

[成果情報名] 灰色かび病菌のコハク酸脱水素酵素阻害剤に対する有効な感受性検定法

[要約] ボスカリド、ペンチオピラドのコハク酸脱水素阻害剤（SDHI 剤）に対する灰色かび病菌の感受性検定には、SDHI 剤 1 ppm 含有 YBA 寒天培地ペーパーディスク法が適する。

[キーワード] 灰色かび病菌、感受性検定、SDHI 剤、MIC 値

[担当] 三重農研・循環機能開発研究課

[代表連絡先] 電話 0598-42-6357

[区分] 関東東海北陸農業・関東東海・病害虫（病害）

[分類] 研究・参考

[背景・ねらい]

灰色かび病菌は、耐性菌発生リスクが高いことから、殺菌剤の感受性程度を把握し、経年の感受性モニタリングを行なうことによって、感受性の低下を早期に検出することが重要である。SDHI 剤（ボスカリド、ペンチオピラド）の感受性検定法として提案されている YBA 寒天培地菌叢ディスク（YBA-CD）法および GLYE 寒天培地ペーパーディスク（GLYE-PD）法を用いて三重県採取菌株を検定したところ、100ppm で MIC 値が得られない菌株を用いた防除試験では防除効果が認められ、適切な結果が得られなかった。そこで、SDHI 剤に対する感受性を評価するための新たな検定法を検討するとともに、灰色かび病菌の感受性程度を評価する。

[成果の内容・特徴]

1. YBA 寒天培地ペーパーディスク（YBA-PD）法は、孢子懸濁液を含ませた滅菌ペーパーディスク（東洋濾紙抗生物質検定用径 6 mm）を、SDHI 剤を含有する YBA 寒天培地（蒸留水 1000ml、Yeast extract 10g、Bacto peptone 10g、Sodium acetate 20g、Agar 15g）に置床し、20℃で 7 日間培養後、菌叢形成の有無を調査する方法である。
2. ボスカリドにおいて、トマト、ナス及びイチゴの果実、葉、茎の標徴部から分離した 2005～2007 年採取菌株を用いて検定すると、YBA-PD 法では、MIC 値が概ね 1 ppm 以下と判断される（図 1）。一方、YBA-CD 法では、MIC 値が各濃度で認められ、100ppm よりも高いと判断される菌株がある（図 2）。
3. ペンチオピラドにおいて、同様に分離した 2005～2007 年採取菌株（113 菌株）を用いて検定すると、YBA-PD 法では、MIC 値が概ね 1 ppm 以下と判断される（データ省略）。一方、GLYE-PD 法では、MIC 値が 3 峰型（2005 年）を示し、100ppm よりも高いと判断される菌株がある（データ省略）。
4. 両剤とも YBA-PD 法では、MIC 値が概ね 1 ppm 以下と判断されることから、SDHI 剤 1 ppm 含有 YBA-PD 法を用いて、同様に分離した 2009 年採取菌株の感受性検定を行なったところ、耐性菌は認められない（表 1）。
5. 耐性菌対策は、薬剤感受性の耐性側へのシフトを早期に検出して、耐性菌による被害の発生を未然に防止するべきである。よって、SDHI 剤 1 ppm 含有 YBA-PD 法を用いた継続的な薬剤感受性のモニタリングは有効である。

[成果の活用面・留意点]

1. SDHI 剤 1 ppm 含有 YBA-PD 法は、感受性検定の 1 次検定に用い、生育菌株が得られた場合は、接種試験による 2 次検定を実施し防除効果を確認する。
2. 日本における灰色かび病菌の SDHI 剤耐性菌は未確認であるため、YBA-PD 法で検出できるかどうかの検証は出来ていない。

[具体的データ]

