

薬剤耐性イネいもち病菌に関する研究
第6報 IBP 耐性菌に対する EDDP, isoprothiolane の交さ耐性

飯島章彦

Akihiko IJIMA : Studies on drug-resistant strains of rice blast fungus, *Pyricularia oryzae* Cavara 6. Cross resistant to IBP, EDDP and isoprothiolane

ある薬剤に対して耐性菌が出現し、その密度が増加した場合、他種の薬剤の防除効果も低下するという現象、すなわち交さ耐性現象がしばしば見られている(2,6,7,8)。したがって、耐性菌が出現した場合に使用薬剤間の交さ耐性の有無、程度を明確にしておくことは防除対策を講じる上で極めて重要である。

いもち病菌についての交さ耐性事例は KsM 耐性菌に対する BcS で、また IBP 耐性菌に対する EDDP, isoprothiolane で(2,6,8) 報告されているが交さの関係が明瞭でない事例(5,6,8) の報告もある。

ここでは、IBP 耐性菌に対する EDDP と isoprothiolane の交さ耐性の有無とその程度について、多数の菌株を供試して *in vitro* における感受性値と防除効果の両面から検討を加え、2, 3 の知見を得たので結果を報告する。

試験方法

1 *in vitro* における感受性値の相互関係

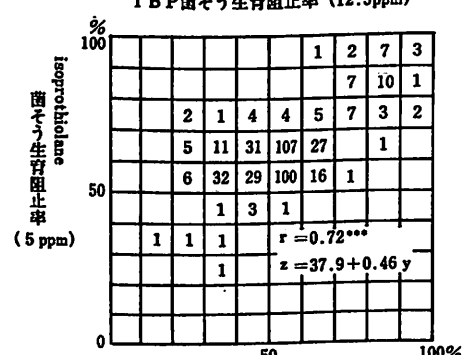
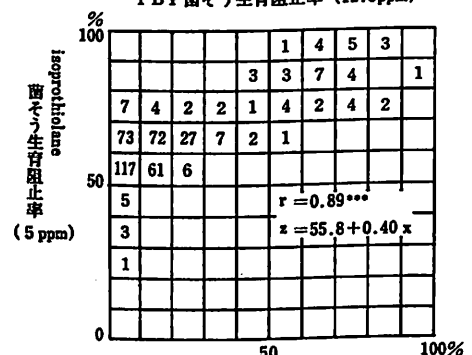
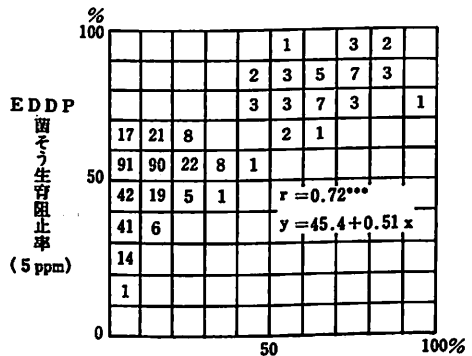
1981年に南安曇郡穂高町から採集した370菌株を用い IBP, EDDP, isoprothiolane による PDA 培地上での菌そう生育阻止率を求め、感受性値の相互関係を調査した。検定は単孢子分離後5日目に行ない、薬剤濃度を IBP では12.5, 25, 50ppm, EDDP と isoprothiolane では5, 10ppm とした。

2 感受性値と防除効果の関係

IBP, EDDP および isoprothiolane に対する感受性を異にする17菌株を用い、鉢試験によって3剤の防除効果を調査した。供試品種として温室内で多窒素条件下で育苗した「はたか」を用い、6~7葉期に各菌株の孢子懸濁液を噴霧接種した。接種1日前(予防的散布)または1日後(治療的散布)に IBP, EDDP, isoprothiolane 乳剤の各1000倍液をコンプレッサーで散布し、各薬剤の防除効果を検討した。1処理3鉢30株を用い、各株の接種時展開第1葉の病斑面積率を調査し防除価を算出した。

