

リンゴ褐斑病菌のストロビルリン系殺菌剤クレソキシムメチルに対する感受性

足立 嘉彦^{*1)}・土師 岳^{*1)}・伊藤 伝^{*2)}・高梨 祐明^{*1)}

抄 録：2006～2008年に岩手県内の20ヶ所のリンゴ園から分離したリンゴ褐斑病菌のストロビルリン系殺菌剤であるクレソキシムメチル（KSM）に対する感受性を調査した。その結果、3ヶ所の放任園から分離した195菌株の最低生育阻止濃度（MIC）は0.05～0.25ppmに分布し、この値が本菌のKSM感受性のベースラインと推定された。一方、現地リンゴ園17ヶ所から分離した1,406菌株のMICも全て0.25ppm以下であった。したがって、現時点で岩手県内で採集したリンゴ褐斑病菌中には耐性菌と考えられる菌株は検出されず、KSMに対する感受性は低下していないことが明らかとなった。

キーワード：リンゴ褐斑病、ストロビルリン系殺菌剤、クレソキシムメチル、感受性のベースライン、耐性菌

Sensitivity to Kresoxim-methyl of *Diplocarpon mali*, the Causal Fungus of Apple Blotch : Yoshihiko ADACHI^{*1)}, Takashi HAJI^{*1)}, Tutae ITO^{*2)} and Masaaki TAKANASHI^{*1)}

Abstract : Sensitivity of *Diplocarpon mali*, the causal fungus of apple blotch, to the strobilurin fungicide kresoxim-methyl was evaluated based on minimum inhibitory concentrations (MIC) against mycelial growth *in vitro*. MIC values for 195 monoconidial isolates collected from two and one untreated abandoned orchards in Iwate Prefecture in 2006 and 2008, respectively, ranged from 0.05 to 0.25ppm, which is considered to be the baseline sensitivity of *D. mali*. Monitoring of 1,406 monoconidial isolates collected from 17 commercial orchards in Iwate Prefecture from 2006 to 2008 revealed MIC values ranging from 0.01 to 0.25ppm, which is similar to the baseline sensitivity. This result showed that no resistant isolate was detected and that sensitivity to kresoxim-methyl was remained after use of strobilurin fungicide in commercial orchards.

Key Words : Apple blotch, Strobilurin fungicide, Kresoxim-methyl, Baseline sensitivity, Fungicide resistance

I 緒 言

ストロビルリン系殺菌剤は、防除スペクトラムが広く複数病害に対する同時防除が期待できること、卓越した残効を有することなどから、リンゴにおいても広く使用される薬剤となっている。しかし、本剤における耐性菌の発達リスクが著しく高いことは既に明らかにされており、国内外で多くの植物病原糸状菌での耐性菌の発生事例が報告されている (Ishii 2006)。

現在、リンゴでの使用は散布回数を年2回程度に制限しつつ、収穫直前まで使用可能という特性を活かして、実際には8～9月に使用される場合がほとんどである。これまでわが国のリンゴ栽培において、耐性菌による本剤の効力低下事例は知られていないが、その持続的な使用を考える上では、防除対象となる病原菌の薬剤感受性に関するデータを集積していく必要がある。

* 1) 東北農業研究センター (National Agricultural Research Center for Tohoku Region, NARO, Morioka, Iwate 020-0198, JAPAN)

* 2) 果樹研究所 (Apple Research Station, National Institute of Fruit Tree Science, NARO, Morioka, Iwate 020-0123, JAPAN)

2009年8月31日受付、2009年12月3日受理

*Diplocarpon mali*を病原とするリンゴ褐斑病 (Harada *et al.* 1974) は、5月下旬頃より葉での発生が認められ、8月以降病斑が急激に増加し、葉の黄変と共に激しい落葉を引き起こす病害である。本病は、8～9月に使用されるストロビルリン系殺菌剤の重要な防除対象である。また、本菌については既にベンズイミダゾール系殺菌剤に対する耐性菌の発生 (佐藤・水野 2000; Tanaka *et al.* 2000) が報告されており、ストロビルリン系殺菌剤についても同様の事態が危惧されるところである。

