イチゴ萎黄病菌など分子マーカーによる Fusarium oxysporum の分化型・レースの診断法

岐阜大学生命科学総合研究支援センターゲノム研究分野 須 賀 晴 久

はじめに

Fusarium oxysporum は世界中の土壌に生息し、100種 以上の植物に萎凋、つる割れ、根腐れ等の病害を引き起 こす重要な病原菌である。しかし、種という単位ではな く菌株という単位で見ると病気を起こす植物は基本的に 1種ないし数種に限られている。つまり、個々の菌株に は宿主植物種に対する特異性があり、例えばトマトの病 原菌株は、トマト以外のイチゴなどに病気を起こすこと はなく、逆にイチゴの病原菌株は、イチゴ以外のトマト などに病気を起こすことはない。そこで、F. oxvsborum は宿主植物種への特異性に基づいて、例えばトマトの病 原菌は forma specialis (f. sp.) lycopersici, イチゴの病原 菌は f. sp. fragariae のように種内が分化型 (f. sp.) に細 分化されている。また分化型によってはさらに個々の菌 株に植物品種への特異性が見られるものもあり、そのよ うな分化型はさらにレースとして細分化されている。植 物栽培現場では植物体や土壌等から F. oxysporum がよく 分離されるが、 病原菌の特定にあたっては特に注意を要 する。というのも F. oxysporum は植物病原菌ばかりでは なく、病気を起こさない、つまり非病原菌もあり、極端 な場合、病斑部から分離されたものでも必ずしも病原菌 とは限らないからである。非病原性 F. oxysporum は病害 の発生の有無にかかわらず、栽培現場で頻繁に分離され るが、病原菌とは形態的な見分けがつかないため、病原 菌と混同されやすい。分離された F. oxysporum が病原菌 かどうかを判定するには, 実際に分離菌を植物に接種し て病気を起こさせてみなければならない。接種試験には 設備,知識,技術が必要なうえ,植物を栽培するための 期間、さらに接種して発病するまでの期間も必要で、通 常はかなりの時間が必要となる。先に述べたように非病 原性の F. oxysporum は植物栽培現場には普遍的に存在す るため、F. oxysporum が分離された場合に病原菌か非病

Diagnostic Methods of Forma Specialis Including f. sp. fragariae and Race of Fusarium oxysporum Based on Molecular Markers. By Haruhisa Suga

(キーワード:同定,宿主特異性,分子診断,土壌伝染性植物病 原菌,検出) 原菌かにかかわらずすべて防除するというのでは、作業量やコストがかかり過ぎることになる。そこで F. oxysporum について、迅速簡易に病原菌(分化型やレース)を診断するための方法が求められている。ここでは F. oxysporum において分化型・レース特異的な PCR 用プライマーの開発に利用されている inter-retrotransposon amplified polymorphism(IRAP)-PCR およびそれを利用したイチゴ萎黄病菌の簡易診断法の開発、これまでに開発された F. oxysporum の分化型・レース診断用分子マーカーを紹介する。

I IRAP-PCR とは

IRAP-PCR とは、ゲノム上のトランスポゾン関連配列 間を PCR で増幅させる方法のことで、主に増幅 DNA の多型を検出する目的に利用されている。通常トランス ポゾンそのものをPCRで増幅するのであれば、1ペア(2 種類)のプライマーを内向きになるように用意する。こ れに対し IRAP-PCR では、あえて外向きのプライマー を使用して PCR を行う。外向きのプライマーで PCR を 実施すると、理論上、プライマーはゲノム DNA にアニ ーリングして新しい DNA 鎖を合成するが、近傍に反対 向きにアニーリングするもう1種類のプライマーがない 限り、指数関数的な DNA の増幅が起こらない。ここで 言う近傍とは PCR による増幅が可能なサイズ (距離) のことである。一般の Tag DNA ポリメラーゼの場合、 PCRで増幅できる DNA は、数千 bp であり、特殊な Long PCR 用のポリメラーゼを利用する場合でも 10 Kbp 程度とされている。一般にゲノム上でこのような近距離 にトランスポゾン関連配列が位置することは多くないた め、外向きのプライマーを用いた PCR ではあまり DNA の増幅を期待できない。しかし、F. oxysporum の場合、 これまでにゲノムから様々な種類のトランスポゾン関連 配列が多数検出されており、ゲノム全体の5%にも達す るとされている。実際に F. oxysporum では IRAP-PCR により DNA が増幅し、その増幅パターンに種内多型も 認められている。したがって、そのような増幅 DNA 中 に分化型やレースに特異的なものが見つかれば、それら を診断用の分子マーカーにすることができる。本来、分 化型やレースの診断ではそれらを決定している遺伝子を

