

課題 4. 「植物防疫事業における効率的な薬剤感受性検定法の調査研究」

(1) (一社) 日本植物防疫協会

担当機関・部署	(一社) 日本植物防疫協会・調査企画部、茨城研究所
担当者	富田恭範、舟木勇樹、北条 広、小林政文、守川俊幸、野田隆志

植物防疫事業実施要綱（令和 5 年 3 月 24 日付け 4 消安第 7238 号農林水産省消費・安全局長通知）第 4 に基づき、植物防疫事業交付金により、各都道府県で地域の実情に応じた薬剤抵抗性の発達の有無のモニタリングを行うこととされており、令和 3 年度には、全国で 757 件の薬剤感受性検定が行われているところ。

しかしながら、当該薬剤感受性検定については、検定手法が示されておらず、各都道府県で異なる手法で検定が実施されていることから、検定結果の比較や集約が困難となっている。

このことから、植物防疫事業における薬剤感受性検定の手法を取りまとめ、各都道府県での薬剤感受性検定の精度を統一し、より適確な薬剤抵抗性管理の実現に繋げるための調査を行う。

以下、「殺菌剤」と「殺虫剤」に分けて報告する。

「殺菌剤」

1. 「殺菌剤」における背景と目的

殺菌剤感受性は、これまで 50%効果濃度 (EC₅₀)、最小発育阻止濃度 (MIC) に基づき、培地検定や生物検定で評価されてきた。また近年では、感受性に係る遺伝子の変異やその発現量から、分離菌株の感受性の低下 (薬剤耐性) を評価される場面が増えてきている。なお、様々な分野で薬剤感受性は EC₅₀ で評価されるのが一般的であるが、国内の農業分野では、MIC などのその他の手法で評価されることが多い。

国内の農業場面では、感受性検定の多くが植物防疫事業のなかで実施されており、地域での迅速な情報提供、指導、誘導に活用されており、なかでも主要品目の防除暦を策定する上での有力な薬剤選定基準となっている。そして、薬剤耐性菌の顕在化を未然に防ぐためには、機能的なモニタリングが必要不可欠である (図1)。

一方では、情報の確からしさが前提にあるものの、日常業務の中で多様な農業・病害の感受性の状況を把握し、時に問題となる病害に迅速に対応するため、検定作業の簡便化が図られている。この簡便化は、各実施機関において蓄積された情報を基に、独自の基準で設定することが多いため、様々な検定法が派生している状況にある。一方、その意味が十分に理解されないまま、前例踏襲で実施されているケースもあると予想される。

評価法・基準の統一を求める声もあるが、検定の目的により手法は異なり、その判定基準についても走りながら暫定的に設定しているものも多い。

そこで、ここに検定の状況を取りまとめるとともに、検定法のありようについて考えてみたい。あわせて、これから新たに取り組む技術者にとって有用と思われる情報を整理し、提供する。

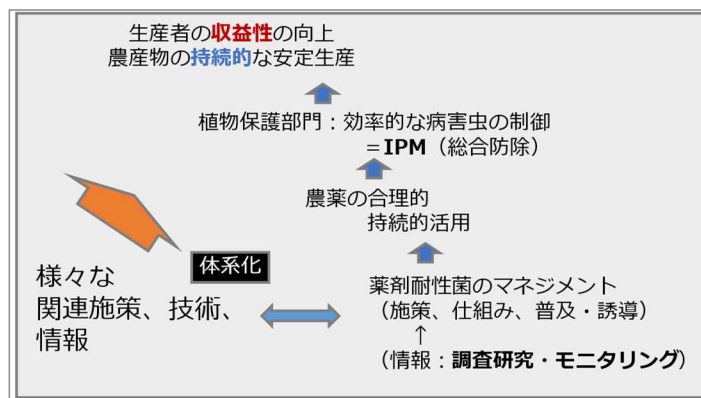


図1 モニタリングの役割

2. 方法

1) 検定状況の調査・分析

薬剤感受性検定の実施状況については、国の毎年度調査 (H22年～R4年) にあるが、検定法についての具体的な情報が不足する報告も多いことから、改めて感受性検定法に注視した内容 (表1) についてアンケート調査を行った。なお、調査対象期間は過去5か年とし、それより以前に特筆すべき検定事例があれば、追記することとした。

関連する文献の調査は、日本植物病理学会殺菌剤耐性菌研究会が取りまとめている国内外文献集を参考にしながら、2019～2024年の5年間に国内の主要な専門誌に掲載された関連文献・レポートを主な調査

対象とした。海外の雑誌については、特に関連の深いものを確認し、必要なものは引用した。さらに、今回実施したアンケートで収集した各機関が公表している成果情報、防除所情報等の情報も参考とした。なお、口頭発表の要旨は、調査・引用の対象外とした。

調査は耐性菌発生状況を知ろうとするものではなく、採用されている検定手法とその背景を知ることによって重点を置いた。

なお、取りまとめに際し、①同一病名でも病原菌が異なり、②病原菌が同じでも様々な病名が採用されている事例が多いことから、多くの場合、病名ではなく病原菌の属あるいは近縁種をグループとして取りまとめた。一方、うどんこ病菌、さび病菌（赤星病含む）、べと病菌、炭疽病菌については、特性の近似したいくつかの属を含む病名グループとして整理した（表2、表3）。

表1 アンケートの調査項目

	項目	補足事項
基本項目	過去5年に実施 ○ー	直近5年と、それ以前に実施された手法を比較するため
	作物名	
	病名	
	病原菌学名	https://www.gene.affrc.go.jp/databases-micro_pl_diseases.php
	対象薬剤名（成分名）	
	FRACコード	https://www.jcpa.or.jp/labo/mechanism.html
	検定の目的（a-e）	a:多発要因解析、b:実態把握（広域）、c:定期調査・変動解析、d:対策の検証、e:論文化、他に目的があれば内容を入力
培地・生物検定	供試薬剤名（商品名）	試薬（標準品）、製品名などを記入
	分散媒（溶媒）	供試薬剤の分散媒
	検定培地（植物）	
	市販・自作	
	容器	検定に用いた容器（丸形、角型シャーレ、培養プレート）のサイズ
	前培養培地	
	接種濃度・素材	検定培地、植物に置床・塗布した接種源
	検定濃度	具体的に記載
	単位	検定濃度の単位
	検定温度	培養（栽培）温度
	判定日数	検定培地での培養日数
	検定基準	MIC、EC ₅₀ 、菌叢生育阻止率ほか
	判定濃度 耐性	判定の基準としている薬剤濃度
	中等度耐性	
遺伝子診断	方法	
	対象遺伝子	
サンプリング	おおよその単位	検定する標本の目安
	留意点	
検定法	参考にしたテキストほか	資料名またはURL/DOI入力
検定結果	公表可能な資料・成績書・論文・成果情報	URL/DOI入力、無ければpdfの添付
その他	コメント	・判定が紛らわしい時の、見分け方 ・検定のノウハウ など

2) 検定法の考え方と標準的手法の提案

薬剤感受性検定法の基本とその簡便化について、考え方を整理するとともに、5つの主要な病原菌群について、近年採用されておる標準的な検定法として提示した。また、検定法の簡素化が図られている事例と、それぞれの利点と注意すべき点について取りまとめた。

3. 専門有識者による中間検討

とりまとめた内容について、以下の要領で開催した中間検討会にて、検定基準の見直しなど、内容の修正を行った。また、標準的手法を示すには、多くの病害で情報が不足しており、目的に応じた検定手法の例

示や、そのための調査研究と実証試験の必要性などが指摘された。

開催日時 2024年12月25日(水) 13時~16時

開催場所 一般社団法人日本植物防疫協会 本部会議室(オンライン併用)

参加者 事業代表:農研機構植物防疫研究部門 須崎浩一*、検討委員:北海道立総合研究機構上川農業試験場 栢森美如*、秋田県果樹試験場 佐藤 裕*、有識者:農研機構植物防疫研究部門 窪田昌春、三重県農林水産部 鈴木啓史、(一社)日本植物防疫協会 門田育生、受託者:(一社)日本植物防疫協会 富田恭範、舟木勇樹、沼田慎一、秋山空隆、守川俊幸

*はオンラインにて参加

4. 結果

1) 検定状況の調査・分析

回答のあった34都道府県で実施された感受性検定の対象薬剤は、FRACコードで30種の作用機構の薬剤を対象に実施されており、灰色かび病菌 (*Botrytis*) をはじめ多くの病害を対象に検定されており、その構成は、先に岡田・井田 (2022) が報告した内容とほぼ同様の傾向が認められた (表2、3)。ただし、当時に比べてイネいもち病菌 (*Pyricularia*) の検定が減少しており、代替剤の普及などにより検定する病害や薬剤の種類は変遷していくものと考えられた。一方では、温暖化の影響とも推定される病害の発生様相の変化や、リンゴ黒星病のDMI耐性菌の発生などの勃発的なイベントにより対象とする病害・薬剤は変化している。いずれにせよ、耐性菌発生リスクが中～高に分類される薬剤 (JapanFRACリスト) を中心に、定期的、継続的あるいは重点的に調査されている。

表2 収集したアンケートで対象にしている病害と薬剤

実施自治体数	検定件数	作物	病害名	病原菌	薬剤 (FRACコード)
2	13	リンゴ、モモ	斑点落葉病、黒斑病	<i>Alternaria</i>	2,3,7,11,29,M3,M5,M7
2	8	タマネギ、ネギ	白斑萎縮病ほか	<i>Botrytis (Cinereaを除く)</i>	1,2,11
17	210	野菜、花き、果樹	灰色かび病	<i>Botrytis cinerea</i>	1,2,3,7,9,10,11,12,17,152,M7
1	4	チャ	網もち病	<i>Exobasidium</i>	M1
8	51	テンサイ、ダイズ、アスパラガス、ピーマン	褐斑病、紫斑病、斑点病	<i>Cercospora</i>	1,2,3,7,11,12,24,50,52,M1,M5,M7,U6
16	117	イチゴ、キウイ、スイカ、ナシ、ブドウ、カキ、マンゴー、茶ほか	炭疽病、晩腐病	<i>Colletotrichum, Glomerella, Discula</i>	1,3,7,9,10,11,12,27,52,M1,M3,M5,M7,M9
8	40	キウイ、トマト、ピーマン	褐斑病、褐色輪紋病、黒枯病	<i>Conyospora</i>	1,2,3,7,10,11,12,50,52,M1,M5,U6
3	7	リンゴ	褐斑病	<i>Diplocarpon</i>	1,9,11
8	44	トマト	葉かび病	<i>Passalora (=Fulvia)</i>	1,3,7,11
9	40	イネ、ムギ類、サツマイモ	ほか苗病、赤かび病、つる割病	<i>Fusarium, Gibberella</i>	1,3,11,M7
2	8	ナス	すすかび病	<i>Mycovellosiella</i>	3,7,11
1	1	リンドウ	褐斑病	<i>Mycochaetophora</i>	11
2	5	カンキツ	緑かび病、書かび病	<i>Penicillium</i>	1,M7
2	8	サツマイモ、アスパラガス	萎縮病、萎枯病	<i>Phomopsis, Diaporthe</i>	1,3,11,19,29,Mi,U16
4	14	トマト、ブドウ	すすかび病、褐斑病	<i>Pseudocercospora</i>	1,3,7,11
5	16	イチゴ、コムギ	うどんこ病	<i>Podosphaera, Blumeria</i>	3,7,9,11
1	3	コムギ	黄斑病	<i>Pyrenophora</i>	3,7,11
17	34	イネ	いもち病	<i>Pyricularia</i>	1,11,16,2
1	2	レタス、ブロッコリー	菌核病	<i>Sclerotinia</i>	1
1	1	アスパラガス	斑点病	<i>Stemphylium</i>	11
9	50	ナシ、リンゴ	黒星病	<i>Venturia</i>	1,3,7,9,11
1	4	ナシ	赤星病	<i>Gymnosporangium</i>	3,7,M3
2	2	コムギ、キク	さび病、白さび病	<i>Puccinia</i>	11
8	23	キウイ、タマネギ、ブドウ	へと病	<i>Pseudoperonospora, Peronospora, Plasmopara</i>	4,11,21,27,40,49
1	3	ジャガイモ	疫病	<i>Phytophthora</i>	40
1	3	イネ	褐条病	<i>Acidovorax</i>	24,31,M1
2	12	イネ、タマネギ	もち枯細菌病、苗立枯細菌病、腐敗病	<i>Burkholderia</i>	24,25,31,M1,U18
3	12	モモ	せん孔細菌病	<i>Xanthomonas</i>	24,25,31,41,M1

基本は、属レベルで集計

ただし、以下については病名あるいは近縁群ごとに集計

- ・うどんこ病、へと病、炭疽病

性低下菌として評価しようとするものであり、簡便な手法として採用されている。また、MICの結果に基づいて設定した濃度ではなく、農地における常用濃度での生育の有無で評価する事例もある。薬剤の種類によっては有効濃度でも生育する場合があります、植物体内で変化して活性化するものもあることから (Furuta et al., 2024; 佐野, 2019)、その判断には検討する余地がある (対象病害・薬剤の感受性に関する情報に乏しい場合に、暫定的に採用する基準として理解できる)。

表4 実施されている薬剤感受性検定の評価法 (基準)

評価法	検定数	同率(%)	基準	率(%)
EC ₅₀	23	3.1	特定濃度での生育の率	19.9
菌叢生育阻止率	123	16.8		
MIC	281	38.3	特定濃度での生育の有無	55.7
菌叢生育の有無	120	16.4		
胞子の発芽の有無	7	1.0	色素産生の有無	
培養性状	1	0.1		
生物検定	108	14.7	発病抑制効果	
遺伝子診断	70	9.5	変異の有無	

733

次に、培地における特定濃度における菌叢生育阻止濃度は、過去に MIC や EC₅₀ を計測した際のデータを基に設定されている場合、薬剤耐性菌の発生程度を推定できるが、再現性が高いという報告はない。また、代表的な薬剤について数段階の濃度で検定し、これをセットとして定期的に検定して経年的な感受性の変動を知ろうとするケースもある (栃木県資料)。薬剤感受性検定の情報の少ない薬剤においては、耐性菌発生の兆候をとらえる手段として有効であると考えられる。この場合、培地や培養温度、日数などを一定に保ちながら継続する必要がある。また、常用濃度での菌叢生育抑制率から、耐性、感受性を機械的に判定しようとするケースがあるが、対照に耐性菌を加えると理解しやすい。さらに、耐性菌と断定する場合は、生物検定における (防除) 効果の確認が必要であると判断される。

生物検定は、人工培養できない病原菌 (うどんこ病、さび病、べと病) では、中心となる検定手段であり、その他、培地検定のみでは判断しづらい薬剤では、培地検定の結果を補足するために用いられる。ナシ黒星病菌の DMI 剤感受性は、培地検定、遺伝子診断ともにこれを評価することができない状況にあり、もっぱら生物検定で薬剤の感受性が評価されている。また、薬剤の防除効果の低下をもって耐性菌とすることから、新たな耐性菌が発生した場合において、生物検定での効果減退を証明することが必要であり、収集したアンケートの中にもそれが含まれる。そもそも、防除効果の低下 (耐性菌であること) は生物検定を用いないと明確には証明できず、培地検定や遺伝子診断はその手間を省くための間接的な代替手段といえる。

遺伝子診断については、いくつかの作用機構の薬剤 (MBC, QoI, SDHI, DMI, CAA, OSBPI ほか) において、関与する変異が明らかになってきている。QoI 剤については関与するチトクローム b 遺伝子上の変異が限定されており、各種病原菌で共通することから、培養できない絶対寄生菌 (べと病、うどんこ病、さび病など) を中心に多くの菌で活用されている。MBC 剤においても同様にβ-チューブリン遺伝子の変異は比較的限定されており、一部の *Fusarium* 属菌で利用されているが、コストの面から培地での検定 (MIC)

が優先されることが多い。

DMI 剤については、CYP51 遺伝子における様々な変異や本遺伝子の過剰発現の例が報告されており、これらが相互に作用するため、特定の変異のみで説明のつかないケースが多く、汎用的な手段となっていない。遺伝子診断法については、様々な薬剤で薬剤感受性低下に関与する遺伝的変異と相互作用の理解が進むとともに、複数の作用機構の変異を同時に検出する技術が開発されれば、活用場面は広がるものと推察される。ただし、同時に生物の変異は常に多様化する方向にあり、継続的な調査研究が必要な分野だと考える。

(2) 培地検定の条件

・ 培地の種類

かつて、MBC 剤などが薬剤感受性検定の主要な検定対象であったころは、自作の PDA や PSA で検定するのが一般的であったが、薬剤の種類によってはこれらの培地での検定が難しいことが明らかになり、薬剤の種類によっては用いる培地を選ぶ必要が生じている。SDHI 剤は YBA、AP 剤や KRI 剤は FGA を使用するケースが増えている（表 5）。その他、細菌病の場合は NA、PDA、PSA、PPGA、Ayer's 培地などが用いられており、どれを選ぶかは定まっていないが、NA、PDA ほか利用できる市販品の培地は数多い。

それでも、PDA の汎用性は高く（全体の 71%）、このうち 65%が市販品の PDA であった。培地の種類によって、EC₅₀、MIC 値が異なることことが知られており、可能な限り、同じ成分の培地を供試する必要がある。特に低濃度での感受性を評価しようとする場合や培地の条件が検定結果に影響する薬剤においては、試験の精度（再現性）を確保する上でも、既製の市販製品あるいは合成培地の使用が推奨される。ただし、使用頻度の高い Difco、ニッスイ、栄研の各社 PDA の間で同じ応答が得られるか比較した例はない。

なお、QoI 剤の検定の際に添加される AOX 剤については、PG（没食子酸 n-プロピル）よりも SHAM（サリチルヒドロキシサム酸）を使用する場合がやや多いが（表 6）、選定基準は特にはなく、ただ前例に従ったものが多いと判断された。なお、AOX 剤は、菌の生育に影響することが知られており、新たな病原菌や薬剤の組合せでは、その種類と濃度について検討する必要がある。

表 5 培地検定に用いられている培地と対象薬剤

培地の種類	採用数	内市販品	同左率%	対象薬剤（グループ）
PDA	407	265	65.1	MBC(1)ほか計22グループ
PSA	23			MBC(1)ほか計11グループ
YBA	89			SDHI(7)
FGA	25			AP(9),KRI(17),ポリオキシシン(19)
NA(普通寒天培地)	12	9	75.0	細菌を対象にした薬剤
その他	15			
	571			

表 6 QoI剤を検定する際に培地に添加する AOX阻害剤

	n=	比率%
SHAM	65	60.2
PG	43	39.8

・培養温度と培養日数

培養日数が、EC₅₀やMICなどの検定結果に影響することが知られており（入江・井上, 1993）、培養温度も生物代謝や抗菌活性に少なからず影響する（農業分野では種子消毒剤、食酢の効果など）。このため、薬剤の種類によっては、培養日数と温度を厳密に設定する必要がある。

培養日数については、生育が早い菌では短く、生育の遅い *Passalora*、*Diplocarpon*、*Venturia* で長く、生育の阻害率を見ようとする際も長くなる。アンケートの結果、おおよそその傾向にあったが（表7）、同じ菌でも培養日数が異なるケースが認められる。培養日数が影響しない薬剤との組合せもあるが、寒天ディスクからの生育の有無を判定に迷うような組み合わせなどでは、条件を整えないと再現性のある結果が得られないと予想される。

表7 培地検定における培養日数

	1日		2日		3日		4日		5日		6日		7日		10日		7-14日		10-14日		14日		21日		28,30日		
	有無	率	有無	率	有無	率	有無	率	有無	率	有無	率	有無	率	有無	率	有無	率	有無	率	有無	率	有無	率	有無	率	
細菌			6		11		2		4	1																	
<i>Alternaria</i>						3																					
<i>Botrytis</i>			48	12	30	16	28	5			4	2	37	5													
<i>Cercospora</i>					5	2		12	2	11	3		7	7													
炭疽病菌					14	1	34	1	6	9			19	12													
<i>Corynespora</i>					7	3	6	12	1				4	7													
<i>Diplocarpon</i>																		1		2			2				
<i>Fusarium</i>			4	4	5	3			12						1												
<i>Mycochaetophora</i>													1														
<i>Mycovellosiella</i>											3		5														
<i>Passalora</i>							3								30		6									1	
<i>Penicillium</i>					5																						
<i>Phomopsis</i>							1																				
<i>Pseudocercospora</i>									2				4		2												
<i>Pyrenophora</i>						2							1														
<i>Pyricularia</i>					14	2	2		1	1					1												
<i>Sclerotinia</i>																											
<i>Stemphylium</i>							1																				
<i>Venturia</i>	1																							1	16	2	5
有無：	1	58	91	77	26	10	78	33	6	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3			
率：	0	16	32	30	24	2	32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	5			

有無：MIC, 特定濃度での生育の有無
率：EC₅₀, 生育阻止率、特定濃度での生育率

培養温度（表8）は18~34℃の範囲で行われており、25℃での検定数が最も多かった(63%)、次に20℃の32%でその多くが *Botrytis* を対象としたもので、中低温での生育適温の菌がこの温度で検定されている。今回の調査には無いが麦類の紅色雪腐病菌でも同様である。一方、細菌病は28℃あるいは25℃で検定するケースが多い。この分野では病原菌の生育適温で検定されることが多いが、動物の病原菌の場合は、体温（37℃付近）で検定されている点で、大きく異なる。植物は栽培環境によって、温度（気温）が大きく異なることから、防除を考えるなら、異なる温度域での薬剤の活性や菌の感受性の評価が必要と考えられる。

