

熊本県における果菜類の薬剤耐性灰色かび病菌の発生経過

山口 孝典¹⁾・我孫子和雄²⁾・小牧 孝一³⁾

(¹⁾熊本県病害虫防除所, ²⁾野菜・茶業試験場, ³⁾熊本県農業研究センター)

Occurrence of fungicide resistant *Botrytis cinerea* on fruit vegetables in Kumamoto Prefecture.

Takanori YAMAGUCHI¹⁾, Kazuo ABIKO²⁾ and Kouichi KOMAKI³⁾ (¹⁾Kumamoto Prefectural Plant Protection Office, Koshi, Kumamoto 861-11.

²⁾National Research Institute of Vegetables, Ornamental Plants and Tea, Anno, Mie 514-23. ³⁾Kumamoto Prefectural Agricultural Research Center, Koshi, Kumamoto 861-11)

ベンズイミダゾール系薬剤耐性灰色かび病菌の出現は、1974年に高知県¹⁾において初めて発見され、その後、全国的に問題となっている。熊本県では、1982年から灰色かび病薬剤耐性菌検定事業を実施してきている。調査対象の果菜類においては、薬剤耐性菌出現の年次的な変動は若干あるものの、全般的に耐性菌率が高く、防除上の大きな問題となっている。

近年、ベンズイミダゾール系薬剤に対し負の交差耐性を示す薬剤、ジエトフェンカルブ剤が開発され、熊本県では1992年からその混合剤であるスミブレンド水和剤およびゲッター水和剤を病害虫防除基準に採用し、灰色かび病に対する主要な薬剤として使用されている。

一方、ベンズイミダゾール系薬剤とジエトフェンカルブ剤に耐性を示す耐性菌の出現が懸念されていたが、九州では1989年に宮崎県²⁾で、1992年には鹿児島県³⁾において両薬剤に耐性を示す菌株が分離された。

熊本県においても、1994年に灰色かび病菌の薬剤耐性菌発生調査を実施した結果、ナスおよびキュウリからベンズイミダゾール剤とジエトフェンカルブ剤の両薬剤に耐性を示す菌株が初めて分離された。そこでその両薬剤に対する耐性菌の性状を報告するとともに、本県における薬剤耐性菌の動向について併せて報告する。

本文に先立ち、調査の方法についてご教示をいただいた農林水産省野菜・茶業試験場の手塚信夫博士、ジエトフェンカルブ剤を提供いただいた住友化学工業株式会社にお礼申し上げる。

なお、本報告は平成6年度野菜・茶業試験場依頼研究員研修の成果の一部である。

試 験 方 法

1. 耐性菌発生状況調査

耐性菌調査は、1985年から1994年まで施設栽培のトマ

ト、ナス、キュウリ、イチゴの4作物について、栽培後期の4～6月に1作物6～8ほ場を選定し、1ほ場から約15菌株を採集して検定を実施した。

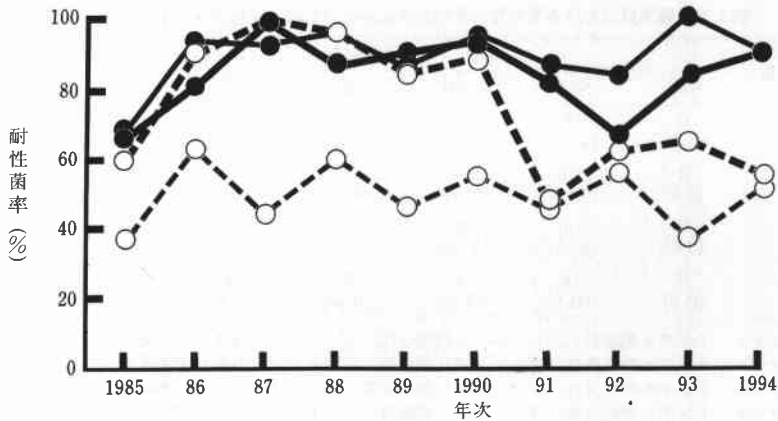
検定に供試した菌株は、圃場から任意に採集した罹病果や罹病茎葉の表面に形成した分生胞子を25%乳酸加用のPSA平板培地に置床し、23℃、3～4日間培養後、伸長した菌糸先端を釣菌して分離した。各分離株はPSA斜面培地で保存した。

薬剤耐性の検定は、菌株をPSA平板培地で23℃、3～4日間培養した後、菌叢先端部分を3mm角に切り抜き、検定培地に置床し、23℃で2日間培養後、菌糸生育の有無により判定した。

