

薬剤耐性イネいもち病菌に関する研究
第8報 室内取得のIBP耐性変異菌の圃場における動態

飯 島 章 彦

Akihiko IJIMA : Studies on drug-resistant strains of rice blast fungus, *Pyricularia oryzae* Cavara 8. Population dynamics of IBP-resistant mutants obtained on agar media containing IBP in paddy field

いもち病菌の菌糸を寒天平板培地でIBPと接触させることにより、容易に耐性株を取得できる²⁾。このようにして分離される変異株の耐性度にはかなりの変動幅が認められるが、大別すると圃場に分布する一般的な耐性菌と同等の耐性度を有するもの（以下中等度耐性菌と呼ぶ）と、圃場での分布が稀な強度の耐性を示すもの（強耐性菌と呼ぶ）に分けられる。室内で取得されるこれらの耐性菌が生活の場である植物体の上でどのような生存適性を示すかは、耐性菌の圃場での出現と、その後の増加過程を知る上で重要であると思われる。

筆者は、1982、83年の両年に室内取得の耐性変異株を水田に栽培したイネに接種し、種々の薬剤を散布して稲作期間における耐性菌の密度変動を調査し、これら耐性変異株の生存適性について若干の知見を得たので結果を報告する。

試 験 方 法

1 試験圃場の耕種概要

須坂市小河原の農事試験場水田を使用した。水田内に長さ5m、幅3m、高さ2mの簡易パイプハウスを組み立て、この中に5月下旬に「信濃稲3号」（1982年）、「フクホナミ」（1983年）を移植して多肥栽培した。発病を促すため、両年とも6月下旬から成熟期まで、ハウスに寒給紗（クレモナ No.314）を被覆した。試験は1区につき1ハウスとした。

2 供試菌株

IBP25~50ppm含有PSA培地上で、感性菌の含菌ディスクからセクター状に生育してきた菌さの先端部をかき取って耐性菌の分離を行った。分離菌は耐性検定を行い耐性程度から中等度耐性菌と強耐性菌に分別した。供試した中等度耐性菌のMICは60~80ppm、強耐性菌は120ppm以上である。

1982年には、感性菌8株とこれを母株として室内取得した強耐性菌8株を、また1983年には感性菌10株とこれ

から取得した中等度耐性菌17株、強耐性菌17株を用いた。

3 圃場への菌接種

ガラス室で育苗した「信濃稲3号」の幼苗に、上記の供試感性、耐性両菌株の分生胞子を混合して噴霧接種し、発病を確認後、1982年には7月2日、1983年には6月30日に、パイプハウス内の畦間10ヶ所にこの接種苗を混植した。

4 薬剤散布

散布薬剤と施用方法は第1表、第2表のとおりである。

5 耐性菌の分布密度推移調査

1982年には、7月2日に葉いもち病斑（混植用の幼苗に発病した病斑・以下初発病斑とする）を、9月7日に穂いもち病斑を多数採集し、単孢子分離後、IBP40ppm含有PSA培地上での菌糸生育の有無、発育程度から耐性を判定した。検定した菌株数は1区73~78株であった。

1983年には、6月30日（幼苗上の病斑・初発病斑とする）と薬剤2回散布後の7月18日に葉いもち病斑を、さらに9月2日に穂いもち罹病穂を採集し、単孢子分離後、IBP30、60ppm含有PSA培地で耐性検定を行い、耐性菌の分離率から分布密度変動を調査した。

