

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 事業推進企画部・信頼性保証室茨城分室
担当者	富田恭範、野田隆志、守川俊幸、舟木勇樹

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。

なお、殺菌剤のとりまとめについては、令和6年度に作成した資料に、新たな病害を追加するとともに、令和6年度の項目・記述に修正を加え、全体を整えた。

殺虫剤は、令和7年度に新たに追加した項目を中心に、報告書として取りまとめた。

以下、殺菌剤と殺虫剤に分けて報告する。

目 次

中課題名：植物防疫事業における効率的な薬剤感受性検定手法の調査研究（殺菌剤）

1. 背景と目的	(1)
2. 調査方法	
3. 専門有識者による中間検討	(2)
4. 調査結果	
1) 検定状況の調査・分析	(4)
(1) 採用されている検定法	(5)
(2) 培地検定の条件	
・培地の種類	(7)
・培養温度と培養日数	(8)
・添加する薬剤と分散媒、培養容器	(9)
・培地検定における接種源	(10)
・検定濃度と判定基準	
(3) サンプルングの数	(11)
(4) 検定目的	(12)
(5) 検定法の参考とした資料	
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）	(13)
(2) 基本の確認	(14)
(3) 登録上の常用濃度を基準とする方法について	(15)
(4) 遺伝子診断	
3) 主要な病原菌の検定法	
①灰色かび病菌	(16)
②Venturia 属菌	(19)
③Fusarium 属菌	(23)
④炭疽病菌、晚腐病菌	(26)
⑤Corynespora 属菌	(29)
コラム：Mycosphaerellaceae	(32)
⑥Cercospora 属菌	(33)
⑦Mycovellosiella 属菌	(35)
⑧Passalora 属菌	(37)
⑨うどんこ病菌	(39)
⑩Alternaria 属菌	(44)
⑪卵菌類	(46)
4) 参考情報の取りまとめ	(52)
5. 考察	(53)

6. 今後の課題	(54)
7. 要約	
8. 謝辞	(55)

中課題名：植物防疫事業における効率的な薬剤感受性検定手法の調査研究（殺虫剤）

1. 背景と目的	(56)
2. 調査方法	
3. 専門有識者による中間検討	
4. 調査結果	(57)
＜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7年度新規分）＞	
1) 斑点米カメムシ類	(60)
2) ワタアブラムシ	(63)
3) コナカイガラムシ類	(70)
4) チャノキイロアザミウマ	(73)
5) ナミハダニ	(75)
5. 今後の課題	(78)
6. 謝辞	

中課題名：植物防疫事業における効率的な薬剤感受性検定手法の調査研究（殺菌剤）

1. 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。

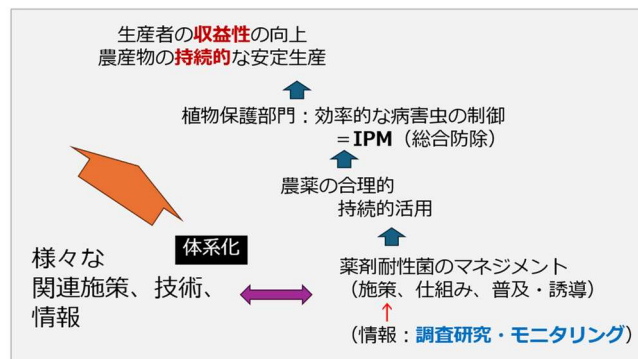


図1 モニタリングの役割

注) 一番下の小さな↑で終わっているケースがある。

2. 調査方法

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

(1)

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、令和6年度は6病原群、令和7年度は5病原群（計11）の主要な病害について、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

(2)

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。

【令和6年度 中間検討会】

- ・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

【令和7年度 中間検討会】

- ・開催日時 2025年12月24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:秋田県立大学 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、茨城県農業総合センター 宮本拓也*、千葉県農林総合研究センター 金子洋平、奈良県農業研究開発センター 浅野峻介、(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、守川俊幸

*はオンラインにて参加

4. 調査結果

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、耐性菌発生のリスクが中～高に分類される薬剤 (Japan FRAC 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	白斑葉枯病ほか	<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>	1,2,3,7,9,10,11,12,17,15,2,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、ナス、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	基腐病、茎枯病	<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	サシ、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

735
 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。

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、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。ナン黒星病菌の DMI 剤感受性は、培地検定、遺伝子診断と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

(7)

・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	3	3					
率：	0	16	32	30	24	2	32	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も必要と考えられる。

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。

(9)

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胞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砕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、破砕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		
菌叢磨砕液		64	15.3	<i>Passalora</i> 、炭疽病菌等で利用
胞子（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

(10)

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	57.3
1濃度（常用濃度）	3.4	6.8	
2濃度	13.3	1.6	15.7
2濃度（常用濃度と1/10）	0.2	0.5	
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。

(3) 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、防除策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

図2 サンプルングの考え方

(4) 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）

(5) 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、継続的に実施されている検定の中には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ら、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、農薬登録上の常用濃度を基点と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。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。以上については、次の項で改めて考察する。

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（予兆）を知り、指導に活用するのが目的であれば、 EC_{50} という評価基準は必ずしも必要とはならない。行政上のモニタリングと学術的な耐性菌研究とは、目的が異なることから、必ずしも同じ手法である必要がない。モニタリングは継続的に必要な時期に確実に実施され、検定結果を防除指導に迅速に反映されることが優先され、そして、中長期的な視点で地域の安定生産に資する（産地の誘導）ことが求められる。

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、大阪府のナスすずかび病のモニタリング調査で、所定濃度での生育抑制率あるいはMICの経年的変化から、感受性の動向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量が問題である。それを知るにはサンプリングの考え方の方が重要であるが、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、煩雑な培地検定や遺伝子診断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

(13)

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）を図るものとした。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（図 4）。

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 薬剤によって最適な濃度と範囲は異なる
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 (PDAでも問題ないケースが多い)
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) 孢子 (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) 孢子形成が容易な菌 (<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 (または発育の有無) 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

※：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

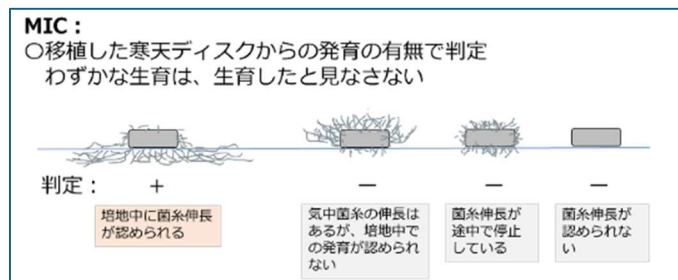


図 3 生育の有無の判断の指標

<p>A 感受性検定を行うにあたり</p> <p>1 まずは目的の理解</p> <p>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</p> <p>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</p> <p>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</p>	<p>2 情報収集と検定計画の策定</p> <p>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、防除層の内容 ・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</p> <p>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)</p>
--	---

図 4 感受性検定の目的の確認と計画の策定

(3) 登録上の常用濃度を基準とする方法について

前項でも述べたが、感受性検定における濃度の設定については、薬剤によって適切な濃度が異なり、その情報に乏しい。このような中、殺虫剤のように農薬登録上の散布濃度（常用濃度）とその1/10、1/100濃度で培地検定を実施する事例が散見される。また、学会や研究会で常用濃度での発育の有無で薬効を判断する発現も多い。

生物検定で評価する場合は、直接的に薬効を判定できることから、モニタリングにおける濃度設定として有効だと考えられるが、培地検定でこの濃度設定を行う場合には、結果の解析や、情報の表示に配慮が必要だと考える。

- ・ 植物体上（内）の病原菌が曝される薬剤濃度は散布濃度とは異なり、各薬剤の常用濃度の殺菌活性や残効性は必ずしも等しくない。
- ・ 培地検定では評価できない薬剤も存在する。
- ・ 培地上での活性の比較により薬効が評価され、植物上、圃場試験の結果を見ずに、薬剤の優劣が判断される危険性がある。
- ・ 誤った解釈が、誤使用を誘引する可能性も否定できない。

このような理由から情報を公開する際は、図表の濃度の表記は、成分濃度とし、濃度設定の目安として農薬登録上の濃度を参考としたことを脚注あるいは本文中に記述することを提案したい。想定外の誤解を生じないよう、配慮が必要と考える。

一方では、詳細な条件設定の研究を待っていては、未然に被害を防ぐことに間に合わない。何も始めないことのほうが問題であり、最良とは言えずとも長期に継続すれば有益な情報となる。モニタリングの最も重要な目的である耐性の早期検出と対策に資することはもとより、情報の信頼性を高めるための防除効果との関連性の検証が適時に行われることが強く望まれる。

(4) 遺伝子診断

薬剤感受性低下に関与する遺伝的変異については、近年では薬剤の作用機作を解明する過程で、人為的に作出した感受性低下菌の変異が特定され、上市される前に推定されているケースも増えている。さらに、圃場でのモニタリングの過程で、その変異の多様性も調査されるようになり、日々、関与する変異についての情報 (Yin, Y. et al., 2023; Oliver et al., 2024) は増えており、なかには、広域的な培地検定による感受性のモニタリングと同時に、学術的にその変異についての解析も実施されている。このように充実した調査研究は、これを主要な研究課題の柱としている大学や専門機関によって実施されており、都道府県で常時実施できるものではないが、遺伝子診断は迅速に多数の検体を評価するのに適した手法であり、特定の変異以外は検出できないということを理解しながらも、情報が整理されて利用場面は広がるものと予想される。

Yin, Y. et al. (2023) Fungicide Resistance: Progress in Understanding Mechanism, Monitoring, and Management. *Phytopathology* 113:707-718. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-10-22-0370-KD>

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) 主要な病原菌の検定法

11種の病原菌(グループ) ①*Botrytis*、②*Venturia*、③*Fusarium*、④*Colletotrichum*、⑤*Corynespora*、⑥*Cercospora*、⑦*Mycovellosiella*、⑧*Passalora*、⑨うどんこ病菌、⑩*Alternaria*、⑪卵菌類について、既往の研究を基に標準的な検定法を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ことはもとより、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、以降も含め、菌叢ディスクからの生育の有無については、図3の基準に従う。

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	
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)
					100			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)	
シカド [®] キズミ [®]	2	イブロジオン	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)
		ピリバンカルブ	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	2	20	2	生育あり (感受性低下菌)	川上ら(2017)
			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)	沢田(2001)改

* 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、検定が行われていないことが多い。
2mm以下で生育停止した場合は「生育しない」と判定。表-16脚注図参照

** 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 ^o ホ ^o キ ^o ミ ^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) —. 植物防疫 70(9):610-615. https://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) —. 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ソ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.

(18)

<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。

(19)

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。菌糸片を破碎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	検定コード	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	判定基準
							℃	日		
MBC	1		ベニミル	MIC (菌叢ディスク)	PDA	1**	20	10	10	生育しない (感受性菌) 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)
DMI***	3		ジフェノコナゾール (フェナリモル)	EC ₅₀ (菌叢ディスク)	PDA	0.01, (0.03), 0.1, (0.3), 1, (3), 10, (30), (100)	20	21	21	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) ***
				RG (相対生育度)	PDA	0.3****	20	21-28	28	RG30以下感受性、70以上耐性、その間は混在
QoI	11		クレンキシムメチル	RG (相対生育度)	PDA† (PG4mM含)	100	20	21	21	相対生育度RGを計測、80%以上は耐性菌
SDHI	7		ベンチオピラド	MIC (菌叢破砕液) / 湯谷ら(2020)	YBG	0.1, 1, 5, 10, 50	20	10	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いる

** 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℃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を求める際の注視点:

- ・ 初めに検定を行う際は、0, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, 100mg/Lで検定
- ・ その後、必要な範囲の濃度を設定して省力化を図る(薬剤によっては0.003mg/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
- ・ よって、複数の菌株の分布やベースラインの情報を含めて、感受性の低下の有無を判断する
- ・ 対照に、感受性種と耐性菌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*	EPO code	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/PHYTO.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>

③Fusarium 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ると推定される。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	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)	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
<i>Fusarium fujikuroi</i>	DMI	3	プロクロラズ・ペフラゾエート	MIC、生育有無 (菌叢ディスク)	PDA	5	25	5

EC₅₀: 菌の種と薬剤の組合せにもよるが、値は0.01~3mg/Lになることが多い
 MIC:DMIは一般にはMICで評価することは少ない (注: わずかに生育したものを生育したとは見なさない)
 5mg/Lで生育 (耐性菌)、必要に応じ、表③2を参考にその他濃度での発育を調査して全体の感受性を評価する**

※新たなDMI耐性菌の報告や国際誌に投稿する際は、EC₅₀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 (またはアゾキシストロビン)	MIC (菌叢ディスク)	PDA +PG***	1	20	5
<i>F. oxysporum</i> <i>Monographella nivalis</i> <i>F. graminearum speices complex</i>	MBC	1	ベノミル	MIC (菌叢ディスク)	PDA	10, 100	25 20 20	3 3 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.jppa.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>

④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

(26)

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。耐性に関与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 炭疽病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	ベンゾミル	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

** SHAM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、その系統及び品種によってそもそも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ペーシングの情報を基に、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	EPPO code
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	COLLDU

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 *Corynespora* 属菌

キュウリ褐斑病菌、トマト褐色輪紋病菌、ナス黒枯病菌、ダイズ褐色輪紋病菌、ハス褐斑病菌ほか
Corynespora cassiicola

本属には、複数の種が記載されているが、主要作物においては *Corynespora cassiicola* による被害が大きい。*C. cassiicola* による病害は様々な植物で記載されているが (宮本, 2020)、寄生性や分子系統的にも異なる多様な系統が存在する (下元, 2013; Sumabat et al., 2018)。熱帯、亜熱帯地域で多く見られる菌で、腐生菌あるいは潜在感染菌としても知られている (Dixon et al., 2009)。

かねてより *C. cassiicola* の MBC 剤や QoI 剤、プロシミドン剤に対する耐性菌の発生が知られており (狭間ら, 1994; 竹内ら, 2006; Ishii et al., 2007)、主要産地における MBC および QoI 剤の耐性菌比率は高い状況にある。SDHI 剤の耐性菌の発生は、キュウリ褐斑病でのボスカリド耐性 (Miyamoto et al., 2009; 宮本, 2011) が報告されている。これによると、本剤の使用が開始されて間もなく SDHI 剤耐性菌は顕在化しているが、このような急速な耐性の惹起は海外でも報告されている (Bingxue et al., 2022; Zhu et al., 2019)。

MBC や QoI の耐性に関わる変異の箇所はおおむね他の菌類と共通する。標準的な手法を表⑤ 1 に示す。ただし、QoI のピリベンカルブとアゾキシストロピンに対して Cytb-G143A 変異株は生物検定で交差耐性を示すが、培地検定の手法によっては、ピリベンカルブの感受性低下を評価できない (Shimomoto 2025)。なお、海外では MBC, QoI, SDHI の感受性を EC₅₀ 値で評価するとともに、関連遺伝子 (Sdh, Cytb, β-

(29)

tubulin)の変異も同時にモニタリングされており、多剤耐性の頻度は徐々に高まり、変異のパターンは多様化する方向にある (Zhou et al., 2024; Deng, Y. et al., 2023)。

以上、培地上での薬剤感受性検の方法 (石井 2009, 宮本 2009) は、他の植物病原菌とほぼ同様であるが、EC₅₀で説明できても MIC では評価しづらいケースがある。

SDHI 剤耐性の変異については、sdhB-H278Y/R/L の変異が関与していることが多いが、その他に sdhB-I280V や sdhC-S73P などの変異が関与しているケースもある。ボスカリドとペンチオピラド、イソピラザムほかは交差耐性があるが、現時点でイソフェタミドの耐性菌の報告はない。多くの SDHI 剤の Core と Linker は強固にアミド結合している (Sierotzki and Scalliet, 2013) のに対し、イソフェタミドの結合部位は柔軟なフェナシルアミド構造であることが、耐性菌の SDH 結合部位の構造的変化にも対応しているとされている (荒木智史, 2018)。また、海外では本菌に活性がある DMI 剤において耐性菌の報告があり、CYP51 遺伝子の過剰発現の関与が示唆されているが (Deng et al., 2024)、日本での検討事例はない。

表⑨-1 *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 (菌懸液ディスク)	PDA	50**	25	4	50mg/Lで生育 (耐性)
QoI	11	アゾキシストロピン	MIC (菌懸液ディスク)	PDA*** (PG2-4mM含む)	100	25	4	菌懸液が無添加の80%以上 (耐性)
SDHI	7	ボスカリド イソフェタミドほか	MIC (菌懸液・菌懸液ディスク) EC ₅₀ (菌懸液ディスク)	YBA	0.01, (0.03), 0.1, (0.3), 1, (3), 10, (30), 100	25	4	C. cassicolaは30mg/Lで生育 (耐性) † 病原菌、薬剤の種類によって異なる点に注意

* 対照に薬剤無添加培地も用意する

** 中度耐性を重視する地域では、これより低い濃度でも検定。

*** 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。

† 耐性の程度については、宮本 (2009) を参照。

SDHI剤の感受性検定については、最新の情報を得ながら実施する。

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

表⑤-2 *Corynespora* 菌の薬剤感受性関連遺伝子

系統	コード	遺伝子	変異	EPPO code
MBC	1	β-tubulin	F200Y	CORYCA
			E198A	CORYCA
			M163I	CORYCA
QoI	11	CytB	G143A	CORYCA
SDHI	7	SdhB	I280V	CORYCA
			H278R/Y	CORYCA
		SdhC	S73P	CORYCA
			H164R	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)

- 狭間 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
- 竹内妙子・久保周子・石井英夫 (2006) 千葉県におけるキュウリ褐斑病菌の数種薬剤に対する感受性. 関東東山病虫研報 53:55-60. <https://doi.org/10.11337/ktps1999.2006.55>
- Ishii, H. et al. (2007) Molecular Characterization and Diagnosis of QoI Resistance in Cucumber and Eggplant Fungal Pathogens. Phytopathology 97:1458-1466.
<https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-11-1458>
- Miyamoto, T. et al. (2009) Occurrence of *Corynespora cassiicola* isolates resistant to boscalid on cucumber in Ibaraki Prefecture, Japan. Plant Pathology 58:1144-1151.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2009.02151.x>
- Dixon, LJ et. al. (2009) Host specialization and phylogenetic diversity of *Corynespora cassiicola*. Phytopathology 99:1015-27. <https://doi.org/10.1094/phyto-99-9-1015>
- 石井英夫 (2009) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル II、(11) キュウリ褐斑病菌 ―QoI 剤― 植物防疫特別増刊号 (No.12):69-71.
- 宮本拓也 (2009) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル II、(11) キュウリ褐斑病菌 ―ボスカリド剤― 植物防疫特別増刊号 (No.12):72-75.
- 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
- 下元祥史 (2013) 日本で分離された *Corynespora cassiicola* の病原性と分子系統. 植物防疫 66:608-611. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/66_11_24.pdf
- Sierotzki, H. and Scalliet, G. (2013) A Review of Current Knowledge of Resistance Aspects for the Next-Generation Succinate Dehydrogenase Inhibitor Fungicides. Phytopathology 103: 880-887. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-13-0009-RVW>
- 荒木智史 (2018) 殺菌剤イソフエタミドの生物特性. 植物防疫 72 : 343-345.
https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/72_05.pdf#page=71

- Sumabat et al. (2018) Phylogenetic Diversity and Host Specialization of *Corynespora cassiicola* Responsible for Emerging Target Spot Disease of Cotton and Other Crops in the Southeastern United States. *Phytopathology* <https://doi.org/10.1094/PHYTO-12-17-0407-R>
- Zhu, F. et al. (2019) Occurrence, Distribution, and Characteristics of Boscalid-Resistant *Corynespora cassiicola* in China. *Plant Disease* 103:69-46. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-17-1760-RE>
- 宮本拓也 (2020) 植物防疫講座病害編—32 *Corynespora* 属菌による病害の発生生態と防除. 植物防疫 74:480-486. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/74_08.pdf#page=46
- Bingxue Sun, B. et al. (2022) Rapidly Increasing Boscalid Resistance in *Corynespora cassiicola* in China. *Phytopathology* 112:1659-1666. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-12-21-0503-R>
- Zhou, R. et al. (2024) Monitoring *Corynespora cassiicola* resistance to Boscalid, Trifloxystrobin, and Carbendazim in China. *Phytopathology*. 114:359-367. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-23-0186-R>
- Deng, Y. et al. (2023) Sensitivity to 12 Fungicides and resistance mechanism to trifloxystrobin, carbendazim, and succinate dehydrogenase Inhibitors in cucumber corynespora leaf spot (*Corynespora cassiicola*). *Plant Disease* 107:3049-4037. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-23-0615-RE>
- Shimomoto, Y. et al. (2025) Cross-resistance between pyribencarb and azoxystrobin in eggplant isolates of *Corynespora cassiicola* that have the G143A mutation in Kochi prefecture, Japan. *J Gen Plant Pathol*. <https://doi.org/10.1007/s10327-025-01240-5>

