

特集：QoI 剤耐性菌の発生状況とその対策

レタス灰色かび病菌での QoI 剤耐性菌の発生

香川県農業試験場 生産環境部門 にしむら 西村 ふみひろ 文宏・くすのき 楠 みきお 幹生

はじめに

香川県は冬レタスの生産量が全国第2位の産地である。冬期のレタス栽培ではビニールフィルムをトンネル状に被覆するため、トンネル内が過湿状態となり、*Botrytis cinerea* による灰色かび病が発生しやすい。さらに、本県の作型は早期水稲→年内どりレタス（夏播き・10～12月収穫）→春どりレタス（冬播き・4～6月収穫）、普通期水稲→冬どりレタス（秋播き・1～3月収穫）→春どりレタスなどの作型があり、一年間に同一圃場で2回程度レタスを栽培している。これらのことから、年間の防除回数が多くなり、既にベンゾイミダゾール系薬剤、ジカルボキシイミド系薬剤およびジエトフェンカルブ剤に耐性菌が発生して防除上問題となっている（楠，1996）。また，2009年には灰色かび病の基幹防除剤として用いられてきたジカルボキシイミド系薬剤（イプロジオン）の非結球レタスでの農薬登録が失効となったことから，非結球レタスでは QoI 剤（アゾキシストロビン）に依存せざるを得ない状況にあった。QoI 剤については，既にカンキツ（間佐古ら，2005），イチゴ（ISHII et al, 2009），トマト，ミニトマト，キュウリ，バラ（辻ら，2014）において耐性菌が報告されており，本県でもこの発生が懸念された。そこで，香川県内の非結球レタスでの QoI 剤耐性菌の発生状況を調査するとともに薬剤の防除効果試験を行ったので（西村・楠，2014），その概要を報告する。

I 香川県における QoI 剤耐性菌発生状況

1 寒天平板培地検定およびチトクローム *b* 遺伝子の変異解析 (PCR-RFLP 法)

2012年4月に県内レタス灰色かび病の発生地点から罹病株を採集し，それらより単孢子分離した52菌株を用いて耐性菌検定を行った。

寒天平板培地検定は，SHAM 1 mM およびアゾキシス

トロビン 100 ppm を添加した PDA 培地で菌糸生育の有無を調べる方法（間佐古，2009）により調査を行った。さらに，チトクローム *b* 遺伝子の変異解析 (PCR-RFLP 法) も行った。本解析は，QoI 剤の作用点をコードするミトコンドリア DNA のチトクローム *b* 遺伝子の変異 (G143A) を検出する方法で，チトクローム *b* 遺伝子を PCR で増幅後，制限酵素 Fnu4H I (GC/NGC) による切断を行って遺伝子の変異を確認した（高垣，2009；図-1）。その結果，寒天平板培地検定では QoI 剤耐性菌の発生が認められ，その発生割合は 11.5% であった（表-1）。なお，すべて非結球レタスから分離された菌株であった。寒天平板培地検定で QoI 剤耐性菌と判定された菌株はすべてチトクローム *b* の変異が確認された。

2 レタス苗を用いた生物検定

平板培地検定および PCR-RFLP 法で耐性菌と判定されても，生産者の視点に立つと，防除薬剤でどの程度の防除効果が見込めるのかが最も関心の高い事柄である。そこで，防除効果への影響を調査するため，レタス苗を用いて生物検定を行った。育苗用トレイで4～5葉期まで生育させたレタスに QoI 剤であるアゾキシストロビン（2,000 倍）を散布・風乾後，PDA 平板培地で 20℃・3日間培養後，BLB を約2週間照射して得た灰色かび病菌（耐性菌，感受性菌）胞子を噴霧接種した。接種後す

表-1 レタス灰色かび病菌の QoI 剤耐性菌検定結果

採取場所	結球/非結球	菌株数	S	R ^{a)}
観音寺市 1	結球	4	4	0
観音寺市 2	結球	10	10	0
観音寺市 3	結球	10	10	0
善通寺市	結球	10	10	0
綾歌郡綾川町	結球	5	5	0
観音寺市 4	非結球	6	0	6
観音寺市 5	非結球	6	6	0
観音寺市 6	非結球	1	1	0
合計		52	46	6
発生割合 (%)		—	88.5	11.5

a) S は感受性菌，R は耐性菌を示す。

Occurrence of QoI Resistant Strains of *Botrytis cinerea*, Causal Fungus of Lettuce Gray Mold. By Fumihiko NISHIMURA and Mikio KUSUNOKI

(キーワード：レタス，灰色かび病，QoI 剤耐性菌)

