

~~~~~  
シンポジウム  
~~~~~

植物病原菌の殺菌剤耐性

昭和 56 年 8 月 3 日～6 日

於 The International Agricultural Centre, Wageningen,
The Netherlands

1981 年 8 月 3 日から 6 日まで、植物病原菌の殺菌剤耐性に関する国際シンポジウムが、オランダのワーゲニンゲンの国際農業センター（写真 1）で開催された。ワーゲニンゲンの農科大学（当時国立農業学校）に植物病理学研究室が開設されて今年で 75 周年であり、また植物病理学研究室がユトレヒトにある TNO 有機化学研究所と植物の内科治療のための研究グループを結成して 30 周年でもある。このシンポジウムは、これらの記念行事としてワーゲニンゲン大学 Dekker 教授により主催されたものである。現在、農科大学の植物病理学研究室は Prof. 3 人、Dr. 6 人、その他 5 人の計 14 人の研究員から構成され、Fungicides, Epidemiology and disease resistance, Soil-borne pathogens および Physiology of parasitism を主要な研究テーマとして主導的な研究活動を行なっている。内科治療のための研究グループは、植物体内へ浸透する化合物によって病害を防除する可能性を調べ、その作用機構について研究してきた。本シンポジウムに参加した研究者は約 60 名で、オランダ・ドイツ・イギリス・アメリカ・イスラエルなど 14 カ国から集まった。日本からは筆者のほか、本間氏（理化学研究所）、若林氏（三菱化成）の 3 名が出席した。アメリカ在住の中西氏（University of Maryland, 三共より留学）も出席しておられた。「作物保護における殺菌剤耐性」というテーマの International Postgraduate Course（農科大学の post-graduate course のための財団と国際植物病理学会の化学防除委員会が FAO と共同して主催した）が、7 月 28 日から 8 月 5 日まで同じ場所で開催され、その参加者も本シンポジウムの一部に出席した。参加した研究者は、機会があれば積極的に他の研究者と情報交換や討論を行なった。一般講演の発表時間が 15 分と短かったせいでもあるのか、講演時間中だけでなく、コーヒーブレイクや昼食時間あるいはエクスカージョンの際の車中といったような機会に、熱心な討論がなされた。このように、本シンポジウムで最新の実験結果と

それについての考察が紹介された以上に、研究者相互に詳細な情報や意見交換のできたことは意義深く、今後の研究の進展に寄与することであろう。

J. Dekker 教授がワーゲニンゲンの植物病理学研究室の 75 年間の変遷を紹介し、続いて Dr. A. K. Sijpesteijn (TNO) が植物の内科治療のための研究グループの 30 年間の活動を振り返った。その後 3 日間にわたり、セッションに分かれることなく一つの会場で 9 題の招待講演と、新しい知見についての 29 題の短報が発表された。

招待講演では、それぞれの専門分野で著名な研究者が 30～40 分の時間をかけ、最近の研究成果を発表した。M. S. Wolfe は薬剤耐性菌の出現と、その後の選抜による耐性菌集団形成の dynamics の現象を各種の要素に分析し、その過程をモデルで表わした。それによると、耐性菌集団の形成は耐性菌および感受性菌の最初存在頻度、両菌の薬剤処理および無処理植物体上での適応性、薬剤処理された面積の比率、薬剤処理後の世代数などによって決定される。ethirimol の場合を例として挙げ説明を試みた。J. C. Zadoks も同様に、疫学的見地から耐性菌の発生過程のモデル化を試みた。たとえば、宿主-寄生者-環境の 3 者の変化と発病の関係、とくに殺菌剤の存在と発病の進展程度、病原菌の適応性と発病の進展程度、菌株間の競合現象などの数式化を試みた。今後モデル化の基礎データを得る実験のために多くの労力と時間を必要とするが、殺菌剤耐性菌の population dynamics をモデル化することは可能であるし、モデル化により耐性菌対策を見いだすこともできるであろうと結んだ。H. D. Sisler らは、amphotericin B を含む培地を使って *Ustilago maydis* からエルゴステロール欠損変異株を得た。この菌は生育が遅く、エルゴステロール合成阻害剤を処理した *U. maydis* 野生株で蓄積のみられるステロール類をもち、上記薬剤を処理した野生株で観察されるのと同じ異常形態をしていた。変異株の fenarimol および miconazole に対する感受性は 50 倍程度低



