

カンキツグリーニング病を 世界一高感度に検出できる方法

SATテクノロジー・ショーケース2020

■ はじめに

カンキツグリーニング病は、世界中のカンキツ産業を脅かしています。この病気に罹ったカンキツは、果実の量も少なく、大きさや形もいびつなものとなり、味も悪くなるので、収穫量も品質も悪化の一途をたどります。さらに恐ろしいことには、病気になると、樹は確実に枯死していきませんが、枯死するまでの間に、病原菌は媒介虫によって次々と健全な樹に伝播するため、病気の樹はどんどん増えることとなります。現状では、有効な農薬や治療法はないため、カンキツグリーニング病に感染しているカンキツ樹を見つけ次第、伐採する以外に感染拡大を防ぐ方法はありません。

日本国内では、沖縄県や鹿児島県奄美群島の一部離島で感染樹が見つかっています。これまでに国や県、市町村や地域が一丸となって病気の根絶に取り組んでおり、離島や特定の地域では根絶やフリー化に成功した事例も増えており、これらは世界に誇る日本のカンキツグリーニング対策です。

私たちカンキツグリーニング病の研究に取り組むグループでは、感染樹をできるだけ早く、そして正確に発見できるような検出技術の開発に取り組んでいます。今回、私たちはカンキツグリーニング病の病原菌を培養し、高精度な遺伝子検査法を行うことによって、世界で最も高感度にカンキツグリーニング病感染樹を発見できるような技術を開発しました。

■ 活動内容

1. 難培養性細菌の培養

カンキツグリーニング病の病原菌である *Liberibacter asiaticus* は難培養性細菌として知られており、病原菌の人工培養は成功していませんでした。私たちは、本病原菌のゲノム情報を元に代謝経路について検討を重ねた結果、培養に必須の栄養素(アミノ酸や補酵素等)を見出すことができました。私たちが新規に開発した培地を用いることで、本病原菌を安定して培養することに成功しました。培養によって本病原菌を増菌できるため、本病原菌が低密度で感染しているカンキツ樹であっても検査感度を向上させることができます。

2. 高精度遺伝子検査法

私たちのグループでは、これまでに遺伝子検査法を用いたカンキツグリーニング病感染樹の検出について多くの技術開発を行い、知見を蓄積してきました。カンキツグリーニング病の感染が疑わしいカンキツ樹に対して高感度・高精度に検査が実施できるような手法について検討を行いました。その結果、(1)カンキツ樹から本病原菌を含む粗汁液の抽出方法、(2)人工培養によって増菌した本病原菌から効率よくDNAを抽出する方法、(3)高精度な検出を可能とするPCR法、について開発することに成功しました。特に、本研究で開発された遺伝子検査法は、世界中で知られている本病原菌を検出するPCR法の中でも最も高精度な検出を可能とすることが知られています。加えて、世界で初めて人工培養による本病原菌の増菌を検出法に取り入れたことにより、感度と精度を兼ね備えた検出法となりました。

■ 関連情報等(特許関係、施設)

(1)特開2018-130058 リベリバクター属細菌を培養および検出するための培地、キットおよび検出方法

(2)特許6573800 核酸、プライマーセットおよびこれを用いたカンジダタス・リベリバクター・ソラナセアルムの検出方法

(3)論文 Alterations of *Candidatus Liberibacter asiaticus*-associated microbiota decrease survival of *Ca. L. asiaticus* in *in vitro* assays. (2018) *Frontiers in Microbiology*

(4)論文 Studies on early and highly sensitive detection of citrus greening pathogenic bacterium. (2014) *Journal of General Plant Pathology* 他



図1. カンキツグリーニング病感染樹から回収した葉

現地で感染の疑いのあるカンキツ樹の検査は本病害の感染拡大を防ぐために重要



図2. 本病原菌の人工培養例

新規開発した培地が搭載されたタイタープレート。各ウェル内で増菌した病原菌を遺伝子検査法により検出する。

代表発表者 藤川 貴史(ふじかわ たかし)
所 属 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構(農研機構)
果樹茶業研究部門
問合せ先 〒305-8605 茨城県つくば市藤本2-1
TEL:029-838-6544 FAX:029-838-6541
ftakashi@affrc.go.jp

■キーワード: (1)病害検出・診断
(2)難培養性細菌の人工培養法
(3)高精度遺伝子検出法

■共同研究者: 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構九州沖縄農業研究センター 藤原和樹