

ベノミル剤耐性モモ灰星病菌の ジエトフェンカルブ剤に対する感受性

井上幸次・粕山新二

Sensitivity to Diethofencarb of Benomyl
Resistant Strains of Brown Rot fungus (*Monilinia
fructicola*) of Peach in Okayama Prefecture

Kouji INOUE and Shinji KASUYAMA

緒 言

近年、ベンズイミダゾール系薬剤（ベノミル、チオファネートメチル剤）耐性菌に対して特異的に有効なジエトフェンカルブ剤が開発され²⁾、野菜および果樹の灰色かび病、カンキツそうか病、ウメ黒星病などの防除薬剤として実用化されている。岡山県内のモモ産地では、1987年にベノミル剤耐性のモモ灰星病菌 (*Monilinia fructicola*) が確認され、その後耐性菌は県内各地のモモ産地に広がっている³⁾。現在のところ、ジエトフェンカルブ剤はモモの病害に登録はないが、登録拡大の可能性もあり、そのユニークな作用特性から本県に分布する薬剤耐性モモ灰星病菌対策として有望と考えられる。

そこで、本県のモモ灰星病菌のジエトフェンカルブ剤に対する感受性を調査し、ジエトフェンカルブ剤ならびにジエトフェンカルブ・チオファネートメチル剤の圃場での防除効果を検討したので報告する。

材料および方法

1. 寒天平板希釈法によるモモ灰星病菌の薬剤感受性の検定

1988~'89年に県内主要産地のモモ羅病花、羅病果実から採集した灰星病菌のうち、単孢子分離した40菌株を供試した。供試菌をショ糖加用ジャガイモ煎汁 (PSA) 培地に移植し、23~25℃の暗黒下で10日間培養した。各菌株の4mm角の菌叢片を、所定濃度 (1,600ppmの2倍希釈法による12段階) のベノミル水和剤 (50%) またはジエトフェンカルブ水和剤 (25%) を添加したPSA平板培地に移植し、23~25℃で3

日間培養後に各菌株の菌糸の生育の有無を調査して、MIC (最小生育阻止濃度) を求めた。

2. リンゴ果実法による薬剤感受性の検定

前項1. で供試した菌株のうち、30菌株を直径9cmのシャーレ内のPSA平板培地に移植し、23~25℃で10日間培養して検定に供した。市販のリンゴ 'ふじ' を水洗して皮付きのまま、縦約3cm×横約2cm×高さ約4cmのブロックに切断し、ベノミル水和剤2,000倍液、ジエトフェンカルブ水和剤、ジエトフェンカルブ・チオファネートメチル水和剤 (12.5%, 52.5%) の各1,000倍液および水 (それぞれTween20 5,000倍を加用) に5分間浸漬後、水切りしてシャーレの培養菌叢上に置床した (各薬剤を処理したブロックを1菌株当たり3個供試)。その後、密閉状態のプラスチック箱内に置き、室温 (20~25℃) 下で、8日後に菌の伸長による果実の褐変腐敗程度を調べた。果実の褐変腐敗程度は、- : 褐変腐敗の認められないもの、± : 褐変腐敗が対照区 (水処理区) の10%以下、+ : 褐変腐敗が対照区の11~40%、++ : 褐変腐敗が対照区の41~70%、+++ : 褐変腐敗が対照区の71%以上の5段階に分けて調査した。

3. 圃場における薬剤の効果試験

1989年に単孢子分離したベノミル剤感菌 (2菌株)、中等度耐性菌 (5菌株)、高度耐性菌 (3菌株) を供試して、薬剤の防除効果を圃場で検討した。

(1) 花腐れに対する効果

1990年4月9日に当該内で開花したモモ '白鳳' にベノミル水和剤2,000倍液、ジエトフェンカルブ水和

* 本報告の一部は1990年日本植物病理学会関西支部会 (日植病報, 57: 107) において発表した。

剤、ジエトフェンカルブ・チオファネートメチル水和剤の各1,000倍液（それぞれに展着剤5,000倍加用）を散布して自然乾燥させた後、各薬剤ごとに上記10菌株の分生子懸濁液（約100個/100倍1視野、Tween20 5,000倍加用）をそれぞれ噴霧接種した。接種後、直ちに枝ごとに紙袋を掛け、4月27日に花腐れの発病を調査した。供試樹数は1薬剤当たり1樹とし、1菌株当たりそれぞれ4枝供試した。

