

論文内容要旨

抗性物質の一つ、カスガマイシン剤（以下KSM剤と略称）は1968～1971年まで山形県のいもち病防除剤の主体になっており、1971年にはその70%以上を占め、特に庄内地方では約90%にも達した。ところが1971年に庄内地方で、その防除効果が低下する現象が観察され、また、山形農試庄内支場の苗代晩播（ベツ）試験でも同様な現象が認められた（図1）。その原因は薬剤の効力低下や使用法の誤りによるものではなく、従来圃場で問題とならなかった耐性菌の出現によるものと推察された。

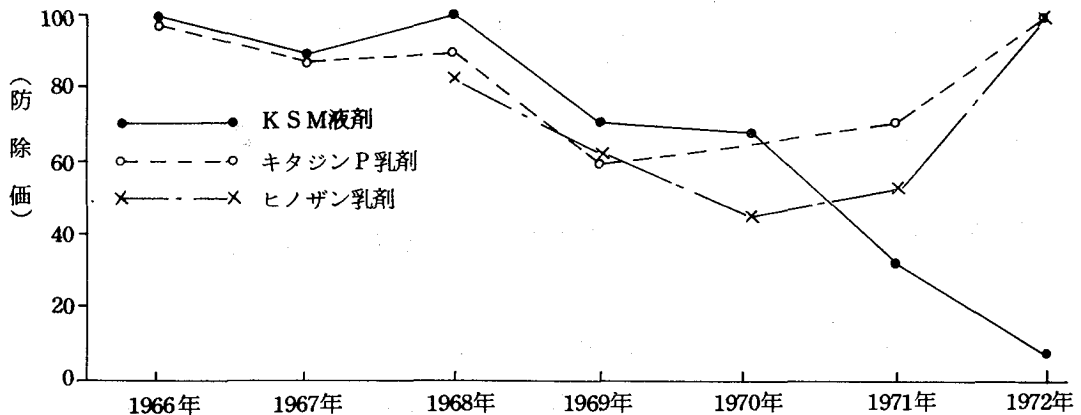


図1 KSM液剤、キタジンP乳剤およびヒノザン乳剤の防除効果の推移

本論文は、いもち病に対するKSM剤の効果減退の原因を解明するとともに、KSM耐性菌の出現圃場における防除対策、KSM剤使用停止後の本薬剤の防除効果と耐性菌の推移、耐性菌の出現要因および耐性菌の生態などについて検討し、もってKSM耐性菌出現防止に留意したいいもち病防除法を確立する目的で実施した実験結果の概要である。

I KSM剤のいもち病に対する防除効果減退と耐菌性の出現

1971年秋に庄内地方のいもち病激発地でKSM剤の効果が低下した地区から採集した8菌株についてKSM添加イナわら煎汁寒天培地（PM5.0）を用いた菌叢生育法による薬剤感受性を検討した結果、供試8菌株は、いずれもKSMに対する感受性が低く、KSM62.5ppmの濃度下でも菌叢は良く伸長した。これに対してKSM剤の効果が顕著に認められた山形農試などの圃場から採集した3菌株は、12.5～62.5ppm KSM含有培地（PH5.0）上で菌叢の伸長が強く阻止された。さらに、1972年秋に県内主要地域から採集した32菌株についてKSM感受性を検定した結果、内陸地方の16菌株はいずれも感受性菌であったが、庄内地方から採集した16菌株は感受性菌と耐性菌とが混在していた。

これら耐性菌株のKSM添加培地上での菌叢生育限界を知るため、イナわら煎汁培地（PM5.0）の

KSM濃度を変えて検討した結果、10 ppm以下の濃度では菌叢の伸長阻止率は低く、100 ppmで菌叢は無添加培地でのおよそ50%伸長した。しかし、500 ppmではほとんど伸長が阻止され、生育可能限界は100~500 ppm間にあるものと推測された(表1)。このように庄内地方にはKSM耐性菌が分布していること(図2)が明らかになった。

表1 庄内地方のいもち病菌のKSM感受性
(菌叢伸率阻止率%)

