

アブラナ科種子からの病原細菌検出技術 の開発と改良

SATテクノロジー・ショーケース2022

■ はじめに

わが国は世界でも上位の野菜類の種子の輸出国であり、その輸出額は85億5千万円(2019年、農林水産物輸出入概況より)となっています。一方で種子による病害の持ち込みを抑えるため、近年では種子の輸出に際し、輸出相手国から種子伝染性病害に対する無病証明書が求められる場面が増えています。世界的に重要な種子伝染性病害に対する種子の検査は、国際種子検査協会(ISTA)や国家植物防疫機関(NPPO)が策定した国際標準法等を基に行われていますが、未だ検査法が確立されていない重要病害も多く、その策定が望まれています。また、既存の検査法では時間と費用が掛かるため、これらの無駄を省くことができる簡便で迅速な検査方法も求められています。

キャベツ、ハクサイ、ブロッコリー、カリフラワー、カブ、ダイコン等のアブラナ科野菜は、食物繊維や栄養価の高い、私たちの生活の中で食べる機会が多い食物です。この作物に起こる種子伝染性の病害に、黒斑細菌病、黒腐病、斑点細菌病があります。黒斑細菌病は検査の国際標準法が無く、その開発が望まれています。また、黒斑細菌病の病原細菌は2種類いますが、それぞれを簡便に識別する手法が必要とされていました。同様に黒腐病と斑点細菌病を識別する手法も望まれていました。

■ 活動内容

1. 黒斑細菌病菌の検査方法

既存の黒腐病の検査方法を基に、使用する選択培地や培養条件を変えることで、黒斑細菌病菌を種子から検出する手法を開発しました。

https://www.naro.go.jp/project/results/4th_laboratory/carc/2020/20_041.html

2. 黒斑細菌病菌を識別するプライマー

複数菌株の遺伝子配列の比較から、黒斑細菌病菌の2つの病原細菌(*Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*(Psm)と*P. cannabina* pv. *alisalensis*(Pca))を検出し、且つ識別できるプライマーを設計しました(表1)。

3. 黒腐病菌と斑点細菌病菌を識別するプライマー

複数菌株のゲノム比較から、黒腐病菌(Xcc)と斑点細菌病菌(Xcr)を検出し、且つ識別できるプライマーを設計しました(表2)。

4. 種子からのPCRによる病原細菌検出法

種子1000粒の浸漬液から黒斑細菌病菌、黒腐病菌、斑点細菌病菌を検出する手法を開発しました。この手法は種子に病原細菌が存在するかを簡便に識別する手法として活用できます(図1)。

■ 関連情報等(特許関係、施設)

特願2020-16947 アブラナ科黒腐病菌及び斑点細菌病菌判定用プライマーセット、及びこのプライマーセットを用いたアブラナ科黒腐病菌及び斑点細菌病菌の検査方法

特願2020-16948 アブラナ科黒斑細菌病菌判定用プライマーセット、及びこのプライマーセットを用いたアブラナ科黒斑細菌病菌の検査方法

表1. 黒斑細菌病菌用プライマー

プライマーセット	プライマー	配列
PsmPca_PS1	hrpK_fw1	GTCTGGGCGGACAGATGAT
	MAC_rv1	CGCCTTCTGGTGTGCTTTAC
	ALS_rv1	CATGTTCGCGGCAGTTACC
PsmPca_PS2	hrpK_fw2	GCTGGATCAGTTCGGGATTG
	MAC_rv2	TTGGAGTCTCTGGCGCAAC
	ALS_rv2	CGTATGCTGCTTCCAGGTC

表2. 黒腐病・斑点細菌病菌用プライマー

プライマーセット	プライマー	配列
XccXcr_PS1	pncB_fw1	GGCTGAACATCGACAAGGTG
	Xcc_rv1	TGGGATCGGTCGGGAAATAC
	Xcr_rv1	CCTTCGTTGCATCGACATCG
XccXcr_PS2	pncB_fw2	GAGCATGTGCGAAGACCTG
	Xcc_rv2	CAGCAGTTGTTGCGCTTCG
	Xcr_rv2	AATTCCTCGGCCATCGCAC

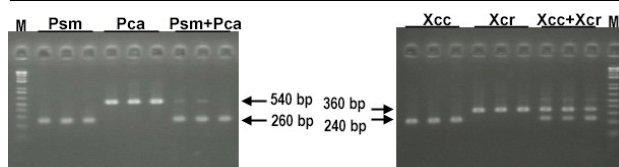


図1. 種子1000粒からの黒斑細菌病菌の検出(左)と黒腐病菌・斑点細菌病菌の検出(右). それぞれ3反復ずつ単独及び両方が混在する種子サンプルでテスト. Mは1Kbラダーマーカー

代表発表者 井上 康宏(いのうえ やすひろ)
所 属 農研機構 植物防疫研究部門
作物病害虫防除研究領域
問合せ先 〒305-8666 茨城県つくば市観音台 2-1-18
TEL: 029-838-8481(代) FAX: 029-838-8484
<https://www.naro.affrc.go.jp/inquiry/index.html>
<https://www.naro.affrc.go.jp>

■キーワード: (1) 種子検査
(2) 遺伝子診断
(3) アブラナ科黒斑細菌病菌、
黒腐病、斑点細菌病

■共同研究者: 染谷 信孝
(農研機構 植物防疫研究部門)
大崎 康平
(農研機構 種苗管理センター)