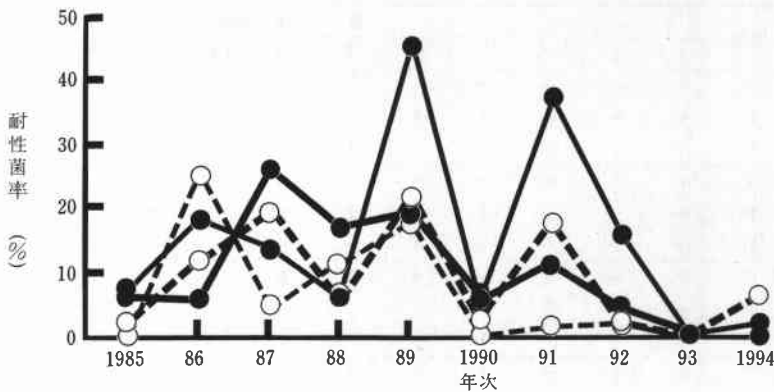
検定培地は、1993年まではV8ジュース寒天培地を使用し、ベンズイミダゾール系薬剤耐性菌の検定は、チオファネートメチル水和剤(有効成分:70%)を成分量で50ppm, 100ppm, 200ppmになるように添加し、100ppmで菌糸の伸長したものを耐性菌とした。ジカルボキシイミド系薬剤耐性菌の検定は、プロシミドン水和剤(有効成分:50%)を成分量でそれぞれ10ppm, 20ppm, 40ppm, 80ppm含有する検定培地で行い、20ppmで菌糸が伸長したものを耐性菌とした。1994年は検定培地にPDA培地を用い、3月から6月にかけて熊本県内施設栽培のトマト、ナス、キュウリ、イチゴで採集した罹病果、罹病茎葉から分離した287菌株を供試した。チオファネートメチル剤100ppm、プロシミドン剤20ppm、ジエトフェンカルブ剤(有効成分:25%)100ppmで菌糸の伸長が認められたものを耐性菌と判定した。

2. 灰色かび病菌の培地上での諸性質と病原性

灰色かび病菌の培地上での諸性質と病原性を調査した。供試菌株として、チオファネートメチル剤、プロシミドン剤及びジエトフェンカルブ剤各々に対する感受性から、SSR菌、SRR菌、RSS菌、RSR菌及びRRR菌の各



第1図 チオファネートメチル剤に対する薬剤耐性灰色かび病菌発生率の推移
 ● トマト ○ ナス ● キュウリ ○ イチゴ



第2図 プロシミドン剤に対する薬剤耐性灰色かび病菌発生率の推移
 ● トマト ○ ナス ● キュウリ ○ イチゴ

タイプの単胞子分離菌株5菌株を用いた。

薬剤感受性の検定培地として、チオファネートメチル水和剤、プロシミドン水和剤あるいはジエトフェンカルブ水和剤を成分量で、0, 1, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100, 200, 400, 800, 1,600, 3,200ppmの各濃度で含むPSA平板培地を検定培地として用いた。検定は、PSA培地上で23℃、3日間培養した菌叢の先端を径5mmのコルクボーラで切り抜き、検定培地に置床して、23℃で2日間培養した後、菌糸の生育の有無を調査し、最小生育阻止濃度(MIC)を求めた。

また、PSA培地上で23℃、4日間培養した菌叢の先端を径5mmのコルクボーラで打ち抜き、PDA平板培地に置いて、23℃、48時間培養後の菌糸の生育量を測定した。

病原性の確認には、長さ5cmに切断したキュウリ果実を、PSA培地上で23℃、48時間培養した各菌株の菌叢上に立て、23℃、4日後の果実の病斑長を測定した。

結 果

1. 耐性菌発生状況

熊本県における果菜類でのベンズイミダゾール系剤(チオファネートメチル)およびジカルボキシイミド系剤(プロシミドン)に対する薬剤耐性灰色かび病菌発生率の年次別推移を、それぞれ第1図、第2図に示した。

ベンズイミダゾール系薬剤のチオファネートメチルに対する耐性菌率は、調査開始直後の1985年からすでに高い値を示し、トマト、ナス、キュウリでは1990年まで80%以上の高い耐性菌率であった。1991、1992年の2年

第1表 熊本県における果菜類の薬剤耐性灰色かび病菌の種類別検出率 (1994年)

作物名	菌株数	薬剤耐性灰色かび病菌の種類							
		SSS	SSR	SRR	SRS	RSS	RRS	RSR	RRR
トマト	129	0 (0.0)	13 (10.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	116 (89.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
ナス	65	0 (0.0)	26 (40.0)	3 (4.6)	0 (0.0)	35 (53.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.6)
キュウリ	57	0 (0.0)	6 (10.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	46 (80.7)	0 (0.0)	4 (7.0)	1 (1.8)
イチゴ	36	0 (0.0)	18 (50.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	18 (50.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)

