トマト圃場におけるイプロジオン耐性 灰色かび病菌の出現*

村越重雄**・細矢俊一郎***

Shigeo MURAKOSHI**, Shunichiro HOSOYA***: Occurrence of
Botrytis cinerea Resistant to Iprodione in Tomato Fields*

Abstract

Isolates of *Botrytis cinerea* Persoon resistant to iprodione were obtained from three tomato fields in Kanagawa prefecture, Japan. The minimal inhibitory concentration value of iprodione for the isolates was about 25 ppm. The isolates were cross-resistant to procymidone and vinclozolin. Resistance to benomyl was also found in all the iprodione resistant isolates in this experiment. The virulence of the isolates on broad bean leaves were correspond to that of sensitive isolates. One of the isolate had an ability to develop the disease even on the tomato leaves that treated with 500 ppm solution of iprodione, procymidone, vinclozolin, benomyl or thiophanate-methyl.

Key Words: *Botrytis cinerea*, iprodione resistant, tomato field.

灰色かび病菌 *Botrytis cinerea* Persoon は数多くの栽培植物に病原性を示す代表的な多犯性菌である。本病菌に高い防除効果の見られたベンツイミダゾール系剤に耐性菌の出現が認められ¹⁾、果菜類を主とする施設栽培ではその防除対策に苦慮してきた。しかしながら、1979年12月より順次これら耐性菌に対しても防除効果の高いジカルボキシイミド系剤であるイプロジオン、プロシミドンおよびビンクロゾリンが使用され始めている。ジカルボキシイミド系剤耐性菌は培地上では出現しやすい^{2,3)}が、圃場では出現しにくいという報告⁴⁾がなされてきた。しかしながら、最近圃場からジカルボキシイミド系剤に対する耐性菌が分離されたとする報告^{5,6)}が見られる。筆者もトマト栽培圃場から従来報告されている培地上における耐性変異株とは異なる性状を示すイプロジオン耐性菌を検出し、それらが

薬効の低下に結びつくことを確認したので報告する。

1981年3～4月に神奈川県内におけるトマト栽培施設30箇所より灰色かび病罹病果を5果ずつ採集し、病斑部の水浸状組織より小片を取り100ppmのクロラムフェニコールを添加したポテトデキストロース寒天(PDA)培地上に置き、23Cの恒温器内で2日間培養した。組織片より進展した菌糸の先端を切り取り、PDA培地に移植して耐性検定用の菌株とした。耐性菌の検出にはベノミル(ベンレート50%)10ppmまたはイプロジオン(ロブラール50%)10ppm添加培地および無添加のPDA培地に、PDA培地上で23C、3日間培養した各被検菌株の菌そう先端を内径5mmのコルクボーラーで培地ごと打抜き、各平板培地の中央に移植して23Cで生育を比較した。ベノミル添加培地で生育した菌株は無添加培地の生育とほとんど変ら

* 本報の概要は日本植物病理学会関東部会(1981年7月)において講演した。

** 神奈川県園芸試験場 Kanagawa Horticultural Experiment Station, Ninomiya, Kanagawa 259-01, Japan

*** 日本大学農獣医学部 College of Agriculture and Veterinary Medicine, Nihon University, Fujisawa, Kanagawa 252, Japan

1) Bollen, G. C. and Scholten, G. (1971). Neth. J. Pl. Path. 77: 83-90. 2) Leroux, P., Fritz, R. et Gredt, M. (1976). Phytopath. Z. 89: 347-358. 3) 手塚信夫・西 泰道・渡辺康正 (1980). 日植病報 46: 26-33. 4) Hisada, Y., Takai, H., Kawase, Y. and Ozaki, T. (1979). Ann. Phytopath. Soc. Japan 45: 283-290. 5) Maraite, H., Gilles, G., Meunier, S., Weyns, J. and Bal, E. (1980). Parasitica 36: 90-101. 6) 竹内妙子・長井雄治 (1981). 日植病報 47: 87-88.

