

日本植物病理学会

第 21 回殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム

《プログラム》

10:00	(開会)
10:05-11:05	Trigger off endogenous plant defenses by isotianil, a new resistance inducer: Induction of the entire set of plants defenses for improved resistance management Valerie Toquin (Bayer CropScience Lyon)
11:05-11:50	岐阜県におけるアゾキシストロビン耐性トマト葉かび病菌の発生動向 渡辺秀樹 (岐阜県農業技術センター)
11:50-13:00	(昼食休憩 70 分)
13:00-13:45	わが国におけるブドウべと病菌の QoI 剤感受性の実態 鈴木俊二 (山梨大学)
13:45-14:30	山梨県における QoI 剤耐性ブドウべと病菌の発生 綿打享子 (山梨県果樹試験場)
14:30-15:15	長野県におけるブドウ晩腐病菌の QoI 剤感受性の実態 近藤賢一 (長野県果樹試験場)
15:15	(閉会)

**Trigger off endogenous plant defences by isotianil,
a new resistance inducer.**

Induction of the entire set of plant defences for improved resistance
management.

Valérie Toquin, *Bayer S.A.S., Bayer CropScience, La Dargoire Research Center, 14-20 rue
Pierre Baizet 69009 Lyon, France.*

Isotianil is a new plant defence inducer that controls leaf blast and bacterial leaf blight in rice. Discovered by Bayer in 1997, isotianil has been jointly developed by Bayer CropScience (BCS) and Sumitomo Chemical Co., Ltd. Isotianil does not exhibit by itself any activity against pathogens but protects rice plants against infection when applied at an early developmental stage. To elucidate the molecular mechanisms of isotianil-induced resistance, gene expression profiling experiments were performed using an Affymetrix array of the rice whole genome. Two conditions were tested, with and without pathogen challenge. Isotianil, applied at dose range used in agronomical conditions and without pathogen pressure, induces only few changes in gene expression. These genes directly responsive to isotianil are involved in salicylic acid catabolism and pathway. Upon pathogen challenge, isotianil primes rice plants for an increased defence genes activation compared to simple infection. The onset of resistance is accompanied by a potentiated SAR response including enhanced activation of *PR* genes and of genes involved in secondary metabolisms such as phenylpropanoid and flavonoid pathways. Thus isotianil mode of action would probably involve the salicylic signalling pathway in plant.

岐阜県におけるアゾキシストロビン耐性トマト葉かび病菌の発生動向

Recent Status of Azoxystrobin-resistant Tomato Leaf Mold Fungus (*Passalora fulva*) in Gifu Prefecture

岐阜県農業技術センター
渡辺 秀樹

Hideki Watanabe, Gifu Prefectural Agricultural Technology Center,
Matamaru, Gifu, 501-1192, Japan

Abstract

Recently, azoxystrobin-resistant isolates of *Passalora fulva* (syn. *Fulvia fulva*) have been widely distributed in Gifu Prefecture. Molecular analysis of cytochrome *b* gene revealed the presence of F129L mutation in resistant isolates. This is the first report of F129L mutation found from QoI resistant pathogens in Japan. In greenhouse experiments, efficacy of two fungicides (boscalid and pyribencarb) was tested. Boscalid exhibited high control efficacy against azoxystrobin-resistant isolates. On the other hand, the control efficacy of pyribencarb was lower than boscalid. *In vitro* sensitivity test using 164 isolates of *P. fulva*, MIC of pyribencarb against azoxystrobin-resistant isolates were all higher than 0.5 µg ml⁻¹. Azoxystrobin resistance of *P. fulva* isolates collected from two areas in Gifu Prefecture was monitored from 2007 to 2010. As a result, distribution of azoxystrobin-resistant isolates was clearly different within two these areas. In addition, isolation frequency of resistant isolates was remarkably decreased in another area where leaf mold resistant cultivars of tomato were introduced. These results suggest that the integration of disease control including the use of resistant cultivars, chemical fungicides, bio-control agents, physical disinfection and block of disease cycle is necessary for the management of azoxystrobin resistant pathogens.

