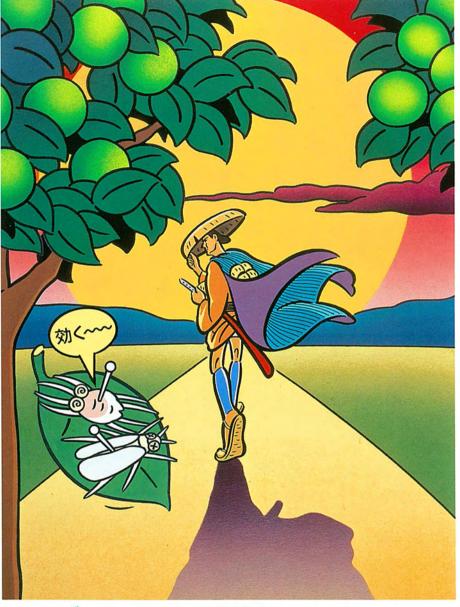
昭和二十四年 九 月 九 日 第 三 種 郵 便 物 認 可平成 六 年 十 月 一 日 発 行 (毎月一回一日発行)平成 六 年 九 月二十五日 印 刷 第四十八卷 第 十号

# 植物防疫





## ➡日産化学



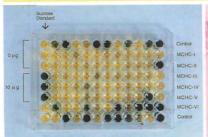
殺ダニ・殺虫剤

# サンマートの水和剤

Rは日産化学工業(株)の登録商標

●サンマイト水和剤……かんきつ、りんご、なし、もも、おうとう、ぶどう、びわ

●サンマイトフロアブル… 茶、すいか、メロン、いちご、あずき、きく、 カーネーション、トマト、ポインセチア



▲マイクロタイタープレート法によるワタアブラムシ摂食阻害活性の測定例、MCHーI~VIは人工飼料にニガウリ画分を添加したもの。





▲ワタアブラムシの吸汁を受けた抵抗性メロン葉切片

右:エリスロシン及び塩基性アニリンブルーで二重染色し、ハロゲンで観察。

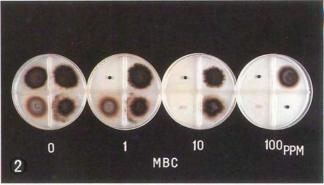
左:同じ試料を蛍光観察したもの。口針鞘周辺の細胞にカロースの蛍光(2か所)がみられる。

#### 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(14)

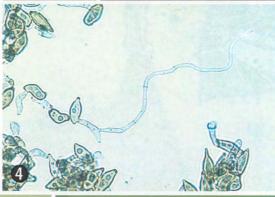
――ナシ黒星病-

石井英夫氏原図 (本文38ページ参照)













- ●ナシ黒星病菌のカルベンダジム耐性の検定
- ②ナシ黒星病菌のカルベンダジム耐性程度の違い (右上から時計方向に順に 強耐性菌、中等度耐性菌、 弱耐性菌、感受性菌)
- ⑤ナシ黒星病菌分生胞子の発芽 (ベンゾイミダゾール感受性菌:カルベンダジム1 ppmで発芽管伸長が抑えられ、隔膜形成が妨げられている)
- ④ナシ黒星病菌分生胞子の発芽 (ベンゾイミダゾール耐性 菌:カルベンダジム1ppm 区でも発芽管が旺盛に伸長 し、隔膜形成も認められる)
- ●ナシ黒星病菌分生胞子の発芽 (薬剤無添加区:発芽管が 旺盛に伸長している)
- ⑤ナシ黒星病菌分生胞子の発芽 (フェナリモル0.5ppm区で は発芽管の膨潤、肥厚化が みられる)

## 連載口絵 花の病害虫 (20) キンギョソウ



▶ウイルス様症状

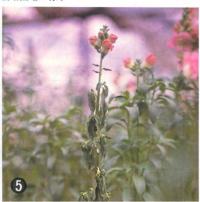
◀キンギョソウ:栽培圃場の様子



▲葉に発生した疫病



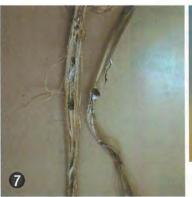
▲葉枯病



▲菌核病:株枯れ症状



▲菌核病:地際部に生じた菌糸



▲菌核病:茎内に生じた菌核



▲菌核病:菌核から生じた子のう盤

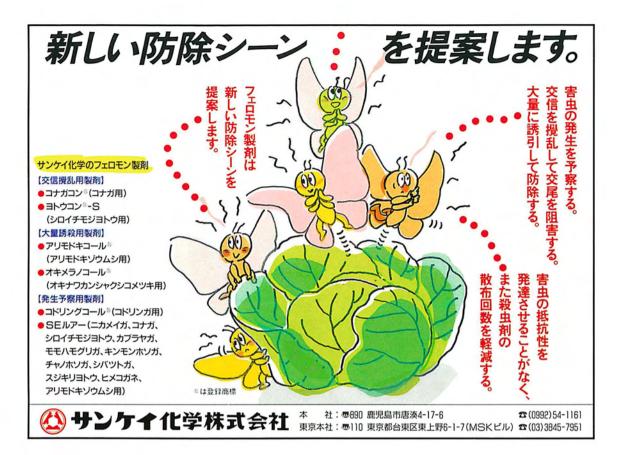
被害葉▶



**▼**アブラムシ



/関連記事37ページに、写真提供 ①:福島 務氏、 ⑨:石井公一氏、それ以外は外側正之氏





## 植物防疫

第 48 巻第 10 号 平成 6 年 10 月号 目 次

Shokubutu bōeki
(Plant Protection)

エムナロ茶フトナムマ半サウのサル	/油十- 1
新台木品種によるナス青枯病の防除岡山	健夫 1
ワタアブラムシの寄主選択阻害因子篠田	徹郎 5
養液栽培における土壌伝染病の生物防除,その戦略と展望	旦 9
寄生蜂によるアザミウマ類の生物的防除の可能性――アザミウマヒメコバチを中心に――村井	保14
最近の PGPR(植物生育促進性根圏細菌)研究の現状と展望 岡本	博19
第8回国際農薬化学会議に出席して――新農薬の開発動向(殺虫剤)―― 壇辻	寛和23
新農薬の開発動向(殺菌剤) 益子	道生25
──新農薬の開発動向(除草剤)── 清水 力・山口	1幹夫29
——Residues—— ····· 小田中	□芳次33
Fate and Behavior(運命および動態)の紹介を中心に 佐藤	清34
(リレー随筆) 植物検疫の現場から(4)――ミバエ類の根絶と駆除確認調査―― 古波澤	
(口絵解説) ――花の病害虫――(20)キンギョソウ 外側	正之37
植物防疫基礎講座	
植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(14)/ナシ黒星病菌石井	英夫38
新しく登録された農薬 (6.8.1~8.31)	4,44
協会だより	8
主な次号予告 13	

## 自然の恵みをより豊かにするために。

「確かさ」を追求…バイエルの農薬



新しい時代のニーズに合った 夢の新殺虫剤





日本バイエルアグロケム株式会社

東京都港区高輪4-10-8

**₹108** 



●ガス抜き不要の殺センチュウ剤

## ボルテージを削り

●ヨトウムシ・ハスモンヨトウ・ネダニの防除に

## ボルテージ。水和剤

●茶の害虫防除に

## ボルテージ。乳剤

●キャベツ・はくさいのコナガ・アオムシ防除に

## 

●ほうれんそうのミナミキイロアザミウマ防除に

## パタ"シ<sup>®</sup>粒削4

●レタスのすそ枯・いちご芽枯病防除に

## ハリダシン®液剤 5

●園芸作物害虫の基幹防除に

#### ゴオルトラン。 水和剤・粒剤

●イチゴ・ナス・スイカのハダニ類に -

## 部オサダン<sub>水和剤</sub> 25

●園芸作物病害の基幹防除に

## 計タ"コニール" 1000

●園芸作物の病害防除に

## ただ人" ンレート® 水和剤

●野菜の灰色かび病防除に

## 番**ロブラーに**水和剤

●畑作の播種前、収穫後の除草に

## 番スリグロックス。L

## 新台木品種によるナス青枯病の防除

ナスの台木は青枯病、半身萎ちょう病、半枯病、疫病などの土壌病害や線虫害を防ぐために、主に「ヒラナス」台が使用されてきた。しかし、1970年代半ばにヒラナス台木の接木ナスに青枯病が発生し、その対策が必要になった。さらに、奈良県では野菜・茶業試験場で抵抗性台木として育成された「トルバム・ビガー」が導入初年目から罹病化し、抵抗性の崩壊現象が認められた。奈良農試では、「トルバム・ビガー」が発病した圃場の土壌を搬入して台木品種の選抜を開始し、現地において試作を続けた結果、実用に耐え得る台木を得ることができた(峯岸ら、1991)。

青枯病菌は多犯性で、地理的分布も広く、変異に富み、多くの系統、レースの存在が知られている。ナス青枯病菌は、侵す台木品種の種類を基に菌群が類別され、新レース・系統の出現によって高度抵抗性の品種が罹病化するおそれがあるとされている(尾崎、1990)。ここでは新台木の選抜過程において得られた知見並びに新台木の罹病化を避けるための圃場条件について述べ、抵抗性崩壊回避の参考としたい。

#### I 青枯病の発生の特徴

青枯病罹病株は、高温時に急激に萎ちょうし始め、しだいに全身が萎ちょうする。茎を切断すると導管が部分的に褐変し、水に漬けると褐変部から白い菌泥が溢出するのが特徴である。露地栽培では6月以降に発生し始め、低温時には発病しなくなる。病原菌は土壌中で5年以上生息し、生息範囲は1mの深さに及ぶ。このため、くん蒸剤による土壌消毒や太陽熱利用による施設内の土壌消毒の効果が不安定であり、ナス栽培では発病回避のために接木栽培が必須条件となっている。病原菌は傷口から侵入するので植え傷み、肥あたり、線虫害などが誘因になる。河川水で伝搬するが、病原菌は水田状態では畑地よりも死滅が早い。

#### Ⅲ 抵抗性台木の種類

ナス産地では青枯病が最も恐れられ、畑地ではこのほかに半身萎ちょう病が発生しやすく,ときには半枯病や 疫病の被害を受けることがある。抵抗性台木はこれらの

Control of Eggplant Bacteria wilt by Drafting with New root stock. By Ken'o Okayama

病害に対する抵抗性を併せて持つ必要がある。青枯病抵 抗性の主要な品種を表-1 に示した。

ナスを侵す青枯病菌は I ~V群に類別され,「千両2号」のみを発病させ,他のナス属植物に病原性のない I 群菌,「千両2号」と「ツノナス」を発病させる II 群菌,「千両2号」,「ツノナス」,「ヒラナス」を発病させる III 群菌,「千両2号」,「ツノナス」,「ヒラナス」,「トルバム・ビガー」を侵す IV 群菌,「千両2号」と「ヒラナス」を高率に発病させるが,「ツノナス」,「トルバム・ビガー」を侵さない V 群菌に分類されている (尾崎, 1990)。

「台湾長」、「興津1号」は栽培種であり、「台湾長」は 強度の抵抗性を示し、「興津1号」はこれよりも少し弱い。しかし、「台湾長」台は特に低収量であり、「ハリナスビ」は生育停止、「トキシカリウム」台はへた枯れや果実の変形、収量性に問題がある(望月ら、1979a、1979b)。

「ヒラナス」は半枯病に強く、接木が容易で耐暑性があるが、青枯病の多発事例が増加している。「ツノナス」は青枯病のII、III、IV群菌に侵され、半身萎ちょう病にも弱いが、草勢、収量性に優れる。「トルバム・ビガー」は青枯病や半身萎ちょう病に抵抗性で、耐暑性があり、収量性も高い。しかし、IV群菌に侵され、初期生育が遅いので育苗日数が長い。「アシスト」は青枯病には「ヒラナス」よりも強いが、IV群菌に侵され、半身萎ちょう病には抵抗性がない。しかし、「ヒラナス」と同様に育苗が容易で、すべての作型に利用できる。

岡山農試が選抜・育成した「トレロ」は、III群菌には

表-1 ナスの背枯病抵抗性台木

品種名	種名
台湾長	Solanum melongena
興津1号	Solanum melongena
ハリナスビ	S. sisymbriifolium
トキシカリウム	S. toxicarium
ヒラナス	S. integrifolium
ツノナス	S. mammosum
トルバム・ビガー	S. torvum
アシスト	S. melongena×
	S. integrifolium
トレロ	S. torvum
サポート 1 号	台湾長×Large-Negra とヒラナスの F1
カレヘン	S. sanitwongsei

トルバム・ビガーと同様に高度の抵抗性を示したが、IV 群菌に侵される。この品種は半身萎ちょう病に対して抵 抗性があり、収量性も高い(河合ら、1993)。したがって 「ヒラナス」、「トルバム・ビガー」が侵される地域での対 応は難しいが、青枯病の菌群分布に対応した台木を選定 するときわめて有効である(伊達ら、1993)。

このほか,「サポート1号」は抵抗性を示す菌群がI, II群に限られる。「耐病VF」,「ミート」は半身萎ちょう病に強く,接木も容易であるが,青枯病には抵抗性がない。

#### Ⅲ 新台木の育成経過と特性

奈良農試では、タイから導入した野性ナス Solanum sanitwongsei Craibを素材にして、種子及びその後代から 青枯病抵抗性個体を選抜し、1990 年に「カレヘン」と命 名して種苗登録した。選抜は 1981 年から開始し、青枯病汚染圃場に毎年5月に本葉5葉期の接木ナス(穂木「千両2号」)を植え、抵抗性台木の選抜を重ねた。汚染土壌は農試場内の青枯病菌接種土壌(橿原市)と五條市の現地から採取した土壌を用い、コンクリート枠に入れて各種台木に接いだ苗を植え付けた。五條市の汚染土壌は「トルバム・ビガー」を導入した初年目に高率に発病が認められた圃場の土壌であり、分離菌はIV群菌と判別された。

表-2に示したように、「カレヘン」及び野菜・茶業試験場から導入した「BR1号」は、両汚染土壌において発病が顕著に抑えられ、「ヒラナス」、「トルバム・ビガー」、「アシスト」に比べて高い抵抗性が認められた。「トルバム・ビガー」は橿原市土壌では「ヒラナス」よりも発病が遅れ、枯死株数も少なかったが、IV群菌で汚染されている五條市土壌では、発病が半月遅れるのみで8月中旬には全株が枯死した。

五條市のナス産地における新台木の現地試験のうち,「カレヘン」及び「ヒラナス」台の比較結果を表-3 に示した。「カレヘン」台は試作地 26 圃場のうち 14 圃場で発生を認めず,比較試験の結果からも「ヒラナス」に比べて高い防除効果を示した。しかしながら,2 圃場において多発を認め,台木のみによる回避が難しいことも示唆された。この地域は個別の田畑輪換が行われているが,基盤整備の遅れのために集団的なブロックローテーションが困難な地域である。このため,産地内に多発圃場が散在し、輪作による効果が現れていない。

峯岸らが 1992 年に行った新台木導入地のアンケート 調査では,「カレヘン」を導入した 25 県から回答が寄せ られ,16 県で青枯病が発生せず,6 県で少発生,1 県で多 発した。導入された地域は「ヒラナス」台木の罹病化が起こっている地域であることを考慮すると、青枯病に対する評価はほぼ満足できるものと考えられる。しかし、半身萎ちょう病が5県、疫病が2県で発生した。半身萎ちょう病には接種土壌において「トルバム・ビガー」、「ヒラナス」よりも発病程度が軽く、実用程度の抵抗性を持つと判断されたが、試験例が少なく、育成経過や県内の発生状況からみて、これらの病害には十分ではないと考えている。したがって、半身萎ちょう病の発生圃場では耐病 VF などの抵抗性台木を選ぶ必要がある。疫病は県下の試作地においても発生を認めており、株の地際部分が水浸状になって軟化腐敗する。地下水位の高い輪換田では要注意である。

「カレヘン」は「トルバム・ビガー」を小型にした草状で、葉の大きさが「トルバム・ビガー」の約1/5である。花弁色は「トルバム・ビガー」,「ヒラナス」が白色であるのに対し、紫色、その他熟果の色、果重が異なり、葉身、葉柄にトゲがないのが特徴である。また、発芽をそろえるためにジベレリン100ppmに一昼夜浸漬し、「ヒラナス」よりも2週間程度早く播種する必要がある。この台木は露地栽培では低温伸長性が弱いので初期収量が低いが、高温時の生育がおう盛なので秋期には

表-2 青枯病汚染圃場における接木ナスの発病抑制効果

	:	青枯病汚染土壌の来歴					
品	種	五億	肺	橿原市			
	1里	発病株率 <sup>a)</sup> 枯死株 (%) (%)		発病株率 (%)	枯死株率 (%)		
千両2号	 自根	100	100	100	100		
ヒラナス		100	100	100	60		
アシスト		67	70	60	100		
トルバム	・ビガー	100	100	40	90		
カレヘン		40	60	20	20		
BR1 号		20	40	20	60		

a):発病株率は8月15日, 枯死株率は10月1日に調査。

表-3 現地圃場における台木品種と青枯病の発生

EB 48	発病株率	赵 (%)	問題の本質	
圃場	ヒラナス	カレヘン	圃場の来歴	
1	4	0	3年間水田	
2	100	70	14 年間水田	
3	100	0	1年間水田	
4	50	0	6 年間水田	
(5)	10	0	6 年間水田	
6	100	45	イチゴ,ナス跡	
7	1	0	6 年間水田	
8	10	0	水田	

表-4 ナス青枯病の台木及び穂木品種に対する反応

株	供試品	品種	調査	発病株率	導管褐 変 率	褐変	2程	度	別相	+数 <sup>a)</sup>
1/1	穂木	台木	部位	(%)	(%)	0	1	2	3	4
自根	千両:	2 号	株	100	100	0	0	0	0	12
自根	カレイ	ヘン	株	0	50	6	5	1	0	0
接木	千両	カレ	台木	8	42	7	1	3	0	1
	2号	ヘン								
			穂木	33	33	8	0	1	1	2
自根	ヒラ	ナス	株	100	100	0	0	0	0	12
接木	千両	ヒラ	台木	92	100	0	0	0	0	12
	2号	ナス								
			穂木	92	100	0	1	0	0	11

a): 導管褐変程度 0: 褐変なし, 1: 全体の 1/4 未満が褐変, 2: 1/4~1/2 が褐変, 3:1/2~3/4 が褐変, 4:3/4 以上が褐変.

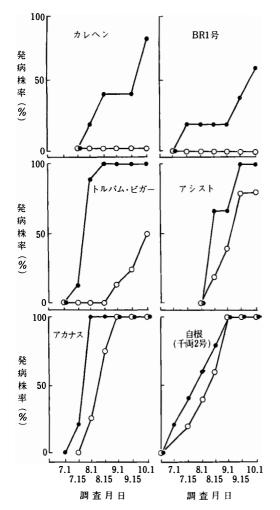


図-1 青枯病菌の菌密度と各種台木に接いだナスの発病パターン
- ● 高菌密度 ○ ○ ○ ○ ○ ○ 低菌密度

「ヒラナス」台とほぼ同等の収量になる(峯岸ら,1991)。

#### IV 青枯病抵抗性台木の利用と問題点

新台木の導入地ではおおむね良好な結果を示したが、 その後も一部に多発事例が発生し、その原因を調査し た。表-4に示したように、高度汚染圃場に植えた「千両 2号 | や 「ヒラナス」の自根株は全株が発病枯死したのに 対して,「カレヘン」の自根株は全く発病せず,強い抵抗 性を示した。接木株では「ヒラナス|台が高率に発病 し、穂木、台木ともに枯死した。一方、「カレヘン」台の 接木株は「カレヘン」自根にくらべると発病株率が高く なったが、「ヒラナス」に比べて明らかに発病を抑えた。 「カレヘン」台の発病株のなかには穂木が枯死しても台木 部分が残り、その基部から新芽の発生が認められるもの があった。しかし、地際部を切断して観察すると、「カレ ヘン | は健全株のなかに導管褐変の認められる株があ り、この部分から菌泥の溢出する株があった。このこと から,「カレヘン」台木は外見上無病徴であるが,導管の ごく一部が侵されて病原菌が穂木に移行し, 穂木の萎ち ょう枯死に至ったと推察される(岡山ら,1991)。

青枯病に対する台木の抵抗性の発現には土壌中の青枯病菌密度の影響が大きい(太田ら、1981)。汚染圃場及び汚染土壌を非汚染土壌で約10倍に希釈した圃場における接木ナスの発病経過を図-1に示した。「トルバム・ビガー」は高菌密度圃場では「ヒラナス」と同様に高率に発病し、抵抗性はほとんど認められなかったが、希釈した低菌密度圃場では発病が遅延し、台木の効果が明りょうに認められた。「カレヘン」はこの傾向がより顕著に現れ、後者の圃場では全く発病株が認められなかった。このように抵抗性台木の発病は土壌の菌密度によって大きく異なり、「カレヘン」、「BR1号」などの高度抵抗性の台木品種は、菌密度低下による発病抑止効果が高いと考えられる(岡山、1987)。

青枯病の防除には土壌くん蒸剤による土壌消毒や太陽熱利用による施設内の土壌消毒の効果は不十分である。この原因には病原菌が深層に分布すること,再汚染が激しいことなどが影響しているのではないかと思われる。一方,未熟有機物を混合して湛水状態を保つと発病が抑制されるが,完熟堆肥では効果が低いとされ,拮抗微生物と湛水による防除効果が明らかにされている(小野,1991)。筆者は汚染圃場に有機物を混和して夏季に4か月間湛水したところ,希釈土壌による発病パターンと同様の台木の有効化現象を認めた。すなわち,「ヒラナス」や「トルバム・ビガー」に接いだ「千両2号」の発病が遅延し、「カレヘン」には発病が認められなかった。

尾崎(1990)は「トルバム・ビガー」、「ツノナス」、「ヒラナス」台接木ナスが連作によって高率に発病したことを観察し、抵抗性台木の連作に伴う菌群の変遷を指摘している。このことを考慮すると、発生地域では抵抗性台木のみに依存した連作を避け、罹病化を回避するための対策を絶えず図るべきである。実用的には露地栽培では集団的な田畑輪換が最も有効で、3年以上のブロックローテーションが行われている地域では安定生産が可能になっている。施設栽培では太陽熱利用による土壌消毒が病原菌密度の低下に有効であり、定植時期の遅延、多肥による根の傷害防止、発病株の除去等の耕種的防除対策を心がけることも大切である。今後は台木の罹病化現

象の機構を解明するとともに,短期間の処理で有効かつ 安定的な罹病化回避技術を確立する必要がある。

#### 引用文献

- 1) 伊達寛敬ら(1993):岡山農試研報 11:35~40.
- 2) 河合貴雄ら (1993): 岡山農試研報 11:27~34.
- 3) 峯岸正好ら (1991): 近畿中国農研 81:16~20.
- 4) 望月英雄・山川邦雄 (1979a):野菜試報 A.6:1~10.5) -----(1979b):野菜試報 A.6:11~18.
- 6) 岡山健夫 (1987): 関西病虫研報 29:47.
- 7) ―――ら(1991): 関西病虫研報 33:78.
- 8) 小野邦明 (1991): 農業技術体系土肥編追録第2号5: 216の65の5~9. 農文協.
- 9) 太田光輝・森田 僑 (1981): 静岡農試研報 26:43~49
- 10) 尾崎克己 (1990): 植物防疫 44: 291~294.

#### 新しく登録された農薬(6.8.1~6.8.31)

掲載は、種類名、有効成分及び含有量、商品名(登録年月日)、登録番号(製造業者又は輸入業者)、対象作物:対象病害虫:使用時期及び回数など。ただし、除草剤については、適用雑草:使用方法を記載。(…日…回は、収穫何日前何回以内散布の略。(登録番号 18764~18780 までの 17 件、有効登録件数は 5793 件)

なお,アンダーラインのついた種類名は新規化合物で,〔〕内は試験段階時の薬剤名である。

#### 「殺虫剤」

#### ー 放り 二酸化炭素くん蒸剤

二酸化炭素 99.9%

炭酸ガス (6.8.26)

18774 (日本炭酸) 米・麦類:コクゾウ・コクヌストモドキ等の甲虫類・ノシメ マダラメイガ・バクガ等のガ類:害虫発生初期:本剤の所 定量を倉庫等の下部から気化器を用いて投入する.

