

日本産ダイズ茎疫病菌のレース判別体系の構築を目指して*

中央農業総合研究センター ^{もり}森 ^{わか}脇 ^{じょう}丈 ^し治**

はじめに

ダイズ茎疫病は多湿条件で発生する立枯れ性の土壤病害である。ダイズ茎疫病菌 (*Phytophthora sojae* Kaufm. & Gerd.) は品種に対して病原性の異なる系統 (レース) の存在が知られている。米国ではダイズのもつ 14 の茎疫病抵抗性遺伝子が同定され (DORRANCE et al., 2004), これらの抵抗性遺伝子型に基づく 55 レースが分離されている (Lertz et al., 2000)。

一方、日本国内のレースは十分に明らかになっていない。北海道に分布している *Ph. sojae* は 6 品種 (‘ゲデンシラズ1号’, ‘黄宝珠’, ‘トヨスズ’, ‘中生光黒’, ‘イイズ’, ‘キタムスメ’) に対する病原性から 10 レース (A~J) に (土屋ら, 1990), さらに 10 レースは 4 品種 (‘はや銀1’, ‘ゲデンシラズ1号’, ‘黄宝珠’, ‘キタムスメ’) で 4 レース群 (I~IV) に類別されている (白井, 2002)。上記の 6 品種を用いて兵庫県では 51 菌株を検定して 8 レース (北海道のレースとは異なる 4 レースを含む) に類別し (SUGIMOTO et al., 2006), 福井県では 11 菌株のうち 7 菌株を北海道の 3 レースに, 4 菌株を既存レースとは異なるとしている (平成 17 年度福井県農業試験場業務年報)。また, ダイズ品種間では茎疫病抵抗性に差異があり, 北海道では, ‘はや銀1’, ‘KLS733-1’ の 2 品種が道内に分布するレースすべてに抵抗性を示すことを明らかにし, 極抵抗性育種母材として利用している (土屋ら, 1990; 白井, 2002)。本研究では, 本病菌のレース判別体系を構築し, 国内のレース分布を明らかにすることを目的に, 農林水産省委託プロジェクト研究「低コストで質のよい加工・業務用農産物の安定供給技術の開発」により実施された。

北海道立中央農業試験場, 農業生物資源ジーンバンク (MAFF 235802 ~ 235804, 305922 ~ 305924), 福井県農業試験場, 兵庫県立農林水産技術総合センターからは

Aiming at the Construction of the Race Distinction System of Japanese *Phytophthora sojae*. By Jouji MORIWAKI

(キーワード: ダイズ茎疫病, レース, 分離・培養・保存法, 遊走子形成法)

* 本誌第 64 巻第 8 号 (2010 年) に掲載したものに一部加筆。

**現所属: 富山県農林水産総合技術センター園芸研究所

貴重な菌株を配布していただいた。ダイズ茎疫病菌菌株の収集にご協力いただいた各県や独法職員の方々に深く感謝の意を申し上げます。

I ダイズ茎疫病菌株の収集

2006 ~ 08 年にかけて北海道から山口県までの 14 道県からダイズ立枯れ株を収集し, *Ph. sojae* を分離した。主に転換畑で, 出芽期から莖葉展開期に立枯れた株や葉が黄化・萎凋し, 全身の活力が失われたようになり, 地際部が茶褐色から暗褐色の病斑を形成している株を収集した。

Ph. sojae の分離は以下の手順で行った。まず収集した立枯れ株を水道水で洗浄して土や汚れを落とし, ペーパータオルで挟んで水分を除去した。健全部と病斑部の境界を含む莖を 1 ~ 2 cm 大に切除し, これを 70% エタノールに 5 秒間浸漬して表面殺菌する。そのあと滅菌蒸留水で 3 度洗浄した組織片を滅菌ろ紙に挟んで室温に 1 時間程度おき, 乾燥させた。BNPRA-HMI 含有ダイズ粒平板培地 (MASAGO et al., 1977) に置床し, 25°C 暗黒下で 3 日程度静置した。組織片からサンゴ状に生育した疫病菌様の無隔壁菌糸の先端部を実体顕微鏡下で菌糸分離した。さらにその分離菌を滅菌した抗生物質検定用ろ紙 (ペーパーディスク薄手 φ 6 mm, ADVANTEC 社) をのせたダイズ粒寒天培地で前培養し, ろ紙上に生育させた菌糸片をダイズ粒液体培地に移し, 25°C 暗黒下で 2 日間培養した。生育した菌叢を Chen & Zentmyer's salt solution (CHEN and ZENTMYER, 1970) で 2 回洗浄したのち滅菌水に浸し, 蛍光灯下で一晩培養して形成させた遊走子のうから放出された遊走子を単孢子分離した。単孢子分離は, 3 ml 遊走子懸濁液を 100 倍希釈したダイズ粒寒天培地 (9 cm シャーレ) 上に添加, 水平台で室温に 2 時間静置したのち遊走子懸濁液を廃棄した。25°C 暗黒下で一晩培養し, シャーレの裏側から光学顕微鏡で発芽した単独の被のう胞子を探し, 印をつけ, 実体顕微鏡下で分離した。標準的なダイズ粒液体培地はコーヒーミルで粉碎したダイズ粒 (品種: ‘エンレイ’) 20 g を蒸留水で 30 分間煮出し, ガーゼろ過液を 1,000 ml に補正したのち, オートクレーブ滅菌した。分離や保存には 2% となるように, 接種には 1.5% となるように寒天 (和光純