コラム : *Mycosphaerellaceae*

子囊菌門の *Mycosphaerellaceae* 科には、*Cercospora*, *Cercospora*, *Mycovellosiella*, *Passalora*, *Pseudocercospora*, *Pseudocercospora*, *Septoria*, *Ramularia* など重要な植物病原菌が属しており、主要な作物において耐性菌の発生が問題になっている。淡褐色の細長い多胞の分生子を全出芽型で形成する子囊菌であり、有性世代が不明なまま無性世代の形態で分類されてきた属と子囊世代の形態で分類されてきた属とが混在している。分子系統解析により整理されつつも、構成する種が膨大なため、その整理は今後も続くものと予想される。かつて *Cercospora* complex として取り扱われていた菌群についてはおむね整理されている (中島, 2020)。国内では *Cercospora*, *Mycovellosiella*, *Passalora*, *Pseudocercospora* では耐性菌の発生が問題となっており、耐性菌対策が必要な菌群となっている。

なお、日本植物病名データベースによると、「すすかび病」を病名とする病害は *Cercospora* が 10、*Mycovellosiella* は 1、*Cladosporium* も 1、*Pseudocercospora* が 10、*Stenella* が 2 である。「褐斑病」に至っては、本科に属する菌は多いものの、細菌も含めて多様な菌類が様々な植物の病原として記載されており、病名から菌種を想定できない。

植物病の病名全般に言えることだが、病名から病原、その発生生態、薬剤感受性が想定できない (理解

(32)

に時間を要する)ことが多い。この分かりづらさが(思考の不連続性)、対策のスピード感を鈍らせている。病名の命名にあたってはこれを考慮され、防除対策に利するものであってほしい。

参考資料

Videira, S. I. R. et al. (2017) *Mycosphaerellaceae*: Chaos or clarity? *Studies in Mycology* 87:257-421. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2017.09.003>

中島千晴 (2020) *Cercospora* 属とその類縁菌による病害の発生生態と防除. *植物防疫* 74:49-52. https://www.jpapa.or.jp/archive/pdf/74_05.pdf#page=55

日本植物病名データベース http://www.gene.affrc.go.jp/databases-micro_pl_diseases.php

⑥ *Cercospora* 属菌

テンサイ褐斑病菌 *Cercospora beticola*、ダイズ紫斑病菌 *C. kikuchii*、アスパラガス褐斑病菌 *C. asparagi*、シュンギク葉枯病 *C. chrysanthemi*、ピーマン斑点病 *C. capsici* ほか

本属菌による病害は、樹木、草本をはじめとする多種多様な植物で記載されているが、宿主範囲は狭く、種子伝染するものが多い。宿主と密接な関係を築いて共進化してきたと推定され、かつては宿主域ごとに種が設定されてきた。多胞の長楕円形の淡褐色分生子を形成するのが特徴で、叢生した分生子柄上に胞子を形成する。葉に病斑を形成し、斑点、褐斑、すす症状を呈する。ダイズ紫斑病では、病原菌が産生する色素により子実表面に紫斑を生じる。

まず、テンサイ褐斑病では MBC 剤、カスガマイシン剤、ダイズ紫斑病では MBC の耐性が問題となり、その後、テンサイでは DMI 剤と QoI 剤の耐性が、アスパラガス、ダイズ、シュンギク、ピーマンでは QoI 剤の耐性が顕在化している (築尾ら, 1995; 清水, 2007; 長谷川, 2009; 柏森, 2019; 斎藤ら, 2022; 西岡・瓦谷, 2025; 玉野井・山崎 2025)。ダイズ紫斑病の DMI 感受性については、海外での低下事例があり、国内でのモニタリングが必要である。なお、本属菌は SDHI 剤に対しては insensitive (自然耐性) とされているが、今後、本菌に活性を示す SDHI 剤が創薬される可能性はある。

テンサイでは、MBC 剤や QoI 剤の耐性菌の頻度が高く、耐性菌の問題が表面化してから両剤は通常防除には用いられていない。ダイズでは、MBC 剤は代替剤に変更され、QoI 剤については使用回数の制限はもとより、種子生産での使用を制限して耐性菌の顕在化を防いでいる地域 (富山県、2013 年～) がある。

関与する遺伝子は、MBC 剤、DMI 剤、QoI 剤ともに、変異の箇所は他の菌類とおおむね共通する (Sautua, F.J. et al., 2020)。また、DMI 剤では CYP51 遺伝子の変異のほか同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 (Kumar et al., 2021; Malandrakis et al., 2025)。

培地検定の手法の標準的手法を表⑥ 1 に示した。培地検定は MBC や QoI には MIC が、DMI には EC₅₀ が採用されるが、DMI では特定の濃度での生育の有無で判断するケースがある (全国アンケート調査)。なお、分離菌の生物検定で薬効 (感受性) を評価したいが、*Cercospora* は培地上で分生子の形成がうまくいかないことが多い。このため、接種源に菌叢の破碎液が使用されることがある (岩間, 2020)。

表⑥1 *Cercospora* 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	50mg/Lで生育（耐性）
QoI	11	アゾキシストロピン	MIC（菌叢ディスク）	PDA*** (PG2-4mM含)	100	25	4	菌叢生育が無添加の80%以上（耐性）
DMI	3	ジフェノコナゾール 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	DMI剤の種類が異なると基準も異なる。 <i>Cer. beticola</i> は1mg/Lを超えたものを耐性菌としている。

* 対照に薬剤無添加培地も用意する

** 中度耐性を重視する地域では、これより低い濃度でも検定。

*** 50℃に冷えたPDAにPG（没食子酸-n-プロピル）を2-4mM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⑥2 *Cercospora* 菌の薬剤感受性関連遺伝子

系統	コード	遺伝子	変異	EPPO code
MBC	1	β-tubulin	E198A	CERCBE
				CERCKI
			F167Y	CERCBE
QoI	11	CytB	G143A	CERCSE
				CERCKI
				CERCBE
DMI	3	Cyp51B	L144F	CERCBE
			E297K	CERCBE
			I330T	CERCBE
			P384S	CERCBE
			I387M	CERCBE

参考資料（web 上で閲覧できるものを中心に選定）

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

長谷川 優（2009）植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル II（6）ダイズ紫斑病菌 —ベンゾイミダゾール剤— 植物防疫特別増刊号（No.12):31-34.

清水基滋（2009）植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル II（7）テンサイ褐斑病 —DMI 剤— 植物防疫特別増刊号（No.12):35-37.

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

- Sautua, F.J. et al. (2020) Fungicide resistance in *Cercospora* species causing cercospora leaf blight and purple seed stain of soybean in Argentina. *Plant Pathology* 69: 1678-1694.
<https://doi.org/10.1111/ppa.13261>
- 岩間俊太 (2020) ダイズ紫斑病菌の液体培養菌糸を利用した接種試験方法. 北日本病虫研報 71: 38-41.
https://doi.org/10.11455/kitanihon.2020.71_38
- Kumar, R. et al. (2021) Characterization of the Molecular Mechanisms of Resistance against DMI Fungicides in *Cercospora beticola* Populations from the Czech Republic. *J. Fungi* 7(12):1062.
<https://doi.org/10.3390/jof7121062>
- 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/kitanihon.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ビン感受性に関与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/kitanihon.2023.74_14
- 西岡 輝美, 瓦谷 光男 (2025) 大阪府におけるシュンギク葉枯病菌のベノミル剤および QoI 剤に対する感受性. 関西病虫研報 67:102-104. <https://doi.org/10.4165/kapps.67.102>
- 玉野井昭・山崎修一 (2025) 大分県におけるピーマン斑点病菌の薬剤感受性について. 植物防疫 79:67-75.
- Malandrakis, A.A. et al. (2025) Differential sensitivity to DMI fungicides in *Cercospora beticola* is mediated by a novel target site modification and C-14 alpha-demethylase overexpression. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 214: 106635.
<https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2025.106635>

⑦ *Mycovellosiella* 属菌

ナスすすかび病菌 *Mycovellosiella natrassii*

日本では *Mycovellosiella* による病害としてナスすすかび病の被害が大きい。その他、ジャガイモ褐斑病 *M. concors* などがあるが、発生は少なく耐性菌の問題は顕在化していない。なお、海外ではジャガイモの菌を *Passalora concors* と記載するケースがある。その他の近縁菌とともに、学名の取り扱いに留意が必要である。

M. natrassii の薬剤感受性については、先にポリオキシシン剤、次いでイプロジオン剤、DMI 剤、QoI 剤の耐性菌のが、その後 SDHI 剤の耐性菌の発生が報告され、その後も各産地で問題となってる (池田ら, 1989; 山口ら, 2000; 矢野・川田, 2003; 岡田・下元, 2016)。

トマト葉かび病菌と同様に、本病菌は主に葉裏の開口部 (気孔) から感染し、潜伏期間が 2 週間以上と長いため、発生状況を見ながら防除するというより、間隔をおかずに予防的に薬剤が散布される傾向にある。浸透移行性あるいは浸達性のあるいわゆる治療的効果が期待される薬剤に頼りたくなる一方で、すでに潜在感染している菌への継続的な薬剤の暴露は、これらの耐性を惹起しやすいと考えられる。

培地検定では、DMI 剤が EC₅₀, QoI 剤と SDHI 剤は MIC あるいは特定濃度での発育の有無で評価され

(35)

ることが多い(山口, 2009; 矢野・岡田; 2016; 岡田,2016)。なお、SDHI 剤の感受性を評価する際には、菌叢ディスク片ではなく菌体磨砕液を滴下する手法が採用されている(岡田・下元 2016; 安松谷ら, 2025)。

なお、他の病害も含め、培地検定の薬剤濃度を圃場での散布濃度を基準に設定されるケースがある。感受性の変化を継続的にモニタリングする際(安松谷ら, 2025)には、経年的な感受性の変動を解析するのに非常に有効である。ただし、単純に常用濃度で発育したものを耐性菌とすることを避けるため、報告する際の記述に、配慮する必要がある。

QoI や SDHI 剤耐性に関する遺伝子は、他の菌類の耐性と共通する点が多いが、SDHI 剤は SdhB の H268R や I270V のほか、SdhC あるいは SdhD の変異も関与している可能性があり、変異の場所やその組み合わせで、耐性の程度が異なるものと考えられる(Ishii et al., 2007; 岡田・下元, 2016; 矢野ら, 2025)。

表① 1 *Mycovellosiella* 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	14	50mg/Lで生育(耐性)
QoI	11	アゾキシストロピン	MIC (菌叢ディスク)	PDA*** (PG2-4mM含)	100	25	14	菌叢生育が無添加の80%以上(耐性)
DMI	3	トリフルミゾール	EC ₅₀ (菌叢ディスク)	PDA	0.01, (0.03), 0.1, (0.3), 1, (3), 10, (30), (100)	25	14	EC50が0.1mg/Lを超えたものを感受性低下菌とし、10mg/Lを越えると強度耐性。DMI剤の種類が異なると基準も異なる。 MIC5mg/L以上を耐性とする例がある。
SDHI	7	ボスカリドほか	EC ₅₀ , MIC (菌叢破砕液)	YBA	0.01, 0.1, 1, 3, 10, 30	25	14	ボスカリドのEC ₅₀ が16mg/Lを越えると耐性。SDHI薬剤の種類によって反応は異なる。矢野ら(2025)を参照。

* 対照に薬剤無添加培地も用意する

** 中度耐性を重視する地域では、これより低い濃度でも検定。

*** 50℃に冷えたPDAにPG (没食子酸-n-プロピル) を2-4mM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。

表② 2 *Mycovellosiella* 属菌の薬剤感受性関連遺伝子

系統	コード	遺伝子	変異	EPPO code
QoI	11	CytB	G143A	MYCVNA
SDHI	7	SdhB	H268R I270V	MYCVNA MYCVNA

参考資料 (web 上で閲覧できるものを中心に選定)

池田 弘・田中澄人・梶谷裕二・中村利宣 (1989) 野菜病害における薬剤耐性菌に関する研究 第3報 ナスすすかび病菌のポリオキシン耐性菌の発生と防除対策. 福岡県農業総合試験場研究報告. B, 園芸 9:7-12. <https://agriknowledge.affrc.go.jp/RN/2010441793.pdf>

山口 純一郎, 稲田 稔, 松崎 正文 (2000) DMI 耐性ナスすすかび病菌の発生. 日植病報 66:78-84. <https://doi.org/10.3186/jjphytopath.66.78>

山口純一郎・稲田 稔・御厨初子・松崎正文 (2001) DMI 耐性ナスすすかび病菌の発生推移と防除対策. 佐賀農セ研報 31:61-68. <https://agriknowledge.affrc.go.jp/RN/2030691488.pdf>

矢野 和孝・川田 洋一 (2003) ストロビルリン系薬剤耐性ナスすすかび病菌の発生. 日植病報 69:220-

223. <https://doi.org/10.3186/jjphytopath.69.220>

Ishii, H. et al. (2007) Molecular Characterization and Diagnosis of QoI Resistance in Cucumber and Eggplant Fungal Pathogens. *Phytopathology* 97:1458-1466.

<https://doi.org/10.1094/PHTO-97-11-1458>

山口純一郎 (2009) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル II (13) ナスすすかび病菌—DMI 剤— 植物防疫特別増刊号 (No.12):79-83.

矢野和孝・岡山清嗣 (2009) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル II (13) ナスすすかび病菌—QoI 剤— 植物防疫特別増刊号 (No.12):84-86.

岡田知之・下元 祥史 (2016) ボスカリド耐性ナスすすかび病菌の発生と PCR-RFLP による検出. *日植病報* 82:87-92. <https://doi.org/10.3186/jjphytopath.82.87>

岡田知之 (2016) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル 2016 (8) ナスすすかび病—ボスカリド剤 (培地・生物・遺伝子検定) — 植物防疫 70(9):621-624.

https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/70_09_51.pdf

安松谷 恵子ら (2025) 大阪府におけるナスすすかび病菌の殺菌剤感受性. *関西病虫研報* 67: 73-80.

<https://doi.org/10.4165/kapps.67.73>

矢野和孝・溝渕啓介・岡田知之・岡美佐子 (2025) 高知県における SDHI 剤耐性ナスすすかび病菌の分布. *高知農技研報* 34:7-16.

<https://www.nogyo.tosa.pref.kochi.lg.jp/download/?t=LD&id=6996&fid=87725>

⑧ *Passalora* 属菌

トマト葉かび病 *Passalora fulva*

本病は、古くからあるトマトの重要病害の一つで、かつては *Cladosporium* 属菌とされていた (Thomma et al., 2005)。他の *Cercospora* 類縁菌にくらべ、分生子の隔壁数 0 ないし 1-2 (時に 3) と少なく、楕円～ややくびれた長楕円形で短い。病徴が類似する「すすかび病」*Pseudocercospora fuligena* と識別するポイントになっている。葉かび病には、レースが存在するものの抵抗性品種が育成されており、抵抗性が機能する地域では本病の防除が不要となり、代わってすすかび病が顕在化するとされている (黒田、2008)。

本菌は生育が遅いため、感受性の検定には工夫が必要であったが、渡辺 (2017) が薬剤ごとの検定方法を整えたことにより、現在はこれに倣った方法で感受性検定が実施されている (中嶋ら、2021 ; 木村ら、2023)。

特徴は、QoI, MBC, ジエトフェンカルブ, SDHI 剤については菌体をマイクロチューブ内で磨砕し、少量の磨砕液(10 μ L)を検定培地上に滴下し、菌の発育の有無を見るというものである。DMI 剤も同様に検定可能だが、MIC と防除効果との整合性が低かったことから、EC₅₀ を用いるのが望ましいとした。ただし、EC₅₀ は煩雑な手法であるため、特定の濃度での生育阻止率で評価できるとし、他の薬剤とともに表⑧ 1 のように感受性検定法を取りまとめた。また、渡辺 (2017) は生物検定法についても紹介してお

(37)

り、レース検定も含め汎用的に活用できると考えられる。本菌は生育が遅いという扱いづらさはあるが、胞子形成は容易なことから、生物検定を中心にした薬剤感受性の評価も期待したい。

なお、SDHI 剤ではボスカリド、ペンチオピラミド、イソピラザム、ピラジフルミドの 4 剤に交差耐性が確認されている（中嶋ら、2021）が、基礎活性の低いボスカリド耐性菌が他の SDHI に対して耐性を示すとは限らないが、他の SDHI 剤の耐性菌はボスカリドにも耐性であることが多く、各薬剤の基礎活性の違いのほか、sdh 変異の種類や組合せによって耐性の程度が異なることが推察される。なお、中等度の耐性についての評価法について、今後検討が必要だと考えられる。

耐性に関与する遺伝子は、QoI 剤は Cytb-F129L (Watanabe et al., 2017; 近藤, 2014) の変異が確認されている。SDHI 剤では、SdhC の 4 つのアミノ酸置換(T78I、N85K、N85S、および H151R)がボスカリド耐性を与える (Hirata et al., 2025)。このうち、N85K 分離株が最も強く作用し、T78I および H151R の変異株はボスカリドに対して中程度の耐性を示すとのこと。

表① トマト葉かび病菌 *Passalora fulva* の薬剤感受性検定法 (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
QoI	11	アゾキシストロビン		PDA*** (PG2mM含)	1			生育なし：感受性 (S) 生育あり：耐性 (R)
MBC	1	チオファネートメチル	MIC・生育有無 (菌叢破砕液 (10μL))	PDA	1, 10	25	10	1mg/Lで生育なし：感受性 (S) 1mg/Lで生育・10mg/Lで生育なし：中等度耐性 (MR) 10mg/Lで生育：高度耐性 (HR)
N-フェニルピメリト	10	ジエトフェンカルブ			1, 100			1mg/Lで生育なし：感受性 (S) 100mg/Lで生育：耐性 (R)、低感受性の判定は渡辺 (2017)を参照
SDHI	7	ボスカリド ペンチオピラミド		YB	1 0.5			生育なし：感受性 (S) 生育あり：耐性 (R)
DMI	3	トリフルミゾール	生育抑制率 (菌叢ディスク)	PDA	100	25	30	菌糸伸長量 (無添加比)、10%未満：感受性 (S)、10%以上：耐性 (R)

* 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

表② *Passalora fulva*の薬剤感受性関連遺伝子

系統	コード	遺伝子	変異	EPPO code
MBC	1	β-tubulin	F200Y	FULVUFU
QoI	11	CytB	F129L	FULVUFU
SDHI	7	SdhC	T78I	FULVUFU
			N85K/S	FULVUFU
			H151R	FULVUFU

参考資料 (web 上で閲覧できるものを中心に選定)

Thomma, B.P.H.J. et al. (2005) *Cladosporium fulvum* (syn. *Passalora fulva*), a highly specialized plant pathogen as a model for functional studies on plant pathogenic Mycosphaerellaceae.