#### DDVP 乳剤

DDVP75.0%

DDVP 乳剤 75 (6.8.26)

18775 (八洲化学)

りんご:アブラムシ類・ハマキムシ類・キンモンホソガ:14 日5回,なし:ハマキムシ類:7日6回,かんきつ(みかん を除く):ハマキムシ類・クワゴマダラヒトリ:7日3 回, みかん:ハマキムシ類・クワゴマダラヒトリ・ミカン キイロアザミウマ:前日3回,もも:モモハモグリガ・ア ブラムシ類:7日5回,なす(露地):アブラムシ類・ハダ ニ類:前日6回、なす(施設):アブラムシ類・ハダニ類: 3日3回,きゅうり(露地):アブラムシ類・ハダニ類:前 日6回、トマト:アブラムシ類:3日3回、キャベツ:アブ ラムシ類・アオムシ・コナガ・ハスモンヨトウ・ヨトウム シ・カブラハバチ・ハイマダラノメイガ・キスジノミハム シ・タマナギンウワバ:3日5回,カリフラワー:アブラ ムシ類・アオムシ・コナガ・ハスモンヨトウ・ヨトウム シ・カブラハバチ・ハイマダラノメイガ・キスジノミハム シ・タマナギンウワバ:3日6回,ブロッコリー:アブラ ムシ類・アオムシ・コナガ・ハスモンヨトウ・ヨトウム シ・カブラハバチ・ハイマダラノメイガ・キスジノミハム シ・タマナギンウワバ:7日6回,だいこん:アブラムシ 類・アオムシ・コナガ・ハスモンヨトウ・ヨトウムシ・カ ブラハバチ・ハイマダラノメイガ・キスジノミハムシ・タ マナギンウワバ:14日6回,かぶ:アブラムシ類・アオム シ・コナガ・ハスモンヨトウ・ヨトウムシ・カブラハバ チ・ハイマダラノメイガ・キスジノミハムシ・タマナギン ウワバ:14日5回,はくさい:アブラムシ類・アオムシ・ コナガ・ハスモンヨトウ・ヨトウムシ・カブラハバチ・ハ イマダラノメイガ・キスジノミハムシ・タマナギンウワ

バ:7日5回, たまねぎ:ネギアザミウマ:3日6回, 食用 菊:アプラムシ類:7日5回, 茶:コカクモンハマキ・チャノホソガ・カンザワハダニ:摘採10日前まで:3回以内:散布, 桑:クワノメイガ・クワノキンケムシ・ハムシ類:摘採3日前まで:5回以内:散布, たばこ:アプラムシ類・ヨトウムシ・タバコアオムシ:散布, さくら(八重ざくらを除く)・プラタナス等の広葉樹(街路樹・庭木):アメリカシロヒトリ:5回以内:散布,きく:アプラムシ類:5回以内:散布

#### DDVP 乳剤

DDVP50.0%

DDVP 乳剤 50 (6.8.26)

18776 (八洲化学)

りんご:アブラムシ類・ナシヒメシンクイ・オビヒメヨコバ イ・ハマキムシ類・キンモンホソガ:14 日5回, なし:ア プラムシ類・ナシヒメシンクイ・オビヒメヨコバイ・ナシ チビガ・ナシホソガ:7日6回, ぶどう:アブラムシ類:3 日3回, うめ:アプラムシ類・ナシヒメシンクイ:7日6 回,もも:アプラムシ類・ナシヒメシンクイ:7日5回,か んきつ (みかんを除く) :アプラムシ類・イセリヤカイガラムシ:7日3回, みかん:アプラムシ類・イセリヤカイ ガラムシ:前日3回、きゅうり(露地)・なす(露地)・ピー マン(露地):アブラムシ類:前日6回,トマト・なす(施 設)・ピーマン(施設):アブラムシ類:3日3回,すいか・ メロン・まくわうり:アブラムシ類:3日4回、かぼち ゃ・しろうり:アブラムシ類:3 日 6 回、キャベツ:アブ ラムシ類・アオムシ・ヨトウムシ・カブラハバチ・コナ ガ:3日5回、カリフラワー:アブラムシ類・アオムシ・ ヨトウムシ・カブラハバチ・コナガ:3日6回, ブロッコ リー:アプラムシ類・アオムシ・ヨトウムシ・カブラハバ チ・コナガ:7日6回,だいこん:アブラムシ類・アオム シ・ヨトウムシ・カブラハバチ・コナガ:14日6回,か ぶ:アブラムシ類・アオムシ・ヨトウムシ・カブラハバ チ・コナガ:14日5回, はくさい:アプラムシ類・アオム シ・ヨトウムシ・カプラハバチ・コナガ:7日5回,レタ ス:アブラムシ類・ヨトウムシ:7日5回, たかな・のざ わな:アプラムシ類:7日3回、チンゲンサイ:アプラム

## ワタアブラムシの寄主選択阳害因子

農林水産省野菜・茶業試験場 篠田 徹郎

#### はじめに

ワタアブラムシ(Aphis gossypii GLOVER)は多くの野菜、花き、果樹に寄生し、吸汁加害して生育障害やすす病を起こすとともに、多くの病原ウイルスを媒介して甚大な被害をもたらす世界的な園芸作物の害虫である。近年、国内では殺虫剤抵抗性の系統が顕在化し、薬剤のみによる防除は年々困難になりつつある(浜、1987)。

本種はモモアカアブラムシとともに最も広食性のアブラムシの一つで、稲泉(1980)によれば、その寄主植物は116 科912 種にものぼる。ただし、本種は種内に多様な寄主選好性の異なるバイオタイプ(寄主型)を包含しているため、個々の寄主型の寄主植物種の総和は膨大な数になる。これが本種がきわめて"広食性"である理由の一つと考えられる(高田、1992)。

個々の寄主型の寄主範囲について、まだ十分にわかっていないが、それほど広くないかもしれない。例えば、メロンに寄生する個体群(ウリ系)はナスで飼育した場合、ほとんど増殖できず、逆にナスの個体群(ナス系)はキュウリでほとんど増殖できない(西東、1991)。また、ウリ系、ナス系ともに寄生、増殖できない植物が、それぞれメロンやナスにごく近縁の植物種中に存在する(篠田、1990)。

ワタアブラムシの寄主として不適なこれらの植物には、表皮の硬さや厚さ、ワックス、毛茸などの物理的因子、栄養の欠如、忌避物質、摂食阻害物質、生育阻害物質などの化学的因子など種々のタイプの寄主選択阻害因子を持つものが存在すると考えられる。ワタアブラムシ抵抗性の作物やその近縁種の寄主選択阻害因子が明らかになれば、それらを耐虫性品種選抜の指標としたり、その形質を支配する遺伝子を利用した生物工学的育種への道も開ける。また、育種的に利用できない植物種でも、忌避物質や摂食阻害物質などがみつかれば、これらをリード化合物として、選択的な昆虫制御剤の開発が期待される。

本稿では、以上のような視点から、筆者らが行ったウリ科植物におけるワタアブラムシ寄主選択阻害因子の解析事例について紹介する。

Factors Inhibiting the Host Selection of the Melon aphid, Aphis gossypii GLOVER. By Tetsuro SHINODA

#### I ニガウリ及び野生 Cucumis 属植物の 寄主選択阻害因子

1 各種ウリ科植物でのワタアブラムシの生育と行動 ワタアブラムシ(ウリ系)の産子直後の幼虫にウリ科 野菜及びその近縁野生種の葉片を与えて個体飼育する と、キュウリ、カボチャ、スイカ、メロン、ヘチマなど の作物では良好に発育し、産子数も多いが、C. metuliferus などの野生 Cucumis 属植物や、ニガウリ (Momordica charantia) では幼虫期の死亡率が高く、子 虫がほとんどあるいは全く産まれない(図-1,篠田ら、 1990)。

ある種のアブラムシ抵抗性植物では警報フェロモンや 分泌性の毛茸が寄主選択阻害因子として報告されている が、これらの抵抗性ウリ科植物の葉上で、ワタアブラム シの吸汁行動を観察すると、速やかに口吻を葉に押し付 けて吸汁を行い、忌避的な行動や毛茸による吸汁の阻害 は認められない。しかし、ニガウリや C. metuliferus で は、メロンやキュウリに比べて、ワタアブラムシは頻繁 に吸汁を中断し、1回当たりの吸汁時間が短い。また甘露 の排せつ頻度も少ない(表-1、BARRANGANら、1993)。こ れらのことから抵抗性ウリ科植物の葉内には、摂食阻害 物質が存在する可能性が高いと考えられる。

#### 2 ワタアブラムシ摂食阻害物質の検定法

吸汁性昆虫に対する摂食阻害物質の検定法は、検定試料を添加した人工飼料を、パラフィルム膜を通して吸汁させる方法を基本として、種々の方法が開発されている。ウンカでは、被検体液を与えて、3齢幼虫5頭を飼育し、1週間後の生存率から摂食阻害活性を判定している(金、1982)。ムギミドリアブラムシでは被検体液をのせたパラフィルム膜上への24時間後の定着率によって摂食阻害活性を判定している(DREYER et al., 1981)。しかし、前者の方法は判定に時間がかかり、また後者の方法は対照区の人工飼料自体へのワタアブラムシの定着率が低く、試料の活性の判定が難しい。そこで、新たに次のようなワタアブラムシ摂食阻害活性物質の検定法を考案した(篠田ら、1991)。

本法は、図-2 に示したように、ELISA などに用いられる 96 穴のマイクロタイタープレートを検定容器として用い、以下の手順で検定を行う。

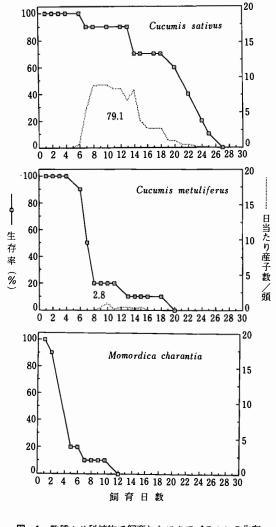


図-1 数種ウリ科植物で飼育したワタアプラムシの生存 率及び日当たり産子数 図中の数字は1頭当たり平均総産子数,上からキュ ウリ,ウリ科野生種,ニガウリ

- ① 各ウェルにワタアブラムシ成虫を2頭ずつ入れ, 上面を薄く延ばしたフィルム(ノビックスII)で覆う。 左端の列は、後で標準糖溶液を入れるためにあけておく。
- ② 植物体抽出物を人工飼料 (終濃度,シュークロース 35%,リボフラビン 50 ppm) に加えた被検体液をフィルム上に  $15 \mu l$  ずつ滴下する。通常,横 1 列 11 ウェルを 1 試験区とし,最上段には人工飼料液のみを滴下し,対照区とする。
- ③ 上からマイクロタイタープレートの蓋をした後, 試料の乾燥を防ぐため全体をサランラップで包み,25℃ の恒温槽中に一晩放置する。ワタアブラムシは薄膜を通

表-1 数種ウリ科植物における平均吸汁時間及び甘露排せつ頻度

植物	平均吸汁時間 (秒)	甘露排せつ頻度 /24 時間
Cucumis sativus + 1 p J	508.0	19.0
Cucumis melo ≯□ン	454.1NS	24.6NS
Cucumis metuliferus	176.1*	9.0*
Momordica charantia	225.4*	1.8**

NS、\*、\*\*は、Mann-Whitney の U 検定により、キュウリの値と比較した場合、それぞれ、有意差なし、5% 有意及01% 有意.

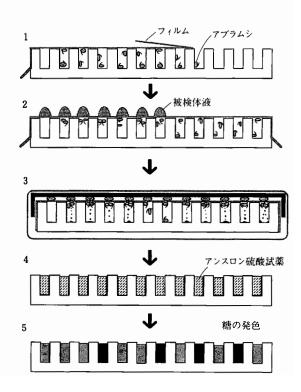


図-2 マイクロタイタープレートを用いたワタアブラム シ摂食阻害活性の測定法

して被検体液を吸汁し、甘露を容器内に排せつするが、 被検体液に摂食阻害物質が含まれている場合は甘露の排 せつ量が減少する。

- ④ プレートから供試虫を除去し、左端のウェルに標準糖溶液(水及び  $5 \mu g/\mu l$  のシュークロース溶液を各  $2 \mu l$ )を入れた後、各ウェルにアンスロン硫酸試薬を  $340 \mu l$  ずつ入れ、沸騰水中で 12 分間加熱する。
- ⑤ 対照区では甘露中の糖が発色し、緑色になるが、 摂食阻害活性を持つ試験区は黄色のままである(口絵-1)。マイクロタイタープレートリーダーを用いて 620 ま たは 690 nm の波長で各ウェルの吸光度を測定して、糖

量を算出し、これを指標に摂食阻害活性を判定する。

本法は、供試虫のセット及び糖の発色操作にやや手間がかかるが、標準で1プレート当たり、対照区を含めて8試料(各11ウェル)が検定でき、セットした翌日に結果が出るので、多数の試料を迅速に検定するのに適している。

## 3 ニガウリ及び野生ウリ科植物に含まれるワタアブラムシ摂食阻害物質

上述の検定法で、ニガウリや野生 Cucumis 属植物茎葉のメタノール抽出液の活性を調べると、いずれも甘露の排泄量が有意に減少し、特にニガウリ抽出物に強い摂食阳害活性がみられる。

ニガウリ茎葉のメタノール抽出液を各種のクロマトグラフィーによって分画し、摂食阻害活性画分のスクリーニングを繰り返し行ったところ、最終的に 100 ppm の添加濃度で強い活性を示す 4 種の物質が単離された。そのうち最も多く含まれている物質は、NMR スペクトルから、ニガウリに特異的なククルビタシンの1種、モモルディシンIIであることが明らかになった(篠田ら、未発表)。本物質は、ニガウリ茎葉中に単独でワタアブラムシの摂食を阻害するのに十分な濃度で含まれることから、ニガウリの寄主選択阻害因子の一つである可能性が高い。

一方、C. metuliferus などの野生 Cucumis 属植物の場合、ククルビタシンを含む画分には活性がみられず、また分画するに伴って活性が複数の画分に分散低下し、ニガウリのように単独で強い活性を持つ物質は現在のところみつかっていない(篠田ら、未発表)。これらの植物では複数の摂食阻害物質が共同で作用するのか、あるいは全く別の吸汁阻害機構があるのか現在解析中である。

#### Ⅱ ワタアブラムシ抵抗性メロン品種の寄 主選択阻害因子

#### 1 ワタアブラムシ抵抗性メロン品種の特性

メロンは耐虫性品種が育成されている数少ない野菜の一つで、アメリカの研究者によって、インドから導入された品種中にワタアブラムシ抵抗性が見いだされ、本抵抗性を導入したワタアブラムシ抵抗性系統が "PMAR No. 5" をはじめいくつか育成されている ( $McC_{REIGHT}$  et al., 1984)。最近,国内でも "PMAR No. 5" と "アールス K" を交雑し、その後代からアールスに近い果実形質を有するワタアブラムシ抵抗性中間母本 "メロン久留米5号"が育成されており、今後の利用が期待されている (吉田、1989)。

抵抗性メロン品種は、ニガウリや野生 Cucumis 属植物

ほど強くないが、明りょうな抗生作用を示し、ワタアブラムシの産子数が栽培品種に比べて  $1/3\sim1/2$  となる。また強い耐性を有し、強制的に多数のアブラムシを寄生させた場合でも、縮葉や苗の萎縮が軽微でほぼ正常に成長する。この抗生作用及び耐性はいずれも主に単一優性の遺伝子によって支配されることがわかっている  $(B_{OHN}$  et al., 1973;  $K_{ISHABA}$  et al., 1976)。

抵抗性品種では、忌避物質や毛茸の影響は認められないが、甘露の排泄頻度の減少、頻繁な吸汁の中断がみられ、吸汁の阻害が起こっていることがわかる(篠田・田中、1989a)。しかし、ニガウリや野生 Cucumis 属植物の場合と異なり、抵抗性品種葉のメタノール抽出液に顕著な摂食阻害活性は認められない(篠田・田中、1989b)。

Kennedyら (1978) は、電気的吸汁行動解析装置を用いて、ワタアブラムシは抵抗性品種でも感受性品種と同様に口針を正常に篩管まで到達できるが、その後の篩管からの吸汁継続時間が短いことを報告している。このことから、篩管あるいはその周辺に局部的に摂食阻害因子が存在することが予想されている。

#### 2 ワタアブラムシの吸汁によるカロース形成反応

植物は微生物など異物の侵入に対して応答し、化学的障壁(ファイトアレキシン、脂質過酸化物、キチナーゼ、グルカナーゼの生産など)や物理的障壁(リグニン形成、パピラ形成、離層形成、カロース形成)などを新たに生産し、局部的誘導抵抗性を発揮することが知られている(道家、1990)。このうちカロースは、 $\beta$ -1、3 グルカンを主成分とする多糖類の1種で、塩基性アニリンブルーで染色後、蛍光顕微鏡で観察すると明青色の蛍光を発することで識別できる。筆者は、ワタアブラムシの吸汁加害を受けたメロン葉を組織化学的に比較し、カロースの形成反応に品種間差があることを見いだした(篠田、1993)。

抵抗性及び感受性メロン葉をワタアブラムシに一定時間 (5~20分) 吸汁させた後,切片標本を作り,吸汁部位を蛍光顕微鏡で観察すると,感受性品種ではカロースの形成はごく少ないか全く認められないのに対し,抵抗性品種では口針鞘の周辺にかなり多量のカロースが認められる (口絵-2及び表-2)。この間,感受性品種ではワタアブラムシは連続して吸汁を続けるが,抵抗性品種では,途中で口針を引き抜く例が多くみられる。

カロースがワタアブラムシの吸汁に与える影響については今のところ不明であるが、同じ $\beta$ -1、3 グルカンであるラミナリンを人工飼料に添加して与えると摂食阻害作用が認められることが報告されている( $C_{AMPBELL}$ 、1986)。また、カロースは篩板上に形成されて篩管液の流

表-2 抵抗性及び感受性メロンにおける口針鞘の到達組織 及びカロース形成程度

	吸汁時間	至	」達 組 組	織	カ	<u>п</u> —	ス
系 統	(分)	表皮	柔組織	篩部	++	+	+
感受性	~ 5	0	1	0	0	0	1
	~10	1	2	1	0	0	4
	~15	0	5	4	0	2	7
	~20	1	2	5	0	4	4
抵抗性	~ 5	1	4	0	5	0	0
	~10	0	3	1	3	0	1
	~15 ~20	1	3	1	5	0	0
	~20	0	5	8	7	5	1

++, +, -は, それぞれ, 口針鞘の周辺の細胞全体に顕著なカロース形成が認められる, わずかにカロース形成が認められる, カロース形成が認められない, ことを示す.

動を妨げることも知られている。これらのことから,抵 抗性メロン品種ではワタアブラムシの吸汁に反応して形 成されたカロースが篩管液吸汁を阻害している可能性が 十分考えられる。

#### おわりに

以上、ワタアブラムシ抵抗性ウリ科植物における寄主 選択阻害因子の解析事例について紹介した。最後に問題 点と今後の課題を指摘しておきたい。

ワタアブラムシのような吸汁性微小昆虫では, 鱗翅目 幼虫など大型のそしゃく性昆虫と異なり, 摂食阻害活性 が実験で確認された物質でも, 植物組織, 細胞内に局在 している場合, 吸汁時に全く接触することがないかもし れない。したがって、現在は技術的に困難であるが、摂 食阻害物質の組織、細胞内での分布について今後明らか にする必要があろう。また、これまで昆虫の寄主選択阻 害因子の解析は、摂食阻害物質など「静的」な因子に重 点が置かれてきたが、アブラムシのような吸汁性微小昆 虫では、カロース形成など吸汁部位に局所的に誘導され る「動的」な因子が重要な役割を果たしていることが考 えられ、この点を今後もっと重視する必要があろう。

#### 引用文献

- 1) Barrangan, R. C. ら(1993):関西病虫研報 35:33~34.
- Вонн, G. W. et al. (1973) : J. Amer. Soc. Hort. Sci. 98: 37~40.
- CAMPBELL, B. C. et al. (1986) : Entomol. Exp. Appl. 41:17~24.
- 4) 道家紀志 (1988):化学と生物 28:246~254.
- DREYER, D. L. et al. (1981) : J. Chem. Ecol. 7: 273~ 284.
- 6) 浜 弘司 (1987):植物防疫 41:159~164.
- 7) 稲泉三丸 (1980): 宇都宮大農学報特 37, 132pp.
- 8) Kennedy, G. G. et al. (1978): J. Econ. Entomol. 71: 13~16.
- 9) KISHABA, A. N. et al. (1976) : J. Amer. Soc. Hort. Sci. 101: 557∼561.
- 10) 金武祚(1982): 昆虫の生理活性検定法(高橋正三編)培 風館,東京,pp. 73~80.
- МсСкеіснт, J. D. et al. (1984): Hortscience 19: 309 ~310.
- 12) 西東 力 (1991): 応動昆 35:145~152.
- 13) 篠田徹郎 (1993): 応動昆 37:145~152.
- 14) • 田中清(1989a):同上 33:249~251.
- 15) • 田中清(1989b): 関西病虫研報 31:74~75.
- 16) ―――― ら(1990):同上 32:55~56.
- 17) ―――― ら(1991):同上 33:87~88.
- 18) 高田 肇 (1992):植物防疫 46:127~132.
- 19) 吉田健実(1989): 平成元年度日種協育種技術研究会 シンポジウム資料, pp. 77~88.

#### お知らせ

#### ○理化学研究所第 17 回科学講演会開催のお知らせ

日 時:平成6年10月26日(水)10:00~17:05

場 所:ヤクルト本社ビル ヤクルトホール

主 催:理化学研究所 後 援:科学技術庁

協 賛:関連学・協会 入 場:無料

〈プログラム〉

#### 第I部

1) 理研における脳・神経科学研究への取り組み (理研・国際フロンティア研究システム長)

伊藤正男氏

2) 脳はどのように形を見分けるか(理研・国際フロンティア研究システム思考電流研究チームリーダー) 田中啓治氏

3) 脳の学習の多様性――人とネズミの動作(南カリフオルニア大・神経工学センター所長)

マイケル・アービブ氏

- 4)物質科学と情報科学の相互作用による脳科学の新展開(理研・国際フロンティア研究システム・脳回路モデル研究チームリーダー)田中 潔氏第II部
- 1) 脳と心(理研・国際フロンティア研究システム
- 伊藤正男氏
- 2) 脳がつくられるしくみ (理研・分子神経物理学研 究室主任研究員) 御子柴克彦氏
- 3) 脳とコンピューター——人工頭脳の実現に向けて (理研・国際フロンティア研究システム・情報 処理研究グループディレクター) 甘利俊一氏

連絡先: 理化学研究所 • 開発調查室

Tel 0484—62—1111 (内線 2472~2474)

#### 養液栽培における土壌伝染病の生物防除、その戦略と展望

島根大学農学部環境生物学講座 **駒** 田 <u>旦</u>

#### はじめに

養液栽培は、栽培環境の清浄化による土壌病害の回避、高品質化、装置化・システム化による生産性向上によるいわゆる 3K 農業からの脱却などをねらって、野菜・花き、花木を中心に各地で普及してきた。ところが培養液中は、土壌中のような病原菌に対する他の微生物の抑制力が弱く、その上、いったん病原菌が養液栽培システムに侵入すると培養液の循環により速やかに全体に広がるため、せっかく回避を望んだ土壌病原菌に激しく侵され、深刻な被害を招く例が少なくない。その防除対策として、紫外線照射、オゾン曝気、加熱、pH 調節、溶液の濃度調節など、物理的あるいは化学的方法が検討されたが、一般に普及するには至っていない。

養液栽培では、作物根が露出し、培養液が循環しているため、拮抗微生物の人為的な接種には好都合である。その上、効果を維持するために必要とあれば追加接種も可能であり、また拮抗微生物の定着にとって障害になると考えられるほかの微生物相が貧困であることなど、土耕の場合に比べ、拮抗微生物による防除にとってきわめて有利な点が多い。

土壌病害を対象とした生物防除の研究は,世界的にも また我が国でも,隆盛をほこっているが,なぜか養液栽 培における土壌病原菌を対象とした生物防除の研究は顧 みられることが少なかった。

筆者らは近年、上記のような養液栽培における生物防除の有利性に着目し、トマト萎ちょう病、根腐萎ちょう病、青枯病を対象に、微生物による生物防除の研究を行い一応の成果を得たので、その概略を紹介するとともに、フランスならびに我が国で行われたほかの研究者の成果をも併せて紹介して、その戦略と今後の展望について述べる。

#### 

フランスの Lemanceau and Alabouvette (1991) は,非病原性 Fusarium oxysporum と蛍光性 Pseudomonas を

Strategies and Prospects on Biocontrol of Soilborne Diseases in Soilless Culture. By Hajimu Komada

用いて、ロックウール栽培のトマトの根腐萎ちょう病 (Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici による) の防除に成功したが、これは養液栽培における土壌 病原菌に対する生物防除の世界で最初の報告である。

実用規模の試験が春、秋二度行われ、病原菌密度が高くかつ温度条件が好適(低温)であった秋の試験のほうが発病程度は高かったが、春秋いずれの試験においても、非病原性 F. oxysporum(Fo 47 株)と蛍光性 Pseudomonas (C7 株)とを併せて接種 (接種菌密度:Fo 47 株は  $1 \times 10^7$  C FU,C7 株は  $1 \times 10^8$  C FU)すると、両菌株をそれぞれ別個に接種したときよりも高い防除効果が得られた(図-1)。Fo 47 株、47 代ともにロックウール中で、植物の有無にかかわらず、またそれぞれ単独で接種しても、併せて接種しても、よく生存し続けることが確認された(図-2)(EPARVIER et al., 1991)。

彼らの研究のアイディアのよって立つところは、抑止 土壌研究にある。非病原性 F. oxysporum は、彼らが長年 研究対象として扱ってきた、フランスの Châteaurenard

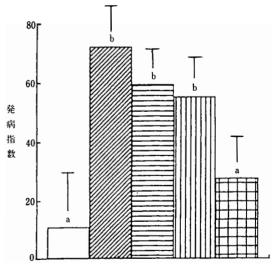
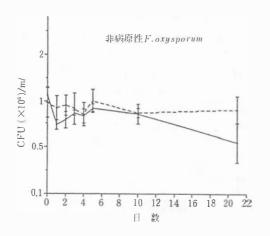


図-1 蛍光性 Pseudomonas と非病原性 F. oxysporum を接種したロックウール栽培トマト (定植 14 週後) の根腐萎ちょう病の発病程度の比較 (LEMANCEAU and ALABOUVETTE, 1991).

