

# 茨城県におけるメロンうどんこ病菌, つる枯病菌およびべと病菌の 各種薬剤に対する耐性菌の発生状況

宮本拓也・藤本義子\*・富田恭範\*\*・小河原孝司\*\*\*

Distribution of *Podosphaera xanthii*, *Didymella bryoniae* and *Pseudoperonospora cubensis* Isolates Resistant to Several Fungicides on Melon in Ibaraki Prefecture, Japan.

Takuya MIYAMOTO, Yoshiko FUJIMOTO, Yasunori TOMITA and Takashi OGAWARA

## Summary

In 2008 and 2009, fungus isolates of melon powdery mildew (*Podosphaera xanthii*), gummy stem blight (*Didymella bryoniae*) and downy mildew (*Pseudoperonospora cubensis*) were collected from seven commercial greenhouse in Hokota city and Ibaraki town in Ibaraki Prefecture, Japan, and tested for sensitivity to several fungicides. *P. xanthii* isolates resistant to quinone outside inhibitor (QoI) and sterol demethylation inhibitor were detected in three out of six and one out of seven greenhouses, respectively. *D. bryoniae* isolates resistant to benzimidazole and QoI were detected in three and five out of six greenhouses, respectively. Additionally, *P. cubensis* isolates resistant to fenylamide were detected in two out of two greenhouses; therefore, a fungus inoculation test using potted plants was conducted. The results showed that mancozeb (55%) + metalaxyl (10%) wettable powder could not provide curative control against *P. cubensis* isolate resistant to fenylamide.

キーワード：メロン, うどんこ病, つる枯病, べと病, 耐性菌

## I. 緒言

茨城県においてメロンは、作付面積 1,460ha, 出荷量 39,300t, 産出額は 127 億円 (2012 年) と本県の主要な園芸品目になっている。メロン栽培で問題となる地上部病害にはうどんこ病, つる枯病, べと病などがあり, 防除対策は化学的防除が一般的である。

これら病害の防除では, 薬剤耐性菌の発生が頻繁に問題となる。Fungicide Resistance Action Committee の Pathogen Risk List (December, 2013) は, 病原菌によって耐性菌の発生リスクを「High」, 「Medium」および「Low」に分類しているが, *Podosphaera xanthii* (ウリ類うどんこ病菌), *Didymella bryoniae* (同つる枯病菌) および *Pseudoperonospora cubensis* (同べと病菌) はいずれも「High」に位置づけられている。国内で耐性菌の発生が報告された主なものとして, ウリ類のうどんこ病菌では quinone outside inhibitor (QoI 剤) (Ishii et al., 2001) およびステロール脱メチル化阻害剤 (DMI 剤) (大塚ら, 1988), つる枯病菌ではベンズイミダゾール系剤 (谷口ら, 1979) および QoI 剤 (折原ら, 2013), べと病菌でフェニルアマイ

\*現 茨城県西農林事務所 \*\*現 一般社団法人 日本植物防疫協会 \*\*\*現 茨城県農業総合センター

ド系剤（竹内，1990；大塚ら，1990）がある。しかし，本県のメロン栽培圃場についてはこれら病原菌の薬剤感受性を詳細に研究した事例はなかった。

そこで筆者らは，2008年および2009年にかけて茨城県の鉾田市および茨城町のメロン栽培圃場で採集した各種病原菌について，薬剤感受性の状況についての調査を行った。本稿ではうどんこ病菌についてはQoI剤およびDMI剤，つる枯病菌ではベンズイミダゾール系剤およびQoI剤，べと病菌についてはフェニルアマイド系剤に対する耐性菌の発生状況について報告する。

## II. 材料および方法

### 1. 菌株採集

メロンうどんこ病菌の採集は，2008年に鉾市内の4圃場（鉾田-a～d）および茨城町内の3圃場（茨城-a～c）で行い，各圃場から得られた罹病葉から単孢子分離法により得た21菌株を以下の試験に供試した。対照菌株として，全国農業協同組合連合会営農・技術センターより分譲を受けたK-7-2株を感受性菌として供試した。菌株の維持・増殖は，メロン子葉上で行い（20℃，明期12時間/暗期12時間（12L12D）），2～3週間間隔で継代培養した。

メロンつる枯病菌は，2008年および2009年に，鉾市内の3圃場（鉾田-a, b, e）と茨城町内の3圃場（茨城-a, c, d）より本病罹病部位を採集し，常法の組織分離法により94菌株を得た。菌株は1/10ブドウ糖加用ジャガイモ煎汁培地（PDA）スラントで5℃で低温保存し，試験に供する7日前にシヨ糖加用ジャガイモ煎汁培地（PSA）で25℃で培養した。