KSM濃度	山形農試菌 (感受性菌)	庄内支場菌	鶴岡市菌	三川町菌	酒田市菌
0 ppm	(3.8 cm)	(5.1 cm)	(4.9 cm)	(4.8 cm)	(4.1 cm)
1	60.5%	3.9%	2.0%	10.4%	9.8%
10	99.9	29.4	24.5	27.1	29.3
100	100	64.7	46.9	50.0	56.1
500	100	99.9	99.9	99.9	100
1,000	100	100	100	100	100

注) ()は菌叢直径

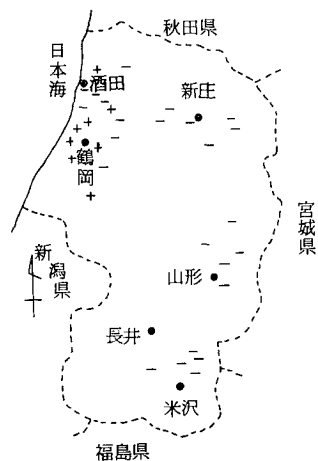


図2 山形県内のKSM耐性菌(+)
と感受性菌(-)の分布
(1972)

以上のような in vitroの結果が in vivoでの結果と一致するかどうかを知るため、庄内地方のKSM剤効果減退地区の2か所の被害わら(感受性菌と耐性菌混在)と罹病穂から分離した耐性菌株を接種源に用いて、KSM剤の防除効果試験をおこなった。その結果、これらいもち病菌に対するKSM剤の効果は低く、感受性のいもち病菌の防除価80~90以上に対して20~60の値を示した。

一方、他の防除薬剤のカタジンP乳剤(IBP剤)やラブサイド水和剤(フサライド剤)は顕著な防除効果を示した(図3)。

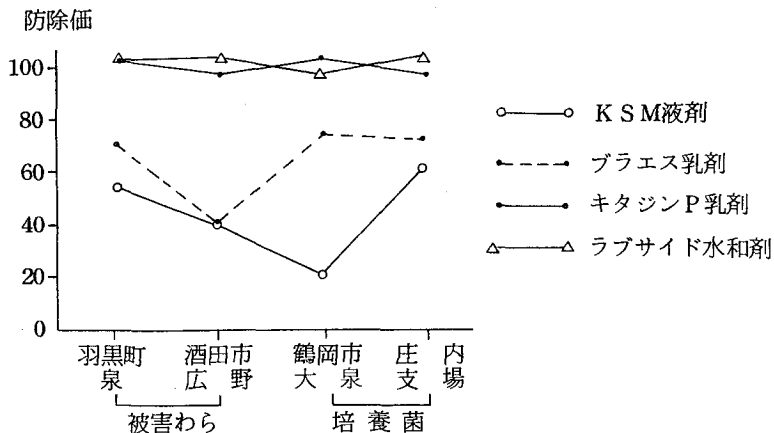


図3 庄内地方激発地のいもち病菌に対する薬剤の効果

また、1972年7月に庄内支場でおこなった苗代晩播の自然感染による各種薬剤の効果試験でもIBP剤やフサライド剤は77~97の防除価を示したのに対し、KSM剤は従来の散布濃度では殆んど効果がなく、2倍濃度でも無散布より僅かに少ない発病であった。さらに、1972年におこなった県内各地の畑晩播(ベツト)の自然感染による防除効果試験の結果、KSM剤効果減退がみられたのは、庄内地方においてのみであり、内陸地方ではこのような現象はみられなかった。このように、イネ苗を使用した試験結果と室内試験の結果とが良く一致しており、庄内地方のいもち病激発地でのKSM剤効果減退はKSM耐性菌の出現によることが明らかであり、この現象は庄内地方に限られ、内陸地方には及んでいないものと認められた。なお、これらのKSM耐性菌はEDDP(ヒノザン)、IBPおよびフサライドとの交差耐性は認められなかったが、ブラストサイジンS(ブラエス)との交差耐性関係については明らかにできなかった。

