鳥取県におけるナシ黒星病菌のフェナリモル感受性モニタリング とDMI剤の散布時期の違いによる防除効果

安田文俊・渡辺博幸*・伊澤宏毅

Fumitoshi Yasuda, Hiroyuki Watanabe* and Hiroki Izawa: Monitoring of sensitivity of *Venturia nashicola* isolated from pear orchards in Tottori prefecture to fenarimol and efficacy of DMI fungicides at different application timings

Summary

Sensitivity of field strains of *Venturia nashicola* Tanaka et Yamamoto isolated from pear orchards in Tottoriprefecture to fenarimol (sterol demethylation inhibitor; DMI) was examined in 1997 and 1998. Mean EC_{50} value of fenarimol for *V. nashicola* field strains was 0.47 mg/l, thus the sensitivity of the field strains to fenarimol became slightly lower, as compared to the baseline sensitivity. However, the efficacy of DMI fungicides on *V. nashicola* in pear orchards was still sufficient to control the disease. Applications of DMI fungicides twice between mid April and early May were most effective.

緒 言

ナシ黒星病は、ナシ栽培において防除上、最も重要な病害の一つであり、本病を対象としてナシの生育期間中に10回前後の殺菌剤散布が必要とされている⁸⁾。しかし、ステロール脱メチル化阻害剤（以下、DMI剤）がナシの防除体系に導入されて以来、それ以前に比べて本病による被害は減少し、本病を防除対象とした殺菌剤散布回数を削減することが可能となった。しかし、その一方で、本病の防除に対してDMI剤を偏重し、過度に連用散布している場合も見受けられ⁷⁾、ナシ黒星病菌のDMI剤に対する低感受性変異株に選択圧がかかり、ほ場レベルにおいて防除効果が低下することが危惧されている⁴⁾。そこで、DMI剤として広く使用されてきたフェナリモルに対するナシ黒星病菌の感受性のモニタリングを行うとともに、薬剤の散布回数を最小限にとどめ、薬剤感受性低下のリスクを回避しながら、DMI剤を効果的に使用するための散布時期について検討を行ったので報告する。

材料と方法

1. ナシ黒星病菌のフェナリモル感受性検定

1997年と1998年に、鳥取県内のニホンナシ‘幸水’、‘豊水’及び‘新興’栽培ほ場15園からナシ黒星病に罹病した幼果及び葉を採取し、1病斑から1菌株ずつ単胞

子分離を行った。病斑上に形成された分生子を少量の滅菌蒸留水に懸濁し、素寒天培地に画線培養して、分散した単一の分生子を光学顕微鏡下で有柄針を用いて寒天ごと掻き取り、デキストロース加用ジャガイモ煎汁寒天（以下、PDA）平板培地に移植した。得られた単胞子分離株は60～90日間、20℃（暗黒下）で培養し、薬剤感受性検定に供試した。

薬剤感受性検定には市販のフェナリモル水和剤を用い、PDA培地とフェナリモルの段階希釈薬液を9:1の割合に混ぜて、薬剤添加後のフェナリモル濃度が0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50及び100 mg/lとなるように、角形ペトリ皿（ディッキンソン社製）に分注し、薬剤感受性検定平板培地を調製した。この検定培地に供試菌株の菌叢ディスクを接種し、20℃（暗黒下）で21日間培養した後、菌叢直径を測定して、各菌株の菌糸伸長量に対する薬剤の50%生育阻止濃度（以下、 EC_{50} ）を算出した。

