

神奈川県野菜栽培におけるベンツイミダゾールおよび ジカルボキシイミド系剤耐性灰色かび病菌の発生

村 越 重 雄

S. MURAKOSHI

Occurrence of *Botrytis cinerea* resistant strains to benzimidazole and dicarboxyimide fungicides on vegetables in kanagawa.

I 緒 言

灰色かび病菌 *Botrytis cinerea* によって起る各種園芸作物の灰色かび病に対して、高い防除効果を示すベンツイミダゾール系剤（ベノミル剤とチオファネートメチル剤）については、すでに1971年にオランダのシクラメン灰色かび病で耐性菌の発生が報告されている⁽¹⁾。国内においても、'74年ころから全国各地で防除効果の低下現象が見られるようになり⁽⁴⁾、その原因は本剤耐性菌の発生によるものであることが明らかにされた^(12,15,17)が、本県においても発生していることを前報で報告した⁽¹⁰⁾。

一方、ベンツイミダゾール系剤耐性灰色かび病菌に対しても高い防除効果の認められるジカルボキシイミド系剤（イプロジオン剤、プロシミドン剤およびビングロゾリン剤）が'79年より順次使用され始めるにつれ、栽培圃場でこれらの薬剤に対する耐性菌が発生するか否かは、本病の防除対策上重要な問題と考えられる。

そこで、本県の野菜（トマト、キュウリおよびキャベツ）栽培における両系剤耐性菌の発生状況と薬剤散布との関連について'79年より調査したところ、耐性菌の発生と薬剤の使用法との間に興味深い結果が得られたので、ここに報告する。本調査を行なうに当たり、試料の採取等で御協力いただいた県病害虫防除所並びに農業改良普及所の関係各位に対して深謝する。

II 材料および方法

1. 検定材料の採取および薬剤散布実態の調査

1圃場当たり約5病果（葉）を対角線上に採取し、互いに接触させないようビニル袋に入れた。各圃場の試料採取時までの薬剤散布の実態を聞き取り調査した。

(1) 1979年：トマトは県東部地区（横浜・川崎・横須賀市等）より4月に17個所、5月に11個所（内10個所は4月と同一圃場）の小計28個所、県中部地区（藤沢・茅ヶ崎・平塚・海老名・厚木・伊勢原・秦野市等）より4月に20個所、5月に9個所の小計29個所、合計57個所より280果を採取した。キュウリは12月に県中部地区より8個所、35果を採取した。

(2) 1980年：トマトは県東部地区より4月に10個所、県中部地区より3月に15個所、5月に10個所の小計25個所、合計35個所より150果を採取した。キュウリは県中部地区より9個所、32果を採取した。

(3) 1981年：トマトは県東部地区より4月に15個所、県中部地区より3月に15個所、合計30個所より151果を採取した。キュウリは県中部地区より4月に9個所、12月に3個所、合計12個所59果を採取した。キャベツは県東部の三浦地区（三浦・横須賀市等）より4月に15個所、72葉について採取した。

(4) 1982年：トマトは県中部地区より2～4月に27個所、145果を採取した。キャベツは三浦地区より3月に5個所、22葉を採取した。

2. 薬剤耐性の検定方法

病果または病葉の水浸状病斑部より病組織小片を取り、素寒天培地あるいはポテトデキストロース寒天（PDA）平板培地に置床し、20～25℃の恒温器内で1～2日間培養後、進展した菌糸先端をPDA培地に移植して検定菌株とした。各検定菌株はPDA平板培地で3日間培

養し、その菌そう先端約5mm角を培地ごと切り取り、検定培地に植菌した。検定培地はPDA培地を対照とし、これにペノミル(ベンレート、50%製剤)またはイブゾロン(ロブラール、50%製剤)を $10\mu\text{g}/\text{ml}^{-1}$ 添加した培地を用いた。実験の一部において、ベンツイミダゾール系剤としてチオファネートメチル(トップジンM、50%製剤)、ジカルボキシイミド系剤としてプロシミドン(スミレックス、50%製剤)やピンクロソリン(ロニラン、50%製剤)を添加した培地も用いた。植菌後20~25°Cの恒温器で培養し、1~3日後における菌の生育を観察し、薬剤添加培地で生育の認められたものを耐性菌と判定した。特にジカルボキシイミド系剤に対しては、培地上での変異が起り易いので、1日後からわずかでも生育したものを耐性菌と判定した。