写真 1 国際農業センター

下していたが、なお感受性であった。この結果から、両剤の第一次作用点は C-14 脱メチル阻害に基づいていると考えられているが、感受性の低い他の作用点もあると推定された。A. Fuchs は殺虫剤（天然および合成ピレスロイドやフェロモン）の研究において、光学異性は重要な意義をもっているが、殺菌剤分野でも注目すべきであると強調し、triadimenol の異性体の生物活性および代謝の差に関する最近の研究が、新殺菌剤発見への糸口となる可能性を示唆した。M. A. de Waard は、*Aspergillus nidulans* がその菌体内に取り込んだ fenarimol を能動的に体外に排出する作用をもつことを見いだした。fenarimol 耐性菌は fenarimol を菌体外へ排出する能力が高いため感受性を低下していると考えられた。また、この排出作用がエネルギー依存性であることから、CCCP や oligomycin のようなエネルギー代謝阻害剤や captafol などは、菌体内の fenarimol 量を増加させることにより共力作用を示すと述べた。J. M. Ogawa らは、カリフォルニアの果樹園で発生した benomyl 耐性 *Monilinia fructicola* の性質とその防除法について述べた。発生初期の耐性菌は低度の耐性であったが、その後 benomyl を単剤あるいは混合剤として使うと、耐性の程度、耐性菌の数がともに増加した。耐性菌は感受性菌と同様に花に感染し病徴を生じたが、果実では侵害力が弱かった。耐性程度や耐性菌密度が低く、小発生であれば benomyl の散布には効果が認められた。しかし、多発生下では単剤および captan との混合では防除できなかった。本間氏らは、炭酸ソーダがキュウリうどんこ病やカンキツ緑かび病に阻害効果を示すこと、とくにグリセリン脂肪酸を加えて粘着性を強めた状態で安定した効果が得られると発表した。benomyl 耐性緑かび病菌の防除にも効果があるため、これらの菌の防除に困っている人々の注目を集めた。他に下記2題の講演があった。

- 1) F. J. Schwinn: Socio-economic impact of fungicide resistance
- 2) F. J. Oppenoorth: What can be learned from nearly 40 years of development of insecticide resistance?

一般講演はほぼ以下の4点の話題に集約できる。

- ① エルゴステロール合成阻害剤の作用機構と耐性菌問題（7題）
- ② 環状イミド系殺菌剤の耐性菌問題（8題）
- ③ metalaxyl の作用機構と耐性菌問題（5題）
- ④ ベンズイミダゾール系殺菌剤の耐性菌問題（7題）

糸状菌のエルゴステロール合成を阻害する殺菌剤は、主として欧州の麦の病害防除を目的として1970年ごろから使用され始めた。それ以後同様の作用機構をもつ化合物が数多く発見され、現在では果樹の分野でも使用されるようになり、農業用殺菌剤の大きな部分を占めるようになった。これらの殺菌剤に対する耐性菌は *in vitro* で見つかっているが、圃場ではまだ発生事例が報告されていない。*in vitro* で得た耐性菌はいずれも野生株に比べ適応性が劣るため、野外では発生・蔓延することが難しいのであろうと考えられている。本シンポジウムでは、イギリスでオオムギうどんこ病に対し効力低下の傾向を示す結果が発表され、圃場での耐性菌発生に危惧の念が示された。J. D. Gilpatrick は、*in vitro* で *Monilinia fructicola* より CGA-64251 耐性菌を分離した。この耐性菌は、感受性菌が 1 ppm で完全に生育を阻害されるのに対し、1 ppm で生育することができ、prochloraz, bitertanol, fenarimol および triforine に対しても感受性が低かった。しかし、この耐性菌に対する CGA-64251 の植物体での効果には感受性菌に対する効果と差が認められなかった。P. Leroux らは、エルゴステロール合成阻害剤を、C-14 脱メチルを主として阻害するものと $\Delta^8 \rightarrow \Delta^7$ イソメラーゼを阻害するものの二つのグループに分け、それぞれの薬剤の交差耐性を調べた。*Aspergillus nidulans*, *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* の交差耐性結果からも上記二つのグループに分けられることが確認できたが、*Ustilago maydis* ではさらに細かく四つのグループに分かれた。D. W. Holoman らは、tridemorph, triforine, triadimenol, ethirimol などの殺菌剤に対するオオムギうどんこ病菌の感受性幅を調べたところ、tridemorph, triforine に対して感受性幅が小さかった。triadimenol の高い薬量では感受性幅は小さかったが、低い薬量で感受性幅が大きくなった。そして、triadimenol を使用すると感受性の低いほうの集団が増加した。ethirimol に対しては最も感受

性幅が大きく, ethirimol を使用すると感受性の低い集団へと移行した。しかし, 薬剤を使わなければ感受性の集団へ容易に戻った。J. T. Fletcher らは, 1979 年と 1980 年に北イングランド地方の春オオムギのうどんこ病菌の triadimefon に対する感受性を調べた。1979 年は少発生で殺菌剤もあまり散布されず, 1980 年は多発生で殺菌剤が使用された。このような状況下で, 1980 年に発生した菌の triadimefon 感受性は 1979 年に発生した菌より低かった。しかし調査した圃場での薬効不足については明確にされなかった。M. S. Wolfe らも, 1981 年に東イングランドでオオムギとコムギのうどんこ病菌の triadimefon 感受性を調べた。いずれのうどんこ病菌にも非感受性菌が認められた。この菌が実用場面で問題を起こすかどうかは不明であるが, triadimefon およびその関連化合物の広範な使用が続けばその危険性があると警鐘を鳴らした。

