

千葉県内で採集したナシ黒星病菌のDMI剤に対する感受性

大谷 徹・塩田 あづさ*・平野 堅一**

キーワード；ナシ、黒星病、*Venturia nashicola*、DMI剤、感受性、薬剤耐性菌

I 緒 言

ナシ黒星病は、効果の高いステロール脱メチル化阻害剤（以下、DMI剤）が実用化されたため、防除が容易になり、ジラム・チウラム剤、ジチアノン剤やキャプタン剤などの保護殺菌剤を連用してきた頃（千葉県農林部農産課、1987）と比べて散布回数の削減が可能となっている。しかし、海外ではリンゴ黒星病で早くからDMI剤に対する耐性菌の発生が報告されていたことや（STAINS and JONES, 1985; THIND et al., 1986）、わが国では1970年代にナシ黒星病のベンゾイミダゾール剤耐性菌による被害を経験してきたことにより（梅本・長井、1976）、千葉県ではナシでの防除にDMI剤を導入した1988年当初から、その使用回数を厳しく制限してきた。現在の千葉県なし病害虫防除暦では、DMI剤をナシ黒星病の最重要防除時期に年間3回使用することとしている（梅本、1996；千葉県農林部生産振興課、2004）。また、DMI剤に対する耐性菌の発生を回避する目的で、作用機構の異なる保護殺菌剤との混用を指導してきた。

このようにナシ黒星病のDMI剤に対する耐性菌の発生が常に懸念されていることから、他県においては薬剤感受性のモニタリングが頻繁に行われている（辻、2002；安田ら、2003；茨城県病害虫防除所、2005）。一方、千葉県では耐性菌回避のための防除体系を提示してきたが、これまでDMI剤に対する感受性について十分な調査は行われなかった。そこで、2004年に県内で採集したナシ黒星病菌のDMI剤に対する感受性検定を行い、いくつかの知見を得たので報告する。

茨城県農業総合センター園芸研究所の冨田恭範氏には試験の遂行やデータの解析に当たり、多くのご助言をいただいた。また、JA全農営農・技術センターの宗和弘氏には、当センターで作成されたEC₅₀を算出するパーソ

ナルコンピューター用プログラムを提供して頂いた。ここに深く感謝の意を表する。

II 材料及び方法

1. 供試菌株の採集

2004年8月に、県内の二ホンナシ栽培ほ場のうち長生地域3ほ場、印旛地域2ほ場、香取地域2ほ場からナシ黒星病の罹病葉を20~30葉採取した。1葉当たり1病斑を選び、1病斑から1菌株ずつ単胞子分離を行った。すなわち、先端に滅菌水をつけた白金耳に病斑上の分生子を付着させ、これを素寒天培地上に画線して分散し、約3日間培養した。発芽した分生子を実体顕微鏡下で有柄針を用いて寒天ごと掻き取り、ショ糖加用ジャガイモ煎汁寒天（以下、PSA）平板培地に移植した。得られた菌株を60~90日間、20℃暗黒下で培養し、薬剤感受性検定に供試した。

2. 薬剤感受性検定の方法

DMI剤としてフェナリモル（商品名：ルビゲン水和剤）及びヘキサコナゾール（商品名：アンビルフロアブル）を用いた。両剤ともに市販の水和剤を段階希釈し、薬液添加後の有効成分濃度が0、0.01、0.05、0.1、0.5、1、5、10、50、100 mg/lとなるようにPSA培地に混合した。これを直径9 cmのプラスチック製シャーレに分注して検定用平板培地とした。供試菌の菌叢周縁部を直径4 mmのコルクローラーで打ち抜き、菌叢面が培地に接するように置床した。20℃暗黒下で21日間培養した後、菌叢直径をデジタルノギスで測定し、各菌株の菌糸伸長量に対する薬剤の50%生育阻止濃度（以下、EC₅₀）を、JA全農営農・技術センター作成のプログラムを用いて算出した。フェナリモルに対する感受性検定には3地域から得られた132菌株を、ヘキサコナゾールに対する感受性検定には長生地域から得た71菌株をそれぞれ供試した。また、フェナリモルに対する感受性検定では、石井の基準（石井、1994）によりEC₅₀が1 mg/l以上の菌株をフェ

