

## [成果情報名]現場で可能な薬剤耐性灰色かび病菌の簡易検定法

[要約]灰色かび病の薬剤耐性菌は、ダイコンディスク、紙・プラカップおよび綿棒を用いた方法により、現場で簡易・明瞭に検定できる。

[キーワード]灰色かび病、耐性菌、簡易検定、ダイコンディスク、カップ、綿棒

[担当]農業技術部、資源循環研究室、発生予察グループ

[代表連絡先]電話083-927-0211

[研究所名]山口県農林総合技術センター

[分類]研究成果情報

---

### [背景・ねらい]

トマトなどの園芸作物に発生する灰色かび病において、防除薬剤が効かない薬剤耐性灰色かび病菌（以下、耐性菌）が発生し問題となっている。県内の耐性菌の発生動向を把握するため計画的な耐性菌検定を実施しているが、防除薬剤を効果的に使用するためには圃場ごとの耐性菌の発生状況の把握が有効である。また、既報告のキュウリ果実などを使用した簡易検定法は有効であるが、果実の腐敗や菌糸の生育状況などにより判定しにくい場合がある。

そこで、菌の分離や複雑な検定培地作成などの作業を必要とせず、現場で簡易に実施でき、耐性菌または感受性菌であるかの明瞭な判定が行える検定法を開発する。

### [成果の内容・特徴]

1. ダイコン、紙・プラカップおよびポテトデキストロース寒天（PDA：ジャガイモ+ブドウ糖+寒天）培地をしみ込ませた綿棒を利用した簡易検定法で、紙コップ底面上への灰色かび病菌の菌叢生育の有無により耐性菌または感受性菌の判別ができる（図1）。
2. チオファネートメチル水和剤、プロシミドン水和剤、チオファネートメチル・ジエトフェンカルブ水和剤を用いた本法と慣行法（植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル, 1998年）による検定結果は一致する（表1）。
3. ダイコンは、キュウリ、トマトなど他の野菜果実より腐敗しにくく（データ省略）、ダイコンの胚軸部（この部分がより腐敗しにくいため）を使用してダイコンディスクを作成し、検定に用いる（表1、図1）。
4. 平均気温の上限が15℃程度までの時期（山口県では10月下旬～4月）に、7～10日程度培養すると、耐性菌では灰色かび病菌の菌叢が紙コップ底面上まで拡がり、感受性菌との判別ができる（表2、図1）。
5. 本検定法は、1カップあたり10円程度（消耗品）で実施できる（データ省略）。

### [研究の活用面・留意点]

1. 本法は、ダイコンディスクにおける雑菌の繁殖を少なくするため、気温の上限は20℃以下とする。また、気温が10℃を下回る場合は、暖房器具などを用いて気温を調節する。なお、早ければ、接種後5日程度で紙コップ底面上への菌叢生育が認められるが、1週間程度で菌叢に分生子が形成されはじめて灰色に変色するため、より明瞭な判別ができる。
2. 本法を行う際は、無菌作業は必要ないが、使い捨て手袋や消毒用のアルコールなどを使用し、雑菌の影響を少なくするように気をつける。
3. 今回供試した3種薬剤については検定できるが、他剤についてはあらかじめ研究機関において検定の可否を確認する必要がある。

[具体的データ]

