

特

集

バラ科果樹における胴枯細菌病の発生状況と防除対策 果樹胴枯細菌病の簡易遺伝子診断法の構築

愛知県農業総合試験場 ^{あんどう} 安藤 (^{こじま} 小島) ^{ひろこ} 寛子・ ^{すずき} 鈴木 ^{りょうじ} 良地

はじめに

バラ科果樹で急性枯死症状を引き起こす植物病原細菌として、*Dickeya dadantii* が 2019 年に特定された (藤川ら, 2017 ; 2019 ; FUJIKAWA et al., 2019)。2020 年度からみどりの食料システム戦略実現技術開発・実証事業の現場ニーズプロジェクト「果樹等の幼木期における安定生産技術の開発 (JPJ008720)」において、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構および東京農業大学、岩手県、福島県、岡山県、佐賀県、大分県と協力して、愛知県はリンゴ、ナシ、モモの発病株の樹脂または樹液 (以下、樹液とする) や株元土壌からの病原細菌 DNA の抽出および LAMP 法による遺伝子診断の一連の手順を構築した。当手法は「果樹胴枯細菌病対策技術ガイドブック」(農研機構, 2025) にて公表済であるが、本報告では検出感度について補足を加えて解説する。

I 組織片および樹液からの病原細菌 DNA の抽出法

果樹胴枯細菌病の病原細菌 *D. dadantii* の主たる感染源は土壌や雨滴とされ、さらに感染経路としてリンゴでは接木時の台木と穂木の継ぎ目部分から侵入することが確認されている (農研機構, 2025)。本病原細菌は冬の低温下で生存することから、一年を通して感染する可能性がある。病徴が現れるのは梅雨期から晩夏に当たる 6~9 月にかけての高温期が多いが、残暑が長引いた 2024 年では 10 月下旬でも発病が確認された。発病すると図-1(b) のように落葉し、主枝の褐変や樹液の異常な漏出がみられる (図-1(c))。

図-2 に示した各供試試料からの DNA 抽出工程の詳細は、前述の「果樹胴枯細菌病対策技術ガイドブック」および公表論文 (SUZUKI et al., 2025) を参照されたい。罹

病が疑われる株の一部をナイフ等で削り、組織片とする。組織片は、樹皮下の褐変や灰白色に変色している部位 (図-1(d)) が望ましい。樹液は蠟状あるいは液状いずれの粘性のものでも検出可能である (図-1(e))。汚染圃場では雑草からの検出も可能である。雑草では、病原細菌は主に根で越冬し翌年に土壌や雨水を介して感染拡大すると考えられるため、状況に応じて根や地上部を対象とするとい。簡易な DNA 抽出での熱処理は、実験室ではヒートブロックを用いるが、機器のない現地では、ヒートブロックの代わりに沸騰水で 10 分間加熱することで十分対応できる。熱抽出の後放冷し、次に遠心分離 (現地では小型遠心装置で数秒から 1 分程度最大速度で実施する) をしてその上清を適宜希釈して (組織片からの抽出は用いた緩衝液で 5 倍、樹液は希釈なしでよい) 遺伝子診断に用いる。

いずれの供試試料から得た DNA 抽出液は、検定まで -30℃ 程度で数週間保存可能である。

II 土壌からの DNA 抽出法 (SGF 法)

D. dadantii を土壌から検出する場合、市販の抽出キット以外の選択肢として、ここでは愛知県が開発した SGF 法 (特許第 7428326 号) による抽出方法を紹介する。

SGF (Suspended Glass Fiber) 法は、DNA がガラス繊維に吸着される特性を利用した DNA 抽出方法であり水に含まれる環境 DNA を簡易かつ効率よく濃縮することができる (SUZUKI et al., 2023)。SGF は市販のガラス繊維を細かく碎いて水に懸濁させたものであり、DNA の吸着体として用いる。水ではなく土壌に SGF 法を適用する場合は、土壌懸濁液を抽出対象とし、SGF を添加して抽出する (図-3)。土壌からの DNA 抽出の概要を図-3(b) に示した。まず、石や植物根等を除去した土壌 1 g を 50 ml コニカルチューブに入れ、スキムミルク 40 mg と滅菌水 40 ml を加えて 1 分程度攪拌する。静置後、上清 40 ml を新しいコニカルチューブに移し、これに SGF を 10 ml 加えて軽く転倒混和した後、0.2 mm 目のフィルターでろ過し、フィルター上の SGF を回収する。回収した SGF に Mighty Prep reagent for DNA (タ

Development of the Genetic Diagnostic Method for Bacterial Canker caused by *Dickeya dadantii*. By Hiroko KOJIMA-ANDO and Ryoji SUZUKI

(キーワード: 果樹胴枯細菌病, *Dickeya dadantii*, LAMP 法, SGF 法)