

特集：QoI 剤耐性菌の発生状況とその対策

神奈川県における QoI 剤耐性ウリ科野菜つる枯病菌の発生とその対策

神奈川県農業技術センター おり折 はら原 のり紀 こ子

はじめに

ウリ科野菜つる枯病（病原菌：*Didymella bryoniae*）はウリ科植物に特有の病害で、主に茎、葉に発生し、主茎地際部やつるに発生すると枯死にいたることもあり、「キャンカー」の呼称で生産者に恐れられている重要病害である（口絵①）。本邦では、カボチャ、キュウリ、スイカ、メロン、トウガン等幅広いウリ科野菜に発生する。

本菌は、日本植物病理学会 殺菌剤耐性菌研究会が 2012 年に発表した「野菜・果樹・茶における QoI 剤及び SDHI 剤使用ガイドライン」では、耐性菌発生リスクが高い病原菌に位置づけられている。実際、米国では QoI 剤とウリ科野菜つる枯病菌の組合せでは、2000 年代初頭に、薬剤の上市から 2 年で感受性の低下したつる枯病菌の発生が認められている（KEINATH, 2009）。神奈川県においては 2011 年に、三浦半島地域のウリ科野菜栽培圃場において QoI 剤耐性菌を確認した（折原ら, 2013 a; 2013 b）。本稿では、神奈川県内、特に三浦半島地域のウリ科野菜つる枯病の発生状況と QoI 剤耐性菌の発生調査結果を中心に述べ、あわせて、2006 年に湘南・平塚地域のキュウリ栽培温室で発生した QoI 剤耐性つる枯病についても紹介する（キュウリつる枯病に対して登録を有する QoI 剤はない）。

I 三浦半島地域における近年のウリ科野菜つる枯病の発生状況

神奈川県三浦半島地域では、冬期温暖な気候をいかしてダイコン、キャベツが約 1,200 ha 栽培されており、これらの収益が農家経営の中心となっている。一方、夏期は、スイカ、カボチャ、メロンおよびトウガン等ウリ科野菜が、3～5 月定植の露地栽培作型で約 700 ha 作付けられている。これらウリ科各作物の圃場はモザイク状に近接しており、例えばメロンとカボチャの圃場が隣接

などなく接しているといった状況が珍しくない。

三浦半島地域における近年のウリ科野菜つる枯病の発生状況について、神奈川県農業技術センターが行ったスイカおよびメロンでの調査結果（1998～2011 年）を見ると、メロンではやや年次変動が大きいですが、スイカでは 2005 年ごろから多発生傾向が続いている（図-1）。また、カボチャつる枯病の継続的な発生調査は行っていないが、以前は目立たなかったカボチャつる枯病が 10 年ほど前から現地で見られるようになってきた。これらウリ科野菜つる枯病の漸増は、この地域が半島で海の影響を受けやすいため大変風が強く、茎葉表面に微細な傷が入りやすいうえ、近年見られる 5, 6 月の台風の襲来や 1 日で数十ミリ単位の雨量を観測する日数が増えている等、気象要因が大きく影響しているものと考えられる。また、資材費高騰のため古い資材を連用せざるをえないことなども関与していると推測される。これらの要因に加え、近年、防除薬剤として、この地域では作物種によってはアゾキシストロピン単剤あるいはアゾキシストロピンを含む混合剤が 1 作につき複数回使用されている。このことから、QoI 剤に対する病原菌の感受性低下の可能性が疑われたため、三浦半島地域から広くウリ科野菜つる枯病菌を収集し、QoI 剤に対する感受性の動向について調査を実施した。

II 三浦半島地域におけるウリ科野菜つる枯病菌の QoI 剤感受性

ウリ科野菜つる枯病菌では QoI 剤感受性検定方法が不明であったため、石井（2009）によるキュウリ褐斑病菌の手法を参考に、感受性検定を行った。以下、その詳細を記す。

