

植物に感染するウイルスを探そう

生物資源科学部 生物生産科学科

2年 奥山 璃音

2年 佐々木 寧音

指導教員 生物資源科学部 生物生産科学科

助教 今 辰哉

2023年和歌山県のサンショウ栽培地域付近でウイルスの感染によって考えられる植物を採取した。ウイルス症状はモザイク様であり、感染が疑われた植物を電子顕微鏡下で観察すると球状の粒子が観察された(図1)。ウイルスの感染が認められたため、感染植物を検定植物であるキノアとベンサミアナタバコに接種したところ、病徴が現れた(図2, 図3)。

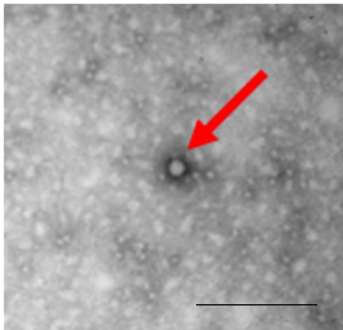


図1. 電子顕微鏡によるウイルス球状粒子の形態観察。スケールバーは200 nmを示す。



図2. ウイルスを接種したキノアにおける病徴。
ウイルス接種区(左), 非接種区(右)。



図3. ウイルスを接種したベンサミアナタバコの病徴。非接種区(左), ウイルス接種区(右)。病徴の拡大写真

ベンサミアナタバコを用いた接種試験を3回以上繰り返すことにより、ウイルス感染葉を回収した。ウイルス感染葉から二本鎖RNAを抽出し、電気泳動を行ったところ、約6Kと3Kの2本の断片が得られた。この二本鎖RNAをTransPlex Complete Whole Transcriptom Amplificationキットを用いてウイルスcDNAを合成した。合成したcDNAの断片をpCR4-TOPOを用いてクローニングした。得られたクローンを500塩基以上のグループに分けし、シーケンス解析を行った。シーケンス解析の結果を表1に示した。

表1. ウイルスクローンと相同性検索

クローン	ホモロジー(%)	植物・ウイルス
3	100	Lycium barbarum 18S ribosomal RNA (LOC132625774), rRNA
4	85	Broad bean wilt virus 2 isolate BB5, RNA1 nt. 3285-3710
7	83	Broad bean wilt virus 2 isolate GS-PF, RNA1 nt. 583-887
8	99	Lycium barbarum 18S ribosomal RNA (LOC132625774), rRNA
9	100	Lycium ferocissimum chloroplast
11	84	Broad bean wilt virus 2 isolate P01, RNA1 nt. 2495-3512
15	100	Nicotiana tabacum apxC_T2_120719 chloroplast DNA
16	89	Nicotiana attenuata serine protease inhibitor 1-like (LOC109214068), mRNA
21	100	Nicotiana tabacum apxC_T2_120719 chloroplast DNA
22	100	Nicotiana benthamiana external transcribed spacer, 18S ribosomal RNA
23	85	Broad bean wilt virus 2 isolate GS-PF, RNA2 nt. 3571-3267
26	93	Nicotiana rustica chloroplast
31	99	Nicotiana tabacum apxC_T2_120719 chloroplast DNA
34	100	Solanum annuum voucher CORD:Barboza 3017 chloroplast
37	86	Broad bean wilt virus 2 isolate DSMZ PV-0550, RNA 1 nt. 2245-2017
39	84	Broad bean wilt virus 2 isolate LN, RNA1 nt. 1730-2214
40	85	Broad bean wilt virus 2 isolate DSMZ PV-0550, RNA 1 nt. 5051-5503
42	81	Broad bean wilt virus 2 isolate DSMZ PV-0550, RNA 2 nt. 1916-2267
45	100	Nicotiana tabacum apxC_T2_120719 chloroplast
46	85	Broad bean wilt virus 2 isolate DSMZ PV-0550, RNA 1 nt. 5503-5041
47	83	Broad bean wilt virus 2 isolate P01, RNA1 nt. 2495-3450

得られた塩基配列をBLAST解析したところ、ソラマメウルトウイルス 2 (BBWV2) と約80-85%の相同性を示した。ソラマメウルトウイルス (BBWV) はアブラムシによって媒介されるウイルスで、球状の粒子形態をとる。BBWVは広い宿主範囲をもつウイルスであり、全国各地で発生が認められ、主に野菜や花などで問題となっている。日本においては1960年代に初発生があり、特に近年ではハウレンソウ、ソラマメ、リンドウなどで多発生し、ナスやピーマンでも収量の減少が確認されている。一方で、今回ウイルスが感染した植物のRNA情報を調べたところ、ナス科のクコと相同性が一致した。クコからBBWVが発見された例はないが、アブラムシで媒介されることを考慮した場合、注意を要するだろう。