

特集：QoI 剤耐性菌の発生状況とその対策

三重県における QoI 剤耐性野菜類灰色かび病菌の発生

 三重県農業研究所 ^{つじ} 辻 ^{ともこ} 朋子・^{すずき} 鈴木 ^{ひろふみ} 啓史・^{くろだ} 黒田 ^{かつとし} 克利

はじめに

QoI 剤であるアゾキシストロビン水和剤（商品名 アミスター 20 フロアブル）は、1998 年に農薬登録され、各種野菜、畑作物、茶等の様々な糸状菌病害に効果を示し、適用病害が多岐にわたっている。三重県においても、野菜の重要品目であるトマト・イチゴ栽培では、灰色かび病だけでなく、トマト葉かび病、イチゴ炭疽病、イチゴうどんこ病の防除に用いられており、防除履歴が確認できた 104 圃場の約 30%（2012 年 36.7%、2013 年 38.7%、2014 年 25.6%）で使用されていた。

また、2012 年には、アゾキシストロビン水和剤と同系統の殺菌剤である新規 QoI 剤（ピリベンカルブ水和剤）が農薬登録され、今後、三重県において QoI 剤の使用がさらに増えると想定される。

一方、FRAC（Fungicide Resistance Action Committee, 2015）は、QoI 剤を耐性菌発生リスク「高」に位置付けており、すでにカンキツ、イチゴおよびトマトにおいて灰色かび病菌の QoI 剤耐性菌発生の報告がある（間佐古ら, 2005; BANNO et al., 2009; ISHII et al., 2009）。そこで、本県においても灰色かび病菌の QoI 剤に対する感受性の状況を把握し、耐性菌を意識した防除対策を推奨するため、アゾキシストロビン水和剤を用いた感受性検定を行ったので、その結果を報告する。

I 菌株採取（供試菌株）

感受性検定には、三重県内の北勢地域のトマト産地および中勢地域のイチゴ産地を主体に、2012 から 14 年にかけて、延べ 137 圃場から灰色かび病菌 508 菌株を採取した。なお、灰色かび病菌採取は殺菌剤散布による耐性菌の選抜が行われることを想定し、トマトやイチゴの栽培後期にあたる 4 月に行った。菌株の採取は、灰色かび病の病徴部を白金針でわずかに触れ、素寒天に画線し、

20℃で3日間培養した後、単菌糸分離して行ない、検定に用いた（鈴木・黒田, 2010）。

II QoI 剤含有 PDA 培地での検定

採取した菌株について、アゾキシストロビン水和剤添加培地での生育量を調査した。間佐古の手法（2009）を改変し、アゾキシストロビン水和剤 100 ppm 含有 PDA 培地（Potato Dextrose Agar“Nissui”39 g/l）に、サリチルヒドロキシ酸（以下 SHAM）を 1 mM になるように添加した培地を調製した。なお、SHAM 濃度は石井ら（1998）を参考にした。薬剤添加培地と比較するため、無添加培地として SHAM のみを 1 mM になるように添加した PDA 培地を調製した。20℃で3日間、PDA 培地で前培養した菌叢周縁部を 4 mm のコルクボーラーで打ち抜き、菌叢面を下にして薬剤添加培地および無添加培地に置床した。20℃で3日間培養後に菌糸生育抑制率（%）を次式により算出した。

$$\text{菌糸生育抑制率} = (1 - \text{薬剤添加培地での菌糸生育距離} / \text{無添加培地での菌糸生育距離}) \times 100$$

培地検定の結果、全 508 菌株中、菌糸生育抑制率 50% 以下が 105 菌株、60～70% が 2 菌株、80% 以上が 401 菌株の 3 グループに分かれた（図-1）。菌糸生育抑制率が 80% 以上の 401 菌株は、菌糸生育がほとんど見られず、菌糸生育抑制効果が高かったことから感受性菌と判断した。