2011 年 7 月に神奈川県三浦市と横須賀市のスイカ 1 圃場、メロン 27 圃場およびカボチャ 1 圃場の計 29 圃場から罹病茎葉を採集した。常法によりつる枯病菌を分離して、1 圃場当たり 1～5 菌株、計 107 菌株を感受性検定に供試した。感受性検定は希釈平板法により行った。供試菌株をアゾキシストロピン原体（純度 95.7%、シンジェンタジャパン株式会社より分譲）を 0, 0.1, 0.2, 0.39, 0.78, 1.56, 3.13, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200 および 400 $\mu\text{g}/$

Occurrence and Control of QoI-resistant Strains of *Didymella bryoniae*, a Causal Fungus of Gummy Stem Blight of Cucurbits in Kanagawa Prefecture. By Noriko ORIHARA

（キーワード：ウリ科野菜つる枯病, QoI 剤, 耐性菌）

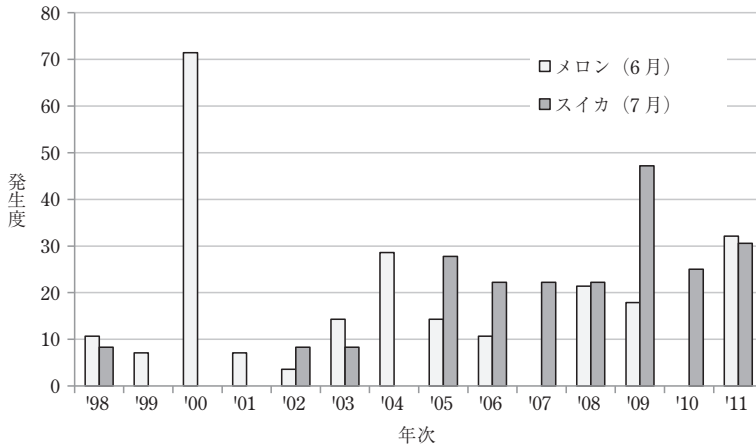


図-1 近年の神奈川県三浦半島地域におけるウリ科野菜つる枯病の発生状況

1998～2011年，神奈川県農業技術センター調べ。

発生度 = Σ (程度別圃場数 × 指数) × 100 / (調査圃場数 × 4)。

指数 (メロン) 0: 発病率 0%, 1: 同 5% 以下, 2: 同 6% 以上 15% 以下,
3: 同 16% 以上 30% 以下, 4: 同 31% 以上。

指数 (スイカ) 0: 発病率 0%, 1: 同 15% 以下, 2: 同 16% 以上 50% 以下,
3: 同 51% 以上 85% 以下, 4: 同 86% 以上。

ml 含有する没食子酸 *n*-プロピル 4 mM 加用 PDA 培地に置床し，25℃の暗所で3日間培養後，菌糸生育の有無により最小発育阻止濃度（以下，MIC）を測定し，感受性の程度を判定した。その結果，供試菌株は，MIC 値が 0.2～1.56 μg/ml と 400 μg/ml 以上の二つの菌群に分けられ，明瞭な二峰性を示し，かつその約7割の菌株が MIC 値 400 μg/ml 以上の感受性低下菌であった（図-2，口絵②）。また同供試菌株について，製剤（アゾキシストロビン 20%水和剤，商品名：アミスター 20フロアブル）を用いた検定も行った。有効成分の濃度を 0, 0.1, 0.2, 0.39, 0.78, 1.56, 3.13, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200, 400, 800 および 1,600 μg/ml に調整し，ほかは原体と同様の方法で調査した。その結果，アゾキシストロビン 20%水和剤を用いて感受性検定を行った場合も供試菌株は原体同様に，明瞭な二峰性を示したが，感受性菌の MIC 値は 0.39～6.25 μg/ml で，原体を用いた検定より感受性菌の MIC 値が高い傾向が認められた。次に，感受性低下菌株に対するアゾキシストロビン 20%水和剤の防除効果を検討するため，ポット植のメロンを用いた防除効果試験を行った。感受性菌株 KNOF62 と感受性低下菌 2 菌株 21-1, 22-3（いずれも 2011 年に横須賀市の露地栽培メロン 2 圃場から分離）を用いて，同水和剤 2,000 倍希釈液を 5 葉期のメロン苗（品種‘タカミ’）に十分量散布し，その 24 時間後に供試菌株の分生子懸濁液を噴霧接種し，接種 11 日後に葉での発病を調査した。その結果，感受性菌株 KNOF62 株を接種した場合，アゾキシ