診断の標的にするのが理想ではあるが、f.sp. lycopersici を除いて F.oxysporum ではそのような遺伝子がわかって おらず、また PCR でそのような遺伝子が検出されたと しても必ずしもその遺伝子が機能しているとは限らな い。このようなことから、これまで開発された F.oxysporum の分化型・レース診断用分子マーカーは IRAP-PCR を含めて RAPD など、基本的には診断した い分化型・レースの菌株と、それ以外の菌株との間で違 いを見いだして分子マーカー化したものである。したが って、分化型・レース診断用分子マーカーの開発におい ては、比較株間でそのような違いを見いだせるかが成功 のカギとなる。F.oxysporum と別の菌種を識別するため の分子マーカーに比べ、F.oxysporum 内のある分化型と 非病原性菌(あるいは別の分化型),あるいは同一分化 型内の異なるレースを識別できるような分子マーカーを 開発するには、遺伝的に近縁なゲノム上において識別し たい株間に共通した違いを見いだすことが必要で、 開発 がより難しくなる。IRAP-PCR はそのような状況下にお いて違いを見いだすうえで大きな利点を有している。そ れは、F.oxysporum から検出されているトランスポゾン 関連配列は種類数が多いことから、違いを見いだす際に 試す外向きのプライマーの数を多くできるためである。 例えばゲノム上で近距離に Skippy と呼ばれるトランス ポゾンが隣り合っている場合、Skippyの外向きプライマ ーの PCR で Skippy 間のゲノム領域が増幅することにな るが、近距離であっても Skippy と、Skippy 以外のトラ ンスポゾンが隣り合っている場合は DNA が増幅されな いことになる。そこで例えば Skibby とそれとは別のト ランスポゾンとして Hornet1 が隣り合っている場合を想 定して、Skippy の外向きのプライマーと Hornet1 の外向 きのプライマーでも PCR を実施してみる。さらにプラ イマーを変えて Hornet1 以外の様々なトランスポゾン関 連配列についても同様に PCR を実施して DNA の増幅 を試みる。隣接するトランスポゾン関連配列の方向につ いても、両方とも同じ方向と逆方向の場合それぞれを想 定することになるため、PCRでDNAの増幅を試みるプ ライマーの組合せはさらに増える。F.oxysporum からは 少なくとも 26 ファミリーに属する様々なトランスポゾ ン関連配列が検出されており、試験できるプライマーの 組合せも膨大になるため、増幅 DNA の中から分化型・ レースに特異的なものを探し出せる可能性が高まってい る。それまでにも F.oxysporum f. sp. albedinis や f. sp. *chrisanthemi*, f. sp. *dianthi* のレース診断用の分子マーカ ーの開発にトランスポゾン関連配列が利用されてきたが (Lievens et al., 2008), 外向きのプライマーを使用する