はじめに

岐阜県のトマト栽培面積は約 330ha で、西濃地域を中心とした低標高地帯（海拔 0 メートル）において施設型の冬春栽培、飛騨地域や東濃地域などの中～高標高地帯（標高 300～800m）においては、雨よけハウスによる夏秋栽培が行われている。県内の各トマト産地では、2007 年頃から葉かび病 [病原菌: *Passalora fulva* (syn. *Fulvia fulva*)] の多発生による被害が目立ってきたため、薬剤耐性菌の発生が懸念されていた。生産農家への聴き取りからアゾキシストロビン水和剤やトリフルミゾール水和剤の防除効果の低下が疑われたため、現地から菌株を収集して調べた結果、これらの薬剤に対する耐性菌が岐阜県内に広く発生していることが判明した（渡辺ら 2009a; 渡辺 2009b; 渡辺ら 2010）。今回は、アゾキシストロビン耐性の葉かび病菌について、これまでに得られた知見および県内産地における現状と取り組みについて紹介する。

1. アゾキシストロビン耐性葉かび病菌のシーケンス解析

QoI(Quinone outside Inhibitor)剤の作用点は、病原菌のミトコンドリア電子伝達系複合体III(Complex III)の Qo 部位であり、チトクローム *b* 遺伝子の一部が変異し、薬剤との結合親和性が阻害されることによって病原菌は多くの場合耐性を獲得する。これまでに、同遺伝子のコドン 143 部位が変異した G143A 耐

わが国におけるブドウと病菌の QoI 剤感受性の実態

Monitoring of QoI fungicide resistance in *Plasmopara viticola* populations in Japan

山梨大学ワイン科学研究センター果実遺伝子工学研究部門

鈴木 俊二

Laboratory of Fruit Genetic Engineering, The Institute of Enology and Viticulture,
Yamanashi University, 13-1 Kitashin-1-Chome, Kofu, Yamanashi 400-0005, Japan

e-mail: suzukis@yamanashi.ac.jp

Abstract

Grapevine downy mildew caused by the fungus *Plasmopara viticola* (Berkeley & Curtis) Berlese & de Toni is one of the major diseases in grapes. Throughout the world, *P. viticola* infection is prevented by the application of Qo inhibitor (QoI) fungicides to grapevines early in the growing season. Recently, the increasing occurrence of QoI fungicide-resistant *P. viticola* populations is becoming a serious problem in the control of grapevine downy mildew worldwide. We have developed a rapid method for detecting resistance to QoI fungicide in *P. viticola* populations using the PCR-RFLP method. With this method, in 2008, we found a glycine-to-alanine substitution at codon 143 in the cytochrome b gene, which is associated with QoI fungicide resistance in pathogenic fungi, of *P. viticola* populations collected from vineyards in Japan. In 2008 and 2009, we monitored the QoI fungicide resistance in *P. viticola* populations in Japan. Resistant *P. viticola* were detected in the regions where QoI fungicides have been introduced in accordance with the pest management program, whereas in Hokkaido vineyards, where QoI fungicides have been applied at very small number of time, QoI fungicide-resistant *P. viticola* were not found. Monitoring the emergence, incidence, and distribution of QoI fungicide resistance in *P. viticola* populations in Japan is necessary to improve pest management strategies for downy mildew disease in Japanese vineyards.

はじめに

山梨県の特産品と言えば、最初にワインあるいはブドウが頭に浮かぶのではなかろうか。山梨県のブドウ収穫量は、全国 1 位であり（平成 21 年作物統計）、年間 5 万トンを超えている（全国の約 25 %を占める）。「甲斐路」、「甲州」など山梨県を示す品種名が多いことから、山梨県が全国有数のブドウ生産地であることが伺える。日本で生産されるブドウのおよそ 7 割は生食用であり、品質の高さから高値で卸されている。また、近年では、台湾、香港、シンガポールなどへの輸出量が 10 年前と比べ 10 倍近くに伸び、日本のブドウの高い品質が海外でも評価されている。一方、山梨県はワインの名産地としても知られている。山梨県で栽培されている「甲州」から作られるワインはその代表例であり、2003 年より毎年開催されている国産ワインコンクールにおいても、「甲州」で造ったワインを対象とするカテゴリーもあるほど、「甲

山梨県における QoI 剤耐性ブドウべと病菌の発生
Occurrence of QoI fungicide-resistant strains of *Plasmopara viticola*, in Yamanashi
Prefecture

山梨県果樹試験場
綿打亭子

Kyoko Watauchi, Yamanashi Fruit Tree Experiment Station

Abstract

Downy mildew, caused by *Plasmopara viticola*, is one of the most important diseases of grapevine in Yamanashi Prefecture. In 2009, failures by two QoI fungicides, azoxystrobin and kresoxim-methyl, in the control of downy mildew were reported in some vineyards. Samples from six vineyards in east and west side of Yamanashi Prefecture were tested for their sensitivity to azoxystrobin. The inoculation tests were carried out on fungicide-treated and detached grapevine leaves placed on Petri dishes containing moistened paper towel. All of the six strains obtained from QoI-applied vineyards were resistant to azoxystrobin, however, the strain collected before the registration of QoI fungicides was sensitive. A single point mutation (G143A) was found in the cytochrome *b* gene from all resistant strains by a PCR-RFLP analysis. Using this analysis, resistance has been monitored in 77 vineyards in 2009 and 2010, and the frequency of QoI resistant strains was shown to be 77.9% (60 out of 77 strains). The QoI resistant strains have been widely distributed in Yamanashi Prefecture.

