

## 薬剤耐性灰色かび病菌の発現機構と 防除に関する研究

### 第3報 異なる薬散歴のハウス果菜類灰色かび病菌の薬剤耐性

野村 良邦・孫工弥寿雄<sup>1)</sup>

(野菜・茶葉試験場久留米支場)

**Studies on the mechanism of resistance of *Botrytis cinerea* strains previously sensitive to fungicides and methods of control. 3. Resistance to fungicides of *Botrytis cinerea* isolated from vegetables cultivated in plastic greenhouse.** Yoshikuni NOMURA and Yasuo SONKU (Kurume Branch, National Research Institute of Vegetables, Ornamental Plants and Tea, Kurume, Fukuoka 830)

果菜類灰色かび病菌は、ベンズイミダゾール系薬剤耐性菌が1974年頃から<sup>6,8)</sup>、ジカルボキシミド系薬剤耐性菌が1981年頃から出現した<sup>1,2,3,4,5,7)</sup>。以来年月が経過して各種の研究蓄積が行われてきたが、まだ不明な点も多々残されている。そこで、特別研究「病害虫の薬剤抵抗性獲得機作の解明と対抗技術の開発」の一環として、栽培現地における灰色かび病菌の各種薬剤に対する耐性の程度を調べたのでその概要を報告する。

本実験を行うに当たり、グアザチン原体を快く提供されたクミアイ化学工業株式会社に対して厚くお礼申し上げる。

#### 材料および方法

##### 1. 調査圃場および供試菌株

1987年4月に、ビニルハウス栽培のキュウリ3圃場、トマト5圃場、ナス5圃場、イチゴ5圃場計18圃場（福岡県内17、佐賀県内1）から罹病果実を採集し、病原菌を分離して、1圃場当たり30菌株計540菌株を供試した。罹病果実採集時期は、各圃場とも収穫中期～後期であった。

##### 2. 供試薬剤

野菜類の本病に使用登録のあるイプロジオン剤(IPと省略、商品名:ロブラー), プロシミドン剤(Pr, スミレックス), ピンクロゾリン剤(Vn, ロニラン), チオファネートメチル剤(TM, トップジンM), ベノミル剤

(Be, ベンレート), ポリオキシン剤(Po, ポリオキシンAL), グアザチン・ポリオキシン剤(GP, ポリベリソ), スルフェン酸系剤(Su, ユーパレン), TPN剤(Tp, ダコニール), キャプタン剤(Ca, オーソサイド), トリアジン剤(Tr, トリアジン)およびグアザチン原体(40%水溶液, Gu)の12薬剤を供試し、濃度は成分濃度で3.125～100ppmの6段階とした。

##### 3. 検定法

供試菌は、PSA平板培地で3～4日間前培養し、発育菌そうの周辺部を5mm角にメスで切断し、径9cmペトリ皿に分注した薬剤添加PSA平板培地上に5片（1菌株1片ずつ供試）ずつ置床して25℃で3日間培養した。对照には、薬剤無添加のPSA平板培地を使用した。

##### 4. 調査方法

培養3日後の菌そうの発育程度を次の5段階に分類した。  
- : 発育なし。  
± : 菌そう片周囲にわずかに発育しているが培地上ではほとんど発育していない。  
+ : 菌そう片から1～4mm発育。  
++ : 同5～9mm発育。  
+++ : 同10mm以上発育。  
その結果、発育程度+～+++を該当薬剤濃度での発育可能な耐性菌とみなし、最少発育阻止濃度(MIC)が100ppm以上の菌を高度耐性菌(H菌), 25～50ppmの菌を中度耐性菌(M菌)とした。MICが100ppm以上の菌株については27～30菌株を用い、前述と同様の検定法で、12.5～1,600ppmの8段階で菌そうの発育を調査した。

罹病果実採集圃場では、本病防除に關係ある使用殺菌剤の種類と回数、栽培品種、連作年数、発生程度などに

1) 現在 (株)生科研

について聞き取り調査を行った。

### 結果および考察

#### 1. 調査圃場の概況

今回調査したビニルハウスでの連作年数は、キュウリが11年、トマトが7~10年、ナスが5~10年、イチゴが1~15年で、調査時における本病の発生程度は、5圃場が多く他の13圃場は少~中であった。本病に対する使用薬剤は、キュウリではPr, TMかBe, Poが主であり、トマトではIp, TMが、ナスではPr, GP, TMかBeが、イチゴではIpが主であった（第1表）。

