

ブドウ灰色かび病菌の薬剤耐性に関する研究

第1報 チオフアネートメチル剤耐性灰色かび病菌の発生とその性質について

深谷 雅子・加藤 作美・佐藤 廣

目 次

I. 緒言	33
II. 材料と方法	33
III. 結果	34
IV. 考察	35
V. 摘要	36
VI. 参考文献	37

I. 緒 言

灰色かび病は、果樹ばかりではなく、野菜、花および林木類などに発生するきわめて多犯性な病原菌 (*Botrytis cinerea*) による病害である(1)。秋田県中央部には、ブドウ、ナシ、モモ、リンゴなどの果樹が栽培されているが、これらの果樹のなかで、ブドウの被害が最も多く主要病害の一つになっている。しかし、他の果樹では、あまり問題にはなっていない。

本病に関する研究は、野菜類、花卉類などで、広く行われており、果樹類では、被害の多いブドウにおいて、多くの研究がなされ、病原菌の生理、生態などは、かなり明らかにされてきている。本病の防除に関しては、ベンズイミダゾール系殺菌剤の開発によって、安定した防除効果が確立された。

しかし、近年、ベンズイミダゾール系殺菌剤の本病に対する効果の低減が、野菜、花卉類などで問題化し、これがベンズイミダゾール系殺菌剤耐性菌の出現によるものであるとの多くの報告がなされている(2,3,5,6,13,14,15,17,18,20)。

ところで、1976年に秋田県中央部のブドウ栽培地帯の一部で、本病が大発生し、花穂の小果梗、穂軸を犯し、強度な花流れ症状を呈する被害を生じた。発生期間の気象条件、前年の発生量などからは、多発生を示唆する要因はみい出すことができなかった。

本県中央部のブドウ栽培において、ベンズイミダゾール系殺菌剤の実用化は、1973年からであり、年間約5～6回使用してきたこと、また、ブドウ栽培者から防除効果が十分でないとの報告があったことなどから、1976年

の大発生がベンズイミダゾール系殺菌剤耐性菌の出現によるのではないかと疑問が生じた。そこで、ベンズイミダゾール系殺菌剤耐性菌の出現状況、その諸性質、および同剤耐性菌出現後、ベンズイミダゾール系殺菌剤の使用を中止し、同剤耐性菌出現の推移について検討してきた。ここに、これまでの結果をとりまとめて報告する。

本試験を行うにあたり、ご助言をいただいた高橋俊作病害虫科長に感謝の意を表します。また、試料採集にご協力をいただいた琴浜農協、浜口農協職員諸氏、天王分場員各位に厚くお礼を申し上げます。

II. 材 料 と 方 法

1. ブドウ灰色かび病菌のチオフアネートメチル剤耐性検定

(1) 供試菌株

灰色かび病発生園から無作為に、り病葉およびり病花穂を採集し、20°C、湿室下で孢子形成を促し、1病斑1菌株として分離して得た102菌株を用いた。

(2) 検定方法

平板希釈法により、最小生育阻止濃度(MIC)を求めた(7,8,9,10,11,12)。すなわち、チオフアネートメチル剤の有効成分で、0.39ppmから3200ppmまでの2倍希釈系列によって調製したPSA平板培地に、あらかじめPSA平板培地上で7日～10日間培養した菌叢から、白金耳で菌糸のみをかき取り、径1mm程度の菌糸塊として接種し、20°C、48時間培養後菌糸の伸長の有無をもって、MIC値を求めた。

2. チオフアネートメチル剤耐性菌の他薬剤に対する感受性

(1) 供試菌株

耐性検定に用いた102菌株のうち、チオフアネートメチル剤耐性菌(以下Th-M耐性菌という)と認められた菌株R-405、R-5、および感受性菌であるS-315を用いた。

(2) 検定方法

ポリオキシシン剤、キャプタン・ポリオキシシン剤、キャブ

タン剤、ペノミル剤、アイプロディオン剤、Procymidon 剤について、それぞれ、1、10、100、1000ppmの濃度になるように調製したPSA平板培地上で、試験1と同様の方法で検定を行った。