いずれにせよ、検定結果を比較しようとする場合、生物にとって5℃の温度差はあまりにも大きいことから、菌の種類に応じて検定温度を統一するべきものと考えられた。

表8 培地検定における培養温度

	培養温度℃								
	18	2020~25		23	25	25,28	28	34	室温
細菌					8		14	1	
<i>Alternaria</i>					3				
<i>Botrytis</i>	3	144			40				
<i>Cercospora</i>			2		48				
炭疽病菌					96				
<i>Corynespora</i>					39				
<i>Diplocarpon</i>				4	1				
<i>Fusarium</i>		5			25				
<i>Mycovellosiella</i>		1			8				
<i>Passalora</i>					44				
<i>Penicillium</i>						3	2		
<i>Phomopsis</i>					1				
<i>Pseudocercospora</i>					13				
<i>Pyrenophora</i>					3				
<i>Pyricularia</i>					18		1		1
<i>Sclerotinia</i>	1	1							
<i>Stemphylium</i>					1				
<i>Venturia</i>		24							
計(検定数)	4	175	2	4	348	3	17	1	1
割合(%)	0.7	31.5	0.4	0.7	62.7	0.5	3.1	0.2	0.2

以上、培地の種類も含め、培養条件が異なるケースが多いことが明らかになった。後述する判定基準については、検定の目的によって異なるため、柔軟な判断が必要であるが、年次変動や地域差を議論するには、上記の条件を整える必要がある。なお、特に注意が必要だと想定される菌と薬剤は下記の通りである。

表9 培養条件(培地、温度、日数)が特に強く影響すると推察される薬剤や病原菌

薬剤	DMI剤(3)、SDHI剤(7)、PA剤(4)、その他
病原菌	細菌全般、 <i>Venturia</i> 、 <i>Colletotrichum</i> 、その他

・添加する薬剤と分散媒、培養容器

添加する薬剤は市販の水和剤などの製剤を使うケースが最も多く、原体や試薬を使用する事例は少なかった。オキシリニック酸など試薬として入手しやすいものを除き、分析用の試薬は高価なため、市販の製剤を用いるのが一般的となっている。ただし、市販の製剤は安定性を保つための副資材が加えられており、それが検定結果に影響しないか事前にメーカーに確認するとともに、場合によっては原体の提供を依頼する必要があると考えられる。

また、薬剤の分散媒としてDMSOなどを用いる例も少なかった(表10)。薬剤の種類によっては、水溶解度が低いことから、高濃度での検定には注意が必要である。農薬原体の水溶解度やオクタノール/水分分配係数(Log Pow)については、薬剤の性質を理解する上で重要な情報である。

検定培地はガラス製から使い捨てのプラシャーレが主流になり、グリット線が入った角型シャーレの使用が増加している（表 11）。

表10 培地に加える薬剤の分散媒

分散媒	
DMSO	27
メタノール	2
水	517
0.1N NaOH	6

表11 培地検定に用いた培養容器

	使用数
径9cmシャーレ	196
角型シャーレ 96X96mm	58
140X100	63
230X75mm	39
角型計	160

・ **培地検定における接種源**

糸状菌の場合、PDA 平板培地で前培養し、これから切り出した寒天を含む菌叢ディスクを置床する方法が採用されてきたが、現在でも扱いやすい接種源として広く用いられている（表 12）。一方、MIC など、生育の有無を知ろうとする場合、薬剤の種類によっては、完全に生育を阻止しないため、判定しづらいケースがある。また、生育の遅い菌でも、判定に悩むケースがあった。そこで、菌叢ディスクに代わりに孢子が付着したペーパーディスクを置床する方法や菌叢破碎液を培地上に滴下し、菌叢形成の有無を調査する方法が考案され、普及されている。ただし、破碎等の作業に手間を要することから、前培養を素寒天（WA）で行い、上記課題を解決しようとする試みも認められた。

表12 培地検定における接種源の種類

接種源	径	検定数	同左率	備考
菌叢ディスク	3mm	2	286	68.6
	4mm	212		
	5mm	20		
	5.5mm	5		
	6mm	47		
菌叢破碎液		64	15.3	<i>Passalora</i> 、炭疽病菌等で利用
孢子（ペーパーディスク）		67	16.1	主に <i>Botrytis</i> でSDHI(7), AP(9)で活用
計		417		

・ **検定濃度と判定基準**

まずは単位であるが、多くの機関が ppm を採用し、 $\mu\text{g/ml}$ を採用している個所数は非常に少なかった。厳密には後者を採用すべきケースが多いと推察される。本稿では 単位を mg/L と表記し、統一を図りたい。

培地検定の際に設定する薬剤濃度（段階）は、*Botrytis* の場合のように簡素化が図られており、1 濃度のみで検定できるようにシステム化されつつある。このように、既往の研究例を参考に 1 濃度での検定が実施されているのは全体の 57.3%と多い（図 13）。この場合、過去の報告や、各機関の研究蓄積を基に濃度が設定されていると推察される。ただし、率（菌叢生育阻止率）で評価されている事例では、感受性の判定基準が実施機関により、阻止率 40~80%と大きな幅があり、薬剤の種類を問わず同一の基準で判断している事例も認められた。

3 濃度以上も 27%程度あり、耐性の程度が評価されている。MIC や EC_{50} を求める場合、少なくとも 5

段階ほど必要となる。感受性の変化をとらえる場合、新たな薬剤耐性を評価する場合などは、さらに多段階の濃度での検定が必要である。

表13 培地検定における薬剤濃度の段階

検定濃度の段階（無添加を除く）	菌叢の生育		計%
	有無	率	
1濃度	36.6	10.5	
1濃度（常用濃度）	3.4	6.8	57.3
2濃度	13.3	1.6	
2濃度（常用濃度と1/10）	0.2	0.5	15.7
3濃度以上	21.8	5.2	27.0

また、判定の基準は知見の蓄積が十分な場合、MIC、EC₅₀ 値、菌叢生育阻止率などで評価されるが、知見が少ない場合は、便宜的に判定基準が設定されている。耐性菌リスクを早い段階で検知しようとする姿勢の現れだと考えられるが、判定基準に常用濃度を設置する事例も増えてきており、このことについては後に考察する。

(4) サンプルングの数

サンプルングの圃場数・標本数は、何が知りたいかで適切な規模がある。また、病原菌の飛散が狭い場合、圃場内で多様な性状の個体群が偏在あるいは混在しており、採るべき試料の数（圃場数、圃場内の地点数）は病害によって異なるものと推察される。一方、適切な数とは一般に多大なものとなるため、限られた時間と人員で調査できる範囲に制限されているのが現実である。また、サンプルングを普及組織など地域の協力を求める場合、関係者との協議・情報共有が不十分だと想定した試料の収集が困難となる。いずれにせよ、様々な制限の中で可能な範囲で収集し、分離培養されたものを検定しているのが実態であると想定される。

また、圃場あたりのサンプルング数は、1～10程度で、苗木で生物検定する黒星病菌などでは1～2点/圃場と供試料数は少ない、その他の培地検定を行う病害では、検定可能数 $\geq a$ （菌株数） $\times b$ （圃場数） $\times c$ （検定薬剤数等の手間）に制限されており、abcのどれを重視して必要な情報を得ようとするかで、サンプルング数は決定されている。

標本のサンプルングの考え方（目的に応じたサンプルング）

- ア. 地域、圃場における耐性菌比率を知りたい場合
 - ※ 耐性菌比率 \neq 伝染源量
 - ※ 比率は使用薬剤で左右される
 - 比率を示すのに必要な菌株数
- イ. 地域における新たな耐性菌発生の兆候を知りたい場合
 - ※ 耐性菌検出後の戦略があつてこそ
 - 偏りなく多地点 $>$ 菌株数
- ウ. 地域の薬剤感受性の実態を知りたい場合
 - ※ 現場誘導、防除暦策定の参考資料となる
 - ※ 未然に防ぐための取り組みも必要
 - 過去の調査との対比性を考慮
- エ. 多発生が耐性菌の惹起によると考えられる場合
 - ※ まずはエビデンスを取得、同時に代替対策提案
 - 限定・対比調査 \rightarrow 広域調査
 - 段階的、2つの局面を説明

(5) 検定目的

表 14 に示すとおり薬剤感受性検定の目的として最も多いのは、①地域で発生する病害の薬剤感受性の実態を広く知ろうとするものであり、次の②実態調査・変動解析とともに多く、地域への情報提供あるいは防除指針（暦）策定の資料にするなど、短期あるいは中長期的な視点で行う行政サービスとして機能しているものと推察される。この場合、簡易な検定法で数をこなすことが優先されるとともに、変動解析では検定条件の継続性、薬剤の感受性変動は MIC、EC₅₀ などの調査の継続も必要になる。次の③多発要因の解析については、耐性菌の発生がその要因の一つと考えられるケースが日々生じており、これを検証するための即応的な作業とみられる。この場合、根拠を得るための様々な調査はもとより、地域の実態調査、対策のための防除試験も同時に実施する必要がある。さらに、以上により防除体系等を変更した後の④対策の検証についても、追跡調査されている実態が伺えた。なお、学術的な情報を収集して⑤論文化し、広く知見を周知することを目的とするケースでは精細な研究が要求される。

表14 感受性検定の目的

検定の目的	回答数	備考
実態把握（広域）	499	地域全体の耐性菌発生状況の把握
定期調査・変動解析	258	毎年あるいは数年おきの変化を把握
多発要因解析	150	突発あるいは多発した病害の発生要因の解析
対策の検証	44	対策（防除体系の変更）の検証
論文化	8	学術的に必要な情報の収集
その他	1	
未回答	17	
計	977	（重複回答を含む）

(4) 検定法の参考とした資料

実施されている感受性検定は、日本植物病理学会殺菌剤耐性菌研究会が編集した「植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル」を参考にした事例が最も多く、次いで学術雑誌あるいは専門雑誌（植物防疫）の論文・資料であった（表 15）。また、各機関の過去の成績（研究蓄積）や他県の情報を参考に実施している例も多く認められた。なお、未回答も多かったが、継続的実施されている検定の中にも根拠が不明なケースも少なからずあろう。

表15 培地検定の際に参考とした資料

検定の参考とした資料	該当数	回答に占める割合
学術雑誌	89	15.7
日本植物病理学会殺菌剤耐性菌研究会編 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル	147	26.0
同研究会シンポジウム講演要旨集	10	1.8
月刊「植物防疫」（上記、マニュアルを除く）	24	4.2
機関誌	6	1.1
過去の試験成績（未公開含む）等	102	18.0
他県の手法	13	2.3
独自に設定	21	3.7
その他	154	27.2
未回答	258	

2) 検定法の考え方と標準的手法の確認

(1) 検定法の方向性（手法の簡素化）

既往の検定法に関する報告あるいはマニュアルの多くは、新発生の耐性菌の発生報告の過程で得た情報を示すものが多く、薬剤耐性であることを証明するための論拠、基準を示すことに重点が置かれ、多数の検体を調査すること、さらに、異なる種類の薬剤を同時に調べることを前提として組み立てられていない。このため、実際に薬剤感受性検定の事業を運用する際には、マニュアルも含めた既往の知見を基にしなが、可能な限り作業を選択し、最大限の情報を得る方向に検定作業の全体構成が調整される。

特に、検定すべき薬剤の多い灰色かび病菌においては、既往の研究蓄積に独自の研究結果を加えた検定システムが構築され（鈴木ら、2016）、運用例が報告されている（川上ら、2020）。同様に、生育が遅く、感受性検定が難しいとされるトマト葉かび病菌においては、精度の高い検定法が開発され（渡辺、2017）、今回のアンケートにおいても、これらの方法が全国で活用されている実態を知ることができた。

そして、 EC_{50} や MIC での評価ではなく、特定濃度での生育の「有無」や「程度（率）」で評価しようとする方向性があると判断される（図4）。また、既往の研究蓄積からその特定濃度が明らかでない薬剤も多いため、常用濃度で統一して検定している事例が散見される（表13）。先にも述べたが、培地検定や遺伝子診断は間接的に防除効果の低下（耐性菌の発生）を知ろうとするものであり、むしろ「生物検定における常用濃度」での検定は直接的に評価する手段であるが、「培地検定での常用濃度」で、正確な判定が下せるかの検証が必要である。常用濃度で生育が認められない場合に感受性と判定することは理解できるが、生育した場合に耐性菌とする場合には追加の検証が必要に思える。

情報が少ない薬剤・病原菌においては暫定的に判定する目安を設けて、リスク管理や適時の情報提供を行う必要があり、生産現場からもそれを求められている。このため、走りながらも検定の的確性を高めてゆく立ち位置と理解される。

なお、簡易検定法として、過去には薬剤含有培地に病斑上の孢子を塗布する方法、薬剤を染み込ませた楊枝を病果に突き刺す方法等々、現地でもできる簡易検定法が提案されているが、応用できる薬剤の種類が限定され、判定に苦慮するケースがあること、検定資材を自作することの煩雑さなどから、汎用的な技術にはなっていない。

その菌が耐性菌かどうかを重視するのではなく、地域あるいは園地の耐性菌の発生状況を知り、指導に活用するのが目的であれば、MIC や EC_{50} という評価基準は必ずしも必要とはならない。

参考となるのは、5、10年おきに主要な薬剤の感受性を継続調査している栃木県の例で、各濃度での生育抑制率の経年的変化から、感受性のおおまかな変化を知ろうとするものである。病害や薬剤の種類を問わない万能の手法ではないが、基礎的な情報として集積する価値のある情報であると考えられる。

耐性菌と感受性菌の比率を重視した議論があるが、比率よりも耐性菌による被害やその伝染源密度が問題である。それを知るにはサンプリングの考え方の方が重要で、これに関する検討や議論は少ない。いずれにせよ、培地検定での感受性検定が難しい薬剤が増えてきており、煩雑な培地検定が要求される方向にある。このため、最も確からしい情報が得られる生物検定で評価しようとする取り組みも目立ち始めている。

(2) 基本の確認

糸状菌病の基本的な培地検定の条件を表16に示す。これを基本とし、病原菌や薬剤の種類に応じて、最

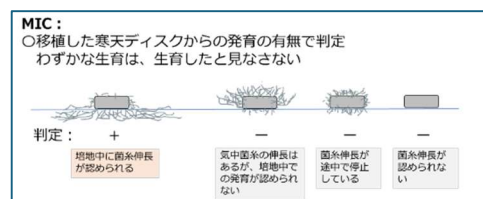
適化（簡易化）を図るものとして。また、検定を行うにあたり、実施後のアウトプットを想定し、必要とされる情報が得られるようデザインすること、中長期的な視点も持ちながら検定計画を立案することが求められる。

表16 糸状菌病の基本的な培地検定の条件

薬剤濃度 mg/L	案1 : 0, 0.01, (0.03), 0.1, (0.3), 1, 3, 10, 30, (100), (300) 又は 案2 : 0, 0.01, (0.05), 0.1, (0.5), 1, 5, 10, 50, (100), (500)	() 内の濃度は必要に応じて設置
検定培地	PDA (基本) YBA・YBG(SDHI), FGA(AP, KRI)	全般 (QoIにはPGまたはSHAM添加) SDHI, AP, KRI剤など
前培養培地	PDA, PDB, WA	
接種源	菌叢ディスク (PDA) 菌叢破砕液、菌叢ディスク (WA) 胞子 (ペーパーディスク法)	MICでの判定が容易な薬剤、EC ₅₀ を調査する場合 MICでの判定が難しい薬剤(SDHI剤ほか)、生育の遅い菌(葉かび病) 胞子形成が容易な菌 (<i>Botrytis</i>)
培養温度	20℃ (暗黒下) 25℃ (暗黒下) 28℃ (暗黒下)	灰色かび病、黒星病ほか その他の多くの菌 一部の中高温性の菌
判定基準	MIC (または生育の有無) EC ₅₀ (または生育阻止率、RG)	・過去の情報と比較し、感受性の低下を考察して判定 (暫定的な判定) MIC値が常用濃度より低ければ感受性菌 ・過去の情報と比較し、感受性の低下を考察して判定 (暫定的な判定) 常用濃度の生育阻止率が80~90%以上であれば感受性菌

※： 耐性菌であると判断するには、当該要件が過去も含めて生物検定で効果が減退していることが示されていること

- 注1) ベースラインより感受性が低下している場合→ 感受性低下菌
さらに、防除効果が低下が認められるものを→ 耐性菌
- 注2) 判定基準は薬剤および菌によって異なる
- 注3) 常用濃度で生育した場合の判定は薬剤によって異なる



A 感受性検定を行うにあたり

1 まずは目的の理解

① 多発要因の解析

気象、伝染源密度、耕種的要因、不適期防除、薬剤感受性の低下
その検討項目の一つとして、薬剤感受性の低下の有無を調査し、
対策の資料とする

② 状況の把握 (サーベイランス)

(定期的な状況調査)

感受性低下のリスクの高い病害と薬剤、あるいは、
かねてより薬剤感受性の低下事例がある病害について、
耐性菌の発生状況 (構成割合) を明らかにする

(継続的な兆候調査)

薬剤感受性低下が想定される病害について、
広域的な調査を継続的に行い、被害の顕在化を防止する

③ その他 (対策の検証、論文文化ほか)

○対策のための調査・解析であるから、実施後のアウトプットを想定

2 情報収集と検定計画の策定

① 情報収集 (背景の理解、適切な作業のため)

- ・現地での耕種概要、薬剤の使用実態、防除暦の内容
- ・農業者、指導者の見解
- ・既往の耐性菌発生状況、適切な検定方法
- ・代替剤の有無、他県での対応など

② 検定計画 (目的に応じた設計)

- ・サンプリングの規模 (精度、検定数、迅速性の何を優先)
- ・検定法の選定 (薬剤の作用特性等に応じる)
 - ▶ 少ない頻度の検出、比率を知る→数を優先
 - ▶ 初知見→精度、確かさを優先
 - ▶ まずは対応→迅速性を優先
- ・検定薬剤の選定 (疑義剤、基幹剤、代替剤)
- ・作業の時期 (情報発出の時期に応じる)
- ・薬効試験 (耐性菌未報告病害では、必須)
(ケースによっては、代替防除の試験を同時並行で行う必要がある)

3) 主要な病原菌の検定法

5種の病原菌(グループ) ①*Botrytis*、②*Venturia*、③*Fusarium*、④*Colletotrichum*、⑤*Cercospora*・*Corynespora* について、既往の研究を基に標準的な検定法として以下のように取りまとめた。

なお、それぞれで紹介する標準的手法は、既往の情報を基にしながらも、必ずしも各グループの全体に適応できるものではない点、留意願いたい。

①灰色かび病菌 *Botrytis cinerea*

本病菌は多犯性で、さらに植物遺体上で豊富に分生子を形成し、圃場内で速やかに世代を繰り返すため、薬剤耐性が発達しやすい病原菌である。さらに、圃場外も含めて伝染源が存在し、定期的な薬剤防除が必要なのはもとより、収穫物に直接被害を及ぼすことから、収穫期間が長い品目では、防除回数が多くなってしまふ。施設栽培では夜間に高湿度条件となる。このような病原菌の特性および薬剤防除回数の多さから、様々な薬剤に対する耐性菌の被害が顕在化している。

このため、薬剤耐性菌対策の必要性が高く、モニタリングやその対策の検証がすすめられている。その薬剤感受性検定は、薬剤を含む寒天培地上に菌叢ディスクを置き、その生育の状況から判定するのが常法であるが(木曾, 1994)、薬剤の種類によっては、①適切な培地の選択が必要なこと、②菌叢ディスクの代わりに孢子を含むペーパーディスクを用いる必要があること、③生物検定の併用が必要なことなどが明らかになっている。

そして、定期的なモニタリングを実施するため、それぞれの薬剤の判定基準が設定されるとともに、その工程管理、SOPが示され(鈴木ら, 2016; 川上ら, 2019)、これに倣った検定が実施されている(大森ら, 2019; 祖田ら, 2022; 浅野ら, 2024)。本章では、これをベースにしなが、一部に筆を入れて今日版の標準的検定法を示す(表①1)。

なお、FRACが、KRI、DMI、SDHI、QoI剤等の検定にマイクロプレートを用いる方法を提案しているが(<https://www.frac.info/knowledge-database/monitoring-methods>)、国内での実施例は少ない。また、生物検定でのみ評価しようとする試み(堀川ら, 2024)や、検定手法の改善(小島ら, 2021)が図られているところである。検定法には、それぞれ一長一短があり、改善しながら検定の目的に応じて使い分けていくのが、現実的であると考えられる。なお、感受性低下菌として判定された場合の指導上の対応や、実用上の薬効低下との関連について、継続的なモニタリングと協議が必要である。

本病菌の薬剤感受性低下に関与する遺伝子の変異は他の病原菌と同様に特定されつつあるが(表①2)、本病菌が様々な薬剤に耐性を示し、遺伝子の変異は多様なため、日常的なモニタリングの手段として活用するには、検出すべき変異を体系的に整理する必要がある。

表①-1 灰色かび病菌の標準的薬剤感受性検定法 (培地検定、生物検定)