3 IBP 耐性菌率と3剤の防除効果減退程度との関係

IBP 感性菌 (MIC 30ppm) と耐性菌 (MIC 60ppm) をそれぞれ7~10株ずつ用い、耐性菌と感性菌の胞子の



第1図 IBP, EDDP, isoprothiolane によるいもち病菌菌そう生育阻止率の相互関係

本報告の一部は昭和57年度日本植物病理学会大会において発表された。
長野県農事試験場 Nagano Agricultural Experiment Station, Ogawara, Suzaka, Nagano 382

第1表 IBP, EDDP, isoprothiolane に対する薬剤感受性を異にする菌株に対する3剤の防除効果

No. 菌株	MIC (ppm) ¹⁾			菌そう生育阻止率 (%) ²⁾			防 除 価					
	IBP	EDDP	isoprothiolane	IBP	EDDP	isoprothiolane	IBP		EDDP		isoprothiolane	
							予防	治療	予防	治療	予防	治療
1 S18-2	20	10	15	67	80	87	91.3	97.1	95.1	68.0	94.6	66.7
2 W7-5	20	15	25	74	81	77	90.3	98.9	91.0	77.7	94.8	65.7
3 S18-4	20	15	20	67	73	83	87.7	93.3	94.8	86.0	96.1	61.0
4 S1-1	20	10	15	84	76	92	81.5	97.2	96.7	78.7	95.2	76.2
5 W5-3	30	15	20	67	82	67	94.3	95.5	96.3	83.4	98.1	55.3
6 S10-1	20	10	15	71	75	82	88.9	97.9	97.8	65.9	96.9	55.2
7 S1-8 ³⁾	40	20	25	8	23	15	-12.5	56.9	87.9	25.1	94.1	40.5
8 W9-7 ³⁾	40	15	25	16	32	16	-8.4	59.0	92.0	-3.0	93.3	29.3
9 5A-22 ³⁾	40	15	35	10	36	16	35.8	43.3	72.2	31.8	94.1	27.7
10 S12-4	50	25	25	23	67	63	-36.0	22.7	84.0	-6.0	93.1	27.9
11 S8-3	60	25	25	8	62	58	-17.0	-1.7	89.7	4.5	92.2	-31.7
12 W1-4	60	30	30	13	60	60	16.5	25.0	79.7	-6.6	91.3	11.6
13 W3-1	60	30	30	14	69	62	-5.0	44.7	81.1	9.2	60.8	-6.3
14 E5-9	70	20	30	21	60	52	16.1	52.0	89.3	14.6	84.3	14.0
15 有2-12	90	30	25	13	57	57	10.9	35.8	89.8	46.0	90.6	43.7
16 S2-4	90	30	25	13	56	69	5.2	8.7	82.1	18.2	92.0	6.2
17 H13-4 ⁴⁾	100<	40<	80<	11	7	7	-50.0	7.7	-10.8	-10.3	12.3	-42.0

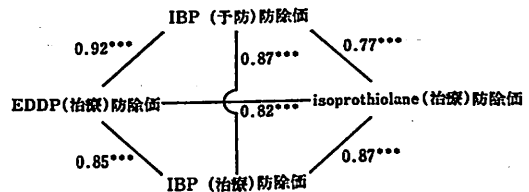
- MIC値を求めた検定濃度シリーズは次のとおり。
IBP 10~100ppmで10ppm区切りのシリーズ
EDDP isoprothiolane 5~40ppmで5ppm区切りのシリーズ
- 菌そう生育阻止率を求めた検定濃度は次のとおり。
IBP 12.5ppm, EDDP, isoprothiolane は5ppmで5日間培養。
- S1-8, W9-7, 5A-22はEDDP, isoprothiolane の菌そう生育阻止率が特に低いことから選択した菌株。
- H13-4 はは場分離の高度耐性菌で、代謝メカニズムは *in vitro* の人工耐性菌と同じとみられる菌株。