ストロビン処理区は無処理区に比較して発病度が非常に低く抑えられたが，感受性低下菌株を接種した場合，アゾキシストロビン処理区は無処理区と同程度かそれ以上の発病度を示し，防除効果は認められなかった（表-1）。

以上のことから，これらの感受性低下菌は，アゾキシストロビン剤の防除効果の低下した QoI 剤耐性菌であることが明らかになった。これらの QoI 剤耐性菌は，三浦半島地域で菌株を採集した 29 圃場中 27 圃場において認められたことから，この地域には広範に QoI 剤耐性菌が発生していることが示された。したがって，この地域の多くのウリ科野菜圃場では，つる枯病に対する QoI 剤の防除効果が期待できないものと考えられ，近年の三浦半島地域におけるウリ科野菜つる枯病多発の要因が，防除薬剤として使用された QoI 剤の効果低下である可能性が示唆された。なお，QoI 剤耐性菌を接種した場合，表-1 に示したように，しばしば QoI 剤処理区において無処理区より発病が助長されることがあった。この原因について，植物体表面でつる枯病菌に対して静菌的な作用を有する生物群が QoI 剤の影響を受けて減少し，結果的に QoI 剤耐性菌が植物体表面上で優占化した可能性も考えられる。これらの因果関係については今後の慎重かつ十分な検討が必要と考える。

III キュウリつる枯病で発生した QoI 剤耐性菌

平塚市および中郡大磯町を中心とした湘南・平塚地域はキュウリ栽培が盛んで，半促成作型（1月下旬～2月

表-1 QoI 剤耐性ウリ科野菜つる枯病菌株に対するアゾキシストロピン 20%水和剤 2,000 倍希釈液散布の防除効果

菌株	採集場所	採集年月	発病度		防除価
			処理区	無処理区	
KNOF62 ^S	神奈川県横浜市	2007 年 9 月	1.6	41.5	96.0
21-1 ^R	〃 横須賀市	2011 年 7 月	22.0	21.4	0.0
22-3 ^R	〃 横須賀市	2011 年 7 月	18.5	13.0	0.0

^S : 感受性菌, ^R : 耐性菌.

発病度 = 病 (程度別発病葉数 × 指数) × 数 / (調査葉数 × 4).

指数 0 : 病斑を認めない, 1 : 病斑面積率が葉面積の 5% 未満,

2 : 同 5% 以上 25% 未満, 3 : 同 25% 以上 50% 未満, 4 : 同 50% 以上.

防除価 = (無散布区の発病度 - 散布区の発病度) / 無散布区の発病度 × 無散布.

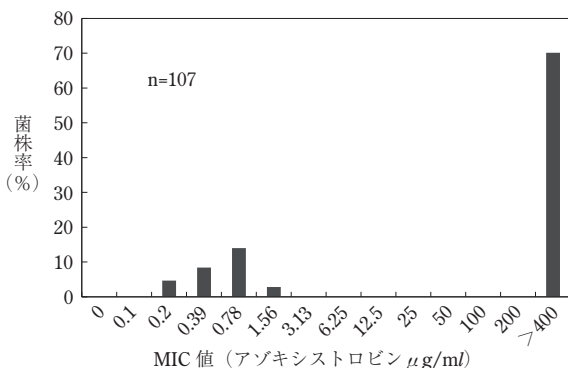


図-2 2011 年に神奈川県三浦半島地域から採集したウリ科野菜つる枯病菌のアゾキシストロピンに対する感受性の頻度分布

う状況の中で、前述の QoI 剤耐性つる枯病菌が確認された圃場においては、褐斑病菌にも QoI 剤耐性菌が発生していた (表-2)。このことは、つる枯病菌が、褐斑病などの防除のために散布された QoI 剤に被曝した結果、QoI 剤耐性菌が優占化したものと考えられ、本菌における QoI 剤耐性菌発生リスクの高さがうかがえた。