はじめに

山梨県のブドウ栽培面積は 4350ha、生産量 5300t (平成 18 年) で、本県果樹では最も大きな生産規模となっている。主要品種は、‘巨峰’ 1369ha (33%)、‘デラウエア’ 871ha(20.0%)、‘ピオーネ’ 498ha (12%) であり、その他 ‘甲州’、‘甲斐路’ などである。近年のブドウ栽培における主要病害として、べと病、晩腐病があげられる。べと病については、ここ 10 年くらいはやや少～やや多発生の範囲で推移していたが、2008 年以降は欧州系品種を中心に花穂や幼果への被害が多発している。特に 2010 年は開花期前後の低温・多雨および 6 月下旬～7 月の連続降雨の影響等により県下全域で多発生となった。

海外では 1999 年にフランスおよびイタリアで QoI 剤耐性べと病菌が初めて確認され (Heaney et al.,2000)、フランスでは QoI 剤の使用制限にもかかわらず、耐性菌は 2001 年の 15%から 2002 年には 80%に増加したとの報告がある (Anonymous,2003)。また、イタリア北東部の地方では、2001 年から 2003 年の調査で 64 圃場のうち 60 圃場で耐性菌が確認されている (Collina et al.,2005)。

長野県におけるブドウ晩腐病菌の QoI 剤感受性の実態

Sensitivity to QoI-Fungicides of *Glomerella cingulata* and *Colletotrichum acutatum* Causing Ripe Rot on Grapevine in Nagano Prefecture.

長野県果樹試験場環境部 近藤賢一

Kenichi kondo, Nagano Prefecture Fruit Tree Experiment Station,
Ogawara492, Suzaka, Nagano 382-0072, Japan

Abstract

Ripe rot caused by *Glomerella cingulata* and *Colletotrichum acutatum* is one of the major disease of grapevine. Since 1998, the damage by ripe rot has been seriously increasing in Nagano Prefecture, Japan. In order to control the ripe rot, the use of QoI-fungicides has extremely increased recent 7 years. In 2008 and 2009, 330 isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* (*G. cingulata*) and *C. acutatum* collected from 70 vineyards in Nagano were tested for their sensitivity to QoI-fungicide azoxystrobin. Mycelial growth rates of *C. gloeosporioides* and *C. acutatum* were examined on PDA plates containing azoxystrobin at $100 \mu\text{g ml}^{-1}$, supplemented with 4mM of *n*-propyl gallate. 64 isolates grew on the plates indicating resistance to azoxystrobin. Especially 9 of 64 isolates showed more than 51% growth rate. Control efficacy value of azoxystrobin against 1 of the 9 highly resistant isolates tested was only 4.1 in an inoculation test. Although single point mutation (G143A) was not found in the cytochrome *b* gene from highly resistant 4 isolates tested by PCR-RFLP, the isolates were considered QoI resistant.

1 はじめに

長野県は、東西に約 120km、南北に約 212km と南北に長く、面積は約 13,600km²である。気候は地域によって大きく異なっているものの、全県的には気温の年較差や日較差が大きい内陸性気候となっている。耕地は標高 260m から 1,490m に分布し、総面積は約 11 万 ha で、立地条件を生かし、米、果樹、野菜、花きなど多様な作物が栽培されている。このうち樹園地面積は約 1 万 6 千 ha、生産量は約 28 万 t で、りんご、ぶどう、ももが主体であり、これら品目は全国シェアが上位に位置する。また、アンズ、プルーン、くるみなどの地域特産的な品目の栽培も盛んである。

本県におけるブドウ栽培は、有核「巨峰」を中心として発展し、ハウス栽培を拡大するなどして、全国有数の周年生産が可能な産地を築いてきた。2009 年現在のブドウ栽培面積は 2,450ha で全国第 2 位の栽培面積を有し、「巨峰」が栽培面積の約 7 割（全国第 1 位の生産量）を占めている。近年は消費ニーズが無核大粒品種へシフトしていることから、県オリジナル品種の「ナガノパープル」、全国的に注目されている高品質白系品種「シャインマスカット」（（独）農業・食品産業技術総合研究機構 果樹研究所育成）等の導入を積極的に進めている。また「巨峰」は有核から無核への転換を図っている（表 1）。地域別にみると県中部は無核「巨峰」、「ピオーネ」、「デラウェア」および醸造用品種が栽培され、県