薬剤系統	FRACコード	検定薬剤名	検定法	検定培地 検定植物	検定成分濃度 (mg/L)	培養温度 ℃	時間 日	判定基準 MICと菌叢生育阻止率の併用	参考文献
MBC	1*	ベノミル	菌叢ディスク法	PDA	1**	20	2	生育しない (感受性菌)	木曾・山田 (1998)
ジ ⁺ 加味 ⁺ ベンミド ⁺	2	イプロジオン	菌叢ディスク法	PDA	5	20	2	菌叢生育阻止率 <20% (高度耐性)、20-99% (中度耐性)	木曾・山田 (1998)
SDHI	7	ボスカリド/ペンチオピラド	ペーパーディスク法 (蒸留水)	YBA	1	20	7	生育あり (感受性低下菌)	鈴木ら(2016)
			ペーパーディスク法 (1/2PDB)	生物検定: キュウリ子葉	常用濃度	20	3	上記で生育した菌株を評価 病斑形成抑制率が60%未満 (耐性菌)	
AP	9	メバニピリム	ペーパーディスク法 (蒸留水)	FGA	3	20	4	生育あり (感受性低下菌)	高垣 (2000)
			ペーパーディスク法 (1/2PDB)	生物検定: キュウリ子葉	常用濃度	20	3	上記で生育した菌株を評価 病斑形成抑制率が60%未満 (耐性菌)	川上ら(2017)
Qoi	11	アゾキシストロピン	菌叢ディスク法	PDA*** (SHAM1mM)	1, 100	20	3	100mg/Lの生育阻止率<80% (耐性菌)	間佐古(2009)
		ピリベンカルブ	菌叢ディスク法	同上	同上	同上	同上		尾崎・小野(2016)
PP	12	フルジオキシニル	菌叢ディスク法	PDA	0.2	25	2	生育あり (感受性低下菌)	平田(2000)
			ペーパーディスク法 (1/2PDB)	生物検定: キュウリ子葉	常用濃度	20	3	上記で生育した菌株を評価 病斑形成抑制率が60%未満 (耐性菌)	川上ら(2017)
			ペーパーディスク法 (蒸留水)	PDA	0.2	20	2	生育あり (感受性低下菌)	小島・渡辺(2021)
KRI (SBIクラス III)	17	フェンヘキサミド	ペーパーディスク法 (蒸留水)	FGA	1	20	4	生育あり (感受性低下菌)	沢田(2001)
			ペーパーディスク法 (1/2PDB)	生物検定: キュウリ子葉	常用濃度	20	3	上記で生育した菌株を評価 病斑形成抑制率が60%未満 (耐性菌)	川上ら(2017)

* MBC剤とN-フェニルカーバメートの耐性菌が広く発生しているが、灰色かび病防除剤として使用されていない地域では、検定が行われないことが多い。

** 中度耐性を重視しない地域では、1mg/Lは検定されていない。

*** SHAMの代わりにPG (没食子酸n-プロピル) を用いても良い。

表①2 灰色かび病菌の薬剤感受性に関与する遺伝子の変異

薬剤	FRACコード	遺伝子	変異
MBC	1*	β -tub	E198A/G/K/V T351I F200Y
ジ ^o カホ ^o キ ^o イ ^o ト ^o	2	bos1	I365S I365N
QoI	11	cytb	G143A
SDHI	7	sdhB	P225F/L/T N220I H227R N230I H272L/R/V/Y I274V K283N
		sdhC	P80H A85G/V
		sdhD	H132R

参考資料 (web 上で閲覧できるものを中心に抜粋)

・検定手法

木曾 皓 (1994) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(6)野菜類灰色かび病菌. 植物防疫.

48(1):42-46. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/48_01_42.pdf

高垣真喜一ら (2000) アニリノピリミジン系殺菌剤の灰色かび病菌に対する感受性検定法. 植物防疫

54(4):153-157. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/54_04_23.pdf

鈴木啓史ら (2010) 灰色かび病菌のペンチオピラドとボスカリドに対する感受性検定法. 関西病虫研報

52:45-51. <https://doi.org/10.4165/kapps.52.45>

鈴木啓史ら (2016) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル 2016 (6) 野菜類灰色かび病菌—SDHI 剤 (培

地・生物検定法) 一. 植物防疫 70(9):610-615. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/70_09_40.pdf

尾崎剛一・小野友慈 (2016) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル 2016 (7) 野菜類灰色かび病—ピリ

ベンカルブ (培地・生物・遺伝子検定) 一. 植物防疫 70(9):616-620.

https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/70_09_46.pdf

小島一輝ら (2021) 灰色かび病菌のフルジオキシニル感受性検定法の改良と岐阜県内トマト産地におけ

る感受性の状況. 関西病虫害研究会報 63:109-113. <https://doi.org/10.4165/kapps.63.109>

川上 拓ら (2020) トマト灰色かび病菌の主要殺菌剤に対する耐性菌の発生動向. 植物防疫

74(6):333-337. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/74_06.pdf#page=17

・モニタリング事例

川上 拓ら (2019) トマト栽培圃場における灰色かび病菌の主要殺菌剤に対する耐性菌の発生動向. 関西

病虫研報 61:15-22. <https://doi.org/10.4165/kapps.61.15>

大森 雅子ら (2019) 栃木県におけるトマト, イチゴの灰色かび病菌の薬剤感受性. 関東東山病虫研報

66:7-11. <https://doi.org/10.11337/ktpps.2019.7>

祖田 嘉教ら (2022) 大分県におけるイチゴ灰色かび病菌の殺菌剤感受性. 九病害虫研報 68:36-43.

<https://doi.org/10.4241/kyubyochu.68.36>

堀川 英則ら (2024) 愛知県におけるトマト・イチゴ等灰色かび病菌の QoI・SDHI 剤等 16 殺菌剤に対する感受性検定結果. 関西病虫研報 66 : 37-45. <https://doi.org/10.4165/kapps.66.37>
浅野 峻介ら (2024) 奈良県での感受性検定に基づくトマト灰色かび病に対する有効な薬剤の探索. 関西病虫研報 66:11-16. <https://doi.org/10.4165/kapps.66.11>

② *Venturia* 属菌

ナシ黒星病菌 *Venturia nashicola*

リンゴ黒星病菌 *Venturia inaequalis*

果樹病害は、圃場に伝染源が残存しやすく、病害の発生が当年ばかりか次年度以降にも影響が残るため、高い水準の防除対策が求められる。さらに、草本植物よりも生育期間は長く、期間を通じて薬剤が散布されるため、薬剤散布回数が多くなる傾向にある。このため、耐性菌が惹起される機会は多く、その被害は慢性的となる。

こうしたなか、*Venturia* による黒星病は、MBC 剤（メチルベンゾイミダゾールカーバメート剤）耐性菌が発生して以降、様々な薬剤に対する耐性菌が顕在化し、時にこれによる大きな被害が生じている。使用できる薬剤が限定される方向にあり、継続的な薬剤感受性のモニタリングとマネジメントが必要な病害となっている。

黒星病菌は培地上での生育が遅いため、新鮮な病斑のある標本から（単孢子）分離して、雑菌の混入を防ぐ必要があり、分離しやすい標本（幼果や果梗）を採集したら、できるだけ早く分離作業に取り掛かる必要がある。

用いられている検定法について、表②1 に標準的手法として取りまとめた。

QoI 剤、MBC 剤は、他の野菜類病害の検定法と共通するが、DMI 剤については、以下示す理由から生物検定が信頼できる検定法とされている。すなわち、ナシ黒星病菌の場合、培地検定の結果と防除効果が一致しないケースがあり、さらに培養保存中に薬剤感受性が変化することが確認されている（石井・菊原, 2007）。このため、ナシの場合は、生物検定による評価が推奨されている（Ishii et al., 2021 ; 菊原ら, 2018）。一方、近年、国内で顕在化したリンゴの黒星病の DMI 耐性菌では、今のところ薬剤感受性検定と圃場での防除効果の結果がおおむね一致している。両者でこのような違いが生じる理由は定かではないが、今後、リンゴの場合もナシと同様状態となる可能性がある。

DMI 剤耐性は、①ステロール脱メチル化酵素遺伝子 CYP51 の突然変異、②本遺伝子及び酵素の過剰発現、③ABC トランスポーターの活性化による薬剤の細胞外排出であることが知られており、さらに耐性に係わる①の変異箇所は複数ある。一般に、いくつかの変異が重なりながら感受性の低下は徐々に進むとされており、ナシの場合は CYP51 の特定の変異のみで耐性の有無を評価できない状況にある。一方、近年、国内で顕在化したリンゴの黒星病菌では、CYP51A1 遺伝子の 133 番目の変異が関与しているケースが認められるが（Yaegashi et al., 2020）、海外では③によるケースが知られており、北海道では本変異を確認できない感受性低下菌が確認されている。将来、その他の変異が伴う耐性菌の発生も予想されることから、遺伝子診断で薬剤感受性を判定する際はこの点に留意する必要がある。

なお、ナシでは耐性菌のモニタリング手段として、薬剤を処理したポット苗を圃場に暴露し、発病の有

無から感受性の変化を捉えようとする試みも行われている（青木，2021）。健全苗を準備する手間は生じるものの、現地での迅速な意思決定をするための有力な手段になると期待される。

ナシ黒星病菌の場合、培地検定や遺伝子診断でのDMI 剤耐性菌の評価の困難さが指摘されている（Ishii et al., 2021）。いずれにせよ、黒星病菌の培地上での生育は遅く、培養日数を要することは、薬剤の種類を問わず判定の合理性に強く影響すると考えられる。

同様に菌叢生育の遅いトマト葉かび病菌では、菌叢破砕液を検定培地にスポットすることにより、各種薬剤の感受性が評価されている（渡辺，2016）。黒星病菌も同様に、湯谷ら（2020）がSDHI 剤であるペンチオピラドの薬剤感受性を調査する際、菌叢破砕液を検定培地にスポットし、MIC を測定している。菌糸片を破砕するという煩雑な手間は生じるものの、本法の黒星病菌での応用を探るべきであると考えられる。併せて、さらに簡便で適切な評価法の開発が望まれる。それまでは、最終的な判断は、生物検定をベースにせざるを得ない。

表②1 *Venturia*属菌（黒星病）の標準的薬剤感受性検定法（培地検定） *DMI, QoIについては手法の検証が必要

薬剤系統	FRACコード	検定薬剤名	検定法	検定培地	検定成分濃度* (mg/L)	培養温度 (°C)	時間 (日)	判定基準
MBC	1	ベノミル	MIC (菌叢ディスク)	PDA	1**	20	10	生育しない (感受性菌)
DMI***	3	ジフェノコナゾール (コエチリモル)	EC ₅₀ (菌叢ディスク)	PDA	0.01, (0.03), 0.1, (0.3), 1, (3), 10, (30), (100)	20	21	上記で生育した菌株で、生育しない (中度耐性)、生育あり (高度耐性)
		ミクロブタニル	RG (相対生育度)	PDA	0.3****	20	21-28	ジフェノコナゾール (EC ₅₀ : 0.1-0.2mg/L以上) 感受性低下菌 (数値は目安) ****
QoI	11	クレンキシムメチル	RG (相対生育度)	PDA† (PG4mM含)	100	20	21	RG30以下感受性、70以上耐性、その間は混在
SDHI	7	ペンチオピラド	MIC (菌叢破砕液) / 湯谷ら(2020)	YBG	0.1, 1, 5, 10, 50	20	10	10mg/L以上で生育 (感受性低下菌)

* 対照に薬剤無添加培地も用意する

** 中度耐性を重視しない地域では、1mg/Lは検定しない

*** *V. nashicola*はDMI剤の感受性を培地検定で評価することが難しいため、生物検定で判定する

**** 国内での検証事例はない

† 50°Cに冷えたPDAにPG (没食子酸n-プロピル) を4mMになるよう添加し、次いで薬剤を加える
DMSOに溶解しておく。PGの代わりにSHAMを使用してもよい。

EC₅₀を求める際の注釈点:

- ・初めて検定を行う際は、0, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, 100mg/Lで検定
- ・その後、必要な濃度の濃度を設定して省力化を図る(薬剤によっては40.003mg/Lを設定)
- ・培養温度と日数を厳守する
- ・阻止率をプロビット変換し、濃度を対数としてEC₅₀を求める
- ・感受性低下菌のEC₅₀値の目安は示されているが、研究者によって異なる点に留意する
- ・対照に、感受性種と耐性種を加えると判定の参考となる
- ・複数の菌株を併試し、感受性程度の分布を概観し、総合的に判断する

表② 黒星病菌 (*Venturia*) の標準的薬剤感受性検定法 (生物検定)

植物体	鉢植えのリンゴまたはナシ苗木 (感受性品種) 接種のタイミングにあわせて感染しやすいやわらかい新生葉が展開するように苗木を育成する 方法: 苗木を冷蔵保存あるいは強剪定により、展葉時期を遅らせる。遮光して栽培する。 接種後の保管スペースに応じて、草高を調整する
接種源	主に①と②が用いられている ① 圃地の罹病葉、幼果上の分生子を回収 (水に懸濁) し、直ちに接種源として使用* ② 圃地の罹病葉、幼果上の分生子を筆でシャーレ上に払落し、風乾後に凍結保存、要時に懸濁使用 ③ 分離した保存菌株を培養し、形成された分生子を使用 菌株によっては、培地上で分生子を形成しない
検定**	① 植物体に常用濃度の薬剤を噴霧し、完全に乾くのを待つ (対照区には水を噴霧する) 注: 当日時間がなければ翌日まで置く ② 分生子を水に懸濁し (約10 ⁵ 個/ml)、葉に噴霧接種する ③ 接種後は乾かないように、ポリ袋などで覆うか、高湿度条件の装置内に移す*** ④ 20~25℃で、1ないし2日間おいた後、雨除け条件で栽培する ⑤ 必要に応じ寒冷紗で遮光するとともに、栽培温度が高温にならないよう留意する ⑥ 接種28日後 (発病状況に応じて変更) に、発病調査を行い、無接種区との対比から防除効果を確認する
判定	① 病斑数/葉 (または、これに対応した発病度) から求めた防除価で、80以上あれば、感受性菌、50程度であれば中等度の耐性、30以下であれば高等度の耐性菌と判定する ② なお、薬剤の活性には薬剤間に差があることから、薬剤の種類に応じて、上記の判定を補正する

* ナシ黒星病の場合、自然発病標本から回収した分生子を遠心分離機で濃縮・再懸濁して接種することがある
濃縮したものは-80℃で数年間保存可能
** 必ず無接種区を設け、自然発病の有無を確認する

表③ *Venturia* 属菌の薬剤感受性関連遺伝子

菌種	系統	コード	遺伝子	変異*	EPPOcode	未記載はFRAC報告または参考資料参照
<i>Ventria</i> spp.	MBC	1	β2-tubulin	E198A/K	VENTIN	
				L240F	VENTIN	
				F200Y	VENTIN	
DMI	3	CYP51A1	Y133F	VENTIN	Yaegashi et al. 2020	森ら2022
			CYP51A1の過剰発現	VENTIN	Schnabel and Jones 2001	
QoI	11	Cytochrome b	G143A	VENTIN		
			F129L	VENTIN		
			G143R	VENTIN		

* 太文字は国内も含め主体的な変異

注) *V. nashicola*のCYP51の変異についてはIshiiら(2021)を参照

参考資料 (web 上で閲覧できるものを中心に選定)

(検定法)

石井英夫 (1994) 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. 植物防疫 48(10):442-444. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/48_10_38.pdf

石井英夫 (2007) DMI 剤耐性菌をめぐって. 植物防疫 61(8):407-409.
https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/61_08_01.pdf

石井英夫・菊原賢次 (2007) ナシ黒星病菌の DMI 剤耐性. 植物防疫 61(8):426-429.
https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/61_08_20.pdf

平野泰志ら (2016) DMI 剤耐性遺伝子(CYP51)の解析と機能性を活用したナシ黒星病発生リスクの低減技術. 埼玉農総研報 15:1-7. <https://www.pref.saitama.lg.jp/documents/32295/15-1-1.pdf>

湯谷 智ら (2020) ペンチオピラドのリンゴ黒星病菌に対する感受性検定法. 植物防疫 74(7):412-417. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/74_07.pdf#page=40

(モニタリング)

富田恭範ら (2011) 茨城県におけるナシ黒星病に対する薬剤防除. 植物防疫 65(2):131-133.

https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/65_02_61.pdf

雪田金助 (2017) 青森県由来のリンゴ黒星病菌にみられた DMI 剤, QoI 剤および MBC 剤への感受性低下. 北日本病虫研報 68:102-107. https://doi.org/10.11455/kitanihon.2017.68_102

赤平知也ら (2017) 青森県における DMI 剤耐性リンゴ黒星病菌の発生と防除対策. 植物防疫 71(9):604-609. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/71_09.pdf#page=44

平山和幸・雪田金助 (2018) 青森県で発生したリンゴ黒星病の QoI 剤耐性菌とその分布. 植物防疫 72(6):364-368. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/72_06.pdf#page=22

菊原賢次 (2018) 福岡県におけるナシ黒星病 DMI 剤感受性低下と防除対策. 植物防疫 72(6):369-372. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/72_06.pdf#page=27

菊原賢次ら (2018) ナシ赤星病の多発生と DMI 剤の効果減退との関連—福岡県八女地域での後ろ向きコホート研究—. 日植病報 84(2):98-104. <https://doi.org/10.3186/jjphytopath.84.98>

青木 由 (2021) 千葉県における DMI 剤耐性ナシ黒星病菌の発生リスク軽減に向けた取り組み. 植物防疫 75(10):535-541. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/75_10.pdf#page=13

武田知明ら (2023) 和歌山県における QoI 剤耐性ウメ黒星病の発生. 植物防疫 77(6):332-335. (web 未公開)

森 万菜実・山名利一 (2022) 北海道におけるリンゴ黒星病菌 DMI 剤耐性菌の発生. 北日本病虫研報 73:76-80. https://doi.org/10.11455/kitanihon.2022.73_76

森 万菜実 (2023) 北海道で採取したリンゴ黒星病のピリベンカルブ水和剤に対する感受性. 北日本病虫研報 74:32-34. https://doi.org/10.11455/kitanihon.2023.74_32

(薬剤感受性遺伝子)

Schnabel, G. and Jones, A. L. (2001) The 14a-demethylase (CYP51A1) gene is overexpressed in *Venturia inaequalis*. *Phytopathology* 91:102-110.

<https://doi.org/10.1094/PHTO.2001.91.1.102>

Wesley, M. W. et al. (2016) Proposal for a unified nomenclature for target-site mutations associated with resistance to fungicides. *Pest Manag Sci.* 72(8):1449-59.

<https://doi.org/10.1002/ps.4301>

Yaegashi, H. et al. (2020) Point mutation in CYP51A1 of *Venturia inaequalis* is associated with low sensitivity to sterol demethylation inhibitors. *JGPP* 86(4):245-249.

<https://doi.org/10.1007/s10327-020-00924-4>

Ishii, H. et al. (2021) DMI-Fungicide Resistance in *Venturia nashicola*, the Causal Agent of Asian Pear Scab—How Reliable Are Mycelial Growth Tests in Culture? *Microorganisms* 9:1377.

<https://doi.org/10.3390/microorganisms9071377>

Oliver, R. et al. (2024) The 2023 update of target site mutations associated with resistance to fungicides and a web-tool to assist label designations. *J Plant Dis Prot* 131:1265-1270.