Mol. Pl. Pathol. 6:379-363. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2005.00292.x>

黒田克利 (2008) 全国的に発生が拡大しているトマトすすかび病. 植物防疫 62 (3) : 123-126.

https://jppa.or.jp/archive/pdf/62_03_09.pdf

- 近藤亨 (2014) 青森県におけるアゾキシストロビン剤耐性トマト葉かび病菌の発生状況. 北日本病害虫研究 65 : 50-53. https://doi.org/10.11455/kitanohon.2014.65_50
- Watanabe, H. et al. (2017) Occurrence of azoxystrobin-resistant isolates in *Passalora fulva*, the pathogen of tomato leaf mould disease. Plant Pathol.66, 1472-1479. <https://doi.org/10.1111%2Fppa.12701>
- 渡辺秀樹 (2017) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル 2016 (13) トマト葉かび病菌-QoI 剤・ベンゾイミダゾール剤・ジエトフェンカルブ剤・SDHI 剤・DMI 剤一. 植物防疫 71(2):99-108. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/71_02.pdf#page=43
- 中嶋香織ら (2021) 三重県におけるトマト葉かび病菌の SDHI 剤に対する感受性. 関西病虫害研究会報 63 : 67-73. <https://doi.org/10.4165/kapps.63.67>
- 木村 響, 中居 由依奈, 井沼 崇 (2023) 和歌山県におけるトマト葉かび病菌の薬剤感受性と各種薬剤の防除効果. 関西病虫研報 65 : 66-68. <https://doi.org/10.4165/kapps.65.66>
- Hirai, K. et al. (2025) Identification of succinate dehydrogenase inhibitor-resistance mutations, T78I, N85K/S, and H151R, in the *SdhC* gene in the tomato leaf mold pathogen, *Passalora fulva*. Journal of Pesticide Science 50:55-63. <https://doi.org/10.1584/jpestics.D25-007>

⑨ うどんこ病菌

コムギうどんこ病菌 *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*

キュウリうどんこ病菌 *Podosphaera xanthii*

イチゴうどんこ病菌 *Podosphaera aphanis*

リンゴうどんこ病菌 *Podosphaera leucotricha*

ブドウうどんこ病菌 *Erysiphe necator*

その他

うどんこ病菌は絶対寄生菌で、植物と高度に共生してきたと考えられており、寄生範囲は特定の植物種に厳密に限定されていると思われるが、複数の作物に寄生する種もある。また、着生が見えない程度の寄生で、潜在的に多様な植物で世代を経ている可能性もある。農業上の被害が大きい作物は、イネ科、ウリ科、マメ科、バラ科、キク科植物で、中でも薬剤防除の頻度が高いウリ類うどんこ病、イチゴうどんこ病、コムギうどんこ病、リンゴうどんこ病、そして海外ではブドウうどんこ病において薬剤耐性菌が問題となっている。

うどんこ病菌の薬剤耐性については、Vielba-Fernández et al.の総説 (2020) にまとめられている。これによると、現在使用されている 10 の作用グループ (FRAC コード 50, 13, 8, 1, 11, 5, 3, 7, U06, U13) の薬剤において耐性菌の発生が確認されている。国内では、このうち 7 つの作用グループの薬剤が上市されており、うち 6 つのグループ (50, 1, 11, 3, 7, U06, U13) に属する薬剤で耐性菌の発生が確認されている。

国内では、MBC 剤, DMI 剤, QoI 剤, SDHI 剤 (中澤, 1993; 武田・内田, 2007; Ishii et al, 2001,2007;

(39)

Miyamoto et al., 2010) のほか、シフルフェナミド (細川ら, 2006), フルチアニル、ピリオフェノン (木村・川元, 2018; Miyamoto et al., 2020) に対する耐性菌が発生している。混合剤の開発やローテーション散布が推奨されているものの、地域によって防除は困難な状況となりつつある。

絶対寄生菌であるため、薬剤感受性は主に生物検定で評価されており、幼苗による検定も可能だが、実験スペースやハンドリング、隔離性の都合から、リーフディスク (キュウリ、イチゴ) あるいは葉片 (コムギ)、小葉 (イチゴ) を用いた室内検定を中心に行われている (表⑨1)。分離株 (系統) の分離と維持、健全な検定植物の育成、接種、日光恒温器の運用など、植物片や菌をメンテナンスするための一連の作業の習得が必要であるものの、薬剤の効果を直接的に評価できる。一連の流れは、研究者がそれぞれの工夫が取り入れられており、それぞれを参照願いたい、小原・堤 (2015) のマニュアルが比較的わかりやすい。

葉片 (リーフディスク) のサイズは、発病面積率を基に EC_{50} を算出する場合は、大きいほうが良い。小さい場合は MIC で評価するしかないが、薬剤の種類によっては感受性を評価しづらいと予想される。MIC による評価が確立されている薬剤では適用できる。

葉片への薬剤の処理法は、浸漬処理、噴霧処理のほか、薬剤液に葉片を浮遊させる方法の3つに分けられる。浮遊させる方法は、薬剤の特性 (浸透移行性、浸達性の有無) に薬効が左右される可能性があり、薬剤の種類によっては、浸漬、噴霧のほうが適切な評価が可能であると推察され、近年では後者を採用するケースが多い。過去の数値と比較する場合は、手法の違いに留意する。

菌の接種法については、従来、払落しによる接種が採用されているが、コンタミの防止など気を使う場面も多い。中野 (2025) は、キュウリうどんこ病菌の試験において、従前からある噴霧接種法、払落し法、ダスティング法、ドロップ法の比較試験を行い、いずれの接種法でもピリダクロメチドの MIC や EC_{50} は同様であったとしている。噴霧接種では、分生子懸濁液を作製する必要が生じるが、分生子のコンタミのリスクは減少すると予想される。ただし、菌によっては濡れを嫌う種があることから、適用範囲に留意する。

葉片の保湿には、液体に浮遊させるか、濡れたペーパー、不織布、素寒天などが用いられている (表⑨1)。素寒天は扱いやすいが、雑菌の発生防止が必要な場合がある (FRAC 資料、林 2009)。

菌株は、単孢子分離株 (Ishii et al., 2001; 宮本ら, 2017) を用いるのが望ましいが、煩雑な作業となるため通例のモニタリングが目的であれば、葉上に生じた単コロニー (菌叢) 分離を行う感覚で、綿棒等を用いて拾うのが現実的だと思われる。また、迅速な情報提供を求められる場合は、自然発生の試料 (分生子) をそのまま利用して検定を行う。いずれにせよ、菌のメンテナンスも含めて、良い材料 (葉片) を準備することが重要であり、品種選定は勿論のこと植物の育成条件も重要であり、うどんこ病菌の培養・保存法を習得することが最も重要だと推察される。

調査は、葉片上の病斑 (分生子の形成) が明瞭になった段階で行う。中澤・大塚 (1998) に準じて病斑面積から発病度を求め、阻害度から EC_{50} を求めることが多い。

うどんこ病に限らず、生物検定は、薬効を評価するのに有効であるが、一連の作業のスペースや維持管理が必要で、繁雑であることは否定できない。このため、絶対寄生菌では抵抗性に関わる変異の有無により、耐性菌をモニタリングする事例が増えている (久保ら, 2007; 恒川ら, 2023)。関与する遺伝子は、他の植物病原菌と同様に MBC、QoI, DMI, SDHI で明らかにされている (Ishii et al., 2001; 同, 2007; Vielba-Fernández et al., 2020)。変異は多様で、万能な手法ではないが、広域的な薬剤耐性のモニタリ

ングを行う際には、有力がツールになると推察される。

標準的な検定法として表⑨ 2 にまとめたが、地域におけるうどんこ病のモニタリングの基本的な流れを以下のように提案する。培地検定とは異なり、生物検定では常用散布濃度の効果の程度で、感受性を評価できることから、常用濃度での検定を行いつつ、必要に応じて低濃度区も設けながら、発病の有無 (MIC) あるいは EC₅₀ で感受性の評価を行うのが現実的であると考えられる。地域において、定期的にうどんこ病の薬剤感受性を実施している例は乏しいが、常用濃度とその 1/10、(1/100)濃度で実施していく (表⑨3, 4) ののであれば、実施可能のように思える。モニタリングの結果に応じて、詳細な試験に入るものとする。なお、結果を報告書や論文等で検定濃度を標記する際は、検定濃度を数値で示し、その濃度設定が常用濃度を参考に設定したことを、表の脚注あるいは本文に示すものとした。

なお、広域的にモニタリングする際、QoI 剤のように特定の変異で説明できる組合せであれば (表⑨5)、遺伝子診断法は有効である。ただし、変異が不明な薬剤においては生物検定に頼らざるをえない。現地における発生状況および薬剤の使用状況を把握することにより、何をどのように調査すべきかを判断できることから、予察事業等を通じたマネジメントと対応が望まれる。

表⑨ 1 うどんこ病菌の薬剤感受性検定法の例

報告	宿主	葉片の大きさ	葉片の薬剤の処理			分生子 接種法	葉片の保湿	評価基準	
			処理法	展着剤	接種の前後				
中澤	1993	コムギ	葉切片 10-15mm	接種後薬液上に浮遊	Tween20	後	払い落とし	検定液上	発病度 (発病面積率) EC50 (阻害度) MIC
中澤・大塚	1994	ウリ類	リーフディスク 10mm	接種後薬液上に浮遊	なし	後	払い落とし	検定液上	発病度 (発病面積率) EC50 (阻害度) MIC
武田・中澤	1996	イチゴ	リーフディスク 9mm	接種後薬液上に浮遊	なし	後	払い落とし	検定液上	発病度 (発病面積率) EC50 (阻害度) MIC
Ishii et al.	2001	キュウリ	リーフディスク 10mm	接種後薬液上に浮遊	なし	後	払い落とし	検定液上	MIC
林	2009	コムギ	幼苗に薬剤処理し、5cmの葉片を回収	散布	あり	前	払い落とし	0.4%素寒天 差込置床	発病度 (発病面積率) EC50 (阻害度) MIC
山中	2009	キュウリ	リーフディスク 10mm	接種後薬液上に浮遊	なし	後	払い落とし	検定液上	発病度 (発病面積率) EC50 (阻害度) MIC
武田・中澤	2009	キュウリ	リーフディスク 7mm	接種後薬液上に浮遊	なし	後	払い落とし	検定液上	発病度 (発病面積率) EC50 (阻害度) MIC
山中	2009	キュウリ	リーフディスク 10mm	接種後薬液上に浮遊	なし	後	払い落とし	検定液上	発病度 (発病面積率) EC50 (阻害度) MIC
内田	2009	イチゴ	リーフディスク 9mm	接種後薬液上に浮遊	なし	後	払い落とし	検定液上	発病度 (発病面積率) EC50 (阻害度) MIC
小原・堤	2015	キュウリ	リーフディスク 11.5 mm	短時間浸漬 5-10sec	なし	前	ダスティング (綿棒塗布) 懸濁液滴下10μL	0.6%素寒天	発病度 (発病面積率) EC50 (阻害度) MIC
木村	2016	イチゴ	リーフディスク 10mm	散布	Tween80	前	払い落とし	不織布	発病度 (発病面積率) MIC
宮本ら	2017	メロン	リーフディスク (キュウリ)	接種後薬液上に浮遊	なし	後	払い落とし (白金耳)	検定液上	MIC
堤ら	2020	リンゴ	リーフディスク 8.5mm	短時間浸漬 10sec	なし	前	ダスティング (綿棒塗布)	1%素寒天	発病度 (発病面積率) EC50 (阻害度) MIC
窪田・竹山	2021	メロン キュウリ ナス	リーフディスク 20mm	短時間浸漬 1min	グラミンS	前	払い落とし	ペーパータオル	発病度 (発病面積率)
中野	2025	キュウリ	リーフディスク 10mm	短時間浸漬 10sec	なし	前	噴霧接種 (払い落とし、ダスティング、 懸濁液滴下と同等を確認)	0.6%素寒天	発病度 (発病面積率) EC50 (阻害度) MIC

表② うどんこ病菌の薬剤感受性検定（標準的手法）

宿主	葉片の大きさ	薬剤濃度	葉片の薬剤の処理		分生子接種法	植物体の保湿	評価基準
			処理法	接種の前後			
コムギほか	葉切片 10~15mm	既往の報告を参考に設定	接種後葉液上に浮遊	後	払い落とし	検定液上	発病度（発病面積率） EC50（阻害度） MIC
	幼苗に薬剤処理し、5cmの葉片を回収		散布	前	払い落とし	0.4%素寒天 差込置床	
ウリ類、イチゴほか	リーフディスク 径10~20mm		短時間浸漬 10sec	前	払い落とし ダスティング（綿棒塗布） 懸濁液滴下10μL 噴霧接種	0.6%素寒天 保湿ろ紙ほか	
			接種後葉液上に浮遊	後	払い落とし	検定液上	

表③ 予備的試験、広域モニタリングを目的とした検定法

	検定植物	薬剤濃度	植物体への薬剤処理法 処理法	分生子 接種法	植物体の保湿	評価基準
各種作物	幼苗	常用濃度、 その1/10、 (1/100)	散布	払落とし	ポリ袋等で密封	表④を参照
	リーフディスク 葉片		短時間浸漬 10sec	払い落とし ダスティング（綿棒塗布） 懸濁液滴下10μL 噴霧接種	0.6%素寒天 保湿ろ紙ほか	

表④ 予備的試験・モニタリングにおける判定基準（めやす）

薬剤処理濃度	菌叢発育の有無			
常用濃度1/1	+	-	-	-
1/10濃度	+	+	-	-
1/100濃度	+	+	+	-
	耐性	耐性または感受性	感受性	
リスク強度	極強	強	注意	無

判定：リスク強度の経年的な変化から総合的に評価

表⑤ うどんこ病菌の薬剤感受性関連遺伝子

系統	コード	遺伝子	変異	EPP0 code	
MBC	1	β-tubulin	E198A	PODOXA	
QoI	11	CytB	G143A	ERYSGH ERYSGT ERYSB	
			UNCINE	LEVETA	
DMI	3	Cyp51B	Y136F	ERYSGT ERYSGH	
			K147Q	ERYSGT	
			S509T	ERYSGH	
			A1119C2	UNCINE	
SDHI	SdhB	H242R/Y	UNCINE		
			SdhC	G169D	UNCINE
			G151R	PODOXA	
	SdhD	H137R	G172D	PODOXA	
			A86V	PODOXA	
			S121P	PODOXA	

PODOAP *Podosphaera aphanis*
 PODOXA *Podosphaera xanthii*
 UNCINE *Erysiphe necator*
 ERYSB *Erysiphe betae*
 ERYSGH *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*
 ERYSGT *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*
 LEVETA *Leveillula taurica*

参考資料 (web 上で閲覧できるものを中心に選定)

- 中澤靖彦 (1993) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(4)コムギ赤かび病菌・うどんこ病菌. 植物防疫 47:429-432. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/47_09_38.pdf
- 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 48:267-272. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/48_06_33.pdf
- 武田敏幸・中澤靖彦 (1996) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(22)イチゴうどんこ病菌. 植物防疫 50:527-529. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/50_12_41.pdf
- Ishii, H. et al. (2001) Occurrence and Molecular Characterization of Strobilurin Resistance in Cucumber Powdery Mildew and Downy Mildew. *Phytopathology*. 91 : 1166-1171. <https://doi.org/10.1094/PHTO.2001.91.12.1166>
- Ishii, H. et al. (2007) Molecular Characterization and Diagnosis of QoI Resistance in Cucumber and Eggplant Fungal Pathogens. *Phytopathology*. 97 (11):1458-1466. <https://doi.org/10.1094/phyto-97-11-1458>
- 武田敏幸・内田景 (2007) うどんこ病菌における耐性菌の推移と分布状況. 植物防疫 61:410-412. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/61_08_04.pdf
- 久保深雪ら (2007) ウリ類うどんこ病菌における DMI 剤耐性菌の遺伝子診断. 植物防疫 61:413-416. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/61_08_07.pdf
- 中山 喜一 (2007) イチゴうどんこ病菌における DMI 剤耐性菌の遺伝子診断. 植物防疫 61(8):417-420. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/61_08_11.pdf
- 林 啓介 (2009) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル II (4) コムギうどんこ病菌 -QoI 剤- 植物防疫特別増刊号 (No.12):24-27.
- 武田敏幸 (2009) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル II (9) キウリうどんこ病菌 -QoI 剤 (生物検定) - 植物防疫特別増刊号 (No.12):41-43.
- 内田景子 (2009) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル II (14) イチゴうどんこ病菌 -QoI 剤- 植物防疫特別増刊号 (No.12):90-92.
- 小原敏明・堤 京子 (2015) ペンチオピラドのキュウリうどんこ病菌に対する感受性検定法. 植物防疫 69:563-567. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/69_09_19.pdf
- 木村 幸 (2016) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル 2016 (10) イチゴうどんこ病-フルチアニル剤 (生物検定) - 植物防疫 70:689-692. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/70_10_37.pdf
- 宮本拓也ら (2017) 茨城県におけるメロンうどんこ病菌, つる枯病菌およびべと病菌の各種薬剤に対する耐性菌の発生状況. 茨城農総合セ園研報 23: 17-25. <https://agriknowledge.affrc.go.jp/RN/2010911683>
- 宮本拓也 (2019) キウリ褐斑病菌およびうどんこ病菌のコハク酸脱水素酵素阻害剤耐性に関する研究. 茨城県農業総合センター研究報告 1号 : 1-41. <https://agriknowledge.affrc.go.jp/RN/2010945645>
- 堤 京子 (2020) ペンチオピラドのリンゴうどんこ病菌に対する感受性検定法. 植物防疫 74:530-

534. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/74_09.pdf#page=38
- Vielba-Fernández, A. et al. (2020) Fungicide Resistance in Powdery Mildew Fungi. *Microorganisms* 8:1431. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091431>
- Miyamoto, T. et al. (2020) Resistance to succinate dehydrogenase inhibitors in field isolates of *Podosphaera xanthii* on cucumber: Monitoring, cross-resistance patterns and molecular characterization. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 169:104646. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2020.104646>
- Miyamoto, T. et al. (2020) First report of the occurrence of multiple resistance to Flutianil and Pyriofenone in field isolates of *Podosphaera xanthii*, the causal fungus of cucumber powdery mildew. *European Journal of Plant Pathology* 156:953–963.
- 窪田昌春・竹山さわな (2021) 2020 年 10 ~ 11 月に茨城県つくば市で発生したメロン, キュウリ, ナスうどんこ病菌の殺菌剤耐性. 関東東山病害虫研究会報 68 : 1-4. <https://doi.org/10.11337/ktpps.68.1>
- 恒川健太ら (2023) Quantitative allele-specific PCR 法を用いた愛知県における QoI 耐性コムギうどんこ病菌の分布調査. 関西病害虫研究会報 65:35-41. <https://doi.org/10.4165/kapps.65.35>
- 中野孝明 (2025) ピリダクロメチルに対するキュウリうどんこ病菌の薬剤感受性. 植物防疫 79:569-574.

⑩ *Alternaria* 属菌

- ナシ黒斑病 *Alternaria kikuchiana*
 リンゴ斑点落葉病菌 *Alternaria mali*
 ブロッコリー黒すす病 *Alternaria brassicicola*
 ジャガイモ夏疫病 *Alternaria solani* ほか

ナシでは黒斑病に 1970 年台にポリオキシシン耐性が、次いで 1980 年台にイプロジオン耐性が発生し、本病に弱い「二十世紀」を栽培する地域で深刻な問題となった。リンゴの斑点落葉病も同様で、その後 QoI 剤が上市され、QoI 耐性菌が顕在化している (Hori et al., 1976 ; 浅利・高橋, 1988; 石井, 1994; 對馬, 2009; 佐藤, 2013)。SDHI 剤については、海外では *Alternaria alternata* (広義) による各種作物病害で、QoI 剤とともに SDHI 剤の耐性菌の発生が確認されており、地域・品目によっては両者の発生頻度は高い水準にある (Avenot et al., 2008, 2014, 2015 ; Wang, F. et al., 2022)。また、ジャガイモの *Alternaria solani* においても、かねてより SDHI 剤耐性菌が高頻度で確認されている (Gudmestad et al., 2013; Leiminger et al., 2014)。日本では、最近になってブロッコリー黒すす病菌 *A. brassicicola* の SDHI 剤耐性菌の発生が報告されている (Nishimura et al., 2025)。また、海外では *A. alternata* のフルジオキシニル等の低感受性菌が報告されており (Avent・Michailides, 2015)、いずれ国内での発生も予想される。培地検定の標準的手法を、表⑩ 1 にまとめた。

耐性に関与する遺伝子は、他の菌類と同様で、QoI 剤は CytB の G143A の変異が、SDHI 剤では SdhB

(44)

の H278R/Y が主な変異で、これに加え SdhC の H134R、SdhD の H134R の変異が報告されており、変異は、年を追うごとに多様化する方向にある。(Mallik et al. 2014; Beg et al., 2025)。なお、海外では *A. brassicicola* の SDHI 耐性の変異が SdhC の H134R のみであったケースがあり、分離株の多くはボスカリドとペンチオピラドの両方に耐性を示し、フルオピラムに対しては感受性であった (Kaur, N. et al., 2025)。

表① *Alternaria* 属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
ポリオキシシン	19	ポリオキシシン**	MIC・発芽異常 (分生子)	V8 ジュースA	2, 20, 200	25	2, 4	2日後に発芽を観察、4日後に菌叢の生育を調査、200mg/Lで発育(正常発芽) = 耐性, 2,20mg/Lで発育 = 中等度耐性
ジカルボキシイミド	2	イプロジオン**	MIC・発芽異常 (分生子)	V8 ジュースA	5, 50, 100	25	2, 4	2日後に発芽を観察、4日後に菌叢の生育を調査、100mg/Lで発育(正常発芽) = 耐性
QoI	11	アゾキシストロピン クレネキシムメチル	MIC・生育有無 (菌叢ディスク)	PDA*** (PG2-4mM含)	100	25	3	菌叢生育が無添加の80%以上 = 耐性
SDHI	7	ボスカリドほか	MIC・生育の有無 (分生子) EC ₅₀ (菌叢ディスク)	YBA PDA	0.01, 0.1, 1, 10, 50, (100)	25	7	50mg/L以上で生育(耐性)、EC ₅₀ が5mg/L以上で耐性とする事例がある。100mg/Lを超えると高等度耐性。ただし、種や薬剤の種類によって異なる点に注意。

* 対照に薬剤無添加培地も用意する

** ポリオキシシンおよびイプロジオンは、PSA培地を用いた菌叢ディスク法により検定する例がある。

*** 50℃に冷えたPDAにPG (没食子酸-n-プロピル) を2-4mM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。

表② *Alternaria* 属菌の薬剤感受性関連遺伝子

系統	コード	遺伝子	変異	EPPO code	
MBC	1	β-tubulin	167Y	ALTEAL	
QoI	11	CytB	G143A	ALTEAL	
SDHI	7	SdhB	H277Y/L	ALTEAL	
			H278R/L	ALTESO	
		SdhC	H134R	ALTEAL	ALTESO
			A134G	ALTEBI	ALTEBI
		SdhD	D123E	ALTEAL	
			H123E	ALTESO	
		H133R	ALTESO		