IV QoI 剤耐性つる枯病菌のチトクローム *b* 遺伝子

キュウリうどんこ病菌, キュウリ褐斑病菌, ナスすすかび病菌およびイチゴ炭疽病菌等の病原菌種において、チトクローム *b* の QoI 剤作用部位に係る遺伝子について解析が行われ、遺伝子の変異と薬剤耐性の関係が明らかにされている (日本植物病理学会 殺菌剤耐性菌研究会 編, 2009)。ウリ科野菜つる枯病菌においても同様な解析を行った。感受性菌株 KNOF62 と耐性菌株 21-1 および 28-1 (いずれも 2011 年に横須賀市の露地栽培メロン 2 圃場から分離) から DNA を抽出, Ishii et al. (2001) に準じて, RSCBF1 および RSCBR2 のプライマーセットを用いて PCR を行い, チトクローム *b* 遺伝子の一部 285 bp 断片を増幅し, 塩基配列を決定した。QoI 剤耐性菌の塩基配列を感受性菌と比較したところ, コドン 143 の 1 塩基が, 感受性菌では G (グアニン) であるのに対し, 耐性菌 2 菌株とも C (シトシン) に置換していた。この変異から推定される 143 番目のアミノ酸はグリシン (G) からアラニン (A) に置換, すなわち G143A の変異が生じているものと考えられる。これは, 前述のキュウリ褐斑病菌等他菌種で報告されている変異と同様であった (Ishii et al., 2001; 2007; 稲田ら, 2008)。この変異を検出する PCR-RFLP による QoI 剤耐性菌の遺伝子診断 (石井, 2009) を試みたところ, 本法はウリ科野菜つる枯病菌においても適用が可能であった (データ省略)。

定植) および抑制作型 (8 ~ 9 月上旬定植) で, のべ 61 ha 栽培されている。特に抑制作型において, 2005 年ごろ褐斑病の多発が大きな問題となっていたが, その主たる防除剤として QoI 剤が使用されていた。このような状況の中で, 褐斑病に対する防除効果の低下が指摘されはじめた 2006 年, 褐斑病 QoI 剤耐性菌検定を行うため, キュウリ温室内で褐斑病菌を採集した際に, 併発していたつる枯病罹病茎を 9 圃場から持ち帰り, つる枯病菌を分離, 保存しておいた。これらキュウリつる枯病菌 19 菌株について, 2012 年にアゾキシストロピン 400 μg/ml 含有ポテトデキストロス寒天平板上での菌糸生育の有無により QoI 剤耐性を判定した。その結果, 9 圃場中 1 圃場から採集した 4 菌株が耐性菌と判定された (表-2, 平塚市 A 圃場)。しかし, 2006 年の菌株採集時以前から現在にいたるまで, キュウリつる枯病に対し QoI 剤は農薬登録されていない。2006 年時点で同地域のキュウリ褐斑病の耐性菌率は 88.9% (折原・植草, 2007) とい

表-2 2006～07年に神奈川県内で採集・分離したキュウリつる枯病菌分離菌株の
QoI 剤耐性

採集地	採集年月	QoI 剤耐性菌株数 ^{a)} /分離菌株数	同一圃場での QoI 剤耐性褐斑病菌 ^{b)}
中郡大磯町 A 圃場	2006年5月	0/3	あり
平塚市 A 圃場	2006年5月	4/4	あり
平塚市 B 圃場	2006年5月	0/4	あり
平塚市 C 圃場	2006年5月	0/1	未検定
平塚市 D 圃場	2006年5月	0/1	未検定
平塚市 E 圃場	2006年5月	0/2	未検定
平塚市 F 圃場	2006年5月	0/2	未検定
農業技術センター温室 (平塚市)	2006年6月	0/1	未検定
横浜市 A 圃場	2007年9月	0/1	未検定