結 果

1 1982年

罹病苗混植後、葉いもちの蔓延が急速に進み、激発様相を示した。このため7月16日にトリシクラゾールゾル液をすべてのハウス内に均一に散布した。その後、一時

第1表 薬剤散布状況（1982）

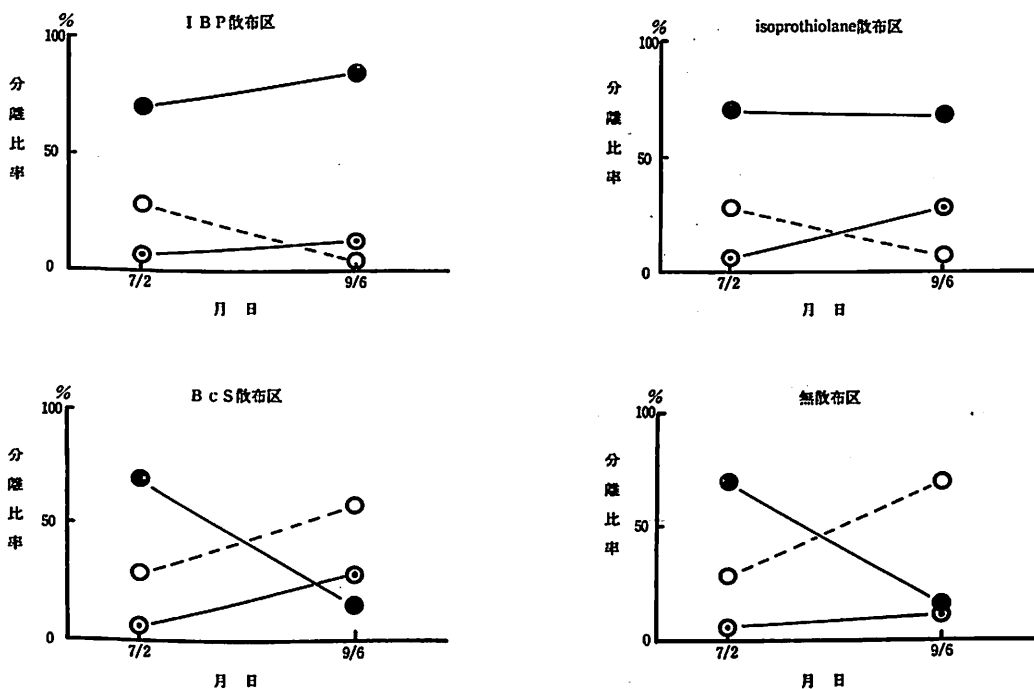
| 散布薬剤 | 散 布 月 日 | | | | | | |
|----------------|---------|---|----|----|----|----|--------|
| | 7/2 | 3 | 13 | 16 | 17 | 20 | 8/7 16 |
| IBP | ● | | ○ | △ | ● | ○ | |
| isoprothiolane | ● | | ○ | △ | ● | ○ | |
| B c S | | ○ | ○ | △ | | ○ | ○ |
| 無散布 | | | | △ | | | |

●：粒剤6kg/10a, ○：乳剤1000倍液 150l/10a, △：トリシクラゾールゾル1000倍液 150l/10a。出観期8月13日

第2表 薬剤散布状況 (1983)

| 薬剤使用方法 | 散布月日 | | | | | |
|--------------------------------|------|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 7/7 | 13 | 18 | 25 | 8/2 | 9 |
| I IBP (×1000) 逆用 | IBP | " | " | " | " | " |
| II IBP (×2000)・KsM (×2000) 混用 | 混用 | " | " | " | " | " |
| III IBP (×1000)・KsM (×1000) 混用 | 混用 | " | " | " | " | " |
| IV IBP (×1000)とKsM (×1000) 輪用 | IBP | KsM | IBP | KsM | IBP | KsM |
| V KsM (×1000) 逆用 | KsM | " | " | " | " | " |

IBP乳剤, KsM液剤使用, 150l/10a散布。 出穂期 8月5日。



第1図 各薬剤散布区内における感性菌と耐性変異菌の分離比率推移 (1982)

○：感性菌, ●：中等度耐性菌, ●：強耐性菌

病勢の衰えはみえたが、穂いもちの発生は激甚であった。

初発病斑では感性菌27%、強耐性菌69%の他に、一般圃場で採集される耐性菌と同等の耐性を有する中等度耐性菌が4%分離された。接種に用いた菌以外の中等度耐性菌が分離された原因としては、本試験では培地上に旺盛に生育してきた変異菌を菌糸塊として釣菌したため、耐性の異なる菌糸が一部に混入していたことによるものであろうと考えられた。