薬剤感受性の判定には石井の基準^{3, 4)}を適用し、 EC_{50} が1 mg/l以上のものをフェナリモル低感受性菌と判定した。

2. DMI剤の異なる散布時期における防除効果

鳥取県東伯郡大栄町の鳥取県園芸試験場内ほ場（以下、鳥取園試ほ場）に植栽されたニホンナシ‘幸水’の4年

生強剪定樹を供試し、2000年4月14日、26日、5月6日、17日のうち、Table 2に示した処理区により各1～2回ずつ、イミベンコナゾール水和剤3,000倍液を動力噴霧器を用いて十分量散布した。試験は1区1樹、3反復で行った。なお、本病の発生を促すため、1999年11月15日に鳥取県東伯郡泊村園の‘幸水’栽培ほ場から採取し、鳥取園試ほ場の地表面に放置しておいた罹病落葉から、2000年3月25日に偽子のう殻を多数形成したものを100葉選び、2mm目のネット袋(60×40cm)に入れて、各試験供試樹の地際部の地表面に設置した。

薬剤の最終散布14日後の6月8日に1区当たり300葉について果そう葉の発病程度を調査し、発病程度に応じて下記の基準に従い、0、1、3、5の4段階に指数化して、発病葉率と発病度を算出した。

発病指数5：病斑数8個以上

“ 3：病斑数3～7個

“ 1：病斑数1～2個

“ 0：発病なし

発病度 = { Σ (発病指数×該当葉数) / (5×調査葉数)} × 100

3. 罹病落葉からの子のう胞子の飛散調査

1999年11月15日に、鳥取県東伯郡泊村園の‘幸水’栽培ほ場から採取し、鳥取園試ほ場の地表面に放置しておいた罹病落葉から、2000年3月25日に偽子のう殻を多数形成したものを100葉選び、50cm四方の地表面に広げた後、この上に2mm目のネットを被せ、ステンレス製の円筒型胞子採集器(直径40cm、高さ60cm)を設置した。円筒型胞子採集器の底部は、地表面から10cmの高さとなるように調整し、底部に5mm目の金網を張り、その上にグリセリンゼリーを塗布したスライドガラスを粘着面が下向きになるように置いて、偽子のう殻から飛散する子のう胞子を捕捉した。回収したスライドガラスの上に18mm×18mmのカバーガラスをのせ、その範囲内を光学顕微鏡で検鏡し、子のう胞子数を調査した。グリセリンゼリーを塗布したスライドガラスは毎日午前9時に交換し、午前9時から翌日の午前9時までの24時間に採集される子のう胞子数を当日の子のう胞子飛散数とした。罹病落葉からの子のう胞子の飛散調査は、4月1日から5月31日まで毎日実施した。

4. 果そう基部病斑からの分生子の飛散調査

2000年3月25日に、鳥取園試ほ場における芽鱗片病斑の形成が認められた‘幸水’の芽基部の直下に、雨水に

混じって分散する分生子を捕捉するため、直径5.5cmの漏斗を取り付けた。病斑を形成した芽鱗片は4月上旬の萌芽後に脱落したが、芽鱗片病斑を形成した果そうに形成された果そう基部病斑を確認し、調査を継続した。調査は、降雨ごとに漏斗に集められた雨水を採取し、梅本らの方法¹⁰⁾に従って、採取した雨水中の分生子を濃縮し、光学顕微鏡によって検鏡して、分生子数を計測した。分生子の飛散調査は4月1日から5月31日まで降雨ごとに行なった。

結 果

1. 鳥取県内から分離されたナシ黒星病菌のフェナリモル感受性

1997年と1998年に鳥取県内の15園について、ナシ黒星病菌のフェナリモル感受性のモニタリングを行った。各ほ場ごとのEC₅₀の平均は最大0.88mg/lから最小0.17mg/lまで分布しており、モニタリングを行った全ほ場のEC₅₀の平均は0.47mg/lであった(Table 1)。各調査ほ場から分離された供試菌株ごとのフェナリモルに対するEC₅₀値はやや分散している傾向が認められた。また、EC₅₀が1mg/lを越える低感受性菌株は全体の8.4%に当たる16菌株であった。

2. DMI剤の散布時期と防除効果

DMI剤の予防効果を主体とした4月中旬までの散布による防除効果は、4月上旬または中旬の1回散布及び4月上旬と中旬の2回散布のいずれも防除効果はやや低い結果であった(Table 2)。一方、4月下旬以降の散布による予防及び治療効果をねらいとした散布では、4月下旬または5月上旬の1回散布でも高い防除効果が得られ、最も防除効果が高かったのは、4月中旬と下旬の2回散布及び4月下旬と5月上旬の2回散布であった。

