

マツ葉枯性病害の簡易診断法の確立 —クロマツ針葉からの PCR を用いたマツ葉枯性病原菌の検出—

農林生産学科 准教授

木原 淳一

目 的

各都道府県には、郷土を代表する「県の木」が定められており、クロマツは島根県の県木となっている。また、島根県内の市町村において、松江市ではマツが、出雲市と江津市ではクロマツが「市の木」として定められている。クロマツは、日本の海岸に多く自生している一方、常緑針葉樹で塩害をはじめとした環境ストレスに強いため、海岸沿いや道路沿いに植林されているだけでなく、景観植物として、公共の場である庭園や公園、そして個人の家の庭にも多く植樹されている。一方、マツの針葉が枯れる葉枯性病害が島根県内でも多く認められている。葉枯性病害の原因となる病原菌は複数あり、また、それぞれの病原菌が引き起こす病気の病徴が類似していることから、診断が難しく、そのことが、マツの葉枯性病害の放置・拡大の要因になっていると考えられている。そこで本研究では、まず初めに、島根県内においてマツ葉枯性病害の調査を行い、島根県内で主要と考えられるマツ葉枯性病害の病原菌を分離・同定し、次に、遺伝子レベルでこれらの病原菌を検出する方法を確立することを目的とした。

研究成果

平成 26 年度は、島根県東部を中心として、松江市、安来市、出雲市、雲南市、奥出雲町、大田市、飯南町、美郷町、江津市の 6 市 3 町において主にクロマツにおける葉枯性病害の調査を行った。その結果、77 調査地のうち 63 カ所で、葉枯性病害の症状を確認した。葉枯性病害が認められた一部のクロマツ針葉を採集し、病原菌の分離及び同定を行った。ジャガイモ-デキストロース寒天培地上における病原菌胞子の形態、及び、リボゾーム DNA の部分塩基配列の解析から、褐斑葉枯病菌、葉ふるい病菌、セプトリア葉枯病菌、ペスタロチア葉枯病菌、及び、すす葉枯病菌を分離・同定した。

まず初めに、5 種類の病原菌のリボゾーム DNA の部分塩基配列を比較し、それぞれの病原菌で種特異的な塩基配列から、PCR 反応に用いるためのプライマー（フォワード/リバース）を作成した。プライマーの特異性を確かめるため、5 種類の病原菌から抽出した DNA を鋳型として、5 種類のプライマーを用いて PCR を行い、遺伝子の増幅の有無を調査した。その結果、5 種類のそれぞれのプライマーにおいて、対応する病原菌の DNA を鋳型とした場合のみ、遺伝子の増幅が認められたことから、今回作成した 5 種類のプライマーは、対応する病原菌を特異的に検出できることが示唆された。

次に、健全なクロマツ針葉からの DNA の抽出を行った。得られたクロマツの DNA を鋳型として、5 種類のプライマーを用いてそれぞれ PCR を行った結果、いずれにおいても、遺伝子の増幅は認められなかったため、クロマツの DNA を含むサンプルにおいても、病原菌の検出が可能であると考えられた。そこで、マツ葉枯性病害の症状が認められるクロマツ針葉を、①先端の枯れた部分 ②病斑部と健全部の境界部分 ③病徴の認められない健全部 に分けて DNA を抽出し、各部分における病原菌の検出を PCR を用いて行った。その結果、①先端の枯れた部分では 2 種類の病原菌が、②病斑部と健全部の境界部分では 4 種類の病原菌が、③病徴の認められない健全部では 1 種類の病原菌が検出された。一方、マツ葉枯性病害の症状がまったく認められないクロマツ針葉においては、5 種類の病原菌がまったく検出されないものが多かったが、いくつかのクロマツ針葉では、1 種類以上の病原菌が検出された。以上の結果か

ら、マツ葉枯性病害の症状がでていないクロマツ針葉において、マツ葉枯性病原菌がすでに潜在感染しており、内生菌としてクロマツ針葉内に存在している可能性が示唆された。その後、何らかの物理的・化学的な環境要因の変化や、新たな病原菌の感染が、宿主であるクロマツ針葉に影響を及ぼし、それまで内生菌であった糸状菌が病原菌としてマツ葉枯性病害を引き起こすのではないかと考えられた。したがって、このことが、複数の病原菌が1本のクロマツ針葉から検出される原因ではないかと推測している。今後、さらにこの点を明らかにしていきたい。

以上の結果、クロマツ針葉において、島根県内で主要と考えられる5種類のマツ葉枯性病害の病原菌の存在を遺伝子レベルで検出することが可能となった。

社会への貢献

今回、分離・同定した5種類のマツ葉枯性病害の病原菌は、病徴が認められないクロマツ針葉にも、一部が内生菌として生存している可能性が示唆された。したがって、マツ葉枯性病害の病徴が認められない段階で、病原となりうる内生菌の存在の有無をあらかじめ検査することで、病害の予防に役立つことが期待される。今後、さらに、検出精度を高めるとともに、対象とするマツ葉枯性病害の種類を増やし、安価に、短時間で、かつ多検体でマツ葉枯性病害の病原菌の検出が可能になれば、人の健康診断や検査と同じように、様々なクロマツ個体の検査・診断が可能になり、社会に貢献できると考えられる。

次年度に向けた検討状況

平成26年度は、島根県東部を中心として、マツ葉枯性病害の調査を行った。平成27年度は、島根県西部と隠岐地方でマツ葉枯性病害の調査を行う予定である。そして、本研究で確立した、マツ葉枯性病害の検出法を用いて、マツ葉枯性病害の症状が認められないクロマツにおける潜在的なマツ葉枯性病害の病原菌（内生菌）の広がりを明らかにしていきたい。また、マツ葉枯性病害の診断後に、マツ葉枯性病害を予防、及び、防除するための方法について、共同研究者と検討していく予定である。実際に、マツ葉枯性病害が認められるクロマツに対して農薬等を施用し、潜在的なマツ葉枯性病害の病原菌（内生菌）を長期間、モニタリングすることも計画している。将来的には、一般の方々から郵送等でクロマツ針葉を送ってもらい、診断後、結果を郵送することも視野に入れており、そのために、クロマツ針葉の異なる保存状況におけるマツ葉枯性病害の検出効率についても検討を行いたいと考えている。

公表論文

なし

学会発表等

木原淳一・上野 誠：島根県におけるマツ葉枯性病害に関する研究

生物資源科学部ミッション研究課題成果報告会 平成27年2月21日 くにびきメッセ（松江市）

受賞等

なし

外部資金

なし