□:無処理, 図:病原菌のみ接種, ■非病原性 F. oxysporum と病原菌接種, Ⅲ:蛍光性 Pseudomonas と病原菌接種, Ⅲ:サホ原性 F. oxysporum, 蛍光性 Pseudomonas と病原菌接種.

地方の土壌のフザリウム抑止性にかかわる微生物である。また蛍光性 Pseudomonas は、Kloepper et al.(1980) や Sher and Baker (1982) によって、アメリカ・カリフォルニアの Salinas Valley の土壌のフザリウム抑止性にかかわる微生物とされた。さらにこの両者の併用処理が単独処理よりもフザリウム病(キュウリ)防除効果が高いことが Park et al.(1988)によって報告されている。

防除機作については、様々な仮説(いずれも土壌を対象)が提案されているが、主として栄養に対する競合であろうとされている。種々の要因が関与していると推察されるが、抵抗性の誘導を重視していないのはむしろ奇異に感じられる。



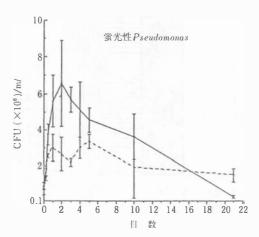


図 - 2 ロックウール (無作付) に接種した非病原性 F. oxysporum と 蛍 光性 Pseudomonas の 密 度 変 動 (Eparvierら, 1991). 実線は単独接種, 破線は混合 接種

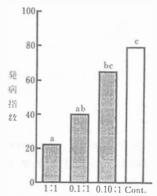
#### Ⅱ 非病原性 F. oxysporum によるサラダ ナ根密病の防除

牧野・熊倉(1993)はサラダナの水耕栽培で問題になっている,Fusarium oxysporum f. sp. lactucae による根腐病に対して,土耕サラダナから分離した非病原性 F. oxysporum (SK-102 株) の培養液への接種によって高い防除効果と生育促進効果とを認めた。本菌は  $10^5$  個/m/以上水耕液に加えることにより,また病原菌接種の  $4\sim$ 1日前の添加で高い防除効果が認められ(川島ら,1994),5日間隔で数回処理することにより防除効果が向上した(牧野ら,1994)。SK-102 株の接種により,水耕栽培のサラダナ,葉ネギ,ミツバ,トマトで根量が増加し褐色根が減少して,生育促進効果が認められた。防除機作については検討中であるが,誘導抵抗の可能性が示唆される結果を得ている。

#### Ⅲ 非病原性 F. oxysporum によるトマト萎 ちょう病の防除

筆者ら (1993a, 1994a) は水耕栽培のトマト萎ちょう 病に対して、土壌から分離した非病原性 Fusarium oxysporum の前接種により、高い防除効果を認めた。最も 高い防除効果を示した菌株 (F13) を用いて検討した結 果、病原菌の培養液中の密度 (10<sup>4</sup> CFU/ml) に対して、 F13 菌株の密度が 1:1 のとき最も効果が高く、以下 0.1:1, 0.01:1 と効果は低下した (図-3)。防除効果は F13 菌株の前接種後 2日、7日、14日まで持続した (図-4)。

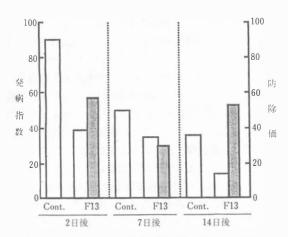
次に防除機作を検討した。培地上での対峙培養では、 病原菌と F13 菌株との間の干渉は認められなかった。



非病原性F.oxysporum密度:病原菌密度

図-3 水耕栽培のトマト菱ちょう病に対する非病原性 F. oxysporum の接種菌密度の影響 (駒田ら, 1993).病原菌の接種菌密度は 10 °CFU/m/

F13 菌株の硝酸塩利用能欠損変異株を用いて,根での病原菌と F13 菌株の菌数変動を調査したが,病原菌数の変動は非病原菌の有無に関係なかった。トマトの根系を 2 分割し,病原菌と F13 菌株とを個別にそれぞれの根系に接種しても,根系全体に病原菌と F13 菌株を接種した場合と同等の防除効果が得られた (図-5)。また根系に F13 菌株を接種し,病原菌を子葉節直下の茎に針接種すると,茎長,地上部生重量で F13 菌株接種区が無接種区を上回り,発病程度は逆に無接種区が接種区を上回った (表-1)。これらの結果から,防除機作は根面での栄養



非病原性 F.oxysporum (F13)接種後、病原菌接種までの日数

図 - 4 非病原性 F. oxysporum の水耕栽培トマトの萎ちょう病防除効果持続期間 (駒田ら, 1993).

■:非病原性 F. oxysporum の防除価, □:発病指数

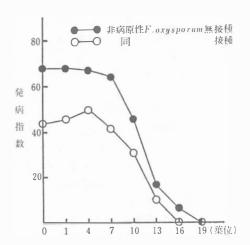


図-5 水耕栽培のトマトの根系を2分割し,トマト萎ちょう病菌と非病原性 F. oxysporum とを独立してそれぞれの根系に接種したときの葉位別発病程度(駒田ら,1994).

表-1 トマト萎ちょう病菌を子葉節に針接種したときの非病原性F. oxysporum の防除効果

非病原性 F. oxysporum	発病指数	発病率(%)	地上部 生重量	草丈
非接種接種	38.2	82.4	14.41g	48.8 cm
	20.8	43.3	21.33g	51.9 cm

分,生息場所などに対する競合ではなく,主として非病 原性 F. oxysporum によりトマト植物体に抵抗性が誘導 されることによると考えられる。

#### IV トマト根面細菌によるトマト青枯病の 防除

筆者ら (1993b, 1994b) は水耕栽培のトマト青枯病に対して、水耕栽培したトマト根面から分離した細菌の前接種により、高い防除効果を認めた。最も高い防除効果を示した菌株 (R-2, Arthrobacter sp.) を用いて検討した結果、病原細菌の培養液中の密度 ( $10^7$  CFU/mI) に対して、R-2 菌株の濃度は同等の  $10^7$  CFU/mI ないし 1/10 の  $10^6$  CFU/mI で高い効果を示した (図-6)。防除効果はR-2 菌株の前接種 7 日後に病原細菌を接種したとき極めて高い防除効果が得られたが 14 日後ではその効果は減退した (図-7)。

R-2 菌株の病原細菌に対する培地上での生育阻止(抗生)は認められなかった。R-2 菌株と病原細菌のトマト根面での菌数変動を調査したところ、病原細菌の菌数変動は R-2 菌株の有無に関係なく、競合は否定的である。

根系に R-2 菌株を接種し, 病原細菌を子葉節直下の茎

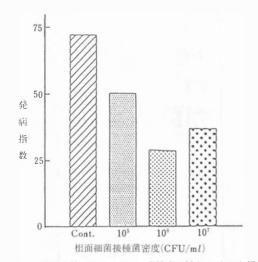


図-6 水耕栽培におけるトマト青枯病に対する,トマト根 面細菌の接種菌密度の影響。 病原細菌の接種菌密度は 10°CFU/ml.

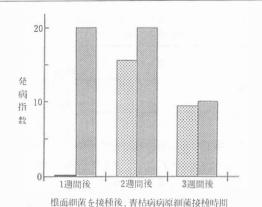


図-7 水耕栽培トマト青枯病に対する,トマト根面細菌接種による防除効果持続期間 図:根面細菌無接種、圏:接種

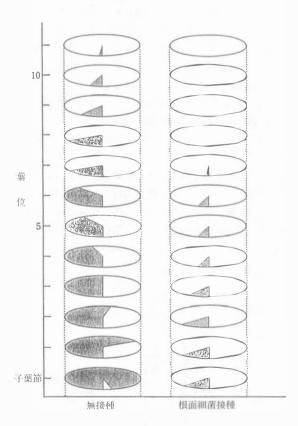


図 - 8 水耕栽培トマトの茎に背枯病病原細菌を針接種した場合の、トマト根面細菌接種の影響 総は葉位ごとの維管束褐変程度を表す。

に針接種したところ, R-2 菌株無接種区では接種部位に え死がみられた。また導管褐変程度 (図-8), 菌泥噴出, 罹病指数などすべてにおいて R-2 菌株接種区では有意 に低く, 地上部生体重は勝っていた。これらの結果か ら,防除機作は主として根面細菌 (R-2 菌株) により, トマト植物体に抵抗性が誘導されたことによると考えられる (駒田ら,1994)。

#### Ⅴ戦略と展望

土壌病害の防除を困難にしている最大の理由は、土壌の存在である。土壌病害防除の目的で土壌に施用された化学物質はことごとく土壌中の粘土粒子や有機物に吸着され、そこに生息する微生物によって分解されて、土壌中にくまなく分布する土壌病原菌との接触を果たせない。拮抗微生物による生物防除にあっても、土壌粒子による吸着、土壌微生物との争いによる定着不良、そのうえ貧栄養条件下での抗生物質産生の不良、産生された抗生物質の吸着と分解等の理由から、その前途は決して楽観視できない。

ひるがえって養液栽培における土壌病害の生物防除に ついて考えてみよう。一口に養液栽培といっても、培養 液のみで栽培する水耕から、ロックウールのような支持 体を用いるものまであり、また培養液の供給方式につい ても循環式と非循環式があるなど実に様々なシステムが ある。システムにより若干状況に違いはあるが、共通し ていえることは、①作物根が比較的露出状態にあるこ と、②培養液の供給系があること、そして、③土壌に比 し微生物相の発達が貧弱であること、である。根が露出 状態にあって培養液の供給系をもつということは、拮抗 微生物の接種が容易なことを意味し、必要あれば毎日で も追加接種が可能なことを意味する。土壌微生物相の発 達が貧弱ということは、接種した拮抗微生物の定着が比 較的容易なことを意味する。このように養液栽培の場 合、土壌病害の生物防除に際して常にその解決を求めら れる接種と定着の問題について有利性をもっているわけ で、その前途は有望ということができよう。

次に有効な菌株の選抜の問題について考えてみよう。 筆者らは上に紹介した研究に着手するに当たり、まず一般に土壌病害の生物防除の際に行われているように、in vitro スクリーニングすなわち平板培地上で拮抗を示す菌株の選抜を行い若干の菌株を得た。しかしやがてこの砂の中から砂金を探すにも似た作業に疑問を感じるようになった。すなわち、「きわめて栄養豊富な培地上で拮抗(ほとんどの場合抗生物質産生による)を示した微生物が、極めて貧栄養な培養液中でも拮抗を示す保証がどこにあるのか、もしかりに抗生物質が産生されても、きわめて速やかに培養液中に拡散してしまうのではないか」、「かりに in vivo(in situ、培養液、植物、病原菌、被検菌のすべ てが存在する検定系)で有効な微生物が得られたとして も、それはその微生物がたまたま豊栄養条件下でも、ま た貧栄養条件下でも抗生物質を産生する能力を併せ持ち 合わせていたか、それとも抗生物質産生以外の何らかの (例えば抵抗性誘導)能力をも併せ持っていたに過ぎない のではないか」という疑問である。

そこで、萎ちょう病菌に対しては土壌中から分離した 非病原性 F. oxysporum, 青枯病菌に対しては水耕栽培ト マトの根面と培養液から分離した細菌のすべてについ て、小規模な in vivo スクリーニング系、すなわちいわゆ るブッカケ試験系で生物防除能の検定を行い、有効な菌 株の選抜を行った。この系による選抜は、一般にぼう大 な時間と労力を要するとされる。ところが、意外にも比 較的少数の菌株を扱う中から、高い歩留まりで高度の防 除効果を示す菌株が得られ、上に紹介したような成果が 得られた。なお、念のために in vitro 検定で選抜された 菌株を in vivo 検定系で効果を検討したがすべて無効で あった。また逆に in vivo 検定で高い生物防除効果を認 めた菌株の in vitro 検定系での拮抗能の有無を検討し たが、すべて陰性であった。なお、青枯病菌を対象とし た場合、高い生物防除効果を認めた菌株はすべて水耕栽 培トマトの根面から分離した細菌であり、培養液から分 離した細菌の中には有効なものはなかった。

上に紹介した 4 例のうち 3 例は,主として接種した微生物による抵抗性誘導によるものであった。Lemanceau and Alabouvetteの場合,この研究は彼らが今まで歩んで来た抑止土壌研究にかかわって構築した理論の実証のためのいわばモデル実験としての性格のものであり,その機作を抵抗性誘導によって説明したくないのは心情的には理解できるが,少なくとも非病原性 F. axysporum については抵抗性誘導によって説明するのが無理のないところと考えられる。抵抗性誘導による生物防除は,効果の持続期間がたかだか 1 週間程度と短いため,追加接種の不可能な土耕の場合は実用性に難があった。しかし養液栽培では,上述のように追加接種が容易であり,この

問題は解消されるので、土耕の場合に一般に有望視される抗生物質産生微生物よりもむしろ有望と考えられる。 今後は、様々な土壌病原菌を対象として、in vivo スクリーニング系によった抵抗性誘導微生物に焦点を当てた選抜により、有効な生物防除技術が開発されることに期待したい。

#### おわりに

野菜・花き生産の最大の阻害要因である土壌病害の回避を最大の動機として始めることの多い養液栽培も、やはり土壌病害に悩まされるのは皮肉である。ところが、養液栽培における土壌病害の生物防除は、上述のように土耕に比し種々有利な点があるにもかかわらずなぜか研究例は乏しい。それは多分、土壌を対象とした生物防除研究の困難さに恐れをなしたものであろう。Ecology of Soil-borne Plant Pathogens, Prelude to Biological Control (1963年の第1回国際土壌病害シンポジウムのテーマ)を念頭に、40年間土壌病害の生態・生物防除の研究を続けてきた筆者にとって、本稿で紹介した二つの成功例は、土からの逃避ではないのかと内心じくじたるものを感じつつ筆をおく。

#### 引用文献

- EPARVIER, A.et al. (1991) : Microbial Ecology 86: 177~184.
- 2) Kloepper, J. W. et al. (1980): Curr. Microbiol. 4: 317~320.
- 3) 川島隆弘ら(1994):日植病報(講要) 60:334.
- 4) 駒田 旦ら (1993a):島根病虫研報 18:27~30.
- 5) ら (1993b):日植病報 (講要) 59:315.
- 8) Lemanceau, P. and C. Alabouvette(1991): Crop Protection 10:279~286.
- 9) 牧野孝宏・熊倉和夫 (1993): 日植病報 (講要) 59:
- 10) ―――ら(1994):同上(講要) 60:334.
- PARK, C-S. et al. (1988) : Phytopathology 78: 190~ 194.
- 12) Sher, F. M. and R. Baker (1982) : ibid. 72: 1567  $\sim$  1573.

#### 主な次号予告

次 11 月号は**「害虫の微生物的防除」**の特集号です。 予定されている原稿は、下記のとおりです。

1 微生物的防除の現状と展望

岡田斉夫

2. イネ害虫の微生物的防除

松井武彦

3. 畑作害虫の微生物的防除

田中 章

4. 施設害虫の微生物的防除

西東 力

5. 果樹害虫の微生物的防除

柏尾具俊

6. チャ害虫の微生物的防除

西 八束・野中寿之

7. クワ害虫の微生物的防除

山下早苗 藤家 梓

8. 芝草害虫の微生物的防除

9. 森林害虫の微生物的防除

島津光明

(リレー随筆) 植物検疫の現場から

定期購読者以外のお申込みは至急前金にて本会へ 定価1部800円 送料76円

#### 寄生蜂によるアザミウマ類の生物的防除の可能性

――アザミウマヒメコバチを中心に―

島根県農業試験場 村 井 保

#### はじめに

アザミウマ類は近年各種作物で大きな問題となっており,特に施設栽培の野菜・花き類では難防除害虫として 位置づけられている。

アザミウマ類の防除には、これまで既存農薬の効果の 検討はもとより、新農薬の開発にも大きな努力が費やさ れてきた。また、被覆資材として紫外線カットフィルム の利用やマルチへの粘着物質の塗布など、様々な物理的 及び耕種的防除技術も開発されてきたが、アザミウマを 長期間経済的許容密度以下に抑えることは困難である。 頻繁な農薬散布は薬剤抵抗性を発達させるだけでなく、 散布者の健康管理上にも大きな影響を与えることが懸念 されている。また、近年、消費者の低農薬生産物に対す る要望が大きくなっている。

そこで、天敵利用による施設果菜類のアザミウマ類制御技術を開発するため、岡山県を中心として、兵庫県、和歌山県及び島根県の共同研究が1992年に開始された。島根県を除いた3県ではナスのミナミキイロアザミウマ(Thrips palmi)を対象とし、島根県ではピーマンのヒラズハナアザミウマ(Frankliniella intonsa)を対象とした。一昨年、島根県にもミナミキイロアザミウマの発生が確認され、今後はミナミキイロアザミウマについても検討する予定にしている。現在、各県はそれぞれ異なった天敵による防除効果を検討し、実用化に向けて研究を進めているところである。島根県ではアザミウマの寄生蜂アザミウマヒメコバチ(Ceranisus menes)の大量増殖と利用技術を中心に検討している。

アザミウマの寄生蜂については、古くは 1937 年に、我が国から幼虫寄生蜂であるアザミウマヒメコバチを採集してハワイのネギアザミウマ防除に導入されたことがある (Sakimura, 1937)。しかし、施設栽培では全く利用されていない。その理由として、継続的に放飼するための大量増殖技術が未確立であることがあげられる。

広瀬ら (1992) は、東南アジアでミナミキイロアザミウマの天敵探索を行い、タイで 2 種の寄生蜂と 6 種の捕食虫を確認した。そのうち SAKIMURAが採集したものと同

Possibility of Biological Control of Thrips by Parasitoid, Ceranisus menes. By Tamotsu Murai



図-1 アザミウマ幼虫とアザミウマヒメコバチ

種とされているアザミウマヒメコバチが、最も有力な天 敵と目された。

これに先立ち,筆者は島根県や茨城県でこの寄生蜂を採集し,生態を明らかにしている (1988)。また,筆者が開発したアザミウマ類の簡易飼育法を利用した寄生蜂増殖法や,アザミウマヒメコバチによるアザミウマ類防除の可能性を検討しているので,これまで得られた成果を紹介したい。

#### I アザミウマと寄生蜂の簡易大量飼育法

アザミウマ類の天敵を増殖するには、寄主となるアザミウマ類の増殖方法を確立しなければならない。筆者ら(1982)は、マツやチャなどの植物の花粉を用いてアザミウマ類を飼育できることを明らかにしているので、これらの知見をもとに天敵増殖に適した飼育法の改良を試みた。アザミウマとその寄生蜂の大量増殖手順は図-2に示したとおりである。

#### 1 アザミウマ類の採卵方法

アザミウマ亜目に属するアザミウマ類は植物組織内に 産卵する。そのため、寄主植物から直接採卵するには、 多大な労力と時間を要する。そこで、より効果的に大量 に採卵する方法を開発した。飼育容器として、内径8 cm, 高さ5cmのアクリル製円筒容器を用い,下面に60 $\mu$ mのゴースを張りつけた。この容器の中にアザミウマ成虫とチャの花粉を入れ,上面をシーロンフィルムで覆う。そして,約4mlの水を載せたのち,小型プラスチックシャーレの蓋で覆う(図-2-I)。こうすることによって水の中に産卵させる。水をフィルムでサンドイッチにするための特別なテクニックも必要ではなく,採卵も容易となる。ヒラズハナアザミウマとミカンキイロアザミウマについて、20°Cで1容器当たり雌成虫100頭飼育した場合の1日当たり産卵数を表-1に示した。

この方法で産卵させた卵を、吸引沪過器を利用した卵回収装置で沪紙に吸着させる(図-2-II、III)。その回収率は80%以上である。

現在,20℃の定温室で,容器当たり約300頭のヒラズハナアザミウマやネギアザミウマ雌成虫を入れ,毎日2,000卵以上回収している。

#### 2 アザミウマ類幼虫のふ化と効率的回収法

天敵の増殖には発育のそろったアザミウマふ化幼虫を 大量に準備しなければならない。そこで、前記のように して得た卵を効率よくふ化させる方法を開発した。すな

表-1 ヒラズハナアザミウマとミカンキイロ アザミウマの産卵数

100 雌当た	りの産卵数		
ヒラズ ミカン			
815.33±77.5	269.7±30.6		

20°C, 16L8D

わち、回収卵のふ化前日に、チャの花粉を微量(約1 mg)載せたフィルム片(約2 cm 角)を沪紙周辺に置いたのち、花粉の上に紙片をかぶせる(図-2-IV)。ふ化した幼虫は紙片とフィルムの間の花粉に集まるので、それを回収する。ふ化幼虫を細い筆などで1個ずつ移さなくてもフィルムごと移すことができる。 $20^{\circ}$ Cで 24 時間産卵させた卵を用いた場合、ふ化幼虫の回収には2 日を要し、回収率は1 日目で約70%、2 日目では90%以上となった。また、ふ化直前の卵を $5^{\circ}$ Cに1 週間保存し、発育のそろったふ化幼虫を大量に得ることが可能である。

#### 3 アザミウマ類の飼育効率

取り扱いが容易で、容積が少ない前述の採卵容器を用いて、アザミウマ幼虫の飼育効率を検討した。容器当たりマツの花粉 100 mg と 10% 蜂蜜液 4 ml を与えて、20℃で飼育した(図-2-V)ところ、ふ化幼虫の 80~90%が羽化した。羽化率は飼育密度によって多少左右されるものの、飼料交換の必要もないので、簡便かつ効率的な飼育方法であり、1 容器当たり 400~500 頭の飼育が可能である。ヒラズハナアザミウマより小さなアザミウマではより大量に飼育でき、ネギアザミウマでは 800 頭以上の飼育も可能である。

#### 4 アザミウマヒメコバチの飼育手順

アザミウマ類の飼育容器を活用してアザミウマヒメコバチを大量飼育できる(図-2-V)。すなわち、前述の容器に10頭の寄生蜂雌成虫とアザミウマふ化幼虫500~700頭とを入れ、過寄生を避けるため3日後に蜂だけ回収する。アザミウマ幼虫はそのまま飼育し、寄生蜂の前蛹が判別できる段階で、前蛹を吸虫器で回収する。こう

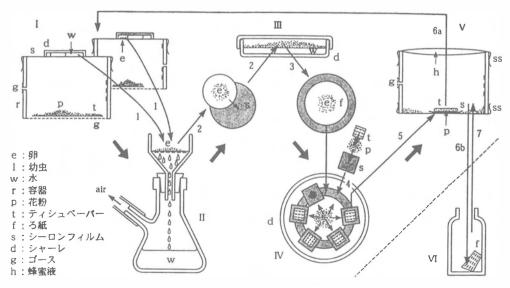


図-2 アザミウマとその寄生蜂の大量飼育手順

することによって 500 頭以上の寄生蜂蛹を回収できる。 回収した前蛹を吸引沪過器で沪紙に吸着させたのち,微 生物による汚染を防ぐため 70%アルコールで数秒間消 毒する。この前蛹の付着した沪紙を 2~3%の素寒天を流 し込んだサンプル瓶に入れ約 100 日間保存することがで きる(図-2-VI)。