III キュウリ子葉を用いた生物検定

先ほどの培地検定で菌糸生育が見られた菌株について、植物体上での病原性を確認するとともに、アゾキシストロビン水和剤の防除効果を評価し、耐性菌か否かを判断した。

検定植物は、キュウリの子葉を使用し、薬剤添加培地で菌糸生育抑制率 50% 以下の 105 菌株と 60～70% の 2 菌株を合わせた 107 菌株を供試した。

田中ら（1987）のキュウリ子葉法を改変し、キュウリ（品種‘北進’）の子葉にアゾキシストロビン水和剤の 2,000 倍液（有効成分 100 ppm）を噴霧し風乾させた後、孢子懸濁液に浸漬したペーパーディスク（6 mm）を子

Occurrence of QoI-resistant Strains of *Botrytis cinerea* on vegetables in Mie Prefecture. Tomoko TSUJI, Hirofumi SUZUKI and Katsutoshi KURODA

（キーワード：灰色かび病、QoI 剤耐性菌）

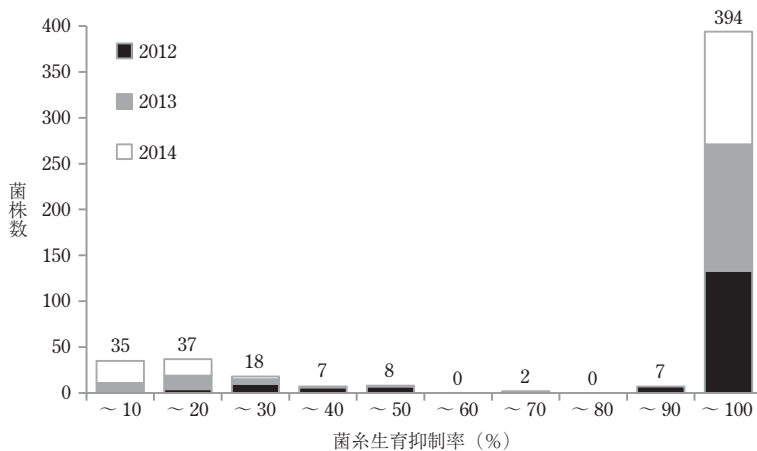


図-1 QoI 剤添加検定培地での菌糸生育抑制率

検定培地：100 ppm アゾキシストロビン水和剤および 1 mMSHAM 添加 PDA 培地。

菌糸生育抑制率 = $(1 - \text{薬剤添加培地での菌糸生育距離} / \text{無添加培地での菌糸生育距離}) \times 100$ 。

供試菌株：2012 ~ 14 年に三重県内でトマト・イチゴから採取した灰色かび病菌 (508 菌株)。

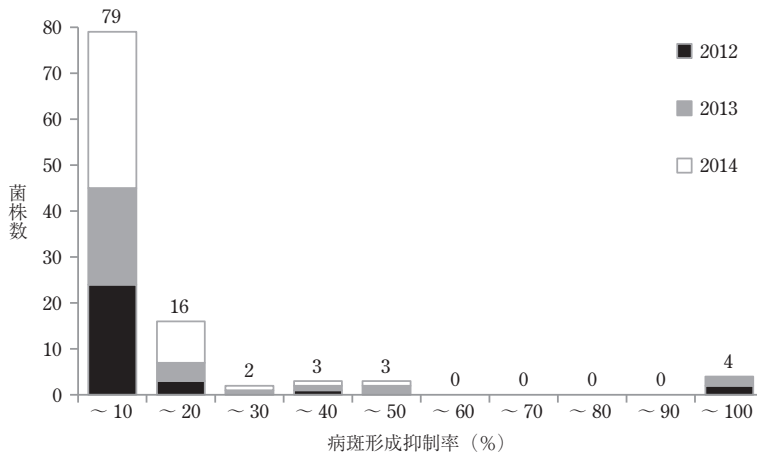


図-2 キュウリ子葉を用いた生物検定での病斑形成抑制率

検定殺菌剤：アゾキシストロビン水和剤 (2,000 倍)。

病斑形成抑制率 = $(1 - \text{薬剤処理葉での病斑直径} / \text{無処理葉での病斑直径}) \times 100$ 。

供試菌株：培地検定で菌糸生育が見られた灰色かび病菌 (107 菌株)。

葉当たり 1 個置床した。殺菌剤を処理しないキュウリ子葉を無処理区とし、同様にペーパーディスクを置床した。なお、孢子懸濁液は、高垣 (2000) の方法を参考に、PS 培地 (ジャガイモ 200 g, ショ糖 30 g, 蒸留水 1 l) で $10^4 \sim 10^6$ 個/ml に調整した。ペーパーディスクを置床後、人工気象室において高湿度条件、20℃, 12 時間日長で 3 日間静置し、病斑形成抑制率 (%) を次式により算出した。

