

## 長崎県のジャガイモから分離した 疫病菌のメタラキシル剤耐性

菅 康弘・仲川 晃生\*  
(長崎県総合農林試験場愛野馬鈴薯支場)

**Metalaxyl resistance of *Phytophthora infestans*, isolated from potato in Nagasaki Prefecture.** Yasuhiro Suga and Akio Nakagawa\* (Aino Potato Branch, Nagasaki Prefectural Agricultural and Forestry Experiment Station, Aino, Nagasaki 854-0302, Japan)

**Key words:** metalaxyl, *Phytophthora infestans*, potato, resistance

### 緒 言

暖地のジャガイモ春作栽培では、例年4月下旬から5月全般にわたり疫病が発生することが多く、本病に対する防除のために定期的な薬剤散布が必要とされる。長崎県では、フェニルアマイド系薬剤が本病に卓効を示す事から、本剤をジャガイモ疫病に対する基幹的な防除剤として位置づけ、その利用を指導普及してきた。しかし、本剤には耐性菌が発生することが知られており、ヨーロッパではフェニルアマイド剤が1970年代後半に上市され一斉に使用されるようになると、1980年に早くも耐性菌の発生が確認されるようになった(Dowley and O'Sullivan, 1981)。わが国におけるジャガイモ疫病菌(*Phytophthora infestans*)のフェニルアマイド剤に対する耐性菌の存在は、北海道での発生報告(堀田, 1990)によって明らかにされ、加藤ら(1992)による全国的な調査では、九州からも耐性菌が分離されている。しかし、現在までに九州地域のジャガイモ栽培圃場で本剤耐性菌の発生による防除効果の低下を確認した報告は無く、長崎県における耐性菌の存在や分布は検討されていなかった。このため、本試験では圃場でフェニルアマイド剤耐性菌を捕捉し、防除効果の有無を確認するとともに、長崎県における耐性菌の発生実態について調査した。

本試験を行うにあたり、供試薬剤の原体を分譲していただいた株式会社ノバルティス・アグロの関係各位、および、試験圃場の管理作業等に御尽力いただいた当支場

迎田幸博技師に対し感謝の意を表する。本研究は、農林水産省指定試験事業により行ったものである。

### 材料および方法

#### 1. 圃場試験

試験は、一般農家圃場に隣接した当支場の圃場で行い、フェニルアマイド剤としてメタラキシル水和剤を供試した。ジャガイモ品種ニシユタカを1999年3月1日に植付け、4月23, 30, 5月7, 14, 21日の計5回、メタラキシル水和剤(メタラキシル25%含有)を1,000倍および1,500倍に希釈した薬液に展着剤(商品名ネオエステリン, 10,000倍)を加用し、背負式動力噴霧器で200~300ℓ/10a相当量を散布した。また、対照薬剤として、マンゼブ・メタラキシル水和剤(マンゼブ65%, メタラキシル10%含有)500倍液およびマンゼブ水和剤(マンゼブ75%含有)600倍液を同様に散布した。試験区は、1区約6.0m<sup>2</sup>(30株植付)で3反復とし、区間に約0.7mの通路を設けて隣接区からの薬液の飛散混入を防止した。調査は薬剤散布前から約7日間隔で定期的に行い、各試験区の全株について発病の程度を調べ、発病株率、発病度および防除価を算出した。調査基準は、4:葉はほとんど(3/4以上)枯死し時には茎部も枯死する, 3:ほとんどの葉(3/4程度)が発病し枯死葉がかなり多く(1/2程度)みられる, 2:ほぼ1/2程度の葉が発病し時には一部の葉が枯死する, 1:1/4程度の葉が発病するとし、発病度は以下の式に従い算出した。発病度 =  $\Sigma(\text{各発病指数} \times \text{発病程度別株数}) / (4 \times \text{調査株数}) \times 100$ 。

#### 2. 接種試験

試験圃場の罹病葉から、ライB培地(Sato and Kato, 1993)を用いて単菌糸分離を行い、得られた疫病菌分離

\*現在 農業研究センター

\* Present address: National Agriculture Research Center, Tsukuba, Ibaraki 305-0856, Japan