(2) 果実腐敗に対する効果

1990年7月18日、当場内圃場で有袋栽培のモモ‘白鳳’果実に袋の底部を開いてジエトフェンカルブ水和剤、ジエトフェンカルブ・チオファネートメチル水和剤の各1,000倍液（それぞれに展着剤5,000倍加用）をそれぞれ散布した。翌日、ベノミル剤感性菌（No.89001）、中等度耐性菌（No.89163, 89399, 89418）、高度耐性菌（No.89074, 89107）の計6菌株の分生子懸濁液〔前項（1）と同じ〕を袋の底部から噴霧接種して袋を閉じた。7月25日に発病の有無を調査するとともに、未発病の果実は収穫7日後まで室温（29~33℃）で保存して発病の有無を調査した。供試果数は1薬剤、1菌株当たり9~10個とした。

結 果

1. ベノミル剤、ジエトフェンカルブ剤に対するMIC
寒天平板希釈法による各菌株のベノミル剤、ジエト

フェンカルブ剤に対するMICをみると、ベノミル感性菌（MIC 0.78ppm ≧）の10菌株はジエトフェンカルブ剤に対して1,600ppm<であった。一方、ベノミル剤高度耐性菌（MIC 800ppm ≦）の12菌株はジエトフェンカルブ剤に対して0.78ppm ≧であった。また、ベノミル剤中等度耐性菌（MIC 3.12~50ppm）の18菌株のうち、ジエトフェンカルブ剤に対するMICが1,600ppm<の菌株は6菌株、25~50ppmの菌株は12菌株あった（第1表）。

2. リンゴ果実法による薬剤感受性の検定

リンゴ果実法による薬剤感受性の検定結果を第2表に示した。ベノミル剤感性菌株（計7菌株）では、いずれの菌株ともベノミル水和剤区、ジエトフェンカルブ・チオファネートメチル水和剤区ともに、リンゴ果実片の褐変腐敗が全く認められなかったが、ジエトフェンカルブ水和剤区で褐変腐敗程度が著しかった。一方、ベノミル剤高度耐性菌株（計8菌株）では、ジエトフェンカルブ水和剤区、ジエトフェンカルブ・チオファネートメチル水和剤区ともに、褐変腐敗が全く認められなかったが、ベノミル水和剤区で褐変腐敗程度が著しかった。ベノミル剤中等度耐性菌株（計15菌株）では、全菌株とも3薬剤のいずれの区でも顕著な褐変腐敗が認められた。

第1表 灰星病菌のベノミル剤とジエトフェンカルブ剤に対する感受性の関係

	ベノミル剤に対するMIC (ppm)								計	
	≦0.78	3.12	12.5	50	200	800	1,600<			
	1.56	6.25	25	100	400	1,600				
ジ	≦0.78					1 ^{a)}	10	1	12	
エ	1.56									
ト	3.12									
フ	6.25									
エ	12.5									
ン	25			5	5				10	
対	50				2				2	
カ	100									
ス	200									
ル	400									
る	800									
ブ	1,600									
M										
剤										
I										
に										
C										
(ppm)										
	1,600<	10	4	2					16	
計		10	4	7	7		1	10	1	40

a) 数字は菌株数を示す。

第2表 リンゴ果実法による薬剤感受性の検定

ペノミル剤 感受性菌株	MIC (ppm)		リンゴ果実法		
	B ^{a)}	DE	B	DE	DE・TM
感 性 菌	89001	≤0.78 1,600<	- ^{b)}	##	-
	89001b	≤0.78 1,600<	-	##	-
	89046	≤0.78 1,600<	-	##	-
中 等 度 耐 性 菌	89046b	≤0.78 1,600<	-	##	-
	89191	≤0.78 1,600<	-	##	-
	89191b	≤0.78 1,600<	-	##	-
高 度 耐 性 菌	89205	≤0.78 1,600<	-	##	-
	89163	3.12 1,600<	##	##	##
	89163b	3.12 1,600<	##	##	##
	89129	25 25	##	##	##
	89198	25 25	##	##	##
	89198b	25 25	##	##	##
	89344	25 1,600<	##	##	##
	89344b	25 1,600<	##	##	##
	89399	25 25	##	##	##
	89399b	25 25	##	##	##
	89161	50 25	##	##	##
89161b	50 25	##	##	##	
89129b	50 25	##	##	##	
89418	50 50	##	##	##	
89418b	50 25	##	##	##	
89399c	50 25	##	##	##	
89074	1,600 ≤0.78	##	-	-	
89074b	1,600 ≤0.78	##	-	-	
89077	1,600 ≤0.78	##	-	-	
89107	1,600 ≤0.78	##	-	-	
89109	1,600 ≤0.78	##	-	-	
89109b	1,600 ≤0.78	##	-	-	
89109c	1,600 ≤0.78	##	-	-	
89181	1,600 ≤0.78	##	-	-	

