

# 日本への侵入が警戒される重要病害トウモロコシ 萎凋細菌病の検出・診断方法の開発

SATテクノロジー・ショーケース2015

## ■ はじめに

植物の病気に対しても、ヒトと同様に検疫制度があることはご存知でしょうか？農林水産省の植物防疫所では、日本の植物に被害をもたらす海外からの病害虫の侵入を未然に防ぐため、全国の海港や空港で輸入検疫が行われています。また、重要病害虫の国内でのまん延を防ぐための国内検疫などの業務が行われています。

トウモロコシ萎凋細菌病(学名:*Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*)は、国内未発生 of 病害ですが、海外では大変大きな被害を及ぼしています。この病気が日本に侵入した場合、甚大な被害が発生するおそれがあることから、特に侵入が警戒されています。このような国内未発生病害の侵入・まん延を防ぐためには、事前に対応策を準備することが効果的です。

本研究では、トウモロコシ萎凋細菌病が発生した際に迅速な対応ができるように「検出診断マニュアル作成」を行っています。その中で「病徴を示す植物からのスクリーニング手法」として「LAMP法による検出法」を開発しました。

## ■ 活動内容

### 1. LAMP法による検出

LAMP法は、遺伝子検査法のひとつです。遺伝子検査に最も良く利用されているPCR法と比べて反応時間が短いことや等温で反応がすすむため高価な機械設備が必要ない等の利点があります。そこで、トウモロコシ萎凋細菌病菌の*cpsD*遺伝子および*pstS-glmS*スペーサー領域の塩基配列を解析し、当該細菌を検出するためのLAMP法のプライマーセット(PsCps1、PsPst1)を設計しました。設計したLAMPプライマーによるLAMP反応では、当該細菌を特異的に検出することができました。検出限界は、約 $10^4$ cfu/mlでした。

### 2. 罹病葉からの検出

LAMP法のもうひとつの長所として、植物の組織成分による反応阻害が起こりにくいことが上げられます。上記のプライマーを使用したLAMP法では、トウモロコシ葉の成分により反応が阻害されないことが確認できました。また、接種により発病させたトウモロコシ葉から当該細菌を直接検出することが可能でした。

### 3. 植物体の調整方法および検出方法の比較・検討

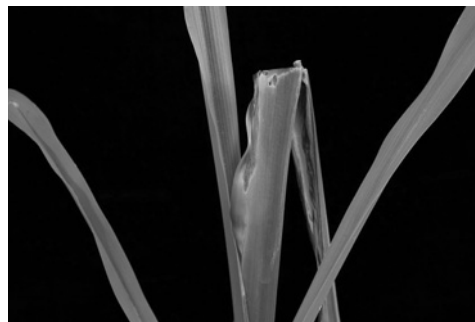
罹病トウモロコシ葉からトウモロコシ萎凋細菌病を直接検出するのに適した植物体の調整と検出方法の組み合わせを検討しました。

植物体の調整方法として、「ペッスルによる磨砕」、「マルチビーズショッカーによる磨砕」、「細断浸漬」を検討しました。検出方法として、「PCR」、「LAMP」、「抗原抗体反応(ELISA)」を検討しました。

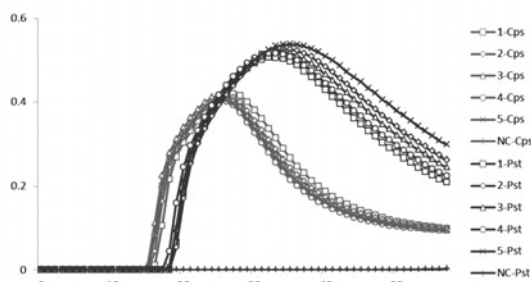
調査の結果、植物体の調整は、「細断浸漬」または、「マルチビーズショッカーによる磨砕」、検出方法を「LAMP法」とすると効率的に検出が可能であることが分かりました。

## ■ 関連情報等(特許関係、施設)

特になし



トウモロコシ萎凋細菌病の病徴(接種)



LAMP反応に伴う反応液の白濁をリアルタイムに測定  
(縦軸:濁度、横軸:時間(分))

代表発表者 上松 寛 (うえまつ ひろし)  
所 属 (独)農研機構  
中央農業総合研究センター病害虫研究領域  
問合せ先 〒305-8666 茨城県つくば市観音台 3-1-1  
TEL:029-838-8931 FAX:029-838-7845  
uematsuh@affrc.go.jp

■キーワード: (1)トウモロコシ萎凋細菌病  
(2)LAMP法  
(3)検出・診断