参考資料 (web 上で閲覧できるものを中心に選定)

Hori, M. et al. (1976) Mechanism of Polyoxin-Resistance in *Alternaria kikuchiana* J. Pesticide Sci. 1:31-40. <https://doi.org/10.1584/jpestics.1.31>

浅利正義・高橋俊作 (1988) イプロジオン剤耐性リンゴ斑点落葉病菌の発生. 秋田県果樹試験場研究報告 19:13-24. <https://agriknowledge.affrc.go.jp/RN/2010401785>

石井英夫 (1994) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(13)ナシ黒斑病菌・リンゴ斑点落葉病菌. 植物防疫 48:395-401. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/48_09_39.pdf

Avenot, H. F. et al. (2008) Characterization of mutations in the iron-sulphur subunit of succinate dehydrogenase correlating with boscalid resistance in *Alternaria alternata* from California pistachio. Phytopathology 98, 736-742. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-98-6-0736>

對馬由記子 (2009) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル II (22) リンゴ斑点落葉病菌 - QoI 剤

- 一. 植物防疫特別増刊号 (No.12):114-117.
- Gudmestad, N.C. et al. (2013) Prevalence and Impact of SDHI Fungicide Resistance in *Alternaria solani*. *Plant Disease* 97: 952-960. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-12-1176-RE>
- 佐藤 裕 (2013) 秋田県で初確認されたクレソキシムメチル剤耐性リンゴ斑点落葉病菌. *北日本病虫研報* 64 : 118-120. https://doi.org/10.11455/kitanihon.2013.64_118
- Avenot, H. F. et al. (2014) Sensitivities of baseline isolates and boscalid-resistant mutants of *Alternaria alternata* from pistachio to Fluopyram, Penthiopyrad, and Fluxapyroxad. *Plant Dis.*98, 197–205. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-13-0459-RE>
- Leiminger, J. H. et al. (2014) Occurrence of the F129L mutation in *Alternaria solani* populations in Germany in response to QoI application, and its effect on sensitivity. *Plant Pathology* 63:640–650. <https://doi.org/10.1111/ppa.12120>
- Mallik, I. et al. (2014) Molecular characterization and detection of mutations associated with resistance to succinate dehydrogenase-inhibiting fungicides in *Alternaria solani*. *Phytopathology* 104:40–49. <https://doi.org/10.1094/PHTO-02-13-0041-R>
- Zhen Fan, A. et al. (2015) Fitness and Competitive Ability of *Alternaria alternata* Field Isolates with Resistance to SDHI, QoI, and MBC Fungicides. *Plant Disease* 99:1744-1750. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-15-0354-RE>
- Avenot H. F. and Michailides, T. J. (2015) Detection of isolates of *Alternaria alternata* with multiple-resistance to fludioxonil, cyprodinil, boscalid and pyraclostrobin in California pistachio orchards. *Crop Protection* 78: 214-221. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.09.012>
- Wang, F. et al. (2022) Fungicide Resistance in *Alternaria alternata* from Blueberry in California and Its Impact on Control of Alternaria Rot. *Plant Disease* 106:1446-1453. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-21-1971-RE>
- Nishimura, F. et al. (2025) First report of SDHI-fungicide-resistant isolates of *Alternaria brassicicola* from broccoli in Japan. *J Gen Plant Pathol* 91:225–229. <https://doi.org/10.1007/s10327-025-01231-6>
- Beg, M. A. et al. (2025) Fungicide resistance profiles of *Alternaria* spp. associated with fruit rot of blueberry in Georgia, USA. *Front. Plant Sci.* 16:1524586. <https://doi.org/10.3389/fpls.2025.1524586>
- Kaur, N. et al. (2025) Cross-resistance in *Alternaria brassicicola* from naturally infested broccoli seeds against two succinate dehydrogenase inhibitor fungicides. *Appl Environ Microbiol* 91: <https://doi.org/10.1128/aem.01083-25>

⑩卵菌類

ジャガイモ疫病 *Phytophthora infestans*

ウリ類べと病 *Pseudoperonospora cubensis*

ブドウベと病 *Plasmopara viticola*
タマネギベと病 *Peronospora destructor*
イネ苗立枯病（ムレ苗） *Pythium arrhenomanes*
ほか

国内においては、メタラキシルなどのフェニルアמיד系、すなわち PA 殺菌剤の耐性菌が、キュウリベと病（竹内, 1992）、ジャガイモ疫病（堀田・谷井, 1998）、シバピシウム病（一谷ら, 1991）、ブドウベと病（綿打ら, 2010）、イネ苗立枯病（山下ら, 2012）、タマネギベと病（善, 2017）などで発生している。また、QoI 剤ではキュウリベと病（Ishii, 2001 ; 宮本ら, 2017）、ブドウベと病（綿打ら, 2010）などで報告がある。以上が、主要な耐性菌発生事例であるが、その代替剤として使用されている CAA 剤ほかの薬剤についても耐性菌が発生しており、海外では CAA 剤に対してブドウベと病菌、キュウリベと病菌（石井, 2018）の他、近年になってジャガイモ疫病の感受性低下が報告されている（Abule et al., 2023）。また、OSBPI 剤は、海外でブドウベと病菌、ジャガイモ疫病病菌で耐性菌の発生が確認されている（FRAC, WG 報告）。このほか、ジャガイモ疫病病菌のフルアジナム剤の感受性の低下も報告されている（Schepers et al., 2018）。

卵菌類に活性を示す薬剤の系統は限られており、CAA 剤および OSBPI 剤においては耐性菌の発生リスクを減らすため、単剤ではなく混合剤で上市されることが多い。加えて、国内外で使用回数の制限が推奨されるとともに、広範囲なモニタリングが実施されている（FRAC 各 WG）。

薬剤感受性検定は、人工培養ができないべと病菌では、うどんこ病と同様な方法で生物検定が行われており、薬液上に浮遊させたリーフディスクに滴下接種して、感受性が評価される（フローティングディスクアッセイ法）ケースが多い。接種源は「遊走子のう・分生孢子」あるいは「遊走子+遊走子のう」が用いられている（中澤ら, 1994 ; 内山, 2009）。ジャガイモ疫病病菌は培養可能ではあるが、べと病と同様に生物検定することが推奨されており、リーフディスク（Abuley et al., 2023）や塊茎ディスクが用いられる（辻本, 1994）。また、ブドウベと病、タマネギベと病やジャガイモ疫病では、分生孢子あるいは遊走子嚢の発芽や発芽管の伸長阻害の程度で評価されている（FRAC モニタリング報告、佐賀県成果情報その他）。本法は、タマネギなどのリーフディスクのメンテナンスが難しい植物において、特に有用であると考えられる。また、Schepers et al. (2018) は、薬液中 1 ないし 2 時間後の遊走子の運動性の程度でフルアジナム剤の感受性を評価している。

培地検定は、*Pythium* 属菌や生育の早い疫病菌で実施されており（山下ら, 2012; 守川ら, 2013; Miao et al., 2016）、菌叢生育阻止率や EC₅₀ で感受性を評価されているが、培地の種類によって EC₅₀ の数値は異なるので注意が必要である。なお、Miao et al. (2016) は、PDA 上での *Phytophthora capsici* の OSBPI 剤の感受性を EC₅₀ で評価しているが、同時に PA 剤、QoI 剤、CAA 剤、フルアジナム剤の感受性も評価しており、検定する際の濃度設定の参考にされたい。

現時点で、特定濃度での発育の有無で評価する方法は一般化されていない。なお、メタラキシルは、光学異性体の D 体と L 体を等量有するラセミ体であり、D 体のみが殺菌活性を有する。かつて光異性体の混ざった状態の原体であったが、現在は活性体のみを成分（メタラキシル M）として製剤化されている。過去の感受性検定の数値と比較する際には、この点に留意する必要がある。

(47)

表①1 に生物検定、表①2 に培地検定法を例示したが、既往の研究では病原や薬剤の特性、宿主に応じて適した検定方法が選択されており、最新の情報を参考にされたい。

薬剤耐性に関する遺伝子については、QoI 剤、CAA 剤、OSBPI 剤ほかで明らかにされており (表①3)、なかでも QoI 剤は CytB の変異を指標に、遺伝子診断で耐性菌のモニタリングが行われることが多い。CAA については、関与する変異は多様で、病原菌の種類によって異なるが、ジャガイモ疫病では、主に CesA3 の G1105S、キュウリベと病では G1105W の変異が検出されており、生物検定や分生胞子発芽とあわせて遺伝子診断によるモニタリングが実施されている。また、OSBPI 剤においても各種作物の疫病菌、ベと病菌などで調査が進められている (Miao et al., 2018, 2020; Yin et al., 2023; Torriani et al., 2026)。

表①1 卵菌類の薬剤感受性検定 (生物検定)

宿主	薬剤濃度*	葉片の薬剤の処理		分生子 接種法	植物体の保湿	評価基準	
		処理法	接種の前後				
べと病菌 疫病菌	幼苗 リーフディスク (塊茎ディスク)	薬剤の種類に 応じて6段階 程度	短時間浸漬 10sec	前	分生子 懸濁液滴下10μL	0.6%素寒天 保湿ろ紙ほか	発病度 (発病面積率) EC50 (陽害度) MIC
			接種後薬液上 に浮遊	後			

* 予備試験あるいは簡易なモニタリングの場合は、常用濃度、その1/10、(1/100) で調査

表①2 卵菌類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
PA	4	メタラキシルM	EC50 (菌叢ディスク)	PDA CMA V8JA		20~25	3-7	EC50 (ベースライン) を参考 にしつつ、その頻度の分布か ら耐性の有無を判断する
QoI	11	アソキシストロピン	分生胞子、遊走子囊 の発芽程度 (EC50)	蒸留水・井戸水 (マルチプレー ト)	0.01, 0.1, 1, 10, 50 薬剤の種類に応じて変更	15~20	4	発芽管の伸張の有無、程度を 基に、EC50 を算出
CAA	40	ジメトモルフほか						
OSBPI	49	オキサチアピロリン						
その他	29	フルアジナム	MIC 遊走子の運動性			4	1-2hr	例: <i>Phytophthora infestans</i> のフルアジナム耐性菌のMIC は4mg/L以上

* 対照に薬剤無添加培地も用意する

** 培養温度や時間は、菌の種類で異なる

*** QoIの培地検定にはSHAMを添加 (Ma et al., 2018; Lookabaugh et al., 2021)

変異	遺伝子	EPPO code
V1476G	PHYTIN	
P980S	PHYTIN	
F382Y	PHYTIN	
F125L	PHARPA	PLASVI
G134R	PHYTCP	
G143A	PLASVI	
S34L	PLASVI	
D230	PRRTL1	
Q1077K	PHYTCP	
G1105S	PHYTIN	CesA3
G1105S/V	PLASVI	
G1105V/W	PSPECU	
V1109L	PSPECU	
V1109L/M	PHYTCP	
I102V	PHYTMS	
Q952H	PHYTMS	
G1020AV	PHYTMS	
V1025L	PHYTMS	
Q952H	PHYTMS	
G1020AV	PHYTMS	
V1025L	PHYTMS	
I1027V	PHYTMS	
G705V	PSPECU	
L733W	PHYTMS	
S768K	PHYTMS	
S768Y	PHYTCP	
G770V	PHYTIN	
L798W	PSPECU	
N837FL	PHYTIN	
I812F	PSPECU	
PLASVI	<i>Plasmopara viticola</i>	
PSPECU	<i>Pseudoperonospora cubensis</i>	
PHYTCP	<i>Phytophthora capsici</i>	
PHYTDR	<i>Phytophthora drechsleri</i>	
PHYTIN	<i>Phytophthora infestans</i>	
PHYTNZ	<i>Phytophthora melonis</i>	
PHYTMS	<i>Phytophthora sojae</i>	

参考資料 (web 上で閲覧できるものを中心に選定)

- 一谷 多喜郎, 藤井 久美, 反保 宏行, 谷 利一 (1991) コウライシバに 2 種類の病害を起こす *Pythium vanterpoolii* のメタラキシル剤耐性化. 芝草研究 20 : 33-40.
<https://doi.org/10.11275/turfgrass1972.20.33>
- 竹内妙子 (1992) 千葉県におけるフェニルアמיד耐性キュウリベと病菌の発生状況とメタラキシル等の効果. 関東東山病虫研報 39 : 1-93. <https://doi.org/10.11337/ktpps1954.1992.91>
- 中澤靖彦・黒沢美保子・大塚範夫 (1994) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(7)キュウリベと病菌. 植物防疫 48(2):86-89. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/48_02_36.pdf
- 辻本一幸 (1994) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(8)ジャガイモ疫病菌及び各種作物のピシウム病. 植物防疫 48(3):141-144. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/48_03_49.pdf
- 堀田治邦・谷井 昭夫 (1998) 日本におけるフェニルアמיד系殺菌剤耐性のジャガイモ疫病菌 (*Phytophthora infestans*) の発生. 北海道立農試集報. 74, 19-26.
<https://agriknowledge.affrc.go.jp/RN/2010571687>
- Ishii, H. et al. (2001) Occurrence and Molecular Characterization of Strobilurin Resistance in Cucumber Powdery Mildew and Downy Mildew. Phytopathology. 91 : 1166-1171.
<https://doi.org/10.1094/PHTO.2001.91.12.1166>
- 内山景子 (2009) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル II (10) キュウリベと病菌 —QoI 剤 (生物検定) — 植物防疫特別増刊号 (No.12):53-55.
- 石井英夫 (2009) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル II (10) キュウリベと病菌 —QoI 剤 (PCR) — 植物防疫特別増刊号 (No.12):56-57.
- 三谷 滋 (2009) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル II (10) キュウリベと病菌 —シアゾファミド剤— 植物防疫特別増刊号 (No.12):58-60.
- 白石 慎 (2009) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル II (10) キュウリベと病菌 —シモキサニル剤— 植物防疫特別増刊号 (No.12):61-65.
- 熊倉和夫 (2009) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル II (10) キュウリベと病菌 —ベンチアガリカルブイソピル剤— 植物防疫特別増刊号 (No.12):66-68.
- 鈴木俊二・青木是直 (2011) 我が国における QoI 剤耐性ブドウベと病菌の発生実態. 植物防疫 65(11):640-644. https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/65_11_20.pdf
- 山下 亨, 戸田 武, 和田 美佐, 武田 和男 (2012) 長野県における *Pythium arrhenomanes* によるイネ苗立枯病の発生とメタラキシルに対する薬剤感受性. 関東東山病虫研報 59 : 127-130.
<https://doi.org/10.11337/ktpps.2012.127>
- 守川俊幸ら (2013) 富山県における *Pythium arrhenomanes* によるイネ苗立枯病の発生と発病特性. 北陸病虫研報 62:7-11. <https://hokuriku-byochu.sakura.ne.jp/apph/files/articles/62/620711.pdf>
- Aoki, Y. et al. (2015) Monitoring of a single point mutation in the PvCesA3 allele conferring resistance to carboxylic acid amide fungicides in *Plasmopara viticola* populations in

- Yamanashi Prefecture, Japan. Plant Health Prog. 16:84-87. <https://doi.org/10.1094/PHP-RS-14-0041>
- Miao, J. et al. (2016) Resistance assessment for oxathiapiprolin in *Phytophthora capsici* and the detection of a point mutation (G769W) in PcORP1 that confers resistance. Front. Microbiol. 7:615. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00615>
- 中澤 佳子ら (2017) 栃木県における QoI 剤耐性遺伝子型 G143A を持つキュウリベと病菌およびブドウベと病菌の発生. 関東東山病虫研報 64 : 30-32. <https://doi.org/10.11337/ktpps.2017.30>
- 宮本拓也ら (2017) 茨城県におけるメロンうどんこ病菌, つる枯病菌およびベと病菌の各種薬剤に対する耐性菌の発生状況. 茨城農総合セ園研報 23: 17-25.
<https://agriknowledge.affrc.go.jp/RN/2010911683>
- 鈴木俊二 (2017) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル 2016 (14) カルボン酸アミド系薬剤耐性ブドウベと病菌 (*Plasmopara viticola*). 植物防疫 71(3):176-179.
https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/71_03.pdf#page=48
- 鈴木俊二 (2017) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル 2016 (15) QoI 剤 (ストロビルリン系薬剤) 耐性ブドウベと病菌 (*Plasmopara viticola*). 植物防疫 71(3):180-181.
https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/71_03.pdf#page=52
- 綿打享子 (2017) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル 2016 (18) ブドウベと病-フェニルアミド剤 (メタラキシル M) (生物検定) - QoI 剤 (生物検定) - 植物防疫 71(6):416-421.
https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/71_06.pdf#page=52
- 瀧井康子・阿部ゆずか (2017) 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル 2016 (19) ブドウベと病-QiI 剤 (生物検定)・シアゾファミド剤- 植物防疫 71(6):422-425.
https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/71_06.pdf#page=58
- 善正二郎・菅蒲信一郎 (2017) 2016 年の佐賀県におけるタマネギベと病の発生状況と今後の防除対策について. 植物防疫 71(4):264-268.
https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/71_04.pdf#page=60
- 石井英夫 (2018) CAA 系薬剤耐性菌と薬剤使用ガイドライン. 植物防疫 72(6):373-378.
https://www.jppa.or.jp/archive/pdf/72_06.pdf#page=31
- Miao, J. et al. (2018) Mutations in ORP1 Conferring Oxathiapiprolin Resistance Confirmed by Genome Editing using CRISPR/Cas9 in *Phytophthora capsici* and *P. sojae*. Phytopathology 108(12):1412-1419. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-108-1412>
- Schepers, H.T.A.M. et al. (2018) Reduced efficacy of fluazinam against *Phytophthora infestans* in the Netherlands. Eur J Plant Pathol 151:947-960. <https://doi.org/10.1007/s10658-018-1430-y>
- Dicheng Ma, D. et al. (2018) Detection and Characterization of QoI-Resistant *Phytophthora capsici* Causing Pepper Phytophthora Blight in China. Plant Disease 105:1640-1647.
<https://doi.org/10.1094/PDIS-01-18-0197-RE>
- Miao, J. et al. (2020) Multiple point mutations in PsORP1 gene conferring different resistance

- levels to oxathiapiprolin confirmed using CRISPR–Cas9 in *Phytophthora sojae*. Pest Manag Sci 76(7):2434–2440. <https://doi.org/10.1002/ps.5784>
- Lookabaugh, E.C. et al. (2021) Evaluating Fungicide Selections to Manage Pythium Root Rot on Poinsettia Cultivars with Varying Levels of Partial Resistance. Plant Dis:105(6):1640-1647. <https://doi.org/10.1094/pdis-04-20-0807-re>
- Abuley, I. K. et al. (2023) The EU43 genotype of *Phytophthora infestans* displays resistance to mandipropamid. Plant Pathol. 72:1305-1313. <https://doi.org/10.1111/ppa.13737>
- Yin, Y. et al. (2023) Fungicide Resistance: Progress in Understanding Mechanism, Monitoring, and Management. Phytopathology 113:707-718. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-10-22-0370-KD>
- Aoki, Y and Suzuki, S. (2025) Fungicide Resistance Dynamics: Knowledge from Downy Mildew Management in Japanese Vineyards. Agriculture 15(7),714. <https://doi.org/10.3390/agriculture15070714>
- Kaur A, Mullins E, Kildea S. (2025) Detection of resistance in *Phytophthora infestans* to the carboxylic acid amide (CAA) fungicides using digital droplet PCR. Pest Manag Sci. Oct;81(10):6295-6302. <https://doi.org/10.1002/ps.70015>
- Torriani, S.F.F. et al. (2026) New Mechanisms of Resistance to CAA and OSBPI Fungicides in *Phytophthora infestans*. Plant Pathology 75: . <https://doi.org/10.1111/ppa.70086>

4) 参考情報の取りまとめ

殺菌剤感受性検定の経験が浅い技術者が、業務に取り組みやすいよう関連する情報を以下のように取りまとめた。

(1) 文献・技術情報

web上に公表されている文献、レポート、成果情報等とし、検定法として特に参考になるものが分かるようにExcel上で編纂した。

- ・専門誌に掲載されている文献・レポート・マニュアル(図5、a、b)
- ・都道府県が提供している主要成果情報、病害虫防除所情報(図5、c)