#### Ⅱ アザミウマヒメコバチの生態

#### 1 寄生性

アザミウマヒメコバチはヒラズハナアザミウマのほか、ハナアザミウマ、ビワハナアザミウマ、ネギアザミウマ、ダイズウスイロアザミウマ、ミカンキイロアザミウマ、ミナミキイロアザミウマ、及び Frankliniella shultzei に寄生することを確認した。一方、カキクダアザミウマなどのクダアザミウマ亜目の種に対しては産卵行動は認めるものの、次世代を得ることはできなかった。したがって、本寄生蜂はアザミウマ亜目に属する数種に広く寄生すると思われる。

産地の異なるアザミウマヒメコバチの5種アザミウマに対する寄生性を検討したところ、ネギアザミウマ、ヒラズハナアザミウマ及びミカンキイロアザミウマに対しては供試した12系統ともよく寄生した。ハナアザミウマでは2系統が寄生したが、他の系統は寄生率が低かった。ミナミキイロアザミウマに対しては3系統が寄生したが、寄生率は低かった(表-2)。

#### 2 発育

アザミウマヒメコバチの発育期間は寄主のアザミウマ

表 - 2 産地の異なるアザミウマヒメコバチの 5 種アザミウマに対 する寄生性

7 11 2 4 -	寄主アザミウマと寄生						
アザミウマ ヒメコバチ の系統名	ネギアザ ミウマ	ヒラズハ ナアザミ ウマ	ハナアザ ミウマ	ミカンキ イロアザ ミウマ	ミナミキ イロアザ ミウマ		
AB	0	0	Δ	0	-		
CAB	0	0	×	0	Δ		
E	0	0		0	Δ		
H	0	0		0			
KEST	0	0	Δ	0	_		
MAX	0	0		0	_		
PESC	0	0	×	0	_		
PY	0	0	×	0	_		
TUKUBA	0	0	0	0	Δ		
VELD	0	0	Δ	0			
YOLO	0	0	_	0	_		
No. 3-3	0	0	0	0	×		

◎:よく寄生, △:寄生するが少ない, ×:寄生しない, -:未調 査 によって異なり、日本産のアザミウマヒメコバチでは、ハナアザミウマを寄主として飼育した場合、ヒラズハナアザミウマ、ネギアザミウマを寄主とした場合に比べ、卵〜幼虫期間がいくぶん短縮される。しかし、寄主による蛹期間には差異が見いだされなかった(村井、1988)。また、寄生蜂の大きさはミカンキイロアザミウマやヒラズハナアザミウマを寄主とした場合に大きかった。卵〜成虫羽化までの発育期間は個体間の変異が大きく、特に蛹期間に大きな変異性が認められた。卵〜幼虫期の発育は温度に依存し、温度が高まるほど発育が促進される。蛹期間も温度にによって左右され、20℃以下では100日以上、22.5℃以上では40日未満である(表-3)。

また、アザミウマヒメコバチの発育期間は一定ではなく、採集地点による差異が見いだされ(表-4)、ブラジルとスペイン産はフランス産に比べ、羽化までの発育期間がより短い(Murai and Loomans, 1993)。一方、蛹期間は同一系統でも累代飼育の世代によって異なり、日本産の2・3世代は40日以上を要するのに対し、4・5世代の半数は40日未満で羽化する(図-3)。世代による蛹期間の短縮はいずれの系統においても見いだされる現象で、親世代の蛹期間が30日未満の個体でその現象が顕著である。また、蛹期間が30~60日、60日以上の個体の次世代では蛹期間の変異幅が拡大する(村井、1988)。

通常の飼育条件では蛹の羽化は不斉一で長期分散型を 示すが、蛹の低温処理により羽化の斉一化を図ることが

表-3 飼育温度とアザミウマヒメコバチの発育期間

温度	発育期	間 (日)
(°C)	卵~幼虫期	蛹 期
15.0	22.8±0.9	107.1±14.7
17.5	18.2±1.6	133.4±26.7
20.0	13.5±1.0	105.9±63.1
22.5	10.3±1.0	38.2± 8.3
25.0	$8.4 \pm 0.8$	38.5± 7.4

表 - 4 各種系統間におけるアザミウマヒメコバチの発 育期間と産卵数の差異

寄生蜂	発育期間 卵~成虫(日)	平均産卵数	寄主名
ブラジル	28.53± 1.96	59.3	ミカンキイロ
スペイン	28.39± 1.46	48.5	"
フランス	$33.21 \pm 10.82$	139.1	n
筑 波	32.28± 3.89	74.2	ヒラズ
出雲	$46.50 \pm 7.40$	161.8	"

25°C, 16L8D

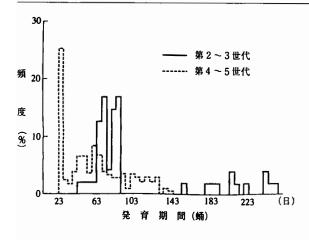


図-3 アザミウマヒメコバチの発育期間における世代間 の差異 飼育条件:21℃, 16L8D

可能で,5°Cの28日間処理で70%の個体がおよそ30日後までに羽化する。ただし,22日未満あるいは35日以上の処理ではその効果は認められない(村井,1988)。

#### 3 増殖

25°Cで飼育したアザミウマヒメコバチ各系統の産卵数 (蛹化数で評価) は,表-4 に示したとおりである。寄主をヒラズハナアザミウマとして飼育した国内産では,出雲系統が,平均約 160 個と最も多く,280 個を記録する個体も見いだされた。ミカンキイロアザミウマで飼育した海外産では,フランス系統の産卵数が多く,スペインとブラジル系統は比較的少ない。したがって,系統間の増殖程度に明確な差異があると判断される(Murai and Loomans, 1993)。

#### Ⅲ アザミウマヒメコバチの採餌行動

天敵の機能を評価する規準として最終的に圃場での防除価が最も信頼できるが、これに先だつ室内試験法として、採餌行動をはじめとする天敵の一連の行動解析が重視されている(Noldus, 1989)。ミカンキイロアザミウマの1齢幼虫30頭を入れた径3cmの小さな容器に放ったブラジル産系統は、国内産の筑波系統に比べて歩行時間の割合が多く、寄主攻撃の頻度が高い。その反面、寄主幼虫10頭当たりの産卵所要時間が少なく、寄生成功率は低い(表-5)。また、ブラジル産系統では寄主の体液摂取個体が極端に少なく、その頻度も低い(表-6)。これらの知見はアザミウマヒメコバチの系統間に、採餌行動をはじめとする一連の行動に差異があることを示唆しており、これらの行動を解析することによって、利用目的に沿った天敵を選抜できると考えられる。なお、寄主体

表-5 アザミウマヒメコバチの採餌行動

 寄生 系		歩行時間 の割合(%)	産卵所要時間* (秒)	寄生成功率 (%)	アザミウマ ハンドリング (%)
ブラ	-	70	1341	48	29
筑	波	40	3288	80	31

\*:ミカンキイロアザミウマ1齢幼虫10頭当たり

表-6 アザミウマヒメコバチの寄主体液摂取行動

寄生蜂	寄主	調査数	寄主体液摂取行動			
可工坪			蜂数	頻度	摂取時間(秒)	
ブラジル	F. o	14	1	1	158	
筑 波	F. o	9	7	9	133	

F. o: ミカンキイロアザミウマ

液摂取行動は天敵機能を評価する重要な指標となり得よう。

#### IV 農薬の影響

総合的害虫管理 (IPM) を目指す上で天敵と農薬を相補的に使用することが求められる。現状では農薬は主要な管理素材であり、天敵を導入するとき、これらの農薬の天敵への影響を考慮しなければならない。

アザミウマヒメコバチに対しては簡単な試験が行われているに過ぎないが、現在市販されている DDVP乳剤、PAP乳剤、ダイアジノン乳剤、メソミル水和剤、フェンバレレート・マラソン水和剤、エトフェンプロックス乳剤、カルタップ水溶剤、チオシクラム水和剤、クロルフルアズロン乳剤に強い感受性を、ペルメトリン乳剤、アセフェート水和剤に感受性を示すことがわかっている。また、テフルベンズロン乳剤及び BT 水和剤には比較的低い感受性を示したので、本寄生蜂を用いた実際の害虫防除体系にこれら 2 剤の併用が可能と言える。

#### 今後の問題点

- ① 蛹期間が長いことは天敵の輸送や保存にとって好都合である。しかし、30日以内に羽化する個体が50%前後であることから、放飼するときの時間的損失が多いと思われる。蛹の低温処理によりいくぶん羽化の斉一化をはかることが可能であるが、大量放飼にあたってはこの点を十分考慮しなければならない。
- ② 本寄生蜂は薬剤に対する感受性が高いので、殺菌剤、殺ダニ剤、植物生長剤を含む各種薬剤の影響を十分 把握しなければならない。また、成虫への影響が少ない

薬剤についても、次世代に及ぼす影響を検討する必要がある。さらに永井(1993)がミナミキイロアザミウマに対するナミヒメハナカメムシで示したように、選択的薬剤の探索も今後必要と考える。

- ③ 本寄生蜂で見いだされた発育,増殖,寄生性,採 餌行動の系統間差異は利用目的に沿った天敵の選抜指標 となる。
- ④ 圃場レベルの試験は今後の重要な課題であり、他の病害虫との関係を考慮しながら、本寄生蜂の利用方法を確立しなければならない。
- ⑤ 海外から導入する天敵については、植物検疫上大きな問題はないが、在来天敵に対する影響をはじめ生物の多様性の問題に対して何らかのガイドラインが必要である。また、生物農薬として販売されるためには農薬登録をクリヤーしなければならず、生物農薬としての登録基準の確立とともに、登録手続きの迅速な処理が期待される。
- ⑥ 最後に、天敵の実用化に向けた研究がいくら進展しても、天敵増殖体制が整っていなければ絵に書いた餅である。世界的にも天敵の需要は大きくなっているの

で、世界の市場も考慮する増殖企業の設立が望まれる。

#### 参考文献

- 広瀬義射編(1989):侵入害虫ミナミキイロアザミウマ の東南アジアにおける天敵探索,九州大学生防研, 58pp-
- 2) ------- ら (1992):植物防疫 44:27~30-
- Lewis, T. (1973): Thrips: their biology, ecology and economic importance. Academic press, 349pp.
- LOOMANS, A. (1991) : SROP/WPRS Bull. 14 (5) : 73~82.
- Meiracker, R. A. F. van den and M. W. Sabelis (1993): Bullten OILB/SROP 16 (2): 109~112
- 6) 村井 保・石井卓尓 (1982): 応動昆 26:149~154
- 7) (1988):島根農試研報 23:1~73
- 8) Murai, T. (1990) : SROP/WPRS Bull. 8 (5) : 142~ 146-
- 9) and A. LOOMANS (1993): Proceedings of The 1993 International Conference on Thysanoptera. (Edited by T. Lewis, B. Parker and M. Skinner)
- 10) 永井一哉 (1993) : 岡山農試臨時報告 82:55p.
- 11) Noldus, L. (1989); Wageningen University 252pp.
- 12) RAMAKERS, P. M. J. and R. A. F. VAN DEN M EIRACKER (1992): Annual Report 1991 of Research Institute for Plant Protection. Wageningen, 9~21.
- SANIMURA, K. (1937) ; J. Econ. Entomol. 30 ; 799~ 802.

## 正確・迅速をモットーに時代のニーズにお応えします。

## 業務内容

#### ●依頼分析

植栽地、緑地……植栽地土壌、客土の物理性、化学性分析

考古学分野-----遺跡土壌などの化学分析

農耕地・その他の土壌…土壌の物理性、化学性分析

植物体分析……植物体の無機成分分析

肥料分析………植物質、動物質、無機質肥料の分析

土壌汚染-----土壌汚染物質の分析

その他、水質、産業廃棄物の分析は、その都度ご相談に応じます。

#### ●土壌調査および植生テスト

依頼分析のための土壌調査、採取、および活性汚泥、産業廃棄物 に係わる植生テストなどもご相談に応じます。

#### パリノ・サーヴェイ株式会社

地質調査業者 質80-982 計量証明事業 群馬県 環 第17号 本 社 〒103 東京都中央区日本橋室町2-1-1三井ビル TEL 03(3241)4566 FAX 03(3241)4597 研究所 〒375 群馬県藤岡市岡之郷戸崎559-3 TEL 0274(42)8129 FAX 0274(42)7950

#### 最近の PGPR (植物生育促進性根圏細菌) 研究の現状と展望

福井県立大学生物資源開発研究センター 岡 本 博

#### はじめに

第3回国際植物生育促進性根圏細菌(Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: PGPR)ワークショップが、1994年3月7~11日、オーストラリアのアデレード市で、23か国から100名以上が出席して開催された。今回このワークショップに参加する機会を得たので、そこで発表された88の研究課題のうち私が理解でき、かつ、興味を持った報告について、会場での発表と、RYDER et al. (1994) によって編集された Proceedings をもとに分野別に紹介したい。

#### I PGPR の植物生育促進効果

Backman et al. (Part 1:3) は,200万haにも及ぶ広大な圃場で実施した試験結果を報告している。Bacillus subtilis GB03を10品種のワタ種子にコーティングすることで、Rhizoctoniaに起因する苗立枯病とFusarium oxysporum f. sp. vasinfectum による苗萎ちょう病の発生を同時に防除した。土壌殺菌剤(Metalaxyl、PCNB、Carboxin)と組み合わせて種子処理したとき、9品種で増収が確認され、平均すると13.2%増となった。また、Brannen et al. (Part 1:83)によると、GB03株は、F. solaniに起因するワタ萎ちょう病にも防除効果を示したと報告している。

MEW et al. (Part 1:9) は,イネの紋枯病と,いもち病に対して, 蛍光性 pseudomonads,非蛍光性 pseudomonads,及び Bacillus spp. を供試した。この研究は,アジアの国々(中国,インド,インドネシア,韓国,マレーシア,タイ,フィリピン,ベトナム,IRRI)の間で情報交換しながら実施された。乾期と雨期による気象条件の違いや,各国間の土壌条件の違いなどによって,成果にばらつきがあり,一貫した評価が得られなかった。

WEI et al. (Part 1:70) は,2年以上にわたる圃場試験の結果から、Pseudomonas putida 89B-61、Serratia marcescens 90-166、Flavomonas oryzihabitans INR-5を、それぞれキュウリ苗に処理したところ、全身抵抗性

Plant Growth-Promoting Rhizobacteria—Progress and Prospects. By Hiroshi Окамото

が誘導され、P. syringae pv. lachrymans に起因する斑点 細菌病を抑制した。その上、Colletotrichum orabiculare の自然感染による炭そ病をも抑制し、結果的にランナーの伸長、展開葉数の増加、果実の増収をもたらした(Wei et al., 1991)。

STEPHENS et al. (Part 1:57) によると、Gaeumannomyces graminis var. tritici (Ggt) によるコムギ立枯病は、P. corrugata 2140R の土壌灌注処理及び種子コーティング処理により、軽減されることが既に明らかにされているが、ミミズの成虫(Aporrectodea trapezoides)を土壌混入したところ、さらに苗条の生育が促進され、Ggt 無接種区と苗条乾重で同レベルに達した。この原因を、ミミズが PGPR の根面定着能にプラスに関与したためと考察しているが、Ggt 無接種区に、ミミズだけ混入しても、促進効果は得られなかった。

CHANWAY et al. (Part 1:72) の報告によると、針葉樹 (トウヒ)の根圏土壌及び根組織内から苗生育を促進するエンドファイト, Hydrogenophaga pseudoflava M19を分離した。森林土壌の異なる3地点でM19株処理による苗生育を検討したところ、いずれの土壌条件下でも、根乾重で $14\sim41\%$ ,苗条乾重で $2\sim49\%$ だけ生育が促進された。さらに、栄養条件の貧弱な土壌ほどその効果は顕著であった。

#### Ⅲ PGPR の植物生育促進機構

#### 1 抗菌性代謝産物の機能発現における相互関係

P. fluorescens CHAO は、数多くの抗菌性代謝産物を産生し、Ggt に起因するコムギ立枯病をはじめ、各種土壌病害の生物防除と関連作物の生育促進に広く効果を発揮している (Défago and Hass, 1990)。最近では、タバコ根面へ定着して、TNV に起因するタバコネクロシス病に対する抵抗性を葉に誘導することも報告されている。

MAURHOFER et al. (Part 2:117) は,CHAO 株によって生産された各種代謝産物の,植物生育促進や植物病害抑制にかかわる機構を解明するため,代謝産物ー宿主植物一病原菌の相互関係を1989~1994年にかけて詳細に研究してきた。すなわち,トランスポゾン Tn5 の挿入により,代謝産物非生産性の突然変異株を作出することから始めた。そして作出された変異株が,病害抑制能を失

活したとき, クローン化された野生型遺伝子の相補性実験により, 代謝産物生産と病害抑制能を復活させ, 相補性に対応する遺伝子の検出とシークエンスを試みた。

その結果、pyoverdine 非産生変異株(Pvd-)は、 Thielaviopsis basicola によるタバコ黒根病と、Ggt 及び Pythium ultimum に起因するコムギ立枯病に対し野生 株と同じ抑制能を示したが、TNV に起因するタバコネ クロシス病に対し誘導抵抗性を喪失した。

pyoluteorin 非産生変異株(Plt-)は,*P. ultimum* に起因するオランダガラシ苗立枯病に対し発病抑制能を喪失したが,*P. ultimum* に起因するキュウリ苗立枯病とコムギ苗立枯病に対し野生株と同程度の発病抑制効果を示した。

2, 4-diacetylphloroglucinol 非産生変異株 (Phl-)は, *T. basicola* によるタバコ黒根病と Ggt によるコムギ立枯病に対して発病抑制能を喪失したが, *P. ultimum* によるキュウリ立枯病抑制能は保持されていた。

HCN 生産遺伝子(hcn)は,Lavilleによって検出され, $\rho$ ローン化及びシークエンスされた。hcn 遺伝子欠損変異株 (hcn-) は,T. basicola に起因するタバコ黒根病,P. ultimum に起因するキュウリとオランダガラシ苗立枯病,R. solani に起因するワタ苗立枯病を抑制したが,P. ultimum や R. solani に起因するトウモロコシ立枯病と,Ggt, P. ultimum, R. solani に起因するコムギ立枯病に抑制効果が認められなかった。

LAVILLE et al. (1992) によって,代謝産物である抗生物 質及びシアン化物の包括的活性化遺伝子として, gacA 遺伝子 (global activator gene of antibiotic and cyanide synthesis) が検出され、クローン化及びシーク エンスされた。gacA 遺伝子欠損変異株(gacA-)は、 HCN, Phl, Plt, protease, そして phospholipase の生 合成能が欠損したもので、T. basicola によるタバコ黒 根病と、P. ultimum によるキュウリ苗立枯病の発病抑 制能を喪失したが、P. ultimum と Ggt によるコムギ立 枯病, P. ultimum によるトウモロコシ立枯病に対して は野生株と同じ抑制効果が確認された。さらにタバコ葉 には TNV 抵抗性も誘導された。gacA-株で過剰生成さ れる Pvd の影響を除外するため、gacA-株と Pvd-株と のトリペアレント接合 (triparental mating) によって, 非蛍光性 gacA-株を得た。この変異株は、P. ultimum によるコムギ立枯病に対して野生株と同じ発病抑制効果 を示した。

CHAO 株染色体 DNA の 22kb 断片を担っている組換 えコスミド, pME3090 が導入された CHAO/

pME3090 株がコムギ根圏で Plt 及び Phl の生産を促進 した。この抗生物質生産過剰を発現したトランスコンジ ュガントは、P. ultimum, Phomopsis sclerotioides, F. oxysporum f. sp. cucumerinum に起因するキュウリの 病害と T. basicola に起因するタバコ黒根病の発病抑制 を強化促進した。しかし、スイートコーン、オランダガ ラシ、そして一部のタバコの生育には有害に作用した。 そこで,代謝産物の生産過剰の原因となるゲノム領域の 大きさを,サブクローニングとトランスポゾン Tn1737Cm による突然変異誘発によって, 2.3kb まで減 らすことができた。その結果, IncP ベクターにクローン 化された 2.3kb 断片は,野生株と比べて 6 倍量 (27 μg/ ml) の Plt と, 1.5 倍量 (7  $\mu$ g/ml) の Phl を生産するこ ととなり、このクローン化断片に、Plt と Phl の生合成を 制御する調節遺伝子が保持されていると考えられた (Schnider et al., Part 2: 120).

#### 2 誘導全身抵抗性

 $V_{AN}$  Peer et al. (1991) は,鉄イオンの競合を排除した実験系において、あらかじめ P. fluorescens WCS417をカーネーションに処理したところ、F. oxysporum f. sp. dianthi に起因する萎ちょう病が抑制され、ファイトアレキシン蓄積による誘導全身抵抗性(induced systemic resistance: ISR)が獲得された。しかし、ISR は普通抵抗性品種 Pallas で獲得されたが、感受性品種 Lena では獲得されなかった。さらに、ファイトアレキシン誘導因子が、WCS417株の外膜に存在するリポ多糖質(lipopolysaccharides: LPS)に存在することも明らかにした。

LEEMAN et al. (Part 2:149) は、F. oxysporum f. sp. conglutinans に起因するダイコン萎ちょう病に対して P. fluorescens WCS374のISR と LPS との関係を検討した。抵抗性品種から感受性品種まで 6 品種を供試したところ、全品種で発病が WCS374 無処理区よりも約 20~60% だけ強く抑制された。また、WCS374 株及び WCS417 株における LPSの O-抗原側鎖(O-antigenic side chain)欠損変異株(WCS374OA-,WCS417OA-)では ISR が獲得されず発病抑制効果も発揮されなかったことから、ISR 獲得には LPSの O-抗原側鎖が関与していることを明らかにした。

#### 3 エチレン生合成の制御

エチレンは,植物ホルモンの一種で,植物の生長や開花をはじめ多くの生理現象に関与しているが,促進する場合と抑制する場合がある。また,S-アデノシルメチオニン(S-adenosylmethionine:SAM)から 1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸塩(1-aminocyclopropane-

1-carboxvlate: ACC) を経て,エチレンが生合成される のが主たる経路である。GLICK et al. (Part2:150) は, 土壌微生物にはまれなデアミナーゼ (deaminase) 活性を 持つ P. putida GR12-2 を分離した。デアミナーゼと は, ACC をアンモニアと α-ketobutyrate に加水分解 する酵素で, その分解産物を窒素源として細菌が利用で きる。GR12-2 株から NTG により ACC デアミナーゼ 活性を喪失した突然変異株を3菌株作出した。これら変 異株は、いずれもナタネ幼根の伸長を促進しなかった。 その理由を以下のように推察している。野生株は,ナタ ネの種皮に定着して、発芽中の種子組織内から ACC を 取り込み,アンモニアと α-keto-butyrate に加水分解 し、それを細菌側が窒素源として利用したため、種子に 含まれる ACC レベルが低下した。そのため、幼根でのエ チレン生成が減少し, エチレンによる植物生育抑制作用 が制御され、結果的に幼根の伸長が促進された。一方, 変異株では、ACCを取り込んでもデアミナーゼ活性を喪 失しているため利用できず, 発芽種子に再び取り込ま れ、ACC はすべてエチレン生合成に利用された。この場 合、PGPR としての働きはなく、幼根伸長は細菌無処理 区と同程度となった。エチレンは、種子の休眠打破を刺 激するのに必要ではあるが、その後の生育には、抑制的 に作用するという報告があり、このことを利用して, Pharis et al. は、エチレン合成阻害剤 aminoethoxyvinyl-glycine をナタネ種子に処理して,発芽後の生育を 促進させた。

さらに,この野生株 GR12-2 の特徴としては,低温条件下の土壌中でも耐久性を有し増殖可能なことである (Sun et al., Part 2:153)。 $5^\circ$ Cの低温条件下で培養する と,不凍性タンパク質(antifreeze protein(s):AFP)を生合成し培地中に分泌する。その結果,土壌中での PGPR の耐久生存性とナタネ苗根の伸長を促進した。このことから,寒冷地においてもナタネ苗根の伸長促進を 可能にさせる特異的な PGPR であることが判明した。

#### Ⅲ 根圏での生態と定着性

 $H_{AHN}$  et al. (Part 3:163) は,土壌からの直接検出法として,オリゴヌクレオチドプローブを作成した後,PCR (polymerase chain reaction) によって標的遺伝子を増幅する方法について総説している。また, $H_{ARTMANN}$  et al. (Part 3:185) は,Azospirillum 属について,種レベルの違いはオリゴヌクレオチドプローブ法を用い, $A.\ brasilens$  の菌株レベルでの選択検出にはモノクローナル抗体を利用して,コムギ根の表面には  $A.\ brasilens$  Sp7 が,根の組織内部には Sp245 株が遍在することを明