Fig. 1. Mycelial growth of resistant (6, 7, 10) and sensitive (8, 9) isolates of *B. cinerea* on PDA media containing two fungicides. B-10: Benomyl 10 ppm, Ip-10: Iprodione 10 ppm.

なかった。一方、イプロジオン添加培地でも1日後より生育の認められる菌株が検出されたが、それらは無添加培地に比べると生育が遅く気中菌糸の発生がおう盛であった (Fig. 1)。

ベノミル耐性菌は30か所中27か所、イプロジオン耐性菌は3か所から検出された。イプロジオン耐性菌の検出された圃場から、再度24~49果を採集してその耐性菌率を調べたところ、おのおの4.2, 16.3, 75.0%であった。今回検出されたイプロジオン耐性菌はすべてベノミルにも耐性を示した。なお、イプロジオン耐性菌の検出された圃場においては、すでに2~4回のイプロジオン剤の散布が行われていたが、同程度あるいはそれ以上散布されていた圃場でも検出されない例が多かった。すでに報告されている^{2,3)}とおり、ジカルボキシイミド系剤耐性菌は培地上で出現しやすいので、イプロジオン 10ppm を添加した培地上で3日以後に菌糸の伸長が認められた菌株を分離して、1日後より生育の見られた病果からの耐性菌と薬剤感受性などの性状を比較した。6, 25ppm から 25, 600ppm まで2倍濃度段階でイプロジオンを添加した PDA 培地上に菌糸を移植して23°Cで3日間培養し、菌そう生育の有無より最低生育阻止濃度 (MIC) を判定した。

その結果、トマト病果から分離した耐性菌の MIC はすべて 25ppm であり、*Marasmius et. al.*⁵⁾ や竹内・長井⁶⁾ の分離菌株の MIC と類似した。一方、培地上で変異した耐性菌の MIC はほとんどが 25, 600ppm であり、*Leroux et. al.*³⁾ や手塚ら³⁾ の報告に類似した。MIC を判定する実験においても、トマト病果から分離した耐性菌株の一部ではイプロジオン 25ppm 以上の添加培地で3日以後に菌糸の伸長する場合が見られ

Fig. 2. Growth of iprodione-resistant strains of *B. cinerea* on PDA media containing iprodione, and an example of emergence of a mutant (right bottom) more resistant to the fungicide.

Table 1. Virulence of strains of *B. cinerea* to broad bean leaves and effect of iprodione to their lesion development

Fungal strains ^{a)}	Lesion development ^{b)}	
	Control	Iprodione
S-6	12.6 mm	0
BR-4	13.4	0
DR-10	15.7	14.1
DR-12	11.1	11.1
DR-33	15.5	15.7
DR-22	13.7	8.3
DR-24	7.0	10.5
DR-29	9.4	8.9

a) S-6, sensitive isolate; BR-4, benomyl resistant isolate; DR-10, 12, 33, iprodione resistant from fields; DR-22, 24, 29, iprodione-resistant from the laboratory.

b) Broad bean leaves untreated and treated with iprodione solution (333 ppm) for a few minutes were inoculated with mycelial disks (5 mm). Data are expressed as an average diameter of lesions after incubation in a moisture chamber at 20°C for 3 days.

た。Fig. 2 に示す下側の菌株は 50ppm 添加培地上で耐性変異株が生じた例であるが、12.5ppm 添加培地における親株の菌そうとは異なっていた。

次に、トマト病果から分離したイプロジオン耐性菌のプロシミドン (スミレックス50%) とビンクロゾリン (ロニラン50%) に対する感受性を調べた。その結果、各薬剤を 10ppm 添加した PDA 培地上における

Table 2. Lesion development of the iprodione resistant isolate (DR-10) on the tomato leaves treated with various fungicides

Fungicides	Lesion development ^{a)}	
	2 days	4 days
Control	16.3mm (100) ^{b)}	39.0 (100)
Benomyl	16.0 (98.2)	38.3 (98.2)
Thiophanate methyl	16.3 (100)	37.3 (95.6)
Iprodione	15.0 (92.0)	30.0 (76.9)
Procymidone	13.3 (81.6)	25.7 (65.9)
Vinclozolin	14.5 (89.0)	27.0 (69.2)

a) The leaves were treated with fungicide solution (500 ppm) for a few minutes. Mycelial disks (5 mm) were inoculated on the leaves. Diameter of lesions was measured after incubation at 23°C.

b) Differences in lesion size between treated and control leaves were showed as a percentage of the control lesion size in parentheses.