メロンべと病菌の採集は，2009年に鉾田市（鉾田-a）および茨城町（茨城-a）のメロン栽培圃場で行い，採集した罹病葉1枚を1菌株として扱い，4菌株を得た。菌株の維持・増殖は，メロンまたはキュウリ本葉上で行い（25℃，12L12D），3～4週間間隔で継代培養した。

### 2. メロンうどんこ病菌のQoI剤およびDMI剤に対する感受性の検討

#### 1) リーフディスク法を用いたQoI剤に対する感受性の検討

感受性検定はIshii et al. (2001)に従ってリーフディスク法により行った。キュウリ‘新四葉つけみどり’の苗の外観上健全な子葉からコルクボーラーで直径1cmのリーフディスクを打ち抜き，ペトリ皿内の湿らせたろ紙上に葉表側を上にして置いた。うどんこ病菌の接種は，ディスク上で供試菌株の病斑を軽く指で弾いて分生胞子を落下させることで行った。その後，このディスクを6穴培養皿内の薬液に1穴当たり5ディスク浮かべた。薬液は市販のアゾキシストロビン水和剤を用い，成分濃度を0, 0.01, 0.1, 1, 10, 100ppmに調製した。その後，20℃の12L12D条件下で培養皿を管理した。処理10日後に実体顕微鏡下で発病調査を行い，最小生育阻止濃度（MIC値）が10ppm以上となる菌株を耐性菌とした。

#### 2) PCR-RFLP法を用いたDMI剤に対する感受性の検討

DMI剤では，遺伝子診断法としてCYP51遺伝子の塩基変異を検出するPolymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP)法が開発されている（植草ら，2009）。Miyamoto et al. (2010)の方法で抽出したDNAをテンプレートとし，植草ら（2009）の報告に基づき，プライマーF-SfoIとR-SfoIを用いて増幅したPCR産物を制限酵素SfoIにより処理した。本法では，約350bpのPCR産物が得られ，制限酵素処理により感受性菌は約270bpに，CYP51遺伝子に1塩基変異を持つ低感受性菌は約310bpに切断され，4塩基変異を有する耐性菌は切断されない。この制限酵素断片長の違いを3%アガロースゲル電気泳動により判断し，感受性の判定を行った。

#### 3) ポット苗を用いた接種試験による発病抑制効果の検討

上述の試験でQoI剤耐性・DMI剤低感受性であった鉾田-aより分離されたIbMPx0202株と，両系統剤耐性

で茨城-c より分離された IbMPx0606 株, および対照として K-7-2 株を供試した。17 日間ポットで育苗した ‘アンデス 5 号’ の子葉にアゾキシストロビン水和剤 2,000 倍希釈液, トリフルミゾール水和剤 3,000 倍希釈液および水道水をハンドスプレーを用いて葉から液が滴るように噴霧した。風乾した後, 各菌株の分生胞子を滅菌水に懸濁し作成した胞子懸濁液 (約  $5 \times 10^4$  胞子/mL) をハンドスプレーを用いて葉から液が滴るように噴霧接種した。処理株数は 1 処理 3 株とした。苗の管理は 25°C の 12L12D 条件下の人工気象室で行った。接種 10 日後に表 2 に示す指数を用いて調査を行い, 発病度および発病抑制率を算出した。

### 3. メロンつる枯病菌のベンズイミダゾール系剤および QoI 剤に対する感受性の検討

#### 1) 平板希釈法を用いた両系統剤に対する感受性の検討

ベンズイミダゾール系剤の検定には, 2008 年に採集した 33 菌株のみを用いた。検定は佐古 (1994) の方法に従って行った。PSA 培地で 7 日間前培養した供試菌株の菌叢先端付近をコルクボーラーで打ち抜き, 市販のベノミル水和剤を用いて成分濃度が 0, 1.56, 12.5, 200ppm になるように調製した V-8 ジュース寒天培地に置床した。25°C で 2 日間培養し, 200ppm 添加培地で菌糸伸長が認められた菌株を耐性菌とした。

QoI 剤の検定には, 全 94 菌株を供試した。検定は, ブドウ褐斑病菌の方法 (井上, 2009) に準じて行った。上述のように作成した菌叢ディスクを, 没食子酸-n-プロピルを 5  $\mu$ M とアゾキシストロビン水和剤を用いて成分濃度を 0, 25, 100, 400ppm とした PDA 平板培地に置床した。25°C で 4 日間培養し, MIC 値を調査した。

