



Title	ジャガイモ黒あし病菌の検出法および生態に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	青野, 桂之
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第14796号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/85179
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Aono_Yoshiyuki_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（農学） 氏名 青野 桂之

審査担当者 主査 客員准教授 大木 健 広
副査 教授 増田 税
副査 教授 近藤 則 夫
副査 講師 秋野 聖 之

学位論文題名

ジャガイモ黒あし病菌の検出法および生態に関する研究

ジャガイモ黒あし病は、世界中のジャガイモ生産ほ場で問題となっている細菌病である。国内では *Pectobacterium wasabiae* (Pw), *P. atrosepticum* (Pa), *P. carotovora* subsp. *brasiliense* (Pcb), *Dickeya dianthicola* (Ddi) および *D. chrysanthemi* の5種の細菌が同定されており、主な伝染経路は種間も伝染と考えられている。しかし、種間もは無病の培養苗から増殖されることから、ほ場の感染源から健全ジャガイモへの感染も起きていると推測されるが、直接的な証明はなされていなかった。本論文では、高感度な黒あし病菌検出法の開発とほ場における感染源・感染経路の解明を目的に、以下の研究を行った。

1. 様々な試料から黒あし病菌を高感度かつ効率的に検出できる BIO-PCR 法の開発

黒あし病菌を様々な試料から高感度に検出するため、菌の前培養と PCR による検出を組み合わせた BIO-PCR (biological-amplification and PCR) 法を開発した。まず、既報の PCR プライマーを組み合わせて反応条件およびプライマー濃度を最適化し、Pw, Pa および *Dickeya* sp. を検出するトリプレックス PCR を開発した。このトリプレックス PCR と Pcb を検出するシンプレックス PCR とを組み合わせて利用することで、黒あし病 5 菌種の検出を効率的に行うことが可能になった。次に、様々な試料の培養条件を検討し、半選択性培地 LEM (Liquid Enrichment Medium) を用いて所定の時間培養することで、増菌液から上記 PCR により黒あし病菌を高感度に検出できた。開発した BIO-PCR は、既報よりも作業時間が半分程度に短縮され、種間もや様々な環境試料から高感度に黒あし病菌を検出でき、多検体試料を効率的に検定できる。

2. ほ場での感染が疑われる黒あし病発生事例における保菌源・感染経路の特定

北海道の種間もほ場で発生した Ddi による黒あし病発病事例について、上記の BIO-PCR を用いて、保菌源や感染経路の探索を行った。発病株が見つかった場所に隣接した畔に自生するキク科雑草 (ヒメジョオン, アキタブキ, オオアワダチソウ, オオヨモギ) から BIO-PCR により Ddi を検出・分離した。また大雨時、畔の窪みに溜まった滞留水からも同様の手順で Ddi を分離した。rep PCR (repetitive sequence based PCR) による解析から、ジャガイモから分離した菌株は、ヒメジョオン, アキタブキまたは滞留水から分離した一部の菌株と遺伝的に同一と判定された。また、キク科雑草から分離した菌株は、ジャガイモへ病原性を示した。これらの結果から、キク科雑草に保菌されていた Ddi が、大雨時に発生した水と共に畔からほ場内へ流入し、ジャガイモに感染し発病したと推測された。ジャガイモほ場において Ddi の保菌源を特定し、その菌が黒あし病発病に関与した可能性を示した初めての知見である。

3. ほ場での黒あし病菌の保菌源の探索

Ddi がほ場周辺の雑草に感染していることが明らかになったことから、さらに黒あし病菌の保菌源を探索した。ほ場で採集した 8 科 19 種の輪作植物または雑草について BIO-PCR による検定を行い、ジャガイモ非栽培ほ場で採取したエンバク野生種, エゾノギシギシおよびノラニンジン

から Pcb を，アキタブキ，オオアワダチソウ，オオヨモギ，セイヨウタンポポから Ddi を分離した．これらの植物種に Pcb と Ddi を灌注接種したところ，根部への感染を確認した．また，分離した菌株のジャガイモへの病原性も確認した．以上の結果から，これまで報告のなかった植物種において Pcb および Ddi の感染を確認し，ほ場周辺で保菌源となっていることを明らかにした．

4. Pcb および Ddi の保菌雑草からジャガイモへの水を介した感染

Pcb および Ddi を灌注接種した雑草を栽培しているポットの流出水から，接種菌が検出された．そこで，保菌雑草のポットと健全なジャガイモのポットを同一トレイに置き，大雨時の冠水を再現するために湛水状態で5日間栽培したところ，ジャガイモの次代塊茎から接種菌が検出された．以上の結果から，Pcb と Ddi は保菌雑草から水を介してジャガイモに感染することが明らかとなった．

以上のように，本論文では高感度かつ省力的な黒あし病菌検定法を開発するとともに，開発した検定法を用いて黒あし病菌のほ場における生態の一端を解明した．特に，黒あし病菌の保菌源と水を介した感染経路に関する成果は，学術的に新知見であるだけでなく，本病の蔓延防止策の策定に資する知見であり，国内外でのジャガイモの安定生産への貢献が期待できる．よって，審査員一同は，青野桂之が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた．