

10. 酵素免疫測定法を利用した土壌中の伝染性植物病原菌の定量法

農業環境技術研究所 環境資源部 土 壌 管 理 科
環境生物部 微生物管理科

要 約

植物病原菌、植物病原菌に対する抗体（第一抗体）、第一抗体に対する酵素標識抗体（第二抗体）の三者により不溶体をつくらせ、酵素反応を利用してこの不溶体中の植物病原菌を定量する方法を組み立てた。

背景・目的

土壌に有機物を施用したときに、特定の植物病原菌が増殖するかどうかを調べる良い方法がないため、今のところ施用有機物と土壌病害発生との関連を評価することがむずかしい。本研究では、酵素免疫測定法（EIAまたはELISA）を土壌生態系に応用して、施用有機物の安全性評価手法を確立する糸口を見出した。

内容及び特徴

- (1) カーネーション萎ちょう細菌病菌（*P.caryophylli*）の凍結乾燥菌体をリン酸緩衝食塩水に懸濁したのち、ウサギ静脈に注射して抗体（第一抗体）を産生させた。採血後、抗血清を加熱して補体成分を破壊したのち、 Na_2SO_4 分画、DEAEセルロースクロマトグラフィーにより精製抗体を得た。精製抗体と酵素標識抗ウサギ Ig G 抗体（第二抗体）を用いて、*P.caryophylli* の定量を行った。
- (2) *P.caryophylli* $10^2 \sim 10^5$ ng の範囲で良好な標準曲線が得られた（図1）。
- (3) 第一抗体は *P.caryophylli* とのみ特異的に反応し、土壌中に生息する一般の細菌（図1に *P.putida* の例を示す）とは反応しなかった。
- (4) 選択培地に出現する黄色コロニーを酵素免疫測定法を用いて検定することにより、土壌中の *P.caryophylli* を定量することができた（表1）。

活用面と留意点

- (1) 酵素免疫測定法と選択培地の組み合わせにより、有機物施用に伴う植物病原菌の増減を追跡することができる。
- (2) この方法は、植物病原菌にかぎらず、種々の土壌微生物の動態解析に応用できる。

キーワード

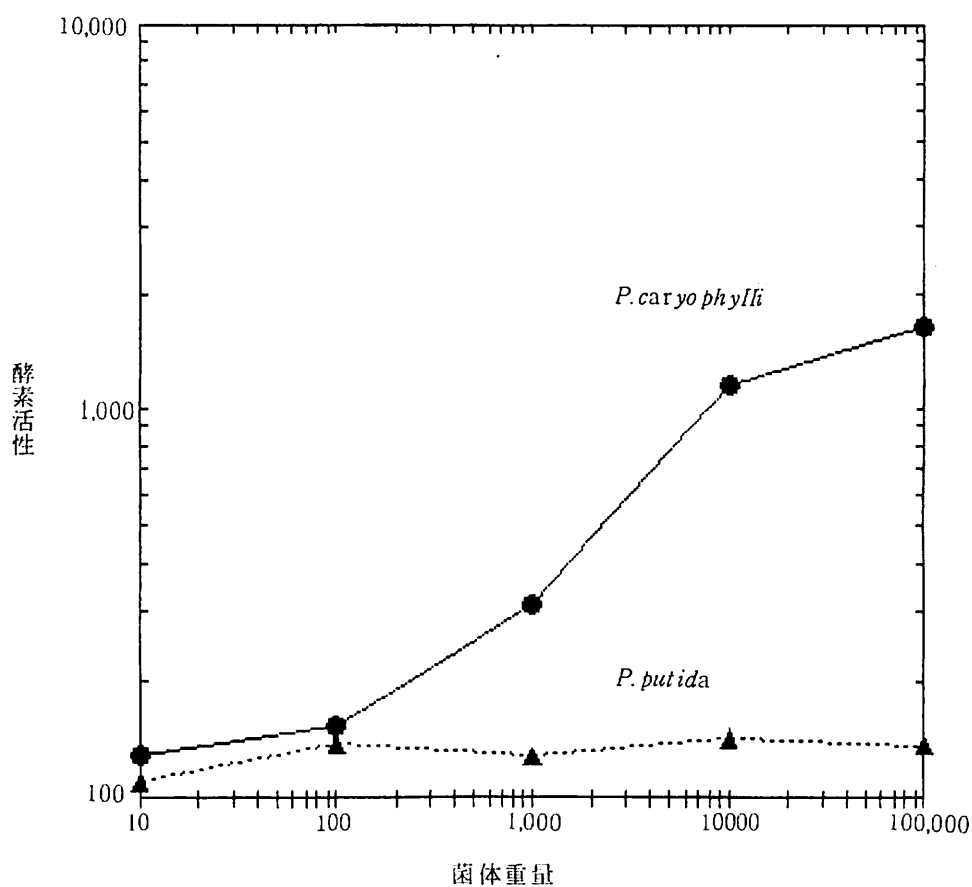
酵素免疫測定法、酵素標識抗体、植物病原菌、施用有機物

（菅原和夫，加藤邦彦）

表 1

試 料	黄色コロニーのうち <i>P.caryophylli</i> と判定 されたもの
土壌 + 稲わら	100 %
土壌 + 堆肥	100 %
土 壌	100 %

各試料に一定量の *P.caryophylli* を加え、回収率を調べた実験
での、判定結果を示す。

図 1 *P.caryophylli* の標準曲線