3. 耐性菌出現ほ場における防除試験

(1) 試験地

若美町野石地区で1976年に89.3%の耐性菌出現が認められた園

(2) 供試品種

キャンベルアーリー樹

(3) 試験規模

1区～3区は各500m²

4区、5区は各200m²

(4) 供試薬剤

1区 アイプロディオン剤 1500倍

2区 キャブタン剤 800倍

3区 Procymidon剤 1000倍

4区 パラフィン系オイル200倍加用

チオフアネートメチル剤 1500倍

5区 チオフアネートメチル剤 1500倍

(5) 散布方法

1977年5月26日～7月5日までの期間に、各区1回、動力噴霧機を用いて薬液がしたたり落ちる程度に、花穂や葉をめがけて、ていねいに散布した。

(6) 調査方法

1977年7月7日に次に掲げる発病程度別に調査し、発病度を算出した。

発病程度	発病小花穂数	発病指数
少	1～2ヶ	1
中	3～4ヶ	3
多	5ヶ以上または穂軸にも発病したもの	5

$$\text{発病度} = \frac{\sum (\text{発病指数} \times \text{発病程度別房数})}{\text{調査房数} \times \text{最大発病指数}} \times 100$$

4. ベンズイミダゾール系殺菌剤使用中止後のベンズイ

ミダゾール耐性菌出現の年次変動

(1) 試験地

若美町野石地区のTh-M耐性菌出現が認められたブドウ栽培団地

(2) 試料の採集と菌株の分離

灰色かび病り病花穂および病葉を無作為に採集し、20°C、湿室下で孢子形成を促し、1病斑1菌株として分離した菌株を1976年には29菌株、1977年には52菌株、1978年には25菌株を用いた。

(3) 検定方法

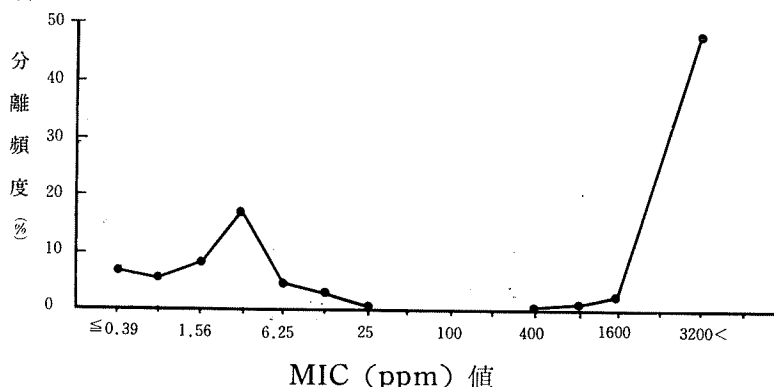
平板希釈法により、最小生育阻止濃度(MIC)を求めた。方法の詳細は試験1に同じである。

Ⅲ. 結 果

1. ブドウ灰色かび病菌(*Botrytis cinerea*)のTh-M耐性検定

第1図に、分離*Botrytis cinerea*のTh-M感受性の頻度分布を示した。これに示すように、曲線は2峰性で、3.12ppmをピークとする感性菌群と3200ppm以上をピークとする耐性菌群に分かれた。

第1表に、灰色かび病多発地域のTh-M耐性菌出現状況を示した。これによると、若美町野石地区では、供試菌株の65.8%が耐性を示し、中には耐性菌の検出率が90%に近い値を示した園が存在した。五明光地区では、検出率が10%であった。八竜町の分離菌株は、すべて感性菌であった。当該ほ場からの分離菌株は、耐性菌が26.3%であった。



第1図 *Botrytis cinerea*のTh-M感受性分布

第1表 Th-M耐性灰色かび病菌の出現状況

地 域	検定菌株数	耐性菌検出率
若美町野石	A 7	71.4%
	B 13	69.2
	C 12	33.3
	D 28	89.3
五 明 光	19	10.1
八 竜 町	4	0
天王分場ほ場	19	26.3

