

## 岡山県におけるチオファネートメチル,ジエトフェンカルブ及びアゾキシストロビンに対するキュウリ褐斑病菌の感受性

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者	伊達, 寛敬 片岡, 英子 谷名, 光治 佐々木, 静江 井上, 幸次 那須, 英夫 粕山, 新二
巻/号	70巻1号
掲載ページ	p. 10-13
発行年月	2004年2月

## 岡山県におけるチオファネートメチル, ジエトフェンカルブ及びアゾキシストロビンに対するキュウリ褐斑病菌の感受性

伊達 寛敬<sup>1\*</sup>・片岡 英子<sup>2</sup>・谷名 光治<sup>1</sup>・佐々木静江<sup>1</sup>・井上 幸次<sup>1</sup>・那須 英夫<sup>1</sup>・粕山 新二<sup>1</sup>

### ABSTRACT

DATE, H.<sup>1\*</sup>, KATAOKA, E.<sup>2</sup>, TANINA, K.<sup>1</sup>, SASAKI, S.<sup>1</sup>, INOUE, K.<sup>1</sup>, NASU, H.<sup>1</sup> and KASUYAMA, S.<sup>1</sup> (2004). Sensitivity of *Corynespora cassicola*, causal agent of *Corynespora* leaf spot of cucumber, to thiophanate-methyl, diethofencarb and azoxystrobin. Jpn. J. Phytopathol. 70: 10-13.

Sensitivity of *Corynespora cassicola*, causal agent of *Corynespora* leaf spot of cucumber, isolated from cucumber plants in Okayama Prefecture to thiophanate-methyl (T) and diethofencarb (D), and azoxystrobin (A) was investigated using the minimum inhibitory concentration (MIC) method and a bioassay. With the MIC method, 29 isolates among 193 isolates were highly resistant to both T and D. In the bioassay test, an isolate resistant to A was isolated from cucumber plants in a field. This report is the first on isolates of the causal fungus that are highly resistant to both T and D and the second report on isolates resistant to A.

(Received July 2, 2003; Accepted August 27, 2003)

**Key words:** cucumber, *corynespora* leaf spot, *Corynespora cassicola*, sensitivity to fungicides.

キュウリ褐斑病は我が国では1918年に記載された病害であり(金野, 1918), 1970年代後半までほとんど問題とされなかった。しかし, 1980年代以降, 関東以西の夏秋栽培キュウリを中心に多発生したことから, 発生生態や防除対策について検討された(狭間, 1990)。岡山県でも1976年にキュウリ褐斑病が初確認され, 主要作型の夏秋栽培で被害が大きかったことから, 薬剤防除として, ジエトフェンカルブ・チオファネートメチル剤やべと病, うどんこ病との同時防除剤であるストロビルリン系薬剤が使用されていた。しかし, 罹病性品種の栽培が多いために病勢進展が早いことと薬剤の防除効果が不十分であることから, 岡山県では多発生している産地もあった。他県における多発生要因の1つとして, 薬剤耐性菌の出現が報告されている(狭間, 1991; 狭間・佐藤, 1996)。

そこで, 岡山県内のキュウリ産地からの褐斑病菌分離菌を供試して, チオファネートメチル剤, ジエトフェンカルブ剤及びアゾキシストロビン剤に対するキュウリ褐斑病菌の感受性を検討した結果, チオファネートメチル剤高度耐

性菌株が検出され, 一部の菌株はジエトフェンカルブとチオファネートメチルの両剤及びアゾキシストロビン剤に耐性を示すことが確認されたので報告する。

**病原菌の分離及び供試菌株** 岡山県内でキュウリ褐斑病が多発生したキュウリ圃場から罹病葉を採集し, 水洗後表面殺菌した新鮮な病斑の細片を500 ppm ストレプトマイシンを含むショ糖加用ジャガイモ煎汁寒天(PSA)の平板培地に置床した。25°Cで5日間培養後, PSA斜面培地に移植し, 各菌株について単孢子分離(狭間, 1998)を行った。岡山県中北部の22圃場から分離した193菌株を供試し(第1表), チオファネートメチル剤, ジエトフェンカルブ剤及びアゾキシストロビン剤に対する感受性を検定した。また, 生物検定試験には, 2000年は193菌株中から感受性の異なる8菌株(試験1)と2001年は2圃場から分離したそれぞれ5, 3菌株の計8菌株(試験2)を供試した。