注) RSS 菌：チオファネートメチル剤耐性，プロシミドン剤感受性，ジエトフェンカルブ剤感受性。
 SRS 菌：チオファネートメチル剤感受性，プロシミドン剤耐性，ジエトフェンカルブ剤感受性。
 SSR 菌：チオファネートメチル剤感受性，プロシミドン剤感受性，ジエトフェンカルブ剤耐性。
 SRR 菌：チオファネートメチル剤感受性，プロシミドン剤耐性，ジエトフェンカルブ剤耐性。
 RSR 菌：チオファネートメチル剤耐性，プロシミドン剤感受性，ジエトフェンカルブ剤耐性。
 RRR 菌：チオファネートメチル剤耐性，プロシミドン剤耐性，ジエトフェンカルブ剤耐性。
 () は、菌株が占める割合

第2表 各種薬剤耐性灰色かび病菌のチオファネートメチル剤，プロシミドン剤，ジエトフェンカルブ剤に対する反応

耐性の種類	菌株名	薬剤	濃度 (ppm)												
			0	1	2.5	5	10	25	50	100	200	400	800	1600	3200
SSR	N-318	T	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		P	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
		D	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SRR	N-302	T	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		P	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		D	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
RSS	N-305	T	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		P	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
		D	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
RSR	K-193	T	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		P	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		D	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
RRR	N-316	T	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		P	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	
		D	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

注) +：2mm以上の菌叢生育が認められるもの
 -：2mm以上の菌叢生育が認められないもの
 T：チオファネートメチル
 P：プロシミドン
 D：ジエトフェンカルブ

間はやや低い耐性菌率であったが、トマト、キュウリではその後80~100%の高い耐性菌率が示され、ナスでは60%前後の耐性菌率で推移していた。イチゴは全般に35%~65%の範囲で他作物に比べて低い耐性菌率で推移していた。

一方、ジカルボキシイミド系剤のプロシミドンに対する耐性菌の発生は、いずれの作物においても、調査期間を通じて50%以下で推移し、トマト、ナス、キュウリでは30%以下の耐性菌率であった。

1994年に熊本県の主要産地から採集した、各果菜類の薬剤耐性灰色かび病菌の種類別検出率を第1表に示した。ジエトフェンカルブ剤に耐性を示す菌株(SSR菌)が、トマトで10.1%、ナスで40.0%、キュウリで10.5%、イチゴで50.0%認められた。チオファネートメチル剤に耐性を示す菌株(RSS菌)は、トマトで89.9%、ナスで53.8%、キュウリで80.7%、イチゴで50.0%認められた。

また、キュウリの1圃場でチオファネートメチル剤とジエトフェンカルブ剤に耐性を示すRSR菌が4菌株、

ナス、キュウリの各1圃場でチオファネートメチル剤、プロシミドン剤、ジエトフェンカルブ剤の3剤に耐性を示す RRR 菌が1菌株ずつ検出された。

2. 薬剤耐性灰色かび病菌の各種培地上での生育と病原性

第2表は薬剤耐性の程度を、SSR, SRR, RSS, RSR, RRR 菌から各1菌株を供試して比較したものである。

SSR 菌である N-318 菌株の MIC は、チオファネートメチル剤 (以下 T とする) で 10ppm, プロシミドン剤 (以下 P とする) で 25ppm であるのに対して、ジエトフェンカルブ剤 (以下 D とする) では 3,200ppm 以上であった。同様に SRR 菌の N-302 菌株の MIC は T が 5ppm であるのに対して P と D が 3,200ppm 以上であった。RSS 菌の N-305 菌株の MIC は T で 3,200ppm 以上であったのに対し、P と D では 10ppm であった。RSR 菌の K-193 菌の MIC は T と D で 3,200ppm であったのに対し P では 1ppm 以下であった。RRR 菌の N-316 菌株は T と D で 3,200ppm 以上、P で 200ppm が MIC であった。

第3表に、各種耐性菌の菌糸生育とキュウリ果実に対する病原性を示した。SRR 菌と RSR 菌は、他の SSR 菌、RSS 菌および RRR 菌に比較して菌糸の生育量は劣っていた。しかし、キュウリに対する病原性は、5菌株の間で全く差異が認められなかった。

考 察

過去10年間、熊本県における耐性菌の出現状況について調査した結果、施設栽培果菜類においてベンズイミダゾール系薬剤に対して耐性を示す灰色かび病菌の出現頻度は、既報告^{3,5)}と同様に、同系統の薬剤の使用が減少した現在でも耐性菌率の低下の傾向はみられず高く推移している。

