新殺菌剤フルアジナムのハクサイ根こぶ病に 対する作用特性

鈴木 一実^{*,**}・杉本 光二^{*}・林 博之^{*}・光明寺輝正^{*}

Kazumi SUZUKI^{*,**}, Koji SUGIMOTO^{*}, Hiroyuki HAYASHI^{*} and Terumasa KOMYOJI^{*}:
Biological Mode of Action of Fluazinam, a New Fungicide,
for Chinese Cabbage Clubroot

Abstract

Biological mode of action of fluazinam (Frownicide®) against clubroot of Chinese cabbage was studied. Germination of resting spores was inhibited in a suspension by fluazinam application at 1 ppm or more. Root hair infection decreased when the soil was inoculated with resting spores previously incubated in a suspension with fluazinam. Both root hair infection and club formation were greatly inhibited in the presence of fluazinam in the inoculated soil. Fluazinam inhibited club formation when working in the soil until the stage of root hair infection, whereas it had no effect after cortex infection. These results suggest that fluazinam possesses fungicidal action to resting spores and inhibits root hair infection and cortex infection, thereby leading to the inhibition of club formation.

(Received August 8, 1994 ; Accepted April 20, 1995)

Key words : *Plasmodiophora brassicae*, clubroot of Chinese cabbage, fluazinam, root hair infection, resting spores, fungicidal action.

緒 言

フルアジナム, 3-chloro-*N*-(3-chloro-5-trifluoromethyl-2-pyridyl)- α,α,α -trifluoro-2,6-dinitro-*p*-toluidine (フロンサイド®, IKF-1216) は 1990 年に日本において新規登録された新殺菌剤である¹⁾。現在 50% 水和剤は果樹, 畑作物, 茶等の茎葉散布剤として, また 0.5% 粉剤はハクサイ, キャベツ根こぶ病対象の土壌処理剤として幅広く使用されている²⁾。この報告ではフルアジナムのハクサイ根こぶ病に対する作用特性を病原菌の生活史との関連から検討した。

材料および方法

供試薬剤 フルアジナム水和剤(50%), フルアジナム粉剤(0.5%), PCNB粉剤(pentachloronitrobenzene, 20%)およびトリクラミド粉剤(*N*-(1-butoxy-2,2,2-trichloroethyl)-2-hydroxybenzamide, 10%)はいずれも市販製品を用いた。供試薬剤の原体含有率と使用基準量から土壌中の濃度を試算し, 本実験における各薬剤の供試濃度範囲を決定した。

休眠孢子発芽に対する作用 休眠孢子的発芽に対する影響を調べるために, Takahashi の方法³⁾に準じてカブ(品種: 早生大かぶ) 幼苗の根部を浸漬した休眠孢子懸濁液(10⁷ 個/ml) にフルアジナム水和剤を加え, 20°C にて 3 日間培養した。培養後, 検鏡によって遊走子の数を調べ休眠孢子あたりの割合を発芽率とした。

休眠孢子的活性に対する影響 各供試粉剤を加えた休眠孢子懸濁液(10⁸ 個/ml) を 20°C にて 1, 2 および 5 日間培養した後, 遠心分離操作(3000 rpm, 3 分間)を行った。滅菌水を加え休眠孢子濃度を調整し, 乾土 1 g あたり 10⁶ 個となるように殺菌土壌に接種し十分に混和した。そこにハクサイ(品種: 無双)を播種し, 11 日間育苗後の根毛感染を調べた。Naiki らの方法³⁾に準じてハクサイ幼苗の根部をていねいに水洗いして, 土壌を除き, 50 ppm コットンブルーの 5% 石灰酸水溶液で染色した。主根の全根毛を検鏡し, 根毛内の遊走子のう集団数を調べた。5 個体を供試し株あたりの平均根毛感染数を求めた。

土壌施用による防除効果 -20°C で保存しておいた根こぶ病罹病組織の磨砕液を蒸気殺菌土壌に混和して, 1×

* 石原産業(株)中央研究所 Central Research Institute, Ishihara Sangyo Kaisha, Ltd., 2-3-1, Nishishibukawa, Kusatsu, Shiga 525, Japan

