

日本植物病理学会  
第 17 回殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム

プ ロ グ ラ ム

2007 年 3 月 31 日 (土)

< 午前の部 >

- 9:30~9:40 開会の挨拶
- 9:40~10:20 北関東における耐性菌の現状と事例  
栃木県における耐性菌の発生と対策 ..... 1  
中山 喜一 (栃木県農業試験場)
- 10:20~11:00 コンニャク根腐病とミョウガ根茎腐敗病のメタラキシル耐性菌問題 .....11  
漆原 寿彦・柴田 聡 (群馬県農業技術センター)
- 11:00~12:00 オリサストロピンの作用機作と感受性検定 .....19  
Gerd Stammer (BASF Agricultural Center)

(昼 食)

< 午後の部 >

- 13:00~14:00 ペンチオピラドの作用機作と耐性菌対策 .....30  
櫻井 誠也 (三井化学(株))
- 14:00~14:40 DMI 剤に関する諸問題  
北海道のコムギにおける DMI 剤の使用方法について .....40  
相馬 潤 (北海道立中央農業試験場)
- 14:40~14:50 (休憩)
- 14:50~15:50 ナシ黒星病菌における DMI 剤耐性菌の出現について .....49  
石井 英夫 (農業環境技術研究所)  
菊原 賢次 (福岡県農業総合試験場)
- 15:50~16:30 キュウリうどんこ病菌の DMI 剤耐性と分子機構 .....61  
久保 深雪 (神奈川農業技術センター)

# 栃木県における耐性菌の発生と対策

Occurrence of Fungicide-resistant Pathogens in Tochigi Prefecture

栃木県農業試験場

中山喜一

Kiichi Nakayama, Tochigi Prefectural Agricultural Experiment Station

## Abstract

In this report, I described the occurrence of fungicide-resistant pathogens in rice, strawberry and Japanese pear, main crops in Tochigi prefecture and our practical approach to them. We clarified the presence of *Pyricularia oryzae* (Blast pathogen) resistant to melanin biosynthesis inhibitor targeting scytalone dehydratase (MBI-D) in rice, and *Sphaerotheca aphanis* var. *aphanis* (Powdery mildew pathogen) resistant to sterol dimethylation inhibitors (DMIs) in strawberry. A single point mutation (GGC → AGC) was found in codon 461 of the sterol 14  $\alpha$ -demethylase gene (*CYP51*) of DMI-resistant *Sphaerotheca aphanis* var. *aphanis*, and a PCR-based method was developed for the detection of the DMI-resistant isolates. In Japanese pear, the occurrence of DMI-resistant isolates of *Venturia nashicola* (Scab pathogen) was at 5.9% on average. However, field performance of the fungicides was still maintained in Tochigi prefecture.

## 1. はじめに

栃木県は、関東地方の北部に位置する内陸県で、県土面積は約 6,400km<sup>2</sup>（関東最大、全国第 20 位）であり、東部の八溝（やみぞ）山地、北部から西部にかけての那須連山、帝釈（たいしゃく）山地、足尾山地の山岳地帯と中央部の那珂川、鬼怒川、渡良瀬川の沿岸平野部の 3 地域に大別される。人口は 2,011,347 人（2006 年 4 月 1 日現在、全国第 20 位）であり、県都の宇都宮市は東京から約 90km、JR 東北新幹線で約 50 分の位置にある。

また、本県は、大消費地の首都圏に位置し、平坦で広い農地、豊富な水資源、穏やかな気候など、農業生産の環境に恵まれており、米麦、園芸、畜産のバランスのとれた農業を目指している。2004 年の農業産出額は 2,769 億円（全国第 10 位）であった。なかでも、イネ、オオムギ、イチゴ、トマト、ニラ、ナシなどは全国で上位に位置している。

そこで、本稿では、本県の主要作物であるイネ、イチゴ、ナシでの耐性菌の発生と対策について、農業試験場及び農業環境指導センター（病虫害防除所）の取組の一端を紹介する。

## 2. イネでの事例

本県のイネ栽培は、作付面積が 67,000ha（2006 年産）で産出額は 800 億円（2005 年産）に上る。県内の品目別産出割合では、イネは 29.2 %（2005 年産）を占めており、本県の基幹作物の一つとなっている。ここでは、いもち病、ばか苗病での事例について述べる。

