

ベンズイミダゾール系薬剤とジエトフェンカルブ剤に同時に耐性を示す灰色かび病菌の発生

矢野和孝・犬伏貞明
(高知県中村病害虫防除所)

Occurrence of Resistant Strains of *Botrytis cinerea* to both Benzimidazoles and Diethofencarb

By Kazutaka YANO and Sadaaki INUBUSHI (Nakamura Plant Protection Office, Kotsuka, Nakamura, Kochi, 787)

はじめに

果菜類に発生する灰色かび病においてはベンズイミダゾール系薬剤耐性菌やジカルボキシイミド系薬剤耐性菌が多発し、その防除は困難を極めていたが、1991年に実用化されたジエトフェンカルブ・プロシミドン水和剤およびジエトフェンカルブ・チオファネートメチル水和剤は、卓越した防除効果を示し、その後の灰色かび病の発生が少なくなった。しかし、既にベンズイミダゾール系薬剤とジエトフェンカルブ剤に同時に耐性を示す菌株が検出されたことが報告されている(野村・小林, 1990; 岡田ら, 1990; 竹内, 1986)ことから、本県においてもこのような灰色かび病菌の発生が懸念された。

そこで、1992年と1993年に高知県中村市、土佐清水市、大方町および大月町の果菜類に発生した灰色かび病について薬剤耐性検定を実施したところ、ベンズイミダゾール系薬剤とジエトフェンカルブ剤に同時に耐性を示す2種類の灰色かび病菌が検出されたので、その概要を報告する。なお、本報告を発表するにあたり、灰色かび病罹病果実の採集に御協力くださった宿毛農業改良普及所大月支所の北村真人氏に深くお礼申し上げる。

材料および方法

1. 薬剤耐性検定

1992年と1993年に大月町のナス、中村市、土佐

清水市および大方町のキュウリ並びに中村市のトマトの灰色かび病罹病果実を採集し、罹病部の小片を薬剤添加培地および無添加培地上に置床した。薬剤添加培地はベノミルおよびプロシミドンを単独で5 µg/ml添加したPSA培地並びにジエトフェンカルブとベノミルの両方をそれぞれ5 µg/ml添加したPSA培地の3種類を用いた。罹病部の小片を置床した後、20°Cで48~72時間培養した後、菌そうの発育の有無を調査した。耐性菌の種類は、各培地での菌そうの発育の有無により、第1表に従って、ベンズイミダゾール系薬剤感性・ジカルボキシイミド系薬剤感性菌(以下SS菌と略記)、ベンズイミダゾール系薬剤感性・ジカルボキシイミド系薬剤耐性菌(以下SR菌と略記)、ベンズイミダゾール系薬剤耐性・ジカルボキシイミド系薬剤感性菌(以下RS菌と略記)、ベンズイミダゾール系薬剤耐性・ジカルボキシイミド系薬剤耐性菌(以下RR菌と略記)、ベンズイミダゾール系薬剤耐性・ジカルボキシイミド系薬剤耐性・ジエトフェンカルブ弱耐性菌(以下RRr菌と略記)ベンズイミダゾール系薬剤耐性・ジカルボキシイミド系薬剤耐性・ジエトフェンカルブ耐性菌(以下RRR菌と略記)の6種類に類別した。

2. 薬剤感受性の異なる灰色かび病菌の性質

(1) 供試菌株

1992年3月に中村市の施設栽培トマトより分離したSS菌、SR菌およびRR菌並びに大月町の施設栽培ナスより1992年3月に分離したRS菌、

第1表 耐性菌の種類と薬剤添加培地上での発育

耐性菌の種類*	薬剤添加培地上での発育**		
	ベノミル	プロシミドン	ジエトフェンカルブ + ベノミル
SS	—	—	—
SR	—	+	—
RS	+	—	—
RR	+	+	—
RRr	+	+	±
RRR	+	+	+