初発病斑と穂いもち罹病穂における耐性菌の分離頻度を比較すると、第1図のようにIBP, isoprothiolane散布区では感性菌は減少し、中等度および強耐性菌が増加した。耐性菌の増加内容をみると、IBP区では強耐性菌、中等度耐性菌のいずれもが増加したが isoprothiolane 区では強耐性菌はほぼ横ばいで中等度耐性菌の

第3表 異なる薬剤体系散布区内における耐性菌の分布密度の推移 (1983)

| 採集月日 | 薬剤の使用方法 | 検定菌数 | 該当菌株比率 | | |
|-----------|----------------------|------|--------|-----|-----|
| | | | S | Rm | HRm |
| 6月30日 (葉) | 薬剤使用前 | 89 | 45% | 24% | 31% |
| 7月18日 (葉) | I. IBP逆用 | 50 | 14 | 42 | 44 |
| | II. IBP・KsM混用(×2000) | 39 | 44 | 31 | 25 |
| | III. " (×1000) | 34 | 21 | 29 | 50 |
| | IV. " 輪用 | 50 | 12 | 48 | 40 |
| | V. KsM逆用 | 37 | 49 | 27 | 24 |
| 9月2日 (穂) | I. IBP逆用 | 71 | 21 | 56 | 23 |
| | II. IBP・KsM混用(×2000) | 62 | 40 | 53 | 7 |
| | III. " (×1000) | 7 | 14 | 72 | 14 |
| | IV. " 輪用 | 74 | 5 | 72 | 23 |
| | V. KsM逆用 | 77 | 67 | 29 | 4 |

S: 感性菌, Rm: 室内変異耐性菌 (中等度), HRm: 室内変異耐性菌 (強)

増加が目立った。一方、BcS 散布、無散布区では感性菌の増加が顕著で強耐性菌は激減し、前2者とは全く異なる分離比率の推移を示した。中等度耐性菌も増加傾向を示したが、感性菌の増加程度に比較すれば、その程度は小さかった。

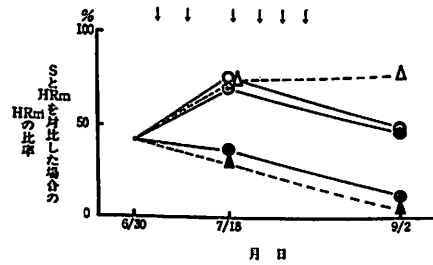
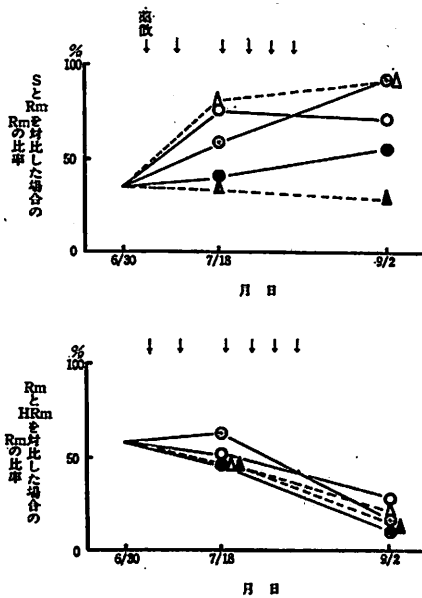
2 1983年

罹病苗混植後の葉いもち進展は急であったが、梅雨あけ後は連日の好天によって病勢は衰退し、穂いもちの発生は中程度であった。

初発病斑からは、感性菌45%、中等度耐性菌24%、強耐性菌31%が分離された。この結果と薬剤6回散布後の穂いもちからの分離率とを比較すると第3表に示すように、I (IBP連用)、III (IBP・KsM 各1000倍液混用)、IV (IBPとKsMの輪用)では中等度耐性菌の増加と感性菌および強耐性菌の減少が起り、II (IBP・KsM 各2000倍液混用)では中等度耐性菌の増加と強耐

