

富山県におけるベノミル耐性イネばか苗病菌の分布と薬剤感受性

梅原吉広・松沢克彦・作井英人*

Yoshihiro UMEHARA, Katsuhiko MATSUZAWA and Hidehito SAKUI*: Distribution of benomyl-resistant "Bakanae" disease fungus, *Gibberella fujikuroi*, in Toyama Prefecture and its susceptibility to several fungicides

富山県におけるイネばか苗病の発生はここ数年局部多発事例が認められ⁸⁾, その発生要因として, 第1に種子消毒法の馴れからくる基本技術の不徹底, 第2に消毒時の低温による薬剤の効力低下, 第3に前年登熟期の高温による保菌率の増加, 第4にベノミル耐性菌の出現が考えられる¹¹⁾。特に近年全国的にベノミル耐性菌の出現が問題となっていることから^{1,4,6,7)}, 県内各地のイネばか苗病罹病苗から菌を分離し, ベノミルに対する耐性菌の有無を調べ, 分布の地域性, 種子消毒の方法, 品種, 種子の来歴などと発生実態との関係を検討し, 同時に, ベノミル耐性菌の各種薬剤に対する感受性について調査したので報告する。

なお, 本調査の実施にあたり, イネばか苗病罹病苗の採取および発生実態のアンケートに御協力を頂いた県内農業改良普及所の各位に深く謝意を表する。

調査方法

供試菌株, 1984年は県内7地点の育苗箱内に発生した徒長苗の茎基部および一部成稲発病茎より, 駒田培地¹⁰⁾を用い, 常法により単菌糸分離し, 60菌株を得た。1985年は県内105地点から, 罹病標本の送付を受け, このうち, 80地点の標本から, 各1菌株, 計80菌株を分離し, 用いた。分離後, PSA斜面培地で培養し, さらに, 検定約1か月前に, 同培地を用い, 前培養し, 検定菌株の生育程度をそろえた。

発生実態の調査, 1985年に, 罹病苗採取時に, 品種, 種子消毒方法, 種子の来歴などについてアンケート調査をし, それぞれについて集計した。

ベノミルに対する耐性検定, 1984~85年の2か年, 楽天平板希釈法⁵⁾により, 分離菌株の菌糸の最少生育阻止濃度(以下MIC値と記す)を求めた。検定培地はPSA培地を用い, ベノミル(成分濃度50%)濃度は2倍段階希釈法により, 12.5, 25, 50, 100, 200, 400, 800, および1,600 $\mu\text{g/ml}$ とした。培養条件は培地上に菌そう

(2 mm³)を置床後, 27°C, 4日間培養し, 判定は菌そうの発育有無によった。これよりMIC値を求めた。なお, 後述の第1図の結果などより, MIC値25 $\mu\text{g/ml}$ 以下を感性菌, MIC値50 $\mu\text{g/ml}$ 以上を耐性菌とし, さらに, MIC値50~400 $\mu\text{g/ml}$ を中等度耐性菌, MIC値800 $\mu\text{g/ml}$ 以上を高度耐性菌に類別した。

各種薬剤のMIC値, 1985年に供試した80菌株のうち, 感性菌10菌株, 耐性菌15菌株の計25菌株について, ベノミル, チウラム・ベノミル, チオファネートメチル(成分濃度70%), チウラム・チオファネートメチル(成分濃度30%, 50%), キャプタン・チアベンダゾール(成分濃度20%, 20%)の5薬剤を用い, 前述した方法でMIC値を求めた。なお, 混合剤はそれぞれ, ベノミル, チオファネートメチルおよびチアベンダゾールを基準に調整した。

各種薬剤の菌そう生育阻止率, 各種薬剤のMIC値調査に供試した25菌株について, PSA平板培地で25°C, 7日間前培養した菌そう周辺部を直径4 mmのコルクボーラで打ち抜き, ディスクの菌そう面が, 各種薬剤を10 $\mu\text{g/ml}$ で調整したPSA平板培地に接触するように置床後, 27°C, 4日間培養後の菌そう直径を縦横2ヶ所測定し, 3反復の平均値より, 菌そう生育阻止率を求めた。菌そう生育阻止率の算出は下記の式によった。

$$\text{菌そう生育阻止率}(\%) = \frac{a-b}{a} \times 100$$

a: 薬剤無添加培地上の菌そう直径

b: 薬剤添加培地上の菌そう直径

供試薬剤は, ベノミル, チウラム・ベノミル, チオファネートメチル, チウラム・チオファネートメチル, チアベンダゾール(成分濃度10%), キャプタン・チアベンダゾール, チウラム(成分濃度80%), および, キャプタン(成分濃度80%)の8薬剤を用いた。

