

福井県におけるチオファネートメチル剤耐性トマト灰色かび病菌の発生*

杉 本 義 則 (福井県農業試験場)

Y. SUGIMOTO : Tolerance to thiophanate-methyl in *Botritis cinerea* in Fukui prefecture.

1977年春、一部のトマト促成栽培施設で、灰色かび病に対するチオファネートメチル剤の防除効果が著しく低下したため、この原因について調査した結果、本剤耐性菌が検出され、防除効果の低下は耐性菌の発生に帰因することが確認された。現在のところ、発生例はわずか1例に過ぎないが、その概要を報告し今後における調査ならびに防除体系化のための手振りとしたい。本報告を草するに当り、当場次長奈須田和彦博士には校閲を賜わり、同場病理昆虫科川久保幸雄技師、福井県園芸センター山本公志研究員の諸氏からは有益な御教示御助言を頂いた。特に本試験を通じて同園芸センター中西ひとみ嬢には多大の協力を賜わった。記して深く感謝の意を表する。

I 実験方法

供試菌 灰色かび病菌は、トマトの罹病果及び罹病葉から寒天を用いて単菌糸分離を行なった。分離菌株は馬鈴薯煎汁ブドウ糖寒天培地(PDA)で培養を2度繰り返し、15°Cで保存した。

最小生育阻止濃度の測定 分離菌株に対するチオファネートメチル剤の最小生育阻止濃度(MIC)は、市販のトップジンM70%水和剤を供し、平板希釈法により検定した。希釀の割合は水和剤の成分量であらかじめ調整した薬液1mlにPDA9mlとした。一方、分離菌株はPDA斜面培地で22°C、4、5日間培養し、菌そうを寒天片と共に少量かき取って平板希釀培地に移植後、22°C、3、4日目に菌そうの発育を観察した。

キュウリ子葉による薬効検定 キュウリ子葉は本葉1枚が展開した幼苗から切り取り、Tween 20を少量添加したチオファネートメチル水和剤溶液に30分間浸漬、風乾した。供試菌株は直径9cmペトリ皿にPDA5mlを注入した平板培地で3、4日間培養し、周辺の菌そうをコルクボーラで直径5mmに打ち抜き、これをキュウリ子葉に接種した。接種後は弱光下で22°C、2日間温室に置き、病斑長を測定した。

菌糸伸長阻止率の測定 分離菌株は上述のように直径5mmの寒天ディスクにして、平板希釀培地に移植

後、22°C、3日に次式から菌糸伸長阻止率を測定した。菌糸伸長阻止率(%) = $\frac{a-b}{a} \times 100$, a : 薬剤無添加培地での菌そう直径, b : 薬剤添加培地での菌そう直径

その他の供試薬剤 ベノミル剤は市販のベンレート50%水和剤、同じくボリオキシンは10%水和剤、オーソサイドは80%水和剤、ダコニールは75%水和剤、トリアジンは50%水和剤及びユーパレンは50%水和剤を供した。

II 試験結果

1 灰色かび病菌の採集 第1表のように、灰色かび病菌は4地点から66菌株を5月下旬から6月上旬にかけて分離した。地点OT(本文では地点名はすべて第1表中の略号で示す)では、チオファネートメチル剤の散布にもかかわらず本病が多発し、その防除効果が明らかに低下していると考えられた。本剤の散布回数は年間約10回以上のようなようであった。地点HCでは主として防除薬剤にジネブ剤を使用し、チオファネートメチル剤の散布は年4回ほどであった。また、どの地点でもベノミル剤は散布されていなかった。

第1表 トマト灰色かび病菌の採集地とチオファネートメチル剤の散布回数

採集地	略号	散布回数
小浜市今富(施政)	OT	年間 10 数回
美浜町久々子(〃)	HC	〃 3~4回
小浜市尾崎(〃)	K	無 敷 布
越前町綿田(僻地)	AF	〃

2 平板希釀法による薬効検定 分離した灰色かび病菌に対するチオファネートメチル剤の最小生育阻止濃度(PDA)は第2表に示した。地点OTから分離した41菌株に対する本剤のMICは6,400ppmから25,600ppmの範囲にあり、他の地点に比べ薬効は著しく低下していた。また、地点HCでも9菌株のうち2菌株に薬効低下が認められた。一方、このように本剤に対する感受性が低下している菌株では、第3表に示すようにベノミル剤におけるMICも800ppmから6,400ppmと大きく、ベノミル剤についても感受性の低下が認められた。

* 福井県農業試験場環境部病理昆虫科業報 No.67(附)