3. 越冬伝染源からの子のう胞子及び分生子の飛散消長

2000年におけるナシ黒星病菌の越冬病落葉からの子のう胞子の飛散は、4月第4半句から始まり、4月第6半句に飛散のピークが認められ、5月第6半句で飛散がほぼ終了した(Fig. 1)。一方、果そう基部病斑からの分生子の飛散は、4月第2半句から始まり、5月第2～4半句に飛散のピークが認められた(Fig. 1)。

考 察

DMI剤は、高い予防効果と治療効果を有することから各種の植物病原糸状菌に対して卓効を示し、ナシ黒星病の防除薬剤としても広く使用されている¹³⁾。しかし、

Table 1. Distribution of sensitivity of field strains of *V. nashicola* isolated from Tottori prdfecture to fenerimol

Year	Region	Orchard	Cultivar	Number of strains rested	Number of strains of each EC ₅₀ (mg/l) to fenarimol										Mean EC ₅₀ (mg/l)		
					<0.1	<0.2	<0.3	<0.4	<0.5	<0.6	<0.7	<0.8	<0.9	<1.0		≥1.0	
1997	Kokufu	Hirose	Housui	11	2	1	2	1		2		1		1	1	11	
		Saji	Tsunashi	Kousui	23	2	5	2	4	2	1		3		1	23	
		Hattou	Higashi	Housui	6	1	3	2								6	
		Tomari	Sono1	Housui	17	1	3	3	3	2		1			4	17	
	Sekigane	Yamaguchi	Housui	10	2	1	3	1		1	2					10	
		Nodanoue	Kousui	22	3	4	1	4	2	2	3	2		1		22	
		Nawa	Jinngamae1	Housui	9	1	4	2				1	1				9
			Jinngamae2	Housui	11	2	3	2		2	1		1				11
	Jinngamae3		Housui	25	4	6	4	5	2		2					25	
	Jinngamae4		Kousui	14	3	2	1	2	2	1		2		1		14	
	1998	Kouge Tomari	Yamaji	Shinkou	12			3			1	3	1		1	3	12
			Sono2	Kousui	7		1	3	2								7
			Sono3	Housui	10	1	1	1	1	2					1	3	10
			Sono4	Housui	7			1			1		1	2	1	1	7
			Sono5	Kousui	6		1	1					2			2	6
Total				—	190	21	37	31	23	14	10	13	13	5	5	16	190

Table 2. Efficacy of imibenconazole on control of *V. nashicola* in field grown Japanese pear cultivar 'Kousui' at different application timing (2000)^a

Date of application(s)	Number of applications	Examined leaves	Incidence(%)	Severity(%) ^b	Control(%)	Phytotoxicity
April 14	1	300	22.7	7.7b	79.8	—
April 14, 26	2	300	17.3	5.5b	85.6	—
April 26	1	300	17.3	5.5b	85.6	—
April 14, May 5	2	300	3.3	0.8d	97.9	—
May 6	1	300	7.7	1.9c	95.0	—
May 6, 17	2	300	2.7	0.3d	99.2	—
May 17	1	300	5.7	2.0c	94.8	—
Control	—	300	59.0	38.1a	—	—

^a Diseased fallen leaves producing pseudothecia were placed on plant foot (100 leaves per tree) for the primary inoculum on March 25.

^b Means within columns followed by different letters are significantly ($P=0.05$) different according to Duncan's multiple range test.