コンニャク根腐病とミョウガ根茎腐敗病のメタラキシル耐性菌問題  
Appearance of Metalaxyl-resistant Strains of Konnyaku and Mioga Root-rot in Gunma

群馬県農業技術センター <sup>がら</sup> 漆原寿彦・柴田 聡

Toshihiko Urushibara and Satoshi Shibata

Gunma Agricultural Technology Center, Nishiobokata 493, Isesaki, Gunma 379-2224, Japan

Abstract

Konnyaku and mioga root-rot, caused by *Pythium aristosporum* and *P. zingiberis*, respectively, increase their severity in the fields, and frequently lead to serious economic loss in Gunma. To clarify the possibility of metalaxyl resistant pathogens, we isolated the strains from infected stocks of konnyaku and mioga on the fields. When field isolates were used as inoculum, failure of disease control by metalaxyl was observed in some isolates from konnyaku and mioga. These isolates were resistant to metalaxyl *in vitro* microplate assay in which fungal growth from the mycelial disks dipped in the metalaxyl solution was detected. These studies revealed that metalaxyl resistance has developed in both pathogens of konnyaku and mioga root-rot. We also introduce various trials to control of these diseases without chemicals. Of them, crop rotation and the cover-culture of wheat, rye or triticale provided an eminent efficacy to control konnyaku root-rot. For mioga, culturing in a shaded vinyl house effectively controlled the disease. These strategies have already been introduced into the fields with heavy infection. In addition, hot water sterilization and new chemical control are on the tests. These non-chemical controls will also help to prevent fungicide resistance problem.

1. はじめに

コンニャクとミョウガは、群馬県の特産物として古くから生産されている農作物である。コンニャク (*Amorphophallus konjac* K. Koch) は、明治後期には北海道、青森、沖縄を除くほぼ全国の都府県で栽培されており、昭和28年(1953年)以降は群馬県が生産量全国一位となった。関東農政局前橋統計・情報センター編(2005)によれば、平成16年産のコンニャク栽培面積は全国で5,050ha(群馬県:4,010ha)、収穫量は全国で71,400t(群馬県:63,300t)あり、生産量における群馬県のシェアは89%となっている。まさに群馬県を代表する農作物と言える。

一方、ミョウガ (*Zingiber mioga* (Thunb.) Roscoe) は、群馬県では昭和初期に榛名山南麓の倉沢村(現高崎市)で自生していたミョウガ(花ミョウガ)を畑地で栽培したのが始まりである。戦前までは栽培面積も少なく、畑の隅に放任的に作られていた程度であったが、昭和30年(1955年)頃からミョウガ栽培への関心が高まり、「陣田のミョウガ」として市場出荷されるようになった。昭和41年(1966年)には隣接の吾妻町(現東吾妻町)と連携し、「群馬みょうが」として市場出荷するようになり、作付面積・収穫量ともに増加した。現在、ミョウガの生産量としては、ハウスによる周年栽培を行っている高知県が圧倒的に多く、それに大きく差を広げられる形で夏期の露地栽培として群馬県と秋田県が続いている。

しかし、近年、両作物の主要病害であるコンニャク根腐病(病原菌:*Pythium aristosporum*)

# Oryastrobin – A new fungicide in rice

GERD STAMMLER

BASF Aktiengesellschaft, D-67117 Limburgerhof, Germany

## Summary

Oryastrobin is a new strobilurin (QoI) fungicide with excellent fungicidal efficacy against leaf and panicle blast, and sheath blight in rice. The active ingredient is formulated in granules with optimised release patterns, suitable for either seedling box or field applications. Oryastrobin provides an outstanding consistent and season-long efficacy against blast and sheath blight under different environmental conditions combined with a favourable toxicological and ecotoxicological profile and is safe to users and the environment. For seedling box applications oryastrobin is registered with 700 g a.i. ha<sup>-1</sup> in combination with insecticides and for field application as a solo-compound with 660 to 990 g a.i. ha<sup>-1</sup> in Japan. In order to maintain the sensitivity of blast and sheath blight to oryastrobin continuous sensitivity monitoring has been and will continue to be conducted. For this mainly genetic techniques will be used. No strains with reduced sensitivity could be detected during our monitoring programme up to 2006.

