

富山県におけるイネいもち病菌の薬剤耐性菌調査

1. 数種殺菌剤の薬剤感受性の相互関係

中川 俊昭・梅原 吉広

Toshiaki, NAKAGAWA and Yoshihiro, UMEHARA : Investigations of drug resistant strains of rice blast fungus, *Pyricularia oryzae* Cavara, in Toyama prefecture.

1. Mutual relationships of sensitivity to several fungicides.

いもち病菌の薬剤耐性菌は、実験的には1958年にフェニール酢酸水銀に対する耐性菌が得られている¹⁾。しかし、圃場において耐性菌の発生が確認されたのは、1971年山形県のカサガイシン（以下 KSM と略す）が最初である²⁾。

富山県では、片桐ら³⁾が1976年富山県福光町で採取した菌株において、IBP 耐性菌株を確認したのが最初である。その後、筆者らは1977~'78年にイネ幼苗暴露法調査を行い、IBP、プラストサイジンS（以下 Bc S と略す）、イソプロチオラン（以下 IPT と略す）などの防除効果が劣ることが判った。特に、本県内では使用実績の少ない IPT が、未使用地区を含めた広い地区での効力低下が注目され、他剤との影響について憂慮された。

このため、本調査では1979年における IBP、IPT および EDDP の薬剤感受性を調査し、これら相互の関係について若干の検討を加えた。

本調査を実施するにあたり、いもち病斑採取に御協力を頂いた県下病害虫防除所職員および薬剤純品を提供頂いたクミアイ化学工業株式会社、日本農業株式会社各位に深く謝意を表する。

I 試験方法

供試菌株 県内147地点よりいもち病斑を採取し、1病斑から1菌の単孢子分離を行い、葉いもち149菌、穂いもち335菌、合計486菌を分離し PDA 斜面培養した。培養菌株は、分離後1~2カ月以内に検定に供試した。

耐性菌の検定方法 寒天平板希釈法⁴⁾により菌糸の最少生育阻止濃度（以下 MIC と略す）を求めた。培地はマツクルペイン緩衝液で pH5.0 に調整したイネ生葉煎汁寒天培地を用い2倍段階希釈により IBP(純品)、IPT(純品)、EDDP(市販製剤：成分濃度30%)をそれぞれ 3.1, 6.3, 12.5, 25, 50, 100 $\mu\text{g/ml}$ で平板を調整した。更に、IPT は葉いもち分離菌株149菌について、5 $\mu\text{g/ml}$ 段階希釈により 10, 15, 20.....35, 40 $\mu\text{g/ml}$ を加えた。MIC 値は、培地上に菌そう(2mm³)を移

植後28°Cで培養し、5日目に肉眼で菌そう発育の有無を判定した。一部判定の難しい場合は、顕微鏡下で菌そう全面より菌糸伸長を観察できるか否かにより判定した。

防除効果試験 常法⁵⁾によりオートミール培地上で孢子形成を行い、これを1視野($\times 100$)当り20~40個に孢子懸濁液を調整し、スプレーガンにより3~4葉期のイネ幼苗に接種した。防除薬剤の散布は、接種4時間前に葉の表裏が十分ぬれる程度に行った。接種後36時間25°C湿度100%の湿室に入れ、その後25°Cのグロースキャビネット内で育苗した。調査は、接種10日後に、3葉目について病斑面積を調べ防除価を求めた。