第 2 表 灰色かび病菌に対するチオファネトメチール剤の最小生育阻止濃度

最小生育阻止濃度 (MIC)	菌 株 数			
	OT 菌群	HC 菌群	AF 菌群	K 菌群
ppm < MIC	39	2		
25,600 < "		1		
12,800 < " < 25,600		1		
6,400 < " < 12,800		1		
12.5 < " < 25		2		
1.56 < " < 3.12				6
0.78 < " < 1.56		3		2
0.39 < " < 0.78	2		7	
0.19 < " < 0.39		1		

第 3 表 灰色かび病菌に対するペノミル剤の最小生育阻止濃度

最小生育阻止濃度 (MIC)	菌 株 数			
	OT 菌群	HC 菌群	AF 菌群	K 菌群
ppm < MIC < 6,400	14			
1,600 < " < 3,200	18	2		
800 < " < 1,600	9			
50 < " < 100		1		
0.78 < " < 1.56		1		
0.39 < " < 0.78				1
0.19 < " < 0.39				7
0.09 < " < 0.19		5	8	

3 接種試験による薬効検定 チオファネートメチルならびにペノミルの両薬剤感受性菌株と感受性が低下している菌株から各 6 株を選び、キュウリの葉に接種し、発病の有無から両薬剤の薬効を再度比較し、その結果は第 4 表に示した。それによると、前者では 6

第 4 表 灰色かび病菌の接種による薬剤処理キュウリ子葉上の病斑形成

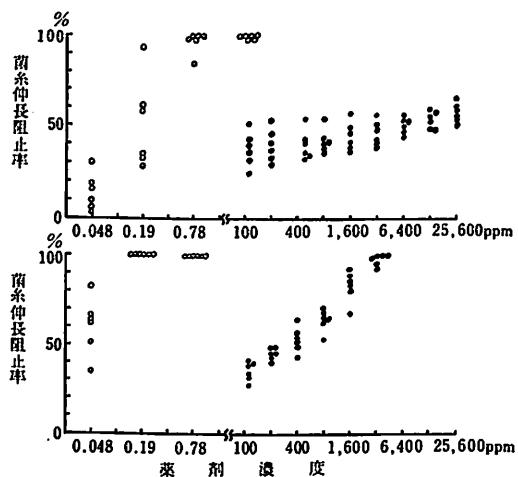
菌 株	病斑長 (チオファネートメチール剤)			病斑長 (ペノミル剤)		
	水	1,500倍	750倍	水	1,500倍	750倍
OT-1	m	12	11	m	11	7
OT-10	6	6	8	6	5	6
OT-15	23	21	26	14	15	13
OT-1'	20	24	19	7	8	13
HC-3'	15	19	17	19	20	19
HC-4'	9	9	10	15	16	15
AF-1	20	< 0.5	0	13	0	0
AF-2	24	2	0	13	3	0
HC-1'	20	< 0.5	< 0.5	18	2	< 0.5
HC-2'	23	< 0.5	< 0.5	7	0	0
K-1	25	< 0.5	0	12	1	0
K-6	7	0	0	5	0	0

菌株 (AF-1, AF-2, HC-1', HC-2', K-1, K-6) とも両薬剤の 1,500 倍で発病が阻止されたのに対し、後

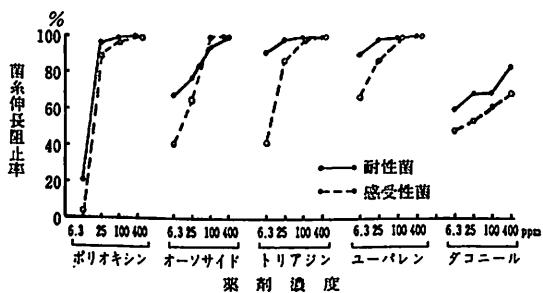
者 (OT-1, OT-10, OT-15, OT-1', HC-3', HC-4') は 750 倍でも無処理と同程度の病斑長であった。

以上のことから、地点 OT の 41 菌株と地点 HC の 2 菌株は両薬剤に耐性であると考えられた。

4 菌糸伸長阻止率の測定 第 1 図のように、耐性菌株の場合、薬剤濃度の増加に伴なうチオファネートメチル剤の菌糸伸長阻止率の変化は小さく、100 ppm から 12,800 ppm までは 40~50% と低率で、25,600 ppm に至って 50~60% とわずかに増加するだけであり、ペノミル剤に比較すると、チオファネートメチル剤の耐性は異常に強いようであった。



