

トピックス

第14回国際ブドウウイルス病研究集会 (14th ICVG) 報告

果樹研究所ブドウ・カキ研究部 ^{なか}中 ^{うね} 敏 ^{りょう} 良 ^じ 二

2003年9月12～17日に、イタリア共和国のプーリア州ロコトンドで開催された第14回国際ブドウウイルス病研究集会に参加した(図-1)。20数か国(ヨーロッパ諸国, アメリカ, カナダ, アルゼンチン, チリ, オーストラリア, ニュージーランド, 南アフリカなど)から約200名が参加して開催された。①新ウイルス/新データ, ②リーフロール, ③ファイトプラズマ, ④ルゴースウッド, ⑤新病害, ⑥診断法, ⑦疫学, ⑧ウイルス病抵抗性育種, ⑨無毒化处理, ⑩検定制度の各テーマについて半日ずつセッションが組まれた。それぞれの研究成果が口頭(69題)およびポスター(77題)により発表されるとともに、活発な討議が行われた。すべてを紹介することはできないので、話題に挙がったトピックスの中からかいつまんで紹介させていただく。

I リーフロール, ルゴースウッドおよび関連ウイルス

リーフロールはブドウのウイルス病の中で主要なものの一つであり、研究例も多い。これまで、リーフロールの病原として *Grapevine leafroll-associated virus* (GLRaV-1) 1～8が知られ、クロステロウイルス科クロステロウイルス属に分類されていた。しかし、ゲノム構造等から分類が見直され、GLRaV-1, -3, -4 および-5はクロステロウイルス科アンペロウイルス属に分類された(GLRaV-6～8は未分類)。また、今回のICVGでは、GLRaVの新ウイルスとして、GLRaV-9の特性に関して数題の話題が提供された。GLRaV-9のゲノム中における複製関連タンパク質や構造タンパク質遺伝子の配置はGLRaV-3と類似し、HSP70や外被タンパク質遺伝子の塩基配列はGLRaV-5と最も近い。これらのことから、現在のところ、GLRaV-9はアンペロウイルス属に分類されるということである。また、*Grapevine*

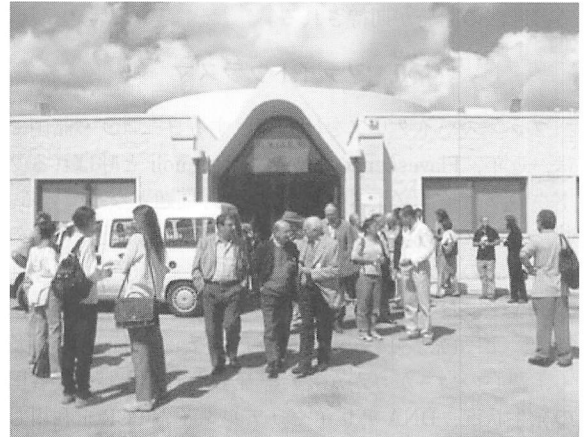


図-1 第14回国際ブドウウイルス病研究集会会場

rootstock stem lesion-associated virus (GRSLaV) が新ウイルスとして紹介された。このウイルスは、接ぎ木不親和の原因と考えられ、葉巻、葉の早期黄変(白色品種)や赤変(赤色品種)・接ぎ木部の肥大・生育不良・2～3年での樹勢衰退・枯死などの症状を引き起こすと考えられている。その塩基配列はGLRaV-2と約80%の相同性を示し、GLRaV-2の抗血清とも反応するので、GLRaV-2の系統あるいは近いグループのウイルスであると考えられた。

疫学的には、GLRaV-5とGLRaV-9がナガオコナカイガラムシによって伝搬されることが実験的に確認されたことに加え、オーストラリアでは、実際の圃場でGLRaV-9の感染が拡大しているという報告がされた。また、スペインでは1991年に感染率が35%であったブドウ畑で、その後の5～6年で感染が拡大し、感染率がほぼ100%になったことが確認されている。同時に、媒介昆虫であるコナカイガラムシ類の増加も確認されていることから、IPMの推進による殺虫剤使用量の制限との関連が指摘された。

ルゴースウッド関連の発表では、*Grapevine rupestris stem pitting-associated virus* (GRSPaV)の遺伝的変異に関する話題が多く目についた。確認されている範囲で、

Report on the 14th Meeting of the International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine. By Ryoji NAKAUNE

(キーワード:ブドウ, ウイルス, ICVG)

