

植物防疫

昭和五十四年五月二十五日
第三九卷第二十九号
植物防疫会
第九五五五号

1975

5

VOL 29

特集 薬剤耐性菌

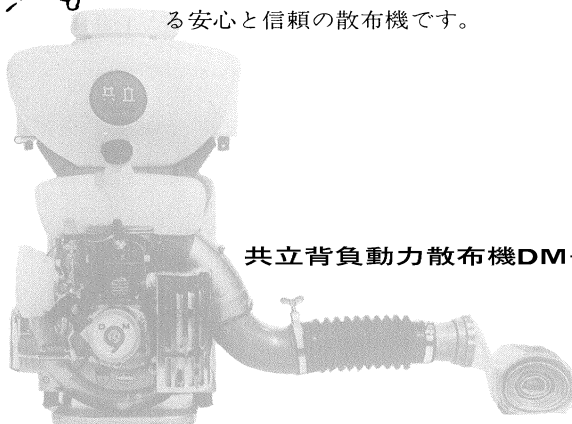
DM-9は小形の大農機



うまい米づくりの近道はDMによる適期適確な本田管理です。

DM-9は…防除はもちろんお任せ下さい。
防除マスクがついています。
除草剤が散布できます。
施肥——粒状肥料が散布できます。

散布作業がラクラクできるDM-9は、この他驚くほど幅広く、効率的に利用できる安心と信頼の散布機です。



共立背負動力散布機DM-9



株式
会社 **共立**



共立エコ物産株式会社

〒160 東京都新宿区西新宿1-11-3 (新宿Kビル) ☎03-343-3231(代表)

共立エコグループ

斑点落葉病、黒点病、赤星病防除に

モルタス

斑点落葉病、うどんこ病、黒点病の同時防除に

アアルサン



大内新興化学工業株式会社

〒103 東京都中央区日本橋小舟町1-3-7



新抗生物質殺ダニ剤!!

マイトサイジン®B乳剤

- 茶・リンゴ・花のハダニ類に適確な効果を発揮します。
- 各種薬剤に抵抗性のハダニにも有効です。
- 茶の開葉期、リンゴの旭種他にも薬害がなく安心して使用できます。
- ボルドー液や各種殺菌剤・殺虫剤と混用ができ、使用が便利です。
- 毒性が比較的 low、天敵・有用昆虫に影響の少ない薬剤です。
- 天然化合物利用のため土壌に入ると分解が早く環境汚染の少ない薬剤です。

今年のいもち病
防除も

ホムラフサイド®粉剤

茶・タバコの殺線虫、
生育促進に

ネマモール®粒剤



中外製薬株式会社

東京都千代田区岩本町1-10-6
TMMビル TEL 03(862)8251

種子から収穫まで護るホクコー農薬



種もみ消毒はやりなおしが出来ません

★ばかなえ病・いもち病・ごまはがれ病に卓効

デュポン **ベンレート**® 水和剤20

効めの長い強力殺虫剤

★アブラムシからヨトウムシまで、これ一発でOK

安全・卓効・省力《新型浸透性殺虫剤》

ホクコー **オルトラン** 粒剤 水和剤



いもち病に **カスラサイド**® 粉剤・水和剤

果樹・野菜の各種病害に **トップジンM** 水和剤



北興化学工業株式会社
東京都中央区日本橋本石町4-2 ☎103
支店:札幌・東京・名古屋・大阪・福岡

《新発売》キャベツ・さつまいも畑の除草に **プラナビアン**® 水和剤

MOとの体系除草に(ウリカワにも) **グラキール** 粒剤 1.5/2.5

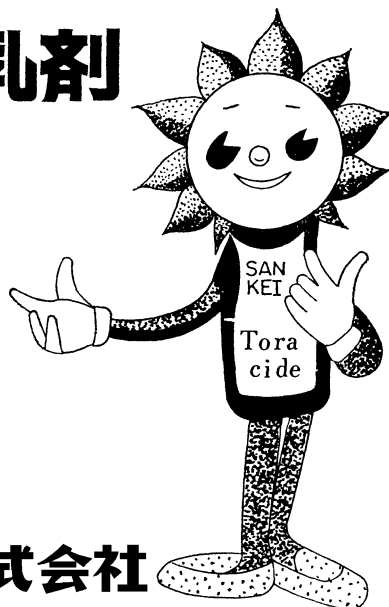
農家のマスコットサンケイ農薬

お宅のブドウ園、あなたの桑園は私がガッチリ守ります。

私の名前は **トラサイド乳剤**
御存知

私の特長は

- 穿孔性害虫に卓効があります。
- 浸透力が強く燻蒸作用もあります。
- 残留毒性の心配がありません。
- 低毒性で安心して使用できます。



サンケイ化学株式会社

本社 〒890 鹿児島市郡元町 8 8 0 (0992)54-1161(代)
 東京事業所 〒101 東京都千代田区神田司町 2-1 神田中央ビル (03)294-6981(代)
 大阪営業所 〒555 大阪市西淀区柏里 2 丁目 4-33 中島ビル (06)473-2010
 福岡出張所 〒810 福岡市中央区西中洲 2-20 (092)771-8988(代)

特集：薬剤耐性菌

我が国における薬剤耐性植物病原菌の発生の実態	飯田 格	1	
諸外国における薬剤耐性植物病原菌の発生と研究の現状	上杉 康彦	5	
医薬領域における耐性菌研究の現状	{三橋 進 川辺 晴英}	11	
カスガマイシン耐性イネいもち病菌の発生と対策	三浦 春夫	21	
チオファネート及びベノミル耐性リンゴ黒星病菌の発生と対策	沢村 健三	25	
ポリオキシン耐性ナシ黒斑病菌の発生と対策	宇田川英夫	27	
ベノミル耐性灰色かび病菌の野菜における発生と対策	山本 磐	32	
オキシカルボキシン耐性キク白さび病菌の発生と対策	我孫子和雄	35	
薬剤耐性植物病原細菌の発生と対策	高橋 幸吉	37	
薬剤耐性菌の検定法	桜井 寿	44	
新しく登録された農薬 (50.3.1~3.31)		43	
中央だより	51	協会だより	51
学界だより	31	人事消息	34, 52
短 信	31		

豊かな稔りにバイエル農薬



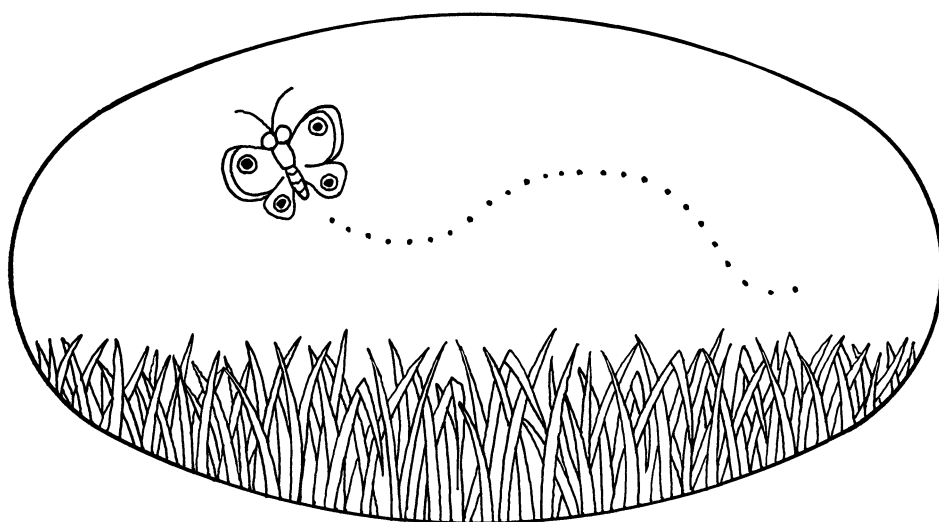
説明書進呈



日本特殊農薬製造株式会社
東京都中央区日本橋室町2-8 103



自然環境を守り、
もんがれ病を防ぐ安全農薬!



バリダシン[®] 粉剤 液剤

- もんがれ病菌の病原性をなくさせる
- 稲に薬害がなく増収効果が高い
- 稔実障害・減収・穂発芽助長など悪影響はありません
- 人・畜・蚕・魚・天敵に極めて安全
- 米にも土にも残らない

●いもち病・もんがれ病の同時防除剤

ラフサイド[®]バリダシン[®] 粉剤

●水田害虫の総合防除に

パタン[®] 粒剤 4 **パタン[®] ミフシン[®] 粒剤** **武田パタン[®] バツサ[®] 粒剤**

●そ菜の害虫に

パタン[®] 水溶剤 **武田 オルトラン[®] 水和剤 粒剤**

●園芸作物の基幹防除に

武田 ダコニール[®]

●そ菜・果樹病害に

デュポン ベンレート[®] 水和剤

●あらゆる雑草を速かに枯す

武田 グラモキソン[®]

●畑の雑草防除に

トレファルサイド[®] 乳剤

我が国における薬剤耐性植物病原菌の発生の実態

—全国アンケート調査結果より—

千葉大学園芸学部 ^{いい}飯 ^だ田 ^{わたる}格

はじめに

害虫及びダニ類の有機殺虫剤に対する抵抗性は薬剤使用後間もなく発生し、防除上大きな問題となっている。それに反し、植物病原菌では懸念されてはいたが、比較的最近まで薬剤耐性は防除上それほど問題でなかった。しかるに、ごく最近に至って、有機殺菌剤に対する耐性菌の出現とみられる効力の低下が発生し、病害防除上大きな問題となってきた。

そこで日本植物防疫協会が中心となって全国における薬剤耐性についてのアンケート調査が行われた。アンケートは全国の農業試験場、園芸試験場、果樹試験場、茶業試験場、蚕糸試験場、タバコ試験場、大学を対象とし、調査項目としては、①薬効が低下した原因として薬剤耐

性菌が出現したと考えられる事例があるか、②耐性菌が出現したと思われる場合の薬剤名、作物名、病名、病原菌名、罹病部、発生地、③調査結果から耐性菌が見つかったか、④耐性菌が発見された場合の試験方法とその結果、薬剤使用の実態（使用開始年、多用年、年間使用回数、効力低下が認められた年、調査年月日）、⑤薬剤耐性菌対策などである。160の調査票を送り、98の回答が得られた。以下その概要について記することとした。

I どんな病害に対してどのような薬剤の効力が低下したか

効力低下が薬剤耐性菌の出現に基づくと考えられるものについて第1表に示した。

表からみられるように、ポリオキシシン剤に対してはナ

第1表 薬効低下の原因として薬剤耐性菌の出現によると考えられる例

薬 剤	件数	病 名	病 原 名
ポリオキシシン剤	10	ナシ黒斑病 リンゴ斑点落葉病 イチゴ灰色かび病	<i>Alternaria kikuchiana</i> TANAKA <i>Alternaria mali</i> ROBERT <i>Botrytis cinerea</i> FRIES
チオファネート剤	15	キュウリ・メロンうどんこ病 キュウリ灰色かび病 ナスうどんこ病 イチゴうどんこ病 リンゴ黒星病 温州ミカン青かび病 温州ミカン緑かび病	<i>Sphaerotheca fuliginea</i> (SCHLECH.) POLLACCI <i>Botrytis cinerea</i> FRIES <i>Erysiphe cichoracearum</i> DE CANDOLLE <i>Sphaerotheca humuli</i> (DE CANDOLLE) BURRILL <i>Venturia inaequalis</i> (COOKE) WINTER <i>Penicillium italicum</i> WEHMER <i>Penicillium fructigenum</i> TAKEUCHI
ベノミル剤	7	キュウリ・メロンうどんこ病 ナスうどんこ病 リンゴ黒星病 キュウリ灰色かび病	<i>Sphaerotheca fuliginea</i> (SCHLECH.) POLLACCI <i>Erysiphe cichoracearum</i> DE CANDOLLE <i>Venturia inaequalis</i> (COOKE) WINTER <i>Botrytis cinerea</i> FRIES
オキシカルボキシシン剤	6	キク白さび病	<i>Puccinia horiana</i> P. HENNINGS
ストレプトマイシン剤	5	タバコ野火病 クワ縮葉細菌病	<i>Pseudomonas tabaci</i> (WOLF et FOSTER) STEVENS <i>Pseudomonas mori</i> (BOYER et LAMBERT) STEVENS
カスガマイシン剤	1	イネいもち病	<i>Piricularia oryzae</i> CAVARA
DPC 剤	1	キュウリ・メロンうどんこ病	<i>Sphaerotheca fuliginea</i> (SCHLECH.) POLLACCI
キノキサリン剤	3	キュウリうどんこ病 ナスうどんこ病	<i>Sphaerotheca fuliginea</i> (SCHLECH.) POLLACCI <i>Erysiphe cichoracearum</i> DE CANDOLLE
モレスタン剤	1	キュウリうどんこ病	<i>Sphaerotheca fuliginea</i> (SCHLECH.) POLLACCI
ホルマリン剤	1	カイコこうじかび病	<i>Aspergillus flavus</i> LINK

シ黒斑病, リンゴ斑点落葉病, イチゴ灰色かび病, チオファネート剤に対してはキュウリ・メロンのうどんこ病, キュウリ灰色かび病, ナスうどんこ病, リンゴ黒星病, 温州ミカン青かび病, 温州ミカン緑かび病, ベノミル剤に対してキュウリ・メロンのうどんこ病, ナスうどんこ病, リンゴ黒星病, キュウリ灰色かび病, オキシカルボキシシン剤に対してキク白さび病, ストレプトマイシン剤に対してタバコ野火病, クワ縮葉細菌病, カスガマイシン剤に対してイネいもち病, DPC 剤に対してメロンうどんこ病, キノキサリン剤に対してキュウリ・メロンのうどんこ病, モレスタン剤に対してキュウリ・メロンのうどんこ病, ホルマリン剤に対してカイコのこうじかび病などが耐性菌出現による効力低下が認められたものである。

効力低下の事例の多い薬剤としてはチオファネート剤, ポリオキシシン剤, ベノミル剤, キノキサリン剤, ストレプトマイシン剤などがあげられる。対象病害としてはうどんこ病類及び灰色かび病に対し多くの薬剤の効力低下がみられた。

実際防除上問題となっている薬剤と病害としては, ナシ黒斑病及びリンゴ斑点落葉病に対するポリオキシシン剤, リンゴ黒星病, 野菜のうどんこ病類及び灰色かび病に対するチオファネート剤, ベノミル剤, キク白さび病に対するオキシカルボキシシン剤, タバコ野火病及びクワ縮葉細菌病に対するストレプトマイシン剤, イネいもち病に対するカスガマイシン剤などである。これらの薬剤はいずれもそれぞれの病害に対して, 使用当初は優れた効果を示したもので, 優れた薬剤として使用され, すずめられていたものである。しかるに, 最近に至って効力の低下が目立ち, 問題となったものである。これらの薬剤以外にも効果の低下が目立ち始めた薬剤があるやに聞いているので, 更に今後拡大されるのではないかとと思われる。

II 耐性菌に対する試験法

殺菌剤の効力低下が耐性菌の出現によるものかどうかを判定するためには種々の方法がとられている。それにはまず, 効力の低下がみられた地帯あるいはほ場から病原菌を分離し, その菌と, 効力の低下のみられないほ場あるいは地帯からの菌, あるいは薬剤の洗礼を受けない菌との薬剤に対する抵抗性が比較される。試験方法は病原菌の種類によって多少異なる点はあるが, 条件的寄生菌(人工培養ができる菌)では薬剤添加培地上における菌糸発育試験あるいは阻止円法などがとられている。すなわち, 種々の濃度の薬剤を含む培地に供試菌と対照菌

とを植え付け, 発育阻止濃度あるいは発育抑制濃度を比較し検討することが行われている。阻止円法は供試菌を均一に接種した寒天平板上にシリンダーを立てて薬液を注ぎ込むか, ペーパーデスクに薬液をしみこませておき, 菌の生育阻止円を測定し, 対照菌に対する阻止円の大きさを比較して判定する方法である。

効力の低下がみられる地帯及びほ場からの分離菌と対照菌とを用い, 薬剤添加培地あるいは薬剤を散布したスライドガラス上における孢子発芽の比較, 薬剤を散布した幼植物に対する接種試験は条件的寄生菌及び絶対寄生菌(人工培養のできない菌)の耐性菌について行われる方法である。更に, 実際栽培しているハウスあるいはほ場における薬剤散布試験を行い効果を比較する方法がとられている。現在我が国で耐性菌について行われている試験方法を第2表に示した。

耐性菌かどうかの判定は難しいが, 一般には普通の使用濃度では阻止されないか, 抑制される場合, あるいは実際の防除効果がほとんどみられない場合に耐性菌として判定されている。

III 薬剤使用開始から効力の低下が認められた年数と散布回数

薬剤使用開始後効力低下が認められた年数は薬剤及び病害の種類によって異なっている。第3表からみられるように, ナシ黒斑病に対するポリオキシシン剤では3~6年, 平均4.5年, しかし, リンゴ斑点落葉病では使用開始1年で既に効力の低下がみられている。チオファネート剤は病害の種類によって異なり, ウリ類うどんこ病では1~3年, 平均2年, キュウリ灰色かび病では1年, イチゴ灰色かび病では3~4年, 平均3.5年, リンゴ黒星病では2年, ナスうどんこ病では3年である。ベノミル剤はキュウリうどんこ病に対して3年, オキシカルボキシシン剤はキク白さび病に対して1~3年, 平均2年, ストレプトマイシン剤はタバコ野火病に対して2~3年, 平均2年, カスガマイシン剤はイネいもち病に対して5年, キノキサリン剤はキュウリうどんこ病に対して2年, ホルマリンはカイコのこうじかび病に対して20年においてそれぞれ効力の低下がみられている。以上のように使用開始から効力低下が認められた年数は長いもので5~6年, 短いものでは1年で効力の低下がみられている。

次に散布回数についてみると, ナシ黒斑病に対するポリオキシシンの散布回数は5~25回, 平均11回, リンゴ斑点落葉病には7回, チオファネート剤のウリ類うどんこ病には10~20回, 平均15回, イチゴ灰色かび病で

第2表 薬剤耐性菌についての試験法

薬 剤	試 験 方 法	病 名
ポリオキシシン剤	薬剤添加培地における菌糸発育試験 薬剤添加培地における分生胞子発芽試験 薬剤散布試験	ナシ黒斑病, リンゴ斑点落葉病 ナシ黒斑病 リンゴ斑点落葉病, イチゴ灰色かび病
チオファネート剤	薬剤添加培地における菌糸発育試験 薬剤散布後病原菌接種 薬剤散布試験	キュウリ灰色かび病 ミカン青かび病, ミカン緑かび病 キュウリ・メロンうどんこ病
ペノミル剤	薬剤添加培地における菌糸発育試験 薬剤散布後病原菌接種	キュウリ灰色かび病 キュウリ・メロンうどんこ病
オキシカルボキシシン剤	薬剤添加培地における冬胞子小生子発芽試験 薬剤添加培地における冬胞子小生子形成試験	キク白さび病 〃
ストレプトマイシン剤	薬剤添加培地における菌発育試験 薬剤散布試験	タバコ野火病, クワ縮葉細菌病 タバコ野火病
カスガマイシン剤	薬剤添加培地における菌糸発育試験 寒天拡散法 (阻止円法)	イネいもち病 〃
DPC剤	薬剤散布試験	メロンうどんこ病
ホルマリン剤	薬剤添加培地における菌糸発育試験 薬剤浸漬後培養試験	カイコこうじかび病 〃

