学会賞受賞論文

(業績賞)

殺菌剤ジエトフェンカルブの開発

—負相関交差耐性の応用—

鴨下 克三, 加藤 寿郎*, 高橋 淳也, 金子 秀雄**

住友化学工業株式会社農業科学研究所

* 同 農業化学品管理室

** 同 生物環境科学研究所

Development of a New Fungicide, Diethofencarb

—The Application of Negatively Correlated Cross-Resistance—

Katsuzo KAMOSHITA, Toshiro KATO,* Junya TAKAHASHI and Hideo KANEKO**

*Agricultural Science Research Laboratory, Takarazuka Research Center,
Sumitomo Chemical Co., Ltd., Takatsukasa, Takarazuka 665, Japan*

**Agricultural Chemicals Administration Office, Sumitomo Chemical Co., Ltd.,
Chuo-ku, Osaka 541, Japan*

***Environmental Health Science Laboratory, Sumitomo Chemical Co., Ltd.,
Konohana-ku, Osaka 554, Japan*

Diethofencarb [isopropyl *N*-(3,4-diethoxyphenyl)carbamate] is a new carbamate fungicide developed by Sumitomo Chemical Co., Ltd. This compound has an outstanding activity against benzimidazole-resistant gray mold of fruit trees, grapes, and vegetables caused by *Botrytis cinerea*. One of the most effective ways to cope with resistance of plant pathogens is considered to be the use of fungicides to which resistant strains show negatively correlated cross-resistance. Through extensive investigations to search for *N*-phenylcarbamates with a potent fungicidal activity against benzimidazole-resistant fungi, we synthesized an isopropyl *N*-phenylcarbamate having 3,4-diethoxy substituents on the benzene ring, named diethofencarb, to which the resistant strains of *B. cinerea* exhibited negatively correlated cross-resistance. Diethofencarb controlled benzimidazole-resistant strains of *B. cinerea* curatively as well as preventively and showed systemic activity in plants. This fungicide did not inhibit germination of conidia of the benzimidazole-resistant *B. cinerea*, but the germ tubes were distorted and swollen. Their abnormal morphology was quite similar to that of the wild type isolates treated with a benzimidazole fungicide, carbendazim. In field trials, the combination of diethofencarb with carbendazim (Sumico®), another benzimidazole fungicide, thiophanate-methyl (Getter®), or a dicarboximide fungicide, procymidone (Sumiblend®) showed excellent performance for control of gray mold diseases where benzimidazole-resistant strains and the wild type ones coexisted.

はじめに

ジエトフェンカルブ〔イソプロピル *N*-(3,4-ジエトキシフェニル)カーバメート〕はベンズイミダゾール耐性灰色かび病防除剤として、菌の負相関交差耐性という現象を利用し、これを実用化に結びつけた最初の農業用殺

菌剤である。

1960 年以降に開発された選択的な作用を示す殺菌剤

は、それまでに使用されてきた非選択的な殺菌剤と異なり、低薬量で安定した効力を示すが、繰り返し使用した場合に薬剤耐性が出現し効力の低下を来するという欠点を有している。この薬剤耐性の出現は1970年代に入って顕在化してきた¹⁻³⁾。このような薬剤の中にカルベンダジム、ベノミル、チオファネートメチルに代表されるベンズイミダゾール系殺菌剤が含まれている。ベンズイミダゾール系殺菌剤は広い殺菌スペクトラムを有し、灰色かび病防除剤としてもすぐれた効力を有する薬剤であるが、1970年代に入って耐性菌の出現により大幅な効力の低下を来していた³⁾。ジカルボキシイミド系殺菌剤で

カルベンダジム

ベノミル

チオファネートメチル

あるプロシモドン、イプロジオン、ピンクロゾリンはこれらベンズイミダゾール系殺菌剤に替わる灰色かび病防除剤として脚光を浴びた。しかしこれらの剤も1980年代に入って耐性灰色かび病菌の出現が懸念されるようになり^{4,5)}、果樹や菜の灰色かび病耐性菌の防除対策はわが国のみならず世界的にも緊急の課題となっていた。

プロシモドン

イプロジオン

ピンクロゾリン

実圃場で薬剤耐性菌の発達を回避、遅延させる方法として作用性の異なる2種以上の殺菌剤の混用、または、

複数薬剤のローテーション使用、生物的、物理的防除を組み入れた総合防除法等が有効とされている。これらの方法に加え、耐性菌に対して、より強い効力を示す薬剤、この現象を負相関交差耐性と呼ぶが、その利用が有効な方法として考えられる⁹⁾。この負相関交差耐性を利用して耐性菌を防除するという考え方はDe Waad (1984)、上杉らによって具体例が示されているが、いずれも実験的レベルに留まり、実用レベルとは隔たりがあるとされていた⁶⁻⁸⁾。