(2) 検定法のノウハウ

- ・薬剤感受性検定の考え方、技術的なノウハウをマニュアルとして作成した(図6)。

以上は、今後、殺菌剤耐性菌研究会と連携し、日本植物防疫協会のHP等で公開するとともに、情報の随時更新を行い、広く活用を図る予定である。

植物防疫アーカイブ https://www.jpfa.or.jp/archive/					
対象	著者	年	題名	巻号	URL
Pyricularia	深谷道夫	1993	植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(2)イネいもち病菌	47(7):324-328	https://www.jpfa.or.jp/archive/pdf/47_07_40.pdf
Fusarium	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	47(8):376-380	https://www.jpfa.or.jp/archive/pdf/47_08_34.pdf
Fusarium	宮島邦之・中澤靖彦	1993	植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(4)コムギ赤かび病菌・うどんこ病	47(9):428-432	https://www.jpfa.or.jp/archive/pdf/47_09_38.pdf
うどんこ病	宮島邦之・中澤靖彦	1993	植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(4)コムギ赤かび病菌・うどんこ病	47(9):428-432	https://www.jpfa.or.jp/archive/pdf/47_09_38.pdf
黒腥病菌	竹内 徹	1993	植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(5)コムギ黒腥病菌	47(10):468-471	https://www.jpfa.or.jp/archive/pdf/47_10_36.pdf
Botrytis	木曾 隆	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	48(1):42-46	https://www.jpfa.or.jp/archive/pdf/48_01_42.pdf
べと病	中澤靖彦・黒沢美保子	1994	植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(7)キュウリべと病	48(2):86-89	https://www.jpfa.or.jp/archive/pdf/48_02_36.pdf
疫病	辻本一幸	1994	植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(8)ジャガイモ疫病及び各種	48(3):141-144	https://www.jpfa.or.jp/archive/pdf/48_03_141.pdf
炭疽病菌	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)野菜類炭疽病菌・つる枯	48(4):179-184	https://www.jpfa.or.jp/archive/pdf/48_04_179.pdf
つる枯病菌	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)野菜類炭疽病菌・つる枯	48(4):179-184	https://www.jpfa.or.jp/archive/pdf/48_04_179.pdf
Corynespora	狭間 渉・中澤靖彦・大	1994	植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(10)野菜類抱卵菌(黒枯病)	48(6):267-272	https://www.jpfa.or.jp/archive/pdf/48_06_267.pdf
うどんこ病	狭間 渉・中澤靖彦・大	1994	植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(10)野菜類抱卵菌(黒枯病)	48(6):267-272	https://www.jpfa.or.jp/archive/pdf/48_06_267.pdf
細菌	松嶋正文・林 直夫	1994	植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(11)野菜類細菌病・コシ	48(7):310-312	https://www.jpfa.or.jp/archive/pdf/48_07_310.pdf
細菌	尾形 正・小泉綾雨	1994	植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(12)モモせん孔細菌病・ナ	48(8):350-353	https://www.jpfa.or.jp/archive/pdf/48_08_350.pdf
Alternaria	石井英夫	1994	植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(13)ナシ黒斑病・リンゴ	48(9):395-401	https://www.jpfa.or.jp/archive/pdf/48_09_395.pdf
Ventria	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	48(10):442-444	https://www.jpfa.or.jp/archive/pdf/48_10_38.pdf
Ventria	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	48(10):442-444	https://www.jpfa.or.jp/archive/pdf/48_10_38.pdf
Penicillium	外前正之・深谷道子	1995	植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(15)リンゴ黒星病	48(12):524-526	https://www.jpfa.or.jp/archive/pdf/48_12_32.pdf

学術雑誌ほか					
対象	著者氏名	年	掲載論文題名	掲載誌名	巻 号
Botrytis	大森 真子ら	2019	栃木県におけるトマト、イチゴの灰色かび病の薬剤感受性	関東圏山産物学会誌	66 7 11
Botrytis	川上 拓ら	2019	トマト栽培圃場における灰色かび病の主要病原菌に対する耐性菌の発生	病害虫防除研究報告	61 15 22
小島一輝ら	2021	灰色かび病の感染源となるイチゴとイチゴ畑に隣接する畑内トマト葉	病害虫防除研究報告	63 109 113	
岩田 義孝ら	2022	大分県におけるイチゴ灰色かび病の病原菌の検出	病害虫防除研究報告	68 36 43	
Ayumi Notsu et al.	2022	Distribution of benzimidazole-resistant strains of the onion gray-rot pathogen, Botrytis aclada and Botrytis allii, in	Journal of General Plant Pathology	87 249 253	
藤藤雅明ら	2022	秋田県におけるQoI耐性アシタバカス抱卵菌の発生	病害虫防除研究報告	73 19 22	
Cercospora	Miyuki Kayamori et al.	2020	First report of QoI resistance in Cercospora beticola in sugar beet in Japan	Journal of General Plant Pathology	86 149 153

防除所情報・成果情報					
対象	作物名	病名	自治体	技術情報	URL, doi
Botrytis cinerea	キュウリ、トマト	灰色かび病	宮城県	c	05sankou23.pdf (pref.miyagi.jp)
Botrytis cinerea	トマト、イチゴ	灰色かび病	栃木県	c	https://www.pref.tochigi.lg.jp/q59/boujo/documents/2018-vasai-hairokabi2.pdf
Botrytis cinerea	果菜類(トマト、イチゴ)	灰色かび病	三重県	c	https://www.pref.mie.lg.jp/common/content/000672274.pdf
Botrytis cinerea	果菜類(トマト、イチゴ)	灰色かび病	三重県	c	https://www.pref.mie.lg.jp/common/content/000871044.pdf
Botrytis cinerea	果菜類(トマト、イチゴ)	灰色かび病	三重県	c	https://www.pref.mie.lg.jp/common/content/001123798.pdf
Botrytis cinerea	トマト	灰色かび病	岡山県	c	https://www.pref.okayama.jp/uploaded/life/623117_5201276_misc.pdf
Cercospora asparagi	アスパラガス	抱卵病	秋田県	c	https://www.pref.akita.lg.jp/uploads/public/archive_0000063669_00/RO3_%E5%AE%9F%E7%94
Cercospora asparagi	アスパラガス	抱卵病	岡山県	c	https://www.pref.okayama.jp/uploaded/life/864045_8209294_misc.pdf
Cercospora kikuchii	ダイズ	葉斑病	秋田県	c	https://www.pref.akita.lg.jp/uploads/public/archive_1400063669_00/RO3_%E5%AE%9F%E7%94
Colletotrichum	イチゴ	炭疽病	宮城県	c	https://www.pref.miyagi.jp/documents/2020/256498.pdf
Colletotrichum fructicola	イチゴ	炭疽病	栃木県	c	http://www.pref.tochigi.lg.jp/q59/boujo/documents/2019-ichigo-tanso.pdf
Colletotrichum zingivae	ブドウ	炭疽病	長崎県	c	https://www.pref.nagasaki.lg.jp/e-nourin/nousu/JPP/pdf/kensu/26budoibanbanpakentse.pdf
Colletotrichum fructicola	イチゴ	炭疽病	岡山県	c	https://www.pref.okayama.jp/uploaded/life/726333_6598887_misc.pdf
Colletotrichum gloeosporioides	ナシ	炭疽病	栃木県	c	http://www.pref.tochigi.lg.jp/q59/boujo/documents/2022-nashi-tanso-hyo.pdf
Colletotrichum gloeosporioides	イチゴ	炭疽病	佐賀県	c	https://www.pref.saga.lg.jp/kiji/00385836/3_85836_240875_up_accipuen.pdf
Colletotrichum spp.	ブドウ	炭疽病	佐賀県	c	https://www.pref.saga.lg.jp/kiji/00380591/3_80591_205655_up_206e1m53.pdf
Corynespora cassicola	キュウリ	抱卵病	秋田県	c	https://www.pref.akita.lg.jp/uploads/public/archive_0000009422_00/H26-

a:「植物防疫アーカイブ」から抽出

b:学術雑誌から選定

c:都道府県の公開情報

図5 薬剤感受性検定に関する情報をリスト化(一部抜粋)

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
検定の基礎
 ・適切な作業のために
設計
 ・十分なサンプリングや、検定法が異なる
方法 (目的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 **多発要因の解析**
 気象、伝染源、耕種、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 (病害の解析、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
 ・代替菌の検出、虫害との混入など
 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)
 ※ 少ない検定の検出、比率を知る→数を優先
 ▶ 初期時→精度、後かきを優先
 ※ まずは対応→迅速性を優先
 ・検定薬剤の選定 (見解、肥料、代替菌)
 ・作業の時期 (情報収集の時期に合わせる)
 ・実施試験 (耐性菌報告書では、必須)
 (ケースによっては、代替菌の試験を同時で行う必要がある)

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
 b. 地域における新たな耐性発生を知りたい場合
 ※ 耐性発生後の検定が重要
 ○ 偏りなく多点→菌株数
 ○ 未然に防ごうとの取り組みも必要
 ○ 過去の調との対比性を考慮
 c. 多発する病害の発生による考えられる原因
 ※ まずはエビデンスを確保、同時に情報収集
 検定・対比調査 → 広域調査
 ○ 段階的、2つの両面を説明

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)**
 増培 (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)**
 増培 (植物) 上で菌の生育量が50%阻害される濃度のこと
 (菌量一定の条件下での測定) ※ 菌量一定の条件下での測定のため、
 菌量の測定がEC50値を参考に、それを生育阻止濃度と見做す必要がある
 c **菌量生育阻止率**
 特定の濃度の薬剤を添加した増培における生育阻止率 (対比無添加増培)
 (菌量一定の条件下での測定) ※ 生育阻止率から菌量を測定できる濃度を決定し、
 その濃度から検定する。ただし、**発育抑制が不十分、結果の信頼性が低い**
 d **遺伝子診断**
 薬剤耐性に係る遺伝子の発現の有無を検出 (PCR-RFLP、シーケンスほか)
 (特定されている遺伝子発現以外の薬剤耐性がない、生物学的性質を把握できない)

5 検定地の準備と実施

1) **検地は可能な限り市販品を使用する**
 例: PDA、糖蜜寒天培地 (BD-difco、ニッセイ等)
 ※ 再現性の高い結果が得られる (自作培地は同じ結果にならないケースあり)
 ・ pHの調整が必要
 ・ 作業時間の短縮が図れる
 ①-1 感受性低下が確認された場合
 ▶ 多発要因を解析し、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るため、**検定系に誘導**
 ①-2 感受性低下が確認されなかった場合
 ▶ 必要に応じて検定数を増やし適切な検定法を評価
 広域的な調査、代替薬剤も含めた感受性検定
 耕種的な対策と耐性菌対策を考慮する
 ※ **関係者の協力的な作業、情報の共有**
 ※ **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**

その他の検定 (参考)
 農業生物資源センター (微生物取り扱いマニュアル・増培調整法)
https://www.gene.affrc.go.jp/manuals-micro_media.php

6 検定地の準備と実施 (続き)

① **検地は可能な限り市販品を使用する**
 例: PDA、糖蜜寒天培地 (BD-difco、ニッセイ等)
 ※ 再現性の高い結果が得られる (自作培地は同じ結果にならないケースあり)
 ・ pHの調整が必要
 ・ 作業時間の短縮が図れる
 ①-1 感受性低下が確認された場合
 ▶ 多発要因を解析し、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るため、**検定系に誘導**
 ①-2 感受性低下が確認されなかった場合
 ▶ 必要に応じて検定数を増やし適切な検定法を評価
 広域的な調査、代替薬剤も含めた感受性検定
 耕種的な対策と耐性菌対策を考慮する
 ※ **関係者の協力的な作業、情報の共有**
 ※ **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**

7 検定地の準備と実施 (続き)

① **検地は可能な限り市販品を使用する**
 例: PDA、糖蜜寒天培地 (BD-difco、ニッセイ等)
 ※ 再現性の高い結果が得られる (自作培地は同じ結果にならないケースあり)
 ・ pHの調整が必要
 ・ 作業時間の短縮が図れる
 ①-1 感受性低下が確認された場合
 ▶ 多発要因を解析し、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るため、**検定系に誘導**
 ①-2 感受性低下が確認されなかった場合
 ▶ 必要に応じて検定数を増やし適切な検定法を評価
 広域的な調査、代替薬剤も含めた感受性検定
 耕種的な対策と耐性菌対策を考慮する
 ※ **関係者の協力的な作業、情報の共有**
 ※ **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 計測、判定

MIC:
 ○ 移植した寒天ディスクからの発育の有無を判定

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

遺伝子診断:
 ○ 増培した菌の増殖を測定し、その平均値から菌量ディスク径を
 除した数値を算出

9 検定地の準備と実施 (続き)

① **検地は可能な限り市販品を使用する**
 例: PDA、糖蜜寒天培地 (BD-difco、ニッセイ等)
 ※ 再現性の高い結果が得られる (自作培地は同じ結果にならないケースあり)
 ・ pHの調整が必要
 ・ 作業時間の短縮が図れる
 ①-1 感受性低下が確認された場合
 ▶ 多発要因を解析し、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るため、**検定系に誘導**
 ①-2 感受性低下が確認されなかった場合
 ▶ 必要に応じて検定数を増やし適切な検定法を評価
 広域的な調査、代替薬剤も含めた感受性検定
 耕種的な対策と耐性菌対策を考慮する
 ※ **関係者の協力的な作業、情報の共有**
 ※ **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**

10 計測、判定 (続き)

MIC:
 ○ 移植した寒天ディスクからの発育の有無を判定

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

遺伝子診断:
 ○ 増培した菌の増殖を測定し、その平均値から菌量ディスク径を
 除した数値を算出

11 計測、判定 (続き)

MIC:
 ○ 移植した寒天ディスクからの発育の有無を判定

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

遺伝子診断:
 ○ 増培した菌の増殖を測定し、その平均値から菌量ディスク径を
 除した数値を算出

12 計測、判定 (続き)

MIC:
 ○ 移植した寒天ディスクからの発育の有無を判定

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

遺伝子診断:
 ○ 増培した菌の増殖を測定し、その平均値から菌量ディスク径を
 除した数値を算出

13 計測、判定 (続き)

MIC:
 ○ 移植した寒天ディスクからの発育の有無を判定

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

遺伝子診断:
 ○ 増培した菌の増殖を測定し、その平均値から菌量ディスク径を
 除した数値を算出

14 計測、判定 (続き)

MIC:
 ○ 移植した寒天ディスクからの発育の有無を判定

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

遺伝子診断:
 ○ 増培した菌の増殖を測定し、その平均値から菌量ディスク径を
 除した数値を算出

15 計測、判定 (続き)

MIC:
 ○ 移植した寒天ディスクからの発育の有無を判定

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

遺伝子診断:
 ○ 増培した菌の増殖を測定し、その平均値から菌量ディスク径を
 除した数値を算出

16 計測、判定 (続き)

MIC:
 ○ 移植した寒天ディスクからの発育の有無を判定

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

遺伝子診断:
 ○ 増培した菌の増殖を測定し、その平均値から菌量ディスク径を
 除した数値を算出

17 計測、判定 (続き)

MIC:
 ○ 移植した寒天ディスクからの発育の有無を判定

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

遺伝子診断:
 ○ 増培した菌の増殖を測定し、その平均値から菌量ディスク径を
 除した数値を算出

18 計測、判定 (続き)

MIC:
 ○ 移植した寒天ディスクからの発育の有無を判定

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

遺伝子診断:
 ○ 増培した菌の増殖を測定し、その平均値から菌量ディスク径を
 除した数値を算出

19 計測、判定 (続き)

MIC:
 ○ 移植した寒天ディスクからの発育の有無を判定

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

遺伝子診断:
 ○ 増培した菌の増殖を測定し、その平均値から菌量ディスク径を
 除した数値を算出

20 計測、判定 (続き)

MIC:
 ○ 移植した寒天ディスクからの発育の有無を判定

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

遺伝子診断:
 ○ 増培した菌の増殖を測定し、その平均値から菌量ディスク径を
 除した数値を算出

図 6 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、地域の研究者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にしたものではない。このため、実際に調査を行う際には、これを参考にしつつ、それぞれの判断が必要に応じて

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はできない。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。なお、代替剤が乏しいなか、耐性菌対策とは代替剤を選ぶことが主な目的ではなく、耐性菌の発達あるいは被害を未然に防ぐことにあり、そのマネジメント(仕組みの構築、関係者の誘導)の道具としてこのモニタリングが機能し、目指すゴールに貢献することを願う(図1)。

- × 感受性をモニタリング ▶ 使用薬剤の変更
- 耐性菌マネジメント(適切な薬剤の使用・ストラテジー) ▶ その効果をモニタリング

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、有害な耐性菌かどうかは生物検定でないと判断できず、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お礼申し上げます。

1. 背景と目的

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に基づいた植物防疫事業交付金により、各都道府県では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って農業者団体等の関係者に情報共有するものとされており、令和4年度には、全国で殺菌剤と殺虫剤合わせて計 872 件の薬剤感受性検定が行われている。

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標準的な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、薬剤感受性検定の精度を統一して発生予察事業の調査実施基準に取り入れることにより、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こととした。

令和6年度には、全国で実施されている薬剤感受性検定の手法についてのアンケート調査と文献調査を行い、検定実施数が多く重要と目される病害虫各5種の簡便な標準的検定法を取りまとめて報告した。本年度は、新たに病害虫各5種について簡便な標準的検定法を取りまとめる。

2. 調査方法

令和4年度の植物防疫事業交付金によって都道府県で実施された薬剤感受性検定で件数が多く、また令和6年度の本事業で実施したアンケート調査でも検定件数が多かった害虫の内、昨年度実施した5種を除く害虫について、防除対象としての重要性及び害虫グループのバランスを考慮して選定した下記5種(類)の害虫について、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。

- ・斑点米カメムシ類
- ・ワタアブラムシ
- ・コナカイガラムシ類
- ・チャノキイロアザミウマ
- ・ナミハダニ

3. 専門有識者による中間検討

取りまとめにあたり、以下の要領で開催した中間検討会において報告書(案)を提示し、外部評価委員、有識者並びにオブザーバーからいただいた意見を元に、検定基準の見直しなど、報告書の内容修正と追記を行った。また、今後さらに検定法の策定が望まれる害虫種についても提言をいただいた。これについては、5. 今後の課題で報告する。

令和7年度中間検討会(殺虫剤)

開催日時:2025年12月24日(水)9時30分~12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:秋田県立大学 栢森美如*、静岡県農林技術研究所 増井伸一*、日本農薬株式会社 寺本 健*

有識者:奈良県病害虫防除所 井村岳男*、静岡県病害虫防除所 内山 徹*

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、J IRAC (CLJapan) / パイエルクロップライフサイエンス株式会社 中倉紀彦

受託者:(一社)日本植物防疫協会 富田恭範、野田隆志、高梨祐明、舟木勇樹

*はオンラインにて参加

4. 調査結果

＜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7年度新規分)＞

令和4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、昨年度実施した指定有害動植物を対象としたアンケート回答から抜粋して種ごとに取りまとめ、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。以下では、まず検定を実施するにあたって念頭に置くべき共通事項について本報告における考え方を示し、次いで各害虫種毎に推奨する検定手法を取りまとめる。

・薬剤感受性検定手法について

殺虫剤の感受性検定(生物検定)で用いられる手法は、大きく分けると局所施用法、虫体浸漬／散布法、食餌浸漬／散布法、虫体・食餌浸漬／散布法があり、やや特殊な手法としてドライフィルム法、パラフィルム法、浸根法などがある。このうち、簡便かつ適用範囲の広い手法は、虫体浸漬法、食餌浸漬法(人工飼料を含む)、虫体・食餌散布法の3つであり、本報告書で推奨する手法も主にこれら3つの中から選定する。

・推奨する検定法の適用の範囲について

殺虫剤の作用特性(経皮毒性か経口毒性か、即効性か遅効性か、浸透移行性・浸達性の有無など)により、単一の検定法ではすべての殺虫剤をカバーできないことに留意すべきである。これらの点については、各害虫種の推奨する検定法の中で個別に述べる。

・展着剤の使用について

薬剤感受性検定に関する文献では、薬剤の希釈に際して展着剤を加用している例が多く見られる。展着剤の加用は、表面張力を下げて薬剤の付着性を高めることにより、効果のばらつきを減少させて検定結果の再現性を高める点で利点があるが、異なる試験場所の検定結果を比較する場合には、使用する展着剤の種類が変わると比較評価が難しくなる。本報告では、原則として

(57)

展着剤を加用しないこととするが、薬液の付着性が良くない植物(キャベツや、ネギなど)では0.01～0.05%の Tween20 を加用することを推奨する。非イオン性界面活性剤である Tween20 は、殺虫活性がほぼないことが特徴で、バイオアッセイ等で広く使われている。同じく非イオン性界面活性剤であるトリトン X-100 も薬剤感受性検定の展着剤として使用されているが、生体膜に作用する特性を有しており、濃度によっては対照区の死亡率を上昇させる可能性があるため、ここでは使用を推奨しない。

・希釈倍数について

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。このため希釈倍数は常用濃度のみとする。農薬登録されている希釈倍数に幅があり、1濃度しか試験を行わない場合は原則として低濃度とする。これは、生産現場で使用される希釈濃度が、薬量(薬剤費)を軽減する経済的観点から低濃度が主体となることが推測されるからである。

・補正死虫率について

効果判定には、原則として Abbott(1925)の補正式(下記)による補正死虫率を採用するが、対照区(無処理区)の死虫率が高い場合は検定手順のどこかが適切ではなかった可能性が高い。WHO、OECD、IRAC 等で行われる殺虫効果試験では、対照区の死虫率が 20%を超えた場合は、結果の妥当性に疑問が生じるため、データの再検討や検定のやり直しを行うべきであるとされている。また一般に、対照区の死亡率が 5%未満の場合には補正の必要はないとされているが、結果の比較を適切に行うために、本報告で推奨する検定法では必ず補正を行うこととしたい。

$$\text{補正死虫率(\%)} = \frac{\text{対照区生存虫率} - \text{処理区生存虫率}}{\text{対照区生存虫率}} \times 100$$

または

$$\text{補正死虫率(\%)} = \frac{\text{処理区死虫率} - \text{対照区死虫率}}{100 - \text{対照区死虫率}} \times 100$$

(いずれも計算結果は同じ)

・検定容器について

検定容器については一部の害虫では具体的に図を示したが、詳細については検定手法の参考とした文献を参照されたい。検定容器の多くはプラスチックシャーレやスチロール瓶、試験管をそのまま、あるいは加工して用いられている。注意すべき点は検定中に供試虫が逃亡しないこと、過湿または過乾燥により、対照区の死虫率が高くなり過ぎないように適度の通気性を確保することである。

(58)

・散布器具について

虫体散布には従来、回転式薬剤散布塔(みずほ理化学器機店)が使われていた。この装置は単位面積当たりの薬液付着量を一定に出来る利点があるが、既に製造・販売が中止となっており、新たに入手することは困難である。回転式散布塔が使用可能ならば、引き続きこれを使用していたきたいが、使えない場合は代替法としてエアブラシ法(図1:國本ら、2017)の使用を推奨する。本法については、使用する器材の入手が容易でかつ安価であり、アンケート調査でも栃木県、静岡県、奈良県でナミハダニを対象として実績報告がある。適用範囲については今後の検討が必要であるが、本報告で取り上げたコナカイガラムシ類等では利用可能と思われる。なお國本・今村(2017)によると、ナミハダニを対象に虫体浸漬法とエアブラシ散布法とで効果を比較した試験で、補正死虫率が大きく異なる薬剤があり、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。なおハンドスプレーも利用可能であるが、散布量を一定にするのが難しいため工夫と習熟が必要と思われる。

- 1) 國本・今村(2017) 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(2017) 回転式散布塔に代わる散布装置の構築. 応動昆 61:192-194.



