

福井県におけるチオファネートメチル耐性ウメ黒星病菌の 出現とその簡易検定法

本多 範行・川久保幸雄

Noriyuki HONDA, Yukio KAWAKUBO:

Occurrence of thiophanatemethyl-resistant strains of the Japanese apricot scab fungus,
Cladosporium carpophilum, in Fukui Prefecture and the simple method
for determining their tolerance

福井県におけるウメの栽培は、県南部の三方五湖周辺を中心に約400ha作付けされ、その栽培面積は年々増えている。しかし、主要品種の「紅サン」は黒星病に弱いため、本県では黒星病の防除がウメ栽培にとって最重要課題となっている。ウメ黒星病菌 (*Cladosporium carpophilum* Thümen) の果実への感染は、4月下旬から5月上旬に最も高率におこり、果実上での潜伏期間は19~27日間でモモ同様長い²⁾。また、本病の感染は降水量、降水日数が多く、日照時間が少なく、最小湿度が高い時に多い²⁾。本病の防除対策は主に薬剤散布によって行われ、休眠期には石灰硫黄合剤、感染初期と感染最盛期には各種登録薬剤の散布が実施されている。

福井県では昭和51年から黒星病防除にチオファネートメチル剤が使用され始め、当初その防除効果は顕著であった²⁾。しかし、近年他県で黒星病に対する本剤の効力低下が指摘されているのと同様に^{4,5)}、本県においても数年前から本剤を散布しているにもかかわらず黒星病が多発し問題となっている。そこで、1988~89年に県内梅園の罹病果から黒星病菌を分離し、チオファネートメチルに対する耐性菌の出現頻度を調査するため、各菌の本剤に対する感受性を検定した。また同時に、多検体を迅速に検定できる手法の改良についても検討したので、その結果を報告する。

本報告に当たり、ご指導や有益なご助言をいただいた福井県園芸試験場田辺賢治次長、山本仁研究員、中川文雄技師 (現若狭農業改良普及所) に深く感謝する。

材料および方法

1. 供試菌

1988~89年までに8~9年間チオファネートメチル剤を連続散布した福井園試の梅園 (品種: 紅サン) の果実から黒星病菌を分離し供試菌とした。また、同園で

1987年まで7年間連続して本剤を散布した樹 (品種: 紅サン) の果実から本病発生初期 (6月8日)、収穫初期 (6月13日)、収穫後期 (6月23日) に本菌を分離した。1989年には福井園試梅園と福井県三方町の本剤散布歴のある8梅園 (品種: 紅サン) の果実から本菌を分離した。また1988年に、過去にチオファネートメチル剤を散布したことのない福井県敦賀市のウメ果実 (品種: 白加賀) から菌を分離した。

2. 菌の分離

採集したウメ果実の病斑を5mm角に切り取り、25℃の湿室において形成させた分生胞子を白金耳で掻き取り、100ppm ストレプトマイシンを添加した素寒天培地上に塗布し、25℃に5日間置いた後、発芽した単胞子を分離した。

3. チオファネートメチル剤に対する耐性検定

菌叢生育法⁵⁾により、分離菌株の菌叢の最小生育阻止濃度 (MIC) を求めた。検定培地はジャガイモ・デキストロース・寒天 (PDA) 培地を用い、培地中のチオファネートメチル剤 (水和剤 成分量70%) 濃度を2倍段階希釈法により、0.19, 0.39, 0.78, 1.56, 3.12, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 400, 800, 1,600, 3,200および6,400 ppm になるように調整し、オートクレーブで滅菌した後シャーレに流し込んだ。これに、PDA 培地で25℃で3~4か月間培養した黒星病菌の菌叢の一部を切り取って移植し、25℃で20日間培養後、培地上での菌糸の生育の有無により最小生育阻止濃度 (MIC) を求めた。なお後述の第1図の結果により、MIC1.56ppm 以下を感性菌、MIC3.12ppm 以上を耐性菌とした。

4. チオファネートメチル耐性菌の各種薬剤に対する感受性

チオファネートメチル耐性菌の他の薬剤に対する感受性を調査するため、本剤に対する感性菌5菌株、耐性菌11菌株の計16菌株を、ペノミル水和剤、キャプタン水和剤、ポリカーバメート水和剤、ピレルタノール水和剤および水和硫黄剤の5剤を所定濃度に添加したPDA培地