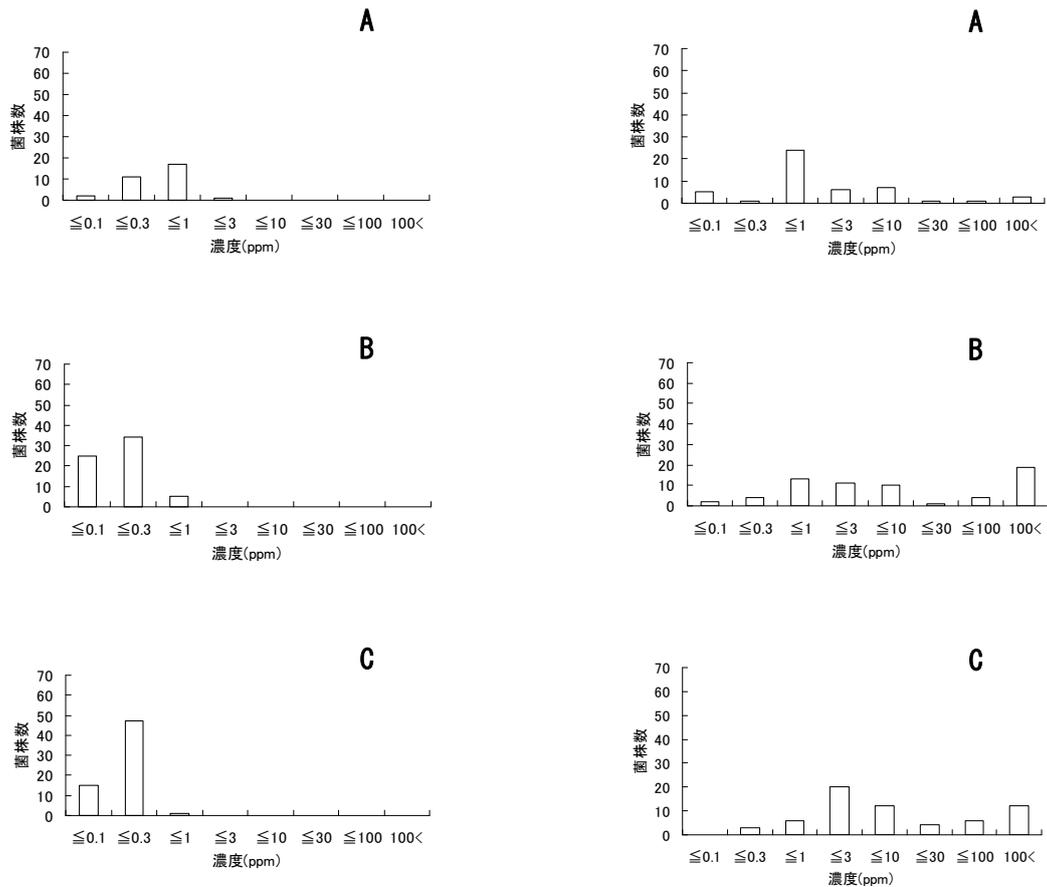


図1 灰色かび病菌のボスカリドに対する YBA-PD 法による MIC 値別菌株数

図2 灰色かび病菌のボスカリドに対する YBA-CD 法による MIC 値別菌株数

供試菌株数
 A 2005 年度 : 31 菌株
 B 2006 年度 : 64 菌株
 C 2007 年度 : 63 菌株

供試菌株数
 A 2005 年度 : 48 菌株
 B 2006 年度 : 64 菌株
 C 2007 年度 : 63 菌株

表 1 2009 年分離菌株の感受性検定

薬剤	検定菌株数	YBA寒天培地ペーパーディスク法 (薬剤1ppm)		接種試験(100ppm) 病斑形成抑制率	
		生育なし	生育あり	90%以上	90%未満
ボスカリド	188	188	0	-	-
ペンチオピラド	174	173	1	1	0

※接種試験: YBA 寒天培地ペーパーディスク法(ペンチオピラド 1ppm 添加)で生育した 1 菌株を対象に実施した。試験方法は、薬剤散布したキュウリ子葉中央に滅菌ペーパーディスクを置き、孢子懸濁液(約 10^5 個/ml)を 50 μ l 滴下し、20°C 温室で 3 日間静置後、4 子葉の病斑直径を計測し、次式より病斑抑制率を算出した。病斑形成抑制率(%) = (無処理区平均病斑直径 - 薬剤処理区平均病斑直径) / 無処理区平均病斑直径 \times 100

[その他]

研究課題名 : 病虫害発生予察等総合推進事業
 予算区分 : 国補 研究期間 : 2005 年 ~ 2009 年
 研究担当者 : 鈴木啓史、黒田克利