

RIPA法によるトマトかいよう病、青枯病の迅速診断

[要約]

トマトかいよう病と青枯病は、RIPA（迅速免疫ろ紙検定）法による市販キットを用い、現地や普及センターにおいて簡易で迅速な診断が可能である。

茨城県農業総合センター園芸研究所

成果
区分

普及

1. 背景・ねらい

近年、茨城県内のトマト産地では立枯性病害であるかいよう病、青枯病、萎凋病等による被害が拡大してきている。これらは互いに病徴が類似し、また分離等が困難であることから診断が難しく、高精度で迅速な診断法を確立する必要がある。そこで、現地で発生した細菌病が疑われる株について、RIPA（迅速免疫ろ紙検定）法による市販キット（A社製 ImmunoStrip™）を用いて、トマトかいよう病及び青枯病の診断技術を確立する。

2. 成果の内容・特徴

- 1) RIPA法によるトマトかいよう病及び青枯病の検定手順は図1のとおりである。
- 2) 現地で採集した立枯症状を示し、細菌病が疑われる株について、維管束褐変部または小葉の水浸状病斑部を用いてRIPA法による検定を行った場合、菌の分離結果と一致する（表1）。また、両病害が同時に発生している場合でも、それぞれのキットを用いれば検出が可能である（表1）。
- 3) RIPA法は、検定時間が5～10分程度であり、ELISA法（約2日）やPCR法（約1日）に比べて、極めて短時間で診断が可能である。

3. 成果の活用面・留意点

- 1) サンプルングは、維管束褐変部や小葉の水浸状病斑部など、明瞭な病徴部位を供試する。また、供試するサンプル量は0.15gとし、目安として維管束ならば0.5cm角に切った切片を2個程度、葉なら1cm角の切片を3枚程度とする。量が多過ぎる場合、試験紙が適切に粗汁液を吸収できず、正常な検定が行えないことがある。
- 2) キットは冷蔵保存（4℃程度）し、試験紙の湿気による品質劣化を防ぐため、試験紙を取り出したら容器のふたはすぐに閉める。
- 3) 緩衝液は、必ずそれぞれに付属されたものを用いる（かいよう病菌はSEB4を、青枯病菌はBEB1）。別の緩衝液を用いると非特異反応を起こすことがある。
- 4) 1検体あたりのコストは、トマトかいよう病菌で約1,000円、トマト青枯病菌で約920円である（平成21年12月現在）。なお、両キットとも25検体単位で販売されている。
- 5) かいよう病及び青枯病が陰性の場合には、他の立枯性病害や生理障害等が考えられ、病徴診断及び菌の分離・同定を行う必要がある。

4. 具体的データ

① 明瞭な病徴部からサンプルを採取する。

② 緩衝液バックにサンプルを入れ、袋の外側から堅い棒でサンプルを磨砕し、緩衝液と混ぜ合わせる。

③ 試験紙先端を矢印まで粗汁液に漬け、粗汁液が吸い上がるのを5～10分待つ。

④ 紫色の陽性バンドとコントロールバンドが出れば陽性、コントロールバンドのみが出れば陰性。

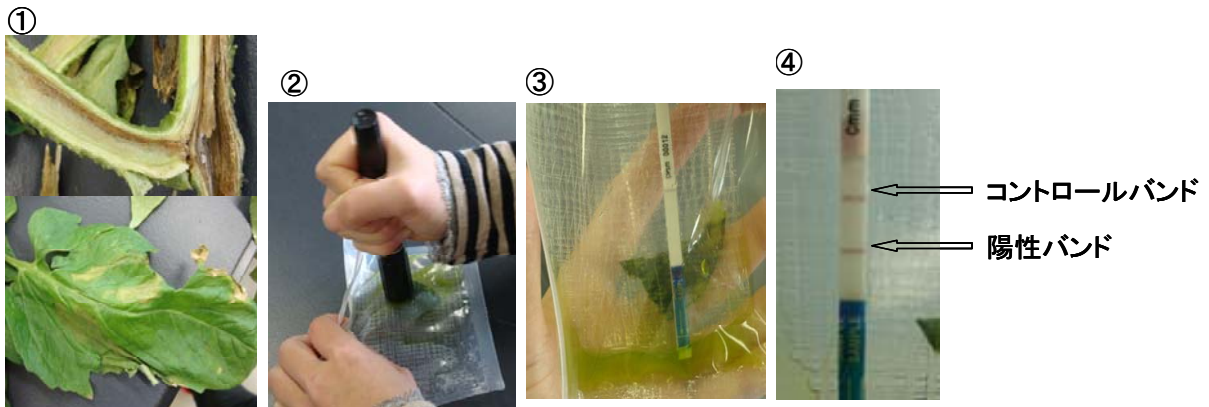


図 1.RIPA 法の検定手順

表1. 現地から持ち込まれた細菌病様症状株におけるRIPA法による診断結果

採集場所	病徴	RIPA		分離結果
		Cmm ¹⁾	Rs ¹⁾	
小美玉	株全体が萎凋。小葉に不明瞭な褐色の大型病斑。乾燥して葉縁から巻き上がり。維管束褐変。	+	nt ²⁾	Cmm
鉾田	葉に黄変はなく青枯れ状。維管束褐変。水につけると菌泥が流出。	nt	+	Rs
つくばみらい	下葉から徐々に黄化し、病徴が進むと萎凋。維管束褐変。菌泥流出あり。	-	+	Rs
筑西A-①	株全体が萎凋。下葉には褐色の不明瞭病斑や葉脈に沿った脱水症状。維管束褐変。	+	+	Cmm、Rs
筑西A-②	下葉にのみ、褐色不明瞭病斑や葉脈に沿った脱水症状。維管束が褐変。髓の空洞化。	+	+	Cmm ³⁾
筑西A-③	下葉にのみ、褐色不明瞭病斑や葉脈に沿った脱水症状。維管束が褐変。髓の空洞化。	+	-	Cmm
筑西B	株全体が萎凋。小葉は不明瞭な褐色の大型病斑があり乾燥して葉縁から巻き上がっている。維管束褐変。	+	nt	Cmm

1) Cmmはかいよう病菌、Rsは青枯病菌を示す。

2) ntは検定を行っていないことを表す。

3) Rsは分離されなかった。

5. 試験課題名・試験期間・担当研究室

トマト難診断・難防除病害虫の分子生物学的診断法と防除技術の開発・平成 20～24 年度・病虫研究室