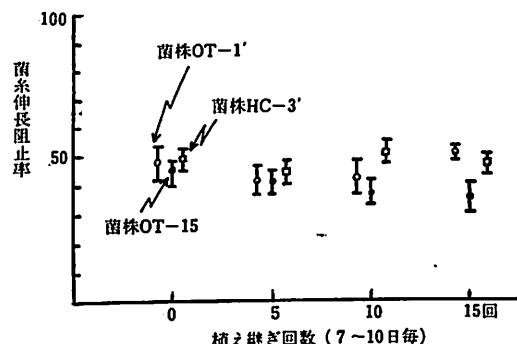
第 1 図 トマト灰色病菌に対するチオファネートメチル剤及びペノミル剤の菌糸伸長阻止率
(上) チオファネートメチル剤 (下) ペノミル剤
黒印: 耐性菌 6 株 白印: 感受性菌 6 株



第 2 図 耐性菌に対する他の市販薬剤の菌糸伸長阻止率

5 他の防除薬剤と耐性 第2図のように、ポリオキシン、トリアルジン、ダコニール、オーソサイド及びユーパレンでは、チオファネートメチル剤耐性菌と感受性菌とで菌糸伸長阻止率に差異は認められず、本剤耐性菌はこれらの薬剤には耐性を示さなかった。

6 繰代培養と耐性の変動 本剤耐性菌3株について、PDA平板培地で22°C、約1週間毎の培養を繰り返し、隨時本剤の菌糸伸長阻止率を測定した。測定の際、移植源は継代培養菌をさらにPDA平板培地で3日間培養して供した。その結果は第3図に示したが、3菌株とも継代培養に伴なう菌糸伸長阻止率の変化は大きくはなく、少なくとも15回までの植え継ぎは耐性に影響を及ぼさないようであった。



第3図 耐性菌の継代培養とチオファネートメチル剤の菌糸伸長阻止率の変化

(注) 薬剤濃度3,200ppm, 5回反復の平均値
とレンジで表記

III 考 察

チオファネートメチル剤に対する耐性菌の発現は主に果菜類灰色かび病で^{3,4,5,6)}、一部はナシの黒星病¹⁾で報告されているが、本県における耐性菌についての実態は明らかでない。今回の試験はこの問題を検討するため実施したものであり、対象圃場は4カ所と少ないが、トマト灰色かび病について、平板希釈法による最小生育阻止濃度(MIC)の測定²⁾、キュウリ子葉への接種試験及び菌糸伸長阻止率の測定から耐性菌の有無を調べた。その結果、やはり年間本剤を多数回散布している施設では耐性菌が検出され、本県での発生が確認された。

本試験では散布回数と耐性菌発生との関係については言及できないが、本剤が年間10回以上散布されている施設では、明らかに耐性菌が検出され、しかも、この耐性菌のMICは6,400ppmから25,600ppmと推定され、耐性の程度は異常に高かった。これに対し、本剤無散布の

露地または散布回数が少ない施設では、耐性菌が検出されないか、検出されてもその分離率は低く、耐性菌の発生は未だ問題になっていないようであった。

一方、本剤耐性菌株はベノミル剤にも耐性を有していたが、ベノミル剤は採集地点では全く散布されていないことから、この耐性はチオファネートメチル剤との交差耐性であろうと考えられる。この場合、ベノミル剤のMICは1,600ppmから3,200ppmの範囲にあり、チオファネートメチル剤に比べるとかなり低い。山本⁶⁾はMIC 10,000ppm以上のベノミル剤耐性菌を検出しているが、それに比べても低いのは当該圃場がベノミル剤を全く散布していないためと考えられる。この点は今後検討を要しよう。

このような高度耐性菌の検出に比べて、中等度耐性菌は判定し難く、1, 2の菌株が中等度の耐性を有すると思われたが、充分な結論は得られなかった。

以上のように、本県で発生したチオファネートメチル剤耐性菌のMICはかなり高いという特徴があった。しかし、ダコニール、オーソサイド、ポリオキシン、トリアルジン、及びユーパレンには耐性は認められないようであり、防除薬剤にはこれらの薬剤を使用することができよう。

IV 摘 要

チオファネートメチル剤を多数回散布したトマト促成栽培地で灰色かび病が多発したので、この原因を耐性菌発生の面からとらえ、チオファネートメチル耐性灰色かび病菌の検索を無散布地及び少数回散布地と比較して実施した。

1. チオファネートメチル剤多数回散布施設からは、最小生育阻止濃度 25,600ppm以上の耐性菌が検出された。

2. チオファネートメチル剤耐性菌はベンレートにも交差耐性を有していたが、ポリオキシン、ダコニール、オーソサイド、トリアルジン及びユーパレンに対する耐性は認められなかった。