2. Th-M耐性菌の他薬剤に対する感受性

結果を第2表に示した。これによるとProcymidon剤は、1 ppm以下の濃度で生育を阻止し、また、ポリオキシン剤は10ppmで、さらにキャプタン・ポリオキシン剤、キャプタン剤、アイプロデイオン剤は、100ppmの濃度で生育を阻止した。ベノミル剤では、1000 ppmでもTh-M耐性菌の生育は阻止されず、明らかに交差耐性を示した。

3. Th-M耐性菌出現ほ場における防除試験

結果を第3表に示した。供試薬剤のアイプロデイオン剤1500倍、キャプタン剤800倍、Procymidon剤1000倍はいずれもチオフアネートメチル剤の防除効果に比べ、顕著な効果が認められた。また、チオフアネートメチル剤にパラフィン系オイルを添加した場合、防除効果が認められた。

4. Th-M耐性菌出現後、ベンズイミダゾール系薬剤の使用を中止した地域における耐性菌出現率の推移

結果を第2図に示した。1976年には、3200ppm以上にMIC値をもつ耐性菌が86.2%検出された。1977年には1.56および3.12 ppmをピークとする群55.8%と、800

ppm以上の耐性菌群44.2%に分かれた。1978年には、0.39および、0.78 ppmをピークとする感性菌群88%と3200 ppm以上の耐性菌群12%に分かれた。以上のように、年数を経るにつれて、耐性菌の出現率は低下した。

Ⅳ. 考 察

灰色かび病菌のベンズイミダゾール系殺菌剤耐性菌発現については、山本、手塚、広田らなどの多くの報告があり(5、6、12、13、14、17、18、20)、同薬剤感受性の頻度分布曲線は、完全な2峰曲線を示し、1000ppm以

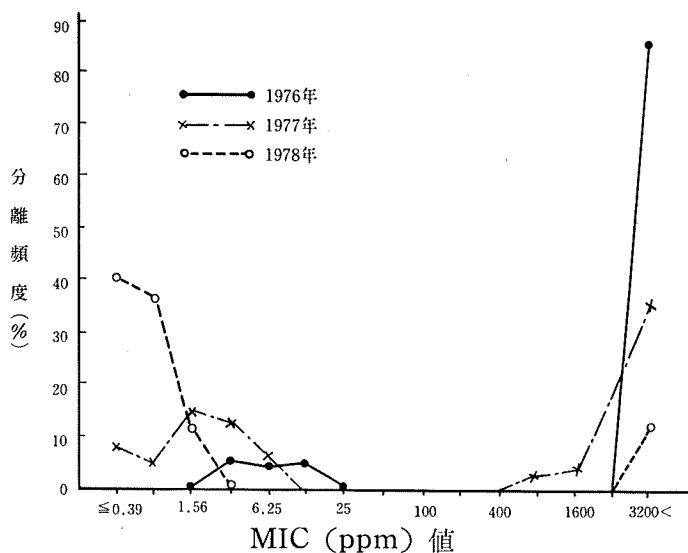
第2表 Th-M耐性灰色かび病菌の各薬剤におけるMIC値

薬 剤 名	供 試 菌	濃 度(ppm)			
		1	10	100	1000
Procymidon	R-405	—	—	—	—
	R-5	—	—	—	—
	S-315	—	—	—	—
ポリオキシン	R-405	+	—	—	—
	R-5	+	—	—	—
	S-315	+	—	—	—
キャプタン・ポリオキシン	R-405	+	+	—	—
	R-5	+	+	—	—
	S-315	+	+	—	—
キャプタン	R-405	+	+	—	—
	R-5	+	+	—	—
	S-315	+	+	—	—
アイプロデイオン	R-405	+	+	—	—
	R-5	+	+	—	—
	S-315	+	+	—	—
ベノミル	R-405	+	+	+	+
	R-5	+	+	+	+
	S-315	—	—	—	—

注) R-405、R-5：耐性菌
S-315：感性菌

第3表 Th-M耐性菌出現ほ場における防除効果(1977)

