

富山県におけるイネいもち病菌の薬剤耐性菌調査 2 圃場から分離した菌株の IBP, イソプロチオランおよび EDDP 相互間の交さ耐性

中川 俊昭・梅原 吉広

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

2. Cross resistance to IBP, isoprothiolane and edifenphos on isolates collected from paddy fields

富山県におけるイネいもち病菌の薬剤耐性は、片桐ら²⁾が1976年本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、筆者らはイネ幼苗暴露法調査を行い、IBP の他イソプロチオラン（以下 IPT と略す）においても、防除効果の劣ることが認められた。特に、本県内における IPT の使用実績は低く、使用歴が短いにもかかわらず効力の低下が認められたことが注目された。この原因を明らかにするため、他剤との影響について検討を行ってきた。その結果、前報において IBP, IPT および EDDP の3剤の MIC 値の間には、極めて密接な関係が認められたことを報告³⁾した。

本報告は、1980年圃場採取菌株について IBP, IPT および EDDP に対する薬剤感受性の検定と防除効果について若干の検討を加えたものである。

本調査を実施するにあたり、いもち病罹病標本の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農薬会社各位に深く謝意を表す。

I 試験方法

供試菌株 県内各地より穂いもち罹病穂を採取し、1 標本について単孢子分離により1 菌株ずつの培養を行い、これらの中から無作為に24菌株を選び供試した。

菌そう生育阻止率 供試菌株を PDA 平板培地で7 日間培養し、これを直径4 mm のコルクボーラで打ち抜き、平板検定培地に27°C で5 日間置床した後、薬剤無添加培地との比率により求めた。検定培地は、マックルベイン緩衝液で pH5.0 に調整したイネ生葉煎汁寒天培地に IBP, IPT, EDDP, カサガマイシン (KSM) の純品を希釈し、それぞれ 0, 5, 10, 20 μ g/ml の濃度となるように調整した。

最小生育阻止濃度⁴⁾ (MIC) 菌そう生育阻止率と同様にイネ生葉煎汁培地 (pH5.0) を用い、2 倍段階希釈により IBP, IPT, EDDP をそれぞれ 3.1, 6.3, 12.5, 25, 50 および100 μ g/ml の濃度となるように平板培地を調整し最小生育阻止濃度を調べるための検定培地とした。MIC 値は7 日間 PDA 斜面培養し、検定培地上に菌そう (約2 mm²) を移植後27°C で培養し、5 日後に判定した。

防除効果試験 常法によりオートミル培地上で孢子形成を行い、これを顕微鏡100 倍における1 視野中30~60 個になるように孢子懸濁液を調整し、スプレーガンにより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 (予防散布) と42 時間後 (治療散布) に葉の表面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。接種10 日後に病斑面積を調査して防除価を求めた。

II 結 果

1 各薬剤の菌そう生育阻止率

供試した24菌株の薬剤濃度別菌そう生育阻止率を第1 表に示した。IBP に対しては、5, 10, 20 μ g/ml 濃度のいずれも、対照とした1970年採取菌よりも阻止率が明らかに低い菌株が多かった。しかも、20 μ g/ml 濃度において阻止率の幅が18~97% と大きな差が認められ、また、阻止率50% 以下の菌株が15株 (63%) も認められた。IPT, EDDP および KSM に対しては、各濃度において1970年採取菌株より極端に阻止率が低い菌株は少なく、また、各薬剤とも菌株間の差は小さかった。

