

34. アブラナ科野菜根こぶ病菌休眠胞子の活性評価法

中国農業試験場 環境部

要 約

アブラナ科野菜根こぶ病の休眠胞子の活性度を顕微鏡下で正確かつ簡易に評価する方法を確立した。

背景・目的

アブラナ科野菜根こぶ病において休眠胞子は伝染源及び接種源として極めて重要であり、休眠胞子の活性を正確かつ簡易に評価する方法が望まれている。しかし、本病菌が人工培養できないことと休眠胞子の発芽観察が困難なことから指標植物の発病度に基づく評価が行われている。そこで、顕微鏡下において直接的に休眠胞子の活性度を正確かつ簡易に評価する方法について検討する。

内容及び特徴

- (1) 休眠胞子を2種類の蛍光色素、カルコフルオール・ホワイトM2Rと臭化エチジウムの混合水溶液で染色し、落射型蛍光位相差顕微鏡（UV励起法、油浸）で観察すると、休眠胞子は細胞壁のみが青く染まる胞子（活性胞子）と細胞壁が青くかつ内部が赤く染まる胞子（不活性化胞子）に染分けられた。
- (2) 休眠胞子染分けに用いる染色液は、カルコフルオール・ホワイトM2R（濃度100 μ g/ml）と臭化エチジウム（濃度10-50 μ g/ml）の等量混合水溶液が適当であった。また染色時間が8時間までは胞子染分けに影響がなく、胞子染分け調査が可能であった。
- (3) 熱処理した休眠胞子と保存期間を異にする罹病根から調整した休眠胞子について、染分けられた活性胞子の割合とそれぞれの休眠胞子を接種源とする病原性との両者の相互関係を調べた結果、両者に高い相関性が認められ、染分けられた活性胞子の割合を測定することで胞子の活性評価が可能であると判断された。
- (4) 本法を用いて休眠胞子に対する薬剤の直接作用を調べたところ、石灰窒素とベノミルに活性低下効果が認められた。
- (5) 本法は、休眠胞子の活性検定法として、直接作用が検定できるだけでなく、検定時間が短く、検定精度が高く、簡易であるなどの特長を有する。

活用面と留意点

2種類の蛍光色素の濃度比により染分けられる活性胞子の割合が変化することから、一定濃度の染色液を用いることが必要である。蛍光顕微鏡観察は、位相差、油浸条件下で行うことが必要である。

キーワード

アブラナ科野菜、根こぶ病菌、休眠胞子

（高橋賢司，山口武夫）

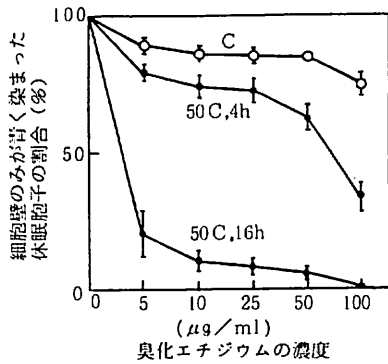


図 1. 蛍光色素臭化エチジウムの濃度による休眠孢子染色性の変化

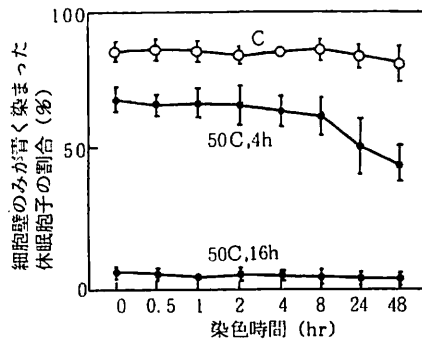


図 2. 染色時間による休眠孢子染色性の変化

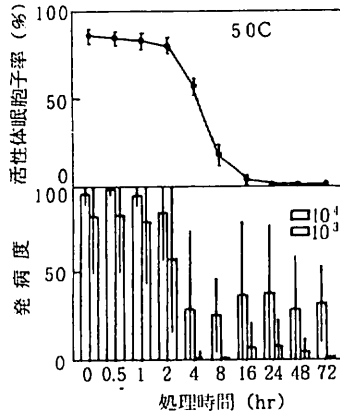


図 3. 50°Cで熱処理された休眠孢子的活性度と病原性の変化

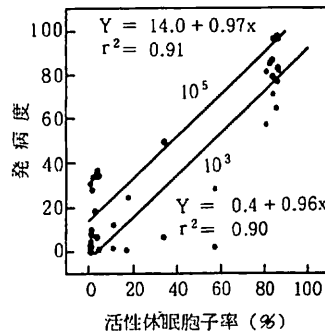


図 4. 熱処理された休眠孢子における活性度と病原性の相関関係

表 1 罹病根の冷凍保存による休眠孢子的活性度と病原性の変化

冷凍保存期間	活性休眠孢子 の割合 (%)	発 病 度		
		接種休眠孢子数 / g · 乾土		
		10 ⁷	10 ⁵	10 ³
3 カ月	84.9 ± 1.2	97.1	99.3	97.8
5 年 4 カ月	21.6 ± 2.0	97.5	93.5	58.4
8 年	17.4 ± 2.2	95.7	43.2	2.6