

## 徳島県におけるキュウリ褐斑病菌の数種薬剤に対する感受性

田村 収・米本謙悟・広田恵介・青木一彦  
(徳島県立農林水産総合技術支援センター農業研究所)

### Sensitivity to several fungicides of *Corynespora cassiicola* isolated from *Corynespora* leaf spot of cucumber in Tokushima Prefecture

By Osamu TAMURA, Kengo YONEMOTO, Keisuke HIROTA and Kazuhiko AOKI (Agriculture Research Institute, Tokushima Agriculture, Forestry and Fisheries Technology Support Center ; Kamojima, Yoshinogawa, Tokushima 776-0010, Japan.)

#### 緒 言

2007年の徳島県におけるキュウリは、栽培面積が約80haであり、果菜類ではナス、イチゴに次ぐ重要品目に位置している。作型の中心は県東南部の温暖地域で、12月から6月まで収穫される促成栽培となっている。本県の促成栽培キュウリでは、べと病、灰色かび病、うどんこ病等が発生し被害が認められているが、中でも褐斑病は、多発圃場では茎葉が枯死し、4月頃には栽培の継続が困難になる場合もあるなど、本病は最も防除対策が必要な病害となっている。褐斑病の防除対策では、薬剤散布は不可欠である。しかし、幾つかの登録薬剤において既に耐性菌が発生し、防除効果が低下している事例が報告されている(挟間, 1993: 伊達ら, 2004: 宮本ら, 2006)。徳島県でも、2006年にキュウリ褐斑病菌のアゾキシストロビン、ベノミル、ジエトフェンカルブ、プロシミドンに対する感受性を検定したところ、アゾキシストロビン、ベノミルに耐性を示す菌株が存在することが明らかにされた(中野ら, 2006)。本県では、この結果を基にキュウリ褐斑病に対してはアゾキシストロビン剤の使用を控え、ボスカリド剤、ジエトフェンカルブ・プロシミドン剤あるいはジエトフェンカルブ・チオファネートメチル剤等で防除を行うよう指導されている。ところが、2006年7月にキュウリ褐斑病に適用拡大されたボスカリド水和剤において、茨城県や千葉県で耐性

菌の発生が報告された(宮本ら, 2008: 牛尾ら, 2009)。本県においてもボスカリド剤は、褐斑病防除の主要薬剤として使用されているため、本剤の効力低下への懸念が高まっている。そこでボスカリドに対する具体的な耐性菌の発生状況を明らかにするため感受性検定を実施した。

一方、アゾキシストロビン剤は、従来高い防除効果を示していたが、耐性菌が確認されて以降、現在まで使用が控えられてきた。当時から年数も経過し、生産現場での使用薬剤の充実化を図るため、再度アゾキシストロビンに対する感受性検定を実施した。

さらに、本試験ではプロシミドンについても感受性検定を実施した。プロシミドン剤は、キュウリではつる枯病、灰色かび病、菌核病に適用登録されているが、褐斑病には適用登録はない(2010年12月)。褐斑病では、幾つかの薬剤に耐性菌が出現し使用薬剤が限定されていることから、今後本病の防除薬剤の適用拡大を図る必要がある。その基礎資料を得る目的でプロシミドンに対する感受性検定を実施した。

本研究を実施するに当たり、病原菌の採集等に御協力いただいた徳島県内の各農業支援センターの関係者に深く感謝の意を表する。

## 材料および方法

### 1. 供試菌株

2010年5～6月に、県内の促成栽培キュウリを対象として徳島市1圃場、勝浦町1圃場、小松島市3圃場、阿南市11圃場、海陽町12圃場の合計28圃場から1圃場当たり20枚の褐斑病の発病葉を採取した。発病葉に形成されている分生子を2%素寒天培地上に払い落とし、顕微鏡下で培地ごと分生子を殺菌メスで切り取り、新たな2%素寒天培地に置床した。この手法で実際に単胞子分離できた556菌株を供試した。