*：耐性菌の種類

SS：ベンズイミダゾール系薬剤感性・ジカルボキシイミド系薬剤感性菌

SR：ベンズイミダゾール系薬剤感性・ジカルボキシイミド系薬剤耐性菌

RS：ベンズイミダゾール系薬剤耐性・ジカルボキシイミド系薬剤感性菌

RR：ベンズイミダゾール系薬剤耐性・ジカルボキシイミド系薬剤耐性菌

RRr：ベンズイミダゾール系薬剤耐性・ジカルボキシイミド系薬剤耐性・
ジエトフェンカルブ弱耐性菌

RRR：ベンズイミダゾール系薬剤耐性・ジカルボキシイミド系薬剤耐性・
ジエトフェンカルブ耐性菌

**：いずれの添加濃度も5 µg/ml

＋：発育する

±：わずかに発育する

—：発育しない

1992年4月に分離したRRr菌および1993年3月に分離したRRR菌をそれぞれ1菌株ずつ、単孢子分離した後、供試した。なお、供試菌株はすべて第1表の表記に適合することを確認した後、供試した。

(2) 病原性

供試菌株を直径9cmのペトリ皿に8ml分注したPSA培地上で、20℃で4日間培養した。培養後、菌そうの先端部分を直径5mmのコルクポーターで打ち抜いて得た寒天ディスク(厚さ約1mm)を、播種7日後のキュウリ(品種：地這胡瓜)の子葉の中心部に接種した。25℃で48時間多湿条件に保った後、下記の基準にしたがって子葉の腐敗程度を調査した。なお、試験は1菌株につき子葉6枚を供試し、その平均値を求めた。

0：腐敗なし

1：子葉の面積の1～25%が腐敗

2：子葉の面積の26～50%が腐敗

3：子葉の面積の51%以上が腐敗

(3) 薬剤添加培地上における発育

供試菌株を直径9cmのペトリ皿に分注したPSA培地上で、20℃で4日間前培養した。培養後、菌そうの先端を直径5mmのコルクポーターで打ち抜いて得た寒天ディスクをベノミルの100, 400, 800, 1600 µg/ml およびジエトフェンカルブの0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50, 1000 µg/ml 添加PSA培地と無添加PSA培地に置床し、20℃で48時間培養後、菌そうの最大直径を調査した。なお、試験は1濃度、1菌株に対しペトリ皿2枚を供試し、その平均値を求めた。また、ジエトフェンカルブの各濃度添加培地に置床したRR菌およびRRr菌は72時間後および144時間後にも菌そうの最大直径を調査した。

結 果

1. 薬剤耐性検定

1992年の薬剤耐性検定の結果を第2表に示した。検出された耐性菌の種類はRR菌が最も多かったが、ジエトフェンカルブとベノミルの両方を添加した培地でわずかに発育するRRr菌が検出され

第2表 果菜類に発生した灰色かび病の薬剤耐性検定結果（1992年）

作物名	農家	調査 月日	調 査 菌株数	耐性菌の種類*					
				S S	S R	R S	R R	R R r	R R R
ナス	A	3.26	1			1			
	B	4.2	8				6	2	
	C	4.2	16	16					
	D	4.2	28	1		22	5		
	E	4.2	20			1	19		
キュウリ	F	3.26	1					1	
トマト	G	3.26	25	3	1	2	17	2	
	H	3.26	13	1			12		
	I	3.26	26			6	3	17	

*：耐性菌の種類は第1表を参照。数字は検出された菌株数，空欄は該当する菌株が検出されなかったことを示す。

第3表 果菜類に発生した灰色かび病の薬剤耐性検定結果（1993年）

作物名	農家	調査 月日	調 査 菌株数	耐性菌の種類*					
				S S	S R	R S	R R	R R r	R R R
ナス	A	3.9	20	1	1	1	3	2	12
		4.4	19	1					18
	B	3.9	19			14	3	2	
	C	3.9	20					20	
	D	3.9	19				2	17	
	E	4.4	18				18		
キュウリ	F	2.7	1				1		
	G	2.7	1	1					
	H	3.9	2		2				
トマト	I	2.7	2					2	
	J	2.7	5	1			4		
	K	2.7	2	1		1			
	L	2.7	14	1	4		6	3	
		3.9	17	1	5	1	3	2	

