

(1) 目的

灰色かび病菌は多犯性病原菌であり、薬剤耐性菌が発生しやすい病害として知られている。効率的な薬剤防除を推進するため、野菜類（トマト、いちご）の灰色かび病について、薬剤感受性検定を行った。

(2) 材料および方法

① 供試材料

平成 24 年 3 月～5 月に県内からトマトおよびいちごの灰色かび病菌 74 菌株を採集した。採集方法は、木曾、山田の方法（植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル）に準じて各病斑から単孢子分離を行った。

② 検定方法

ポリオキシシン水和剤、メパニピリム水和剤、ボスカリド水和剤は、保存菌株を PDA 平板培地上で 4 日間培養後、さらに BLB 蛍光ランプ（東芝 FL20SBLB）を 3 日間程度照射して、分生胞子を形成させた。胞子は滅菌水に懸濁し、 $10^4 \sim 10^5$ 個/ml になるように調整した。胞子懸濁液に浸したペーパーディスク（東洋ろ紙抗生物質検定用 ϕ 6 mm）を、表 1 のとおり作製した検定培地上に置床し、暗黒下で、FGA 培地は 4 日間、YBA 培地は 7 日間培養した。培養後に菌そう生育の有無・程度により、表 2 の基準に基づいて判定した。

ピリベンカルブ水和剤は、保存菌株を PDA 平板培地上で 3 日間培養後、生育菌糸の周辺部を直径 4 mm のコルクボーラーで打ち抜き、菌そう面を下にして、表 1 のとおり作製した検定培地に置床した。暗黒下で 3 日間培養後に菌そう生育の有無・程度により、表 2 の基準に基づいて判定した。

菌株の培養および検定は全て 20℃ の条件下で行った。

(3) 結果および考察

結果は表 3 および表 4 に示した。ポリオキシシン水和剤に対する感受性低下菌は認められなかった。メパニピリム水和剤に対する感受性低下菌はいちごでのみ認められた。ボスカリド水和剤に対する感受性低下菌はトマトといちごの両方でわずかに認められた。ピリベンカルブ水和剤に対する弱耐性菌（作用機作から耐性菌発生リスクが高いため、連続使用は避ける必要がある）は、トマトといちごの両方において認められ、いちごでより多かった。

感受性低下菌や弱耐性菌の発生が懸念される薬剤については、薬剤散布後にはほ場をよく観察し、薬剤の効果が低下していないかを確認するとともに、ローテーション散布により薬剤抵抗性の発達を防ぐ必要があると考えられた。

表1 供試薬剤と検定培地

薬剤名(商品名)	検定培地※	培地の薬剤成分濃度
ポリオキシシン水和剤(ポリオキシシンAL水和剤)	FGA培地	10ppm
メパニピリム水和剤(フルピカフロアブル)	FGA培地	3ppm
ボスカリド水和剤(カンタスドライフロアブル)	YBA培地	1ppm
ピリベンカルブ水和剤(ファンタジスタ顆粒水和剤)	SHAM添加PDA培地	1ppm、100ppm

※ FGA培地(fructose 10g, gelatin 2g, KH₂PO₄ 1g, MgSO₄·7H₂O 0.5g, NaNO₃ 2g, Agar 15g, 蒸留水 1L)、
 YBA培地(Yeast extract 10g, Bacto peptone 10g, Sodium acetate 20g, Agar 15g, 蒸留水 1L)、
 SHAM添加PDA培地(DifcoTM 39g, 蒸留水 1L, SHAMは最終濃度が1mMとなるように添加)。
 また、それぞれについて薬剤無添加培地を作製し、コントロールとした。

表2 耐性菌判定基準

薬剤名	判定基準※	判定	略号
ポリオキシシン水和剤	10ppmでコントロールの50%未満の生育量	感受性菌	S
	10ppmでコントロールの50%以上の生育量	感受性低下菌	LS
メパニピリム水和剤	3ppmで生育しない	感受性菌	S
	3ppmで生育する	感受性低下菌	LS
ボスカリド水和剤	1ppmで生育しない	感受性菌	S
	1ppmで生育する	感受性低下菌	LS
ピリベンカルブ水和剤	1ppmで生育しない	感受性菌	S
	1ppmで生育し、100ppmでコントロールの20%未満の生育量	弱耐性菌	WR
	100ppmでコントロールの20%以上の生育量	耐性菌の疑い	R

※メパニピリム水和剤は植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアルⅡ、ポリオキシシン水和剤は三重県における灰色かび病菌の薬剤耐性菌マネジメント(鈴木, 2010)、ボスカリド水和剤は、灰色かび病のベンチオピラドとボスカリドに対する感受性検定(鈴木ら, 2010)、ピリベンカルブ水和剤は植物病原菌の薬剤耐性メカニズムと感受性検定法の確立(高垣, 2011)によった。

表3 トマト灰色かび病の各薬剤に対する耐性菌数

採集地域を管轄する 農業振興事務所	供試 菌株数	ポリオキシシン水和剤	メパニピリム水和剤	ボスカリド水和剤	ピリベンカルブ水和剤	
		LS	LS	LS	WR	R
河内	6	0	0	0	1	0
上都賀	5	0	0	0	0	0
芳賀	6	0	0	0	1	0
下都賀	10	0	0	0	0	0
塩谷南那須	5	0	0	1	1	0
那須	3	0	0	0	0	0
安足	6	0	0	1	1	0
県全体	41	0	0	2	4	0

表4 イチゴ灰色かび病に対する耐性菌数

採集地域を管轄する 農業振興事務所	供試 菌株数	ポリオキシシン水和剤	メパニピリム水和剤	ボスカリド水和剤	ピリベンカルブ水和剤	
		LS	LS	LS	WR	R
河内	5	0	0	0	1	0
上都賀	3	0	2	0	2	0
芳賀	11	0	3	0	4	0
下都賀	8	0	1	1	4	0
塩谷南那須	3	0	0	0	2	0
那須	2	0	0	0	0	0
安足	1	0	0	0	1	0
県全体	33	0	6	1	14	0