

# トマト灰色かび病菌に対する薬剤感受性検定結果

令和7（2025）年3月  
栃木県農業総合研究センター

## 1 目的

灰色かび病菌は耐性菌発生リスクが高いため、耐性菌の増加による防除効果の低下が懸念されている。そこで、各薬剤に対するトマト灰色かび病菌の感受性を明らかにし、今後の防除対策の資とする。

## 2 材料および方法

### (1) 供試菌株

令和6年（2024年）2～5月に、県内のトマト生産ほ場20か所から罹病葉または罹病果実を採取し、37菌株を単孢子分離し、PDA斜面培地で保存した。

### (2) 供試薬剤

表1の13剤とした。検定濃度は、メーカーから提示された感受性のベースラインの濃度に希釈した。なお、感受性のベースラインが提示されていない薬剤は、常用濃度とした。

### (3) 検定方法

検定方法は薬剤の特性に応じて、菌叢ディスク法（木曾・山田，1994；尾崎・小野，2016，第33回殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム（西野，2024））またはペーパーディスク法（鈴木・黒田，2010）で行った（表1）。

#### ①PDA菌叢ディスク法

供試菌株をPDA培地で20℃3日間前培養後、菌そう外周部を直径4mm（ピリベンカルブ水和剤、アゾキシストロビン水和剤は直径6mm）のコルクボーラーで打ち抜き、菌そう面を下にして、各薬剤を所定濃度含有したPDA培地（ピリベンカルブ水和剤、アゾキシストロビン水和剤はSHAM添加PDA培地）に置床した（表1）。20℃48時間培養後に、菌糸伸長の有無または程度により、薬剤耐性を判定した（表2）。

#### ②SD Agar 菌叢ディスク法

供試菌株をSD Agar/2% Glucose培地で20℃3日間前培養後、菌そう外周部を直径4mmのコルクボーラーで打ち抜き、菌そう面を下にして、薬剤を所定濃度含有した0.05%酢酸Na加用のSD Agar/2% Glucose培地に置床した（表1）。20℃72時間培養後に、菌糸伸長の有無を確認した（表2）。第33回殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム（西野，2024）において、イプフルフェノキンの感受性はMICおよびEC90値ではなく、EC50値を算出して感受

性検定を行うことが推奨されている。今回はこれを改変して100ppmの1濃度で検討した。

③ペーパーディスク法

供試菌株をPDA培地で20℃3日間培養後し、その後さらにBLB蛍光ランプ(東芝FL20SBLB)を4日間照射して分生胞子を形成させた。胞子を滅菌水に懸濁し、 $10^4 \sim 10^5$ 個/mlになるように調整した。胞子懸濁液に浸したペーパーディスク(東洋ろ紙抗生物質検定用φ8mm)を、各薬剤を所定濃度含有したFGAまたはYBA培地に置床し、暗黒下で、FGA培地は4日間、YBA培地は7日間培養した(表1)。培養後に、菌糸伸長の有無または程度により、薬剤耐性を判定した(表2)。

表1 検定に使用した農薬及び濃度

検定方法	グループ名	薬剤名	商品名	検定濃度 (ppm)
PDA <sup>1)</sup> 菌叢 ディスク法	MBC殺菌剤	チオファネートメチル水和剤	トップジンM水和剤	100
	ジカルボキシイミド	プロシミドン水和剤	スミレックス水和剤	5
	PP殺菌剤	フルジオキソニル水和剤	セイビアーフロアブル20	0.2
	QoI剤	ピリベンカルブ水和剤	ファンタジスタ顆粒水和剤	100
		アゾキシストロピン水和剤	アミスター20フロアブル	100
SD Agar <sup>2)</sup> 菌叢 ディスク法	DHODHI殺菌剤	イプフルフェノキン水和剤	ミギワ10フロアブル	100
FGA <sup>3)</sup> ペーパー ディスク法	AP殺菌剤	メバニピリム水和剤	フルピカフロアブル	3
	KRI-殺菌剤	フェンヘキサミド水和剤	パスワード顆粒水和剤 <sup>4)</sup>	1
	ポリオキシン類	ポリオキシン水和剤	ポリオキシンAL水溶剤	10
	ビスグアニジン類	イミノクタジンアルベシル酸塩水和剤	ベルコートフロアブル	5
YBA <sup>5)</sup> ペーパー ディスク法	SDHI剤	ボスカリド水和剤	カンタストライフロアブル	1
		ペンチオピラド水和剤	アフエットフロアブル	1
		ピラジフルミド水和剤	パレード20フロアブル	66.7

