

薬剤耐性イネいもち病菌に関する研究 第4報 薬剤施用が IBP 耐性菌分布変動に及ぼす影響

飯 島 章 彦

Akihiko IJIMA : Studies on drug-resistant strains of rice blast fungus, *Pyricularia oryzae* Cavara. 4. Effects of chemical control on population shift of IBP-resistant strains in nursery bed and paddy field.

圃場における薬剤耐性菌の分布変動は、単に薬剤の施用によってのみ起こるのではなく、病原菌固有の環境適応能の差など内外的および外的要因の総合された結果として起こると考えられる。このうち薬剤散布が薬剤耐性菌の分布変動に及ぼす影響については、すでにいくつかの報告があり、いずれの報告でもその影響力の多大であることが認められている。しかし、既報¹⁾の研究においては、一般圃場における小面積区画の試験区を用いているため、薬剤散布区相互間または隣接圃場とのいもち病菌胞子の飛散交流が高頻度で行なわれていたと推察され、この点から薬剤施用が耐性菌の分布変動に及ぼす影響についての正確な実態把握はなお不十分であると考えられた。

この点の解明は耐性菌防除対策のための薬剤使用体系を確立する上で重要と考えられる。本試験では、薬剤散布区相互間における胞子の飛散を防止することに努め、耐性菌分布変動に及ぼす各種薬剤施用の影響について検討し若干の知見を得たので報告する。

I 試験方法

1) 畑苗代試験

1区画3×4mの畑苗代を5区画設け、各区画間は6~10m離し、その間は裸地とした。1982年5月12日に水稻品種「信濃稲3号」を1m²あたり50g播種し、窒素多施用条件で育苗した。5葉期となった6月16日にIBP感受性を異にするイネいもち病菌29菌株の胞子混合液(150倍視野あたり3胞子)を各苗代中央部に噴霧し、一夜ポリマットで被覆して感染させた。

供試薬剤はIBP(キタジnP)、EDDP(edifenphos, ヒノザン)、isoprothiolane(フジワン)およびBcS(ブラセス)の各乳剤の1000倍液を用い、菌接種1日後(6月17日)から、以後7月20日まで計6回連続散布した。散布は小型動噴で1m²あたり300mlを降雨の影響のない日時に行なった。薬剤のいもち病防除効果は、各区中

央部2ヶ所の60×60cmを9分画し、各分画の病斑面積率を求め、無散布に対する防除価を算出した。

一方、6月26日(初発期)と7月30日(薬剤6回連用後)に、区全面から均一に病斑を採集し、単胞子分離4日後に薬剤感受性検定を行なった。感受性はIBPに対するMIC値(濃度希釈列20, 40, 60, 80, 100ppm)およびIBP(20, 40ppm)、EDDP(5, 10ppm)、isoprothiolane(5, 10ppm)含有培地上での菌そう生育阻止率を求めた。検定培地植え付けから調査までの日数は4日間とした。

2) 本田試験

水稻品種「信濃稲3号」を窒素多施用条件で栽培した農事試験場場内水田に、簡易パイプハウス(15m²)を組み立て、クレモナNo.314の寒冷紗を6月22日から10月5日まで被覆していもち病の病勢進展を促すとともに、試験区相互間の胞子の飛散防止に努めた。接種源として、圃場から分離したIBP感受性の異なる117菌株の胞子混合液をあらかじめ接種した幼苗を、これらのパイプハウス内に7月2日に混植した。IBP, isoprothiolane, BcSの各連続散布区と無散布区の計4棟の寒冷紗被覆ハウスを用いて、第1表の要領で薬剤散布を行なった。

第1表 薬剤散布状況

散布薬剤	散 布 月 日							
	7/2	7/3	7/13	7/16	7/17	7/20	8/7	8/16
IBP	●		○	△	●	○		
isoprothiolane	●		○	△	●	○		
BcS		○	○	△		○	○	○
無 散 布				△				