環状イミド系殺菌剤に対する耐性菌が *in vitro* で容易に発生することは, 開発当初の 1978 年ごろより多くの研究者によって観察され, その耐性菌の性質が調べられてきた。*in vitro* 耐性菌は野生株に比べ, 一般的に性質の劣るものが多く適応性も低い。この点においてベンズイミダゾール系殺菌剤耐性とはかなり異なった性質のものであるという認識がある。一方, 最近日本および欧州の一部で圃場から耐性菌が分離された。この圃場より分離された耐性菌は, *in vitro* で得られた耐性菌と薬剤感受性や適応性などにおいて性質が異なるという点で共通しているようである。今後の研究の進展に興味をもたれる。M. L. Gullino らは, *in vitro* で得られた環状イミド系殺菌剤耐性灰色かび病菌と感受性菌との競合試験を *in vitro* と *in vivo* で検討した。いずれの場合も, 耐性菌の競合力は弱かった。このことから, 圃場での耐性菌の発生事例が少ないのは, 耐性菌の弱い腐生力や病原性に原因していると考えられた。同様に, 筆者らも *in vitro* で得た procymidone 耐性灰色かび病菌のナス・バラにおける感受性菌との競合力を調べ, これらの菌は procymidone を散布すると優勢となるが, 薬剤散布を中止すれば耐性菌の密度は急激に減少することを示した。この場合でも procymidone は, 慣行薬剤区より優れた防除効果を示した。ギリシャでは環状イミド系殺菌剤が 1976 年ごろより使用され始めたが, 1980 年に一部で薬効不足が認められた。そこで M. G. Panagiotaku らは, 1980 年, 1981 年にハウスから分離した灰色かび病菌の感受性を調べたところ, かなりの比率で耐性菌が検出された。vinclozolin の耐性菌に対する ED_{50} は感受性菌に対する ED_{50} のほぼ 10 倍であり, ナス果実で vinclozolin

の防除効果は劣った。耐性菌の培地上での生育は遅かったが, 孢子発芽率は良かった。また, イスラエルの T. Katan は, 環状イミド系殺菌剤がハウス栽培のキュウリやトマトの灰色かび病に対し効力不足であったので, 孢子を採り検定したところ耐性菌を認めた。これらの菌に対してキュウリで防除効果が認められなかった。J. T. Fletcher らは, 1980 年にイギリス各地から 806 株の灰色かび病菌を分離して iprodione に対する感受性を調べたところ, 7 菌株が耐性 (ED_{50} が約 10~20 倍) であった。これらはトマトで病原性や孢子形成能が低下していたが, 室内で得た高度の耐性菌より病原性が強かった。耐性菌は iprodione 処理下でも発病を起こしたが, iprodione の効力低下はまだイギリスで問題になっていない。P. Leroux らは, 環状イミド系殺菌剤に対する耐性菌が *in vitro* および植物から分離されるが, これらの耐性程度は高度 (1,000 倍以上) または低度 (約 10 倍) であると述べた。これらの菌は種々の芳香族化合物, メタノールに交差耐性し, 糖, ポリオールおよび塩に負の交差耐性を示した。低度の耐性菌は一般に競合力が強いけれども, 高度の耐性菌 (*in vitro* 耐性菌) は適応性が低く競合力が弱かった。

metalaxyl はそう菌類に属する病原菌によって引き起こされる病害の防除に有効で, 従来これら病害の防除剤として使用されてきたジチオカーバメート系殺菌剤, フタルイミド系殺菌剤および銅剤などの保護殺菌剤とは異なり, 治療効果, 浸透移行性などの優れた作用特性をもった新しい殺菌剤である。metalaxyl 耐性菌が *Phytophthora* 属菌から *in vitro* で得られている。*in vitro* で自然発生的に得られたものは適応性が劣り, 植物体上では metalaxyl に感受性であった。しかし, 突然変異処理した場合には高度の耐性をもち, しかも病原性の強いものが出現した。実際に圃場で metalaxyl が使われると, 耐性菌の発生は早く, 一シーズン中に数カ所で耐性菌の発生が原因で効力不足を生じた。Th. Staub らは, 1980 年から 1981 年前半にかけての metalaxyl に対する耐性菌発生による効力不足の事例を幾つか挙げ, 耐性菌の発生要因, 耐性菌の性質を分析し, 耐性菌対策について具体的に述べた。その内容は, (1) 散布剤として単剤は使用せず, 保護殺菌剤との混合剤のみを開発する, (2) 単剤は土壌伝染性病害用として粒剤, 種子粉衣剤の形でのみ開発する, というものであった。G. A. Carter らは, ジャガイモの葉片を metalaxyl 溶液に浮かべ, その葉片に *Phytophthora infestans* の遊走子懸濁液を点滴接種することにより, metalaxyl 感受性を検定するという方法を開発し, 1980 年イギリスのジャガイモ畑の *P.*

