

植物防疫基礎講座：
植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル 2016

(10) イチゴうどんこ病

—フルチアニル剤（生物検定）—

OAT アグリオ株式会社 ^き木 ^{むら}村 ^{さち}幸

はじめに

フルチアニルは子のう菌綱 (Ascomycota), ウドンコカビ目 (Erysiphales) に属する各種植物うどんこ病菌に対して特異的に高い活性を示し、予防効果、治療効果、十分な残効性、耐雨性および浸達性を有する殺菌剤である (木村, 2012)。日本国内において 2013 年 2 月 3 日に農薬登録が認可され、現在、きゅうり、なす、すいか、メロン、かぼちゃ、いちご、ズッキーニおよび花き類・観葉植物のうどんこ病防除に広く使われている。日本のみならず、海外にも販路を拡大し、韓国ではすでに上市済みであり、今後、EU および米国等各国にも上市を予定している。フルチアニルは FRAC (Fungicide Resistance Action Committee, <http://www.frac.info>) において作用機構は不明、Target site は unknown (FRAC Code, U13) に分類されている。本剤はチアゾリジン環の 2 位にシアノメチレン基を有し、従来の殺菌剤とは異なるユニークな構造を有する。また、ベンゾイミダゾール系剤、QoI 剤および DMI 剤等の既存薬剤に対する耐性菌が交差耐性を示さないことから、本剤は既存薬剤とは異なる作用機構である可能性が示唆されている (木村, 2011)。うどんこ病菌の薬剤耐性菌発達リスクは高く、フルチアニルは新しい系統の殺菌剤とはいえ、耐性菌が出現する可能性は否定できない。果菜類の代表的なうどんこ病菌の本剤に対する感受性ベースラインを把握するために、開発当初より感受性検定方法の検討および、感受性検定に取り組んできた。イチゴうどんこ病菌およびキュウリうどんこ病菌の感受性モニタリング法およびその結果については、2012 年殺菌剤耐性菌研究会シンポジウムで報告している (木村, 2012)。

イチゴうどんこ病菌の薬剤感受性検定方法としては、ランナー先端小葉を用いる方法 (中野ら, 1992) とリー

フディスクを用いる方法 (稲田・松崎, 1994; 岡山ら, 1995), 岡山らの方法を改良したリーフディスク法 (武田ら, 1998) が報告されている。本稿では、フルチアニルについて、岡山らのリーフディスク法を基にした検定方法を紹介する。

I 検定材料の採集と移送

病斑がまだ新しく、分生子の形成が十分に見られまだ青い部分が残っている状態で、果実の場合は緑色のものを、それぞれ葉柄および果梗ごと採集する。採集したサンプルは新聞紙の間にはさみ、さらにファスナー付きビニール袋または普通のビニール袋に入れる。これを保冷剤を入れたクーラーボックスに入れ、ビニール袋の隙間に緩衝材を入れて固定し持ち帰る。

II 感受性検定方法

1 接種源の準備

採集した罹病葉の葉柄および果梗の部分の水につけ、切り戻し (斜めに)、水を吸いやすくさせる。所定量の切花鮮度保持剤 (商品名: 美咲) を入れておいた 300 ml の三角フラスコに挿し、20℃, 蛍光灯照明下 (12 時間/日 照明) の人工気象器に置き、複葉の面積の半分以上に標徴が広がり、多量に分生子が形成されるまで、約 7 ~ 10 日間維持する。なお、本切花鮮度保持剤には抗菌成分が含まれているが、うどんこ病菌の分生子形成に対して影響しないことを確認している。この方法が上手くいけば、接種源の準備のために新しい植物を準備する手間が省ける。しかし、採集した植物がすべて新鮮とは限らないため、採集した罹病葉または果実が古い場合は、下記の供試作物の準備の項目で挙げる、ランナー採りしたイチゴ苗の新葉部分に罹病葉を擦り付けて接種し、検定に用いることができるだけの分生子が増えるまで上述の条件で維持する。複数の検体を扱う場合は、コンタミを防ぐため、コムギうどんこ病菌接種源の準備で用いられている (宮島ら, 1998) ハイブリッドメッキンバッグ HM-1104® ((株) ホビメディカル製) に罹病植物を入れた三角フラスコまたは接種したイチゴポットを入れて袋

