした。

[キーワード] カンキツ、ウイルス病、検出、RT-PCR 法、リアルタイム RT-PCR 法

[担 当] 静岡農林技研・果樹研セ・生産環境 (病害虫)

[連絡先] 電話 0543-34-4854、電子メール kaju-kenkyu@pref.shizuoka.lg.jp

[区 分] 果樹

[分 類] 技術・参考

[背景・ねらい]

カンキツウイルス病の検定には、エライザ法やイムノクロマト法が容易であるが、春の新梢を材料としたときのみ検出が可能である。これに対して RT-PCR 法は手法が複雑で専用の機器を必要とするが、1 年中検出が可能でウイルス防除の研究を進める上では、必須の技術となっている。そこで、RT-PCR 法による代表的なカンキツウイルスを検出する方法を確立する。さらに、RT-PCR 法より短時間で検出できウイルス濃度が測定可能な、リアルタイム RT-PCR 法についても開発する。

[成果の内容・特徴]

- 1 カンキツの代表的なウイルス病の原因ウイルスである温州萎縮ウイルス (SDV: 温州萎縮病)、カンキツタターリーフウイルス (ASGV: 接木部異常病) 及びカンキツトリステザウイルス (CTV: カンキツステムピッチング病) について、RT-PCR 法による検出方法を確立した (図 1)。
- 2 SDV の増殖が抑制され検出が難しい夏期のサンプルでも RT-PCR 法及びリアルタイム RT-PCR 法で検出が可能であった。
- 3 新たに設計したプライマーと TaqMan プローブを用いて、リアルタイム RT-PCR 法による SDV のウイルス濃度の測定法を開発した (表 1)。
- 4 カンキツ樹の様々な部位を材料としてリアルタイム RT-PCR 法を行い、部位別のウイルス濃度を調査したところ、夏期のサンプルにおいて果実の果皮におけるウイルス濃度が高いことが明らかとなった (表 1)。

[成果の活用面・留意点]

- 1 1 種類のカンキツウイルスの検出にかかる消耗品コストと労力を試算すると、1 点あたりに換算して概算で RT-PCR 法が 320 円、48 分、リアルタイム RT-PCR 法が 400 円、36 分である。エライザ法では、材料費が 100 円、48 分、イムノクロマトでは 600 円、3 分であることを考慮して、目的に応じた検出方法を選択することが望ましい。
- 2 SDV に感染した樹の様々な部位からウイルスが検出され、特に果皮のウイルス濃度が高いことから、検出が不安定な夏期の材料として果皮を用いると、検出精度を高めることができると考えられる。

[具体的データ]

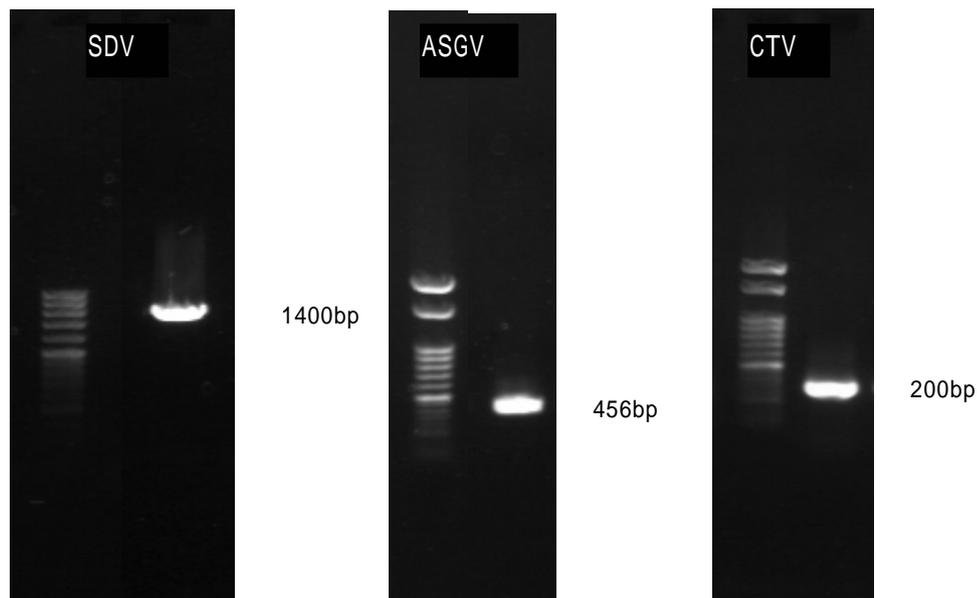


図 1 RT-PCR 法によるカンキツウイルスの検出(増幅産物の泳動画像)
 SDV : 温州萎縮ウイルス、ASGV : カンキツタターリーフウイルス、
 CTV : カンキツトリステザウイルス

表 1 ウンシュウミカンの部位別の SDV 濃度

部 位		供試個体数	陽性個体数	検出率(%)	濃度*
葉	春葉	4	4	100	2,500
果実(果皮)	幼果	4	4	100	25,000
枝(樹皮)	1年生	4	4	100	5,900
	2年生	4	4	100	4,100
根	径4.5~5mm	4	4	100	370
	径2.5~3mm	4	4	100	1,300
	径1.5~2mm	4	3	75	620
	径1mm以下	4	2	50	220

試料採取日：平成 20 年 7 月 11 日

*検出限界を 1 としたときの値

[その他]

研究課題名：温州萎縮病等ウイルス病汚染ほ場の管理技術の確立

予 算 区 分：国庫（農水省）

研究期間：2007～2009 年度

研究担当者：影山智津子、高橋哲也、市川健、岩波徹（果樹研）