a) B：ペノミル剤，DE：ジエトフェンカルブ剤，
DE・TM：ジエトフェンカルブ・チオファネートメチル剤

b) リンゴ果実法は，-，±，+，#，##の5段階
で褐変腐敗の程度を示した。

3. 圃場における薬剤の効果判定

花腐れに対する薬剤の効果を第1図に示した。寒天平板希釈法，リンゴ果実法でペノミル剤感受性菌と判定された2菌株（No.89001，89046）では，ペノミル水和剤やジエトフェンカルブ・チオファネートメチル水和剤の効果は高かったが，ジエトフェンカルブ水和剤の効果は著しく劣った。一方，ペノミル剤に対して高度耐性を示した3菌株（No.89074，89107，89109）で

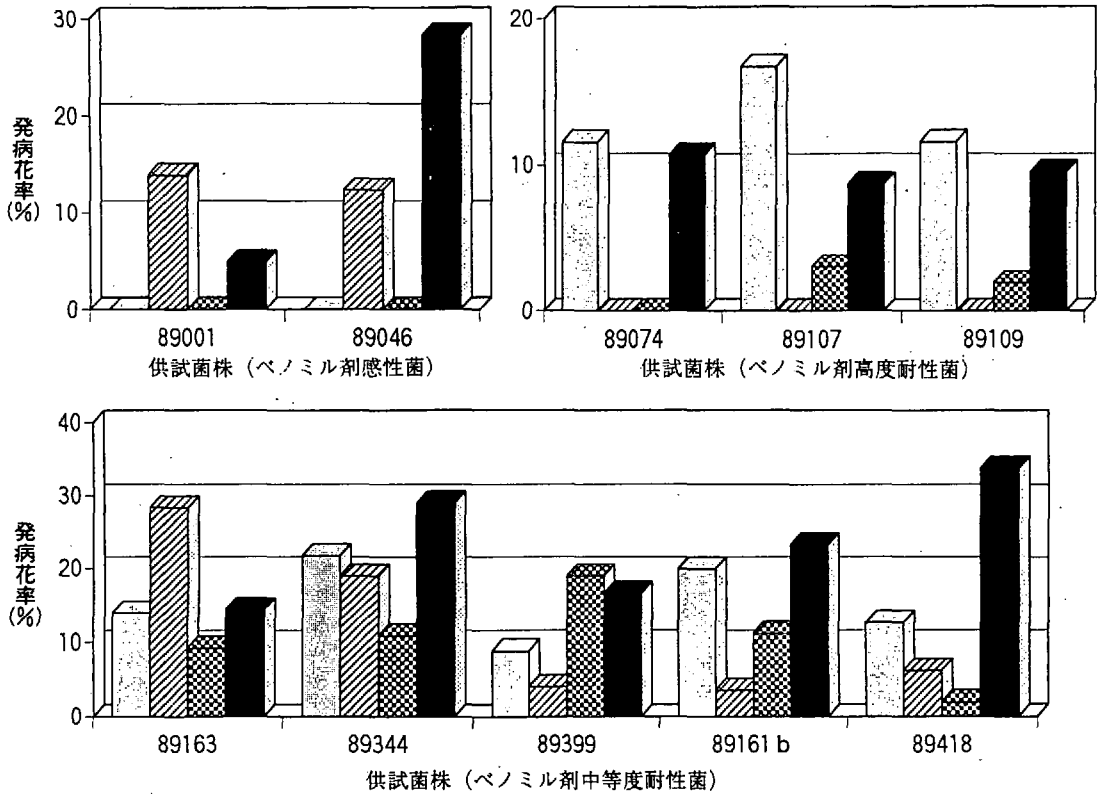
は，ペノミル水和剤の効果は全く認められなかったが，ジエトフェンカルブ水和剤やジエトフェンカルブ・チオファネートメチル水和剤はいずれの菌株でも高い効果がみられた。ペノミル剤中等度耐性菌株（No.89163，89344，89399，89161b，89418）では，いずれの菌株でもペノミル水和剤の効果が低く，さらにジエトフェンカルブ水和剤やジエトフェンカルブ・チオファネートメチル水和剤の効果も不安定であった。

果実腐敗に対する効果を第3表に示した。ジエトフェンカルブ水和剤は，ペノミル剤高度耐性菌株（No.89074，89107）には収穫7日後においても極めて高い効果がみられたが，ペノミル剤感受性菌株（No.89001）や中等度耐性菌株（No.89163，89399，89418）には効果が劣った。また，ジエトフェンカルブ・チオファネートメチル水和剤はペノミル剤感受性菌株，高度耐性菌株には効果が高かったが，中等度耐性菌株には著しく効果が劣った。