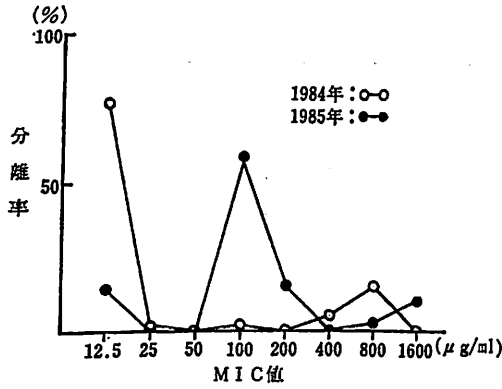
調査結果

ベノミル耐性菌の発生実態, 1984~85年の2か年における分離菌株に対するベノミルのMIC値の頻度分布を第1図に示した。

1984年の調査では感性菌が78.3%, 残り21.7%が耐性菌であった。1985年の調査では感性菌が14.0%, 残り

富山県農業技術センター Toyama Agricultural Research Center, Yoshioka, Toyama 939

*富山県農業試験場 現在 富山県農業水産部 Present address: Division of Agriculture, Toyama Prefectural Government, Toyama 930



第1図 分離菌株のペノミルに対するMIC値頻度分布

86.0%が耐性菌であった。頻度分布の型は、単年度の結果では判然としなかったが、2か年の結果から、12.5 µg/ml, 100 µg/ml および 800 µg/ml をピークとする3峰が認められた。

1985年分離菌株のペノミル感受性と発生地域、品種、種子消毒方法、種子の来歴との関係をまとめ、第1表に

第1表 各種条件とペノミル感受性との関係

調査項目	調査菌株数	感菌率	耐性菌率			
			中等度	高度		
地域	下新川	7	0	100	0	
	中上新川	8	12.5	75.0	12.5	
	富山	10	0	80.0	20.0	
	母負	18	11.1	77.7	11.1	
	射水	4	0	75.0	25.0	
	水見	6	16.7	83.3	0	
	高岡	9	0	77.7	22.2	
	北砺	5	20.0	80.0	0	
	北砺	3	0	100	0	
	北砺	2	50.0	50.0	0	
	種子消毒法	ベノミル水和剤	3	0	33.3	66.7
		粉衣	12	8.3	91.7	0
葉		15	6.7	80.0	13.3	
浸漬		54	14.8	75.9	9.3	
ベノミル・チウラム水和剤		3	0	66.7	33.3	
粉衣		57	14.0	75.4	10.5	
来歴	購自	34	8.8	73.5	17.6	
	入家	23	13.0	78.3	8.7	
品種	越路早生	6	16.6	83.4	0	
	とやまにしき	14	14.3	78.6	7.1	
	はつかおり	16	0	100	0	
	かぐらもち	4	0	75.0	25.0	
	コシヒカリ	11	0	81.8	18.2	
	日本晴	3	0	33.3	66.7	
その他	25	32.0	60.0	8.0		

示した。なお、検定菌株のうち、アンケート調査の内容が不明りょうの菌株は取りまとめから除外した。その結果、発生地域では、下新川、富山、射水、高岡、北砺で

耐性菌の分離率が100%であった。また、種子消毒方法別では、ペノミル水和剤の浸漬およびチウラム・ペノミル水和剤の粉衣消毒がいずれも耐性菌の分離率が100%、また、品種では、はつかおり、かぐらもち、コシヒカリおよび日本晴で、100%の分離率を示した。しかし、地域、消毒方法および品種のいずれも、個々の要因に対する調査菌株数が少ない事例も含まれ、判然とした結果が得られなかった。さらに、種子の来歴別の耐性菌分離率は、購入種子、自家採種の間に明らかな差がなかった。

