

日本植物病理学会
第 23 回殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム

《プログラム》

- 9:45 (開会)
- 9:50-10:35 アジア各地のイネ紋枯病菌で検出されるトレハラーゼ遺伝子の
一塩基多型とバリダマイシン感受性の多様性解析
荒川 征夫 (名城大学) 1
- 10:35-11:20 リンゴ斑点落葉病菌および褐斑病菌における QoI 剤耐性のリスク評価
足立 嘉彦 (農研機構 果樹研究所) 10
- 11:20-12:05 静岡県における QoI 剤耐性チャ輪斑病菌の発生実態
山田 憲吾 (農研機構 野菜茶業研究所) 17
- (昼食休憩 70 分)
- 13:15-14:00 QoI 剤耐性イネいもち病菌の発生と対応
宮川 典子・富士 真 (全農 営農・技術センター) 25
- 14:00-14:45 高知県におけるボスカリド耐性ナスすすかび病菌の発生と遺伝子診断
岡田 知之 (高知県農業技術センター) 37
- 14:45-15:30 フランス及び日本における CAA 系薬剤耐性ブドウべと病菌の
発生状況と今後の対策
尾崎 剛一 (クミアイ化学工業株式会社 生物科学研究所) 47
- 15:40 (閉会)

アジア各地のイネ紋枯病菌で検出されるトレハラーゼ遺伝子の
一塩基多型とバリダマイシン感受性の多様性解析

SNPs variation of the trehalase gene and sensitivities to the validamycin
on isolates of rice sheath blight pathogen in Asia.

名城大学 農学部

荒川 征夫

Masao Arakawa, Faculty of Agriculture, Meijo University,
1-501 Shiogamaguchi, Tempaku, Nagoya 468-8502, JAPAN
aramasa@meijo-u.ac.jp

Abstract

Since the commercialization of the fungicide validamycin in 1972, no resistant isolates of *Rhizoctonia solani* AG-1 IA, the causal agent of rice sheath blight were found in rice productive paddy fields in Japan. However some isolates with low sensitivity to validamycin were detected in China and India in this few decades. Twenty-five isolates of *R. solani* AG-1 IA from diseased rice in Japan, China, Korea, Taiwan and India, were used in a phenotypic study to determine the sensitivity to validamycin. Highly diversity of the sensitivity was found in *R. solani* AG-1 IA isolates from every district including Japan. Eight isolates were regarded as a low sensitive that had shown less than 50 % inhibition with the treatment of 1.0 ppm validamycin. PCR primers were prepared with the genomic databases for fungal species of basidiomycota, and primers for inverse PCR were designed from a partial sequence with highly homologous to trehalase gene to determine the full-length gene of trehalase in *R. solani* AG-1 IA. The sequence of RT-PCR product indicated that the trehalase of *R. solani* AG-1 IA was encoded in 3,045 base of genomic DNA, 2,325 base of mRNA should be transcribed with the splicing of 11 introns, and the trehalase enzyme was putatively constructed with 774 amino acids. Twenty-four isolates showed heterozygotic genotypes with SNPs. Among 92 sites of SNP, 5 showed non-synonymous changes in the comparison with a consensus sequence of amino acids. Among 8 isolates regarded as low sensitive to validamycin by phenotypic assay, 6 isolates showed 1 or 2 non-synonymous changes. We are now developing the SNP genotyping methods for the diagnosis the fungicidal sensitivities of *R. solani* AG-1 IA distributed in Asian rice fields, to lead the understandings of the phylogeography of plant pathogenic populations.

リンゴ斑点落葉病菌および褐斑病菌における QoI 剤耐性のリスク評価

Resistance risk assessment of two apple pathogens, *Alternaria alternata* apple pathotype and *Diplocarpon mali*, to QoI fungicides.