注) ● 粒剤 6kg/10a ○ 乳剤1000倍液 150l/10a
△ ビームゾル1000倍液 150l/10a

一方、各薬剤散布区内からは、7月2日(IBP感受性の異なる胞子混合液を接種した幼苗上に発病した病斑を採集した日)と9月7日(穂いもち病斑採集日)に病斑採集を行ない、単胞子分離4日後に薬剤感受性検定を行なった。検定の要領については畑苗代試験とほぼ同じである。

本報告の一部は昭和58年度日植病大会において発表した。
長野県農事試験場 Nagano Agricultural Experiment Station,
Ogawara, Suzaka, Nagano 382

II 結 果

1) 畑苗代試験

いもち病の病勢進展は6月中旬~7月中旬の気象が低温、寡雨であったため、比較的緩慢に推移した。

供試した薬剤のいもち病防除効果は第2表に示すとおりで、BcS 散布区では高い防除効果が認められたのに対しIBP, EDDP, isoprothiolane の各散布区では防除効果は認められず、終始無散布と同程度の発病を示した。

第2表 IBP 耐性菌分布下における各種薬剤連続施用のいもち病防除効果(畑苗代)

散布薬剤	病斑面収率	防除価
IBP	80.0%	-5.8
EDDP	78.9	-4.4
isoprothiolane	73.3	3.0
BcS	19.4	74.3
無散布	75.6	

注) 薬剤6回連続施用後調査

薬剤散布区内の耐性菌分布の動向を第3表に示した。IBP, EDDP, isoprothiolane 散布区における7月30日に採集した最終病斑では、6月26日採集の初発病斑に比べ、感性菌(MIC 30ppm)が激減し、弱耐性菌(MIC 40ppm)の減少も目立った反面、中等度耐性菌(MIC 60~80 ppm)の著しい増加と強耐性菌(MIC 100 ppm以上)の微増が起こった。これに比較してBcS散布区での分布変動は緩慢で、感性菌の漸減と耐性菌の微

増が認められたに過ぎなかった。一方、無散布区では感性菌の増加とそれに伴う弱および中等度耐性菌の減少がみられ、薬剤散布区、特にIBP, EDDP, isoprothiolane 散布区とは極立った対照を示した。

第3表 各薬剤散布区内から分離した菌株のIBP感受性別の菌株頻度分布(畑苗代)

採集日	散布薬剤	検定 菌株数	IBP感受性別の菌株比率			
			感性菌	耐性菌		
			弱	中等度	強	
6月26日 (初発)	無散布	70	25.6%	30.0%	34.3%	10.0%
	IBP	58	0	12.1	70.6	17.2
	EDDP	58	5.2	8.6	67.2	19.0
7月30日	isoprothiolane	60	0	6.7	68.3	25.0
	BcS	59	11.9	30.5	45.8	11.9
	無散布	62	40.3	22.6	25.8	11.3

つぎに、上記の菌株についてIBP, EDDP, isoprothiolane に対して示す菌そう生育阻止率を検定し、薬剤散布が菌集団の感受性変動に及ぼす影響についてみたのが第4表である。6月26日および7月30日の無散布区採集菌株と比較すると、7月30日採集の病斑では6月26日採集病斑より感受性の高い菌株の残存が多くみられ、菌集団全体が感性化していた。一方、IBP, EDDP, isoprothiolane 散布区から採集した菌株では、逆に感受性の低い菌株の残存が多く、耐性化していた。BcS散布区でも若干耐性側への移行はみられたもの他剤に比較してその程度は軽微であった。

2) 本田試験

第4表 各薬剤散布区内から分離された菌株の3剤に対する菌そう生育阻止率の頻度分布(畑苗代)