### 2. 検定方法

#### 1) ボスカリドに対する感受性

ボスカリドに対する感受性検定には556菌株を供試し、市販のボスカリド水和剤(商品名:カンタスドライフロアブル)を用い、宮本(2009)の手法を参考に平板希釈法により実施した。すなわち、有効成分で1, 10, 30 $\mu$ g/ml含有するYBA寒天培地(Yeast Extract 10g, Bacto Pepton 10g, 酢酸ナトリウム20g, 寒天末15g, 蒸留水1,000ml)に菌叢片を置床し、25 $^{\circ}$ Cで3日間培養後、最小生育阻止濃度(minimum inhibitory concentration, 以下MICとする)を測定し、MICが30 $\mu$ g/mlを超える菌株、すなわち、いずれの検定濃度においても菌糸生育が認められた菌株を耐性菌と判定した。

感受性程度は、宮本(2009)の基準により判定した。上記試験において菌糸伸長程度が異なる108菌株を選抜し、市販のボスカリド水和剤を用いた平板希釈法により実施した。有効成分で0, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2.5, 5, 10, 30 $\mu$ g/ml量含有するYBA寒天培地に直径4mmコルクボーラーで打ち抜いた菌叢片を置床し、25 $^{\circ}$ Cで5日間培養後の菌叢直径から $EC_{50}$ 値を求め、感受性程度を判定した。

#### 2) アゾキシストロピンに対する感受性

アゾキシストロピンに対する感受性検定には555菌株を供試し、市販のアゾキシストロピン水和剤(商品名:アミスター20フロアブル)を用いた平板希釈法(石井, 2009)を改変して実施した。アゾキシストロピン100 $\mu$ g/mlと2, 3-ジヒドロ

キシベンズアルデヒド(DHBA) 1mMを含有するジャガイモ煎汁寒天培地(PDA培地)に菌叢片を置床し、25 $^{\circ}$ Cで3日間培養後、菌糸生育が認められた菌株を耐性菌と判定した。

#### 3) プロシミドンに対する感受性

プロシミドンに対する感受性検定には、各圃場から任意の10菌株を選抜し、合計280菌株を供試した。検定は市販のプロシミドン水和剤(商品名:スミレックス水和剤)を用いた平板希釈法(扶間, 1998)により実施した。プロシミドンの有効成分25 $\mu$ g/ml含有および無含有PDA培地それぞれに直径4mmのコルクボーラーで打ち抜いた菌叢片を置床し、25 $^{\circ}$ Cで4日間培養後に菌叢直径を測定し、対無処理比70%以上の菌糸伸長が認められた菌株を耐性菌と判定した。

## 結 果

#### 1) ボスカリドに対する感受性

供試した556菌株中397菌株(71.4%)はいずれの濃度においても生育が認められ、耐性菌と判定された。また、調査28圃場中24圃場、5市町全てから耐性菌が確認された。MICについては、圃場間と、近接的な地域間でも差異が見られた。すなわち、阿南市では、中野島、宝田、大野地区でMICが30 $\mu$ g/mlを上回る菌株が98.6%であったのに対し、那賀川地区では52.5%であった。同様に海陽町では、宍喰地区で79.8%であったのに対し、海南、海部地区では44.3%となっていた(第1表)。

MICによる検定結果によって判断された感受性菌38菌株、耐性菌70菌株を用い、感受性の程度を検定した。その結果、 $EC_{50}$ 値が0.1～0.3 $\mu$ g/mlとなる菌株群が34.3%、1.5～3.9 $\mu$ g/mlとなる菌株群が14.8%、9.0～23.9 $\mu$ g/mlとなる菌株群が6.5%、31.2 $\mu$ g/ml以上となる菌株群が44.4%で、4群に分かれた(第1図)。

#### 2) アゾキシストロピンに対する感受性

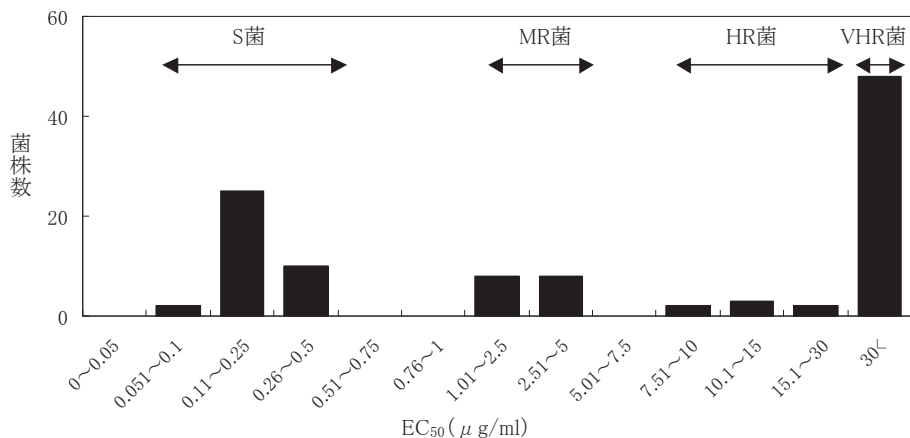
供試した555菌株中529菌株(95.3%)において、100 $\mu$ g/ml含有培地上での菌糸生育が認められ、耐性菌と判定された。また、調査圃場28圃場中、阿南市宝田の1圃場を除く27圃場で耐性菌が確認