a) 2012年3月に寒天平板法により検定。

b) 褐斑病菌はつる枯病菌と同日に同一圃場で採集。

おわりに

三浦半島地域では、2011年時点でのウリ科野菜つる枯病における QoI 剤耐性菌率は非常に高いことから、現状では、QoI 薬剤の防除効果は期待できない。また、神奈川県内のキュウリ圃場において、褐斑病に QoI 薬剤が多用されていた時期である 2006 年に採集した菌株中に QoI 剤耐性菌の存在を認めた。これらは、あらためてウリ科野菜つる枯病菌における QoI 剤耐性菌発達リスクの高さを裏付けた結果である。特定の病害の防除を目的として使用される薬剤には、当該作物の栽培圃場に生息する他の病原菌も曝されている。特に、QoI 剤に代表される耐性菌優占化のリスクが非常に高い薬剤を使用する場合、作物の栽培期間中をとおした散布回数適切な管理が不可欠である。日本植物病理学会殺菌剤耐性菌研究会は「野菜・果樹・茶における QoI 剤及び SDHI 剤使用ガイドライン」(2012)の中で、「薬剤使用回数に関するガイドライン(耐性菌未発生圃場の場合)」として、作物ごとの薬剤使用回数を提唱しており、ウリ科野菜では、「QoI 剤は単剤あるいは SDHI 剤との混用、混合剤のいずれの場合も 1 作 1 回まで。その他の混用もしくは混合剤(効果が期待できる他の成分を含む)の場合は 1 作 2 回まで。」としている。

三浦半島地域の夏作では、前述したように、複数種のウリ科野菜が近接して作付けされている。2006年にポジティブリスト制度が施行されて以降、特にスイカ、カボチャ、メロンに共通して登録のある薬剤が使用される

傾向が強まっている。本地域において、アゾキシストロビン単剤あるいはアゾキシストロビンを含む混合剤はスイカ炭疽病、褐色腐敗病、メロンべと病、カボチャ疫病等を対象に広く使われてきた経緯がある。特にウリ科野菜の場合、つる枯病をはじめとして、うどんこ病や炭疽病等、共通して発生する病害があるが、前述のガイドラインで示されているように、これらは一様に耐性菌発達リスクが高い病原菌とされている。したがって、三浦半島地域のように数種のウリ科野菜が同時期に近接して作付けされている状況では、おそらく圃場間でこれらの病原菌の行き来が起きているものと推定され、地域全体として、耐性菌発達リスクを低減化する方向で管理していく必要がある。一方、本地域において QoI 剤感受性調査に供したつる枯病菌株について、QoI 剤以外の 2 薬剤について感受性を調査したところ、ベンゾイミダゾール系薬剤の耐性菌率は 37.6% で依然高かったが、ジカルボキシイミド系薬剤に対する感受性低下はほとんど認められなかった(折原・岡本, 2013)。今後このような耐性菌発達リスクの高い薬剤に対する定期的な感受性モニタリングや、炭疽病等他の重要病害に対する防除効果などにも配慮して薬剤を選択するローテーションを組み、本地域のウリ科野菜全体に対する薬剤防除体系を再構築したい。

謝辞 感受性検定を行うにあたりアゾキシストロビン原体を分譲いただいたシンジェンタジャパン株式会社に厚くお礼申し上げる。神奈川県農業技術センター三浦半島地区事務所の宮川健太郎氏は菌株収集にご協力下さ

り、現場の防除についてご教示いただいた。記して感謝の意を表する。

引用文献

- 1) 稲田 稔ら (2008): 日植病報 **74**: 114 ~ 117.
- 2) ISHII, H. et al. (2001): *Phytopathology* **91**: 1166 ~ 1171.
- 3) ——— et al. (2007): *ibid.* **97**: 1458 ~ 1466.
- 4) 石井英夫 (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, p. 69 ~ 71.
- 5) KEINATH, A. P. (2009): *Pest Manag. Sci.* **65**: 1090 ~ 1096.
- 6) 日本植物病理学会 殺菌剤耐性菌研究会 編 (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, 175pp.
- 7) 日本植物病理学会 殺菌剤耐性菌研究会 (2012): 野菜・果樹・茶における QoI 剤及び SDHI 剤使用ガイドライン. (http://www.taiseikin.jp/mwbhwp/wp-content/uploads/vege_gl.pdf)
- 8) 折原紀子・植草秀敏 (2007): 平成 18 年度神奈川県農業技術センター試験研究成績書 (農業環境).
- 9) ———・岡本昌広 (2013): 平成 24 年度神奈川県農業技術センター試験研究成績書 (農業環境).
- 10) ———ら (2013 a): 日植病報 **79**: 197 (講要).
- 11) ———ら (2013 b): 関東東山病虫研報 **60**: 31 ~ 33.