(独)農研機構 果樹研究所 カンキツ研究領域
足立 嘉彦

Yoshihiko ADACHI,

Citrus Research Station, NARO Institute of Fruit Tree Science,

National Agriculture and Food Research Organization (NARO)

485-6 Okitsunaka-cho, Shimizu-ku, Shizuoka, Shizuoka 424-0292, Japan

Abstract

QoI fungicide resistance of two apple pathogens, *Alternaria alternata* apple pathotype and *Diplocarpon mali*, was evaluated by the monitoring of sensitivity in commercial orchards from 2006 to 2009 and an experimental orchard that applied for 4 or 5 times annually from 2005 to 2008 in Iwate prefecture. In *D. mali*, no resistant isolate was detected in commercial orchards and sensitivity to QoI was remained in an experimental orchard. On the other hand, QoI-resistant isolates of *A. alternata* apple pathotype were widely distributed in Iwate prefecture, and sensitivity to QoI in an experimental orchard was reduced quickly. These results showed that *A. alternata* apple pathotype was more risky than *D. mali* for the development of QoI resistance.

はじめに

ストロビルリン系殺菌剤を含むミトコンドリア電子伝達系複合体Ⅲの Qo 部位に作用して、呼吸を阻害する一群の殺菌剤を QoI 剤と呼んでいる。QoI 剤は、防除スペクトラムが広く複数病害に対する同時防除が期待できること、卓越した残効を有することなどから、リンゴにおいても広く使用される殺菌剤となっている。しかし、本剤における耐性菌の発達リスクが著しく高いことは既に明らかであり、国内外で多くの植物病原糸状菌で耐性菌の発生事例が報告されている(石井 2012)。

リンゴでの使用については、散布回数を年 2 回程度に制限しつつあるが、収穫前日まで使用可能という特性とこれを代替する殺菌剤がほとんど見あたらないこともあり、実際には早生品種の収穫が始まる 8 月中旬頃に合わせ、8～9 月に使用される場合がほとんどとなっている。しかしながら、本剤の持つ広い防除スペクトラムを生かし、輪紋病等の重点防除期(6～7月)にさらに使用できれば、卓越した残効を活かして、農薬散布回数の削減につながる可能性も考えられた。

静岡県における QoI 剤耐性チャ輪斑病菌の発生実態

Present status of QoI resistance of *Pestalotiopsis longiseta* in Shizuoka Prefecture

農研機構 野菜茶業研究所

山田憲吾

Kengo Yamada, NARO Institute of Vegetable and Tea Science,
Shimada, Shizuoka 428-8501, Japan

Abstract

Gray blight caused by *Pestalotiopsis longiseta* is one of the most serious diseases in Japanese tea cultivation. Azoxystrobin, which belongs to QoI fungicides, has been the preferred treatment for gray blight because of its curative control effect. The first QoI resistance of *P. longiseta* was observed in 2008 in Kagoshima Prefecture, resulting in control failure. We have been investigating the distribution of QoI-resistant *P. longiseta* in Shizuoka Prefecture since 2009. As a result, resistant isolates were detected in 235 out of 421 fields investigated. More than half of the isolates were resistant in 88 fields. In addition, we detected moderately resistant isolates that showed an intermediate reaction between sensitive and resistant isolates against QoI fungicides. The mean EC₅₀ value for these isolates was 1.7 mg/L, and the resistance factor was 56.7. This moderate resistance was correlated with F129L mutation in cytochrome *b* gene, different from G143A mutation that confers high resistance. The ISSR analysis suggested that QoI resistance emerged independently in several clonal lineages of *P. longiseta*.

はじめに

チャ輪斑病はわが国におけるチャの重要病害の一つである。病原菌は *Pestalotiopsis longiseta* と *P. theae* の 2 種があるが、主に問題となるのは前者である。病原菌は傷口感染する。摘採などによる切断部位から感染すると葉枯れ・枝枯れ症状、新梢基部に生じた微細な傷口から感染すると新梢枯死症状を引き起こす。輪斑病菌は葉や茎の付傷後ただちに感染を開始するため、保護剤による防除は摘採当日に行なうことが望ましい。しかし、チャは摘採後ただちに製茶を行なう必要があるため、防除までは手が回らないことが多い。また、周囲の未摘採園へのドリフトの問題もあり、適期に防除を行なうことは現実的には難しい。摘採後に防除ができない場合には、後日、整枝を行なって菌の侵入部位を刈り落とした後に薬剤を散布するが、その場合でも整枝と薬剤散布を同日中に行なうことは労力的な負担が大きい。このことから、輪斑病の防除には浸透性を有し、付傷の 1-3 日後の散布でも防除効果が得られる治療剤が多く用いられている。