そこで、本研究では2006～2008年の3ヶ年にわたり、岩手県でリンゴ褐斑病菌のストロビルリン系殺菌剤であるクレソキシムメチル (以下KSM) に対する感受性を調査した。

なお、本研究は、農研機構交付金プロジェクト「東北地域における農薬50%削減リンゴ栽培技術体系の確立」の一環として行われたものである。また、本研究の一部は2009年2月に行われた北日本病害虫研究発表会においてポスター発表したものである。

本研究を遂行するにあたり、現地リンゴ園の調査に多大なご協力いただいた岩手県農業研究センターの羽田厚氏、岩手県病害虫防除所の熊谷拓哉、藤田章宏、佐藤由美子の各氏に深く感謝申し上げます。

II 材料と方法

1 リンゴ褐斑病菌の採集および分離方法

2006年8月に岩手県内の2ヶ所の放任園と4ヶ所の現地リンゴ園で、2007年10月には15ヶ所の現地リンゴ園で、また2008年には6月に放任園1ヶ所、9～10月に現地リンゴ園7ヶ所で褐斑病の罹病葉を採集した。複数年にわたって採集できた園地を含め、4市2町20地点で採集することができた (図1)。

罹病葉から褐斑病菌の分離は、既報 (佐藤・水野 2000) にしたがって単孢子分離した。分離菌株は、1罹病葉あたり1～4分生子層を選び、1分生子層あたり1～3菌株ずつ分離した。

2 クレソキシムメチルに対する感受性検定

リンゴ褐斑病菌のKSMに対する感受性は、既報の方法 (佐藤・水野 2000) を一部改良し、薬剤添加培地上での菌叢生育で検定した。

即ち、高圧滅菌したジャガイモデキストロース寒天培地 (PDA) (Difco社製) 中に、クレソキシムメチルドライフロアブル剤 (ストロビードライフロ



図1 リンゴ褐斑病菌を採集した岩手県内リンゴ園の分布
○：現地リンゴ園、●：放任園

アブル、KSM：50%含有) を用いて、KSMが最終濃度で0、0.01、0.05、0.1、0.25、0.5、1および5 ppmとなるよう添加して検定培地とした。なお、クレソキシムメチルドライフロアブル剤は、ジメチルスルオキシド (DMSO) に溶解し、培地容量に対して1%となるように添加した。

次いで、23℃暗黒下PDA培地上で2～3週間程度培養した褐斑病菌の菌叢 (約3 mm²) を滅菌水 (200 μl) 中で磨碎して菌糸懸濁液を作成した。これを検定培地上に5 μlずつ滴下・風乾した。23℃で2週間培養した後、菌叢生育の有無を観察して、KSMの最低生育阻止濃度 (MIC) を求めた。

III 結 果

岩手県内で分離したリンゴ褐斑病菌のKSMに対する感受性を検定した結果、3ヶ所の放任園 (盛岡市1、盛岡市2および紫波町5) から分離した195菌株のMIC値は全て0.05～0.25 ppmの範囲内で一峰性の分布を示し、この値が本菌のKSM感受性のベースラインと推定された (表1)。

表1 放任園から分離したリンゴ褐斑病菌のクレンキシムメチルに対する感受性

調査園	採集年月	菌株数	最低生育阻止濃度 (ppm)							
			0.01	0.05	0.1	0.25	0.5	1.0	5.0	5.0<
盛岡市1	2006.8	104	46	38	20					
盛岡市2	2006.8	48	12	32	4					
紫波町5	2008.6	43	8	9	26					
合計		195	66	79	50					