混合比率を1983年には5段階、1984年には6段階とし、ガラス室で多室葉条件下で育苗した「信濃細3号」の5(1984)~7.5(1983)葉期苗に噴霧接種した。薬剤散布は接種直前(予防的散布)と接種1日後(治療的散布)に行い各薬剤の1000倍液をコンプレッサーで散布した。1処理4鉢40株を用い、各株の接種時展開第1葉の病斑面積率(1983)または株あたり病斑数(1984)を調査し防除価を求めた。なお、1983年には発現病斑中の耐性菌由来病斑の比率を調査した。

結 果

供試いもち病菌370株に対する IBP, EDDP, isoprothiolane の菌そう生育阻止率の相互関係を第1図に示した。IBPの生育阻止率(x)とEDDPの生育阻止率(y)との間には $r=0.72^{***}$, $y=45.4+0.51x$ の関係が、IBPとisoprothiolane(z)の間には $r=0.89^{***}$, $z=55.8+0.40x$ の関係が、また、EDDPとisoprothiolaneの間には $r=0.72^{***}$, $z=37.9+0.46y$ の関係が認められ、これら3薬剤に対する耐性は相互に密接に係わっているものと考えられた。

次に、幼苗検定による防除効果試験の結果を第1表に示した。IBP感性菌(No.1~6)に対してはいずれの薬剤も、予防、治療的散布で高い防除効果を示したが、耐性菌(No.7~16)に対して効果が減退した。すなわち



第2図 各薬剤の防除効果間の相互関係(r)

IBPでは両散布とも効果が低下し、EDDPとisoprothiolaneでは治療的散布で著しく効果が低下したが、予防的散布では明らかな効力低下は認められなかった。なお、H13-4(No.17)のように高度に耐性化した菌株に対しては、いずれの散布でも防除効果は認められなかった。各薬剤の防除効果間の相互関係をみると第2図のように、効果減退を示した効果間に高い正の相関関係が認められた。

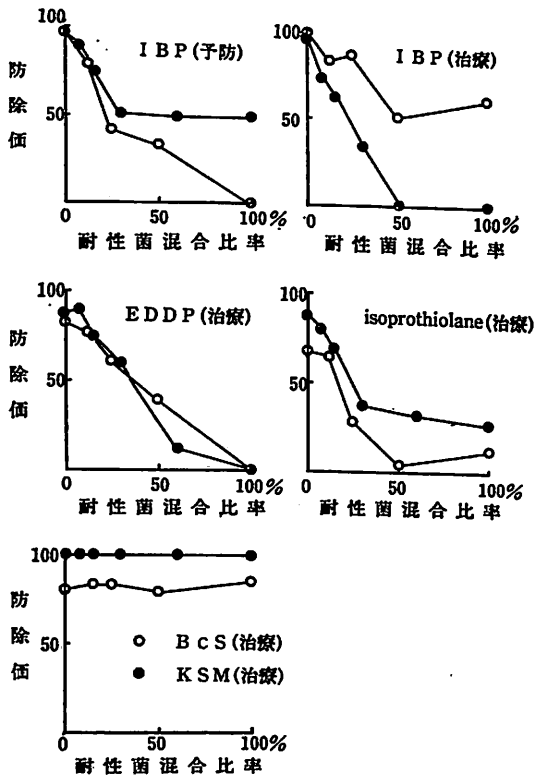
さらに、供試菌株の示す感受性値(MIC値または菌そう生育阻止率)と防除効果との関係を第2表に示した。まず、MIC値と防除効果との関係をみるといずれの組み合わせでも負の相関関係が認められ、特に効果減退を起こしたIBPの予防、治療散布、EDDP, isoprothiolaneの治療散布との間には高い相関値が得られた。しかし、菌そう生育阻止率との関係では、EDDP, およびisoprothiolaneの菌そう生育阻止率と供試薬剤の防除

第2表 薬剤感受性値と防除価との相関係数 (r)

(n=16)

