

イネいもち病の薬剤耐性

飯島章彦*・武田和男**・山下 亨***

Akihiko IJIMA*, Kazuo TAKEDA** and Tooru YAMASHITA***:
The drug resistance of rice blast fungus

イネいもち病菌の薬剤耐性

1971年に山形県庄内地方で発生したいもち病防除薬剤カスガマイシンに対する耐性菌のは場出現は、当時の植物防疫に関わる関係者に衝撃を与え、これを契機として植物病原菌の薬剤耐性は実用上重大な問題と認識されるようになった。1963年にストレプトマイシン耐性イネ白葉枯病菌のは場分布が知られていたが、本剤は白葉枯病防除に実用化されなかったため問題にはならなかった。いもち病菌においても実験室内での淘汰株取得程度の観察情報しかなく、少なくとも1970年以前には耐性菌のは場出現の報告はなかったため、薬剤の使用について耐性菌を意識した特段の注意は払われていなかった。

カスガマイシン耐性菌（以後KSM耐性菌と略記）のは場出現は、その後、新潟県（1974）、長野県（1975）で起こり、さらに、有機リン剤のIprobenphos（以後IBPと略記）の耐性菌の出現が1976年に富山、新潟両県で報告されるに及んで、農水省は1978年から農薬耐性菌検定事業を実施した。その結果、耐性菌の出現は広く全国に及ぶことが明らかとなった。

当時の基幹剤の効果減退は現場での防除対応に混乱を引き起こし、各県にとって耐性菌対策の確立は急務の研究課題となった。北陸・信越地方の県農試ではいち早く研究に乗り出し、先導的効果を数多くあげ、現場の要請に応えた。北陸病虫研報へのこの分野の発表課題数をみると、1977年に1題、'78年に1題、'79年に2題、'80年に2題、'81年に6題、'82年に1題、'83年に1題、'85年に4題であるが、その後は、技術指導の徹底や代替剤の登場もあって研究は次第に終息した。

ここでは、当ブロック管内の耐性菌の発生経過と主要な研究成果について、全国の知見を織り交ぜて簡単に振り返ることとする。

耐性菌のは場出現

山形県庄内地方でのKSM耐性菌発生確認の端緒は、

現場での防除効果の大幅な減退であった。一方、IBPでも水面施用での効果低減が富山県で起こり、この際採集された173菌株の中にIBP30ppmで成育する耐性菌8株が確認された⁹⁾。

その後、耐性菌のモニタリング調査が各県で実施され、耐性菌分布には著しい地域差があり、隣接地域でも分布に大きな開きが観察されること、耐性菌率6割を超える地域があることなどが報告された。新潟県¹⁾ではKSM耐性菌は上越、魚沼、岩船に、IBP耐性菌は魚沼、新潟、南蒲原に多く、両耐性菌が多かった魚沼はいもち病自体の発生も多いところであった。長野県⁴⁾ではKSM耐性菌は県北部に、また、IBP耐性菌は県中部に特異的に多く認められた。福井県¹⁵⁾では、IBP耐性菌は若狭で多く、奥越では少なく、KSM耐性菌は逆に奥越に多かった。

いずれのケースでも耐性菌の分布を支配する要因は、当該薬剤（交差耐性関係にある薬剤を含む）の長年にわたる多数回使用であり、加えていもち病の多発生が耐性菌を選抜するチャンスを多く与える条件になっていることが示された。また、IBPを倒伏軽減目的で多量使用した結果、いもち病少発地帯でも耐性菌が高率分布するに至った事例が新潟県¹⁷⁾、広島県⁷⁾等で観察された。

研究の初期段階においては耐性菌のは場出現を定性的に確認する手段として、幼苗曝露法が用いられた。これにより、新潟県¹⁶⁾ではIBPおよびKSM、Blasticidin S（以下BcS）の3剤に耐性を示す多剤耐性菌の出現を初めて確認し、富山県¹⁰⁾ではIBP、BcS、IsoprothioJane（IPTと略記）の各耐性菌の出現を確認した。富山県では、有機リン剤であるIBPの過剰使用が原因で、IPTの効果低減を起こす現象がみられ、注目された。

耐性の検定法

遺伝的に異なる感受性グループを的確に、かつ簡易に区別しうる耐性菌検定法の確立は、研究推進と対策実施

*長野県果樹試験場 Nagano Fruit Tree Experiment Station

**長野県農事試験場 Nagano Agricultural Experiment Station

***長野県農業技術課 Nagano Agricultural Experiment and Extension Division

上重要な課題である。耐性の室内検定法には阻止円法、寒天平板希釈法、菌叢生育阻止率法等の手段があるが、対象とする薬剤ごとに生物検定と適合度の高い手法を採用する必要がある。