性菌の大幅な減少がみられた。KsMの連用(V)では、感性菌の顕著な増加とそれに伴う強耐性菌の激減がみられ、中等度耐性菌はほぼ横ばいの推移を示した。

本試験では、感性菌、中等度耐性菌、強耐性菌の3者の生存適性を同一の試験区内で同時に調査した。そこで3者のうちの2者ずつを対比させてその分布密度の比較を行ったものが第2図である。感性菌と中等度耐性菌を比較すると、V以外の区では、IBPの淘汰圧が加わったことにより、中等度耐性菌率の上昇が認められた。その程度は、I、III、IV区で大きく、II区で小さかった。次に、感性菌と強耐性菌を比較すると、V、II区で強耐性菌の分布比率が急激に減少したことが特徴的であった。IBPの淘汰圧が強く働くと考えられるI、III区でも、最終的な耐性菌率はそれほど高くなかった。IVの輪用区での耐性菌率は終始高く経過した。また中等度と強耐性菌の組み合わせでは、薬剤散布の方法にかかわらず、



第2図 感性菌(S)、室内耐性変異菌(中年度・Rm)、室内耐性変異菌(強・HRm)のうち2つを対比させた場合の感性菌と耐性変異菌の分布密度比率の推移(1983)

○: I IBP連用, ●: II IBP・KsM混用(×2000), ◎: III IBP・KsM混用(×1000), △: IV IBP・KsM輪用, ▲: V KsM連用

いずれも強耐性菌の密度が大幅に減少した。

考 察

両年の結果から、室内において取得した耐性変異菌の圃場における生存適性について次のように整理される。

まず、中等度耐性菌は薬剤の散布がない場合や KsM BcS 剤のように淘汰圧が認められない薬剤の散布下では、感性菌に比較してその分布密度を減少させるようである。この結果から中等度耐性菌は感性菌に比べ生存適性が劣るものといえる。この中等度耐性菌も、IBP、isoprothiolane 等の淘汰圧の強い薬剤が散布されるこ

とにより、速やかに分布密度の増大を起こす。

強耐性菌についてみると、薬剤淘汰圧のない場合には急速にその分布密度を減少させることから、生存適性は感性菌や中等度耐性菌に比べ著しく劣るものと考えられる。また、IBPや isoprothiolane のような淘汰圧の強い薬剤を過度に連用して耐性菌の増殖に好適な条件としても容易には分布密度の大幅な増大は起こりにくく、漸増傾向を示すとどまるのではないかと推測される。さらにIBP常用濃度の半分の濃度で連用した区(II・IBP, KsM 各2000倍液混用)の結果からもわかるように、淘汰圧がやや弱いと、強耐性菌の分布密度の減少が

起こり、このことから本菌の生存適性が極めて低いことが明らかである。

以上のことを簡単にまとめると次のように整理できると考えられる。

i) 薬剤による淘汰圧が働かない条件下

$$S \geq R_m > HR_m$$

ii) 薬剤により弱い淘汰圧が働いている条件下

$$R_m > S > HR_m$$

iii) 薬剤により強い淘汰圧が働いている条件下

$$R_m > HR_m \geq S$$

ただし、S：感性菌、R_m：中等度耐性菌
(室内取得) HR_m：強耐性菌(室内取得)
(不等号は生存適性の優劣の関係を示す)

ここでは圃場から分離される中等度耐性菌についてはふれていないが、圃場分離菌を使用して1983年に同一の設計に基づいて行なった試験の結果(未発表)から、室内取得の中等度耐性菌と圃場由来の中等度耐性菌はほぼ同様な分布推移を示したことから、両者の生存適性はほぼ同等と考えられた。よって、上記のR_mはR_f(圃場分離の中等度耐性菌)に置き換えても差し支えないものと考えられる。

