

“遺伝子診断でイチゴの病害を予防”

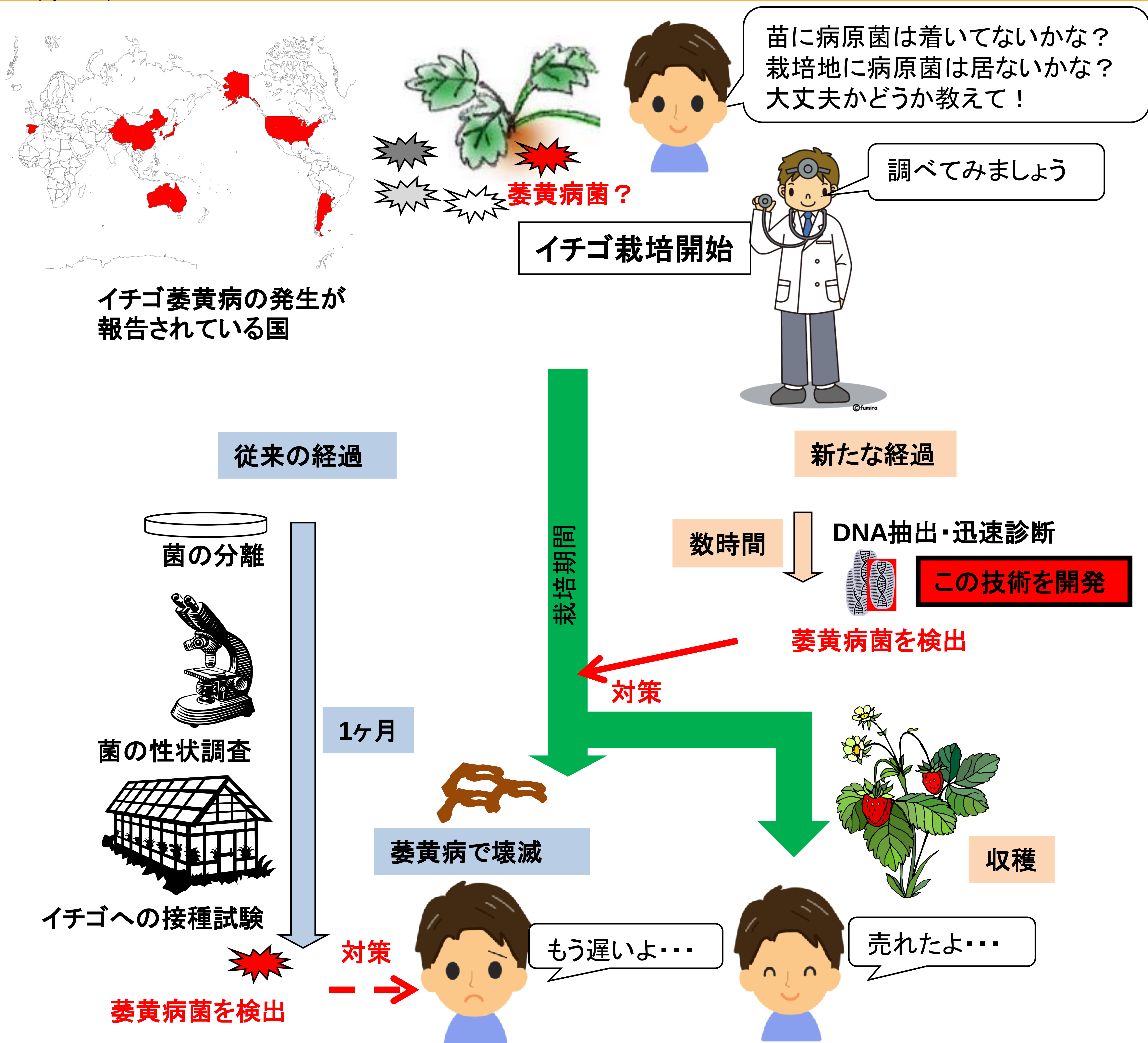
イチゴ栽培における主要土壌病原菌・萎黄病菌の簡易検出技術の開発

生命科学総合研究支援センター 准教授 須賀晴久

アピールポイント

国内外のイチゴ栽培では、予防が困難な萎黄病が発生して問題となっている。予防が困難な理由は病原菌の検出が困難かつ、時間がかかることにある。そこで、ここではDNA増幅法による簡易かつ迅速な病原菌の検出技術を開発した。

