

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

# (11) チャ輪斑病菌の QoI 耐性検定 (生葉による生物検定)

静岡県農林技術研究所 茶業研究センター 生産環境科 **外 側 正 之**

## はじめに

チャ輪斑病は、糸状菌 *Pestalotiopsis* 属 (旧: *Pestalotia* 属) 菌によって生じるチャの代表的な病害であるが、2008 年度以降、鹿児島県 (富濱ら, 2009) および静岡県を中心として QoI 剤耐性菌が高頻度で発生・検出され、防除に支障を来している (外側, 2015)。今回は、生物検定法について述べるが、煮沸チャ葉を用いた方法については、既に山田 (2015) の掲載があるので、ここでは生葉を用いた検定法について述べる。

## I 使用器具

生葉を用いた検定法には、(1)葉が付いたままの苗木を使用する方法と、(2)樹体から切り離した生葉を使用する方法がある。前者では特別な器具は不要だが、後者の検定法には、カットフルーツやミニトマトの販売で使われるタイプのプラスチック容器と吸水性フローラルフォームが必要となる。具体的な商品名として、静岡茶研センターでは、125 mm × 125 mm × 54 mm のクリーンカップ (リスパック株式会社製) にフラワースタンド用オアシス® (スミザーズオアシスジャパン社製) を容器に合わせて適宜切断したものを使用している。

## II サンプリング

### 1 使用する病原菌のサンプリングおよび保管

一般的な組織分離法で罹病部と健全部との境から切片を切り取り培地上に置床して菌を分離してもよいし、山田ら (2010) の方法に従い、罹病葉を温室において分生子塊を形成させた後、分生子懸濁液を粗く画線培養し実体顕微鏡下で釣菌することで単胞子分離株を得てもよい。

得られた菌株は PDA 斜面培地などに植菌し、5°C 前後で保存する。*Fusarium* 菌などと違って、チャ輪斑病菌は PDA や PSA のような富栄養培地でも変異することが少なく長期保存が可能である。ただし、QoI 剤耐性菌に

ついては、保存中に耐性程度が変化することが時折見られる (外側, 未発表) ので、耐性菌を長期間保存する場合は、冷凍庫などでの保存を検討したほうがよい。

菌株を使用する際は、分離の場合と同様に PDA, PSA といった一般的な培地を用いて 25°C 付近で培養する。菌株によっては暗黒でも分生子塊 (黒い粘液状) を形成するが、形成状態が悪い場合には、窓際に置くとか BLB ランプを照射する等して分生子形成を促進させる。培養したシャーレに滅菌水を注ぎコーンラージ棒などで表面を軽く擦った後、ガーゼのような目の粗いもので濾すことで分生子懸濁液を作成する。輪斑病菌の分生子は 3 本の長い付属糸を持ち、この付属糸が互いに容易に絡まりあうため、脱脂綿やキムワイプ等のような目の細かいもので濾すのは回収率が非常に悪い。分生子懸濁液は  $10^4 \sim 10^5$  cells/ml 程度に調整する。 $10^3$  cells/ml 以下では、薬剤無処理の葉でも発病が不安定になるため、好ましくない。なお、輪斑病菌の分生子は懸濁液中で容易に沈殿するが、均一に分散させようとして攪拌を繰り返すと付属糸や分生子が折れたりするため、使用する直前に分生子懸濁液を作成し、速やかに供試することが望ましい。

### 2 接種に使用するチャ葉のサンプリング

まず重要になるのは葉の生育ステージである。展開したばかりの柔らかい黄緑色の葉は発病が不安定で好ましくなく、また、硬化しきった葉も発病が不安定になる。11 月～翌年 3 月くらいまでの葉が発病しにくいのも、硬化しすぎるためと考えている。以上から、完全に展開して硬化が始まってから 2 か月以内くらいの濃緑色の葉が使用に適している。なお、山田による煮沸葉を用いた方法 (山田, 2015) では葉の生育ステージは問わないため、11 月～翌年 3 月くらいまでに生物検定をしたい場合には、煮沸法を用いるべきである。

### 3 検定法の実際

#### (1) 葉が付いたままの苗木を使用する方法

展開葉が 10～20 枚程度付いた苗木が使いやすい。チャの苗木を育成していると、本圃と同様に、ダニやアブラムシ、ハマキ類等に加害されるので、しっかりと害虫防除を行って健全葉が十分確保されるようにする。また、温室内などで過湿状態が続くと、葉先から蒸れによ

Methods for Detecting QoI Fungicide Resistance in *Pestalotiopsis longiseta* (Pathogen of Gray Blight of Tea). By Masayuki TOGAWA (キーワード: チャ, 輪斑病, QoI 剤, アゾキシストロピン)