チャにおいて QoI 剤は 2000 年にクレソキシムメチル水和剤が登録されたのが最初で、以来、アゾキシストロビン水和剤 (2001 年)、トリフロキシストロビン水和剤 (2002 年)、ピリベンカルブ水和剤 (2012 年) の 4 剤が登録されている。QoI 剤は多くのチャ病害に対して防除効果を有するが、中でも輪斑病に対してアゾキシストロビン水和剤が治療効果を有することから、基幹防除薬剤として広く普及している。しかし、QoI 剤は耐性リスクが高いことが問題となっており (JFRAC 2005)、チャ輪斑病菌でも、2008 年に鹿児島県で耐性菌の発生による防除効果の低下が確認された (尾松 2010; 尾

QoI 剤耐性イネいもち病菌の発生と対応

Occurrence of QoI fungicide-resistant strains of *Magnaporthe oryzae* on rice and fungicidal effective

全国農業協同組合連合会 営農・技術センター 農薬研究室 宮川 典子、富士 真
Noriko Miyagawa, Makoto Fuji, ZEN-NOH Agricultural R & D Center

Abstract

Rice blast caused by *Magnaporthe oryzae* is one of the most important diseases for rice cultivation in Japan and has caused serious damage in the past. There are various fungicides to prevent this disease, for example, MBI-D, MBI-R, Plant activator, QoI fungicides etc. QoI fungicides are effective for controlling not only *M. oryzae* but also *Thanatephorus cucumeris*, the causal agent of sheath blight of rice. The areas in which these fungicides used have been increasing every year. However, QoI-resistant strains of *M. oryzae* were detected in several regions of Japan in 2012. These strains showed reduced sensitivity against oryastrobin, azoxystrobin and metominostrobin. The mutation G143A in the mitochondria cytochrome *b* confers resistance to QoI fungicides. All the QoI-resistant strains harbored the G143A mutation. We recommend discontinuing QoI fungicides at the area where resistant strains occurred, and to further conduct the monitoring for QoI sensitivity of *M. oryzae* widely.

1. はじめに

水稻に農薬登録のある Quinone outside inhibitor 系薬剤（以下、QoI 剤）には現在、アゾキシストロビン（アミスター）、メトミノストロビン（イモチエース・オリブライト）、オリサストロビン（嵐）がある。QoI 剤は広範な病害に高い防除効果がある一方、多くの病害で薬剤耐性菌の発生が報告されている（石井、2012）。また、イネいもち病菌ではこれまでにカスガマイシン、有機リン剤、メラニン生合成脱水酵素阻害剤（MBI-D 剤）に対する耐性菌が発生しており、FRAC の公表している耐性菌発生のリスク評価ではリスク「高」とされている（FRAC、2005）。そのため、QoI 剤を水稻で使用するにあたって、いもち病で QoI 剤耐性菌の出現が懸念されたため、J-FRAC および殺菌剤耐性菌研究会より QoI 剤の使用に際してはガイドラインが設けられている（J-FRAC、2008：耐性菌研究会、2008）。

しかしながら、2012 年一部の地域でオリサストロビンに対して感受性の低下したイネいもち病菌の発生が認められ、耐性菌であることが確認された（宮川ら、2013）。耐性菌の発生は殺菌剤を使用する上で避けられない問題であるが、未然に耐性菌による被害を防止し、良い薬剤を末永く生産者に使用してもらうためには、耐性菌の発生前および発生後いかに関係機関一丸となって対策を講じるかが重要となってくる。

本報告では、イネいもち病用殺菌剤の使用実態およびこれまでの感受性モニタリングの経過、本年度の対応、今後の対策について紹介する。

高知県におけるボスカリド耐性ナスすすかび病菌の発生と遺伝子診断
Detection and Molecular characterization of Boscalid-resistant *Mycovellosiella*
natrassii isolates from Eggplant in Kochi prefecture

高知県農業技術センター

岡田知之

Tomoyuki Okada, Kochi Agricultural Research Center,
1100 Hataeda, Nankoku-shi, Kochi 783-0023, Japan