感受性値	防除価		EDDP		isoprothiolane	
	予防	治療	予防	治療	予防	治療
IBP MIC 値	-0.70**	-0.83***	-0.51*	-0.63**	-0.40	-0.69**
EDDP "	-0.73**	-0.84***	-0.59*	-0.67**	-0.52*	-0.73**
isoprothiolane "	-0.68**	-0.68**	-0.81***	-0.72**	-0.52*	-0.69**
IBP 菌そう生育阻止率	0.91***	0.89***	0.73**	0.88***	0.39	0.81***
EDDP "	0.64**	0.46	0.49	0.57*	0.00	0.34
isoprothiolane "	0.60*	0.41	0.52*	0.57*	0.07	0.37

菌そう生育阻止率検定濃度 IBP 12.5ppm, EDDP, isoprothiolane は5 ppmの値を用いた。H13-4 は除いた。



第3図 IBP 耐性菌の孢子混合接種において耐性菌孢子比率を異にした場合の各薬剤の防除効果減退程度
○ : 1983, ● : 1984

第3表 各薬剤散布区の残存病斑の耐性菌率

混合噴霧接種時の耐性菌孢子割合 (設定値)	耐性菌分離率 () 内は検定菌株数				
	無散布	IBP (予)	IBP (治)	EDDP (治)	BcS (治)
%	%	%	%	%	%
0	0 (43)	0 (38)	0 (26)	0 (29)	0 (28)
12.5	33.3(42)	100 (42)	90.5(42)	70.0(40)	26.2(42)
25	56.4(39)	100 (44)	100 (43)	97.4(39)	53.3(45)
50	73.2(41)	100 (40)	93.9(33)	100 (41)	78.6(28)
100	100 (42)	100 (42)	100 (43)	100 (40)	100 (40)

予: 予防的散布, 治: 治療的散布

効果との間の相関値は低い場合が多かった。

IBP 耐性菌の混在率と防除効果の減退程度との関係を調査した結果を第3図に示した。KsM, BcS の散布では防除効果の減退は認められなかったが, IBP, EDDP, isoprothiolane 散布では耐性菌の混在率が高くなるほど防除効果は減退した。2ヶ年の結果に大きな差異を生じた場合もみられたが, 耐性菌率が20~30%を越えると防除効果の減退が明瞭となるようであった。また, 第3表に示すように, BcS 散布区を除いては, 発現した病斑の耐性菌率は無散布区に比べて著しく高く, 強い選択淘汰圧が働いたものと考えられた。

考 察

IBP 耐性菌は, 感受性程度から強耐性菌と中等度耐性菌の2つに大別されており⁴⁾, このそれぞれについて EDDP, isoprothiolane との交差耐性の有無が論じられている。強耐性菌については3剤に明瞭な交差耐性の認められることが多い^{2,8)}が, 認められない場合も少数例ではあるが観察されている⁹⁾。一方, 中等度耐性菌においても交差するという報告³⁾と菌株によっては交差耐性が明瞭でない事例⁶⁾, さらには交さしないとする報告⁵⁾もある。以上のように3剤間の交差耐性に関しては不明瞭な点が多いが, 交さしないという事例の多くはIBP, EDDP の有機リン剤耐性と isoprothiolane 耐性との関係を扱ったものである。

実際圃場に出現し, 防除上問題となっている耐性菌は中等度耐性菌であり, 上記のようにこの菌に対する交差耐性については不明瞭な点が多いことから, 本実験では圃場分離の中等度耐性菌の3剤における交差耐性について明らかにしようとした。

試験の結果, *in vitro* において菌株の示す薬剤感受性は3剤間相互に高い正の相関がみられたこと(第1図), IBP 耐性菌に対してIBPはもちろんのこと EDDP, isoprothiolane でも防除効果の減退を示したこと(第1表), および防除効果の減退を示した薬剤処理の防除価間には相互に高い正の相関関係が認められたこと(第

2表)等から圃場分離の中等度耐性菌にも交差耐性の存在が認められた。ただし、第1表からもわかるとおり、EDDP, isoprothiolane が予防的に散布された場合には明瞭な効果減退を示さなかったことから、3剤間の交差耐性は不完全な交差耐性と判断され、この現象は抗生物質剤の KsM と BcS 間の交差耐性⁷⁾に類似しているものであった。

