

試験研究成果普及情報

部門	病害虫	対象	普及
課題名：PCR を用いた迅速・高感度なイチゴ炭疽病潜在感染苗検査法			
〔要約〕PCR を用いたイチゴ炭疽病潜在感染苗検査法は、迅速・高精度に炭疽病潜在感染苗を診断できる。			
フリーワード [※] イチゴ、イチゴ炭疽病、潜在感染苗、診断、PCR、マニュアル			
実施機関名	主 査	農林総合研究センター・生産環境部・生物工学研究室	
	協力機関	農林総合研究センター・暖地園芸研究所・果樹・環境研究室、 (国) 岐阜大学、(地独) 北海道総研花・野菜技術センター、 奈良県農業総合センター、栃木県農業試験場、静岡県農林技術研究所、佐賀県農業試験研究センター、(株) ミヨシ	
実施期間	2009年度～2011年度		

〔目的及び背景〕

イチゴの主要病害の発生は育苗期に集中し、健全親株の確保、雨よけ施設の整備、定期的な薬剤散布など多大な労力が要求されている。しかし、現状では苗生産における病害検査体制が十分ではなく、近年増加する種苗の受委託生産においても問題となっている。本課題では、PCR を用いたイチゴ炭疽病潜在感染苗診断技術を開発し、全国の主要生産地において現地実証を行う。開発した技術は、その実用性を検証した上で、現地実証により摘出された問題点を解決し、実用的な検査システムとして確立する。

〔成果内容〕

- 1 PCR を用いたイチゴ炭疽病潜在感染苗検査法（図1）は、苗が炭疽病に潜在感染しているか否かを3日間で診断できる。
- 2 本検査法は、エタノール浸漬法では区別のできなかつた病原性菌と非病原性菌を区別でき、高感度である。このことから、生物検定を行わずとも本検査法のみで実用的に病原性菌感染苗の判定が可能である（表1）。
- 3 新たに開発したDNA抽出法（PrepMan GM 1/2法）は、従来法であるMagEx法に比べて1検体あたりの操作時間を33%、検査単価を58%削減できる。本法を用いた1検体あたりの検査単価は171円である（表2）。
- 4 上記の成果をもとに技術の標準化を図り、イチゴ炭疽病潜在感染苗検査マニュアルを作成した。

〔留意事項〕

- 1 本検査法の実施に当たっては、専用機材（PCR装置等）が必要である。

〔普及対象地域〕

県内全域

〔行政上の措置〕

〔普及状況〕

[成果の概要]

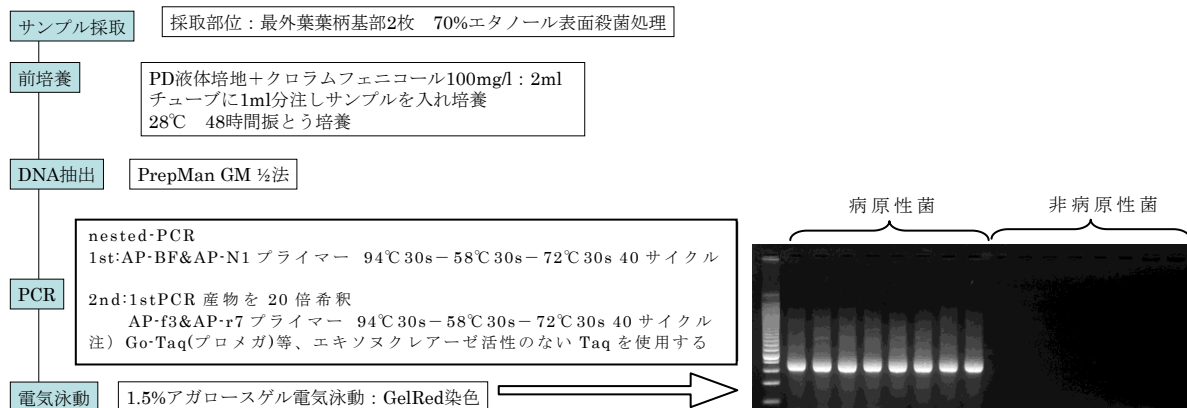


図1 PCRを用いたイチゴ炭疽病潜在感染苗検査法

注) プライマー配列 (鈴木ら、2008、論文未発表)

AP-BF : 5' -TGAATGCTGAGGCTGCGATGAG

AP-N1 : 5' -GCGGCGAGGTAAGTCTTCTC

AP-f3 : 5' -GAAGGGGCTGTAGTCGAAAT

AP-r7 : 5' -GATGAGGTTGCTCTCCATAT

表1 イチゴ苗増殖圃場の全株調査におけるイチゴ炭疽病潜在感染苗の検出率

	炭疽病潜在感染苗検出率(%) (うち病原性菌検出率)
PCR法	4.5 (4.5)
培養法	3.5 (1.5)
エタノール浸漬法	5.0 (1.5)

注1) 奈良県の親株増殖圃場において平成21年9月に検査した

2) PCR法は本検査法、培養法は選択培地、エタノール浸漬法はIshikawa(2003)による

3) 病原性判定は生物検定による
(データ提供: 奈良県農業総合センター)

表2 1検体あたりの操作時間及び検査単価

DNA抽出方法	DNA抽出操作に要する時間(分)	DNA抽出単価(円)	検査単価(円)
MagEx法 ¹⁾	180	280	405
PrepMan(GM)法 ²⁾	120	135	238
PrepMan(GM)1/2法 ³⁾	120	68	171

注1) MagExtractorTM(TOYOBO)kitを使用した

2) PrepMan® Ultra Reagent(Life Technologies)を使用しガラスビーズ・スキムミルク処理を行った

3) PrepMan® Ultra Reagentを規定量の1/2で使用した

4) 検査単価の内訳はDNA抽出試薬、Taq DNAポリメラーゼ、サンプルチューブ、ピペットチップで機材や人件費は含まない

[発表及び関連文献]

- イチゴ炭疽病・萎黄病・疫病感染苗検査マニュアル、千葉県、2012年
(本マニュアルは、千葉県ホームページで公開している。
<http://www.pref.chiba.lg.jp/lab-nourin/nourin/koukaishiryou/manual.html>)
- イチゴ小葉を用いたイチゴ炭疽病菌の簡易病原性判定法、関東東山病害虫研究会報、57: 31-34、2010年
- Genetic polymorphism and virulence of *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from strawberry (*Fragaria × ananassa* Duchesne)、JGPP、76(4)、2010年
- 関東東山病害虫研究会報、57: 136-137、2010年 (講要)
- 日本植物病理学会報、74: 198、2008年 (講要)
- 日本植物病理学会報、76: 160-161、2010年 (講要)
- Ishikawa, S. Method to diagnose latent infection by *Glomerella cingulata* in strawberry plants using ethanol、JGPP、69(6)、2003年

[その他]

平成21~23年度新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業「イチゴ健全種苗生産のための病害検査プログラムの構築」