第3表 薬剤使用開始から効力低下が認められた年数と散布回数

薬 剤	年 数		散 布 回 数		病 名
	幅	平 均	幅	平 均	
ポリオキシシン剤	3~6 1	4.5 1	5~25 7	11 7	ナシ黒斑病 リンゴ斑点落葉病
チオファネート剤	1~3 1 3~4 2 3	2 1 3.5 2 3	10~20 5~9 8~12 22~23 8~12	10 6.5 10 22 10	キュウリ・メロンうどんこ病 キュウリ灰色かび病 イチゴ灰色かび病 リンゴ黒星病 ナスうどんこ病
ペノミル剤	3	3	8~12	10	キュウリうどんこ病
オキシカルボキシシン剤	1~3	2	5~17	9	キク白さび病
ストレプトマイシン剤	2~3	2	7~8	7	タバコ野火病
カスガマイシン剤	5	5	4~5	4.5	イネいもち病
ホルマリン剤	20	20	3~4	3.5	カイコこうじかび病
キノキサリン剤	2	2	5~10	7.5	キュウリうどんこ病

は8~12回, 平均10回, リンゴ黒星病では22~23回, 平均22回, ナスうどんこ病では8~10回, 平均10回, キュウリ灰色かび病では5~9回, 平均6.5回, ペノミル剤のウリ類うどんこ病では8~12回, 平均10回, カルボキシシン剤のキク白さび病では5~17回, 平均9回, ストレプトマイシン剤のタバコ野火病では7~8回, 平均7回, カスガマイシン剤のイネいもち病では4~5回,

平均4.5回, キノキサリン剤のキュウリうどんこ病では5~10回, 平均7.5回, ホルマリン剤のカイコこうじかび病では3~4回, 平均3.5回の散布が行われている。薬剤及び対象病害によって多少の変動はあるが, 栽培期間中における散布回数はかなり多く, かつ連続散布の場合が多い。同一薬剤あるいは作用機作の同じ薬剤の連続使用は耐性菌出現を促進させるといわれているが, 本調

第4表 薬剤耐性菌の病害に対する薬剤使用法

薬 剤	病 名	薬 剤 の 使 用 法
ポリオキシシン剤	ナシ黒斑病 リンゴ斑点落葉病	ポリオキシシン単用及び連続使用を避ける 有機銅剤, モノックス, チオファネート剤の混用 ダイホルタン剤, 有機銅剤, その他薬剤との交互使用
	イチゴ灰色かび病	スルフェン酸系剤, キャプタン剤の使用 他剤との交互使用
チオファネート剤	キュウリうどんこ病 イチゴ灰色かび病	キノキサリン系剤, DPC 剤, TPN 剤の使用 ポリオキシシン剤との混用, 他剤との交互使用
	リンゴ黒星病	ジネブ剤, キャプタン剤の使用
ベノミル剤	キュウリうどんこ病	キノキサリン剤, CECA 剤の使用
オキシカルボキシシン剤	キク白さび病	オキシカルボキシシン剤の連続使用を避ける アンバム剤, マネブ剤の使用
カスガマイシン剤	イネいもち病	EDDP 剤, IBP 剤, プラストサイジン S 剤の使用 他の薬剤との交互使用
キノキサリン剤	キュウリうどんこ病	ポリオキシシン剤, ベノミル剤の使用

査の結果もそのようなことがうかがわれる。

使用后1年目で効力の低下のみられた薬剤の対象病害に対する散布回数は必ずしも多くない。初めから耐性菌が存在していたのかどうかは明らかでない。この点は今後検討してみる必要がある。

IV 薬剤耐性菌に対する対策

病害の薬剤防除上薬剤耐性菌の出現を防いだり、耐性菌が出現した場合の防除は極めて重要なことである。ことに今後新殺菌剤の開発がますます困難な情勢となっていくことを考えると、耐性菌に対する対策はますます重要となろう。

単一薬剤あるいは作用機作の同じ薬剤の連用は耐性菌の出現を促進するといわれているので、他の薬剤との交互使用は耐性菌出現を低下させるのに有効である。できれば、作用機作の異なる薬剤、4薬剤の交互使用が望ましい、もし、耐性菌の出現が確認されたならば、その薬

剤はもちろん、同じ作用機作をもつ薬剤の単用及び連続使用を避け、他薬との混用あるいは交互使用することであり、それは耐性菌の密度を低下させるのに役立つ。これらの対策は本調査においても実行されていることが分かる。

おわりに

数年前までは主として実験室内において、薬剤耐性菌の基礎的研究がなされており、実際防除上ではほとんど問題となっていなかった。しかるに、前述したように、いまや、耐性菌は実際防除上問題となってきた。おそらく、今回の報告以外にも耐性菌の出現によると思われる効力低下の事例があると思われる。そして、この問題はますます増大するのではないかとも思われる。今後更に詳しい調査を行い、実態を把握するとともに、種々の面から研究を進め、早く対策が立てられることを期待するものである。

次号予告

次6月号は下記原稿を掲載する予定です。
オンシツコナジラミに関する研究の現状と問題点
中沢啓一・林 英明
侵入害虫イチゴコナジラミの発生 宮武 頼夫
野菜・果樹を害するミバエ類 尊田望之・梅谷献二
コガネムシ類の多発生の原因 吉田 正義

ナスの新病害
すずかび病 齋藤 正
すず斑病 吉野 正義
イネいもち病の疫学的研究の現状と問題点 加藤 肇
農業害虫の殺虫剤抵抗性の実態 浅川 勝

定期購読者以外の申込みは至急前金で本会へ

1部 260円 送料 16円

諸外国における薬剤耐性植物病原菌の発生と研究の現状

農林省農業技術研究所 うえ すぎ やす ひと
 上 杉 康 彦

はじめに

植物病原菌の薬剤耐性が実際問題として世界的に非常に重要になったのは最近5年くらいのことである。その間、各国の技術者、研究者の手で、調査、研究、対策が急速に進められている。我々の現在までに得られる海外の情報は文献として現れるものと、わずかな研究者間の通信のみである。昨 49 年秋 ワーゲニンゲン大学の

DEKKER 教授が来日されて情報交換⁶⁴⁾ができたことは薬剤耐性菌研究者にとって大きな収穫であり、刺激であり、また、喜びであった。アメリカの優れた多数の研究者、ギリシャの GEORGOPOULOS らとも多くの意見交換や討論が望まれる。このように海外情勢の認識不足の状態であるから、本文も誠に皮相的、表面的にならざるを得ない点御寛容をいただきたい。

なお、この問題の優れた総説として、GEORGOPOULOS

宿主上における薬剤耐性菌発生例

菌 名	宿 主	病 名	薬 剤	発 生 地 域	文 献
<i>Botrytis cinerea</i>	シクラメン	灰色かび病	benomyl	オランダ	6
〃	キク	〃	〃	アメリカ・カリフォルニア	68
<i>Cercospora arachidicola</i>	ラッカセイ	褐斑病	〃	アメリカ・ジョージア	38
<i>C. atachidicola</i> , <i>C. personata</i>	〃	〃, 黒渋病	〃	〃	7
<i>Cercospora apii</i>	セルリー	斑点病	〃	〃 南アラバマ	3
〃	〃	〃	〃	〃 フロリダ	3
<i>Cercospora beticola</i>	テンサイ	褐斑病	〃	ギリシャ北部	19
〃	〃	〃	〃	アメリカ・北テキサス	45
<i>Cochliobolus carbonum</i>	トウモロコシ	Leaf spot	cycloheximide	世界各地	40
〃	〃	〃	cadmium	〃	40
〃	〃	〃	succinate	〃	41
〃	〃	〃	thiram	〃	41
<i>Colletotrichum musae</i>	バナナ	Crown rot	benomyl	西インド諸島	22
<i>Erysiphe graminis</i>	シバ	うどんこ病	〃	アメリカ・ミシガン	65
<i>Fusarium oxysporum</i>	グラジオラス	フザリウム, 腐敗病	benomyl, thiabendazole	カリフォルニア, フロリダ	45
<i>Penicillium brevicompactum</i>	シクラメン	Dry rot	benomyl	オランダ	4
<i>Penicillium corymbiferum</i>	ユリ	〃	benomyl	オランダ	4
<i>Penicillium digitatum</i>	カンキツ	緑かび病	thiabendazole	アメリカ・フロリダ	57
<i>P. digitatum</i> , <i>P. italicum</i>	〃	緑かび病, 青かび病	thiabendazole	アメリカ・カリフォルニア	25
<i>Physalospora obtusa</i>	リンゴ	黒腐病	ボルドー液	アメリカ・ジョージア	61
<i>Pseudomonas syringae</i>	モモ	〃	streptomycin	ニュージーランド	12
<i>Pseudomonas tabaci</i>	タバコ	野火病	〃	南ローデシア	9
<i>Rhizoctonia solani</i>	ワタ	腰折病	quintozene	ルイジアナ, アーカンサス	56
<i>Sclerotinia homoeocarpa</i>	シバ	Dollar spot	thiram	アメリカ・ペンシルバニア	8, 46
〃	〃	〃	anilazine	アメリカ・イリノイ	48
〃	〃	〃	benomyl	アメリカ各地	21, 67
〃	〃	〃	cadmium succinate	アメリカ・ペンシルバニア	8, 46
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	マスクメロン	黒腐菌核病	benomyl	イスラエル	47
<i>Sclerotium cepivorum</i>	タマネギ	〃	dicloran	アメリカ・ワシントン州	39
<i>Sphaerotheca fuliginea</i>	キュウリ	うどんこ病	dimethirimol	〃	1
〃	ウリ類	〃	benomyl	アメリカ・ニューヨーク州	54, 55
<i>Tilletia foetida</i>	コムギ	なまぐさ黒穂病	hexachlorobenzene	オーストラリア	34
<i>Venturia inaequalis</i>	リンゴ	黒星病	dodine	アメリカ・ニューヨーク州	20, 50, 58, 59
〃	〃	〃	〃	アメリカ	72
〃	〃	〃	benomyl	南オーストラリア	70
<i>Verticillium dahliae</i>	マッシュルーム	バーティシリウム病	〃	アメリカ・ペンシルバニア	71
<i>Xanthomonas dieffenbachia</i>	林 木	Bacterial leaf spot	streptomycin	アメリカ・フロリダ	32

ら¹⁶⁾, DEKKER¹¹⁾ の2編があげられるが、いずれもここ8年以内に出版されているにかかわらず、情勢の進展が急激過ぎるため、内容的には古くなっている。来年版の Annual Review of Phytopathology には DEKKER の総説が予定されていると聞き、期待が持たれる。

I 作物体上での薬剤耐性菌発生例

筆者の目にとまった宿主作物体上での薬剤耐性菌発生例をまとめると前ページの表のとおりである。多くの場合、は場での薬剤効果減退現象から耐性菌の発生に気付いている。この表から、どのような薬剤と病菌の組み合わせで耐性菌が出やすいかの傾向をごく大づかみに知ることができよう。しかし、この表以外にもおそらく多くの薬剤耐性菌が出現していると考えられ、気付かれなかったり、報告されなかった例も多かろう。また、逆に、現在の情勢では薬剤耐性菌出現はニュースにもなり報告にもなるが、調査しても耐性菌の見いだせないときは報告として現れない傾向が強いから、この点にも注意すべきであろう。例えば、ベノミルは耐性菌を作りやすいから全面禁止せよと断ずるのは暴論であって、ベノミルを2年間散布した諸種の果樹から分離した *Monilinia fructicola* と *M. laxa* 計 63 株はすべてベノミル感受性を保っていた例⁶⁰⁾ も知られている。結局、菌の種類、薬剤の種類とその用法の組み合わせによって、薬剤耐性菌出現の難易が決定されるといってよい。表の中にも、10年近く連用してようやく2~4倍の耐性増加を見たドデシルグアニジン耐性リンゴ黒星病菌の例^{20, 58, 59)} から、2年程度の施用で数百倍以上のベノミル耐性増加を見た *Cercospora*^{3, 19)}、更に、ジメチルモルは1回の土壌施用で1シーズンのキュウリうどんこ病防除が可能であるが、それでも菌が急速に耐性化する例⁷⁾などが含まれている。

政治、社会的側面も決して無関係ではなく、ギリシャでベノミル耐性テンサイ褐斑病菌が急激にまん延した¹⁹⁾ 背景には、軍事政権下で使用薬剤が局限された事情があるとの噂である。

II 耐性化の遺伝学的機序

耐性菌発生過程には、菌の変異とそれに続く薬剤による淘汰が考えられているが、菌の変異がどのようにしておこるのであろうか。

リンゴ黒星病菌分離保存株の分生胞子中にはドデシルグアニジン耐性の自然変異株を含み^{43, 44)}、その率は10⁶個に1個の割合である⁴⁴⁾。また、*Fusarium oxysporum* の胞子 8.6×10⁷ 個当たり1個の割合でベノミル耐性株を含んでいる⁵³⁾。分離培養株の多数胞子から短期間の薬剤淘汰

で耐性菌を得た例は灰色かび病菌のジクロラン (CNA) 耐性においても知られている⁶⁹⁾。これら室内で淘汰した株の中には遺伝因子の変化によらないもので、薬剤無添加培地上での培養で元の感性株に戻るような株が含まれている場合もあるが、そのような株を除けば、いずれの場合も遺伝的に安定した性質として薬剤耐性が保たれており、病原力、形態学的性質、生理学的性質などが野生型親株と変わりがなく^{43, 69)}、また、耐性増加の割合もほ場で出現している耐性菌と同程度のものである⁴³⁾。これらの耐性株はほ場において薬剤による淘汰を受けると当然感性株をしのいでまん延することになる。

上記の室内淘汰実験で供試胞子に紫外線 (殺菌燈に使う波長 250 nm 程度のもの) を照射した場合、リンゴ黒星病菌のドデシルグアニジン耐性株出現率は未照射の場合と同等であるが⁴⁴⁾、*F. oxysporum* の場合は照射によってベノミル耐性株出現率は 4.6×10⁵ に1個の割合まで増加し⁵³⁾、同じような変異誘起処理でも耐性化の変異を促進する場合としない場合がある。無処理野生型分離株の淘汰でオオムギ堅黒穂病菌のベノミル耐性株やカルボキシ耐性株²⁾ 及び *Nectria haematococca* のドデシルグアニジン耐性株²⁸⁾ を得ることができなかった場合に、紫外線照射によって変異株を作り、その中からそれら薬剤に対する耐性株を得るように、紫外線やγ線を照射して薬剤耐性変異株を得る手法は欧米では実験室内の研究に多用されている^{2, 17, 27, 28, 29, 30, 36, 64)}。

薬剤自体が耐性株への変異を誘導しているか否かについては、現在まで何の実証もない。室内で得られる *Aspergillus nidulans* の PCNB 耐性菌はテクナゼン (2, 3, 5, 6-テトラクロロニトロベンゼン) に交差耐性を持つので、どちらの薬剤で淘汰しても同じ率で耐性株が出現するはずであるが、PCNBで淘汰したほうが耐性株出現率が高い傾向が観察されているので⁶²⁾、単なる自然変異株の淘汰以外になんらかの要因の存在が暗示される。また、ベノミルなどベンズイミダゾール系薬剤は世界的に使用量が大きいいせもあるが、耐性菌発生例が多い。この原因の一つとして、ベンズイミダゾール系薬剤が大腸菌やサルモネラ菌などの細菌に軽度の変異誘起作用があることから、糸状菌の場合にもこの点が検討されている。現在の結論では糸状菌の染色体上の遺伝子に変異を誘起する性質はないと見られているが²⁶⁾、この薬剤は *A. nidulans* やリンゴ青かび病菌⁴²⁾ など糸状菌の倍数体を半数体にする性質があり、ヘテロ接合倍数体の糸状菌に処理すると、半数体や倍数体の種々の分離株が得られることが知られている。

腸内細菌などでは染色体上の遺伝子によらず、R因子

などのプラスミドによって伝達される薬剤耐性菌が多いことは広く知られているが、このように染色体上の遺伝子によらず、細胞質内の因子による薬剤耐性の例はストレプトマイシン耐性の藻類⁵²⁾やエリスロマイシン耐性の酵母³⁷⁾においても知られているので、植物病原菌の場合にも当然そのような可能性が考えられる。しかし、現在までそのような例のはっきりした実証はないようである。医薬耐性のR因子を植物病原菌の2種の *Pseudomonas* に導入し、実験室的に carbenicillin (ペニシリン類の抗生剤) 耐性とした例⁴⁹⁾はある。

一方、染色体上の遺伝子による薬剤耐性は、完全期の明らかな植物病原菌についてかなり報告が多い。かけ合わせ実験で子孫の分離比の解析など遺伝学的手法から、薬剤耐性が単一遺伝子によるものか2遺伝子以上によるものか、更に染色体上の遺伝子の座についてまで詳しく研究されている例もある。

Nectria haematococca (旧名 *Hypomyces solani*) の PCNB 耐性は3遺伝子が関与しており、そのうち1遺伝子の変異のみでも十分に耐性化すること^{14, 15)}、同菌のドデシルグアニジン耐性化は単一遺伝子の変異で可能であるが²⁸⁾、4遺伝子が関与していること²⁹⁾、トウモロコシ黒穂病菌のクロロネブ (1, 4-ジクロロ-2, 5-ジメトキシベンゼン) 耐性⁶³⁾、同菌のカルボキシ耐性¹⁸⁾はそれぞれ単一遺伝子によること、リンゴ黒星病菌のアンチマイシンA耐性もやはり染色体上の1遺伝子によること³⁶⁾などが明らかとなっている。*A. nidulans* は植物病原菌ではないが、染色体の数やその上の種々の遺伝子の座などが詳しく分かっているため実験材料として使われるが、ベノミル耐性は第2染色体または第8染色体のいずれかの遺伝子の変異でおこり²⁷⁾、PCNB耐性は第3染色体上の2遺伝子が関与し、そのうち1個で十分におこりうること⁶²⁾などが明らかとなっている。

以上の諸例はいずれも実験室内で得た耐性菌についての結果であったが、ほ場に発生した耐性菌についても次のような研究例がある。ドデシルグアニジン耐性リンゴ黒星病菌には少なくとも2遺伝子が関与していることが2例の研究^{50, 72)}で確認されている。また、*Cochliobolus carbonum* のシクロヘキシミド耐性株、コハク酸カドミウム耐性株はそれぞれ1遺伝子によるものである⁴⁰⁾。同菌の TMTD 耐性は何個のどのような遺伝子が関与しているか不明であるが、その薬剤感受性は細胞質によってもある程度影響を受けている可能性がある⁴¹⁾。