**MIC法による薬剤感受性検定** チオファネートメチル水和剤(原体含率70%), ジエトフェンカルブ水和剤(原体含率25%)及びアゾキシストロビン水和剤(原体含率20

<sup>1</sup> 岡山県農業総合センター農業試験場(〒709-0801 岡山県赤磐郡山陽町神田沖1174) Agricultural Experiment Station, Okayama Prefectural General Agriculture Center, Sanyou-chou, Okayama 709-0801, Japan

<sup>2</sup> 元: 岡山県農業総合センター農業試験場(〒709-0801 岡山県赤磐郡山陽町神田沖1174) Previous address: Agricultural Experiment Station, Okayama Prefectural General Agriculture Center, Sanyou-chou, Okayama 709-0801, Japan

\* Corresponding author (E-mail: hiro-taka-date@pref.okayama.jp)

%)を供試し、1000, 100, 10, 1 ppmの濃度に設定し、挟間の方法(1998)に準じて菌糸生育に対する最小生育阻止濃度(以下、MICと略す)を求めた。193菌株のチオファネートメチル剤に対する感受性検定の結果、MIC別の菌株割合は、1000 ppm以上が97%, 100 ppmが1%, 10 ppmが3%であった。ジエトフェンカルブ剤のMIC別の菌株割合は、1 ppm以下が82%, 1000 ppm以上が18%であった。さらに、両剤のMICが1000 ppm以上の株は15%あった。一方、193菌株に対するアゾキシストロビン剤のMICは1000 ppm以上であった。

挟間・佐藤(1996)はベンゾイミダゾール系薬剤の活性体であるカルペンダジムに対する*C. cassicola*の感受性のベースラインをMIC 0.08~1.25 ppmとし、10~100 ppmの菌を中等度耐性菌、100 ppm以上の菌を高度耐性菌とした。この基準にしたがってキュウリ褐斑病菌193菌株を類別すると、高度耐性菌(HR)187菌株、感受性菌(S)が6菌株であった。一方、ジエトフェンカルブ剤に対しては

158菌株が感受性菌(S)であったが、15%に相当する29菌株がジエトフェンカルブ剤とチオファネートメチル剤の両剤の耐性菌(HR・R)であった(第1表)。これまで、キュウリ褐斑病菌ではベンゾイミダゾール系薬剤に中等度耐性でジエトフェンカルブ剤に耐性の菌株(MR・R)が報告されているが(挟間・佐藤, 1996)、ベンゾイミダゾール系薬剤に高度耐性でジエトフェンカルブ剤に耐性の菌株(HR・R)は我が国では初報告である。

一方、ストロビルリン系薬剤の耐性菌の出現が1999年にウリ類うどんこ病菌(石井ほか, 1999; 小笠原ほか, 1999; 高橋, 1999; 武田ほか, 1999; Ishii *et al.*, 2001)、キュウリベと病菌(石井ほか, 1999; 武田ほか, 1999)、2000年にナスすすかび病菌(矢野・川田, 2000)で報告されている。このうち、培養できるナスすすかび病菌のストロビルリン系薬剤に対する感受性検定が希釈平板法によるMICで判定可能である。そこで、MICによってアゾキシストロビン剤に対するキュウリ褐斑病菌の感受性検定を行った。供試

第1表 岡山県におけるキュウリ褐斑病菌のチオファネートメチル剤及びジエトフェンカルブ剤に対する耐性菌の分布<sup>a)</sup>

産地	圃場 No.	供試菌株数	チオファネートメチル剤高度耐性・ジエトフェンカルブ剤感受性菌率(%) (HR, S <sup>b)</sup> )	チオファネートメチル剤高度耐性・ジエトフェンカルブ剤耐性菌率(%) (HR, R <sup>b)</sup> )
川上町	1	7	86	0
	2	12	92	0
	3	14	100	0
	4	4	75	0
	5	10	100	0
	6	12	83	17
吉井町	1	11	100	0
	2	12	100	0
	3	10	100	0
	4	5	40	0
建部町	1	5	100	0
	2	14	50	50
	3	6	17	83
	4	8	0	100
	5	5	100	0
	6	7	71	29
	7	5	80	20
北房町	1	7	86	14
	2	8	63	37
	3	11	100	0
美星町	1	10	100	0
落合町	1	10	100	0
全体		193	82	15

a) 2000年の調査による。

b) 挟間・佐藤(1996)の表記による。

した193菌株はいずれもアゾキシストロビン剤1~1000 ppm含有PSA上で同程度の菌糸伸長を示したことから、キュウリ褐斑病菌に対するMICによる感受性判定は困難と判断された。