FRAC (国際農薬工業会に設置された殺菌剤耐性委員会)によると、DMI剤は薬剤感受性低下の危険性が中程度のグループに属し、同一ほ場における連用の回避や他系統薬剤とのローテーション散布が必要であることが指摘されている^{1,2)}。

我が国のナシ栽培においてDMI剤が使用され始めてから20年近くが経過し、本剤が使用されているナシ園から分離されたナシ黒星病菌はフェナリモル感受性が全体的にやや低下していることが報告され⁷⁾、ほ場レベルにおいても本剤の防除効果の低下が懸念されている。このため、鳥取県のナシ栽培におけるDMI剤の使用年数が15年を過ぎていることから、DMI剤の感受性のモニタリングを実施した。なお、DMI剤は同系統薬剤間で交差耐性するとされており⁴⁾、今回、フェナリモルについて薬剤感受性の検定を実施した。

ナシ黒星病菌のフェナリモルに対する感受性のベースラインは、石井によって詳細な報告がなれており⁴⁾、中国河北省保定市のDMI剤未使用園から分離された菌株のフェナリモルに対するEC₅₀は0.120mg/l (0.014～0.445mg/l)であり、茨城県茨城郡岩間町のDMI剤無散布樹から分離された菌株のEC₅₀は0.199mg/l (0.020～1.286mg/l)であった。今回、鳥取県内の15園について、ナシ黒星病菌のフェナリモル感受性のモニタリングを行った結果、EC₅₀の平均は0.47mg/lであり、全体的に感受性がやや低下している傾向が認められた。また、EC₅₀が1mg/lを越える低感受性菌株も認められており、ほ場レベルでの薬剤の防除効果の低下が懸念された。しかし、今回の薬剤感受性検定で最もEC₅₀値が高かった現地ほ場から罹病落葉を採取し、越冬伝染源としてナシ樹の地際部の地表面に設置して、ほ場における

Fig.1 Dispersion of ascospores and conidiospores of *V. nashicola* from infection sources. (2000)

防除試験を行った場合、開花期から落花期に1～2回散布するだけでも高い防除効果を示すことが確認された (Table 2)。

鳥取県ではこれまで、ナシ黒星病のポリオキシシン耐性菌^{6, 9)}とイプロジオン耐性菌^{15, 16)}の発生が問題になった経緯から、ナシ黒星病に対するDMI剤の使用に当たっては、薬剤耐性菌の発生を回避するため、年間2回を越えて使用しないことが徹底されてきた。しかし、近年は、減農薬栽培の推進や薬剤散布作業の省力化などが生産者及び消費者の両者から強く求められており¹⁷⁾、ナシ栽培においても薬剤散布回数の削減が試みられている^{8, 14)}。このような背景から、一部ではナシ黒星病の薬剤防除に対する認識が変わりつつあり、年間の殺菌剤の散布回数を削減するため、防除効果が高く、比較的残効期間の長いDMI剤を複数回連用することで防除を行っている場合がある。今回の調査結果から、鳥取県においてはナシ黒星病菌のDMI剤に対する極端な感受性低下は認められなかったが、これまで指摘されているとおり、同一薬剤を連用散布することは、薬剤感受性の低下を招き、将来的に耐性菌の発生を誘発することも否定できない^{1, 2)}。

ナシ黒星病菌の越冬伝染源は、罹病落葉上に形成された偽子のう殻から飛散する子のう胞子と果そう基部病斑から飛散する分生子であり¹¹⁾、梅本によって、子のう胞子が越冬伝染源としてより重要であることが報告されている¹²⁾。今回、DMI剤の散布時期別の防除効果についても検討を行ったが、ナシ黒星病菌の越冬伝染源から第一次伝染する開花期前後にDMI剤を散布することで高い防除効果が確認された。特に、子のう胞子の飛散時期に当たる4月中旬～5月上旬の散布時期が最も防除効果が

高く、この時期に2回DMI剤を散布することで、子のう胞子の第一次伝染をほぼ完全に防ぐことが可能であり、その後の発病はほとんど認められなかった。

一方、分生子の場合は、子のう胞子に比べて飛散時期が長く、4～5月のほぼ全期間にわたって胞子の飛散が認められた。しかし、果そう基部病斑から飛散する分生子は、主に雨滴によって分散すると考えられるため、感染部位が病斑から近い部位に限られることから、第一次伝染源としては、影響は少ないと考えられている¹²⁾。このため、実際の防除体系の中では、DMI剤は、子のう胞子の飛散のピークに当たる4月中旬(開花期)～5月上旬(落花後)に2回使用し、その前後の時期については、DMI剤以外の他系統の保護殺菌剤を使用することが望ましいと考えられる。

