

滋賀県における DMI 剤耐性イチゴうどんこ病菌の発生状況

有元倫子・長谷部匡昭*・下川陽一

Distribution of Sterol Demethylation Inhibitor (DMI)-Resistant Isolates of Strawberry Powdery Mildew in Shiga Prefecture, Japan

Michiko Arimoto, Masaaki Hasebe* and Yoichi Shimokawa

キーワード: イチゴうどんこ病, DMI 剤, 薬剤耐性菌

1. 緒言

滋賀県におけるイチゴの栽培面積は少量土壌培地耕を中心に拡大している。イチゴうどんこ病は果実、果梗、葉に発生し、白色のうどんこ状の菌叢を形成する。特に果実に発生すると、商品価値を下げる重要病害である。県内のイチゴ栽培では、うどんこ病は主に主要な防除は化学合成農薬により実施されている。しかしながら、他県では化学合成農薬の連用により薬剤耐性菌の出現が報告されている¹⁾。イチゴうどんこ病の防除にはステロール脱メチル化阻害剤 (以下 DMI 剤) が 1980 年代の半ば頃から広く使用され始めた。本県においても、栽培現場で DMI 剤の防除効果の低下が問題となっており、DMI 剤耐性菌の発生が懸念されている。

そこで、本研究では、県内の DMI 剤耐性菌の発生の有無と分布状況について調査したので報告する。

2. 材料および方法

2012~2013 年に滋賀県内の 54 地点から 75 菌株のうどんこ病菌を採取し、DMI 剤耐性菌検定に供試した。

DMI 剤耐性菌検定は、PCR 法²⁾ により行った。

うどんこ病に罹病したリーフディスクもしくは果実の切片に 0.1% Tween-20 を加えた後、攪拌した。リーフディスクもしくは果実の切片を除去後、遠心分離し、イチゴうどんこ病菌を得た。その後、分生子からイソプロパノール (-4°C) を用いて DNA の濃縮、回収を行い、耐性菌検定の鋳型 DNA とした。

PCR 反応は、*Taq* DNA ポリメラーゼを用い、プライマーは表 1 の塩基配列を用いた。PCR プログラムは、94°C で 4

分間処理後、94°C 1 分間、65°C 1 分間、72°C 1 分間のサイクルを 40 回繰り返し、最後に 72°C 1 分の処理とした。得られた PCR 産物は 1.5% アガロースゲルで電気泳動した後、GelRed™ で染色した。プライマー 1532F と 1532R-T を用い PCR 反応後、330bp 付近にバンドを確認した場合は DMI 剤耐性菌、プライマー 1532F と 1532R-C を用い PCR 反応後、330 bp 付近にバンドを確認した場合は、感受性菌と判定した。

3. 結果

DMI 剤耐性菌検定の結果を表 2 に示した。採取した 75 菌株中、DMI 剤耐性菌は 41 菌株、感受性菌は 34 菌株と判定した。耐性菌株数の割合は 54.7% であった。耐性菌は 20 地点、感受性菌は 13 地点、耐性菌と感受性菌が混在した地点が 21 地点であった。2012 年の耐性菌株数の割合は 13 菌株 (46%) であり、2013 年の耐性菌株数の割合は 28 菌株 (60%) であった。耐性菌の分布は県内全域で確認された。

4. 考察

イチゴうどんこ病の DMI 剤耐性菌は県内全域に分布していることが明らかとなった。また、耐性菌株数の割合は全体の 50% 以上を占め、高い割合を示した。このことから、県内におけるうどんこ病の防除において、本剤の耐性菌による防除効果の低下が起きていると考えられた。

表1 耐性菌検定に使用したプライマーの塩基配列

プライマー名	塩基配列
1532F	5'-GCTCTCCCTACACCAAATGTC-3'
1532R-T(変異型検出用)	5'-CATCGATGTCTCCCTGCTCT-3'
1532R-C(感受性型検出用)	5'-CATCGATGTCTCCCTGCTCC-3'

