

イチゴ炭疽病の薬剤感受性検定結果

(1) 目的

本県イチゴの重要病害を引き起こす炭疽病菌の薬剤感受性検定試験要望が高く、本病に対する効果的な防除体系を確立するため、現在のイチゴ炭疽病菌の各種薬剤に対する感受性検定を実施した。

(2) 調査方法

供試材料

平成21年5月～9月に県内14市町からイチゴ炭疽病発生株を採取し、30菌株を単孢子分離した。また、薬剤感受性の経年変化を明らかにするため平成11年に県内で採取した炭疽病菌14菌株を供試した。供試菌株はいずれも *Colletotrichum gloeosporioides* を用いた。なお、平成11年採取菌株は独立行政法人農業環境技術研究所 石井氏より譲渡頂いた。

検定方法

ア 検定薬剤：ジ・イトフェンカルブ・チオファネートメチル水和剤（ゲッター）、イミノクタジソアルベシル酸塩水和剤（ベルコート）、アゾキストロピン水和剤（アミスター）、ベンゾミル水和剤（ベンレート） 計4剤

イ 検定薬剤を次表に示す実用濃度に希釈し、それぞれPDA培地に添加し、検定培地を作成した。供試菌株をPDA培地で25℃、6日間培養した後、生育菌叢の周辺部を直径4mmのコルクボーラーで打ち抜き、菌叢面を下にして、検定培地に置床した。25℃、5日間培養後に菌叢直径を再度計測した。

薬剤名（商品名）	希釈倍率	成分濃度
ジ・イトフェンカルブ・チオファネートメチル水和剤（ゲッター）	1000倍	125ppm・525ppm
イミノクタジソアルベシル酸塩水和剤（ベルコート）	1000倍	300ppm
アゾキストロピン水和剤（アミスター）	2000倍	100ppm
ベンゾミル水和剤（ベンレート）	500倍	1000ppm

アゾキストロピン水和剤は検定培地に AOX 阻害剤として没食子酸 *n*-7°ピ°ルを 4mM 相当量添加した。

ウ PCR-RFLP による QoI 剤耐性菌の迅速検定法を行った。

a DNA の抽出

PDA 平板培地で 25℃、5日間培養後に生じた気中菌糸を TE バッファー 30 μ L に懸濁し、電子レンジで6分間処理し、遠心分離後上澄液を用いた。

b PCR-RFLP 解析

センスプライマー GCCBF1 (5'-TTTCTTGGGTTATGTTTTACCTTA-3') (稲田ら,2008) 及びアンチセンスプライマー RSCBR2 (5'-AACAAATATCTTGTCCAATTCATGG-3') (Ishii *et al.*,2001) を最終濃度 0.5 μ M で使用し、抽出した DNA 3 μ L を鋳型として PCR を行った。その後、PCR 産物に制限酵素 *Fnu*4HI を処理し、2%アガロースゲルで電気泳動後、紫外線照射下で PCR 産物の切断の有無を確認した。

(3) 結果及び考察

ジ・イトフェソカルブ・チオファネートメシル水和剤、イミノタジ・ソルハ・シロ酸塩水和剤の菌叢生育抑制率は H21、H11 とともに全ての菌株で 90 ~ 100 % で同程度の菌叢生育抑制率を示した (表 1)。しかし、アゾキストピリン水和剤、ヘノミル水和剤は 10 年前に比べ菌叢生育抑制率が低い傾向が認められた (表 1)。特に、アゾキストピリン水和剤の菌叢生育抑制率は著しく低下しており、PCR-RFLP による QoI 剤耐性菌の迅速検定においても 76.7 % の耐性菌が確認された (表 2)。

以上の結果から、アゾキストピリン水和剤及びヘノミル水和剤耐性菌の広い分布が懸念され、同薬剤は、耐性菌発生に注意して使用する必要があると考えられる。

表 1 各種薬剤によるイチゴ炭疽病の菌叢生育抑制率別菌株数 (%) ^{注1)}

薬剤名	希釈倍率	菌株採取年次 ^{注2)}	菌叢生育抑制率 (%)				
			0 ~ 40	40 ~ 60	60 ~ 80	80 ~ 90	90 ~ 100
ジ・イトフェソカルブ・チオファネートメシル水和剤	1000倍	H21	0	0	0	0	100
		H11	0	0	0	0	100
イミノタジ・ソルハ・シロ酸塩水和剤	1000倍	H21	0	0	0	0	100
		H11	0	0	0	0	100
アゾキストピリン水和剤	2000倍	H21	0	3.3	70.0	3.3	23.3
		H11	0	0	0	0	100
ヘノミル水和剤	500倍	H21	0	0	3.3	90.0	6.7
		H11	0	0	7.1	64.3	28.6

注 1) 菌叢生育抑制率 (%) = 100 - (薬剤添加培地区生育菌叢直径 / 無添加培地区生育菌叢直径) × 100。

注 2) 採取菌株は、*C. gloeosporioides* を使用し、菌株数は H21 年 30 菌株、H11 年 14 菌株を用いた。

表 2 イチゴ炭疽病菌の PCR-RFLP による QoI 剤耐性迅速検定結果

菌株採取年次 ^{注1)}	感受性菌 (%)	耐性菌 (%)
H21	23.3	76.7
H11	100	0

注 1) 菌株数は H21 年 30 菌株、H11 年 14 菌株を用いた。