3. 薬剤散布回数と耐性菌発生との関係

試料採取時に農家から聞き取りを行ない、散布薬剤と散布時期を調べて耐性菌発生との関係を検討した。一方、当場内の地中熱交換暖房方式のガラス室に栽培されているトマト(品種;ファーストパワー、定植;11月6日)について、'82年1月より5月までの発病果数(90株当たり)と、薬剤散布に伴う両系剤耐性菌の発生推移を調査した。

III 成 績

1. ベンツイミダゾール系剤耐性菌

第1表 トマト圃場におけるベンツイミダゾール系剤耐性灰色かび病菌の検出

年次	採取 地域	検 定 菌 数	耐 性 菌 数	同 左 割 合	検 定 圃 場 数	耐性菌検出率別圃場数(割合)			
						0%	20~40%	50~80%	100%
'79	東 部	146株	97株	66.4%	28個所	2 (7.1)	7 (25.0)	7 (25.0)	12 (42.9)
	中 部	134	115	85.8	29	2 (6.9)	3 (10.3)	2 (6.9)	22 (75.9)
	小 計	280	212	75.7	57	4 (7.0)	10 (17.5)	9 (15.8)	34 (59.6)
'80	東 部	44	22	50.0	10	1 (10.0)	3 (30.0)	4 (40.0)	2 (20.0)
	中 部	106	80	75.5	25	2 (8.0)	3 (12.0)	3 (12.0)	17 (68.0)
	小 計	150	102	68.0	35	3 (8.6)	6 (17.1)	7 (20.0)	19 (54.3)
'81	東 部	73	45	61.6	15	2 (13.3)	2 (13.3)	7 (46.7)	4 (26.7)
	中 部	78	54	69.2	15	1 (6.7)	3 (20.0)	4 (26.7)	7 (46.7)
	小 計	151	99	65.6	30	3 (10.0)	5 (16.7)	11 (36.7)	11 (36.7)
'82	—	145	116	80.0	27	3 (11.1)	1 (3.7)	4 (14.8)	19 (70.4)
合 計		726	529	72.9	149	13 (8.7)	22 (14.8)	31 (20.8)	83 (55.7)

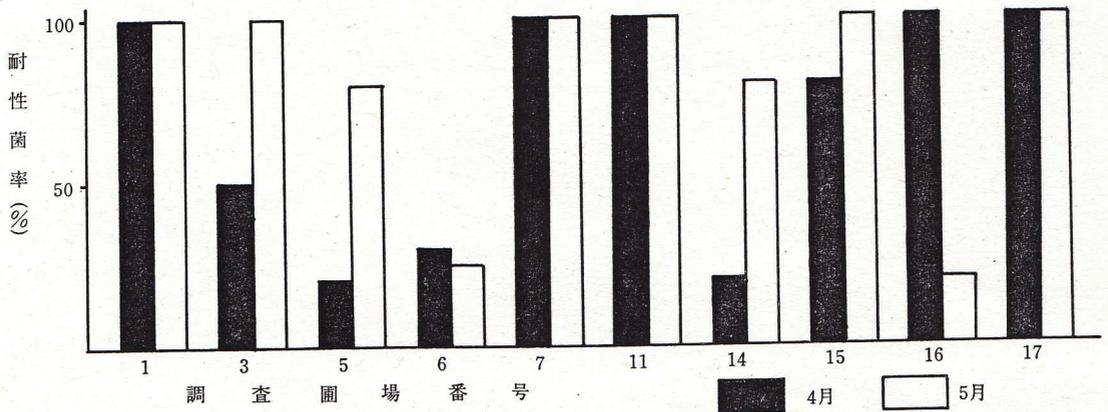
ペノミル剤に耐性を示したものはチオファネートメチル剤にも耐性を示す(正の交差耐性)ことを確認したので、ベンツイミダゾール系剤耐性菌としてまとめた。