III 薬剤感受性の頻度分布

植物病原菌の薬剤感受性の頻度分布 (単に薬剤感受性

分布と呼ばれることが多い) は、耐性菌発生現場における調査事項として最も重要なものの一つである。

最近よくいわれるように、農業用殺菌剤が選択的な作用性のもになったために植物病原菌が耐性を獲得しやすくなったのであるが、これを遺伝学的にいうと、選択性薬剤に対し菌の感受性は1個またはごく少数の遺伝子の変異によって変化するので、その変異株は感性菌の画く感受性頻度分布曲線と離れた所に別個の曲線を画くことになり、外見上も目立つし、実用的にも農作物に致命的な影響を与えることになる。従来からの非選択的薬剤に対する菌の感受性には非常に多くの遺伝子が関与していると見られるので、遺伝子を異にする数菌株が混在しても、菌株ごとの分布曲線が重なり合って菌株間の差を見いだすことが困難となり、また、耐性の増大も外見上ごくわずかずつ進むことになって目立たず、あまり問題にもならなかったと思われる。しかし、リンゴ黒腐病菌の銅剤感受性⁶¹⁾、ワタ腰折病菌の PCNB 感受性⁶⁶⁾などはそれぞれ薬剤施用区においては無施用区のものに比し薬剤感受性が低下していることが明らかにされており、タマネギの黒腐菌核病菌の175分離株につきジクロラン感受性を寒天平板拡散法による生育阻止円直径で測定した結果、同剤2年連用区から分離した2株は他の株の感受性頻度分布から完全に外れていたことが確認されている³⁹⁾。また、TMTD に対する菌の感受性分布曲線のピークの位置や広がり が菌株によって異なることは *Cochliobolus carbonum*⁴¹⁾ や *Sclerotinia homoeocarpa*¹⁶⁾ で知られている。*Nectria haematococca* についてもシフェニル耐性分布曲線の広がり が菌株によって異なることが知られており⁶⁶⁾、このような場合同一薬剤の同種菌に対するD-R曲線 (薬量-反応曲線, 薬量-一致死亡率曲線) の勾配は供試菌株によって当然異なってくるので、D-R曲線の勾配から薬剤の作用を類推する場合に注意を必要とするだろう。

薬剤耐性化に関する遺伝子が1個またはごく少数であれば、耐性菌は1種類かあるいは少数種類に限られるわけで、最近問題となる耐性菌はこの場合が多い、宿主作物体上において2種以上の耐性株 (低位耐性株, 中間型耐性株, 超耐性株などの呼び方で報告されている) が見いだされている例としては、カンキツ緑かび病菌のチアベンダゾール耐性²⁵⁾、ラッカセイ黒渋病菌のベノミル耐性⁷⁾、リンゴ黒星病菌のドデシルグアニジン耐性^{20, 50)}などがあり、特にリンゴ黒星病菌の場合には耐性に関与する2個の遺伝子との関係が検討されている⁵⁰⁾。

実験室的に得た耐性菌についても *N. haematococca* についてドデシルグアニジン耐性に関与する4遺伝子が相

互に作用し合った場合に、より高い耐性が得られると推定されており²⁹⁾、*A. nidulans* のベノミル耐性に関与する2個の遺伝子のうち第8染色体上の遺伝子の変異による耐性株は強い耐性を持ち、第2染色体上の遺伝子の変異による耐性株は比較的弱い耐性である²⁷⁾。更に最近伝えられたところによると、第8染色体上の同一遺伝子の変異株にも、多数を占める強耐性株のほかに中間的耐性株が得られる場合もあるとのことである⁶⁴⁾。

いずれにせよ、薬剤感受性を調査するにあたっては耐性獲得が懸念されている問題の菌株が、薬剤の影響を受けていない野生型菌株群の感受性分布から外れているか否かが一つのポイントであり、更に、分布曲線の上に幾つのピークがどのような位置にあるかがもう一つのポイントとなる。このようなことを検出するのに適切な検定法が重要であるのは、ちょうどガスクロマトグラフで条件を選定して物質間の分離を良くするのと同様である。

IV 交さ耐性

菌が一つの薬剤に耐性を獲得したとき、それと同じ作用の薬剤（ということは化学的にも類似の薬剤）に交さ耐性を示すようになることが多い。しかし、医薬耐性腸内細菌群などに見られる多剤耐性のように、全く別種の薬剤に同時に耐性となるような鮮やかな例は植物病原菌においては知られていない。

ベノミル及びその殺菌性代謝物 MBC、チアベンダゾールなどのベンズイミダゾール系薬剤と、そのものはベンズイミダゾール系ではないが、殺菌性代謝物としてベノミルの場合と共通の MBC を生成するチオファネートメテルの間では、そのうち1剤に耐性になるとほとんどの場合その他の薬剤にも耐性となる。*Aspergillus*²⁷⁾、*Botrytis*^{5,6)}、*Cercospora*^{7,38)}、*Colletotrichum*²²⁾、*Erysiphe*⁶⁵⁾、*Fusarium*⁵³⁾、*Penicillium*^{1,25,57)}、*Sclerotinia*^{21,67)} など、その例は数多くあげられる。しかし、耐性の交さには種々の場合があり、ベノミル耐性菌のチアベンダゾールやフリダゾールに対する交さ耐性がさほど顕著でない *Penicillium*⁴⁾ や *Botrytis*⁶⁾ の例、ベノミルまたはチアベンダゾールで淘汰した耐性株はフリダゾールにも交さ耐性を示すが、フリダゾールで淘汰した株はベノミルやチアベンダゾールには交さ耐性でない *Fusarium* の例⁵³⁾や、更に、ごく特殊の室内実験例では *A. nidulans* の変異株の中にはチアベンダゾールには耐性であってベノミルには逆に感受性となっている、すなわち両剤に関し負相関交さ耐性であるような人為的変異株が得られた例も伝えられている⁶⁴⁾。

PCNB、テクナゼンなどハロゲン置換ニトロベンゼン

類、ジフェニル、フェニルフェノール、ジクロラン、クロロネブなどの間においてはやはり交さ耐性の関係となる場合が多い。*Aspergillus*⁶²⁾、*Botrytis*^{51,60)}、*Fusarium*¹⁵⁾、*Nectria*^{14,15,66)}、*Penicillium*^{15,24)}、*Sclerotium*¹⁵⁾、*Ustilago*⁶³⁾ などにその例がある。

カルボキシシンとオキシカルボキシシンの間で交さ耐性の関係となる菌には2種の *Ustilago* の例が知られている^{2,18)}。そのうち *U. maydis* の実験室的に得たカルボキシシン耐性株のうちあるものがアンチマイシンAに感受性となった例があるが、この負相関交さ耐性を示す変異株はロテノンによっては野生型母株と同様に呼吸阻害をうけるので、呼吸系のうちロテノン作用点とアンチマイシンA作用点との間の過程になんらかの変異がおこっていると見られる。野生型 *U. maydis* は元来アンチマイシンAに非感受性であって、電子伝達系のアンチマイシンA作用点の前段からアンチマイシンA非感受性の呼吸系側路ができていと推定されているが、この変異株にはその側路が欠損していると思われる。しかし、それがなぜカルボキシシン耐性獲得につながるのかは不明であって、呼吸阻害剤といわれるカルボキシシンの詳しい作用機構とともに解明のまつれる点である¹⁷⁾。

V 耐性の薬理学的メカニズム

植物病原菌における薬剤耐性の出現が最近の問題であること、薬剤自体も新しく、その薬理も十分に明らかでないこと、などの理由で研究成果はあまり多くない。

PCNB などに交さ耐性をもつトウモロコシ黒穂病菌のクロロネブ耐性株は感性株に比しクロロネブ吸収の上で差が見られず、両株とも薬剤代謝がほとんど進まない点でも差が見られなかった⁶³⁾。*R. solani* の野生株とそのPCNB耐性株との間でもPCNB菌体内蓄積に差が見られない³³⁾。一方、*A. nidulans* の野生型感性株はPCNB、テクナゼン、ジフェニルなどに耐性を有する株よりテクナゼン吸収が良好で、この吸収能の差が感受性の異なる原因であろうと推定されている⁶²⁾。このように、薬理上、菌体への薬剤吸収、蓄積などが重要な要因と見られる薬剤において種々の場合が報告されており、一般則を見いだすことは困難である。

トウモロコシ黒穂病菌のカルボキシシン耐性株（前述のアンチマイシンA感性株とは異なる）のミトコンドリアのコハク酸脱水素酵素系は、その活性を cell free に抽出する際の挙動が野生型感性株の場合と異なるので、その酵素系の差が薬剤耐性に関連しているのではないかと想像されている¹⁸⁾。

ベノミルの殺菌作用はその殺菌性代謝生産物 MBC

が、ちょうど高等植物におけるコルヒチンの作用に似て、糸状菌の有糸核分裂を阻害することにより²³⁾、それは紡錘体生成の阻害によるとされている¹⁰⁾。*A. nidulans* を用いた実験では、紡錘体を構成するタンパク質サブユニットに MBC が結合して紡錘体生成を阻害するのであるが、耐性株ではそのタンパク質サブユニットに対する MBC の親和性が低下していると伝えられている⁶⁴⁾。

VI 耐性菌の性質、生態

耐性菌の宿主作物に対する病原力や菌自体の生育が感性菌に比較して劣る場合と同等の場合とがそれぞれ多数報告されていて、これらを個々に述べる余裕はない。病原力や生育の低下が遺伝子的に多少とも薬剤耐性と関連があると推定される PCNB 耐性 *N. haematococca* の例¹³⁾ やアンチマイシン A 耐性のリング黒星病菌の例³⁶⁾ も報告されているが、一方、*N. haematococca* のドデシルグアニジン耐性の人為的変異株の病原力が弱い点について、病原力を支配する遺伝子と薬剤耐性を支配する遺伝子とは全く独立していることも報告されている³⁰⁾。

いずれにせよ、耐性株の生育や病原力が非常に劣るようならばほ場で問題となる可能性は少ないが、野生型株と同等ならば問題となるだろう。

自然変異によって耐性株が生成するならば、その薬剤の使用以前から耐性株出現が可能であったにもかかわらず、それがなかったのは感性株に対する競合能力が劣っていたと考えざるをえない。感性株と耐性株との混合培養で耐性株の競合能力の劣勢が証明された例もあるが²⁾、この関係がそれほど一般的に顕著に成立するとも思われない。何となれば前述したような多くの遺伝学的研究例で分離比を測定する場合、耐性株と感性株の間に培地上で著しい競合現象があれば実験の意義が失われるはずであるからである。

必ずしも普遍的な現象ではないかもしれないが、薬剤耐性菌が薬剤施用宿主作物上によく生育するが、無処理宿主上には生育し難い現象、すなわち生育の薬剤依存性の傾向を示す報告は、ベノミル耐性シバダラスポット病菌⁶⁷⁾ やジクロラン耐性灰色かび病菌³⁵⁾ などで見られている。このような場合は薬剤施用により感性菌との競合関係が耐性菌に急激に有利になり、耐性菌出現が非常に容易になるが、一方、その薬剤使用中止により耐性菌防除は容易となるはずである。

最近伝えられたところによると、キュウリうどんこ病菌やテンサイ褐斑病菌においては、ベノミル耐性菌と感性菌を薬剤無施用宿主作物に混合接種すると、耐性菌混在率が減少して行く現象が観察されており、薬剤無施用

の宿主上では耐性菌の感性菌に対する競合能力が劣る場合が多いように思われる⁶⁴⁾。

ほ場における耐性菌発生経過に関する生態観察の報告も比較的少ないが、耐性菌による病斑率が増加することにより薬剤効力減退が進む場合³⁸⁾ と、いったん中間型耐性株を経て次いで高度耐性株が多くなる場合⁷⁾ とが報告されている。

おわりに

ここ数年の海外からの報告を中心に、急速な事態の進展状況とそれに対する調査、研究の急激な進歩について述べた。我が国でもかなり早い時期からこの問題に強い関心をお持ちの技術者、研究者が少なくなく、関係の方々の暖い支援もいただいているが、我が国では新しい事態に対する対応がおくれがちとなることも否めない。その原因の一つは、研究の積み重ねが必要なこのような問題は早いうちから経常的な研究としてとりあげる必要があるにかかわらず、現実に苦境に直面するまではとりあげられにくいためであろう。前述の DEKKER 教授の主宰されるワーゲニンゲン大学の植物病理学教室では、既に 10 年前からこの問題に取り組み、現在 20 人をこえる教室メンバーのうち約半数がこの問題の研究にあっているとのことである。

引用文献

- 1) BENT, K. J. et al. (1971) : Proc. 6th Brit. Ins. Fung. Conf. pp. 274~282.
- 2) BEN-YEPHET, Y. et al. (1974) : Phytopathology 64 : 51~56.
- 3) BERGER, R. D. (1973) : Pl. Dis. Repr. 57 : 837~840.
- 4) BOLLEN, G. J. (1971) : Neth. J. Pl. Path. 77 : 187~193.
- 5) ——— (1972) : ibid. 78 : 55~64.
- 6) ——— et al. (1971) : ibid. 77 : 83~90.
- 7) CLARK, E. M. et al. (1974) : Phytopathology 64 : 1476~1477.
- 8) COLE, H. et al. (1968) : ibid. 58 : 683~686.
- 9) COLE, J. S. (1960) : Ann appl. Biol. 48 : 291~298.
- 10) DAVIDSE, L. C. (1973) : Pest. Biochem. Physiol. 3 : 317~325.
- 11) DEKKER, J. (1972) : "Systemic Fungicide" edited by R. W. Marsh, pp. 156~174, published by Longman.
- 12) DYE, M. H. (1958) : N. Z. J. Agr. Res. 1 : 44~50.
- 13) GEORGOPOULOS, S. G. (1963) : Phytopathology 53 : 1081~1085.
- 14) ——— (1963) : ibid. 53 : 1086~1093.
- 15) ——— et al. (1965) : Can. J. Botany 43 : 765~775.
- 16) ——— et al. (1967) : Ann. Rev. Phytopath. 5 : 109~130.

- 17) ——— et al. (1970) : J. Bactriol. 103 : 745~750.
- 18) ——— et al. (1972) : *ibid.* 110 : 809~817.
- 19) ——— et al. (1973) : Pl. Dis. Repr. 57 : 321~324.
- 20) GILPATRICK, J. D. et al. (1974) : *Phytopathology* 64 : 649~652.
- 21) GOLDENBERG, et al. (1973) : *ibid.* 63 : 201~202.
- 22) GRIFFEE, P. J. (1973) : *Trans. Br. mycol. Soc.* 60 : 433~439.
- 23) HAMMERSCHLAG, R. S. et al. (1972) : *Pest. Biochem. Physiol.* 3 : 42~54.
- 24) HARDING, P. R. (1962) : Pl. Dis. Repr. 46 : 100~104.
- 25) ——— (1972) : *ibid.* 56 : 256~260.
- 26) HASTIE, A. C. (1970) : *Nature* 226 : 771.
- 27) ——— et al. (1971) : *J. Gen. Microbiol.* 67 : 371~373.
- 28) KAPPAS, A. et al. (1968) : *Experimentia* 24 : 181~182.
- 29) ——— et al. (1970) : *Genetics* 66 : 617~622.
- 30) ——— et al. (1971) : *Phytopathology* 61 : 1093~1094.
- 31) ——— et al. (1974) : *Mutation Research* 26 : 17~27.
- 32) KNAUSS, J. F. (1971) : *Phytopathology* 61 : 898~899.
- 33) KO, W. (1968) : *Phytopathology* *ibid.* 58 : 1715~1716.
- 34) KUIPER, J. (1965) : *Nature* 206 : 1219~1220.
- 35) LANKOW, R. K. (1971) : *Phytopathology* 61 : 900.
- 36) LEBEN, C. et al. (1955) : *ibid.* 45 : 467~472.
- 37) LINNANE, A. W. et al. (1968) : *Proc. N.A.S.* 59 : 1288~1293.
- 38) LITTRELL, R. H. (1974) : *Phytopathology* 64 : 1377~1378.
- 39) LOCKE, S. B. (1969) : *ibid.* 59 : 13.
- 40) MACKENZIE, D. R. et al. (1971) : *ibid.* 61 : 458~462.
- 41) ——— et al. (1971) : *ibid.* 61 : 471~475.
- 42) MACNEIL, B. H. (1974) : *ibid.* 64 : 582.
- 43) ——— et al. (1972) : *ibid.* 62 : 496.
- 44) ——— et al. (1973) : *Can. J. Bot.* 51 : 379~382.
- 45) MAGIE, R. O. et al. (1974) : Pl. Dis. Repr. 58 : 256~259.
- 46) MASSIE, L. B. et al. (1968) : *Phytopathology* 58 : 1616~1619.
- 47) NETZER, D. et al. (1970) : Pl. Dis. Repr. 54 : 909~912.
- 48) NICHOLSON, J. F. et al. (1971) : *Phytopath. Z.* 72 : 169~172.
- 49) PANOPOULOS, N. J. et al. (1973) : *Phytopathology* 63 : 1217.
- 50) POLACH, F. J. (1973) : *ibid.* 63 : 1189~1190.
- 51) PRIEST, D. et al. (1961) : *Ann. Appl. Biol.* 49 : 445~460.
- 52) SAGER, R. (1962) : *Proc. N.A.S.* 48 : 2018~2026.
- 53) SCHOOLEY, J. B. et al. (1971) : *Phytopathology* 61 : 816~819.
- 54) SCHROEDER, W. T. et al. (1968) : Pl. Dis. Repr. 52 : 630~632.
- 55) ——— et al. (1969) : *ibid.* 53 : 271~275.
- 56) SHATLA, M. et al. (1963) : *Phytopathology* 53 : 1407~1411.
- 57) SMOOT, J. J. et al. (1974) : Pl. Dis. Repr. 58 : 933~934.
- 58) SZKOLNIK, M. et al. (1969) : *ibid.* 53 : 861~864.
- 59) ——— et al. (1973) : *ibid.* 57 : 817~821.
- 60) TATE, K. G. et al. (1974) : *ibid.* 58 : 663~665.
- 61) TAYLOR, J. (1953) : *Phytopathology* 43 : 268~270.
- 62) THRELFALL, R. J. (1968) : *J. Gen. Microbiol.* 52 : 35~44.
- 63) TILLMAN, R. W. et al. (1973) : *Phytopathology* 63 : 219~225.
- 64) 上杉康彦 (1974) : デッカー氏講演会報告, 薬剤耐性菌に関するシンポジウム講演要旨 pp. 47, 日本植物防疫協会.
- 65) VARGAS, M. (1973) : *Phytopathology* 63 : 1366~1368.
- 66) VOMVOYANNI, V. E. et al. (1966) : *ibid.* 56 : 1330~1331.
- 67) WARREN, C. G. et al. (1974) : *ibid.* 64 : 1139~1142.
- 68) WATSON, A. G. et al. (1973) : *ibid.* 63 : 1218~1219.
- 69) WEBSTER, R. K. et al. (1970) : *ibid.* 60 : 1489~1492.
- 70) WICKS, T. (1974) : Pl. Dis. Repr. 58 : 886~889.
- 71) WUEST, P. J. et al. (1974) : *Phytopathology* 64 : 331~334.
- 72) YODER, K. S. et al. (1972) : *ibid.* 62 : 799.