図1. 回転式散布塔に代わるエアブラシ装置(國本ら、2017を改変).

以下に各害虫種について、アンケートで回答された種ごとの検定実施内容と文献調査で使用されていた検定手法により、本報告で推奨する薬剤感受性検定法を示す。策定にあたっては出来るだけ簡便な手法を採用したが、薬剤感受性検定の目的や殺虫剤の作用特性によっては推奨する検定法が適用出来ない場合も想定される。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、食餌浸漬法は適さない。そのため一部代替法も提案した。検定までに

(59)

要する世代については、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、出来るだけ当世代(0 世代)を供試することが望ましい。当世代が無理な場合も採集から検定までの世代数は長くても2 世代まで(出来るだけ1 世代まで)とする。

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末尾に付し、推奨する検定法には具体的手順の参考となる文献を紹介した。また全参考文献の PDF ファイルを本報告書に別添する。

1) 斑点米カメムシ類

斑点米カメムシ類は、出穂期のイネを加害して部分着色粒を生じさせる。部分着色粒の混入率が 0.1%(1000 粒に1 粒)を超えると2等米へ、0.3%を超えて混入すると3等米へ、さらに0.7%を超えて混入すると規格外に落等するため、低密度でも防除が必要な害虫である。また近年イネカメムシによる被害が増えている。イネカメムシは斑点米を生じさせることに加えて、出穂期に籾の基部を加害することで不稔米を発生させることがある。本種はかつてイネの主要害虫であったが、イネ栽培の早期化と化学合成殺虫剤の普及により一時はほとんど被害が問題にならなくなっていた。しかし、2010 年頃から再び各地で被害が報告されるようになり、近年は北日本を除く各地で斑点米や不稔の問題が拡大している。その原因としては、作期分散によりイネカメムシに好適な出穂直後のイネが長期間ほ場に存在していることと、気温の上昇により発育速度が速まっていることが示唆されており、適期防除の重要性が高まっている。本項では、アンケート調査と文献情報に基づき、イネカメムシを含む斑点米カメムシ類の簡便な薬剤感受性検定法について取りまとめた。

表1-1に令和6年度に行った都道府県薬剤感受性検定アンケート調査で、斑点米カメムシ類に関して回答があった10 県の情報を取りまとめた。虫の種類別では、イネカメムシについて茨城県から12 件、愛知県から5 件、三重県から16 件、愛媛県から10 件の報告があり、検定法は虫体浸漬法(茨城、愛知、三重、愛媛)、稲体散布法(茨城、愛知)、食餌浸漬法(三重)で、虫体浸漬法が一番多かった。発育ステージはすべて成虫で、補正死虫率による判定日数は、虫体浸漬と稲体散布では3日(72時間)、食餌浸漬では7日が主であった。アカスジカスミカメについては、秋田県から9 件、新潟県から10 件、静岡県から8 件、滋賀県から5 件の報告があり、検定法は虫体浸漬法(静岡)、コムギ幼苗を用いた食餌浸漬法(秋田、新潟、静岡)、局所施用法(秋田、新潟)、虫体散布法(滋賀)で食餌浸漬法が多かった。発育ステージはすべて成虫で、補正死虫率またはLD50による判定日数は3日であった。アカヒゲホソミドリカスミカメについては、秋田県から9 件、山形県から1 件、新潟県から14 件、滋賀県から5 件の報告があり、検定法はコムギ幼苗を用いた食餌浸漬法(秋田)、局所施用法(秋田、山形、新潟)、虫体散布法(滋賀)で局所施用法が多かった。発育ステージはすべて成虫で、補正死虫率またはLD50による判定日数は3日であった。クモヘリカメムシについては、茨城県から5 件、滋賀県から5 件、鹿児島県から10 件の報告があり、検定法は虫体浸漬法(茨城、鹿児島)、葉片(イネ)浸漬法(鹿児島)、虫体散布法(滋賀)が用いられていた。発育ステージはすべて成虫で、補正死虫率による判定日数は2日または3日であった。この他、トゲシラホシカメムシ(滋賀県から5 件:虫体散布法)、ホソハリカメムシ(滋賀県から5 件:虫体散布法)の報告があった。

(60)

検定法について文献調査を行ったところ、イネを加害するカメムシ類の薬剤感受性検定としては、局所施用法、ドライフィルム法、虫体浸漬法、稲体(食餌)浸漬法、稲体散布法など多様な手法が提唱されており(清水、1997)、斑点米カメムシ類については、虫体浸漬法(文献 5、11、12、13、14)、食餌浸漬法(文献 2、4、6、7、8)、虫体散布法(文献 7、9)、局所施用法(文献 1、2、4、8、15)が用いられていた。また大型のミナミアオカメムシについて稲体散布法(文献 11)やベルジャーダスター法(粉剤;文献 12)を使用した報告があった。

各種の検定法の中で、虫体浸漬法は簡便であるが遅効性の殺虫剤の検定は行えず、食餌浸漬法はコムギ幼苗などの検定用植物を準備する必要があるものの遅効性の剤も検定可能である。また局所施用法は、特定の殺虫剤に関する感受性低下を精密に調べることが出来るが、マイクロアプリケーションや検定を行う薬剤の標準品が必要であり、操作に習熟を要するため簡便とは言い難い弱点がある。

＜推奨する検定法＞

本報告では、食餌浸漬法を使った成虫を対象とする薬剤感受性検定を第一に推奨する(表1-2)。食餌浸漬に用いる植物はコムギ幼苗とする。薬液浸漬時間は 10 秒間とし、判定日数は 3 日(72 時間)、遅効性の薬剤については 4 日(96 時間)以上とする。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基本的には当世代、長くても 1 世代までとする。食餌浸漬法の具体的手順については、石本・岩田(2020)、新山・高橋(2021)、松田・斉藤(2015)が参考になる。速効性の剤について迅速に結果を得たい場合は、虫体浸漬法も広く使われており、代替法として考慮して良い。虫体浸漬のために成虫を収容する容器は、メッシュ状のステンレス容器やポリエチレン製のメッシュ袋を利用する。薬液への浸漬時間は 10 秒間とし、判定日数は 3 日(72 時間)(苦悶虫がいる場合は延長)、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基本的には当世代(0 世代)とする。検定の具体的手順については、北野(2025)や八塚ら(2022)の方法を参考にされたい。虫体浸漬法は、経口毒性(食毒)を有する薬剤の検定には適さず、また外皮が柔らかい昆虫や発育ステージに適用する場合、虫体を傷つけずに薬液に浸漬する工夫が必要である。なおイネカメムシの薬剤感受性検定については、当世代の成虫を対象にする場合が多いと思われるが、飼育が必要な場合は石崎・平江(2021)が参考になる。

※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。対照は水道水とする。展着剤は加用しない。薬液 1 濃度あたりの供試虫数は最低 30 頭を確保する。

表 1-1. 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（斑点米カメムシ類）

都道府県	検定実施年												検定法	発育ステージ	判定日数(時間)	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							
イネカメムシ																		
茨城							5			2	5		虫体浸漬, イネ体散布	成虫	72時間	補正死亡率	25°C,16L8D	当世代
													イネ体散布	成虫	72時間	補正死亡率	28°C,自然光	当世代
愛知										1	1	1	虫体浸漬	成虫	24, 48時間	補正死亡率	25°C,16L8D	当世代
													イネ体散布	成虫	3日	補正死亡率	ハウス	当世代
三重												4	虫体浸漬	成虫	3日	補正死亡率	25°C,16L8D	当世代
												4	食餌浸漬	成虫	7日	補正死亡率	25°C,16L8D	当世代
愛媛												5	虫体浸漬	成虫	3日	補正死亡率	25°C,16L8D	当世代
アカスジカスミカメ																		
秋田						1	1	1					食餌浸漬法(コムギ)	成虫	3日	補正死亡率	25°C,16L8D	当世代
						1	1	1	1	1			局所施用	成虫	3日	補正死亡率	25°C,16L8D	当世代
新潟									1	1			葉身浸漬(コムギ幼苗)	成虫	3日	補正死亡率	25°C,16L8D	当世代
	2	3							1	1	1		局所施用	成虫	3日	LD50	25°C,16L8D	当世代
静岡													虫体浸漬	成虫	3日	補正死亡率	25°C,16L8D	当世代
													葉片浸漬(コムギ苗)	成虫	3日	補正死亡率	25°C,16L8D	当世代
滋賀						5							虫体散布	成虫	1, 3日	補正死亡率	25°C,16L8D	第1世代
アカヒゲホソミドリカスミカメ																		
秋田						1	1	1					食餌浸漬法(コムギ)	成虫	3日	補正死亡率	25°C,16L8D	当世代
						1	1	1	1	1			局所施用	成虫	2日	補正死亡率	25°C,16L8D	当世代
山形											1		局所施用	成虫	3日	LD50	25°C,16L8D	2~7世代
新潟	2	3		1	1	3	3	1					局所施用	成虫	3日	LD50	23°C,16L8D	1~3世代
滋賀						5							虫体散布	成虫	1, 3日	補正死亡率	25°C,16L8D	第3世代
クモヘリカメムシ																		
茨城												5	虫体浸漬	成虫	48時間	補正死亡率	25°C,16L8D	当世代
滋賀						5							虫体散布	成虫	1, 3日	補正死亡率	25°C,16L8D	当世代
鹿児島												5	虫体浸漬	成虫	1,3,6,24時間	補正死亡率	室内	当世代
												5	葉片浸漬(イネ)	成虫	1,3,6,24時間	補正死亡率	室内	当世代
トゲシラホシカメムシ																		
滋賀						5							虫体散布	成虫	1, 3日	補正死亡率	25°C,16L8D	第2世代
ホソハリカメムシ																		
滋賀						5							虫体散布	成虫	1, 3日	補正死亡率	25°C,16L8D	第2世代

表 1-2. 斑点米カメムシ類に対して推奨される薬剤感受性検定手法

推奨順位	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
1	成虫	食餌浸漬法(コムギ幼苗)	3日(遅効性の薬剤は4日以上)	補正死亡率(%)	25°C,16L8D	0世代
2	成虫	虫体浸漬法(速効性の剤について迅速に結果を得たい場合)	3日(苦悶虫がいる場合は延長)	補正死亡率(%)	25°C,16L8D	0世代

※食餌浸漬法の具体的手順については、石本・岩田(2020)、新山・高橋(2021)、松田・斉藤(2015)を参照。なお浸漬時間は10秒間とする。

※食餌浸漬法については、斑点米カメムシ類防除に使用される、ジノテフラン液剤(4A)、エチプロール水和剤(2B)、エトフェンプロックス乳剤(3A)、MEP乳剤(1B)、スルホキサフロルフロアブル(4C)、フルピリミンフロアブル(4F)の検定実績がある(括弧内はIRACコード)。

※虫体浸漬法の具体的手順については、北野(2025)、八塚ら(2022)を参照。浸漬時間は10秒間とする。

(参考文献)

- 1) 石本万寿広(2016) 新潟県における斑点米カメムシ防除の実態とエチプロール剤の実用性. 植物防疫 70:787-791.
- 2) 石本万寿広・岩田大介(2020) クロチアニジンおよびジノテフランに低感受性のアカヒゲホソミドリカスミカメの発生. 北陸病虫研報 69:1-5.
- 3) 石崎摩美・平江雅宏(2021) イネカメムシ(カメムシ目:カメムシ科)の累代飼育法. 応動昆 65:119-122.

- 4) 岩田大介ら(2021) 新潟県におけるアカヒゲホソミドリカスミカメのジノテフランに対する感受性. 北陸病虫研報 70:19-25.
- 5) 北野大輔(2025) 滋賀県南部で採集したイネカメムシ越冬世代成虫に対する薬剤の殺虫効果. 関西病虫研報 67:10-14.
- 6) 松田健太郎・斉藤千温(2015) アカスジカスミカメに対する数種薬剤の影響(食餌浸漬法). 静岡県病害虫防除所 2015 年度単年度試験研究成績.
- 7) 新山徳光・飯富暁康(2002) 主要薬剤に対するアカヒゲホソミドリカスミカメの感受性. 北日本病虫研報 53:165-167.
- 8) 新山徳光・高橋良知(2021) 秋田県におけるアカヒゲホソミドリカスミカメおよびアカスジカスミカメのジノテフランに対する感受性. 北日本病虫研報 72:99-103.
- 9) 重久眞至(2020) 滋賀県における斑点米カメムシ類5種に対する各種薬剤の殺虫効果. 関西病虫研報 62:169-172.
- 10) 清水喜一(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 (8) イネ害虫: カメムシ類. 植物防疫 51:182-185.
- 11) 清水信孝・堤 隆文(2013) 福岡県内のミナミアオカメムシに対する各種殺虫剤の防除効果. 福岡県農業総合試験場研究報告 32:6-9.
- 12) 杉村和実ら(2007) 斑点米の原因となるミナミアオカメムシに対する各種殺虫剤の効果. 九病虫研会報 53:39-44.
- 13) 八塚 拓ら(2023) 茨城県におけるミナミアオカメムシの発生状況と薬剤感受性. 茨城県病害虫研究会報 62:12-16.
- 14) 八塚 拓ら(2022) 茨城県におけるイネカメムシ成虫の薬剤感受性. 関東病虫研報 69:48-51.
- 15) 吉村具子・越智昭彦(2010) 山形県におけるアカヒゲホソミドリカスミカメの MEP および MPP に対する薬剤感受性. 北日本病虫研報 61:121-124.

2)ワタアブラムシ

ワタアブラムシは、原産地は明らかではないものの世界中の熱帯、温帯地域に広く分布しており、ウリ科、マメ科、ナス科、ミカン科、アオイ科など多くの農作物を加害する世界的な重要害虫である。本種には生活環の異なるバイオタイプの存在が知られているが、野菜等で発生するバイオタイプは、秋季になっても両性生殖個体が出現せず、胎生雌でのみ世代を繰り返す不完全生活環を有するタイプである。我が国では本種の殺虫剤抵抗性の発達が 1980 年代頃から問題となり、1990 年代にかけて有機リン剤、カーバメート剤、合成ピレスロイド剤などの薬剤に対する薬剤感受性検定が盛んに行われた。1992 年にイミダクロプリド水和剤が上市されて以降、ワタアブラムシを含むアブラムシ類に卓効を示すネオニコチノイド剤が次々と開発された。ネオニコチノイド剤以外にもフロニカミド水和剤やスルホキサフル水和水剤などの新規の作用性を有する殺虫剤が開発され防除に用いられている。本種は前述のように多種の植物に寄生するが、狭い地理的範囲内で異なる植物から採集された個体群間で薬剤感受性が異なる例が知られている。合田(1988)は、

(63)

同じ試験場内に生育する13種の異なる寄主植物(ナシ、リンゴなどの木本植物とイチゴ、キュウリなどの草本植物を含む)から採集されたワタアブラムシ個体群間で、マラソン乳剤及びDDVP乳剤に対するLC50が大きく異なることを示し、寄主植物間の移動が比較的少ない可能性を示唆している。また安藤ら(1992)は、ナスから採集したワタアブラムシ無翅虫をキュウリに接種したところ、定着、産子が見られず、植物を逆にした場合も同様であることを報告した。同じ研究で有翅虫を寄主転換させた場合には、成功率は低いものの定着する個体が見られた。このことは、薬剤感受性を調査する地域個体群の範囲と採集する寄主植物の種類に注意を払う必要があることを示唆している。本項では、アンケート調査と文献情報に基づき、ワタアブラムシの簡便な薬剤感受性検定法について取りまとめた。

表2-1に令和6年度に行った都道府県薬剤感受性検定アンケート調査で、ワタアブラムシに関して回答があった6県の情報を取りまとめた。報告件数は、宮城県から9件、岐阜県から11件、奈良県から25件、和歌山県から17件、愛媛県から11件、鹿児島県から7件であった。検定法は、葉片浸漬(パプリカ葉、イチゴ葉、インゲン葉)と幼苗浸漬(キュウリ苗、スイカ苗)が用いられ、遺伝子診断法も2県で実施されていた。また表には含めなかったが、奈良県では寄生苗(トレニア、イチゴ)へハンドスプレーで薬液散布して補正密度指数で判定する試験も報告があった。判定日数は、3日、5日が多く、判定基準は補正死虫率または死虫率が用いられていた。

検定法について文献調査を行ったところ、1980年代はほ場で使用されていた殺虫剤が経皮毒性(接触毒)を有する剤が中心であったため、浜(1987)がFAOの薬剤感受性検定法を改良した虫体浸漬法が広く使用されていた。この頃にワタアブラムシに対して薬剤感受性検定の結果が報告された作物は、キュウリ(文献1、3、4、8、11、12、14、36、44)、メロン(文献4、36、46)、スイカ(文献19、36)、カボチャ(文献8、33、46)、イチゴ(文献1、2、3、6、14、27、36、46)、ナス(文献3、4、8、11、12、14、27、36)、ジャガイモ(文献15、35、36、44、47)、サトイモ(文献14)、ナシ(文献1、6、9、10、17、28、41、47)、リンゴ(文献1)、カンキツ(文献9、10、47)、ウンシュウミカン(文献28、46)、ビワ(文献9)、キク(文献1、14、36、37)など多岐にわたっている。これらの報告で用いられた判定基準は、補正死虫率が多かったが、LC50を算出した報告もあった(文献1、2、3、4、6、8、9、11、12、36、44)。虫体浸漬法は、有機リン系、カーバメート系、合成ピレスロイド系等の速効性の薬剤について多数の検定実績があるが、処理48時間後以降の無処理区の死虫率が高くなることに注意すべきである(浜、1987)。西東(1997)は、虫体浸漬法に加えて局所施用法を紹介している。本法は接触毒性を示す殺虫剤に対して精密な感受性検定を行うことができるが、薬剤の処理にマイクロアプリーケーターが必要であり、技術的にも習熟を要する上、1頭ずつ処理しなくてはならないので簡易な検定には向かない。

ネオニコチノイド剤等の新しい殺虫剤の多くは浸透移行性を示す剤であり、経口毒性(食毒)を有することから、近年実施される薬剤感受性検定には植物体浸漬法が用いられるようになった。植物体浸漬法については、幼苗を浸漬する手法(文献21、23、33)やMunger cellを用いた手法(文献21)があるが、これらは検定容器の準備が必要になる。松浦(2016)は、ネオニコチノイド系のイミダクロプリド水和剤とニテンピラム水溶剤、ピレスロイド系のアクリナトリン水和剤、有機リン系のアセフェート水和剤及びピメロジン系のピメロジン顆粒水和剤の5剤に対するワタアブラム