KSM耐性検定で、郷ら³は寒天平板希釈法において菌糸成育最低阻止濃度（MIC）100ppmを境界とする明瞭な2峰性の感受性頻度分布を描くこと、KSM剤に対する生物検定とよく一致することから、本法の有効性を確認した。本法は一度に多数の菌株が検定できるので効率的であり、広く利用された。

IBP耐性検定でも寒天平板希釈法が用いられた。当初は粗い希釈濃度列で検定が行われたため、感受性頻度分布が多峰性を描かないこともあって判定に苦慮したが、矢尾板ら¹⁶は5 ppm段階の細かい希釈列を採用することによって2峰性分布になることを明らかにし、30ppm含有培地で生育する菌株を耐性菌と判定できるとした。また、本手法がIBPのみならず、KSM, BcS, Ediphenphos (EDDP), IPTの検定にも適用できることを示した。

いもち病菌のIBPに対する感受性の幅はMIC値でせいぜい2～3倍程度と狭く、KSMやベンズイミダゾール耐性などのように数十～数千倍の差のあるものと違って、検定条件を厳密にしないと正しい判定がなされない場合が生じた。前培養日数、培地の種類、培地量、判定までの日数等で評価が大きく変動することを認め、安定した再現性を得る検定手法の一元化が図られた^{6,17}。

生物検定法としては前述の幼苗曝露法が活用された¹¹。いもち病菌レースの簡易検定法を応用したものであり、薬剤を散布したイネ幼苗をほ場に10日間程度設置し、いもち病発病程度を無散布のそれと比較することによって、耐性菌の出現を迅速に察知するものである。幼苗曝露法は、耐性菌の密度がかなり高くないと効果減退として現れないことから、モニタリング手法としては手遅れになる欠点はあるが、特別な技術や実験器具を必要としない簡便な手法として宮城県、秋田県などでも利用された。このほか、秋田県²では無菌操作を必要としない検定法として、分生子発芽異常を観察する2次分枝法を開発した。

交差耐性

桜井ら¹¹は、KSMとBcSはMIC相関で交差耐性の関係にあるが、鉢試験では薬剤を治療散布した場合のみ認められる不完全な交差耐性であるとした。しかし、これに否定的な見解もあり、以降、各所で検討されたが、おおむね交差耐性を確認する効果が出された。郷ら³は新潟県下から分離した菌株のMIC相関をみたところ、ごく少数の例外は認められたものの、大多数は交差耐性を示し

た。鉢試験による防除試験でも、飯島ら⁶は治療的散布でみられる不完全な交差関係を追認した。

一方、IBP耐性菌について片桐ら⁸は、*in vitro*で取得したIBP耐性菌株が同じ有機リン剤であるEDDPと、さらにリンを含まないIPTと交差耐性であることを報告した。しかし、供試した菌株はほ場にほとんど分布しない高度耐性菌であり、この高度耐性菌で認められた3剤間の交差関係が実際に現場で問題化している中等度耐性菌（通常単に耐性菌とよんでいるもの）についてもみられるかが実用的な問題となった。

この点について、新潟、富山、長野など各県農試において検討された結果、それぞれの地域から分離した多数の菌株は、一部例外的な菌株を除き、3剤に対するMICおよび菌叢生育阻止率に高い相関関係を認めた^{5,6,11}。一方、防除効果については、各県の結果は必ずしも一様でなかったが、IBP耐性菌に対しEDDP, IPTは薬剤を治療的に散布した場合に明瞭な効果減退を起こすこと⁶、IBP耐性菌の比率に応じて、IBP, EDDP, IPTの防除効果が低下すること⁶、耐性菌の分布下でEDDP、さらにはIPTの効果が低減すること^{6,7,12,17}などから、現場指導においては3剤を同一グループとみなし、使用規制などの対策がとられた。

耐性菌の分布動向

ほ場における病原菌集団の中に出現した耐性菌がさまざまな外的要因の影響を受けて、いかなる疫学的動向をとるかは耐性菌対策を考える上で重要である。山形県庄内地方では、KSM剤の使用を全面禁止したところKSM耐性菌の急激な密度低下が起こり、それに伴って薬剤の防除効果が飛躍的に回復した例は、疫学的重要性を示す好例である。

新潟県¹では、KSM耐性菌の蔓延は、KSMおよびBcSの連用といもち病の多発性が原因であるとした。さらに蔓延後の対策として、これらの単剤使用を中止したが、KSM混合剤（KSMーフサライド）が使用されたため淘汰圧が温存され、庄内地方のような急激な分布率低下はみられなかったことが報告された。一方、福井県¹²ではKSM単剤の使用割合が多い地域では耐性の発達があるものの、KSMーフサライド混合剤を使用してきた地域での発達はなく、混合剤の使用が耐性菌発達をある程度防止できると解析した。