#### 2) ポット苗を用いた接種試験による発病抑制効果の検討

試験には, 平板希釈法により両系統剤に対して耐性と判定された茨城-c で分離された IbMe1085 株を供試した。PSA 培地 (直径 9cm シャーレ) 上で 25°C で 1 週間培養したのち, 菌叢をスパチュラで掻き取り滅菌水を加えながら乳棒・乳鉢を用いて磨砕し, ガーゼでこし取った。これをシャーレ 14 枚分から作成し, 菌糸懸濁液として滅菌水で 500mL に調整して以下の試験に供試した。ベンズイミダゾール系剤としてチオファネートメチル水和剤, QoI 剤としてアゾキシストロビン水和剤, および表 4 に示した各種薬剤を ‘イバラキング’ 4 葉期苗 4 株または 5 株に散布し, 風乾した。その後, 菌糸懸濁液を約 10mL/株散布した。接種後は, トンネルビニル内において自然光下で夜間の最低温度が 15°C 程度, 日中の最高が 30°C 程度で常時高湿度となるように管理した。調査は接種 7 日後に表 4 に示す指数別に行い, 発病度および発病抑制率を算出した。

### 4. メロンべと病菌のフェニルアマイド系剤に対する感受性の検討

#### 1) リーフディスク法を用いた感受性の検討

検定は中澤ら (1998) のリーフディスク法を用いて行った。メロン ‘アールス雅春秋系’ の外観上健全な本葉からコルクボーラーで直径 1cm のリーフディスクを打ち抜き, ペトリ皿内の湿らせたろ紙上に葉裏側を上にして置いた。べと病菌の接種は, メロンまたはキュウリ葉で増殖させ滅菌水で約  $1 \times 10^4$  胞子/mL に調製した胞子懸濁液を, ディスクあたり 10  $\mu$ l 滴下することで行った。その後, このディスクを 6 穴培養皿内の薬液に 1 穴当たり 5 ディスク浮かべた。薬液はメタラキシル M 原体を用い, 成分濃度を 0, 0.1, 1, 10, 100ppm に調製した。その後, 20°C の 12L12D 条件下で培養皿を管理した。処理 7 日後に実体顕微鏡下で発病調査を行い, MIC 値および 50% 生育阻止濃度 (EC<sub>50</sub> 値) が 100ppm 以上となった菌株を耐性菌と判断した。

#### 2) ポット苗を用いた接種試験による治療効果の検討

試験には, 銚田-a より分離されフェニルアマイド系剤耐性であった N1 株を供試した。メロンまたはキュウリ葉で増殖させ滅菌水で約  $1 \times 10^4$  胞子/mL に調製した本菌株の懸濁液を, 3 葉期のメロン苗 ‘アンデス 5 号’ の葉裏に薬液が滴る程度噴霧した。翌日に表 6 に示した薬剤をポット苗に 5 株ずつ同様に噴霧し, 風乾させた。その後は人工気象器内で 22°C の 12L12D, 高湿度条件下に置き, 接種 7 日後に表 6 に示す指数別に調査を行い, 発病度および発病抑制率を算出した。

### 5. メロン栽培圃場における各種薬剤の使用状況調査

2008年および2009年に、現地のメロン栽培圃場である鉾田市内の5圃場（鉾田-a～e）と茨城町内の4圃場（茨城-a～d）で、半促成および抑制栽培のそれぞれでQoI剤、DMI剤、ベンズイミダゾール系剤およびフェニルアマイド系剤の使用状況について聞き取りにより調査を行った。

## Ⅲ. 結果

### 1. メロンうどんこ病菌のQoI剤およびDMI剤に対する感受性

リーフディスク法によるQoI剤に対する感受性検定の結果、耐性菌は鉾田-a、茨城-bおよび茨城-cで検出され、それぞれ3菌株中2菌株、4菌株中1菌株、8菌株中2菌株であった（表1）。