研究内容



“遺伝子診断でイチゴの病害を予防” イチゴ栽培における主要土壌病原菌・萎黄病菌 の簡易検出技術の開発

生命科学総合研究支援センター 准教授 須賀晴久

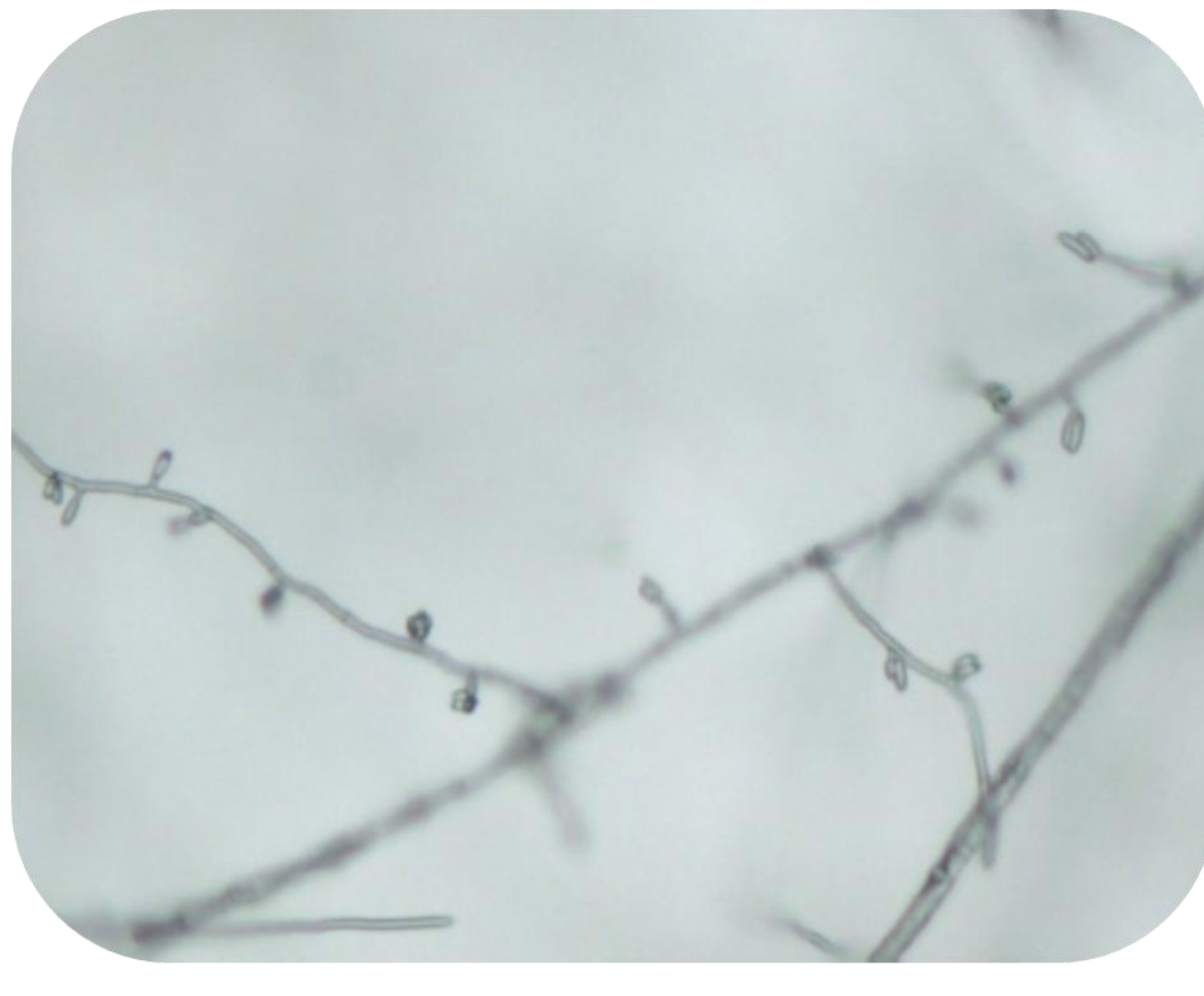
イチゴ萎黄病菌検出用PCR法・LAMP法の開発



