

ナスすすかび病菌のSDHI剤、ファンタジスタ顆粒 水和剤に対する感受性評価と検定手法の確立

農業技術センター

[背景・ねらい]

県内の施設ナスで問題となっているすすかび病に対し、SDHI剤のカンタスドライフロアブル(以下、カンタス)、アフェットフロアブル(以下、アフェット)、ネクスターフロアブル(以下、ネクスター)、パレード20フロアブル(以下、パレード)、ケンジャフロアブル(以下、ケンジャ)、QoI剤のファンタジスタ顆粒水和剤(以下、ファンタジスタ)の適用があるが、いずれも耐性菌の発生リスクが高い農薬に分類されており、耐性菌の発生が危惧されている。

ここでは、ナスすすかび病原菌のSDHI剤およびファンタジスタに対する感受性を調査し、菌株の感受性の分類及び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は不明で、培地検定の濃度も明らかでなく耐性菌の検定方法は開発されていなかった。

[新技術の内容・特徴]

1. SDHI剤

- 1) 新たに導き出した濃度で実施した培地検定による耐性を表1のとおり設定し、各薬剤に対する耐性の組み合わせによって、S(感受性菌)、R1、R2、R3、R4、R5のグループに分けられる(表2)。2022～2023年に採取した204菌株は、Sが10菌株、R1が39菌株、R2が102菌株、R3が46菌株、R4が1菌株、R5が3菌株、その他が3菌株でR2グループが最も多い(表3)。
- 2) ポット試験ではパレードはR4菌、ケンジャはR5菌に対する効果が低かったが、これらの菌の発生は少なく、両剤はすすかび病の防除に有効であると考えられる(表3、4)。
- 3) R1、R2、R3、R4、R5に属する菌株のコハク酸脱水素酵素サブユニットB、C、D(SdhB、SdhC、SdhD：SDHI剤の標的部位)のアミノ酸配列を解析した結果、耐性グループと関連があったことから(表4)、すすかび病菌のアミノ酸配列を解析することで、どの耐性グループに属するか、推定が可能である。

2. ファンタジスタ

- 1) ポット試験による生物検定に供試したすすかび病菌株に対してファンタジスタは高い効果を示し、その菌株の最小発育阻止濃度(MIC)は1.0 μ g/mlであったことから、ファンタジスタの感受性菌に対するベースラインは1.0 μ g/mlである(表5、6)。
- 2) 2023年に採取した103菌株に対するファンタジスタのMICはすべてベースライン以下で、耐性菌は発生していない(データ省略)。

[留意点]

1. SdhB、Cのアミノ酸配列の解析には以下のプライマーを使用してPCRを行う。SdhB：5' - CTCACCACCGCTGCCACAGCACTC-3'、5' -GTGTAATCCCATCCAGCACAAGC-3'、SdhC：5' - GCATCTCTACGGCAGACTACAAGGC-3'、5' - CCACTCACCTATGGGTTTGGGC-3'。
2. ケンジャは培地検定時にはナスすすかび病に対して適用がなかったことから、培地検定には供試しなかった(2024年3月に適用拡大)。ただし本剤はトマト葉かび病、ブロッコリー黒すす病では他のSDHI剤に耐性を示す菌株に対しても防除効果が認められていることから、

防除効果試験に供試した。

3. SdhBの268番目のヒスチジンからアルギニンへの変異によりカンタスの防除効果が大きく低下し、SdhBの270番目のイソロイシンからバリンへの変異によりカンタス、アフエットの防除効果がやや低下することが報告されている。
4. 適用範囲は、高知県内のナス栽培地帯とする。

[評価]

ナスすすかび病菌のSDHI剤、ファンタジスタに対する感受性の実態および薬剤の防除効果が明らかとなり、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 ナスすすかび病菌のSDHI剤に対する感受性の判定基準(2023)

耐性の程度	薬剤名、濃度(μg/ml)							無添加
	カンタス		アフエット		ネクスター		パレード	
	3	10	3	20	1	10	1	
感受性菌(S)	—	—	—	—	—	—	—	+
中等度耐性菌(MR)	+	—	+	—	+	—	nd	+
高度耐性菌(HR)	+	+	+	+	+	+	nd	+
耐性菌(R)	nd	nd	nd	nd	nd	nd	+	+