表1 QoI剤およびDMI剤耐性メロンうどんこ病菌の発生状況と両系統剤の使用状況

採集地-圃場名	採集日	検定菌株数(株)	QoI剤耐性菌株数(株) <sup>1)</sup>	DMI剤感受性別菌株数(株) <sup>2)</sup>		2008年作における各剤の使用回数(回)			
				低感受性	耐性	QoI剤		DMI剤	
						半促成	抑制	半促成	抑制
鉾田-a	2008/7/16	3	2	3	0	0	1-2	0	0
鉾田-b	2008/8/13	1	0	1	0	1	0	0	1
鉾田-c	2008/8/29	1	0	1	0	1	作付無	1	作付無
鉾田-d	2008/5/12	1	- <sup>3)</sup>	1	0	-	-	0	1
茨城-a	2008/8/26	3	0	3	0	-	0	-	0
茨城-b	2008/8/26	4	1	4	0	1	0	0	2
茨城-c	2008/7/2	3	1	0	3	-	1	-	0
	2008/7/17	5	1	0	5	-	1	-	0

1) Ishii et al. (2001)の方法に準じて行い、アゾキシストロピンの最小生育阻止濃度が10ppm以上の菌株を耐性菌とした。

2) 植草ら(2009)のPCR-RFLP法に準じて行い、約350bpのみにバンドが認められた菌株を耐性、約310bpにバンドが認められた菌株を低感受性と判断した。

3) バーは検定または調査未実施であることを示す。

PCR-RFLP法によるDMI剤に対する感受性検定の結果、耐性菌は茨城-cの1圃場でのみ検出され、他の圃場からは低感受性菌のみが検出された。

調査圃場における2008年のQoI剤およびDMI剤の使用回数はいずれも0～2回であった。

接種試験の結果、QoI剤耐性菌株（IbMPx0202株、IbMPx0606株）に対してアゾキシストロピン水和剤の発病抑制効果は認められなかった（表2）。トリフルミゾール水和剤については、DMI剤低感受性であったIbMPx0202株に対する効果は維持されていたが、耐性であったIbMPx0606株に対しては効果が低下していた。

表2 感受性を異にするメロンうどんこ病菌に対する予防的散布によるQoI剤およびDMI剤の発病抑制効果

菌株名	各系統剤に対する感受性		処理名 <sup>1)</sup>	発病度 <sup>2)</sup>	発病抑制率(%) <sup>3)</sup>
	QoI剤	DMI剤			
IbMPx0202	耐性	低感受性	アゾキシストロピン水和剤	90.0	-12.5
			トリフルミゾール水和剤	0	100
			水道水	80.0	-
IbMPx0606	耐性	耐性	アゾキシストロピン水和剤	96.7	-3.6
			トリフルミゾール水和剤	26.7	71.4
			水道水	93.3	-
K-7-2	感受性	感受性	アゾキシストロピン水和剤	0	100
			トリフルミゾール水和剤	0	100
			水道水	23.3	-

1) アゾキシストロピン水和剤は2,000倍、トリフルミゾール水和剤は3,000倍で供試した。

2) 発病度は以下の式で算出した。{Σ(発病指数別葉数×発病指数)/(全葉数×5)}×100。

発病指数は0:発病なし, 1:病斑が葉面積の5%以下, 2:6～25%, 3:26～50%, 4:51～75%, 5:76%以上, とした。

3) 発病抑制率(%)=100-(薬剤処理区の発病度/水道水処理区の発病度)×100。

## 2. メロンつる枯病菌のベンズイミダゾール系剤および QoI 剤に対する感受性

ベンズイミダゾール系剤耐性菌は6圃場中3圃場で認められ、いずれでも高頻度で検出された(表3)。そのうち、銚田-bについては同系統剤がつる枯病対策に2008年の半促成と抑制でそれぞれ1回使用されていた。一方、茨城-cおよび茨城-dでは2008年中の使用は確認されなかった。

表3 メロンつる枯病菌のベンズイミダゾール(BI)系剤およびQoI剤に対する耐性菌の発生状況と両系統剤の使用状況

採集地 -圃場名	採集年月日 または期間	BI系剤 <sup>1)</sup>		QoI剤 <sup>2)</sup>		各年作における使用回数(回)			
		検定 菌株数 (株)	耐性 菌株数 (株)	検定 菌株数 (株)	耐性 菌株数 (株)	BI系剤		QoI剤	
						2008年	2009年	2008年	2009年
銚田-a	2008/7/1~29	1	0	5	4	0	0	1	5
銚田-b	2008/7/1~8/13	22	20	31	2	2	2	1	3
	2009/4/9	— <sup>3)</sup>	—	10	0				
	2009/9/4	—	—	10	10				
銚田-e	2008/4/11	2	0	2	0	0 <sup>4)</sup>	1	1	0
	2009/2/13~4/9	—	—	6	6				
茨城-a	2008/8/12~26	2	0	8	1	0 <sup>5)</sup>	0	0	1
茨城-c	2008/7/2~8/12	3	3	17	16	0 <sup>6)</sup>	0	1	0
茨城-d	2008/4/22	3	3	5	0	0	—	0	—