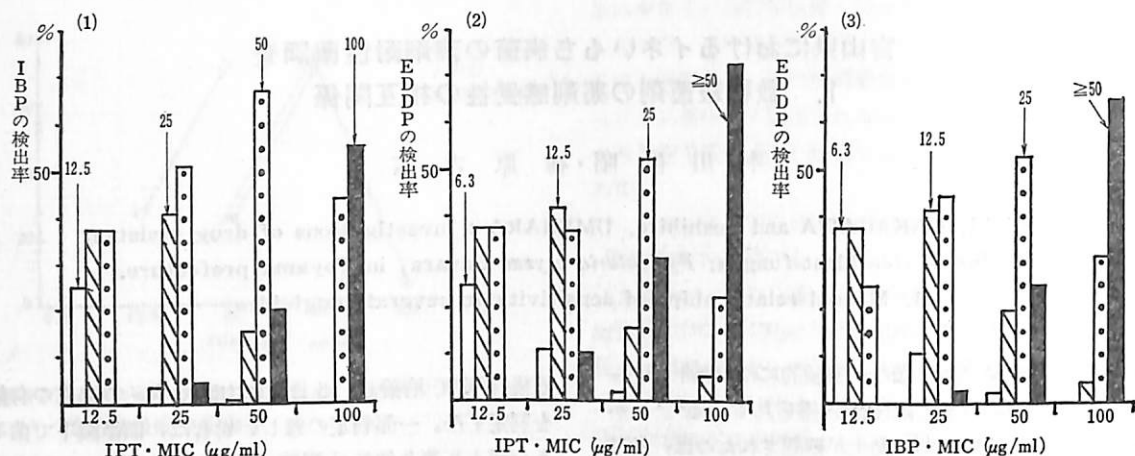
II 結果

1 各薬剤の MIC 値相互の関係

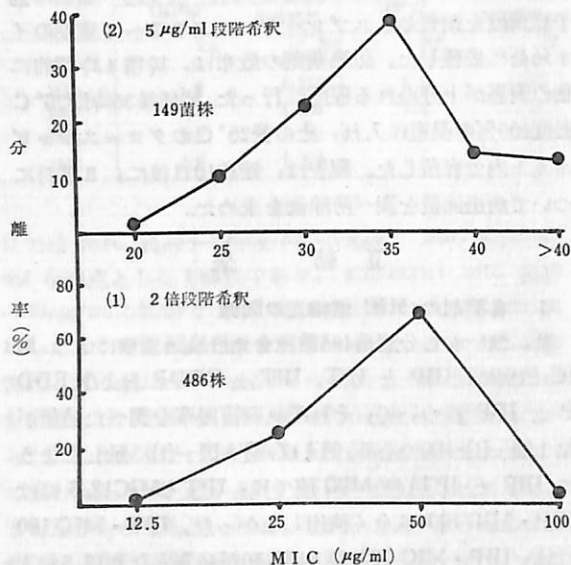
葉、穂いもち分離菌486菌株を2倍段階希釈により MIC 値別に、IBP と IPT、IPT と EDDP および EDDP と IBP について、それぞれの検出率を調べた結果が第1図—(1)~(3)である。例えば、第1図—(1)に示したように IBP と IPT の MIC 値では、IPT・MIC12.5には IBP・MIC100 は全く検出しなかった。IPT・MIC100 には、IBP・MIC100 が54%、50が46%となり12.5および25は全く検出しなかった。このようなことは、IPT と EDDP でも同様であった。第1図—(2)に示すように IPT・MIC12.5 には EDDP・MIC ≥ 50 は0%であり、IPT・MIC100 では EDDP・MIC ≥ 50 が、72%、25が22%、12.5が6%、6.25が0%であった。IBP と EDDP についても第1図—(3)に示すように同様であり、各薬剤とも、一方の MIC 値の高い菌株からは、他方の MIC 値の高い菌株が高率に検出される傾向を示した。

2 IPT の薬剤感受性頻度分布

葉・穂いもち分離菌486菌株の IPT 2倍段階希釈による薬剤感受性頻度分布の調査結果を第2図—(1)に示した。MIC 50を頂点とする1峰性を示し、MIC 50の比率が69%と高かった。IBP については⁶⁾、2倍段階希釈で1峰性であるが、5 $\mu\text{g/ml}$ 段階希釈では25 $\mu\text{g/ml}$ を境界



