

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

(13) トマト葉かび病菌

—QoI 剤・ベンゾイミダゾール剤・ジエトフェンカルブ剤・SDHI 剤・DMI 剤—

岐阜県農業技術センター わた なべ ひで き 渡 辺 秀 樹

はじめに

葉かび病は、糸状菌 *Passalora fulva* によって引き起こされるトマトの主要病害の一つである。葉裏に褐色ピロード状の病斑を形成し、多発すると薬剤防除が難しく下葉から枯れ上がるため収量低下を引き起こす。岐阜県内の産地では、2007 年ころから本病の多発が問題になり、殺菌剤の効力低下が懸念された。そこで、QoI 剤（アゾキシストロピン）、ベンゾイミダゾール剤（チオファネートメチル）、ジエトフェンカルブ剤、SDHI 剤（ボスカリド、ペンチオピラド）および DMI 剤（トリフルミゾール）に対する感受性を調査した結果、これらの薬剤の多くで耐性菌の存在を確認した（渡辺, 2009；渡辺ら, 2010；渡辺, 2011；渡辺ら, 2012；2013）。本稿では、筆者が行っている培地検定および生物検定の方法を紹介する。

I 菌の分離方法

1 サンプルング

現地から罹病小葉を 1 施設につき 20 枚程度採取する。施設内の複数の地点から採取し、サンプル数は調査目的によって適宜加減する。葉かび病菌は、培地上の生育が遅く雑菌が多いと分離が難しくなるので、できる限り新鮮な罹病葉を採取する。本病が多発している条件下では、葉かび病の病斑上に白色のかびが観察されることがある（図-1、口絵①）。これは葉かび病菌に寄生する *Hansfordia palvinata* [syn. *Dicyma palvinata*] であり（渡辺ら, 2011）、本菌が寄生している罹病葉は分離に適さない。採取した葉は、紙封筒に入れて持ち帰るのがよい。すぐに分離できない場合には、封筒のまま室内で 1～2 日程度自然乾燥させた後、5～10℃前後の冷蔵庫で保存すれば、半年から 1 年程度は保存可能である。ポリ袋で

持ち帰った場合、数日程度は冷蔵庫で保存できるが、すぐに分離作業ができないときにはポリ袋から葉を取り出し、新聞紙などに広げて室内で 1～2 日間自然乾燥させた後、紙封筒に入れて冷蔵庫で保存する。

2 分離手順

ポテトデキストロース寒天培地（PDA）にストレプトマイシン 300 mg/l を添加して作製した分離用平板と滅菌綿棒を準備する。新鮮な病斑に綿棒の先端でほんのわずかに触れて分生子を綿棒先端に付着させたのち、平板培地に粗く画線する。付着量は綿棒の先端に肉眼でわずかに確認できる程度で十分で、多すぎると単胞子分離が難しくなる。シャーレ裏面から顕微鏡観察して単胞子分離可能な分生子を見つけたら、先の細いマーカーペンでシャーレに印を付けておく。25℃で 7～10 日程度培養すると、蒼色から褐色のコロニーが多数形成されるので（図-2、口絵②）、PDA 斜面培地に移植してさらに培養し、菌叢が広がったら冷蔵庫（5～10℃）で保存する。なお、古い病斑から分離すると培地上に雑菌の混入が多くなる。これらの雑菌は葉かび病菌より生育が速いものが多いため、できるだけ早く単胞子分離を行う。

II QoI 剤（培地検定・遺伝子診断）

ここでは、アゾキシストロピン感受性の検定方法について紹介する。

1 菌の前培養

葉かび病菌の QoI 剤に対する感受性検定には菌叢磨砕液を用いた方法が適しており（渡辺, 2009）、ベンゾイミダゾール系剤、ジエトフェンカルブ剤、SDHI 剤にも適用可能である（渡辺ら, 2012；2013）。検定の 2 週間以上前に、保存菌株を PDA 平板に移植して、25℃、暗黒下で前培養しておく。

2 検定培地の作製

QoI 剤感受性を薬剤添加培地で評価する場合、多くの糸状菌で代替酸化酵素（AOX）阻害剤を添加する必要がある。AOX 阻害剤を添加しないと、感受性菌であっても薬剤添加培地上で生育するため薬剤感受性を正確に評価できない場合が多い。石井ら（1999）は、キュウリ

Methods for Detecting Fungicide Resistance in *Passalora fulva*.

By Hideki WATANABE

(キーワード：トマト葉かび病, QoI, ベンゾイミダゾール, ジエトフェンカルブ, SDHI, DMI, 検定法)