1) ベンズイミダゾール系剤に対する感受性検定は、佐古(1994)の培地検定法に準じて行った。

2) QoI剤に対する感受性検定は、ブドウ褐斑病菌の検定法である井上(2009)に準じて行い、最小生育阻止濃度が400ppmを超える菌株を耐性として判断した。

3) バーは検定または調査を未実施であることを示す。

4) 両年とも抑制の作付けは無かったため、半促成作のみの回数を示す。

5) 6) 2008年の半促成および2009年の抑制は調査未実施であるため、2008年の抑制および2009年の半促成のみの回数を示す。

QoI 剤については、MIC 値が25ppmであった菌群と400ppm以上であった菌群が検出された(データ省略)。後者の菌群については後述するようにアゾキシストロビン水和剤の発病抑制効果が低い(表4)ことから耐性菌と判断した。耐性菌は6圃場中5圃場で検出され、検出率が高い圃場も多かった。特に、銚田-bでは2009年4月9日の検出率は低かったが、9月4日では高くなった。この間に、QoI 剤が3回(4月11日および7月27日アゾキシストロビン水和剤、8月11日シモキサニル・ファモキサドン水和剤)使用されていた。

ベンズイミダゾール系剤およびQoI 剤に対して耐性であるIbMe1085株を用いて接種試験を行った結果、チオファネートメチル水和剤の発病抑制効果は認められず、アゾキシストロビン水和剤についても他の9薬剤と比較して大きく劣った(表4)。

表4 ベンズイミダゾール系剤およびQoI剤耐性メロンつる枯病菌に対する予防的散布による各種薬剤の発病抑制効果

処理名 <sup>1)</sup>	希釈倍数 (倍)	調査葉数 (枚)	発病度 <sup>2)</sup>	発病抑制率 (%) <sup>3)</sup>
イミノクタジンアルベシル酸塩水和剤	1,000	16	1.6	97.7
TPN水和剤	1,000	16	1.6	97.7
マンゼブ水和剤	400	16	1.6	97.7
ジフェノコナゾール水和剤	2,000	20	2.5	96.4
イプロジオン水和剤	1,000	16	3.1	95.5
ペンチオピラド水和剤	2,000	16	4.7	93.2
ポリオキシシン水和剤	1,000	16	6.3	90.9
キャプタン水和剤	600	16	7.8	88.6
アゾキシストロビン水和剤	2,000	16	31.3	54.6
チオファネートメチル水和剤	1,500	16	84.4	-22.6
無処理		16	68.8	

- 1) 接種試験には、ベンズイミダゾール系剤耐性・QoI剤耐性であるIbMel085株を用いた。  
 2) 発病度は以下の式で算出した。{Σ(発病指数別葉数×発病指数)/(全葉数×4)}×100。  
 発病指数は0:発病無し, 1:病斑面積が5%以下, 2:6~25%, 3:26~50%, 4:51%以上, とした。  
 3) 発病抑制率(%)=100-(薬剤処理区の発病度/無処理区の発病度)×100。

### 3. メロンべと病菌のメタラキシル剤に対する感受性の検討

リーフディスク検定に供試した4菌株中3菌株は、メタラキシルMのMIC値およびEC<sub>50</sub>値が100ppmを超える耐性菌であった(表5)。残る1株であるF2株については、MIC値が10ppmおよびEC<sub>50</sub>値が1.8ppmであり感受性と判断された。べと病菌を採集した圃場の2008年および2009年のフェニルアマイド系剤の使用はいずれもメタラキシルであり、銚田-aでは2009年に2回(2月28日, 3月10日)、茨城-aでは0回であった。

表5 メロンべと病菌のフェニルアマイド系剤(メタラキシルM)に対する感受性

採集地 -圃場名 <sup>1)</sup>	菌株名	採集年月日	メタラキシルMに対する感受性(ppm) <sup>2)</sup>	
			MIC値	EC <sub>50</sub> 値
銚田-a	N1	2009/4/24	>100	>100
	N2	2009/4/24	>100	>100
茨城-a	F1	2009/5/8	>100	>100
	F2	2009/5/8	10	1.8