第1図 各薬剤の MIC 値相互の関係



第2図 IPT の薬剤感受性頻度分布

とした2峰性を示すため、更に葉いもち分離菌149菌を用いIPTについても5µg/ml段階希釈による薬剤感受性頻度分布を調べた結果が第2図一(2)である。頂点は35µg/mlで1峰性を示したが、MIC>40が13%(20菌株)分布していた。

3 地区別検出率の関係

県内を10地区(発生予察による区分に準ずる)に分け、IBP、IPTおよびEDDPとも2倍段階希釈によるMIC \geq 50の検出率を求め、それぞれの薬剤ごとに相関関係を求めたのが第3図一(1)である。IPTとIBP、IPTとEDDPには相関関係が認められないが、IBPとEDDPの間には $r = +0.917$ の高い相関関係が認められ

た。

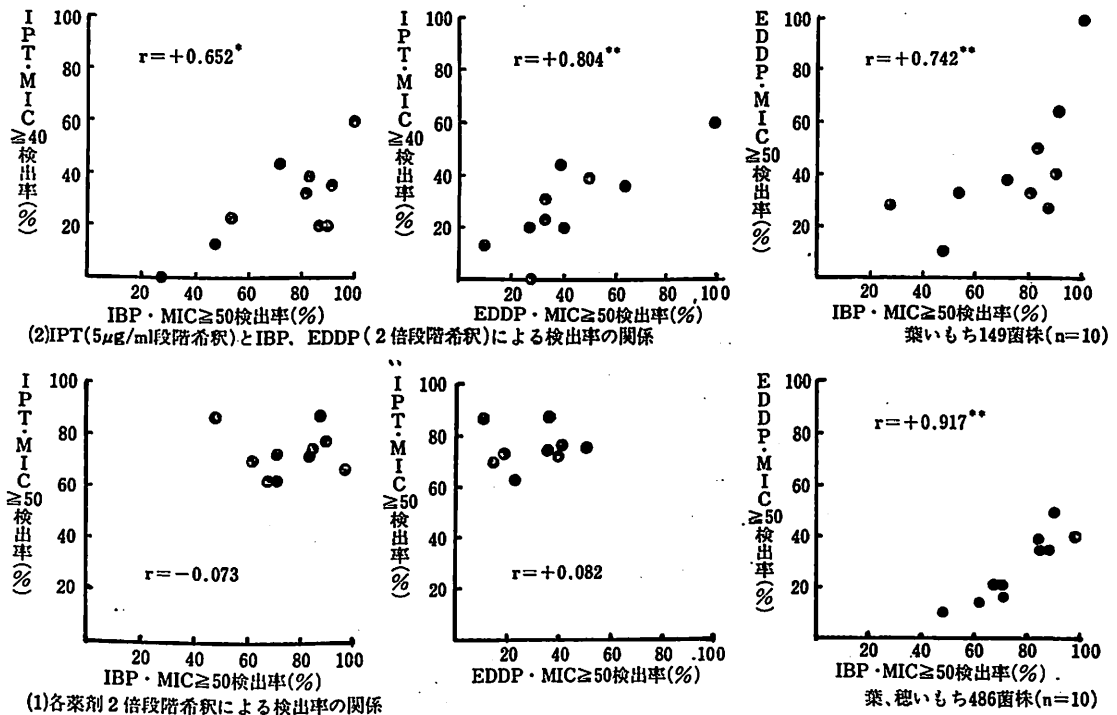
更に、前記のIPTについて5µg/ml段階希釈によるMIC \geq 40の検出率とIBPおよびEDDPのMIC \geq 50の検出率について、それぞれの薬剤の相関関係を調べた結果が第3図一(2)である。第3図一(1)で相関関係の認められなかったIPTとIBPは、この場合 $r = +0.652$ と相関関係が認められ、また、IPTとEDDPについても $r = +0.804$ と相関関係がいずれも高く認められた。また、第3図一(1)で高い相関関係の認められたIBPとEDDPについても、相関関係が認められた。