## Introduction

The most important diseases in transplanted rice in Japan are leaf and panicle blast (*Magnaporthe grisea*) and sheath blight (*Thanatephorus cucumeris*). For the control of both diseases, fungicides play an important role. Current fungicidal treatments are mainly based on granule application in the seedling box. Treatments with special field granular formulations and classical spray or dust applications are also used. In particular for the seedling box granular application type it is essential that the fungicide is safe to the sensitive rice seedlings combined with long-lasting activity in the upper parts of the plant in order to control the relevant diseases in the field.

Oryastrobin is a new QoI fungicide for the control of rice blast and sheath blight (STAMMLER et al. 2007). Its biochemical mode of action (MoA) is the inhibition of the mitochondrial respiration chain by binding to the cytochrome *bc1* complex at the Qo site (SAUTER et al. 1999, BARTLETT et al. 2002). Typical for QoI fungicides, oryastrobin strongly inhibits spore germination of the pathogens, but is also effective on all other energy dependent stages of fungal development (such as the infection process, mycelial growth, spore production). Special granular formulations containing oryastrobin have been developed for controlled release in seedling box application with or without an insecticide partner. Additionally, field granular formulations were developed for treatments in the field.

# ペンチオピラドの作用機作と耐性菌対策

## Biological Activity of Penthiopyrad and Its Resistance Management

三井化学株式会社機能化学品研究所 櫻井 誠也

Seiya Sakurai, Mitsui Chemicals Inc. Functional Chemicals Laboratory, 1144 Togo, Mobara-shi, Chiba 297-0017, Japan. E-mail: seiya.sakurai@mitsui-chem.co.jp

### Abstract

Penthiopyrad, (*RS*)-*N*-[2-(1,3-dimethylbutyl)thiophen-3-yl]-1-methyl-3-trifluoromethyl-1*H*-pyrazole-4-carboxamide is a novel fungicide that belongs to the carboxamide family. It is well known that carboxamide type fungicides such as carboxin have good activity against rust and *Rhizoctonia* diseases but penthiopyrad shows a remarkable activity against not only these diseases but also gray mold, powdery mildew and apple scab. Its mode of action is different from those of the other fungicides used to control these diseases. *In vitro* assays have been carried out on *Botrytis cinerea* and *Venturia inaequalis* to obtain the baseline data of sensitivity to penthiopyrad.  $EC_{50}$  and  $EC_{90}$  values of the 58 isolates of *B. cinerea* to penthiopyrad were in the range 0.01-0.5ppm and 0.1-3ppm, respectively.  $EC_{50}$  and  $EC_{90}$  values of the 117 isolates of *V. inaequalis* to penthiopyrad were in the range 0.01-0.1ppm and 0.03-1ppm, respectively. When the possibility of gene diagnosis of the mutation that causes carboxin tolerance, as were reported in *Ustilago maydis* and *Mycosphaerella graminicola*, were examined for some pathogens, PCR-RFLP or PIRA-PCR methods were found to be useful.

### 1. はじめに

ペンチオピラド (MTF-753、野菜果樹用商品名 ; アフェット®フロアブル、芝用商品名 ; ガイア®顆粒水和剤) はカルボン酸アミド系に属する新規化合物である。従来、カルボキシシン等これら系統に属する殺菌剤は黒穂病、さび病及びリゾクトニア病害など主に担子菌に分類される病害に効果を示すことが知られていたが、ペンチオピラドはこのような担子菌による病害のみならず、灰色かび病、各種うどんこ病、リンゴ・ナシ黒星病など幅広い病害に対して高い効果を有する。また本剤は灰色かび病やうどんこ病などにおいて報告されているストロビルリン系殺菌剤、ベンゾイミダゾール系殺菌剤、DMI 剤 (ステロール脱メチル化阻害剤) などの各種薬剤耐性菌にも交差耐性を示さないことから、これら耐性菌が発生している病害においても作用機作の異なる新しい薬剤として期待が持たれる。本剤は 2006 年に国内の農薬登録申請を行い、海外においても順次登録申請して行く計画である。

一方、病原菌を直接標的とする選択性の高い薬剤が主体となっている現在、多くの薬剤で耐性菌発生の可能性がある。病原菌のミトコンドリア電子伝達系 ComplexII のコハク酸脱水素酵素を作用点とする本剤においても、当然、耐性菌発生の可能性があり、そのマネジメントとして各種病原