に移植し、前述の方法でMICを求めた。

5. チオファネートメチル剤による防除効果

4月上旬に1/2,000 aポットに移植した紅サシの果実に、感性菌1菌株と耐性菌2菌株の菌叢を接種し、25℃、24時間湿室に保った後、果袋で被覆した。予防散布は接種直前に、治療散布は接種1日後にトップジンM水和剤

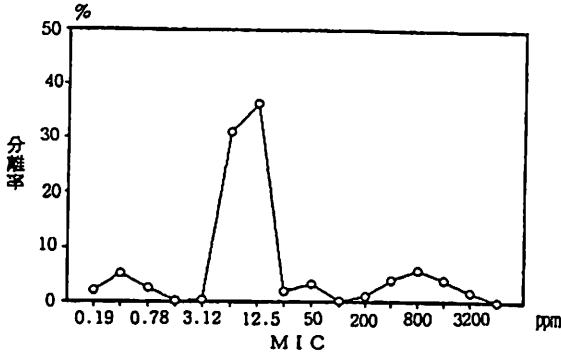
1,500倍液を散布し、接種約60日後に病斑数を調査して防除価を算出した。

6. 孢子発芽管隔膜法による耐性検定

孢子発芽管隔膜法⁸⁾は感性菌20菌株、耐性菌50菌株の計70菌株を供試し、以下の手順で行った。殺菌水1ml加えて作成した各菌株の孢子懸濁液を所定の濃度のチオファネートメチル添加PDA培地に塗布し、25℃、10日間培養後、発芽管の隔膜の有無を調査した。隔膜を有する菌を耐性無しと判定して、各菌株のMICを算出し、前述の菌叢生育法により算出したMICと比較した。また、本法により同一病斑に形成された分生胞子の薬剤感受性および2か所の梅園から採取した果実病斑の分生胞子の薬剤感受性を検定した。

結 果

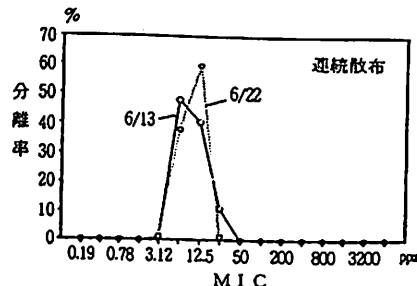
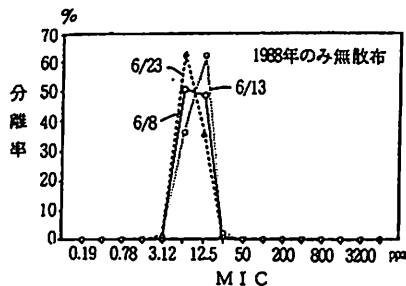
1988~89年の2年間に供試した680菌株のチオファネートメチルに対する感受性は、MICが0.39, 12.5, 50および800ppmにピークを持つ4峰性を示した(第1図)。耐性菌は高率に存在し、中等度耐性菌(6.25 ≤ MIC ≤ 12.5ppm)は69.6%、高度耐性菌(50ppm ≤ MIC)は20.4



第1図 ウメ黒星病菌のチオファネートメチル剤に対する感受性

第1表 チオファネートメチル剤散布と薬剤感受性との関係

栽培条件 (採集場所)		調査 菌株数	感 性 菌 率	耐 性 菌 率	
				中 等 度	高 度
無散布樹	(敦賀市)	54	100%	0%	0%
8年間散布樹	(福井園試)	156	0	100	0
9年間散布樹	(福井園試)	28	0	100	0
1年間散布中止樹	(福井園試)	255	0	100	0
2年間散布中止樹	(福井園試)	9	0	100	0
苗圃場	(福井園試)	14	50.0	50.0	0
農家A	(三方町黒田)	22	0	9.1	90.9
農家B	(三方町田井野)	39	12.8	0	87.2
農家C	(三方町田井野)	8	0	0	100
農家D	(三方町河内)	18	11.1	0	88.9
農家E	(三方町遊子)	21	0	76.2	23.8
農家F	(三方町田立)	19	0	0	100
農家G	(三方町成出)	12	0	0	100
農家H	(三方町田出)	25	0	0	100