*：耐性菌の種類は第1表を参照。数字は検出された菌株数，空欄は該当する菌株が検出されなかったことを示す。

る圃場もあった。

1993年の薬剤耐性検定の結果を第3表に示した。前年に検出されたR R r菌は検出される頻度が高くなり，3月9日にはH農家のキュウリからS R菌が高率に検出された。また，3月9日にA農家のナスからR R R菌が検出され，4月4日にはその占有率が高まった。

2. 薬剤感受性の異なる灰色かび病菌の性質

(1) 病原性

供試菌株のキュウリ子葉に対する病原性を第4表に示した。S R菌はやや病原性が弱かったが，その他の菌株は，ほとんど差が認められなかった。

(2) 薬剤添加培地上における発育

供試菌株のペノミル添加培地上における寒天デ

第4表 キュウリ子葉に対する灰色かび病菌の病原性

耐性菌の種類*	腐敗の程度**
S S	2.8
S R	1.0
R S	2.5
R R	3.0
R R r	2.2
R R R	2.8

* : 耐性菌の種類は第1表を参照

** : 腐敗の程度

0 : 腐敗なし

1 : 子葉の面積の1~25%が腐敗

2 : 子葉の面積の26~50%が腐敗

3 : 子葉の面積の51%以上が腐敗

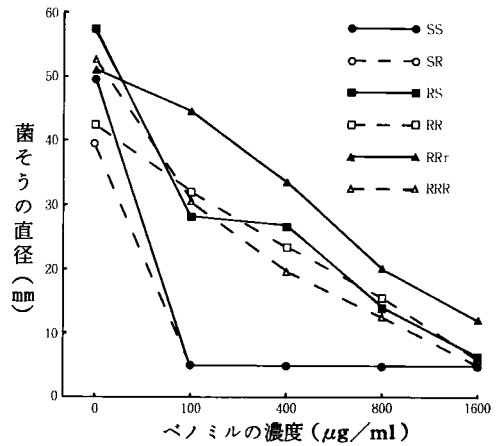
イスクを含む菌そう直径を第1図に示した。RS菌とRR菌が1600 $\mu\text{g}/\text{ml}$ でも発育したのに対し、RRR菌は800 $\mu\text{g}/\text{ml}$ では発育したが、1600 $\mu\text{g}/\text{ml}$ では全く発育しなかった。また、RRr菌は1600 $\mu\text{g}/\text{ml}$ までのいずれの濃度においてもRS菌やRR菌より良好に発育した。

次に、供試菌株のジェットフェンカルブ添加培地上での寒天ディスクを含む菌そうの直径を第2図に示した。RRR菌はいずれの濃度においてもSS菌やSR菌とはほぼ同様の発育を示した。一方、RRr菌は0.1および0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で、SS菌やSR菌とはほぼ同様によく発育したが、1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の濃度でその発育が抑制された。しかし、RS菌やRR菌が5, 10, および50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ではほとんど発育しないのに対し、2~5mm程度生育した。

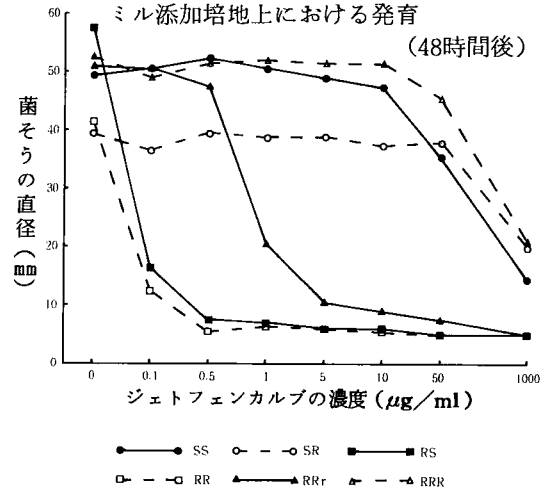
RRr菌およびRR菌のジェットフェンカルブ添加培地上における経時的発育を第3図に示した。1, 5および10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ での144時間後の菌そうの発育は、RR菌がほとんど発育しないのに対し、RRr菌は少しずつ発育し、20~70mmに達した。