らかにした。

NAYUDU et al. (Part 3:181) は,コムギ立枯病の生物防除資材として有効な Pseudomonas sp. AN5 の各種植物根面定着能を調べるため,luciferase 遺伝子 (lux) を持つトランスポゾン Tn4431 を AN5 株に導入して生物発光を有する AN5 lux 株 (AN5::Tn4431) を作出した。その結果,供試したすべてのコムギ品種によく定着し,広く他の作物根にもその定着能が確認された。意外なことに,コムギとは分類上遠縁なモクマオウ属(Casuarina) や,アボガド属 (Persea) にも強い根面定着性が認められた。

Liu et al. (Part 3:210) は、P. putida 89B-27 と E. coli DH5a (pUCD623) を接合させ、生物発光能を付与した P. putida L211 を作出し、キュウリの種子、根、茎、根圏での定着性を 4 週間にわたって経時的に調べた。L211 株は、キュウリの根圏よりも根面と、根組織内により多数定着した。しかし、根から茎へは移動していなかった。長期間追跡調査する場合、これまでのRifampicin 耐性菌では、根組織内に定着している間に、耐性を喪失して、再分離が困難になることから、このような、生物発光標識システムは、根圏や根組織において、細菌を正確に検出するのに有効な手法となる。

CHEN et al. (Part 3:191) は,健全なスイートコーンとワタの植物組織内からのみ分離されたエンドファイト (endophytic bacteria) の,作物生育や生物防除に果たす役割を検討した。特に,ワタから,22 属 170 菌株のエンドファイトを分離し,F. oxysporum f. sp. vasinfectum に起因するワタ萎ちょう病との関係を調べた。感受性品種の茎にエンドファイトを注入して選抜を繰り返したところ,8 菌株で顕著な発病抑制効果と,生育促進効果が確認され,ワタ茎中での増殖も確認された。

#### IV PGPR の機能増進

PGPR の根への定着性は、宿主植物からの分泌物をどれだけ利活用できるかによって左右されると考えられるが、それを証明する明確な報告が少ない。そこで、Farrand et al. (Part 4:233) は、 $Agrobacterium\ tumefaciens$  が、宿主植物に感染して、他の根圏微生物にはほとんど利用できないオパイン (opine) を産生させ、それを炭素源や、エネルギーとして利用し定着性を増強させていることにヒントを得て、オパインを産生する形質転換タバコを作出し、根面定着性に優れた  $P.\ fluorescens$ にオパイン利用能を付与させた突然変異株  $P.\ f.\ -AGR$ と、葉面定着性に優れた  $P.\ syringae$  pv. syringae にオパイン利用能を付与させた突然変異株 Cit7 (pYDH208) を

作出し、相互の関係を検討した。その結果、形質転換タ バコへの根面定着性は、P.f.-AGR 株の単独接種と、オ パイン非利用株 (P, f, -Km) 単独接種では有意な差異は 認められなかったが,両菌株を混合接種したところ,P. f.-AGR 株が定着性に優れていた。一方, 葉面定着性で はCit7(pYDH208) 株のほうが、オパイン非利用株 (Cit::xylE)より大量に定着し,両菌株の混合接種でも 同様の結果を得た。このことから, 作物根面や葉面で生 産,分泌される栄養物に競合が生じたとき,その物質に 対して異化作用をもつ微生物がその場で優位になること が証明された。

Mahaffee et al. (Part 4:245) は、トウモロコシ穿孔 害虫の生物防除に Crv II A &-endotoxin を持つエンド ファイト, Clavibacter xyli subsp. cynodontis が利用さ れていたが、殺虫効果があっても収量は減収した。その 原因は, C. xyli subsp. cynodontis の持つ病原性にある として、ワタやトウモロコシの茎から分離した非病原性 エンドファイト, B. cereus に、Crv II A δ-endotoxin を コードするオペロンを持つプラスミド,pMAU-1をエ レクトロポレーション法により導入して形質転換させ た。その結果、4 菌株に Cry II A & endotoxin が発現さ れ, その LC<sub>50</sub>'S (半数致死濃度) は, 22.2~47.5μg/g・ diet であった。

#### V 微生物農薬

OKON et al. (Part 5:274) は、1974~1994 年にかけ て, 主として Azospirillum brasilense と A. lipoferum を用いて、土壌条件や気象条件の異なる12か国で、コム ギ,トウモロコシ,ソルガムなど農業上重要な16品目の 作物に対する生長促進効果を検討してきた。その結果, 一貫して安定した増収効果を発揮した成功例(イスラエ ルでのソルガムに対する効果, フランスでのトウモロコ シに対する効果など)から,効果のなかった試験例まで 総合すると,60~70%の成功率で,5~30%の増収が得ら れたと評価し、農業上利用価値があるとしている。今回 得られた増収効果は、Azospirillum 属細菌の持つ窒素固 定能には依存せず, むしろ本菌が根の生理活性, すなわ

ち、根毛や側根の伸長を刺激したり、水分や無機物の吸 収を刺激し,indole-3-acetic acid,indole-3-butyric acid, TCA 回路,解糖経路の活性に関与する膜の活性を 刺激するなど、植物の初期生育に重要な影響を及ぼした ためと結論している。

Mohammadi (Part 5:282) は、Streptomyces sp. を主と する微生物農薬, Mycostop を製品化し, 主として温室栽 培の鑑賞植物や野菜のフザリウム病防除に施用してき た。1990~1994年までに、フィンランドを初め、10か国 で粉剤、水和剤として栽培者に利用されている。

#### おわりに

PGPR である蛍光性 pseudomonads では, その研究成 果が年々蓄積され、種レベル、菌株レベルでの遺伝子の 相同性が検討されるなか、新しい作用機構がみつけられ ようとしている。それに伴い,標的微生物の土壌生態系 における動態を明らかにするための土壌中からの特異的 かつ高感度な検出技術も、分子生物学的手法により進歩 してきた。組換え微生物の利用を目指した研究が増加す る中,一方では PGPR 野生株の分離と選抜を,より多く の作物と広範囲の地域で繰り返し行い, 安定的な成果を 得る研究も行われてきた。そんな中で、エンドファイト や、耐寒性微生物の役割も注目され、まだまだ、PGPRの もつ機能には知り尽せぬものがある。次の第4回 PGPR ワークショップが、1997年に北海道で開催されることが 決定し、3年後の開催に向けてその準備が既に始められ ている。日本はもとより、アジア諸国からの研究発表 が、より一層期待されている。

#### 引用文献

- 1) Défago, G. and D. Haas (1990): Soil Biochemistry
- Vol. 6. Marcel Dekker, Inc., NewYork, 249~291.
  2) LAVILLE, J. et al. (1992): Proceedings of the National Academy of Science USA 89:1562~ 1566.
- 3) RYDER, M. H. et al. Eds. (1994): Improving Plant Productivity with Rhizosphere Bacteria, CSIRO Division of Soils, South Australia, 288pp.
- 4) Van Peer, R. et al. (1991): Phytopathology 81:728
- 5) Wei, G. et al. (1991): ibid. 81:1508~1512.

#### 第8回国際農薬化学会議に出席して

---新農薬の開発動向(殺虫剤)----

武田薬品工業株式会社アグロ事業部農薬開発部 壇 辻 寛 和

第8回国際農薬化学会議 (ICPC) は,アメリカ合衆国 ワシントン D.C. で 7月 4~9日に開催された。会議初日 の 7月 4日はちょうどアメリカ合衆国の独立記念日であ り,スミソニアン博物館前の公園では 30°Cを超える炎天 下,パレードや催し物が開催され,夜には花火が打ち上 げられ、お祭気分で盛り上がっていた。

国際農薬化学会議はワシントン D.C. のダウンタウンの北にあるシェラトン・ワシントンホテルで開催され、発表は 10 の部門に分けられ、さらに各部門はシンポジウム、ポスターセッションおよびワークショップの形式で発表計議が行われた。

これらの発表の内,殺虫剤の研究開発動向に関係する ものとして合成及び作用機構の研究発表の内から興味を 持ったものについて報告したいと思う。

#### 1 合成研究

まず、一般的なこととして、合成研究を始めるときには目標とするスペクトラム及び活性を設定し研究を始める。次に合成を始めるためのリード化合物を選抜する。リード化合物の選び方にはいろいろあるが、一般的には既知の農薬をリード化合物に選びスペクトラム及び活性を目標に近付けていく方法、またはリード化合物に生理活性を持った天然物を選び目標とする農薬に近付けていく方法を取る。

既知の農薬をリード化合物とした場合,スペクトラムの拡大は難しく,また,化合物の構造は複雑になるので,飛躍的な活性の向上がない限りリード化合物を超えることは困難である。

一方,天然物をリード化合物に選んだ場合,天然物は 構造が複雑な場合が多く,生理活性を維持したまま構造 を簡素化していかなければならない難しさがある。

今回の発表された合成研究の中で、既知の農薬をリード化合物とし、スペクトラムを変え、活性を飛躍的に向上させた研究と天然物をリード化合物とし、構造を簡素化しながら目標の活性を持つ農薬を合成した研究を紹介したいと思う。

既知農薬をリード化合物に選んだ研究として,シンポジウムで日本バイエルアグロケムの塩川が発表したイミ

ダクロプリドの研究を報告する。本研究は本年度の日本農薬学会で業績賞を受賞されているので詳細は述べないが、リード化合物として Shell の WL35651 を選び、構造と活性の相関をみながら活性の最適化を行った研究である (図-1)。研究の進め方としては当然の方法ではあるが、合成原料の中には合成に時間がかかると思われる物もあり、これらを見逃さず努力を惜しまず研究をされた結果、スペクトラム及び活性において、目標を達成できたものと感銘を受けた。

次に天然物をリード化合物に選んだ研究としては,アメリカンサイアナミッドの Barnes,K. D. ら及び Yulin Huらによる発表を報告する。本研究のリード化合物となっているのは,1980 年代後半に発見された発酵生産物である Dioxapyrrolomycin である。Dioxapyrrolomycin 自体は家畜などの線虫,吸虫および条虫に対して殺虫活性を有する生理活性天然物である。本研究では活性本体を多置換ピロールとし(推測ではあるが),構造を簡素化しながらアワヨトウ,ナミハダニ,タバコガ幼虫などに高い活性を維持させ,広いスペクトラムの殺虫剤に誘導した研究である(図-2)。

また,本系統で開発段階にある AC-303,630 の作用機 構についてはアメリカンサイアナミッドの Hollingwarth, R. M. らにより発表された。

AC-303, 630 はジャーマンコックローチの呼吸作用を極度に増加させる作用を持つが、単離したミトコンド

8th International Congress of Pesticide Chemistry, Washington, DC, 1994.—An Overview of New Pesticide Development (Insecticide). By Hirokazu Dantsuji

リア自体に対しては脱共役剤としての活性は認められなかった。しかし,類似化合物で脱 N-アルキル化した AC-303,268 は魚,昆虫などのミトコンドリアに対して 10~100 nM で脱共役作用を示した。また,AC-303,630 はピペロニルプトキサイド処理した昆虫で呼吸刺激及び毒性が競合したことも踏まえ,本化合物は昆虫体内で酸化的に脱 N-エトキシメチル化され活性体となり脱共役剤として作用することが明らかになった。

#### 2 作用機構研究

殺虫剤で昆虫の神経系に作用する化合物はこれまで多く知られているが、コリンエステラーゼ阻害剤に比べ、GABA(γ-aminobutyric acid)関与の神経系に採用する薬剤の研究は少ない。GABA関与の神経系の化合物が注目されだしたのは、γ-BHC、シクロジエン及び環状リン酸化合物の作用機構が解明されだしたここ 10 年のことと思う。今回の会議でGABA関与の神経系作用薬の発表があり、興味を持ったので報告する。

カリフォルニア大学の Casida, J. E. らは Trans-5-tert-butyl-2-(4-ethynylphenyl)-1, 3-dithiane が殺虫活性を持ち,その作用機構が GABA 開閉クロルイオンチャネルに関連した非競合的遮断薬であることに注目し,4位エチニル基に非極性及び極性置換基を導入し(図-3),その活性の強さをウシの脳膜での[³H] EBOBの結合阻害能力で求めた。その結果,4位エチニル基の置換基として極性基を有する化合物が非極性基を有する化合物に比べ活性が強い傾向を示した。また逆に,ジチアン環のイオウ原子一つがスルホンに酸化された化合物では4位エチニル基の置換基が非極性基のほうが強い傾向を示した。

これら置換基の極性と結合部位の構造との関係は非常 に興味あるところであり、今後の研究に期待するところ である。

次に GABA 関与の神経系作用薬として近年アリルへテロサイクルが注目されており、ゼネカの STUART, J. D. らとローヌ・プーランの GANT, D. B. らによるアリルへテロサイクルの作用機構に関する発表があった。

ゼネカの STUART, J. D. らは, 図-4 の3 化合物を用いて 殺虫活性試験を実施したところ,シクロジエン抵抗性の 害虫に対して効果が弱いことから,この結果が作用機構 に由来するものかどうか,電気生理学的手法を用いて解 明した。

これらの化合物は濃度 0.5 及び 1.0  $\mu$ M で感受性 W. H. O. 系統のイエバエの中枢神経系に対して興奮性の活動電位を起こさせた。これは神経伝達物質のブロックに

$$\frac{c}{c}$$
  $\frac{c}{c}$   $R$ 

図 -

Fipronil

よるもので,アセチルコリン受容体の感受性の低下によるものである。(シナプス前膜に作用し,自発性放電を引き起こした)この実験より作用機構としてシナプス前膜に作用する GABA 受容体拮抗薬である可能性が示唆された。また,シクロジエン抵抗性系統の中枢神経系を用いた実験では  $10^{-4}$ M 以上の濃度でも興奮誘導は起こらず,活性部位での交差抵抗性は 100 倍以上になっていることから,本系統の化合物はシクロジエン抵抗性の報告されている害虫への使用は制限するのが望ましいと提案している。

一方, ローヌ・プーランの GANT, D. B. らは, ローヌ・プーランが開発したアリルヘテロサイクル系殺虫剤であるフィプロニルの作用機構を電気生理学的手法, 結合アッセイ的手法を用いて解明した。

電気生理学的試験をイエバエの神経系を用いて行った ところ、フィプロニルは神経系に興奮を起こし、GABA により抑制された神経系を回復させた。

結合アッセイ試験では、ラットの脳を用い試験を実施した結果、[ $^{35}$ S] TBSPと [ $^{3}$ H] EBOB の結合をそれぞれ ICso 値 483 nM 及び 772 nM で阻害した。これに対しイエバエの脳膜での阻害活性は [ $^{35}$ S] TBPS では認められなかったが、[ $^{3}$ H] EBOB では ICso 値 8.7nM と強い結合阻害能を示した。これらの結果より、フィプロニルは昆虫の GABA 受容体の拮抗薬として強い作用を有し、哺乳動物の GABA 受容体の拮抗薬としては弱いことより、昆虫と哺乳動物との間に選択毒性があると結論付けている。

#### 第8回国際農薬化学会議に出席して

#### ---新農薬の開発動向(殺菌剤)---

#### 塩野義製薬株式会社油日ラボラトリーズ **益** 子 道 生

第8回国際農薬化学会議が7月4日~9日の6日間, ワシントンD. C. で開催された。本学会で発表・紹介 された新規殺菌剤についてまとめる。

シンポジウムやワークショップでは、現在開発中の化合物群として、メトキシアクリレート誘導体、フェニルピロール誘導体、ピリミジンアミン誘導体などがその合成、作用機作などについて紹介され、ポスターセッションでは上記化合物群のほかにもいくつかの新規化合物が発表された。

#### 1 メトキシアクリレート (MOA) 誘導体

担子菌の一種である Strobiluris tenacellus より単離されたストロビルリン類をモデルに種々の化合物群が合成され、図-1に示す3 剤が開発途上にある。本系統化合物はスペクトラムが広く、既存の殺菌剤とは交差耐性を示さず、次代を担う殺菌剤として注目されている。本学会では合成、特性、作用機作などについて、シンポジウムやワークショップで取り上げられ、ポスターセッションでは作用特性、構造活性相関などについて発表された。

BASF 社からは BAS490F の生物学的な特徴についてポスターとワークショップで発表された。本剤はアクリル酸残基がメトキシイミノ体であり、オキシムの二重結合部分で cis 体と trans 体の異性体が存在するが、BAS490F は trans 体である。本剤を植物に散布すると植物体表面で光により trans=cis の異性化が起こり、ある比率で平衡に達するが、植物体への取り込みは cis>trans であり、活性体である trans 体は大部分が取り込

まれずに植物体表面に残る。したがって、本剤は各種病原菌の植物体表面での胞子発芽から侵入に至る過程は阻害し、さらに植物体表面での胞子形成を阻害するので、コムギうどんこ病などに対しては予防効果も治療効果もみられる。しかし、ムギ類のさび病のように宿主植物の組織内で栄養体や生殖器官を形成する病害に対しては、予防効果は認められない。

また、BASF 社からは MOA の活性発現部位と考えられているアクリル酸残基を構造修飾し、酵母のサブミトコンドリアでの酸素消費阻害活性をパラメーターとした構造・活性相関についても発表された。詳細については省略するが、ベンゼン環上の置換基を BAS490F と同じ 2-(2-methylphenoxymethyl) に固定した場合、アクリル酸残基をメトキシイミノ酢酸に変換したときの呼吸阻害活性が最も高かった(図-2)。

MOA のアクリル酸残基がメトキシイミノ酢酸アミド体である SSF-126 (塩野義) は BAS490F と同様オキシムの二重結合部分で E, Zの2 種の異性体が存在する。抗菌活性は E 体のほうが Z 体より強く, SSF-126 は E 体である。本剤はキュウリ葉での浸透移行性に優れ、幅広い病害に対して予防効果も治療効果も認められる。本剤は in vitro では静菌的であるが、ミトコンドリアの電子伝達系においてチトクロームの bc, complex を阻害することによって呼吸阻害活性を示す。しかし、in vitroでは処理後 30 分以内にバイパス (シアン耐性呼吸) が形成され、呼吸が回復する。これが本剤が in vitro では静

図-1 現在開発中のメトキシアクリレート誘導体

 $8\,\mathrm{th}$  International Congress of Pesticide Chemistry, Washington, DC, 1994.—An Overview of New Pesticide Development (Fungicide). Ву Місhio  $M_{\mathrm{ASUKO}}$ 

図-2 メトキシアクリレート誘導体のアクリル酸残基の構造・活性相関 F=化合物 1の50%酸素消費阻害濃度を1.0としたときの,各化合物の50%酸素消費阻害濃度(相対値,数字が小さいほど活性は高い)

図-3 メトキシアクリレート誘導体のオキシム側鎖(X)の構造変換

菌的である理由と考えられる。

一方,ZENECA 社からは ICIA5504 の mimic としてベンゼン環上の側鎖である Phenoxy 部をオキシムエーテル側鎖に変換した場合の,側鎖の構造と抗菌活性相関について発表された(図-3)。紙面の関係で詳細は省略するが,図-3 の化合物はスペクトラムが広く,特に2, 3, 4 などの化合物は浸透移行性にも優れるようである。

MOA は既に多くの特許が出願されているが、まだまだ variation は豊富であるという印象を受けた。

#### 2 フェニルピロール誘導体

Pseudomonas 属の細菌の二次代謝物であるフェニル ピロール誘導体に関しては、Fenpiclonil (図-4) の作用 機作について発表された。本化合物を処理した Fusarium 属菌では原形質膜の機能が阻害された。「C-炭酸ガスの取り込み実験から、本化合物は TCA 回路には影響せずグルコース代謝の初期段階を阻害している可能性が示唆された。その作用点としてはグルコースのリン酸化阻害と考えられ、その結果としてグリセロール、マンニトールなどの polyol 類が細胞内に蓄積したものと考えられる。

#### 3 ピリミジルアミン誘導体

Fungicide mode of action のシンポジウムでは、ピリメタニルやメパニピリム(図-5)などのアニリノピリミジンの作用機作について紹介され、ポスターではAgrEvo社よりピリメタニルの作用機作に関する詳細な研究結果が発表された。それによると、本化合物は灰色

かび病菌(B. cinerea)に対して、アミノ酸のタンパク質分画への取り込みは阻害しないが、セルラーゼ、ポリガラクチュロナーゼなどの細胞壁分解酵素の菌体外への分泌を阻害し、その結果として宿主植物への侵入を阻害する。

#### 4 その他の新規化合物

上記3 化合物群はいずれも各グループの中で2個以上の化合物が開発されているが、本学会ではこれら以外にも以下に記す新規化合物が発表された。

- (1) Pyridylcarbamates (石原産業):図-6に示すピリジルカーバメート系化合物は灰色かび病菌の有糸分裂を阻害し、ベンズイミダゾール系殺菌剤(BI剤)と類似の作用機作を示すが、BI剤とは交差耐性を示さない。本化合物の活性発現には6位のエチル基が重要な役割を果たしている。
- (2) Pyridyl Fungicides (ZENCA): 図-7 に示すピリジルアミン誘導体の構造・活性相関について。バラの花弁を用いた灰色かび病防除試験では 20~25 ppm で有

効であった。作用機作はメチオニンの生合成阻害と考えられる。

- (3) Pyridinylpyrimidine Fungicide (ZENECA): 図-8 に示すピリジニルピリミジン誘導体の作用機作について。本化合物は U. maydis や P. ultimum に対して通常の培地上では殺菌作用を示すが,EDTA などのキレート剤を添加すると殺菌作用は消滅し, $Cu^{++}$  を加えると殺菌作用は回復する。したがって,本剤は $Cu^{++}$  のキャリヤーとして働き,菌体中のCu 濃度を高めることによって殺菌作用を示す。
- (4) Pyridylamino-propenitriles(DowElanco):図-9 に示すピリジルアミノプロペン誘導体は,ブドウベと病 に対して100~400 ppm で予防効果及び治療効果を示す。
- (5) Arylsulfonylallyl trichloromethyl sulfoxides 誘導体 (DowElanco): 図-10 に示す化合物はブドウ及 びキュウリベと病に対して,それぞれ 25 及び 50 ppm で 有効で、残効期間が長いという特徴がある。ベンゼン環

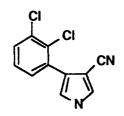
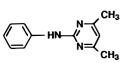


図-4 Fenpiclonil



Pyrimethanil AgrEvo

Mepanipirim Kumiai kagaku

図-5 アニリノピリミジン誘導体

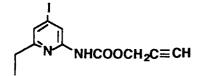


図-6 ピリジルカーバメート誘導体

図 - 7 SC-0858

図-8 ピリジニルピリミジン誘導体

図-9 ピリジルアミノプロペン誘導体

図-10 アリルスルホニルアリールスルホキサイド

図 - 11 LY214352

図-12 オキシム系殺虫剤の活性発現様式

上の置換基は4-t-Bu が最良であった。

- (6) 4-Phenoxyquinolines (DowElanco):図-11 に示すキノリン誘導体は P. oryzae, B. cinerea など幅広い病原菌に抗菌活性を示す。本化合物は核酸の塩基成分であるウリジン一燐酸 (UMP) の生合成過程で,ジヒドロオロチン酸からオロチン酸への酵素 (Dihydroorotate Dehydrogenase (DHO-DH) 活性を阻害する。DHO-DH は殺菌剤の標的酵素としては初めての報告であり,新しい Target site として注目される。
- (7) Oxime Fungicides (E. I. DuPont): 図-12 の化合物  $\underline{1}$  は図に示すとおり、それ自体は抗菌活性を示さず、種々の分解過程を経て活性を示す。すなわち、化合物  $\underline{1}$  は prodrug と考えられる。
- (8) 2-cyanoimidazole Fungicides (AgrEvo):図-13 に示す 1-sulfonyl-amino-2-cyanoimidazole 誘導体は5.0~2.5 ppm という低濃度で,べと病,疫病など卵菌類による病害に選択的に活性を示す。実用性が期待される新規殺菌剤である。
- (9) Benzodioxane and Benzoxepin (I. E. Du-Pont): 図-14 に示す化合物はモルホリン系殺菌剤である Fenpropimorph を構造変換して得られた化合物であり、コムギうどんこ病に対して 15~20 ppm で有効である。
- (10) Pyridine Fulanone Fungicide (Korea Res. Inst. Chem. Technol.): 図-15 に示す化合物は*P. oryzae*や*B. cinerea* に対して,50 ppm で菌糸伸長をほぼ完全に阻害した。
- (11) Pyrazole Derivatives for Disease Resistance Inducing Agent (CSIRO): 図-16 に示す化合物は,それ自体抗菌活性は示さず,処理した植物(トマト,ワタ)に病害(それぞれ Fusarium 及び Rhizoctonia) 抵抗性を付与する。