#### 2. 薬剤耐性検定

IpのH菌はトマトを中心に3作物7圃場で検出されたが、調査全菌株に対するH菌株率は4%でかなり低かった。M菌は4作物17圃場で検出され、38%とやや高率であった。PrのH菌は4作物17圃場で検出され、67%と高率であった。M菌は4作物10圃場で検出され、4%とかなり低率であった。VnのH菌は3作物6圃場で検出され、14%と比較的低率であった。M菌は4作物16圃場で検出され、39%とやや高率であった（第2, 3表）。

TMのH菌は4作物18圃場で検出され、75%とかなり高率であった。一方、M菌は1%と極めて低率に検出されたが、この菌株は該当濃度の薬剤添加培地での発育はかなり抑制され、薬剤無添加培地でも発育が遅く、菌株

自体の活性が低いために薬剤の高濃度で発育が阻止されたのではないかと推察された。BeのH菌は4作物18圃場で検出され、75%とかなり高率であった。一方、M菌は1%と極めて低率に検出されたが、TMのM菌と同様の傾向であった（第2, 3表）。

PoのH菌は4作物16圃場で検出され、18%と比較的低率であった。M菌は4作物18圃場で検出され、56%と高率であった。GPのH菌はいずれの圃場でも検出されなかつた。M菌は2作物5圃場で検出されたが、1%と極めて低率であった。SuのH菌はいずれの圃場でも検出されなかつた。M菌は4作物15圃場で検出され、14%と比較的低率であった。TpのH菌は4作物18圃場で検出され、75%とかなり高率であった。M菌は4作物18圃場で検出され、14%と比較的低率であった。CaのH菌は4作物18圃場で検出され、86%とかなり高率であった。M菌は4作物17圃場で検出され、10%と比較的低率であった。TrのH菌は2作物4圃場で検出され、3%と極めて低率であった。M菌は4作物18圃場で検出され、71%とかなり高率であった。GuのH菌は4作物14圃場で検出され21%であった。M菌は4作物17圃場で検出され30%であった（第2, 3表）。

各薬剤耐性菌の各薬剤添加培地における菌の発育は、無添加培地と比較して、Ip, Pr, Vnでは極めて強く抑制され、GP, Su, Tr, Guではかなり抑制され、Po

第1表 調査圃場の耕種概要および使用薬剤の種類と回数

圃場 No.	作物名	品種	採集地	発生 程度	連作 年数	薬剤 使用回数										
						Ip	Pr	Vn	TM	Be	Po	GP	Su	Tp	Ca	Tr*
1	キュウリ	"シャープワン"	福岡県久留米市	多	11	6<			2		3			4<		
2	〃	〃	〃	少	11	6<	2	3			2			4<		
3	〃	〃	〃	中	11	6<			3<	5				4<		
4	トマト	"瑞健"	福岡県久留米市	中	10	4<			1		1			1	2<	
5	〃	〃	〃	少	7	4					1					
6	〃	〃	〃	多	7	4<			2		1			2<		
7	〃	〃	〃	少	7	4<			2					2<	5	
8	〃	〃	〃	多	7	4<			2					2<		
9	ナス	"黒陽"	福岡県立花町	中	10		5			1		2		4		
10	〃	〃	佐賀県牛津町	中	7	1	3					2	1	3		
11	〃	〃	福岡県瀬高町	中	5		4		3			3				
12	〃	〃	〃	中	5	2	5	2		3		2				
13	〃	〃	〃	中	5		4					3<				
14	イチゴ	"麗紅"	福岡県久留米市	多	8	2					5					
15	〃	〃	〃	少	1	3					5					
16	〃	〃	〃	中	8	2					5					
17	〃	〃	〃	多	15	2					5					
18	〃	"宝交早生"	〃	中	3											

\* : 薬剤省略名は本文参照

第2表 各種薬剤に対する灰色かび病菌の最少発育阻止濃度別検出菌株率

薬 剤 名 (略称)	最 少 発 育 阻 止 濃 度 (ppm)						
	≤ 3.175	6.25	12.5	25	50	100	200 ≤
イ プ ロ ジ オ ン 剤 (Ip)	23.1	12.2	22.0	35.0	3.1	0.7	3.7 (%)
プロシミドン剤 (Pr)	27.0	2.0	0.9	3.3	0.2	0.6	65.9
ビンクロゾリン剤 (Vn)	32.0	3.9	11.7	38.9	0	0.4	13.1
チオファネートメチル剤 (TM)	21.9	2.2	0.2	0.7	0.4	0.9	73.7
ベ ノ ミ ル 剤 (Be)	23.9	0.2	0.4	0.6	0	0.9	74.1
ポリオキシン剤 (Po)	10.6	5.9	9.4	33.3	22.8	12.8	5.2
グアザチン・ポリオキシン剤 (GP)	70.6	19.6	8.7	1.1	0	0	0
スルフェン酸系剤 (Su)	28.5	23.1	34.3	12.2	1.9	0	0
T P N 剤 (Tp)	8.7	0.9	1.3	11.1	3.3	6.7	68.0
キ ャ ブ タ ン 剤 (Ca)	3.1	0.2	0	5.0	5.4	22.0	64.3
トリニアジン剤 (Tr)	9.6	3.3	13.0	45.0	25.9	3.1	0
グアザチン原体 (Gu)	35.9	6.1	7.0	16.1	13.7	15.6	5.6

