

ナス黒枯病菌のファンタジスタ顆粒水和剤、ケンジャフロアブルに対する感受性評価と検定手法の開発

農業技術センター

[背景・ねらい]

高知県の主要品目である施設ナスで問題となっている黒枯病に対して、近年、QoI剤のファンタジスタ顆粒水和剤(以下、ファンタジスタ)やSDHI剤のケンジャフロアブル(以下、ケンジャ)が登録された。しかし、他作物の病害ではこれの薬剤に対する耐性菌の発生が報告されており、高知県のナス黒枯病菌においても、効率的な防除のために耐性菌の発生の有無を把握する必要があった。

そこで、黒枯病菌のファンタジスタ、ケンジャに対する感受性を調査し、感受性が低下した菌株に対する薬剤の防除効果を明らかにするとともに、耐性菌の検定法を開発する。

なお、これまでは耐性菌の発生状況については不明であった。

[新技術の内容・特徴]

1. ファンタジスタ

- 1) 防除効果がやや低下している黒枯病菌は、チトクローム *b* タンパク質(QoI 剤の作用点)のN末端から143番目のアミノ酸残基がグリシンからアラニンに変異している(以下、G143A 変異株)(表1)。また、TaqMan リアルタイム PCR により G143A 変異株を容易に検出できる(図)。
- 2) 2024年に県内で採取したナス黒枯病菌82菌株のうち、68菌株がG143A変異株で、変異株の蔓延が明らかとなった(表2)。

2. ケンジャ

- 1) 感受性が低下した黒枯病菌の発生が明らかとなった。また、菌叢ディスクを1ppmの薬剤を添加したYBA培地で培養することで感受性を把握することができる(表3)。
- 2) 菌糸生育阻止率70%未満を耐性菌と見なした場合、2022年と2023年に採取した65菌株中、42菌株が耐性菌である(表4)。

[留意点]

1. QoI剤(FRACコード11)、SDHI剤(FRACコード7)は、薬剤耐性の発達を防ぐため、作期を通じて1回までの使用にとどめる。
2. 薬剤耐性の発達を防ぐため、作用機構の異なる農薬を組み合わせたローテーション散布を行う。
3. 適用範囲は、高知県内のナス栽培地帯とする。

[評価]

ナス黒枯病菌のファンタジスタ、ケンジャに対する感受性の実態が明らかとなり、農家の防除薬剤の選定に役立ち、ナスの安定生産に寄与することができる。

[具体的データ]

表1 ナス黒枯病菌野生株およびG143A変異株に対するファンタジスタの防除効果(2023)

	菌株番号	ファンタジスタ	アミスター(参考)	蒸留水(対照)
野生株	1	0.5*	0.7*	3.1
	19	0.8*	0.7*	3.2
G143A変異株	59	2.2*	3.3	3.5
	71	2.3*	3.8	4.1

注) ナス苗にファンタジスタ2,000倍液、参考としてアミスター20フロアブル(アミスター)2,000倍液を散布して風乾させた後、各菌株の分生子懸濁液を接種した。対照は蒸留水を散布後、病原菌を接種した。発病後、上位の3葉/株の発病程度を以下の指数別に調査し、平均発病指数を算出した。指数0: 発病無し、1: 葉当たり病斑数は10個未満、2: 葉当たり病斑数は10個以上50個未満、3: 葉当たり病斑数は50個以上200個未満、4: 葉当たり病斑数は200個以上で黄化は無し、5: 葉当たり病斑数は200個以上で黄化有り。試験は2回実施して、薬剤と菌株の組み合わせごとに1回目は5株、2回目は4株供試した。数値は2回の平均値を示す。*はSteel-Dwass testで対照と有意差があることを示す($p < 0.05$)。