表2 耐性菌と感受性菌の地域割合

	大津・南部		甲賀		東近江		湖東	
	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013
地点数	1	1	0	2	10	9	2	7
耐性菌確認地点	0	1	0	1	5	3	1	2
耐性菌+感受性菌確認地点	0	0	0	0	3	6	0	4
感受性菌確認地点	1	0	0	1	2	0	1	1
耐性菌株数	0(0)	1(100)	0	1(50)	8(62)	9(60)	1(50)	6(55)
感受性菌株数	1(100)	0(0)	0	1(50)	5(38)	6(40)	1(50)	5(45)

	湖北		高島		全体		
	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012~2013
地点数	8	9	1	4	22	32	54
耐性菌確認地点	1	4	0	2	7	13	20
耐性菌+感受性菌確認地点	3	4	0	1	6	15	21
感受性菌確認地点	4	1	1	1	9	4	13
耐性菌株数	4(36)	8(62)	0(0)	3(60)	13(46)	28(60)	41(54.7)
感受性菌株数	7(64)	5(38)	1(100)	2(40)	15(54)	19(40)	34(45.3)

1)括弧は地域内の耐性菌株数の割合(%)

2012、2013年にうどんこ病を採取する際に、栽培農家に農薬使用履歴の聞き取り調査を行った。うどんこ病は、育苗期から予防防除が行われ、本ほ栽培期を含め多くの薬剤散布が行われているが、本剤の連用と耐性菌発生の関係は、明らかではなかった(データ省略)。石井(2002)は、ストロビルリン系薬剤が農薬登録される以前に採取したイチゴ炭疽病菌に耐性菌の存在を確認しており、薬剤が使用される以前に薬剤耐性菌が自然界に存在したことを報告している³⁾。本病においても、突然変異などの原因でわずかに自然界に存在した耐性菌が、うどんこ病の主要な治療剤として長期に薬剤を散布してきたことでDMI剤耐性菌の割合を高めることにつながったと考えられる。また、従来からDMI剤の耐性はポリジーン支配とされ、菌の集団としてのDMI剤感受性は緩やかに耐性側に発達すると考えられている⁴⁾。耐性菌+感受性菌が混在した地点数が全体の39%を占め、また、全体の耐性菌株数の割合は2012年46%、2013年60%と高い割合で存在している。現状の防除体系を継続すると耐性菌率は今後高まっていくと考える。以上のことから、DMI剤以外の他系統の薬剤と組み合わせたローテーションによるイチゴうどんこ病の防除体系が必要である。ただし、DMI剤に分類される脱メチル化阻害剤としてのエルゴステロール生成阻害剤(EBI剤)は、交差抵抗性の発生する確率が高い⁵⁾ため、薬剤の連用を避ける必要がある。しかしながら、DMI剤以外に効果的な登録農薬は少なく、うどんこ病に登録のある化学合成農薬だけで本病を防除することは困難な状況である。そのため、本県では化学合成農薬に頼らない防除法として生物農薬や紫外線を用いた防除方法の確立に向けた試験を行い、防除技術

の普及を進めている。今後、それらを取り入れた防除体系の構築を図っていきたいと考えている。

5. 謝辞

本研究を行うにあたり、各地域農産普及課のみなさまには、イチゴうどんこ病菌の採集にあたり、多大なご協力をいただきました。ここに心より感謝申し上げます。

6. 引用文献

- 1)宇佐見俊行・神頭武嗣・小林美郷・雨宮良幹・松浦克成・山田真・石渡正紀(2009)日植病報75:198。(講要)
- 2)社団法人 日本植物防疫協会 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル
- 3)石井英夫(2002)茨城県病害虫研究会報41:1-7
- 4)石井英夫(1991)第1回殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム講演要旨
- 5)一般社団法人 日本植物防疫協会 農薬作用機構分類一覽