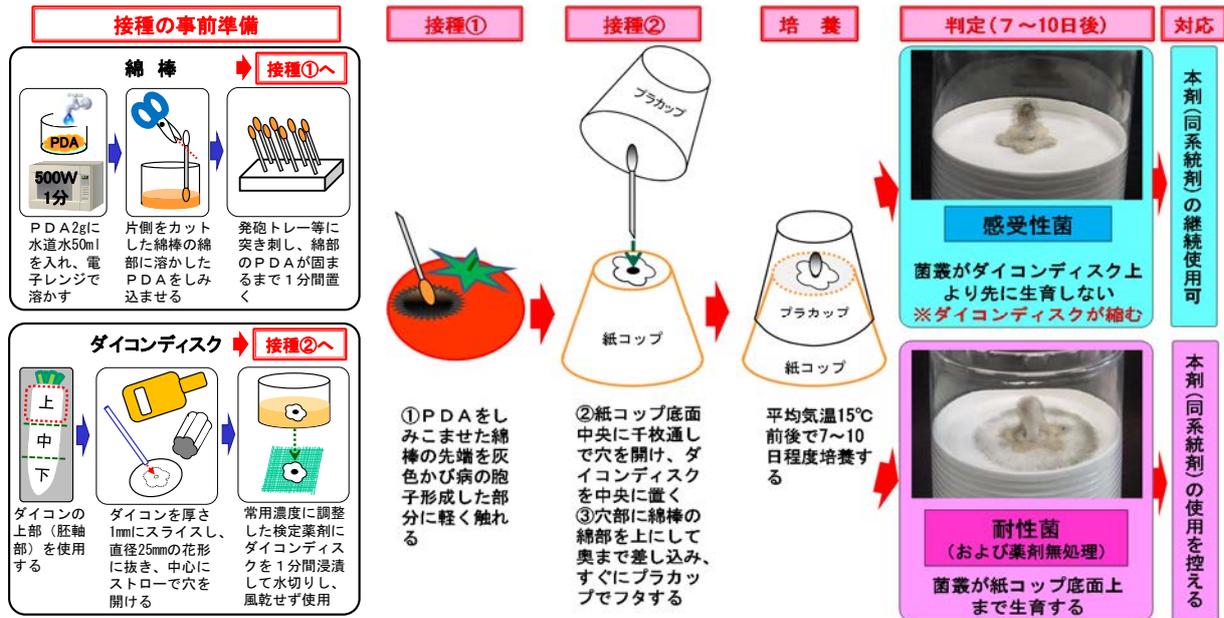


図1 薬剤耐性灰色かび病菌簡易検定法のイメージ

表1 簡易検定法でDAIKONDISKに使用する部位が判定に与える影響(2013)

菌株 <sup>1)</sup>	検定薬剤 <sup>2)</sup>	簡易検定法でDAIKONDISKに使用する部位									慣行法 <sup>4)</sup>
		上部(胚軸部)			中部(根上部)			下部(根下部)			
		回復	1	2	3	1	2	3	1	2	
ト-4	無処理	+	+	+	+	+	+	腐	腐	腐	+
	チオファネートメチル水和剤	-	-	-	-	-	-	腐	腐	腐	-
	プロシミドン水和剤	+	+	+	+	+	+	-	腐	-	+
	チオファネートメチル・ジエトフェンカルブ水和剤	-	-	-	-	-	腐	-	腐	腐	-
ト-6	無処理	+	+	+	+	+	+	腐	腐	腐	+
	チオファネートメチル水和剤	+	±	+	+	+	+	腐	腐	腐	+
	プロシミドン水和剤	-	-	-	-	-	腐	腐	腐	腐	-
	チオファネートメチル・ジエトフェンカルブ水和剤	-	-	-	-	-	腐	腐	腐	腐	-

- 1) 菌株は、単胞子分離して得られたトマト灰色かび病菌株(ト-4)とキュウリ灰色かび病菌株(キ-6)。
- 2) 簡易検定法は、チオファネートメチル水和剤1, 500倍、プロシミドン水和剤1, 000倍、ジエトフェンカルブ・チオファネートメチル水和剤1, 000倍で実施。慣行法は、チオファネートメチル100ppm、プロシミドン5ppm、ジエトフェンカルブ10ppmで実施(2012)。
- 3) 簡易検定法は、室温で10日間培養後の紙コップ底面上への菌叢生育の有無により判定。+: 菌叢生育が認められる、-: 菌叢生育が認められない、腐: DAIKONDISKが腐敗し菌叢生育の判定ができない。
- 4) 慣行法で、ジエトフェンカルブに耐性「+」でチオファネートメチルに感受性「-」、または、ジエトフェンカルブに感受性「-」でチオファネートメチルに耐性「+」の場合は、チオファネートメチル・ジエトフェンカルブ水和剤の評価を「-」とした。

表2 簡易検定法における気温・培養日数の違いが菌叢生育の有無と判定に与える影響(2013)

培養日数	気温 <sup>1)</sup>				
	10℃	15℃	20℃	25℃	30℃
5日	- <sup>2)</sup>	-	+	判定不能	判定不能
7日	-	+	+(雑)	判定不能	判定不能
10日	+	+	判定不能	判定不能	判定不能
13日	+	+(雑)	判定不能	判定不能	判定不能

- 1) インキュベーターにて、終日一定気温、暗黒下で管理
- 2) 単胞子分離したトマト灰色かび病菌(2012)の紙コップ上への菌叢生育の有無により判定。+: 菌叢生育が認められる、-: 菌叢生育が認められない、雑: 雑菌繁殖、判定不能: 雑菌繁殖により菌叢生育の判定不能

(吉原茂昭)

[その他]

研究課題名: 現場で可能な薬剤耐性灰色かび病菌の簡易検定法  
 予算区分: 県単  
 研究期間: 2011~2013年度  
 研究担当者: 吉原茂昭、唐津達彦