

## 平成 12 年度試験研究成果

区分	指導	題名	TPI 法によるトマト、ピーマン等の青枯病の診断			
【要約】トマト、ピーマン等に発生する萎ちょう性病害の診断において、TPI 法 ( tissue printing immunoassay ) は青枯病菌の簡易・迅速な検出法として利用できる。						
キーワード	青枯病	診断	TPI 法			農産部 応用生物工学研究室

### 1. 背景とねらい

トマトの重要病害である青枯病の診断は選択培地による簡易診断法 ( H 6 ・ 指導上の参考事項 ) が利用されているが、生物工学研究センターで新たに抗体を用いた青枯病菌の検出法が開発されたので、検出法の一つである TPI 法 ( tissue printing immunoassay ) の活用法を検討した。

### 2. 技術の内容

( 1 ) 現地における各種萎ちょう性病害に対して、TPI 法はトマト、ピーマン及びトルコギキョウの青枯病の簡易・迅速診断法として利用できる。( 表 1、 2 )

( 2 ) TPI 法の手順

診断茎の汁液を PDVF メンブレンにスタンプ ( 普及センター等で実施 )

- ・ 診断茎：維管束の褐変が明瞭な部位
- ・ 診断茎の横断面をスライドグラス上の滴下した水に 2 ~ 5 分程度浸した後にスタンプ

ブロック液に浸漬 1 時間 ( 以降、農研センターで実施 )

洗浄

一次抗体を加える ( 抗青枯病菌 IgG 5,000 倍 / ブロック液 ) 1 ~ 2 時間浸漬

洗浄

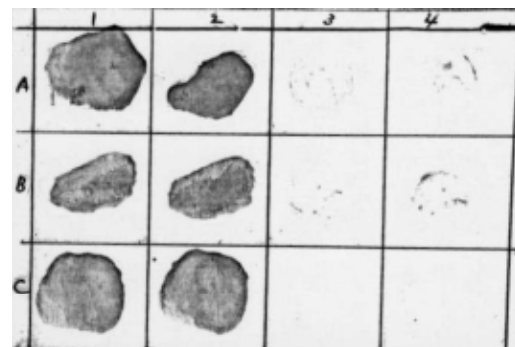
二次抗体を加える ( 酵素結合抗ウサギ IgG ヤギ IgG 2,500 倍 / ブロック液 ) 2 時間浸漬

洗浄

基質・発色剤を加える

0.5 ~ 1 時間静置

判 定 発色の明瞭なものが陽性



診断事例 ( ピーマン青枯病 )

### 3. 指導上の留意事項

( 1 ) TPI 法は青枯病の確認等で多数の試料をすばやく診断するのに適する。また、スタンプしたメンブレンは保存できるので一括して検定することもできる。なお、トマトの萎ちょう性病害の診断の際、青枯病以外の発生が予想される場合、選択培地法を併用する。

( 2 ) 現時点においては抗血清の供給・保存等の関係で診断は普及センターと研究センターの分担で実施することとなるので、実施する際には研究センターと協議して行う。

### 4. 技術の適応地帯 県下全域

### 5. 当該事項に係る試験研究課題

〔作物バイオテクノロジー 3〕 2 - ( 3 ) - イ なす科作物青枯病菌の検出・診断技術の利用

### 6. 参考文献・資料

( 1 ) 平成 10 ~ 12 年度 試験成績書 ( 農産部応用生物工学研究室 )

7. 試験成績の概要（具体的なデータ）

表1 トマト、ピーマン及びトルコギキョウの萎ちょう症の診断

作物・診断圃場	栽培様式・症状	調査株数	TPI法による		選択培地等による診断結果
			青枯病菌の検出株数	検出株数	
<u>トマト</u>					
一関	雨よけ 萎ちょう・下葉の枯れ上がり	3	3		青枯病
江刺	ハウス 急性萎ちょう	1	1		"
	" "		1	1	"
	雨よけ 萎ちょう・青枯病抵抗性台木に接ぎ木	4	4		"
	" " "		2	2	青枯病・かいよう病 <sup>1)</sup>
	" " "		1	1	"
水沢	雨よけ 急性萎ちょう	3	3		青枯病
藤沢	" 慢性的萎ちょう・下葉の枯れ上がり	3	0		かいよう病
千厩	" " "	3	0		"
	簡易雨よけ " "	3	0		"
大東	雨よけ " "	3	0		"
矢巾	ハウス 萎ちょう 青枯病抵抗性台木に接ぎ木	2	2		青枯病
一戸	簡易雨よけ 頂部の枯死・葉の黄化	3	0		モザイク病
	雨よけ 葉の黄化・枯れ上がり・維管束部が褐変	1	0		萎ちょう病
<u>ピーマン</u>					
胆沢	雨よけ 急性萎ちょう・茎の横断面の全体が褐変	3	3		青枯病
	" " "		2	2	"
	" " "		1	1	"
江刺	雨よけ 急性萎ちょう・茎の横断面の全体が褐変	2	2		"
水沢	露地 " 地際部皮層部が褐変	2	0		疫病
石鳥谷	雨よけ " 茎の横断面の全体が褐変	4	4		青枯病
	雨よけ " 地際部皮層部が褐変	4	0		疫病
	雨よけ 萎ちょう 茎の横断面がわずかに褐変	2	2		青枯病
<u>トルコギキョウ</u>					
水沢	軽微な萎れ	1	1		青枯病
	茎の葉の基部が淡褐色の病斑・萎ちょう	1	1		青枯病・茎枯病

1) 同じ株から2種類の病原菌が分離された。

表2 青枯病に罹病している自根トマト及び青枯病抵抗性台木接ぎ木トマトの診断

供試トマト	検定部位	褐変程度	TPI法による検出	供試茎を殺菌水に浸漬		供試茎を選択培地にスタンプした場合のコロニー形成
				白濁程度	選択培地による検出	
自根	No.1	リング状に褐変	++	++	++	
	5	部分的に褐変	+	+	++	
	10	褐変がない	-	-	-	
抵抗性台木接木	台木部	"	-	-	-	+
	No.1	"	-	-	-	+
	13	"	-	-	-	+
	20	部分的に褐変	++	+	++	++
	30	リング状に褐変	++	++	++	++

抵抗性台木に接ぎ木したトマトの症状

・生育期の中～後期に慢性的な萎ちょう

・初期症状株の場合、中段の葉が汚れた黄色、その部分の茎を切ると横断面が褐変している