IRAP-PCR は, F. oxysporum f. sp. lactucae レース 1 診断 用分子マーカーの開発において初めて利用された (Pasquali et al., 2007)。一方で、トランスポゾンのゲノ ム内転移の性質を考慮すれば、IRAP-PCR をもとに開発 された分子マーカーは安定しない可能性も考えられる が、転移の頻度はよくわかっておらず、結局のところマ ーカーとして安定性は実際に使ってみなければわからな い。また、トランスポゾンには移動タイプだけでなく、 増幅タイプもある。増幅タイプのトランスポゾンは、ゲ ノム内で増加はしても、移動してなくなることはないた め、そのような配列に設計されたプライマーはマーカー としてより安定しているかもしれない。また、移動タイ プのトランスポゾンでも移動の際に特有の塩基配列を残 すものや、既に移動機能を失っているものもあり、その ような塩基配列に設計されたプライマーも安定している かもしれない。以下には IRAP-PCR を利用してイチゴ 萎黄病菌 F. oxvsborum f. sp. fragariae 診断用分子マーカ - を開発した際の例を挙げるが (Suga et al., 2013), IRAP-PCR はこの分化型の分子マーカーの開発に限られ た技術ではない。他の様々な F. oxysporum の分化型ある いはレースについても、比較のための病原性、分離地、 分離年, 分離源等の多様性が確保された菌株を多数用意 できれば、IRAP-PCRで診断用分子マーカーを開発でき る可能性がある。

II *F. oxysporum* f. sp. *fragariae* 診断用 分子マーカーの開発

開発にあたってはまず、イチゴへの接種試験で病気を 起こすことを確認した F. oxysporum f. sp. fragariae を 33 菌株 (複数地域、複数年に分離された菌株)、イチゴか ら分離されたもののイチゴへの接種試験で病気は起こさ なかった F. oxysporum を 6 菌株 (複数地域, 複数年に分 離されたもので、ここではこれらの菌株を非病原性 F. oxysporum とした) および f. sp. fragariae 以外の五つの 分化型各1株づつを用意した。分離地の多様性確保の観 点からは国内だけでなく外国分離菌株も使用するのが理 想であるが、入手が困難だったためここでは国内分離株 のみを使用した。最初は、f. sp. fragariae がどのような トランスポゾン関連配列を持つのかを調べるため、通常 の, つまり内向きプライマーを用いた PCR により 7 種 類のトランスポゾン関連配列の検出を試みた。その結 果,5種類トランスポゾン関連配列がf.sp.fragariae 33 菌株すべてで検出された。同様に f. sp. fragariae 以外の 五つの分化型の株でもほとんどの種類のトランスポゾン 関連配列が検出されたが、非病原性 F. oxysporum の株で