2005年9月29日受理

* 千葉県病害虫防除所

** 千葉県病害虫防除所北総支所

ナリモル低感受性菌と判定した。

Ⅲ 結 果

1. ナシ黒星病菌のフェナリモルに対する感受性

県内の3地域7ほ場から採集したナシ黒星病菌のフェナリモルに対する感受性を第1表に示した。各ほ場におけるEC₅₀の平均値は、白井市白井が0.182mg/lで最も低く、佐原市伊地山の0.660mg/lが最も高く、県全体での平均値は0.531mg/lであった。また、各ほ場におけるEC₅₀が1mg/l以上を示した低感受性菌株の調査菌株に対する割合は、0.0~21.4%であり、調査菌株全体では12.1%であった。

2. ナシ黒星病菌のヘキサコナゾールに対する感受性

長生地域の3ほ場から採集した菌株のヘキサコナゾールに対する感受性を第2表に示した。EC₅₀はフェナリモルに比べて低く、ほ場ごとの平均値は0.040~0.063mg/l、全体では0.057mg/lであった。

各菌株のフェナリモルに対する感受性とヘキサコナゾールに対する感受性の関係を調査したところ、両者には弱いものの、有意な相関が認められた (r=0.58, f=69, P<0.001) (第1図)。

Ⅳ 考 察

石井ら(1995)はナシ黒星病菌のフェナリモルに対する感受性のベースラインを求めめるため、中国河北省と茨城県のDMI剤散布経歴のない2ほ場から分離した菌株のフェナリモルに対するEC₅₀を調査し、その平均値はそれぞれ0.120mg/l (0.014~0.445mg/l) 及び0.199mg/l (0.020~1.286mg/l) であったことを報告している。また、安田ら (2003) による鳥取県における1997~1998年の調査では、15ほ場190菌株におけるフェナリモルのEC₅₀の平均値は0.47mg/l、低感受性菌株率は8.4%であり、茨城県病害虫防除所 (2005) による2004年の調査によれば、9地点212菌株におけるEC₅₀は0.02~5.22mg/l、低感受性菌株率は9.0%であった。また、辻 (2002) による徳島県での2000~2001年の調査では、1ほ場あたり30~39菌株を採取した場合における5ほ場のEC₅₀の平均値は0.633~0.844mg/l、低感受性菌株率は27%であった。今回の千葉県内の黒星病菌を用いたフェナリモルに対する感受性検定結果では、白井市の1ほ場14菌株におけるEC₅₀の平均値が0.182mg/lとベースライン付近の値を示したものの、7ほ場132菌株におけるEC₅₀の平均値は0.53mg/l、低感受性菌株率は12.1%と、他県における

第1表 千葉県内3地域から採集したナシ黒星病菌のフェナリモルに対する感受性

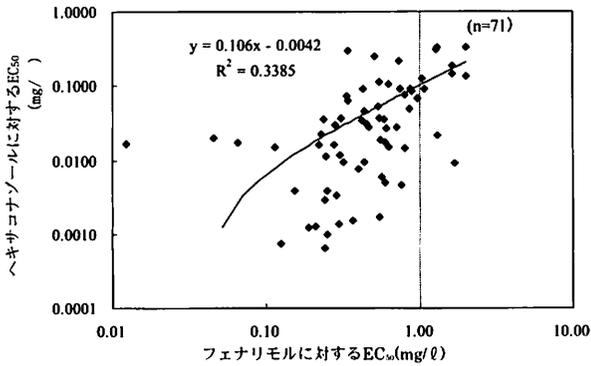
地域	ほ場 (地点)	供試 菌株 数	EC ₅₀ (mg/l)			EC ₅₀ 1.0mg/l 以上 の菌株率(%)
			平均値	最小値	最大値	
長生	一宮町一宮 1	18	0.524 ab	0.155	1.992	5.6
	一宮町一宮 2	24	0.577 ab	0.046	1.678	20.8
	一宮町一宮 3	29	0.607 b	0.012	2.014	13.8
印旛	白井市清戸	15	0.493 ab	0.013	1.781	6.7
	白井市白井	14	0.182 a	0.054	0.377	0.0
香取	佐原市下小野	18	0.556 ab	0.086	1.486	11.1
	佐原市伊地山	14	0.660 b	0.076	1.838	21.4
7ほ場計		132	0.531	0.012	2.014	12.1