- 1) 2008年および2009年のフェニルアマイド系剤の使用状況としては、銚田-aではマンゼブ・メタラキシル水和剤を2009年2月と3月に計2回使用していたが、茨城-aでの使用は無かった。  
 2) 感受性検定は中澤ら(1998)に準じて行った。MIC値は最小生育阻止濃度、EC<sub>50</sub>値は50%生育阻止濃度を示す。

フェニルアマイド系剤耐性菌であるN1株を用いて、菌接種後の散布による各種薬剤の発病抑制効果を検討した結果、シモキサニルやジメトモルフを含む剤が高い効果を示す一方で、マンゼブ・メタラキシル水和剤の効果は著しく低かった(表6)。

表6 フェニルアマイド系剤耐性メロンべと病菌N1株の接種後散布による各種薬剤の発病抑制効果

処理名 <sup>1)</sup>	希釈倍数(倍)	発病度 <sup>2)</sup>	発病抑制率(%) <sup>3)</sup>
シモキサニル・ファモキサドン水和剤	2,500	9.3	89.2
シモキサニル・マンゼブ水和剤	1,000	10.7	87.7
ジメトモルフ・銅水和剤	1,000	16.0	81.5
ベンチアバリカルブイソプロピル・TPN水和剤	1,000	18.7	78.5
シアゾファミド水和剤	1,000	29.3	66.2
アミスルプロム水和剤	2,000	41.3	52.3
ホセチル水和剤	800	76.0	12.3
マンゼブ水和剤	400	77.3	10.8
マンゼブ・メタラキシル水和剤	1,000	77.3	10.8
アゾキシストロビン水和剤	2,000	81.3	6.2
キャブタン水和剤	600	85.3	1.6
TPN水和剤	700	85.3	1.6
無処理	—	86.7	

1) 各処理には3葉期ポット苗を5株ずつ供試し、発病調査はその3葉について行った。

2) 発病度は以下の式で算出した。{ $\Sigma$ (発病指数別葉数×発病指数)/(全葉数×5)}×100。

発病指数は0:発病無し, 1:病斑面積が5%以下, 2:6~25%, 3:26~50%, 4:51~75%, 5:76%以上とした。

3) 発病抑制率(%)=100-(薬剤処理区の発病度/無処理区の発病度)×100。

#### IV. 考察

本研究により、銚田市および茨城町のメロン産地ではうどんこ病菌についてはQoI剤およびDMI剤、つる枯病菌についてはベンズイミダゾール系剤およびQoI剤、べと病菌ではフェニルアマイド系剤に対して、それぞれの耐性菌の発生が明らかとなった。

メロンうどんこ病菌のQoI剤に対する耐性菌は、調査圃場の半数で認められたが、菌株の検出割合は高くはなかった。供試菌株数が少ないため今後も調査を要するが、うどんこ病菌とQoI剤はともに耐性菌の発生リスクが高いことから、その割合は予想外に低い結果であった。この要因としては、メロンではキュウリなどと比較して農薬の散布回数が少なく、同時にQoI剤の使用も少ないことが考えられる。使用された場合でも、硫黄粉剤等の利用により菌密度を低く抑えており、耐性菌の発達が抑制されていたと考えられた。

DMI剤については、PCR-RFLP法により感受性を3つに区別できるが、実際の防除で問題となるのは4塩基変異を持つ耐性菌である(植草ら, 2009)。本研究の接種試験においても、トリフルミゾール水和剤の防除効果は耐性菌でのみ低下していた。そのため、実用レベルで防除効果の低下が疑われるのは耐性菌が唯一検出された茨城-cである。当該圃場における耐性菌の発生については、過去のDMI剤の使用回数や使用時の発病程度が関与していると思われるが、詳細は不明である。久保ら(2008)の調査では、DMI剤を使用することで低感受性菌の比率は低下し、耐性菌の比率が上昇した。一方で、DMI剤耐性菌の環境適応度は低く、一定期間の使用中止により検出率が低下することが複数の事例で報告されている(浅利ら, 1994)。そのため、茨城-cにおいてもDMI剤の使用を中止することにより感受性を回復できる可能性がある。ただし、その場合でも耐性菌が死滅するわけではない(久保, 2007)ので、その後の感受性にも注意を払う必要がある。