は検出されたトランスポゾン関連配列の種類数が少なか った。次に f. sp. fragariae 全株で検出された 5 種類のト ランスポゾン関連配列の両端に外向きのプライマーを設 計し、f. sp. fragariae の 1 菌株、f. sp. fragariae 以外の五 つの分化型各1菌株, 非病原性 F. oxysporum の1菌株を 用いて IRAP-PCR を行った。理論上のプライマーの組 合せは60通りあったが、23通り試験したところでHan と Skibby に設定した外向きプライマーで f. sp. fragariae の菌株のみに 268 bp の増幅 DNA が検出された。さらに 残りの f. sp. fragariae 32 菌株と非病原性 F. oxysporum 5 菌株を用いて同様の IRAP-PCR を行ったところ、この 268 bp の DNA の増幅が f. sp. fragariae に特異的である ことが確認された。ただし、PCRの条件を整えても IRAP-PCR に使用していたプライマーペアでは 268 bp 以外のサイズの増幅 DNA も認められていたため、増幅 した 268 bp の DNA の塩基配列を決定して内側に新たな プライマー FoFraF (設計当初の名前は HS430): 5'-CAGACTGGGGTGCTTAAAGTT-3'とFofraR(設計当初 の名前はHS432): 5'-AACCGCTAGGGTCGTAACAA-3' を設計した。このプライマーペアを使用することで余分 な DNA の増幅がなくなり, F. oxysporum f. sp. fragariae のみに 239 bp のみの DNA が増幅するようになった。た だし、上記のようにこのプライマーペアは F. oxysporum 内の比較によって開発されたものであることから、厳密 には診断対象の菌株が F. oxysporum に限られることにな る。そこで、EDEL et al. (2000) により開発されたF. oxysporum 特 異 的 PCR 用 プ ラ イ マ ー (PFO2:5'-CCCAGGGTATTACACGGT-3' & PFO3:5'-CGGGGGATAAAGGCGG-3'で70bpが増幅する)とこ のプライマーペアを合わせたマルチプレックス PCR に することで、診断対象株が必ずしも F. oxysporum に限定 されないようにした。図-1に示す条件でマルチプレッ クス PCR を実施し、70 bp と 239 bp の両方の DNA が増 幅した場合には F. oxysporum f. sp. fragariae, 一方 70 bp のみの増幅が見られた場合には非病原性 F. oxysporum お よびいずれの増幅も見られなかった場合にはF. oxysporum 以外の菌種と判定する。ただし、FoFraFと FoFraR のプライマーペアによる PCR においては F. fujikuroi や F. graminearum からの DNA 増幅は見られてお らず (Suga et al., 2013), また、 開発の経緯からして、 このプライマーペアだけの PCR 診断に F. oxvsborum 以 外の Fusarium 属菌種の菌株が用いられた場合でも、判 定用 DNA と同様サイズの DNA が非特異的反応で増幅 して誤った診断をしてしまうという危険性は低いと思わ れる。開発したマルチプレックス PCR の診断の正確性

5X GoTaq Buffer		$2\mu1$
$2.5~\mathrm{mM}$	dNTP	$0.8\mu1$
$20\mu\mathrm{M}$	FofraF プライマー	$1\mul$
$20\mu\mathrm{M}$	FofraR プライマー	$1\mul$
$10\mu\mathrm{M}$	PFO2 プライマー	1 μ 1
$10\mu\mathrm{M}$	PFO3 プライマー	1 μ 1
$5\mathrm{U}/\mu1$	GoTaq polymerase	$0.5\mu\mathrm{l}$
Mag Extractor 抽出ゲノム DNA		$2\mu1$
$_{\mathrm{H}_{2}\mathrm{O}}$		$0.7\mu\mathrm{l}$
Total		$10\mu\mathrm{l}$

マルチプレックス PCR 溶液

温度变化

サーマルサイクラーにはバイオラッド iCycler を使用

94℃ 2分 ↓

30 サイクル 94℃ 1分

94C 1元 63℃ 1分

72℃ 1分

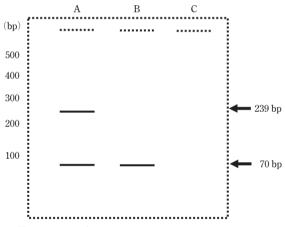


図-1 マルチプレックス PCR による F. oxysporum f. sp. fragariae の診断

FofraF, FofraR, PFO2, PFO3 プライマーによるマルチプレックス PCR の条件 (上) とマルチプレックス PCR の産物を 2.5%アガロースゲル電気泳動に供試した際に見られる増幅 DNA バンドのイラスト (下). 各レーンの上部点線は試料の電気泳動開始位置. FofraF と FofraR プライマーペアで 239 bp, PFO2 と PFO3 プライマーペアで 70 bp の DNA が増幅する. A: F. oxysporum f. sp. fragariae, B: 非病原性あるいは f. sp. fragariae 以外の分化型の F. oxysporum, C: F. oxysporum 以外の菌種.