採集日	散布薬剤	供試菌株数	検定薬剤と濃度 (ppm)	菌そう生育阻止率区分に相当する菌株比率(%)									
				0~10	~20	~30	~40	~50	~60	~70	~80	~90	100
6月26日(初発)	無散布	70	IPB 20	13	27	19	7	14	3	7	7	3	13
			EDDP 5		4	10	26	10	14	14	11		
			isoprothiolane 5	1	13	10	9	16	17	7	20	6	
	IBP	58	IPB 20	10	21	50	12	7					
			EDDP 5		2	7	5	21	53	7	3		
			isoprothiolane 5			14	9	19	47	10	2		
EDDP	58	IPB 20	7	16	40	21	7		3		7		
		EDDP 5		2	16		28	31	10	9	3	2	
		isoprothiolane 5		17	12	9	22	38	5	10	2		
7月30日	isoprothiolane	60	IPB 20	22	32	32	10	3		2			
			EDDP 5		2	20	7	30	33	3	5		
			isoprothiolane 5		7	13	10	22	43	5			
	BcS	59	IPB 20	7	19	32	14	7	5	5		2	10
			EDDP 5		3	3	7	15	32	19	15	5	
			isoprothiolane 5		5	12	7	22	27	17	5	5	
無散布	62	IPB 20		15	23	11	7	5	3	2	11	26	
		EDDP 5			8	3	11	19	5	21	31	2	
		isoprothiolane 5		5	8	7	5	24	8	26	18		

寒冷紗被覆によりハウス内のイネは軟弱となり、また葉上の露滴が消えにくい、いもち病菌接種後の病勢進展は急激で、葉、穂いもちとも激発した。また各区間相互の胞子の飛散交流は、別試験に用いた隣接の寒冷紗被覆パイプハウスに接種蔓延した特異菌株が本試験のパイプハウス内では希にしか分離されなかったことから、ほとんどなかったものと考えられ、ほぼ目的のとおり、試験区の隔離は行なわれたものと推察された。

混植接種用苗の病斑（初発病斑）では感性菌43.9%、弱耐性菌2.4%、中等度耐性菌53.6%であった。この分布頻度は本県における耐性菌高率分布地帯の様相と類似したものであった。

9月6日採集した穂いもち病斑から分離した菌株の耐性菌分布状況を初発時の病斑から分離した菌株のそれと比較した結果を第5表に示した。IBP, isoprothiolane 散布区では感性菌の急激な減少と耐性菌の著しい増加が認められたのに対し、BcS散布区では大きな変化はみられなかった。さらに無散布区では耐性菌の減少と感性菌の増加が認められた。これは前述した畑苗代試験の結果

第5表 各薬剤散布区内から分離した菌株のIBP感受性別の菌株頻度分布（本田）

採集日	散布薬剤	検定菌株数	IBP感受性別の菌株比率		
			感性菌	耐性菌	
			弱	中等度	
7月2日(初発)	無散布	82	43.9%	2.4%	53.6%
	IBP	80	1.3	0	98.7
9月6日	isoprothiolane	79	0	1.3	98.7
(穂いもち)	BcS	79	38.0	3.8	56.3
	無散布	84	52.3	3.6	44.1

とよく一致した。

一方、穂いもち病斑から分離した上記の菌株を用いてIBP, EDDP, isoprothiolane に対する菌そう生育阻止率を調査し、各区ごとの頻度分布を第6表に示した。IBP, isoprothiolane の各散布区から分離された菌株の上記3剤に対して示す菌そう生育阻止率の頻度分布は、BcS散布区および無散布区から分離した菌株のそれと比較して、いずれも菌そう生育阻止率のより低い菌株が残存する傾向を示した。

第6表 各薬剤散布区内から分離された菌株の3剤に対する菌そう生育阻止率の頻度分布（本田）

散布薬剤	供試菌株数	検定薬剤と濃度 (ppm)	菌そう生育阻止率区分に該当する菌株比率 (%)										
			0~10	~20	~30	~40	~50	~60	~70	~80	~90	~100	
IBP	77	IBP 20		10	38	32	14	4					1
		EDDP 5			3		48	31	16			3	
		isoprothiolane 5					26	69	4		1		
isoprothiolane	80	IBP 20	3	15	36	34	6	4	1				
		EDDP 5				4	25	48	33		3		
		isoprothiolane 5				1	23	66	9				
BcS	79	IBP 20		1	3	29	27	3	1			11	27
		EDDP 5					6	20	30	9	25		
		isoprothiolane 5					3	18	41	8	19		
無散布	84	IBP 20			10	17	7	7	1	7	31	19	
		EDDP 5					8	14	17	6	43	12	
		isoprothiolane 5						14	32	4	39	11	

