

## 試験研究成果普及情報

部門	病害虫	対象	研究
課題名：PCRによるトマトかいよう病の迅速検出方法			
[要約] 新たに開発したPCRプライマーにより、トマトかいよう病菌を迅速かつ高精度に検出できる。本法は、公知のプライマーでは検出できなかった株菌についても適用が可能である。			
キーワード：病害診断、PCR、トマトかいよう病、養液栽培			
実施機関名	主 査	農業総合研究センター・生物工学部・微生物工学研究室	
	協力機関	農業総合研究センター・生産環境部・病理研究室	
実施期間	2006年度～2007年度		

### [ 目的及び背景 ]

トマトかいよう病は病勢の進行が緩慢で、感染初期には病徴がほとんど見られないため発見が遅れ、被害が圃場全体に蔓延してしまう場合がある。そこで、見かけ上健全な感染株や養液栽培の培養液等から、迅速にトマトかいよう病菌を検出する技術が要望されている。近年、植物病原菌の迅速検出法としてPCR法が利用されているが、一部のトマトかいよう病菌には、公知のプライマーを用いたPCR法では検出できない菌株があった。そこで、これらの菌株を含めたトマトかいよう病菌を迅速かつ高精度に検出できるプライマーを開発する。

### [ 成果内容 ]

- 1 (独)農業生物資源研究所に保存されているトマトかいよう病菌株MAFF301040、MAFF301041及びMAFF301055の内、公知のプライマー(CMM5、CMM6)ではMAFF301040は検出できなかった。そこで、MAFF301040、MAFF301041、MAFF301055及びトマトかいよう病菌の類縁菌であるジャガイモ輪腐病菌MAFF301047の16S-rRNA遺伝子の塩基配列を調査し、トマトかいよう病菌にのみ共通の塩基配列を見出した。この塩基配列をもとに、トマトかいよう病菌検出用PCRプライマー(CMMS3、CMMS21)を開発した(表1)。
- 2 開発したプライマーを用いたPCR法により、これまで検出できなかったトマトかいよう病菌が特異的に検出できる(図1、表2)。本法の使用により2日以内の診断が可能となる。
- 3 本法でトマトかいよう病の発生している養液栽培圃場の培養液及び感染したトマトの茎と葉からトマトかいよう病菌を検出できる。培養液では菌密度が $10^2$ 個/ml以上であれば検出できる(図2)。

[ 留意事項 ]

本法は、非常に高感度な検出方法であるため、操作に当たっては対象外試料の混入等に十分留意する必要がある。

[ 普及対象地域 ]

[ 行政上の措置 ]

[ 普及状況 ]

[ 成果の概要 ]

表1 トマトかいよう病菌検出用プライマー

プライマー名	塩基配列
CMMS3	5'-GACCGGCCACACTGGGACGAGACA-3'
CMMS21	5'-GGGCACACATTTCTGCATG-3'

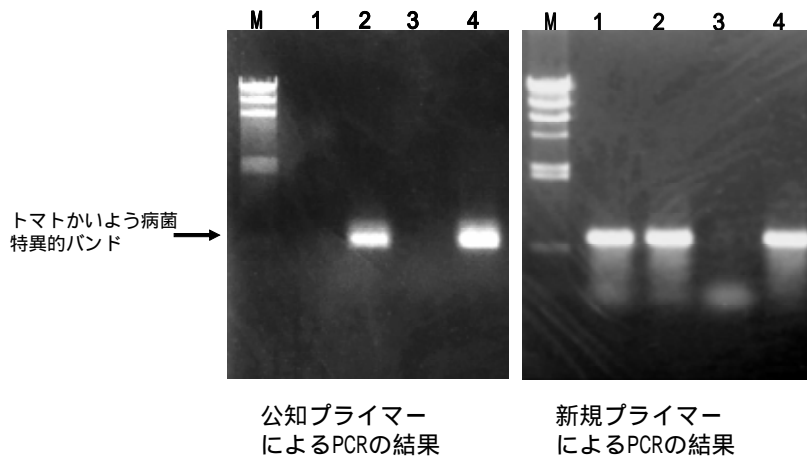


図1 PCRによるトマトかいよう病菌の検出

M: サイズマーカー

レーン1: トマトかいよう病菌MAFF301040

レーン2: トマトかいよう病菌MAFF301041

レーン3: ジャガイモ輪腐病菌MAFF301047

レーン4: トマトかいよう病菌MAFF301055

表2 トマトかいよう病分離菌株の検出結果

トマトかいよう病 分離菌株	採取地	公知プライマー による増幅	新規プライマー による増幅
MAFF301040	MAFF <sup>1)</sup>	- <sup>2)</sup>	+
MAFF301041	MAFF	+	+
MAFF301055	MAFF	+	+
CMM051208U1	印旛地域	-	+
CMM06118-1	香取地域	+	+
CMM060307-1	夷隅地域	-	+
CMM060130	君津地域	+	+
CMM060201	印旛地域	+	+
060511-KT	長生地域	+	+

注1) (独)生物資源研究所DNAバンク保存菌株

2) +: 検出可、 -: 検出不可

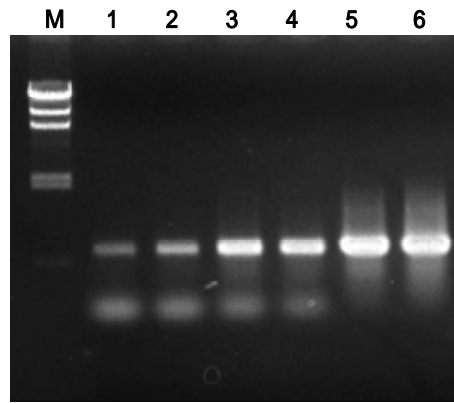


図2 PCRによるトマトかいよう病菌の検出感度

M :サイズマーカー

レーン1:菌密度 10<sup>1</sup>個/ml レーン2: 菌密度 10<sup>2</sup>個/ml

レーン3:菌密度 10<sup>3</sup>個/ml レーン4: 菌密度 10<sup>4</sup>個/ml

レーン5:菌密度 10<sup>5</sup>個/ml レーン6: 菌密度 10<sup>6</sup>個/ml

[ 発表及び関連文献 ]

- ・鈴木健、金子洋平、竹内妙子「PCR法によるトマトかいよう病菌の検出」千葉の植物防疫、第120号

[ その他 ]