

○河辺邦正・根角博久*・Nguyen Thi Ngoc Truc**・Bui Thi Ngoc Lan**・Le Thi Thu Hong**・奥田 充***・田中裕子***・岩波 徹***・大貫正俊

LAMP 法によるベトナムの栽培カンキツからのカンキツグリーニング病原体の検出

Kawabe, K., Nesumi, H., Nguyen, T.N.T., Bui, T.N.L., Le, T.T.H., Okuda, M., Tanaka, Y., Iwanami, T. and Onuki, M.: Detection of Pathogen of Citrus Huanglongbing from the Samples Collected in Vietnam Using Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP)

LAMP 法によるカンキツグリーニング病 (HLB) の迅速診断技術が開発され、東南アジア等の本病多発地域での実用化が期待されている。そこで、2002 年にベトナム南部から採集したカンキツ試料群 (1 群) ならびに同年ベトナム南部、中部、北部のカンキツ栽培地から採集した試料群 (2 群) の 2 試料群について CTAB 法による DNA 抽出を行い、LAMP 法による HLB の病原検出を試みた。比較のため、総ての試料につき PCR による検出を合わせて行った。LAMP および PCR 反応にはそれぞれ、rpl プライマー (Okuda et al., 2005), OI プライマー (Jagoueix et al., 1994) を用いた (Fig. 1)。実験の結果、1 群 42 試料では LAMP と PCR の結果は完全に一致した (Table 1)。一方、2 群の 70 試料のうち、3 試料は PCR 陽性、LAMP 陰性であったため、これらの 3 試料を DNA 精製用カラムを用いて再精製後、再び LAMP 法による検出を行ったところ、明瞭な増幅バンドが得られた。以上の結果から、ベトナムの広範囲から採集したカンキツ試料について LAMP 法による HLB 診断が可能であることが確認された。

(国際セ沖縄・*長崎果試・**ベトナム南部果樹研究所・***九州沖縄農研)

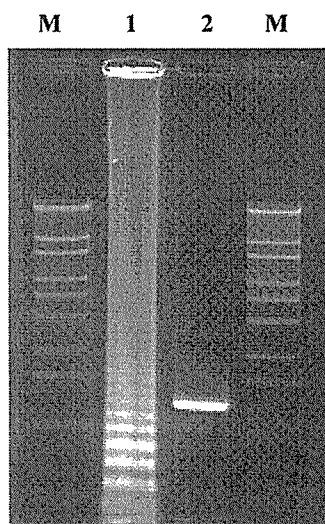


Fig. 1. Detection of HLB pathogen using LAMP and PCR

Lane M: DNA marker (λ /Sty I digest)

Lane1: Amplified DNA of HLB pathogen by LAMP using rpl primers

Lane2: Amplified DNA of HLB pathogen by PCR using OI primers

Table 1. Diagnosis of citrus leaf samples collected in Can Tho Province in Vietnam using LAMP and PCR

No.	Cultivar	Symptom	LAMP	PCR	No.	Cultivar	Symptom	LAMP	PCR
1	unknown	D, M, VY	+	+	22	Chanh Num	M, VY	+	+
2	Cam Mat	D	+	+	23	Cam Mat	D	+	+
3	Cam Mat	M, VY	+	+	24	Cam Mat	D	+	+
4	Cam Mat	None	+	+	25	Quy Duong	None	+	+
5	Cam Mat	D, VY	+	+	26	Quy Duong	D	+	+
6	Cam Mat	None	+	+	27	Quy Duong	None	+	+
7	Cam Mat	D	+	+	28	Cam Mat	D	+	+
8	Cam Mat	M	+	+	29	Cam Mat	None	+	+
9	Cam Mat	None	+	+	30	Quy Duong	D	+	+
10	Cam Sanh	D	+	+	31	Chanh Num	M	+	+
11	Cam Sanh	None	+	+	32	Cam Sanh	D, M	+	+
12	Cam Sanh	D, M, VC	+	+	33	Cam Sanh	M	+	+
13	Cam Sanh	None	+	+	34	Quy Duong	M	-	-
14	Cam Sanh	None	+	+	35	Quy Duong	D	+	+
15	Cam Sanh	D	+	+	36	Quy Duong	D	+	+
16	Buoi Num roi	M, VC	+	+	37	Quy Duong	D, M	+	+
17	Buoi Num roi	None	+	+	38	Quy Duong	D	+	+
18	Buoi Num roi	M, VC	+	+	39	Chang giay	M, VY	+	+
19	Quy Duong	M, VY	+	+	40	Chang giay	M	+	+
20	Cam Sanh	D, M	+	+	41	Buoi Num roi	M	+	+
21	Chanh Num	M	+	+	42	Buoi Num roi	M	+	+

+: HLB positive, -: HLB negative

D: Zinc/Manganese deficiency-like, M: Mottling, VY: Vein yellowing, VC: Vein corking