第2図 時期別に分離したウメ黒星病菌のチオファネートメチル剤に対するMIC値の変化

%, MIC0.78ppm以下の感性菌は10.0%であった。

分離菌株のチオファネートメチル感受性と薬剤の散布歴などの関係をまとめ、第1表に示した。本剤の散布歴のない黒星病菌は全て感性菌であったが、本剤を年間2回程度使用している福井園試からの分離菌は、全て中等度耐性菌であった。耐性菌は栽培地帯に広く分布しており、本剤の散布歴のある三方町の8農家の梅園の内、7農家の梅園から分離した菌株の約90%が高度耐性菌であった。本剤を散布している福井園試のウメから発病時期ごとに採取した黒星病菌のMICのピークは、分離時期によって大きく変動することはなかった(第2図)。また、本剤の散布を1~2年中止しても耐性菌比率は低下しなかった。しかし、本剤の散布歴のない福井園試内の苗圃場のウメからは感性菌が分離された。

チオファネートメチル剤に対して感受性の異なる分離菌の各種登録剤に対するMICの頻度分布を第2表に示した。チオファネートメチル耐性黒星病菌はベノミルに対して交差耐性を示した。しかし、キャプタン、ポリカ

ーバメート、ピテルタノールおよび水和硫黄に対しては交差耐性を示さなかった。

次に、耐性菌に対するチオファネートメチル剤の防除効果を第3表に示した。少発生下の試験であったが、高度耐性菌 R-89122の防除価は予防散布で65, 治療散布で2であった。中等度耐性菌 R-89045はチオファネートメチル剤散布の効果が全く認められなかった。

以上のことから、耐性菌は感性菌に比べて予防散布, 治療散布ともに防除効果が劣り、ウメ黒星病に対する効力低下には耐性菌が関与していることが明らかになった。

菌叢生育法によって得られたMICと発芽管隔膜法で得られたMICを比較すると、発芽管隔膜法によるMICは菌叢生育法によるMICより低い値を示したが、両者の値は、第3図のように比例関係($\log Y(\text{菌叢生育法 MIC}) = -0.211 + 0.735 \log X(\text{発芽管隔膜法 MIC})$, $r = 0.963123$)を示した。また、同一病斑の分生胞子のチオファネートメチル剤に対するMICは同じ値を示し

第2表 チオファネートメチル耐性ウメ黒星病菌に対する各剤の最小生育阻止濃度¹⁾

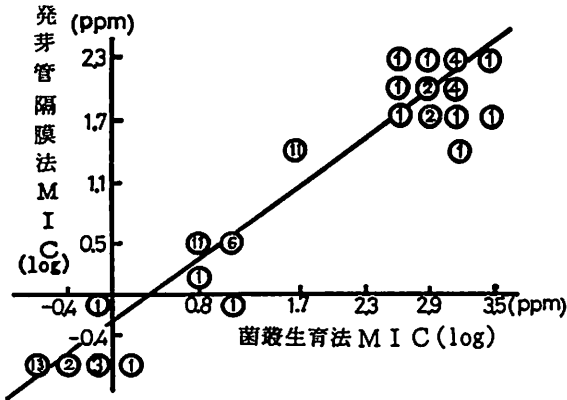
各剤の濃度 (ppm)	菌 株 数											
	チ オ フ ァ ネ ー ト メ チ ル 剤 の MIC (ppm)											
	0.39	0.78	1.56	6.25	12.5	25	50	100	400	800	1600	3200
ベノミル 1	3	2										
10				2	3							
100							1			1		
1000										2	1	1
1000<												
ピテルタノール 1	1			1						1	1	1
10	2	2		1	3		1			2		
100												
1000												
1000<												
キャプタン 1												
10												
100	1	2		1	3		1			3	1	1
1000	2			1								
1000<												
ポリカーバメート 1												
10		1		1	1					1		
100	3	1		1	2		1			2	1	1
1000												
1000<												
硫 黄 1												
10												
100												
1000					1							
1000<	3	2		2	2		1			3	1	1

