

浸透性殺菌剤によるチモシーがまの穂病罹病株の無病化について

誌名	北海道農業試験場研究報告 = Research bulletin of the Hokkaido National Agricultural Experiment Station
ISSN	03675955
著者名	島貫,忠幸 佐藤,徹
発行元	北海道農業試験場
巻/号	138号
巻号補足	
掲載ページ	p. 99-104
発行年月	1983年11月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



浸透性殺菌剤によるチモシーがまの穂病 罹病株の無病化について

島 貫 忠 幸* 佐 藤 徹*

I 緒 言

チモシーがまの穂病の発生は近年北海道各地で漸増の傾向¹⁾を示し、一般放牧地および採草地における被害も無視できないものがある。しかし、現在本病の被害が最も大きな問題となっているのは、チモシーの育種および採種栽培においてである。これは本病が発病した植物では、しばしば正常な出穂が妨げられ、採種不能となるからである。本病は全身感染性で、感染個体は生存するかぎり本病菌を保菌し、かつ感染経路が不明で潜伏期間が長い等の事実が、問題を一層深刻にしている⁵⁾。トルフェスクでは、感染した植物において、本病菌の菌糸が組織を移行して種子に達し、高率で種子伝搬するとされている^{4,6)}。

著者らは、チモシーの育種母材や優良系統に本病が高率で発生し、また外観健全な個体にも潜在感染の頻度の高いことをみいだした(未発表)。そこで浸透性殺菌剤の治療効果に着目して、罹病個体の無病化を試み、実用化の見通しを得たので報告する。本試験は育種母材や優良系統の無病化を目的としたもので、一般草地への応用は経済性あるいは残留毒性などの点から慎重な検討が必要と考えられる。

本論文を草するに当たり、御校閲ならびに御助言を頂いた草地開発第二部 嶋田 饒部長、牧草第3研究室長 但見明俊博士に深く感謝申し上げる。また本研究の遂行にあたり、牧草第3研究室の佐藤倫造主任研究官、松本直幸技官および藤平博子氏には種々の御協力を、雪印種苗中央研究農場には現地試験圃場の提供をうけた。ここに記して御礼申し上げ

る。

II 試験方法および結果

1. *Epichloë typhina* に抗菌作用を有する薬剤の検索

供試薬剤は第1表に示した。本病菌の平板培養から、コルクボーラーで直径4mmのディスク円板を打ち抜き、供試薬剤の所定濃度(1,000, 100, 10 ppm)に24時間浸漬した。その後、付着した薬液を濾紙で除いて、乳酸加用ジャガイモ・グルコース寒天培地(PDA)に移植し、2週間後に菌糸の伸長を調査した。結果は第2表に示した。

最も効果が高かったのはトリホリン剤で、10 ppmで菌糸はわずかに生育するが、100 ppmでは菌糸伸長は完全に阻止された。ペノミル剤、TPN剤、カブタホル・キャプタン剤がこれにつづき、100 ppmでわずかに生育した。

2. 浸透性殺菌剤による治療効果試験

1) 供試植物

北海道農試牧草第3研究室保存のチモシー栄養系のなかから発病株を選び、その株分けで増殖した感染苗を用いた。なお、供試苗はすべて葉身から病原菌を分離し感染を確認した⁵⁾。

2) 有効薬剤の検索

供試薬剤は前項(第1表)と同一の13種の薬剤である。供試薬剤の100倍および500倍液に24時間浸漬した苗を、直径12cmの素焼鉢に1個体ずつ移植した。その後、2週間ごとに供試薬剤の500倍液を1鉢当たり50ml灌注した。この間、経時的に薬剤処理個体の葉身から菌の分離を行った。10~12週間後に地上部を刈取り、圃場に移植した。治療効果の判定は処理個体からの本菌の分離率および圃場におけ

昭和58年6月17日受理

* 草地開発第二部牧草第3研究室(現草地試験場環境部病理研究室)