1) PDA培地: Difco™ Potato Dextrose Ager 39g, 蒸留水1L (QoI剤にはSHAM 2mMを添加)

2) SD Agar/2% Glucose (0.05%酢酸Na加用)

3) FGA培地 (fructose 10g, gelatin 2g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.5g, NaNO<sub>3</sub> 2g, Agar 15g, 蒸留水 1L)

4) トマト灰色かび病に登録がない(2024年12月)。

5) YBA培地 (Yeast extract 10g, Bacto peptone 10g, Sodium acetate 20g, Agar 15g, 蒸留水 1L)

表2 耐性菌判定基準

薬剤名	判定基準	判定 (略号)
チオファネートメチル水和剤	100ppmで生育する	高度耐性菌 (HR)
	100ppmで生育しない	感受性菌 (S)
プロシミドン水和剤	5ppmでコントロールの80%以上の生育量	高度耐性菌 (HR)
	5ppmでコントロールの80%未満の生育量	中等度耐性菌 (MR)
	5ppmで生育しない	感受性菌 (S)
フルジオキシニル水和剤	0.2ppmで生育する	耐性菌 (R)
	0.2ppmで生育しない	感受性菌 (S)
ピリベンカルブ水和剤	100ppmで菌糸生育阻害率80%未満	弱耐性菌か耐性菌 (WR or R)
	100ppmで菌糸生育阻害率80%以上	感受性菌 (S)
アゾキシストロビン水和剤	100ppmで菌糸生育阻害率50%未満	耐性菌 (R)
	100ppmで菌糸生育阻害率50%以上80%未満	基準なし
	100ppmで菌糸生育阻害率80%以上	感受性菌 (S)
イプフルフェノキン水和剤	常用濃度 (100ppm) で生育する	基準なし
	常用濃度 (100ppm) で生育しない	
メパニピリム水和剤	3ppmで生育する	感受性低下菌 (LS)
	3ppmで生育しない	感受性菌 (S)
フェンヘキサミド水和剤	1ppmで生育する	感受性低下菌 (LS)
	1ppmで生育しない	感受性菌 (S)
ポリオキシシン水和剤	10ppmでコントロールの50%以上の生育量	感受性低下菌 (LS)
	10ppmでコントロールの50%未満の生育量	感受性菌 (S)
イミノクタジンアルベシル酸塩水和剤	5 ppmで生育する	感受性低下菌 (LS)
	5 ppmで生育しない	感受性菌 (S)
ボスカリド水和剤	1 ppmで生育する	感受性低下菌 (LS)
	1 ppmで生育しない	感受性菌 (S)
ベンチオピラド水和剤	1 ppmで生育する	感受性低下菌 (LS)
	1 ppmで生育しない	感受性菌 (S)
ピラジフルミド水和剤	常用濃度 (66.7ppm) で生育する	感受性低下菌 (LS)
	常用濃度 (66.7ppm) で生育しない	感受性菌 (S)

### 3 結果および考察

#### (1) 菌叢ディスク法

結果は表3に示した。

- ① チオファネートメチル水和剤では、高度耐性菌率 (HR) は89%であった。
- ② プロシミドン水和剤では、中度耐性菌率 (MR) は49%であった。
- ③ フルジオキシニル水和剤では、耐性菌 (R) は検出されなかった。
- ④ ピリベンカルブ水和剤では、弱耐性菌 (WR) は検出されなかった。
- ⑤ アゾキシストロビン水和剤では、耐性菌率 (R) は81%であった。
- ⑥ イプフルフェノキン水和剤では、実用濃度 (100ppm) で菌糸伸長が認められなかった。

以上の結果から、フルジオキシニル水和剤、ピリベンカルブ水和剤、イプフルフェノキン水和剤の3剤では、耐性菌が確認されなかった。

表3 トマト灰色かび病菌に対する薬剤耐性菌率 (%)