(1) トマト

トマト圃場における、1979年から'82年までのベンツイミダゾール系剤耐性灰色かび病菌の検出状況を第1表に示した。'79年に75.7%の耐性菌が検出され、耐性菌だけの圃場が約6割であった。感性菌だけの圃場は57個所中わずかに4個所であり、耐性菌は県内各地に広く分布していることが明らかになった。'80年と'81年は耐性菌検出率がやや低下する傾向を示したが、'82年には再び高まる傾向が認められた。いずれの年次においても感性菌だけの圃場が1割前後あった。地区別に見ると、県中部は県東部に比べて耐性菌検出率がやや高かった。つぎに、同一圃場('79年の東部地区)における4月と5月の耐性菌検出率の推移を第1図に示した。10個所中4個所は両時期共にすべて耐性菌であった。他の4個所では耐性菌検出率が高まったが、残る2個所では変らないか低下する傾向を示した。

(2) キュウリ

キュウリ圃場における'79年から'81年までの本剤耐性菌検出率を第2表に示した。'79年はすべて耐性菌であったが、'80年と'81年には検出率がやや低下した。また、耐性菌だけの圃場が約3/4であり、トマト圃場に比べて高い傾向であった。なお、感性菌だけの圃場が1個所認められた。



第1図 同一圃場におけるベンツイミダゾール系剤耐性灰色かび病菌の時期別推移 ('79年)

第2表 キュウリ圃場におけるベンツイミダゾール系剤耐性灰色かび病菌の検出

年次	検定菌数	耐性菌数	同左割合	検定圃場数	耐性菌検出率別圃場数(割合)			
					0%	20~40%	50~80%	100%
'79	35株	35株	100%	8箇所	0	0	0	8 (100)
'80	32	27	84.4	9	1 (11.1)	0	2 (22.2)	6 (66.7)
'81	59	50	84.7	12	0	1 (8.3)	3 (25.0)	8 (66.7)
合計	126	112	88.9	29	1 (3.4)	1 (3.4)	5 (17.2)	22 (75.9)

(3) キャベツ

'81年に調べた72葉のうち、6葉(8.3%)が本剤耐性菌であった。耐性菌の検出された圃場は15箇所中6箇所であり、その検出率も20~25%と低かった。'82年には5圃場22葉について調べたところ、1圃場(3%葉)から本剤耐性菌が検出された。両年次共に、キャベツ圃場からの耐性菌検出率は、キュウリやトマトの圃場に比べて低かった。

2. ベンツイミダゾール系剤の散布回数と同剤耐性菌発生との関係

トマト圃場における試料採取時までのベノミル剤(農薬名ベンレート)と、チオファネートメチル剤(農薬名トップジンM)の合計使用回数と耐性菌発生との関係を第3表に示した。散布しない圃場からも46.2%の耐性菌が検出された。1回散布した圃場では60%に高まり、3回以上ではほとんどが耐性菌であった。つぎに、使用回数と耐性菌検出率の年次推移を第4表に示した。各年次ともに類似した傾向が認められ、散布しない圃場では感性菌だけの圃場がある反面、耐性菌だけの圃場も存在した。1~2回使用した圃場では耐性菌だけの圃場が増加し、3回以上ではほとんどが耐性菌だけの圃場であった。

第3表 トマト圃場におけるベンツイミダゾール系剤の散布回数と同剤耐性菌検出率との関係

散布回数	検定圃場	検定菌数	耐性菌数	耐性菌率
0回	33箇所	156株	72株	46.2%
1	20	90	54	60.0
2	15	70	46	65.7
3	11	51	50	98.0
4	4	19	19	100
5	7	31	26	83.9
6	6	35	34	97.1
7	4	20	20	100
8<	5	25	25	100