シ感受性検定を幼苗処理法と Munger cell 法で行って結果を比較し、ほとんどの希釈倍数で Munger cell 法で得られる補正死虫率が幼苗処理法より低くなる(LC50 値は高くなる)ことを示した。この傾向は特にイミダクロプリドで顕著であった。この原因については衰弱した個体の検定植物からの落下などが考えられたが明確にはなっていない。なお Munger cell 法では検定開始後 72 時間以降に葉片が乾燥枯死して試験が続行できず、ピメトロジンのような遅効性薬剤の検定には向いていないとしている。松浦・日高(2016)は、より簡便に薬剤感受性検定が行える手法として、葉片を使った手法を紹介した。葉片浸漬法を使った薬剤感受性検定の報告としては、ピーマン(文献 18、20)、キュウリ(文献 25、45)、ブドウ(文献 25)等がある。この手法の具体的な手順は、農研機構(2019c)が公表したマニュアルに詳細に紹介されている。また浸漬せずにハンドスプレーで植物体に散布した後、採取した葉片を用いる手法(文献 13、16、39)も報告されている。なお、松浦・日高(2016)は、葉片浸漬法と幼苗処理法を比較し、アセタミプリド以外のネオニコチノイド系薬剤では補正死虫率に差がないことを示した。またピメトロジン、フロニカミド、ピリフルキナゾンなどの遅効性の薬剤については、葉片浸漬法、幼苗処理法、Munger cell 法のいずれの手法を用いても結果の振れが大きく、植物体を浸漬する方法に共通する問題があると考えられるので、これらの薬剤の検定を行う際は注意が必要としている。遅効性の薬剤の評価については、葉片浸漬法で処理 96 時間後に産子幼虫を含めた全生存成幼虫を調査し、無処理区の生存成幼虫数との間で密度指数を計算して評価する方法が提唱されている(農研機構、2019c)。また、奈良井(2001)が虫体浸漬または葉片散布によるピメトロジン水和剤に対する感受性検定法を紹介しており、効果判定は、虫体浸漬では処理4日後以降、葉片散布では処理5日後以降が適当としている。

＜推奨する検定法＞

本報告では、キュウリ苗の幼苗浸漬法を使った無翅雌成虫を対象とする薬剤感受性検定を第一に推奨する(表2-2)。検定容器の例を図2に示した。薬液浸漬時間は 10 秒間とし、判定日数は 3 日(72 時間)、遅効性の薬剤については 4 日(96 時間)以上とする。判定基準は補正死虫率(%)、管理条件は 25°C、16L8D とする。また採集から検定までの世代数は基本的には当世代、長くても 1 世代までとする。検定の具体的手順については、松浦(2016)、Matsuura and Nakamura(2014)、岡本ら(2023)、曾根ら(1998)の方法を参考にされたい。なお幼苗浸漬法以外に広く使われている手法として葉片浸漬法があり、検定の目的に応じて、供試虫を採集したカンキツ葉、ビワ葉などを用いることも考えられる。葉片浸漬法の具体的手順については、松浦・日高(2016)、農研機構(2019c)の方法を参考にされたい。

※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。使用するキュウリの品種は問わない。対照は水道水とする。展着剤は加用しない。薬液 1 濃度あたりの供試虫数は最低 30 頭を確保する。

表2-1. 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（ワタアブラムシ）

都道府県	検定実施年											検定法	発育ステージ	判定日数 (時間)	判定基準	管理条件	検定までの 世代数
	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023						
宮城										9		葉片浸漬(パブリカ)	成虫	72, 120時間	補正死虫率	25°C,16L8D	2~3世代
岐阜					4	3						幼苗浸漬(キュウリ苗)	無翅雌成虫	3, 5日	補正死虫率, 死虫率	25°C,16L8D	当世代, 次世代以降
						3		1				葉片浸漬(イチゴ葉)	無翅雌成虫	5日	死虫率	25°C,16L8D	次世代以降
奈良	4		21									幼苗処理(キュウリ苗)	成虫	72時間 or 2,5日	死虫率	25°C,16L8D	当世代
和歌山										13		幼苗浸漬(キュウリ苗)	無翅成虫	72, 120時間	補正死虫率	23°C,16L8D	次世代以降
										2	2	遺伝子診断	成虫, 幼虫	-	-	-	当世代
愛媛											9	葉片浸漬(インゲン葉)	成虫, 幼虫	72時間	補正死虫率	25°C,16L8D	当世代
											2	遺伝子診断	-	-	-	-	当世代
鹿児島			7									幼苗浸漬(スイカ苗)	無翅成虫	24, 48, 72時間	補正死虫率	25°C,16L8D	次世代

表2-2. ワタアブラムシに対して推奨される薬剤感受性検定手法

推奨 順位	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
1	無翅雌成虫	幼苗浸漬法(キュウリ苗)	3日(遅効性の薬剤は4日以上)	補正死虫率(%)	25°C,16L8D	0~1世代
2	無翅雌成虫	葉片浸漬法(採集した植物の葉片を使用したい場合)	3日(遅効性の薬剤は4日以上)	補正死虫率(%)	25°C,16L8D	0~1世代

※幼苗浸漬法の具体的手順については、松浦(2016)、Matsuura and Nakamura (2014)、岡本ら(2023)、曾根ら(1998)を参照。なお浸漬時間は10秒間とする。

※本法については、ネオニコチノイド剤、合成ピレスロイド系、ピラゾール系等の殺虫剤の検定実績がある(IRACコード: 1A、1B、3A、4A、4C、9B、21A、28、29)。

※葉片浸漬法の具体的手順については、松浦・日高(2016)、農研機構(2019c)を参照。浸漬時間は10秒間。



図2. 幼苗浸漬法で用いられる検定容器の例(曾根ら、1998 より引用)。松浦(2016)などで採用されている。

(参考文献)

- 1) 合田健二(1988) ワタアブラムシ薬剤感受性の寄主植物間差異. 関東病虫研報 35:155.
- 2) 合田健二(1989) イチゴに発生するワタアブラムシの薬剤抵抗性. 栃木県農業試験場研究報告 36:77-82.
- 3) 合田健二・大兼善三郎(1990) 殺虫剤散布がワタアブラムシの薬剤抵抗性に与える影響. 栃木県農業試験場研究報告 37:141-150.
- 4) 安藤幸夫(1991) 近畿・中国地方の各地から採集したワタアブラムシの薬剤感受性. 関西病虫研報 33:131.
- 5) 安藤幸夫ら(1992) ワタアブラムシの薬剤抵抗性に関する研究 第2報 ナスとキュウリに寄生する個体群の生物的特性. 応動昆 36:61-63.
- 6) 福田 充・合田健二(1991) 栃木県におけるワタアブラムシの合成ピレスロイド剤抵抗性. 関東病虫研報 38:209-210.
- 7) 浜 弘司(1987) アブラムシの薬剤抵抗性. 植物防疫 41:159-164.
- 8) 浜 弘司ら(1995) ワタアブラムシの薬剤抵抗性に関する研究 第4報 各クローン系統の各種薬剤に対する感受性. 応動昆 39:117-125.
- 9) 早田栄一郎・大久保宣雄(1992) 果樹アブラムシ類の薬剤抵抗性 第2報 ワタアブラムシ野

- 外個体群およびクローンの薬剤感受性. 九病虫研会報 38:155-159.
- 10) 早田栄一郎・大久保宣雄(1996) 長崎県における果樹寄生ワタアブラムシの薬剤感受性. 長崎県果樹試験場研究報告 3:45-53.
 - 11) 細田昭男ら(1992) ワタアブラムシの薬剤抵抗性に関する研究 第1報 ナスとキュウリに寄生する個体群のアリエステラーゼ活性と有機リン剤感受性. 応動昆 36:101-111.
 - 12) 細田昭男ら(1993) ワタアブラムシの薬剤抵抗性に関する研究 第3報 ナスとキュウリに寄生する個体群の寄主選好性と有機リン剤感受性. 応動昆 37:83-90.
 - 13) 井村岳男(2020) 病害虫診断技術調査事業 4. ワタアブラムシに対する各種殺虫剤の殺虫効果. 奈良県病害虫防除所 令和元年度単年度試験研究成績.
 - 14) 井上雅央(1987) ワタアブラムシのエステラーゼ活性と有機リン剤感受性. 応動昆 31:404-406.
 - 15) 岩崎暁生・和田由紀夫(2000) 北海道網走地方のジャガイモにおけるワタアブラムシの合成ピレスロイド系薬剤感受性低下個体群の発生. 北日本病虫研報 51:238-241.
 - 16) 柿元一樹・井上栄明(2019) ピーマンで発生する3種アブラムシ類に対する殺虫剤の有効性. 関西病虫研報 61:105-111.
 - 17) 久保田篤男(1991) ナシのアブラムシ類防除薬剤の効果の年次変動. 関東病虫研報 38:237-238.
 - 18) 窪田聖一・武智和彦(2020) 愛媛県におけるネオニコチノイド剤抵抗性ワタアブラムシの発生と各種殺虫剤に対する感受性. 愛媛県農林水産研究所研究報告 12:33-37.
 - 19) 牧野 晋ら(1992) 野菜, 花き類におけるアブラムシの薬剤感受性 1. スイカ産地のワタアブラムシ. 九病虫研会報 38:109-112.
 - 20) 松橋伊織・細川史絵(2019) 岩手県の夏秋どり施設栽培ピーマンにおけるネオニコチノイド剤抵抗性ワタアブラムシの発生とキュウリモザイクウイルスの発生実態. 北日本病虫研報: 70:131-134.
 - 21) 松浦 明(2016) ワタアブラムシに対する薬剤感受性検定法の違いが検定結果に及ぼす影響. 九病虫研会報 62:77-81.
 - 22) 松浦 明(2017) 簡易検定法によるワタアブラムシおよびモモアカアブラムシの殺虫剤感受性検定. 植物防疫 71:741-744.
 - 23) Matsuura, M. and M. Nakamura (2014) Development of neonicotinoid resistance in the cotton aphid *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) in Japan. Appl. Entomol. Zool, 49:535-540.
 - 24) 松浦 明・日高春美(2016) アブラムシ類の殺虫剤感受性検定のための簡易検定法. 九病虫研会報 62:82-88.
 - 25) 松浦 明ら(2017) 宮崎県で採集した殺虫剤抵抗性関連遺伝子が異なるワタアブラムシ3クローンの各種殺虫剤に対する感受性. 九病虫研会報 63:62-70.
 - 26) 溝部信ら(2017) ワタアブラムシ(カメシ目:アブラムシ科)の甘露排泄を利用した簡易な生存個体数推定法. 応動昆 61:252-255.
 - 27) 森下正彦(1992) ワタアブラムシの合成ピレスロイド剤に対する感受性低下. 関西病虫研

(68)

- 報 34:37-38.
- 28) 中村吉秀ら(1999) 果樹寄生ワタアブラムシの寄主移動. 長崎県果樹試験場研究報告 6:11-24.
 - 29) 奈良井祐隆(2001) アブラムシ類に対する遅効性薬剤の検定方法. 平成 13 年度近畿中国四国農業研究成果情報(生産環境).
 - 30) 農研機構(2019a) 薬剤抵抗性農業害虫管理のためのガイドライン案 第2章ガイドライン案 2-3. ワタアブラムシ. pp.68-80.
 - 31) 農研機構(2019b) 薬剤抵抗性農業害虫管理のためのガイドライン案 第4章害虫の薬剤抵抗性遺伝子診断法マニュアル 4-3. ワタアブラムシのネオニコチノイド剤抵抗性遺伝子診断法. pp.144-146.
 - 32) 農研機構(2019c) 薬剤抵抗性農業害虫管理のためのガイドライン案 第5章害虫薬剤抵抗性の生物検定法 5-3. ワタアブラムシおよびモモアカアブラムシの薬剤抵抗性生物検定法. pp.182-189.
 - 33) 岡本 崇ら(2014) 和歌山県におけるネオニコチノイド系薬剤の殺虫効果が低いワタアブラムシの発生. 関西病虫研報 56:135-137.
 - 34) 岡本 崇ら(2023) ピレスロイド剤およびネオニコチノイド剤の抵抗性遺伝子を併せ持つワタアブラムシの発生. 関西病虫研報 65:92-95.
 - 35) 奥田裕志・鳥倉英徳(1990) ジャガイモのワタアブラムシの薬剤感受性について. 北日本病虫研報 41:154-156.
 - 36) 西東 カ(1989) ワタアブラムシ *Aphis gossypii* GLOVER の薬剤抵抗性 I. 静岡県における薬剤感受性低下の実態とエステラーゼ活性. 応動昆 33:204-210.
 - 37) 西東 カ(1990) ワタアブラムシ *Aphis gossypii* GLOVER の薬剤抵抗性 III. 合成ピレスロイド剤抵抗性個体群の発生. 応動昆 34:174-176.
 - 38) 西東 カ(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(12) 野菜・花き害虫:アブラムシ類. 植物防疫 51:484-487.
 - 39) 西東 から(1987) バレイシヨにおけるワタアブラムシの薬剤感受性と防除. 関東病虫研報 34:155-156.
 - 40) 西東 から(1995) ワタアブラムシ *Aphis gossypii* (GLOVER)の薬剤抵抗性クローンの各種薬剤に対する感受性と協力剤の影響. 応動昆 39:151-158.
 - 41) 嶋田知英(1995) 埼玉県におけるナシのワタアブラムシの薬剤抵抗性. 関東病虫研報 42:255-257.
 - 42) 白川純蓮ら(2023) 神奈川県川崎市におけるネオニコチノイド剤の効果が劣るワタアブラムシの発生. 関東東山病虫研報 70:75-77.
 - 43) 曾根信三郎ら(1998) キュウリ幼苗を用いたミナミキイロアザミウマの薬剤効力検定法. 応動昆 42:215-220.
 - 44) 菅原パウロ(1991) 餌植物がワタアブラムシの殺虫剤感受性に及ぼす影響. 北日本病虫研報 42:14-125.

(69)

- 45) 高倉 慎ら(2022) 福島県の露地栽培キュウリにおけるネオニコチノイド系薬剤抵抗性ワタアブラムシの発生. 北日本病虫研報 73:138-140.
- 46) 脇部秀彦ら(1993) モモアカアブラムシ及びワタアブラムシの薬剤感受性. 九州農業研究 55:97.
- 47) 山田一宇ら(1992) ナシ, カンキツに寄生するワタアブラムシの薬剤感受性. 九病虫研会報 38:160-162.
- 48) 横溝徹世敏・寺本健(1991) ジャガイモ寄生ワタアブラムシの薬剤感受性. 九病虫研会報 37:117-121.

3)コナカイガラムシ類

コナカイガラムシ類はフジコナカイガラムシが古くから果樹の害虫として知られていたが、近年はナスコナカイガラムシなどがピーマンやナスなどの施設野菜で問題になっており、その要因の一つとして薬剤感受性の低下が推測されている。本項では、アンケート調査と文献情報に基づき、コナカイガラムシ類の簡便な薬剤感受性検定法について取りまとめた。

表3-1に令和6年度に行った都道府県薬剤感受性検定アンケート調査で、コナカイガラムシ類に関して回答があった4県の情報を取りまとめた。虫の種類別では、ミカンコナカイガラムシについて奈良県から1件、沖縄県から18件の報告があり、検定法は奈良県がリーフディスク法、沖縄県が葉片散布法(いずれもインゲン葉)であった。補正死虫率による判定日数は幼虫(奈良は2齢、沖縄は1齢と3齢)が3日、成虫(沖縄)が5日であった。ナスコナカイガラムシについては、高知県から10件、鹿児島県から14件の報告があり、検定法は高知県がインゲンリーフディスクを用いた回転式散布塔による虫体散布法、鹿児島県が葉片散布法(インゲン葉)であった。対象は両県ともに2~3齢幼虫で、補正死虫率による判定日数は高知が7日、鹿児島が3日(72h)であった。中南米原産で、沖縄県で初確認されて以降全国に分布を広げているクロテンコナカイガラムシについては、沖縄県から15件の検定実施報告があり、検定法はインゲン葉を用いた葉片浸漬法であった。対象は1齢幼虫と雌成虫で、補正死虫率による判定日数は3日であった。この他、高知県からコナカイガラムシ類(種は未同定)として7件の報告があり、検定法はインゲンリーフディスクを用いた回転式散布塔による虫体散布法、対象は2~3齢幼虫で、補正死虫率による判定日数は3日であった。なお発生作物はミョウガであったが、文献によると高知県のミョウガに発生するコナカイガラムシ類はナスコナカイガラムシとマデイラコナカイガラムシが主とのことである。

文献調査では、クワコナカイガラムシやフジコナカイガラムシ、ナスコナカイガラムシに対する薬剤感受性検定結果の報告があった。伊澤(1998)は、カボチャで飼育可能なコナカイガラムシ類(クワコナカイガラムシ、マツモトコナカイガラムシ、フジコナカイガラムシ)などについて利用できるカボチャ果実片浸漬法を紹介している。また森下(2006)は、カキに発生するフジコナカイガラムシを対象としたインゲン初生葉を用いた虫体散布法を考案し、1~3齢幼虫及び成虫について薬剤感受性検定の結果を報告している。柿元(2020)は、施設栽培のピーマンで発生するナスコナカイガラムシの2、3齢幼虫及び雌成虫を対象として、インゲン初生葉を用いた虫体散布法による14剤の薬剤感受性検定を行った結果を報告した。この他、イチゴに発生したミカンコナカイガラムシ

(70)

に対するインゲンリーフディスクを用いた虫体散布法による検定結果(井村、2022)、ピーマンで発生したナスコナカイガラムシに対するインゲン葉を用いた虫体散布法による検定結果が報告されている。虫体散布法には、回転式薬剤散布塔またはハンドスプレーが用いられていた。

<推奨する検定法>

ピーマンやイチゴなどの施設野菜で問題となっているミカンコナカイガラムシとナスコナカイガラムシ、ブドウやカキなどの果樹害虫であるフジコナカイガラムシは、いずれもインゲンで飼育可能であることから、本報告では、インゲン初生葉(リーフディスク)を使った虫体散布法による2~3齢幼虫を対象とする薬剤感受性検定を推奨する(表3-2)。虫体散布法で用いられる検定容器の例を図3に示した。虫体散布に用いる器具は、回転式散布塔があれば良いが、なければエアブラシ法を推奨する。判定日数は3日(72時間)、遅効性の薬剤については4日(96時間)以上とする。判定基準は補正死虫率(%)、管理条件は25°C、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。なお、外見上生死の判定が困難な場合は、小筆等で紙の上に虫体を払い落とし、ピンセットや小筆で突いて生死の判断を行うと良い。この検定の具体的手順については、井村(2022)、米津(2020)の方法を参考にされたい。

※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、必ず初生葉を使用する。対照は水道水とする。展着剤は加用しない。薬液1濃度あたりの供試虫数は最低30頭とする。

表3-1. 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(コナカイガラムシ類)

都道府県	検定実施年					検定法	発育ステージ	判定日数(時間)	判定基準	管理条件	検定までの世代数
	2019	2020	2021	2022	2023						
ミカンコナカイガラムシ											
奈良			1			リーフディスク法(インゲン葉)	2齢	3日	補正死虫率	25°C,12L12D	2世代
沖縄		18				葉片散布(インゲン葉)	1,3齢,雌成虫	3日(幼虫), 5日(成虫)	補正死虫率	25°C,14L10D	未回答
ナスコナカイガラムシ											
高知	10					回転式散布塔(インゲンリーフディスク)	2,3齢	7日	補正死虫率	25°C,16L8D	2~3世代
鹿児島	14					葉片浸漬(インゲン葉)	2,3齢	72時間	補正死虫率	25°C,14L10D	未回答
クロテコナカイガラムシ											
沖縄		15				葉片浸漬(インゲン葉)	1齢,雌成虫	3日	補正死虫率	25°C,14L10D	未回答
コナカイガラムシ類											
高知						7 回転式散布塔(インゲンリーフディスク)	2,3齢	3日	補正死虫率	23°C,16L8D	当世代

表3-2. コナカイガラムシ類に対して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
2～3齢幼虫	虫体散布法(インゲン初生葉)	3日(遅効性の薬剤は4日以上)	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、井村(2022)、米津(2020)を参照。

※散布器具は、回転式散布塔またはエアブラシを使用する。散布量は、薬液2～3mg/cm²とする。

※アンケート調査で本法による検定実績のある殺虫剤のIRACコード：1B、4A、4C、5、6、7C、9B、15、16、21A、23、28、29、34。

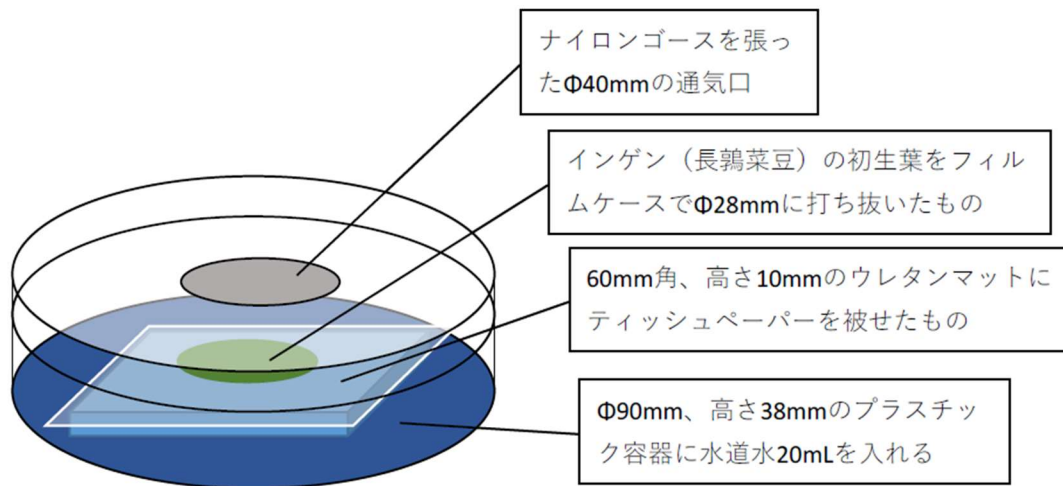


図3. 虫体散布法で用いられる検定容器の例(井村、2022より引用)。

ふ化が始まったコナカイガラムシ卵塊をリーフディスクの上に置き、25°Cで8日後に2齢幼虫になったら、回転式散布塔またはエアブラシ装置(図1)で薬液散布する。

(参考文献)

- 1) 伊澤宏毅(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 (20)果樹害虫：カイガラムシ類. 植物防疫 52:237-240.
- 2) 井村岳男(2022) 1. 害虫の殺虫剤感受性検定 ③ミカンコナカイガラムシに対する各種殺虫剤の殺虫効果. 奈良県病害虫防除所 2021 年度単年度試験研究成績.
- 3) 柿元一樹(2020) ナスコナカイガラムシ(カメムシ目:コナカイガラムシ科)の殺虫剤評価手法および有効薬剤. 応動昆 64:183-191.
- 4) 森下正彦(2006) 虫体・葉片散布法によるフジコナカイガラムシの薬剤感受性. 応動昆 50:211-216.
- 5) 米津聡浩(2020) 天敵導入条件下における促成ナスおよび促成ピーマン類のコナカイガラムシ類とチャノキロアザミウマの防除技術の開発 (5)ナスコナカイガラムシに対する各種殺虫剤の効果. 近畿中国四国農業(生産環境) 令和元年度単年度試験研究成績.