4 MIC値と防除効果の関係

2倍段階希釈のMIC値別に5菌株を用いて噴霧接種を行い、予防効果を調べた結果が第1表である。防除価では、1290菌はIBPおよびIPTで効果が認められなかった。1213菌は、IBP・MIC 100であるがIBPに対し77と高く、IPTに対しては効果がなかった。1298菌は、IBP・MIC 100でありIBPに対して14と低く、IPTではMIC 50でも防除価は100を示した。1041菌はMIC値がIBPで12.5、IPTで12.5、EDDPで6.25であり防除価は全薬剤で100を示し、極めて感受性が高かった。

III 考 察

富山県において、1977~'78年にイネ幼苗暴露法調査を行った結果、IBP、IPTおよびBc Sが防除効果の劣る地域が発生したことが判った。一方、片桐らは、富山県福光町より採集した菌株でIBP耐性菌が発生したこと²⁾および、室内実験において、IPTと有機燐系殺菌剤間に交差耐性のあることを報告した¹⁾。また、県内の有機燐系殺菌剤の使用量や使用面積が大きいことから耐



第3図 地区別検出率による各薬剤の関係

第1表 MIC 値と各薬剤の防除効果

菌株番号	MIC (µg/ml)			防 除 値					
	IBP	IPT	EDDP	IBP 800倍	IPT 1000倍	EDDP 1000倍	Bc-S 1000倍	KSM 1000倍	フサライド 1000倍
1290	50	50	25	-96	-20	94	41	84	100
1213	100	50	50	77	-15	100	97	100	90
1298	100	50	50	14	100	100	0	100	100
1198	50	25	25	100	100	100	75	75	100
1041	12.5	12.5	6.25	100	100	100	100	100	100

注) 表中の (-) は無処理区より発病が多いことを示す。

性菌の発生に懸念が持たれてきた。

これらのことから、1979年に IBP, IPT および EDDP の薬剤感受性について検討した。

その結果、感受性の低い菌株は IBP では、県西部に多く、IPT も同じく県西部に多い傾向を示した。EDDP については地域による差があまり見られなかった。

また、これら3薬剤の MIC 値は IBP と IPT, IPT と EDDP および EDDP と IBP のいずれの組合せにおいても、一方の薬剤の MIC 値の高い菌株からは、他方の MIC 値の高い菌株が高率に検出された。このことから、MIC 値から見れば3薬剤は極めて密接な関係にあると考えられる。また、県内の地区別検出率について、各薬剤とも2倍段階希釈における MIC ≥ 50 についての関係を見ると、IBP と EDDP にのみ相関関係が認められたが、その他の組合せでは認められなかった。し

かし、IPT を5µg/ml段階希釈にした MIC ≥ 40 の検出率をとって見ると、IBP と IPT, IPT と EDDP および EDDP と IBP の3組合せは、いずれも高い相関関係が認められた。この原因は、IPT の2倍段階希釈の MIC ≥ 50 の菌株では、適確な感受性の高低の区別がされず、混在した状態にあり、5µg/ml段階希釈の MIC ≥ 40 の場合は、感受性の低い菌株の頻度が多いためと考えられる。

IBP は、片桐⁹⁾が報告したとおり本調査においても感受性の低い菌株が認められた。これら耐性菌は、県西部に明らかに多く出現していることから、IBP 耐性菌は過去の IBP の使用量と密接な関連があることが判った。また、IBP は、過去においても病防除薬剤としての使用以外に植物生育調節剤としての使用も、耐性菌の発生に影響があったのではないかと考えられる。

IPT は、過去の県内での使用量も少く、使用地区も限定されている。しかし、前記のように IBP, EDDP と極めて密接な MIC 値の関係が認めれ、また、第1表に示す1290菌や1213菌のように明らかに防除効果の劣っている菌株が出現していることなどから、IPT の効力低下は、有機燐系殺菌剤由来の交差耐性と考えられる。有機燐系殺菌剤のうち、IBP と EDDP のいずれから由来したものであるかは明らかでないが、使用実績から見て、IBP との関係が強いのではないかと推測される。

