

[成果情報名] トマトかいよう病菌選択培地 CMM 培地を用いた種子検定法

[要約] トマトかいよう病菌選択培地 CMM 培地を用いると、施設栽培の全身感染株から採種したミニトマト種子よりトマトかいよう病菌 (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) を検出することが可能である。

[キーワード] トマトかいよう病、種子検定、CMM 培地

[担当機関名] 農業試験場 環境部

[連絡先] 0736-64-2300

[部会名] 野菜・花き (野菜作物)

[分類] 研究

[背景・ねらい]

トマトかいよう病は種子伝染する細菌性病害である。本病の防除には健全種子の確保が不可欠であり、種子の検査態勢の強化が望まれる。そこで、選択培地として CMM 培地を用いた種子検定を検討する。

[成果の内容・特徴]

1. CMM 培地 (Alvarez and Kaneshiro, 1999、表 1) を用いると、施設栽培での全身感染株から採種した 2001 年産 (採種 5 年後) および 2006 年産 (採種 6 か月後) のミニトマト種子からかいよう病菌が検出される (表 2)。
2. リン酸バッファー (PBT : pH7.4、0.07M、0.02 % Tween20 添加) 12ml にミニトマト種子 2.4g (約 2000 粒) を 4℃ で一晩浸漬後、ストマッカーでホモジナイズした抽出液を CMM 培地に塗布して、26℃ で 4 ~ 5 日間培養する。
3. 菌液を CMM 培地に塗布後、26℃ で 5 日間の培養でコロニーの直径が 3mm 程度となり、黄色、正円形、平滑、ドーム状の特徴的なコロニーを形成する (図 1)。
4. 普通寒天培地を 100 としたときの CMM 培地の計数効率 は 57 である。
5. 少量のロットからの検出法として、ジルコニアビーズを入れたセイフロックチューブに種子 100 粒と PBT 1ml を入れ、4℃ で一晩静置した後にミキサーミルで 15 回/秒で 1 分間処理し (表 3)、この抽出液 100 μ l を CMM 培地に塗布し、26℃ で 4 ~ 5 日間培養する。
6. 5 の方法を用いると種子 1 粒からでもかいよう病菌の検出が可能である。種子 1 粒に対し、PBT200 μ l を用いる。上記 2006 年産種子 100 粒について 1 粒ずつ検定すると、40 粒からかいよう病菌が検出され、1 粒当りの菌密度の平均は 5.6cfu である。

[成果の活用面・留意点]

1. 扁平な黄色のコロニーが出現することがあるので、対照菌株を塗布し、形状を比較する。また、特異抗血清を用いて確認するのが望ましい。
2. 流通種子の保菌検査に本法を適用できる。また、病原菌の検出ロットについては汚染率も調査可能である。

[具体的データ]

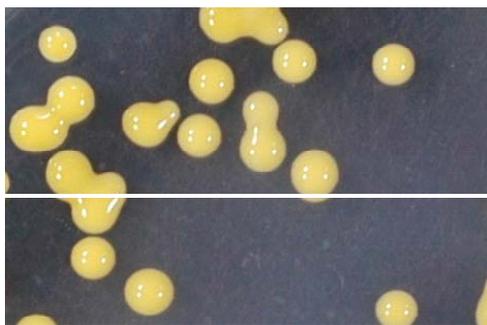
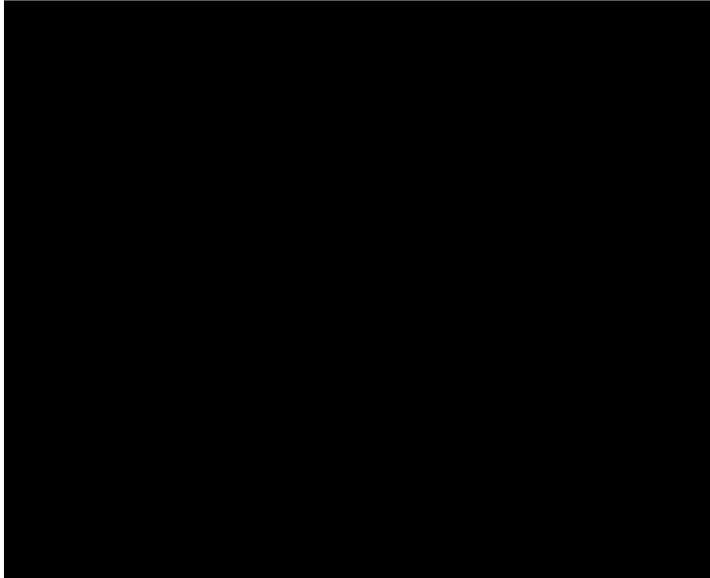


図1. CMM培地上のトマトかきよう病菌コロニー

表2. 100粒の種子からの検出

1粒当り菌密度 ^{a)} (cfu)	
浸漬+ミキサーミル処理	浸漬のみ
5.4	0.2

a) 平板培地2枚の平均

2006年産種子(4°Cで保存)を供試した。

浸漬+ミキサーミル処理: ジルコニアビーズを入れたセイフロックチューブに種子100粒を入れ、リン酸バッファー(pH7.4、0.07M、0.02% Tween20添加) 1ml中で4°Cで一晩浸漬した後に、ミキサーミル処理(15回/秒、30秒)し、抽出液100 μlをCMM培地に塗布し、26°Cで4~5日間培養する。

浸漬のみ: ミキサーミル処理を行わない。その他は、浸漬+ミキサーミル処理区と同様に処理する。

検出限界: 5.0cfu/g seeds

[その他]

研究課題名: 生産安定のための病害虫緊急防除対策

予算区分: 交付金(食の安全・安心確保)

研究期間: 平成17~19年

研究担当者: 大谷洋子、岡本晃久、増田吉彦

発表論文等: なし