Table 3. Occurrence of benomyl and iprodione-resistant strains of *B. cinerea* on tomato plants resulted from the repeating of fungicide spray in a plastic house

Treatment	Concentration (ppm)	Percent of infested fruits	Number of infested leaves	Resistant strains(%)			
				Benomyl		Iprodione	
				Fruit	Leaf	Fruit	Leaf
Iprodione	500	6.3	11	66.6	100	50.0	100
Benomyl	250	8.7	36	100	100	22.2	86.1
Control	—	13.8	24	70.0	79.2	20.0	54.2

菌糸の伸長はイプロジオン>プロシミドン≧ビンクロゾリンの順であったが、100ppm 添加培地ではプロシミドン≧ビンクロゾリンであり、イプロジオンでは生育しなかった。このように、ジカルボキシイミド系の3薬剤間に交差耐性は認められるが、濃度と感受性との間に微妙な相違が認められた。

病原力を比較するため、各薬剤感性菌(S-6)とベノミル耐性菌(BR-4)を対照菌株としてトマト病果から分離した耐性菌3菌株(DR-10, 12, 33)と培地上で変異した耐性菌3菌株(DR-22, 24, 29)を用いた。各菌株を前培養して得た5mmの菌そうディスクをソラマメ生葉およびイプロジオン333ppmの薬液に浸漬後風乾させた葉の中央に接種し、滅菌した湿室内に入れて20°Cの恒温器内に保持し3日後の水浸状病斑部を測定した。その結果はTable 1に示すように、トマト病果から分離したイプロジオン耐性菌は感性菌やベノミル耐性菌とはほぼ同様の病原力を示したが、培地上での耐性変異株はいくぶん劣る傾向を示した。また、イプロジオン浸漬の効果は同剤耐性菌に対してはほとんど認められなかった。

次いで、トマト病果から分離したイプロジオン耐性菌の1菌株(DR-10)を用いて薬剤浸漬トマト小葉における病斑進展により交差耐性を調べた。薬剤は前記4剤に加えてチオファネートメチル(トップジンM70%)を含む5薬剤であり、薬液濃度は500ppmとした。その結果はTable 2に示すように、ベノミルとチオファネートメチルではまったく効果が見られなかった。ジカルボキシイミド系の3薬剤ではいくぶん病斑の拡大が抑制されたが、高い防除効果は期待できないものと推定された。

神奈川県園芸試験場内で数年来、トマト灰色かび病の防除試験に使用しているハウス内にトマトを栽培し(品種:ほまれFR, 定植:1981年3月23日), 5月7日から7日ごとにイプロジオン500ppmまたはベノミル250ppmを含む薬液を4回連続散布して、灰色かび病の発病を無処理区と比較した。各区12株とし、2回散布直後から4回散布7日後までの病果率と4回散布7日後の葉の病斑数を調べると共に各病斑部から菌を分離して、ベノミルまたはイプロジオン10ppmを含むPDA培地上での生育を2日後に調べて耐性菌率を

求めた (Table 3)。無散布区に比べイプロジオン散布区は病果率、病斑数ともに少なかったが、ベノミル散布区の病斑数は多かった。ベノミル散布区からの分離菌株はすべてベノミル耐性であった。一方、イプロジオン散布区からの分離菌株のうち病果からのものは半数、病葉からのものはすべてイプロジオン耐性を示した。また、これらのイプロジオン耐性菌株の MIC は

25ppm であり、すべてベノミルにも耐性を示した。

以上の結果より、耐性菌の出現がいかなる機構によっているかは今後詳細に検討する必要があるものの、圃場におけるイプロジオン耐性菌はベノミル耐性菌の一部から出現し易いのか、あるいはベノミルと交差耐性である可能性が示唆された。

(昭和56年12月21日受理)