Methods for Monitoring Flutianil Sensitivity in Strawberry Powdery Mildew Fungus. By Sachi KIMURA

(キーワード: うどんこ病, 感受性検定, リーフディスク, フルチアニル)

に封をし、人工気象器に静置する。

2 供試作物の準備

容量約 13 l (幅約 64 cm × 奥行約 23 cm × 高さ約 18.5 cm) のプランターに適当な育苗培土を詰め、種苗会社またはホームセンター等で購入したイチゴ (品種: ‘女峰’) の親株をプランター当たり 4 株定植し、温室で管理する。しばらくするとランナーが発生するので、親株 1 株当たり 4 ~ 5 株の子苗をイチゴランナーピンで固定し、浅く植えつける (図-1)。その後の子苗から発生する未展開または展開したばかりの新葉を試験に供する。未展開または展開直後の新葉を直径 10 mm のコルクボーラーで打ち抜き、リーフディスクを作製する。プラスチックカップ (KP-120 MB, 鴻池プラスチック (株)) に水道水を入れ、切り込み口を入れたふたをかぶせる。長辺に沿って 1 cm 幅で 4 cm 程度切込みを入れた不織布 (4.5 × 5.5 cm) をふたにのせ、一部を切込み口からカップ内に垂らし十分吸水させる。この不織布の上に先ほどのリーフディスクの裏面を上にして乗せる (図-2)。不織布上に置くことでリーフディスクのずれ落ちを防ぎ、また常に水がある状態なので、一定期間新鮮に保つことができる。リーフディスクはカップ当たり 8 枚乗せ、これを 1 試験区とする。



図-1 イチゴ親株から伸ばしたランナー先端子苗の採苗

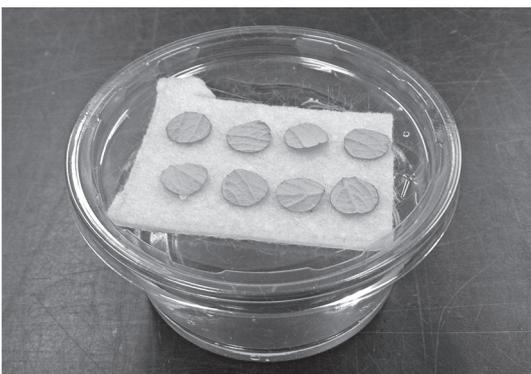


図-2 イチゴのリーフディスク

3 薬液の調製および散布

供試薬剤にはフルチアニル原体または乳剤を購入して用いる。原体を使用する場合、4,000 ppm のフルチアニルのアセトン溶液を調製し、それをストック液として 4℃ の冷蔵庫に検定直前まで保存しておく。0.01% Tween 80 水溶液に所定量のフルチアニルのアセトン溶液を加え、薬液の濃度を 10, 3.3, 1, 0.33, 0.1, 0.03, 0.01 ppm (7 段階) とする。フルチアニル 5% 乳剤を用いる場合は、5,000 倍希釈液 (有効成分 10 ppm) を調製し、上記濃度になるように希釈する。φ 18 mm × 90 mm の試験管に所定濃度に調製した薬液を 2 ml 分注し、この薬液をリーフディスクにスプレーガンやアトマイザー等の散布器具を用いて散布する。なお、対照として無散布区を設ける。リーフディスク法ではしばしば薬液上にディスクを浮かべる方法がとられる。本稿で紹介する薬液を散布する方法では、葉の裏から表あるいは葉の表から裏への浸透性を持たない薬剤であっても検定が可能である。因みに、フルチアニルは浸透性を有しているためリーフディスクを薬液に浮かべる方法でも検定可能である。

4 病原菌の接種

リーフディスクを並べたプラスチックカップの上方約 20 cm のところから、イチゴ複葉または果実上の分生子を滅菌した筆を用いて払い落とし、区全体に均一にかかるように接種する。1 試験区当たり 1 枚のイチゴ小葉を接種に用いる。