第1表 徳島県におけるキュウリ褐斑病菌のボスカリドに対する感受性

圃場No.	採取地	供試菌株数	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) <sup>a)</sup>				耐性菌株率 <sup>b)</sup> (%)
			1	10	30	30<	
1	徳島市多家良	20	0	14	0	6	30.0
2	勝浦郡勝浦町	20	0	3	0	17	85.0
3	小松島市板野	20	0	0	0	20	100
4	小松島市板野	20	0	0	0	20	100
5	小松島市和田島	20	0	20	0	0	0
6	阿南市中野島	20	0	0	0	20	100
7	阿南市中野島	20	0	0	0	20	100
8	阿南市宝田	20	0	2	0	18	90.0
9	阿南市宝田	20	0	0	0	20	100
10	阿南市宝田	20	0	0	0	20	100
11	阿南市宝田	20	0	0	0	20	100
12	阿南市大野	20	0	0	0	20	100
13	阿南市那須川	20	0	0	0	20	100
14	阿南市那須川	20	0	20	0	0	0
15	阿南市那須川	20	0	0	0	20	100
16	阿南市那須川	20	0	18	0	2	10.0
17	海陽町穴喰	20	0	0	0	20	100
18	海陽町穴喰	20	0	10	0	10	50.0
19	海陽町穴喰	20	0	0	0	20	100
20	海陽町穴喰	20	0	0	0	20	100
21	海陽町穴喰	20	0	11	0	9	45.0
22	海陽町穴喰	20	0	4	0	16	80.0
23	海陽町穴喰	19	0	3	0	16	84.2
24	海陽町海南	20	0	16	0	4	20.0
25	海陽町海南	20	0	20	0	0	0
26	海陽町海南	18	0	18	0	0	0
27	海陽町海南	20	0	0	0	20	100
28	海陽町海部	19	0	0	0	19	100
合計		556	0	159	0	397	28.5

a) 最小生育阻止濃度。

b) MICが30 $\mu\text{g/ml}$ を超える菌株を耐性菌と判定した。



第1図 徳島県におけるキュウリ褐斑病菌のボスカリドに対する感受性頻度分布

注) 図中のS菌(感受性菌), MR菌(高度耐性菌), VHR菌(超高度耐性菌)の判定は, 宮本(2009)の基準に従った。

第2表 徳島県におけるキュウリ褐斑病菌のアゾキシストロピンに対する感受性

圃場No.	採取地	供試菌株数	耐性菌株数 <sup>a)</sup>	耐性菌株率 (%)
1	徳島市多家良	20	20	100
2	勝浦郡勝浦町	20	20	100
3	小松島市板野	20	20	100
4	小松島市板野	20	18	90.0
5	小松島市和田島	19	19	100
6	阿南市中野島	20	20	100
7	阿南市中野島	20	20	100
8	阿南市宝田	20	20	100
9	阿南市宝田	20	15	75.0
10	阿南市宝田	20	1	5.0
11	阿南市宝田	20	20	100
12	阿南市大野	20	20	100
13	阿南市那須川	20	20	100
14	阿南市那須川	20	20	100
15	阿南市那須川	20	20	100
16	阿南市那須川	20	20	100
17	海陽町穴喰	20	20	100
18	海陽町穴喰	20	20	100
19	海陽町穴喰	20	20	100
20	海陽町穴喰	20	20	100
21	海陽町穴喰	20	20	100
22	海陽町穴喰	20	20	100
23	海陽町穴喰	19	19	100
24	海陽町海南	20	20	100
25	海陽町海南	20	20	100
26	海陽町海南	18	18	100
27	海陽町海南	20	20	100
28	海陽町海部	19	19	100
	合計	555	529	95.3

a) アゾキシストロピン100 $\mu$ g/ml含有PDA培地上で菌糸生育が認められた菌株を耐性菌と判定した。

されたことに加え、各圃場の耐性菌株率は75.0～100%となっていた(第2表)。

### 3) プロシミドンに対する感受性

供試した280菌株中11菌株(3.9%)において、25 $\mu$ g/ml含有培地上で対無処理比70%以上の菌糸生育が認められ、耐性菌と判定された。耐性菌発生2圃場のうち、阿南市宝田では、耐性菌株率90%を示していた(第3表)。