イチゴ萎黄病

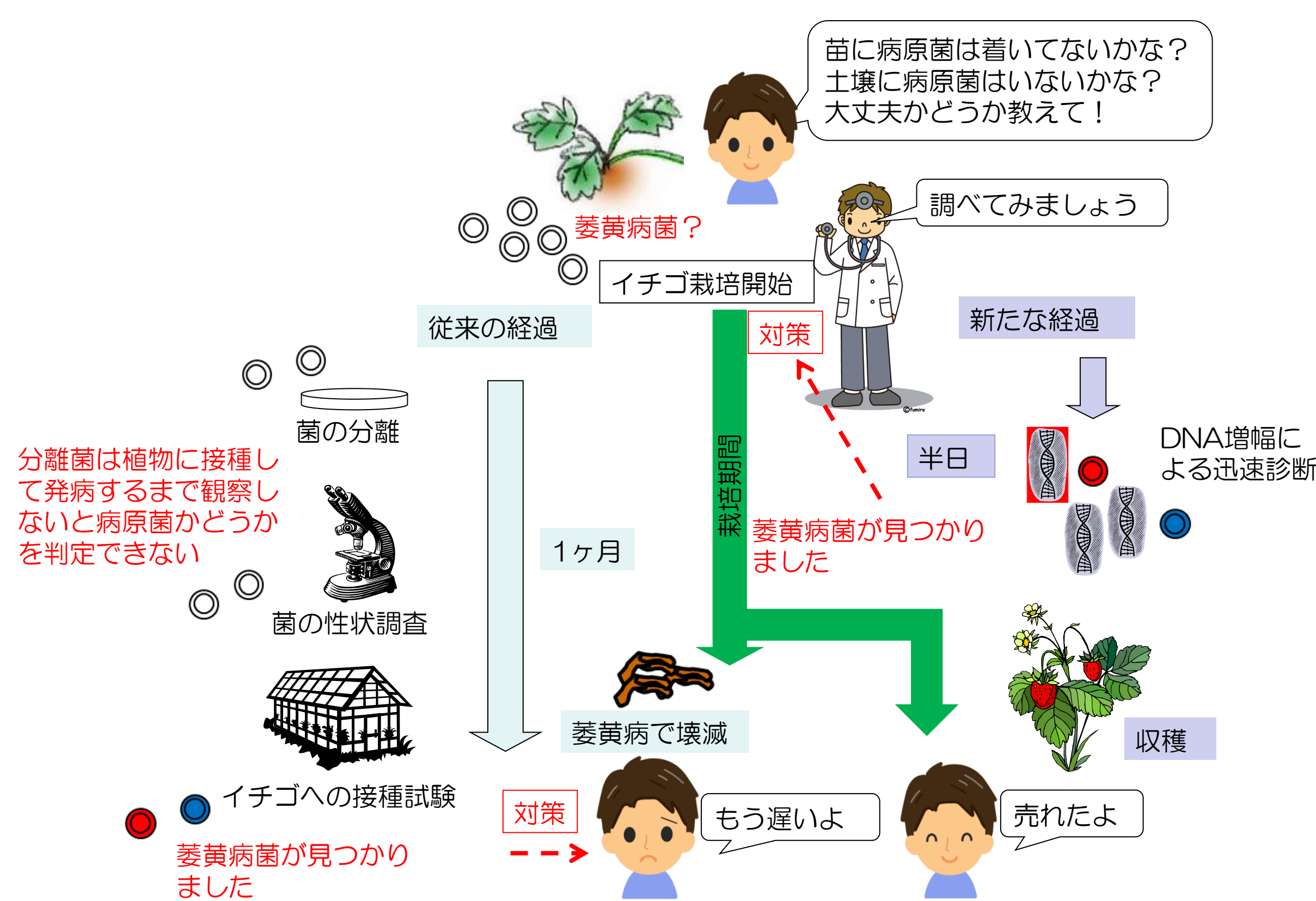


病原菌

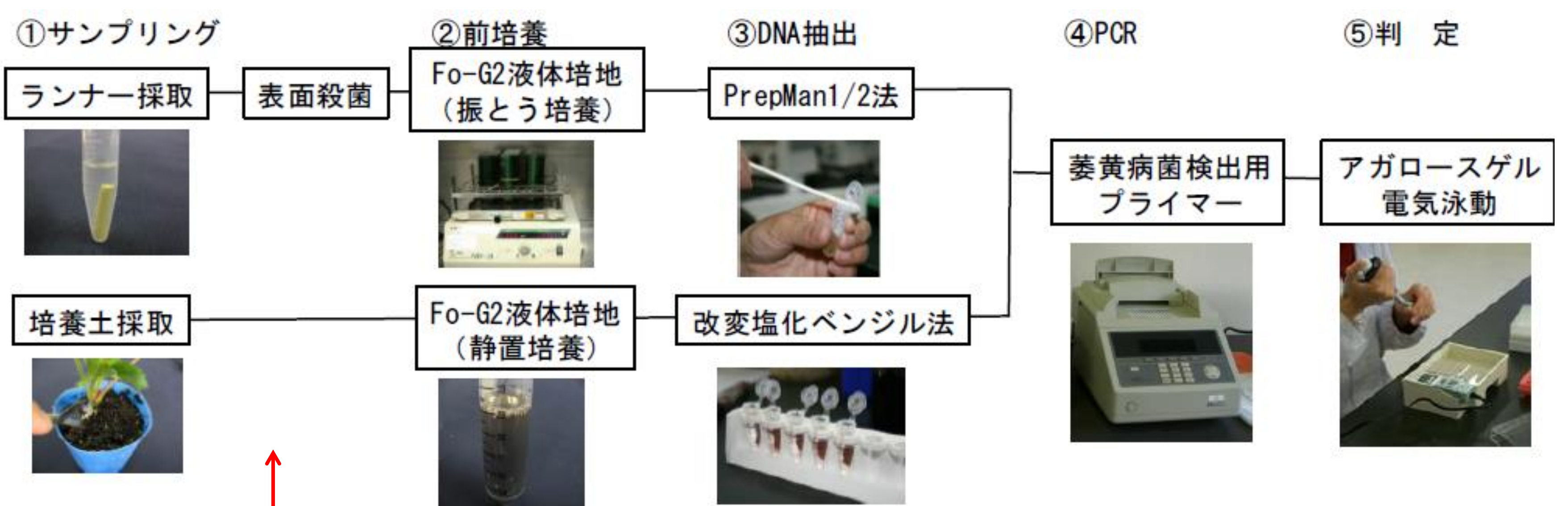


イチゴの栽培や苗販売ではここが問題
土壌には、*Fusarium oxysporum* というカビが多数生息しているが、イチゴに病気を起こすものはその中で特に *f. sp. fragariae* と呼ばれる集団だけである。病原菌の特定には、分離された *F. oxysporum* をいちいちイチゴに接種して発病するのを見るしかなく、時間や特殊設備・知識が必要となっている。

