灰色かび病の薬剤耐性菌対策に関する試験

4) ジカルボキシミド剤に対する耐性菌の発生動向

三浦 猛夫・日高 透・川越 仁・長友 隆信¹⁾

(宮崎県総合農業試験場・¹⁾西都農業改良普及所)

Control method for agricultural chemicals-resistant *Botrytis*. 4) Seasonal occurrence of strains resistant to dicarboximide fungicides. Takeo MIURA, Touru HIDAHA, Hitoshi KAWAGOE and Takanobu NAGATOMO¹⁾ (Miyazaki Agricultural Experiment Station, Sadohara, Miyazaki 880-02. ¹⁾Saito Agricultural Extension Station, Saito, Miyazaki 881)

Strains of *Botrytis cinerea* resistant to dicarboximide fungicides were detected frequently in cucumber grown in greenhouses at Miyazaki during February to March, 1982. However, in subsequent cultivations in the same greenhouses, sensitive strains of *B. cinerea* were detected in early December, 1982. However, the percentage of resistant strains increased rapidly after one or two applications of dicarboximide from mid-December to January. Dicarboximide was practically effective for the control of moderately resistant strains. The best results were obtained by reciprocal and mixed application of dicarboximide with polyoxin or dichlofluanid.

ジカルボキシミド剤（イプロジオン、ビンクロゾリン、プロシミドン）は、農薬登録されてから数年しか経過していないにもかかわらず、すでに宮崎県においても耐性菌が検出された²⁾。その後、本剤に対する耐性菌の発生状況を灰色かび病の発生初期からほぼ定期的に検定することによって、时期的な発生変動を調査した¹⁾。また、現地ハウスでの防除試験を行い若干の知見を得たので、その概要を報告する。

灰色かび菌の採集にあたっては、宮崎、都城、延岡病害虫防除所および各農業改良普及所の各位に多大のご協力を頂いた。また、県営農指導課特別専門技術員の岩橋哲彦氏には格別のご助言を頂いた。ここに感謝の意を表する。

試 験 方 法

1. 分生孢子塗抹法による検定：耐性菌の有無を多数の試料について短時間に行うため^{5,6)}、以下の方法を用いた。イプロジオン50%水和剤（市販品）を成分換算値で5 μ g/ml, 10 μ g/ml, および 300 μ g/ml 添加PDA 培地（ポテトデキストロース寒天培地「ニッスイ製」）と、対照に薬剤無添加 PDA 培地を調整し、直径9cmのプラスチックシャーレ（テルモ製）に流し込み供試した。これらのシャーレは、5, 10, 300 μ g/mlの薬剤添加および無添加培地を1組とし、発病しているキュウリ果実を1ハウスから5個を目安に採集した。さらに、精密に調査

する必要がある場合は20~50個を採集した。これらの果実の分生孢子を形成している部分を直接、一組の供試培地面に個々の罹病果実の分生孢子のどれかが判るように順次塗抹した。その後、20C定温室に2~3日静置し、塗抹した分生孢子的菌糸伸長状況を暗視野実態顕微鏡80倍で観察した。本法では、無添加培地に塗抹した分生孢子的菌糸伸長状況と比較しながら、10 および 300 μ g/mlの薬剤添加培地に塗抹した分生孢子的の大部分において菌糸伸長のみられたものを耐性菌とした^{3,4)}。また、5 μ g/mlの薬剤添加培地においても分生孢子的の発芽、菌糸伸長がみられなかったものを感性菌とした。しかし、感性菌と判定したものの中で一部には5 および10 μ g/mlの薬剤添加培地において、塗抹した分生孢子的の数個が発芽するものがみられたが、これらの菌糸の伸長は不良であり、無添加培地に比較すると明らかに劣った。