考 察

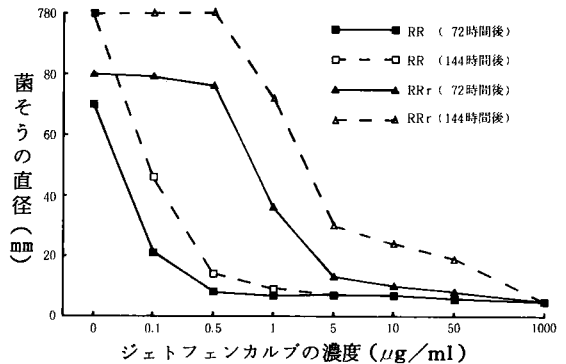
1992年および1993年の薬剤耐性検定の結果から、ベンズイミダゾール系薬剤とジェットフェンカルブ剤との間に負相関交差耐性が認められないRRr菌やRRR菌が新たに発生していることが明らかと



第1図 薬剤感受性の異なる灰色かび病菌のベノミル添加培地上における発育 (48時間後)



第2図 薬剤感受性の異なる灰色かび病菌のジェットフェンカルブ添加培地上における発育 (48時間後)



第3図 RR菌およびRRr菌のジェットフェンカルブ添加培地上における経時的発育

なった。ベンズイミダゾール系薬剤とジエトフェンカルブ剤に同時に耐性が認められる灰色かび病菌は、現在までも数例報告されている(野村・小林, 1990; 岡田ら, 1990; 尾末・和泉, 1992; 竹内, 1986; 山田ら, 1992)が、これらの事例のほとんどが1菌株だけ検出されたものであった。ところが、最近、櫛間ら(1993)はRRR菌を多数検出したことを報告した。また、重松ら(1994)もRRR菌を5菌株検出した。今回行った薬剤耐性検定においてもRRR菌が高い占有率を占めた圃場があったが、今後このような事例の増加が危惧される。このRRR菌が発生したナス圃場においては、ジエトフェンカルブ・プロシミドン水和剤を栽培開始からRRR菌検出までの間に2回使用しただけで、とくに多用したということもなかった。RRR菌発生の原因については、その発生前から長期間にわたる薬剤の使用状況の把握とモニタリングが必要であると思われる。

RRR菌のベノミル添加培地上での発育は既存のベンズイミダゾール系薬剤耐性菌よりやや劣り、野村・小林(1990)や岡田ら(1990)の報告と一致したが、同じ発育であるとした尾松・和泉(1992)の報告と異なった。また、菌糸の発育が遅いとした山田ら(1992)の報告と異なり、他の薬剤感受性の異なる菌株とほぼ同様の発育をした。さらに、病原性も同程度有することから、今後も他の圃場に発生する可能性は十分にあると考えられる。

RRr菌は田中ら(1994)の報告した灰色かび病菌と類似していると思われる。しかし、田中らの報告したジエトフェンカルブ剤の弱耐性菌のMICは $6.25\sim 12.5\mu\text{g}/\text{ml}$ であるが、本報告のRRr菌は $50\mu\text{g}/\text{ml}$ でもわずかに発育することから耐性程度が少し異なると思われる。