KSM耐性菌が庄内地方で特異的に増加した理由は、庄内地方でのいもち病防除回数が他の地方に比べて多いこと、しかもいもち病防除用薬剤に占めるKSM剤の比率が高いこと(表2)によるもので、このようなKSM剤の過度の使用が耐性菌の出現、増殖を招いたものと推察される。

表2 いもち病防除回数と防除薬剤中のKSM剤の比率

年次	防 除 回 数		使用薬剤中のKSM剤の比率	
	庄内地方	県内全域	庄内地方	県内全域
1965年	2.7回	2.1回	-%	0.02%
1966	2.4	1.9	-	1.3
1967	2.7	2.2	36	26
1968	3.5	2.7	54	58
1969	4.6	3.5	94	77
1970	4.2	3.0	90	68
1971	5.0	3.4	87*	75

注) (1) - 資料なし

(2) *庄内地方の一部でKSM剤の効果減退がみられたため、KSM剤以外の薬剤が使用された。

Ⅱ K S M 剤使用停止後の本薬剤の防除効果および耐性菌の推移

K S M 剤効果減退の原因は耐性菌の出現によることが明らかになったので、K S M 剤効果減退が認められた庄内地方の一部では 1972 年の穂もち防除から、庄内地方全域では 1973 年から K S M 剤の使用を停止した。その後の K S M 剤の効果を庄内支場と現地 2 か所で I B P 剤、フサライド剤と比較検討した。その結果、1973 年 6～7 月の晩播による苗代晩播試験では K S M 剤は発病をかなり抑えたが、I B P 剤やフサライド剤に比べ防除効果が劣った。1974 年も前年に準じて試験をおこなった結果、K S M 剤の効果回復は可成り認められたが、K S M 剤の効果減退が認められなかった 1970 年以前の効果まで回復するには至らなかった。

K S M 剤の効果減退が認められた庄内地方で主ないもち病防除剤を使用した場合の K S M 耐性菌の動向を知るため、各種薬剤を連用して発病した罹病葉を接種源に用いて防除効果とそれら罹病葉上の耐性菌分布密度を調査した。K S M 剤散布の罹病葉を接種源に用いた場合は、I B P 剤やフサライド剤の効果に比べ K S M 剤の防除価は約 $\frac{1}{2}$ と低かったが、I B P 剤、フサライド剤各散布および無散布の罹病葉を接種源にした場合は、K S M 剤の効果は I B P 剤やフサライド剤の効果と同様に顕著であった。また、接種源に用いた罹病葉上の耐性菌分布密度は、K S M 剤散布区が他の区に比べ高く顕著な差がみられた(図 4)。これらのことから、耐性菌が分布していても、K S M 剤の散布を停止すればその密度は低下するものと考えられた。