2. 最少生育阻止濃度（MIC 値）の検定：イプロジオン50%水和剤を供試し、成分換算値で1,600 から1.5 μ g/mlまでの2倍段階に希釈した平板および無添加PDAを調整し、寒天平板希釈法による MIC 値を測定した⁴⁾。常法により単孢子分離した保存菌を PDA 平板培地で20C 3日間前培養した。その先端部の菌叢を直径4mmのコルクボーラで打ち抜き、寒天ディスクの菌叢面を下側にして供試培地上に置床した。調査は、20C 48時間後の菌糸伸長の有無により MIC 値を求めて、耐性菌の発達程度を測定した。

3. 耐性菌発生ハウスにおける防除試験：試験ハウスは前述の分生孢子塗抹法による検定で耐性菌の発生がみられ、さらに MIC値が $25\mu\text{g/ml}$ にピークをもつ中等度耐性菌⁴⁾ の割合の高いキュウリ栽培ハウスであった。耐性菌の発生を回避することを目的に同じ作用機作をもつ薬剤の連続散布を避け、ジカルボキシミド剤と他剤との交互、または混用散布による防除効果を検討した。なお、ジカルボキシミド剤については、イプロジオン、ビンクロゾリン、プロシミドン水和剤の各々3剤を順次使用した。試験は宮崎郡佐土原町下那珂でキュウリ（品種ひじり）を10月9日に定植した一般農家ハウスで行った。灰色かび病の発生は、12月上旬からみられ、すでにイプロジオンおよびプロシミドン水和剤がそれぞれ1回散布されていた。1月上旬は発病の増加期にあたり中～やや多の発生程度であった。試験規模は1区 6m^2 の2連制、10a 当り 200l を目安に肩掛噴霧機で散布した。各々の薬剤散布日直前に全幼果数と発病幼果数を調査し発病果率を算出した。なお、試験区の構成は第2表に示した。

結果および考察

1. 分生孢子塗抹法による検定：1980年から1983年県内のキュウリ栽培ハウスにおけるジカルボキシミド剤耐性菌の検定を行った。結果は第1図のとおりで県内における耐性菌の発生は、1981年2月、東諸県郡国富町の抑制栽培キュウリ（1980年10月定植）において最初に検出され、この年に検定した387個の罹病果のうち4.9%が耐性菌によるものであった。なお、1980年産（1979年10月定植）のキュウリでは、検定した207個の罹病果のうち耐性菌は検出されなかった。

1982年産（1981年10月定植）のキュウリについては、本病の発生初期である12月および最盛期の2～3月の2

第1図 分生孢子塗抹法による灰色かび病耐性菌の年次・時期別検出

時期に分けて検定した。その結果、発生初期の12月14日の検定では、最初に耐性菌が検出された地域（国富町）で本病の発生がみられたが、その他の地域では検定用の罹病果の採集すらできないハウスが多く、灰色かび病の発生に地域差がみられた。この国富町のハウス集団から55個の罹病果を採集し検定した結果、耐性菌検出率は30%を示し、前作の4.9%の検出に比べ著しく増加していた。ちなみに、この地域でのジカルボキシミド剤の使用は、農家の記録によるとほとんどのハウスにおいて3～4回およびそれ以上の多数回散布がなされていた。さらに、本病の最盛期である2～3月に県内の主要なハウス集団（キュウリ）から菌を採集し検定した。この時期には灰色かび病の発生に地域差はみられず、県内ほとんどのハウスから容易に罹病果が採集され、検定した373個の罹病果の80%が耐性菌によるものであった。

1983年産のキュウリ（1982年10月定植）では、さらに

第1表 同一ハウスでのジカルボキシミド剤耐性菌発生動向

調査ハウス	採集月日	使用累積 (回)	灰色かび病 ^a 発生状況	検定病果数	耐性菌検出率 (%)
佐土原町 A 農家	'82.2.25 ^b 12.3 ^c 14 24	6 0 1 1	多 少 少 少	51 12 12 6	90 0 0 17
	'83.1.5	2	中	20	100
国富町 B 農家	'82.2.25 ^b 12.3 ^c 14 24	8 1 1 1	多 極少 極少 少	50 1 2 5	82 0 0 100
	'83.1.13	3	中～やや少	9	100

a 極少：発病果率1%未満，少：1～10%，中：11～20%，多：31～40%

b 1982年産(1981年10月定植)

c 1983年産(1982年10月定植)