3. ジカルボキシイミド系剤耐性菌

イプロジオン剤(農薬名ロブラール)に耐性を示すものは、プロシモン剤(農薬名スミレックス)ならびにビンクロゾリン剤(農薬名ロニラン)に耐性を示す(正の交差耐性)ことを確認し、その詳細については別に報告(11)したので、ここではジカルボキシイミド系剤耐性菌としてまとめた。

第4表 トマト圃場におけるベンツイミダゾール系剤の散布回数と同剤耐性菌検出率の年次推移

年次	耐性菌 検出率	ベンツイミダゾール系剤の散布回数								合 計	
		0 回		1~2回		3~5回		6 回以上		圃 場	
	0%	2個所	28.6%	1個所	6.7%	1個所	7.1%	0個所		4個所	8.9%
	10-40	3	42.8	4	26.7	1	7.1	0		8	17.8
'79	50-90	0		4	26.7	1	7.1	0		5	11.1
	100	2	28.6	6	40.0	11	78.6	9		28	62.2
	小 計	7		15		14		9	100	45	
	0	2	14.3	1	8.3	0		0		3	8.8
	10-40	4	28.6	2	16.7	0		0		6	17.6
'80	50-90	3	21.4	3	25.0	0		0		6	17.6
	100	5	35.7	6	50.0	4	100	4	100	19	55.9
	小 計	14		12		4		4		34	
	0	2	16.7	1	12.5	0		0		3	11.5
	10-40	6	50.0	1	12.5	0		0		7	26.9
'81	50-90	3	25.0	2	25.0	0		1	50.0	6	23.1
	100	1	8.3	4	50.0	4	100	1	50.0	10	38.5
	小 計	12		8		4		2		26	

第5表 トマト圃場におけるジカルボキシイミド系剤耐性灰色かび病菌の発生と同系剤散布回数との関係 ('82年)

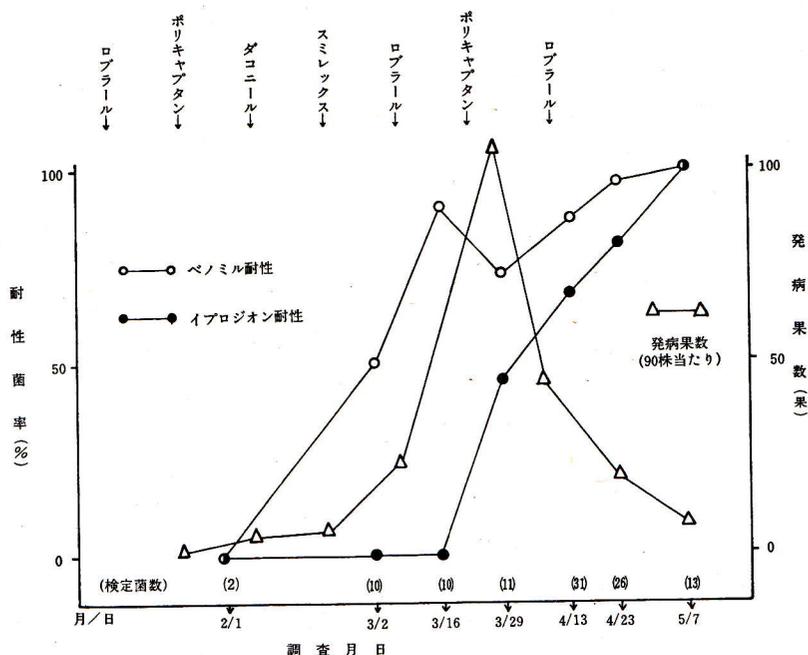
圃場別耐性 菌 検出率	検 定 圃場数	同 左 割 合	散 布 回 数 別 圃 場 数											
			0 回	1	2	3	4	5	6	7	8	9	(不明)	
0%	5個所	18.5%	1	1	2	1	0	0	0	0	0	0	0	(0)
40-50	2	7.4	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	(0)
75-80	2	7.4	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	(0)
100	18	66.7	0	0	4	1	2	2	2	2	0	1	1	(5)