表2 現地リンゴ園から分離したリンゴ褐斑病菌のクレンキシムメチルに対する感受性

調査園	採集年月	菌株数	最低生育阻止濃度 (ppm)							
			0.01	0.05	0.1	0.25	0.5	1.0	5.0	5.0<
(2006)										
盛岡市3	2006.8	32	21	9	2					
盛岡市4	2006.8	76	36	34	6					
紫波町1	2006.8	27	15	12						
花巻市1	2006.8	30	17	12	1					
(2007)										
盛岡市3	2007.10	72	45	23	4					
盛岡市4	2007.10	70	1	27	32	10				
盛岡市5	2007.10	5		1	4					
紫波町2	2007.10	17	15	2						
紫波町3	2007.10	36	14	21	1					
紫波町4	2007.10	14	8	5	1					
花巻市1	2007.10	35	6	19	10					
花巻市2	2007.10	9	7	2						
花巻市3	2007.10	63	4	46	12	1				
北上市	2007.10	104	46	41	17					
一関市1	2007.10	87	12	49	26					
一関市2	2007.10	7	6	1						
一関市3	2007.10	26	15	10	1					
一関市4	2007.10	56	32	22	2					
藤沢町	2007.10	142	57	63	22					
(2008)										
盛岡市4	2008.9	44	18	24	2					
紫波町3	2008.9	38	1	35	2					
花巻市2	2008.10	26	1	19	6					
花巻市4	2008.10	32	1	29	2					
北上市	2008.10	156	12	94	50					
一関市4	2008.9	171	14	70	73	14				
藤沢町	2008.9	31		14	17					
合計		1,406	19	528	658	201				

一方、2006～2008年に現地リンゴ園17ヶ所から分離した合計1,406菌株のMIC値は、0.01～0.25ppmの範囲内に分布した。放任園で検出されなかったMIC値0.01ppmを示した菌株は19菌株と少数であり、現地リンゴ園から分離した褐斑病菌のMIC値は、ほぼ放任園の分布と一致していた(表2)。

以上の結果から、現段階では岩手県の現地リンゴ園から分離した褐斑病菌のMIC値は0.25ppm以下で一峰性の分布を示し、KSM感受性が低下した菌株は認められなかった。

IV 考 察

本研究では、リンゴ褐斑病菌のKSM感受性検定を薬剤添加培地上での菌叢生育試験で行った。しかし、ストロビルリン系殺菌剤を添加した培地上では、薬剤感受性菌であっても菌叢生育に影響を受けないことが多い。これにはAlternative-oxidase (AOX)を介した代替呼吸経路が関与していることが明らかとなっている(田村・水谷 1999)。したがって、没食子酸n-プロピル等、AOXの特異的阻害剤を添加することで薬剤感受性を調べる方法が用いられる(石井ら 1998; 石井ら 1999)。その供試濃度は対象とする病原菌によって異なると思われるが、本研究の対象であるリンゴ褐斑病菌については、KSMのみを添加したPDA培地上においても菌叢生育が十分に阻害されることから、代替呼吸経路の特異的阻害剤を添加しなくても感受性検定は可能と考えられた。

今回岩手県で分離したリンゴ褐斑病菌については、調査した全菌株のMIC値は0.25ppm以下であり、その分布は一峰性を示したことから、現時点では耐性菌と考えられる菌株は認められず、褐斑病菌のKSMに対する感受性は低下していないことが明らかとなった。これまでにリンゴ褐斑病菌のストロビルリン系殺菌剤に対する感受性については、秋田県内の現地リンゴ園で分離した62菌株を調査した事例(佐藤・水野 2000)があり、MIC値はKSMで0.5ppmおよびアゾキシストロピンで1.0ppmであった。秋田県の調査ではKSM 0.25ppmが検定されていないが、菌叢生育が認められたKSMの最高濃度は0.1ppmで本研究の結果と同じ値であることから、この調査については今回推定されたベースライン感受性の範囲に含まれると考えられた。しかし、地域や産地によって病害の発生時期や様相、殺菌剤の選択などは異なっており、岩手県以外の他地域における薬剤感受性についても調査を要する。