各薬剤とも540菌株検定

第3表 果菜類灰色かび病菌の薬剤耐性検定結果

圃場 No. および 作物名	薬剤名 (略称)										
	イ プ (Ip)	ブ ロ (Pr)	ビ (Vn)	チ (TM)	オ (Be)	フ (Po)	ア (GP)	ス (Su)	T (Tp)	キ (Ca)	ト (Tr)
1 キュウリ	▲	●	▲	●	●	○	△	●	●	▲	△
2 タ	○	●	▲	●	●	○	▲	●	●	▲	○
3 タ	△	●	●	●	●	○	●	●	●	▲	△
4 トマト	△	●	▲	●	●	○	△	●	●	▲	●
5 タ	○	●	●	●	●	●	▲	△	●	●	○
6 タ	▲	●	▲	●	●	●	○	△	●	●	○
7 タ	○	○	○	○	○	○	△	△	●	●	○
8 タ	○	●	○	●	●	○	△	●	●	△	○
9 ナス	○	●	▲	●	●	○	○	○	●	▲	
10 タ	▲	●	▲	●	●	○	△	●	●	▲	○
11 タ	○	●	▲	●	●	●	△	●	●	▲	△
12 タ	▲	●	▲	●	●	○	△	●	●	▲	○
13 タ	○	●	▲	●	●	○	△	○	●	▲	○
14 イチゴ	△	○	△	○	○	○	△	△	●	●	○ ○
15 タ	△	○	○	●	●	○	△	●	●	▲	○
16 タ	△	○	○	○	○	○	△	●	●	○	○
17 タ	△	○	△	○	○	○	○	△	●	●	○ ○
18 タ		△	○	○	●		△	●	●	○	○

丸印は高度耐性菌、三角印は中度耐性菌。

●▲は耐性率61~100%、○▲は同31~60%、○△は同1~30%。高度耐性菌が検出されなかった圃場は中度耐性菌を表示。空欄は両耐性菌とも無検出。

では25ppm以上で極めて強く抑制されたが、Tp, Caでは比較的良好で、TM, Beではかなり良好であった。

Ip, Pr, Vnのジカルボキシミド系薬剤耐性菌は、圃場における該当薬剤の使用回数の増加とともに検出率が増加する傾向であった。しかし、TM, Be, Po, Su, Tp, CaおよびTrの各薬剤耐性菌は、少なくとも今回の栽培では無使用の圃場でも検出された所があった。

### 3. 耐性菌のMIC

Ip, Pr, Vn, TM, Be, Po, TpおよびCaのH菌について、さらに薬剤添加濃度を上げてMICを調べた結果、Ip, Prでは3,200 ppm以上の菌株が多数あり、Vnではやや低い400~1,600 ppmの菌株が多かった。本3剤ではいずれの菌株も12.5 ppmの低濃度から1,600 ppmの高濃度までの範囲で、菌そうの発育は極めて強く抑制された。又、これらの耐性菌は、Ipでは25~200 ppmで、Prでは12.5~50 ppmで、Vnでは25~100 ppm付近でその前後の濃度よりも発育が抑制される傾向であった。今回採取された本3剤の耐性菌は、低濃度でも発育がかなり抑制されたことから、実際の圃場ではまだ本剤がかなり有効であろうと考えられた。TM, Beでは供試30菌株全部のMICが3,200 ppm以上であり、前者では1,600 ppmでも菌そうの発育はかなり良好であったが、後者ではかなり抑制された。PoではMICが400 ppm以上の菌株はなく、25 ppm以上では菌そうの発育は極めて強く抑制された。Tpでは供試30菌株全部のMICが3,200 ppm以上であり、Caでは400~3,200 ppm以上までの範囲であった。両剤の耐性菌とも高濃度での発育は極めて強く抑制された(第4表)。

### 4. 交差耐性

薬剤間の交差耐性は、Ip, Pr, Vnの3薬剤間(ジカルボキシミド系薬剤)、およびTM, Beの2薬剤間(ベンズイミダゾール系薬剤)で認められた。他の薬剤間では認められなかった。ジカルボキシミド系薬剤耐性菌では、大部分の菌株がPrに対する耐性が強く、Ipと

