

イチゴ基核苗の主要4種ウイルスの遺伝子診断法

農業・園芸総合研究所

1 取り上げた理由

宮城県から（社）みやぎ原種苗センターに配付するイチゴ基核苗*は、ウイルス病検定、炭そ病検定及びDNA品種鑑定を実施し、品種の取り違えのない無病苗を供給している。現在、イチゴ基核苗のウイルス病検定は、3種の指標イチゴに検定対象株の小葉を接ぎ木する生物検定法で実施している。しかし、指標イチゴは栄養繁殖であり、親株の維持及び検定用子苗の増殖に労力と施設を必要とする。また、接ぎ木作業も熟練が必要で、接ぎ木後の結果の判定にも1～2ヶ月を要する。

そこで、試料調整を簡略化した遺伝子診断技術を開発し、煩雑なウイルス病検定を大幅に効率化することが可能になったので参考資料とする。

2 参考資料

- 1) イチゴ主要ウイルス4種（SCV：イチゴクリンクルウイルス，SMoV：イチゴモットルウイルス，SMYEV：イチゴマイルドイエローエッジウイルス，SVBV：イチゴベインバンディングウイルス）の感染の有無を検定できる。
- 2) 検体は葉を用い、診断作業は遺伝子抽出、遺伝子増幅（RT-PCR）、検出（アガロースゲル電気泳動とゲル染色）から成る（図1）。

3 利活用の留意点

- 1) 本技術は、これまでの接ぎ木法の代替として、イチゴ基核苗のウイルス病検定に用いる。例年、20株の配付に対して60株の基核苗を育成し、ウイルス病検定を行う。この場合、所要時間は合計約6時間であり、即日で判定が可能である。
- 2) 遺伝子抽出液（葉粗汁液）は、凍結状態（-20℃）で1年以上保存できる。
- 3) 本技術に必須の機器は、サーマルサイクラー（遺伝子増幅装置、約70万円）、アガロースゲル電気泳動装置（約4万円）、小型微量遠心機（約3万円）、紫外線照射装置（約13万円）であり、これらの機器はDNA品種識別を含めた多くの遺伝子診断技術に活用できる。
- 4) 1反応当たりの消耗品経費は約350円（ほとんどがRT-PCR試薬キットの費用）である。

*基核苗：イチゴ品種の育成地から導入した株を母株として、農業・園芸総合研究所内の隔離した温室で増殖した無病苗が基核苗である。基核苗は、本県のイチゴ苗増殖供給体制上の独自の呼称である。基核苗の配付を受けた（社）みやぎ原種苗センターは、基核苗を親株として順次増殖を行い、原原苗、原苗を生産し、イチゴ生産者には、原苗から増殖した親株を毎年約30万本供給している。イチゴ生産者は、親株苗から定植苗を増殖し、ハウスに定植して栽培することになる。

4 背景となった主要な試験研究

1) 研究課題名及び研究期間

優良種苗供給事業 2) イチゴウイルス病の遺伝子診断 平成19年度

2) 参考データ

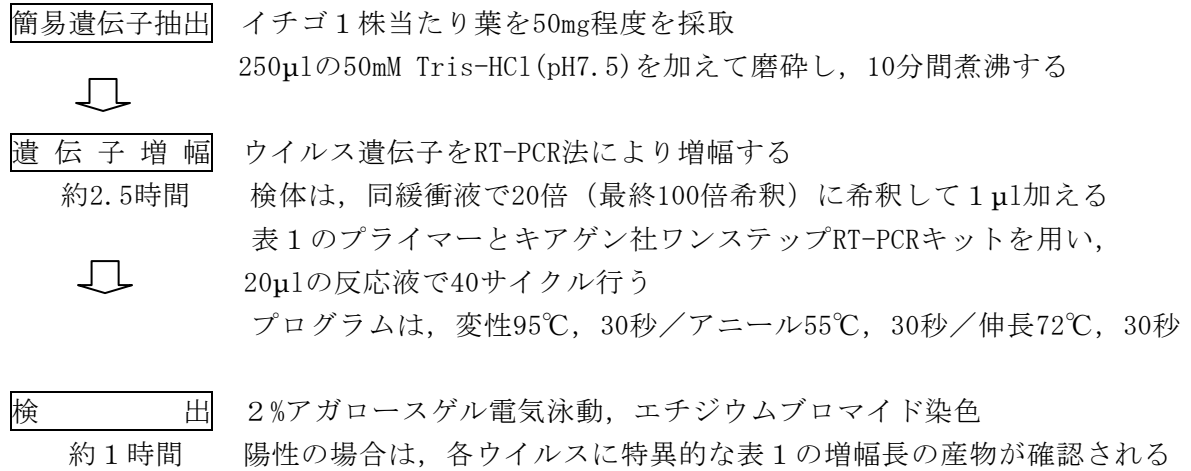


図1 検定作業の流れ

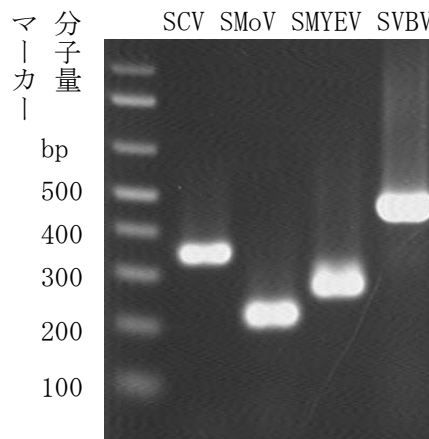


図2 遺伝子増幅産物のアガロースゲル電気泳動パターン

表1 4種ウイルスを検出するプライマーの配列と増幅長

ウイルス名	5' プライマー	3' プライマー	増幅長
SCV	deta: cattggtggcagacctca:	detb: ttcagacctatttgatgaca	345bp
SMoV	deta: taagcgaccacgactgtgacaaag	detb: tcttgggcttgatcgtcacctg	219bp
SMYEV	deta: gtgtgctcaatccagccag	detb: catggcactcattggagctggg	271bp
SVBV	2255F2: ccgaagacaactcattgaagaatggg	2700R: cgagtacttccatccaacaaaggg	446bp

*SCV, SMoV, SMYEVのプライマー配列はThompsonら(2003)による

3) 発表論文等

なし