RRr菌は、ジエトフェンカルブ添加培地上では低濃度でしか発育せず、しかも発育が遅いことからRR菌と混同されている可能性もあると思われる。しかし、RR菌は長期間培養しても発育しないのに対し、RRr菌は徐々に発育することから、 $5\mu\text{g}/\text{ml}$ で6日間程度培養すればRR菌と区別することは容易である。また、本菌は1992年および1993年の薬剤耐性検定でも頻繁に検出されたが、本菌の発生がどの程度防除効果に影響を及ぼ

しているのかについては、今後検討する必要があると思われる。

RRR菌発生圃場における防除効果の検討は行っていないが、ジエトフェンカルブの混合剤はいずれも防除効果が低下していることが発病状況から推察された。また、今回の薬剤耐性検定で、SR菌が高い占有率を占める事例があり、この圃場ではジエトフェンカルブ・プロシミドン水和剤の防除効果が低下したことが発病状況から推察された。今後は、防除効果の低下がみられる圃場では耐性菌の種類を調査し、RRR菌やSR菌の発生に留意する必要があると思われる。

摘 要

1. 1992年および1993年に、高知県大月町のナス、中村市、土佐清水市および大方町のキュウリ並びに中村市のトマトに発生した灰色かび病について薬剤耐性検定を実施したところ、ベンズイミダゾール系薬剤とジエトフェンカルブ剤に同時に耐性を示す2種類の菌株が検出された。
2. そのうちの1種類は1993年に調査したナス圃場のうち1圃場で高率に検出されたものである。本菌のベノミル添加培地上での発育は、既存のベンズイミダゾール系薬剤耐性菌よりもやや劣り、 $1600\mu\text{g}/\text{ml}$ では既存のベンズイミダゾール系薬剤耐性菌がわずかに発育するのに対し、本菌は全く発育しなかった。ジエトフェンカルブ添加培地上では、ベンズイミダゾール系薬剤感受性菌とほぼ同様の発育をした。
3. もう1種類は1992年および1993年に頻繁に検出されたもので、1992年より1993年に多く検出された。本菌のベノミル添加培地上での発育は、既存のベンズイミダゾール系薬剤耐性菌よりも良好であった。ジエトフェンカルブ添加培地上では、 $1\sim 50\mu\text{g}/\text{ml}$ で徐々に発育し、144時間後には菌そう直径が $20\sim 70\text{mm}$ に達した。

引用文献

- 櫛間義幸・溝口一美・田村逸見・三浦猛夫・山口秀一(1993):チオファネートメチル剤、ジエトフェンカルブ剤及びプロシミドン剤に耐性を示す灰色かび病菌の発生。日植病報, 59: 717.
- 野村良邦・小林紀彦(1990):ジエトフェンカル

- ブ・チオファネートメチル剤耐性灰色かび病菌について。日植病報，56：105。
- 岡田清嗣・草刈真一・中曾根渡（1990）：ナス灰色かび病の Diethofencarb 剤耐性菌の発生。日植病報，56：135。
- 尾松直志・和泉勝一（1992）：ジェットフェンカルブ剤とベノミル剤に耐性を示す灰色かび病菌の発生。九病虫研会報，38：32～35。
- 重松辰郎・田代定良・山田正和・田中 薫（1994）：ベンズイミダゾール系・ジカルボキシイミド系・N-フェニルカーバメイト系の3剤に耐性を示す灰色かび病菌（RRR菌）の出現。日植病報，60：349。
- 竹内妙子（1986）：ベンズイミダゾール系剤およびN-フェニルカーバメイト系剤等に同時に耐性を示す灰色かび病菌について。日植病報，52：98～99。
- 田中 薫・小川 正・沼田京太・木曾 皓（1994）：ジェットフェンカルブ・チオファネートメチル混合剤連用圃場における多剤耐性灰色かび病菌の動向とその性質。日植病報，60：349。
- 山田正和・中澤靖彦・天野徹夫・大塚範夫（1992）：ベンズイミダゾール，N-フェニルカーバメイト，ジカルボキシイミドに多剤耐性を示す灰色かび病菌の性質。日植病報，58：610。