<https://doi.org/10.1007/s41348-024-00872-7>

③ *Fusarium* 属菌

イネばか苗病菌 *Fusarium fujikuroi*

ムギ類赤かび病菌 *Gibberella zeae*, *Monographella nivalis*

ムギ類紅色雪腐病菌 *Monographella nivalis* (*Microdochium majus*, *Microdochium nivale*)

ラッキョウ乾腐病菌 *F. oxysporum* f.sp. *allii*

チューリップ球根腐敗病菌 *F. oxysporum* f.sp. *tulipae*

上記、*Fusarium* 病で実用上の薬剤感受性の低下が顕在化している薬剤は、MBC 剤（メチルベンゾイミダゾールカーバメート剤）、ステロールの脱メチル化阻害剤である DMI 剤であり、今後は QoI 剤の耐性菌の発生も懸念されるところである。

イネや球根植物では、種子や球根の消毒に用いられており、ムギ類ではかび毒対策の必要性から、薬剤には高い防除効果が要求される。いずれも代替剤に乏しく、耐性菌の発生を防ぐための取り組みが重要である。なお、種子・球根消毒では、薬剤の処理回数は少ないものの、高濃度の薬剤が長期間残存する条件に病原菌が曝される。また、これらが主要な伝染源である場合、耐性菌であることが生存上の優位性を保つ重要な形質となっている。このため、一般に耐性菌が発生したときの耐性菌比率は高い傾向にある。一方、赤かび病菌群の中でも、種子伝染の重要性があまり高くない *F. graminearum* sensu stricto の場合は、種子伝染性病害のように耐性菌比率は高くないと推定される。ただし、海外では *F. graminearum* の DMI 感受性が徐々に低下している事例があり (Anderson et al., 2020)、継続的なモニタリングが必要な状況にある。

広く用いられている検定法について、表③ 1 に標準的手法として取りまとめた。MBC 剤、DMI 剤、QoI 剤ともに他の病原菌での検定法と同様であるが、以下のような特徴がある。

一般に、海外も含めて DMI 剤は EC₅₀ で感受性を評価することが多いが、わが国ではイネばか苗病菌の感受性を MIC で評価する場合が多い。近年、顕在化してきたばか苗病菌のプロクロラズ剤耐性菌の場合、MIC 値での感受性の識別が可能であるとされる。その他の DMI 剤でも、2 峰性にはならずとも、特定の濃度以上を耐性菌として扱われており、再現性が課題である。また、MIC で評価する場合、検定濃度の段階設定の違いによって、検定した薬剤の濃度に違いが生じる (表③ 2)。また、細かな濃度段階の設定も必要になるため、簡便化するため、生育の有無で判定するものとした (表③ 1)。

今後、防除効果との関係と照らし合わせながら、必要に応じて EC₅₀ での評価も行い、データを蓄積する必要がある。また、海外のジャーナルに成果を投稿する場合は、これが求められる可能性がある。

なお、DMI 剤耐性に係わる CYP51 の変異は、イネばか苗病菌のプロクロラズ剤感受性に CYP51 パラログ (CYP51A, CYP51B, CYP51C) のうち CYP51B の変異が強く関与している。一方、これらパラログの変異箇所によって、各種 DMI 剤に対する耐性の程度が異なることが示されており、DMI 剤には交叉耐性は認められるものの、薬剤によって効果に差が生じる要因として、これら遺伝子の変異の多様性とその耐性への寄与度 (正と負) が異なるためと推察される。生物の変異は常に多様化していくことから、遺伝子診断で耐性菌を判別する際には、このことに留意する必要がある。

なお、イネばか苗病を分離する際、非病原性株が分離されることが多いので、病原性を生物検定や病原性遺伝子の解析により確認する必要がある。

表③1 *Fusarium*属 菌の標準的薬剤感受性検定法 (培地検定、菌叢ディスク法)

菌種	薬剤系統	FRACコード	検定薬剤名	検定法	検定培地	検定成分濃度* (mg/L)	培養温度 °C	時間 日	
各菌共通	DMI	3	フロクロラス、ペフラ	EC ₅₀ (菌叢ディスク) MIC (菌叢ディスク)	PDA	0.01, (0.03), 0.1, (0.3), 1, (3), 10, (30), (100)	20/25	5	
			ゾエート、トリフルミ ゾール、プロピコナ ゾール、テブコナゾー ルほか						
<i>Fusarium fujikuroi</i>	DMI	3	フロクロラス・ペフラ ゾエート	MIC、生育有無 (菌叢ディスク)	PDA	5	25	5	
※新たなDMI耐性菌の報告や国際誌に投稿する際は、EC ₅₀ の調査も行う									
<i>Monographella nivalis</i> = <i>Microdochium nivale</i>	QoI	11	クレソキシムメチル (またはアソキシスト ロピン)	MIC (菌叢ディスク)	PDA +PG***	1	20	5	
<i>F. oxysporum</i>	MBC	1	ベノミル	MIC (菌叢ディスク)	PDA	10, 100	25	3	
<i>Monographella nivalis</i>							20	3	
<i>F. graminearum</i> speices complex							20	3	

* 対照に薬剤無添加培地も用意する

** 複数菌株を検定して全体から耐性菌の発生状況を判断する

必要に応じて生物検定で防除効果低下の有無を確認する

*** 50℃に冷えたPDAにPG (没食子酸n-プロピル) を2mMになるよう添加し、次いで薬剤を加えるDMSOに溶解しておく。PGの代わりにSHAMを使用してもよい。

EC₅₀を求める際の注意点： 複数の菌株を試し、感受性程度の分布やベースラインの情報を基に、総合的に判断する

その他、表②1の脚注を参照

表③② DMI剤含有培地におけるイネばか苗病菌の生育の有無

薬剤	事例	感受性	薬剤濃度mg/L							
			0.78	1.56	3.13	5	6.25	10	12.5	25
ペフラゾエート	A県	S	+	-	-	-	-	-	-	-
		R	+	+	+	-	+	-	-	-
	B県	MR	+	+	+	-	-	-	-	-
プロクロラズ	C県	S	+	-	-	-	-	-	-	-
		MR?	+	+	±	-	-	-	-	-
		R	+	+	+	-	+	-	±	-
	D県	S	+	+	-	-	-	-	-	-
		MR?	+	+	±	-	-	-	-	-
		R	+	+	+	+	+	±	±	-
E県	S	+	+	+	-	-	-	-	-	
	R	+	+	+	-	+	-	±	-	
MIC値	D県		1.56	3.13	5	6.25	10	12.5	20	>20
	その他		1.56	3.13	6.25		12.5		25	50
			S	S・MR	MR	R	R	R	R	

注) S:感受性、MR:感受性低下菌、R:耐性菌 (MR?は当方の判断で設定)

表③③ *Fusarium*属菌の薬剤感受性関連遺伝子

菌種	系統	コード	遺伝子	変異*	備考
<i>F. fujikuroi</i>	MBC	1	β2-tubulin	E198K/V F200Y	Li et al. 2022
<i>F. graminearum</i> species complex			β2-tubulin	F167Y F200Y E198K/L/Q	Komura et al. 2018
<i>Fusarium fujikuroi</i>	DMI	3	CYP51B	S312T F511S F523S	Zhang et al. 2020 Gao et al. 2022 上記に加え、この変異があるとHR Fangjing et al. 2023
			CYP51AとBの過剰発現		Zhang et al. 2020
<i>F. graminearum</i> species complex			CYP51B	Y123H Y137H	Zhao et al. 2021 tebuconazole Qianet et al. 2018
<i>Monographella nivalis</i>	QoI	11	Cytochrome b	G143A	Walker et al. 2009 FRAC

* 太文字は国内も含め主体的な変異

参考資料 (web 上で閲覧できるものを中心に選定)

(検定法)

入江和己・井上幸次 (1993) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(3)イネばか苗病菌. 植物防疫 47(8):376-380. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/47_08_34.pdf

(モニタリング)

小澤 徹 (2016) (2) QoI 剤耐性赤かび病菌 (*Microdochium nivale*). 植物防疫 70(8):537-541. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/70_08_39.pdf

松本純一ら (2022) 兵庫県におけるイネばか苗病のペフラゾエートに対する感受性低下. 関西病虫研報 64 : 108-111. <https://doi.org/10.4165/kapps.64.108>

Nakajima, K. et al. (2024) Monitoring of thiophanate-methyl-resistant strains of the fungi causing *Fusarium* head blight in Mie Prefecture, Japan. 関西病虫害研究会報 66 : 20-26. <https://doi.org/10.4165/kapps.66.20>

前原 瞳ら(2022) 福島県におけるイネばか苗病菌のプロクロラズ剤に対する感受性低下. 北日本病虫研報 73:61-64. https://doi.org/10.11455/kitanihon.2022.73_61

森谷真紀子ら(2022) 山形県におけるイネばか苗病菌のプロクロラズ剤感受性. 北日本病虫研報 73 : 65-

69. https://doi.org/10.11455/kitanihon.2022.73_65

藤晋一 (2019) イネばか苗病の増加要因とその対策について. 植物防疫 73(9):556-561.

https://www.jppe.or.jp/archive/pdf/73_09.pdf#page=24

(感受性遺伝子)

Tateishi, H. and Suga, H. (2015) Species composition, gibberellin production and sensitivity to ipconazole of the *Fusarium fujikuroi* species complex isolates obtained before and after its launch. 40(3):124-129. <https://doi.org/10.1584/jpestics.D14-083>

Mair, W. et al. (2016) Proposal for a unified nomenclature for target-site mutations associated with resistance to fungicides. Pest Manag Sci. 72(8):1449-59.

<https://doi.org/10.1002/ps.4301>

Komura, R. et al. (2018) Simultaneous detection of benzimidazole-resistant strains of *Fusarium* head blight using the loop-mediated isothermal amplification-fluorescent loop primer method. JGPP 84(4):247-253. <https://doi.org/10.1007/s10327-018-0788-1>

Li, F. J. et al. (2022) Molecular Diagnosis of Thiophanate-Methyl-Resistant Strains of *Fusarium fujikuroi* in Japan. Plant Dis. 106:634-640. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-21-1501-RE>

Oliver, R. et al. (2024) The 2023 update of target site mutations associated with resistance to fungicides and a web-tool to assist label designations. J Plant Dis Prot 131:1265-1270.

<https://doi.org/10.1007/s41348-024-00872-7>

(その他)

Anderson, N.R. et al. (2020) Sensitivity of *Fusarium graminearum* to Metconazole and Tebuconazole Fungicides Before and After Widespread Use in Wheat in the United States. Plant Health Progress 21:85-90. <https://doi.org/10.1094/PHP-11-19-0083-RS>

① 炭疽病菌、晩腐病菌 *Colletotrichum*, *Glomerella*, *Discula*

炭疽病菌は、被子植物、裸子植物、草本、木本を問わず多くの種子植物で寄生が確認され、それに応ずるように多くの種の炭疽病菌が記録されている。そして、分子系統学的な解析により、種複合体が整理されて種が細分化 (佐藤, 2022) されるにつれ、植物との共進化の早い段階からその生存環境、あるいは栽培化による新たな環境に適応し、生き方を変えてきてきた糸状菌であることが想像できる。本病菌は雨滴伝染するため、露地栽培での発生が多く、中でも果実被害の損害が大きい。一方では、植物体に潜在感染していることも多く、被害が生じない限り、その存在に気付かないことも多い。これは、本病を対象としない薬剤の散布にも遭遇していることを示す。

薬剤感受性の程度は、種によって異なることがあり (Yokosawa et al., 2017; Ishii et al., 2022; Liang et al., 2022; Chen et al., 2022)、これが耐性菌の発生頻度にも影響すると予想される。薬剤では、MBC 剤や QoI 剤の耐性菌の発生が確認されており、果樹では防除暦の策定に苦慮する状況にある。また、海外では *C. siamense* や *C. truncatum*, *C. fructicola* などで DMI 剤あるいは SDHI 剤の感受性低下が確認されており、その他の薬剤も含めたマネジメントが求められる。なお、近年では形態で種を識別できない状

況にあり、いずれ既往の情報の整理と再評価が必要になると考えられる。

広く用いられている検定法について、表④1に標準的手法として取りまとめた。耐性に関する遺伝子も明らかになりつつあるが（表④2）、他の菌と同様にDMI剤には多様な変異が関与していると想定される。

表④1 炭疽菌の標準的薬剤感受性検定法（培地検定）

薬剤系統	FRACコード	検定薬剤名	検定法	検定培地	検定成分濃度* (mg/L)	培養温度 ℃	時間 日	判定基準
MBC	1	ベノミル	MIC (菌叢ディスク)	PDA	100	25	4	MIC100mg/Lをこえる = 生育あり (耐性菌)
QoI	11	アゾキシストロピン	相対生育度RG・ MIC (菌叢ディスク)	PDA*** (PG6mM含)	100	25	4	MIC100mg/Lをこえる = 生育あり (耐性菌)
DMI***	3	テブコナゾール ほか	EC ₅₀ (菌叢ディスク)	PDA	0.01, (0.03), 0.1, (0.3), 1, (3), 10, (30), (100)	25	5-7	菌の種と薬剤の組合せにもよるが、 EC ₅₀ は0.03~3mg/Lの間で比較することが多い
SDHI***	7	ベンチオピラド ほか	MIC (菌叢破砕液・菌叢 ディスク)	YBA	0.1, 1, 5, 10, 50	25	4	仮：5mg/L以上で生育 (感受性低下菌)
			EC ₅₀ (菌叢ディスク)	PDA YBA	0.01, (0.03), 0.1, (0.3), 1, (3), 10, (30), (100)	25	5-7	菌の種と薬剤の組合せにもよるが、 EC ₅₀ は0.03~3mg/Lの間で比較することが多い

* 対照に薬剤無添加培地も用意する

** SHAM1000 mg/Lでもよいが、AOX剤の種類と濃度により生育阻止率が異なる点、留意する

*** DMI、SDHIは、その系統及び菌の種によってその感受性が大きく異なる。検定法は仮に設定（検証必要）

EC₅₀を求める際の注意点：複数の菌株を試し、感受性程度の分布やベースラインの情報を基に、総合的に判断する

その他、表②1の脚注を参照

表④2 *Colletotrichum* 菌の薬剤感受性関連遺伝子

系統	コード	遺伝子	変異	EPPOcode		
MBC	1	β-tubulin	E198A	COLLDU	COLLSM	
			F200Y	COLLDU		
QoI	11	CytB	G143A	COLLGR	COLLDU	
			F129L	COLLDU		
DMI	3	Cyp51A	V46I	COLLSM		
			D115V	COLLSM		
			P163S	COLLSM		
			S164Y	COLLSM		
			R306K	COLLSM		
			P339T	COLLSM		
			E397D	COLLSM		
			S400N	COLLSM		
			Cyp51B	R266H	COLLSM	
			SDHI	7	SdhB	S208Y

参考資料 (web 上で閲覧できるものを中心に選定)

(検定法)

- 楠 幹生・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):179-184.
https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/48_04_33.pdf
- 西島卓也 (1995) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(20)チャ炭そ病菌・輪斑病菌・赤葉枯病菌. 植物防疫 49(8):349-352. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/49_08_39.pdf
- 稲田 稔 (2010) イチゴ炭疽病菌の薬剤感受性検定法と耐性菌の発生状況. 植物防疫 64(12):790-793. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/64_12_12.pdf
- 渡邊久能 (2017) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル 2016 (16) ナシ炭疽病-QoI 剤 (生物・培地検定) -. 植物防疫 71(5):327-330.
https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/71_05.pdf#page=43
- 近藤賢一 (2017) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル 2016 (20) ブドウ晩腐病菌-QoI 剤 (培地・生物・遺伝子検定法) -. 植物防疫 71(7):487-491.
https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/71_07.pdf#page=53
- 赤平知也 (2017) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル 2016 (21) リンゴ炭疽病菌-QoI 剤 (培地検定・生物検定) -. 植物防疫 71(8):547-550.
https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/71_08.pdf#page=49
- Ishii, H. et al. (2022) Sensitivity to fungicides in isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* and *C. acutatum* species complexes and efficacy against anthracnose diseases. Pesticide Biochemistry and Physiology 182:105049. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2022.105049>
- Furuta, A. et al. (2024) First report of fludioxonil resistance isolate of *Colletotrichum fructicola* emerging on strawberry in Japan. J Gen Plant Pathol 90:180-186.
<https://doi.org/10.1007/s10327-024-01174-4>

(モニタリング)

- 赤平知也ら (2016) リンゴ炭疽病に対する各種殺菌剤の効果. 北日本病虫研報 67:140-145.

- https://doi.org/10.11455/kitanihon.2016.67_140 <https://doi.org/10.11337/ktpps.69.38>
野口真弓 (2015) 佐賀県における QoI 剤耐性ナシ炭疽病菌の発生とその対策. 植物防疫 69(8):494-497. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/69_08_26.pdf
- 澤岬哲也 (2015) 沖縄県における QoI 剤耐性マンゴー炭疽病菌の発生. 植物防疫 69(8):503-506. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/69_08_35.pdf
- Yokosawa, S. et al. (2017) Phylogenetic relationship and fungicide sensitivity of members of the *Colletotrichum gloeosporioides* species complex from apple. JGPP 83(5):291-298. <https://doi.org/10.1007/s10327-017-0732-9>
- 井上麻里子ら (2022) 茨城県のナシ炭疽病罹病葉から分離された *Colletotrichum gloeosporioides* 種複合体の種構成および QoI 剤に対する薬剤感受性. 関東東山病虫研報 69 : 38-40. <https://doi.org/10.11337/ktpps.69.38>
- (その他)**
- 佐藤豊三 (2022) 植物炭疽病菌 *Colletotrichum* species. MAFF 微生物遺伝資源利用マニュアル (45):1-51. <https://www.gene.affrc.go.jp/dl/pdf/manual/micro-45.pdf>
- Chen, W., Wei, L., Hou, R. et al. (2022). Sterol demethylation inhibitor fungicide resistance in *Colletotrichum siamense* from chili is caused by mutations in CYP51A and CYP51B. Phytopathol Res 4, 41. <https://doi.org/10.1186/s42483-022-00146-w>

⑤ *Cercospora*・*Corynespora* 属菌

Cercospora

テンサイ褐斑病菌、ダイズ紫斑病菌、アスパラガス褐斑病菌ほか

Corynespora

キュウリ褐斑病菌、ダイズ褐色輪紋病菌ほか

Cercospora 属菌、*Corynespora* 属菌ともに、淡褐色の細長い多胞性の分生子を形成する子嚢菌である点で類似するが、菌学的には離れた場所に位置にする。また、前者に属する種の宿主範囲は狭いが、*Corynespora cassiicola* の宿主範囲は広く、多様な系統を含むことが知られている (Dixon et al., 2009)。前者は宿主と密接な関係を築き、共進化してきたと推定され、多くが種子伝染する。後者は、野外で双子葉類を中心に広く侵し、植生に応じて寄生性などの適応性を高めてきたものと推察され、野外での胞子の生残能力は高いほうである。このように両者は、生き方などの性質の異なる菌であるが、ここではまとめて標準的な感受性検定法を示す (表⑤1)。

両菌とも、MBC 剤、QoI 剤の耐性菌の発生が知られており、変異の箇所も共通する。また、国内では *Cercospora* の DMI 剤や *Corynespora* の SDHI 剤の耐性菌の報告があり、海外では両者ともに耐性菌が報告されている。関与する遺伝的変異も明らかにされつつあり (表⑤2)、DMI 耐性には CYP51 遺伝子の過剰発現が関与する場合があることも報告されている。

Cercospora は培地上で胞子の形成がうまくいかないことが多いため、生物検定には胞子の代わりに菌叢破碎液が使用されることがある。

表⑤ 1 *Cercospora*、*Corynespora* 菌の標準的薬剤感受性検定法 (培地検定)

薬剤系統	FRACコード	検定薬剤名	検定法	検定培地 検定植物	検定成分濃度* (mg/L)	培養温度 時間 ℃ 日	判定基準
MBC	1	ベノミル	MIC (菌叢ディスク)	PDA	50	25 4	MIC50mg/Lをこえる = 生育あり (耐性菌)
QoI	11	アゾキシストロピン	MIC (菌叢ディスク)	PDA*** (PG2-4mM含む)	100	25 4	MIC100mg/Lをこえる = 生育あり (耐性菌)
DMI <i>Cercospora</i>	3	ジフェノコナゾール	EC ₅₀ (菌叢ディスク)	PDA	0.01, (0.03), 0.1, (0.3), 1, (3), 10, (30), (100)	25 5	<i>Cer. beticola</i> は1mg/Lを超えたものを耐性菌としている。DMI剤の種類が異なると基準も異なる Cor. <i>Cassicola</i> は30mg/Lで生育 (耐性)
SDHI <i>Corynespora</i>	7	ベンチオピラド	MIC (菌叢破砕液・菌叢ディスク) EC ₅₀ (菌叢ディスク)	YBA	0.01, (0.03), 0.1, (0.3), 1, (3), 10, (30), (100)	25 5	病原菌、薬剤の種類によって大きく異なる

既往のDMI剤は*Corynespora*、SDHI剤は*Cercospora* に対する活性が低いものが多い (普遍性を示すものではない)

* 対照に薬剤無添加培地も用意する

** 中度耐性を重視しない地域では、1mg/Lは検定しない

*** 50℃に冷えたPDAにPG (没食子酸-n-プロピル) を2mMになるよう添加し、次いで薬剤を加える
DMSOに溶解しておく。PGの代わりにSHAMを使用してもよい。

EC₅₀を求める際の注意点：複数の菌株を供試し、感受性程度の分布やベースラインの情報を基に、総合的に判断する

その他、表②1の脚注を参照

表⑤ 2 *Cercospora*、*Corynespora* 菌の薬剤感受性関連遺伝子

系統	コード	遺伝子	変異	EPPCode		
				<i>Cercospora</i>	<i>Corynespora</i>	
MBC	1	β-tubulin	E198A	CERCBE		
				CERCKI		
				F167Y		
				F200Y	CORYCA	
QoI	11	CytB	G143A	CERCSC	CORYCA	
				CERCKI		
				CERCBE		
DMI	3	Cyp51B	L144F	CERCBE		
				E297K	CERCBE	
				I330T	CERCBE	
				P384S	CERCBE	
				I387M	CERCBE	
SDHI	7	SdhB	I280V		CORYCA	
				H278R/Y	CORYCA	
				SdhC	S73P	CORYCA
				SdhD	S89P	CORYCA
				G109V	CORYCA	

参考資料 (web 上で閲覧できるものを中心に選定)

Corynespora

挟間 渉・中澤靖彦・大塚範夫 (1994) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(10)野菜類褐斑病菌(黒枯病菌)・ウリ類うどんこ病菌. 植物防疫 48(6):267-272.

https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/48_06_33.pdf

宮本拓也 (2011) ボスカリド剤耐性キュウリ褐斑病菌の茨城県における発生状況とその特徴. 植物防疫 65(1):23-27. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/65_01_23.pdf

角田佳則・西見勝臣 (2020) 早期落葉の原因となるダイズ褐色輪紋病の発生生態と防除対策. 植物防疫 74(12):692-699. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/74_12.pdf#page=20

近藤誠 (2012) 薬剤耐性キュウリ褐斑病菌に対する各種薬剤の残効期間. 北日本病虫研報 63 : 57-59. https://doi.org/10.11455/kitanohon.2012.63_57

Cercospora

築尾嘉章・谷井昭夫・堀田治邦・福西 努 (1995) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(19)テンサイ褐斑病菌・マメ類灰色かび病菌・ダイズ紫斑病菌. 植物防疫 49(5):208-214.

https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/49_05_36.pdf

清水基滋 (2007) テンサイ褐斑病菌の DMI 剤耐性. 植物防疫 61(8):421-425.

https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/61_08_15.pdf

大橋俊子ら (2013) 茨城県におけるダイズ紫斑病菌の薬剤感受性. 関東病虫研報 60 : 23-27.

