

-----  
[ 成果情報名 ] カンキツエクソコーティスウイルス ( C E V d ) 強毒株を識別する特異プライマーの開発と弱毒候補株の干渉効果

[ 要約 ] 開発した特異プライマーは、カンキツエクソコーティスウイルスの強毒ウイルス株と4種の弱毒ウイルス候補株とを識別できる。強毒ウイルス株に対する4種の弱毒ウイルス候補株の干渉効果は、1系統で強く、また、他の1系統で弱く発現する。

[ キーワード ] カンキツエクソコーティスウイルス、特異プライマー、弱毒、干渉効果

[ 担当部署 ] 果樹苗木分場・果樹苗木チ - ム

[ 連絡先 ] 0943-72-2243

[ 対象作物 ] 果樹

[ 専門項目 ] 病害虫

[ 成果分類 ] 生理生態

-----

[ 背景・ねらい ]

カンキツエクソコーティスウイルス ( C E V d ) は、カンキツの台木であるカラタチに甚大な被害を及ぼすことが知られている。

そこで、C E V d の変異株の干渉効果の有無を確認し、弱毒ウイルスとしての利用を図るため、C E V d 変異株の弱毒及び強毒系統を識別する特異プライマーとそれを利用した R T - P C R 技術を確立し、C E V d 強毒系統に対する弱毒系統の干渉効果を調査する。

[ 成果の内容・特徴 ]

1 . 5 系統の C E V d シークエンスから特異プライマーを作成し、ウイルス保毒カンキツから核酸抽出液を利用して R T - P C R を試みたところ、強毒系統 A D K E B 1 D 1 のみが検出される ( 図 1 ) 。

2 . 特異プライマーは、強毒系統 A D K E B 1 D 1 の 3 0 7 塩基を増幅するように設計されており、その部分をシークエンスしたところ、予定された配列と完全に一致する。

3 . 強毒株の単独接種では 3.5 ヶ月後に全ての区の全個体で感染が確認されたのに対し、2 種の弱毒株切り付け接種区では強毒株が全ての個体から検出されず、干渉効果が働いたと考えられる ( 表 1 ) 。

[ 成果の活用面・留意点 ]

1 . カンキツ樹のエクソコーティスウイルス感染による被害拡大防止のための弱毒ウイルスの研究素材として利用出来る。

2 . 本研究は、カンキツエクソコーティスウイルスの指標カンキツ品種であるエトログシトロンでの結果であり、カンキツ台木であるカラタチでの追試が必要となる。

[ 具体的データ ]

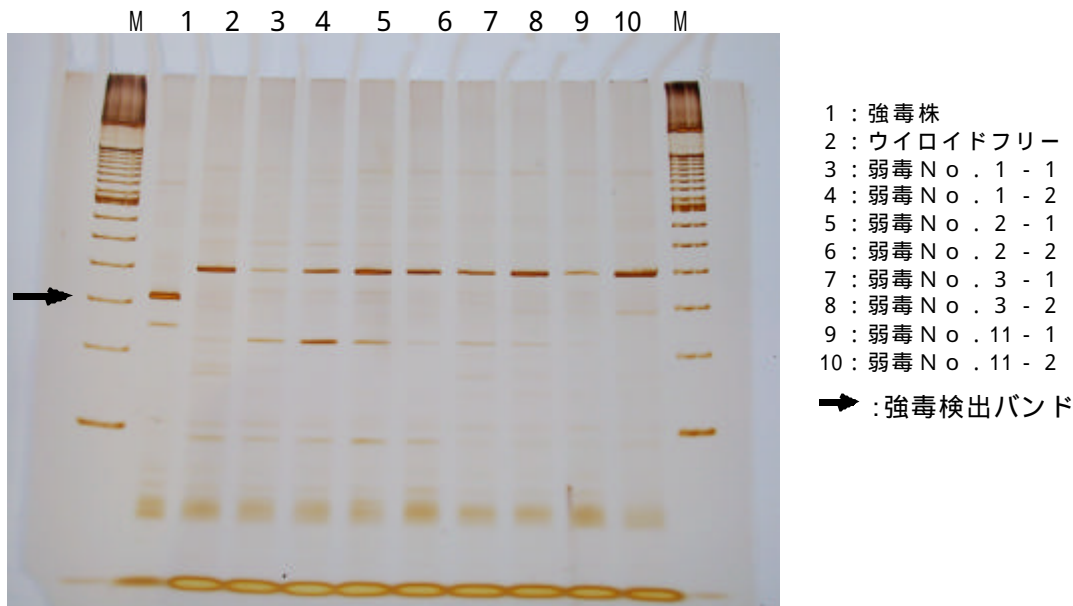


図1 特異プライマーを利用した強毒株の検出

注) 1. 1レーン約310bpが特異的バンド  
 2. M:100bpラダー、染色法：銀染色  
 3. ウイロイド変異株の提供元：(独法)果樹研カンキツ部

表1 弱毒CEVdの干渉効果

	1.5月後	2.5月後	3.5月後
強毒-3回切り付け	2 <sup>a</sup> / 6 <sup>b</sup>	3 / 6	6 / 6
強毒-5回切り付け	2 / 6	5 / 6	6 / 6
強毒-接木	1 / 6	6 / 6	6 / 6
No.1-3回切り付け	0 / 6	0 / 6	0 / 6
No.1-5回切り付け	0 / 6	0 / 6	0 / 6
No.1-接木	0 / 6	0 / 6	2(1) / 6
No.2-3回切り付け	0 / 6	0 / 6	0 / 6
No.2-5回切り付け	0 / 6	0 / 6	0 / 6
No.2-接木	0 / 6	0 / 6	0 / 6
No.3-3回切り付け	0 / 6	0 / 6	3(1) / 6
No.3-5回切り付け	0 / 6	1(1) / 6	3 / 6
No.3-接木	0 / 6	0 / 6	1(1) / 6
No.11-3回切り付け	1(1) / 6	1 / 6	2 / 6
No.11-5回切り付け	2(2) / 6	2 / 6	4 / 6
No.11-接木	0 / 6	1(1) / 6	3(2) / 6

注) 1. No. 1, 2, 3, 11 : 弱毒CEVd  
 2. a/b : 強毒検出株数 / 供試株数  
 3. ( ) : 内、検出程度が小さい  
 4. 弱毒CEVdの接種時期：5月18日  
 5. 強毒CEVdの接種時期：8月19日  
 6. 接種方法：弱毒CEVd・・・接ぎ木接種

[ その他 ]

研究課題名：弱毒ウイロイド利用技術の確立  
 予算区分：国庫助成(先端技術)  
 研究期間：平成15年度(平成14～15年)  
 研究担当者：草野成夫・井樋昭宏