株 AE009株を供試した。接種菌液は、ジャガイモ塊茎スライス上に形成させた遊走子嚢を、Sato (1994) 処方の塩類溶液を用いて菌濃度 $8.0 \times 10^6$  cells/ml に調整し、22°C で 2 時間静置した後、ジャガイモ 1 株当たり約 40ml を肩掛け式噴霧器で噴霧接種した。各試験区には、温室内で約 4 週間生育させたポット (径15cm, 素焼鉢) 植えのジャガイモ品種デジマを 5 株ずつ供試した。接種前日に、圃場試験に準じて調整した供試薬剤の希釈液を全葉が濡れる程度まで散布し、接種後は一晚ビニルフィルムで覆いをかけて保湿した。ポットは、温室内に無作為に配置して接種後約 7 日毎に配置を替えた。試験期間中は適宜散水して発病を促し、温室内の気温は 25°C を上限として管理した。供試ジャガイモ株の中位 5 複葉の各 7 小葉をマークし、接種後 9, 15, 20 日目に調査小葉の発病を調べ、発病小葉率を算出した。

### 3. メタラキシル耐性検定

調査終了後の試験圃場および島原半島を中心に県内の疫病発生圃場から罹病葉を採集し、分離に供した。採集は春作時 (1999年 6 月) と秋作時 (1999年 11 月) に行った。採集した罹病葉から、接種試験と同様に疫病菌を単菌糸分離した。分離菌株は、検定に供するまで PDA 斜面培地に経代培養して保存した。分離株中 44 菌株について最小生育阻止濃度 (以下、MIC 値とする) を調べた。供試菌株はライ A 平板培地 (Sato and Kato, 1993) 上で生育させ、菌そうの先端部を径 4 mm のコルクボーラーで打ち抜き、メタラキシル濃度を調整したライ A 平板上に置床して 20°C で 7 日間培養した。検定培地には、メタラキシルの原体を少量のアセトンで溶解した後に滅菌水で希釈した液を添加し、メタラキシル濃度が 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.39  $\mu$ g/ml となるよう調整した。培養後、菌そう生育の有無から MIC 値を判定した。また、試験圃場分離株から任意に選んだ 12 菌株と県内各地より分離した 23 菌株について 50% 生育阻害濃度 (以下、 $EC_{50}$  値とする) を調べた。メタラキシル濃度を 100, 10, 1.0, 0.1, 0.01  $\mu$ g/ml に調整したライ A 平板培地上に、前述と同様に作成した

菌そう片を置床して 20°C で 5 日間培養し、無添加区の菌そう直径とメタラキシル添加区の菌そう直径の比率を生育阻害率として  $EC_{50}$  値を算出した。

## 結 果

### 1. 圃場試験

圃場試験の結果を第 1 表に示した。試験圃場での疫病の発生は、初回散布時には認められず、散布期間の中期から徐々に発病が見られるようになったが、最終調査時の発病率は無処理区で平均約 43% 程度となった。対照薬剤区のマンゼブ・メタラキシル水和剤 500 倍散布区とマンゼブ水和剤 600 倍散布区は最終調査時の発病度が 0.0 および 0.3 と無処理区に比べ統計的に有意に低かった ( $P < 0.05$ ) のに対し、メタラキシル水和剤 1,000 倍散布区の発病度は 13.4 と高く無処理区との間に有意な差は認められなかった。メタラキシル水和剤 1,500 倍散布区の最終調査時の発病度は 3.1 となり対照薬剤区および無処理区との間にそれぞれ有意差は認められなかったが、発病率を見ると対照薬剤区では調査期間を通じて発病がほとんど無く、病勢進展が認められないのに対して、メタラキシル水和剤 1,500 倍散布処理区では 5 月 28 日の調査以降に各反復区で新たな病斑が認められるようになり、最終調査時の発病率は平均 12.2% に達した。

### 2. 接種試験

接種試験での発病小葉率の推移を第 2 表に示した。マンゼブ水和剤 600 倍散布区およびマンゼブ・メタラキシル水和剤 500 倍散布区では調査期間中全く発病が認められず高い防除効果を示したのに対し、メタラキシル水和剤散布区は 1,000 倍、1,500 倍ともに発病が認められ、対照薬剤区に比べ防除効果が低いことが明らかとなった。しかし、病勢の進展経過を見ると、無処理に比べ初発生がやや遅く、最終調査時の発病小葉率が無処理区の 64.6% に対し、1,000 倍散布区で 25.7%、1,500 倍散布区で 33.1% とメタラキシル水和剤散布区でやや低い傾向を示した。

第 1 表 ジャガイモ疫病に対するメタラキシル水和剤の防除効果 (圃場試験)