については、新たにイチゴ栽培環境から分離した157株のFusarium 菌株を用いて調べた。マルチプレックス

PCRでは、79菌株が F. oxysporum f. sp. fragariae, 58菌 株が非病原性 F. oxysporum, 20 菌株が F. oxysporum 以外 の菌種と判定された。実際にそれらの株をそれぞれイチ ゴに接種したところ、マルチプレックス PCR で F. oxysporum f. sp. fragariae と判定された 79 菌株中の 73 菌 株が萎黄病を起こし、非病原性 F. oxysporum あるいは F. oxysporum 以外の菌種と判定された菌株はいずれも病気 を起こさなかった。マルチプレックス PCRで F. oxysporum f. sp. fragariae と判定されながらイチゴへの接 種で病気を起こさなかった6菌株は再度の接種試験を行 ってみたが、病気は起こさなかった。これらについては F. oxysporum f. sp. fragariae でありながら培養中に病原性 を失ったもの、あるいはマルチプレックス PCR の偽陽 性で本来の非病原性の F. oxysporum を誤って f. sp. fragariae と判定したものと予想されるが、不一致の原 因はわかっていない。

FoFraF と FoFraR のプライマーペアが分離菌株の診断だけではなく、土壌からの F oxysporum f. sp. fragariae の検出に利用できないかを調べるため、土壌に $10^2 \sim 10^5$ /g となるように F oxysporum f. sp. fragariae の分生胞子を添加し、そこから DNA を抽出して PCR を行ってみた。ここでは DNA の抽出前にフザリウム選択培地 (FoG2 液体培地;Nishimura, 2007)を加えて 4 日間 25℃で前培養した場合についても調べてみたところ、前培養なしの場合は 10^3 /g 以上、前培養ありの場合は 10^2 /g 以上で診断用 DNA の増幅が確認された。検出限界は土壌の種類や菌株の状態等にもよると予想されるが、本プライマーペアは土壌から直接 F oxysporum f. sp. fragariae を検出することにも利用が可能で、前培養することでその感度が上がると考えられる。

III その他の分化型・レース診断用分子マーカー

F.oxysporum においては分化型を決定している遺伝子がほとんどわかっていない中、唯一f. sp. lycopersici だけは分化型の決定にかかわる遺伝子が解明されている。F.oxysporum f. sp. lycopersici ではトマトへの菌が感染時に木部で分泌される(secreted in xylem: SIX)タンパク質群が調べられ、①それらの遺伝子(SIX)が第 14 染色体に座上していること(Ma et al., 2010)(ただし、ここで全ゲノムシーケンスに用いられた 4278 菌株はレース 2 で、SIX4(AVR1)を欠いていた)、②SIX1(AVR3)、SIX3(AVR2)、SIX4(AVR1)がレースを決定する非病原力(avirulence; AVR)遺伝子であること(Houterman et al., 2008; 2009; Rep et al., 2004)、③ F.oxysporum f. sp. lycopersici は分子系統的に複数の起源であってもすべて

の菌株が SIX1, SIX2, SIX3, SIX5 を有し、逆に f. sp. radicis-lycopersici を含む他の分化型や非病原性 F.oxysporum にはそれらがないことが明らかにされている(Lievens et al., 2009; van der Does et al., 2008)。したがって、SIX1、 あるいはさらに SIX2, SIX3, SIX5 を増幅する PCR で f. sp. lycopersici の同定が可能である。さらに F.oxysporum f. sp. lycopersici では品種特異性 (抵抗性遺伝子) に基づい てレース1~3が知られているが、レース1のみが SIX4 (AVR1) を有すること、および SIX3 (AVR2) は レース2とレース3の株間で3種類の一塩基置換が存在 することに基づいて、レース診断用の PCR プライマー が開発されている (Lievens et al., 2009)。筆者の知る限 り F.oxysporum では f. sp. lycopersici 以外に分化型の決定 にかかわる遺伝子が解明された例はなく、先に述べたよ うにこれまで F.oxysporum で報告されたきた分化型・レ ース診断用分子マーカーはいずれも目的の分化型あるい はレースとそれ以外の F.oxvsborum などとの比較に基づ いて開発されたものである。2010年以前に開発された F.oxysporum の分化型・レース診断用分子マーカーにつ いてはLievens et al. (2008), および Saikia and Kadoo (2010) にまとめられている。その後開発されたものあ るいはそれらに記載されていないものとしては、ZHANG et al. (2005) のプライマーより特異性が高められた f. sp. niveum (Lin et al., 2010), f. sp. cubense (Lin et al., 2009; Dita et al., 2010), f. sp. chrysanthemi (Li et al., 2010), f. sp. melonis V - Z 2 (Luongo et al., 2012), f. sp. ricini (Reddy et al., 2012), f. sp. cepae のタマネギ分 離株(Sasaki et al., 2015)診断用の PCR プライマーがあ る。さらに、f. sp. lycopersici については TaqMan probe を使用した定量 PCR 法も開発されている (INAMI et al., 2010)。