ここでは菌の負相関交差耐性現象に着目し、灰色かび病防除剤として実用化に成功したジェトフェンカルブの研究開発の経緯を中心に、構造活性相関、作用特性、作用機作、実用化等についてその概要を述べる。

探索研究の経緯—構造と活性—

ブドウや各種野菜類の重要病害である灰色かび病 (*Botrytis cinerea*) は病斑に形成された大量の胞子が風媒により容易に広範囲伝搬するため、耐性菌についても拡散が大きいとされている。わが国では1980年代に入ると野菜類の施設栽培が普及し、その促成栽培におけるベンズイミダゾール耐性菌問題が深刻となった⁸⁻¹⁰⁾。ベンズイミダゾール耐性の灰色かび病菌は薬剤の使用を中止しても菌密度の低下が遅く、数回の薬剤散布によって容易に耐性が回復する。

著者らはこのベンズイミダゾール耐性菌がバーバンのようなN-フェニルカーバメート系除草剤に負相関交差耐性を示し、*in vitro* の抗菌試験で弱いながら活性を有するという知見に注目した^{11,12)}。しかしこの負相関交差耐性が不完全負相関交差耐性であるならば、特定の耐性菌株に対してのみ薬剤の効力を期待できるにすぎない。著者らは日本各地で採取したベンズイミダゾール耐性灰色かび病菌108株に対するバーバンの抗菌試験を行ない、すべての菌株に対する抗菌活性を確認した。この結果から、バーバンのベンズイミダゾール耐性菌に対

バーバン

する抗菌活性に普遍性のあることが示唆された。次に、バーバンのもつ除草活性と抗菌活性とを構造の変換によって分離することができるかどうか、薬害としての除草活性を軽減し抗菌活性を残す方向でのスクリーニングが行なわれた。初期のスクリーニングによって見出されたメチル N-(3,5-ジクロロフェニル) カーバメート (MDPC) は殺草活性はきわめて低く、弱いながらも目的とする抗菌活性を示した。Table 1 に MDPC のケ

Table 1 Activity of MDPC against benzimidazole resistant fungi^{a)}.

Concentration of MDPC	Percentage of control ^{b)}		
	Preventive	Curative	Systemic
200	95	71	— ^{c)}
50	59	57	98
12.5	12	0	88
3.1	—	—	85

^{a)} Pot tests against benzimidazole resistant *Botrytis cinerea* (gray mold of cucumber). ^{b)} ppm.

^{c)} Not determined.

ウリに対するポット試験結果を示す¹³⁾. MDPC のベンズイミダゾール耐性灰色かび病菌に対する抗菌活性はベノミルの感受性菌に対する抗菌活性の 1/5 と絶対効力は低いものの, MDPC 200 ppm 処理でキュウリの耐性灰色かび病に対し 95% の予防効果を示し, さらに病斑の進展を阻止する治療効果, キュウリ根部に処理して茎葉部の罹病を阻止する浸透性効果を有することから殺菌剤として基本的に優れていることが明らかとなった. このような結果を踏まえて, さらに活性を高める方向で誘導体の合成が進められた.

Table 2 にメチル *N*-フェニルカーバメート類のベンズイミダゾール耐性灰色かび病菌に対するキュウリ茎葉処理試験の防除効果を一部の化合物について示した¹⁴⁾. ここで明らかのように, 防除活性はベンゼン環の置換基の種類や位置に大きく依存している. 3,5-ジクロロ体, 3,5-ジメトキシ体, 3,4-ジエトキシ体に高い活性が認められた. Table 3 には *N*-(3,4-ジエトキシフェニル)カーバメート類のアルコール部位の変化に対する活性について, 一部の化合物を例に示した. アルコール部位に関しては, イソプロピル体, *sec*-ブチル体, 1-メチルブチル体のように α 位にメチル基を有する場合に著しい活性の向上が認められた. エチル基の β 位にハロゲン原子を導入しても高活性を示した. さらにプロパルギル基のような不飽和構造においても高活性が認められた. Table 4 には *N*-フェニルカーバメートの類縁体について, 3,4-ジエトキシアニリン誘導体のキュウリ灰色かび病に対する防除活性を示した. カーバメート以外の構造ではいずれも活性は低下した. ウレアやアミドの構造ではまったく活性を示さなかった.