病斑形成抑制率 = $(1 - \text{薬剤処理葉での病斑直径} / \text{無処理葉での病斑直径}) \times 100$

アゾキシストロビン水和剤に対する感受性検定では、病斑形成抑制率 50% 以下の 103 菌株と 90% 以上の 4 菌株の 2 峰に分かれた (図-2)。病斑形成抑制率 50% 以下の 103 菌株は、アゾキシストロビン水和剤の効果が認められないことから、耐性菌と判断した。

一方、病斑形成抑制率が 90% 以上になった 4 菌株の

表-1 QoI 剤に対する灰色かび病菌の感受性検定結果

作物	トマト			イチゴ			合計
採取年度	2012	2013	2014	2012	2013	2014	
耐性菌率 (%)	13.3	14.1	19.0	28.6	33.3	51.2	20.3
感受性菌率 (%)	86.7	84.5	81.0	71.4	66.7	48.8	79.3
検定菌株数	135	142	126	35	27	43	508
耐性菌発生圃場率 (%)	22.5	22.2	27.3	60.0	57.1	72.7	32.1
菌株採取圃場数	40	36	33	10	7	11	137

うち 2 菌株は、薬剤添加培地で菌糸生育抑制率が 60～70% の菌株であったことから、この 2 菌株を感受性菌と判断した。他の 2 菌株については、菌糸生育抑制率が 8.7% と 42.9% であったことから、さらに検討を要すると判断し、判定不能とした。

アゾキシストロビン水和剤に対する感受性検定では、薬剤添加培地で菌糸生育抑制率が 50% 以下の菌株についてはさらに生物検定を行い、耐性菌か否かを確認する必要があると考えられた。

今回の培地および生物検定の結果、三重県において QoI 剤耐性灰色かび病菌の発生がトマトおよびイチゴで確認できた。また、2012～14 年に採取した灰色かび病菌の耐性菌率は 20.3% であった（表-1）。

なお、三重県での QoI 剤耐性灰色かび病菌は、トマトから採取した菌株に比べイチゴから採取した菌株で耐性菌率が高い傾向にあり、2014 年度の菌株ではイチゴから採取した約半数の菌株が耐性菌であった（表-1）。現時点では、耐性菌発生による防除効果の低下は確認されていないが、3 年間の検定結果からは、耐性菌率は年々上昇しており、耐性菌率を下げる対策が早急に必要である。

IV QoI 剤の散布履歴と耐性菌率の関係

耐性菌率を下げる対策を考えるにあたって、QoI 剤の散布履歴と耐性菌率の関係を調査した。2014 年に採取した菌株のうち菌株採取時の作物栽培期間における QoI 剤散布の有無が確認できた 43 圃場の 166 菌株について、散布の有無で耐性菌率を比較した。その結果、「散布有」圃場の耐性菌率 64.3% に比べ、「散布無」圃場は 15.3% と低かった（表-2）。これは、QoI 剤散布により、耐性菌が選抜されたためと考えられた。

一方、QoI 剤「散布無」圃場でも 15.3% の割合で耐性菌を検出したことから、今後、採取した年度以前の QoI 剤散布履歴の調査や同一圃場における耐性菌率の年次変動を解析したい。また、「散布有」圃場における殺菌剤