<https://doi.org/10.11337/ktpps.2013.23>

栢森美如 (2019) 北海道における薬剤耐性テンサイ褐斑病菌について. 植物防疫 73(8):478-485.

https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/73_08.pdf#page=12

Matsuzaki, Y. et al. (2021) Microtiter plate test using liquid medium is an alternative method for monitoring methyltetraprole sensitivity in *Cercospora beticola*. Pest Management Science 77:1226-1234. <https://doi.org/10.1002/ps.6133>

齋藤隆明ら (2022) 秋田県におけるアスパラガス褐斑病の発生実態と薬剤耐性菌の発生状況. 植物防疫 76(10):548-552. (web 未公開)

齋藤隆明ら (2022) 秋田県における QoI 剤耐性アスパラガス褐斑病菌の発生. 北日本病虫研報 73 : 19-22. https://doi.org/10.11455/kitanohon.2022.73_19

板橋 建ら (2023) KASP 法によるダイズ紫斑病菌のアゾキシストロピン感受性に関する一塩基多型の検出. 北日本病虫研報 74 : 14-20. https://doi.org/10.11455/kitanohon.2023.74_14

殺菌剤感受性検定の基礎とノウハウ

ver. 0.5

本資料は、日本植物病理学会殺菌剤耐性菌研究会の協力を得て作成しました。

基礎とノウハウ ～自次～

・解析であるから、実施後のアウトプットを想定
適切な作業のため
 ① 目的設計
 ② 必要サンプリングや、検定法が異なる
 ③ 分析に応じたサンプリング

検定、病原性の確認について

A 感受性検定を行うにあたり

1 **まずは目的の理解**

① **多発原因の解析**
 気象、伝染源、耕種的原因、不適期防除、薬剤感受性の低下
 その検討項目の一つとして、薬剤感受性の低下の有無を調査し、
 対策の資料とする

② **状況の把握 (サーベイランス)**
 (定期的な状況調査)
 感受性低下のリスクの高い病害と薬剤、あるいは、
 かねてより薬剤感受性の低下事例がある病害について、
 病害の発生状況 (構成割合) を明らかにする
 (継続的な状況調査)
 薬剤感受性低下が想定される病害について、
 広域的な調査を継続的にし、被害の顕在化を防止する
 ③ その他 (対策の検証、論文化ほか)
対策のための調査 - 解析であるから、実施後のアウトプットを想定

2 情報収集と検定計画の策定

① **情報収集 (前提の把握、適切な作業のため)**
 ・現場での耕種履歴、薬剤の使用実態、防除策の内容
 ・農業者、指導者の見解
 ・既往の病害発生状況、適切な検定方法
 ・代替剤の有無、虫害との混生など

② **検定計画 (目的に応じた設計)**
 ・サンプリングの規模 (精度、検定数、迅速性の優先)
 ・検定法の選定 (薬剤の作用特性等に応じる)
 ・検定法による検定結果の比較、比率を知る→数を優先
 ・初期時→迅速性、後かきを優先
 ・まずは対応→迅速性を優先
 ・検定薬剤の選定 (殺菌剤、殺菌剤、代替剤)
 ・作業の時間 (情報収集の時期に合わせる)
 ・実施記録 (耐性菌未報告病害では、必須)
 (ケースによっては、代替剤の試験を同時に行う必要がある)

3 検定のサンプリングと検定計画

① **サンプリングの考え方 (目的に応じたサンプリング)**

a. 地域、面積における耐性比率を知りたい場合
 ※ 耐性比率≠伝染源
 ※ 比率は使用履歴で左右される
 ○ 比率を示すのに必要な菌株数
 ※ 耐性菌検出後の確認が必要

b. 地域における新たな耐性発生を知りたい場合
 ※ 検定薬剤、防除策などの参考資料となる
 ○ 偏りなく多点検定
 ○ サンプル数
 ※ 過去の調査との対比性を考慮
 ※ まずはエビデンスを取得、同時に代替剤実用
 調査・対比調査 → 広域調査
 ○ 段階的、2つの病害を説明

4 薬剤感受性検定法と用いる資材、調整法

※ 薬剤と病原菌の種類によって、適切な評価法は異なる

1) **主な評価法**

a **最小発育阻止濃度 (MIC)**
 増地 (植物) 上で菌の生育が阻止される最少の濃度のこと
 ※必ずしも生育を完全に抑制するわけではない

b **50%生育阻止濃度 (EC50)**
 増地 (植物) 上で菌の生育量が50%阻まれる濃度のこと
 (菌量一定の濃度を調べる。検定結果の比較が容易なため、
 菌量の異なるEC50値を参考に、それを生育阻止濃度を決定し、検定する)

c **菌量生育阻止率**
 特定の濃度の薬剤を添加した増地における生育阻止率 (対比無添加増地)
 (菌量一定の濃度を調べる。生育阻止率から耐性を調べる濃度を決定し、
 その濃度のみで検定する。ただし、その濃度の検定は、**菌量の異なる場合**)

d **遺伝子診断**
 薬剤耐性に係る遺伝子の変異の有無を検出 (PCR-RFLP、シーケンスほか)
 (特定されている遺伝子変異のみの変異を検出できない、生物学的性質を把握できない。)

5 検定増地の準備

オートクレーブ後の増地を、固まる前に5℃程度のオートバスで恒温槽で保温
 ・オートクレーブ後の濃度の増地は、実用したり、ウオーターバスに入れる前に確認がされる
 ・長期の保管、保管は増地が生育することによる

増地の温度が55℃程度 (手で持ち続けられる熱さ) になったら、**増地を調整**
 ・オートクレーブ後の濃度の増地は、実用したり、ウオーターバスに入れる前に確認がされる
 ・できるだけ同じ量の増地を注ぐ
 ・シャーレは必ず平準に調整する (ゆがみか、増地は生育が育たないことがある)

平板が固まるまで静置 (蓋を少し開けて増地表面を乾かし、シャーレ内に水滴が残らないようにする)

寒天が固まり次第、シャーレに油性マジックで濃度を記し、重ねておく

8 検定法の使い分け

～地域からは、様々なニーズがある～

例1) 今すぐ知りたい (被害がとまらない)

① まずは、現場の薬剤の使用状況を把握するとともに、栽培上の発生要因を抽出し、耕種的原因と、耐性の発生を考慮した対応を提案する
 ② 簡便な感受性検定法があれば、直ちに実施する
 (特定濃度の増地検定、遺伝子診断など)

同時に、栽培の情報をもとに防除策の体系化を提案する
 ・多発原因を解析し、栽培環境の改善など、**耕種的な対策に誘導**
 長く薬剤を使っていくための、**防除体系に誘導**

③-2 感受性低下が確認された場合
 ・必要に応じて検定数を増して適切な検定法で評価
 広域的な調査、代替剤も含めた感受性検定
 耕種的な対策の強化と耐性菌対策を考慮する
 ※ **関係者の継続的な情報、意思の共有**
 ※ **その場での対策とならないよう、中長期的に防除体系を構築**

8 計画、検定

MIC:
 ○移植した寒天ディスクからの発育の有無で判定

EC50、菌量生育阻止率:
 ○生育した菌の径と増地を測定し、その平均値から菌量ディスク径を除いた数値を算出

8 計画、検定

図1 糸状菌のMIC検定

増地をそれぞれ
0 µg/mL
5 µg/mL
100 µg/mL

培養

コルポ
ポーター
で打抜く

菌量生育阻止率を算出する

8 計画、検定

図3 糸状菌のEC50 菌量生育阻止率

増地をそれぞれ
0 µg/mL
5 µg/mL
50 µg/mL

培養

コルポ
ポーター
で打抜く

菌量生育阻止率を算出する

(Memo) クリンヘンチ作業をする?

耐性菌検定では、大量のシャーレを使用するため、保有するクリンヘンチのサイズが狭い、作業性が悪くなる。一方、消毒の実験室であれば、実験用、器具の消毒 (ガスバーナー、70%エタノール) を兼ねて行えば、クリンヘンチが不要なことがある。むしろ、これらを出さないクリンヘンチを用いてもコウタさる。

菌の遺伝子と最新の作業用クリンヘンチでどうかが異なるが、大きなクリンヘンチがない、それが作業の制約になる場合、開放系で他の作業が可能になるよ**実験室の環境を整える**。

例)
 汚染源 (土壌、植物体等) を扱う部屋と検定作業室の区分け、専用上置きの使用、日常的な清掃、消毒、除湿、空気清浄機の利用、エアコンフィルターの即時清掃、作業中の火気厳禁、エタノール換気調整、入室制など。

C 生物検定の実験

1 **菌材の調定**
 ・菌主菌が取り込まれる菌主を調定する
 ・多発原因の病害 (気色かび病など) では、狭いやすい野菜類 (キュウリ、インゲン) で利用できる

2 **菌材の維持**
 ・絶対寄生菌 (べと病、うどんこ病、さび病) の場合、植物での維持が必要
 ・空気伝染する病害 (うどんこ病) は、菌材の量を増やして育てる工夫が必要
 ・系統の維持が難しい場合、野外の発病株から菌材採取を促進する
 この場合、接種源は1つだけであるという認識で、結果を解析

3 **検定に用いる植物材料**
 ・健全な植物体を用意するための清潔な栽培環境
 ・実用しやすい生育スペースの (木) の準備

4 **接種源**
 ・菌子の菌量、乾燥剤 (人工培養または自然発育のもの)
 ・増地の菌子形成が難しい場合は、増地菌体を菌液として、菌糸片を接種

D 遺伝子診断の実験

① 既往の報告に基づき、各薬剤の感受性低下に関連する遺伝子領域を増幅し、以下の方法のどちらかを用いて変異の有無を確認
 ・増幅産物をシーケンスし、変異を特定 (下記、参考)
 ・既往の変異を参考にPCR-RFLPより、特定の増幅産物の有無を確認
 (特定の増幅産物の増幅による薬剤感受性の低下では、qRT-PCRが適用される)
 ※以上は、菌量検定、検定数、対象遺伝子の特性に応じて手法を選択する

(参考) 標的遺伝子のシーケンスから、変異箇所を特定するためのFRASSTツール
 FRASST → Fungicide Resistance Alignment Sequence Tool (<https://www.frasst.com.au/>)
 Oliver, R. et al. (2024) The 2023 update of target site mutations associated with resistance to fungicides and a web-tool to assist label designations. J Plant Dis Prot 131:1265-1270. <https://doi.org/10.1007/s11336-024-00872-2>
 Wesley Marc W. et al. (2016) Proposal for a unified nomenclature for target-site mutations associated with resistance to fungicides. Pest Manag Sci 72(8):1449-59. doi: 10.1002/ps.4301.

図4 検定の基礎とノウハウ (一部抜粋)

5. 考察

既往の薬剤感受性検定マニュアルは、1990年代に策定されたものから現代に至るまで実施した時代、作物、研究者によって少しずつ手法、条件、考え方は異なってきている。また、最初に耐性菌が顕在化した薬剤・病害・品目において、地域の実験室が集中的に研究した成果をまとめたものであり、個々の分離株が耐性菌であるか否かを証明することに重点がおかれ、地域における発生状況を広く知ることを目的とした

ものではない。このため、実際に調査を運用する際には、これを参考にしつつ、それぞれの判断で必要に応じた簡素化が図られている。

また、耐性菌の発生が未確認の場合、研究蓄積が少ない場合など、手法や判定基準を独自に設定せざるを得ない。このため、「可能な限り適切であろう方法」を設定して、実施されている状況が伺えた。論文情報を収集する限りにおいては、多様な薬剤に応じた検定法を取り入れながら、学術性を担保するため、従前の解析法に加えて遺伝子解析も行い、結果を補強する作業が行われていた。多様化、高度化する方向にあるように思えたが、アンケートの結果からは、工夫を重ねてそれぞれの機関が簡素化を図っている状況が明らかになった。検定濃度も1濃度ないし2濃度で実施している例が多く(表13)、すでに多くの場合、簡易法で検定されていると言える。

ただし、その一部には検定法の見直しを要するものもあり、それぞれの工夫ではなく、関係者が協議して「確からしい」手法に収斂していくことが必要であると考えられた。

本稿では、標準的手法として示したが、手法の比較検証を行っていないため、十分な信頼性が確保されているとは言えないし、まだまだ検証や簡略化が足りないとの意見が予想される。大幅な改変は可能だが、従来の継続性が無ければ過去と今を知ることができない。残された課題は多いが、その議論の題材となれば良いと考える。

植物防疫事業を行うなかで、本課題に費やせる資源(人と時間、資金)は限られており、その限られた資源でそれぞれの役割を果たすための資料として、本稿が活用されることを期待したい。

6. 今後の課題

- ・対照とする菌株(感受性菌、耐性菌)の一元的な保存・供給体制の整備が必要である。
- ・暫定的に基準を設置しているケースがあり、実施機関によってその基準が異なるため、目安となる数値を明らかにする必要がある。
- ・培養温度、培地の種類、その銘柄、接種源が検定結果に及ぼす影響を明らかにする必要がある。
- ・菌叢生育阻止率で評価できる基準を薬剤ごとに設定する必要がある。
- ・SDHI剤など、薬剤によっては検定法そのものの再検討が必要である。
- ・以上の課題について、調査研究する事業を行う必要がある。

7. 要約

検定手法は、論文やマニュアル等を参考にしながらも、各機関が過去に得た知見と照らし合わせながら、独自の基準で設定することが多いため、様々な検定法が派生している状況が明らかになった。一部には、その意味が十分に理解されないまま、実施されているケースもあると予想される。実施されている検定法は、工夫して簡便化が図られているが、多様な基準で判定されていることから、これを比較検討する機会が必要であると判断された。いずれにせよ、耐性菌かどうかは生物検定でない判断できず、培地検定や遺伝子診断はその手間を省くための間接的な代替手段であること念頭におき、判定を行う。検定の基本的な検定法を改めて示すとともに、関連情報を利用しやすいスタイルで取りまとめた。主要な病害の標準的な検定法を取りまとめるとともに、その課題を示した。

8. 謝辞

今回の報告書をまとめるにあたって、アンケート調査にご協力いただいた都道府県関係者、文献情報並びに終始有益なご助言を下された日本植物病理学会殺菌剤耐性菌研究会の皆様に厚くお礼申し上げます。

「殺虫剤」

1. 殺虫剤における背景と目的

植物防疫法の改正（令和5年4月1日施行）に合わせて定められた植物防疫事業実施要綱（令和5年3月24日付け4消安第7238号消費・安全局長通知）第4に基づき、都道府県は病害虫防除所等に地域の実情に応じた薬剤抵抗性の発達の有無のモニタリングを行わせ、農業者団体等の関係者に情報共有するものとされている。

しかし、当該モニタリングに必要な薬剤感受性検定については検定手法が明示されておらず、各都道府県で異なる手法で検定が実施されていることから、検定結果の比較や集約が困難となっている。

そこで、都道府県で行われている薬剤感受性検定の実態調査と文献調査に基づき、主要害虫の標準的薬剤感受性検定法を策定して、令和7年度以降に実施する発生予察事業の調査実施基準に取り入れることにより、地域における主要害虫の薬剤感受性の低下を迅速に把握するための予察精度の向上に資することとした。

2. 調査方法

(1) アンケート調査により、都道府県で過去5カ年以内（可能なら過去10カ年以内）に実施された薬剤感受性検定の結果を取りまとめ、検定手法や傾向を分析した。

(2) 令和3年度に全国で行われた757件の薬剤感受性検定において、検定件数が多かった下記5種の害虫について、(1)のアンケート調査の結果及び文献調査に基づき、発生予察事業への適用が推奨される検定手法を整理した。

- ・ネギアザミウマ (1) *
- ・ハスモンヨトウ (2)
- ・ネギハモグリバエ (3)
- ・ミカンハダニ (5)
- ・タバココナジラミ (8)

* (1) 内の数字は令和3年度に薬剤感受性検定件数が多かった順位。多様な害虫種を調査対象とするために、アザミウマ類のミカンキイロアザミウマ (4)、ミナミキイロアザミウマ (6)、ヒラズハナアザミウマ (7) は対象から外した。

3. 専門有識者による中間検討

とりまとめにあたって、以下の要領で開催した中間検討会にて、検定基準の見直しなど、内容の修正を行った。また、標準的手法を示すことはよいが、検定を行う目的によって適切な手法は変わるため、検定手法の適用範囲の提示や、実証試験の必要性を指摘された。

開催日時：2025年1月9日（木）13時～16時

開催場所：一般社団法人日本植物防疫協会 本部会議室（オンライン併用）

参加者：

外部評価委員：北海道立総合研究機構上川農業試験場 栢森美如*、日本農薬株式会社 寺本健*、静岡県

農林技術研究所 増井伸一*

有識者：奈良県病害虫防除所 井村岳男*、和歌山県農業試験場 岡本崇*

オブザーバー：J IRAC (CLJapan) / エフエムシー・ケミカルズ株式会社 島克弥

受託者：(一社) 日本植物防疫協会 富田恭範、高梨祐明、野田隆志*、舟木勇樹、守川俊幸*、富田俊介

*はオンラインにて参加

4. 調査結果

(1) 薬剤感受性検定に関する都道府県へのアンケート調査

アンケートの実施に当たっては、過去5カ年以内(可能なら10カ年以内)に実施された薬剤感受性検定の手法について、下記の項目について回答を求めた。

1. 基本項目(実施年、作物名、害虫名、対象薬剤名、検定の目的等)
2. 生物検定(供試薬剤名、処理方法、発育ステージ、検定濃度、判定日数、判定基準等)
3. 遺伝子診断(実施していれば)
4. サンプル単位、採集から検定までの世代数
5. 検定法の参考にした文献情報
6. 検定結果について公表可能な資料、成績書、論文等

アンケートへの協力依頼は全47都道府県の病害虫防除担当者に対して行われ、殺虫剤に関しては34都道府県から回答を得た。すべての回答データは電子ファイル(薬剤感受性検定手法アンケート(殺虫剤).xlsx)に害虫グループ別に取りまとめて報告する。回答のあった害虫について、検定実施報告のあった都道府県、実施件数、検定法の種類を表1に取りまとめた。以下に害虫グループごとに概要を報告する。

イネウンカ類では、トビイロウンカについて、佐賀 長崎 熊本 鹿児島 の4県から報告があり、延べ検定件数は107件であった。検定手法は微量局所用法が主であったが、鹿児島県では粉剤の試験にベルジャーダスター法が用いられており、佐賀県、兵庫県ではIGR剤の検定に稲葉鞘浸漬法が用いられていた。ヒメトビウンカについては、茨城、神奈川、兵庫、香川、長崎、熊本の6県から報告があり、延べ検定件数は80件であった。検定手法は微量局所用法を中心に、食草浸漬法(水稻苗、コムギ苗)、虫体浸漬法、粒剤処理苗投与(水稻苗)も用いられていた。

斑点米カメムシ類では、アカスジカスミカメについて、秋田、新潟、静岡、滋賀の4県から報告があり、延べ検定件数は26件であった。検定手法は、微量局所施用、虫体散布、虫体浸漬、葉片浸漬(コムギ苗)が用いられていた。アカヒゲホソミドリカスミカメについては、秋田、山形、新潟、滋賀の4県から報告があり、延べ検定件数は22件であった。検定手法は、微量局所施用、虫体散布、葉身浸漬(コムギ苗)が用いられていた。近年被害地域が拡大しているイネカメムシについては、茨城、愛知、三重、愛媛の4県から報告があり、延べ検定件数は43件であった。検定手法は、虫体浸漬、稲体散布、食餌浸漬法が用いられていた。その他、クモヘリカメムシ(茨城、滋賀、鹿児島)の3県から計20件)、トゲシラホシカメムシとホソハリカメムシ(いずれも滋賀でそれぞれ5件)について報告があった。その他のカメムシ類として、ウスモンミドリカスミカメ(千葉から8件)、チャバネアオカメムシ(神奈川から14件)、ヒメナガカメ

ムシ（佐賀から13件）、ミナミアオカメムシ（茨城から3件）の報告があった。

アブラムシ類では、モモアカアブラムシについて、宮城、栃木、高知の3県から報告があり、延べ検定件数は44件であった。検定手法は、ナス葉あるいはパプリカ葉を使った葉片浸漬法が用いられていた。ワタアブラムシについては、宮城、岐阜、奈良、和歌山、愛媛、鹿児島県の6県から報告があり、延べ検定件数は93件であった。検定手法は、葉片浸漬法（パプリカ葉、キュウリ葉、イチゴ葉、インゲン葉）、幼苗浸漬法（キュウリ、スイカ）の他、イチゴ苗、トレニア苗を使った散布法も用いられていた。その他、イチゴケナガアブラムシ（栃木から23件）、ダイコンアブラムシ（愛媛から5件）の報告があった。