**生物検定による薬剤感受性** チオファネートメチル剤感受性・ジエトフェンカルブ剤耐性菌(S・R)、チオファネートメチル剤高度耐性・ジエトフェンカルブ剤感受性菌(HR・S)及びチオファネートメチル剤、ジエトフェンカルブ剤の両剤に対する耐性菌(HR・R)を任意にそれぞれ2, 3及び3菌株の計8菌株を供試し、生物検定により薬剤に対する感受性を検討した。すなわち、本葉3葉期のキュウリ(つや太郎)苗を用い、チオファネートメチル水和剤の1500倍希釈液、ジエトフェンカルブ・チオファネートメチル水和剤の1000倍希釈液を接種12時間前に十分量(約10 ml/株)散布した。各処理区ともキュウリ苗を5株供試した。そして、約 $10^3$ 個/mlに調整した各菌株の分生子懸濁液(ツイン20を加用)を株当たり5 ml噴霧接種後、最低温度を25°C、換気温度を30°Cに設定したガラス室内で3~4日間温室条件で栽培した。接種4日後に1, 2葉の全病斑数を調査し、第2表に示す式で防除価を求めた。S・R菌接種区ではチオファネートメチル水和剤とジエトフェンカルブ・チオファネートメチル水和剤は防除効果が高く、HR・S菌接種区ではジエトフェンカルブ・チオファネートメチル水和剤は防除効果が高かった。しかし、HR・R菌接種区ではチオファネートメチル水和剤とジエトフェンカルブ・チオファネートメチル水和剤は防除効果が低かった(第2表)。これらのことから、ジエトフェンカルブ・チオファネートメチル水和剤の防除効果は

HR・S菌には期待できるが、HR・R菌に対しては低いものと考えられる。一方、岡山県中北部の川上町、吉井町、建部町、北房町、美星町、落合町におけるチオファネートメチル剤とジエトフェンカルブ剤に対する耐性菌の分布状況をみると、HR・S菌率がいずれの産地でも高く、HR・R菌率が高い産地は少なかった(第1表)。したがって、岡山県のHR・S菌率の高い多くの圃場では、ジエトフェンカルブ・チオファネートメチル水和剤はキュウリ褐斑病の防除薬剤として有効と考えられる。しかし、HR・R菌の高頻度圃場も確認されており、これらの圃場では他の有効薬剤とのローテーション散布が必要である。

2001年にアゾキシストロビン水和剤2000希釈液を4回散布したが、キュウリ褐斑病が多発したS圃場と採集前まで同剤を散布したことがないK圃場から採集したキュウリ褐斑病菌を供試して、アゾキシストロビン水和剤2000倍希釈液に対する感受性を前記と同様に生物検定で検討した。その結果、S圃場由来の5菌株接種区でのアゾキシストロビン水和剤2000倍希釈液の防除効果は低かったが、K圃場由来の3菌株接種区での防除効果は高かった(第3表)。これらのことから、S圃場の5菌株はアゾキシストロビン剤耐性菌と考えられる。キュウリ褐斑病菌でストロビルリン系薬剤耐性菌が確認されたのは茨城県(石井ほか, 2001)に続いて我が国で2例目である。茨城県の耐性菌株は遺伝子診断の結果、薬剤耐性型のチトクロームb遺伝子を持っており(石井ほか, 2001)、本県の2菌株(ST-1S-1, ST-20S-1)も同様の遺伝子を持つことが確認された(石井ほか, 未発表)。したがって、キュウリ褐斑病菌に対するストロビルリン系薬剤の感受性判定には、キ