¹⁾ 空欄は該当する菌株のないことを示す。

第3表 チオファネートメチル耐性ウメ黒星病菌に対する同剤の防除効果¹⁾

菌 株	最小生育 阻止濃度	予 防 散 布		治 療 散 布		
		無 防 除 病斑数 ²⁾	病斑数 ²⁾	防除価	病斑数 ²⁾	防除価
S-89040	0.39ppm	2.28個	0.06個	97	1.00個	56
R-89045	12.5	1.30	3.81	0	1.64	0
R-89122	50	1.36	0.48	65	1.33	2

- 1) トップジンM水和剤1500倍液を予防散布は接種1日前, 治療散布は接種1日後に散布。接種60日後に調査。
- 2) 1果当たり病斑数。



第3図 発芽管隔膜法と菌叢生育法によるウメ黒星病菌のチオファネートメチル剤に対するMICの比較
○内の数字は菌株数を示す。

第4表 同一病斑上に形成したウメ黒星病菌分生胞子のチオファネートメチル剤に対する感受性¹⁾

病 斑 番 号	最 小 生 育 阻 止 濃 度 (ppm)				
	1	10	100	1000	1000<
1	0/10	10/10	0/10	0/10	0/10
2	0/10	10/10	0/10	0/10	0/10
3	0/10	0/10	10/10	0/10	0/10
4	0/10	0/10	0/10	10/10	0/10

- 1) 1病斑から各濃度培地に10孢子移植

た(第4表)。

発芽管隔膜法で2か所の梅園の黒星病菌のチオファネートメチル感受性を調査すると, A園では11.8%, B園では35.2%が100ppmでも分生胞子の発芽が認められ, 耐性菌と判断された。

考 察

福井県におけるウメ黒星病のチオファネートメチル剤の効力低下の要因を検討するため1988~89年の2年間, 罹病果から分離した菌株について, MIC法でチオファネートメチル感受性を調べた。

その結果, 本県で分離された菌株の菌叢生育法によるチオファネートメチルのMICは0.39, 12.5, 50および

800ppmにピークをもつ4峰性を示した。防除試験においても, 耐性菌は感性菌に比べて防除効果が低かった。ベンゾイミダゾール耐性ウメ黒星病菌については大分県⁶⁾, 和歌山県⁴⁾で, 既に報告されており, 今回の検定で本県においてもチオファネートメチル耐性ウメ黒星病菌の出現が確認された。福井園試の梅園は, 本剤の散布を年間2回程度に抑え他剤とのローテーション防除をしても, 耐性菌の出現が認められたが, 全て中等度耐性菌であった。一方, 本剤の散布回数の多い栽培農家梅園からは高度耐性菌が高率に分離された。また, 発病初期から収穫後期まで発病時期別に分離した黒星病菌の感受性に大きな変動がなく, 本剤の使用を2年間中止しても高い耐性菌の比率に変化はなかった。

ポリオキシ耐性ナン黒斑病では, 耐性菌出現後, 同剤の散布を停止すると感受性菌が急速に回復するが⁹⁾, チオファネートメチル耐性ウメ黒星病菌の場合は, チオファネートメチル耐性ナン黒星病菌¹⁾と同様, 耐性菌の急激な減少は認められなかった。

多くの植物病原菌のチオファネートメチル耐性菌はベノミルと交差耐性を示す⁷⁾ことが既に報告されているが, 本検定でも同様の結果が得られた。しかし, 他の登録薬剤に対しては耐性を有しないようであった。菌叢生育法によるMICからは水和硫黄, キャプタンの本菌に対する薬効が低かったが, 実用散布濃度における感受性について検討する必要がある。

チオファネートメチル剤の連続散布は耐性菌未発生園においても, 今後十分注意を払う必要がある。また, 耐性菌の出現した圃場では, 本剤の使用中止, 代替剤の使用が必要である。このため, 本県では1988年から生育期の防除をチオファネートメチル剤を主体としたものから水和硫黄剤を主体にしたものに変更した。