3. 薬剤耐性約7日ごと、15回の継代培養によっても耐性菌の耐性には変化は認められなかった。

引 用 文 献

- Ishii, H. and Yamaguchi, A. (1977) Tolerance of *Venturia nashicola* to thiophanate-methyl and benomyl in Japan, Ann. Phytopath. Soc. Japan 43: 557-561.
- 桜井寿 (1975) 薬剤耐性菌の検定法. 植物防疫 29: 206-212.
- 手塚信夫木曾皓 (1975) ナス *Botrytis* 属菌のチオファネートメ

チル耐性菌株の出現. 日植病報 33 : 27—31. 4) 上
杉康彦 (1978) 薬剤耐性 植物病理化学最近の進歩 (平
井・鈴木両教授還歴記念) : 211—220. 5) 山本 磐
(1975) ベノミル耐性灰色かび病菌の野菜における発生

と対策. 植物防疫 29 : 194—196. 6) 山本 磐 (19
76) 薬剤耐性菌に関するシンポジウム, 17, 日本植物防
疫協会, 53pp.

(1978年7月26日受領)

薬剤抵抗性ツマグロヨコバイに対するマラソンと カーバメイト剤の共力作用とその機作

渋 谷 一 郎 (八洲化学工業株式会社研究所)

I. SHIBUYA : Joint action of malathion and carbamate insecticides and its mode of action to the insecticide-resistant green rice leafhopper, *Nephrotettix cincticeps* Uhler

近年問題となっているカーバメイト剤抵抗性ツマグロヨコバイは、すでに有機リン剤抵抗性の発達した個体群にさらにカーバメイト剤に対する抵抗性が発達して来たものが多く、そのため有機リン剤とカーバメイト剤の両方に対し、抵抗性を示しその防除は極めて困難になっている。

一方マラソンに抵抗性を示すツマグロヨコバイに対し、DDVP, IBP, 各種カーバメイト剤がマラソンと共に効果を有することがすでに報告されている^{1,2,3,4)}。DDVP とマラソンの共力作用については小島ら¹⁾によって、DDVP がマラソンの分解酵素の 1 つであるカルボキシルエステラーゼを阻害し、それによりマラソンの効果が増強されることが報告され、またカーバメイト剤とマラソンを含む有機リン剤の抵抗性ツマグロヨコバイに対する共力効果についても抵抗性個体群の有機リン剤を分解する酵素がカーバメイト剤により阻害されることが浜⁵⁾らにより推察されている。

著者ら⁶⁾は前報において、長野県北安曇郡松川村で採集したツマグロヨコバイのマラソン, BPMC, MTMC, MPMC に対する抵抗性レベルとこれら薬剤に対するコリソエステラーゼの感受性についての知見を報告した。今回は松川抵抗性系ツマグロヨコバイ個体群を用い、BPMC, NAC, MPMC, XMC, DDVP, EDDP をそれぞれマラソンと混合した場合の共力効果を検討し、さらにそれらの共力作用の機作について、各薬剤の *in vitro* におけるマラソン分解酵素および非特異的エ斯特ラーゼ (アリエステラーゼ) の阻害について検討した。

本文に入るに先だち、本稿の校閲をしていただいた農業技術研究所浜弘司技官に深く謝意を表する。

I 材料および方法

抵抗性系として用いたツマグロヨコバイは1977年9月中旬に長野県北安曇郡松川村の水田で採集し、その後八洲化学工業株式会社の研究所で稚幼虫を用いて継代飼育を行い、5~6 世代を経過したものである。また感受性系としては長野市の八洲化学工業株式会社研究所の圃場から1969年に採集され、その後八洲化学工業研究所で無陶汰で継代飼育されてきたものである。この 2 系統のマラソン、ダイアジノン、BPMC および NAC に対する局所施用法による検定で得た LD₅₀ 値は第 1 表に示したとおりである。

Table 1. LD₅₀ value ($\mu\text{g/g}$ of body weight) of malathion, diazinon, BPMC and NAC to Matsukawa (R) and Yashima (S) strains of the green rice leafhopper

Insecticide	Matsukawa	Yashima
malathion	97.9	1.6
diazinon	69.0	4.1
BPMC	81.9	2.1
NAC	22.0	4.3

供試薬剤はマラソン、BPMC、NAC、XMC、MPMC PHC は純品を用い、DDVP は減圧蒸留により精製したもの (99%), また EDDP は分析用標準品 (90%) を用いた。各薬剤は 1 % のアセトン溶液とし、-20°C のフリーザーに貯蔵した。

混合施用の試験にはマラソンと供試薬剤の等濃度のアセトン溶液を 1 : 1 に混合した後、所定濃度に稀釀して