Jun SOUMA

Hokkaido Central Agricultural Experiment Station, Naganuma, Hokkaido,  
069-1395, Japan

#### ABSTRACT

Sterol demethylation inhibitor (DMI) fungicides have been used to control wheat diseases in Hokkaido since 1983. The first DMI fungicide used in Hokkaido was triadimefon, which is effective against *Typhula* snow blight, powdery mildew and leaf rust. Triadimefon has been used intensively to control powdery mildew in the susceptible cultivar 'Chihoku-komugi', which was a leading cultivar in the 1980's. The prolonged and intensive use of DMI fungicides has gradually decreased the sensitivity of powdery mildew fungus to these fungicides. Therefore, guidelines for the application of DMI fungicides were set by the Hokkaido government in 1987. The guidelines recommend that wheat growers avoid consecutive DMI fungicide applications in order to prevent the development of DMI resistance. Since a regulation for deoxynivalenol (DON) contamination in wheat was set in 2002, the control of *Fusarium* head blight (FHB) has been very important. Metconazole and tebuconazole, both DMI fungicides, are effective for reducing FHB and DON levels. These DMI fungicides should be increasingly employed for the purpose of FHB control. In addition, DMI fungicides could play an important role in the change in the fungicide application method, i.e., the change from high-volume (1,000L/ha) to low-volume (250L/ha) application.

#### 1. はじめに

本稿で筆者は北海道のコムギ病害防除における DMI 剤の利用の歴史と今後の展望について述べてみたい。

明治以降本格的なものとなる北海道のコムギ栽培の歴史の中で、DMI 剤が使用されるようになったのは 1980 年代に入ってからである。80 年代以降の期間に限ってみても、品種の変遷あるいは作付け状況などの要因から問題となる病害の移り変わりがあり、それに応じて防除の重要度も変わってきている。さらに、DMI 剤に限らず、感受性低下菌あるいは耐性菌の出現の問題が顕在化するなどし、主流となる薬剤にも変遷があった。

はじめに、このような重要病害とその防除の考え方および薬剤の変遷について見ていくことに

## ナシ黒星病菌における DMI 剤耐性菌の出現

### Occurrence of DMI resistance in *Venturia nashicola*, the scab fungus of Asian pears

(独) 農業環境技術研究所 石井 英夫  
福岡県農業総合試験場 菊原 賢次

Hideo Ishii, National Institute for Agro-Environmental Sciences, Kannondai 3-1-3, Tsukuba, Ibaraki 305-8604, Japan and Kenji Kikuhara, Fukuoka Agricultural Research Center, Chikusino, Fukuoka 818-8549, Japan.

#### Abstract

Scab is an important disease of Japanese and Chinese pears. As disease-resistant cultivars are few, spray applications of fungicides are a common practice for pear growers in the control of scab disease. Sterol demethylation inhibitors (DMIs) became a major group of fungicides during the mid-1980s. Since then the performance of DMIs has been maintained in the field. However, in 2005 the efficacy of some DMI fungicides appeared to be inadequate in Fukuoka Prefecture, Japan. Scab inoculation tests using potted pear trees previously sprayed with fenarimol or hexaconazole indicated the first occurrence of resistant isolates. Resistant isolates are widely distributed in the prefecture, but other DMI fungicide difenoconazole showed a high level of efficacy and complete disease control maintained. Surprisingly, isolates of *Venturia nashicola* highly resistant to benzimidazole fungicides are still remained at high frequencies in the fungal population. Fenarimol sensitivity of single spore isolates tended to return to sensitivity when cultured on fungicide-free PDA medium. This phenomenon is probably related with the mechanism of resistance in this slow-growing fungus. Elucidation of the mechanism of resistance and the development of molecular methods will be required for the rapid and precise identification of resistant isolates.