同一病斑から分離された分生胞子のチオファネートメチルに対するMICには差異はなく, 同一病斑内に感受性胞子と耐性胞子が混在している可能性は少ないと思われる。同様な結果はチオファネートメチル耐性ナン黒星病菌¹⁾, カスガマイシン耐性イネいもち病菌³⁾についても得られている。したがって, ウメ黒星病菌のチオファネートメチルに対する感受性を検定する際には, 1病斑から

一個の分生胞子を分離し、その感受性を検定すれば十分であると考えられる。

ウメ黒星病菌は培地上での生育が遅く、菌叢生育法でのMICは結果の判定までに20日以上を要する。このような長時間を要する検定では、一度に多数の菌を扱うことは困難である。そこで発芽管隔膜法をウメ黒星病菌の耐性検定に応用することを試みた。発芽管隔膜法と菌叢生育法によるMICを比較すると、前者は後者に比べて低い値を示したが、両者の値は比例関係にあり、発芽管隔膜法におけるMICは5～10日で判定が可能であった。このことから、ウメ黒星病菌のチオファネートメチル耐性検定は、病斑上の分生胞子を直接薬剤添加培地に塗布し、発芽管隔膜法により迅速で、簡便な検定が可能と思われる。実際に、2梅園の罹病果実から直接、分生胞子をチオファネートメチル100ppm添加培地に塗り付け、分生胞子の発芽状況を調査することで耐性菌の発生を確認できた。しかし、この方法では、細菌等による汚染があり、新鮮な病斑から分生胞子を採取したり、培養条件等について、今後検討する余地が残されている。

摘 要

1. 1988～89年の2か年間、福井県内で発生したウメ黒星病菌を果実病斑から分離し、チオファネートメチル耐性検定を行い、さらに本病菌の簡易な薬剤検定方法について検討した。
2. チオファネートメチル剤感受性はMICが0.39, 12.5, 50, 800ppmにピークを持つ4峰性に分かれ、耐性菌は高率に存在しており、中等度耐性菌は69.6%、高度耐性菌は20.4%を占めていた。チオファネートメチル剤の使用を中止しても高率な耐性菌の存在に変化はなかった。耐性菌はチオファネートメチル剤の防除効果が低く、本県においてチオファネートメチル耐性ウメ黒星病菌の出現が確認された。
3. チオファネートメチル耐性菌は同一系統であるべ

ノミル剤に交差耐性を示したが、他の登録薬剤には耐性を有しなかった。

4. 発芽管隔膜法によるMICは菌叢生育法でのMICに比べて低い値を示したが、両者の値は比例関係にあった。このことから本病の薬剤耐性は、病斑上の分生胞子を直接検定用培地に塗布し、発芽管の隔膜形成の有無を調べる発芽管隔膜法により迅速かつ簡易に検定が可能である。

引用文献

- 1) 石崎 寛・河野 満・土田 稔・海野 昌・羽澄康則・加藤晋朗・久野 均 (1983) 三重県香良州町のナシ園におけるチオファネートメチル耐性ナシ黒星病菌出現率の年次変動. 日植病報 49: 347～351.
- 2) 川久保幸雄 (1980) ウメ黒星病菌の果実への感染時期と防除適期について. 北陸病虫研報 28: 71～74.
- 3) 三浦春夫 (1975) カスガマイシン耐性イネいもち病の発生と対策. 植物防疫 29: 183～186.
- 4) 夏見兼生 (1988) 和歌山県におけるウメ主要病害の防除対策. 農薬研究 137: 1～8.
- 5) 桜井 寿 (1975) 薬剤耐性菌の検定法. 植物防疫 29: 206～212.
- 6) 竹田弘美・石井英夫・中尾茂男 (1990) ウメ黒星病斑より分離された *Cladosporium* 属菌のベンゾイミダゾール系薬剤耐性について. 日植病報 56: 92 (講要)
- 7) 上杉康彦 (1975) 諸外国における薬剤耐性植物病原菌の発生と研究の現状. 植物防疫 29: 167～172.
- 8) 梅本清作・長井雄治 (1979) ベノミル耐性ナシ黒星病菌の簡易検定法. 日植病報 45: 430～435.
- 9) 宇田川英夫 (1975) ポリオキシシン耐性ナシ黒斑病菌の発生と対策. 植物防疫 29: 189～193.

(1991年12月10日受領)