紙面の関係で、発表されたすべての化合物を網羅する ことはできなかったが、新規薬剤の開発がますます困難 になってきている現在、次々と新しい化合物が発表され 心強い思いがしたと同時に、まだまだ手が付けられていな

$$\begin{array}{c|cccc}
O & & & & & & & & & & \\
\hline
O & & & & & & & & & & \\
\hline
N & & & & & & & & & \\
\hline
N & & & & & & & & \\
\hline
N & & & & & & & & \\
\hline
N & & & & & & & \\
\hline
N & & & & & & & \\
\hline
N & & & & & & \\
\hline
N & & & & & & \\
\hline
N & & & & & & \\
\hline
N & & & & & & \\
\hline
N & & & & & & \\
\hline
N & & & & & & \\
\hline
N & & & & & & \\
\hline
N & & & & & & \\
\hline
SO_2N(CH_3)_2 & & & & & \\
\hline
2 & & & & & & \\
\hline
SO_2N(CH_3)_2 & & & & \\
\hline$$

図-13 2-シアノイミダゾール誘導体

図-14 ベンゾジオキサン及びベンゾキセピン誘導体

図-15 ピリジンフラノン誘導体

図-16 ピラゾール誘導体

い新しい分野(化合物群)が残されていることを痛感した。

## 第8回国際農薬化学会議に出席して

## ---新農薬の開発動向(除草剤)----

 クミアイ化学工業株式会社生物科学研究所
 清
 水
 力

 株式会社
 ケイ・アイ研究所
 山
 ロ
 幹
 夫

7月4日から7月9日にかけてワシントンDCで開催された標記国際会議に出席したので、会議の中で発表された除草剤および除草活性物質について報告する。本会議では農薬科学全般にわたる広範囲の研究が発表されたが、本稿を作成するに当たっては、それらの中から次の報告に注目した。(I)シンポジューム:Synthesis、(II)ポスターセッション:Herbicides, Discovery, Natural Product, Physiological Effect of Herbicides, Herbicidal Activity at Their Molecular Target, (III) ワークショップ:Herbicide Target Site Interactions, Mechanism and Kinetics。植調剤やセイフナーに

の関係上,割愛したい。

なお,以下の内容は,取り上げた薬剤を作用機構の観点からグループ化し,その薬剤の除草効果を筆者らが得た情報の範囲内でごく簡単に記載するという形を採った。

## (1) 光要求型プロトポルフィリノーゲンオキシダー ゼ (Protox) 阻害剤

このタイプの除草剤には極めて強い除草効果が期待できることから、現在でもなお精力的に研究されている。発表された化合物の構造式を図-1に記載した。化合物-1(対象雑草:広葉とイネ科維草の両方、処理薬量:数g/ha、処理法:茎葉処理、選択性:コムギ、トウモロコシ

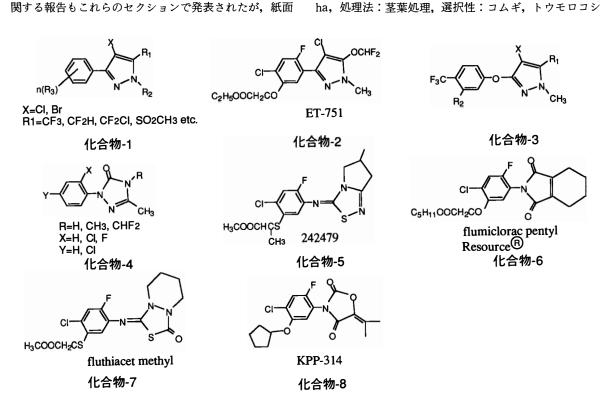


図-1

8th International Congress of Pesticiele Chemistry, Washington, DC, 1994.——An Overview of New Pesticide Development (Herbicides) . By Tsutomu Shimizu and Mikio Yamaguchi

ならびにダイズ) は、Monsanto の Hamperらによりシン ポジュームで発表された新規ピラゾール型薬剤である。 これと同様な構造を有する化合物-2(広葉雑草,6~ 12g/ha、茎葉処理、麦類) は日本農薬の Miura らにより 報告されたもので, ヤエムグラに卓効を示す。 Monsanto の CLARKらにより報告された化合物-3 もこの タイプのエーテル型薬剤である。化合物-4(ブロードス ペクトラム, 土壌, 茎葉処理の両方) は FMC の Goudar らにより報告されたトリアゾロン型の薬剤である。化合 物-5 (茎葉処理, ダイズ) は日本曹達の HAGIWARAらによ り報告されたもので、この構造自体が活性本体である。 住友化学の Naganoらにより報告された化合物-6(広葉雑 草,約30g/ha,茎葉処理,ダイズ及びトウモロコシ)は フタルイミド型の薬剤であり、イチビに対して優れた効 果を有する。またこの化合物と同じような性格を有する 薬剤としては、ケイアイの YAMAGUCHIらが報告したイソ ウラゾール骨格を有する化合物-7(広葉雑草,3~10g/ ha, 茎葉処理, ダイズおよびトウモロコシ) を挙げるこ とができる。この薬剤もイチビに卓効を有し、Protox 阻 害の活性本体はウラゾール異性体である。化合物-8(水 田雑草, 200~600 g/ha, 茎葉処理, イネ) は科研製薬の Ugaiらにより報告された薬剤であり、相模中研の Hiraiら によると、この化合物の構造は Protox の基質である Protogen の構造と類似しているとのことである。

### (2) アセト乳酸合成酵素 (ALS) 阻害剤

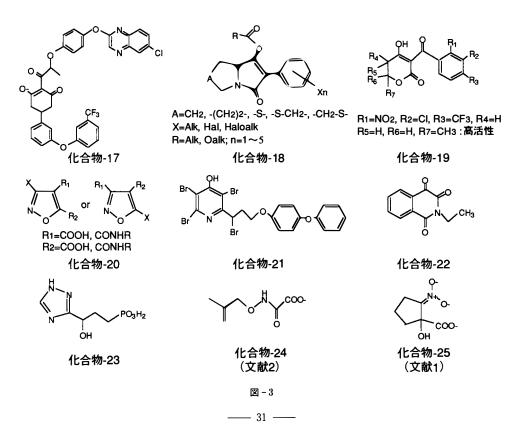
ALS を標的とする薬剤には高い選択毒性が期待でき るため, いまだに精力的に研究されている。現在までの ところ、この手の薬剤の代表的なものは、スルホニルウ レア (SU), イミダゾリノン (IMI), トリアゾロピリミ ジンスルホンアミド (TP), ピリミジニルカルボキシ (PC) 剤の4 タイプである。本会議でも主にこれらのタ イプのものが発表された。それらの構造式を図-2に示 す。化合物-9(広葉雑草と一部のイネ科雑草,トウモロ コシ及び麦類) は BASF の HAMPRECHTらにより報告され たSU剤で、トリフルオロメトキシ基を有するのが特 徴。化合物-10 (ブロードスペクトラム,約 20g/ha, 茎葉 処理, トウモロコシ) は Ciba Geigy の Oertleらにより報 告された SU 剤で、優れた効力を有する。ICI Australia の Andersonらが報告した化合物-11 は武田のイマゾスル フロンに似た bicyclic な SU 剤であるが,効果ならびに 選択性ともに既存 SU 剤に劣る。American Cyanamide の CREWS らが報告した化合物-12 (32g/ha, 土壌処理) は、IMIタイプの薬剤であり、テノイル基あるいはフロ イル基がカルボキシル基に変化して活性を発現すると考 えられる。DowElanco の Kleschickが報告した化合物-13 (広葉雑草,5~30g/ha,土壌,茎葉処理の両方,麦類及 びトウモロコシ)は,TP タイプとしては flumetsulam (DE-498) に次ぐ2 番手として開発されている薬剤であ り, SU 剤同様, 作物雑草間の選択性は解毒代謝反応の 種間差に依存している。化合物-14(ブロードスペクトラ

図-2 - 30 — ム、7.5~140g/ha、土壌、茎葉処理の両方、ワタ、イネならびにコムギ)は、クミアイのShimizuらが報告したPC 剤の中のピリミジニルサリチル酸タイプの薬剤であり、SU と同等以上の ALS 阻害能を有する。HoechstのWillmsらが報告した化合物-15 (麦類対象)は、スルホンアミドスルホニルウレアタイプの ALS 阻害剤であり、前述の4タイプと異なり、注目される。DuPontのABELLらが報告した化合物-16は、ピルビン酸アナログの ALS 阻害剤であり、実用化には至っていないが、既存の ALS 阻害剤が効かなくなった耐性雑草の防除を主目的として研究が展開されている。

#### (3) その他の作用点既知の除草剤(除草活性物質)

Protox と ALS 阻害剤以外に報告された作用点既知の薬剤を図-3 に示した。まず,DuPont の Taylorらにより報告された化合物-17 は,シクロヘキサンジオン(CHD) タイプのアセチル-CoA-カルボキシラーゼ(ACCase) 阻害剤の clethodim を基本骨格として,この骨格に,アリルオキシフェノキシプロピオン酸(AOPP) タイプの ACCase 阻害剤である quizalofop の部分骨格を結合させたもので,clethodim 及び quizalofop よりも強い ACCase 阻害を示す。しかし *in vivo* の効果はこれらの薬剤より弱い。また同様に AOPP の CoA チオールエステルが AOPP よりも強い ACCase 阻害を示すこ

とから、TAYLORらはCHDとAOPPはACCase上での 結合部位を共有しており、AOPP は CoA エステルにな ることで活性化されると考えている。一方, Bayer の FISCHERらが報告した化合物-18(イネ科雑草, 250 g/ha, 土壌, 茎葉処理の両方, ダイズ及びシュガービート) は、新規 ACCase 阻害剤であり活性体は脱アシル体であ る。しかし、現状では分解が速いため圃場での効果は弱 い。Zeneca の KNUDSENらにより報告された化合物-19(広 葉とイネ科雑草の両方,62.5~125 g/ha,土壌,茎葉処 理の両方, イネ, ムギ, トウモロコシならびにダイズ) は、その母核を sulcotrione (ICIA-0051) に求めること ができる新規 bleaching herbicide (白化剤) であり、 sulcotrione と同様に p-ヒドロキシフェニルピルビン酸 ジオキシゲナーゼの阻害剤と考えられている。BASF の Münster により報告された化合物-20 (広葉雑草、茎葉処 理、トウモロコシ)と理研の Asamiらにより報告された化 合物-21 は、光合成電子伝達系の阻害剤である。Zeneca の Mitchell が報告した化合物-22 (広葉とイネ科雑草の 両方, 1kg/ha, 茎葉処理) は, redox mediator として光 合成系の電子伝達系をかく乱する薬剤であるが、化学的 安定性が悪い。チバガイギー国際科学研究所の Mori ら が発表した化合物-23 (50-4000 g/ha) は, 1, 2, 4triazole-3-alanine と同様なヒスチジン生合成経路上の



イミダゾールグリセロールリン酸デヒドロターゼ阻害剤であり、リード化合物として注目される。また化合物-24 は、DuPont の Wittenbachにより報告されたロイシン生合成経路上のイソプロピルリンゴ酸デヒドロゲナーゼの阻害剤であり、ワークショップで発表された同経路のイソプロピルリンゴ酸イソメラーゼ阻害剤の化合物-25 を含めてリード化合物として興味が持たれる。

# (4) 作用機構が確定していない除草剤 (除草活性物質)

作用点が未確定の薬剤について図-4に示した。化合物-26(一年生雑草、150g/ha、土壌、茎葉処理の両方、特にイネ)は、三菱化成のIkedaらにより報告されたヒエ剤として期待が持たれる薬剤である。作用機構は未知であるがクロロアセトアミド系除草剤と類似した作用性を示す。Technical University Vienna の Stanettyらが報告した化合物-27は、sindone Bをモデルとして合成されたものである。DuPontのTaylorが報告した化合物-28(イネ科雑草、16g/ha、土壌処理)は、一連のbicyclic ether 化合物の一つである。ZenecaのBartonらにより報告された化合物-29(広葉雑草、1kg/ha、茎葉処理)は、微生物由来の除草活性物質のpseudomonic acid Aを修飾した薬剤である。微生物由来の除草活性物質としては、このほかに化合物-30~化合物-33が報告され、化合

物-32 と化合物-33 の作用点としては、おのおのスフィンゴリピッドの代謝とアスパルテートアミノトランスフェラーゼが想定されている。また植物体からの電解質の漏出を引き起こす化合物-30 の構造が、ALS 阻害作用が報告されている gliotoxin(化合物-34) に類似していることは興味深い。

#### (5) まとめ

発表された演題数から判断すると、注目度の高い除草 剤は Protox 阻害剤、ALS 阻害剤、ACCase 阻害剤なら びに光合成電子伝達系をかく乱する薬剤となる。しかし 他の作用機構を有する薬剤ならびにリード化合物の探索 は着々と進められており、将来この中からも優れた薬剤 が生まれるものと思われる。

本文をまとめるに当たり貴重なご意見をいただいたクミアイ化学工業株式会社生物科学研究所 中山 礎主席研究員,同小川安則主任研究員ならびに同ニューヨーク事務所 高橋 智氏に感謝致します。

#### 文 献

- HAWKES, T. R. et al. (1993) : Z. Naturforsch. 48c: 364.
- 2) PIRRUNG, M. C. et al. (1994): J. Org. Chem. 59: 2430.
- 3) HARAGUCHI, H. et al. (1992): Biosci. Biotech. Biochem. 56 (12): 208.

## 第8回国際農薬化学会議に出席して

#### ---Residues----

## 財団法人残留農薬研究所化学部 小田中 芳次

国際農薬化学会議 (ICPC) では、Symposium 及び Poster Session の形式で発表が行われたが、ここでは Poster Session についてだけ言及する。

ICPC 全体の総演題数 (Poster Session) は 813 題あり, その内 Residues (Main topic 8) の分野で発表された演題数は 147 題 (18%) であった。この数は 4 年前 (ハンブルク:独)の演題数 177 に比べ数的には若干減少していた。

Residues の発表は、以下に示す六つの subtopic に分類されており、以下、各 subtopic ごとに内容を要約した。

# 1 Trial Design, Sampling, Statistics, Modeling, QA (9 題)

ここでは、Sampling 及び Modeling に関する発表が 多くみられた。Sampling に関しては、作物試料や土壌試 料の採取方法の違いによって残留値が異なることが報告 された。

Modeling に関しては、simulation model を利用して、環境 Risk assessment を行う際の問題点や EPA としての基本姿勢、実際の評価データの紹介などの報告があった。

#### 2 Analytical Methodology (50 題)

ここでは、残留分析法全般に関する報告が多くみられた。内容的には、Multiresidue analysis (MRA) の手法に関する報告が大部分を占めており、このほか、個別分析法(代謝物含む)、誘導体化法、比較的新しい検出手法に関する報告がみられた。MRA の精製方法として、前回の ICPC では GPC を利用した分析法が多く報告されていたが、今回は固相抽出カラムを利用した方法が数多く紹介された。比較的新しい検出法として、LC/MS (/MS) を高極性の農薬に応用した報告があり、感度や精度のデータからみて実用段階に来ているものと思われる。その他、GC を用いた分析法において、回収試験の結果が100%を大きく上回る現象をよく経験するが、その原因を調査した報告では、高回収率を予防するために septum purge off の条件で Toluene を使用する方法を推奨している。

#### 3 Environmental Media (17題)

ここでは、環境中における農薬の残留実態調査や試験 的な動態調査に関する報告が多くみられた。残留実態調 査では,河川水等における過去2~3年間の各国の調査結 果が報告され、比較的高頻度に検出される農薬として triazines, anilides, phenoxy acetic acids がみられる が、濃度的にはここ数年減衰傾向を示していた。試験的 な環境動態調査としては、圃場やゴルフ場で使用される 農薬の流亡、移行、分解、揮散等に関する報告があり、 流亡は buffer zone の設定により軽減されること、大気 への揮散量 (Me-Br) は plastic film で被覆すると 1/4 に軽減されること, 揮発量 (TPN) は葉上の残留量と相 関があることなどが示された。その他、合成ピレスロイ ド系農薬の加水分解性試験と光分解性試験に関する報 告, 針葉樹の葉における農薬の存在状態を調査すること により,森林の大気汚染状態を把握するのに利用した報 告, 農薬散布後の廃液処理方法に関する報告などがみら れた。

#### 4 Food/Feed(27題)

ここでは、農産物等における農薬の残留実態調査、残留試験(登録用)、洗浄・調理・加工過程における農薬残留に関する報告が多くみられた。残留実態調査に関しては、過去2-3年間の各国の調査結果(ca. 100~350種農薬、2~5万試料を分析)が報告され、残留濃度がMRLを超えた比率は各国で異なる(<1%~17%)が、検出率やMRLに対する超過率は国内産よりも輸入品で高い傾向を示し、登録外農薬を検出した例も報告された。一方、Total diet study(約70~130種農薬、約50種試料)を調査した報告では、大部分の農薬はADIの1%以下であることを示していた。その他、洗浄・調理の過程(果物、野菜等)における農薬残留を130種農薬で検討した報告、米の炊飯試験における残留をポストハーベスト農薬で検討した報告、パンやワインの製造工程における農薬残留を検討した報告があった。

#### 5 Biotechnology-Based Approaches (29 題)

ここでは、Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) 及びその他の生体反応を利用した検出方法に関する報告が多くみられた。ELISA に関しては、内容的に、ELAISA kit の開発と市販 kit の応用に関する報

<sup>8</sup>th International Congress of Pesticide Chemistry, Washington, DC, 1994. ——Residues, Fate and Behavior——. By Yoshitsugu Odanaka and Kiyosi Sato

告に分けられるが、後者に関する報告が圧倒的に多くみ られた。分析対象試料としては、水や土壌などの環境試 料ばかりでなく、比較的マトリックスの多い作物試料に 応用した例も数多くあり、従来法(GC, HPLC)と比較し たデータから実用可能であることを強くアッピールする 報告が目立っていた。ELISA 法は,迅速,簡便,低コス トであり、機器分析と比較しても遜色のない結果が示さ れているが、現在、分析可能な農薬の種類が30種程度と 少ない。なお、ELISA 法が登録用データの分析法として 採用された報告があった。これまで、日本ではこのよう な例は認められていないが、米国では環境試料用の分析 法として認められた例が数例ある。その他の測定法とし て, cyanobacteria に対する農薬の蛍光発生遅延効果を 利用した方法, Anticholinesterase 反応を利用した方 法, Quartz Crystal Microbalance と抗体反応を利用し た方法, Benomyl の P. expansum 菌に対する菌体合成 阻害反応を利用した方法などがみられた。ただし、これ らの方法はいずれも ELISA 法よりも選択性に乏しい。

#### 6 Advances in Extraction (15 題)

ここでは、超臨界流体抽出法(SFE)と固相抽出法 (SPE) に関する報告が多くみられた。SFE に関しては、 抽出率に影響を与える種々の要因に関する報告がほとん どで、流体の密度や流量、温度、modifier の種類と混合比、流出成分の捕集方法、試料の水分含量等の要因が関与していることを示していた。また、抽出条件は農薬化合物(物性)によって異なるが、回収率は多くの農薬(約50種)で80~100%であること、抽出成分は比較的簡単な精製法(ex. SPE等)だけで機器分析が可能で、作物の種類によっては直接測定が可能であるなど、SFEの有用性を強調する報告が目立っていた。ただし、従来の抽出方法と比較して、SFEのほうがむしろ抽出効率が悪い場合があることを示唆する報告もみられた。

SPE に関しては、Multiresidue analysis 用に利用した例がいくつかみられた。各種の SPE カラムを用いて約 180 種 (GC 用) 農薬の溶出パターンを調べ、これらのデータをパソコンを活用して作物別の溶出パターンとして処理する方法が紹介された。また、水試料を Disk (C<sub>18</sub>, styrene divinyl-benzen) や GCB (Carbopak B) で抽出する方法もみられた。その他、極性溶媒と非極性溶媒とを同時に混合して抽出する方法、Luke 法の縮小版 (ca. 300 種農薬で検討)、Automated preconcentration sampler (APS) system (触媒捕集法;水 251 を処理可能→ppt level の分析可) に関する報告もみられた。

### ----Fate and Behavior(運命および動態)の紹介を中心に----

## 財団法人残留農薬研究所化学部代謝第2研究室 佐藤 清

プログラム 10 の Fate and Behavior (運命及び動態) は、環境中での農薬の分解や動態などに関する研究報告を集めたセクションであり、次の 6 項目のサブプログラムで構成されていた(括弧内の数字は報告数)。

- A. 移動性――モデリング (20)
- B. 移動性――ライシメーター (24)
- C. 選択的流動の関与 (報告なし)
- D. 下層土および地下水 (21)
- E. 水/沈殿物系 (21)
- F. 大気 (22)
- G. 土壌中での結合および分解 (38)

#### 1 サブプログラム B

サブプログラム B では、ライシメーターによる移動性研究が、単独のセクションとして取り上げられていた。これは 1990 年にドイツの BBA により出されたライシメーター試験要求に添って実施された試験成果が今回多数出されたためであろう。BBA ガイドラインは、野外条件下の 0.5~1m² のライシメーターに 14C-標識農薬を処

理し、その動態を長期間観察するものであり、当然のことながらドイツからの発表数が圧倒的に多く、その中でも特定の研究機関に集中していた(Institute of Radioagronomyから11題、Fraunhoffer Instituteから3題)。内容的には、被験薬剤が異なるのみで同じスタイルの報告例が多く、その点ではやや面白みに欠けたが、長期間にわたる実験データを多数蓄積しつつある実績に対する重みを感じた。そのほかでは、より小規模で簡易なライシメーターを用いた試験方法に関する研究報告が数例見られた。惜しむらくは、日本からの報告が1題のみであったことである(No. 88)。野外で14C-標識農薬を使用できないハンデはいかんともし難いが、次回のミーティングでは、世界的にはユニークといえる水田ライシメーターに関する研究例がもっと多く報告されることを期待したい。

#### 2 サブプログラム A

ライシメーターによる移動性研究に関連して, サブプログラム A ではモデリング (シミュレーションモデル)

が取り上げられており、興味深い報告が多くみられた。 ライシメーターによる移動性調査や, 地下水等のモニタ リングにあまりにも経費と時間がかかりすぎることか ら,農薬の土壌中での垂直分布,分解速度や地下水系へ の移行性を数式化してシミュレーションしようという試 みは十分理解できる。研究報告は、各種のシミュレーシ ョンモデルによる予測と実測値とを比較し、そのバリデ ーションを行うというスタイルが多かった。結論からい えば、現段階のシミュレーションモデルでは農薬の動態 を完全に予測することは困難、とする報告がほとんどで あった。1例を上げると、B. Gottesburgenらは quinmerac のライシメーター実験を行い, 土壌中での動態(残留レ ベルとその垂直分布)を実測し、その実測値と VARLEACH, PELMO, PRZM(II), PESTLA, WAVE, LEACHP の6種類のシミュレーションモデルによる計 算結果とを比較したが、いずれのモデルでも実測値に近 い結果は得られなかったと報告している(No. 746)。こ のように、現状は必ずしも満足できるものではないが、 実測値との比較によるバリデーションを繰り返しなが ら、よりよいシミュレーションモデルの開発を進めてい る欧米の研究者の姿勢は大いに見習うべきであろう。ち なみにこのセクションへの日本からの報告はなく、この 分野での日本の立ち遅れを痛感した。なお、何人かの発 表者が Preferential Flow (選択的流動) の問題を指摘し ていた。多量の降雨の際はライシメーターに水の流路が できて、これに乗って表層土壌の一部が下層に移動する ため、理論上は浸透水に検出されるはずのない薬剤が検 出されるというものである。選択的流動は実際の圃場で も存在しているようで、K.-J. S. Kungらはそれが土壌中 の農薬の地下水への移行に関与する重要なメカニズムの 一種であり、これを考慮することなく完全なシミュレー ションを行うことはできないと指摘していた(No. 84)。

#### 3 サブプログラム D

サブプログラム D は、下層土における農薬の動態(6題)と地下水関連の報告(11題)が主体であった。下層土での農薬の動態(主に潜在的な生分解能の面)は、最近にわかに注目され始めた研究課題であり、今回も下層土中で各種農薬(2,4-D, isopuroturon, alachlor, atrazineなど)が生分解され得ることが報告されていた。地下水に関してはほとんどがモニタリング結果の報告であり、中でも米国 EPA の C. A. Haaserらは、1971 年から 1991年までの 20 年間の地下水(井戸水)中の農薬のモニタリングについての厖大な結果をデータベース化したことを報告していた(No. 768)。幸運にも、先着出席者十数名(筆者を含め)は実際にデータを満載した冊子を入手する