これまでの病原菌検出の問題をDNA増幅技術で改善

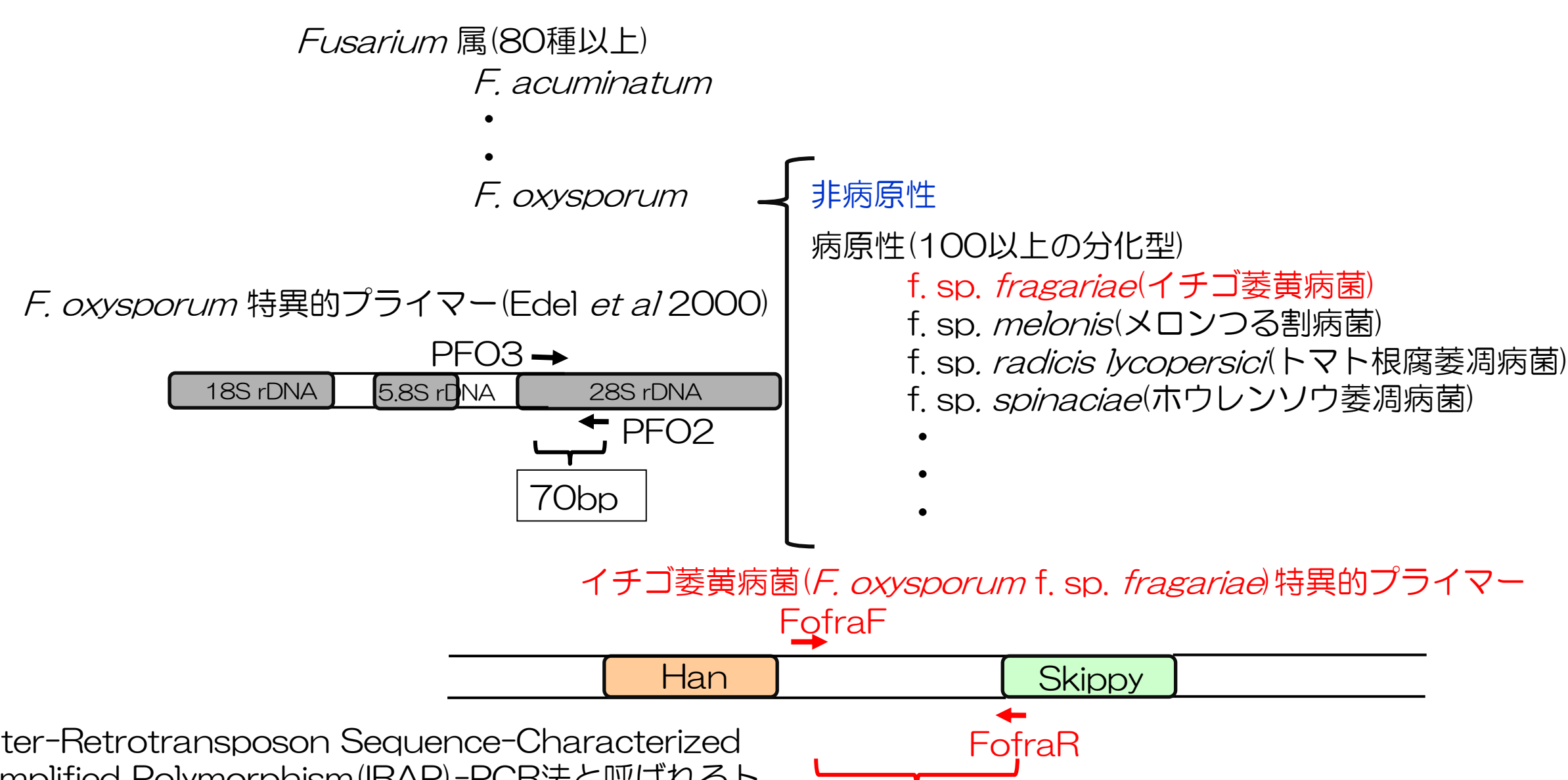


PCRによるイチゴ萎黄病菌の検出のながれ

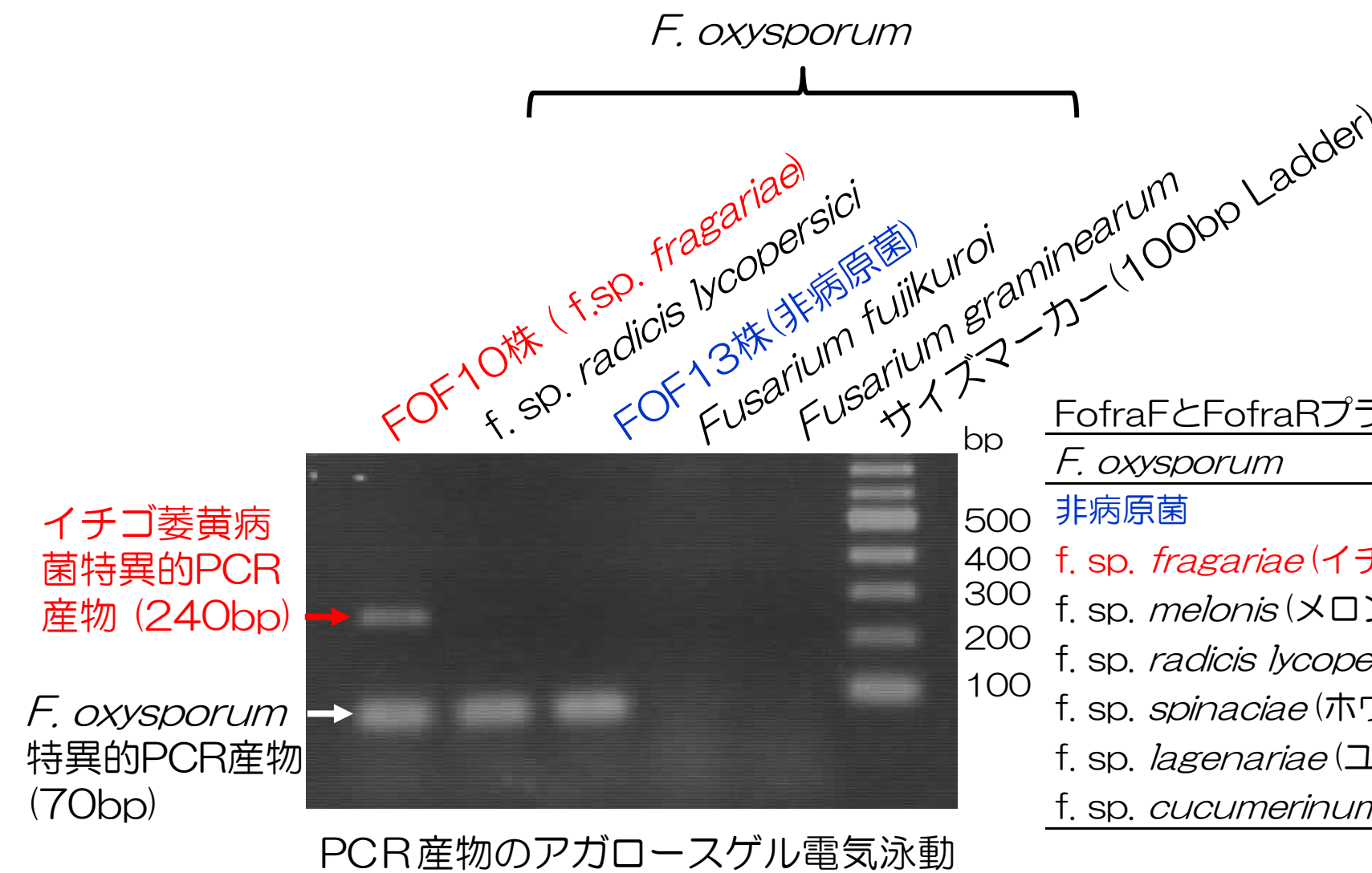


（イチゴ炭疽病・萎黄病・疫病 感染苗検査マニュアル）
千葉県ウェブサイト www.pref.chiba.lg.jp/lab-nourin/nourin/koukaishiryou/manual.html よりダウンロード可能
土壌からPCRで病原菌を検出できるのか？
添加試験：土壌にイチゴ萎黄病菌の胞子を $1 \times 10^2 \sim 10^5$ 胞子/g(土壌)で添加