N-フェニルカーバメート類の構造と活性との関係を

Table 2 Preventive activity of methyl *N*-phenylcarbamates against benzimidazole resistant fungi.

Xn	Activity ratings ^{a)}	
	200	50 ^{b)}
H	0	0
2-Cl	0	0
3-Cl	0	0
4-CH ₃	0	0
3,4-Cl ₂	0	0
3,4-(OC ₂ H ₅) ₂	4	4
3,5-Cl ₂ ^{c)}	5	3
3,5-(OCH ₃) ₂	4	2
3,5-(NO ₂) ₂	0	0
3,4,5-Cl ₃	0	0
3,5-(CH ₃) ₂ -4-OC ₂ H ₅	5	5
3-Cl-4,5-(OC ₂ H ₅) ₂	5	4
3-CH ₃ -4,5-(OC ₂ H ₅) ₂	5	5

^{a)} Pot tests against benzimidazole resistant *Botrytis cinerea* (gray mold of cucumber), rated from 0 to 5: 0, below 25% controlled *versus* untreated; 1, 26–49%; 2, 50–69%; 3, 70–89%; 4, 90–99% and 5, 100%. ^{b)} ppm. ^{c)} MDPC.

Table 3 Preventive activity of *N*-(3,4-diethoxyphenyl)carbamates against benzimidazole resistant fungi.

R	Activity ratings ^{a)}		
	200	50	12.5 ^{b)}
CH ₃	4	4	0
C ₂ H ₅	5	4	3
<i>n</i> -C ₃ H ₇	5	4	0
<i>i</i> -C ₃ H ₇ ^{c)}	5	5	5
<i>n</i> -C ₄ H ₉	4	0	—
<i>i</i> -C ₄ H ₉	1	0	—
<i>s</i> -C ₄ H ₉	5	5	3
<i>t</i> -C ₄ H ₉	0	0	0
CH(CH ₃)- <i>n</i> -C ₃ H ₇	5	5	5
CH ₂ CH=CH ₂	5	5	1
CH ₂ C≡CH	5	5	4
CH ₂ C ₆ H ₅	5	1	0
CH ₂ CH ₂ Cl	5	4	2

^{a)} The same as in Table 2. ^{b)} ppm. ^{c)} Diethofencarb.

Table 4 Preventive activity of diethofencarb analogs against benzimidazole resistant fungi.

R ₁	R ₂	Activity ratings ^{a)}		
		200	50 ^{b)}	12.5
H	COOC ₂ H ₅	5	4	3
H	COO- <i>i</i> -C ₃ H ₇ ^{c)}	5	5	5
H	CSOC ₂ H ₅	5	3	0
H	COS- <i>i</i> -C ₃ H ₇	5	5	3
H	CSS- <i>i</i> -C ₃ H ₇	4	2	0
H	CONHCH ₃	0	0	0
H	CONH- <i>i</i> -C ₃ H ₇	0	0	0
H	COC ₂ H ₅	0	0	0
H	CO- <i>i</i> -C ₄ H ₉	0	0	0
COCH ₃	COO- <i>i</i> -C ₃ H ₇	5	4	4
COC ₆ H ₅	COO- <i>i</i> -C ₃ H ₇	5	4	4
CH ₃	COO- <i>i</i> -C ₃ H ₇	3	2	0

^{a)} The same as in Table 2. ^{b)} ppm. ^{c)} Diethofencarb.

より詳細に検討することを目的に, *in vitro* の抗菌活性と構造との関係について Hansch-藤田法による定量的構造活性相関解析を行ない, ベンゼン環置換基の効果についてはメチル *N*-フェニルカーバメート類を用いて式 (1) を, アルコール部位の置換基効果については *N*-(3,4 ジエトキシフェニル) カーバメート類を用いて式 (2) を得た^{15,16)}.