ことができた。

#### 4 サブプログラム F

サブプログラム F (大気) は、大気中光分解、降雨によ る農薬汚染のモニタリング、土壌及び植物表面からの蒸 発に大別できた。大気中光分解についての研究発表は、 MITC (methyl isocyanate) の気相光分解(2題)と, オゾン層破壊物質として注目されている臭化メチルの数 種類の波長領域の UV 光による気相光分解速度 (No. 542), 気相光分解とは異なるが, エアロゾルに吸着され た農薬 (terbuthylazine) の OH ラジカルによる分解 (No. 555) の 4 題であった。エアロゾルは低沸点化合物 の大気中での移動に関与しうることも指摘しており、広 義の大気中光分解として未開拓の分野だけに興味深かっ た。臭化メチルについては、土壌処理後の大気中への移 行についての発表 (No. 562) もあった。農薬の蒸発 (7 題) に関しては、室内実験の装置や実験条件に関する報 告が多かった中で、A. Stockら (Institute of Radioagronomy) の報告は出色であった (No. 561)。彼らは, ¹⁴C-標識農薬 (diflufenican, parathion-methyl) を処理 したライシメーターをガラストンネルで覆って送風を行 い,出口の空気を分析して薬剤(及び揮発性の分解物) の蒸発量及び無機化により発生する ¹⁴CO₂ 量を実測し た。また、ライシメーター中の試料(土壌、浸透水、作 物体)も分析してマスバランスを測定し,実際に 70%以 上の parathion-methyl が蒸発して大気中に移行するこ とを実証した。ほぼ野外条件に近い環境下での実験だけ に, 迫力と説得力が感じられた。

#### 5 サブプログラム E, G

サブプログラム E (水/沈殿物系)では、水中光分解及び加水分解(5 題)と水/沈殿物系の分配・脱吸着についての報告がまとまった形であったものの、そのほかは水系または沈殿物系での運命・動態に関する種々の研究報告の寄せ集めといった感じで、説明しにくい。またサブプログラム G (土壌中での結合及び分解)では、当然ながら農薬の分解・消失(17 題)と結合(4 題)に関する報告が大部分であった。この中では13C-NMRを用い、13Cで標識した anilazine と腐植酸との共有結合を直接証明した報告(No. 254)が注目された。そのほかに、脱吸着及び移動性(6 題)、土壌表面光分解(2 題)についての報告がみられた。

以上の厖大な数の研究報告を個々に取り上げることは とてもできないため、ほんの触りのみを紹介した。水系 及び大気系での農薬の動態についての欧米における関心 の高さを再認識した次第であった。

#### リレー随筆

植物検疫の現場から(4)

### ミバエ類の根絶と駆除確認調査

南西諸島に本格的な夏が訪れる6月下旬になると、沖縄県下の家庭菜園にはニガウリやヘチマがぶら下がり、 真夏にはマンゴウやバンジロウがたわわに実っている。

このような風景がみられるようになったのは、ミカンコミバエとウリミバエの防除効果が上がり始めた頃からで、根絶防除事業は一般市民からの強い関心と協力によって着実に進められ、平成5年11月に八重山群島のウリミバエを最後に両ミバエの根絶に成功した。

今回は,沖縄県の特殊病害虫と植物防疫所とのかかわりを紹介したい。

昭和47年5月に沖縄県は本土復帰したが、ウリミバエやミカンコミバエなどの特殊害虫が発生していたため、植物防疫法によって沖縄県で生産される果菜類や果物などは本土などへの移動が禁止されており、沖縄農業は相変わらず外国扱いされてきた。

我が那覇植物防疫事業所では、これら特殊害虫が本土 等の未発生地へまんえんするのを防止するため、移動取 締りを行ってきた。空港や港で乗客に対して、「果物や野 菜をお持ちではないですか。」と声をかけると一般旅行客 からは「祖国復帰し、同じ国内であるのにどうして東京 に持って行けないの。」との苦情が毎日のようにあり、そ のたびに「ミバエ類が発生しているため禁止品です。」と 理由を説明したのであった。快く植物検疫を理解してく れる人もいたが、なかには、果実を床にほおり投げ足で 踏みつぶしたり、罵声を浴びせられることもたびたびで あった。

植物防疫所では、このような取締りだけでなく、沖縄県産の農産物を本土へ出荷できるように、禁止品になっているサヤインゲン、ニガウリ、マンゴウなどの消毒方法の技術開発に積極的に取り組んできた。従来はEDBくん蒸剤を使用していたが、このような農薬を使用しない飽和水蒸気による蒸熱処理でミバエ類の卵や幼虫を殺す方法を開発して実用化され、特にサヤインゲンは冬春期野菜として大量に出荷された。また、カボチャ、スイカ及びトウガの3種類は、ウリミバエが寄生しているかどうかを植物防疫官が検査して合格したものだけが本土出荷された。

しかし、沖縄の農家にとっては、検査や消毒なしで自由に本土出荷できるようにするため、ミカンコミバエと ウリミバエの根絶が長年の夢であった。 農林水産省は、昭和47年本土復帰とともに沖縄農業の振興を妨げているミカンコミバエとウリミバエを根絶するための防除計画を策定し、沖縄県によって防除事業が進められてきた。この事業は、関係者の粘り強い努力と協力によって進められ、ミカンコミバエは、18年の歳月と事業費50億円を投入し、昭和57年沖縄群島、昭和59年宮古群島、昭和61年八重山群島で根絶された。また、ウリミバエは、22年の歳月と事業費204億円を投入し、昭和53年久米島、昭和62年宮古群島、平成2年沖縄群島、平成5年八重山群島で根絶され、我が国から一掃された。

昭和56年4月に私が那覇植物防疫事務所の国内課に配置された頃は、沖縄群島のミカンコミバエの防除が終盤にさしかかっていた。広大な沖縄群島全域に、ミカンコミバエが1頭もいないということを証明する駆除確認調査が私の仕事であった。この調査は、ミバエ類の生育良好な時期を選定し、ミバエの生息の有無を確認するもラップ調査と、好適寄主である果実を大量に採集し、ミバエの寄生の有無を確認する生果実調査とを実施するものである。調査期間中は、那覇植物防疫事務所の全職に、那覇植物防疫事務所の全実施してきた。本格的な駆除確認の前に、沖縄本島北部の山林地帯や、大きな面積を有する米軍基地内については、防除効果の事前調査を行う必要があり、情報収集や的な調査方法の立案などで忙殺される毎日であった。

那覇植物防疫事務所では、このような駆除確認調査を 群島ごとにウリミバエで4回、ミカンコミバエで3回、 合計7回実施した。幸いにして、駆除確認調査中にハブ にかまれた者はいなかったが、八重山群島でミバエ類の 専門家を現地案内中に、ハブに出くわし背筋が凍る思い であった。西表島の奥地は鬱蒼とした原生林に覆われ歩 行困難な上に気味の悪いヒルが生息しており、十分注意 していたにもかかわらず、知らぬ間に足は血だらけに なっていた。また、島の南側には道路がなく、海岸沿い に腰まで潮に浸かりながら廃村になっている調査地点に 辿り着くのに大変苦労した職員や、信仰心の強い宮古島 では、島内に点々と神聖な拝所があり、この拝所内の防 除や調査を実施するために、島民の協力と理解を得るの に苦労したこともあった。

沖縄県のミバエ類根絶を確認するための駆除確認調査は、平成5年に実施した八重山群島のウリミバエで終了したが、今後はミバエ類の侵入警戒調査体制の強化を図り、再侵入・定着を阻止し、真夏の炎天下や猛毒ハブの脅威を感じながらの駆除確認調査を再び実施しなければならない事態は、是非避けたいものである。

(那覇植物防疫事務所国内課 古波津 章)

#### (口絵解説)

花の病害虫(20) ---キンギョソウ---

#### 1 キンギョソウの生産状況

地中海原産の花きであるキンギョソウは、アレンジメントと花束が需要の主流であるが、特に白色品種は仏花としても使用できるので生産額が大きい(約70%を占める)。第40次静岡農林水産統計年報—農林編—(関東農政局静岡統計情報事務所、平成4~5年)によれば、キンギョソウは全国で6,150aの栽培面積と2,640万本の出荷量となっている。

品種面では従来のタイプから"ペンステモン咲き"と呼ばれる大輪タイプの栽培が増加している。このタイプは、生育がおう盛で茎が太い。また最近では、八重咲きやさらに大輪の3倍体品種も育成されている。

栽培面では、従来の冬~春期のみでなく、夏~秋にも ストックの代替品目として利用されるようになってき た。

#### 2 キンギョソウの病害虫の発生と防除

総論:まず病害面では、日本有用植物病名目録第2巻第3版(平成5年12月発行)によれば現在までに11種類の病害が確認されているが、この中で実際上問題となる病害は、モザイク病、疫病、葉枯病、灰色かび病、菌核病、苗腐病の6種類である。この内、モザイク病、葉枯病、菌核病が栽培地域に関係なく発生するのに対し、疫病、灰色かび病、苗腐病は産地によって発生程度が大きく異なっているようである。

害虫については、農林害虫名鑑(日本植物防疫協会、1980年)によれば11種類が知られているが、アブラムシがほとんどの圃場で問題になるのに対し、クロモンキノメイガ、ヨトウガ(ハスモンヨトウ)、センチュウ類は発生地域に偏りがみられる。他の報告害虫については大きな問題が生じたという話を聞かない。なお、この11種類以外に、筆者は伊豆地域でハモグリバエの被害を時折目にしたが、これは上位葉に出ると実害を生ずる。

病害各論:キンギョソウにはウイルスが原因と考えられる症状がいくつか発生するが、ウイルスの同定が成されたのは CMV によるモザイク病のみである。症状が単一でないことから、実際には他のウイルスも関与している可能性がある。口絵の写真は静岡県伊豆地域で一般的な症状であるが、ウイルスの同定は行っていない。

疫病,苗腐病はともに藻菌類によって生ずる。苗の水腐れ症状が特徴であるが,苗腐病の発生が発芽直後の小苗に限定されるのに対し,疫病は10cm以上になった株や葉にも発生する。葉での発病は葉先から深緑色に軟化する。この二つの病害の防除は,土壌改良や灌水量の適正化といった排水対策が最重要で薬剤処理は二の次である。

葉枯病はキンギョソウの病害虫の中で最も一般的なものである。初め褐色で後に中心部が灰白色を呈する輪紋様の斑点を生ずる。大型の病斑が生じたり、いくつかの病斑が融合すると葉がよじれる。ハウス栽培では雨水がかかりやすい一番端の列や被覆ビニルの継ぎ目下にある列に発生しやすい。

灰色かび病は他の作物同様,花に発生することが多いが,茎に発生することもある。茎の病徴は次の菌核病に 酷似する。病原菌は薬剤に耐性がつきやすいので,耕種 的防除法として,冬期暖房中であっても換気だけはしっ かり行いたい。

菌核病は収穫直前になって発生,急激に広がり株全体を枯死させるので,被害は最も甚大である。茎の上位から発病する場合は早めに気付くが,多くは株が密生した後に地際部から発病するので,早期発見が難しい。さらに,土壌中における耐久器官である菌核は土壌消毒にも強く,いったん発生させると菌核を根絶することが非常に困難であることも,被害を大きくしている原因といえる。菌核は茎内に生じるので,茎が腐って菌核が土壌中に入り込んでしまわないよう,発病株は直ちに抜き取り必ず焼却処分する。土壌生息性菌なので,土中埋没の効果は期待できない。また,常発地ではビニル被覆1か月後から予防散布を数回行う。

害虫各論:アブラムシは密度が高まると葉の黄化を引き起こすのみでなく、排せつ物によって"すす病"を併発するので密度が低い内に対応したい。伊豆地域で発生しているアブラムシはモモアカアブラムシであって、秋口と春先に多い。新芽の部分に寄生が多いので、9~10月と3~4月にこの部分に集中的に薬剤散布する。

ョトウガの幼虫は実際に目にすることは少ないが,上 位葉の大きな食害と排せつ物とで確認できる。圃場内に 分散すると防除が困難になるので,局在している若齢を 早期発見し,集中散布を行う。

> (静岡県中部病害虫防除所(元 静岡 県農業試験場南伊豆分場) **外側正之**)

#### 植物防疫基礎講座

植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(14)

## ナシ黒星病菌

## 農林水産省果樹試験場 石 井 英 夫

## ナシ黒星病菌(ベンゾイミダゾール剤)

#### はじめに

ナシ黒星病の防除薬剤としては、チアジアジン、ジネブ、キャプタン、有機銅、有機銅・キャプタンなどの非選択的殺菌剤が古くから使用されていたが、1971 年、チオファネートメチル、ベノミルのベンゾイミダゾール系殺菌剤が登録され、広く普及に移された。しかし、1975年には、いくつかのナシ産地で黒星病に対するベンゾイミダゾール系薬剤の効力不足が指摘され、また本病の多発が薬剤耐性菌の出現によることが明らかになった(Isim and Yamacucii, 1977)。

ナシ黒星病菌 (Venturia nashicola) のベンゾイミダゾール剤に対する耐性の検定法については種々検討され、簡易検定法 (梅本・長井, 1979) も含めて既に確立したものとなっているので、それらをここで紹介する。

#### 1 検定用材料の採集

ナシ黒星病は、主として雨媒伝染により引き起こされ、病原菌の伝搬距離は短いといわれている。したがって、同一圃場であっても耐性菌が不均一に分布することもあり得る。事実、菌の採集方法によって耐性菌の検出割合に大きな違いがみられた(表-1、Ismi et al.、1985)。そこで、特に耐性菌の年次変動等の推移を調査する場合には、たとえ耐性菌が高率に分布する圃場であっても、1 樹のみから材料を採集するのは適当ではなく、異なるいくつかの樹から材料を得ることが必要である。図-1 は、ベンゾイミダゾール剤の使用中止後の耐性菌検出割合の推移を示している(Ishii et al.、1985)が、この場合は、計13の圃場ごとに特定の5 樹(中央及び4 隅)を選んで罹病薬を採集、圃場全体で毎年130 菌株を分離して、耐性の検定に供した。

#### 2 菌の分離

ナシ黒星病菌は培地上での生育が遅いため、一般には 分離が難しいとされているが、梅雨期ごろまでに新鮮な 病斑を材料に選べば、かなり高率に純粋培養を得ることができる。一方、盛夏季以降になるとナシの葉や果実の上のミクロフロラが複雑になるほか、黒星病菌自体の活力も低下する傾向があるので、概して分離は難しい。

同一病斑上に本菌のベンゾイミダゾール耐性菌が感受性菌と混在したり、耐性程度の異なる菌が混在したりすることは少ない(石崎ら、1983)。また、純粋分離した菌を用いる場合、後述するように容易に耐性の有無や耐性程度を判別することが可能である。したがって、ベンゾイミダゾール耐性の検定の場合には必ずしも菌を単胞子分離しなくてもよい。

乾燥アンズ果実 25 g をイオン交換水 200 m/ 中で 30 分間煮沸, 沪過した後, 水を足して全量を 1 / とする。こ

表-1 ナシ黒星病菌の順場からの採集方法と耐性菌の検出割合

ale Ma	菊株数				
方法	感受性	弱耐性	中等度耐性	強耐性	計-
1 全部の樹より 1菌株ずつ	20	()	19	17	56
2、中央の1樹より 50 菌株	()	()	13	37	50
3. 任意の 5 樹より 10 菌株ずつ	10	1	11	28	50
4. 任意の10樹より5屋株ずつ	17	0	12	21	50

 $\chi^2 = 34.3 \ (P < 0.001)$ 

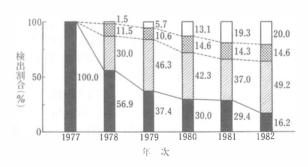


図-1 鳥取県果実連花粉事業所内圃場におけるナシ黒星 病菌の耐性菌検出割合の推移

強耐性菌, ///////// 中等度耐性菌, ///////// 弱耐性 菌, //// 感受性菌

Methods for Monitoring Fungicide Resistance—Pear scab (Venturia nashicola). By Hideo Isuu

れに寒天粉末を 35~40 g 加えて,100°Cで 30 分間殺菌する。乾アンズが入手困難なときは,「DMI 剤」の項で述べる抗生物質入りの PDA 培地を用いてもよいが,どちらの培地も細菌の繁殖を抑える目的で pH を低くしてあるので,加圧殺菌はしてはならない。培地を強酸性条件下で加圧殺菌すると寒天が分解し,冷えても固まらなくなる。このように調製した培地に病斑上の分生胞子塊を白金

このように調製した培地に病斑上の分生胞子塊を日金かぎで移植する(高梨、未発表)。その際、分生胞子を多く採ると、それだけコンタミネーションも起こりやすいので、なるべく小さな分生胞子塊を採り、これが付着した白金かぎの先端を培地面に突き刺すようにする。また、黒星病菌の培地上での生育適温は20℃であるが、雑菌、特に細菌の繁殖を少なくするために分離用の培養は初め15℃で行うほうがよい(梅本、私信)。

#### 3 検定方法と判定基準

市販のチオファネートメチル70%水和剤やベノミル 50%水和剤を用いてもよいが、筆者はカルベンダジムの 60%水和剤または純品をメーカーから入手して供試して いる。水和剤の場合は殺菌蒸留水に懸濁させ、また純品 はアセトンに溶解させて PDA 培地に混ぜる。前者では 培地と薬液を9:1に、また後者では49:1の割合に混ぜ て、添加後の薬剤の有効成分濃度がおのおの0,1,10,  $100 \, \mu g/m l$  となるようにして平板を作製する。ベクトン ディッキンソン社製のファルコン インテグリッドペト リ皿 (注文番号 1012, 100×15 mm, 1 ケース 500 組入 り)を使うと、1枚に36菌株を培養することができて大 変便利である(口絵写真参照)。その場合は,1枚につき 薬剤添加培地を30ml分注する。なお、上記のベンゾイ ミダゾール剤の抗菌活性はいずれも熱に安定なので、培 地に添加後、オートクレーブで殺菌しても問題はない。 チオファネートメチルの場合はオートクレーブ処理した ほうがむしろ抗菌活性が高くなるが、これはカルベンダ ジムへの変換が起こりやすいためである(石井・柳瀬。 1983).

純粋分離した供試菌株の菌叢片を PDA 平板培地上に接種,20℃で45日間前培養した後,菌叢の周縁部からコルクボーラー(直径4 mm)でディスクを打ち抜く。これを裏返しにして,菌叢面が直接薬剤と接触するように検定用培地上に接種,20℃で3週間培養する。

ベンゾイミダゾール系薬剤を全く使用したことのない 圃場から分離されたナシ黒星病菌の菌糸生育は通常,同薬剤  $1 \mu g/m l$  で完全に抑制され,これが薬剤感受性のベースラインと考えられる。耐性判定の指標として MIC (最小生育阻止濃度) と  $EC_{50}$  (50%生育阻止濃度) のどちらが適当か,しばしば論議されるところであるが,本菌

とベンゾイミダゾール剤の組み合わせにおいては、MICを採用して全く問題はない。すなわち、カルベンダジム  $1 \mu g/ml$  添加培地上で菌糸生育が認められれば耐性菌、認められなければ感受性菌ということになる。これは、チオファネートメチルやベノミルを供試しても同様である。また、 $EC_{50}$  を算出する必要がないことから、菌叢直径を測定することも不要である。そこで、病斑から菌を純粋分離し、菌叢が直径  $1 \, \mathrm{cm}$  ぐらいになったら、そこから菌叢片をとり直接検定用培地に接種してもよい。これによって PDA 平板培地での前培養に要する時間と労力等が省ける。

ベンゾイミダゾール剤の使用経歴のある各地のナシ圃場から黒星病菌を分離して検定すると,多くの場合耐性菌が検出され,しかも耐性の程度は菌株によって大きく異なる(Ishii et al., 1992:図-2)。このため,菌を以下のように類別する,強耐性菌:カルベンダジムの MIC が  $100~\mu g/ml$  以上,中等度耐性菌:MIC が  $10~\mu g/ml$  以上で  $100~\mu g/ml$  以下,弱耐性菌:MIC が  $1~\mu g/ml$  以上で  $10~\mu g/ml$  以下,感受性菌:MIC が  $1~\mu g/ml$  以下(口絵写真参照)。これは当初,便宜的なものであったが,その後の遺伝学的あるいは生化学的研究によって,その妥当性が裏づけられている(Ishii et al., 1984;Ishii and Davidse, 1986)\*。

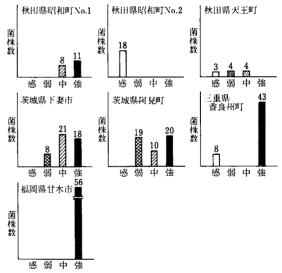


図-2 各地の圃場におけるベンゾイミダゾール系薬剤耐性ナシ黒星病菌の分布 (1987)<sup>a)</sup>

<sup>a)</sup>強:強耐性菌,中:中等度耐性菌 弱:弱耐性菌,感:感受性菌

<sup>\*</sup>ナシ黒星病菌の染色体上にはベンゾイミダゾール感受性をコードする1個の主働遺伝子 BenI が存在し、その突然変異によって同薬剤に対する耐性が発現する。また、強耐性、中等度耐性、弱耐性はそれぞれ同じ遺伝子座を占める複対立遺伝子の一つによって支配される。

#### 4 簡易検定法

純粋分離菌を用いる上記の検定法は、精度、再現性の 点で優れるが、検定までに長い期間を要するという問題 がある。そこで考案されたのが「発芽管隔膜法」である (梅本・長井、1979)。

採集した単一病斑上の分生胞子塊を純粋分離することなく,直接検定用培地上に塗沫接種する。その際,同じ病斑上の胞子塊を薬剤無添加の対照区から1,10,100 μg/ml 添加区へと順に白金かぎで培地面になすり付けるが,胞子をあまり多く採ると雑菌の混入が起こりやすくなるので注意する。次いで,15℃で2~3日間培養後,胞子発芽管の隔膜形成の有無を光学顕微鏡(100~200倍)で観察する。

ベンゾイミダゾール系薬剤は一般に、低濃度で菌の胞子発芽を抑える作用が弱い。しかし、感受性菌の胞子は  $1 \mu g/ml$  の薬剤存在下で発芽管の伸長が強く抑えられ、胞子の長径 ( $15\sim20 \mu m$ ) の長さ以上にはならず、しばしば発芽管先端の湾曲や奇形化が観察される(口絵写真参照)。また、発芽管に隔膜を形成しない。一方、耐性菌は  $1 \mu g/ml$  区でも薬剤無添加区と同様に胞子発芽管をおう盛に伸長させ、発芽管中に隔膜を形成する。そこで、この隔膜形成の有無を指標として耐性の判定を行う。発芽管の長さと隔膜数との間には高い相関が認められるので、少し慣れれば顕微鏡の視野を一目みて、それらの胞子群が耐性か感受性かを判定することは比較的容易である。また、 $100 \mu g/ml$ 、 $10 \mu g/ml$ ,及び  $1 \mu g/ml$  区での隔膜形成の状況に基づいて、耐性菌を強耐性菌、中等度耐性菌、弱耐性菌に区別する。

「発芽管隔膜法」は優れた方法で、簡易かつ迅速に耐性を検定できるため、耐性菌検定事業などに広く用いられているが、いくつか問題点もある。病斑上の胞子を直接薬剤添加培地へ塗沫接種して培養するため、しばしばコンタミネーションが起こり、胞子の発芽や発芽管伸長、さらには隔膜形成にその影響が出ること、また同じサンプルを用いた追試験が行えないことなどである。このほか、菌の耐性と感受性の判別は容易であっても、耐性菌の耐性程度の判定が必ずしも簡単ではない。したがって、検定の目的やサンプルの量などに応じて、純粋分離した菌を用いるか、あるいはこの簡易検定法を用いるかを判断し、適宜両者の方法を使い分けるのが望ましい。

#### 5 防除効果との関係

実験室内で培地を用いて行われる耐性検定の結果から,薬剤の圃場における効果を予測することは必ずしも容易ではない。菌の絶対量(密度)やナシの栽培条件,気象条件などが地域や圃場によって異なり,これが発病

表-2 チオファネートメチル剤 (467 ppm) を散布したナシ葉にナ シ黒星病菌の耐性菌と感受性菌を混合接種して得られる防 除価と接種源中の耐性菌比率との関係

比率	防除価*			
	中等度耐性菌:感受性菌	弱耐性菌:感受性菌		
1:0	-62	-11		
3:1	-20	39		
1:1	21	35		
1:3	20	45		
0:1		100		

\*防除価= 薬剤無散布区の発病薬率 - 薬剤散布区の発病薬率 薬剤無散布区の発病薬率

 $\times 100$ 

のしやすさ (disease pressure) に、ひいては薬剤の効果 にも影響を及ぼすからである。そこで多くの場合、ポット植えの植物等を用いた菌の接種試験によって薬剤の効果を調べ、圃場における効果を予測するに留まっている。

ナシ黒星病菌では、耐性菌の胞子を感受性菌の胞子と種々の割合で混ぜ、これを、あらかじめチオファネートメチル剤を実用濃度で処理したポット植えのナシ(品種:長十郎)の葉に噴霧接種して、薬剤の効果を調べた。その結果(表-2)、中等度耐性菌と感受性菌の組み合わせのみならず、弱耐性菌と感受性菌の組み合わせにおいても、薬剤による防除価の低下が観察された。このモデル試験の結果から、耐性程度の低い弱耐性菌であっても、発病に好適な条件下では薬剤の防除効果の低下を引き起こすこともあり得ると判断された。

#### 6 残された問題点

耐性菌のモニタリングデータを有効に利用して的確な 防除を行うためには、圃場における菌の絶対量や耐性菌 の割合、disease pressure と薬剤の効果との関係が明ら かになっていなければならない。しかし、黒星病の発生 予察法自体が確立されていない現状では、きめ細かな防 除指針の策定には至っていない。

#### 引用文献

- Ishii, H. and A. Yamaguchi (1977): Ann. Phytopath. Soc. Japan 43:557~561.
- 2) 梅本清作・長井雄治 (1979): 日植病報 45: 430~435
- 3) Іsнії, H. et al. (1985): Plant Pathology 34: 363~368.
- 4) 石崎 寛ら (1983): 日植病報 49:347~351.
- 5) 石井英夫・柳瀬春夫 (1983): 同上 49: 134 (講要). 6) et al. (1992): Plant Pathology 41: 543 ~553.
- 7) et al. (1984): Meded. Fac. L and bouww. Rijksuniv. Gent. 49/2a: 163~172.
- and DAVIDSE, L. C. (1986) :In:Proc. 1986 Br. Crop Prot. Conf. pp. 567~573.