MIC 値による薬剤感受性、分離株に対する各種薬剤のMIC 値の頻度分布を第2表に示した。ペノミル感性

第2表 各種薬剤のMIC 値と感受性頻度分布

供試菌の性状	検定薬剤とMIC 値(µg/ml)					該当菌株数
	チウラム・ペノミル	チオファネートメチル	チウラム・チオファネートメチル	キャプタン・チアベンダゾール	チアベンダゾール	
ペノミル感性菌	<12.5	<12.5	<12.5	<12.5	<12.5	8
	<12.5	<12.5	25	<12.5	<12.5	1
	<12.5	<12.5	25	<12.5	200	1
ペノミル耐性菌	>1600	1600	>1600	>1600	200	6
	>1600	1600	>1600	>1600	100	3
	>1600	1600	>1600	>1600	400	1
	1600	1660	>1600	>1600	400	1
	1600	800	>1600	>1600	400	3
	1600	400	200	>1600	100	1

1) キャプタン・チアベンダゾールは、400µg/ml 以下の濃度で検定した。

菌10菌株のうち8菌株が他の薬剤に対して同等の感受性を示し、また、ペノミル耐性菌15菌株のうち、11菌株がキャプタン・チアベンダゾールを除く他の薬剤に対して同等の感受性を示した。なお、ペノミル感性菌のうち、キャプタン・チアベンダゾールに対して、感受性の低い菌株が1株あった。また、ペノミル耐性菌のうち、キャプタン・チアベンダゾールに対しては、MIC 値400µg/ml が5菌株あったが他剤に比べて、感受性がやや高かった。

菌そう生育阻止率による薬剤感受性、分離菌株に対す

第3表 各種薬剤の菌そう生育阻止率の頻度分布

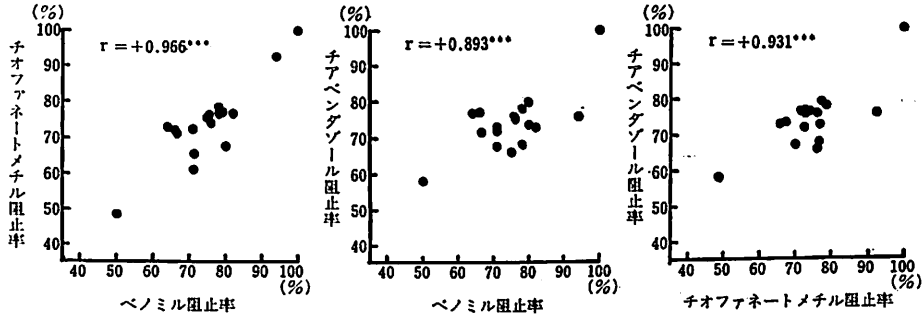
検定薬剤 (10ppm)	菌そう生育阻止率区分に該当する菌株数 ¹⁾							
	0~10	40~50	60~70	80~90	90~100	(%)		
ペノミル			1	3	9	2	10	
チウラム・ペノミル			1	1	11	2	10	
チオファネートメチル			1		3	11	10	
チウラム・チオファネートメチル			1		2	10	2	10
キャプタン・チアベンダゾール			2	7	7		9	
チアベンダゾール			1	3	12		9	
チウラム			25					
キャプタン			25					

1) ペノミル感性菌10株、耐性菌15株の計25菌株を供試した。

る薬剤の菌そう生育阻止率の頻度分布を第3表に示した。チウラム、およびキャプタンの菌そう生育阻止率はいずれの菌株も10%未満の低い値であった。ベノミルとチウラム・ベノミル、チオファネートメチルとチウラム・チオファネートメチル、チアベンダゾールとキャプタン・チアベンダゾールなどのように、単剤と混合剤の両者を

比較すると、菌そう生育阻止率の頻度分布は同一傾向を示し、菌そう生育阻止率区分70~80% (キャプタン・チアベンダゾールは60~80%) および90~100%に該当する菌株数が最も多く、2峰性の分布が認められた。