表-2 QoI 剤散布別の QoI 耐性菌率

	QoI 剤の散布履歴		Fisher の正確検定 (p 値)
	有	無	
耐性菌率 (%)	64.3	15.3	< 0.001
菌株数	42	124	—

の散布頻度、ローテーション散布の有無や散布間隔と耐性菌率の関係について調査し、耐性菌対策の参考とする予定である。

V 三重県における灰色かび病菌の殺菌剤感受性検定の活用

三重県では、普及センターや農協と協力し、灰色かび病菌の殺菌剤感受性検定を、トマト・イチゴを主体に 1990 年代から毎年行っており、検定結果を防除の参考とする体制が整っている。すなわち、野菜担当の普及員会議などで薬剤の感受性状況を共有するとともに、生産者対象の講演会や勉強会では、耐性菌推移の現状報告と耐性菌を意識したローテーション散布の必要性などを指導している。また、農薬メーカーとも情報の共有化を図っている。

さらに、三重県病害虫防除所の発行する防除年報に検定結果を記載することで、ホームページで年次動向の確認が可能である。

おわりに

本稿では、三重県における QoI 剤耐性野菜類灰色かび病菌の発生を確認したことを紹介したが、今回用いた手法は、新規 QoI 剤（ピリベンカルブ剤）と既存の QoI 剤（アゾキシストロビン剤）の感受性程度の比較を行うために、アゾキシストロビン 100 ppm 添加 PDA 培地（SHAM 添加）を用い培地検定を行っており、Ishii et al. (2009) が提唱する灰色かび病菌におけるアゾキシス

トロビン水和剤の感受性検定法と異なっている。今後、アゾキシストロビン水和剤の検定濃度である 1 ppm 添加 PDA 培地 (SHAM 添加) を用い、対照の薬剤無添加培地に対し 50% 以上菌糸が生育するか検討し、今回の方法との整合性を確認する必要があると考える。現在、2015 年に採取した菌株で、1 ppm および 100 ppm 添加 PDA 培地を用いて両者の比較を行っている。

今回の検定結果を受け、関係機関と連携しながら、FRAC コード表 (JapanFRAC 編訳, 2015) に基づいた殺菌剤の選択および根拠に基づいたローテーション散布の実施を耐性菌対策として進めていきたい。また、今後

も、QoI 剤を含め耐性菌の発生リスクが高い殺菌剤や果菜類で使用頻度の高い殺菌剤の感受性検定を行い、防除の参考となる情報の共有を図る予定である。

引 用 文 献

- 1) BANNO, S. et al. (2009): Plant Pathol. **58**: 120 ~ 129.
- 2) JapanFRAC 編訳 (2015): FRAC コード表
<http://www.jfrac.com/fracコード表/>
- 3) ISHII H. et al. (2009): Pest Manag. Sci. **65**: 916 ~ 922.
- 4) 石井英夫ら (1998): 日植病報 **64**: 395 (講要).
- 5) 間佐古将則 (2009): 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル II. 日本植物防疫協会, 東京, 121 ~ 124.
- 6) ————ら (2005): 日植病報 **71**: 249 (講要).
- 7) 鈴木啓史・黒田克利 (2010): 関西病虫研報 **52**: 45 ~ 51.
- 8) 高垣真喜一 (2000): 植物防疫 **54**: 153 ~ 157.
- 9) 田中 薫ら (1987): 日植病報 **53**: 64 ~ 65 (講要).

生物農薬・フェロモンガイドブック 2014

A4判 本文281頁, 口絵20頁
本体 2,700円 (税別), 送料実費



本書は、57種類、98剤の生物農薬 (BT剤を除く) と合成性フェロモンについて、種類の紹介、製剤情報、適用病害虫の範囲及び使用法、使用上の注意事項、化学農薬との相性、上手な使い方などを詳しく解説しています。また、口絵では各製剤に含まれる天敵や微生物、製剤のパッケージ、対象病害虫などがご覧いただけます。

さらに、生物農薬と合成性フェロモンに関する概論、作物名・適用病害虫名から引ける登録製剤一覧、BT剤の適用表、天敵等への化学農薬の影響の目安も掲載しました。

生物農薬の実用書、技術指導書として、指導者・販売者・使用者にとって必携の一冊です。

問合せ・申込先 一般社団法人 日本植物防疫協会 支援事業部 出版担当
〒114-0015 東京都北区中里2-28-10 TEL 03-5980-2183, FAX 03-5980-6753
e-mail: order@jppa.or.jp 振替00110-7-177867番