

3-3 花粉からの病原菌検出法の確立および花粉採取果樹の病害抵抗性判定

担当機関：鳥取大学農学部

目標

ナシ花粉における主要病原菌の汚染状況を調べ、また花粉採集に有望なナシ品種の主要病害に対する抵抗性判定を行うことにより、ナシ花粉の病原菌に汚染されるリスクを評価する。

材料および方法

<実験1：ナシ花粉からの病原菌の検出>

鳥取大学ナシ圃場で採取した国内花粉15品種および3社から購入した輸入花粉から生菌分離を行った。粗花粉10mgまたは純花粉1mgに滅菌水1mLを加えて60分間振とうして得た振とう液100μLをストレプトマイシン添加PDA培地（糸状菌選択培地）またはM-MS培地（火傷病細菌選抜培地）に塗布し培養した。培養後に出現した糸状菌および細菌コロニー数を数え、さらに出現コロニーの形態的および遺伝的同定を行い、主要病原菌（黒斑病菌、黒星病菌など）の判定を行った。

<実験2：花粉採取用ナシ品種の主要病害に対する抵抗性判定>

低温発芽能を有するナシ3品種（奈良吉野古木、土佐梨、今村夏）を供試した。黒斑病に対する抵抗性判定は切り取り葉に黒斑病菌の孢子接種および培養濾液処理を行い、病斑および壊死斑の有無により評価した。黒星病に対する抵抗性判定は苗木に黒星病菌の孢子接種を行い、葉上の分生子形成や病斑を観察し評価した。

結果および考察

<実験1：ナシ花粉からの病原菌の検出>

国内花粉の殆どにおいて、ストレプトマイシン添加PDA培地で糸状菌および細菌コロニーが出現し、M-MS培地では全く出現しなかった。3社の輸入花粉からも、PDA培地で多数の糸状菌および細菌コロニーが出現し、国内花粉と比較して多い傾向にあった（表1）。さらに輸入花粉からはM-MS培地でも多数の細菌コロニーの出現がみられた。

次にPDA培地からの分離菌155菌株の孢子を顕微鏡で観察した結果、12菌株において黒斑病菌と同様な孢子が観察されたので*Alternaria*属菌と同定した。分離菌の遺伝的同定を行った結果、黒星病菌と相同性を示す分離菌はなかった。また、形態的および遺伝的に*Alternaria*属菌と同定された分離菌の宿主特異的AK毒素生成能について検討した結果、全ての分離菌で生成能がみられず、非病原菌であった。さらに、M-MS培地からの分離細菌の遺伝的同定を行い、火傷病および枝枯細菌病菌特異的プライマーにより判定した結果、これらの病原細菌は検出されなかった。

<実験2：花粉採取用ナシ品種の主要病害に対する抵抗性判定>

花粉採取に有望なナシ3品種の切り取り葉に黒斑病菌の孢子接種および培養濾液処理を行った結果、病斑および壊死斑の形成は確認されなかった。

次に、各品種の苗木に黒星病菌の孢子を接種した結果、'今村夏'に分生子形成を伴う病斑がみられた一方、'奈良吉野古木'と'土佐梨'では病斑はみられなかった（図1）。しかし、孢子の接種方法や時期で病斑形成の有無に差があり、更なる検討が必要である。

表1. ナシ純花粉からの生菌分離

花粉	培養温度	コロニー数(花粉1mgあたり)			
		ストマイ添加PDA培地		M-MS培地	
		糸状菌	細菌	糸状菌	細菌
国内花粉(長十郎)	25℃	0	0	0	0
	30℃	0	0	0	0
国内花粉(幸水)	25℃	8.3×10^{-1}	0	0	0
	30℃	6.7×10^{-1}	1.7×10^{-1}	0	0
輸入花粉①	25℃	5.3×10^1	9.3×10^1	0	1.2×10^3
	30℃	3.0×10^1	5.7×10^1	0	1.2×10^3
輸入花粉②	25℃	7.5×10^1	4.2×10^1	0	5.1×10^2
	30℃	5.7×10^1	3.8×10^1	0	7.4×10^2
輸入花粉③	25℃	4.3×10^1	0	0	6.3×10^1
	30℃	2.3×10^1	0	0	1.0×10^2

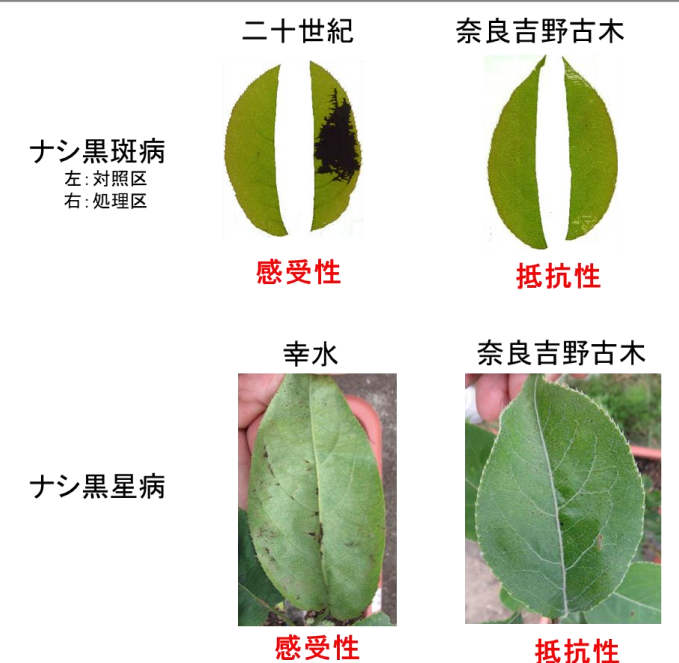


図1. ナシ重要病害の抵抗性評価

成果の要約

- 国内花粉は輸入花粉と比較して生菌分離による分離菌の出現数が少なかった。
- 国内花粉および輸入花粉ともに重要病害（黒斑病、黒星病、火傷病、枝枯細菌病）を引き起こす病原菌の汚染は確認されなかった。
- 国内で花粉採取用の有望品種として選抜された'奈良吉野古木'と'土佐梨'は、ナシ黒斑病・黒星病に対して抵抗性品種であることが示唆された。