Table 1 The list of the systemic fungicides tested

Fungicide	Chemical name (type of formulation, content of active ingredient)
1. Benomyl	methyl-1-(butylcarbamoyl)-2-benzimidazolecarbamate(wettable powder 50%)
2. Chlorothalonil (TPN)	tetrachloroisophthalonitrile(w. p. 75%)
3. Captafol	N-(1, 1, 2, 2-tetrachloroethylthio)-4-tetrahydrophthalimide(w. p. 25%)
Captan	N-trichloromethylthio-4-tetrahydrophthalimide(w. p. 50%)
4. Vinclozolin	3-(3, 5-dichlorophenyl)-5-methyl-5-vinylloxazolidin-2, 4-dione(w. p. 50%)
5. Iprodione	3-(3, 5-dichlorophenyl)-N-isopropyl-2, 4-dioxoimidazolidine-1-carboxamide (w. p. 50%)
6. Triadimefon	1-(4-chlorophenoxy)-3, 3-dimethyl-1-(1, 2, 4-triazolyl)-2-butanone(w. p. 25%)
7. Thiophanate-methyl	1, 2-dis(3-methoxycarbonyl-2-thioureido) benzene(w. p. 75%)
8. Isoprothiolane	diisopropyl-1, 3-dithiolane-2-ylidene malonate(emulsifiable concentrate 40%)
9. Triforine	1, 4-bis-(2, 2, 2-trichloro-1-formamidoethyl)-piperazine(e. c. 15%)
10. Tricyclazole	5-methyl-1, 2, 4-triazolo(3, 4-b) benzothiazole(w. p. 20%)
11. Dimethirimol	5-butyl-2-dimethylamino-6-methylpyrimidin-4-ol(soluble powder 12.5%)
12. Metalaxyl	methyl-D, L-N-(2, 6-dimethyl-phenyl)-N-(2-methoxyacetyl)-alaninate (w. p. 35%)
13. Pro benazole	3-allyloxy-1, 2-benzisothiazole-1, 1-dioxide(granule 8%)

る発病率によった。結果は第3表に示した。

治療効果が認められたのはトリホリン剤処理区のみであった。同剤の100倍液24時間浸漬と500倍液灌注の組み合わせ(実験I)では若干薬害を生じ、10個体のうち7個体が試験中に枯死した。500倍液の浸漬と灌注の組み合わせ(実験II)では薬害がなく、12週間後の感染苗および翌年の発病株は皆無であった。ベノミル剤、TPN剤、チオフアネートメチル剤については、薬害、治療効果ともに認められなかった。その他の薬剤は奇形、生育不良および枯死等の薬害を生じ、また、治療効果も認められなかった。

3) トリホリン剤の施用方法に関する試験

前項の試験結果から供試薬剤のなかで、トリホリン剤は高い治療効果を有することが判明したので、本剤の苗浸漬、土壌灌注の濃度、灌注量および回数などについて検討した。結果は第4表に示した。

感染苗の薬剤浸漬の場合、100倍および250倍液に24時間浸漬の治療効果は高く、浸漬処理単独で十分な効果を示すが、薬害によって生育遅延、低率の枯死などが認められた。500倍の濃度では薬害は認められないが、治療効果が劣り、土壌灌注処理との併用が必要である。

Table 2 Mycelial growth of *E. typhina* treated with the systemic fungicides*

fungicide	concentration (ppm)	rating of mycelial growth**		
		1,000	100	10
1. Benomyl	—	—	±	+
2. Chlorothalonil (TPN)	—	—	±	+
3. Captafol + captan	—	—	±	±
4. Vinclozolin	±	+	+	+
5. Iprodione	—	+	+	++
6. Triadimefon	±	+	+	+
7. Thiophanate-methyl	+	+	+	++
8. Isoprothiolane	—	+	+	++
9. Triforine	—	—	—	±
10. Tricyclazole	±	++	++	++
11. Dimethirimol	++	++	++	++
12. Metalaxyl	++	++	++	++
13. Pro benazole	+	++	++	++
14. Control	++	++	++	++

* Mycelial-covered discs 4 mm in diameter were soaked in the fungicide solution for 24 hr., then transferred to PDA plates and allowed to grow at 25°C for two weeks.

** Mycelial growth was rated as follows.

++ moderate
+ slight
± scarce
— none

Table 3 The therapeutic effect of the systemic fungicides in the greenhouse test*

fungicide	Exp. I		Exp. II	
	% of infected seedlings**	% of diseased plants***	% of infected seedlings**	% of diseased plants***
1. Benomyl	3/10	3/3	10/12	12/12
2. Chlorothalonil (TPN)	10/10	3/3	10/10	10/10
3. Captafol + Captan	7/8	8/8	12/12	10/12
4. Vinclozolin	9/9	1/1		
5. Iprodione	8/9	9/9	11/12	12/12
6. Triadimefon	5/5	died	9/12	4/5
7. Thiophanate-methyl	10/10	10/10	12/12	12/12
8. Isoprothiolane	5/5	5/5	7/7	7/7
9. Triforine	0/3	0/2	0/9	0/9
10. Tricyclazole			9/10	9/10
11. Dimethirimol			2/5	3/4
12. Metalaxyl			2/4	died
13. Pro benazol			3/10	10/10
Control	8/9	9/9	12/12	12/12

* All the seedlings provided were previously confirmed to be infected with *E. typhina* by an isolation test. In Exp. I, the infected seedlings were dipped into 1 % aqueous solution of each fungicide for 24 hours, then transplanted to clay pots (12 cm in diameter) and treated with 50 ml of 0.2 % fungicide solution six times during a two-week interval. Subsequently the treated seedlings were cut and transplanted in a field in September so that the examination of disease incidence could be conducted the following June. In Exp. II, the infected seedlings were treated the same as in Exp. I, except they were also dipped into a 0.2 % fungicide solution.

