

ハイパースペクトルカメラによるイネ玄米種子から分離される 黄色細菌の識別

高井裕一郎・[○]上松 寛・松浦貴之(横浜植防)

1. はじめに

植物検疫では、自国の農業生産を保護するため、未発生病害虫が国内外から侵入・まん延することの防止を目的としている。近年の農産物輸出国の増加及び輸入植物の多様化等により、我が国の植物に発生したことのない病害虫が侵入する機会が増加している。特に、栽植用植物が病害に汚染している場合は、それがわずかであっても侵入・まん延の危険性が大きい。イネ玄米種子※を侵入経路とする *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (Xoc) は国内未発生の重要病原細菌であり、検定において分離集落の黄色は重要な識別ポイントであるが、イネ玄米種子からは多くの当該菌以外の黄色細菌が分離されるため、外観色のみでこれらを選抜することは困難である。また、*X. oryzae* には 2 種類の病原型が存在し (Parte 2020)、内 1 つは国内既発生病菌 (*X. o.* pv. *oryzae*:Xoo) であり、その識別は特に困難である。本試験では、ハイパースペクトルカメラでイネ玄米種子から分離される黄色細菌の種レベル及び病原型レベルでの識別の可否及び手法の検討を行った。

※遺伝資源用途のため、完全にモミを除去し、玄米化したもの。

2. 方法

始めに、*X. oryzae* を種レベルで識別可能か調査した。供試菌株は、*X. oryzae* 5 菌株及び *Pantoea ananatis* 2 菌株とした。YDC 培地又は PPGA 培地で培養し、ハイパースペクトルカメラ (NH-1) を用いてスペクトル情報を取得した。スペクトルカーブを比較し、解析に用いる波長及び解析方法を検討した。解析方法には、2 波長間の差分の比較 (傾き解析) 及び Spectral Angle Mapper (SAM) 解析を用いた。次に、上記で検討した方法で *X. oryzae* とイネもみから分離された黄色細菌 15 菌株を識別可能か確認した。最後に、病原型の識別について調査した。供試菌株は、Xoo 3 菌株及び Xoc 2 菌株とし、YDC 平板培地又は PPGA 平板培地で培養し、解析に用いる波長及び解析方法を検討した。

3. 結果と考察

スペクトルカーブを比較した結果、440 nm から 500 nm 付近で交差する傾向が確認されたことから、当該領域を解析の候補とした。傾き解析では、供試した両方の培地において、450 及び 500 nm の波長を使用することで *X. oryzae* と *P. ananatis* を明瞭に識別することができた。SAM 解析では、供試した両方の培地において、440–500 nm の領域で *X. oryzae* と *P. ananatis* を明瞭に識別することができた。また、これら検討した条件で *X. oryzae* とイネ玄米種子由来黄色細菌を識別することができた。病原型の識別では、YDC 培地上の菌体について、530–580nm の SAM 解析で Xoo と Xoc を識別することができた。傾き解析では解析に適する波長を見出すことができなかつた。また、PPGA 培地ではこれらの識別はできなかつた。

以上の結果から、本試験で検討したハイパースペクトルカメラによる 450 及び 500 nm の傾き解析並びに 440–500 nm の SAM 解析によって、*X. oryzae* とイネもみ由来黄色細菌を識別することができ、当該方法を用いた外観識別の有効性が示唆された。なお、病原型の識別については、菌株間差異にかかる検討を追加で実施する必要があると考える。

引用文献

Parte, A.C., Sardà Carbasse, J., Meier-Kolthoff, J.P., Reimer, L.C. and Göker, M. (2020) List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, Vol. 70, pp. 5607–5612.

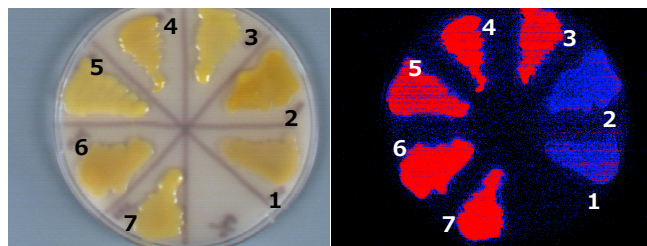


図 1. ハイパースペクトルカメラによる *X. oryzae* と *P. ananatis* の識別 (YDC 培地) (1–2: *P. ananatis*, 3–7: *X. oryzae*).