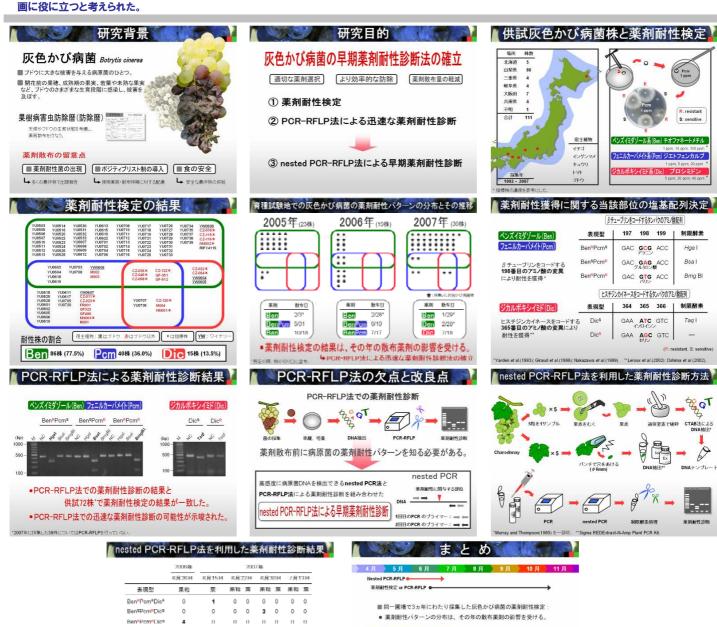


ブドウ灰色かび病菌の早期薬剤耐性診断法に関する研究

○齋藤 誠也、鈴木 俊二、高柳 勉 山梨大学 ワイン科学研究センター

【研究目的】今日の薬剤散布は、発生予察等の発展により適期防除法の確立がなされ、さらに、新しい化学薬剤も次々と開発されたことにより、農作物の安定した供給や労働力の軽減などに大きく貢献している。その反面、薬剤の連年使用や多使用により薬剤耐性菌の存在が顕著になっている。適切な薬剤散布を行なうためには、病原菌の薬剤に対する感受性を知る必要がある。そこで、本研究ではブドウ灰色かび病の病原菌であるブドウ灰色かび病菌に注目し、nested-PCR RFLP法を応用して、野外での灰色かび病菌の早期薬剤耐性診断の開発を試みた。

- ① 灰色かび病菌の薬剤耐性検定:薬剤耐性検定に供試した72株のうち、Ben耐性株は、51株(70.8%)、Pcm耐性株は、24株(33.3%)、Dic耐性株は13 株(18.1%)であった。このことから、野外の灰色かび病菌の多くはすでに薬剤耐性を有していることが明らかとなった。また2005年と2006年に採集した株において薬剤耐性菌の出現パターンが異なっていた。この結果は年度によって薬剤耐性菌の分布が変動することを示しており、早期薬剤耐性診断法の確立の必要性が示唆された。
- ② 薬剤耐性獲得に関与する遺伝子の塩基配列の決定:三剤に対してそれぞれの薬剤耐性獲得に関与する遺伝子の塩基配列の決定を行なった結果、1アミノ酸の変異によって耐性を獲得していることが示唆された。薬剤耐性菌と感受性菌での当該部位の塩基配列を利用し、PCR-RFLP法での薬剤耐性診断法の確立を試みた
- ③ 灰色かび病菌の早期薬剤耐性診断:制限酵素を使用し、PCR-RFLP法を用いた薬剤耐性診断法を開発した。PCR-RFLP法で得られた全72株の診断結果は、薬剤耐性検定の結果とすべて一致した。したがって、PCR-RFLP法での薬剤耐性診断が可能であることが示唆された。このPCR-RFLP法を応用し、さらに高感度であるnested PCR-RFLP法を開発し、野外での早期薬剤耐性診断を試みた。2006年6月下旬、2007年6月上旬から7月下旬に行なったnested PCR-RFLP法での野外調査の結果、ブドウ組織(果皮および葉:Eichorn-Lorenz growth stage 26-29)より7つの薬剤耐性灰色かび病菌が検出された(Table 1)。
- 以上の結果から、nested PCR-RFLP法を用いた灰色かび病菌の早期薬剤耐性診断法は、薬剤散布プログラムの変更や修正等、その年の総合防除法の計画に役に立つと考えられた。



Ben°PomªDio*

Ben*Pcm*Dic

頻度

1/10

nested POR-RFLP法での灰色かび病菌の早期薬剤耐性診断の可能性が示唆された
検出率の低さは(9.0 %: 7/78)、今後の誤論である。

0/10 0/10 2/10 0/10 0/10 0/10

■ nested PCR-RFI P法での反色かび宿前の

■ サンブル採集から診断まで8時間で行える。

薬剤散布前に診断が可能

早期薬剤耐性診断