5 維持条件

病原菌接種後、プラスチックカップの不織布に乗せたリーフディスクはオープン状態で、20℃、2,000 ~ 2,500 lux、12 時間照明/日 条件下の人工気象器で 6 ~ 7 日間維持する。

6 評価方法

実体顕微鏡を用いて、リーフディスクごとの発病程度を下記の基準により評価し、下記の式より発病度を求め、薬剤の防除価を算出する。0: 病斑は認められない, 1: 病斑が 1 コロニー, 2: 病斑が 2 コロニー以上葉面積の 25% 未満, 3: 病斑が葉面積の 25% 以上 50% 未満, 4: 病斑が葉面積の 50% 以上。

$$\text{発病度} = (N_1 + 2N_2 + 3N_3 + 4N_4) \times 100 / 4(N_1 + N_2 + N_3 + N_4 + N_5)$$

$N_1 \sim N_5$ は程度別発病葉数。防除価 = $(1 - (\text{薬剤散布区の発病度} / \text{無散布区の発病度})) \times 100$

薬剤の散布濃度と防除価から、最低生育阻止濃度 (MIC 値) を決定する。

後述するようにイチゴうどんこ病菌のベースライン感受性は MIC 値で 0.1 ~ 3.3 ppm と考えられるため、そ

の範囲であれば感受性菌と考えられる。なお、検定菌は単孢子分離を実施していないため、結果にフレを生じる可能性があることを考慮しておく必要がある。

III 検定にあたっての留意点

うどんこ病菌は生きた植物からしか栄養が摂れない絶対寄生菌である。そのため本稿の生物検定では、接種源を維持し、供試作物をコンスタントに供給するため、イチゴの栽培が必要である。育苗中は病害虫の発生に注意する。どうしても育苗中にうどんこ病、アブラムシ類が発生してしまったらオレイン酸ナトリウム剤で防除し、ハダニ類の場合はプロピレングリコールモノ脂肪酸エステル剤または調合油剤で防除する。いずれも使用回数に制限はないものの、残効性による効果はない。また、試験には未展開葉を用いるため、防除薬剤の影響はほとんどないと考えられるが、念のためイチゴ苗の薬剤防除は

試験に供する7日前までにとどめておく。イチゴうどんこ病は、古い葉や開ききった本葉への接種は難しく、ほとんど感染しない。うどんこ病菌に対する感受性の高い未展開葉が試験に適している(図-3, 4)。また、薬剤散布・病原菌接種後の維持、管理条件も重要であり、20℃で高率に発病し、次いで15℃および25℃の順に発病率が低下し、30℃では発病しないことが報告されている(岡山ら, 1995)。このようにうどんこ病を発病させる条件設定は重要である。また、イチゴうどんこ病菌を圃場より採集する場合の注意点として、採集直前に殺菌剤が散布されていないことを確認する。

IV イチゴうどんこ病のフルチアニル感受性モニタリング

新系統の有効成分を含む殺菌剤を上市する前に、その薬剤に曝露されていない菌集団が示す薬剤感受性のペー

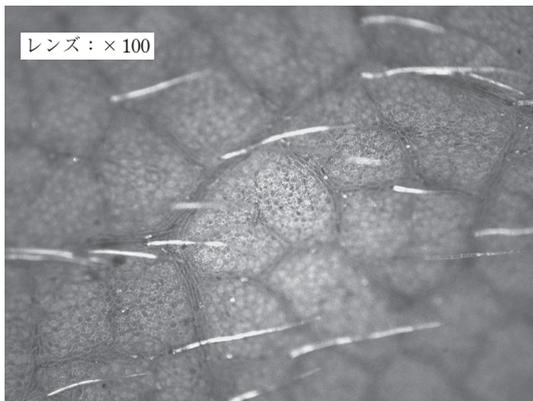


図-3 イチゴの古い葉にうどんこ病菌を接種して7日後の様子(実体顕微鏡観察)