供 試 薬 剤	使用倍数	散布月日	調査房数	健全房率	程 度 別 発 病 率			発 病 度
					小	中	大	
アイプロデイオン剤	1500	5/26	600	99.7%	0.3%	0%	0%	0.07
キャプタン剤	800	6/3	600	97.8	1.8	0.4	0	0.57
Procymidon剤	1000	6/10	600	99.8	0.2	0	0	0.03
チオフアネートメチル剤	1500	6/18	600	88.0	6.5	4.7	0.8	4.93
パラフィン系オイル	200							
チオフアネートメチル剤	1500	7/5	600	24.5	27.5	37.0	11.0	38.70

第2図 *Botrytis cinerea*のTh-M感受性分布

上のMIC値を示す菌を耐性菌、1 ppm以下のMIC値を示す菌を感性菌と報告している。

本結果では、平板希釈法によって求めたMIC値の頻度分布が、3200ppmをピークとする菌群と、3.12ppmをピークとする菌群に分かれた。これらのMIC値を異にした菌株について、耐性菌、または感性菌と判別するには、in vivoにおける防除効果をも考慮して判定する必要があるが、筆者の行ったin vivoでの試験は、小規模だったため、明確な結果を得ることができなかった。しかし、本試験から得られたMIC値の2峰型曲線は、野菜灰色かび病菌の耐性菌の例(3、7、8)と類似し、また3200ppmでの菌叢生育が無添加培地での生育と同等であることから、これら3200ppm以上にピークをもつ菌群を耐性菌、3.12ppmをピークとする菌群を感性菌と判断した。

Th-M耐性*Botrytis*属菌の他薬剤に対する感受性については、山本、手塚らが報告している(5、6、13、17、19、4)。それによると、ベノミル耐性は、チオファネートメチルには交差耐性を示すが、従来灰色かび病に比較的有效とされてきたCNA剤、スルフエン酸系、キャプタン剤、ポリオキシシン剤などには、交差耐性を示さないということである。筆者らの行った室内での交差耐性検定、および耐性菌出現園での防除試験の結果でも、Th-M耐性菌は、ベノミル剤に交差耐性を示し、また、ポリオキシシン剤、キャプタン・ポリオキシシン剤、キャプタン剤、アイプロディオン剤、Procymidon剤には、交差耐性を

示さなかった。これらの薬剤は、いずれも、耐性菌出現園での防除剤になり得ると思われた。

耐性菌発現園での耐性菌の推移については、野菜灰色かび病のベノミル耐性菌において、次のような報告がなされている。

施設内においては、ベノミル剤の散布を中止するか、または2カ月に1回程度散布した場合は、耐性菌は徐々に減少の傾向がみられたという。本結果では、86.2%の耐性菌を検出した地域において、チオファネートメチル、ベノミル両薬剤の使用を中止したところ、1年後には、耐性菌の検出率が44.2%に、2年後には、12%に減少した。したがって、Th-M耐性ブドウ灰色かび病菌は、露地栽培においては、チオファネートメチル、ベノミル両薬剤の使用を3年間中止することによって、再使用の可能性がでてくると思われた。この耐性菌出現率の推移については、今後さらに防除試験を繰り返し行い、検討を重ねる予定である。

本試験では、耐性菌の出現について、一部地域だけしか調査できなかったが、耐性菌が検出された現在、各地でも出現している可能性があり、適切な防除体系を確立するため、今後は、県内全域における耐性菌の分布と、その出現率を調査する必要がある。

V. 摘 要

本報告は、チオファネートメチル剤耐性灰色かび病菌の発生とその性質について検討した結果を述べたものである。

1. 秋田県中央部のブドウ栽培地帯からチオフアネートメチル剤耐性ブドウ灰色かび病菌 (*Botrytis cinerea*) が検出された。

2. 耐性菌のほとんどは、平板希釈法による最小生育阻止濃度 (MIC) が、3200ppm以上という強度な耐性を示すものであった。

3. チオフアネートメチル耐性菌は、ベノミル剤に対しても交差耐性を示し、MIC値が1000ppm以上であった。

4. チオフアネートメチル耐性菌密度が高まり、チオフアネートメチル剤では、防除が不可能な園地においてキャプタン、アイプロデイオン、Procymidonの各水和剤は、いずれも高い防除効果が認められた。