考 察

ペノミル剤耐性の灰色かび病菌は，N-フェニルカーバメート系化合物の1種であるジエトフェンカルブ剤に対して負の相関交差耐性を示すことが知られている²⁾。すなわち，ジエトフェンカルブ剤はペノミル剤感受性菌にはほとんど抗菌活性がないが，耐性菌に対しては特異的に高い活性を示す。こうした特性から本剤はチオファネートメチル剤あるいはプロシミドン剤との混合剤として市販されており，キュウリ，トマトの灰色かび病⁷⁾，キュウリ褐斑病¹⁾などに有効であることが実証されている。

本試験において，寒天平板希釈法によるMICからモモ灰星病菌のペノミル剤感受性菌や高度耐性菌はジエトフェンカルブ剤に対して負相関交差耐性を示すが，ペノミル剤中等度耐性菌はジエトフェンカルブ剤に対しても感受性が低いことが明らかとなった。このようなペノミル剤中等度耐性菌の性質は，石井ら⁵⁾，NAKATA, *et al.*⁶⁾の報告と符合している。この結果はリンゴ果実を用いた生物検定法や圃場における防除試験でも確かめられた。したがって，ジエトフェンカルブ剤の適用に当たっては，あらかじめ灰星病菌のペノミル剤に対する耐性の程度を把握しておく必要がある。岡山県のモモ灰星病菌では，ペノミル剤感受性菌（MIC ≤1.56ppm），中等度耐性菌（1.56ppm < MIC ≤100ppm），高度耐性菌（MIC >100ppm）の分離頻度はそれぞれ，67.6%，15.8%，16.7%（1988~'90年の平均値）で，ペノミル剤中等度耐性菌が耐性菌の約半



第1図 灰星病(花腐れ)に対する薬剤の効果(1989)

□ ペノミル ⊞ ジェトフェンカルブ・チオファネートメチル
 ▨ ジェトフェンカルブ ■ 無散布

第3表 灰星病(果実腐敗)に対する薬剤の効果(1990)

供試菌株	薬剤感受性 ^{a)}		ジェトフェンカルブ水和剤 無処理区に対する防除価				ジェトフェンカルブ・チオファネートメチル水和剤 無処理区に対する防除価			
	ペノミル	ジェトフェンカルブ	収穫時	2日後	5日後	7日後	収穫時	2日後	5日後	7日後
	89001	S	HR	67	33	0	0	100	67	80
89163	MR	HR	0	0	0	0	100	6	6	6
89399	MR	MR	0	33	0	0	100	63	33	33
89418	MR	MR	- ^{b)}	0	50	50	- ^{b)}	0	0	0
89074	HR	S	-	100	100	100	-	100	100	100
89107	HR	S	-	100	100	100	-	100	100	100

a) MIC法による検定結果, S:感性, MR:中等度耐性, HR:高度耐性

b) -は無処理区で発病がなかったことを示す。

数を占めており⁴⁾, 圃場によっては高度耐性菌よりも中等度耐性菌の比率が高い場合があったので, ペノミル剤耐性菌対策として, ジェトフェンカルブ剤の適用場面はかなり限られているものと考えられる。

また, 富川ら⁵⁾は, ナシ黒星病の高度耐性菌が優占する圃場でジェトフェンカルブ剤やジェトフェンカルブとペノミルの混合剤を4回散布すると, 高度耐性菌の

比率は低下したが, 弱耐性菌や中等度耐性菌の比率が高まったとしている。さらに, ウリ類つる枯病菌⁶⁾, カンキツ緑かび病菌⁶⁾, ナシ黒星病菌⁶⁾などのベンズイミダゾール系剤高度耐性菌の中には, ジェトフェンカルブ剤と類似の抗菌活性をもつ化合物であるDCPFなどにも耐性の菌株が存在すると報告されている。これらのことから考えると, モモ灰星病菌の高度耐性菌の

優占圃場でもジエトフェンカルブ剤やジエトフェンカルブ・チオファネートメチル剤を連用すると防除効果が低下してくることが懸念される。

本試験で用いたリンゴ果実法³⁾は、野菜類の灰色かび病菌、菌核病菌などに対する薬剤効果の簡易な生物検定法として開発されたキュウリ果実法⁸⁾を応用したものである。本研究で明らかのように、このリンゴ果実法による灰星病菌のベノミル剤、ジエトフェンカルブ剤およびジエトフェンカルブ・チオファネートメチル剤に対する感受性の検定結果は、圃場での薬剤の効果とよく符合しており、今後灰星病菌の簡易な薬剤耐性検定法、および有効薬剤のスクリーニング法として活用できると考えられる。