2 菌そう生育阻止率による各薬剤の相互関係

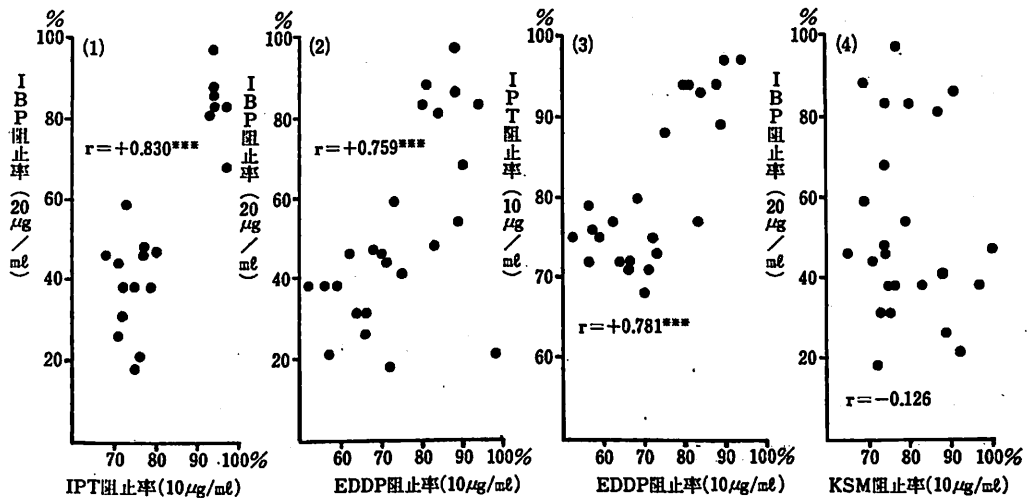
供試24菌株について、IBP 20 μ g/ml, IPT 10 μ g/ml, EDDP 10 μ g/ml, KSM 10 μ g/ml 濃度の菌そう生育阻止率により、それぞれの相関関係を第1 図の(1)~

第1表 各菌株の薬剤別菌そう生育阻止率と MIC 値

菌株番号	薬剤無添加地菌の菌そう直径(mm)	各薬剤の濃度別菌そう生育阻止率(%)												MIC (μg/ml)		
		I B P			I P T			E D D P			K S M			I B P	I P T	E D D P
		5	10 (μg/ml)	20	5	10 (μg/ml)	20	5	10 (μg/ml)	20	5	10 (μg/ml)	20			
1	32	9	20	38	45	72	94	31	56	94	66	75	81	50	50	100
2	31	13	42	81	90	93	100	52	84	100	61	87	83	50	25	25
3	34	21	47	97	74	94	100	60	88	100	68	77	85	50	25	25
4	32	9	40	88	72	94	100	53	81	100	63	69	84	50	25	50
5	32	19	44	86	75	94	100	59	88	100	66	91	81	50	25	50
6	32	16	57	59	42	73	97	47	73	97	59	69	77	50	50	50
7	28.5	33	63	54	72	89	100	54	89	100	82	79	96	50	25	50
8	35	11	23	26	49	71	97	37	66	91	69	89	91	100	50	100
9	32	13	16	47	59	80	100	40	68	100	72	100	89	100	50	50
10	32	3	16	31	47	72	97	33	66	97	69	75	84	100	50	100
11	34.5	19	25	48	51	77	94	48	83	91	67	74	80	100	50	100
12	32	6	13	31	52	72	97	34	64	88	72	78	84	100	50	50
13	32	6	15	18	50	75	94	41	72	91	59	72	78	100	50	50
14	34.5	19	22	46	54	68	94	43	70	97	59	74	80	50	50	50
15	35	19	37	83	74	94	100	51	80	100	63	74	83	50	25	25
16	34	12	18	46	59	77	97	44	62	88	59	65	79	50	50	50
17	35	14	31	83	80	97	100	57	94	100	79	80	88	50	25	25
18	37	11	19	21	57	76	100	34	57	86	64	92	92	100	50	100
19	35.5	15	24	38	54	75	100	30	52	89	55	83	86	100	50	100
20	34	6	21	38	50	79	97	35	56	90	63	76	82	100	50	50
21	32	9	16	41	59	88	97	44	75	100	78	88	94	50	50	25
22	35	11	23	44	60	71	89	41	71	74	66	71	69	50	50	50
23	31	29	42	68	84	97	100	55	90	100	58	74	77	50	50	25
24	32	6	19	38	50	75	100	25	59	97	91	97	100	100	25	100
対照-1	29	45	76	100	66	90	100	58	78	100	72	79	90	50	12.5	25
対照-2	31	29	54	64	80	96	100	54	79	100	77	80	84	25	12.5	12.5