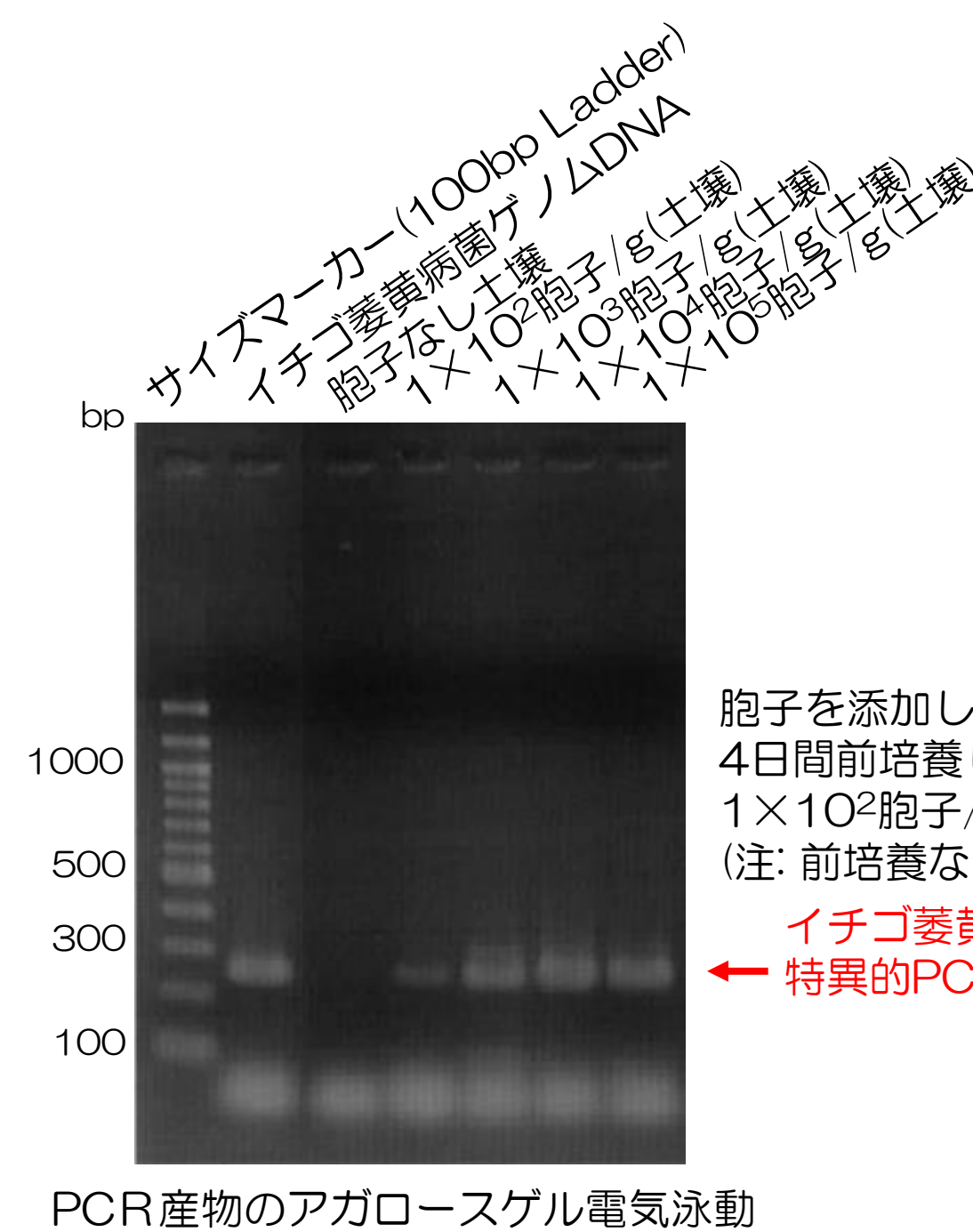
イチゴ萎黄病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *fragariae*) 特異的プライマーの設計と *F. oxysporum* 特異的プライマーとのマルチプレックスPCR



Inter-Retrotransposon Sequence-Characterized Amplified Polymorphism (IRAP)-PCR法と呼ばれるトランスポゾン間を増幅させる (Pasquali *et al* 2007) により、イチゴ萎黄病菌特異的DNA配列を取得してPCR用プライマー (FofraFとFofraR) を設計