第7表 IBP耐性菌分布程度の異なる2地域から採集された耐性菌の感受性頻度分布

地域	耐性菌株数	菌そう生育阻止率区分に該当する菌株比率 (%)									
		0~10	~20	~30	~40	~50	~60	~70	~80	~90	~100
有明	106		1	4	12	44	34	3	2		
穂高	47				9	36	47	9			

注) IBP 30ppm含有増地使用

耐性菌の高率分布地帯として南安曇郡穂高町有明（耐性菌分布75%）と、中程度分布地帯である同町穂高（同35%）の2地域から1982年9月に採集分離したIBP耐性菌について菌そう生育阻止率の頻度分布を調査した結果、同じ耐性菌の中でも前者から分離したものは後者の

ものに比べてより低い菌そう生育阻止率の菌株の採集される比率が高く、淘汰の進んだ地域では淘汰のあまり進まない地域に比べて耐性度の比較的強い菌株が残存集積していた。この結果はパイプハウスを用いたモデル実験の結果をよく一致していた。

III 考 察

既報¹⁾においてIBP, EDDP, isoprothiolane およびこれらの薬剤と他剤との混合製剤の IBP 耐性菌分布圃場への散布は、IBP 耐性菌の急激な分布率上昇を招き、その結果薬効も減退することを明らかにした。しかし、上記の試験において淘汰圧を有しないと考えられる薬剤の散布区、または無散布区においても耐性菌比率の上昇が認められ、時には上記3剤の連用区と同程度のこともあった。この原因として一般圃場においては薬剤散布区間は相互に隣接し、また周辺圃場から隔離されていないため、区間相互で孢子の飛散が相当あったことが考えられた。このため周辺圃場から隔離された圃場において、相互に離れた畑苗代、または寒冷紗を被覆した水田を用いることにより、区間相互の孢子飛散をほぼ防止できたので、耐性菌の分布変動に及ぼす薬剤の作用について検討を加えた。

本実験結果は、耐性菌の高率分布条件下でIBP, EDDP の有機リン剤と isoprothiolane の3剤の防除効果が認められなかったこと、またいもち病菌集団の感受性変動に及ぼす淘汰作用が相互に類似していることを示した。このことから、Katagiri and Uesugi²⁾の報告にみられる室内淘汰の高度耐性菌で認められた上記3剤間の交差耐性は、圃場分離の菌株についても適用できるようであった。しかし中川³⁾は3剤のいもち病防除効果は、供試する菌株によって必ずしも相関しないことを報告した。さらに多賀^{4,5)}はソコクビエいもち病菌を用いた遺伝子解析において IBP 耐性遺伝子とは異なる isoprothiolane 特有の耐性遺伝子も isoprothiolane の耐性を支配していることを明らかにした。これらのことから、供試する菌株によっては耐性パターン、交差耐性の程度が異なる場合もあることが予想され、今後詳細な検討が必須と考えられた。

In vitro における薬剤感受性は大別して MIC 値と菌そう生育阻止率の2つが用いられることが多い。MIC 値調査の結果(第3, 5表)では、IBP, EDDP, isoprothiolane の IBP 感性菌に対する淘汰圧は強く働くが、耐性菌に対しての作用は弱く、結果として耐性菌比率の急激な上昇を招いている。これに比較し、BcSでは選択淘汰圧がないか、または極めて弱と考えられた。一方、無散布区においては、いずれの試験でも感性菌率の増加と耐性菌率の減少がみられた。無散布区の場合には薬剤散布の影響を受けていないことから、分布変動の原因は菌株固有の生存能力あるいは競合能力の差にあるとみられ、耐性菌は感性菌に比べこの能力が劣勢であると推察された。このことから、淘汰圧が除かれた場合に

