

植物防疫基礎講座：  
植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル 2016

## (8) ナスすすかび病

—ボスカリド剤（培地・生物・遺伝子検定）—

高知県農業技術センター わか だ とも ゆき  
岡 田 知 之

### はじめに

ナスすすかび病は葉に灰色の菌叢を生じる病害であり、多発すると落葉してナスの生育を阻害する。施設栽培で冬季の湿度が高い環境では特に発生が多い。高知県では9割以上の圃場で発生が認められ、既に DMI 剤および QoI 剤で耐性菌を確認している（矢野・川田，2003）。

ボスカリドはコハク酸脱水素酵素阻害剤（SDHI）に分類される殺菌剤であり、2005年にナスに登録された。当初はすすかび病に対し高い防除効果を示したが、2011年に耐性菌が認められた（岡田・下元，2016）。本稿では、ボスカリドに対するナスすすかび病菌の感受性検定法として、薬剤添加培地検定法、生物検定法、遺伝子診断法の三つを紹介する。検定の手順としては、まず薬剤添加培地検定法で網羅的に検定を行い、生育が確認された菌株について生物検定を行うとより精度が高くなる。また、遺伝子診断法については、現在確認している遺伝子変異（後述する SdhB の H268R）の検出にのみ使用できるものであることに留意する必要がある。

### I 高知県内における耐性菌の発生状況

2012年に遺伝子診断法により高知県内の29圃場を調査したところ、県東部の22圃場でボスカリド耐性菌が認められた。うち4圃場では耐性菌の割合が80%以上であり、圃場によっては優占していると考えられた。また、2014年12月から翌年1月にかけて県東部の6圃場24菌株を薬剤添加培地法にて検定したところ、ボスカリド耐性菌は3圃場で計4菌株認められた。

### II 薬剤添加培地検定法

本方法は、ボスカリドを添加した YB 培地に菌叢磨砕液を滴下して生育の有無から耐性の有無を判断する方法であり、櫻井ら（2011）のペンチオピラド感受性検定法

を参考にボスカリド用に改変したものである。単孢子分離が必要であるため、生育が遅いすすかび病菌の場合、病斑から直接単孢子分離しても検定結果が出るまで4週間ほどかかる。

#### 【手順】

##### 1 単孢子分離、前培養

単孢子分離には、まず病斑部をピンセットでちぎり取り（1cm角程度）、菌叢を PDA あるいは素寒天平板培地等に軽く押しつける。このとき培地上の異なる場所に3回ほど連続して押しつけると、徐々に培地上の胞子がまばらになり、釣菌しやすい。次に実体顕微鏡で培地上の胞子を観察し、他の胞子と離れた位置にある胞子を見つけて。それを白金針で釣り上げ、新しい PDA 培地に移す。25℃で5日ほど培養すると、菌糸の伸長が確認できる。単孢子分離後は PDA 斜面培地にて 20℃で数日間保管できる。

前培養として、まず PDA 培地にて 25℃で培養する。培養7日目には1cmほどの菌叢を生じるので、200 $\mu$ lの滅菌蒸留水を培地上に滴下し、白金針などで菌叢を培地全体に広げる。そこからさらに1週間、25℃で培養を行うことで、比較的平らで均一な菌叢を得ることができる。

##### 2 薬剤添加培地の調製

薬剤添加培地の組成は以下の通り。ボスカリドには、市販のボスカリド水和剤をジメチルスルホキシド（DMSO）に懸濁して用いる。

・ YB 培地（50 ml，1シャーレ，36菌株分）	
Bacto™ Peptone (Becton, Dickinson and Company)	.....0.5 g
Bacto™ Yeast Extract (Becton, Dickinson and Company)	.....0.5 g
寒天	.....0.75 g
蒸留水	.....50 ml
・ ボスカリド（有効成分 500 ppm）	
50%ボスカリド水和剤	.....10 mg
DMSO	.....10 ml
YB 培地を 121℃，10分間オートクレーブ後，DMSO に懸濁したボスカリドを最終濃度が 5 ppm となるよう	

Methods for Detection of Boscalid-resistant *Passalora natrassii* Isolates from Eggplant. By Tomoyuki OKADA  
(キーワード：耐性菌，ボスカリド，SDHI，すすかび病，ナス)