Vnに対する耐性はやや弱い菌株が多かった。本薬剤耐性菌は、3剤の低濃度から高濃度まで菌そうの発育が極めて強く抑制された。ベンズイミダゾール系薬剤耐性菌は、大部分の菌株が両剤に高度の耐性を示し、感受性菌と耐性菌の各剤に対するMIC値に大差が認められた。本薬剤耐性菌は、両剤の低濃度から高濃度まで菌そうの発育が良かった。又、ジカルボキシミド系薬剤耐性菌の大部分は、ベンズイミダゾール系薬剤耐性菌であったが、極めて少数の菌株はベンズイミダゾール系薬剤感受性菌であった。しかし、ベンズイミダゾール系薬剤耐性菌はジカルボキシミド系薬剤耐性菌とは限らなかったので、両グループの薬剤間では交差耐性は認められなかった。

## 摘要

1) ビニルハウス栽培のキュウリ、トマト、ナス、イチゴ計18圃場 540菌株の12薬剤に対する耐性程度を検定し、生産地での薬剤耐性菌の発生状況および使用薬剤との関係を調べた。

2) 本病に対する農家の使用薬剤は、キュウリではPr, TMかBe, Poが、トマトではIp, TMが、ナスではPr, GP, TMかBeが、イチゴではIpが主体であった。

3) 高度耐性菌が高率に検出された薬剤は、Pr, TM, Be, Tp, Caで、低率の薬剤は、Ip, Vn, Po, Tr, Guであり、後者の薬剤では中度耐性菌が高率に検出された。しかし、GPとSuでは耐性菌がほとんど検出されなかった。

4) 高度耐性菌のMICは、Ip, Pr, Vnでは3,200 ppm以上の菌株もあったが、いずれの菌株も低~高濃度で菌そうの発育は極めて強く抑制された。TMとBeでは3,200 ppm以上の菌株が多数あり、菌そうの発育はかなり良好であった。Tpでは3,200 ppm以上の菌株がかなり存在し、Caでは3,200 ppm以上の菌株は少なく、Poでは400 ppm以上の菌は検出されなかった。

第4表 各薬剤の高度耐性菌の最少発育阻止濃度別菌株数

薬剤名(略称)	供試 菌株数	最少発育阻止濃度(ppm)								
		≤12.5	25	50	100	200	400	800	1,600	3,200≤
イプロジオン剤(Ip)	30	0	0	0	0	0	1	0	6	23
プロシミドン剤(Pr)	30	0	0	0	0	0	0	0	0	30
ビングロゾリン剤(Vn)	27	0	0	0	0	2	8	8	8	1
チオファネートメチル剤(TM)	30	0	0	0	0	0	0	0	0	30
ベノミル剤(Be)	30	0	0	0	0	0	0	0	0	30
ポリオキシン剤(Po)	30	0	3	17	7	3	0	0	0	0
T P N 剤(Tp)	30	0	0	0	0	0	0	0	0	30
キヤブタン剤(Ca)	27	0	0	0	0	0	2	4	4	17

5) 薬剤間の交差耐性は、IpとPrとVnの3薬剤間(ジカルボキシミド系薬剤), TMとBeの2薬剤間(ベンズイミダゾール系薬剤)で認められ、他剤では認められなかった。よって従来の交差耐性が再確認され、現在までに新しい交差耐性はなかった。なお、Ip, Pr, Vnの3剤耐性菌の中にはPrのMIC値が他より高い菌があり、薬剤間で菌の反応に差がみられた。

6) Ip, Pr, Vnのジカルボキシミド系薬剤耐性菌は、本剤の使用回数が多い圃場ほど検出率が高かった。しかし、他剤の耐性菌は、今回の栽培中に該当農薬を使用しない圃場からも検出された。

## 引用文献

- 1) 池田 弘・田中澄人・中村利宣 (1983) 日植病報 49 : 84 (講要).
- 2) 木曾 畏・野村良邦・鍾江義広 (1982) 日植病報 48 : 89 (講要).
- 3) 三浦猛夫・川越 仁 (1982) 日植病報 48 : 89 - 90 (講要).
- 4) 村越重雄・細矢俊一郎 (1982) 日植病報 48 : 82 - 83 (講要).
- 5) 竹内妙子・長井雄治 (1982) 日植病報 48 : 82 (講要).
- 6) 手塚信夫・木曾 畏 (1975) 日植病報 41 : 303 - 304 (講要).
- 7) 手塚信夫・渡辺康正・石井正義 (1982) 日植病報 48 : 118 - 119 (講要).
- 8) 山本 盤 (1975) 植物防疫 29 : 194 - 196.

(1988年5月7日 受領)