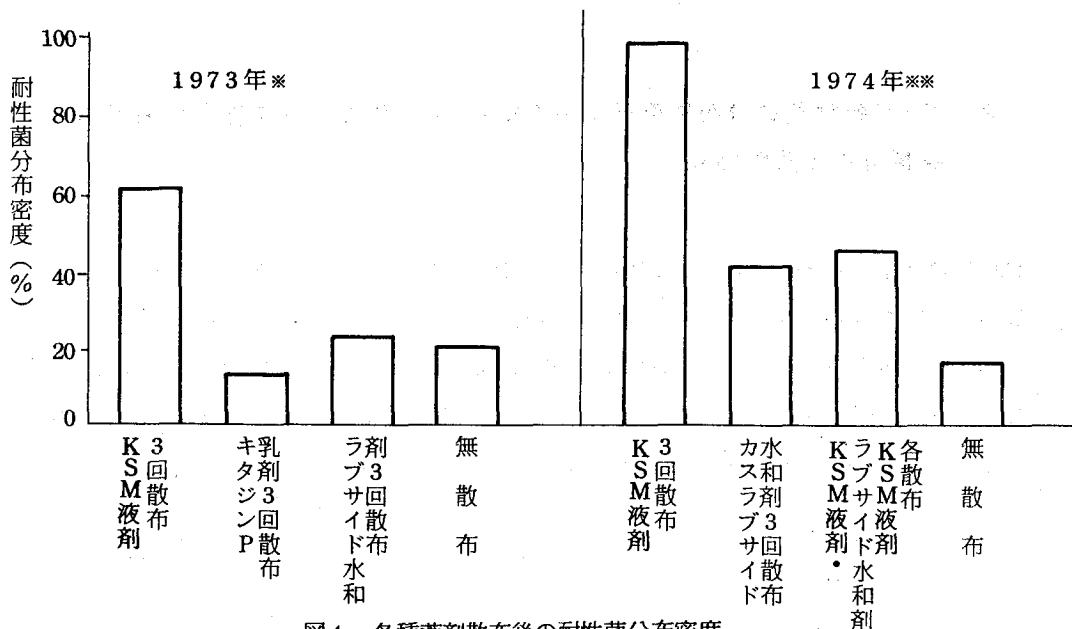


図 4 各種薬剤散布後の耐性菌分布密度

* 庄内支場、酒田市広野、藤島町長沼 3 か所の分布密度 (平均)

** 庄内支場の分布密度

一方、K S M剤の使用停止後の耐性菌の年次推移を菌叢生育法あるいは阻止円法で調査した結果、K S M耐性菌の分布密度はK S M剤使用停止1年目に急激に減少するが、その後は年々漸減し、本剤使用停止5年目で耐性菌の分布はほとんどみられなくなった(図5)。

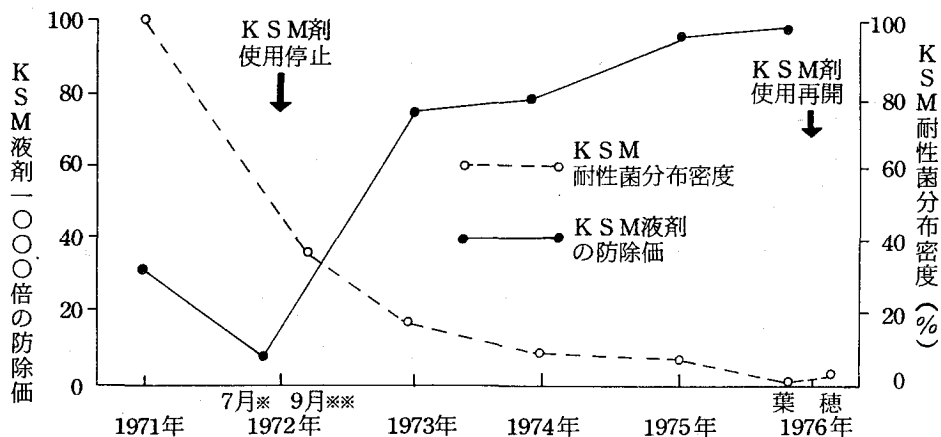


図5 K S M剤の防除効果及びK S M耐性菌の分布推移

※はK S M剤使用停止前の防除試験での防除値

※※はK S M剤使用停止後の耐性菌分布密度

Ⅲ K S M耐性菌の分布密度低下時(K S M剤使用停止3年後)における各種薬剤の防除効果

耐性菌の分布密度が10%以下に低下した地域で、各種いもち病防除薬剤の効果を畑晩播や圃場で検討した結果、K S M剤およびカスラブサイド剤(K S M・フサライド混合剤)は他のいもち病防除薬剤と同様に防除効果が高かったが、K S M剤連用で耐性菌の増加が認められた。これらのことから耐性菌分布密度が10%以下に低下した場合には、K S M剤、カスラブサイド剤は他のいもち病防除剤と組合せて前者では2回以内、後者では3回以内の範囲で使用できることが明らかとなった。

Ⅳ 内陸地方におけるKSM剤の防除効果と耐性菌の分布および出現要因

1972年につづいて1973年も内陸地方の主要地域でKSM剤および各種薬剤の効果を畑晩播で検討した結果、各地ともKSM剤の効果が顕著であり、内陸地方ではKSM剤の効果減退は認められなかった。そこで、KSM剤を連用し、その防除効果と耐性菌の出現状況を検討した結果、初発4～5週間後に防除効果の低下がみられたが、耐性菌の出現はそれより早く初発3～4週間後（KSM剤3回連用1週間後）に大部分のいもち病菌は耐性菌で占められた（図6）。一方、1年に2～3回KSM剤を、他剤との併用で7年間使用した本田におけるいもち病菌は、ほとんど感受性菌であった。