5. チオフアネートメチル剤耐性菌出現後、チオフアネートメチル、ベノミル両剤の使用を中止して、3年経過した現在、チオフアネートメチル耐性菌密度がかなり低下した。

Ⅶ. 引 用 文 献

- 樋浦 誠 (1972) 植物病原菌解説：養賢堂
- 飯田 格 (1975) 我が国における薬剤耐性植物病原菌の発生の実態 植物防疫 29：1～4
- 上杉康彦 (1975) 諸外国における薬剤耐性植物病原菌の発生と研究の現状 同上 5～10
- (1978) 病害虫防除における薬剤抵抗性問題 北日本病害虫研報 29：1～4
- 山本 磐 (1975) ベノミル耐性灰色かび病菌の野菜における発生と対策 植物防疫 29：194～196
- (1976) 野菜類における灰色かび病菌のベノミル耐性化と当面の対策 薬剤耐性菌に関するシンポジウム講演要旨：17～22
- 桜井 寿 (1975) 薬剤耐性菌の検定法 植物防疫 29：206～211
- (1977) 植物病原菌における薬剤耐性菌の検定法とその疫学 日本農薬学会誌 2：177～186
- 赤井重彦・桂崎一編 (1974) 植物病学実験ノート：養賢堂
- 山口 昭・石井英夫 (1976) ナシ黒星病菌 *Venturia nashicola* の薬剤耐性検定法 薬剤耐性菌に関するシンポジウム講演要旨：10～16
- Hideo Ishii and Akira Yamaguchi (1977) Tolerance of *Venturia nashicola* to Thiophanate-methyl and Benomyl in Japan 日植病報 43：557～561
- 桜井 寿・藤田肖子 (1976) 最近分離された植物病原菌株の薬剤感受性値 薬剤耐性菌に関するシンポジウム講演要旨：41～53
- 手塚信夫・木曾 皓 (1975) ナス *Botrytis* 属菌のチオフアネートメチル耐性菌株の出現 日植病報講演要旨 41：303
- 広田耕作・加藤喜重郎 (1978) ナス灰色かび病の菌核によるベンツイミダゾール系薬剤の耐性保持について 日植病報講演要旨 44：404
- 竹内妙子・長井雄治 (1978) 野菜灰色かび病の薬剤耐性菌と感性菌の競合におよぼす薬剤散布の影響 日植病報講演要旨 44：404
- 山口富夫 (1978) イネ殺菌剤に対するイネいもち病菌耐性菌発生の現状と問題点 薬剤耐性菌に関するシンポジウム講演要旨：22～30
- 西 泰道 (1978) 野菜病害における薬剤耐性菌の現状と問題点 同上：31～34
- 山口 昭 (1978) 果樹病害における薬剤耐性菌の現状と問題点 同上：35～44
- 上杉康彦 (1978) 薬剤の耐用性と耐性機構 同上：18～21
- 広田耕作・加藤喜重郎 (1977) ベノミル剤に対する *Botrytis cinerea* 菌の耐性獲得とそのそう失について 愛知農総試研報 B 9：48～53

Studies on the Tolerance of Grape Gray Mold (*Botrytis cinerea* Persoon)I. Tolerance of Grape Gray Mold (*Botrytis cinerea*) for Thiophanate-methyl and Some of its Characteristics

Masako Fukaya, Sakumi Kato and Hiroshi Sato

Summary

This paper described the results of thiophanate-methyl tolerance of *Botrytis cinerea* in vitro and the experimental results of fungicidal control of grape gray mold under field conditions.

1. In 1976, thiophanate-methyl tolerance isolates of *Botrytis cinerea* were taken from several grape orchards in central Akita prefecture.
2. Most of the thiophanate-methyl tolerants obtained from those orchards developed normally on PSA containing 3200ppm of thiophanate-methyl, and those tolerants showed cross tolerance to benomyl,
3. Grape gray mold control were conducted in 1977 using Campbell Early grape trees at the Wakami orchard. Procymidon, Iprodion and Captan provided excellent control of grape gray mold.
4. As soon as thiophanate-methyl tolerant appeared, we stopped using thiophanate-methyl and benomyl in order to investigate the variation of the tolerance. Results was as follows: one year later (1977), tolerant ratio was 44.2%, two years later (1978), tolerant ratio was 12.0%.