

QoI剤耐性の遺伝子型を持つぶどうのべと病菌の検定結果

長崎県病害虫防除所

1. 目的

平成24年度および25年度のブドウべと病菌QoI剤（アゾキシストロビン剤、クレソキシムメチル剤等）耐性菌検定（遺伝子診断）によって、本県のブドウ栽培園で園で広くQoI剤耐性菌が発生していることが明らかになった。本年度も同様に発生園の病斑を収集して検定を行い、QoI剤耐性菌の発生動向を把握して防除指導の基礎資料とする。

2. 検定概要

平成26年6月から9月にかけて、県内14園地および病害虫防除所ポット栽培ブドウからべと病の発病葉を採集（計26試料；長期に亘り発生している圃場では採取時期別に採集）した。採取試料から1葉を供試し、常法によりべと病菌のDNAを抽出して遺伝子診断（PCR-RFLP）を行った。PCRの手順はFuruyaら（2009）を参考にし、95℃で3分の変性後、95℃で1分、53℃で1分、72℃で1分を35サイクル繰り返し、最後に72℃で7分の伸長反応を行った。得られたPCR産物はQoI剤耐性菌のチトクロームb遺伝子の変異部位を認識する制限酵素ApeKIで75℃、16時間処理した後、消化物をアガロースゲル電気泳動により標的部位の切断の有無を確認した。

3. 結果の概要

- 1) PCR-RFLPの結果、供試26検体のうち22検体でチトクロームb遺伝子の変異を確認したことから、これらの菌株で、QoI剤に対する感受性が低下している可能性が示唆された（表）。
- 2) 前年の調査結果では、23検体中15検体（65.2%）が耐性菌と判断されていたが、本年の耐性菌率は84.6%（同一園地のサンプルを含む）とやや上昇した。また、同一園地から採集した試料について、時系列を追って見た場合、下岳Bおよび時津③の2園地では、はじめは感受性菌が採集されたものの、後には耐性菌が得られるようになった。このことは、感受性菌が優占する園地において栽培期間の薬剤防除によって感受性菌が淘汰され、耐性菌が残存した可能性を示唆するものと考えられた。
- 3) 園地毎の耐性菌発生の有無を基礎に発生園率を算出すると100%（所内ポット栽培を除く）となり、県内各地に耐性菌が広く存在している実態が明らかになった。
- 4) 以上のことから、本病を対象とした薬剤散布でQoI剤を使用することは、本病の蔓延およびQoI剤耐性菌の優占化を招く危険性が高いと推察されるため、ブドウの薬剤防除体系での使用場面を本病以外の対象（晩腐病等）に限定することが望まれる。

表 H26分離ブドウベと病菌のQoI剤耐性菌検定結果

No.	採集地	園地名	採集月日	PCR-RFLP結果 ¹⁾		判定 ²⁾
				1回目	2回目	
1	西海市	下岳A	2014/6/24	+	+	R
2	西海市	下岳B	2014/6/24	-	-	S
3	佐世保市	崎岡①	2014/6/25	+	+	R
4	佐世保市	崎岡②	2014/6/25	+	+	R
5	西海市	下岳右	2014/7/9	+	+	R
6	西海市	下岳左	2014/7/9	+	+	R
7	西海市	下岳B	2014/7/9	-	-	S
8	佐世保市	崎岡①	2014/7/9	+	+	R
9	佐世保市	崎岡②	2014/7/9	+	+	R
10	西海市	下岳右	2014/7/28	+	+	R
11	西海市	下岳左	2014/7/28	+	+	R
12	西彼杵郡時津町	時津奥上	2014/7/29	+	+	R
13	佐世保市	崎岡②	2014/7/30	+	+	R
14	西海市西彼町	下岳B	2014/8/8	+	+	R
15	佐世保市	崎岡②	2014/8/12	+	+	R
16	西彼杵郡時津町	時津②	2014/8/13	+	+	R
17	西彼杵郡時津町	時津③	2014/8/13	-	-	S
18	佐世保市	崎岡②	2014/8/27	+	+	R
19	佐世保市	崎岡③	2014/8/27	+	+	R
20	諫早市	所内pot(無防除)	2014/8/27	-	-	S
21	大村市	福重下の下	2014/9/8	+	+	R
22	西彼杵郡時津町	時津②	2014/9/24	+	+	R
23	西彼杵郡時津町	時津③	2014/9/24	+	+	R
24	大村市	福重上段	2014/9/27	+	+	R
25	大村市	福重下段	2014/9/27	+	+	R
26	大村市	福重清水	2014/9/27	+	+	R

1) +: 変異あり(バンドが2本)、 -: 変異なし(バンドが1本)

2) R: QoI剤耐性、S: QoI剤感受性