本研究で調査した岩手県内17ヶ所の現地リンゴ園はいずれも、8～9月に1～3回ストロビルリン系殺菌剤の散布を複数年にわたって実施していた。したがって、今回明らかとなったリンゴ褐斑病菌の薬剤感受性は、現行の本殺菌剤の使用方法を支持する

結果と思われる。現在までにリンゴ病害におけるストロビルリン系殺菌剤耐性菌については、リンゴ斑点落葉病菌 (Lu *et al.* 2003; 對馬ら 2007; 足立ら 2009) および黒星病菌 (Steinfeld *et al.* 2002) での発生が報告されている。このようなことから、将来、どの病原菌にストロビルリン系殺菌剤に対する感受性低下が発生し、実害を生じるかは不明であり、広範囲に観察を続ける必要がある。

引用文献

- 1) 足立嘉彦, 土師 岳, 伊藤 伝, 高梨祐明. 2009. 岩手県南部におけるリンゴ斑点落葉病菌のストロビルリン系殺菌剤に対する感受性について. 日植病報 75 : 245 (講演要旨).
- 2) Harada, Y.; Sawamura, K.; Konno, K. 1974. *Diplocarpon mali*, sp. nov., the perfect state of apple blotch fungus, *Marssonina coronaria*. Ann. Phytopath. Soc. Japan 40 : 412-418.
- 3) Ishii, H. 2006. Impact of fungicide resistance in plant pathogen on crop disease control and agricultural environment. JARQ 40 : 205-211.
- 4) 石井英夫, Joseph-Horne, T, Hollomon, D. W., 西村久美子. 1999. ストロビルリン系殺菌剤とシアン耐性呼吸阻害剤, 没食子酸n-プロピルの協力作用. 日本農薬学会講演要旨集 24 : 64.
- 5) 石井英夫, 西村久美子, 岩本 晋. 1998. 数種植物病原糸状菌のアニリノピリミジン系およびストロビルリン系薬剤感受性検定法の検討. 日植病報 64 : 395 (講演要旨).
- 6) Lu, Y. L.; Sutton, T. B.; Yperma, H. 2003. Sensitivity of *Alternaria mali* from North Carolina apple orchards to pyraclostrobin and boscalid. Phytopathology 93 : S54 (Abstracts).
- 7) 佐藤 裕, 水野 昇. 2000. ベンズイミダゾール系薬剤耐性リンゴ褐斑病菌の出現. 秋田県果樹試験場研究報告 27 : 14-23.
- 8) Steinfeld, U.; Sierotzki, H.; Parisi, S.; Gisi, U. 2002. Comparison of resistance mechanisms to strobilurin fungicides in *Venturia inaequalis*. In: Modern fungicides and antifungal compounds II, eds Lyr, H., Russell, P. E., Dehne, H-W., Gisi, U. and Kock, K-H. 13th International Reinhardtsbrunn Symposium, AgroConcept, Bonn, Verlag, Th. Mann Gelsenkirchen, p.167-176.
- 9) 田村廣人, 水谷 章. 1999. ストロビルリン系殺菌剤の作用機構. 日本農薬学会誌 24 : 189-196.
- 10) Tanaka, S.; Kamegawa, N.; Ito, S.; Kameya-Iwaki, M. 2000. Detection of thiophanate-methyl-resistant strains in *Diplocarpon mali*, causal fungus of apple blotch. J. Gen. Plant Pathol. 66 : 82-85.
- 11) 對馬由記子, 雪田金助, 福士好文, 赤平知也. 2007. ストロビルリン系薬剤耐性のリンゴ斑点落葉病菌と簡易検定法. 日植病報 73 : 51-52 (講演要旨).