4)チャノキイロアザミウマ

チャノキイロアザミウマは 1918 年に京都府のチャ園で初確認されて以降、カキ、ブドウ、カンキツ、ナシなどの害虫として知られていたが(村岡、1988)、2008 年に高知県のピーマン、シシトウで被害が発生し、研究の結果、この虫は従来の系統(YT 系統)とは遺伝的に異なるC系統であることが明らかとなった(土田、2015)。C系統はその後、マンゴー、ウンシュウミカン、トルコギキョウ、イチゴなどへの加害も報告されている(土田、2015)。本項では、アンケート調査と文献情報に基づき、チャノキイロアザミウマの簡便な薬剤感受性検定法について取りまとめた。

表4-1に令和6年度に行った都道府県薬剤感受性検定アンケート調査で、チャノキイロアザミウマに関して回答があった8県の情報を取りまとめた。報告件数は、奈良県から15件、和歌山県から4件、広島県から5件、高知県から19件、佐賀県から17件、長崎県から9件、鹿児島県から34件、沖縄県から35件であり、検定法は葉片浸漬法(和歌山:カンキツ葉、広島:ブドウ葉、長崎:チャ葉、鹿児島:マンゴー新梢とトルコギキョウ葉、沖縄:マンゴー未硬化葉)、虫体散布法(奈良:イチゴ葉片、高知:インゲンリーフディスク)、虫体浸漬法(佐賀)、食餌混和法(佐賀:ショ糖液)で、葉片浸漬法が最も多く、次いで虫体散布法が多かった。発育ステージは成虫が多く、一部1~2齢幼虫も調べられていた。補正死虫率による判定日数は、2日(48時間)と3日(72時間)が多かった。

文献調査によると、チャノキイロアザミウマの薬剤感受性検定には、葉片浸漬法が最も多く用いられており、チャ(文献4、6、7)、ブドウ(文献12、13)、トルコギキョウ(文献1、3)、カンキツ(文献8)について検定結果の報告があった。葉片浸漬法における薬液への浸漬時間は、チャでは10秒間、ブドウでは1分間となっていた。虫体散布法も、ナス(文献2)、イチゴ(文献5)、トルコギキョウ(文献11)で発生した本種を対象に実施されており、薬液の散布方法は回転式薬剤散布塔またはハンドスプレーが用いられていた。これら以外に虫体浸漬法(カンキツ、文献14)を使用した報告もあった。また遺伝子診断法として、フェンプロパトリン抵抗性に関与する点突然変異の解析に基づいたPCR-RFLPによる抵抗性個体の判別について報告があった(文献16)。

<推奨する検定法>

各種作物で発生するチャノキイロアザミウマが検定用の特定の植物(例えばインゲン葉)に寄生可能かどうかについては知見がないため、本報告では、現地の発生植物を用いた葉片(幼果)浸漬法による薬剤感受性検定を推奨する(表4-2)。発育ステージは成虫または2齢幼虫とする。薬液浸漬時間は10秒間とし、判定日数は2日(48時間)、遅効性の薬剤については4日(96時間)以上とする。判定基準は補正死虫率(%)、管理条件は25°C、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。検定の具体的手順については、河合(1997)、柴尾・田中(2008)の方法を参考にされたい。

※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。対照は水道水とする。展着剤は原則として加用しないが、薬液付着性が良くない植物葉片を用いる場合は展着剤

(Tween20:0.01~0.05%)を加用し、対照の水道水にも同濃度で加用する。薬液 1 濃度あたりの供試虫数は最低 30 頭とする。

表 4-1. 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 (チャノキイロアザミウマ)

都道府県	検定実施年												検定法	発育ステージ	判定日数 (時間)	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							
奈良							15						寄生イチゴ葉への散布	幼虫	4日	死虫率	25°C,16L8D	当世代
和歌山						4							葉片浸漬(カンキツ葉)	成虫	48時間	補正殺卵率	25°C,16L8D	未回答
広島					5								葉片浸漬(ブドウ葉)	成虫	2日	補正死虫率	25°C	当世代
高知				6	7	6							回転式散布塔(インゲンリーフディスク)	1~2齢	2日	補正死虫率	25°C,16L8D	当世代, 2~3世代
佐賀				9									虫体浸漬	成虫	2日	補正死虫率	25°C,16L8D	当世代
				8									食餌混和	成虫	2日	補正死虫率	25°C,16L8D	当世代
長崎	9												葉片浸漬(チャ葉)	成虫, 幼虫	48時間	補正死虫率	25°C,16L8D	当世代
鹿児島									16	18			葉片浸漬(マンゴー新梢, トルコギキョウ葉)	成虫, 2齢	24, 48, 72時間	補正死虫率	25°C,14L10D	0, 6~8, 12~13世代(成虫), 2~3世代(幼虫)
沖縄				10	25								葉片浸漬(マンゴー葉)	成虫	2日, 3日	補正死虫率	25°C,14L10D	当世代

表 4-2. チャノキイロアザミウマに対して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
成虫 2齢幼虫	葉片(幼果)浸漬法(発生植物の葉または幼果を使用)	2日(遅効性の薬剤は4日以上)	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、河合(1997)、柴尾・田中(2008)を参照。浸漬時間は10秒間とする。
 ※アンケート調査で本法による検定実績のある殺虫剤のIRACコード：1B、3A、4A、4C、5、6、9B、12A、13、15、21A、28、29、30、34。

(参考文献)

- 1) 秋田愛子ら(2021) トルコギキョウで発生するチャノキイロアザミウマに対する各種薬剤の殺虫効果. 沖縄県農業研究センター 令和3年度研究成果情報.
- 2) 近森ちさこ(2018) 突発性病害虫、生育障害等の原因究明と対策 (12) ナスのチャノキイロアザミウマに対する各種薬剤の殺虫効果. 近畿中国四国農業(生産環境) 平成 29 年度単年度試験研究成績.
- 3) 春山直人(2014) 栃木県内で新たに発生したモトジロアザミウマおよびチャノキイロアザミウマ C 系統に対する薬剤の殺虫効果. 関東病虫研報 61:155-158.
- 4) 市田孝博・工藤康将(2001) 京都府南部地域の茶園に生息するチャノキイロアザミウマの薬剤感受性. 京都府立茶業研究所研究報告 92:1-8.
- 5) 井村岳男・小林 甫(2022) イチゴから採集したチャノキイロアザミウマに対する各種殺虫剤の殺虫効果. 奈良県農業研究開発センター研究報告 53:62-64.
- 6) 河合 章(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 (16) 茶害虫:チャノキイロアザミウマ, チャノミドリヒメヨコバイ. 植物防疫 51:587-589.
- 7) 小杉由紀夫・芳賀 一(2013) 静岡県茶園から採集したチャノキイロアザミウマに対する薬剤の殺虫効果. 関西病虫研報 55:79-81.
- 8) 松山尚生ら(2019) 5. 果樹病害虫防除技術の開発 5) 殺虫剤および殺ダニ剤の抵抗性と防除効果(1)チャノキイロアザミウマの薬剤抵抗性検定. 和歌山県資料 2p.

- 9) 守屋伸生ら(2018) 沖縄県のマンゴー施設におけるチャノキイロアザミウマ(アザミウマ目:アザミウマ科)C系統とYT系統の分布. 応動昆 62:257-261.
- 10) 村岡 実(1988) チャノキイロアザミウマの寄主植物について. 佐賀県試研報 10:91-102.
- 11) 中石一英(2019) 突発性病害虫、生育障害等の原因究明と対策 (8)トルコギキョウのチャノキイロアザミウマに対する各種薬剤の殺虫効果. 近畿中国四国農業(生産環境) 令和元年度単年度試験研究成績.
- 12) 柴尾 学ら(2006) ブドウにおけるチャノキイロアザミウマとコウズケカブリダニの個体群密度に及ぼす薬剤散布の影響. 応動昆 50:247-252.
- 13) 柴尾 学・田中 寛(2008) ブドウ葉片浸漬法によるチャノキイロアザミウマに対する合成ピレスロイド剤の殺虫効果. 関西病虫研報 50:171-172.
- 14) 白石祥子ら(2018) 各種薬剤に対するチャノキイロアザミウマの感受性. 平成 29 年度佐賀県研究成果情報.
- 15) 土田 聡(2015) チャノキイロアザミウマ C 系統の特徴と遺伝子診断法. 植物防疫 69:28-32.
- 16) 横山朋也ら(2014) チャノキイロアザミウマで検出されたフェンプロパトリン水和剤抵抗性に関与するナトリウムチャンネル遺伝子の点突然変異と PCR-RFLP 法による抵抗性個体の判別. 応動昆 58:59-62.

5)ナミハダニ

ナミハダニは野菜、花き、果樹など多くの作物に寄生して被害をもたらす重要害虫であるとともに、薬剤抵抗性の発達が著しく、多くの県や地域で難防除害虫となっている。そのため、薬剤感受性に対する関心が高く、定期的な薬剤感受性検定を実施する県も多い。そうした実情を反映して、今回のアンケートに対しても 16 という多数の県から回答を得た。

ナミハダニの薬剤感受性検定技術はいくつかあるが、今回の調査で実施例が最も多かったのは散布法であり、回答のあった 16 県の内 14 県で採用されていた。「葉片散布法」あるいは「虫体散布法」という名称で記載されたものは、同じ方法として整理している。これは、寄主植物の葉片を培地(あるいは水を含ませた脱脂綿やろ紙)上に設置し、供試個体を導入した後に薬剤を処理する方法である。生産現場での防除に近い条件での検定であるため、感受性以外にも忌避効果や産卵数、ふ化率など後代への影響など種々の実用的な情報を得ることが出来る利点がある(浜村、1997)。多くの県が感受性検定に散布法を採用する背景にはこのようなことがあると考えられる。表 5-1 で 1 県だけ(2022 年静岡県)エアブラシ法での報告がある(平、2021)が、エアブラシは回転式薬剤散布塔が利用できない際に均一な散布を行うための代替技術なので、本報告では散布法に含めている。

散布法で用いる葉片作製にはインゲン葉が使用されることが圧倒的に多かった。インゲンは種子の入手や室内栽培が容易なことに加え、様々な植物上で採集したナミハダニがほぼ例外なくインゲン上で効率的に累代飼育できるためと考えられる。散布する薬液の濃度は生産現場での常用濃度(1 濃度)が基本となっている。これは、各県で行われている感受性検定の主な目的が、県

域全体の感受性動向や多発要因の迅速な把握に置かれているためと考えられる。常用濃度の1/3濃度で試験する例も僅かながら認められたが、抵抗性程度の量的な評価を目的として複数濃度の試験によりLD50やLC50値を算出した例は今回のアンケートでは報告されていない。次に多く使われていたのが葉片浸漬法であり、5県で実施されていた。これは、葉片を予め薬液に一定時間浸漬し、風乾後にハダニを接種するもので、接触毒や食毒の間接的な効果、特に残効の把握などに優れる方法である。成虫に対する殺虫効果と産卵された卵のふ化率、さらにふ化幼虫に対する殺虫効果を一連の実験で併せて調べる場合にはこの方法が利用される。一方、薬液が直接掛かった場合の殺卵効果を調べるためには、予め雌成虫を放して除去したあと葉片上に残る卵を、葉片と一緒に薬液に浸漬する方法が採られることがある。葉片にハダニを接種してから薬液に浸す直接浸漬法が3県で用いられていた。葉片浸漬法は柳田ら(2012)に詳しく解説されている。

今回のアンケートに対する回答に記載された検定法はすべて上記のどれかに含まれており、簡便な検定法であるドライフィルム法(浜、1996)の利用はなかった。ナミハダニの防除剤にはある程度の残効性が期待されるため、雌成虫に対する即効性のみを評価でき、卵や幼虫の検定には利用できない点が選択されない理由と考えられる。

<推奨する検定法>

本報告ではインゲンマメの葉片を用いた直接散布法を推奨する(表5-2)。対象とするステージは卵あるいは雌成虫とし、散布後判定までの期間は卵の場合は6~10日、雌成虫の場合は2~3日、若虫の場合は10日とし、散布から判定までの期間は25°C、16L8Dで維持する。判定基準は補正死虫率とする。生産現場での感受性を正確に把握するためには採集した当代での検定が望ましいが、供試虫のステージを揃える必要があるため室内飼育することが多い。その場合にも、採集後1~2世代の内には検定することが望ましい。ほとんどの殺ダニ剤はこの方法で問題なく検定できると考えられるが、エトキサゾールのように特定のステージのみに効果を有する剤もあるので、供試虫のステージは剤の特性により選択する。

ナミハダニに近いカンザワハダニの感受性は、ナミハダニとともに検定されている例が多いので、検定法についてもナミハダニに準じて選択できるものと考えられる。

※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。対照は水道水とする。展着剤は加用しない。薬液1濃度あたりの供試虫数は最低30頭とする。

表5-1. 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（ナミハダニ）

都道府県	検定実施数												検定法	発育ステージ	判定日数 (時間)	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							
青森			8	13	12	16	6	5	5	15	5	葉片散布	卵, 成虫	卵10日 成虫2日	補正死虫率, 補正 死虫率, 次世代幼 若虫の増殖率	23°C, 16L8D	未回答	
宮城					12					4		葉片散布	成虫	48時間	補正死虫率	25°C, 16L8D	累代飼育(概 ね2~5世代)	
茨城	5				7							虫体散布法	成虫	48時間	補正死虫率	25°C, 16L8D	未回答	
栃木				9						10	10	虫体散布	雌成虫, 卵	48時間(雌成虫), 1週間(卵)	補正死虫率	25°C, 16L8D	未回答	
千葉					17							虫体散布(リーフディスク)	成虫, 卵	2日	補正死虫率	25°C, 16L8D	世代数不明	
岐阜				2								虫体散布	雌成虫	2日	補正死虫率	25°C, 16L, 8D	次世代以降	
						2	3					葉片浸漬	雌成虫	72時間	死虫率	25°C, 16L, 8D	次世代以降	
静岡	4	3	3									葉片浸漬	雌成虫	2日	補正死虫率	25°C, 16L, 8D	次世代以降	
	24									9		葉片散布	卵, 成虫	6-10日	孵化率, 補正死虫 率	25°C, 16L, 8D	当世代(0世 代)	
愛知	8					1			1			エアブラシ法	雌成虫	3日	補正死虫率	25°C, 16L, 8D	1~2世代	
												葉片浸漬	卵	6~11日	補正死虫率	25°C, 16L, 8D	未回答	
三重										6	11	4	虫体散布	卵, 幼虫, 成虫	卵, 幼虫: 7日 成虫: 3日	補正死虫率	25°C, 16L, 8D	数世代
奈良	1	1	1	1	2	1	3					虫体散布(リーフディスク)	雌成虫	48時間	補正死虫率	25°C, 16L, 8D	不明	
愛媛		12		8	8	10	10					寄生葉片散布	成虫	3日	補正死亡率	25°C, 15L, 9D	未回答	
高知				10	27	10	11					回転式散布塔	雌成虫	2日	補正死虫率	25°C, 16L, 8D	2~3世代	
福岡			7									葉片浸漬	成虫主体	4日	補正死虫率	25°C, 16L, 8D	0世代	
佐賀					5	5	11	11				虫体散布(リーフディスク)	卵	7日	補正死虫率	25°C, 16L, 8D	1~2世代	
長崎	4	5	6				7	6	7	5		葉片浸漬	卵, 幼虫	7日	補正死虫率	25°C, 16L, 8D	2~3世代	
鹿児島			12	12								葉片浸漬	卵	未回答	補正死虫率	未回答	未回答	
										7		葉片浸漬	卵, ふ化幼虫, 成虫	未回答	補正死虫率	未回答	未回答	

熊本県の対象種はハダニ類

表5-2. ナミハダニに対して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
雌成虫・卵・若虫	葉片(虫体)散布法	雌成虫:2-3日 卵:6-10日 若虫:10日	補正死虫率(%)	25°C, 16L8D	0~2世代

※検定の具体的手順については、浜村（1997）を参照。

※剤の特性によって発育ステージを選択する。判定日数が長い場合は、くり抜いた葉片ではなく葉をそのまま使うと日持ちが良い。

※散布器具は、回転式散布塔またはエアブラシを使用する。散布量は、薬液2~3mg/cm²とする。

※アンケート調査で本法による検定実績のある殺虫剤のIRACコード：2A、3A、5、6、10A、10B、12A、12C、12D、13、15、19、20B、20D、21A、23、25A、25B。

(参考文献)

- 1) 浜 弘司(1996) 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(2) 農業害虫: 薬剤感受性検定法の基礎. 植物防疫 50:343-345.
- 2) 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.
- 3) 木村佳子(1998) 青森県のリンゴ園におけるナミハダニの薬剤感受性. 東北農業研究 51:175-176
- 4) 平 里奈(2021) キクに発生するハダニ類の薬剤感受性検定. 静岡県単年度試験研究成績
- 5) 柳田裕紹ら(2013) 福岡県内の促成栽培イチゴで発生するナミハダニ黄緑型 *Tetranychus*

(77)

5. 今後の課題

本報告では、推奨する薬剤感受性検定手法として現場で使える簡便な手法を中心に取りまとめたため、検定精度や適用できる薬剤の種類(作用機構や作用特性)には留意が必要である。使用する感受性検定法によって結果が異なる例は多くあるため、本報告で推奨した検定法は、あくまでも生産現場での薬剤感受性の低下を迅速に把握する手段として活用すべきであり、もしも感受性の低下が疑われるデータが得られたならば、希釈倍数を変えた試験による LC50 の算出や局所施用法による LD50 の算出による詳細な調査が必要である。

これまで2年間で合計10種(類)の害虫について推奨する検定法を提案した。中間検討会において、これら以外に検定法の策定が望まれる害虫種があるかどうかについて意見を求めたところ、果樹カイガラムシ類(ヤノネカイガラムシ、マルカイガラムシ類、イセリヤカイガラムシ等)、ハマキ類(チャハマキ、チャノコカクモンハマキ、リンゴコカクモンハマキ等)、コウチュウ目害虫(キスジノミハムシ、ダイコンサルハムシ等)が候補として上がった。また、昨年度はネギアザミウマ、今年度はチャノキイロアザミウマについて報告したが、ミナミキイロアザミウマやミカンキイロアザミウマ、ヒラズハナアザミウマなどの重要害虫が入っていないため、例えばネギアザミウマで推奨した検定手法を流用可能かどうかについて言及した方が良いとの意見があった。同様に昨年度報告したハスモンヨトウの検定法は、オオタバコガやシロイチモジヨトウ、コナガなどへの流用の可能性について検討が必要と思われる。

本報告では、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こととしたが、実際には検定にかけられる労力、時間、人員、経費等によって変わってくる。1日で終わらない量の検定件数がある場合にどのように振り分けるかの検討も必要になるかも知れない。

ほ場で殺虫剤感受性が低下しているかどうかの判断基準については、本報告書で触れていない。判断基準は害虫種等によって異なることも予想され、コンセンサスを得るためには過去の殺虫剤抵抗性発達事例の解析を踏まえた関係者間の議論が必要である。

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、中間検討会において有益なご助言を賜った外部評価委員、有識者等の方々、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厚くお礼申し上げます。