'79年には検定しなかったが、'80年の検定ではトマト病果150果のうち1果から分離した菌株が耐性を示し、キュウリ32果からは耐性菌が検出されなかった。'81年には、トマト151果中4果(3/30個所)から、キュウリ59果中15果(3/12個所)から耐性菌が検出された。'82年にはトマト145果中106果(73.1%)から、耐性菌が検出された。試料採取時までのジカルボキシイミド系剤の合計使用回数と、耐性菌検出率との関係を第5表に示した。耐性菌の検出されない圃場は使用回数が3回以内であった。5回以上使用した圃場6個所は、すべて耐性菌が検出された。2~3回の場合は圃場によって大幅な差が見られた。つぎに、トマト圃場における薬剤散布と発病果数、および両系剤耐性菌の発生状況を調べた(第2図)。発病は3月に入って増加し、4月に入って減少している。

ベンツイミダゾール系剤は散布しなかったが、同系剤耐性菌は3月に入ると発生し始め(50%)、その後増加しながら最終的には100%耐性菌となった。ジカルボキシイミド系剤耐性菌は発病が多く見られた3月下旬から発生し、ベンツイミダゾール系剤耐性に遅れて増加した。なお、ジカルボキシイミド系剤3回散布後に同剤耐性菌が発生し、4回散布後に100%耐性化した。これらの実験を通して検出されたジカルボキシイミド系剤耐性菌は、すべてベンツイミダゾール系剤にも耐性を示した。

IV 考 察

灰色かび病に高い防除効果を示したベンツイミダゾール(B)系剤(ペノミルとチオファネートメチル剤)に



第 2 図 トマト圃場における薬剤散布と発病果数および耐性菌率の推移例

対する耐性菌の発生は、71年にオランダで(1)初めて認められた。その後、国外はもとより、国内においても各県でB系薬剤耐性菌の発生が報告されている(5,8,9,13,18)。B系薬剤耐性菌の発生する詳細な機構は現在もお不明であるが、B系薬剤の散布回数が多くなるにつれて耐性化するものと考えられている。そこで、神奈川県野菜について、耐性菌の発生実態を薬剤の散布回数と関連づけて調査した。トマトとキュウリは、灰色かび病の発生が多く、薬剤の散布回数が多い施設栽培を対象としたところ、B系薬剤耐性菌はトマトで72.9%、キュウリで88.9%と高率に発生している事が明らかになった。一方、散布回数が少ない露地栽培のキャベツではB系薬剤耐性菌の発生は少なかったが、'82年の調査において耐性菌の検出された圃場だけがB系薬剤を2回散布していたことからして、薬剤による淘汰圧が耐性菌を増加させているものと考えられる。トマト圃場におけるB系薬剤の散布回数と、B系薬剤耐性菌の検出率との関係を調べたところ、3回以上散布している圃場において、耐性菌率が急激に高まる傾向が認められた。B系薬剤を散布しない圃場は'79年の7/45 (16%) から'81年の12/26 (46%) へと多くなっているが、B系薬剤耐性菌の検出率は0から100%まで大差が認められている。この原因としては、前作物や近接作物におけるB系薬剤の耐性菌率が関係しているものと考え

られる。前作物からの影響については、土壌消毒により伝染環を遮断すると、耐性菌率の低下する可能性のあることが報告されている(3)。

B系薬剤耐性菌に対してもジカルボキシイミド(D)系薬剤(イプロジオン、プロシミドンとピンクロズリン剤)が高い防除効果を示すことは、前報において報告(10)した通りである。しかも、圃場においてはD系薬剤の耐性菌は発生し難いと考えられていた(2,3,16)。しかしながら、'79年12月からイプロジオン剤が使用され始め、D系薬剤に対する耐性菌発生が懸念されたので、'80年から調査を実施した。'80年にはD系薬剤耐性菌は182菌株中わずか1菌株であった。'81年3月にはプロシミドン剤とピンクロズリン剤も使用され始め、D系薬剤の使用回数は増加する傾向を示した。その結果、'81年には210菌株中19菌株のD系薬剤耐性菌が検出された。このD系薬剤耐性菌は培地上での耐性程度はあまり高くないが、圃場で薬効の低下を起すことが明らかにされた(11,14)。さらに、'82年には145菌株中106菌株(73.1%)がD系薬剤耐性菌であり、その発生は急激に増加した。その原因のひとつは、B系薬剤に替ってD系薬剤の使用回数が増加し、同一圃場における累積使用回数も急激に多くなったことによる淘汰圧の増加によるものと考えられる。もうひとつは、従来B系薬剤耐性菌とD系薬剤耐性菌は交差耐性を示さないと考えられてい