おわりに

IRAP-PCR に基づく分子マーカーは、トランスポゾン 関連配列間を標的としていることから安定性について不 安がないわけではないが、正確性や安定性の評価には 様々な地域、場面で実際の利用例を蓄積させることが必 要と思われる。一方、筆者らが f. sp. fragariae 診断用 PCR プライマーを開発する過程で F. oxysporum から様々 なトランスポゾン関連配列を検出してみた結果、分化型 にかかわりなく非病原菌より病原菌のほうで多くのトラ ンスポゾン関連配列が検出される傾向が見られた(Suga et al. 2013)。F. oxysporum f. sp. lycopersici では SIX が座 上する染色体にトランスポゾン関連配列が多いことが報 告されており(MA et al., 2010)、F. oxysporum における 病原性とトランスポゾンには何らかの関係があることが 予想されている。筆者らが f. sp. fragariae 診断用に開発 したマーカー領域の塩基配列について相同性検索をして み た と こ ろ,今 年 GenBank に 登 録 さ れ た f. sp. lycopersici IPO1530/B1 株 (GenBank Accession No. KP213325.1) に 82% (166/203 bp) の相同性が見られ, その相同性領域は SIX4 (AVR1) 遺伝子からわずかに 46 Kbp しか離れていないことが判明した。したがって, IRAP-PCR に基づいて開発した分子マーカーは病原菌の 迅速診断としての価値のみならず,さらに f. sp. lycopersici 以外の F. oxysporum の宿主特異性決定機構を 解明するための手掛かりになる可能性も秘めている。

謝辞 本文には、岐阜大学生命科学総合研究支援センター 須賀研究室学生諸氏および技術補佐員、岐阜大学応用生物科学部 清水研究室、岐阜大学流域圏科学研究センター 景山研究室、奈良県農業研究開発センター平山喜彦氏、栃木県農業環境指導センター 森島正二氏、千葉県農林総合研究センター 鈴木 健氏、ほか多くの関係者の協力により得られた内容および、農林水産省新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業(課題番