本試験の防除効果試験に用いた中等度耐性菌10菌株はすべて3剤交差耐性と判断されたが、中川ら⁶⁾は IBP, EDDP の有機リン剤と isoprothiolane の間の交差耐性を認め難い耐性菌株の存在を報告している。本試験においても第1図に示したなかで、isoprothiolane と IBP または EDDP の間の感受性相関をみると、一方の感受性値は同じであっても、他方の感受性値は大きく異なる場合が少例ではあるがみられている。また室内取得の耐性変異株のなかには3剤間、特に isoprothiolane と IBP, EDDP 間に交差耐性の成立しないとみられる事例^{1,8)}のあることなどを考え合わせると、圃場分離の中等度耐性菌の中にも交差耐性の成立しない菌株が存在する可能性が考えられる。

以上述べてきたように、本実験の結果から本県で分離された IBP 耐性菌は EDDP, isoprothiolane にも交差耐性を示す菌株が大部分であると判断され、耐性菌対策上から供試3薬剤は同一グループの薬剤とみなすことが妥当と考えられる。また第2表のとおり3剤の防除効果減退は IBP の感受性値と相関が高いことから、モニタリングに際しては多くの場合 IBP を使用することで代表できると考えられ、IBP 耐性菌混在率が20~30%を超えると IBP の予防、治療の効果が、EDDP, isoprothiolane では治療の効果の減退が明瞭になると予想される(第3図)。また、3剤のいずれの施用によっても耐性率は増大する(第3表)ことから、これらの諸点を十分考慮に入れた上で耐性菌対策技術を確立する必要があると思われる。

摘 要

圃場分離の多数の IBP 中等度耐性菌株を用い、*in vitro* および *in vivo* で IBP, EDDP, isoprothiolane 間の交差耐性の有無、程度について検討した。

1 3剤に対する感受性値間には相互に高い正の相関関係が認められ、密接に係っていることが示唆された。

2 IBP 耐性菌および感性菌に対する3剤の防除効果を検討したところ、感性菌に対してはいずれの薬剤も高い防除効果を示したが、耐性菌に対しては IBP 散布の場合予防的および治療的散布で、EDDP, isoprothiolane では治療的散布のみで明瞭な効果の減退が起った。

3 効果減退を起こした薬剤処理の防除価間には相互に高い正の相関関係が認められた。

4 IBP 耐性菌混在率が20~30%を超えると上記3剤の効果減退が明瞭となった。

5 以上のことから、本県においては実用上3剤に対する交差耐性菌が存在しているものと判断された。

引用文献

- 1) 飯島章彦(1985) 薬剤耐性イネいもち病菌に関する研究 第7報 培地上における IBP, EDDP, isoprothiolane に耐性を示す変異菌の取得と変異菌の3剤に対する感受性. 北陸病虫研報 33:投稿中.
- 2) Katagiri, M. and Uesugi, Y. (1977) Similarities between the fungicidal action of isoprothiolane and organophosphorus thiolate fungicides. *Phytopathology* 67:1415-1417.
- 3) 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. 日植病報 44:401.
- 4) Katagiri, M., Uesugi, Y. and Umehara, Y. (1980) Development of resistance to organophosphorus fungicides in *Pyricularia oryzae* in the field. *J. Pesticide Sci.* 5:417-421.
- 5) Miyagi, Y., Hirooka, T. and Araki, F. (1983) An approach for grouping field isolates of *Pyricularia oryzae* Cav. on the basis of their sensitivity to fungicides. *J. Pesticide Sci.* 8:81-86.
- 6) 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. 北陸病虫研報 29:60-63.
- 7) Sakurai, H. and Naito, H. (1976) A cross resistance of *Pyricularia oryzae* Cavara to Kasugamycin and Blastidicin S. *J. Antibiotics* 29:1341-1342.
- 8) 多賀正節(1981) 薬剤耐性いもち病菌の遺伝学的研究 農薬生物學報 1:1-75. (1985年9月7日受領)