

研究 報告

リアルタイム PCR によるイチゴうどんこ病菌 飛散分生子の高感度定量技術

岡山県農林水産総合センター 生物科学研究所 なるさか 鳴坂 まり 真理・なるさか 鳴坂 よしひろ 義弘

はじめに

イチゴうどんこ病（病原菌：*Podosphaera aphanis* (Wallroth) U. Braun & S. Takamatsu var. *aphanis*）は、イチゴの葉、葉柄、果実、果梗およびつぼみに白色粉状の病斑を形成する重要病害である。特に果実での発生は商品価値を著しく低下させ、収量および経営収益に大きな影響を及ぼすため、施設栽培においては早期予防と適切な環境管理が不可欠である（神頭ら、2002）。

本病の防除には、薬剤散布を基本として、近年では UV-B 照射技術の導入や、環境制御技術との組合せが進められている（神頭ら、2011；西村、2025）。また、ICT（情報通信技術）や AI（人工知能）を活用した発生予測技術の開発も進みつつあり、病害管理の高度化が期待されている。

一方、イチゴうどんこ病菌は、発病葉や果実上で形成された分生子が施設内へ飛散し、二次感染を繰り返すことで急速にまん延する。そのため、施設内でどの程度病原菌が飛散しているかを把握できれば、発病リスク評価や防除判断の参考情報として有用である。しかし、生産現場で利用可能な簡便な飛散分生子の定量法は限られている。

空気伝染性病害では、病原菌の飛散胞子量を把握することが発生生態の理解や防除判断に有用であり、海外ではエアースンプラーや胞子トラップと PCR、リアルタイム PCR、LAMP などの分子検出技術を組合せた病原菌モニタリングが進められている（Van der Heyden et al., 2021）。一方、実用化にはサンプリング法、検出感度、データ解釈、運用コストなどの課題が残されている。

また、イチゴうどんこ病についても、飛散分生子量、気象条件、宿主の感受性を組合せたリスク評価モデルが検討されており、飛散接種源量は発病リスク評価への活

用が期待されている（CARISSE and FALL, 2021）。

しかし、従来の顕微鏡観察や形態識別による孢子調査には熟練と労力を要し、低密度時の検出感度にも課題がある。

本稿で紹介する技術は、エアースンプラーで捕集した飛散分生子を簡易 DNA 抽出し、リアルタイム PCR により高感度に定量するものであり、1 個の分生子から検出可能である。本技術は、飛散分生子量の季節変動、温湿度との関係、UV-B 照射など防除技術の効果、施設内外での病原菌動態を解析するための基盤技術として有用であり、将来的には発病リスク評価や発生予測への応用が期待される。

本稿の主な成果は、生物系特定産業技術研究支援センター「イノベーション創出強化研究推進事業」【開発研究ステージ】「施設園芸の主要病害発生予測 AI による総合的病害予測・防除支援ソフトウェア開発」の支援を受けて実施した。なお、本成果の一部は『施設園芸における空気伝染性病害の発生予測と病害管理』（古屋、2023）にも記載しているので参照していただきたい。

I イチゴうどんこ病菌の簡易検出系の構築

1 特異的プライマーの設計

Podosphaera aphanis の rDNA-ITS 領域配列（47 配列）を公開データベース（NCBI）から取得し、比較解析を行った。登録配列間で保存性が高い領域をもとに複数の候補プライマーを設計し（図-1）、PCR（DNA ポリメラーゼ連鎖反応）およびリアルタイム PCR により増幅特性を比較した。その結果、安定した増幅が得られたプライマー組合せを選抜した。PCR 増幅産物については塩基配列を決定し、*P. aphanis* 由来であることを確認した（図-3）。

ITS 領域は菌類の同定によく利用される領域であり、適切なプライマー設計により、高い特異性と感度が期待できる。

2 簡易 DNA 抽出法

現場で多数の試料を迅速に処理するためには、簡便で低コストな DNA 抽出法が重要である。そこで、病斑部

Highly Sensitive Quantification of Airborne Conidia of *Podosphaera aphanis* by Real-Time PCR. By Mari NARUSAKA and Yoshihiro NARUSAKA

（キーワード：イチゴうどんこ病、分生子飛散、リアルタイム PCR、UV-B 照射、施設園芸）