医薬領域における耐性菌研究の現状

群馬大学医学部微生物学教室 みつはし 三橋 すすむ かわべ 進・川辺 はるひで 晴英

はじめに

化学療法剤の広汎な使用開始後 20 年において、細菌の中に非常な勢いで大きな変化がもたらされた。つまり病巣由来細菌叢の変化である。従来結核菌、肺炎球菌などの感染症が主であったが、近年これらの細菌の分離頻度は減少し、大腸菌、変形菌、緑膿菌あるいは黄色ブドウ球菌が比較的高頻度で分離されている。これらの細菌は、いずれも病原性はそれほど強くはないが、組織への定着が大きく慢性疾患を起こしやすいのが特長である。更にこれらの細菌は次々と薬剤耐性を獲得し、化学療法はこれら耐性菌をいかに絶滅するかの重要な問題をかかえているといえよう。本稿においては薬剤耐性菌の疫学、遺伝学的な解釈、更にその耐性機構について述べてみたい。

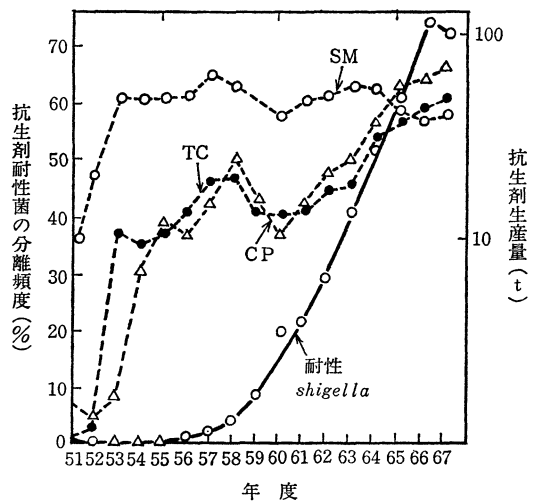
薬剤の略号一覧表

略号	薬 剤 名
AK	アミカシン
APC	アミノベンジルペニシリン
BT	ブチロシン
CER	セファロジン
CL	コリスチン
CP	クロラムフェニコール
CPC	カーペニシリン
DKB	3',4'-ディデオキシカナマイシン B
EM	エリスロマイシン
FT	フラトリジン
FZ	フラゾリドン
GM	ゲンタミシン
KM	カナマイシン
LV	リビドマイシン
Mac	マクロライド系抗生剤
NA	ナリジキシン酸
NM	ネオマイシン
OM	オレアンドマイシン
PC	ペニシリン
PM	パロモマイシン
RM	リボスタマイシン
SA	スルホンアミド
SM	ストレプトマイシン
SPC	スペクチノマイシン
TC	テトラサイクリン

I 薬剤耐性菌の疫学

エールリッヒがサルバルサンを発見した後、フレミングによるペニシリン(PC)、トレホールによるスルホンアミド(SA)、更にストレプトマイシン(SM)、クロラムフ

ェニコール(CP)と次々と化学療法剤が見つけ出され、これらの薬剤が結核菌をはじめ多くの病原細菌に奏効し、感染症は影をひそめた。しかし、SA系薬剤は1955年ころから急速に耐性菌が増え、例えば赤痢菌のごときは、分離菌の90~95%はSAに耐性を示すようになった。初期のころ、SA耐性菌に対してSM, CP, テトラサイクリン(TC)が優れた治療効果を示したが、1952年京都で(TC・SM・SA)耐性赤痢菌が1例、次いで東京で(TC・CP・SM・SA)の4剤耐性赤痢菌が1例報告され、その後は抗生剤生産の増加とともに多剤耐性菌は異常に増加した(第1図)。1971年に分離された394株の赤痢菌における薬剤耐性型について、CP, SM, TC, SAの4薬剤を中心に調査してみると、(TC・CP・SM・SA)4剤耐性が63.7%と圧倒的に多く、感受性菌はわずか8.1%であった。第1表に1971年度分離赤痢菌の薬剤耐性株数とその耐性の限界値(選択濃度)及び分離頻度を示した。CP, TC, SM, SAに対して耐性の株数は他薬剤のそれと比べるとはるかに多い。SMと同じアミノ配糖体系抗生剤に属するカナマイシン(KM), パロモマイシン(PM), ネオマイシン(NM), ゲンタミシン(GM)はSM耐性菌にも有効である。SMの耐性機構については耐性機構の項で述べるが、これらの耐性菌のほとんどはSMを不活化する酵素によってSMに耐



第1図 我が国における抗生剤の生産量と耐性赤痢菌の増加模様

第1表 耐性赤痢菌の分離率

薬 剂	選択濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	耐性株数	(%)
CP	12.5	681	(76.6)
TC	12.5	670	(75.3)
SM	6.25	703	(79.1)
SA	25.0	807	(90.9)
PM	6.25	8	(0.9)
NM	6.25	8	(0.9)
KM	6.25	8	(0.9)
GM	1.6	0	—
APC	12.5	20	(2.2)
NA	12.5	29	(3.2)
CL	1.6	0	—
FT	1.6	0	—
FZ	6.25	0	—
CER	12.5	2	(0.2)

性を示している。この SM 不活化酵素は、KM, PM, NM, GM など不活化することができないから感受性を示す。しかし、KM, PM, NM などの抗生剤は、その耐性機構からみて交差耐性を示す。KMグループに8株の耐性菌が見いだされているが、これら耐性菌がGMに感受性であるのは、SM と PM, NM の場合と同じである。

赤痢菌以外のグラム陰性菌で病巣から一番多く分離される菌は大腸菌であり、次に緑膿菌、変形菌、クレブジエラの順である。なお、最近では赤痢菌の分離率は低下し、サルモネラ菌の分離率が増加の傾向にある。そこで、このサルモネラ菌の薬剤耐性型を TC, CP, SM, SA の4剤を基本にして調べたところ、サルモネラ菌の耐性型は赤痢菌の耐性型に比べ著しく異なっていた。つまり赤痢菌においては SA 単剤耐性が 10% 前後であったが、サルモネラ菌では第2表に示したように、SA 単剤耐性が 48.5% と高い分離頻度を示していた。また、逆に赤痢菌では4剤 (TC・CP・SM・SA) 耐性が 64% であったのに比し、サルモネラ菌ではほぼ2%の分離率を示した。サルモネラ菌において CP 耐性が非常に少ないことは遺伝学的に興味深い。このように各菌種によって耐性型に多少の差があることは、今後の遺伝学的研究の課題の一つである。

第2表 サルモネラ菌の TC, CP, SM, SA に対する薬剤耐性型分離頻度

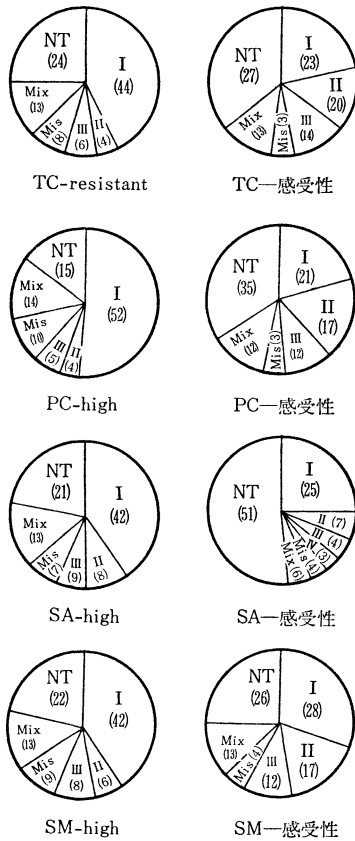
耐 性 型	株 数	(%)
SA	211	48.5
TC・SM・SA	81	18.6
SM・SA	47	10.8
TC・SA	27	6.2
TC・CP・SM・SA	9	2.1
TC	5	1.1
TC・SM	4	0.9
CP・SA	4	0.9
CP・SM・SA	1	0.2
感受性	46	10.6

題の一つである。

一方、グラム陽性菌の中でレンサ球菌とともに病巣から分離される代表的なものに、ブドウ球菌がある。ブドウ球菌の薬剤耐性は、SA, PC 耐性菌が比較的高頻度に分離され、これに続いて TC, SM 耐性菌が分離される。すなわち、ほとんどの菌が SA, PC, SM, TC のいずれかに耐性となっている。その上、これらの3ないし4剤耐性菌は分離株の40%前後を占めている。更に耐性菌の多くは上記の薬剤以外の薬剤に対する耐性を伴い、多剤耐性化の傾向にある。ブドウ球菌の場合も、グラム陰性菌の場合と同様に、多剤耐性菌は新薬が用いられると、その薬剤にも耐性を獲得しやすい傾向にある。現在ブドウ球菌の分類の一つにファージ型が用いられている。このファージ型と薬剤耐性型には密接な関係がある。ブドウ球菌のほとんどすべては溶原菌であって、細胞内にプロファージをもっている。溶原菌は自分自身のファージまたは類縁のファージの感染をうけない。第3表にファージ型の年次別推移を示した。1961年ころには、I群型が47%と多かったが徐々に減少し、1971年には16%になった。また、逆に混合群、雑群が増加してきた。更に先に述べた4剤 (TC・SM・SA・PC) 耐性とファージ型の関係を見ると、4剤耐性菌の50~60%はI群型であり、30%弱は型別不能である。第2図に示した例でも、耐性菌はI群が圧倒的に多く、次に型別不能が続

第3表 ブドウ球菌におけるファージ型の年次別推移

ファージ群	分 離 頻 度									
	1961	1962	1963	1964	1965	1966	1967	1968	1970	1971
I 群	47	40	25	35	29	34.7	15	23.4	16	16
II 群	12	20	12.5	11	13	6.8	9.8	12	8	8
III 群	10	12	12.5	11	12.5	7.5	14.8	10.4	18	16
IV 群	0	0	0	0	0	0	0	0.1	1	0
混合群	17	10	21	15	16.5	12.5	30.6	30.1	25	32
雑群	19	18	29	28	29	38.5	29.8	24	32	28
型別不能										



high : 各薬剤高度耐性菌を選んだ
 NT : 型別不能, Mix : 混合群, Mis : 雑群

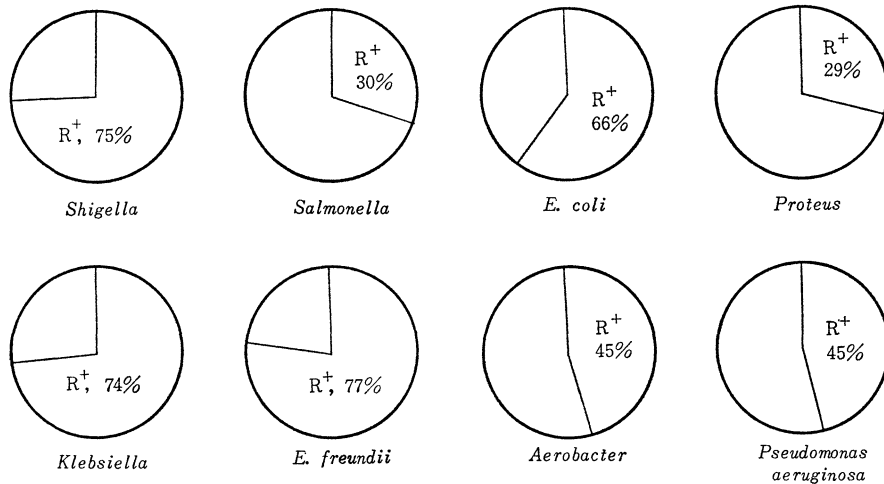
第2図 ブドウ球菌の薬剤耐性とファージ型との関係

ている。Ⅰ群、Ⅱ群菌に耐性菌が少ない。つまり多剤耐性菌は一層多剤耐性のきざしをもち、しかもある種のファージ型に局限していることは、興味深い。

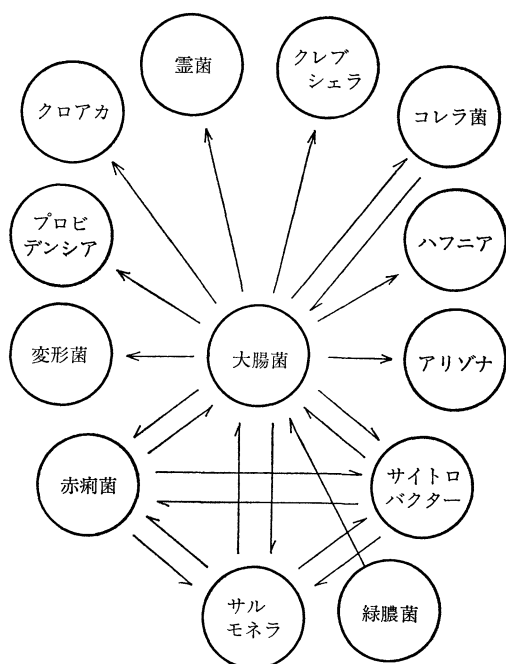
II 多剤耐性菌の伝播

I グラム陰性桿菌における薬剤耐性因子 (R因子)

1959年、多剤耐性が赤痢菌と大腸菌の間で混合培養により伝達されることが報告された。また、保存中に多剤耐性はその菌から脱落し、その菌が一挙に感受性になる事実も認められた。また、紫外線、アクリン系色素で耐性菌を処理することによって耐性はその菌から脱落することも分かった。これらの事実より、多剤耐性は菌に寄生的に存在する遺伝因子によって支配されていることが結論された。この遺伝因子は、Resistance (耐性) の略をとってR因子と名づけられた。R因子をもつ菌は、雄の菌となり性線毛を形成し、R因子のない雌の菌と接合してR因子を伝達する。R因子は菌の中でふえ、他の菌に感染的に伝達して行く。ヒトの病巣から分離されるグラム陰性桿菌からのR因子の分離率を第3図に示した。このR因子の宿主菌の幅は、大腸菌からサルモネラ、プロテウス、クレブジエラ、ハフニア、アリゾナなどと、腸内細菌科のほとんどすべてにわたる(第4図)。更に緑膿菌にもR因子が多く存在していることが分かっている。このようにR因子の宿主域が広いことは、疫学的に、医学的に重要な意味をもっている。グラム陰性桿菌から得られたR因子の耐性型は(TC・CP・SM・SA)4剤耐性が全体の約70%を占め、次に多いのが(CP・SM・SA)、(TC・SM・SA)、(TC・CP・SM)などの3剤



第3図 各グラム陰性桿菌からのR因子の分離率



第4図 R因子の宿主域

耐性で14%を占め (SM・SA), (TC・CP) の2剤耐性は7%, (TC), (SM), (SA) の1剤耐性は7.4%と、むしろ3剤, 2剤, 1剤R因子は非常に少ない。R因子はまた新たに使用されてくる薬剤に対する耐性を獲得して、更に多剤耐性化する傾向にある。つまり、従来の (TC・CP・SM・SA) 耐性に、APC, KM, GM, CPC耐性遺伝子がつけ加わった形でR因子上にのる (第4表)。

第4表 新薬剤耐性R因子

R因子の耐性型	分離菌	分離年度
APC・TC・CP・SM・SA	赤痢菌	1968
KM・TC・CP・SM・SA	大腸菌	1970
APC・KM・GM・TC・CP・SA	大腸菌	1972
GM・KM・TC・CP・SM	緑膿菌	1972
GM・CPC・KM・TC	緑膿菌	1972
CPC・TC・CP・SM・SA	緑膿菌	1971

R因子の構造は耐性遺伝子 (*r*-determinant) とT因子 (transfer factor) の二つからできている。R因子の大きさは約 31μ で、T因子はその中で $2/3$ を占め、*r*-determinant はR因子のわずか $1/3$ ほどを占めているにすぎない。これらのことが明らかになったのは、近年密度勾配遠心沈殿法を用いて、R因子だけを分離することができ、更に電子顕微鏡によって直接R因子DNAの形態を観察できるようになったからである。細胞質

性DNAのGC含有量 (DNAの塩基組成は生物材料によって異なるが、それは $(G+C)/(A+T)$ の比にみられる。それゆえグアニンとシトシンの和が全塩基中で占める割合、すなわちGC含有量によって種々のDNAの塩基組成を表すことができる) と宿主DNAのGC含有量とが異なれば、密度勾配遠沈法にかけると、R因子DNAは宿主DNAの密度とは異なる所に現れる。この場合、宿主が変形菌 (40%GC) の場合には、R因子DNA (52%GC) が菌の染色体と異なった位置に現れる。大腸菌を宿主とした場合は、大腸菌の染色体の密度は50%であるから、大腸菌におけるR因子DNA Satellite band は著明に現れない。しかし、密度は同じでも分子の形態が異なるのを利用して解析されている。つまり、細菌の中においてR因子は環状構造、しかもCCC (covalently closed circle) の状態にあると考えられる。このCCCは1本の鎖に切れ目のあるopen circleや線状のDNAと異なり、アクリジンやethidium bromideのような色素を取り込みにくい。したがって、宿主が大腸菌の場合においても、このような色素の取り込みによるDNA鎖の密度の低下が少ないことを利用して、R因子DNAの物理化学的性状が明らかにされた。つまりR因子DNAの長さは約 31μ でその分子量は 65×10^6 dalton であることが分かった。

2 ブドウ球菌における薬剤耐性因子 (*r* 因子)

グラム陽性菌の代表菌でヒトの病巣から高頻度で分離されるブドウ球菌にも、多剤耐性菌が多い。先に述べたように、R因子はグラム陰性菌に広く寄生していたが、ブドウ球菌の中にも細胞質性の耐性遺伝子が存在する。しかし、R因子のように接合により菌から菌へと薬剤耐性遺伝子は伝達できない。この伝達性のない耐性因子、遺伝学的にいうとtransfer region (*tra*) をもたない薬剤耐性遺伝子を、*r* 因子と命名した。この*r* 因子は伝達はしないが、細胞内で増殖することをつかさどる遺伝子を持ち、1個の細菌の中に5~30個ぐらい存在していることが明らかになった。R因子を含め、これら細胞質性遺伝子をプラスミドと総称している。グラム陽性菌の中ではレンサ球菌、肺炎球菌に比し、ブドウ球菌が著しく多剤耐性化されやすい。この原因として筆者らは、1965年、ブドウ球菌のもつプロファージが誘発されるとき、宿主菌の耐性遺伝子を導入することをあげた。ブドウ球菌のほとんどはファージを菌体内にもっていることは先に述べたが、耐性菌に紫外線またはマイトマイシンCを処理することによりファージを誘発させ、そのファージ液を感受性菌とまぜ合わせると、感受性菌は耐性菌となる。つまりファージによって*r* 因子が他の細胞へ運ばれ

第5表 ブドウ球菌における連関導入

連関導入される耐性型	文 献
TC・SM TC・SM・SA CP・TC Mac・PC EM・SPC iMac	MITSUHASHI et al. KASUGA et al. INOUE et al. MITSUHASHI et al. KAWABE et al. HASHIMOTO et al.