1) 27°C, 接種5日後の調査。菌そう生育直径は接種源の直径4mmを差し引いた値である。

2) 菌そう生育阻止率(%) = $\frac{a-b}{a} \times 100$, a: 薬剤無添加地での菌そう直径, b: 薬剤添加地での菌そう直径



第1図 菌そう生育阻止率による各薬剤の相互関係

(4)に示した。

IBP と IPT($r=+0.830$ ***), IPT と EDDP($r=+0.759$ ***) および IBP と EDDP ($r=+0.781$ ***) の間には極めて高い相関関係が認められた。しかし、IBP と KSM の間 (第1—(4)図) には相関関係は全く

認められなかった。

3 接種試験による防除効果

供試菌株の中から8菌株を用いて噴霧接種を行い、予防・治療に分けて防除価を求めた結果が第2表である。

IBP の予防防除価では、菌株番号18, 19, 21, および

第2表 薬剤感受性値と防除価

菌株番号	一布病斑当たり殺率	予防防除価						治療防除価			菌そう生育阻止率			MIC($\mu\text{g/ml}$)		
		I B P	I P T	E D D P	K S M	B C S	フ ド サ ライ	I B P	I P T	E D D P	I B P 20 $\mu\text{g/ml}$	I P T 10 $\mu\text{g/ml}$	E D D P 10 $\mu\text{g/ml}$	I B P	I P T	E D D P
2	23.0	69	84	100	91	83	99	88	67	99	81	93	84	50	25	25
5	42.0	80	92	99	94	99	100	93	71	97	86	94	88	50	25	50
8	13.5	100	91	100	89	100	100	89	100	100	26	71	66	100	50	100
15	18.7	90	86	100	83	89	100	91	76	100	83	94	80	50	25	25
18	34.5	0	37	99	67	68	100	48	60	83	21	76	57	100	50	100
19	48.5	14	42	98	69	62	100	45	0	60	38	75	52	100	50	100
21	18.7	0	89	98	70	11	100	16	76	53	41	88	75	50	50	25
24	92.0	0	30	100	63	60	100	39	41	88	38	75	59	100	25	100

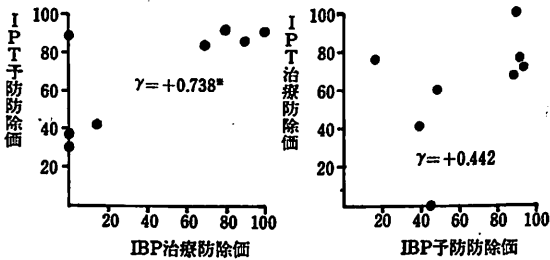
注) IPTはインプロテオランの略

24において効果が劣った。これらの菌株は IBP・MIC 100 および IBP 濃度 20 $\mu\text{g/ml}$ による菌そう生育阻止率40%以下の範囲に含まれる菌株であった。しかし、菌株番号8は、MIC が100、菌そう生育阻止率26%であるにもかかわらず防除価は高かった。治療防除価は、予防防除価の低い菌株が、それぞれ効力の低い傾向が認められた。

IPT の予防防除価では、菌株番号18, 19, および24に対する効力不足が認められ、これらの菌株は IBP の効力不足の菌株と同一菌株となった場合が多かった。治療防除価では、菌株番号19, および24に効力不足が認められた。

EDDP の予防防除価では、全菌株で効果が優れ、防除価98以上であった。また、治療防除価においても、防除価の極端に低い菌株は認められなかった。

4 防除価における IBP と IPT の関係



第2図 防除価におけるIBPとIPTの関係

上記の防除効果試験から、IBP と IPT の防除価について相関関係を求めた結果が第2図である。IBP と IPT の関係は、予防防除価においては、 $r = +0.738^*$ と相関関係が認められたが、治療防除価においては、 $r = +0.442$ で低かった。

III 考 察

富山県において、イネ幼苗暴露法による調査を行った結果、IBP および IPT に防除効果の劣る本菌菌株の存在することがわかった。IPT は本県内での同剤の過去の使用量および使用地区が限られていたことから IPT に対する防除効果の劣る菌株の出現は他剤からの影響によるものではないかと憂慮された。