注) ナスすすかび病菌の菌叢磨砕液を薬剤添加YBA培地に滴下して判定した。+：生育あり、—：生育無し、nd：判定無し。

表2 ナスすすかび病菌のSDHI剤に対する耐性の分類(2023)

耐性グループ	カンタス	アフエット	ネクスター	パレード
S(感受性菌)	S	S	S	S
R1	HR	S	S	S
R2	S	MR	MR	S
R3	MR	HR	MR	S
R4	HR	HR	MR	R
R5	S	S	MR	S

注) 耐性の程度は表1を参照。

表3 ナスすすかび病菌のSDHI剤に対する耐性グループの分布(2022~2023)

菌株採取市町村名	調査菌株数	菌株数						
		S	R1	R2	R3	R4	R5	その他
室戸市	10	0	3	1	6	0	0	0
田野町	10	0	1	6	0	0	3	0
安芸市	42	1	9	25	6	1	0	0
芸西村	15	0	5	6	4	0	0	0
香南市	98	9	12	48	26	0	0	3
南国市	13	0	9	0	4	0	0	0
大月町	16	0	0	16	0	0	0	0
合計	204	10	39	102	46	1	3	3

注) 2022~2023年に県内で採取した罹病葉から単胞子分離した204菌株を用いた。SからR5の分類は表2を参照。

表4 異なる耐性グループのナスすすかび病菌に対するパレード、ケンジャの防除効果とコハク酸脱水素酵素のアミノ酸変異(2024)

耐性グループ	菌株名	パレード		ケンジャ		対照	変異サブユニット名	変異箇所	野生型	変異型
		病斑数	防除価	病斑数	防除価	病斑数				
R1	H-11	0	100	0	100	43.1	SdhB	268	ヒスチジン	アルギニン
	H-71	-	-	-	-	-				
	MI-61	0.1	99.5	0	100	18.3				
R2	MI-51	0.1	99.0	0	100	10.0	SdhC	83	アスパラギン	セリン
	U-21	0	100	0	100	21.7				
	U-31	-	-	-	-	-				
R3	MA-21	0.2	99.6	0.1	99.8	44.7	SdhC	149	ヒスチジン	アルギニン
	MA-51	-	-	-	-	-				
	MI-91	0.1	99.7	0	100	30.9				
R4	KO-111	10.0	<0	0	100	9.5	SdhB	268	ヒスチジン	システイン
R5	TNY-256	0	100	8.1	68.5	25.7	SdhB	270	イソロイシン	バリン

注) ナス苗にパレード2,000倍希釈液、ケンジャ1,500倍希釈液、対照として蒸留水を十分量散布後、各菌株の分生子懸濁液を接種した。農薬と菌株の組み合わせごとに3株供試し、株当たり5葉の病斑数を調査した。葉当たり平均病斑数から次式で対照に対する防除価を算出した。防除価=(1-処理区の葉当たり平均病斑数/対照区の葉当たり平均病斑数)×100、-は試験未実施を示す。変異箇所はアミノ酸配列のN末端からの番号を示す。

表5 ナスすすかび病菌に対するファンタジスタの防除効果(2024)

菌株名	ファンタジスタ		対照
	病斑数	防除価	病斑数
H-11	0.4	99.1	43.1
MA-21	0.3	99.7	108.5
MI-61	0	100	23.3

注) 試験は表4と同様に実施した。ファンタジスタは2,000倍に希釈した。

表6 ナスすすかび病菌のファンタジスタに対する感受性(2023)

菌株名	ファンタジスタ (µg/ml)			無添加
	0.5	1	5	
H-11	-	-	-	+
MA-21	+	-	-	+
MI-61	+	-	-	+

注) ナスすすかび病菌の菌叢磨砕液を薬剤添加PDA培地(サリチルヒドロキサム酸100µg/ml加用)に滴下して判定した。+ : 生育あり、- : 生育無し。

[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