$$\begin{aligned}
 \text{pI}_{50} = & 1.075 \Sigma \pi_{o,m} + 0.632 \pi_p - 0.087 (B_s^m)^2 \\
 & (0.158) \quad (0.243) \quad (0.058) \\
 & + 0.590 B_s^m + 0.379 B_s^m + 0.295 HB_p \\
 & (0.323) \quad (0.207) \quad (0.212) \\
 & + 2.363 \\
 & (0.379)
 \end{aligned} \quad (1)$$

$$n=69, s=0.346, r=0.942, F_{6,62}=80.8$$

$$\begin{aligned}
 \text{pI}_{50} = & 0.428 \log P - 0.180 (B_s)^2 + 1.592 B_s \\
 & (0.237) \quad (0.088) \quad (0.768) \\
 & - 1.441 I_\beta + 2.307 \\
 & (0.371) \quad (1.731)
 \end{aligned} \quad (2)$$

$$n=29, s=0.275, r=0.876, F_{4,24}=19.9$$

ここで pI_{50} はベンズイミダゾール耐性灰色かび病菌の菌糸生育 50% 阻止モル濃度の逆数の対数値であり, 抗菌活性の強さを示す. $\log P$, $\pi(\log P_{RX} - \log P_{RH})$ は分子全体あるいは置換基の疎水性を表わすパラメータ, B_s は置換基の最大幅として立体的効果を示す STERIMOL パラメータ, 2 個のメタ位の置換基のうち B_s 値の大きなほうを m 位置換基, もう一方を m' 位置換基としている HB_p はパラ位置換基の水素結合能をもつ置

換基に対する水素結合パラメータ (擬変数). I_β は β 位の分枝に対する擬変数である. n は化合物数, s は標準偏差, r は重相関係数, $F_{v1,v2}$ は F 検定値を表わす. 式 (1), (2) の解析結果から次のことがいえる. ベンゼン環置換基については置換基の疎水性の効果 (π) が大きく関与し, 位置特異的でオルト, メタ位の効果が大きい. メタ位の置換基について立体効果が活性に関与し, 他の効果が一定の場合, 置換基の最大幅 (B_s) が 3.40 Å のときに活性が最大となる. これはおよそエトキシ基の最大幅に相当する. さらにパラ位に置換したアルコキシ基, ニトロ基, シアノ基などの置換基では水素結合能 (HB_p) によって活性が増大する. アルコール部位についてはその疎水性 ($\log P$) が増大するほど活性は大きな傾向にある. 置換基の立体的効果が活性に関与し, 置換基の最大幅 (B_s) が 4.42 Å のときに最大活性を示す. これは, おおよそ *iso*-ブチル基の最大幅に相当する. 擬変数 I_β の係数が -1.44 と負の大きな値を示していることは β 位の分岐によって活性が分岐のない場合に比べて約 1/30 になることを意味している.

ジエトフェンカルブの選択

N-フェニルカーバメート類のスクリーニング研究の結果, ベンズイミダゾール耐性灰色かび病菌に対してきわめて高い効力を有する一群の化合物を見出すことに成功した. ベンゼン環の置換基が活性に大きく関与し, ジ置換体では 3,4-ジエトキシ置換誘導体に高活性が認められた. さらに 3,4,5-位に置換基をもつ化合物の中に 3,4-ジエトキシ体を超える高活性化化合物が得られた. イソプロピル *N*-(3-クロロ-4-エトキシ-5-メトキシメチルフェニル) カーバメート (S-4082) はその代表的な化合物である (Table 5). しかし, S-4082 を含む高活性

Table 5 Preventive activity of isopropyl *N*-phenylcarbamates against benzimidazole resistant fungi.

X	Y	Activity ratings ^{a)}	
		12.5	3.1 ^{b)}
H	OC ₂ H ₅ ^{c)}	5	2
CH ₃	OC ₂ H ₅	5	5
Cl	CH ₂ OCH ₃ ^{d)}	5	5

^{a)} The same as in Table 2. ^{b)} ppm. ^{c)} Diethofencarb. ^{d)} S-4082.

Table 6 Mutagenic activity of isopropyl *N*-phenylcarbamates and their constituent anilines.

X	Y	Z	Mutagenic activity ^{a)}
H	OC ₂ H ₅	COO- <i>i</i> -C ₃ H ₇ ^{b)}	— ^{d)}
CH ₃	OC ₂ H ₅	COO- <i>i</i> -C ₃ H ₇	+++ ^{e)}
Cl	CH ₂ OCH ₃	COO- <i>i</i> -C ₃ H ₇ ^{c)}	+++
H	OC ₂ H ₅	H	—
CH ₃	OC ₂ H ₅	H	+++
Cl	CH ₂ OCH ₃	H	+++

^{a)} Gene mutation test (Ames test) in *Salmonella typhimurium* TA100 (His-) with S9 mix.

