新技術解説

ダイズ紫斑病菌の液体培養菌糸を用いた紫斑粒の形成方法

青森県産業技術センター農林総合研究所　岩間俊太（いわま　としたか）

はじめに

近年，ダイズ紫斑病菌（*Cercospora kikuchii*）では，アゾキシストロビン水和剤（QoI剤）に対して，感受性低下を示す培地検定の結果（関原ら，2017；佐々木ら，2020）およびチトクローム *b* 遺伝子の変異（佐々木ら，2020）が報告されている。このような特徴を示す菌株が分離された場合に，QoI剤耐性菌かどうかを判断するためには生物検定による薬剤の効力低下の確認が求められる。

本菌では平板培地上での分生子形成法（鈴木・藤田，1979）が確立されていることから，分生子を用いた噴霧接種による生物検定が可能である。この方法によると，分離直後の紫黒色菌叢は分生子を形成しやすいが，3週間以上の継代培養時に出現する白色菌叢は分生子を形成しないため，紫黒色菌叢の維持に約2週間ごとの選抜移植があらかじめ必要となる（藤田・小山，1977；鈴木・藤田，1979；藤田，1995）。さらに，分生子を得るまでには，選抜移植菌叢の前培養，前培養菌叢片の移植・平板培養および気中菌糸除去後の光照射下と暗黒下での培養が必要となる。前培養（直径約3 cmの菌叢を得るまで）に25℃で7日間程度を要するとしても，その後の培養過程において，さらに22～30日間（藤田，1995）もしくは19～22日間（鈴木・藤田，1979）を要する。

このほかの接種方法では，培養菌叢片を莢上に置き，莢全体をパラフィン紙で覆う方法（Murakishi, 1951）もある。この方法では菌叢の種類は問わないが，作業が煩雑であり，接種莢数を増やして調査粒数を多く確保する必要がある試験には不向きである。また，接種源を得るまでの培養期間として，前培養に約1週間，さらに前培養菌叢片の移植・平板培養で菌叢が培地表面全体を覆うまでに約3週間，計約4週間を要する。

そこで本稿では，本菌の液体培養菌糸をダイズの若莢に塗布接種して紫斑粒を形成させる方法（岩間，2020）を紹介し，今後，生物検定などが行われる際の参考に供したい。本方法では，分生子形成能の菌株間差を考慮せずに，長期間保存している通常の菌株を使用することができる。また，液体培養菌糸は，斜面培地保存菌株の平板培地への移植・前培養に約1週間，振とう培養に約1週間，計約2週間で得られ，あらかじめ前培養菌叢を準備しておけば振とう培養期間のみで得られる。本方法により，菌株の準備に係る作業の省略や培養期間の短縮が可能となり，開花期の確認後に前培養を開始しても，莢の感染適期にあたる開花期12～37日後（藤田，1990）に合わせた接種源の準備が容易となる。以下に，2019年および20年に行った試験方法とその結果を記す。

1　試験方法

1　供試ダイズ株の養成

供試ダイズ株の養成は，雨が直接あたりにくいガラス屋根付きの網室内で行った。供試品種は青森県における主要品種の‘おおすず’（紫斑病抵抗性：弱）とした。播種時期は慣行栽培（本県では5月下旬～6月上旬播種）におおむね合わせ，2019年（以下，試験1）には6月11日に，2020年（以下，試験2）には6月2日に播種した。いずれも園芸培土10 *l*（商品名「ソイルフレンド」，三研ソイル株式会社）を充てんした1/2,000 aワグネルポットを用いた（図-1a）。はじめに2箇所に約10 cm離して1穴当たり2粒ずつ播種し，初生葉展開期頃に葉形が健全で生育が揃った株を残して2本植えとなるように1箇所当たり1株に間引きした（図-1a）。

なお，普段の灌水管理と強風によるポットの転倒防止を兼ねて，3ポットずつ浅型のコンテナ（縦62 cm×横41 cm×深さ12 cm）に入れてポットを固定した（図-1a）。さらに，株の倒伏防止のために支柱（長さ約130 cmの細めの園芸用支柱）を挿し（図-1b），これに主茎を伸長にあわせてビニタイで2，3箇所固定した（図-1b，c）。

このように養成したダイズ株は，密植状態となるために株が徒長・大型化しやすくなる（図-1c）。そのため，接種の数日前には，作業性の向上や開花後日数をなるべ

A Formation Method of Purple Stained Seeds Using *Cercospora kikuchii* Hyphae Grown in Submerged Culture.　By Toshitaka Iwama

（キーワード：*Cercospora kikuchii*，液体培養菌糸，ダイズ，紫斑粒）

非会員閲覧