は耐性菌分布率の漸減が起こるものと推察された。

さらに、菌そう生育阻止率の頻度分布推移の調査(第4, 6表)の結果から、IBP, isoprothiolane の施用は、感性菌および耐性度の低い弱耐性菌を選択的に淘汰することから、結果的により強い耐性度を有する菌株の集積することが考えられ、この現象は第7表に示す事例からも裏書きされた。このことは、耐性の発達の初期段階では、耐性度の弱い菌株から強いものまで種々混在するが、選択淘汰圧が加わるに従って耐性度の弱い菌株が淘汰され、より強いものが残存することになり、感受性線相が単純化するものと考えられる。しかし、高度に淘汰が進んだ地域から多数の耐性菌を分離しても、そのほとんどすべては MIC60~80ppm 程度の中等度耐性菌であり、培地上で取得される高度耐性株並の耐性度を有した菌株の採集はごく希であることから、耐性の発達は中等度耐性菌の程度の低い段階で抑えられていると考えられ、これ以上のレベルへの発達は容易に起こらないとみられた。この高度耐性菌の圃場出現がほとんどみられない原因については、いまだ充分な解明がなされていないが、耐性菌の圃場出現とその後の疫学を知る上で興味深い問題であり、その解明が望まれよう。

耐性菌防除対策では、高率に分布するに至った耐性菌率をいかに低下させるか、また低率な耐性菌率の上昇をいかに防止するかが重要な課題となる。そのためには各種薬剤の施用が耐性菌の分布変動に与える影響の大きさや特徴について正確に把握しておくことが必要であり、これらの認識の上に立って薬剤使用体系の確立を図ることが肝要と考えられる。今まで述べてきたことは、薬剤と病原菌のかかわりあいのほんの一断面にすぎず、全体を展望するには不十分である。今後、圃場における菌群の薬剤感受性の変動を把握するために、薬剤などの外的要因、または生存能力など内的要因など多面的、総合的なアプローチが必要と考えられる。

IV 摘 要

IBP 耐性菌の分布する畑苗代および本田において各種薬剤散布が耐性菌の分布変動に及ぼす影響について検討した。

1 IBP 耐性菌高率分布条件下での IBP, EDDP, isoprothiolane のいもち病防除効果は減退した。同時にこれら3剤の施用により感性菌の激減と耐性菌の増加が認められた。

2 IBP, EDDP, isoprothiolane を連用すると、より耐性度の強い耐性菌が残存集積し、BcS 連用区や無散布区ではこの現象は認められなかった。

3 無散布区では感性菌の増加と耐性菌の減少が起こ

ったことから、耐性菌は感性菌に比べ生存能力が劣性で選択淘汰圧が除かれた場合には耐性菌は徐々に減少するものと考えられた。

引用文献

- 1) 飯島章彦・寺沢租 (1981) 薬剤耐性イネいもち病菌に関する研究. 第3報 北陸病害虫研報 29:76~80.
- 2) Katagiri, M. and Uesugi, Y. (1977) Similarities between the fungicidal action of isoprothiolane and organophosphorus thiolate fungicides. *Phytopathology* 67:1415~1417.
- 3) 中川俊昭・梅

原吉広 (1981) 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 相互間の交差耐性. 北陸病害虫研報 29:60~63.

4) 多賀正節・和気徹・津田盛也・上山昭則 (1980) いもち病菌の遺伝学的研究 (7) IBP 耐性の遺伝様式 その3. 日植病報 46:40 (講要).

5) 多賀正節・鈴木亮平・津田盛也・上山昭則 (1981) いもち病菌の遺伝学的研究 (9) 薬剤耐性遺伝子の相互関係. 日植病報 47:404 (講要).

(昭和58年8月11日受領)