イチゴ萎黄病菌特異的DNA配列にLAMP用のプライマーセット (FIP: HS735、F3: HS736、BIP: HS739、B3: HS741) を設計

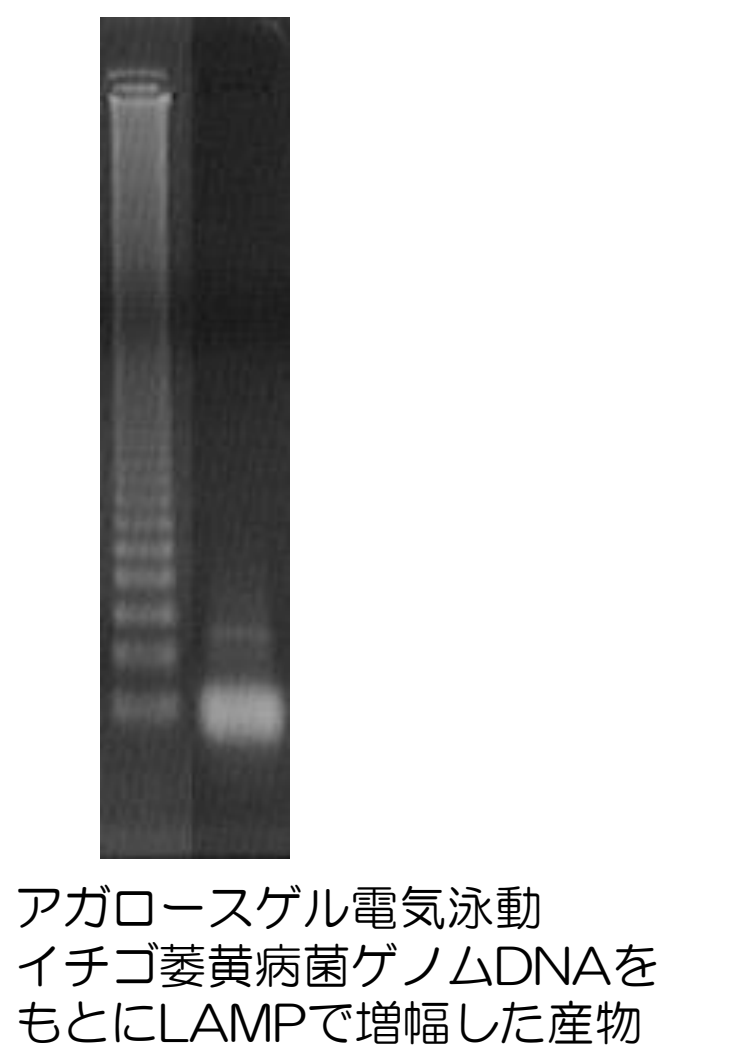


PCR産物のアガロースゲル電気泳動 Suga *et al* 2013

LAMP用プライマーの開発

<i>F. oxysporum</i>	菌株	分離地	LAMP法による反応液の白濁化 (2-2.5時間後)
非病原菌	MAFF727519	静岡県	なし
	FOF13	栃木県	なし
	FOF25	栃木県	なし
	FOF55	栃木県	なし
	FOF113	栃木県	なし
	FOF121	栃木県	なし
	NRF09145	奈良県	なし
	NRF09146	奈良県	なし
	NRF0839	奈良県	なし
	NRF0841	奈良県	なし
	O9SFo-8	佐賀県	なし
<i>f. sp. fragariae</i> (イチゴ萎黄病菌)	MAFF305557	不明	あり
	MAFF305558	不明	あり
	MAFF727510	奈良県	あり
	MAFF744009	福岡県	あり
	FOF10	栃木県	あり
	UKA1	栃木県	あり
	NRF0501	奈良県	あり
	SiO9063-1	北海道	あり
	O9SFo-1	佐賀県	あり
<i>f. sp. melonis</i> (メロンつる割病)	GUST6	不明	なし
<i>f. sp. lagenariae</i> (キュウガオつる割病)	GUS80	不明	なし
<i>f. sp. cucumerinum</i> (キュウリつる割病)	GUST7	不明	なし

LAMP法で増幅したラダー状DNA
Hae III消化後のDNA



アガロースゲル電気泳動
イチゴ萎黄病菌ゲノムDNAを
もとにLAMPで増幅した産物

なお、*F. oxysporum* による作物病害はイチゴ萎黄病の他にシクラメン萎凋病、チューリップ球根腐敗病、バナナパナマ病など100種類以上ある。ここで病原菌検出技術の開発に利用した方法は、他の *F. oxysporum* 病害の病原菌の検出技術開発にも適用できるものである。

関連文献：Suga *et al* 2013 Development of PCR primers to identify *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*, Plant Disease 97: 619-625.

Pasquali *et al* 2007 Identification of race 1 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* on lettuce by inter-retrotransposon sequence-characterized amplified region technique, Phytopathology 97: 987-996.

本件に関する詳しい
お問合せはこちら >>

国立大学法人 岐阜大学 産官学連携推進本部
〒501-1193 岐阜市柳戸1-1 Tel：058-293-2025/Fax：058-293-2022
E-mail：sangaku@gifu-u.ac.jp