摘 要

岡山県内のベノミル剤耐性モモ灰星病菌のジエトフェンカルブ剤に対する感受性を室内試験、圃場試験で調べた。

1. ベノミル剤感性菌、高度耐性菌はジエトフェンカルブ剤に対して負相関交差耐性を示したが、ベノミル剤中等度耐性菌は、ジエトフェンカルブ剤にも感受性が低かった。

2. 圃場試験でジエトフェンカルブ剤は、ベノミル剤高度耐性菌には効果が高かったが、ベノミル剤感性菌、中等度耐性菌には効果が劣った。また、ジエトフェンカルブ・チオファネートメチル剤は、ベノミル剤感性菌、高度耐性菌には効果が高かったが、中等度耐性菌には効果が劣った。

3. 'リンゴ果実法'はモモ灰星病菌の簡易な薬剤耐性検定法として有効であった。

引 用 文 献

1) 挟間 渉・森田鈴美・加藤徳弘 (1991) ベンズイミダゾール系薬剤とジエトフェンカルブとの負相

関交差耐性を利用したキュウリ褐斑病の防除. 日植病報, 57: 319-325.

2) 久田芳夫・藤村 真 (1989) 負相関交差耐性を利用した殺菌剤の開発—ジエトフェンカルブ剤の場合—. 植物防疫, 43: 590-594.

3) 井上幸次・粕山新二 (1990) リンゴ果実片を用いたモモ灰星病菌の薬剤耐性検定 (リンゴ果実法). 日植病報, 56: 135-136. (講要)

4) 井上幸次・粕山新二・畑本 求 (1993) 岡山県におけるベノミル剤耐性モモ灰星病菌の発生分布ならびにその防除薬剤. 岡山農試研報, 11: 21-26.

5) 石井英夫・井上生人・豊島貴子・岩崎成夫・佐藤善司 (1988) ナシ黒星病菌のベンゾイミダゾール系薬剤に対する耐性—各地より分離した耐性菌のM D P C, D C P Fおよびリゾキシシンに対する感受性. 日植病報, 54: 125. (講要)

6) NAKATA, A., SANO, S., HASHIMOTO, S., HAYAKAWA, K., NISHIKAWA, H. and YASUDA, Y. (1987) Negatively Correlated Cross-Resistance to *N*-phenylform-amidoximes in Benzimidazole-Resistant Phytopathogenic Fungi. Ann. Phytopath. Soc. Japan, 53: 659-662.

7) 竹内妙子 (1991) ジエトフェンカルブ剤を組み込んだキュウリおよびトマト灰色かび病の体系防除. 千葉農試研報, 32: 1-7.

8) 手塚信夫・木曾 皓 (1976) キュウリ果実法による多犯性病原菌に対する薬剤効果の検定. 日本農薬学会誌, 1: 321-324.

9) 富川 章・長江春季・山本敏夫 (1988) ナシ黒星病菌 (*Venturia nashicola*) のチオファネートメチル耐性に関する研究 第2報 チオファネートメチル耐性菌に起因するナシ黒星病の防除. 三重農試研報, 16: 33-55.

Summary

Sensitivity to diethofencarb of benomyl-sensitive or resistant strains of *Monilinia fructicola* in Okayama prefecture was investigated.

1. Sensitive or highly resistant strains to benomyl showed negatively correlated cross-resistance to diethofencarb, but moderately resistant strains to benomyl showed less sensitive to it on PSA medium.

2. In field tests, diethofencarb effectively controlled the brown rot of peach caused by highly resistant strains to benomyl as expected, but showed no effect on sensitive or moderately resistant strains. The mixture of diethofencarb and thiophanatemethyl was effective on the disease caused by sensitive or highly resistant strains to benomyl, but didn't control the disease caused by moderately resistant to benomyl.

3. For detection of fungicide resistant strains of peach brown rot fungus, we clarified that "Apple fruit method" was quite useful and practical. The procedure is as follows,
- 1) brown rot fungus was incubated at 25°C for 10 days on PSA medium in 9cm petri dish.
 - 2) apple fruits were cut to blocks (about length 3cm, width 2cm, heighth 4cm) with rind and were soaked in test fungicide solution for 5 minutes.
 - 3) after putting out, the apple fruit brocks were placed on the above fungus in petri dish and incubated for 8 days in a high moisture at 20-25°C. The grade of brown rot by mycelial growth on fungicide-treated apple blocks was compared with that on control (water-treated) ones.