たが(16)、本調査や国外の例(6,7)でも明らかとなり、圃場で発生したD系剤耐性菌のほとんどがB系剤にも耐性を示すことから、複合耐性化あるいは多剤耐性化しているものと考えられる。本調査において、D系剤耐性菌が100%発生していた圃場は、D系剤を2回以上使用しており、とくに5回以上使用している圃場では、すべてD系剤耐性菌となっていた。反面、D系剤耐性菌の発生していない圃場は、すべて3回以下の使用であった。同一回数(2回とか3回)で耐性菌率が大幅に異なる原因については、他の殺菌剤を含めた薬剤の散布体系や灰色かび病菌の中での、薬剤感受性についての系統差という面からも詳細に検討する必要がある。この関係を検討する手始めとして、B系剤を使用しない圃場での耐性菌の発生推移について調べたところ、D系剤耐性菌に先立ってB系剤耐性菌の発生が見られ、D系剤4回散布によりすべて複合耐性菌となった。このことは、トマト圃場でB系剤の使用が減少するにつれて、B系剤耐性菌も'81年まで減少の傾向にあったのに、'82年に再び増加する傾向にある事と関連するものと考えられる。

以上のように、B系剤とD系剤に耐性を示す複合耐性菌あるいは多剤耐性菌の出現によって、再び灰色かび病の防除対策は困難を極めることになった。今後は、これら耐性菌の薬剤感受性を中心とした諸性状を検討して、効果の高い薬剤や負の交差耐性を示す薬剤の探索を進める一方、圃場衛生や多湿条件の回避など耕種的な面からも発病を少なくする努力をすることが重要になろう。さらに、現場における薬剤散布体系と耐性菌発生率の相違についても解析を進める必要がある。

V 摘 要

1979~'82年に、神奈川県における施設栽培のトマトとキュウリおよび露地栽培のキャベツについて灰色かび病を対象とし、ベンツイミダゾール系剤とジカルボキシイミド系剤耐性菌の発生について調べた。