コナジラミ類では、タバココナジラミについて、栃木、千葉、愛知、三重、奈良、和歌山、香川、愛媛、高知、福岡、佐賀、熊本、鹿児島県の13県から報告があり、延べ検定件数は301件であった。検定手法は、キャベツ、インゲン、ナス、またはキクの葉を使った葉片浸漬法（インゲン葉を使ったプラスチック管瓶法を含む）が用いられていた。オンシツコナジラミについては、宮城、千葉、奈良、愛媛の4県から報告があり、延べ検定件数は41件であった。検定手法は、インゲン葉を使った葉片浸漬法（プラスチック管瓶法を含む）が用いられていた。

カイガラムシ類では、クワシロカイガラムシについて、静岡、和歌山の2県から報告があり、延べ検定件数は16件であった。検定手法は茶葉を用いた葉片浸漬法、ばれいしょ塊茎浸漬法が用いられていた。その他、ミカンコナカイガラムシ（奈良、沖縄から計29件）、ナスコナカイガラムシ（高知、鹿児島から計24件）、クロテンコナカイガラムシ（沖縄から15件）についての報告があり、リーフディスクへの散布や茎葉浸漬法が用いられていた。

アザミウマ類では、ネギアザミウマについて、宮城、千葉、神奈川、三重、滋賀、大阪、兵庫、奈良、和歌山、香川、高知、佐賀の12府県から報告があり、延べ検定件数は242件であった。検定手法は、インゲン葉を使った葉片浸漬法（プラスチック管瓶法を含む）を主として、その他にソラマメを用いた催芽種子浸漬やインゲンリーフディスクへの散布法などが用いられていた。ミカンキイロアザミウマについては、宮城、栃木、愛知、大阪、奈良、広島、香川、高知、愛媛、佐賀、鹿児島県の11府県から延べ265件、ミナミキイロアザミウマについては、栃木、神奈川、大阪、奈良、香川、愛媛、高知、佐賀、鹿児島県の9府県から延べ230件、ヒラズハナアザミウマについては、宮城、栃木、千葉、神奈川、奈良、愛媛、熊本、鹿児島県の8県から延べ170件の報告があった。検定手法は、ネギアザミウマと同様、葉片浸漬法（インゲン葉）を主として、その他に葉片浸漬（ソラマメ葉、ピーマン葉、キク葉）、催芽種子浸漬（ソラマメ）、虫体・葉片浸漬（インゲン葉）、ドライフィルム法などが用いられていた。チャノキイロアザミウマについては、奈良、和歌山、広島、高知、佐賀、長崎、鹿児島、沖縄の8県から延べ139件の報告があった。検定手法は、葉片浸漬（カンキツ葉、マンゴー葉、茶葉、トルコギキョウ葉）、インゲンリーフディスクへの散布、イチゴの寄生葉への散布、虫体浸漬、餌混和（シヨ糖）などが用いられていた。その他、ハナアザミウマ（和歌山、広島、香川から計29件）、クロゲハナアザミウマ（佐賀、鹿児島から計21件）、モトジロアザミウマ（高知から12件）、ワサビクダアザミウマ（静岡から13件）、*Megalurothrips usitatus*（沖縄から5件）について報告があった。

ハダニ類では、ナミハダニについて、青森、宮城、茨城、栃木、千葉、岐阜、静岡、愛知、三重、奈良、愛媛、高知、福岡、佐賀、長崎、鹿児島県の16県から延べ593件、カンザワハダニについて、茨城、静岡、奈良、愛媛、佐賀の5県から延べ127件の報告があった。検定手法は、寄生葉片への散布が最も多く、次

いで葉片浸漬法（風乾後接種）が多かった。用いる葉はほとんどがインゲン葉であった。ミカンハダニについては、和歌山、広島、香川、佐賀、長崎、鹿児島 の 6 県から報告があり、延べ検定件数は 218 件であった。検定手法は、主にカンキツ葉を使った葉片浸漬法で、虫体散布法も用いられていた。その他、リンゴハダニ（青森、茨城から計 35 件）、ミナミヒメハダニ（鹿児島から 16 件）、ハダニ類（熊本から 8 件）の報告があった。

ネギハモグリバエについては香川県から報告があり、延べ検定件数は 58 件、検定手法はすべて葉片浸漬法（ネギ葉）であった。

チョウ目害虫では、ハスモンヨトウについては、茨城、神奈川、岐阜、奈良、広島、香川、愛媛、高知、福岡、佐賀、鹿児島 の 11 県から報告があり、延べ検定件数は 347 件であった。コナガについては、宮城、秋田、茨城、神奈川、愛知、大阪、奈良、広島、香川、愛媛、長崎、鹿児島 の 12 府県から報告があり、延べ検定件数は 277 件であった。シロイチモジヨトウについては、茨城、愛知、大阪、兵庫、奈良、和歌山、広島、香川、愛媛、高知、佐賀、鹿児島 の 12 府県から報告があり、延べ検定件数は 216 件であった。オオタバコガについては、青森、茨城、神奈川、奈良 の 4 県から報告があり、延べ検定件数は 81 件であった。検定手法は、いずれの種もキャベツを用いた葉片浸漬が多かったが、その他に種によってコマツナ、チンゲンサイ、ダイズ、サトイモなども用いられていた。また、ハスモンヨトウ、シロイチモジヨトウ、オオタバコガでは人工飼料を浸漬または人工飼料に添加する方法も用いられていた。この他の種として、ツマジロクサヨトウ（愛媛、鹿児島から計 30 件）、ウラナミシジミ（和歌山から 46 件）、チャノコカクモンハマキ（静岡から 26 件）、チャハマキ（静岡から 17 件）、ワタヘリクロノメイガ（奈良から 22 件）、イラクサギンウワバ（愛媛から 21 件）、アワノメイガ（香川から 19 件）、クワゴマダラヒトリ（佐賀から 14 件）、タバコガ（茨城から 10 件）、ジャガイモガ（広島から 4 件）、ヨトウガ（奈良から 8 件）、イネヨトウ（鹿児島から 1 件）、コブノメイガ（鹿児島から 6 件）について報告があった。

コウチュウ目の害虫では、イネドロオイムシについて北海道から 1 件の報告があり、局所施用法が用いられていた。その他、タバコノミハムシ（奈良から 31 件）、キスジノミハムシ（奈良から 20 件）、ダイコンハムシ（奈良から 18 件）について報告があった。

その他の害虫では、サビダニ類（愛知、和歌山、高知から計 24 件）、ネダニ類（千葉、石川、高知から計 65 件）、ハクサイダニ（香川から 27 件）、チャノミドリヒメヨコバイ（静岡から 40 件）、アカハネオンブバッタ（大阪から 9 件）、オカダンゴムシ（広島から 6 件）、チュウゴクナシキジラミ（佐賀から 6 件）、マンゴーハフクレタマバエ（沖縄から 15 件）等、各地域で問題となっている害虫について報告があった。

表1. 薬剤感受性検定に関するアンケートで回答があった害虫の検定件数、検定法			
害虫名	実施報告のあった都道府県	延べ検定件数	検定法
(イネウカ類)			
トビイロウカ	佐賀、長崎、熊本、鹿児島	107	微量局所施用、稲葉鞘浸漬法、ベルジャードスター法
ヒメトビウカ	茨城、神奈川、兵庫、香川、長崎、熊本	80	微量局所施用、食草浸漬法(水稻苗、コムギ苗)、虫体浸漬法、粒剤処理苗投与(水稻苗)
(斑点米カメムシ類)			
アカスジカスミカメ	秋田、新潟、静岡、滋賀	26	微量局所施用、虫体散布、虫体浸漬、葉身浸漬(コムギ苗)
アカヒゲホソミドリカスミカメ	秋田、山形、新潟、滋賀	22	微量局所施用、虫体散布、葉身浸漬(コムギ苗)
イネカメムシ	茨城、愛知、三重、愛媛	43	虫体浸漬、稲穂散布、食餌浸漬
クモヘリカメムシ	茨城、滋賀、鹿児島	20	虫体浸漬、葉片浸漬(水稻)、虫体散布
トゲシラホシカメムシ	滋賀	5	虫体散布
ホソハリカメムシ	滋賀	5	虫体散布
(その他カメムシ類)			
ウスモンミドリカスミカメ	千葉	8	葉片浸漬(レタス葉)
チャバネアオカメムシ	神奈川	14	虫体浸漬、食餌浸漬(落花生)
ヒメナガカメムシ	佐賀	13	幼果浸漬(いちご果実)
ミナミアオカメムシ	茨城	3	虫体浸漬
(アブラムシ類)			
モモアカアブラムシ	宮城、栃木、高知	44	葉片浸漬(ナス葉・パブリカ葉)
ワタアブラムシ	宮城、岐阜、奈良、和歌山、愛媛、鹿児島	93	葉片浸漬(パブリカ葉・キュウリ葉・イチゴ葉・インゲン葉)、幼苗浸漬(キュウリ・スイカ)、イチゴ苗、トレニア苗への散布
イチゴケナガアブラムシ	栃木	23	虫体浸漬、食餌浸漬
ダイコンアブラムシ	愛媛	5	葉片浸漬(キャベツ葉)
(コナジラミ類)			
タバココナジラミ	栃木、千葉、愛知、三重、奈良、和歌山、香川、愛媛、高知、福岡、佐賀、熊本、鹿児島	301	葉片浸漬(インゲン葉、キャベツ葉、キク葉、ナス葉、タバコ葉、ミニトマト葉)
オンシツコナジラミ	宮城、千葉、奈良、愛媛	41	葉片浸漬(インゲン葉)
(カイガラムシ類)			
クワシロカイガラムシ	静岡、和歌山	16	茎葉浸漬(茶)、ジャガイモ塊茎浸漬
コナカイガラムシ類	高知	7	回転式散布塔(インゲン葉)
ミカンコナカイガラムシ	奈良、沖縄	29	葉片散布(インゲン葉)
ナスコナカイガラムシ	高知、鹿児島	24	回転式散布塔(インゲン葉)、葉片浸漬(インゲン葉)
クロテンコナカイガラムシ	沖縄	15	葉片散布(インゲン葉)?
(アザミウマ類)			
ネギアザミウマ	宮城、千葉、神奈川、三重、滋賀、大阪、兵庫、奈良、和歌山、香川、高知、佐賀	242	葉片浸漬(インゲン葉・ソラマメ葉)、葉片浸漬(インゲン葉)+ドライフィルム、プラスチック管瓶法(インゲン葉)、簡易薬剤感受性検定キット、催芽種子浸漬(ソラマメ)、回転式散布塔(インゲンリーフディスク)
ミカンキイロアザミウマ	宮城、栃木、愛知、大阪、奈良、広島、香川、高知、愛媛、佐賀、鹿児島	265	葉片浸漬(インゲン葉・ソラマメ葉・キク葉)、プラスチック管瓶法(インゲン葉)、ソラマメ葉片浸漬法(柴尾(2013))、葉片浸漬(インゲン葉)+ドライフィルム、虫体・葉片散布法、回転式散布塔(インゲンリーフディスク)、ドライフィルム法
ミナミキイロアザミウマ	栃木、神奈川、大阪、奈良、香川、愛媛、高知、佐賀、鹿児島	230	葉片浸漬(インゲン葉・ナス葉)、回転式散布塔(インゲンリーフディスク)、ソラマメ葉片浸漬法(柴尾(2013))、プラスチック管瓶法(インゲン)、葉片浸漬(キュウリ葉)+ドライフィルム
ヒラズハナアザミウマ	宮城、栃木、千葉、神奈川、奈良、愛媛、熊本、鹿児島	170	葉片浸漬(インゲン葉・ソラマメ葉、ピーマン葉)、プラスチック管瓶法(インゲン葉)、催芽種子浸漬(ソラマメ)、虫体・葉片散布(インゲン葉)
チャノキイロアザミウマ	奈良、和歌山、広島、高知、佐賀、長崎、鹿児島、沖縄	139	葉片浸漬(カンキツ、茶、マンゴー、トルコギキョウ)、回転式散布塔(インゲンリーフディスク)、寄生葉に散布(イチゴ)、虫体浸漬、餌混和(シヨ糖)
ハナアザミウマ	和歌山、広島、香川	29	葉片浸漬(カンキツ葉・インゲン葉)、葉片浸漬(インゲン葉)+ドライフィルム
クロゲハナアザミウマ	佐賀、鹿児島	21	葉片浸漬(インゲン葉)
モトジロアザミウマ	高知	12	回転式散布塔(インゲンリーフディスク)
ワサビクダアザミウマ	静岡	13	改変葉片浸漬(ワサビ葉)
<i>Megalurothrips usitatus</i>	沖縄	5	不明(間接法)

表1. (続き)			
害虫名	実施報告のあった都道府県	延べ検定 件数	検定法
(ハダニ類)			
ナミハダニ (赤色型を含む)	青森、宮城、茨城、栃木、千葉、岐阜、静岡、愛知、三重、奈良、愛媛、高知、福岡、佐賀、長崎、鹿児島	593	葉片虫体散布 (インゲン葉、いちご葉)、葉片散布 (インゲン葉)、葉片浸漬 (インゲン葉)
カンザワハダニ	茨城、静岡、奈良、愛媛、佐賀	127	葉片虫体散布 (インゲン葉、いちご葉)、葉片浸漬、葉片卵浸漬、虫体散布
ミカンハダニ	和歌山、広島、香川、佐賀、長崎、鹿児島	218	葉片浸漬 (カンキツ葉)、虫体散布
リンゴハダニ	青森、茨城	35	葉片散布 (モモ葉)、虫体散布
ミナミヒメハダニ	鹿児島	16	虫体散布
ハダニ類	神奈川、熊本	15	葉片浸漬 (インゲン)、リーフディスク (インゲン葉)
(ハモグリバエ類)			
ネギハモグリバエ	香川	58	宿主植物浸漬 (ネギ葉)
(チョウ目害虫)			
ハスモンヨトウ	茨城、神奈川、岐阜、奈良、広島、香川、愛媛、高知、福岡、佐賀、鹿児島	347	葉片浸漬 (キャベツ葉・ダイズ葉・サトイモ・ナス葉)、人口飼料混入法
コナガ	宮城、秋田、茨城、神奈川、愛知、大阪、奈良、広島、香川、愛媛、長崎、鹿児島	277	葉片浸漬 (キャベツ葉、パクチョイ葉・コマツナ葉・チンゲンサイ葉・ケール葉)、虫体散布法
シロイチモジヨトウ	茨城、愛知、大阪、兵庫、奈良、和歌山、広島、香川、愛媛、高知、佐賀、鹿児島	216	葉片浸漬 (キャベツ葉・コマツナ葉・パクチョイ葉・ダイズ葉)、人口飼料混入法
オオタバコガ	青森、茨城、神奈川、奈良	81	葉片浸漬 (キャベツ葉・インゲン葉)、人口飼料混入法
ツマジロクサヨトウ	愛媛、鹿児島	30	葉片浸漬 (トウモロコシ葉)
ウラナミシジミ	和歌山	46	虫体浸漬、虫体散布、食餌浸漬 (サヤエンドウ)
チャノコカクモンハマキ	静岡	26	茎葉浸漬 (チャ)
チャハマキ	静岡	17	茎葉浸漬 (チャ)
ワタヘリクロノメイガ	奈良	22	葉片浸漬 (キュウリ葉)、インセクタ輪切り法
イラクサギンウワバ	愛媛	21	葉片浸漬 (キャベツ葉)
アワノメイガ	香川	19	苗浸漬 (トウモロコシ)
クワゴマダラヒトリ	佐賀	14	虫体浸漬、食餌浸漬 (カラスノエンドウ)
タバコガ	茨城	10	葉片浸漬 (キャベツ葉)
ジャガイモガ	広島	4	食餌浸漬 (ジャガイモ)
ヨトウガ	奈良	8	インセクタ輪切り法
イネヨトウ	鹿児島	1	食餌浸漬
コブノメイガ	鹿児島	6	食餌浸漬
(コウチュウ目)			
イネドロオイムシ	北海道	1	微量局所施用 (0.5 μL/頭)
タバコノミハムシ	奈良	31	食餌浸漬法 (ナス葉)
キスジノミハムシ	奈良	20	葉片浸漬 (コマツナ葉)
ダイコンハムシ	奈良	18	葉片浸漬 (ダイコン葉)
(その他の害虫)			
シンサビダニ	愛知、高知	19	葉片虫体散布 (オオバ葉)、葉片虫体浸漬 (オオバ葉)
ミカンサビダニ	和歌山	5	葉片浸漬 (カンキツ葉)
ネダニ類	石川	15	球根浸漬 (フリージア)
ロビンネダニ	千葉、高知	50	人工飼料浸漬、ろ紙に処理
ネダニモドキの一種	高知	12	ろ紙に処理
ハクサイダニ	香川	27	葉片浸漬 (ミズナ葉)
チャノミドリヒメヨコバイ	静岡	40	茎葉浸漬 (チャ)
アカハネオンブバッタ	大阪	9	葉片浸漬 (キャベツ葉、チンゲンサイ葉)
オカダンゴムシ	広島	6	食餌浸漬 (ニンジン根)、虫体浸漬
チュウゴクナシキジラミ	佐賀	6	ナン新梢に散布後接種
マンゴーハフクレタマバエ	沖縄	15	不明 (直接法)

(2) 発生予察事業への適用が想定される薬剤感受性検定手法

令和3年度に薬剤感受性検定件数が多かった5種の害虫種（上記調査方法で取り上げた種）について、指定有害動植物を対象としたアンケート回答を取りまとめ（表2～表6）、併せて文献情報から薬剤感受性検定に関わる各種の条件を検討して、発生予察事業への適用が推奨される検定手法を整理した（表7）。策定に当たっては出来るだけ簡便な手法を採用したが、検定に使用する植物によって薬液の付着量が異なることを考慮して、使用する植物の種類は1害虫1種にすることとする。なお、ここで推奨する検定法は、生産現場における対象害虫の薬剤感受性の低下を迅速に把握するための手法であり、LC50等を算出するための精密な手法ではないことに留意されたい。このため希釈濃度は常用濃度のみとする。累代飼育を重ねると薬剤感受性がほ場の実態と乖離する可能性があるため、採集から検定までの世代数は長くても2世代までとする。また検定を実施する薬剤の特性によっては、推奨する検定法が適合しない場合がある。例えば虫体に直接かからないと十分な効果を発揮できない薬剤に対しては、葉片浸漬法は適さない。この場合は、虫体浸漬法や散布法の適用を考えるべきである。

検定法を策定するにあたり、参照した参考文献リストを害虫種ごとに付し、全文献のPDFファイルを報告書に添付する。

1) ネギアザミウマ

表2にネギアザミウマに関してアンケートで回答があった12府県の情報を取りまとめた。検定法は、成虫に対するインゲン葉またはソラマメ葉を使った葉片浸漬法（一部ドライフィルム法併用、プラスチック菅瓶法を含む）、ソラマメ催芽種子浸漬法、回転式散布塔（インゲンリーフディスク）、簡易薬剤感受性検キット（吸虫管の内壁を薬剤含有寒天でコーティング）が用いられていた。また文献調査では、柴尾(2013)がソラマメ催芽種子、ソラマメ葉片、ナス葉片を用いた浸漬法を詳しく紹介しており、また虫体浸漬法（松田・新藤、2010）やソラマメ催芽種子を用いた報告（野中健人ら、2013；小川・糸山、2016）もあったが、大半の報告はインゲン葉を使った葉片浸漬法を採用していた。薬液への浸漬時間は、文献調査では10秒間から30秒間の間で幅があったが、30秒間が最も多く、次いで10秒間だった。また判定日数は、アンケート調査では全府県で2日（48時間）であり、文献調査でも2日が圧倒的に多く次いで24時間だった。

<推奨する検定法>

本報告では、インゲン初生葉の葉片浸漬法を使った成虫を対象とする薬剤感受性検定を推奨する（表7）。検定の具体的手順については、柴尾(2013)のソラマメ葉片浸漬法に準じてインゲン初生葉に代えるか、井村(2022)の方法を参考にされたい。薬液浸漬時間は30秒間とし、判定日数は2日（48時間）、判定基準は補正死虫率（%）、管理条件は25℃、16L8Dとする。また採集から検定までの世代数は0～2世代とする。

※留意事項

検定用にほ場でサンプリングする単位は、地域の実情に合わせて決定する。使用するインゲンの品種は問わないが、葉がしっかりした品種を選ぶ。対照は水道水とする。薬液には地域で使用されている一般展着剤を規定濃度で加用し、対照の水道水にも加用する。