** 現在: 岩手生物工学研究センター Present address: Iwate Biotechnology Research Center, 22-174-4, Narita, Kitakami, Iwate 024, Japan

10⁶ 個/乾土 1 g の休眠孢子汚染土壌を調製した。汚染土壌に各粉剤の所定薬量を加え均一に混和した。1/14,000 a または 1/5000 a ポットに薬剤処理休眠孢子汚染土壌を入れ、ハクサイを播種した。6~14 日間育苗した後に前述の方法で根毛感染を調べた。また播種後 30 日間育苗したのち各区 10 個体の地下部を掘りおこし、こぶの着生程度によって 0 (根こぶの着生なし) ~ 4 (著しいこぶの着生あり) の 5 段階の根こぶ指数を与えて、次式から発病度を算出し防除効果を得た。

$$\text{発病度} = \sum (\text{根こぶ指数} \times \text{株数}) \times \frac{100}{40}$$

薬剤処理時の感染ステージと効果との関係 休眠孢子汚染土壌 (10⁶ 個/g) にハクサイを播種し、経時的に採取して根部を十分水洗し、各粉剤を混和した休眠孢子非汚染土壌に移植した。播種 30 日後に根こぶ形成程度を比較した。移植時の感染ステージは前述の方法で観察した。

Table 1. Effect of fluazinam on germination of resting spores in *Plasmodiophora brassicae*^{a)}

Fluazinam conc. (ppm)	% germination of resting spores
3	0
1	0.4
0.3	1.7
control	10.7

a) Suspension of resting spores (10⁷ spores/ml) was incubated in the presence of fluazinam at 20°C for 3 days. Figures show the rate of zoospore per total resting spores. Approximately 300 resting spores were observed.

結 果

休眠孢子発芽に対する作用

カブ幼苗の根部を浸漬した休眠孢子懸濁液を培養したところ、無処理区では頻度は低いものの (約 10%), 遊走子発芽が観察されたが、1 ppm 以上のフルアジナム存在下ではほとんど観察されなかった (Table 1)。

休眠孢子的活性に対する影響

懸濁液中で薬剤処理した休眠孢子を土壌に接種し、ハクサイを播種して苗の根毛感染数を調べた結果、フルアジナム処理区では処理濃度が高いほど、また処理日数が長いほど、根毛内の遊走子のう集団数が少なくなった。一方、PCNB では遊走子のう集団数は無処理とほとんど変わらず、休眠孢子的活性に対する影響はほとんど認められなかったが、トリクラミドでは 100 ppm 処理で遊走子のう集団数は著しく少なくなった (Table 2)。

土壌施用による防除効果

休眠孢子汚染土壌にハクサイを播種したところ、無処理区では播種 8 日後から根毛内に遊走子のう集団が観察され、14 日後でさらに増加したが、フルアジナム 3 および 1

Table 3. Effect of fluazinam on root hair infection with *Plasmodiophora brassicae* in Chinese cabbage^{a)}

Fluazinam conc. (ppm)	Number of zoosporangial cluster ^{b)}		
	6 ^{c)}	10 ^{c)}	14 days ^{c)}
3	0	0	0
1	0	0	0
0.3	0	0	8
Control	0	38	252

a) Inoculum density: 10⁶ resting spores/g dry soil.

b) Number of zoosporangial cluster in tap root of one host plant (mean of 5 plants).

c) Days after sowing.

Table 2. Effect of fluazinam, PCNB and trichlamide on the activity of resting spores in *Plasmodiophora brassicae*^{a)}

Chemical	Conc. (ppm)	% Inhibition of root hair infection ^{b)}		
		1	2	5 days
Fluazinam	3	94	91	96
	1	72	94	94
	0.3	61	90	87
PCNB	100	25	33	1
	30	12	41	17
	10	14	27	6
Trichlamide	100	96	96	100
	30	45	37	43
	10	0	0	0
Control	—	(423)	(1097)	(819)

a) Resting spore suspension (10⁸ spores/ml) were incubated in the presence of each chemical at 20°C for 1, 2 and 5 days, followed by inoculation into soil.

b) Obtained from number of zoosporangial cluster in tap root per plant (mean of 5 plants). The figures in parenthesis are the number of zoosporangial cluster in tap root in control.