EDDP も MIC 値については、IBP および IPT と関連が認められるが、イネ幼苗暴露調査結果や第1表のとおり高い防除効果を示したことなどは、矢尾板ら⁹⁾の報告と一致した。ことごとから、現在は他剤との影響が少ないと考えられるが、1978年頃より使用量、使用面積ともに増加しつつあるので、今後の動向を見守りたい。

MIC 値と防除価では、IBP および IPT とも2倍段階希釈の $MIC \leq 50$ で防除価に影響がある傾向が見られる。しかし、接種菌株数が少ないため明確ではなかった。今後、接種菌株数を多くし、他剤との関係を含めて検討したい。

IV 摘 要

県内で採取したいもち病菌486菌株を用いて、IBP, IPT 及び EDDP の薬剤感受性を調べ、これら薬剤感受性値の相互の関係を検討した。

1 2倍段階希釈による MIC 値別の相互の関係では、IBP と IPT, IPT と EDDP および EDDP において、それぞれ一方の薬剤の MIC 値の低いものからは、他方の MIC 値の低いものが多く、一方の MIC 値が高くなれば、他方の MIC 値も高い菌株が高率に検出されており、MIC 値の相互の関係は密接であることが認められた。

2 地区別の2倍段階希釈による各薬剤の $MIC \geq 50$ の検出率において、相関関係を求めると IBP と IPT

および IPT と EDDP には相関関係は認められなかったが、IBP と EDDP には極めて高い相関関係が認められた。しかし、IPT を $5\mu\text{g/ml}$ 段階希釈による $MIC \geq 40$ の検出率との相関関係では、2倍段階希釈で相関関係の認められなかった IBP と IPT および IPT と EDDP についても相関関係が認められた。

3 IPT の薬剤感受性頻度分布は、2倍段階希釈では $50\mu\text{g/ml}$ を頂点とする1峰性であるが、 $5\mu\text{g/ml}$ 段階希釈では、 $35\mu\text{g/ml}$ を頂点とする1峰性を示した。

4 防除効果試験では、IBP および IPT が同時に効果の低い菌株も認められたが、IBP のみに効果の低いものや IPT にも低い菌株も認められた。また、EDDP の効果は、IBP および IPT の防除効果とは関係なく、使用した全菌株に高い効果を示した。

引用文献

- 1) 片桐政子・上杉康彦(1977) イソプロチオランと有機リン殺菌剤間の交差耐性(講要). 日植病報 43: 360.
 - 2) 片桐政子・上杉康彦・梅原吉広(1978) 有機リン剤耐性イネいもち病菌の圃場における発生(講要). 日植病報 44: 401.
 - 3) 三浦春雄・伊藤弘・木村和雄・高橋昭二(1973) いもち病菌のカスミン耐性について(講要). 日植病報 39: 239.
 - 4) 桜井寿(1975): 薬剤耐性菌の検定法. 植物防疫 29: 206~212.
 - 5) 矢尾板恒雄・郷直俊・青柳和雄・桜井寿(1978) 新潟県におけるイネいもち病菌の示す有機リン殺菌剤感受性値の頻度分布(講要): 日植病報 44: 401.
 - 6) 矢尾板恒雄・郷直俊・青柳和雄・岩野正敬・桜井寿(1979) イネいもち病とその疫学に関する研究. 新潟県農業試験場研究報告 28: 61~70.
 - 7) 古田力・関口義兼(1967) いもち病菌の胞子形成法. 植物防疫 21: 160~162.
 - 8) 吉井啓・浅田泰次・木曾皓・田辺昇(1958) 植物病原菌の薬剤耐性に関する研究. 日植病報 23: 215~218.
- (1980年8月12日受領)