

18. 土壌中における アブラナ科野菜こぶ病菌休眠孢子定量法の改良

中国農業試験場 環境部

要 約

土壌中のアブラナ科野菜根こぶ病菌休眠孢子を蛍光色素で染色し蛍光顕微鏡下で観察することにより、従来の定量法に比べ、簡便で容易な定量法を開発した。

背景・目的

アブラナ科野菜根こぶ病の防除対策を講じる上で、圃場の病原菌密度を知ることは重要である。そのための土壌検診法として、土壌中の休眠孢子密度から病原菌密度を推定する方法は、直接的で最も有効な方法と考えられる。しかし従来の休眠孢子密度の定量法は長時間の操作と熟練を必要としたので、より簡便で実用的な定量法を開発する必要がある。

内容及び特徴

- (1) 本定量法は、蛍光顕微鏡を利用することにより、土壌中における休眠孢子の識別が容易で観察に熟練を必要としない。
- (2) 本定量法は、従来の定量法に比べ、操作時間が短縮され（4日以上→5～6時間）、また、操作手順が簡易である。
- (3) 本定量法は、休眠孢子の検出精度が高く、また低濃度汚染土壌に対しても適用可能である。
- (4) 本定量法は、少量（10 g）の供試土壌で定量可能である。

活用面と留意点

本病の発生予察を行う上で、有用な手法としての利用が期待される。しかし、本病の発生は、土壌中の病原菌密度とともに、土壌pHやその他の要因によって大きく影響されるので、土壌中の休眠孢子密度のみに基づく本病の発病程度の予測は注意を要する。

キーワード

アブラナ科野菜根こぶ病，休眠孢子，定量法，*Plasmodiophora brassicae*

（高橋賢司，山口武夫）

土壤中における休眠孢子の定量法の操作手順

- ① 供試土壌10 g を ツィーン80 (0.05 %水溶液) と混合し 2 ～ 3 時間攪拌
↓
- ② 土壌懸濁液を 32, 60, 120, 200, 400メッシュの篩で順次ろ過
↓
- ③ ろ液を遠心分離(2,500rpm, 10分間), 沈澱物を蒸留水に懸濁
↓
- ④ 同上遠心分離操作を反復し, 100mlの被検液を作成
↓
- ⑤ 混合液を作成 { 被検液1ml, 蒸留水 1.5ml, カルコフラワー・ホワイト MR2 (0.1 %水溶液)
2.5ml }
↓
- ⑥ 落射蛍光顕微鏡下で休眠孢子数を調査, 休眠孢子の識別(蛍光色, ほぼ球形, 径3～5 μ m)

表1 低濃度汚染土壌における休眠孢子の定量

土壌に添加した 休眠孢子数 ($\text{g} \cdot \text{乾土}$) $1.0 \times$	回収された休眠孢子数 ($\text{g} \cdot \text{乾土}$)	
	実験 1	実験 2
10^6	1.1×10^6	1.1×10^6
10^5	1.2×10^5	0.8×10^5
10^4	5.5×10^4	1.1×10^4
10^3	6.1×10^3	6.1×10^3

注：供試土壌黒ボク土, 10 g

表2 各種土壌中における休眠孢子の定量

供試土壌 ^{a)} の 種 類	休眠孢子の回収率(%) ^{b)}	
	実験 1	実験 2
灰色低地土 (沖積土)	100.1	103.8
赤 色 土	103.1	101.6
黄 色 土 (砂壤土)	90.6	100.8
黄 色 土 (粘土質土)	105.3	102.4
黒 ボ ク 土	96.2	93.0

注：a) 供試土壌 10 g, 孢子濃度 1.0×10^7 個/ $\text{g} \cdot \text{乾土}$

b) 検出休眠孢子数/供試休眠孢子数