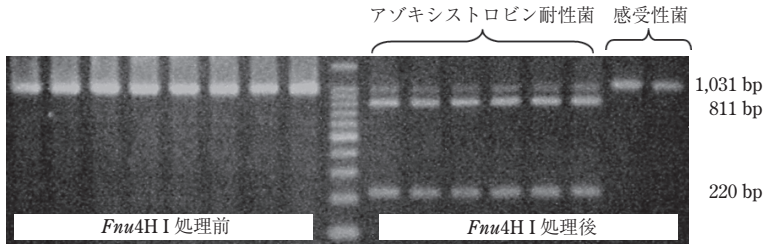


図-1 チトクローム *b* 遺伝子解析結果

表-2 レタス苗を用いた生物検定結果

菌株 No. ^{a)}	試験区 ^{b)}	調査株数	発病指数 ^{c)}				発病度 ^{d)}	防除価
			0	1	2	3		
1	AZ	9	0	3	5	1	59.3	0
	無	9	0	3	5	1	59.3	
2	AZ	9	0	5	3	1	51.9	0
	無	9	0	5	4	0	48.1	
3	AZ	9	0	4	5	0	51.9	0
	無	9	0	5	3	1	51.9	
4	AZ	9	0	2	6	1	63.0	0
	無	9	0	5	4	0	48.1	
5	AZ	9	0	2	6	1	63.0	0
	無	9	0	4	4	1	55.6	
6	AZ	9	0	4	3	2	59.3	11.1
	無	9	0	3	3	3	66.7	
7	AZ	9	6	2	1	0	14.8	63.6
	無	9	1	5	3	0	40.7	

a) 菌株 No.1～6 はアゾキシストロピン耐性菌，7 は感受性菌。

b) 「AZ」がアゾキシストロピン散布区，「無」が無防除区。

c) 発病指数 0：病斑を認めない，1：葉の一部に小病斑（10 個未満）を認める，
2：葉全体に病斑を認める，3：葉全体と葉柄基部に病斑を認める。

d) 発病度 = $[\sum (\text{発病指数別株数} \times \text{発病指数}) \times 100] / (\text{全調査株数} \times 3)$ 。

みやかにカップで被覆して高湿度に保持し，20℃（16 時間照明，8 時間暗黒）に設定した恒温器で3日間管理後，発病指数別に第2葉の発病度を調査し，防除価を求めた（中澤ら，1998）。QoI 剤耐性菌の防除価は最も高くても 11.1 であり，感受性菌を接種した場合の防除価 63.6 に対して明らかに低くなった（表-2）。

II QoI 剤耐性レタス灰色かび病の圃場での防除試験

室内での生物検定を踏まえて，より栽培現場に近い圃

場で防除試験を行った。育苗用トレイで6～7葉期まで生育させたレタスをトンネル被覆済みの圃場に植え付け，活着後，アゾキシストロピン（2,000倍）を散布した。薬剤処理を行った翌日および6日後の夕方に，第1章，第2節「レタス苗を用いた生物検定」と同様に噴霧接種し，薬剤処理の25日後に全株を発病指数別に調査し，発病度を算出して防除価を求めた。QoI 剤耐性菌の防除価は 9.2～24.7 であったのに対し，QoI 剤感受性菌の防除価は 80.1 であり，レタス苗での生物検定と同様な傾向を示した（表-3）。このことから，QoI 剤耐性菌がまん

表-3 圃場での防除検定

菌株 No. a)	試験区 b)	調査株数	発病指数 c)					発病度 d)	防除価
			0	1	2	3	4		
2	AZ	30	2	10	4	14	0	50.0	24.7
	無	29	0	1	9	18	1	66.4	
5	AZ	27	1	2	7	17	0	62.0	9.2
	無	30	0	1	6	23	0	68.3	
8	AZ	29	14	15	0	0	0	12.9	80.1
	無	30	0	2	8	20	0	65.0	

a) 菌株 No. 2 と 5 はアゾキシストロビン耐性菌, No. 8 は感受性菌.

b) 「AZ」がアゾキシストロビン散布区, 「無」が無防除区.

c) 発病指数 0: 発病を認めない, 1: 一部の外葉に発病を認める,
2: 大部分の外葉に発病を認める, 3: 結球葉まで発病を認める,
4: 株が枯死あるいは萎凋する.

d) 発病度 = $[\sum (\text{発病指数別株数} \times \text{発病指数}) \times 100] / (\text{全調査株数} \times 4)$.

