

新技術 解説

日本で発生するトスポウイルスを 網羅的に検出できるユニバーサルプライマー

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 おく だ みつる
中央農業研究センター病害研究領域 奥 田 充

はじめに

トスポウイルスは、トマト黄化えそウイルス (*Tomato spotted wilt virus*: TSWV) をタイプ種とするアザミウマ目昆虫により媒介されるブニヤウイルス科トスポウイルス属のウイルスの総称である (国際ウイルス分類委員会 (ICTV) による最新の分類では、トスポウイルス科オルソトスポウイルス属と記載されているが、ここでは日本植物病理学会植物ウイルス分類委員会の記載に従った)。これまでに数多くの種および系統が報告され、これらは世界各地の様々な作物に被害を与えている。日本においても、8種が報告され、施設栽培の野菜・花き作物を中心に発生が見られている (奥田, 2016)。近年、reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) や reverse transcriptase loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) 等の遺伝子増幅法を利用した植物ウイルスの検出・同定が広く使われている。RT-PCRはウイルスの塩基配列情報をもとに設計したプライマーを用いることで検出対象とするウイルス種のみを検出することができる一方、近縁な複数ウイルス種に保存されている塩基配列またはアミノ酸配列から推定される塩基配列をもとに設計したプライマー (ユニバーサルプライマー) を用いることで、単一のプライマー対で複数のウイルス種を検出することも可能となる。本稿では、トスポウイルス種を広く検出するユニバーサルプライマーを用いた国内発生種の網羅的検出法について紹介する。

I トスポウイルスの発生の現状

日本では、TSWVのほか、スイカ灰白色斑紋ウイルス (WSMoV)、メロン黄化えそウイルス (MYSV)、インパチエンスえそ斑点ウイルス (INSV)、アイリス黄斑ウイルス (IYSV)、トウガラシ退緑ウイルス (CaCV)、キク茎えそウイルス (CSNV)、トルコギキョウえそ輪紋ウ

イルス (LNRV) の8種のトスポウイルスが確認されており、施設栽培の野菜・花き作物を中心に発生が報告されている (表-1)。植物防疫法に基づき都道府県の病害虫防除所が発信する病害虫発生予察特殊報では、トスポウイルスの発生報告が続いていることから、発生地域や宿主の拡大が示唆される (図-1)。

II 技術開発の目的

2016年9~10月、神奈川県東部の抑制栽培キュウリに葉の萎縮、モザイク、黄化えその症状や果実の奇形を呈する株が見られた。RT-PCRによる検定の結果、WSMoVの感染が確認された。WSMoVは、沖縄県ではスイカやキュウリ等のウリ科作物に発生しているが、沖縄県以外でのWSMoVの発生は、1990年に鹿児島県奄美大島でトウガンに感染が確認されて以来である。その後、2017年6月には、福岡県でニガウリにWSMoVの感染が確認されており、本ウイルスの発生拡大が危惧される。また、静岡県において、2018年2月に葉にえそ輪紋、退緑、えそ斑点症状、花茎にえそ条斑を呈するガーベラが発見され、CSNVの感染が確認された。2007年以降のトスポウイルスの発生に関する特殊報では、CSNVに関するものが半数近くを占めており、今後とも注意が必要と思われる (図-1)。

このように、トスポウイルスはそれ自体防除が難しいアザミウマによって媒介されることと、宿主範囲が広いことから、発生地域の拡大とともに多様な作物に感染が報告されている。病害診断の現場では、未確認の病害が発生し、ウイルスの感染が疑われる場合、想定されるいくつかのウイルスに対しそれぞれ特異的なプライマーを用いたRT-PCRを行うことが通例と思われる。しかし、この方法では想定しなかったウイルス種の感染は調べることができない。なかでも、TSWVとCSNVあるいはMYSVとWSMoVは病徴が酷似しており、病徴のみで両者を識別することは困難である (図-2, 図-3)。診断の遅れは、対策の遅れにつながり被害が拡大することが危惧される。このため、複数のトスポウイルスを網羅的に検出可能なプライマーすなわちユニバーサルプライマ

The Universal Primers Available for Detecting All Species in the *Tospovirus* Genus Occurring in Japan. By Mitsuru OKUDA

(キーワード: ユニバーサルプライマー, 遺伝子診断, トスポウイルス)