ジカルボキシイミド系に対する薬剤耐性菌の出現は、

第3表 各種薬剤耐性灰色かび病菌の菌糸生育及び病原性の比較

種類	菌株名	PDA 培地上での ^{a)} 菌糸生育 (mm)	キュウリ果実に対する ^{b)} 病原性 (mm)
SSR	N-318	45	21
SRR	N-302	8	22
RSS	N-305	35	25
RSR	K-193	11	23
RRR	N-316	29	26

注) ^{a)} 23℃で48時間培養後の菌糸の伸長量
数値は菌叢の直径から5mm (接種菌の直径) を引いた数値。

^{b)} 菌叢上に果実を置床し、23℃で96時間後の病斑長

10年前から10%前後の発生率で推移しており、本県果菜類ではまだ十分に薬剤の効果があると考えられる。現在、ベンズイミダゾール系薬剤に対し負の交差耐性を示す薬剤、ジエトフェンカルブ剤が開発され、その混合剤が灰色かび病の防除に使用されている。しかしながら、既にベンズイミダゾール系薬剤とジエトフェンカルブ剤の両薬剤に対する耐性菌の出現^{3-5,8)}が確認され、防除効果の低下¹⁾も指摘されている。今回、本県においても、ベンズイミダゾール系薬剤のチオファネートメチルとジエトフェンカルブ剤の両剤に耐性を示す菌株が確認された。培地上における病菌の生育の差異については、RSR 菌が RSS 菌や SSR 菌よりやや菌糸の伸長が小さい⁶⁾ことが報告されているが、その原因は分かっていない。

さらにベンズイミダゾール系薬剤とジエトフェンカルブ剤およびジカルボキシイミド剤の3剤に耐性を示す菌株の出現⁷⁾が、既に報告されているが、その菌株の性質は本県で採集された菌株と同様に T 及び D に対し高度耐性を示し、培地上では SSR 菌、RSS 菌と同様の生育が確認された。

また、今回の調査では、RSR 菌及び RRR 菌の発生率の和は、ナスで約2%、キュウリで約9%であった。SSR 菌優勢下でのジエトフェンカルブ剤の混合剤の連用により高度耐性 RRR 菌が出現した⁸⁾ことが報告されており、今後、熊本県においても、耐性菌の発生動向に注意し、調査を続ける必要があると考える。

摘 要

1) 熊本県での施設栽培における果菜類灰色かび病菌について、1985年から1994年までベンズイミダゾール系薬剤およびジカルボキシイミド系薬剤に対する耐性菌発生率の推移を調査した。

2) ベンズイミダゾール系薬剤耐性菌は、トマト、ナス、キュウリでは調査開始直後から60%以上の高率で発生しており、本系統薬剤による防除効果は期待できない。

3) ジカルボキシイミド系薬剤耐性菌は、トマト、ナス、キュウリ、イチゴのいずれの作物においても、調査全期間を通じて10%前後の発生で、本系統薬剤による防除効果は期待できる。

4) 1994年のジエトフェンカルブ剤に対する耐性菌の発生状況調査の結果、ベンズイミダゾール系薬剤とジエトフェンカルブ剤に耐性を示す RSR 菌が、キュウリで4菌株、さらにジカルボキシイミド系薬剤にも耐性を示す RRR 菌が、ナス、キュウリでそれぞれ1菌株確認された。本剤に対する耐性菌の確認は、熊本県では初めてである。

5) RSR 菌及び RRR 菌のチオファネートメチル剤及びジエトフェンカルブ剤に対する反応は、いずれも MIC が 3,200ppm と高度耐性であった。しかし RRR 菌のプロシミドン剤に対する反応は中程度であった。

6) ジエトフェンカルブ剤に対する耐性菌の出現は、1994年の調査結果ではわずかであった。今後、増加するものと考えられる。

引 用 文 献

1) KATAN, T., ELAD, D. and YUNIS, H. (1989) *Plant Path.* **38**

: 86-92. 2) 木曾 皓 (1994) *植物防疫* **48**: 42-46.
 3) 櫛間善幸・三浦猛夫・日高 透・川越 仁 (1989) *九病虫研究会報* **35**: 37-40. 4) 野村良邦・小林紀彦 (1991) *日植病報* **56**: 105. 5) 尾松直志・和泉勝一・鳥越博明 (1991) *九病虫研究会報* **37**: 15-20. 6) 尾松直志・和泉勝一 (1992) *九病虫研究会報* **38**: 32-35. 7) 重松辰郎・田代定良・山田正和・田中 薫 (1994) *日植病報* **60**: 349. 8) 竹内妙子 (1987) *千葉農試研報* **14**: 1-75. 9) 竹内妙子 (1991) *植物防疫* **45**: 113-116. 10) 手塚信夫・西 泰道・渡辺康正 (1980) *日植病報* **46**: 26-33. 11) 山本 馨 (1975) *植物防疫* **29**: 194-196.

(1995年 4月28日 受領)