以上の試験結果と一般水田でのKSM耐性菌の出現状況から耐性菌が急激に増加する原因は、突然変異で出現した耐性菌がKSM剤の多数回連続使用による淘汰に起因し、さらに、いもち病の激発がこれを助長すると推測された。

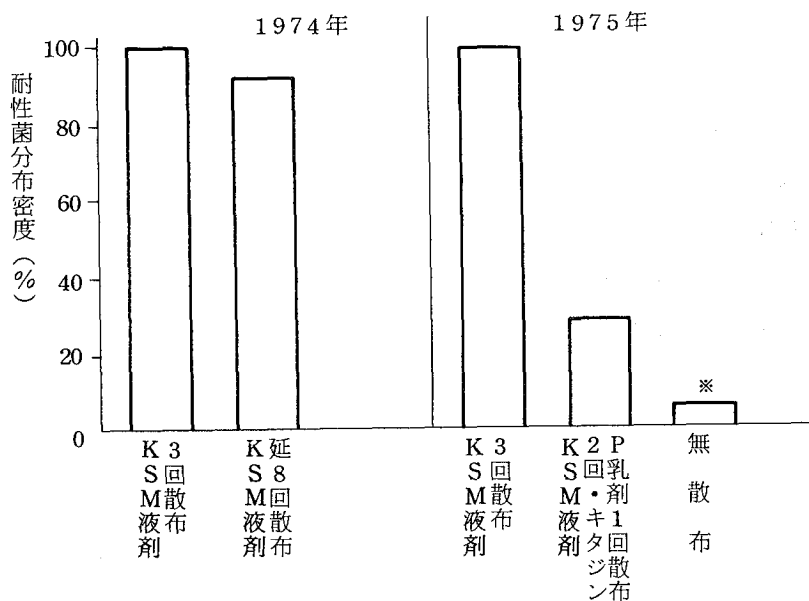


図6 いもち病激発時のKSM剤連用と耐性菌の出現状況

*隣接のKSM液剤散布区からの飛散と推察される

V KSM耐性菌の検定法および耐性菌の2・3の生理的性質

- (1) 検定法：耐性菌の検定は阻止円法および菌叢生育法が通常使用されているが、現場でも利用できる簡易検定法としては、菌叢生育変法（病斑を素寒天培地にのせて28℃に保ち、分生胞子を形成させた後、20 ppm、50 ppm KSM含有培地（PH 5.0）に分生胞子を自然落下させ、その胞子から菌叢が伸長するか、否かにより判定）および組織分離法（20 ppm、50 ppm KSM含有培地上に罹病組織をのせ、そこから菌叢が伸長するか、否かにより判定）が利用できると考えられた。
- (2) 耐性菌の分布：同一病斑内の耐性菌と感受性菌の分布を調査した結果、同一病斑からは耐性菌または感受性菌のいずれか一方が検出され、両者がともに検出されることはなかった。
- (3) 生態型：KSM耐性菌はいもち病菌のレースとは関係がなく、庄内地方に分布している主要なレースのすべてに耐性化が認められた。
- (4) 耐性菌の病原性：菌叢発育速度、分生胞子形成数、病斑数および病斑長を指標として、耐性菌と感受性菌の病原性を比較検討した結果、菌株間の変動が大きく、両菌の間に本質的な差異は認められなかった。
- (5) 越冬量：感受性菌と耐性菌の越冬量について検討した結果、菌株間の差が著しく、感受性菌と耐性菌の間に顕著な差異は認められなかった。
- (6) 耐性の持続：耐性菌の持続期間を調査した結果、通常の継代培養では耐性の消失は認められなかったが、28℃以上の高温に遭遇した場合に耐性の消失現象が、*in vivo*と*in vitro*の試験で認められた。KSM剤の使用停止による耐性菌の減少は高温に遭遇して起る耐性の消失がその一因と考えられた（表3）。