IBP耐性菌では、IBP, EDDP, IPTのいずれを施用しても耐性菌率は同程度に上昇することが明らかにされた^{6,17}。また、連年施用によって淘汰が進むと、耐性菌のうちでもより強い菌が集積するが、それでもMIC 100ppm以下の中等度耐性菌のレベルまでで、高度耐性

菌の蔓延は容易に起こらないことが報告された⁶⁾。さらに、淘汰効率は茎葉処理剤に比べ粒剤で高いことが明らかにされた^{6,12)}。

いったん高率に分布するに至ったIBP耐性菌の薬剤使用禁止後の分布変動については、広島県の調査事例⁷⁾がある。庄原地区では耐性菌率70%が、IBPおよびEDDP使用中止後2～3年で21%まで顕著に減少し、感受性の復帰が起こることが明らかにされた。一方で、混合剤の使用を継続した可部地区では耐性菌率の低下が緩慢なことを観察している。このような調査は、感受性の回復様相や、その後の当該農薬の再使用の可否を見極める上で重要であるにもかかわらず、全国的にほとんどされなかった。

一方、隔離ほ場での小面積試験や幼苗を用いた継代感染実験では、IBP耐性菌が分布の低減を起こすことが確認されており、この原因を増殖能力から解析する試験がなされた。その結果、耐性菌由来の病斑の大きさは総じて小さく、さらに、孢子形成能も著しく劣ることが認められた⁶⁾。また、高度耐性菌が全国でも希にしか採集されない原因は、高度耐性菌が通常の耐性菌（中等度耐性菌）や感受菌に比べ、生存能力において著しく劣るためであると解析された⁶⁾。さらに、長野県安曇地区の耐性菌は温度適応幅が狭く、この性質により分布の減少を起こすことが報告された⁶⁾。

薬剤施用法

KSM耐性菌、IBP耐性菌に対する防除薬剤の選抜が多くの県で行われ、フサライド、トリシクラゾール、ピロキロン、プロベナゾールは防除効果は高く、また、KSMおよびIBP耐性菌の密度を押し上げる作用がないことから対策剤として適切であると確認された。また、KSMはIBP耐性菌密度を低下させる作用のあることが示された¹⁷⁾。

一方、IBP耐性菌に対するIBP・トリシクラゾール混合剤、KSM耐性菌に対するKSM・フサライド混合剤など、当該剤と他剤の混合製剤は十分な防除効果を発揮するものの、耐性菌の密度を単剤と同程度に押し上げる作用を保つことから、耐性菌の蔓延防止のためには、混合剤といえども他剤との組み合わせ使用を基本として、使用回数を抑制する必要があると結論された^{6,17)}。

耐性菌の発達防止対策として輪番使用と混合剤使用の優位性比較について、Ramosら¹³⁾は数理モデルを用いて検討した結果、*Colletotrichum coffeanum*のベノミル耐性菌が95%に達するためには輪番散布で58から68回、混合剤散布で29～34回の散布が必要と予測した。一方、林ら（1979）はリンゴ斑点落葉病のポリオキシシン耐性菌では

混合剤散布が有利であったとしている。イネいもち病についても検討されたが、一定の結論は見いだせなかった。この課題については、病原菌や薬剤の種類、薬剤の混合比、耐性菌の発達程度などによって効果が左右され、両手法の優位性の判断は難しいが、一連の試験から、いずれの手段も耐性菌上積極的に取り入れるべきであるとされた。

耐性菌対策

KSMあるいはIBP耐性菌の蔓延に対し、ベンズイミダゾール系耐性菌に対するジエトフェンガルブのような負相関交差耐性剤の利用は望めない。各県は、耐性菌発達レベルに応じた当該薬剤の使用制限措置と、耐性菌発達防止と安定的効果の見込める防除体系を提示し、その後の耐性菌の減少を見守るほかに適当な手段をもてなかった。

まず、当該薬剤の使用制限にあたっては、耐性菌分布率20～30%程度を越えると、薬効低下が明らかになることから、新潟県では中止の目安を20%程度、長野県では20～30%とした。

また、低率分布条件での当該農薬の使用方法については、先に述べたように、交差耐性関係にない薬剤との輪番使用、もしくは混合剤の使用が奨励された。

対策事例として長野県の指導内容を下に示した。

- ①耕種的防除、抵抗性品種の活用により薬剤偏重の防除を見直す。
- ②耐性菌発生と分布状況を常に監視する。
- ③KSMとBcS、IBPとEDDPとIPTは交差耐性薬剤である。
- ④耐性菌率20～30%に至った地域では、全面的に単剤、混合剤、交差耐性薬剤の使用は中止する。中止後は耐性菌の減少が起こるので、なるべく感受性を回復させてから当該農薬の再使用をする。
- ⑤再使用に当たっては、単剤、混合剤とも年1回程度に留め、他の作用機作群薬剤との体系的な輪用を行う。
- ⑥耐性の未発達地帯では⑤に準じて発達を未然に防止する。一般的に混合剤は耐性発達を遅らせるから、積極的に防除体系内に組み入れる。