** Seedlings from which *E. typhina* was isolated 12 weeks after the first treatment.

*** Plants on which choke symptoms appeared in the field.

Table 4 Therapeutic effect of triforine in different dosage and application

treatment	frequency of treatment	dosage	number of infected seedlings remained after treatment*				
			2	4	6	8	wks
Dipping of infected seedlings for 24 hours	1	1 %	2	3	2**	0**	
		0.4%	5	2	1**	0**	
		0.2%	3	8	9	14	
Soil application	1	7.5 l/m ²	9	5	1	1	
		0.4%	7	13	3	4	
		1.0	13	13	11	15	
	2***	15.0 l/m ²	7	9	0	0	
		8.0	4	3	2	0	
		5.0	8	11	6	3	
		2.0	5	7	13	12	

* Fifteen infected seedlings used for each treatment.

** Two plants died due to phytotoxicity.

*** The second application made 28 days later.

次に、土壌灌注処理では250倍液1回処理よりも、4週間間隔の500倍液2回灌注の治療効果が高かった。いずれの濃度でも灌注量の減少に伴って治療効果は低下した。500倍の濃度で8 l/m²が最小有効量であった。

4) 発病圃場におけるトリホリン剤の効果

本試験は夕張郡長沼町 雪印種苗中央研究農場のチモンシ系統保存圃で実施した。試験は5連制で、1区面積は1 m² (0.5×2 m)、同供試株数は10であった。なお、供試したチモンシ栄養系は過去7年間の発病追跡調査で毎年高率な発病が確認されたものである⁵⁾。薬剤処理は500倍液をm²当たり15 l、株元に3回(1982年4月26日、4月30日および5月18日)土壌灌注した。発病調査は6月下旬の出穂時に、効果は発病茎率によった。結果は第5表に示した。

トリホリン剤処理は無処理および対照薬剤のベノミル剤処理に比べて、発病茎率は著しく低く、高い治療効果を示した。また薬害も認められず、チモンシは正常に出穂した。このことから、がまの穂病多発圃場での、トリホリン剤処理は発病を抑えることが実証された。

III 考 察

がまの穂病菌は麦角菌科 (Clavicipitaceae) に属するものの、麦角菌 [*Claviceps purpurea* (Fr.) Tul.] とは薬剤感受性が異なり、*in vitro* の試験でがまの穂病菌に殺菌作用を示したのはトリホリン剤のみであった。一方、麦角菌に抗菌力を有するベノミル剤、チオファネートメチル剤は本菌に対して効果がなかった。本病菌と麦角菌の薬剤感受性の差異

を更に検討する必要がある。

トリホリン剤の浸透性殺菌剤としての特性に注目し、根からの吸収による治療方法を検討した結果、苗浸漬および土壌灌注の高い効果が明らかとなった。苗浸漬単独で十分な効果を得るには、本剤の250倍液に24時間浸漬が必要であるが、生育遅延、まれに枯死などの薬害を生じる。濃度を500倍に下げると、薬害の危険はなくなるが効果も低下する。したがって、苗浸漬を実用化するには、浸漬時間と濃度についての検討が必要である。これに対し土壌灌注では、250倍液8 l/m²の1回灌注の効果は劣るが、500倍液の4週間間隔2回処理はポット試験で安定した効果を示した。しかし、灌注量、回数等については検討の余地が残されており、低濃度の苗浸漬との組み合わせ等も更に試験の必要がある。

前報⁵⁾で、本病菌のチモンシ体内の分布は茎葉以外に茎基部(球茎)にも及ぶことを報告した。オーチャードグラスでは、本病の典型的な病徴である“がまの穂症状 (choke)”が発現するのに必須な条件として、花芽分化のごく初期に本菌の菌糸が花芽の部分に侵入することがあげられ、侵入時期が遅れると、組織内に菌糸が存在しても正常に出穂すると報告されている³⁾。このことから類推すれば、チモンシにおいても、分けつおよび花芽分化の初期に本菌の体内移行による感染の起こることが、病徴発現にとって重要と考えられる。このような仮定にたてば、本病防除のねらいは、球茎部分に存在する病原菌の殺菌または抑制にある。本試験で苗浸漬あるいは土壌灌注が効果を示した事実も、このことの傍証と考えられる。ここで問題となるのは、高濃度(250倍液)、1回灌注の効果が劣る事実であり、今後更に検討が必要である。