表-4 レタス灰色かび病に登録のある薬剤 (単剤のみ)

商品名	収穫前日数/使用回数	非結球 レタス a)	FRAC コード	耐性菌 発生リスク
トップジン M 水和剤	21 日/2 回以内	○	1	高
ベンレート水和剤	14 日/4 回以内	×		
ロプラール水和剤	14 日/3 回以内	×	2	中~高
スミレックス水和剤	7 日/5 回以内	×		
カンタスドライフロアブル	14 日/1 回以内	○	7	中~高
アフェットフロアブル	前日/3 回以内	○		
ベルコート水和剤	30 日/3 回以内	×	M7	低
アミスター 20 フロアブル	7 日/4 回以内	○	11	高
ファンタジスタ顆粒水和剤	14 日/3 回以内	○		
ベジターボドライフロアブル	14 日/3 回以内	×	19	中

a) ○は非結球レタスに登録のある薬剤, ×は登録のない薬剤.

延した圃場での QoI 剤による防除効果は全く得られないことがわかった。

III 耐性菌が発生した背景

QoI 剤に対する灰色かび病の耐性菌は, 様々な作物で発生が確認されているが, レタスでは国内で初めての確認である。今回, 確認された QoI 剤耐性菌はすべて非結球レタスから分離されたものであった。非結球レタスは葉が薄く頂芽は完全に抱合しない形状から農薬が残留しやすいため, 登録農薬に限られている。また, 菌株を採取した当時, イプロジオンの農薬登録の失効により,

非結球レタスの灰色かび病に登録のある単一成分の薬剤 (総使用回数) はチオファネートメチル (2 回), アゾキシストロビン (4 回) とボスカリド (1 回) に限られており, チオファネートメチルは耐性菌が既に発生し, ボスカリドは 1 回しか使用することができないため, 総使用回数が 4 回あるアゾキシストロビンが連用されていた。現在, プリベンカルブ (3 回) およびベンチオピラド (3 回) の 2 剤が新たに非結球レタスの灰色かび病に登録となったが (表-4), プリベンカルブはアゾキシストロビンと同じ QoI 剤, ベンチオピラドはボスカリドと同じ SDHI 剤であり, 今後も安定的な栽培を継続して

いくためには、同系統の薬剤の連用を避けることが肝要である。また、罹病株の発見時および後作の定植時には残さの除去を徹底し、気象状況に応じたトンネル内の換気といった耕種的防除の励行が重要である。

おわりに

非結球レタスではジカルボキシイミド系薬剤の農薬登録がなされていないにもかかわらず、前述の QoI 剤耐性菌はジカルボキシイミド系薬剤やベンゾイミダゾール系薬剤にも高度耐性を示した。このことは、前作に結球レタスが作付けされていたり、または周辺圃場からの孢子飛散が原因と考えられる。灰色かび病は多犯性で風により拡散する性質を有することから、多種多様な薬剤に

耐性を持った菌株が周辺から侵入・感染するリスクが恒常的に存在する。そこで、定期的な耐性菌検定を行うことで、発生地域において優占している耐性菌のパターンを把握し、有効な防除薬剤を選定することが必要と考える。

引用文献

- 1) Ishii, H. et al. (2009): Pest Manag. Sci. **65**: 916 ~ 922.
- 2) 間佐古将則ら (2005): 日植病報 **71**: 249.
- 3) ————— (2009): 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, p.121 ~ 124.
- 4) 楠 幹生 (1996): 今月の農業 **11**: 84 ~ 87.
- 5) 中澤靖彦ら (1998): 平成 9 年度農薬試験成績, JA 全農 営農・技術センター 農薬研究室, 平塚, p.76 ~ 78.
- 6) 西村文宏・楠 幹生 (2014): 日植病報 **80**: 39.
- 7) 高垣真喜一 (2009): 第 19 回殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム 講演要旨集: 40.
- 8) 辻 朋子ら (2014): 関西病虫研報 **56**: 81 ~ 82.

発生予察情報・特殊報 (27.6.1 ~ 6.30)

各都道府県から発表された病害虫発生予察情報のうち、特殊報のみ紹介。発生作物：発生病害虫（発表都道府県）発表月日。都道府県名の後の「初」は当該都道府県で初発生の病害虫。

※詳しくは各県病害虫防除所のホームページまたは JPP-NET (<http://www.jpnpn.ne.jp/>) でご確認下さい。

- キウイフルーツ：かいよう病 [Psa3 系統] (山口県：初) 5/28
- サトイモ：ナンヨウネコブセンチュウ (大分県：初) 6/3
- ピーマン：えそ輪点病 (大分県：初) 6/3
- トマト：茎えそ病 (仮称) [CSNV] (京都府：初) 6/5
- キウイフルーツ：かいよう病 [Psa3 系統] (高知県：初) 6/9
- キウイフルーツ：かいよう病 [Psa3 系統] (千葉県：初) 6/12
- レンゲ：アルファルファタコゾウムシ (宮城県：初) 6/23
- トウガラシ：えそ輪点病 (京都府：初) 6/26