infestans の metalaxyl 感受性を調査した。これらの圃場では metalaxyl は単独では使用されず、manzeb との混合で 1～2 回処理されたが、耐性菌は検出されなかった。L. C. Davidse と A. Kerkenaar は、それぞれ *Phytophthora megasperma* と *Pythium splendens* を使って metalaxyl の作用機構について調べた。ともに RNA 合成を強く阻害することを示唆する結果を得たが、詳細については明確でない。

耐性菌の発生によるベンズイミダゾール系殺菌剤の防除効果の低下は、1970年にシクラメンの灰色かび病で初めて経験された。これら殺菌剤は適用病害が多いため広範囲に使用され、現在まで数多くの病害で耐性菌発生のために薬効不足となった事例が報告されてきている。ベンズイミダゾール系殺菌剤耐性菌の発生は、農業用殺菌剤の分野に大きな衝撃を与えた初めてのケースでもあり、殺菌剤耐性菌に関する先駆的な研究が多くなされてきた。西独では、1974年にベンズイミダゾール系殺菌剤耐性リンゴ黒星病菌が果樹園で発生した。J. Kiebach は、この耐性が一遺伝子突然変異によるものであることを明らかにした。D. Martin らは、リンゴ黒星病菌のベンズイミダゾール系殺菌剤耐性菌と感受性菌との競合試験をリンゴの実生苗を使って行なった。その結果、耐性菌の比率の対数が世代数の増加と直線関係にあり、その勾配は最初の接種菌量に依存するが、最初の耐性菌と感受性菌の存在比には依存しないことを示した。したがって、適応性の弱い耐性菌は接種菌量が少ない場合によく生き残る。E. Shabi らは、リンゴ園から分離した 0.5 ppm benomyl に感受性であるが 5 ppm に耐性の *Venturia inaequalis* と感受性菌を使って、リンゴ実生苗での競合試験を行なった。感受性菌の胞子に耐性菌の胞子を 19 対 1 の割合で混ぜ、benomyl, captan および benomyl と captan の混合物をそれぞれ散布した苗に接種し、その後 4 回植え継ぎを行なったところ、無処理および captan 散布では耐性菌の比率は変化しなかったが、

benomyl または benomyl と captan の混合散布では耐性菌が優勢になった。P. L. Sanders らは、芝生の *Sclerotinia homoeocarpa* の防除に chlorotharonyl, benomyl の単剤散布またはそれらの混合散布や交互散布をしたが、いずれの場合も benomyl 耐性菌のレベルには変化なく、低下させることができなかった。

以上、筆者の理解できた範囲でシンポジウムの内容を説明したが、すべての講演を紹介することができず、筆者の興味に偏った面があるかもしれない。なお、講演要旨が *Netherlands Journal of Plant Pathology* (1981) に掲載される予定なので、詳しくはそれを参照していただきたい。

農業用殺菌剤の使用場面で耐性菌が発生して、実際に経済上の問題が生じ始めて 10 年ほど経過するが、この間に dodine, ピリミジン系殺菌剤、ベンズイミダゾール系殺菌剤、オキサチン系殺菌剤、kasugamycin, polyoxin, IBP など多くの薬剤で、耐性菌発生のための効力低下が経験されてきている。植物病原菌は、最適条件が整えば宿主植物に寄生し繁殖するが、その他不利な条件下では腐生したり二次寄生してまたは休眠して、次の機会まで存続する。このような生態と関連するのか、殺菌剤耐性菌の自然界での population dynamics は、菌ごとに異なっている。これは耐性菌の発生および蔓延の現象を疫学的側面から研究してきたことにより明らかになったものであり、本シンポジウムでもこの種の研究発表が多く見られた。また、日本でも多くの研究者により、欧米の研究に優るとも劣らぬ耐性菌についての疫学的研究がなされている。耐性菌対策として最も成果のあがる方策として、現在、作用機構の異なる他殺菌剤との交互使用または混合使用が強調されている。今後、耐性菌についての疫学的研究の成果が実り、耐性菌の不利な性質を利用した効果的な耐性菌防除法が確立されることを望みたい。

(住友化学工業株式会社 久田芳夫)