永年作物であるナシなどの果樹では、病害防除の失敗は、当年の減収要因になるばかりでなく、翌年への越冬伝染源密度が高くなるという悪循環に陥るため、従来から保険的な予防散布が必須であるとされてきた^{5, 14)}。しかし、近年の農業情勢を考慮すると、環境的、衛生的な配慮から薬剤散布回数を削減することが求められており、できる限り少ない薬剤散布回数で病害を防除する方法を確立することで、減農薬栽培などの付加価値の高い果実を生産し、収益性を高めることが必要である。このため、現在の防除薬剤の中で最も効果が高く、比較的長期の残効が期待できるDMI剤への依存度がさらに高くなることも予想される。

DMI剤のナシ防除体系への導入以降、これまで甚大な被害をもたらしてきたナシ黒星病の発生は現在のところ、沈静化されているが、これまでの薬剤耐性菌発生の

事例^{6, 9, 15, 16)}から、DMI剤についても、耐性菌が発生し、防除効果の低下に結びつく可能性も残されている。今後もDMI剤の防除効果を高く維持するため、薬剤感受性のモニタリングを継続し、本剤を適正に使用する指導を行う必要があると考える。

摘 要

鳥取県内から分離されたナシ黒星病菌のフェナリモルに対する感受性を1997年と1998年に調査した。分離菌株のフェナリモルに対する EC_{50} 値の平均は 0.47mg litre^{-1} であり、薬剤感受性のベースラインと比較して感受性がやや低下している傾向が認められた。しかし、ほ場におけるDMI剤の効果試験を行った場合、4月中旬～5月上旬の散布時期が最も防除効果が高く、この時期に2回DMI剤を散布することで発病はほとんど認められなかったことから、本剤の防除効果は高く維持されていると考えられた。

引用文献

- 1) Brent, K. J. (1995) Fungicide Resistance in Crop Pathogens: How can it be managed?. GIFAP, Brussels, pp.1-48.
- 2) Brent, K. J. and D. W. Hollomon (1998) Fungicide Resistance: The Assessment of Risk. GCPF, Brussels, pp.1-48.
- 3) Ishii, H., H. Takeda, Y. Nagamatsu and H. Nakashima (1990) Pestic. Sci. 30 : 405-413.
- 4) 石井英夫 (1994) 植物防疫 48 : 442-447.
- 5) Ishii, H. (1997) Pestic. Sci. 51 : 383-386.
- 6) 西村正暘・甲元啓介・宇田川英夫 (1972) 植物防疫 26 : 157-159.
- 7) Tomita, Y. and H. Ishii (1998) Pestic. Sci. 54 : 150-156.
- 8) 小河原孝司・富田恭範・廣沢 勇 (2001) 関東病虫研報 48 : 57-58.
- 9) 宇田川英夫 (1975) 植物防疫 29 : 189-193.
- 10) 梅本清作・村田明夫・長井雄治 (1989) 日植病報55 : 309-314.
- 11) 梅本清作 (1990) 日植病報 56 : 468-473.
- 12) 梅本清作 (1990) 日植病報 56 : 658-664.
- 13) 梅本清作 (1996) 千葉農試研報 37 : 33-41.
- 14) 梅本清作 (2002) 農業技術 57 : 201-205.
- 15) 渡辺博幸 (1992) 日植病報 58 : 609.
- 16) 安田文俊・渡辺博幸 (1997) 近畿中国農研 93 : 85-89.
- 17) Yasuda, F., K. Yamamoto, Y. Jinno, H. Watanabe and H. Izawa (2002) Acta. Hort. 587 : 675-683.