一方、片桐ら¹²⁾は、本県内採取菌において IBP 耐性菌の存在を確認するとともに、室内人為耐性菌において IPT と有機燐系殺菌剤間に交差耐性を示すことを報告した。

これらのことから、圃場においても交差耐性が発生するのではないかと懸念され、それを明らかにするため1979年より圃場採取菌の薬剤感受性について、IBP, IPT および EDDP 相互の関係を検定してきた。

この結果、筆者らは前報告⁹⁾において、IBP, IPT および EDDP の3剤の MIC 値には、一方の薬剤の MIC 値の高い菌株からは、他方の薬剤の MIC 値の高い菌株が高率に検出されることを報告した。本報告では、更にこれら3剤の菌そう生育阻止率について相関関係を求めた結果、いずれの組合せにおいても高い相関関係が認められた。一方、抗性物質である KSM との間には、まったく相関関係は認められなかった。このことにより、圃場採取菌においても *in vitro* の検定では、IBP, IPT および EDDP の3剤の間には交差耐性の関係にあるものと考えられる。

また、これらの菌株の一部を用いて *in vivo* の検定を行った結果、予防防除効果では IBP は極めて防除効果の低い菌株が認められ、IPT についても効果不足の菌株が認められた。この IPT の効果不足の菌株の中には IBP の防除効果の低い菌株が多かった。しかし、治療防除効果では、この傾向はあまり明確ではなかった。こ

ことから、IBP と IPT の間には、予防防除効果で相関関係が認められたが、治療防除効果では認められなかった。

EDDP は、予防、治療防除効果とも効果が高く、また菌株間における防除効果の差が小さく、IBP および IPT などとの関係も明らかではなかった。

in vitro の試験では IBP、IPT および EDDP の間に交差耐性の関係が認められた。しかし *in vivo* の防除効果試験を含めた場合に、IBP と IPT の間には交差耐性が認められるが、両薬剤と EDDP の間には交差耐性が認められなかった。このように、*in vitro* と *in vivo* の検定結果が異なる要因の一つとして、これら3剤のいもち病に対する作用機作の違いが推測されるが、この点については今後検定方法を変えて検討したい。

以上の結果により、圃場採取菌においても IBP と IPT の間には、交差耐性の関係にあるものと考えられる。しかし、IPT の菌そう生育阻止率の幅が比較的せまいことや、防除効果試験でも IBP より効果が全般に高いことから、IBP と IPT の交差耐性は、それほど強い関係ではないと考えられる。

本県では、過去 IBP を中心に有機燐系殺菌剤が多く使用されていたが、IPT については使用量も少く、また使用地区も限られていた。このことから、IPT の効力低下は、有機燐系殺菌剤由来の交差耐性がその一因と考えられる。しかし、菌株によっては必ずしも交差耐性を示さない場合も認められるので、今後より多くの接種菌株を用いて検討したい。

Ⅳ 摘 要

県内の圃場から採取したいもち病菌菌株を用いて、

IBP、IPT および EDDP の薬剤感受性および防除効果について、相互の関係を検討した。

1 IBP、IPT および EDDP の菌そう生育阻止率による相互の関係はいずれの組合せも高い相関関係が認められ、*in vitro* ではこれら3剤は交差耐性の関係にあると考えられた。

2 菌接種による防除効果試験では、IBP と IPT に効力不足が認められ、また同一菌株で両剤に効力不足の認められた菌株も多かった。しかし、EDDP については、IBP や IPT の防除効果とは関係なく、全般に高い効果を示した。

3 菌接種による防除価について、予防散布では IBP と IPT の間に高い相関関係が認められたが、治療散布および、その他の組合せでは相互の関係は密接でなかった。

以上のように、圃場から採取した菌株において、IBP と IPT の間に交差耐性の関係が認められたが、その程度はそれほど強くないものと推察された。

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) 中川俊昭・梅原吉広(1980) 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。北陸病虫研報 28:57~60.
- 4) 桜井 寿(1975) 薬剤耐性菌の検定方法植物防疫 29:206~212.

(1981年8月15日受領)