#### はじめに

ナシ黒星病は糸状菌の一種 *Venturia nashicola* によって引き起こされ、ナシ栽培における重要病害である。DMI 剤（ステロール脱メチル化阻害剤）は、耐性菌の蔓延によって効力を失ったベンゾイミダゾール系薬剤に代わって、ナシ黒星病の重要な基幹防除剤としてこれまで長く使用されてきた。特にナシの開花期前後の重点防除時期には、必ずといってよいほど散布される。

DMI 剤が我が国で農業登録された 1986 年当時、既に海外ではリンゴ黒星病ほかで DMI 剤耐性菌が報告されていた。このため、ナシ黒星病についても耐性菌対策として DMI 剤の使用を年間 3 回以内に抑え、作用機構の異なる他系統薬剤との現地混用（または混合剤使用）やローテーション散布が提案、実施されてきた。この間の事情については、海外の事例も含めて本研究会シンポジウムその他で、既に取り上げられている（梅本、1993；石井、1995；Köller、2001；富田、2001）。

その後、より効果の高い DMI 剤が登場したこともあり、ナシ黒星病は全般的に少発生で推移した。しかし、九州など地域によっては気象条件その他の理由で、以前から DMI 剤の散布回数が多くなる傾向があり、耐性菌出現の危険性が早くから指摘されていた。

## キュウリうどんこ病菌の DMI 剤耐性と分子機構

Molecular mechanism of demethylation inhibitor (DMI) fungicide-resistance in cucumber powdery mildew fungi (*Sphaerotheca fliginea*)

神奈川県農業技術センター 野菜作物研究部 久保 深雪

Miyuki Kubo, Kanagawa Agricultural Technology Center, 1617 Kamikisawa, Hiratsuka, Kanagawa 259-1204, JAPAN

### ABSTRACT

Demethylation inhibitor (DMI) for the control of plant pathogenic fungi has become a major group of fungicides since the mid-1980s. However, intensive use of DMI has led to the development of resistance in a number of fungal pathogens of agricultural importance. We investigated the mechanism of DMI fungicide-resistance in cucumber powdery mildew fungi by isolating the CYP51 gene that encodes the target enzyme (P45014DM) of DMI. A single mutation, leading to the substitution of a glycine residue with serine at the position 461, was found in all DMI-resistant strains. We further found that higher-resistant strains have 4 different nucleotide mutations that correspond to amino acid substitutions (A372G, I374V, V449L, G461S). These results indicate that change in the DMI affinity of this enzyme resulted from amino acid substitutions may account for the resistance mechanism.

### はじめに

ステロール脱メチル化酵素阻害剤 (DMI 剤) は優れた殺菌剤としてうどんこ病などの多くの植物病原糸状菌の防除に使用されている。DMI 剤の抗菌作用は、細胞膜障害の誘導による(深見ら, 1983)。糸状菌細胞膜の主要構成成分であるエルゴステロールは、その生合成において中間生成物のラノステロールからチトクローム P-450 のスーパーファミリーに属する 14 $\alpha$ -デメチラーゼ (P-45014DM) などの触媒を経て合成される。この P-45014DM が DMI 剤の作用標的となっている。DMI 剤の窒素原子が、P-45014DM のヘム鉄に結合することによって、ラノステロール等の基質が P-45014DM に結合できなくなる (Yhoshida and Aoyama 1987)。その結果、エルゴステロールの合成阻害が起こるとともに 14 $\alpha$ -メチルステロールが蓄積するために細胞膜障害をきたし、菌の発育が阻害されると考えられている(深見ら, 1983)。しかし、卓越した効果を示すがために薬剤が頻繁に使用され、結果として耐性菌が出現し、様々な場面で問題となっている。とくにキュウリうどんこ病菌については、1988 年に神奈川県や千葉県において感受性低下事例が報告された (大塚ら, 1988 ; Ohtsuka et al., 1988 ; 竹内・村井, 1988)。その後の調査で、全国的に耐性菌が分布していることが確認された (中澤ら, 1991)。中澤らの報告では、全国から採取したキュウリうどんこ病菌の EC50 値は、トリアジメホンで 0.06~8.4ppm、トリフルミゾールで 0.04~0.73ppm、フェナリモルで 0.007~0.64ppm の範囲を示していた。中でもトリアジメホンの感受性低下程度が大きく、EC50=4.6ppm の感受性値を示す菌株は常用濃度のトリアジメホンでは効果が無いことが示された。また、これらの薬剤の感受性値間には高い相関が認められ、交差耐性を持つと考えられた。

一方、上記 DMI 剤は医療現場でも殺菌剤・抗真菌剤として使用されているが、やはり真菌症患者からアゾール抗真菌剤抵抗性の *Candida albicans* が多数分離されている (Marichal et al., 1999)。抵