検定期間を細かく区切り、本病発生初期の12月上旬からはほぼ10日間隔に罹病果を採集して検定した。その結果、前作の栽培後期には高率に耐性菌が検出されたにもかかわらず、初発生期（12月3日）の検定ではほとんどが感性菌であった。しかし、ジカルボキシミド剤の散布が1～2回実施された12月14日および12月25日の検定では、しだいに耐性菌検出率が高まり、本病の増加期にあたる1月13日に検定した結果では、前作の栽培後期と同様に再び耐性菌検出率が上昇し、90%の検出率となった。

さらに、1982年2月に耐性菌が高率に検出された2ハウスを選定して、散布回数と耐性菌の発生動向を調査した結果を第1表に示した。両ハウスとも、12月上旬における灰色かび病の発生は少なく、したがって検定に供された試料が少ないがすべて感性菌が検出された。しかし、12月中・下旬の検定では、本剤が1回しか散布されていないにもかかわらず耐性菌検出率が高くなり、さらに1月5、13日の検定では、2、3回しか散布されていないにもかかわらず100%の検出率となった。この現象は、耐性菌の発生機構と併せてさらに詳細な調査、研究が必要と思われる。

2. 最少生育阻止濃度（MIC 値）の検定：分生孢子塗抹法による検定の結果、灰色かび病の発生時期によって薬剤感受性に違いがあることが認められた。この点をさらに確認するため、平板希釈法による菌糸を用いたMIC 検定を行い、その結果を第2図に示した。

供試菌は、第1表に示した佐土原町および国富町の同

第2図 時期別に採集した灰色かび病菌の薬剤最少生育阻止濃度（MIC）

△---△ 1982. 2, ●---● 1982. 12, ○---○ 1983. 1 20℃ 48時間培養

一農家ハウスから採集した菌であるが、1982年2月の菌は上記以外のハウス集団から採集した菌が一部含まれている。なお、供試菌は薬剤無添加増地から単胞子分離を行った。1982年2月の菌は、分生孢子塗抹法による検定で耐性と判定した菌の中から36菌株を抽出して検定に供試した。その結果、48時間後における菌糸伸長の有無をみると MIC 値 1,600μg/ml以上の高度耐性菌が39%を示し、12.5～50μg/mlに位置する中等度と思われる耐性菌が60%を占めた。しかし、1983年産のキュウリ（1982年10月定植）で12月上旬に採集した中から15菌株を供試

第2表 ジカルボキシミド剤耐性菌発生ハウスでの防除試験における区構成

試 験 区	薬 剤 散 布 月 日 と 供 試 薬 剤				
	1/7	1/12	1/17	1/21	1/26
1 交 互 散 布	P ^a	Po	I	Po	Vi
2 混用・交互散布	P+Po ^b	S	I+Po ^b	S	Vi+Po ^b
3 単 用 散 布	I	P	Vi	I	P
4 無 散 布	—	—	—	—	—

a P：プロシミド1,500倍、Po：ポリオキシシン500倍、I：イプロジオン1,500倍、Vi：ピンクロゾリン1,500倍
S：スルフェン酸系600倍

b 混用散布

第3表 ジカルボキシミド剤耐性菌発生ハウスにおける他剤との交互及び交互混用散布による防除効果

試験区 ^a	1月12日 ^b		1月17日		1月21日		1月26日		1月31日	
	調査果数	発病果率 (%)	調査果数	発病果率 (%)	調査果数	発病果率 (%)	調査果数	発病果率 (%)	調査果数	発病果率 (%)
1	133	20.3	177	15.3	186	9.1	163	3.1	137	2.9
2	163	10.4	191	12.6	196	5.6	173	4.6	157	3.2
3	154	26.0	213	24.4	201	10.9	189	7.9	187	19.3
4	84	35.7	108	50.9	94	61.7	106	57.9	101	69.3

