

Xylella fastidiosaの宿主範囲及び検定方法に関する研究

背景・目的： 植物病原細菌*Xylella fastidiosa*はブドウやカンキツ、オリーブ等様々な果樹を枯死させるため世界の農業生産に深刻な影響を及ぼしている。本病害はわが国では未発生であることから、わが国への侵入を水際で食い止めるため、また万が一国内で発生した場合に迅速かつ的確な防除を行うことができるよう、国内における果樹品種が宿主となり得るかどうかを明らかにし、簡易迅速な遺伝子検査法を開発する。

研究成果： *Xylella fastidiosa*の複数亜種(subsp. *fastidiosa*、subsp. *multiplex*等)を様々な植物及び国内品種に接種したところ、*X. f. subsp. fastidiosa*を接種したブドウの国内品種であるピオーネやシャインマスカットで特徴的な病徴を示すことが分かった。カンキツの国内品種であるウンシュウミカンやせとかで病徴を示すことが分かった。加えてトマトに*X. f. subsp. multiplex*を接種した場合には、斑点症状が現れた。これらでは接種した病原菌の遺伝子が検出されたことから、感染が成立する宿主であることが確認された。

またこれまで既報の遺伝子検査法を見直し、簡易な核酸抽出法を決定し、新規に設計したPCRプライマーセットによる高精度で迅速な遺伝子検査法を開発することができた。

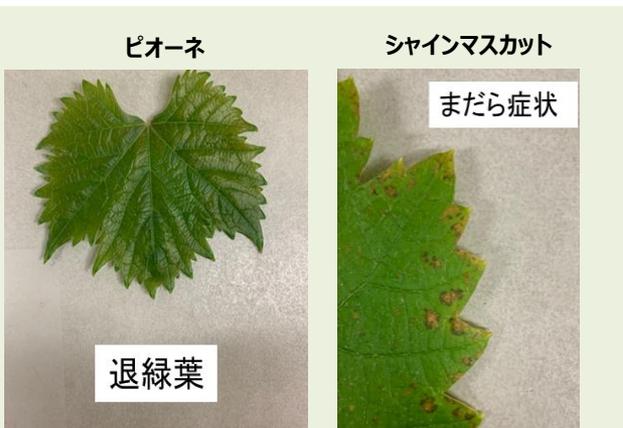


図 1. 人工接種による病徴の確認

Xylella fastidiosa subsp. *fastidiosa*を接種したブドウ品種ピオーネでは葉が退緑化する病徴を、ブドウ品種シャインマスカットでは葉縁部がまだら症状となる病徴を示した。カンキツ品種せとかに接種した場合には葉の黄化が認められた。また、*X. f. subsp. multiplex*を接種したトマトでは斑点症状が現れた。

PCR	対象	塩基配列	増幅塩基数
エンドポイント	<i>X. fastidiosa</i>	X0838S: GCAAATTGGCACTCAGTATCG	622
		X1439A: CTCCTCGGGTTAAGGTAC	
	<i>X. fastidiosa</i>	X67S1: GGACGGCAGCACATTTGGTA	604
		XL2r: CCTGTACCACACTCTAGGTATC	
植物	E1141r2: AGGAATTGACGGGAAGGGCACCAC	548	
	C18Sr8: GCGATCGGAACACTTCACCGGA		
(リアルタイムPCR機器設置環境)			
リアルタイム	<i>X. fastidiosa</i>	XrDf1: GGCTCATCCAATCGCACAA	172
		XLr4: CGGACGGCAGCACRKTGGT	
	XrD-Pf (P): FAM-CCTAAGGTCCCTGCTT-MGB		

P: TaqMan プローブ (FAM: 6-carboxyfluorescein, MGB: minor-groove-binding non-fluorescent quencher)

表 1. Xylella検出用新規PCRプライマー情報

*Xylella*属を特異的に検出する新規PCRプライマーの配列及び増幅塩基数。エンドポイントPCR及びリアルタイムPCRでそれぞれ設計された。

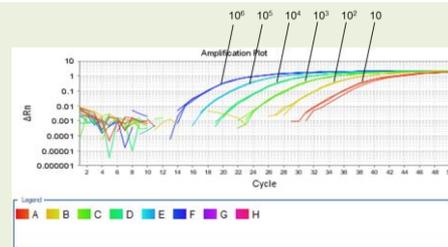


図 2. Xylella特異的リアルタイムPCRにおける標的DNA量の検出限界

*Xylella*属を特異的に検出するリアルタイムPCRにおいて、標的である*Xylella* DNA量の検出限界を調べた結果。標的DNAは10コピー程度まで検出可能であり極めて高精度であることがわかった。

成果の効果・活用： 本研究によって、*Xylella fastidiosa*の国内における果樹品種や植物種の宿主範囲が明らかとなり、万が一国内で発生した場合に植物の調査範囲を決定することに役立つと考えられる。また、簡易迅速で高精度な遺伝子検査法を開発したことから、本技術を用いることで、わが国への侵入を水際で食い止めると共に、国内での発生調査に利用することができる。

研究機関: 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構
研究総括者: 藤川 貴史