表2. 薬剤感受性検定アンケートで回答があった検定実施状況（ネギアザミウマ）

都道府県	検定実施年									検定法	発育ステージ	判定日数	判定基準	管理条件	検定までの世代数
	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023						
宮城			18							葉片浸漬(ソラマメ葉)	成虫	48時間	補正死亡率	25°C,16L8D	2～5世代
千葉					26		26			ソラマメ催芽種子浸漬法	成虫	2日、4日	補正死亡率	25°C,16L8D	世代不明
神奈川							17	9		催芽種子浸漬(ソラマメ)、葉片浸漬(キュウリ)	成虫	3～9日	補正死亡率	25°C,16L8D	当世代
三重		3	10	7	12					葉片浸漬(インゲン葉)+ドライフィルム	成虫	2日	補正死亡率	25°C,16L8D	1～数世代
滋賀							8			葉片浸漬(インゲン葉)	成虫	48時間	補正死亡率	25°C,16L8D	第2世代成虫
大阪	3	3	3	3	7					葉片浸漬(インゲン)	成虫	2日	補正死亡率	25°C,16L8D	当世代
兵庫							4			葉片浸漬(インゲン葉)	雌成虫	2日	補正死亡率	25°C,16L8D	当世代～1世代
奈良				11			12			プラスチック管瓶法(インゲン)	成虫	2日	補正死亡率	25°C,16L8D	当世代
和歌山									6	葉片浸漬(インゲン葉)+ドライフィルム	雌成虫	48時間	補正死亡率	25°C,16L8D	1世代
高知					6	9		11		回転式散布塔(インゲンリーフディスク)	2齢幼虫	1日、2日	補正死亡率	25°C,16L8D	当世代、2～3世代
香川								2		簡易薬剤感受性検定キット	成虫	48時間	補正死亡率	23°C,16L8D	当世代
佐賀								26		葉片浸漬(インゲン葉)	成虫	2日	補正死亡率	25°C,16L8D	次世代

(参考文献)

- 1) 相澤美里(2018) ネギアザミウマの異なる生殖系統における合成ピレスロイド剤抵抗性機構と広域的・局所的分布に関する分子生態学的研究. 香川県農業試験場研究報告 69号.
- 2) 土井 誠ら(2014) 静岡県西部地域の露地ネギに発生するネギアザミウマの薬剤殺虫効果. 関西病虫研報 56:111-113.
- 3) 福田 充ら(2010) ニラのネギアザミウマに対する高温処理および薬剤による殺虫効果. 関東病虫研報 57:67-69.
- 4) 春山直人・松本華苗(2013) 栃木県の園芸作物に発生したアザミウマ類6種に対する各種薬剤の殺虫効果. 関東病虫研報 60:121-124.
- 5) 橋本典久(2017) 京都府内のネギから採集したネギアザミウマに対する各種殺虫剤の殺虫効果. 関西病虫研報 59:89-91.
- 6) 井村岳男(2019) 奈良県のネギから採集したネギアザミウマに対する各種殺虫剤の殺虫効果. 関西病虫研報 61:149-150.
- 7) 井村岳男(2022) 病害虫診断技術調査事業 1. 害虫の殺虫剤感受性検定 ②ネギのネギアザミウマに対する各種殺虫剤の殺虫効果. 近畿中国四国農業単年度試験研究成績(奈良県).
- 8) 猪苗代翔太ら(2018) 宮城県における園芸作物圃場から採取したアザミウマ類3種に対する各種薬剤の殺虫効果. 北日本病虫研報 69:168-172.
- 9) 伊藤政雄ら(2011) ネギアザミウマに対する有効薬剤およびニラえそ条斑病に対する防除対策. 高知県農業技術センター研究報告 20:27-34.
- 10) 鹿島哲郎ら(2013) ネギアザミウマの薬剤感受性およびハウス栽培ニラにおけるネギアザミウマに対する防虫ネットの防除効果. 茨城県農業総合センター園芸研究所研究報告 20:35-42.
- 11) 北野大輔(2024) 滋賀県のネギ属野菜で発生するネギアザミウマ2 生殖系統の地理的分布とベイズモデルによる殺虫剤の効果の推定. 応動昆 68:39-49.
- 12) 松田正利(2010) 青森県南部地域の露地栽培ネギ圃場で発生するネギアザミウマの合成ピレスロイド系剤に対する感受性. 北日本病虫研報 61:170-173.
- 13) 松田正利・新藤潤一(2010) 青森県南部地域の露地栽培ネギ圃場で発生するネギアザミウマに対する各種薬剤の殺虫効果. 北日本病虫研報 61:174-179.

- 14) 松田正利・新藤潤一 (2011) ネギアザミウマに対する IGR 系殺虫剤 2 剤の特性と露地栽培ネギにおける防除効果. 北日本病虫研報 62:148-152.
- 15) 松田正利ら (2009) 青森県南部地域の露地ネギ栽培におけるネギアザミウマの発生状況. 北日本病虫研報 60:220-222.
- 16) 森下正彦 (2008) カキ果実を加害するピレスロイド剤抵抗性のネギアザミウマ. 植物防疫 62:201-204.
- 17) 村井 保 (2003) ネギアザミウマの発生状況と被害拡大. 植物防疫 57:53-55.
- 18) 野中健人ら (2013) 秋田県で採集されたネギアザミウマにおける殺虫剤感受性の個体群間差. 北日本病虫研報 64 : 186-190.
- 19) 小川将司・糸山 享 (2016) 明治大学黒川農場におけるネギアザミウマ *Thrips tabaci* の殺虫剤感受性. 明治大学農学部研究報告 65:75-78.
- 20) 大井田 寛 (2012) アザミウマ類 4 種の千葉県内個体群に対する各種薬剤の殺虫効果. 関東病虫研報 59:131-133.
- 21) 笹山哲央ら (2020) 三重県におけるネギアザミウマの産雄性単為生殖系統の発生と殺虫剤感受性. 関西病虫研報:62:161-163.
- 22) 柴尾 学 (2013) 植物防疫基礎講座：殺虫剤感受性検定マニュアル (4) アザミウマ類. 植物防疫 67:248-251.
- 23) 柴尾 学 (2024) アザミウマ類の発生生態と総合防除法—大阪府における研究トピックスを中心に—. 応動昆 68:1-16.
- 24) 柴尾 学・田中 寛 (2003) ネギ葉片浸漬法およびソラマメ催芽種子浸漬法によるネギアザミウマの薬剤殺虫効果. 関西病虫研報 45:61-62.
- 25) 柴尾 学・田中 寛 (2012) 大阪府におけるネギアザミウマ産雄単為生殖系統の薬剤殺虫効果. 関西病虫研報 54:185-186.
- 26) 城塚可奈子ら (2019) ネギアザミウマに対する薬剤殺虫効果の大阪府内での変遷. 関西病虫研報 61:161-163.
- 27) 城塚可奈子ら (2020a) 大阪府内におけるアザミウマ類の薬剤殺虫効果の現状と新たな防除体系. 日本農薬学会誌 45:1-6.
- 28) 城塚可奈子ら (2020b) 大阪府内のミナミキイロアザミウマおよびネギアザミウマに対する薬剤殺虫効果. 関西病虫研報 62:193-195.
- 29) 十川和士ら (2013) 四国におけるネギアザミウマ生殖系統の分布とその薬剤感受性. 植物防疫 67:666-671.
- 30) 竹内浩二ら (2007) ネギアザミウマの薬剤感受性調査および近紫外線除去フィルムと防虫網を利用したワケネギ栽培. 関東病虫研報 54:151-158.
- 31) 多々良明夫ら (2010) 静岡県西部地域のネギ類に寄生するネギアザミウマの殺虫剤感受性. 関西病虫研報 52:105-107.
- 32) 徳丸晋虫 (2022) 京都府におけるネギアザミウマ (アザミウマ目：アザミウマ科) の生殖型に応じた殺虫剤の効果. 応動昆 66:45-52.

- 33) 山脇美樹 (2022) 施設ニラにおけるネギアザミウマの防除技術の開発(1) ニラのネギアザミウマに対する各種殺虫剤の殺虫効果. 近畿中国四国農業単年度試験研究成績 (高知県).
- 34) 横山朋也・鹿島哲郎 (2013a) 茨城県におけるネギアザミウマ産雄単為生殖型の分布と薬剤感受性. 茨城県病害虫研究会報 52:47-50.
- 35) 横山朋也・鹿島哲郎 (2013b) 茨城県で発生しているネギアザミウマにおける合成ピレスロイド系剤抵抗性遺伝子の頻度. 関東病虫研報 60:125-127.

2) ハスモンヨトウ

表3にハスモンヨトウに関してアンケートで回答があった11県の情報を取りまとめた。検定法はいずれも食餌浸漬法であり、検定に使った植物は、キャベツ葉が茨城、神奈川、広島、佐賀、鹿児島 の5県、キャベツ葉とサトイモ葉が愛媛、キャベツ葉とナス葉が高知、ダイズ葉が岐阜、香川の2県、人工飼料が奈良、福岡の2県であった。発育ステージは3齢幼虫のみが茨城、岐阜、高知、佐賀の4県であり、2齢、2～3齢、3～4齢、3～5齢で行った例もあった。検定濃度は常用濃度1種類、判定日数は2～3日から7日まで幅があり、判定基準は補正死虫率、管理条件は25℃、16L8Dが多かった。サンプリングの単位は1個体群/地域から多いところでは9個体群の事例もあり、採集から検定までの世代数は当世代と次世代が多かった。文献調査では、キャベツ葉を使った葉片浸漬法が最も多く(21報中16報)、インゲン葉、ナス葉、人工飼料(インセクタLFS)を使った試験も行われていた。また浸漬時間は30秒間が最も多く、次いで10秒間だった。また判定日数は、アンケート調査では2日から7日の間でばらついてはいたが、遅効性のIGR剤やBT剤では5日または7日後まで調査を継続している例が多かった。

<推奨する検定法>

本報告では、キャベツ葉の葉片浸漬法を使った3齢幼虫(2齢後期を含めても良いが大きさは出来るだけ揃える)を対象とする薬剤感受性検定を推奨する(表7)。検定の具体的手順については、広瀬(1997)の方法を参考にされたい。薬液浸漬時間は30秒間とし、判定日数は通常は2日、遅効性の薬剤は7日とする。判定基準は補正死虫率(%)、管理条件は25℃、16L8Dとする。また採集から検定までの世代数は0～2世代とする。

※留意事項

検定用にはほ場でサンプリングする単位は、地域の実情に合わせて決定する。ほ場から卵塊を採集して当世代の虫を検定に供する場合は、産卵場所が異なる卵塊を出来るだけ多く集めるなど、検定結果が偏らないように配慮する。使用するキャベツの品種は問わない。対照は水道水とする。薬液には地域で使用されている一般展着剤を加用し、対照の水道水にも加用する。

表3. 薬剤感受性検定アンケートで回答があった検定実施状況（ハスモンヨトウ）

都道府県	検定実施年											検定法	発育ステージ	判定日数	判定基準	管理条件	検定までの世代数
	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023							
茨城											23	葉片浸漬（キャベツ葉）	3 齢幼虫	7日	補正死亡率	25°C,16L8D	1~2世代
神奈川								21			5	葉片浸漬（キャベツ葉）、 虫体浸漬	3~4 齢幼虫	3日	補正死亡率	25°C,16L8D	1~2世代
岐阜	11	11										葉片浸漬（ダイズ葉）	3 齢幼虫	2日	補正死亡率	不明	当世代（卵塊採取）
奈良							8		5	25	インセクタ輪切り法	2齢, 3 齢幼虫	3~5日	補正死亡率	25°C,16L8D	次世代	
広島							16	5	8		葉片浸漬法（キャベツ葉）	幼虫(齢期不明)	2~4日	補正死亡率	20~25°C	ふ化後当世代	
香川		21					12				葉片浸漬（ダイズ葉）	3~5 齢幼虫	7日	補正死亡率	25°C,16L8D	当世代	
愛媛		8					9	18			葉片浸漬（サトイモ葉、 キャベツ葉）	3~4 齢幼虫	2, 4日または3, 6日	補正死亡率	25°C,15L9D	-	
高知						32	25				葉片浸漬（キャベツ葉、ナス葉）	3 齢幼虫	4または5日	補正死亡率	25°C,16L8D	次世代	
福岡										5	人工飼料浸漬法	2~3 齢幼虫	5日	補正死亡率	25°C,16L8D	次世代	
佐賀							7	10	10		葉片浸漬（キャベツ葉）	幼虫(3齢)	3日または5日	補正死亡率	25°C,16L8D	0~1世代	
鹿児島		15	16	18							葉片浸漬（キャベツ葉）	2~3 齢幼虫	24h,48h,72h	補正死亡率	25°C室内	0~1世代	

（参考文献）

- 1) 浅野昌司・鈴木伸和(1995) 飼料混入法を用いる *Bacillus thuringiensis* 製剤のハスモンヨトウ に対する生物検定法について. 応動昆 39:135-141.
- 2) 福岡県(2023) 大豆におけるハスモンヨトウの薬剤感受性検定.
- 3) 林川修二・西 裕之 (2023) 鹿児島県におけるハスモンヨトウ, シロイチモジヨトウのジアミド系殺虫剤に対する薬剤感受性および各種薬剤の殺虫効果. 鹿児島県農総セ研報 17:21-28.
- 4) 林川修二ら (2017) ハスモンヨトウに対する各種薬剤の殺虫効果とその特徴. 九州病虫研究会報(講要) 63:128.
- 5) 平野忠美・子安英雄(2013) 愛知県におけるケブカノメイガおよびハスモンヨトウの薬剤感受性の差異. 関西病虫研報 55:51-55.
- 6) 平野忠美・子安英雄(2014) 愛知県におけるイラクサギンウワバおよびハスモンヨトウの薬剤感受性の差異. 関西病虫研報 56:103-105.
- 7) 平野忠美ら (2015) 愛知県におけるツゲノメイガおよびハスモンヨトウの薬剤感受性の差異. 関西病虫研報 57:121-123.
- 8) 広瀬拓也(1995) ハスモンヨトウの合成ピレスロイド系殺虫剤に対する抵抗性発達. 応動昆 39:165-167.
- 9) 広瀬拓也(1997) 農業害虫および天敵昆虫等の薬剤感受性検定マニュアル(14) 野菜・花き 害虫:ハスモンヨトウ・シロイチモジヨトウ. 植物防疫 51:483-487.
- 10) 広瀬拓也・浜 弘司(1996) 性フェロモントラップで捕獲した雄成虫を用いたハスモンヨトウの薬剤感受性簡易検定法. 応動昆 40:61-69.
- 11) 本間宏基 (2004) 千葉県におけるハスモンヨトウの薬剤感受性. 関東病虫研報 51:155-158.
- 12) 一家伴安ら (1999) 県西地区におけるハスモンヨトウの発生状況と薬剤感受性. 茨城県病害虫研究会報 38:34-37.
- 13) 市川耕治ら(1991) ハスモンヨトウのメソミル剤に対する感受性検定. 関西病虫研報 33:125-125.
- 14) 井村岳男 (2021) 人工飼料を用いた 5 種チョウ目害虫の簡易な殺虫剤感受性検定. 関西病虫研報 63:33-38.

- 15) 井村岳男 (2024a) 病害虫診断技術調査事業 1.害虫の殺虫剤感受性検定 (1) ナスのハスモンヨトウに対する各種殺虫剤の殺虫効果. 奈良県単年度試験研究成績.
- 16) 井村岳男 (2024b) 病害虫診断技術調査事業 1.害虫の殺虫剤感受性検定 (4) キクのハスモンヨトウに対する各種殺虫剤の殺虫効果. 奈良県単年度試験研究成績.
- 17) 伊藤祐気・杖田浩二 (2022) 岐阜県におけるハスモンヨトウの殺虫剤感受性について. 関西病虫研報 64:137-140.
- 18) 菊池克利 (1996) 栃木県におけるハスモンヨトウの薬剤感受性. 関東病虫研報 43:223-225.
- 19) 増井伸一・池田雅則 (1998) 静岡県におけるハスモンヨトウに対する殺虫剤の効力. 静岡県農業試験場研究報告 43:13-19.
- 20) 丸山 威ら (2000) ハスモンヨトウの新規 BT 剤に対する感受性. 関東病虫研報 47:121-124.
- 21) 宮園 稔ら(1991) ハスモンヨトウの殺虫剤抵抗性. 関西病虫研報 33:123-124.
- 22) 宗石佳奈・下村文那 (2021) 突発性病害虫、生育障害等の原因究明と対策(5) ハスモンヨトウに対する各種薬剤の殺虫効果. 近畿中国四国農業単年度試験研究成績 (高知県).
- 23) 中野昭雄・喜田直康(1994) 徳島県におけるハスモンヨトウの薬剤感受性について. 四国植防 29:123-132.
- 24) 及川雅彦ら (1999) BT 剤のハスモンヨトウに対する殺虫効果と寄主植物の関係. 関東病虫研報 46:89-92.
- 25) 西東 カ・小林義明(1989) 関西病虫研報 31:73.
- 26) 西東から (1991) ハスモンヨトウのメソミル剤抵抗性と合成ピレスロイド剤の効力. 関東病虫研報 38:191-193.
- 27) 嶋田知英・根本 久 (1996) ドライフィルム法によるハスモンヨトウの薬剤感受性. 関東病虫研報 43:221-222.
- 28) 下八川裕司 (2020) 施設ミョウガにおける総合的害虫管理技術の確立 (3)ハスモンヨトウに対する各種薬剤の殺虫効果. 近畿中国四国農業単年度試験研究成績 (高知県).
- 29) 杉山恵太郎・水井陽介 (2011) 静岡県内のハスモンヨトウに対する殺虫剤の食餌浸漬法による殺虫効果. 関東病虫研報 58:103-105.
- 30) 高井幹夫(1991) 高知県におけるハスモンヨトウの薬剤感受性について. 四国植防 26:67-76.
- 31) 吉田早苗ら (2012) 茨城県におけるハスモンヨトウの薬剤感受性. 関東病虫研報 59:135-136.
- 32) 吉川 誠 (2001) 栃木県におけるハスモンヨトウに対する薬剤感受性. 関東病虫研報 48:121-123.

3) ネギハモグリバエ

表4にネギハモグリバエに関してアンケートで唯一回答があった香川県の情報を掲載した。検定法はネギ葉を使った宿主植物浸漬法が用いられていた。文献調査では、ネギポット苗に産卵させた後、卵または若齢幼虫期にネギ葉部を葉液に浸漬させ、その後生存、蛹化、死亡個体数を計数して効果判定を行っている例が圧倒的に多かった。また過去にはマメハモグリバエの薬剤感受性に関して多くの報告があり、局所施用法やドライフィルム法については、西東(1997)が参考になる。

<推奨する検定法>

本報告では多くの研究で使用されているポット植えのネギ苗を使った葉部浸漬法による卵または2齢幼虫の薬剤感受性検定を推奨する(表7)。ネギハモグリバエの卵または2齢幼虫が寄生したネギ葉部の葉液への浸漬時間は10秒間とし、判定日数は卵の場合は5日、2齢幼虫の場合は3日とする。判定基準は補正死虫率(%)、管理条件は25℃、16L8Dとする。また採集から検定までの世代数は1~2世代とする。検定の具体的手順については、徳丸(2004, 2013)、徳丸・岡留(2004a)に詳しく解説されているので参照されたい。

※留意事項

検定用には場でサンプリングする単位は、地域の実情に合わせて決定する。使用するネギの品種は問わない。対照は水道水とする。葉液には地域で使用されている一般展着剤を規定濃度で加用し、対照の水道水にも加用する。

表4. 薬剤感受性検定アンケートで回答があった検定実施状況(ネギハモグリバエ)

都道府県	検定実施年			検定法	発育ステージ	判定日数	判定基準	管理条件	検定までの世代数
	2021	2022	2023						
香川	11	13	5	宿主植物浸漬(ネギ葉)	卵	5日	補正死虫率	25℃,16L8D	後世代(世代数不明)
香川	11	13	5	宿主植物浸漬(ネギ葉)	若齢幼虫	3日	補正死虫率	25℃,16L8D	後世代(世代数不明)

(参考文献)

- 1) 森 晴香ら(2022) 茨城県のネギ栽培におけるネギハモグリバエ別系統による被害の消長および各種殺虫剤に対する感受性の検討. 茨城県病害虫研究会報 61:16-22.若齢苗葉部 10-72
- 2) 西東(1997) 農業害虫および天敵昆虫等の薬剤感受性検定マニュアル(11) 野菜・花き害虫:マメハモグリバエ. 植物防疫 51:337-340.
- 3) 佐藤信輔ら(2022) 茨城県のネギほ場から採集されたネギハモグリバエ別系統に対する各種薬剤の殺虫効果および現地ほ場における防除効果の検討. 関東病虫研報 69:80-84.
- 4) 武政 彰・繁田ゆかり(2009) 小ネギのネギハモグリバエに対する有効薬剤および展着剤との組み合わせ. 九病虫研会報 55:146-151.
- 5) 徳丸 晋(2004) トマトハモグリバエ,マメハモグリバエおよびナスハモグリバエの殺虫剤感受性検定法. 日本農業学会誌 29:170-172.
- 6) 徳丸 晋(2008) ハモグリバエ類の生態と防除に関する研究の現状と課題. 関西病虫研報 50:55-59.
- 7) 徳丸 晋(2013) 殺虫剤感受性検定マニュアル(3) ハモグリバエ類. 植物防疫 67:244-247.
- 8) 徳丸晋虫(2021) 京都府における近年の難防除野菜害虫に関する研究動向. 日本農業学会誌 46:11-19.
- 9) 徳丸 晋・岡留和伸(2004a) ネギハモグリバエの殺虫剤感受性. 関西病虫研報 46:23-27.
- 10) 徳丸 晋・岡留和伸(2004b) ネギハモグリバエの発消長と各種粒剤の防除効果. 京都府農業研究所研究報告 26:1-6.

11) 徳丸 晋・上杉龍士 (2019) 京都府におけるネギハモグリバエ別系統の発生. 植物防疫 73:581-583.