i: マクロライド耐性を誘導する遺伝子

る。更に1個のファージ粒子の感染によって、2剤の耐性が同時に運ばれることがある。つまり、連関導入できる耐性が多い。第5表に示したように、(TC・SM)耐性、(TC・SM・SA)耐性、(TC・CP)耐性、(EM・SPC)耐性などが連関して導入される。これらのことから、ブドウ球菌における多くの耐性遺伝子は、ある部分にかたまって存在しているものと考えられる。実験室での導入実験において、ファージ型Ⅰ群においては導入が行われやすいが、ファージ型Ⅱ群、Ⅲ群の受容菌には導入しにくいという事実は、これらⅡ群、Ⅲ群には多剤耐性が少ないという疫学的データによく一致し、ファージによる導入がブドウ球菌の多剤耐性化に大きな役割を果たしていることを示唆している。さて、ブドウ球菌の薬剤耐性(r因子)がプラスミド上に存在することは先に述べたが、SA, PC, TC, CP耐性のほか、マクロライド系抗生剤(Mac), SPC, KM耐性もまたプラスミドによって支配されていることが判明した。興味あることは、r因子はR因子と異なり、ほとんどが1種類の耐性遺伝子のみを持ち、多剤耐性を示すr因子はまれである。つまり多剤耐性ブドウ球菌の場合は、耐性遺伝子をもつプラスミドが数種類、しかも数多く存在している。そのr因子の大きさは、R因子に比べ非常に小さいが、R因子と同様、環状構造のDNAからできている。(Mac・PC)耐性を支配するプラスミドは12μで、R因子と比べ非常に小さく、R因子における伝達性を支配する遺伝子を欠いている。TC耐性、CP耐性プラスミドは1.4μで、R因子に比し極めて小さいことが明らかにされた。

更にグラム陰性桿菌の中にも伝達性のないr因子が発見され、また最近、溶血レンサ球菌においてもr因子が証明された。

III 薬剤耐性機構

人工的に試験管の中で作り出された耐性菌と病巣から分離される耐性菌とでは全く異なる耐性機構を示すことは、周知の事実である。例えば、ストレプトマイシン耐性は容易に人工的に得ることができ、その高度ストレプ

トマイシン耐性機構は30Sリボゾームタンパクの一部に変化が生じてSM耐性を示す。この耐性機構は今もってR因子やr因子による耐性機構の中には見いだされていない。病巣分離耐性菌の遺伝的、生化学的機構を解明することは学問的に興味あるばかりでなく耐性菌に効く薬剤を開発する上にも極めて意義深いものである。20数年前、筆者の恩師B. D. Davisらは、薬剤耐性菌の耐性機序として七つの可能性を指摘した。この説は、今日にも通じる優れた卓見であり、また、薬剤耐性を論じるときは必ず引き合いに出される。それを以下に列挙する。

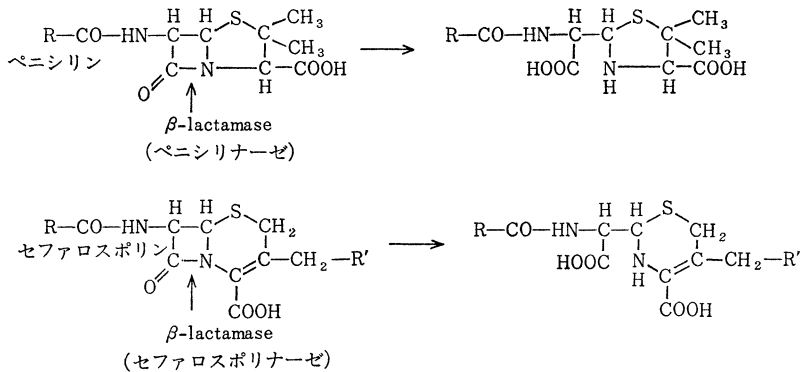
- ① 阻害物質(薬剤)によって阻害されている代謝経路に代わって副道が作られる。
- ② 阻害物質と拮抗する物質の増量
- ③ 阻害される酵素の増量
- ④ 阻害された代謝経路を必要としないように変化する。
- ⑤ 阻害物質の不活化
- ⑥ 阻害物質に親和性を減じた酵素を新たに生成する。
- ⑦ 阻害物質の細胞内への透過性の低下

これらの機構の、一つまたは二つ以上の機構が相加もしくは相乗的に作用して薬剤耐性機序を発現していると彼は論じた。CP, β-lactam系抗生剤、アミノ配糖体系抗生剤は、⑥に示した薬剤の不活化で説明できる。TC系薬剤はおそらく⑦の薬剤の膜透過能の低下によるものであろう。耐性菌が薬剤を不活化する場合、水解、アセチル化、アデニル化、リン酸化などの酵素的な方法を用い補酵素としてアセチルコエンザイムA(アセチルCoA)とかアデノシン3リン酸(ATP)などを利用していることは、耐性発現を考える上で興味深い。

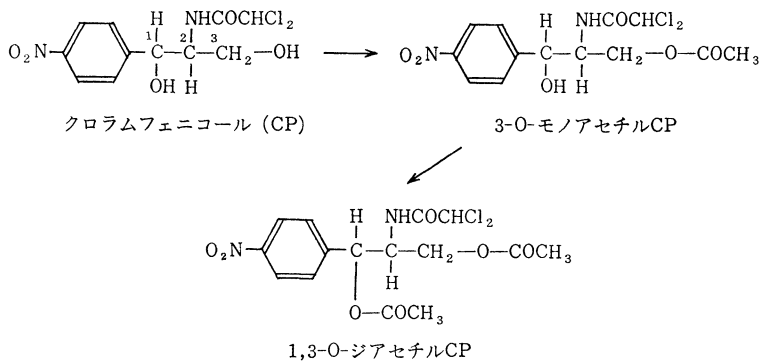
1 β-lactam系抗生物質に対する耐性機構

ペニシリン、セファロsporin系薬剤のβ-lactam環を開環する水解酵素をβ-lactamaseという。この開環により抗菌力は消失する(第5図)。

一般にグラム陽性菌のβ-lactamaseは、ペニシリナーゼに属し、低濃度のペニシリンまたはセファロsporinなどによりこの酵素の産生が誘導される誘導酵素であり、また、その酵素は大部分が菌体外へ放出される。グラム陰性菌のβ-lactamaseはセファロsporinナーゼに属し、やはり誘導酵素であるが、菌体外に出にくい菌体内酵素である。R因子のペニシリナーゼはその基質特異性、(Cl⁻, NO₃⁻)などの1価イオンによる阻害から、少なくとも2種類に分類されている。最近、緑膿菌よりR因子が多く見いだされているが、R因子による耐性はペニシリン分解酵素型が多いことが知られている。また、



第5図 ペニシリン, セファロスポリン系抗生物質の酵素的不活性化



第6図 クロラムフェニコールのアセチル化による不活性化

第6表 アミノ配糖体系抗生物質の不活化酵素

(I) リン酸化酵素 (p)		
不活化される薬剤	遺伝子型	耐性菌種
1 KM, NM, RM, PM, LV	<i>aph</i> (3')-1	大腸菌, 緑膿菌
2 KM, NM, RM, PM, BT	<i>aph</i> (3')-2	大腸菌
3 RM	<i>aph</i> (5')	緑膿菌
4 SM	<i>aph</i> (3'')	緑膿菌, 大腸菌
5 SM	<i>aph</i> (6)	緑膿菌
(II) アセチル化酵素 (ac)		
不活化される薬剤	遺伝子型	耐性菌種
1 KM-A, KM-B	<i>aac</i> (6')-1	大腸菌
2 1と GM-C _{1a} , GM-C ₂	<i>aac</i> (6')-2	モラクセラ
3 2と DKB	<i>aac</i> (6')-3	緑膿菌
4 3と AK	<i>aac</i> (6')-4	緑膿菌
5 GM	<i>aac</i> (2')-1	プロビデンシア
6 GM, LV, RM, BT, KM-B, -C, DKB, NM	<i>aac</i> (2')-2	プロビデンシア
7 GM-C ₁ , -C _{1a} , -C ₂	<i>aac</i> (3)	大腸菌, 緑膿菌
(III) アデニル化酵素 (ad)		
不活化される薬剤	遺伝子型	耐性菌種
1 SM	<i>aad</i> (3'')	大腸菌
2 SM	<i>aad</i> (6)	ブドウ球菌
3 GM, KM, DKB	<i>aad</i> (2'')	大腸菌, クレブジェラ

KM: カナマイシン, NM: ネオマイシン, RM: リボスタマイシン, PM: パロモマイシン, LV: リビドマイシン, BT: ブチロシン, SM: ストレプトマイシン, GM: ゲンタミシン, DKB: 3',4'-ディデオキシカナマイシン B, AK: アミカシン

β -lactamase によらない合成ペニシリン耐性の機構は、薬剤の透過性の低下であるとの報告がある。

2 クロラムフェニコールに対する耐性機構

1965年、岡本らによりCPの不活化酵素 (CATase) が見つけ出されてから、CPのみならずアミノ配糖体系抗生剤の不活化酵素についても急速に解明されるに至った。このCP不活化反応にはアセチル CoA を必要とする。この不活化酵素は、R因子による場合は構成酵素であるが、一方、ブドウ球菌のそれは誘導酵素である。また、R因子に支配されるペニシリナーゼが菌の表層側に証明されるが、このCATaseは細胞質中に存在する。不活化部位は、まずプロバンジオール部分の3位のOHをアセチル化し、次いで1位のOHもアセチル化する。CPはジアセチル化のみならず、モノアセチル化によっても全く抗菌力を消失する(第6図)。

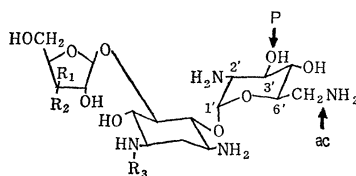
CATaseはR因子耐性菌のほか、CP耐性ブドウ球菌、緑膿菌のR因子にも見つけられている。R因子のCATaseとブドウ球菌のCATaseとの間には免疫学的な類縁はない。一方、緑膿菌から得られたR因子のCP耐性機構を調べると、約70%がCATaseをもってい

るが、残り30%はCP不活化酵素をもっていないことが明らかになった。このR因子が菌にたかるとCPが菌体内に入りにくくなって、その結果CP耐性化する。

不活化酵素によらないCP耐性R因子が大腸菌においても見つけ出されているが、それもやはりCPの細胞内への不透過によるものである。

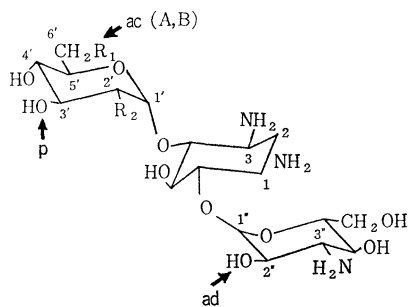
3 アミノ配糖体系抗生物質に対する耐性機構

アミノ配糖体系抗生物質の不活化酵素は、数多く見いだされている。アデニル化により薬剤を不活化する酵素 (adenyltransferase)、リン酸化により薬剤を不活化する酵素 (phosphotransferase)、アセチル化により薬剤を不活化する酵素 (acetyltransferase) がある。薬剤を不活化するパターンは、この3種であるが、これら三つの酵素は薬剤を不活化する部位、基質特異性などから更に分類される。現在までに見いだされているアミノ配糖体不活化酵素及び不活化部位などをまとめて、第6表に示し、



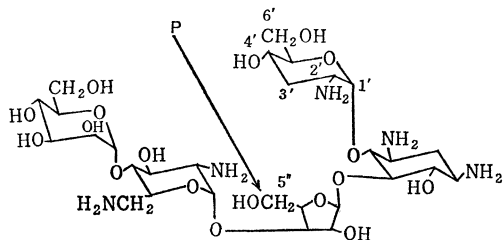
	R ₁	R ₂	R ₃
butirosin A	OH	H	-CO-CH(OH)-CH ₂ -CH ₂ NH ₂
butirosin B	H	OH	-CO-CH(OH)-CH ₂ -CH ₂ NH ₂
ribostamycin	H	OH	H

第9図 プチロシンA, Bとリボスタマイシンの構造

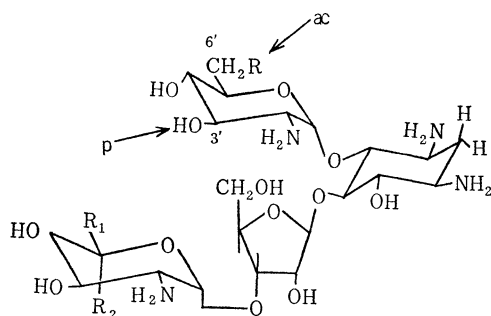


	R ₁	R ₂
kanamycins A	NH ₂	OH
B	NH ₂	NH ₂
C	OH	NH ₂

第7図 カナマイシンの構造

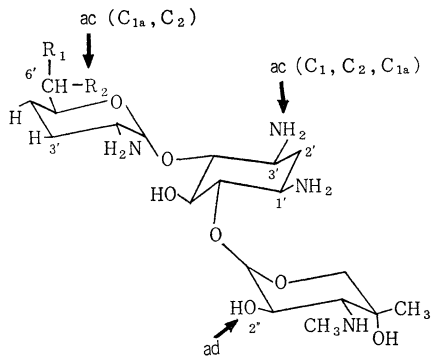


第8図 リビドマイシンの構造



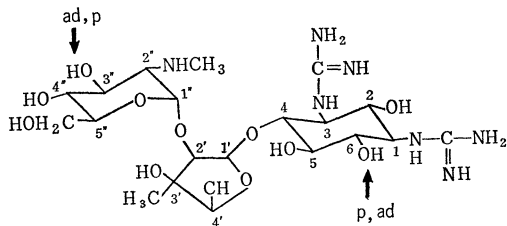
	R	R ₁	R ₂
neomycin B	NH ₂	H	CH ₂ NH ₂
neomycin C	NH ₂	CH ₂ NH ₂	H
paromomycin	OH	CH ₂ NH ₂	H
		H	CH ₂ NH ₂

第10図 ネオマイシン, パロモマイシンの構造



	R_1	R_2
gentamicins	C_{1a}	H
	C_2	CH_3
	C_1	CH_3
		$NHCH_3$

第11図 ゲンタミシンの構造



第12図 ストレプトマイシンの構造

アミノ配糖体系抗生物質の化学構造を第7～12図に示した。ペニシリン及びセファロスポリン系薬剤を不活化する酵素は先に述べたが、その不活化部位はすべて β -lactam 環の水解であった。アミノ配糖体系抗生物質の場合は第6表に示したように多種多様である。例えば、acetyltransferase によってアセチル化される部位が異なれば、おのおののアセチル化酵素が存在する。ここで第7図に示したカナマイシンを例にとると、カナマイシン B にはアセチル化をうける部位が二つ ($6'$ - NH_2 と $2'$ - NH_2) 存在するが、同一酵素がこれら二つの部位を不活

化することはなく、 $6'$ - NH_2 を不活化できるのは $6'$ -アセチル化酵素であり、 $2'$ - NH_2 を不活化できるのは $2'$ -アセチル化酵素である。このことはリン酸化酵素、アデニル化酵素についても同様のことが言える。第7～12図中に矢印で不活化される部位を示した(ac: アセチル化, p: リン酸化, ad: アデニル化)。また、これら不活化酵素はおのおのの基質特異性を持つ。第7図のカナマイシンの構造と、第11図のゲンタミシンの化学構造を例にとってみると、両薬剤とも 2-deoxystreptamine をもっているが、ゲンタミシンの 3 - NH_2 はアセチル化をうけるが、カナマイシンのそれはアセチル化をうけない。このことは、細菌に対する薬剤感受性にも現れてくる。これらのことは、不活化により薬剤耐性を示している細菌の場合、ある不活化酵素の基質となり得ないときは、大抵その薬剤は感性を示す。つまり薬剤に対する感受性と薬剤の不活化とは一致する場合が多い。 $6'$ - NH_2 をアセチル化する酵素は薬剤に対する感受性と、菌体から抽出した酵素の基質特異性から四つに分類された。化学構造的に $6'$ - NH_2 をもっていても、それを不活化することのできる $6'$ -アセチル化酵素と不活化できないそれとがある。4種の薬剤すべての $6'$ - NH_2 をアセチル化できる酵素は第6表に示したように $aac(6')-4$ だけである。つまり $aac(6')-1$ が変化して次々に多くの薬剤を不活化できるように変わって行くことが明らかになった。このことは、細菌の薬剤不活化酵素の進化という面からも大変興味深い。新薬は次々と開発されるがその都度耐性菌は選択をうけて生き残ったといえる。先に多剤耐性菌の伝播の項で述べたが、細菌の多くは薬剤耐性因子をもち、この薬剤耐性因子は更に感受性菌に伝達し耐性の増加を見ている。ほとんどのアミノ配糖体抗生剤を不活化する酵素を作る遺伝子はこれら薬剤耐性因子上に位置していることが知られている。

さて、これら R 因子の由来は疫学のみならず遺伝学的、更に耐性の生化学的機構の上からも、遺伝子の進化的立場からも極めて興味深い問題である。現在 R 因子の実験的形成の成功からその起原の糸口がみつかり始めた。一方、不活化酵素の面からもこれらの問題を解き明かす試みがされている。つまりアミノ配糖体不活化酵素

第7表 放線菌におけるアセチル化, リン酸化, アデニル化酵素

放線菌	産生抗生剤	GMC _{1a} のアセチル化	NM のリン酸化	SM のリン酸化
<i>S. kanamyceticus</i>	カナマイシン	+	-	-
<i>M. purpurea</i>	ゲンタミシン	-	-	-
<i>S. coelicolor</i>	なし	+	-	+
<i>S. spectabilis</i>	スペクチノマイシン	+	+	+
<i>S. fradiae</i>	ネオマイシン	-	+	-

の起原をアミノ配糖体を産生する放線菌に求めた報告があるので、ここで少し紹介する。SM を産生する放線菌の中に SM をリン酸化する酵素が、また、KM を産生する放線菌から KM をアセチル化する酵素が見いだされた。しかし、R 因子や r 因子による薬剤不活化酵素と、これら放線菌から分離された酵素との生化学的、免疫学的比較がなされていないので、その結論は今後の研究を待たなければならないが、大変興味あることである (第 7 表)。

4 テトラサイクリンの耐性機構

TC 感受性と TC 耐性 R 因子を有する宿主菌のそれぞれから調製した無細胞タンパク合成系についてのアミノ酸取り込み阻害実験では、いずれも TC により同程度に阻害されることから、耐性の機構は TC の細胞膜透過の減少によるものと思われた。更に菌体への TC の取り込み実験において、TC 感受性菌は TC 耐性菌より TC の蓄積がはるかに多いことなどから、TC 系抗生剤に対する耐性機構は膜透過能の低下によるものと思われる。TC 耐性をもつ R 因子及び TC 耐性ブドウ球菌においても同様である。