(1) ベンツイミダゾール系剤耐性菌は、トマトとキュウリでは72.7~88.9%と高率に発生していたが、キャベツでは9.6%と発生が少なかった。

(2) ベンツイミダゾール系剤の散布回数が3回以上の圃場では、同系剤の耐性菌率は高かったが、散布回数の少ない場合は圃場によって耐性菌率に大差が見られた。

(3) トマトにおけるジカルボキシイミド系剤耐性菌の発生は、'80年にはほとんど見られなかったが、'82年には高率に認められた。なお、同系剤散布回数が多い程耐性

菌率は高い傾向を示した。

(4) ベンツイミダゾール系剤を散布しなくても、ジカルボキシイミド系剤を散布することにより、両系剤の耐性菌が発生した。

(5) トマトとキュウリに発生したジカルボキシイミド系剤耐性菌は、そのいずれもがベンツイミダゾール系剤に対しても耐性を示した。

引用ならびに参考文献

1. BOLLEN, G. C., and G. SCHOLTEN (1971). Acquired resistance to benomyl and some other systemic fungicides in a strain of *Botrytis cinerea* in cyclamen. *Neth. J. Pl. Path.*, 77: 83~90.
2. HISADA, Y., H. TAKAI, Y. KAWASE, and T. OZAKI (1979). Difference in the Potential of *Botrytis cinerea* to Develop Resistance to Procymidone in vitro and in Field, *日植病報*, 45: 283~290.
3. 廣田耕作・加藤喜重郎 (1977). ベノミル剤に対する*Botrytis cinerea*菌の耐性獲得とそのそう失について, *愛知農総試研報*, B9: 48~53.
4. 飯田 格 (1975). 我が国における薬剤耐性植物病原菌の発生の実態, *植物防疫*, 29: 163~166.
5. 加藤喜重郎・廣田耕作 (1979). 促成栽培ナス主産地における灰色かび病のベンツイミダゾール系薬剤に対する耐性菌の発生と分布について, *愛知農総試研報*, 11: 110~117.
6. LEROUX, P. et M. GRETT (1982). Phénomènes de résistance de *Botrytis cinerea* aux fongicides, *La Défense des Vegetaux*, 213: 3~17.
7. MARAITE, H., G. GILLES, S. MEUNIER, J. WEYNS and E. BAL (1980). Resistance of *Botrytis cinerea* PERS. ex PERS. to dicarboximide fungicides in strawberry fields, *Parasitica* 36: 90~101.
8. 牧野秋雄・鈴井孝仁 (1980). 静岡県におけるポリオキシシン、ベノミルおよびチオファネートメチル剤耐性灰色かび病菌の発生, *静岡農試研報*, 25: 19~25.
9. 松尾綾男・合田 薫・入江和己・塩飽邦子・山田憲一 (1978). 兵庫県におけるチオファネートメチル剤耐性*Botrytis*属菌の発生, *兵庫農総セ研報*, 27: 39~42.
10. 村越重雄 (1981). トマト灰色かび病のベンツイミダゾール系剤耐性菌に対する各種殺菌剤の防除効果, *神奈川園試研報*, 28: 50~58.

11. 村越重雄・細矢俊一郎 (1982). トマト圃場におけるイプロジオン耐性灰色かび病菌の出現, 日植病報, 48: 547~550.
12. 野中福次・田中欽二 (1978). 灰色かび病菌の thiophanate-methyl 剤耐性について, 佐賀大農報, 44: 79~85.
13. 竹内妙子・長井雄治 (1979). 野菜灰色かび病菌の薬剤耐性菌に関する研究, 第1報, 千葉県における発生と薬剤の効果, 千葉農試研報, 20: 71~78.
14. 竹内妙子・長井雄治 (1982). 施設栽培のトマトおよびキュウリにおけるジカルボキシイミド系殺菌剤に対する耐性灰色かび病菌の発生, 日植病報, 48: 210~216.
15. 手塚信夫・木曾 皓 (1975). 福岡県における Botrytis 属菌のチオファネートメチル耐性菌株の出現, 九州病虫研会報, 21: 76~77.
16. 手塚信夫・西 泰道・渡辺康正 (1980). 灰色かび病菌プロサイミドン耐性変異株の in vitro 淘汰, 日植病報, 46: 26~33.
17. 山本 盤 (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.
18. 山本 盤・斉藤 正 (1977). 野菜類におけるベノミル耐性灰色かび病菌の発生とその対策, 高知農林研報, 9: 37~46.

Summary

Since 1979 to 1982 occurrence of strains of *Botrytis cinerea* resistance to both of benzimidazole (benomyl and thiophanate-methyl) and dicarboximide (iprodione, procymidone and vinclozolin) fungicides was investigated on tomatoes and cucumbers in greenhouses, and on cabbages in the fields of kanagawa prefecture.

(1) On tomatoes and cucumbers, resistant strains to benzimidazoles were isolated at the high-rate of 72.7 and 88.9%, but on cabbages was the low-rate of 9.6%.

(2) Resistant strains were isolated at high-rate in the greenhouses spraying the benzimidazoles more than 3 times, but in the greenhouses of non or few spraying were uncertainly isolated from low to

high-rate.

(3) The resistant strains to the dicarboximides were detected only 1 by 150 samples on tomatoes in 1980, but the resistant strains were detected 106 by 145 samples collected in 1982. The resistant strains in greenhouses sprayed more than 5 times of dicarboximides were isolated from all samples.

(4) By application of the dicarboximides on tomatoes in greenhouses, even did not apply the benzimidazoles were isolated resistant strains to both fungicides.

(5) All dicarboximide resistant strains isolated from tomatoes and cucumbers also resisted to the benzimidazoles.