注) 各ほ場の平均値について、同一文字間にはTukey-Kramer法により5%の危険率で有意差がないことを示す。

第2表 長生地域から採集したナシ黒星病菌のヘキサコナゾールに対する感受性

ほ場 (地点)	供試 菌株数	EC ₅₀ (mg/l)		
		平均値	最小値	最大値
一宮町一宮 1	18	0.040 a	4.3E-05	0.326
一宮町一宮 2	24	0.063 a	7.2E-05	0.307
一宮町一宮 3	29	0.062 a	1.1E-09	0.328
3ほ場計	71	0.057	1.1E-09	0.328

注) 各ほ場の平均値について、同一文字間にはTukey-Kramer法により5%の危険率で有意差がないことを示す。



第1図 フェナリモールとヘキサコナゾールに対する感受性の関係

注) 長生地区で採集した71菌株を供試。

値と同程度であった。このことから、本県においてもフェナリモールに対する感受性の低下が生じていることが明らかとなった。

ナシ黒星病菌は落葉や新梢上の芽基部で越冬し、年間を通じてナシ園内での生活環が成立しているため(梅本, 1993)、各産地やほ場におけるDMI剤の使用履歴がDMI剤に対する感受性低下に影響するものと考えられる。EC₅₀の高かった長生地域の3ほ場及び佐原市伊地山の当年におけるDMI剤の使用回数は千葉県なし防除暦に準じて3回であった。しかし、DMI剤の使用履歴と感受性低下の関係を明らかにするには、過去10年以上にわたるDMI剤の使用履歴を含めての検討が必要と思われる。

ナシ黒星病菌のヘキサコナゾールを含む各種DMI剤に対する感受性のベースラインは富田・石井(1996)によって報告されている。これによると、中国河北省のDMI剤無散布ほ場で分離した50菌株を用いたヘキサコナゾールに対するEC₅₀の平均値は0.017mg/l(0.001~0.152mg/l)であった。今回、千葉県内の黒星病菌でヘキサコナゾールに対する感受性を調査した結果では、3ほ場71菌株におけるEC₅₀の平均値は0.057mg/lであり、ベースラインの値に比べて高く、感受性が低下しているものと考えられた。

リンゴ黒星病菌では各種DMI剤間の交差耐性が認められ、近縁のナシ黒星病でも同様にDMI剤で交差耐性を示すものと考えられている(石井, 1998)。今回得られた71菌株におけるヘキサコナゾールのEC₅₀とフェナリモルのEC₅₀間には弱いものの有意な相関が認められ、交差耐性があることが確認された。

石井(1998)は、フェナリモール感受性の低下した菌株を接種しても、実用濃度のフェナリモルを散布したナシでは全く発病が見られなかったことから、ナシ黒星病菌のDMI剤感受性低下の程度は大きくなく、ほ場における

DMI剤の効果を低下させるような耐性菌はまだほとんど分布していないものとしている。今回千葉県で採集したナシ黒星病菌のフェナリモールに対する感受性は他県と同程度の値であったことから、千葉県においてもDMI剤に対する感受性低下の程度は低く、DMI剤の防除効果は維持されているものと考えられた。

千葉県では2004、2005年と2年続けてナシ黒星病がやや多く発生し、その防除のためにDMI剤を追加散布する事例も見受けられる。また、薬剤の使用回数を減らす目的から、防除効果が高く長期の残効を有するDMI剤への依存度が高まっている。

さらに、緒言で述べたとおり、これまで黒星病のDMI剤に対する耐性の発達を抑制することを目的として、保護殺菌剤との混用が行われてきた。しかし、減農薬栽培への取り組みや、混用そのものの是非に関する問題により、この方法を見直す意見もある。

しかし、今回の試験において県内の黒星病菌で程度は低いもののDMI剤に対する感受性低下が認められた。ほ場におけるDMI剤の効果の低下は通常時間をかけて段階的に起こると考えられているため(石井, 1998)、これからもDMI剤の使用状況を把握するとともに、薬剤感受性のモニタリングを継続する必要がある。今後ともDMI剤のナシ黒星病に対する十分な防除効果を維持していくためには、DMI剤の使用回数の増加や混用して用いる保護殺菌剤の削減は問題と思われる。DMI剤の必要最小限の使用で黒星病を防除するためには、秋季防除や落葉の処分(梅本, 1993)など、ほ場内の病原菌密度を低く維持するような対策を徹底することが重要である。