## 考 察

宮本(2009)は、YBA寒天培地を用いた平板希釈法により、ボスカリド水和剤が農薬登録される以前の分離菌株について感受性検定を行い、感

受性菌のベースラインとして、菌糸生育に対するMICが0.5～7.5 $\mu$ g/mlであることを報告している。本調査ではこの感受性菌のベースラインを参考にし、MICが10 $\mu$ g/ml以下の菌株を感受性菌、10 $\mu$ g/mlを超える菌株を耐性菌と判定した。その結果、28圃場で収集した556菌株中24圃場の397菌株でMICが10 $\mu$ g/mlを超え耐性菌と判定され、調査した徳島市、勝浦町、小松島市、阿南市、海陽町の全ての市町から耐性菌が確認された。以上の結果から徳島県において、ボスカリド耐性キュウリ褐斑病菌を初めて確認し、本耐性菌が広範囲で高率に発生していることが明らかになった。また、宮本(2009)はEC<sub>50</sub>値が1.1～6.3 $\mu$ g/mlとなる菌株を中等度耐性菌(MR菌)、8.9～10.7 $\mu$ g/mlとなる菌株を高度耐性菌(HR菌)、24.8 $\mu$ g/ml以

第3表 徳島県におけるキュウリ褐斑病菌のプロシミドンに対する感受性

圃場No.	採取地	供試菌株数	耐性菌株数 <sup>a)</sup>	耐性菌株率 (%)
1	徳島市多家良	10	0	0
2	勝浦郡勝浦町	10	0	0
3	小松島市板野	10	0	0
4	小松島市板野	10	2	20.0
5	小松島市和田島	10	0	0
6	阿南市中野島	10	0	0
7	阿南市中野島	10	0	0
8	阿南市宝田	10	0	0
9	阿南市宝田	10	0	0
10	阿南市宝田	10	9	90.0
11	阿南市宝田	10	0	0
12	阿南市大野	10	0	0
13	阿南市那須川	10	0	0
14	阿南市那須川	10	0	0
15	阿南市那須川	10	0	0
16	阿南市那須川	10	0	0
17	海陽町穴喰	10	0	0
18	海陽町穴喰	10	0	0
19	海陽町穴喰	10	0	0
20	海陽町穴喰	10	0	0
21	海陽町穴喰	10	0	0
22	海陽町穴喰	10	0	0
23	海陽町穴喰	10	0	0
24	海陽町海南	10	0	0
25	海陽町海南	10	0	0
26	海陽町海南	10	0	0
27	海陽町海南	10	0	0
28	海陽町海部	10	0	0
	合計	280	11	3.9

a) プロシミドン25 $\mu$ g/ml含有PDA培地上で対無処理比70%以上の菌糸生育が認められた菌株を耐性菌と判定した。

上となる菌株を超高度耐性菌（VHR菌）とする判定基準を明示している。これを基準に、今回供試した108菌株の感受性の分布割合を見ると、宮本（2009）の結果に比べてVHR菌が高い割合で発生しており、本県で発生している耐性菌は耐性程度の高いことが明らかとなった。また、牛尾ら（2009）は耐性菌、感受性菌を供試し、耐性菌接種区ではボスカリド剤の防除効果が劣ることを報告している。このことから本県に発生しているキュウリ褐斑病に対する本剤の防除効果は劣ることが推察できることから、ボスカリド剤の使用を控えることが望まれる。

アズキシストロビンに対する感受性検定では、28圃場で収集した555菌株中28圃場の529菌株が耐

性菌と判定された。耐性菌株率の低い圃場が1圃場で認められたものの、調査28圃場全てから耐性菌が確認された。本県においては、2006年にも本剤のキュウリ褐斑病に対する感受性検定を行い、徳島市、勝浦町、小松島市、阿南市、海陽町の18圃場で収集した47菌株中18圃場の44菌株で耐性菌が確認されている（中野ら、2006）。この2006年検定結果を踏まえ、本県の促成栽培キュウリ産地では、アズキシストロビン水和剤の使用を控えるよう指導されていた。今回、感受性回復を期待したが、検定結果からは見い出せなかった。このことより、引き続き本県の促成栽培キュウリ圃場ではアズキシストロビンの褐斑病に対する防除効果は期待できないものと考えられる。