新潟県¹⁷⁾、広島県⁷⁾においても類似の内容で指導された。これらの対策は、耐性菌が高率に分布するに至った地帯を中心に、積極的に取り組まれ、成果を上げた。しかし一方、当初あまり問題でなかった地域では使用が継続されたケースがあり、その後に耐性菌禍を招いた事例も観察されている。1989年、長野県の上伊那地区において穂いもちが異常発生したが、当該地域では長年に渡りIBP剤が使われてたため、翌年実施した耐性菌検定では

IBP耐性菌率は80%近くに達していた。その後、1994年にも長野県下のIBPおよびKSMに対する広域的な耐性菌分布調査を行ったが、その結果によるとKSM耐性菌分布は1970年後半に行われた調査とほぼ同様であったのに対して、IBP耐性菌分布は密度の高い地域が移り変わるなど分布に変化が認められた。

また、最近、カルプロパミド剤の耐性菌のほ場出現が報告された。いもち病の耐性菌問題は対策の基本事項を守ることで確実に解決されるはずである。過去の教訓を生かし、耐性菌の発達を未然に防止することが求められる。

参考文献

- 1) 青柳和雄・矢尾板恒雄・郷 直俊 (1978) イネ幼苗曝露法による薬剤耐性いもち病菌の検索 (予報). 北陸病虫研報 26: 74-76.
- 2) 深谷富夫・小林次郎 (1983) カスガマイシン耐性イネいもち病菌の簡易検定法. 北日本病虫研報 34: 91-94.
- 3) 郷 直俊・矢尾板恒雄・青柳和雄・大崎正雄・池田宇一・桜井 寿 (1977) 新潟県における薬剤耐性イネいもち病菌の出現とその分布. 北陸病虫研報 25: 58-60.
- 4) 郷 直俊・矢尾板恒雄・青柳和雄 (1979) イネいもち病菌の薬剤耐性について 第2報 1978年新潟県における薬剤耐性イネいもち病菌の分布. 北陸病虫研報 27: 31-33.
- 5) 郷 直俊・矢尾板恒雄・青柳和雄 (1983) イネいもち病菌の薬剤耐性とその疫学に関する研究 第2報 薬剤耐性イネいもち病菌の分布とその変動要因. 新潟農試報告 32: 33-44.
- 6) 飯島章彦・寺沢 租 (1987) 薬剤耐性イネいもち病に関する疫学的研究. 長野農事試報 44: 39-94.
- 7) 井本征史・上原由子 (1987) 広島県におけるいもち病薬剤耐性菌の発生状況とその防除対策. 広島農試報告 50: 57-66.
- 8) Katagiri, M. and Uesugi, Y. (1977) Similarities between the fungicidal action of isoprothiolane and organophosphorus thiolate fungicide. *Phytopathology*. 67: 1415-1417.
- 9) Katagiri, M., Uesugi, Y., Umehara, Y. (1980) Development of resistance to organophosphorus fungicides in *Pyricularia oryzae* in the field. *J. Pesticide Sci.* 5: 417-421.
- 10) 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.
- 11) 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. ほ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: 59-63.
- 12) 長田 茂 (1983) 薬剤耐性イネいもち病菌に関する研究 第3報 カスガマイシンおよびIBP耐性菌の分布変動に及ぼす粒剤施用の影響. 北日本病虫研報 34: 95-97.
- 13) Ramos, A. H., and Kamidi, R. E (1982) Determination and significance of the mutation rate of *Colletotrichum coffeanum* from benomyl sensitivity to benomyl tolerance. *Phytopathology*. 72: 181-185.
- 14) Sakurai, H. and Naito, H. (1976) A Cross-resistance of *Pyricularia oryzae* Cavara to kasugamycin and blastocidin S. *J. Antibiotics* 29: 1341-1342.
- 15) 高松 進 (1981) 福井県におけるIBPおよびカスガマイシン耐性イネいもち病菌の発生状況. 北陸病害虫研報 29: 64-67.
- 16) 矢尾板恒雄・郷 直俊・青柳和雄・岩野正敬・桜井寿 (1979) イネいもち病菌の薬剤耐性とその疫学に関する研究 第1報 多剤耐性イネいもち病菌のほ場出現. 新潟農試報告 28: 61-70.
- 17) 矢尾板恒雄 (1996) 薬剤耐性イネいもち病菌の生態ならびに防除に関する研究. 新潟農試報告 41: 1-52.