Abstract

In 2011, 25 isolates of *Mycovellosiella natrassii* were collected from eggplant fields in Kochi prefecture and tested their sensitivity to the succinate dehydrogenase inhibitor (SDHI) boscalid. Six of them displayed high levels of resistance to boscalid (EC_{50} value >16 ppm) in mycelial growth tests. These isolates also exhibited resistance to boscalid in bioassay. Sequence analysis of the *SdhB* gene revealed that all of boscalid-resistant isolates possess same nucleotide change from A to G at codon 268, resulting in a histidine to arginine (H268R) substitution. To detect the boscalid-resistant *Mycovellosiella natrassii* faster, a polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) assay was developed. In 2012, 32 eggplant fields were researched with PCR-RFLP. As a result, boscalid-resistant strains which have H268R mutation were detected in 23 fields. And the percentage of boscalid-resistant strains did not decrease after soil solarization. Analysis of sensitivity to penthiopyrad of H268R strains showed that they were sensitive to this fungicide. On the other hand, other isolates which has a nucleotide change at codon 270 (I270V) showed less sensitivity to both boscalid and penthiopyrad.

はじめに

高知県は全国一の冬春ナスの産地であり、高知ナスは販売金額で60億円を超える重要作物の一つである(平成23年度)。施設栽培で、8月下旬に定植し、9月下旬～翌年6月まで収穫する作型がほとんどである。近年、12月頃から発生するすすかび病が大変問題になっており、9割以上の圃場で発生が確認されている。すすかび病は果実には病斑を生じないが、葉がスポット状に退色し、やがて退色した部分の裏側に灰色の菌叢を生じる病害であり、多発すると光合成を阻害し、収量低下を招く。ナスすすかび病菌(*Mycovellosiella natrassii*)では既にDeMethylation Inhibitor(DMI)、ポリオキシシン剤、およびストロビルリン系薬剤(QoI)などで耐性菌の発生が報告されており(山口2002、池田ら1989、矢野ら2003)、高知県内で分離されたナスすすかび病菌もこれらの薬剤への感受性が低下

フランス及び日本における CAA 系薬剤耐性ブドウべと病菌の発生状況と今後の対策
Occurrence Situation and Resistance risk management of CAA Fungicide Resistance in
Grape downy mildew in France and Japan.

クミアイ化学工業株式会社 生物科学研究所
尾崎剛一

Koichi Ozaki, Kumiai Chemical Industry Co., Ltd., Life Science Research Institute,
3360 Kamo, Kikugawa-shi, Shizuoka, 439-0031, Japan.

E-mail : kou-ozaki@kumiai-chem.co.jp

Abstract

Carboxylic acid amides (CAA) fungicide is a group name of compounds which have Carboxylic acid amides structure. CAA fungicide is effective for controlling the Oomycete plant pathogens of various crops and has curative and penetrative activities. The mode of action of CAA fungicide is the inhibition of cellulose synthesis in the Oomycete plant pathogen. We have conducted the sensitivity monitoring studies of benthiavalicarb-isopropyl, which is one of CAA fungicide, to *Plasmopara viticola* in France since 1998 until today. These studies show the detection rate of resistance strain in France has been increasing. On the other hand, in Japan, resistance strain of *Plasmopara viticola* was not detected in our monitoring study in 2012. In this report, I propose the strategy of resistance risk management of CAA fungicide in Japan to prevent occurrence of resistance.

1. はじめに

FRAC (Fungicide Resistance Action Committee) が公表しているリストには Carboxylic Acid Amides 系薬剤 (以下 CAA 系薬剤) に分類されるものとしてジメトモルフ (Dimethomorph)、フルモルフ (Flumorph)、マンジプロパミド (Mandipropamid)、イプロバリカルブ (Iprovalicarb)、ベンチアバリカルブイソプロピル (Benthiavalicarb-isopropyl)、バリフェナレート (Valifenalate) の 6 化合物が示されている。このうち、ジメトモルフ、マンジプロパミド、ベンチアバリカルブイソプロピル (以下ベンチアバリカルブ) については日本国内において農薬登録を取得し、卵菌類に属する植物病原菌によって引き起こされる各種べと病、疫病の防除薬剤として使用されている (表 1)。クミアイ化学が開発したベンチアバリカルブは TPN との混合剤であるプロポーズ顆粒水和剤、シモキサニルとの混合剤であるベトファイター顆粒水和剤、エキナイン顆粒水和剤、マンゼブとの混合剤であるカンパネラ水和剤 (ベネセット水和剤) がこれまでに登録を取得し上市している。今後、フルオピコリドとの混合剤であるジャストフィットフロア