^{b)} Diethofencarb. ^{c)} S-4082. ^{d)} Negative.

^{e)} Strongly positive.

の3,4,5-トリ置換フェニル誘導体は安全性の初期評価試験として実施している Ames 試験において陽性であった。さらにその加水分解体のアニリン誘導体もすべて Ames 陽性であった (Table 6)。この結果から3,4,5-トリ置換フェニル誘導体については変異原性、発癌性の可能性が示唆された。この時点で、より安全性を重視し、効力的には S-4082 よりもやや劣るが実用場面で十分に実用効力を有し、Ames 陰性のジェットフェンカルブを開発化合物として選択した。以後ジェットフェンカルブについて動物、植物および土壌における代謝、分解、残留試験、哺乳動物に対する毒性試験を実施し、登録用のデータを取得した。

抗菌活性と作用特性

Table 7 に示すようにベンズイミダゾール耐性灰色かび病菌に対するカルベンダジムの抗菌活性は ED₅₀ 値が 100 ppm 以上であるのに対し、ジェットフェンカルブでは ED₅₀ 値は 0.04 ppm でカルベンダジムの感受性菌に対する ED₅₀ 値 0.05 ppm とほぼ同等である。Table 8 はキュウリを用いた耐性灰色かび病に対する作用特性を示している。菌の感染前に薬剤を茎葉散布した予防試験において薬剤濃度 50 ppm で発病を完全に抑えた。菌の感染後に茎葉散布した治療試験では薬剤濃度 12.5 ppm で病斑の進展を強く抑制した。さらに Table 9 に示す残効試験においては、50 ppm 以上の濃度であれば薬剤の茎葉散布 7 日後においても発病を完全に抑えた。以上の結果が示すように、ジェットフェンカルブは予防効果と治療効果を有することから圃場においては安定した

Table 7 Fungicidal activity against benzimidazole sensitive and -resistant strains of *Botrytis cinerea*.

Compounds	Fungicidal activity (ED ₅₀ , ppm)	
	Benzimidazole-sensitive	-resistant
Diethofencarb	>100	0.04
MDPC	26	0.28
S-4082	71	0.01
Carbendazim	0.05	>100

Table 8 Activity of diethofencarb against benzimidazole resistant fungi.

Concentration of diethofencarb ^{a)}	Percentage of control ^{b)}	
	Preventive	Curative
200	100	— ^{c)}
50	100	83
12.5	88	79
3.1	31	61

^{a)} ppm. ^{b)} Pot tests against benzimidazole resistant *Botrytis cinerea* (gray mold of cucumber).

^{c)} Not determined.

Table 9 Residual activity of diethofencarb against benzimidazole resistant fungi.

Concentration of diethofencarb ^{a)}	Percentage of control ^{b)}				
	0	1	3	5	7 ^{c)}
200	100	100	100	100	100
50	100	99	100	100	100
12.5	89	76	68	2	0
3.1	41	12	3	0	1

^{a)} ppm. ^{b)} Pot tests against benzimidazole resistant *Botrytis cinerea* (gray mold of cucumber).

^{c)} Days after foliar application.

効果が期待できる。とくに、病斑進展性の病害である灰色かび病にとって治療効果はきわめて有効といえる。Table 10 にはベンズイミダゾール耐性灰色かび病に対する浸透移行効果を示した。土壌に灌注処理した場合、処理濃度に依存するが、1.25 mg/pot で 24 時間後には葉面での効果が認められる。この薬剤の移行性は治療効果とともに、薬剤が付着していない部位を病原菌の攻撃から守るとともに、薬剤散布後の降雨による防除効果の低減を抑える上でも有効である。

Table 10 Systemic activity of diethofencarb against benzimidazole resistant fungi.

Applied dosage of diethofencarb ^{a)}	Percentage of control ^{b)}			
	8	24	48	72 ^{c)}
5.0	72	83	83	97
1.25	22	75	84	88
0.31	0	77	72	81

^{a)} mg in a.i./pot. ^{b)} Pot tests against benzimidazole resistant *Botrytis cinerea* (gray mold of cucumber). ^{c)} Hours of soil drench.