片桐ら³⁾は、*in vitro*でのIBP強耐性菌出現頻度を、IBP含有培地中に混和した分生胞子から生育する耐性株の出現頻度から、 3.4×10^{-6} (菌株北373の場合)と推測し、出現は偶発的突然変異によるものであるとしている。このように、偶発的突然変異によって出現した強耐性菌はイネ体上でIBPまたは、交差耐性のあるEDDP、isoprothiolaneの連用によってその密度を増大させるものと想定される。事実、中等度耐性菌は各地で増加し、防除上の問題となっている。しかし、強耐性菌の圃場における採集例は稀で、中等度耐性菌が高率に分離される地帯からもほとんど分離されず、筆者の知る限り、全国でも数菌株の分離例があるに過ぎない。強耐性菌がこのようにほとんど顕在化しない原因は、本試験の結果からみて、生存適性が感性菌や中等度耐性菌に比較して極めて劣っており、イネ体上で出現しても、短期間に消滅することに起因するのではないかと考えられる。

一方、現実の問題となっている中等度耐性菌の生存適性は、感性菌に比較してやや劣るものと考えられた。また、筆者¹⁾は感性菌と圃場分離の中等度耐性菌、室内取得の中等度耐性菌、同強耐性菌との各組み合わせで、ガラス室内において混合継代接種を6回繰り返したところ、いずれの組み合わせでも耐性菌は感性菌に比べ密度の大幅な減少を起こすことを認めた。以上の結果から、薬剤

淘汰圧のない条件下では、耐性菌密度は漸次減少するものとみられる。当該農業使用中止後のIBP耐性菌分布率の変動についての報告はみられないが、今後、耐性菌が高率に分布するに至った地帯での当該薬剤再使用の可否、その時期を知る上で、耐性菌分布密度の推移を明らかにすることは重要な課題と考えられ、現地における注意深い観察が必要と思われる。

摘 要

室内において取得したIBP耐性変異菌の圃場における分布動態を調査した。

1 耐性程度の強い強耐性菌は淘汰圧の強い薬剤を過度に連続散布しない限り、急速にその分離率が低下し、感性菌や中等度耐性菌に比較して生存適性が著しく劣るものと判断された。

2 圃場から分離される耐性菌と同等の耐性度を有する中等度耐性菌は、淘汰圧の強い薬剤を散布することによって強耐性菌よりも顕著に分離率が上昇した。薬剤淘汰圧のない場合には感性菌に比較してやや生存適性が劣るものと考えられた。

3 3者の生存適性を比較すると、次のようになると考えられた。

i) 薬剤による淘汰圧が働かない条件下

$$S \geq R_m > HR_m$$

ii) 薬剤により弱い淘汰圧が働いている条件下

$$R_m > S > HR_m$$

iii) 薬剤により強い淘汰圧が働いている条件下

$$R_m > HR_m \geq S$$

ただし、S：感性菌、R_m：中等度耐性菌
(室内取得)、HR_m：強耐性菌(室内取得)
(不等号は生存適性の優劣の関係を示す)

引用文献

- 1) 飯島章彦(1985) 薬剤耐性もち病菌に関する研究 第5報 IBP耐性菌と感性菌の混合継代接種における耐性菌分離率の変化。関東病虫研報 32：印刷中。
- 2) 飯島章彦(1985) 薬剤耐性もち病菌に関する研究 第7報 IBP, EDDP, isoprothiolane に耐性を示す変異菌の培地上における取得とその薬剤感受性。北陸病虫研報 33：投稿中。
- 3) Katagiri, M. and Uesugi Y. (1978) *In vitro* Selection of Mutants of *Pycularia oryzae* Resistant to Fungicides. Ann. Phytopath. Soc. Japan 44：218~219.

(1985年8月30日受領)