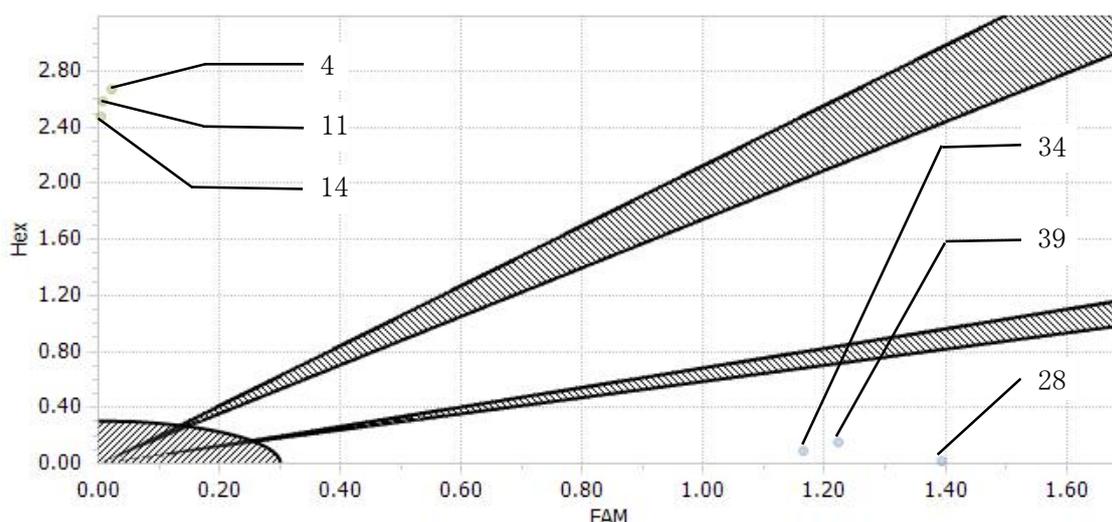


図 cytbの塩基配列が既知のナス黒枯病菌のTaqManリアルタイムPCRによる識別(2022)

- 注1) 野生株3菌株、G143A変異株3菌株からDNAを抽出してPCRのテンプレートとし、黒枯病菌のチトクロームb遺伝子の塩基配列を基に作成したプライマー(5'-GAACTCTAGTATGAGCTATTG-3'、5'-CGACAATATCTGTCTACTC-3')、野生株の配列に対応しFAMの蛍光を示すプローブ(5'-[FAM] CTTATGAGGTGCAAC [MGBEQ] -3')、変異株の配列に対応しHEXの蛍光を示すプローブ(5'-[HEX] CTTATGAGCTGCAAC [MGBEQ] -3')を用いてリアルタイムPCRを行った。
- 2) 34、39、28は野生株、4、11、14は変異株である。野生株3菌株はFAMの蛍光が検出され、変異株3菌株はHEXの蛍光が検出されていることを示す。

表2 ナス黒枯病菌G143A変異株の分布(2022)

菌株採取市町村名	調査菌株数	G143A変異株菌株数
室戸市	15	10
安田町	5	5
田野町	5	1
奈半利町	5	5
安芸市	23	20
芸西村	15	15
大月町	14	12
合計	82	68

注) 2024年に県内で採取した罹病葉から単孢子分離した82菌株を用いTaqManリアルタイムPCRを行った。

表3 ナス黒枯病菌に対するケンジャフロアブルの防除効果(2023~2024)

	菌株番号	菌糸生育阻害率(%)	防除価
感受性菌	84	83.9	97.6
	57	78.7	96.3
	1	76.5	98.7
	104	73.3	87.9
	53	70.3	97.6
耐性菌	11	42.5	56.1
	21	40.9	73.2

- 注1) 各菌株の菌叢ディスクを1 μ g/mlのケンジャを含有したYBA培地および無添加YBA培地に置床し(各3ディスク)、2日後に菌叢直径を計測後、菌糸生育量を算出した。菌糸生育阻害率は次式から算出した。(1-薬剤添加培地での平均菌糸生育量/薬剤無添加培地での平均菌糸生育量) \times 100
- 2) ナス苗10株にケンジャ1500倍液を散布後、供試菌株の分生子懸濁液を接種した。対照として無処理苗10株にも同様に分生子懸濁液を接種した。接種2日後、株当たり病斑数を計測し、防除価を次式から算出した。(1-薬剤処理苗の株当たり平均病斑数/無処理苗の株当たり平均病斑数) \times 100

表4 ナス黒枯病菌ケンジャ耐性菌の分布(2024~2025)

菌株採取市町村名	調査菌株数	ケンジャ耐性菌菌株数
安芸市	19	17
芸西村	18	11
香南市	12	11
四万十市	1	0
大月町	15	3
合計	65	42

注) 2022年、2023年に県内で採取した罹病葉から単孢子分離した65菌株を1 μ g/mlのケンジャを含有したYBA培地および無添加YBA培地に置床し(各3ディスク)、2日後に菌叢直径を計測後、菌糸生育量を算出し、70%未満を耐性菌と見なした。菌糸生育阻害率は次式から算出した。(1-薬剤添加培地での平均菌糸生育量/薬剤無添加培地での平均菌糸生育量) \times 100

[その他]

研究課題名：施設ナスにおける薬剤耐性すすかび病菌および黒枯病菌の検定法開発

研究期間：令和4~6年度

予算区分：県単

研究担当：発生予察担当、病理担当

分類：普及