第2図に、ベノミル、チオファネートメチル、チアベンダゾールの各単剤間の菌そう生育阻止率の相互関係を



第2図 各種薬剤10ppm含有培地上における菌そう生育阻止率の相互関係

図示した。ベノミルとチオファネートメチル ($r = +0.966^{***}$), ベノミルとチアベンダゾール ($r = +0.893^{***}$), チオファネートメチルとチアベンダゾール ($r = +0.931^{***}$) のいずれの間にも、極めて高い正の相関関係が認められた。

考 察

富山県におけるイネばか苗病の多発要因を検討するため、1984~85年の2か年間、発病苗および成稲茎から分離された菌株について、MIC法でベノミル感受性を調べた。

その結果、本県で分離された菌株は、ベノミルMIC値で12.5 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ および800~1,600 $\mu\text{g/ml}$ にそれぞれピークをもつ3峰性を示した。これを基準に25 $\mu\text{g/ml}$ 以下を感性菌, 50 $\mu\text{g/ml}$ 以上を耐性菌とし、さらに50~400 $\mu\text{g/ml}$ を中等度耐性菌, 800~1,600 $\mu\text{g/ml}$ を高度耐性菌と、便宜的に区分した。これらの区分が適正かどうかについては、検定数の増加と生物効果を

併用し、明らかにする必要がある。

本県におけるこのような耐性菌の出現については、地域性、品種、種子消毒方法および来歴との間に特定の関係が認められず、その発達原因を明らかにすることはできなかった。今後、各種要因との関係を明らかにし、耐性菌の発達防止に利用しなければならない。

本県で検出された耐性菌のMIC値は50~1,600 $\mu\text{g/ml}$ であった。同程度のMIC値を示す耐性菌は滋賀⁴⁾, 山形⁶⁾, 島根⁷⁾などの県において、認められ、また、天野ら¹⁾の調査によっても、山形、鳥取、島根、福島各県から1,000 $\mu\text{g/ml}$ にピークをもつ菌株が認められていることから、本県の耐性菌の耐性レベルは他県と大差がないものと推察される。また、耐性菌の分離度は1984年が約20%, 1985年が約85%と高い数値が得られ、防除対策上重視すべきである。ただし、この数値はすでに薬剤による選択淘汰圧を受けた菌によって発病した苗(成苗を含む)から分離した菌について調査したものであることから、種子消毒上問題となる籾の耐性菌分布状

第4表 ベノミル耐性菌接種籾¹⁾に対する種子消毒効果

供 試 薬 剤	濃度 (倍)	消毒時間	籾の状態	調査数	徒長苗率(%)	同左防除価	草丈(cm)	苗令(枚)	薬害
B. T水和剤 ²⁾	200	48時	乾籾	381.3	0.8	99	17.2	2.5	—
	20	10分	〃	378.7	0	100	17.7	2.5	—
	0.5%	粉衣	湿籾	377.7	0.5	99	17.3	2.5	—
C. T水和剤 ³⁾	20	10分	乾籾	373.7	0.2	100	15.3	2.6	—
	無 消 毒	—	—	367.7	85.7	0	23.7	2.3	—
L. S. D				*	0.9	—	2.4	—	
				**	1.7		3.5		

1) ベノミル MIC 800 $\mu\text{g/ml}$ 耐性菌菌液を開花期に噴霧接種, 品種, 短銀切主, 箱育苗, 管理は慣行

2) チウラム・ベノミル

3) キャプタン・チアベンダゾール

況は、今後の調査にまたなければならぬが、かなり低いものと推測される。

耐性の程度と防除効果との関係については詳細な検討事例がないが、第4表にベノミル MIC 値800 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の耐性菌を接種して得られた種籾を用いた防除試験結果を示した。これによると、チウラム・ベノミル水和剤の場合には、感性菌を対象とした結果とはほぼ同等の高い防除効果が得られた。この結果から、本報告で中等度耐性と位置づけた範囲の菌株は、薬理的にみると耐性菌とみなされるが、本剤の使用上、効力低下の重要な原因とはみなされない。ただし、ベノミル単剤については不明であり、また、1,600 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の菌株についても明らかでなく、今後検討すべきである。

