通し番号	４６２４

分類番号	24-15-13-01

ムギ類に感染するウイルスの発生状況とマルチプレックス PCR による検出

［要約］ 県内において作付けられているコムギで株が著しく萎縮し黄化するなどの症状が認められ、ウイルスによる被害の拡大が懸念されている。その発生状況を明らかにするために、ムギ類萎縮病（SbWMV）及びコムギ縞萎縮病（WYMV）のマルチプレックス PCR による検定を行ったところ県内全域で SbWMV が確認された。

神奈川県農業技術センター・生産環境部　　連絡先　0463-58-0333

［背景・ねらい］

本県で栽培されているコムギで株が著しく萎縮し黄化するなどの症状が認められた（図１）。ムギ類萎縮病（SbWMV）またはコムギ縞萎縮病（WYMV）の発生が疑われたため、これまでにエライザ及び RT-PCR によるウイルス検定で SbWMV の感染を確認した。そこで、県内小麦生産地域における SbWMV 及び WYMV の発生状況を明らかにするとともに、マルチプレックス PCR による検出の可能性について検討する。

［成果の内容・特徴］

１　本法により SbWMV 及び WYMV を同時に検出することができる（図２）。

２　これまでに県内のコムギで発生を確認したウイルスは、SbWMV である（表１）。

３　コムギ葉はセパゾール（ﾅｶﾗｲﾃｸｽ社）等のRNA抽出緩衝液で磨砕し、フェノール/クロロホルム抽出により全RNAを抽出・精製する。

４　抽出した RNA の一部に、ランダムヘキサマーを加え、PrimeScript® RT-PCR Kit（TAK ARA 社）で cDNA を合成する。cDNA に DNA ポリメラーゼと WYMV 及び SbWMV 特異的プライマー（表２）を加え、94℃を30秒、65℃を30秒、72℃を60秒としたサイクルを35サイクル行う。

５　PCR 反応液は1.0%アガロースゲルで30分電気泳動を行い、増幅産物の有無とサイズによって感染ウイルスを同定する（図２）。

［成果の活用面・留意点］

１　マルチプレックス PCR により国内で発生している主要な WYMV 及び SbWMV の検定が可能である。

２　本病は土壌伝染性の病害であり，機械等による汚染土壌の持ち込みにより発生が拡大していると考えられる。

３　今回用いたプライマーでは検出できないウイルス系統が存在する可能性があるため、萎縮症状の発生と拡大について注意が必要である。

［具体的データ］

図１　激しい萎縮症状が見られたほ場及びコムギ

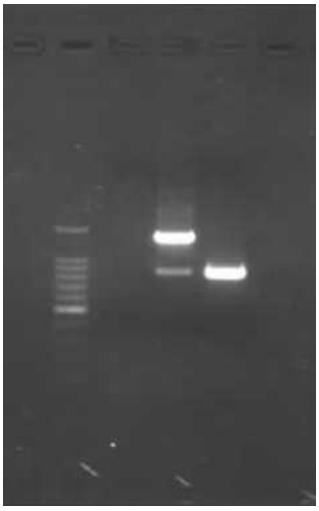

図２　マルチプレックス RT-PCR 法による SbWMV 及び WYMV の診断
M：100bp ladder マーカー、1：健全葉、2：SbWMV 及び WYMV 感染葉、3：SbWMV 感染葉、1.0%アガロースゲル、30 分間電気泳動

表１　コムギにおいてウイルスが確認された市町村

年度	SbWMV	WYMV
2011	秦野市・平塚市・伊勢原市	－
2012	秦野市・相模原市	－

萎縮症状が見られたコムギをサンプリングしRT-PCR による検定を行った。
2011 年についてはエライザ法による検定を併せて行った。

表２　プライマーの塩基配列

検出ウイルス名	プライマー名	配列	増幅サイズ
SbWMV	SbT2-F	5'-TCTTCTTGTGAAATTACCTTTCTTACC-3'	831bp
	SbT2-R	5'-TCCCGTCAACTTGTACCTTCCCACTT-3'	
WYMV	WYMV (RNA2)-F	5'-GACCAAAGCTATCACAAACC-3'	1328bp
	WYMV (RNA2)-R	5'-CCTCGAAGATGTTTCGTGTG-3'	

［ 資 料 名 ］　平成23～24年度試験研究成績書（作物）
［研究課題名］　麦類奨励品種決定調査試験
［ 研 究 期 間 ］　平成23～24年度
［研究者担当名］　久保深雪・三好理