号 21023)「イチゴ健全種苗生産のための病害検査プログラムの構築」により得られた成果を含む。ここに記してお礼申し上げる。

引用文献

- 1) Dita, M.A. et al. (2010): Plant Pathol $59:348 \sim 357$.
- 2) Edel, V. et al. (2000): Mycol Res 104: 518 ~ 526.
- 3) HOUTERMAN, P.M. et al. (2008): PLoS Pathog 4: e1000061.
- 4) ————— et al. (2009): Plant J 58: 970 ~ 978.
- 5) Inami, K. et al. (2010): J Gen Plant Pathol 76: $116 \sim 121$.
- 6) Li, Y. et al. (2010) : Journal of Plant Pathology $\, {\bf 92}$: 525 \sim 530.
- 7) Lievens, B. et al. (2008): Pest Manag Sci. $64:781 \sim 788$.
- 8) ——— et al. (2009) : FEMS Microbiol Lett 300 : 201 \sim 215.
- 9) Lin, Y.H. et al. (2009): Eur J Plant Pathol. 123: 353 ~ 365.
- 10) ——— et al. (2010): New Biotechnology 27: 409 ~ 418.
- 11) Luongo, L. et al. (2012) : Journal of Plant Pathology 94 : 193 \sim 199.
- 12) Ma, L.J. et al. (2010): Nature 464: 367 ~ 373.
- 13) Nishimura, N. (2007): J Gen Plant Pathol 73: 342 ~ 348.
- 14) Pasquali, M. et al. (2007): Phytopathology 97:987 ~ 996.
- 15) Rep, M. et al. (2004): Mol Microbiol 53: 1373 ~ 1383.
- 16) Reddy, J.M. et al. (2012): Eur J Plant Pathol 134: 713 ~ 719.
- 17) Saikia, R. and N. Kadoo (2010): Molecular Identification of Fungi, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg Germany, p.131 \sim 157.
- 18) SASAKI, K. et al. (2015): J Gen Plant Pathol 81: 232 ~ 236.
- 19) Suga, H. et al. (2013): Plant Dis 97:619 ~ 625.
- 20) van der Does, H.C. et al. (2008): Environ Microbiol 10: 1475 ~ 1485.
- 21) Zhang, Z. et al. (2005): FEMS Microbiol Lett 249: 39 ~ 47.

新しく登録された農薬 (27.11.1~11.30)

掲載は、**種類名**、登録番号:**商品名**(製造者又は輸入者)登録年月日、有効成分:含有量、**対象作物**:対象病害虫:使用 時期等。ただし、除草剤・植物成長調整剤については、**適用作物**、適用雑草等を記載。

「殺虫剤」

● グリセリン酢酸脂肪酸エステル乳剤

23731: ベミデタッチ(石原産業)15/11/11 グリセリン酢酸脂肪酸エステル:80.0%

トマト、ミニトマト:コナジラミ類:収穫前日まで

●ポリグリセリン脂肪酸エステル乳剤

23741: **フーモン**(日本化薬)15/11/25 ポリグリセリン脂肪酸エステル: 82.5%

野菜類: ハダニ類,アブラムシ類,コナジラミ類: 収穫前日 まで

●エマメクチン安息香酸塩液剤

23743: リバイブ (シンジェンタ ジャパン) 15/11/25 エマメクチン安息香酸塩: 1.9%

さくら:ケムシ類:発生前~発生期

●エマメクチン安息香酸塩・ルフェヌロン水和剤

23744: デニムフィット 45 顆粒水和剤(シンジェンタ ジャ パン)15/11/25

エマメクチン安息香酸塩:5.0%

ルフェヌロン:40.0%

キャベツ:アオムシ:収穫7日前まで

●シアントラニリプロール水和剤

23752: MIC ベネビア OD (三井化学アグロ) 15/11/25 シアントラニリプロール: 10.3%

キャベツ: コナガ, アオムシ, ヨトウムシ, ハスモンヨトウ, ハイマダラノメイガ, ウワバ類, オオタバコガ, アザミウマ類, アブラムシ類: 収穫前日まで

はくさい: コナガ, アオムシ, ヨトウムシ, ハスモンヨトウ, ハイマダラノメイガ, アブラムシ類:収穫前日まで

だいこん: コナガ, アオムシ, ハイマダラノメイガ, アブラムシ類, ハモグリバエ類, キスジノミハムシ, ヨトウムシ: 収穫前日まで

ブロッコリー:アオムシ,ハスモンヨトウ,コナガ,アザミウマ類,アブラムシ類:収穫前日まで

トマト: オオタバコガ, ハモグリバエ類, コナジラミ類, 収 穫前日まで

きゅうり: アブラムシ類, コナジラミ類, ウリノメイガ: 収 穫前日まで

レタス: オオタバコガ, ハスモンヨトウ, ヨトウムシ, ナモグリバエ, アブラムシ類: 収穫前日まで

ピーマン: オオタバコガ, アザミウマ類, アブラムシ類, コナジラミ類: 収穫前日まで

(73ページに続く)