Table 5 Therapeutic effect of triforine in the heavily infected field*

fungicide	dosage	percentage of tillers with symptoms**					average
		1	2	3	4	5 replication	
Triforine	0.2%, 15 l/m ²	0	0	0	0	0.8	0.2
Benomyl	do	72	2	23	20	81	40
Control	—	67	14	28	100	45	51

* The survey of the past seven years proved that none of clones used were free from the choke disease. A 0.2% aqueous suspension of triforine or benomyl was applied to the soil on Apr. 26, Apr. 30 and May 18, 1982.

** Disease readings were made at the heading stage (late June) on three plants in each plot.

なお、本剤〔サブローール®, 1, 4-ビス-(2, 2)-トリクロロ-1-ホルムアミドエチルピペラジン〕は茎葉に発病する各種作物のうどんこ病、さび病などの防除薬剤として卓効を示すことが知られているが²⁾、生態が特殊な本病の場合のトリホリン剤の作用機作は、前記さび病などの場合とは異なることも考えられる。

IV 摘 要

Epichloë typhina (Pers. ex Fr.) Tul. によるチモシーがまの穂病は全身感染性病害であり、しかも発病植物は出穂不能になることが多い。このため本病はチモシーの育種および採種栽培上、重要な病害である。我々は育種母材および採種母本の浸透性殺菌剤による無病化を検討した。病組織からの本病菌の分離率を無病化の指標として、ガラス室で試験を行い、トリホリン剤〔サブローール®, 1, 4-ビス-(2, 2)-トリクロロ-1-ホルムアミドエチルピペラジン〕の高い治療効果を見いだした。すなわち、本剤の250倍液に感染苗を24時間浸漬するか、あるいは500倍液8~15 l/m²を4週間おきに2回土壌灌注することで8週間後にはほぼ完全に無病化された。さらに本病の多発圃場を用いて、4月下旬から5月中旬まで、本剤の500倍液15 l/m²を3回灌注することで、圃場でも高い治療効果が得られることを実証した。

引用文献

- 1) 荒木隆男 (1978) チモシーがまの穂病菌とその発生。日植病報, 44, 76.
- 2) EBENEBE, C, FEHRMANN, F. and GROSSMANN, F. (1971) Effects of a new systemic fungicide, piperazine-1, 4-diyl-bis-[1-(2, 2-trichloroethyl) formamide] against wheat leaf rust. *Plant Disease Repr.*, 55, 691-694.
- 3) KIRBY, E. J. M. (1961) Host-parasite relations in the choke disease of grasses. *Trans. Brit. mycol. Soc.*, 44, 493-503.
- 4) SAMPSON, K. (1933) The systemic infection of grasses by *Epichloë typhina* (Pers.) Tul. *Trans. Brit. mycol. Soc.*, 18, 30-47.
- 5) 島貫忠幸, 佐藤 徹 (1983) チモシーがまの穂病の発病経過と罹病植物の内生菌糸の保菌部位。北海道農試研報, 138, 87-97.
- 6) WERNHAM, C. C. (1942) *Epichloë typhina* on imported fescue seed. *Phytopathology*, 32, 1093.

Therapeutic Effects of Systemic Fungicides against the Choke Disease of Timothy Caused by *Epichloë typhina* (Pers. ex Fr.) Tul.

Tadayuki SHIMANUKI and Toru SATO

Summary

The choke, a systemic disease, is a serious obstacle in the breeding and seed production of timothy, since the disease often prevents plant from normal heading. In this study, our goal was to cure the infected plants by systemic fungicide treatments. Among 13 chemicals tested, triforine (Saprol®) was most effective against the causal fungus, *Epichloë typhina*, *in vitro* test, being partially fungicidal at 10 ppm and completely fungicidal at 100 ppm. Benomyl, chlorothalonil, and captafol+captan were fungistatic at 100 ppm and fungicidal at 1,000 ppm.

In greenhouse tests, only triforine displayed an

excellent therapeutic activity on the infected seedlings, either by dipping of the seedlings to 0.4 % aqueous suspension for 24 hours or by application of 0.2 % aqueous suspension (8 l/m²) to soil twice at a four week intervals. The serial isolation tests revealed that the endophytic mycelia were eliminated after 8 weeks of treatment.

The therapeutic activity of triforine was also confirmed in the heavily infected field; that is, the incidence of this disease was markedly suppressed by successive applications to the soil on Apr. 26, Apr. 30 and May 18, 1982.