メロンつる枯病菌に対するベンズイミダゾール系剤の耐性菌については、調査圃場の半数で高頻度で検出された。銚田-bではベンズイミダゾール系剤であるチオファネートメチル水和剤を毎作使用する傾向があり、これが耐性菌の発生につながったと考えられた。また、茨城-cおよびdでは2008年の使用履歴はなかったものの、過去に使用した経験があった。他の3圃場については検定した菌株数が少ないため十分に発生状況を述べることはできないが、いずれも過去に使用歴があり、注意が必要であると考えられた。一方で、本剤はつる枯病に対して、病患部に原液を塗布するペースト剤も農薬登録されている。薬液の濃度としては、有効成分が70%である水和剤を1,500倍希釈で使用すると500ppmになるのに対し、3%含有であるペースト剤では30,000ppmとなり、高濃度での処理ができる。本研究では、佐古(1994)の方法に従い200ppmまでの平

板希釈法を行ったが、ペースト剤の使用を考慮すると、さらに高濃度での試験を実施する必要がある。

続いて、つる枯病菌のQoI剤耐性については、国内での過去の報告事例は少なく、2011年に神奈川県で採集された菌株で発生が報告されている(折原ら, 2013)。本研究においても耐性菌の検出頻度は高く、銚田-bについてはわずかな使用回数でその頻度が上昇することが確認された。本研究と併せて行った現地圃場での発病調査では、銚田-bにおいて2009年7月23日の調査ではつる枯病の発病株率が0%であったのに対し、8月17日には30%、9月4日には60%に達した(未発表)。同圃場では、7月27日と8月11日にQoI剤を散布しているが、耐性菌の発生により十分に効果を発揮していなかった可能性が考えられた。うどんこ病菌の事例ではQoI剤耐性菌は、長い不使用期間を設けても分離された事例も知られており(Ishii et al., 2007)、つる枯病菌においても耐性菌の影響が長期間に及ぶ可能性が考えられる。なお、本研究において、うどんこ病菌と比較してつる枯病菌ではQoI剤耐性菌の検出頻度が高かったが、これには各病害の防除の難易が関わっていると思われる。メロンではつる枯病はうどんこ病よりも難防除であり、前者の病原菌密度が高くなりやすいことが原因と考えられる。

本県におけるウリ類べと病菌のフェニルアמיד系剤に対する耐性菌は、黒沢ら(1992)によりキュウリで発生が報告されている。本研究により、メロンにおいても耐性菌の発生が確認された。一方で、メロンで農業登録されている本系統剤は、いずれもマンゼブや塩基性塩化銅、TPNとの混合剤であり、予防的に使用されていれば十分な効果を発揮すると考えられる。そのため、本剤耐性菌の発生は、本病が発病進展した状況下で重要となるメタラキシル剤の治療効果に影響を及ぼすと考えられる。メロンはキュウリよりも薬剤散布回数が少なく、べと病についても1作で1回程度の場合が多い。本病対策ではメタラキシル剤が以前から使用されてきた経緯もあり、本成分を含有する剤のみをべと病対策に使用している農家もある。今後は、別系統であるシモキサニル剤等を組み合わせた防除を検討することが必要である。

メロンは作期が短く農薬の使用回数が少ない分、一部の薬剤に使用が集中することが多く、これによりQoI剤やベンズイミダゾール系剤などでは一部圃場で深刻な耐性菌の発生につながっていると考えられる。特にQoI剤については、べと病菌でも耐性菌の発生が報告(Ishii et al., 2001)されており、将来的にメロンにおける長期的な使用は困難と考えられる。メロンにおいても各病害について複数の農薬が登録されており、浸達性や浸透移行性は期待できなくても予防的な保護剤の種類は豊富である。耐性菌発生リスクが少ない保護剤をローテーションに組み込みながら、発生を抑制することが重要である。加えて、同一の作の中でのローテーションはもちろん、作を跨いでのローテーションを意識することも重要と考えられる。

## V. 摘要

2008年および2009年に茨城県の銚田市および茨城町のメロン栽培圃場から採集したメロンうどんこ病菌についてはquinone outside inhibitor(QoI剤)およびステロール脱メチル化阻害剤(DMI剤)、つる枯病菌についてはベンズイミダゾール系剤とQoI剤、べと病菌についてはフェニルアמיד系剤について、薬剤感受性検定を行い耐性菌の発生状況を調査した。その結果、うどんこ病菌についてはQoI剤では6圃場中3圃場で、DMI剤では7圃場中1圃場で耐性菌が検出され、接種試験において両系統剤の発病抑制効果の低下を確認した。つる枯病菌については、ベンズイミダゾール系剤では6圃場中3圃場で耐性菌が高頻度で検出され、QoI剤については6圃場中5圃場で検出され、接種試験において両系統剤の発病抑制効果の低下が確認された。加えて、べと病菌についても採集した2圃場いずれでもフェニルアמיד系剤の耐性菌が検出され、当該耐性菌に対して菌接種後の薬剤散布でマンゼブ・メタラキシル水和剤の効果の低下が確認された。