作用機構

ジェトフェンカルブはベンズイミダゾール耐性灰色かび病菌の胞子発芽を 100 ppm の濃度でも阻害しなかったが、0.05 ppm 以上の濃度で発芽管の膨潤、湾曲を引き起こした。この特徴的な形態異常はカルベンダジ

処理したベンズイミダゾール感受性菌においても認められる。Fig. 1 には、ジェトフェンカルブ、カルベンダジム各々 10 ppm を処理した場合の、ベンズイミダゾール耐性菌と感受性菌の菌糸の形態的な変化を示してある¹⁷⁾。ベンズイミダゾール殺菌剤はチューブリン蛋白質に結合し、微小管の重合を阻害することにより核の分裂を阻害する。DAPI により核を染色すると、無処理のベンズイミダゾール耐性および感受性菌株には膨潤した卵型の核が規則正しく配列しているのに対し、ジェトフェンカルブ処理した耐性菌、およびカルベンダジム処理した感受性菌には選択的に核の凝集や不均一分散が認められた。なお、ジェトフェンカルブの菌の代謝に及ぼす影響をみると感受性菌、耐性菌にかかわらず呼吸、DNA、RNA、蛋白質の合成は、処理後 4 時間で無処理とほぼ同様であり、特別な変化はみられなかった。以上の結果からジェトフェンカルブの作用機作は耐性菌の有糸分裂を特異的に阻害することであり、カルベンダジ

Fig. 1 Effect of carbendazim and diethofencarb on the morphology of *Botrytis cinerea*.

Fig. 2 A putative model of mechanism of negatively correlated cross-resistance between carbendazim and diethofencarb in *Neurospora crassa*.

ムの感受性菌に対する作用と同一であることが示唆された。

このジエトフェンカルブとカルベンダジムの負相関交差耐性のメカニズムについてはアカパンカビ (*Neurospora crassa*) を用いて詳細な解析がなされている¹⁸⁾。ジエトフェンカルブに感受性を示すカルベンダジムの耐性菌株を単離しその遺伝子解析を行なったところ、負相関交差耐性は微小管の構成蛋白質である β -チューブリンの変異により起こることが明らかにされた。さらに、耐性株の β -チューブリン遺伝子のクローニングにより、感受性菌株の β -チューブリンの198番目のアミノ酸残基がグルタミン酸であるのに対し、負相関交差耐性を示す耐性株においてはグリシンに置換されている。すなわち、カルベンダジム耐性と感受性、いい換えるとジエトフェンカルブ感受性と耐性は β -チューブリン蛋白質の1個のアミノ酸残基の置換によって支配されているといえる。

C₁₄-ジエトフェンカルブをもちいてジエトフェンカルブ結合蛋白質を検査したところ、ジエトフェンカルブ結合活性は感受性株にはほとんど認められず、耐性株に特異的に認められた。さらに、このジエトフェンカルブ結合蛋白質はDEAE sephadex A-50に保持され、0.5 M KClで溶出され、その分子量が約105,000であったことから、チューブリンであると推定された。すなわち、ジエトフェンカルブでは耐性菌のチューブリンに特異的に結合することにより耐性菌に対し選択的に抗菌活性を示すと考えられる。

実用化と開発

ジエトフェンカルブはベンズイミダゾール耐性菌に選択的に有効であるという性質上、ベンズイミダゾール耐

性菌の比率の圧倒的に高い圃場でなければ単剤での防除効果は期待できない。初期には単剤による処理で有効な防除効果が得られても、その後の連続使用により耐性菌から感受性菌への菌密度のシフトが起こり、感受性菌が優占化する。そのような圃場ではジエトフェンカルブ単剤ではもはや十分な防除効果は期待できないと考えられる。したがって、防除効果の確保と耐性低下相互に期待できる点でベンズイミダゾール系殺菌剤との混合剤としての使用が有利である。

ジエトフェンカルブの実用性評価は1984年より日本植物防疫協会の委託試験で開始した。カルベンダジムとジエトフェンカルブとの混合剤: Sumico[®] はブドウ灰色かび病用殺菌剤として1987年フランスで販売を開始した。Sumico[®] のブドウ灰色かび病に対する試験結果をTable 11に示す。Sumico[®] には安定した効果が得られている。本混合剤はフランス・シャンパーニュなど高級ワイン用ブドウ栽培地帯で使用され、さらにスイス

Table 11 Control of gray mold of vine in field test (in Reims, France).

Compounds	Dosage (g a.i./ha)	Percentage of uninfected vine
Diethofencarb + carbendazim ^{a)}	500/500	70
Diethofencarb + procymidone	250/250	63
Diethofencarb	250	35
Procymidone	750	22
Folpet + captan	1600/400	28
Untreated		25

^{a)} Sumico[®].

Table 12 Control of gray mold of citrus in field test (in Ehime, Japan).