a 試験区1～4は第2表に同じ b 調査月日

した結果、分生孢子塗抹法で感性菌と判定したとおり、その MIC 値は $1.5\mu\text{g/ml}$ 以下の極めて感受性の高い菌が大部分を占めていた。さらに、同一農家ハウスにおいて、1月中旬に採集した分離菌の中から38菌株を抽出して MIC 検定に供試した。これらの菌は分生孢子塗抹法によって耐性菌と判定したとおり、MIC 検定においても大部分の供試菌が $12.5\sim 50\mu\text{g/ml}$ の中等度耐性を示し、高度耐性菌はみられなかった。前作の1982年2月に採集した菌が $1,600\mu\text{g/ml}$ 以上の高度耐性菌が多かったのに比較すると、この時期での耐性の発達程度はまだ未発達で、さらに散布回数の増加によって高度耐性菌になるものと思われた。この点の確認については、さらに検討中である。

3. 耐性菌発生ハウスにおける防除試験：耐性菌の発生が確認されたハウスにおけるジカルボキシイミド剤と他剤を組み合わせた交互または交互混用散布の結果を第3表に示した。試験開始時の発病率は30%程度で中～やや多の発生状況であった。1回散布後の1月12日の調査では、ジカルボキシイミド剤にポリオキシシン水和剤の混用散布区（2区）が、ジカルボキシイミド剤の単用であるイプロジオンおよびプロシミドン水和剤の散布区に比べ、発病率が少ない傾向がみられた。2回および3回散布後の調査では、ジカルボキシイミド剤+ポリオキシシン水和剤の混用にスルフェン酸系水和剤と交互散布した区（2区）、およびジカルボキシイミド剤とポリオキシシン水和剤の交互散布区（1区）の発病が少なくさらに散布を重ねることによって安定した効果を示した。一方、ジカルボキシイミド剤の単用散布区（3区）は、3回およ

び4回散布後には発病率が低くなりながら、5回散布後には再び発病率が高くなる現象がみられたが、無処理に比較すると防除効果は十分認められた。しかし、このハウスの耐性菌より高度耐性菌の割合の高いハウスでは、混用、交互散布を含めて防除効果の低下は十分予想される。

したがって、薬剤の選択にあたっては、同一作季において同じ作用機作をもつ薬剤の連続および多数回使用を控え、作用機作の異なる薬剤の輪番使用が望ましいと思われる。

摘 要

前作のキュウリで耐性菌が高率に検出されたハウスにおいて、次作の12月には感性菌だけが検出された。しかし、ジカルボキシイミド剤を1～2回散布することによって耐性菌検出率は急速に高くなった。中等度耐性の灰色かび病菌の発生が認められるハウスでは、ジカルボキシイミド剤の実用的な防除効果がみられた。ジカルボキシイミド剤にポリオキシシンおよびスルフェン酸系等の他剤を組み合わせた交互および混用散布が安定した防除効果を示した。

引 用 文 献

- 1) 木村貞夫・小川義雄・永野道昭(1982) 九病虫研報 28: 61-64.
 - 2) 三浦猛夫・川越仁(1982) 日植病報 48: 89-90 (講要).
 - 3) 野村良邦・木曾皓・鐘江義広(1982) 九病虫研報 28: 64-65.
 - 4) 桜井寿(1975) 植物防疫 29: 206-211.
 - 5) 手塚信夫・西泰道・渡辺康正(1980) 日植病報 46: 26-33.
 - 6) 竹内妙子・長井雄治(1982) 日植病報 48: 210-216.
- (1983年5月14日 受領)