ppm 存在下では遊走子のうは認められず、0.3 ppm で 14 日後にわずかに観察された (Table 3)。無処理区の播種 8 および 10 日後では根毛内の遊走子のう集団はコットンブルーで明瞭に染色され、第二次遊走子の放出は認められなかったが、12 日後から一部の遊走子のうの内部が空になった遊走子のう集団数が増加した。

次に 3 薬剤を土壌混和し、11 日後に遊走子のう集団数を、また 30 日後に根こぶ形成程度を調べた。その結果、フルアジナムでは 0.3 ppm 以上、PCNB では 100 ppm、トリクラミドでは 30 ppm 以上で根毛感染が著しく阻害され

た。また、根こぶ形成についてはフルアジナムでは 1 ppm 以上、PCNB とトリクラミドでは 30 ppm 以上で 80% 以上阻害された。PCNB、トリクラミドと比較して、フルアジナムはきわめて低薬量で根毛感染および根こぶ形成を阻害した (Table 4)。

薬剤処理時の感染ステージと効果との関係

休眠孢子汚染土壌に播種して 6, 10 および 14 日後に根部を水洗し、薬剤を含まない非汚染土壌に移植した場合にはいずれも根こぶ形成が認められた。感染ステージの検鏡結果とあわせて、播種 6 日後が第一次感染 (根毛感染) の初期段階、10 日後が根毛内での遊走子のうの成熟段階で第二次遊走子放出直前の段階、14 日後が第二次遊走子放出すなわち第二次感染 (皮層感染) 成立の初期段階と考えられた。

汚染土壌に播種して 6 日後および 10 日後に、無接種のフルアジナム処理土壌にハクサイ苗を移植した場合、根こぶ形成阻害効果は高かった。しかし、14 日後に移植した場合には根こぶ形成はほとんど阻害されなかった。PCNB、トリクラミドについてもフルアジナムと同様な結果となった (Table 5)。

考 察

根こぶ病菌休眠孢子の水懸濁液で、1 ppm 以上のフルアジナム存在下では遊走子の放出がほとんど観察されなかったことから、フルアジナムが休眠孢子的の発芽阻害作用を有することが示唆された。本剤が灰色かび病菌、疫病菌等の茎葉部病害の病原菌の孢子発芽阻害作用を有することはすでに明らかとなっている²⁾。なお、トリクラミドについても休眠孢子的の発芽阻害作用のあることが報告されている⁶⁾。

土壌処理した場合、フルアジナムには PCNB、トリクラミドと同様に根毛感染の阻害作用が認められた。また

Table 4. Effect of fluazinam, PCNB and trichlamide on root hair infection and club formation in Chinese cabbage^{a)}

Chemical	Conc. (ppm)	% Inhibition of	
		Root hair infection ^{b)}	Club formation ^{c)}
Fluazinam	3	100	97
	1	99	85
	0.3	96	55
	0.1	89	20
PCNB	100	99	97
	30	67	80
	10	0	0
Trichlamide	100	100	100
	30	96	83
	10	69	27
Control	—	(348)	(82)

a) Inoculum density: 10^6 resting spores/g dry soil. The figures in parenthesis are the number of zoosporangial cluster in tap root per plant and disease severity in control, respectively.

b) Mean of 5 plants.

c) Assessed for 10 plants.

Table 5. Effect of time of transplanting on the inhibition of club formation by fluazinam, PCNB and trichlamide^{a)}

Chemical	Conc. (ppm)	% Inhibition of club formation ^{b)}		
		6 ^{c)}	10 ^{c)}	14 days ^{c)}
Fluazinam	3	100	100	0
	1	100	100	0
	0.3	51	56	0
	0.1	16	0	0
PCNB	100	100	72	0
	30	67	33	0
	10	34	0	0
Trichlamide	100	100	100	0
	30	100	67	0
	10	34	33	0
Control	—	(67)	(100)	(100)

a) Seedlings grown on inoculated soil were transplanted to uninoculated soil treated with each chemical at an indicated time. Inoculum density: 10^6 resting spores/g dry soil.

b) Assessed for 10 plants. The figures in parenthesis are disease severity in control when transplanted at 6, 10, 14 days after sowing, respectively.

c) Days of transplanting after sowing.