Compounds	Dosage (ppm)	Percentage of infected flower	Percentage of infected fruit
Diethofencarb+thiophanate-methyl ^{a)}			
	125/525	1.1	4.1
	83/350	2.2	4.2
Organocopper +captan	600/400	18.9	19.0
Untreated		28.1	27.5

^{a)} Getter®.

ではブドウ灰色かび病防除に、ギリシャでは施設野菜の灰色かび病防除に使用され、ベンズイミダゾール耐性菌が問題となっている諸外国で高い評価を得ている。国内では、ベンズイミダゾール系殺菌剤のチオファネートメチルとの混合剤：ゲッター®が開発され、海外における Sumico® と同様、果樹、そ菜の灰色かび病防除剤として広く使用され、好評を得ている。カンキツ灰色かび病の防除効果を例にその結果を Table 12 に示す。ゲッター® は安定した効力を示している¹⁹⁾。

一方、ジェトフェンカルブの混合相手としてジカルボキシイミド系殺菌剤のプロシミドンが検討され、混合剤 スミブレンド® として開発された²⁰⁾。プロシミドンはジェトフェンカルブとは作用機構が異なり、理論的には負相関交差耐性を示さない剤である。しかし両剤の混合剤であるスミブレンド® は実圃場において十分な防除効果を示している。ジカルボキシイミド系殺菌剤においてはイプロジオンが1979年に、プロシミドン、ピンクロゾリンが1981年に、それぞれ日本国内登録を取得し、耐性菌の出現によって効力の低下しているベンズイミダゾール系殺菌剤の代替剤として広く使用された。しかし、比較的早期にジカルボキシイミド系殺菌剤に耐性菌が一般圃場より分離され、灰色かび病菌ではベンズイミダゾール系殺菌剤とジカルボキシイミド系殺菌剤と同時に耐性を示す複合耐性菌が出現した。両剤は作用機構が異なるにもかかわらず、ベンズイミダゾール耐性菌の比率の高い条件下でジカルボキシイミド系殺菌剤を使用したことが両剤に対し耐性を示す複合耐性菌の出現をみたと考えられる。ジカルボキシイミド耐性、ベンズイミダゾール耐性、両剤の複合耐性というように耐性のパターンは理論的には3通りあると考えられるが、一般圃場で分離される耐性菌は、両耐性菌株とベンズイミダゾール耐性菌株の割合が高く、ジカルボキシイミド耐性の菌株の割合は有意に低いことが認められている。ジェトフェン

Table 13 Control of gray mold of cucumber in field test (in Kōchi, Japan).

Compounds	Dosage (ppm)	Percentage of infected cucumber
Diethofencarb+procymidone ^{a)}	80/250	1.2
	60/190	1.4
Iprodione	330	21.6
Polyoxin	200	22.2
Untreated		31.6

^{a)} Sumibrend®.

カルブとプロシミドンとの混合剤：スミブレンド® が実圃場において高い防除効果を有するのはこの理由によると考えられる。日本植物防疫協会への依頼試験、特別依頼試験および、九州病害虫防除推進協議会の連絡試験などの多くの試験においてスミブレンド® は施設野菜の灰色かび病に対し安定した効果が確認されている。その一例としてキュウリ灰色かび病に対する防除効果を Table 13 に示す。スミブレンド® の実圃場での散布間隔は3~4週間間隔の散布であり、慣行防除に優れるとの試験結果が多い。施設栽培の果菜類では、作物、作型、地域、気候などの条件により異なるが、約3か月の長期にわたる灰色かび病の発病期間がある。したがって、スミブレンド® は3~4週間という通常の数倍長い散布期間でも有効であることは散布回数を減少させ、耐性菌の抑制には好ましい。このことはチオファネートメチルとの混合剤：ゲッター® についてもいえることである。

おわりに

ジェトフェンカルブの開発上市の成功のポイントは、ベンズイミダゾール系殺菌剤に続いてジカルボキシイミド系殺菌剤にも耐性菌が出現し、その耐性菌対策が緊急の課題であったことに加え、ベンズイミダゾール耐性灰色かび病が日本、西欧と分布し、それが一つのまとまった市場を形成していたこと、さらにはベンズイミダゾール耐性菌とジカルボキシイミド耐性菌が複合耐性であり、両耐性菌に対しジェトフェンカルブが活性を有すること、かつ、実用性という観点からジェトフェンカルブは両耐性菌に対し安定した効力を示していたことなどを掲げることができる。