第2表 チオファネートメチル水和剤及びジエトフェンカルブ・チオファネートメチル水和剤のキュウリ褐斑病に対する防除効果

供試菌株	菌株名	チオファネートメチル水和剤1500倍		ジエトフェンカルブ・チオファネートメチル水和剤1000倍		無処理
チオファネートメチル剤感受性・ジエトフェンカルブ剤耐性菌(S, R <sup>c</sup> )	K2-10-1	0 <sup>a)</sup>	100 <sup>b)</sup>	0	100	146 <sup>a)</sup>
	Y4-7-1	3	93	1	99	37
チオファネートメチル剤高度耐性・ジエトフェンカルブ剤感受性菌(HR, S)	K2-8-1	75	10	1	99	83
	K4-1-1	158	17	1	100	190
	T6-1-1	269	35	0	100	415
チオファネートメチル剤高度耐性及びジエトフェンカルブ剤耐性菌(HR, R)	H1-9-1	7	78	8	77	33
	H2-1-1	23	86	73	55	161
	T6-5-1	35	89	65	80	303

a) 5株について調査し、株当たり平均病斑数とした。

b) 防除価 =  $\frac{\text{無処理区の病斑数} - \text{処理区の病斑数}}{\text{無処理区の病斑数}} \times 100$

c) 挟間・佐藤(1996)の表記による。

第3表 アゾキシストロビン水和剤のキュウリ褐斑病に対する防除効果<sup>a)</sup>

S 圃場				K 圃場			
供試菌株名	処理の株当たり病斑数	防除価	無処理の株当たり病斑数	供試菌株名	処理の株当たり病斑数	防除価	無処理の株当たり病斑数
ST-1S-1	296	33	442	KM-14-1	18	93	263
ST-10S-1	220	66	646	KM-16-1	7	98	361
ST-20S-1	383	29	539	KM-20-1	6	98	295
ST-25S-1	247	50	493				
ST-30S-1	304	37	482				

a) S 圃場の 5 菌株はアゾキシストロビン水和剤を 4 回散布した圃場から、K 圃場の 3 菌株は同剤の無散布圃場からそれぞれ採集した。

キュウリ苗を用いた生物検定や薬剤耐性型のチトクローム b 遺伝子の確認が有効と考えられる。

本研究を実施するに当たり、ジエトフェンカルブ水和剤を提供いただいた住友化学(株)、有益なご助言を賜った農業環境技術研究所石井英夫博士に深く謝意を表す。

#### 引用文献

- 挾間 渉 (1990). キュウリ褐斑病の発生動向及び研究の現状と防除対策. 植物防疫 44: 224-228.
- 挾間 渉 (1991). ベンズイミダゾール系薬剤耐性菌キュウリ褐斑病菌の発生とその特性. 日植病報 57: 312-318.
- 挾間 渉・佐藤通浩 (1996). 九州・沖縄地域における薬剤耐性キュウリ褐斑病菌の発生実態. 九病虫研会報 42: 26-30.
- 挾間 渉 (1998). 野菜類褐斑病菌 (黒枯病菌). 植物病原菌の薬剤感受性マニュアル (日本植物病理学会殺菌剤耐性菌研究会編). pp. 46-50, 日本植物防疫協会, 東京.
- 石井英夫・野口一美・富田恭範・梅本清作・西村久美子 (1999). キュウリうどんこ病菌, ペト病菌のストロビルリン系薬剤耐性菌の出現と, 耐性機構に関する 1 つの考察. 日植病報 65: 655 (講要).
- 石井英夫・杉山知子・西村久美子 (2001). キュウリ病害におけるストロビルリン系薬剤耐性菌の分布状況の推移. 日植病報 67: 655 (講要).
- Ishii, H., Fraaije, B. A., Sugiyama, T., Noguchi, K., Nishimura, K., Takeda, T., Amano, T. and Hollomon, D. W. (2001). Occurrence and molecular characterization of strobilurin resistance in cucumber powdery mildew and downy mildew. *Phytopathology* 91: 1166-1171.
- 金野敬三 (1918). 胡瓜の褐斑病. 病虫雑 5: 367-368.
- 小笠原孝一・榎吉寿夫・宮原 隆・小路口聡・門田源一・高松進・Dale, S. M. (1999). ストロビルリン系薬剤耐性のウリ類うどんこ病について. 日植病報 65: 655 (講要).
- 高橋尚之 (1999). ストロビルリン系薬剤に対するメロン・キュウリうどんこ病菌の感受性. 四国植防 34: 104 (講要).
- 武田敏幸・川越洋二・内田景子・富士 真・天野徹夫 (1999). ストロビルリン系薬剤に対する耐性菌の発生. 日植病報 65: 655 (講要).
- 矢野和孝・川田洋一 (2000). ストロビルリン系薬剤耐性ナスすすかび病菌の発生. 日植病報 66: 305 (講要).