5 マクロライド系抗生剤の耐性機構

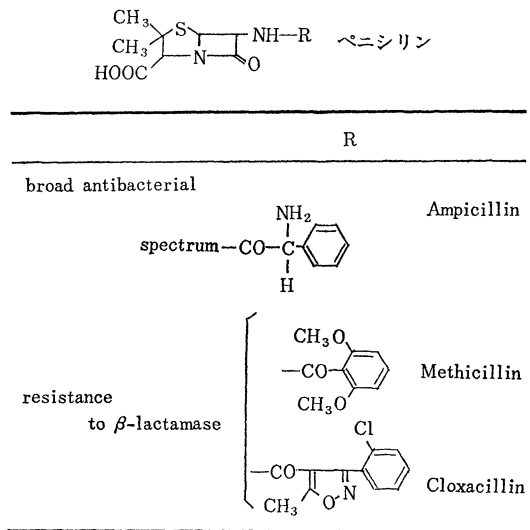
マクロライド系抗生剤 (Mac) はグラム陽性菌に有効であり、グラム陰性菌には無効である。病巣由来 Mac 耐性ブドウ球菌には構成型耐性菌と誘導型耐性菌がある。構成型耐性菌はエリスロマイシン (EM)、オレANDOMA イシシ (OM)、ロイコマイシン、ジョサマイシン、スピラマイシンなどの全 Mac 抗生剤に高度耐性を示す。誘導型耐性菌は薬剤のない状態では感受性であるが、低濃度の EM または OM の存在で耐性が誘導され、すべての Mac 抗生剤に高度耐性化する。構成型耐性菌と耐性が誘導された状態の誘導型耐性菌では、菌体内薬剤濃度が感受性菌の 1/10 に低下するが、非誘導状態の誘導型菌では、感受性菌とほぼ同程度の薬剤が菌体内に取り込まれる。更にリボゾムへの EM の付着を調べると、上記と全く同じ結果が得られた。その後、50S リボゾムを構成している 23S rRNA のアデニンのメチル化により薬剤がリボゾムと結合しなくなったことが明らかにされた。

IV 薬剤耐性化に対する対策

1 既知薬剤の改良

ペニシリン G は優れた薬剤であったが、β-lactamase をもつ菌が増加したことからその価値は低減した。しかし、その側鎖を変えることによって抗菌性は低いが、広範囲の抗菌スペクトラムを示し、ペニシリナーゼに安定

第 8 表 ペニシリンとその誘導体



な合成ペニシリンの開発を見るに至った(第 8 表)。また、アミノ配糖体抗生物質は不活化酵素を取り出し、不活化部位を調べることにより、改良がなされた。例えば、カナマイシン B から不活化部位(3'-OH)を取り去った 3', 4'-dideoxykanamycin B (DKB) (第 13 図)、6'-アセチル化酵素の不活化をうけなくするために 6'-NH₂ を 6'-NHCH₃ にした 6-N-メチル DKB、また、不活化をうける部位はそのままにして他の部分を修飾した薬剤、つまり 1-NH₂ 基に γ-amino-α-hydroxybutyric acid をカナマイシン A につけることにより、アセチル化、アデニル化、リン酸化をうけなくなったアミカシン (第 14 図) などが次々と開発された。これらの薬剤はグラム陰性菌のみならず、化学的修飾する前の薬剤が無効であった緑膿菌に奏効するようになったことは大変興味深い。

耐性機構が膜透過性の低下である薬剤に対して、膜透過性を増した薬剤が開発された。TC 誘導体のミノサイクリン、ドキシサイクリンであり (第 15 図)、また、ナリジキシン酸には M-1 (第 16 図) があげられる。これらの薬剤は TC 耐性及びナリジキシン酸耐性菌に有効である。

2 非誘導性薬剤

ブドウ球菌の Mac 系抗生剤耐性が誘導的に発現されること及び EM, OM だけが誘導能をもち、誘導後には全 Mac 系抗生剤に耐性を獲得することは先に述べたが、ジョサマイシン、ロイコマイシンは誘導能を欠くことより、CP 及びセファロsporin 系抗生剤についても誘導能のない誘導体が開発されればすばらしいことである。

カスガマイシン耐性イネいもち病菌の発生と対策

山形県農業試験場 み うら はる お
三 浦 春 夫

カスミンは抗生物質カスガマイシン（以下 KSM と略称）を主成分とする薬剤で本県のいもち病防除剤の主体になっており、1971 年度にはその 70% 以上を占め、特に庄内地方では約 90% に達した。ところが、1971 年に庄内地方でその効果が劣る事実が観察され、また、山形農試庄内支場の苗代晩播試験でもその効果がやや低下する現象が認められた。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、耐性菌の出現によると推定されたので、1971 年秋から県内における KSM の効果、KSM 耐性菌出現の有無などについて試験を行ったので、これら一連の試験及び今後の対策について述べることにする。

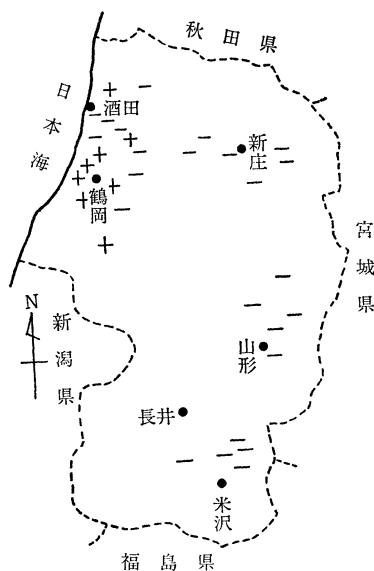
I カスガマイシン耐性菌の出現とその原因

1971 年秋に庄内地方のいもち病激発地で KSM 効果減退地区から採集・分離した 8 菌株について KSM 添加イナわら煎汁寒天培地 (pH 5.0) を用いて菌叢生育法による薬剤感受性を試験した結果、庄内地方の現地 3 か所での採集菌株及び庄内支場でこの年の薬剤散布条件を異にした 5 ほ場から採集した菌株はいずれも KSM に対する感受性が鈍く、0~62.5 ppm の間では菌叢の伸びにほとんど差がなかった。これに対して、KSM の効果が明瞭に認められた山形農試などのほ場から採集した 3 菌株は同濃度の KSM によって強く生育阻害をうけた。

更に、1972 年秋に県内主要地点から採集、分離した 32 菌株について同じように菌叢生育法で KSM 感受性を検定した結果、内陸地方の 16 菌株はいずれも感性菌と認められたが、庄内地方から採集した 16 菌株は感性菌と耐性菌とが混在していた。

この耐性菌株の KSM 添加培地での菌叢生育限界を知るため、1971 年の庄内支場の菌株と 1972 年秋に採集し

た 3 菌株についてイナわら煎汁培地 (pH 5.0) の KSM 濃度を高めて試験した結果は第 1 表のとおり、供試した 4 菌株は感受性が鈍く、いずれも KSM 100 ppm で菌叢の伸びが無添加の場合の 1/2 程度に達したが、500 ppm ではほとんど発育が阻止され、発育可能限界は 500 ppm より若干低いところにあるものと認められた。以上のように庄内地方には KSM 耐性菌が分布している(第 1 図) ことが明らかになったが、このような *in vitro* の結果と *in vivo* での結果が一致するかどうかを知るために、庄内地方の KSM 効果減退地区の 2 か所の被害わら(各種いもち病菌混在)と罹病穂から分離した KSM 耐性の菌株を接種源に用いて KSM 散布による効果試験を行った。その結果第 2 図のようにこれらのいもち病菌に対する KSM の効果は低く、通常がいもち病菌ならば防除価 80~90 以上となるべきところ 20~60 でキタジnP やラブサイドに比べて著しい差が認められた。また、1972 年 7 月に庄内支場で行った苗代晩播の自然感染による各種薬剤の効果試験ではリン剤や塩素剤は 80~97 の防除価を示したのに対し KSM は普通濃度では全く効果がなく、2 倍濃度でも発病が無散布よりわずかに少ない程度であった。更に、1972 年に行った県内

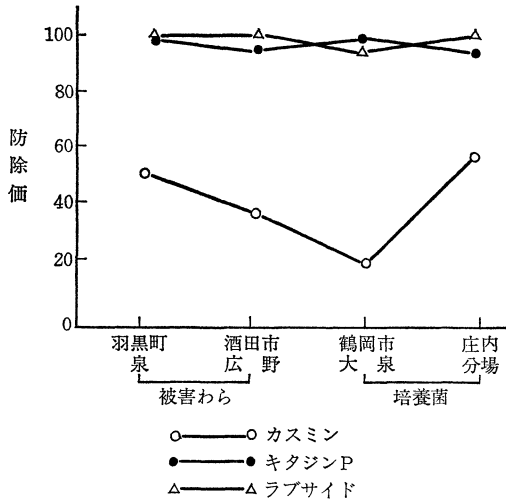


第 1 図 山形県下のカスガマイシン耐性菌 (+) と感性菌 (-) の分布 (1972)

第 1 表 庄内地方のいもち病菌のカスガマイシン感受性 (菌糸伸長阻止率%) (1973)

濃 度	山形農試	庄内分場	鶴岡市	三川町	酒田市
0 ppm	(3.8cm)	(5.1cm)	(4.9cm)	(4.8cm)	(4.1cm)
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

() 内は菌叢直径



第2図 庄内地方激発地の病原菌に対する薬剤の効果 (接種試験) (1972)

各地の畑晩播の自然感染による効果試験の結果、上述のような KSM 効果減退のみられたのは庄内地方だけで内陸地方ではこのような現象がみられなかった。このようにイネ苗を使用した試験結果も室内試験の結果と一致しており、庄内地方激発地での KSM 効果減退は耐性菌の出現によることは明らかであり、この現象はこの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 耐性菌は培地上でのヒノザンやプラストサイジン S に対しては KSM 感性菌と同じように敏感であり、イネ苗に対する接種試験でもキタジン P やラブサイドの効果が高かったため、KSM 以外のいもち病防除剤との交差耐性は起こっていないと思われる。

KSM 耐性菌が庄内地方で特異的に増加した理由については第2表のように庄内地方ではいもち病防除回数

第2表 いもち病防除回数と防除薬剤中のカスミンの比率

年次	防除回数		カスミンの比率(%)	
	庄内地方	県全体	庄内地方	県全体
1967	2.65	2.33	35.8	27.7
1968	3.49	2.87	53.9	56.0
1969	4.56	3.72	94.2	76.1
1970	4.23	2.97	89.6	66.5
1971	4.95	3.41	87.3	69.9

他の地方に比べて多く、しかも各種防除薬剤中に占める KSM の比率が高く、1969 年以後約 90% に達しており、このような KSM の偏った過度の使用が耐性菌の出現、増殖を招いたものと推定される。耐性菌の出現、増殖の原因についてはまだ不明であるが、西村ら¹⁾、片桐ら²⁾が推定しているように KSM 散布前から存在していた耐性菌、あるいは KSM の接触によって変異した耐性菌が淘汰によって急激に増殖したものと考えられる。

II カスミン使用中止後のカスミンの効果の変動と耐性菌の動向

KSM の効果減退が認められた庄内地方の一部では 1972 年の穂いもち防除から、庄内地方全域では 1973 年から KSM 剤の使用を中止したので、その後の KSM の効果を庄内支場と現地 2 か所でキタジン P、ラブサイドと比較検討した。その結果は第3表のように 1973 年 6~7 月の晩播によるベツト試験では KSM は発病をかなり抑えたが、キタジン P やラブサイドに比べて防除効果が劣っていた。しかし、庄内支場では前年の同じ試験でほとんど効果がなかった KSM は、この年の試験では明らかに効果の回復がみられ、現地でも同じ傾向であった。8~10 月の試験では KSM の防除価はリン剤に比べ低かったが、前年に比較すれば明らかに効果の回復

第3表 1972 年から 74 年までのカスミンの効果の変化 (防除価)

区別	項目	庄内支場					酒田市広野					藤島町長沼		
		1972		1973		1974	1972		1973		1974	1973		1974
		夏	秋	夏	秋	夏	夏*	秋	夏	秋	夏	秋	夏	
キタジン P 乳剤 ラブサイド水和剤 カスラブサイド水和剤	防除回数	97	95	70	64	52	95	97	54	88	29	92	53	92
	防除価	99	97	46	97	91	99	99	73	98	53	99	59	99
	カスミン液	99	97	46	97	91	99	99	73	98	53	99	59	99
カスミン液	防除価	3	76	37	78	58	47	84	29	87	39	84	46	83
	同キタジン P 比	3	80	53	122	112	49	88	54	98	134	91	87	90

注 (1) 夏は 7 月, 秋は 9~10 月に調査, (2) 各薬剤とも 1,000 倍液を 3~4 回散布, (3) * 農試で被害わらを接種源にした接種試験

が認められた。1974 年も前年に準じて試験を行ったが、KSM の効果はかなり回復が認められたけれども、KSM 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。このように KSM の効果減退地域で KSM の使用を中止した場合は、その翌年は効果が急激に回復するが、それ以降の回復は緩慢となり、2 年後でも KSM の効果が完全に回復したとは認められなかった。

一方、KSM 中止後の KSM 耐性菌の分布推移を知るため、酒田市広野の水田から 1972 年秋、1973 年夏、秋、1974 年夏に葉いもち、穂いもちの標本を採集し、その標本から単孢子分離を行い、この菌株について菌叢生育法あるいは阻止円法で KSM 感受性の検定を行った。その結果、標本の採集地が同じ地域にあるが、採集した水田が異なり、更に年次により分離菌株数も異なったが、カスミンの使用を止めた後の耐性菌の分布率が 1972 年秋 28.5%、73 年夏 5.9%、秋 22.2%、74 年夏 6.3% と年々漸減の傾向が認められた。このように KSM の効果減退地域で KSM の使用を止めた場合には、KSM 耐性菌は年々漸減の傾向がみられるが、使用中止後 2 年間経過しても耐性菌は 5% 以上分布しており、片桐ら²⁾による KSM を使用していなかった時代の耐性菌分布率 $1/10^4 \sim 1/10^6$ に比べ 100 倍以上の耐性菌が分布しているものと推察される。

KSM の効果減退の認められた庄内地方で主ないもち防除剤を使用した場合の KSM 耐性菌の動向を知るため、各薬剤を連用して発病した罹病葉を接種したベツトにおける防除効果と阻止円法による耐性菌の検定を行った。その結果は第 4 表のように KSM 散布の罹病葉を接種源に用い、薬剤散布後に接種、その後 7 日ごとに 1~2 回散布した試験では、ラブサイドやキタジン P に比べ KSM の防除価は約 1/2 であった。同じ方法でキタジン P、ラブサイド散布及び無散布の罹病葉を接種源にした場合には KSM の防除効果はキタジン P やラブ

サイドと同様に高かった。また、接種源に用いた罹病葉の耐性菌分布率 (3 か所平均) は KSM 散布区で 61.1%、無散布区で 21.1%、キタジン P 散布区で 13.9%、ラブサイド散布区で 25.0% と KSM 散布区が他の区に比べ高く、無散布、キタジン P、ラブサイド各区の間には差はみられなかった。このことから KSM 耐性菌が存在していても、そこに KSM 散布のプレッシャーが加えられない限り耐性菌が急激に増加することはないものと推察される。以上述べてきたようにベツトによる防除試験の結果は KSM 散布のプレッシャーを連続 3 回加えた後の結果であること、KSM 耐性菌の分布率が低下していること及び耐性菌が生存していても KSM 散布のプレッシャーが加えられない限り耐性菌が急激に増加することはないと推察されることから、同一薬剤を連用しないことを前提にした防除体系の中で毒性の心配のない KSM の使用方法、すなわち本ほにおける防除効果とその後の耐性菌の動向を試験し、KSM のいもち防除薬剤としての価値が回復できたかどうか検討すべきものと考える。

III カスガマイシン耐性菌の分布と病原性

水田 1 枚及び病斑中の耐性菌の分布を調査した結果、葉いもち、穂いもちとも 1 枚の水田中には耐性菌と感性菌とが混在しているが、1 病斑または同一罹病部から耐性菌と感性菌の両者がともに見いだされることはなかった (第 5 表)。このように同一地区に耐性菌と感性菌とが混在し、その混在比により KSM の効果が支配されると推察される。また、庄内地方のほかから分離された KSM 耐性菌と感性菌とは KSM 感受性の上で明瞭な差 (検定法によって異なる) がみられ、両者の中間の感受性をもつ菌は見いだせなかった。

病原性の指標として菌糸の生長速度、培地上における孢子形成力、イネにおける病斑数、病斑長について耐性菌と感性菌間の比較を行った結果、全般的に菌株によ

第 4 表 散布薬剤の種類と耐性菌の変動 (防除価) (1973~74 年)

薬 劑 名	カスミン 3 回 散布の罹病葉	キタジン P 3 回 散布の罹病葉	ラブサイド 3 回 散布の罹病葉	無散布の罹病葉
カスミン液剤	54 (22)	90 (89)	94	98
キタジン P 乳剤	98 (86)	98 (79)	98	99
ラブサイド水和剤	99 (76)	99 (73)	100	100
無 散 布 (病斑面積歩合)	5.37 (5.36)	7.95 (10.19)	12.62	16.18

注 (1) 各薬剤とも 1,000 倍液を散布、(2) 接種源は 1973 年 7 月末採集、(3) 試験期日は 1973 年 9~11 月、() 内は 1974 年 3~5 月

第5表 葉いもち、穂いもち罹病部からいもち病菌の分離及びカスガイシン感受性の検定

	採集場所	供試 個体数	R 耐性菌検出個体数 : 検定株数 S 感性菌検出個体数 : 検定株数	接種によるカ スミン防除係
葉いもち病 (1973)	酒田市 広野	17	$\begin{cases} R & 1:3 \\ S & 16:4+4+3+3+3+1+1+1 \\ & +1+1+1+1+1+1+1+1=28 \end{cases}$	
穂いもち病 (1972)	酒田市 広野	7	$\begin{cases} R & 2:5+2=7 \\ S & 5:11+8+7+4+3=33 \end{cases}$	
	藤島町 藤島	3	$\begin{cases} R & 1:9 \\ S & 2:5+5=10 \end{cases}$	50.3
	遊佐町 西遊佐	5	$\begin{cases} R & 0:0 \\ S & 5:5+3+3+2+1=14 \end{cases}$	95.0
	真室川町 平岡	15	$\begin{cases} R & 0:0 \\ S & 15:8+5+5+4+4+3+3+3 \\ & +3+3+2+2+2+1+1=49 \end{cases}$	92.4

てかなり変動がみられ、同一ほ場の感性菌と耐性菌間で明らかな傾向を認めなかった。しかし、1病斑からは耐性菌か、感性菌かが独立して分離されているので、侵入の場面で両者の間に競合が行われ、どちらか一方だけが侵入するとも考えられる。今後は両菌を混合接種して検討する必要がある。

IV カスガイシン耐性菌の生態型

KSM 耐性菌といもち病菌型 (レース) との関係を知るため、庄内地方の穂いもちを接種源にして発病させた葉いもちを送付し、東北農試病害第1研究室でレースを検定していただいた菌株について KSM 感受性を菌叢生育法で検定した結果は第6表のようで、供試菌株が12菌株と少なかったが、KSM 耐性菌の中に C-1, C-8, N-2 の各レースがみられ、感性菌の中には N-2, C-8 の2レースがみられた。このように供試菌株のレースが C-1, C-8, N-2 の3種類のみであったことについては庄内地方のレース分布が N-2, C-8, C-1 が主体になっていることによるものと考えられる。この結果から、耐性菌は生態型に関係なくその地域に分布しているレースの範囲内で出現しているものと推察される。

第6表 耐性菌といもち病菌型

薬剤感受性	菌型
感性菌	N-2, C-8
耐性菌	C-1, C-1, C-8, C-8, C-8 C-8, C-8, N-2, N-2, N-2

V カスガイシン耐性菌に対する カスラブサイドの防除効果

耐性菌に対するカスミンとラブサイド混合剤の防除効

果について試験を行った。1973年の結果、カスミン、ラブサイド混合剤 (カスミン 6 ppm, 12 ppm とラブサイド 100~300 ppm 間のいろいろな組み合わせ及びカスミン 20 ppm, ラブサイド 100 ppm) はラブサイド 1,000 倍 (500 ppm) と同等の効果がみられた。1974年の結果、カスミンとラブサイド水和剤 1,000 倍はラブサイド水和剤 1,000 倍と同等の効果がみられた。また、カスミン 20 ppm にラブサイド 100, 50, 25 ppm をそれぞれ混合散布し、ラブサイド 100, 50, 25 ppm の各散布区と比較したが、各対照区との間に発病の差はみられなかった。以上のことから、耐性菌に対してカスミンとラブサイドの相乗効果は期待できないと思われる。

VI カスガイシン耐性菌に対する対策

これまで述べてきた試験結果は試験途上のものであり、これから追試験を重ねなければ耐性菌に対する十分な対策を述べることができないが、現在までの試験結果から当面次のような対策をとるべきものと考えられる。

① 山形県の庄内地方のように明らかにカスミンの効果減退が認められる地域ではカスミン及びその混合剤の使用は、カスミンの効果の回復まで避ける。

② 内陸地方のようにカスミンの効果減退が認められていない地域ではカスミンの使用は可能であるが、同一の薬剤で通年防除を行った場合にはその薬剤の効果減退を招くおそれが多いので必ず有効成分が本質的に異なる薬剤を二つ以上組み合わせる計画的に防除を行う。

引用文献

- 1) 西村正暲ら (1973): 日植病報 39: 168.
- 2) 片桐政子ら (1973): 農薬科学 2: 87~88.