## ---ナシ黒星病菌 (DMI 剤) ----

#### はじめに

ベンゾイミダゾール耐性菌が広く分布するようになったのを受けて、1986年には2種類のSBI剤(ステロール生合成阻害剤、EBI剤ともいう)、トリフルミゾールとビテルタノールがナシ黒星病を対象に登録された。その後、フェナリモル、ミクロブタニル、ヘキサコナゾール、ジフェノコナゾールなどのSBI剤が相次いで登録されたが、これらはいずれもDMI剤(ステロール脱メチル化阻害剤)のグループに属する。

DMI 剤がナシ黒星病の防除に使われ始めてから 10 年近くが経過しているが、この薬剤の効果が失われたとする報告はない。しかし、DMI 剤が使用されている圃場からは、フェナリモル感受性の低下した黒星病菌が既に検出される(冨田ら、1992)ことから、disease pressure が高く、また DMI 剤の使用頻度の高い地域では、今後耐性菌によって薬剤の効果が低下することも懸念される。

各種の DMI 剤に対するナシ黒星病菌の交さ耐性についてはまだデータがないが、近縁のリンゴ黒星病菌で調べられた結果から、これらの薬剤間では通常交さ耐性の関係があるものと予想される。そこで、登録のあるDMI 剤のすべてに対する感受性を検定する必要は当面ないと考えられるので、本稿では主としてフェナリモルを例にあげ、検定法について説明する。

#### 1 検定用材料の採集

先に述べたベンゾイミダゾール耐性菌のモニタリングが、いわば定性的に行えるのに対して、DMI 剤の場合には定量的なモニタリングが必要である。すなわち、一つの圃場につき多数の菌株を分離して検定し、個々の菌株間の比較だけではなく、菌の集団全体として薬剤感受性の耐性側へのシフトが起こっているかどうかを調べることが重要である。このため筆者は、可能であれば一つの圃場から罹病薬を50枚採集して、1枚当たり1病斑を選び、さらに1病斑から1菌株を純粋分離によって得るようにしている。なお、検定に必要な菌株数に関しては次回で述べる「リンゴ黒星病菌」の項を参考にされたい。

#### 2 菌の分離

ベンゾイミダゾール剤と異なり, DMI 剤の場合には, 黒星病菌の感受性低下が急速には進行しない(Ishii et al., 1990)。また, 耐性菌の耐性程度も比較的低い場合が 多く, 通常の感受性菌との違いが微妙な場合さえある。 このため, DMI 剤耐性の検定には単胞子分離した菌を用 いるのが望ましい。そこで, 菌の単胞子分離の方法を以 下に述べる。

罹病葉または罹病果実の病斑から白金かぎで分生胞子 塊を少量かきとり、殺菌蒸留水に懸濁させる。あらかじ めシャーレに流し込んで固化させた3%寒天平板(薄く 分注したほうが、後ほどの寒天ブロックの切り出しが容 易である)上に懸濁液を滴下、風乾後、15°Cで3ないし 5日間培養して胞子を発芽させる。次いで、フタをしたま まシャーレを裏返し, 顕微鏡 (対物レンズの作動距離が 長いものがよい)下で単胞子から発芽しているものを探 して, 先端の細いサインペンでシャーレの底にマークを 入れる。これを寒天ごと白金かぎで切り出して、硫酸ス トレプトマイシン  $50 \mu g/m l$ , ペニシリン G カリウム塩 50 μg/ml, 乳酸 0.05%を添加した PDA 斜面培地上に移 植、15℃で培養する。なお、この培地は細菌の繁殖を抑 える目的で乳酸を添加してpHを下げてあるので, 100°C,30分間の加熱殺菌に留め、加圧はしてはならな い。また、寒天濃度は通常のPDAの場合よりも高め、例 えば4%とするとよい。

単胞子分離の代わりに胞子塊そのものを培地上に移植して菌の純粋培養を得ることもできる(「ベンゾイミダゾール剤」の項参照)が、同じ病斑からフェナリモル感受性の異なる菌が分離されることもあるので、厳密な試験には適さない。

#### 3 検定方法と判定基準

市販のフェナリモル12%水和剤を用いる。特別な場合 を除き,原体や純品を使用する必要はない。純粋分離し て得た供試菌株の菌叢片をDIFCOPDA平板培地上に接 種,20°Cで45~60日間前培養した後,菌叢の周縁部から コルクボーラー (直径 4 mm) でディスクを打ち抜く。こ れを裏返しにして、菌叢面が直接薬剤と接触するように 以下の検定用培地上に接種する。PDA 培地と薬液(水和 剤を殺菌蒸留水に懸濁させたもの)を9:1の割合に混ぜ て,添加後の薬剤の有効成分濃度がおのおの0,0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50, 及び  $100 \mu g/m l$  となる ようにして平板を作製する。したがって,薬剤は最終濃 度よりも 10 倍高い濃度の原液を PDA 培地に加える。な お,フェナリモルの場合,熱に対する安定性が明らかで ないので、PDA 培地をオートクレーブで殺菌した後 に、あらかじめ調製しておいた薬液を無菌的に加え、シ ャーレに分注する。4分割の殺菌済みプラスチックシャ ーレ(ベクトン ディッキンソン社製のファルコン X プ レートペトリ皿, 注文番号 1009, 90×15 mm, 1ケース 500組入り)を使用すると便利で、その場合は1枚につき 約15 ml となるように分注する。

検定用培地上で20°C, 暗黒下, 3週間培養後, 例えば

デジタルノギスを用いて菌叢直径を測定、これから接種源の直径 (4 mm) を差し引いた値を菌糸生育量とする。次いで、各菌株の生育に対する薬剤の  $EC_{50}$  を求める。筆者は JA 全農・農業技術センターで作られたパソコン用プログラムを使用している。

トリフルミゾールやビテルタノールなどの DMI 剤の多くは、培地上でナシ黒星病菌の菌糸生育を抑制する作用が本来あまり強くないので、MIC を耐性判定の基準とするのは望ましくない(Ishii et al, 1990)。なお、感受性検定の際に標準となる菌株を常に対照として用いれば、resistance factor (供試菌株に対する薬剤の  $EC_{50}$  を標準菌株に対する  $EC_{50}$  で割った値)の客観性も増し、菌の感受性程度の比較に便利である。ただし、DMI 剤耐性は菌株によっては不安定で、保存用培養等によって耐性程度が低下することがあるので、標準菌株の選択に当たっては注意が必要である。

薬剤耐性を検定する場合には、その菌の野生型、すなわちその薬剤及びこれと同系統の薬剤の洗礼を受けていない菌の集団が示す薬剤感受性をベースラインデータとしてあらかじめ把握しておくことが重要であり、このベースラインよりも感受性の低い菌が検出された場合、これを耐性菌と呼ぶ(石井、1993)。上記の菌糸生育試験による、ナシ黒星病菌のフェナリモル感受性のベースラインデータを図-3に示す。ナシ黒星病の防除にまだ DMI 剤を使っていない中国の河北省保定市の圃場から分離した菌株に対して、フェナリモルの EC50 は  $0.014\sim0.445$   $\mu g/m l$ ,平均 0.120  $\mu g/m l$  であった(石井、未発表)。また、茨城県西茨城郡岩間町の DMI 剤無散布樹からの分離菌では、EC50 が  $0.020\sim1.286$   $\mu g/m l$ ,平均 0.199  $\mu g/m l$  で、1 菌株を除き 1  $\mu g/m l$  以下であった。そこで、こ

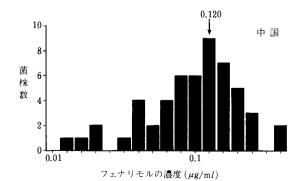
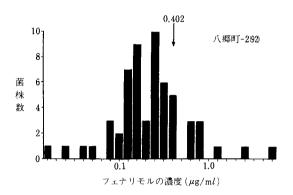
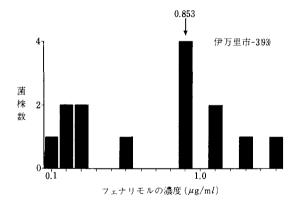


図-3 ナシ黒星病菌のフェナリモルに対する感受性(中国 河北省保定市の DMI 剤未使用圃場より 1993 年に 分離した菌株の菌糸生育に対するフェナリモルの EC<sub>50</sub> に基づいて作図した. 図中に矢印で示した数 字は EC<sub>50</sub> の平均値.)

れを耐性菌と感受性菌を区別する境界濃度とし、 $EC_{50}$  が  $1.0~\mu g/m l$  以上のものをフェナリモル耐性菌と判定する。

一方, DMI 剤が散布されている佐賀県, 福岡県, 茨城





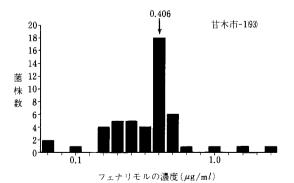


図-4 ナシ黒星病菌のフェナリモルに対する感受性(茨城県,佐賀県,及び福岡県のDMI剤使用圃場より1992年または1993年に分離した菌株の菌糸生育に対するフェナリモルのECsoに基づいて作図した。図中に矢印で示した数字はECsoの平均値。)

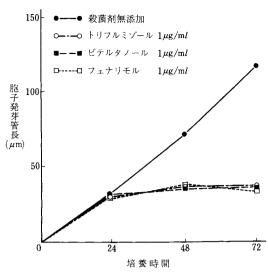


図-5 ナシ黒星病菌の分生胞子発芽管の伸長に及ぼす DMI 剤の影響

県など各地の圃場から分離された菌株群のフェナリモル 感受性は図-4にみられるように全体として低下する方 向にシフトし、わずかながら耐性菌が増加する兆しがう かがえる(石井・冨田、未発表)。

#### 4 簡易検定法

DMI 剤は一般に黒星病菌の胞子発芽抑制作用が弱い ため, 胞子発芽率を指標とする検定法は適さない(Ishii et al., 1990)。一方, DMI 剤は本菌の胞子発芽管の伸長を 抑制する(図-5)ので、薬剤添加培地上に胞子をなすり つけ、15℃で3日間程度培養した後、発芽管長を測定、 比較することで感受性を調べることができる。また, DMI 剤は本菌の細胞膜形成にも影響すると予想される ので、薬剤添加培地上で胞子発芽管の形状を観察したと ころ, 口絵写真にみられるように, 発芽管の肥厚化や膨 潤が観察された。このように、発芽管の長さの測定や形 熊の観察で DMI 剤感受性がある程度判定できるが、測 定に要する労力,時間や形態観察に主観が入る点などを 考慮すると、いずれも精度の高い簡易検定法とは言い難 い。なお、ベンゾイミダゾール耐性の簡易検定に用いら れる「発芽管隔膜法」は DMI 剤には使えない。発芽管伸 長への作用が DMI 剤ではベンゾイミダゾール剤ほどは 強くなく、したがって、感受性菌であっても発芽管中に 隔膜を形成するからである。

#### 5 防除効果との関係

DMI 剤の圃場における効果は依然保たれているが、各地の圃場から低率ながらフェナリモル耐性菌が検出されている。そこで、耐性菌が検出された圃場から黒星病菌

表-3 フェナリモル水和剤 (12%) のナシ黒星病に対する防除効果 (接種試験)

接種源の胞子を採集	フェナリモルの希釈倍数		
した圃場	4000ª	8000	
茨城県八郷町-1	97.3 <sup>b</sup>	89.2	
茨城県八郷町-2	100	88.7	
佐賀県伊万里市-1	80.7	100	
佐賀県伊万里市-3	95.3	100	
<b>茨城県岩間町</b>	100	92.8	
(対照)			

- \*:ナシ黒星病に対する常用濃度。
- b:発病葉率に基づいて算出した防除価。

表 - 4 フェナリモル水和剤 (12%) のナシ黒星病に対する防除効果 (接種試験)

供試菌株	フェナリモルの希釈倍数		
	4000°	8000	
佐賀 1-29-2	100 <sup>b</sup>	100	
佐賀 1-44-1	100	85.0	
佐賀 3-29-1	100	100	
岩 1-1(対照)	94.8	70.6	

- a:ナシ黒星病に対する常用濃度.
- b:発病葉率に基づいて算出した防除価.

の分生胞子を採集,これを接種源としてナシ実生の上で薬剤の効果を調べた。その結果,フェナリモルは表-3のようにいずれのサンプルに対しても高い発病抑制効果を示した(石井,未発表)。

次に、フェナリモル耐性と判定された圃場分離株の分生胞子を培地上で形成させ、これを用いて接種試験を行ったが、同様にフェナリモルの高い効果が得られた(表-4)。したがって、圃場で薬剤の効果を低下させるような耐性菌はまだほとんど分布していないと思われた。

#### 6 残された問題点

圃場における DMI 剤の効果の低下は通常段階的に起こるため、今後も DMI 剤の使用回数を制限し、併せて菌の薬剤感受性のモニタリングを継続する必要があろう。また、室内検定でどの程度の耐性を示せば薬剤の効力低下を起こす可能性があるのかを把握することも重要である。このほか、フェナリモル耐性菌の継代、保存中に同薬剤に対する感受性が高まる現象がみられるため、これへの対処法を考える必要がある。

#### 引用文献

- 1) 冨田恭範ら(1992):日植病報 58:609 (講要).
- 2) Ізни, H. et al. (1990): Pestic.Sci. 30: 405~413.
- 3) 石井英夫 (1993): 植物防疫 47:279~281.

(4ページより続く)

シ類:14日3回, ほうれんそう:コナダニ類・アブラムシ 類・ヨトウムシ:14 日 3 回, ねぎ・たまねぎ:アブラムシ 類・ヨトウムシ:3日6回,アスパラガス:ジュウシホシ クビナガハムシ:前日2回,くわい:アプラムシ類:塊茎 肥大期前但し収穫90日前まで:3回以内:散布,さやいん げん:アブラムシ類:3日3回、セルリー:アブラムシ類・ ヨトウムシ:7日6回、にんじん:アブラムシ類・ヨトウ ムシ:3日6回,ごぼう・やまのいも・さといも:アブラ ムシ類:3日6回, ばれいしょ:アブラムシ類・ヨトウム シ:前日6回,茶:ハマキムシ類・ハダニ類・チャドク ガ・チャノホソガ・ミドリヒメヨコバイ・コミカンアブラ ムシ:摘採10日前まで:3回以内:散布,桑:クワノシン トメタマバエ・ヒメコガネ・クロコガネ・クワノメイガ・ モンシロドクガ・アメリカシロヒトリ・クワゴマダラヒト リ・クワエダシャク・クワノミハムシ・スリップス類・ク ワキジラミ・クワハムシ・カイガラムシ類・クワヒメゾウ ムシ:摘採3日前まで:5回以内:散布、桑:クワカミキ リムシ:摘採7日前まで:5回以内:散布,きく:アブラ ムシ類:5回以内:散布

#### エトフェンプロックス粒剤

エトフェンプロックス 2.0%

サニーフィールド粒剤(6.8.26)

18777 (日産化学)

芝:シバツトガ・スジキリヨトウ:発生初期:4回以内:散 布

#### ダイアジノン・BPMC 粉剤

ダイアジノン 1.0%, BPMC1.5%

バッサジノン粉剤(6.8.26)

18778 (アグロス)

稲:ツマグロヨコバイ・ウンカ類:前日4回

#### ジメトエート・フェンバレレート水和剤

ジメトエート 15.0%、フェンバレレート 10.0%

ベジホン水和剤(6.8.26)

18779 (アグロス)

キャベツ:アオムシ・コナガ・アブラムシ類:7日3回

#### ジメチルビンホス・BPMC 粉剤

ジメチルビンホス 2.0%, BPMC2.0%

ランガードバッサ粉剤DL (6.8.26)

18780 (九州三共)

稲:ニカメイチュウ・ツマグロヨコバイ・ウンカ類・コブノ メイガ・カメムシ類・イネツトムシ・イナゴ:14 日5回

#### 「殺菌剤」

フルアジナム・ホセチル水和剤 フルアジナム 20.0%, ホセチル 50.0% フルオレート水和剤 (6.8.26)

18764 (石原産業), 18765 (ローヌ・プーランアグロ), 18766 (日産化学), 18767 (日本曹達)

りんご:斑点落葉病・黒星病・輪紋病:45日3回,なし:黒 斑病・黒星病・輪紋病:30日3回,キウイフルーツ:果実 軟腐病:幼果期まで(収穫120日前まで):1回:散布,ば れいしょ:疫病:30日3回,たまねぎ:灰色かび病:7日 3回

#### フサライド・EDDP 粉剤

フサライド 1.5%, EDDP2.0%

ヒノラブサイド粉剤 35DL (6.8.26)

18769 (日本バイエル)

稲:いもち病・穂枯れ (ごま葉枯病菌):21日4回

#### ホセチル水和剤

ホセチル 77.0%

グリーンビセット DF (6.8.26)

18771 (ローヌ・プーランアグロ), 18772 (塩野義製薬), 18773 (日本曹達)

芝(ベントグラス):赤焼病:発病初期:8回以内:0.4l/m² 散布

#### 「除草剤」

#### ビアラホス液剤

ビアラホス 1.0%

ゼニゴケダウン AL (6.8.26)

18768 (北興産業)

公園・庭園・駐車場・宅地等:ゼニゴケ:牛育期:散布 イマザキン・ペンディメタリン水和剤〔AC-769〕

<del>イマザキン</del> 8.5%, ペンディメタリン 36.0%

オフIIフロアブル (6.8.26)

18770 (日本サイアナミッド)

日本芝(こうらいしば):畑地一年生雑草:秋期~冬期(雑 草発生始期~牛育期):1回:散布

#### 協 だ 会 ょ i)

#### ○お知らせ

「生物農薬の開発・利用に関するシンポジウム」講演 要旨の頒布について

先日,9月6~7日に行われました標記シンポジウムの 講演要旨がわずか在庫しております。ご希望の方には実 費2,000円,送料1部310円にてお頒けしておりますの で、FAX にて出版部までお申し込み下さい。

第 48 巻 平成 6 年 9 月 25 日印刷 植 物 防 疫

第 10 号 平成 6 年 10 月 1 日発行

10 月 編 集 人 植物防疫編集委員会 発行人 岩

印刷所  $\equiv$ 

(毎月1回1日発行) = 禁転載 =

平成6年

本 毅 美印刷㈱ 東京都荒川区西日暮里 5-9-8 定価 800 円 送料 76 円 (本体 777円)

平成6年分 前金購読料 9,000円 後払購読料 9,600円 (共に〒サービス,消費税込み)

#### 発 行 所-

東京都豊島区駒込1丁目43番11号 郵便番号 170 日本植物防疫協会 電 話・東京 (03) 3944-1561~6 番 FAX (03) 3944-2103 番 振替 00110-7-177867

## 広範囲の作物の病害虫防除に… 農作物を守る! B曹の農業

○灰色かび病などに卓効/

## ○落葉果樹の病害防除に 新発

●ハダニ類の防除に

●ハダニ・スリップス防除に

★巨峰の着粒増加に

★ かんきつ園・桑園・家まわり・駐車場等の除草に

生育期処理 ■ 除草剤

## ○広範囲の病害防除に

○果樹・野菜の病害防除に

売

好評発売中

○ 落葉果樹の病害総合防除に

○べと病・疫病・細菌病の防除に

# フリエッティボルドー

○べと病・疫病の専門薬/

リエッテ

きゅうりのべと病防除に ぶどう・りんご・なしの病害防除に **アリエッティC** 

> ※ハウスの省力防除に 日曹のくん煙剤

トリフミンシャット ||ロニランジェット

マブリックシェット ニッソランVシェット

○芝・たばこ・花の病害防除に

果樹・野菜のハダニ防除に

茶・メロン・すいか・さといも・花の ハダニ・アブラムシ類防除に

ニッソラン

●ハダニ・アブラムシ防除に

●広範囲の害虫防除に - 合成ビレスロイド剤-



皇アクチノール

農薬は、適期・適量・安全使用

日本曹達株式会社

社 〒100 東京都千代田区大手町2-2-1 支 店 〒541 大阪市中央区北浜2-1-11 営業所 札幌・仙台・信越・新潟・東京・名古屋・福岡・四国・高岡

時代の先取り

ハイパワー58.2cc

共立背負動力散布機DMC6101はセレクトシャッターの採 用で、1キロ除草剤の少量散布から粉剤・粒剤・肥料等の散 布まで安定した吐出量が得られます。またリコイル引き力が従 来機の半分以下に低減された「オートデコンプ機構」により ケッチンがなく、らくらくエンジン始動ができます。効率と作業性 で選ぶなら共立背負動散です。是非、使い比べてください。

MC6101-F265

仕様 ●エンジン排気量:58.2cc ●薬剤タンク容量:26 ℓ ●重量:11.5kg





# "箱でたたこう!イネミズゾウムシ"

イネミズゾウムシをはじめ、イネドロオイムシ・イネヒメハモグリバエ・ウンカ、 ヨコバイ類などの水稲初期害虫の同時防除が出来ます。

〈育苗箱専用〉

# オンコル 粒剤 5

### 特長

- 1 浸透移行性:速やかに浸透移行し、植物全体を害虫から守ります。
- 2 残効性:残効期間が長いので、薬剤散布回数を減らすことが出来ます。
- 3 広い殺虫スペクトル:広範囲の害虫に効果を示し、一剤で同時防除が出来ます。





# 



バスタ普及会 石原産業/日本農薬/日産化学

〈事務局〉へキスト・シェーリング・アグレボ株式会社 〒107 東京都港区赤坂4-10-33 ☎03(3585)9539



# 当社の製品を どうぞよろしくお願いします。



日本農薬株式会社 東京都中央区日本橋1丁目2番5号



おいしい笑顔の応援団人と畑と安心農薬。アグロ・カネショウがお手伝い。















# 連作障害を

シャット・アウト!!

刺激が少なく、安心して使用できる 土壌消毒剤



®ドイツ国BASF社の登録商標で、 本剤は同社で製造されたものです。

バスアミドはオゾン層にやさしい土壌消毒剤です。



アグロ・カネショウ株式会社

東京都千代田区丸の内3-1-1

認発第

行十

昭平平 和成成

十六六

年年年

九十九

月月月

日日日 第発印 =: 行刷



(計) 粒剤 水和剤() 粒剤 粉剤 口L

アドマイヤーは、まったく新しい系統の殺虫剤で、水稲の初期害虫~ウンカ類まで、長期間防除効果を持続します。野菜・果樹ではアプラムシ類やスリップス類などの難防除害虫にも高い効果を発揮します。

JAグループ 農協全農経済連 本社:東京都台東区池之端1-4-26 墨110-91 TEL 03-3822-513