V 摘 要

2004年に千葉県内で採集したナシ黒星病菌のDMI剤に対する感受性を調査した。3地域7ほ場132菌株のフェナリモールに対するEC₅₀の平均値は0.53mg/lであった。また、1地域3ほ場71菌株のヘキサコナゾールに対するEC₅₀の平均値は0.057mg/lであった。いずれの値も薬剤感受性のベースラインと比較して高く、感受性の低下が認められた。しかし感受性低下の程度は低く、DMI剤のほ場での防除効果に影響はないものと考えられた。

引用文献

- 千葉県農林部農産課(1983). 昭和62年版千葉県なし病害虫防除暦(幸水・豊水・その他赤なし).
- 千葉県農林部生産振興課(2004). 平成17年版千葉県なし病害虫防除暦(幸水・豊水・その他赤なし).

- 茨城県病害虫防除所(2005). 平成16年度業務年報.
- 石井英夫(1998). 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(14): ナシ黒星病菌. 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル. pp.67-73. 日本植物防疫協会. 東京.
- 石井英夫・山崎初美・三浦民子・羽賀久美子・富田恭範(1995). ナシ黒星病菌のDMI剤感受性のモニタリングとその方法. 日植病報. 61: 607-608.
- STAINS, V. F. and A. L. JONES(1985). Reduced sensitivity to sterol-inhibiting fungicides in field isolates of *Venturia inaequalis*. *Phytopathology*. 75: 1098-1101.
- THIND, T. S., M. CLERJEAU and J. M. OLIVIER(1986). First observations on resistance in *Venturia inaequalis* and *Guignardia bidwellii* to ergosterol-biosynthesis inhibitors in France.1986, Br. Crop Prot. Conf. Pest and Disease. 491-498.
- 富田恭範・石井英夫(1996). ナシ黒星病に対するDMI剤の使用状況と菌のDMI剤感受性のベースライン. 日植病報. 62: 282-283.
- 辻 雅人(2002). 徳島県におけるナシ黒星病菌のベンゾイミダゾール剤およびDMI剤に対する感受性. 四国植物防疫研報. 37: 67.
- 梅本清作(1993). ニホンナシ黒星病の発生生態と防除に関する研究. 千葉農試特報. 22: 1-99.
- 梅本清作(1996). ナシ幸水果実における黒星病の薬剤防除法の確立. 千葉農試研報. 37: 33-41.
- 梅本清作・長井雄治(1976). 千葉県におけるナシ黒星病菌のベノミル剤とチオファネートメチル剤に対する感受性低下. 関東病虫研報. 23: 56-57.
- 安田文俊・渡辺博幸・伊澤宏毅(2003). 鳥取県におけるナシ黒星病菌のフェナリモル感受性モニタリングとDMI剤の散布時期の違いによる防除効果. 関西病虫研報. 45: 5-9.

Sensitivity of *Venturia nashicola* Isolated from Pear Orchards in Chiba Prefecture to DMI Fungicides

Toru OHTANI, Azusa SHIOTA* and Ken-ichi HIRANO**

Key words : Japanese pear, scab, *Venturia nashicola*, DMI, sensitivity, fungicide-resistant pathogen

Summary

Sensitivity of field strains of *Venturia nashicola* isolated from Japanese pear orchards in Chiba prefecture to sterol demethylation inhibitor (DMI) was examined in 2004. Mean EC₅₀ value of fenarimol for 132 strains from 7 fields of 3 regions was 0.53 mg/l, and mean EC₅₀ value of hexaconazole for 71 strains from 3 fields of 1 region was 0.057 mg/l. These values were higher as compared to the values of baseline sensitivity. However, the degree of reduced sensitivity was slight; thus, it seemed that the efficacy of DMI fungicides on *V. nashicola* in orchards was still sufficient to control the disease.

*Present address : Chiba Prefectural Plant Protection Station

**Present address : Chiba Prefectural Plant Protection Station, Hokuso Branch Office