4 グループに分けられるようである。最近、日本でも多く検出されるようになったこのウイルスは、世界的にも保毒率が高く、コーキークワックやピッチングといった症状に深く関係していると考えられている。さらに、大腸菌に発現させた GRSPaV の外被タンパク質に対して、ポロクローナル抗体を作製し、GRSPaV 粒子の確認に成功したことが発表された。しかし、今のところ、この抗体を用いたエライザによる診断は難しいようである。今後、このウイルスに関する研究が加速し、エライザによる診断法の開発が期待される。

II ファイトプラズマ

フランスやイタリアをはじめとするヨーロッパ諸国では、近年、Flavescence dorée や Bois noir と呼ばれるブドウのファイトプラズマ病が拡大し、問題となっている。特に、イタリアやフランスでは、防除の義務化や母樹の隔離保護の甲斐なく、ここ数年の間にまん延した。今回の ICVG においては、ファイトプラズマに関する発表が 38 題 (口頭発表 14 題、ポスター発表 24 題) と最も多く、関心の高さがうかがえた。発表された内容は、各国の発生状況、DNA アレイやリアルタイム PCR を利用した検出・診断法、RFLP による系統解析、ゲノム解析、ベクターの飛散状況、温水処理による無毒化法等、多岐にわたった。日本では、ブドウのファイトプラズマ病は今のところ顕在化していないが、今後注意すべきブドウの重要病害の一つと感じた。感染の拡大を防ぐためには、国際的に共通した診断法や検定制度を確立する必要があるとのことだったが、これはウイルス病にもいえることだろう。

III 診 断 法

診断法に関するセッションでは、モノクローナル抗体の作製や DNA アレイに関する話題も発表されたが、ここでは、ディジェネレートプライマーを使った RT-PCR による検出法について紹介したい。この方法の秀逸なところは、ルゴースウッドとリーフロールに関連するウイルスをそれぞれまとめて検出できる点にある。ピティウイルス属とフォベアウイルス属の RdRp (複製酵素) およびクロスステロウイルス属とアンペロウイルス属の HSP70 (ヒートショックプロテイン) のアミノ酸配列において、保存性の高い配列に対するディジェネレートプライマーをそれぞれ設計している。nested RT-

PCR を行うことにより、ルゴースウッドおよびリーフロールとの関連が示唆されるウイルスをそれぞれ同時に検出することが可能である。これまでも、ディジェネレートプライマーを使った検出法についてはいくつか報告されているが、この方法ではディジェネレートプライマーに工夫がされている。詳しくは、関連の論文 (Dovas and Katis, 2003. J. Virol. Meth. 109: 217 ~ 226.) を参照していただきたい。現在、私もこの方法を利用しており、ルゴースウッド関連ウイルスの検出において、非常によい結果が得られている。

その他、TaqMan プローブを使用したリアルタイム PCR の有用性について発表があった。この方法の利点は、高感度で定量的にウイルスを検出できることに加え、PCR 後の電気泳動による確認が不要で、自動的に解析できることである。GLRaV-1 ~ 3 および *Grapevine fanleaf virus* (GFLV) の検出に利用し、よい結果が得られているとのことであった。増幅産物の大きさは小さくてもよく、プライマーとプローブの距離が 20 ~ 30 bp ほどあれば十分よい結果が得られるとのことであった。専用機械が少々高額であるが、検出・診断だけでなく、ウイルスの植物体内での動態や伝染過程の研究にとって強力なツールとなると考えられる。

IV ウイルス病抵抗性育種

ブドウでは、ウイルス抵抗性遺伝子の存在自体明らかでなく、交雑育種による抵抗性品種の育成は難しいとされている。前回の ICVG (Adelaide, 2000) で、GFLV の外被タンパク質遺伝子を組み込んだブドウ (台木品種) が GFLV に対して高い抵抗性を示すことが報告された。今回のミーティングでは、ジーンサイレンシングを利用したウイルス病抵抗性ブドウの作出に関する研究成果が数題報告された。GFLV に対する抵抗性の付与を目的とするものが中心であったが、GLRaV-2, GLRaV-3, *Grapevine virus A*, *Grapevine virus B*, および GRSPaV に対しても研究が進められている。いずれも、ベクターの構築から形質転換体の選抜までの話にとどまっており、抵抗性評価についてはこれから行われるとのことである。すでに実用化されている他の遺伝子組換え作物と同様に、環境や健康への影響評価等、解決しなければならぬ課題が多く残されているものの、ブドウの持続的生産に向けた取り組みが着実に進んでいることを感じさせられた。