

最確数 (Most Probable Number) と Bio-PCR 法を応用した, MPR-PCR 法による青枯病菌の高感度定量検出法

農研機構 中央農業総合研究センター いのうえ やすひろ なかほ かずひろ
井上 康宏・中保 一浩

はじめに

トマト、ナス、ピーマン等のナス科果菜類の栽培は産地化とそれに伴う施設化が進み、新鮮な生産物の安定供給と生産者の収入の安定化につながったが、反面、同一施設内での連作により、土壌伝染性病害である青枯病の発生が増大し問題となっている(図-1)。青枯病の病原細菌 *Ralstonia solanacearum* は感染した植物体内で増殖し、萎凋・枯死させ、その間に土壌に移行する。そして土壌中で長期間腐生的に生存し、深層部にも移行することから、輪作や土壌消毒を行っても青枯病菌を根絶することは困難であり、これが青枯病の防除が難しい要因となっている。また、ナス科果菜類での青枯病対策として抵抗性台木を利用した接ぎ木が導入されているが、台木の発病抑制機構は植物内での病原細菌の増殖と移行を抑制する「耐病性」であり(中保, 2013)、土壌中の青枯病菌密度(=感染圧)は台木を通して穂木へ感染する青枯病菌の頻度や菌量を考えるうえで重要な要素となっている。つまり、土壌中の青枯病菌密度を知ることでその後の発病をある程度予測できると考えられる。

これまで、青枯病菌の土壌からの検出には選択培地が広く用いられてきたが、選択培地上に生じた集落のどれが青枯病菌かを見分けることは難しく(図-2)、判別には経験が必要であった。また、検出感度も低く、選択培地で青枯病菌が検出されない圃場でも青枯病の発生が認められることが多々あり、さらなる検出感度の向上が必要とされていた。

そこで、青枯病菌の識別が容易で高感度検出が可能な、PCR 法を応用した手法の開発を考えた。設備やランニングコストといった汎用性を考え、培養方法などを最適化した Bio-PCR 法をベースにその問題点である定量性を最確数 (Most Probable Number) で補い、培養

方法などの最適化を行うこととし、MPR-PCR 法 (INOUE and NAKAHO, 2014) を開発した。



図-1 トマト青枯病

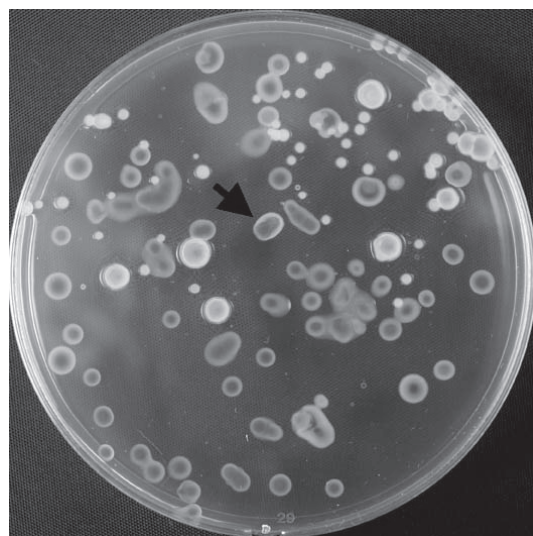


図-2 選択培地(改変 SMSA 培地)による土壌からの青枯病菌検出
矢印の集落が青枯病菌。

Sensitive Quantitative Detection of *Ralstonia solanacearum* by the Most Probable Number-polymerase Chain Reaction (MPN-PCR) Method, that the MPN and the Bio-PCR Method were Applied.

By Yasuhiro INOUE and Kazuhiro NAKAHO

(キーワード: 青枯病, *Ralstonia solanacearum*, 最確数, 定量的検出)