ジェトフェンカルブは灰色かび病菌以外にもベンズイミダゾール耐性のうどんこ病菌、褐斑病菌、黒星病菌、灰星病菌などに基礎活性を有している。今後はこれらの病原菌がおこす病害防除を対象とした耐性菌対策が検討

すべき課題である。薬剤耐性を支配する遺伝子が1遺伝子ではなく多遺伝子の場合、負相関交差耐性的性質を示すとは限らず不完全交差耐性となる場合がある。薬剤耐性に低度耐性、中等度耐性、高度耐性と耐性差が明確に現われる場合には多遺伝子支配耐性の可能性が考えられる。したがってジェトフェンカルブの新たな病害分野への適用拡大を考える場合には、実圃場における耐性菌がどのタイプの耐性菌であって薬剤耐性効果がどの程度であるかを見極める必要があるといえる。

ジェトフェンカルブの開発には、社内関係各部門の多くの方々の弛まぬ創意と努力とがあって、本剤の上市を可能とした。本剤の開発に際して、社外の多くの方々からご指導とご支援とをいただいた。ここに、日本植物防疫協会をはじめ、国立および各都道府県農業研究機関の関係各位に深く感謝の意を表します。さらに本剤の研究開発に終始適切なご助言をいただいたフランス INRA の P. Leroux 博士、京都大学名誉教授・藤田稔夫先生、日本植物防疫協会理事長・梶原敏宏先生に心から謝意を表します。

引 用 文 献

- 1) K. J. Bent, A. M. Cole, J. A. W. Turner & M. Woolner: *Proc. 6th Brit. Insect. Fungi. Conf. Brighton*, **1**, 274 (1971)
- 2) S. G. Georgopoulos: "Antifungal Compounds," ed. by M. R. Siegel & H. D. Sisler, Vol. II, Marcel Dekker Inc., New York, p. 439, 1977
- 3) E. G. Ruppel: *Phytopathology* **65**, 785 (1975)
- 4) 竹内妙子, 長井雄治: *日植病報* **48**, 210 (1982)
- 5) 深見順一, 上杉康彦, 石塚皓造: 薬剤抵抗性—新しい農薬開発と総合防除の指針, ソフトサイエンス社, p. 168, 291, 1983
- 6) M. A. De Waad: *Proc. Br. Crop Prot. Conf.* **2**, 573 (1984)
- 7) 上杉康彦: 農薬—デザインと開発指針, 山本 出・深見順一編, ソフトサイエンス社, p. 725, 1979
- 8) 山本 磐: *植物防疫* **29**, 194 (1975)
- 9) 手塚信夫, 木曾 皓: *日植病報* **42**, 98 (1976)
- 10) 深谷雅子, 加藤作美, 佐藤 廣: *秋田果試研報* **11**, 33 (1979)
- 11) P. Leroux & M. Gredt: *C. R. Acad. Sci. Paris Ser. D* **289**, 691 (1979)
- 12) P. Leroux & M. Gredt: *Phytiatr. Phytopharm.* **28**, 79 (1979)
- 13) T. Kato, K. Suzuki, J. Takahashi & K. Kamoshita: *J. Pesticide Sci.* **9**, 489 (1984)
- 14) J. Takahashi, S. Nakamura, H. Noguchi, T. Kato & K. Kamoshita: *J. Pesticide Sci.* **13**, 63 (1988)
- 15) J. Takahashi, O. Kirino, C. Takayama, S. Nakamura, H. Noguchi, T. Kato & K. Kamoshita: *J. Pesticide Sci.* **13**, 587 (1988)
- 16) J. Takahashi, O. Kirino, C. Takayama, S. Nakamura, H. Noguchi, T. Kato & K. Kamoshita: *Pestic. Biochem. Physiol.* **30**, 262 (1988)
- 17) S. Nakamura, T. Kato, H. Noguchi, J. Takahashi & K. Kamoshita: *Abstr. 6th Int. Congr. Pestic. Chem., Ottawa*, 3E-01, 1986
- 18) M. Fujimura, K. Oeda, H. Inoue & T. Kato: "Managing Resistance to Agrochemicals," ed. by M. B. Geen, H. M. Le Baron & W. K. Moberg, American Chemical Society, Washington DC, pp. 224-236, 1990
- 19) ゲッター普及会: ゲッター® 水和剤, 1990
- 20) スミブレンド普及会: スミブレンド® 水和剤, 1990