供試薬剤名	希釈倍数	発病株率 (%) <sup>a)</sup>						発病度 <sup>a)</sup>						
		4/27	5/5	5/12	5/19	5/28	6/4	4/27	5/5	5/12	5/19	5/28	6/4	
メタラキシル水和剤	1,000倍	0.0	0.0	0.0	4.5	11.3	48.9	0.0	0.0	0.0	1.1	2.8	13.4	c <sup>b)</sup>
メタラキシル水和剤	1,500	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	12.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.1	ab
マンゼブ・メタラキシル水和剤	500	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	a
マンゼブ水和剤	600	0.0	0.0	0.0	0.0	1.1	1.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.3	a
無処理	-	0.0	0.0	2.2	4.4	15.6	43.3	0.0	0.0	0.6	1.1	3.9	12.5	bc

<sup>a)</sup> 数値は 3 反復の平均値

<sup>b)</sup> 同一英文字間は Fisher の PLSD 法 (危険率 5%) で有意差を認めない。

## 3. メタラキシル耐性検定

試験圃場から得た疫病菌は、供試27菌株の全てがMIC値200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上を示し、これらの内任意に選んだ12菌株のEC<sub>50</sub>値は全て10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上であった。この中で、メタラキシル水和剤散布区から得た6菌株の内5菌株は100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上と特に高かった。

県内各地のジャガイモ圃場から得られた疫病菌のMIC値は供試17菌株中12菌株が200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上、5菌株が0.39  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 未満であった。EC<sub>50</sub>値を見ると供試した23菌株は、10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上(10菌株)、10~0.1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上(3菌株)、0.1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 未満(10菌株)の3グループに大別された。また、MIC値が0.39  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 未満の5菌株はすべて、EC<sub>50</sub>値が0.1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 未満を示した。(第3, 4表)

## 考 察

圃場試験の結果、マンゼブ水和剤およびマンゼブ・メタラキシル水和剤では高い防除効果が得られたのに対し、メタラキシル水和剤1,000倍散布処理は明らかに防除効果が低かった。メタラキシル水和剤1,500倍散布処理については最終調査時の発病度を見ると対照薬剤と同等であったが、発病株率の推移が対照薬剤区と異なり、最終調査時には新たな病斑の増加が観察された。1,000倍散布と1,500倍散布の間で発病度に有意差が認められたことは、試験圃場内の発病が不均一であったことが一因と考えられるが、この点を考慮しても、少なくともメタラキシル水和剤の防除効果は不安定であると思われる。このことは、接種試験の対照薬剤区では全く発病が見られないのに対し、メタラキシル水和剤は1,000倍散布区、1,500倍散布区ともに発病が認められ十分な防除効果が

第2表 ジャガイモ疫病に対するメタラキシル水和剤の防除効果(接種試験)

供試薬剤名	希釈倍数	調査小葉数	発病小葉率(%)		
			9日 <sup>a)</sup>	15日	20日
メタラキシル水和剤	1,000倍	175	0.0	17.1	25.7
メタラキシル水和剤	1,500	175	2.9	18.3	33.1
マンゼブ・メタラキシル水和剤	500	175	0.0	0.0	0.0
マンゼブ水和剤	600	175	0.0	0.0	0.0
無散布	—	175	25.1	53.1	64.6
無接種・無散布	—	140	0.0	0.0	0.0

<sup>a)</sup> 疫病菌 AE009 菌株接種後経過日数。

第3表 試験圃場および県内ジャガイモ圃場から分離した疫病菌のMIC値( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )の分布

採集地	菌株数	>200	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39>
試験圃場分離菌株合計	27	27	0	0	0	0	0	0	0	0	0
メタラキシル水和剤 1,000倍散布区	14	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0
メタラキシル水和剤 1,500倍散布区	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
無処理区	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
試験圃場周辺部(無散布)	6	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
長崎県内ジャガイモ圃場分離菌株合計	17	12	0	0	0	0	0	0	0	0	5
南高来郡(8町)	15	12	0	0	0	0	0	0	0	0	3
島原市	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2

第4表 試験圃場および県内ジャガイモ圃場から分離した疫病菌のEC<sub>50</sub>値( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )の分布