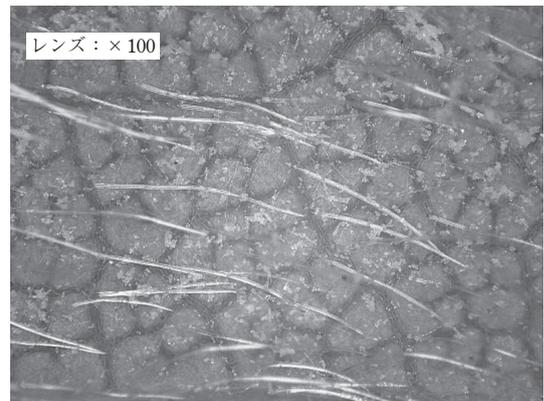


図-4 イチゴの新葉にうどんこ病菌を接種して7日後の様子(実体顕微鏡観察)

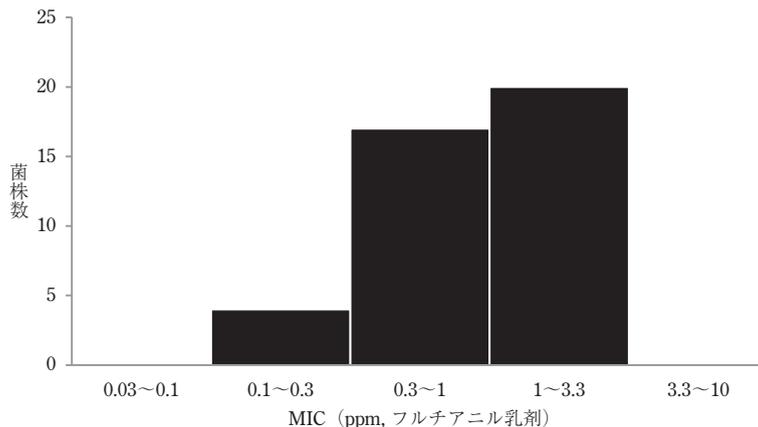


図-5 イチゴうどんこ病菌のフルチアニル乳剤に対する感受性の頻度分布(2008~12年採集の41株)

スラインを確立しておく必要がある。ベースラインよりも感受性の低い菌が検出された場合、低感受性菌と呼ばれる。フルチアニルは2013年2月3日に農薬登録が認可され、同年の3月末以降に、生産者の手に渡り始めた。それ以前の2008～12年にかけて日本各地域より採集したイチゴうどんこ病菌のフルチアニルに対する感受性検定を実施した。その結果、フルチアニルのMIC値分布域は0.1～3.3 ppmであり、1～3.3 ppmに最も多く分布し、グラフは一峰性を示した(図-5)。フルチアニルの有効成分実用濃度は10 ppmであり、曝露前の菌集団は本成分に対して感受性を示すことが確認されている。

V 今後の問題点

フルチアニルの使用にあたっては耐性菌発達回避策の一つとして、発病前から発病初期の予防的な散布を勧めており、また使用回数も1作当たり2回以内に制限している。さらには、炭酸水素カリウム剤、ドデシルベンゼ

ンスルホン酸ビスエチレンジアミン銅錯塩(II)剤、DMI剤等の系統の異なる殺菌剤とのローテーション散布を推奨している。フルチアニルは上市後3年が経過するが、圃場において安定した高い効果をあげている。しかし、フルチアニルの作用機構はいまだ不明であり、その耐性菌発生リスクを量ることができない。圃場におけるイチゴうどんこ病菌のモニタリング検定を継続して行い、薬剤感受性の変動を注視しておく必要がある。

引用文献

- 1) 稲田 稔・松崎正文 (1994): 九州病害虫研報 40: 147.
- 2) 木村 幸 (2011): 第28回農薬生物活性研究会シンポジウム講要, p.1～4.
- 3) ——— (2012): 第22回殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム講要, p.39～47.
- 4) 宮島邦之ら (1998): 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアルI, (社)日本植物防疫協会, 東京, p.22～24.
- 5) 中野智彦ら (1992): 奈良農試研報 23: 27～32.
- 6) 岡山健夫ら (1995): 日植病報 61: 215 (講要).
- 7) 武田敏幸ら (1998): 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアルI, (社)日本植物防疫協会, 東京, p.104～107.