PCNB やトリクラミドと比較してフルアジナムがきわめて低葉量で根毛感染を阻害することも明らかとなった。根こぶ病菌の生活史の中で根毛感染は重要な初期感染過程と位置づけられている^{3,4)}。フルアジナムは根毛感染を低濃度で阻害することにより、防除効果をあらわすものと考えられた。また、休眠胞子の発芽阻害が根毛感染阻害をもたらすことが示唆された。

フルアジナムおよびトリクラミドの存在下で培養した休眠胞子を接種源とした場合、根毛感染の頻度が減少することが明らかとなった。一方、PCNB にはこの作用はほとんど認められなかった。一般的に根こぶ病菌の休眠胞子に対して PCNB は静菌的、トリクラミドは殺菌的に作用すると言われている^{5,7)}。このことから、おそらくフルアジナムは根こぶ病菌休眠胞子に対して殺菌的に作用することが示唆された。

根毛感染が成立し、第二次遊走子放出の直前でフルアジナム含有土壌へ移植した場合、根こぶ形成阻害が認められたことから、フルアジナムは第二次感染の阻害作用（第二次遊走子の活動や第二次感染の成立の阻害）を有することが示唆された。一方、第二次感染成立後に、フルアジナム含有土壌へ移植すると根こぶ形成阻害が認められなかった。他の病原菌の例では、フルアジナムは典型的な保護殺菌剤であり、浸透移行性はほとんど認められない。すなわち、茎葉部の病害では治療効果は認められず、感染後の処理で防除効果が劣る^{1,2)}。したがって、本病の場合も、フルアジナムは根部へ浸透せず、そのために第二次感染後の処理では防除効果は認められなかったものと考えられる。

以上から、フルアジナムは休眠胞子に殺菌的に作用し、休眠胞子の発芽を阻害するとともに根毛感染および皮層感染を阻害し、その結果根こぶ形成を阻害することによって防除効果を発揮することが示唆された。

摘 要

フルアジナム (フロンサイド®) のハクサイ根こぶ病に対

する作用特性を検討した。1 ppm 以上のフルアジナム存在下で休眠胞子を培養したとき、遊走子発芽はほとんど観察されなかった。フルアジナムに接触させた休眠胞子を接種した場合には根毛感染の頻度が減少した。フルアジナムを土壌施用したところ、根毛感染および根こぶ形成は著しく阻害された。根毛感染成立後、第二次遊走子放出前にフルアジナム含有非汚染土壌にハクサイ苗を移植した場合、根こぶ形成は阻害されたが、皮層感染成立後では防除効果は認められなかった。以上から、フルアジナムは休眠胞子に殺菌的に作用するとともに根毛感染および皮層感染を阻害し、その結果根こぶ形成阻害をもたらすことが示唆された。

引用文献

1. Komyoji, T., Sugimoto, K., Mitani, S., Matsuo, N. and Suzuki, K. (1995). Biological properties of a new fungicide, fluazinam. J. Pestic. Sci. 20 : 129-135.
2. 光明寺輝正・杉本光二・鈴木一実 (1995). 新殺菌剤フルアジナムが数種の植物病原菌の感染過程に及ぼす影響. 日植病報 61 : 145-149.
3. Naiki, T., Kageyama, K. and Ikegami, H. (1978). The relation of spore density of *Plasmodiophora brassicae* Wor. to the root hair infection and club formation in Chinese cabbage (Studies on the clubroot of cruciferous plant II). Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 44 : 432-439.
4. Naiki, T., Tanahashi, K. and Kageyama, K. (1984). The relationship between root hair infection with *Plasmodiophora brassicae* Wor. and subsequent club formation among cruciferous species. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 50 : 211-215.
5. 内記 隆 (1985). アブラナ科野菜根こぶ病防除薬剤の作用機構. 今月の農薬 29(11) : 33-41.
6. 中川泰三 (1987). トリクラミドのアブラナ科作物根こぶ病菌の胞子発芽に及ぼす影響. 日植病報 53 : 398 (講要).
7. 中川泰三・大森 薫 (1986). トリクラミドのアブラナ科作物根こぶ病菌および作物の根系に対する作用性について. 日植病報 52 : 513 (講要).
8. Takahashi, K. (1991). Correlation between fluorescent staining reaction and germination in resting spores of *Plasmodiophora brassicae*. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 57 : 160-164.