チオファネート及びベノミル耐性リンゴ黒星病菌の発生と対策

弘前大学農学部 **沢 村 健 三**

I 耐性菌出現の背景

リンゴ黒星病 (*Venturia inaequalis* (Cke.) Wint.) は 1955年に北海道でその発生が最初に報告されて以来、十数年にして北海道全域に伝播し、モニリア病に代わってリンゴの主要病害の第一にあげられている。従来、本病の防除に対してはサイプレックス、キャプタン、チウラム剤、有機銅剤及びジクロン・チウラム剤が使用されてきたが、最近になってチオファネートメチル及びベノミルが高い防除効果を示すことが明らかとなった。チオファネートメチルあるいはベノミルは、黒点病及びうどんこ病にも有効で、更に北海道及び北東北地方などの寒冷地で問題となっている腐らん病に対しても防除効果が認められている。よって北海道中央農試においては、黒星病及び腐らん病の同時防除試験が、チオファネートメチル、ベノミル、カルベンダゾールなど一連のベンゾイミダゾール系の殺菌剤を供試して昭和 45 年、46 年及び 47 年と同一は場で試験が行われた。そして同は場で 48 年には黒星病の防除効果の低下が認められた。この原因は過去 3 年間にチオファネートメチル 54 回、チオファネートメチル 27 回とベノミル 27 回、あるいはチオファネートメチル 27 回とカルベンダゾール 27 回のいずれかの散布が行われたため、これらの薬剤に耐性を示す黒星病菌が出現したものと考えられた。

昭和 49 年に上述の防除効果の低下を再確認するために行った試験結果は第 1 表のとおりで、明らかにベンゾイミダゾール系殺菌剤の防除効果のないことを示している。

第 1 表 リンゴ黒星病に対する各種殺菌剤の防除効果 (北海道中央農試, 1974)

供 試 薬 剤	濃 度	調 査 月 日 及 び 病 葉 率		
		7 月 2 日	7 月 17 日	8 月 6 日
オーソサイド	80 WP	3.6%	7.3%	9.8%
キノンドー	40 WP	17.5	13.8	29.5
ダイカモン	70 WP	7.0	5.5	11.9
ベンレート*	50 WP	31.1	41.5	45.9
トップジンM*	70 WP	37.8	47.9	60.2
カルベンダゾール*	60 WP	41.8	48.0	63.5
スパットサイド	75 WP	2.2	2.7	4.1
サイプレックス	65 WP	2.2	2.9	4.6
ボマゾールF	80 WP	15.0	13.1	21.8
無 散 布		41.3	39.1	65.1

薬剤散布月日：5月22日、6月4日、6月13日、6月24日及び7月5日、*ベンゾイミダゾール系殺菌剤

II 耐性判定試験

上述の北海道中央農試試験ほ場から採集したスターキングデリシャスの罹病果から組織片置床法によって菌の分離を行い、更に単胞子分離によって供試菌 Hr-1 を得た。また、対照に当教室保存のチオファネートメチル及びその類縁化合物の散布を受けたことがないと思われるほ場 (秋田県鹿角市) の東光から分離した At-1 菌を供試した。これらの菌株はショ糖加用ジャガイモ寒天培地 (PSA) にシャーレで「胞子流し込み法」⁵⁾ によって培養された。

薬剤耐性の判定は所定濃度に調製した薬剤を散布したスライドグラスによる胞子発芽試験と、薬剤を添加した培地における菌叢の培養試験によって行った。

1 胞子発芽試験

チオファネートメチル水和剤 (70 WP) の有効成分濃度が 0.1, 1, 5, 10, 100, 500 及び 1,000 ppm になるように蒸留水で薬液を調製し、小型噴霧機によってコロジオン被膜スライドグラスに噴霧し、風乾後所定濃度の胞子懸濁液を滴下した。スライドグラスは 20°C の温室に 20 時間保ち、胞子の発芽管長を測定した。

試験結果の 1 例は第 2 表に示すように、対照菌の At-1 はチオファネートメチルに対し、0.1 及び 1 ppm で胞子の発芽管の伸長に影響が認められ、5 ppm では全く発芽がみられなかった。これに対し Hr-1 菌は発芽管の伸長に対して若干の影響を受けているようであるが、1,000 ppm の濃度で散布されたスライドグラス上でも発芽管の伸長が認められた。

第2表 チオファネートメチル剤散布スライドグラス上における胞子の発芽管長 (μ)*

供試菌	チオファネートメチル濃度 (ppm)							
	0	0.1	1	5	10	100	500	1,000
Hr-1	116	84	72	40	30	36	38	20
At-1	48	30	12	0	0	0	0	0

* 各区 250 個の胞子について測定

2 培養試験

第1回目の試験では PSA にチオファネートメチル水和剤の有効成分濃度が、0.1, 0.5, 1, 2, 10, 50 及び 100 ppm になるように添加した培地を調製した。各培地には直径 3mm の菌叢を移植し、20°C で 14 日間培養し、菌叢の生育程度を調査した (第3表)。

第3表 チオファネートメチル添加培地における菌の生育

供試菌	チオファネートメチル濃度 (ppm)							
	0	0.1	0.5	1	2	10	50	100
Hr-1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
At-1	+++	++	-	-	-	-	-	-

-~+++は菌叢の生育程度

第2回目の試験では前試験と同様にチオファネートメチル及びベノミル水和剤 (50 WP) を供試し、それぞれの有効成分が所定濃度になるように培地を調製して培養試験を行った (第4表)。

第4表 チオファネートメチルあるいはベノミル添加培地における菌の生育

供試薬剤及び供試菌	チオファネートメチル及びベノミル濃度 (ppm)								
	0	0.1	0.5	1	2	5	10	50	100
トップジンM									
Hr-1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±
At-1	+++	±	±	-	-	-	-	-	-
ベンレート									
Hr-1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	±	±
At-1	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-

-~+++は菌叢の生育程度

培養試験の結果は第3, 4表に示すように、At-1 菌はチオファネートメチル、ベノミルともにその有効成分濃度が 0.5 あるいは 1 ppm でも全く菌叢の生育が認められなかったのに対し、Hr-1 菌では 100 ppm でもなお生育した。

3 考察

以上の試験結果から、チオファネートメチル及びその

類縁化合物の極端な連続散布を行って黒星病の防除効果の低下が認められたほ場から得た Hr-1 菌はチオファネートメチル及びベノミルに対し耐性を示すものと判定される。したがって防除効果の低下の原因は耐性菌の出現によることは明らかである。

リングの黒星病菌が散布された殺菌剤に対して耐性を示し、防除効果が低下したという現象は、1969年ニューヨーク州におけるサイプレックスに対するものが最初の報告である⁶⁾。ベンゾイミダゾール系殺菌剤に対する黒星病耐性菌の出現は我が国におけるものが最初の例と思われたが、最近 WICKS⁸⁾ によってオーストラリアからも報告された。本病菌はヘテロタリックであるのでサイプレックス耐性菌と非耐性菌との交配が可能で、この耐性は子のう胞子に遺伝することが明らかにされている^{2,3,4,9)}。また、サイプレックス耐性菌には低濃度耐性株 (0.25 $\mu\text{g/ml}$) と高濃度耐性株 (0.5 $\mu\text{g/ml}$) が存在し、サイプレックス散布とは無関係に耐性菌が存在することが示唆されている^{2,4)}。

III 対策

北海道においては中央農試ほ場以外の一般農家ほ場からもベンゾイミダゾール系殺菌剤の耐性菌の出現が認められている¹⁾。したがって、調査の進展によっては耐性菌の分布範囲が広いことが予想される。しかし、耐性菌の出現とベンゾイミダゾール系殺菌剤の年間の散布回数、散布年数などの関係についてはまだ明らかにされていない。ベンゾイミダゾール系殺菌剤は、各種植物病原菌に対する耐性菌出現の例からみても本剤の連続散布については十分な考慮を払う必要がある。また、耐性菌の出現したほ場においては、黒星病に有効な代替殺菌剤の使用は当然である。

引用文献

- 1) 北海道中央農試 (1975) : 1974 年度寒冷地果樹に関する試験研究打合せ会議資料 (第2分科会) (謄写刷)。
- 2) GILPATRICK, J. D. and D. R. BLOWER (1974) : *Phytopathology* 64 : 649~652.
- 3) MACNEILL, B. H. and J. SCHOOLEY (1973) : *Can. J. Bot.* 51 : 379~382.
- 4) POLACH, F. J. (1973) : *Phytopathology* 63 : 1189~1190.
- 5) 沢村建三・原田幸雄・藤田 隆 (1973) : 日植病報 40 : 121.
- 6) SZKOLNIK, M. and J. D. GILPATRICK (1969) : *Plant Dis. Repr.* 53 : 861~864.
- 7) _____ and _____ (1973) : *ibid.* 57 : 817~821.
- 8) WICKS, T. (1974) : *ibid.* 58 : 886~889.
- 9) YODER, K. S. and E. J. KLOS (1972) : *Phytopathology* 62 : 779.

ポリオキシ耐性ナシ黒斑病菌の発生と対策

鳥取県果樹試験場 **う だ がわ ひで お**
宇 田 川 英 夫

ポリオキシ耐性ナシ黒斑病菌の発生が昭和46年に、鳥取県内のナシ園に認められたことは、鳥取大学の西村教授らによって報告されている。ここでは、ポリオキシ耐性ナシ黒斑病菌の、その後の推移と、防除の状況について報告する。

黒斑病多発時にポリオキシ耐性黒斑病菌が発生し、効果的な対策がないまま、現在にいたっている。その後は、有機銅剤の散布回数が多く、有機銅水和剤と有機銅・キャプタン剤とを合わせると、全体の散布回数の半分以上になっている。

I ナシ黒斑病とその防除

二十世紀ナシは黒斑病に特異的に弱い。果実にパラフィン袋をかけ、殺菌剤を10回以上散布することによって、ようやく果実の収穫が可能である。第1表は鳥取県二十世紀ナシ防除暦の黒斑病防除薬剤について、種類と散布回数との推移を表している。散布回数は昭和39年の11回が翌年に14回となり、また、46年の12回が翌年に15回になっている。兩年とも黒斑病が多発したためである。薬剤の種類は、39年の黒斑病多発が新殺菌剤使用の契機となり、ボルドー液から新殺菌剤に転換し、43年からボルドー液を廃止した。ダイホルタン、ポリオキシなどが、大きな期待のもとに防除暦に組み入れられ、期待どおりの防除効果を発揮した。黒斑病防除は容易になったと考えられていた。しかし、46年の

II ポリオキシ耐性黒斑病菌の発生

昭和46年は黒斑病の多発年であった。県下の各地に多発地域があったが、米子市別所、上安曇地区の発生状況は異常であった。梅雨初期の6月17日、発育枝の葉の発病状況の1例が第2表である。葉位が第1位の葉は展葉後40日くらい経っているので、通常の年には発病することはない。病斑数の多いことも、この時期としては考えられないほどであった。これは6月10日ごろに、急に発病したもので、それまでは病斑を認めなかったそうである。この地区の前年の果実被害はほとんどなく、この年の殺菌剤散布は防除暦に準じて実施されていた。

第2表の1葉から分離した黒斑病菌の胞子を、所定濃度のポリオキシを混入した素寒天平面培地に接種し、その発芽状況を調査した。また、7月20日多発した各地

第1表 黒斑病防除薬剤の種類と散布回数の変遷（鳥取県二十世紀ナシ防除暦から）

薬 剤	年 次												
	***39	40	41	42	43	44	45	***46	47	48	49	50	
ボ ル ド ー 液 剤	10	13	4	3	3	2	2	3	7	8	7	7	
有 機 銅 ・ キ ャ プ タ ン 剤			3	4	3	2	2	2	2	2	2	2	
ダ イ ホ ル タ ン		2*	3	3	3	2	4	3	3	3	3	3	
ア ル タ ノ ン						4	2	6	5**	5**	4**	4**	
ポ リ オ キ シ ン				3	2	1	1	1	1	1	2	2	
ソ の 他	4	5	5										
延 回 数	14	18	15	13	12	11	13	12	18	19	18	18	
防 除 回 数	11	14	13	13	12	11	13	12	15	16	16	16	

注 *：併記，**：3～2回は有機銅剤と混用，***：多発年

第2表 黒斑病による発育枝の葉の発病（46年6月17日，田子宗重園）

葉 位	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
病 斑 数	7	5	5	10	13	11	無数	21	34	19	9	20	25	68	38	—	34	24	43	15	9	7	7
副葉の病斑数*						38	35	45	35	30	25	27	24	20	13	15		3					

注 *：病斑数の数字の3個は葉が3枚，2個は葉が2枚，—：は落葉

第3表 各地の黒斑病菌のポリオキシン感受性

年次	月日	孢子源	菌株 採集地	ポリオキシンの濃度 (ppm)										
				200	100	20	10	5	2	1	0.5	0.1		
41 42	6.25	培地 // // // //	果試 // // // //								まれに発芽 (30) (50) 〔5〕(90) 〔10〕(80)	(40) (70) 〔30〕(95) 〔10〕(80)	(40)	
	5.1													
	5.11													
	6.8													
	7.6													
46	6.23	//	//				{ 0.4 } (57.5)							
	//	//	中山				{ 19 } (77.3)							
	//	//	米子				{ 55.4 } (30.3)							
	7.20	//	果試		{ 9.2 }	{ 2.7 }	{ 1.1 }	{ 1.7 }	{ 19 }					
	//	//	郷		{ 3.7 }	{ 3.8 }	{ 2.7 }	{ 7.4 }	{ 42 }					
	//	//	東		{ 7.7 }	{ 6.2 }	{ 26 }	{ 100 }	{ 100 }					
	//	//	東		{ 100 }	{ 100 }	{ 100 }	{ 9.9 }	{ 100 }					
	//	//	伯											
	//	//	米											
	//	//	子											
7.22	病果	東郷	0	{ 5.5 }		{ 5 }		{ 30 }						
//	//	羽合	0	0		0		0						
//	//	東	{ 30 }	{ 25 }		{ 30 }		{ 45 }						
//	//	伯	{ 0.5 }	0		{ 1.5 }		{ 55 }						
//	//	果試	{ 0.5 }	{ 0.5 }		{ 1.5 }		{ 15 }						
//	//	中山	0	0		{ 10 }		{ 22.5 }						
//	//	名和	0	0		{ 1 }		{ 5 }						
//	//	見	0	{ 5 }		{ 80 }		{ 100 }						
//	//	会	{ 97.5 }	{ 60 }										
//	//	米												
//	//	子												

() は異常発芽率, { } は発芽管の長さが孢子の長径の3倍以上に伸長したものの割合

の病斑から新たに分離した孢子, 7月22日に多発地の病果上に形成された孢子などについても, 同様の方法によって調査した。同方法によって調査した昭和41, 42年の結果と併せて示したのが第3表である。

昭和41, 42年, ポリオキシン 0.1~1 ppm 混入素寒天培地では, 黒斑病菌孢子は異常発芽し, そのままで伸長を停止した。しかし, 異常膨大部から, 更に菌糸を伸長するものが一部に認められた。発芽した菌糸の長さが孢子の長径の3倍以上に伸長すると, その後も伸長し続けるようである。

46年6月23日, 7月20日及び7月22日の米子の菌については, 他の地区の菌に比べて孢子の発芽, 及び発芽管の伸長が旺盛であった。この数字と, 鳥取大学の調査結果, 科研化学の調査結果などと併せて, 米子地区にポリオキシン耐性ナシ黒斑病菌が存在するものと確認された。他の多発地区のものは耐性菌とは考えられなかった。

III ポリオキシン耐性ナシ黒斑病菌の他薬剤に対する感受性

ポリオキシン耐性黒斑病菌の他薬剤に対する感受性を調査したのが第4表である。各薬剤の実用散布濃度の液を5~100倍になるように素寒天液中に混合して培地を作り, 孢子を接種して4日後に発芽菌糸の伸長状況を観

察した。

第4表から, ポリオキシン耐性菌も他の薬剤に対しては感受性であること, 構造式がポリオキシンに似ているピオマイシンにはポリオキシンと同程度の耐性を示すことなどが明らかである。

IV 耐性菌確認圃の次年度の防除と発病

昭和46年に被害激甚で, ポリオキシン耐性黒斑病菌が確認された米子市上安曇の田子園について, 47年の防除実績及び発病概況を第5, 6表にまとめた。46年には収穫皆無で, 早期に落葉し, 秋芽にも多数の病斑を生じた。越冬菌の密度が高かったので, 防除回数を多くし, 多大な労力と費用とが投入された。その発病率は期待以上に低く, これらの薬剤によって, ポリオキシン耐性ナシ黒斑病菌は防除できるものと判断された。

V ナシ黒斑病菌のポリオキシン耐性の検定法

多数の病斑から病原菌を分離し, 調査していくうちに, 次の諸点に気づいた。ナシ黒斑病菌は真夏に分離すると, 分離直後にわずかの孢子を形成するが, まもなく菌糸の伸長が旺盛になること。菌糸が伸長し始めると, 自然条件では孢子を形成させることが困難であること。ポリオキシン耐性菌は培地上で孢子形成が少なく, 菌糸の伸長が盛んな傾向があること。ポリオキシンに対する感受