採集地	菌株数	>100	100~10	10~1.0	1.0~0.1	0.1~0.01	0.01>
試験圃場分離菌株合計	12	5	7	0	0	0	0
メタラキシル水和剤 1,000倍散布区	3	3	0	0	0	0	0
メタラキシル水和剤 1,500倍散布区	3	2	1	0	0	0	0
無処理区	3	0	3	0	0	0	0
試験圃場周辺部(無散布)	3	0	3	0	0	0	0
長崎県内ジャガイモ圃場分離菌株合計	23	4	6	2	1	7	3
南高来郡(8町)	15	4	4	2	1	3	1
島原市	2	0	0	0	0	2	0
諫早市	2	0	2	0	0	0	0
上県郡(2町)	4	0	0	0	0	2	2

得られなかったことから同様である。また、本圃場から得た疫病菌は全てメタラキシルに対してMIC値200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上を示し、この内任意に選んだ12菌株はEC<sub>50</sub>値10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上を示した。これらのことは、試験圃場におけるメタラキシル剤耐性菌の存在と、耐性菌の存在によるメタラキシル水和剤の防除効果の変動を示唆するものである。

接種試験では、メタラキシル水和剤は対照薬剤に比べ明らかに防除効果が劣っていたが、発病小葉率の推移を見ると無処理区に比べ病勢の進展をやや抑制する傾向にあった。このことから、メタラキシル水和剤は耐性菌に対してもある程度の防除効果を示すものの、供試濃度(メタラキシル濃度、135  $\mu\text{g}/\text{ml}$ および200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )では実用上不十分な防除効果しか得られないものと推察された。

メタラキシル耐性検定の結果から、EC<sub>50</sub>値が0.1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 未満を感受性、これ以上を示す菌株を耐性と考えると、長崎県下のジャガイモ栽培圃場では、主産地である島原半島のはほぼ全域でメタラキシル剤耐性菌が分離され、県下に耐性菌が広く分布するものと考えられた。しかし、採取した圃場(島原市、西有家町および愛野町)によってはメタラキシルに感受性の菌株も分離されたことから、耐性菌と感受性菌が産地内に混在していることが推察された。また、離島部である上県郡(対馬)の2町(上県町、峰町)から得られた4菌株はいずれも感受性菌と考えられることから、地域によってはメタラキシル剤の防除効果が期待できる場合もあるものと思われた。堀田・谷井(1998)は、耐性菌の発生が認められない、或いはその密度が低い圃場ではフェニルアמיד剤は有効としている。このことは、長崎県においても同様と思われるが、本県のジャガイモ産地は一筆の面積が小さい上に薬剤散布歴が異なる圃場が混在していることから、耐性菌が発生した場合に周辺圃場に伝搬する可能性が高いと考えられる。このため、圃場単位ではなく地域単位で耐性菌密度をモニタリングし、対策を講ずる必要があると思

われる。

生産農家では、フェニルアמיד系薬剤はマンゼブ剤等との混合剤を使用しているため、圃場での防除効果の低下事例は観察されていない。このため、今まで耐性菌の発生状況調査が行われず、生産者の耐性菌に対する認識は低かったものと考えられる。しかし、現実には防除効果が期待できない成分を散布することは、徒に耐性菌の発生を促すばかりでなく、生産コストの面からも合理的ではない。従って、今後は、フェニルアמיד系薬剤耐性菌の広域的且つ詳細な分布調査を行い、これに基づいた疫病防除薬剤の輪番体系の見直しを図ることが肝要である。

### 引用文献

- Dowley, L. J. and E., O'Sullivan (1981) Metalaxyl-resistant strains of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in Ireland. *Potato Res.* 24: 417-421.
- 堀田治邦・谷井昭夫・佐々木正人(1990) フェニルアמיד系殺菌剤耐性のジャガイモ疫病菌の発生とその諸性質. *日植病報* 56: 145 (講要).
- 堀田治邦・谷井昭夫(1998) ジャガイモ疫病菌のフェニルアמיד剤耐性. *北海道立農試集報* 74: 19-26.
- 加藤正康・A. A. Mosa・佐藤章夫・小林喜六・生越明(1992) メタラキシル耐性ジャガイモ疫病菌のわが国における分布(1990, 91年). *日植病報* 58: 149 (講要).
- Sato, N. and Kato, M. (1993) Improvement of the selective medium and method for the isolation of *Phytophthora infestans*. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 59: 568-571.
- Sato, N. (1994) Effect of some inorganic salts and hydrogen ion concentration on indirect germination of the sporangia of *Phytophthora infestans*. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 60: 441-447.

(2000年4月30日 受領)