多くの植物病原菌のベノミル耐性菌はチオファネートメチルと交叉耐性を示すことが既に上杉の¹⁾によって論述されているが、本調査で供試したベノミル耐性菌15菌株についても同様の結果が得られた。すなわち、MIC 値では、チオファネートメチルに対してほぼ同等の耐性を示し、また菌そう生育阻止率ではベノミルとチオファネートメチルの間に、 $r=+0.966^{***}$ の極めて高い相関関係が認められた。一方、ベノミル感性および耐性のいずれの菌も、チウラム・ベノミル、チウラム・チオファネートメチルに対して、単剤とほぼ同等の MIC 値を示した。また、キャプタン・チアベンダゾールに対しては、感性菌のうち1菌株、耐性菌のうち、すべてが MIC 値100~400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の菌株であった。また、菌そう生育阻止率ではベノミルとチアベンダゾールの間に、 $r=+0.893^{***}$ の高い相関関係が得られたことから両剤の間に、交叉耐性の可能性が示唆された。チアベンダゾールは、benzimidazole 系薬剤である、ベノミルおよびチオファネートメチルの誘導体で、共通の作用機構をもつことが報告²⁾³⁾されていることから、イネばか苗病菌においても、これら3剤間の交叉耐性について注目すべきであろう。現段階における、キャプタン・チアベンダゾールの使用は本剤の MIC 値が400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下であること、また第4表の防除試験からみて、実用的に問題がないと推察される。

摘 要

1 1984, 1985年の2か年間、富山県内で発生したイネばか苗病罹病苗（一部成籾を含む）より分離した病原菌を供試し、ベノミル耐性菌調査を行なった。

2 両年とも、MIC 値100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の耐性菌が高率に分離された。さらに、1985年には同1,600 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の菌株が約10%含まれた。耐性菌の分離率と同時調査した種子消毒方法（使用薬剤、消毒方法）、品種、地域および種子の来歴との関係は明らかでなかった。

3 分離菌のうちより、ベノミル感性菌10菌株、耐性菌15菌株を選び、チオファネートメチルなど数薬剤について、MIC 値および菌そう生育阻止率を調べた結果、ベノミルとチオファネートメチルおよびチアベンダゾールの間に、明らかな類似性がみられ、3剤は交叉耐性にある可能性が示唆された。

4 ただし、キャプタン・チアベンダゾールの MIC 値は使用濃度（200倍液、各1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）より明らかに低い、400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下であった。

引用文献

- 1) 天野徹夫・尾嶋正弘・中沢靖彦・山田芳昭(1986) イネ馬鹿苗病菌の各種種子消毒剤に対する感受性について(講要). 日植病報 52: 515-516.
- 2) Bartles-Schooley, J. and MacNeil, B. H. (1971) A Comparison of the Modes of Action of Three Benzimidazoles. *Phytopathology* 61: 816~819.
- 3) Hastei, A. C. and Geogopoulos, S. G. (1971) Mutational Resistance to Fungitoxic Benzimidazole Derivatives in *Aspergillus nidulans*. *J. General Microbiology* 67: 371~373.
- 4) 北村義男・保積隆夫・田中徳己(1982) ベノミル剤耐性イネばか苗病菌の出現(講要). 日植病報 48: 380.
- 5) 桜井寿(1975) 薬剤耐性菌の検定法. 植物防疫 29: 206~212.
- 6) 高橋昭二・田中 孝(1984) ベノミルのイネばか苗病菌菌株に対する MIC 値(最低阻止濃度)の変動について(講要). 日植病報 50: 424.
- 7) 多久田逸雄・三島利夫(1985) 島根県におけるイネばか苗病のベノミル剤耐性菌出現状況(講要). 日植病報 51: 74~75.
- 8) 富山県農業試験場(1986) 昭和60年度病害虫発生予察年報.
- 9) 上杉康彦(1978) 薬剤耐性, 植物病理学最近の進歩. 211~220.
- 10) 宇井格生ら(1984) 新版, 土壌病害の手引. 320~321, 日植防協会, 東京, 349 pp.
- 11) 梅原吉広(1986) イネばか苗病について. 米麦改良 3: 14~29.

(1986年7月18日受領)