4) ミカンハダニ

表5にミカンハダニに関してアンケートで回答があった6県の情報を取りまとめた。薬剤感受性検定手法としては、カンキツ葉(温州みかんやなつみかんの当年発生葉)を用いた卵を対象とする葉片浸漬法(リーフディスク法)がほとんどであり、一部成虫対象の検定も行われていた。リーフディスクを使った検定法は大政(1998)に解説されているが、プラスチックカップと濾紙を用いる方法と寒天平板ゲルを用いる方法があり、文献調査によると前者は福岡や佐賀、後者は和歌山で使用されている。薬液への浸漬時間は10秒間、判定日数は7~10日が多かった。

<推奨する検定法>

本報告では、温州みかんのリーフディスクを使った葉片浸漬法によるミカンハダニ卵の薬剤感受性検定を推奨する(表7)。薬液への浸漬時間は10秒間とし、判定日数は10日とする。判定基準は補正死虫率(%)、管理条件は25℃、16L8Dとする。またサンプリングの単位は最低1個体群/地域とし、採集から検定までの世代数は0~1世代とする。検定の具体的手順については、大政(1998)を参考にされたい。判定基準は補正死虫率(%)、管理条件は25℃、16L8Dとする。また採集から検定までの世代数は0~1世代とする。

※留意事項

検定用には場でサンプリングする単位は、地域の実情に合わせて決定する。使用する温州みかんの品種は問わない。対照は水道水とする。薬液には地域で使用されている一般展着剤を規定濃度で加用し、対照の水道水にも加用する。リーフディスクを保持する基質としてプラスチックカップ+濾紙と寒天平板ゲルのどちらを用いるかは任意とする。

表5. 薬剤感受性検定アンケートで回答があった検定実施状況(ミカンハダニ)

都道府県	検定実施年											検定法	発育ステージ	判定日数	判定基準	管理条件	検定までの世代数
	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024						
和歌山								5		6		葉片浸漬(カンキツ葉)	卵	8日,10日	補正死虫率	25℃,16L8D	未回答
広島	3	3	3	4	4	5	5	5	5	5	4	虫体浸漬法	卵	7日	補正殺卵率	25℃	当世代
香川									23			リーフディスク法(殺卵試験)	卵	8, 10, 11, 12日	補正死虫率	25℃,16L8D	第1世代
佐賀	9	10	10	10	10				8	9		卵浸漬法	卵	7日	補正死虫率	25℃,自然日長	次世代
長崎	5	7	6	6	6	6	6	6	6	5		葉片浸漬(カンキツ葉)	卵	7~15日	補正死虫率	25℃,16L8D	当世代
鹿児島									13			虫体散布法	雌成虫, 卵	1, 2, 3日, 7日	補正死虫率	25℃	0, 1世代

(参考文献)

- 1) 衛藤友紀ら(1996) 佐賀県で採集されたミカンハダニの各種殺ダニ剤に対する感受性. 九病虫研究会報 42:141-145.
- 2) 衛藤友紀ら(1998a) 佐賀県で採集されたミカンハダニ *Panonychus citri* McGregor の数種殺ダニ剤に対する感受性. 佐賀県果樹試験場研究報告 14:55-64.
- 3) 藤本博明・平松高明(1995) 岡山県のモモにおけるクワオオハダニとミカンハダニの発生分布と薬剤

感受性. 日本ダニ学会誌 4:103-111.

- 4) 古橋嘉一(1989) ニッソラン抵抗性ミカンハダニの数種ダニ剤に対する交差抵抗性. 関東病虫研報 36:197-198.
- 5) 古橋嘉一(1994) 静岡県におけるミカンハダニの薬剤抵抗性. 関東病虫研報 41:267-269.
- 6) 浜村徹三(1997) 農業害虫および天敵昆虫等の薬剤感受性検定マニュアル(15) 野菜花き害虫:ハダニ類. 植物防疫 51:547-549,
- 7) 井上智広・斎藤哲夫(1972) ジコホル抵抗性感受性ミカンハダニのジコホルに対するステージ別感受性. 応動昆 16:154-156.
- 8) 神山光子・戸田世嗣(2021) ハウスミカンにおける天敵保護資材「バンカーシート(R)」を利用したスワルスキーカブリダニ放飼と殺ダニ剤散布の併用によるミカンハダニ防除効果. 熊本県農業研究センター研究報告 28:55-65.
- 9) 口本文孝・村岡 実(1996) ミカンハダニのヘキシチアゾクス水和剤抵抗性. 佐賀県果樹試験場研究報告 13:95-103.
- 10) 増井伸一ら(1995) 静岡県におけるミカンハダニの殺ダニ剤感受性の現状. 関東病虫研報 42:245-246.
- 11) 松山尚生(2021) 果樹病害虫防除技術の開発 2) 各種害虫に対する防除対策の検討 (1) 海南市下津町のミカンハダニに対する各種化学合成殺ダニ剤の殺卵効果. 和歌山県単年度試験研究成績.
- 12) 松山尚生(2023) 果樹病害虫防除技術の開発 3) 防除が困難となっている作物に対する防除体系の確立 (2) 県内各地域で採集したミカンハダニの各種殺ダニ剤に対する感受性. 和歌山県単年度試験研究成績.
- 13) 村岡 実・鶴 範三(1985) 佐賀県におけるミカンハダニの主要殺ダニ剤に対する感受性の年次推移. 九州病害虫研究会 31:191-195.
- 14) 大政義久(1998) 農業害虫および天敵昆虫等の薬剤感受性検定マニュアル (25)果樹害虫:ミカンハダニ. 植物防疫 52:534-537.
- 15) 武久 喬(1967) 寒天薄層電気泳動法によるミカンハダニ薬剤抵抗性の検定法について. 九病虫研会報 13:126-132.
- 16) 辰己 勲ら(1983) ミカンハダニのベンゾメート抵抗性 1. 感受性,抵抗性ミカンハダニの抵抗性比較. 応動昆 27:112-116.
- 17) 鶴 範三ら(1979) 佐賀県におけるミカンハダニの各種薬剤に対する感受性. 九病虫研会報 25:156-159.
- 18) 寺本 健ら(1990) 長崎県における薬剤抵抗性ミカンハダニの発生状況. 九病虫研会報 36:160-163.
- 19) 真梶徳純・波多野連平(1983) Fenbutatinoxide のミカンハダニに対する効果検定法について. 千葉大学園芸学部学術報告 31:93-99.
- 20) 山本敦司ら(1995) 柑橘園におけるミカンハダニのヘキシチアゾクスによる圃場淘汰試験. 日本農薬学会誌 20:307-315.

5) タバコナジラミ

表6にタバコナジラミに関してアンケートで回答があった13県の情報を取りまとめた。検定に使った植物はキャベツが4県、インゲンが8県（愛知はキクとキャベツも使用）、ミニトマト、ナスが各1県であった。また発育ステージは成虫のみの県が9県あり、卵を対象にした試験を行ったのは愛媛のみであった。文献調査では、キャベツが8報、インゲンが8報であったが、成虫対象ではキャベツを用いた方法を参考にして植物をインゲンに代えた試験例が2報あった。判定日数は、検定する発育ステージによって変えている県が多く、卵で2週間、1齢幼虫で8~9日、2~3齢幼虫で7~14日、3~4齢幼虫で11日、成虫では1~5日と幅が大きかった。タバコナジラミの薬剤感受性検定手法としては、古くは浜村(1997)が開発した「キャベツ葉浸漬・水挿法」がある。この方法は成虫、幼虫のどちらを対象とする場合にも大きな容器を必要とするため、これを改良してキャベツ葉と小型シャーレを用いる成虫限定の方法（通称、熊本法）（樋口、2004）が開発されている。今回のアンケートで回答があった茨城県は熊本法を採用して成虫の検定を行っていた。また千葉では、熊本法を基本にキャベツの代わりにインゲン葉を用いて成虫の検定を行っている（大井田・津金、2008）。徳丸（2013）は、これらとは別に試験管を用いたキャベツ葉浸漬・水挿法の改良法を紹介している。キャベツとインゲンのどちらを使うは別として、成虫の検定を行う時は熊本法または徳丸の方法を使用するのが簡便であると思われる。

タバコナジラミバイオタイプQはインゲンでも発育するが、バイオタイプBはインゲンを餌とした場合の生存率が低いという報告があるので（Iida、2007）、バイオタイプBの卵や幼虫の検定を行う場合はキャベツを使用する必要がある。あらかじめ成虫に産卵させた寄主植物を検定する薬液に浸漬した後、プラスチックカップ（浜村法）、あるいは試験管（徳丸法）に差してケージに収容する必要があるため成虫より煩雑な作業が必要になる。しかし、発育ステージによって薬剤感受性が大きく異なる例が報告されているので（山口、2010）、薬剤感受性検定を成虫のみで行っていると幼虫期の感受性低下を見逃す可能性があるため注意が必要である。

<推奨する検定法>

キャベツとインゲンのどちらを用いるかであるが、アンケートでインゲンを使用している県が多かったのは、検定に使用出来る大きさまで生育する期間が短いことや、ハダニ類など他の害虫の飼育にも使用出来る利点があるからかも知れない。しかし、前述のようにバイオタイプBの幼虫を用いて検定を行う場合にインゲンは使えないので、本報告ではキャベツ葉を使った葉片浸漬法を推奨したい（表7）。判定日数は、遅効性の薬剤があることを考慮して、幼虫では10日、成虫で2日（遅効性の薬剤は5日）、卵は2週間程度、幼虫は10日程度とする。判定基準は補正死亡率（%）、管理条件は25℃、16L8Dとする。また採集から検定までの世代数は1~2世代とするが、成虫は当世代でも良いこととする。検定の具体的手順については徳丸（2013）を参考にされたいが、試験管を使うこの方法では成虫は2日後までしか持たないので、遅効性の薬剤を成虫で検定する場合は樋口（2004、2017）の方法（熊本法）を参考にする。熊本法は検定容器を作製する手間はかかるが、成虫を対象とする場合は簡便な手法である。

※留意事項

検定用にほ場でサンプリングする単位は、地域の実情に合わせて決定する。使用するキャベツの品種は問わない。対照は水道水とする。薬液には地域で使用されている一般展着剤を規定濃度で加用し、対照の水道水にも加用する。

表 6. 薬剤感受性検定アンケートで回答があった検定実施状況 (タバコナジラミ)

都道府県	検定実施数									検定法	発育ステージ	判定日数	判定基準	管理条件	検定までの世代数
	2014	2016	2017	2019	2020	2021	2022	2023	2024						
栃木	7				11					食餌浸漬法(樋口(2013))	成虫	96,120時間	補正死亡率	25°C,16L8D	未回答
千葉						13				葉片浸漬(インゲン葉)	成虫	120時間	補正死亡率	25°C,16L8D	1~3世代
愛知		12								葉片浸漬(インゲン葉)	1齢	8日	補正死亡率	25°C,16L8D	未回答
		12								葉片浸漬(インゲン葉)	3・4齢	11日	補正死亡率	25°C,16L8D	未回答
		12								葉片浸漬(インゲン葉)	成虫	4日	補正死亡率	25°C,16L8D	未回答
							22			葉片浸漬(キク葉、キャベツ葉、インゲン葉)	成虫または1齢	成虫4日,1齢8日	補正死亡率	25°C,24D	2~3世代
三重					17	2				葉片浸漬(インゲン、タバコ)	成虫または幼虫	成虫5日後、幼虫7日後	補正死亡率	25°C,16L8D	1~2世代
奈良			7							プラスチック管瓶法(インゲン)	成虫	48時間	補正死亡率	25°C,16L8D	当世代
和歌山						15				葉片浸漬(キャベツ葉)	成虫, 2~3齢幼虫	成虫72時間, 幼虫14日	補正死亡率	23°C,16L8D	2~4世代
香川			19							葉片浸漬(ミニトマト葉)	成虫(インゲンマメで選抜)	3日	補正死亡率	25°C	2~3世代
愛媛			10							寄主植物浸漬(インゲン)	1齢幼虫	9日	補正死亡率	25°C,15L9D	未回答
				12						寄主植物浸漬(インゲン)	2齢幼虫	8日	補正死亡率	25°C,15L9D	未回答
						9	16			寄主植物浸漬(インゲン)	2~3齢幼虫	約1週間	補正死亡率	25°C,15L9D	1~2世代
							3			寄主植物浸漬(インゲン)	卵	約2週間	補正死亡率	25°C,15L9D	1世代
高知						6			葉片浸漬(インゲン複葉)	成虫	2日	補正死亡率	25°C,16L8D	当世代	
福岡						4	4			ナス葉浸漬	成虫主体	3日	補正死亡率	25°C,16L8D	当世代
佐賀					12	29				葉片浸漬(インゲン葉)	成虫	5日	補正死亡率	25°C,16L8D	1~2世代
熊本				12	20					葉片浸漬(キャベツ葉)	成虫	5日	補正死亡率	25°C,16L8D	不明
鹿児島			15							葉片浸漬(インゲン)	成虫	24h,48h,72h	補正死亡率	-	2世代

(参考文献)

- 樋口聡志 (2004) シルバーリーフコナジラミ成虫の薬剤感受性検定法. 平成 16 年度九州沖縄農業研究成果情報.
- 樋口聡志 (2006) 熊本県におけるタバコナジラミバイオタイプ Q の発生状況と薬剤の殺虫効果. 今月の農業 50:84-88.
- 樋口聡志 (2014) 九州地域におけるタバコナジラミの発生と防除. 応動昆 58:333-341.
- 樋口聡志 (2017) ウイルスを媒介するタバコナジラミの生態および防除に関する研究. 鹿児島大学 学位論文 136p.
- Iida, H. et al. (2009) Comparison of egg-hatching rate, survival rate and development time of the immature stage between B- and Q-biotypes of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) on various agricultural crops. Appl. Entomol. Zool. 44:267-273.
- 井村岳男 (2018) ミニトマトのタバコナジラミ類に対する各種殺虫剤の殺虫効果 (1) 成虫に対する化学殺虫剤の殺虫効果. 近畿中国四国農業単年度試験研究成績 (奈良県).
- 石川博司ら (2018) 愛知県内の主要トマト3産地から採取したタバコナジラミバイオタイプ Q に対する主要薬剤の殺虫効果. 関西病虫研報 60:117-120.
- 鹿島哲郎ら (2008) タバコナジラミバイオタイプ Q に対する各種殺虫剤の殺虫効果の検討. 茨城県病害虫研究会報 47: 21-25.
- 貴島圭介ら (2012) タバコナジラミバイオタイプ Nauru に対する各種薬剤の殺虫効果. 応動昆 56:9-12.
- 近 達也・岩瀬亮三郎 (2011) トマト黄化葉巻病を媒介するタバコナジラミ類の総合防除体系の確立. 埼玉県農林総合研究センター研究報告 10:12-20.
- 久保田篤男 (1991) タバコナジラミ(*Bemisia tabaci*)の発育各態に対する有効薬剤. 埼玉県園

芸試験場研究報告 18:29-36.

- 12) 窪田聖一ら (2017) 久万高原町の夏秋トマトにおけるコナジラミ類の発生生態と防除. 愛媛県農林水産研究所企画環境部・農業研究部研究報告 9:14-27.
- 13) 桑名 篤ら (2007) 福島県におけるタバココナジラミの発生状況と薬剤感受性. 北日本病虫研報 58:118-120.
- 14) 岡崎真一郎ら (2010) 大分県の施設栽培におけるコナジラミ類の発生実態およびタバココナジラミ在来系統の薬剤感受性. 大分県農林水産研究センター研究報告 農業編 4:13-22.
- 15) 大井田 寛・津金胤昭 (2008) 千葉県におけるタバココナジラミバイオタイプ Q 成虫の薬剤感受性. 関東病虫研報 55:155-158.
- 16) 大井田 寛ら (2010) タバココナジラミ及びオンシツコナジラミ千葉県内個体群の幼虫に対する有効薬剤の検討. 千葉県農林総合研究センター研究報告 2:77-81.
- 17) 徳丸 晋 (2013) 殺虫剤感受性検定マニュアル(5) タバココナジラミ. 植物防疫 67:307-310.
- 18) 徳丸 晋・林田吉王 (2010) タバココナジラミ・バイオタイプ Q (カメムシ目:コナジラミ科) の薬剤感受性. 応動昆 54:13-21.
- 19) 浦 広幸・嶽本弘之 (2008) 福岡県におけるタバココナジラミバイオタイプ Q の発生状況と施設栽培トマトおよびナスに発生するタバココナジラミ個体群の薬剤感受性. 福岡県農業総合試験場研究報告 27:23-28.
- 20) 渡邊丈夫ら (2008) 香川県のタバココナジラミ (バイオタイプ B) の殺虫剤感受性について. 香川県農業試験場研究報告 59:1-8.
- 21) 山口いくこ (2010) 山梨県におけるタバココナジラミの薬剤感受性. 関東病虫研報 57:123-126.
- 22) 山城 都 (2007) 栃木県におけるタバココナジラミバイオタイプ Q の発生分布と薬剤感受性. 関東病虫研報 54:113-115.

6) 推奨する薬剤感受性検定法

表7に、今回実施したアンケート調査の回答と文献情報に基づき、5種の害虫に対して発生予察事業への適用が推奨される検定手法を整理した。

表7. 推奨される薬剤感受性検定手法

発育ステージ	検定法	判定日数	判定基準	管理条件	検定までの世代数
ネギアザミウマ					
成虫	葉片浸漬法(インゲン初生葉)	2日	補正死虫率(%)	25°C,16L8D	0~1世代
検定の具体的手順については、柴尾(2013)、井村(2022)を参照。					
ハスモンヨトウ					
3齢幼虫	葉片浸漬法(キャベツ葉)	2日(遅効性の薬剤は7日)	補正死虫率(%)	25°C,16L8D	0~1世代
検定の具体的手順については、広瀬(1997)を参照。					
ネギハモグリバエ					
卵	葉部浸漬法(ネギ苗)	5日	補正死虫率(%)	25°C,16L8D	1~2世代
2齢幼虫	葉部浸漬法(ネギ苗)	3日	補正死虫率(%)	25°C,16L8D	1~2世代
検定の具体的手順については、徳丸(2004, 2013)、徳丸・岡留(2004a)を参照。					
ミカンハダニ					
卵	葉片浸漬法(温州みかんリーフディスク/当年発生葉)	7日	補正死虫率(%)	25°C,16L8D	0~1世代
検定の具体的手順については、大政(1998)を参照。					
タバココナジラミ					
成虫	葉片浸漬法(キャベツ葉)	2日(遅効性の薬剤は5日)	補正死虫率(%)	25°C,16L8D	0~2世代
卵	葉片浸漬法(キャベツ葉)	14日	補正死虫率(%)	25°C,16L8D	1~2世代
幼虫	葉片浸漬法(キャベツ葉)	10日	補正死虫率(%)	25°C,16L8D	1~2世代
検定の具体的手順については、徳丸(2013)(成虫対象の遅効性薬剤の場合は樋口(2004、2017)を参照。					

5. 今後の課題

本報告では、薬剤感受性検定手法として主に葉片浸漬法を採用したが、使用する植物は対象害虫の好適食餌植物であることに加えて、検定用に栽培が容易であることが重要になる。準備の簡便さを考えると、例えばハスモンヨトウでは人工飼料への薬液滴下や薬液浸漬による手法も検討すべきであろう。またタバココナジラミについてはキャベツ葉を用いることとしたが、準備の簡便さではインゲン葉の方が上であり、実際タイプQ成虫の薬剤感受性検定ではインゲン葉を使った報告が多かった。インゲン葉は薬剤付着性が高く、ナミハダニやネギアザミウマの薬剤感受性にも使えるので、これらの害虫が問題になる地域では常備しておけば便利である。一方で、キャベツを準備しておけば、ハスモンヨトウやシロイチモジヨトウの薬剤感受性検定にも使えるので、これらの害虫が問題になる地域では好都合になる。薬液付着性の問題は展着剤を加用することで軽減される。地域の実情によって薬剤感受性検定を実施する害虫種は異なるので

検定用植物の選定にはさらなる検討が必要である。

葉片浸漬法以外の検定法としては、以前は虫体散布法が広く用いられており、今回のアンケート調査でもカスミカメ類、ハダニ類、アザミウマ類、コナカイガラムシ類を対象として、虫体散布法の実施を報告した県が10県以上あった。しかし、単位面積当たりの付着量を一定に出来る「回転式薬剤散布塔」は既に製造、販売中止となっており、すべての試験研究機関が保有しているわけではない。代替手法として提案されたエアブラシ法（國本ら、2017b）は、アンケート調査で栃木、静岡、奈良でナミハダニを対象として実績報告があったが、適用範囲については今後の検討が必要である。國本・今村(2017a)によると、ナミハダニを対象に浸漬法と散布法とを比較した試験で、補正死虫率が大きく異なる薬剤の存在を示し、その理由として虫体に直接薬液がかからないと十分な効果が発揮できない可能性に言及している。このように、葉片浸漬法が必ずしもすべての薬剤の感受性検定に適用可能ではないことは銘記すべきである。

- 1) 國本・今村(2017a) ナミハダニの薬剤感受性検定における簡易な接種法の開発. 植物防疫 71:154-158.
- 2) 國本ら(2017b) 回転式散布塔に代わる散布装置の構築. 応動昆 61:192-194.

6. 謝辞

今回の報告書をまとめるにあたって、アンケート調査にご協力いただいた都道府県関係者の皆様並びに薬剤感受性検定文献データベースの利用を許可いただいた農林害虫防除研究会殺虫剤抵抗性対策タスクフォースの皆様には厚くお礼申し上げます。