**謝辞** 当研究を実施するに当たり、うどんこ病菌の接種試験やDMI剤の感受性検定法を指導していただいた現:吉備国際大学の石井英夫教授、うどんこ病菌K-7-2株を分譲いただいた全国農業協同組合連合会、べと病菌の維持方法を指導していただいた株式会社エス・ディー・エスバイオテックつくば研究所、メタラキシルMを提供いただいたシンジェンタジャパン株式会社、県央農林事務所経営・普及部門および鹿行農林事務



所経営・普及部門の関係者各位、試験圃場を提供していただいた生産者の皆様に厚く御礼申し上げます。

## 引用文献

- 浅利覚・堀江博道・中澤靖彦. 1994. 関東東山地区における DMI 剤耐性キュウリうどんこ病菌の発生状況. 関東病虫研報. 41 : 69-75.
- 井上幸次. 2009. 植物病原菌感受性検定マニュアルⅡ. pp. 111-113, 一般社団法人日本植物防疫協会, 東京.
- Ishii, H., Fraaije, B. A., Sugiyama, T., Noguchi, K., Nishimura, K., Takeda, T., Amano, T. and Hollomon, D. W. 2001. Occurrence and Molecular Characterization of Strobilurin Resistance in Cucumber Powdery Mildew and Downy Mildew. *Phytopathology*. 91 : 1166-1171.
- Ishii, H., Yano, K., Date, H., Furuta, A., Sagehashi, Y., Yamaguchi, T., Sugiyama, T., Nishimura, K. and Hasama W. 2007. Molecular Characterization and Diagnosis of QoI Resistance in Cucumber and Eggplant Fungal Pathogens. *Phytopathology*. 97 (11):1458-1466.
- 久保深雪. 2007. キュウリうどんこ病菌の DMI 剤耐性と分子機構. 殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム講演要旨集. 17 : 61-68 (講要).
- 久保深雪・野村研・植草秀敏・武田敏幸・北宜裕. 2008. 神奈川県におけるキュウリうどんこ病菌ステロール脱メチル化酵素阻害剤 (DMI 剤) 耐性菌の発生実態. 日植病報. 74 (3) : 269-270 (講要).
- 黒沢美保子・中澤靖彦・山田正和・大塚範夫. 1992. 関東地方におけるフェニルアマイド耐性キュウリベと病菌の発生. 関東病虫研報. 39 : 87-89.
- Miyamoto, T., Ishii, H. and Tomita, Y. 2010. Occurrence of boscalid resistance in cucumber powdery mildew in Japan and molecular characterization of the iron-sulfur protein of succinate dehydrogenase of the causal fungus. *J Gen Plant Pathol*. 76:261-267.
- 中澤靖彦・黒沢美保子・大塚範夫. 1998. 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル (7) キュウリベと病菌. 植物防疫. 48 (2) 86-89.
- 大塚範夫・宗和弘・天野徹夫・尾嶋正弘・中澤靖彦・山田芳昭. 1988. エルゴステロール生合成阻害剤 (EBI 剤) に対するキュウリうどんこ病菌の感受性低下. 日植病報. 54 (5) : 629-632.
- 大塚範夫・黒沢美保子・宗和弘・天野徹夫. 1990. キュウリベと病菌のフェニルアマイド系殺菌剤に対する薬剤感受性. 日植病報. 56 (3) : 408 (講要).
- 折原紀子・植草秀敏・宮川健太郎・岡本昌広・小林正伸. 2013. 神奈川県におけるウリ科野菜つる枯病 QoI 剤耐性菌の発生. 関東病虫研報. 60 : 32-33.
- 佐古勇. 1994. 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル (9) 野菜類炭そ病菌・つる枯病菌・ラッキョウ乾腐病菌. 植物防疫. 48 (4) 181-184.
- 竹内妙子. 1990. フェニルアマイド耐性キュウリベと病菌の発生. 日植病報. 56 (5) : 684-686.
- 谷口達男・遠山明・油木武義. 1979. チオファネートメチル耐性つる枯病菌の出現. 日植病報. 45 (4) : 550.
- 植草秀敏・久保深雪・野村研・北宜裕・武田敏幸. 2009. 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアルⅡ. pp. 47-50. 一般社団法人日本植物防疫協会. 東京.