

東南アジアのファイトプラズマのDNA検出法の開発

[要約] 東南アジアに発生しているゴマフィロディー、サトウキビ白葉病、イネ黄萎病の病原体であるファイトプラズマのDNAプローブを作成した。これらを用いることにより、迅速・確実にMLOを検出することが可能となった。

国際農林水産業研究センター 生物資源部, コンケン大学				連絡先	0298(38)6305
部会名	国際農業	専門	作物病害	対象	稲類, 工芸作物類
分類	2				

[背景・ねらい]

タイ、ミャンマーで発生しているゴマフィロディー(図1)やタイ東部のサトウキビ白葉病(図2)は、地域の農業に壊滅的な被害を与えている。イネ黄萎病(図3)はアジア各地に発生している。これらの病気は、ファイトプラズマ(マイコプラズマ様微生物(MLO))により引き起こされている。従来、これらの病原体を検出することは非常に困難であった。本研究では、ファイトプラズマを迅速・確実に検出するため、DNAプローブを用いた検出法を開発することを目的とする。

[成果の内容・特徴]

- ① イネ黄萎病罹病植物から全DNAを抽出後、Bisbenzimidate-CsCl平衡密度勾配遠心にかけ、病原ファイトプラズマのDNAを宿主植物のDNAから分離した。それを制限酵素HindIIIで分解後、プラスミドBluescriptに挿入し、大腸菌NM522に導入した。得られたクローンのうち、罹病植物のDNAと反応し、健全植物のDNAとは反応しないものを選抜した。それらの挿入断片にパーオキシダーゼを標識して、DNAプローブとした。
- ② ファイトプラズマの染色体に由来するDNAプローブと染色体外DNAに由来するプローブがとれた。作成したDNAプローブを用いることにより、ファイトプラズマ感染イネから、迅速・確実・高感度にファイトプラズマを検出できた(図4)。また、ファイトプラズマの媒介昆虫(ツマグロヨコバイ)1匹からでも、ファイトプラズマを検出する感度を有していた。
- ③ サトウキビ白葉病ファイトプラズマとゴマフィロディーファイトプラズマにおいても、染色体由来・染色体外DNA由来のDNAプローブを作成することができた。

[成果の活用面・留意点]

これらのDNAプローブを用い、タイにおいても各病原ファイトプラズマを検出することができた。本方法の適用により、ゴマフィロディー、サトウキビ白葉病、イネ黄萎病の病原ファイトプラズマの媒介昆虫や中間宿主植物の解明、抵抗性品種の選抜等が容易になるとと思われる。

[具体的データ]



図1:ゴマフィロディー
がく, 花卉, 雄蕊, 雌蕊が葉化する



図2:サトウキビ白葉病
葉が白色化・叢生し, 茎が伸びない



図3:イネ黄萎病
葉が黄化・叢生し, 不稔になる

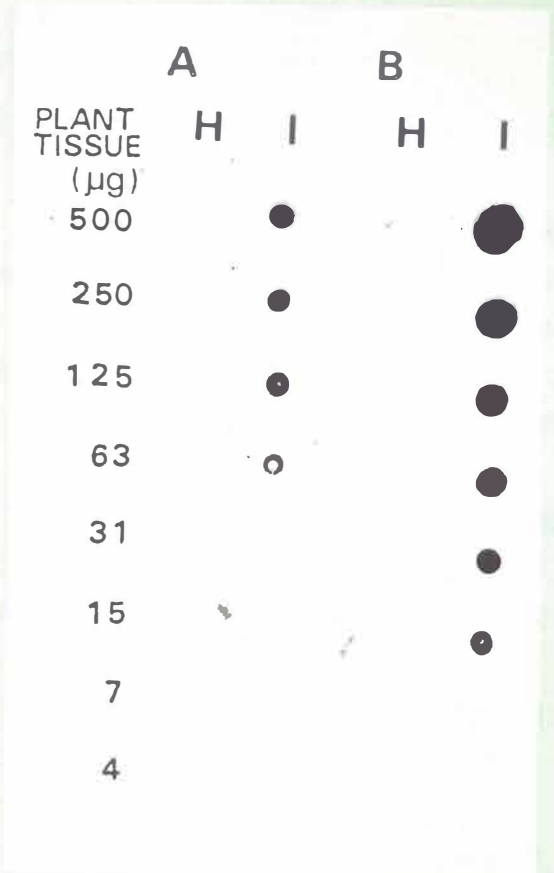


図4:イネ黄萎病ファイトプラズマの検出例
健全なイネのDNA(カラムH)とイネ黄萎病ファイトプラズマが感染したイネのDNA(カラムI)を、濃度を変えてナイロン膜にスポットし、ファイトプラズマの染色体に由来するDNAプローブ(A)、または、ファイトプラズマの染色体外DNAに由来するDNAプローブ(B)と反応させた後、化学発光法により検出した。

[その他]

研究課題名: 東南アジアにおけるマイコプラズマ様病原体による病害の実態の解明と防除法の確立
 予算区分: 国際プロ(マイコプラズマ)
 研究期間: 平成5年度(3年~5年)
 研究担当者: 中島一雄, 林 隆治, Witcha Chaleeprom, Pisan Sirithorn, Porntip Wongkaew
 発表論文等: Nakashima, K. and N. Murata (1993). Destructive plant diseases caused by mycoplasma-like organisms in Asia. Outlook on Agriculture 22: 53-58.