表3 病斑上におけるKSM耐性の持続

年次	接種菌株	期間および最高気温※	供試菌株数	感受性菌検出数	感受性菌検出率
1975	71-3(R) ^{※※}	103日 18~37℃	8株	7株	87.5%
	71-3(R) ^{※※}	21日 27~36℃	16	15	93.7
	71-3(R) ^{※※}	14日 15~26℃	17	0	0
	C-8(R) ^{※※}	14日 15~26℃	12	0	0
	71-1(S) ^{※※※}	14日 15~26℃	6	6	100
	C-8(S) ^{※※※}	14日 15~26℃	6	6	100
1976	71-3(R) ^{※※}	28日 17~36℃	8	4	50.0
	C-8(R) ^{※※}	28日 17~36℃	14	1	7.7
	北373(R) ^{※※※}	28日 17~36℃	4	1	25.0

注) (1)※接種から病斑採集までの期間およびその期間の日別最高気温の範囲

(2)※(R) : KSM耐性菌

(3)※※(S) : KSM感受性菌

Ⅶ む す び

庄内地方で発生したKSM耐性菌は、3~4年間のKSM剤の連用、多回数使用により出現、急増したものと推察され、この結果、KSM剤の防除効果が低下したものと結論した。一方、このような耐性菌対策としては、次のような対策が必要であると結論した。

①庄内地方のようにKSM剤の効果減退が認められた地域では、KSM剤およびその混合剤の使用はKSM剤の効果が回復する(耐性菌分布密度10%以下に低下する)まで停止する。

②KSM剤の使用停止後、耐性菌の分布密度が減少し、再度KSM剤を使用する場合には、KSM剤およびその混合剤(ブラストサイジンS剤も含む)の連用は避け、他のいもち病防除剤と組合せて使用し、その使用回数は前者で2回以内、後者で3回以内にとどめる。

③KSM剤の効果が認められる地域でも、KSM剤の連用、多回数使用は避け、他の薬剤と組合せて計画的な防除を行う。なお、他のいもち病防除も有効成分が同じ薬剤や交差耐性関係にある薬剤についても、連用は避ける必要がある。

審 査 結 果 の 要 旨

本研究は、1971年山形県下で発生した抗生物質剤のカスガマイシン剤（KSM剤）のいもち病に対する効果減退の原因を解明するとともに、耐性菌の出現要因、その生態および各種薬剤の防除効果について検討し、もっていもち病防除法を確立する目的で実施された。

KSM剤の効果が低下した庄内地区からの分離菌はKSM 6 2.5 ppm の濃度下でも生育可能な耐性菌であった。これら耐性菌は内陸地方にはみられなかった。このように耐性菌が庄内地方で特異的に増加した理由は、同地区におけるKSM剤による防除回数が内陸地方に比べて多いことによると推察された。

KSM剤の使用停止後の耐性菌の推移をみると、停止1年目に急激に減少するが、その後は漸減し、停止5年目で耐性菌は殆どみられなくなる。耐性菌の密度が10%以下に低下した地域では、KSM剤の使用を2回以内に止めれば、耐性菌の増大を阻止できることを明らかにした。

次に、耐性菌の増加原因を探索した結果、突然変異で出現した耐性菌が、KSM剤の多数回連続使用による淘汰に起因し、さらにいもち病の激発がこれを助長すると推測された。

耐性菌の検定法として、阻止円法や菌叢生育法の他に、病斑上の孢子からの菌叢生育変法や組織分離法が簡易検定法として利用可能であった。KSM剤耐性菌は他の薬剤EDDP、IBP およびフサライドとの交差耐性は認められない。また、菌叢発育速度、分生孢子形成数、病斑数および病斑長などを指標とする病原力、更に越冬力については、耐性菌と感受性菌との間に著しい差異は認められなかった。耐性菌は28℃以上の高温で培養すると、耐性の消失がみられ、自然界でも同様な現象が起こるものと推察した。

以上の結果から、著者はカスガマイシン剤耐性菌に関する多くの知見に基づき、耐性菌出現防除に留意したいもち病防除法を確立した。ここに本論文は農学博士の学位を与えるに充分であると判断した。