グループ名	薬剤名	商品名	薬剤耐性菌率	
			耐性	菌率 (%)
MBC殺菌剤	チオファネートメチル水和剤	トップジンM水和剤	HR	89
ジカルボキシイミド	プロシミドン水和剤	スミレックス水和剤	MR	49
PP殺菌剤	フルジオキシニル水和剤	セイビアーフロアブル20	R	0
QoI剤	ピリベンカルブ水和剤	ファンタジスタ顆粒水和剤	WR	0
	アゾキシストロビン水和剤	アミスター20フロアブル	R	81
DHODHI殺菌剤	イプフルフェノキン水和剤	ミギワ10フロアブル	MIC>100ppm <sup>1)</sup>	0

※ HR：高度耐性菌，MR：中度耐性菌，R：耐性菌，WR：弱耐性菌

1) 原体メーカーではEC50値で評価することが、第33回殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム（西野, 2024）で推奨されている。今回は実用濃度100ppmの1濃度で評価したが、EC50値での判定が望ましい。

#### (2) ペーパーディスク法

結果は表4に示した。

- ① メパニピリム水和剤では、感受性低下菌率 (LS) は3%であった。
- ② フェンヘキサミド水和剤では、感受性低下菌 (LS) は検出されなかった。
- ③ ポリオキシシン水和剤では、感受性低下菌 (LS) は検出されなかった。
- ④ イミノクタジンアルベシル酸塩水和剤では、感受性低下菌 (LS) は検出されなかった。
- ⑤ ボスカリド水和剤では、感受性低下菌率 (LS) は65%であった。
- ⑥ ペンチオピラド水和剤では、感受性低下菌率 (LS) は65%であった。
- ⑦ ピラジフルミド水和剤では、感受性低下菌率 (LS) は13%であった。

以上の結果から、フェンヘキサミド水和剤、ポリオキシシン水和剤、イミノクタジンアルベシル酸塩水和剤の3剤では、耐性菌が確認されなかった。

表4 トマト灰色かび病菌に対する薬剤耐性菌率 (%)

グループ名	薬剤名	商品名	薬剤耐性菌率	
			LS	
AP殺菌剤	メパニピリム水和剤	フルピカフロアブル	LS	3
KRI-殺菌剤	フェンヘキサミド水和剤	パスワード顆粒水和剤	LS	0
ポリオキシソリン類	ポリオキシソリン水和剤	ポリオキシソリンAL水溶剤	LS	0
ビスグアニジン類	イミノクタジンアルベシル酸塩水和剤	ベルコートフロアブル	LS	0
SDHI剤	ボスカリド水和剤	カンタストライフロアブル	LS	65
	ペンチオピラド水和剤	アフェットフロアブル	LS	65
	ピラジフルミド水和剤	パレード20フロアブル	LS	14

※ LS：感受性低下菌

#### 4 薬剤耐性菌率の推移

2017年の結果と比較すると、感受性が低下した菌株の増加割合は、ペンチオピラド水和剤で最も高く、次いでボスカリド水和剤、プロシミドン水和剤、アゾキシストロビン水和剤、の順に高かった（表5）。

表5 各種薬剤に対するトマト灰色かび病菌の薬剤耐性菌率 (%) の推移

薬剤名	調査年	調査年														
		1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	2007	2009	2012	2017	2024	
チオファネートメチル水和剤	HR	-	-	69	77	71	82	73	83	98	94	-	100	95	89	
プロシミドン水和剤	MR	65	86	70	57	50	53	74	80	83	65	-	54	34	49	
フルジオキシソリン水和剤	R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	
ピリベンカルブ水和剤	WR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	0	
アゾキシストロビン水和剤	R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	70	81	
メパニピリム水和剤	LS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	3	3	
フェンヘキサミド水和剤	LS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	
ポリオキシソリン水和剤	LS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0	
イミノクタジンアルベシル酸塩水和剤	LS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	
ボスカリド水和剤	LS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	5	45	65	
ペンチオピラド水和剤	LS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	42	65	
ピラジフルミド水和剤	LS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14	

※ HR：高度耐性菌，MR：中度耐性菌，R：耐性菌，WR：弱耐性菌，LS：感受性低下菌

※ 2007～2017年のデータは栃木県農業環境指導センター(2018)によった。

※ -は実施なしを示す。

※ イブフルフェノキソリン水和剤は耐性菌の判定基準がないため、表5から除外した。