ジカルボキシイミド系薬剤であるプロシミドンについて感受性検定を実施した結果、28圃場で収集した280菌株中2圃場の11菌株が耐性菌と判定された。本県においては、2006年に徳島市、勝浦町、小松島市、阿南市、海陽町の18圃場で収集した92菌株の検定を実施したが、耐性菌は確認されていなかった（中野ら、2006）。このことより、徳島県においてプロシミドン耐性キュウリ褐斑病菌が初めて確認された。なお、プロシミドン耐性菌が確認された2圃場は、ジエトフェンカルブ・プロシミドン水和剤の使用回数が5回と他の圃場よりも多く使用されるなど、耐性菌が確認されたのはごく一部の圃場に限定されており、本県の大半の促成栽培キュウリ圃場では、プロシミドン剤の褐斑病に対する防除効果は期待できるものと考えられた。

今回の感受性検定の結果より、徳島県においてボスカリドおよびプロシミドンそれぞれに対して耐性を有するキュウリ褐斑病菌が初めて確認され、アゾキシストロピンの感受性回復もみられなかったことから、本県において、本病に対する有効な薬剤は更に限定されていることが明らかとなった。キュウリ褐斑病は多湿条件の施設で蔓延しやすく、生育後半の肥料切れや窒素過多などは発病を助長する（挟間、1993）。これらの発生要因を耕種的防除の実践によりできる限り回避した上で、有効薬剤の適切な使用を心掛けることが、薬剤耐性菌の発生を回避する上でも重要と判断する。

## 摘 要

2010年に、徳島県内促成栽培キュウリ28圃場から収集したキュウリ褐斑病菌のボスカリド、アゾキシストロピンおよびプロシミドンに対する感受性を平板希釈法により調査した。その結果、ボスカリドに対しては28圃場556菌株中24圃場397菌株が、アゾキシストロピンに対しては28圃場555菌株中28圃場529菌株が、プロシミドンに対しては

28圃場280菌株中2圃場11菌株がそれぞれ耐性菌と判定された。

徳島県において、ボスカリド耐性キュウリ褐斑病菌およびプロシミドン耐性キュウリ褐斑病菌が初めて確認された。

## 引用文献

- 伊達寛敬・片岡英子・谷名光治・佐々木静江・井上幸次・那須英夫・粕山新二（2004）：岡山県におけるチオファネートメチル、ジエトフェンカルブ及びアゾキシストロピンに対するキュウリ褐斑病菌の感受性。日植病報，70:10～13。
- 挟間 渉（1993）：キュウリ褐斑病の発生生態と防除に関する研究。大分農技研特報，2:10-13
- 挟間 渉（1998）：野菜類褐斑病菌（黒枯病菌）。植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル（日本植物病理学会殺菌剤耐性菌研究会編），日本植物防疫協会，東京：46～50。
- 挟間 渉・佐藤通浩（1996）：九州・沖縄地域における薬剤耐性キュウリ褐斑病菌の発生実態。九病虫研会報，42:26～30。
- 石井英夫（2009）：キュウリ褐斑病菌。植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアルⅡ（日本植物病理学会殺菌剤耐性菌研究会編），日本植物防疫協会，東京：69～71。
- 宮本拓也・（2008）：ボスカリド耐性キュウリ褐斑病の発生。日植病報，74:37～38。
- 宮本拓也（2009）：キュウリ褐斑病菌。植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアルⅡ（日本植物病理学会殺菌剤耐性菌研究会編），日本植物防疫協会，東京：72～75。
- 中野理子・矢野景子・広田恵介・稲田 稔・石井英夫（2006）：徳島県で最近問題となっているイチゴ炭疽病，キュウリ褐斑病における薬剤耐性菌の出現状況。四国植防，41:49～50。
- 牛尾進吾・竹内妙子（2009）：千葉県におけるキュウリ褐斑病菌のボスカリド剤に対する感受性。千葉農林総研研報，1:47～50。