

通し番号	4 1 7 2
------	---------

分類番号	17-25-12-04
------	-------------

(成果情報名) キュウリうどんこ病菌のステロール脱メチル化酵素阻害剤 (DMI 剤) 標的酵素遺伝子(<i>CYP51</i>)の構造及び DMI 剤抵抗性
[要約] キュウリうどんこ病菌の <i>CYP51</i> 遺伝子は、ゲノム中に 1 コピー存在し、既報の植物病原性糸状菌 <i>CYP51</i> と類似した構造をもつ。DMI 剤耐性菌では、基質または薬剤結合部位周辺に 1 ~ 4 個のアミノ酸残基置換をともなう塩基の変異が認められ、DMI 剤耐性に関与している可能性が示唆される。
(実施機関・部名) 神奈川県農業技術センター野菜作物研究部 連絡先0463-58-0333

[背景・ねらい]

近年、キュウリ栽培でうどんこ病の DMI 薬剤耐性菌が出現し、防除効果が低下している。そこで、キュウリうどんこ病菌の DMI 剤耐性の遺伝子診断技術を開発するため、DMI 剤の標的酵素である *CYP51* の遺伝子を単離するとともに、その遺伝子構造と DMI 剤抵抗性との関係を明らかにする。

[成果の内容・特徴]

1. キュウリうどんこ病菌 *CYP51* 遺伝子は、開始コドンから終止コドンまで 1688bp の塩基からなり、2カ所のイントロンが存在し、526アミノ酸をコードしている。また、ゲノム中に 1 コピーのみ存在する。
2. 既報のいずれの植物病原性糸状菌 *CYP51* とともに塩基配列で 62~78%、また、推定アミノ酸配列で 58~86% の相同性を有する (表 1)。
3. DMI 剤耐性菌には、4 塩基変異、または 1 塩基変異のみが認められる菌株の 2 系統があり、アミノ酸残基でそれぞれ A372G、I374V、V449L、G461S の置換及び G461S のみの置換を引き起こしていると推定される (表 2)。
4. トリフミゾールに対して Rf 値で 833.3 以上の耐性を示す菌株にはすべて 4 塩基変異が存在するのに対し、Rf 値 100 前後を示す菌株には G461S の 1 塩基変異のみとなっている (表 2)。
5. 塩基置換から推定されるアミノ酸残基の置換は、基質や薬剤結合部位周辺に集中していることから、キュウリうどんこ病菌の DMI 剤耐性への関与が示唆される。

[成果の活用面・留意点]

1. 供試した菌株は、全農で分離された菌株であり、各菌株の薬剤耐性については、リーフディスク法による生物検の結果を示す。

[具体的データ]

表1 キュウリうどんこ病菌(K-7-2)から単離した *CYP51* 遺伝子と他の植物病原糸状菌の *CYP51* 遺伝子との相同性

項目	イチゴ うどんこ病菌	オオムギ うどんこ病菌	ブドウ うどんこ病菌	リンゴ 黒星病菌	キンキツ 緑カビ病菌
塩基配列 (%)	78	69	69	64	62
アミノ酸配列 (%)	86	73	72	64	58

注) 塩基配列は、開始コドンから終止コドンまでの配列をDNASIS-Macを使用して比較した。アミノ酸配列は、既報CYP51のイントロンに当たる領域を削除して推定したのちDNASIS-Macを使用して比較した。

表2 各菌株におけるアミノ酸置換状況とDMI剤感受性

菌株	アミノ酸置換	トリフミゾール			トリアジメホン		
		MIC (ppm)	EC50 (ppm)	Rf*	MIC (ppm)	EC50 (ppm)	Rf*
IB6-5	A372G)**	2.0	1.0	833.3	>20	-	-
SG1-6		2.0	1.0	833.3	>20	-	-
KN1-1		2.0	1.0	833.3	20	6.6	203.3
KN1-4		2.0	1.4	1166.7	>20	-	-
IB3-2	G461S	0.2	0.045	37.5	5	1.3	40.6
SG1-1		0.5	0.1	83.3	20	6.3	196.9
KN2-1		0.5	0.16	133.3	20	4.6	143.8
K-7-2		0.002	0.0012		0.05	0.032	

* K-7-2菌株のEC50に対するEC50の比

** A372Gは373番目のアラニンがグリシンに置換、I374Vは375番目のイソロイシンがバリンに置換、V449Lは449番目のバリンがロイシンに置換、G461Sは461番目のグリシンがセリンに置換したことを示す

[資料名] 平成16～17年度試験研究成績書 (野菜)

[研究課題名] 環境保全型農業技術の開発

11. 遺伝子診断法による殺菌剤耐性菌簡易検出技術の開発

(1) イチゴ、ウリ類うどんこ病菌におけるDMI剤耐性機構の解明と遺伝子診断技術の開発

[研究期間] 平成16年度～平成18年度

[研究者担当名] 久保深雪・野村研・上西愛子・植草秀敏・北宜裕