第4表 ポリオキシシン耐性菌の薬剤感受性

菌 株 (ポリオキシシン耐性)	薬 剤 と 濃 度	培 地 内 濃 度					対 照
		5 倍	10倍	20倍	50倍	100倍	
果 試 (弱)	1. ポリオキシシン 1,000倍	(20) +	(10) ±	(5) -	(2) -	(1)* -	冊
	2. ダイホルタン 1,000	-	-	-	-	-	
	3. サニバー 600	+	±	±	±	±	
	4. キノンドー 500	-	-	-	-	-	
	5. トモオキシラン 600	-	-	-	-	-	
	6. 7012-b 600	-	-	-	-	-	
	7. モノックス 500	-	-	-	-	-	
	8. ビオマイシン 1,000	-	-	-	-	-	
	9. ジマンダイセン 500	-	-	-	-	-	
米 子 (強)	1. ポリオキシシン 1,000	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	2. ダイホルタン 1,000	-	-	-	-	-	
	3. サニバー 600	+	+	±	±	±	
	4. キノンドー 500	-	-	-	-	-	
	5. トモオキシラン 600	-	-	-	-	-	
	6. 7012-b 600	-	-	-	-	-	
	7. モノックス 500	-	-	-	-	-	
	8. ビオマイシン 1,000	冊	冊	冊	冊	冊	
	9. ジマンダイセン 500	-	-	-	-	-	

注 薬剤の散布濃度の液を 5~100 倍になるように素寒天液中に混合して培地を作り、各孢子を接種。

* () 内はポリオキシシン区の濃度 ppm

第5表 46年に耐性菌により大被害を受けた園の次年度の殺菌剤散布実績 (昭47, 田子宗重園)

薬 剤	月										計
	3	4	5	6	7	8	9	10			
PCP・石灰硫黄合剤	1										1
ダイホルタン		2	1	1	1						6
有機銅水和剤		3	4	3	2	2	2				16
サニバー			1								1
計	1	5	6	4	3	2	2	1			24

性は菌糸より孢子が敏感であること。ポリオキシシンに対する感受性が強いもの、弱いもの、中間のものなどが存在することなどである。

以上の諸点から、多数の病斑における病原菌のポリオキシシン耐性を検定するには次の方法がよいのではないかと考えた。病斑を試験管培地に分離する。培地はアンズ寒天培地がよい。分離直後に形成された孢子を、菌糸が基面全体にまん延する前に検定培地に接種する。検定培地はポリオキシシン 200, 20, 2 ppm 及び無添加の素寒天培地の4区とする。1シャーレに6菌株を接種する。25~30°C の温度下におき2日後と4日後とに、菌糸の伸長状況を観察する。菌糸は基面を伸長したもの、基中を伸長したものなど、肉眼で容易に認められる。2日後と4日後の観察では、菌株により菌糸の伸長程度が平行的にならないものがあったり、200 ppm の培地上の菌糸の伸長量が、20 ppm のそれより著しいものがあったり

第6表 第5表の防除実績下における発病概況 (昭47, 田子宗重園)

摘果の発病率 5月14日	被袋果の採取調査		病葉率 7月30日	病落果率 (聞取り)	取果率 (聞取り)
	6月14日	7月19日			
2.5%	1.0%	5.0%	2.5%	10~20%	1~5%

する場合も認められた。そのため、2日後と4日後との2回観察して、強, 中, 弱を総合判定するのがよいようであった。ポリオキシシン耐性強, 中, 弱の基準は次のようにした。4日後に2 ppm 培地上で菌糸を認めないものを弱, 200 ppm で伸長しているものを強, その中間のいろいろな程度のものを中とした。

検定培地に孢子を接種する時には次の点に注意した。接種孢子数をあまり多くしないこと。白金耳で孢子を釣るとき、菌糸を釣らないようにすることなど。

この方法は肉眼観察によって判定でき、孢子の発芽のみでなく、菌糸の伸長程度を加味して検定できること。多数の菌株を短時間に判定できること。素寒天培地であるから検鏡も容易であることなどが有利である。しかし、孢子の発芽率などのように結果が数字で厳密に出る方法ではなく、あくまで多くの点数を省力して検定する方法であると思われる。

VI ポリオキシン耐性ナシ黒斑病菌の密度及び分布

次に述べる結果はいずれも上記の方法による。

1 米子地区

米子地区から 40 園あまりを選んで、耐性菌の密度、分布状況及びその推移を調べたのが第7表である。46年(1園1病斑調査)には60%、47年以降は1園について10病斑調査し、47年に92%、48年に63.8%、49年に35.5%の園に耐性菌が認められた。また、耐性菌株の検出率は46年に67%、47年に37.8%、48年に15.6%、49年に7.3%であった。ポリオキシン耐性黒斑病菌の検出園及び検出菌株の割合は、年をおって低下していること。46年または47年にもポリオキシン耐性菌のみではなく、ポリオキシン感性菌も存在していたことなどが明らかである。

この地区では、46年7月以降、第5表に示された農薬を使っており、まだ、ポリオキシンを散布していない。しかし、ポリオキシン耐性菌の密度を減少させている要因がこの点だけにあるかどうかは明らかでない。

第7表 米子地区における耐性菌の推移

年次	項目 調園数	耐性菌 検出数	同率	調査菌 株数	耐性菌 株数	同率
昭46	45	24	53.2%	36	24	67%
47	39	36	92.0	386	146	37.8
48	44	28	63.5	385	60	15.6
49	45	16	25.5	426	31	7.3

2 果試ほ場

果試場内の殺菌剤効果試験ほ場(二十世紀ナシ、成木、一般栽培)における各年の殺菌剤効果試験結果から、キノンドー区とポリオキシン区とについて、7月中~下旬の病葉率を年次別に示したのが第8表である。昭和41年から45年まではポリオキシン区の発病率が低いが、46年以降は反対に高くなる傾向が認められる。場内にもポリオキシン耐性黒斑病菌が次第に増加したためであろうと思われる。

第8表 発病葉率の推移(果試)

薬剤名	年次								
	41	42	43	44	45	46	47	48	49
キノンドー	31.5%	43.7%	78.3%	16.3%	17.4%	51.5%*	40.3%	43.0%	46.4%
ポリオキシン	10.3	29.5	28.2	8.1	7.5	58.7	44.6	36.7	57.3
($\frac{\text{ポリオキシン発病率}}{\text{キノンドー発病率}} \times 100$)	32.7	67.5	36.0	49.6	43.1	113.6	110.2	85.0	122.3

注 散布回数 7~10 回, *: Fu-124 (キノンドー類似品)

両区について、病菌のポリオキシン耐性程度を調べた結果が第9表である。この薬剤試験は樹が年によって変わっているため、ポリオキシンの連用はその年だけであった。したがってポリオキシン耐性菌の増加傾向は著しくはなかった。しかし、47年、48年にはポリオキシン区に、ポリオキシン耐性菌及び中間菌の割合が多いようである。

第9表 場内黒斑病菌のポリオキシン耐性程度別割合

区	年次 耐性程度	47			48			49		
		強	中	弱	強	中	弱	強	中	弱
キノンドー ポリオキシン		%	%	%	%	%	%	%	%	%
		40.0	60.0	9.5	28.5	62.0	8.3	41.7	50.0	61.0
		31.5	47.5	21.0	8.0	52.0	40.0			

注 両区とも約 30 菌株供試

第10表はポリオキシン、キノンドー以外の新殺菌剤区の樹から分離した菌を含めた結果である。約100菌株に対し耐性強:中:弱の菌数の割合が1:4:5に近くなっている。

第10表 場内黒斑病菌のポリオキシン耐性程度別割合

年次	項目 調査菌株数	ポリオキシン耐性程度		
		強	中	弱
昭48	122	13.1%	33.6%	53.3%
49	95	7.4	40.0	52.6

3 現地(昭和47年に耐性菌を認めたほ場)

昭和47年に県下の各地からポリオキシン耐性黒斑病菌の発生園を認めた。それらの園について、48年、49年の推移を表したのが第11表である。この表の13園は県の東部から西部にわたって分布していること、県内各地にポリオキシン耐性黒斑病菌が分布していること。その後の耐性菌の密度はやや低下しているが、まだかなりの高い率で存在すること。耐性程度が中間の菌が多いことなどが明らかである。これらの園は防除層に準じて防除されており、ポリオキシンが年間に数回散布されている。

第 11 表 昭和 47 年に耐性菌を確認したほ場における耐性菌の推移

年	項目 調査園	耐性菌 検出率	供試菌 株数	ポリオキシシン耐性程度		
				強	中	弱
48	13	53.8%	83	48.2%	14.4%	37.4%
49	13	61.5	204	18.5	30.4	51.1

4 県の中・東部地域

昭和 48~49 年に県の中・東部地域のナン栽培農家の約半数から、1戸1病斑を採集して、そのポリオキシシン耐性程度を調べた。その結果が第 12 表である。耐性菌が約 10%、中間菌が約 35%、感性菌が約 55%となっている。黒斑病菌のポリオキシシン耐性程度別割合は、各郡市別によって相異が認められるが、いずれの地域にもポリオキシシン耐性黒斑病菌が広く分布していることが認められた。

第 12 表 郡市別ポリオキシシン耐性黒斑病菌の分布状況 (昭 48, 49)

郡市別	検体数	耐性程度		
		強	中	弱
東倉	1,240	13.8%	33.4%	52.8%
伯吉	398	10.8	26.7	62.5
八頭	1,239	10.3	37.3	52.4
鳥取	75	6.7	14.7	78.6
岩美	219	5.0	27.9	67.1
気高	189	3.7	37.6	58.7
計	3,360	10.9	33.5	55.6

VII 対 策

果試ほ場 (第 10 表), 昭和 47 年に耐性菌を確認した

現地 (第 11 表), 県中・東部地域 (第 12 表) の結果は、耐性程度が強:中:弱の菌数の割合が 1:4:5 の比でおおむね一致している。これらの園はポリオキシシンを防除剤に準じて散布している例であり、ポリオキシシン耐性黒斑病菌及び中間菌が多数存在している。

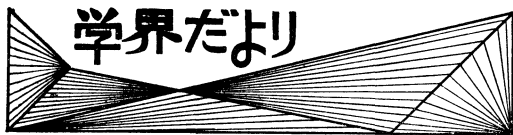
米子地区の場合のように、集団で広い地域に耐性菌が分布していると、ポリオキシシンの使用を全く中止している例もある。この場合は第 7 表のように、耐性菌は減少する傾向にあるが、まだ皆無の状態にはなっていない。

ポリオキシシンはポリオキシシン耐性黒斑病菌が県内に広く分布していることが認められてからも、第 1 表に示されるように防除剤に組み入れられている。これは最近の殺菌剤の種類減少傾向、各種殺菌剤の黒斑病防除効果、各種薬剤の価格などの諸点から、ポリオキシシンを全く使用しないことは、適切ではないと考えられるからである。ポリオキシシンの使用回数は昭和 47, 48 年が 5 回, 49 年以降は 4 回となっている。50 年には 4 回散布のうち、2 回 (4 月上旬, 7 月上旬) は単用散布とし、他の 2 回 (5 月上旬, 6 月上旬) は有機銅水和剤と混用散布している。混用散布の時期は、黒斑病の重点防除時期と考えられている小袋かけ前と、大袋かけ前とである。

このような状態のときに、ポリオキシシンをどのように取り扱うべきかについては大きな問題のあるところであり、1 日も早く、この問題が解決されるよう期待している。

引 用 文 献

西村正暁・甲元啓介・宇田川英夫 (1972) : 植物防疫 26(4) : 23~25.



○日本植物病理学会事務所移転のお知らせ

日本植物病理学会の事務所は昭和 50 年 5 月 1 日より農業技術研究所から下記へ移転しました。
東京都豊島区駒込 1 丁目 43 番 11 号 郵便番号 170
日本植物防疫協会ビル内
電話 東京 (03) 944-1561~4 番



○中島 茂氏ら叙勲さる

春の叙勲により植物防疫関係者のうち中島 茂氏(元宮崎大学教授)及び松浦 義氏(元茨城大学教授)が勲三等旭日中綬章を、岩田秀夫氏(元大阪府農林技術センター所長)及び吉野至徳氏(元中国農業試験場長)が勲三等瑞宝章をそれぞれ受章された。

ベノミル耐性灰色かび病菌の野菜における発生と対策

高知県農林技術研究所 **やまもと いわお**
山 本 馨

ベノミル耐性の灰色かび病菌の存在については既に BOLLEN ら (1971) の報告がある。高知県においても最近果菜類の灰色かび病に対してベノミル及びチオファネートメチルの効力不足が指摘されるようになり、筆者は1974年から県内の果菜類の灰色かび病を対象にベノミル耐性菌の検出を試み、併せて耐性菌の他剤に対する反応についても若干の検討を行ってきた。まだ本試験は緒についたばかりで未解の点が多いが、現在までに得られた結果を紹介して参考にする。

I ベノミル耐性菌の検出

最初の検定は1974年2月に実施した。ベノミル剤またはチオファネートメチルの効果が低いといわれる地帯のキュウリ、ナス各3地点及びこれら薬剤の使用が少ない当所内のトマト、ナス、イチゴ各1点ずつから分離した菌9株と1969年にトマトから分離保存していた1株の計10株を供試した。検定用培地にはストマイ125ppm

を添加したPDA (以下ストマイPDAと略記)を用いた。培地は溶解後約55°Cに保ち、これに少量のアセトンで溶解したベノミル剤の所定量を添加してシャーレ平板とし、供試菌の培養菌叢片(5mm)を移植して23°C 50時間後に発育状況を調査した。

結果は第1表のとおりで、供試10菌株中9株はベノミル0.5ppm以上を添加した培地上では全く発育せず、すべて感性菌と見なされた。しかし、No.2菌株のみは5ppm添加でも発育抑制がみられず、無添加と同様の発育を示したところから耐性株と考えられた。

この結果から、ベノミル耐性菌に由来する灰色かび罹病個体の存在が確認されたが、その割合は本調査の段階ではまだあまり高くないものと推察された。

1975年2~3月には、県内の多発地帯のキュウリ(4地点)、ナス(3地点)、ピーマン(2地点)及び比較的少発地帯のキュウリ(2地点)、ナス(3地点)から採集した罹病標本を用い、それぞれベノミル1,000ppm

第1表 分離菌のベノミル耐性 (伸長抑制率%) (1974)

供試菌 No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
採集地	春野町	春野町	春野町	安芸市	安芸市	奈半利町	伊野町	伊野町	伊野町	香北町
作物名	キュウリ	キュウリ	キュウリ	ナス	ナス	ナス	トマト	イチゴ	ナス	トマト
濃度 (ppm)	0.1	58.2	0	85.6	50.5	81.8	50.5	79.1	90.7	49.7
	0.5	100	0	100	100	100	100	100	100	100
	5.0	100	0	100	100	100	100	100	100	100

注 供試菌1~6はベノミル剤などの効果が低いといわれている地帯からの分離菌、7~9はベノミル剤の使用が少ない地帯からの分離菌、10は1969年分離菌。

第2表 罹病組織からの耐性菌の検出 (その1 多発地帯, 1975)

採集地	検定月日	作物名	試料数	検出率* (%)
大方町 (A)	2月4日	キュウリ	16	100
〃 (B)	〃	〃	26	100
春野町	〃	〃	24	96
安芸市川北	2月8日	〃	20	85
〃 下山	〃	ナス	20	100
〃 土居	〃	〃	20	100
芸西村山田	〃	〃	20	95
〃 馬の上	〃	ピーマン	20	100
須崎市	〃	〃	10	80

*ベノミル1,000ppm添加PDA平板上での分離率

第3表 罹病組織からの耐性菌の検出 (その2 少発地帯, 1975)

採集地	作物名	培地へのベノミル添加	試料数	分離率 (%)
南国市久礼田	ナス	有	7	0
		無	7	100
		〃	7	0
〃 〃	キュウリ	有	7	57
		無	7	0
		〃	7	0
〃 岡豊	ナス	有	7	100
		無	7	0
		〃	6	0
高知市北浦	〃	有	6	100
南国市日章	キュウリ	有	5	0
		無	5	80
		〃	5	0

添加 PDA 平板上に直接罹病組織片を置き、20°C で 5 日間培養して菌叢伸展の有無を調査した。

結果は第 2, 3 表に示した。県内各地の多発ほ場から採集したキュウリ、ナス、ピーマンの罹病組織からは最低 80%, 最高 100% の割合で灰色かび病菌が分離された。本検定ではベノミル無添加培地を用いなかったため、この方法で分離できなかった罹病組織がすべて感性菌に基づくものかどうかは不明であるが、少なくとも菌が検出された罹病個体は耐性菌に由来するものと考えられ、県内にかなり広範囲にわたって耐性菌が分布し、そのようなほ場では発病に関与する割合も著しく高まっていることが明らかになった。

一方、少発ほ場で採集した罹病個体からは、PDA 平板上では高率に灰色かび病菌が分離されたが、ベノミル添加 PDA 上では全く分離されず、耐性菌に由来するものは認められなかった。

II ベノミル耐性菌の他剤に対する反応

ベノミル耐性菌は他の benzimidazol 誘導体及びチオファネートメチルに対して交差耐性を示すことが知られている (BOLLEN ら, 1971)。分離した耐性株 (B-R-1) 及び感性株 (B-S-1) を用い、数種の実用薬剤及び現在開発中の薬剤に対する耐性を比較検定した。

第 1 回試験ではベノミル剤を含む 7 種の市販薬剤の所定量を添加したストマイ PDA 平板に耐性株及び感性株を移植し、22°C で 48 時間培養して発育を調べた。

その結果ベノミル及びチオファネートメチルは感性株に対しては 0.5~500 ppm の濃度で顕著な発育抑制を表したが、耐性株に対する抑制率は著しく低く、ベノミル

耐性株はチオファネートメチルに対して明らかな交差耐性が認められた。しかし、その他の薬剤に対する耐性は認められなかった (第 1 図)。

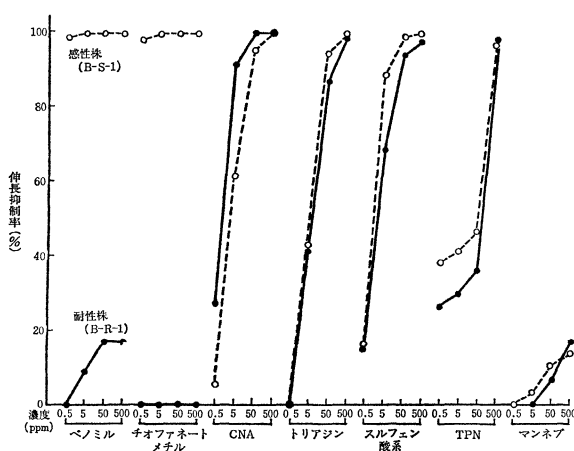
第 2 回試験ではベノミルを対照に現在開発中の 5 種の薬剤を供試し、各薬剤の所定量を添加した PDA 平板上 20°C で 50 時間培養した。

結果は第 2 図のとおりで、耐性株は TBZ 及び DPX-1060 に対しては明らかな交差耐性を示し、DPX-741 に対してもあまり顕著ではないが耐性が認められた。しかし、S-7131 及び NRC-910 に対しては全く耐性を示さなかった。

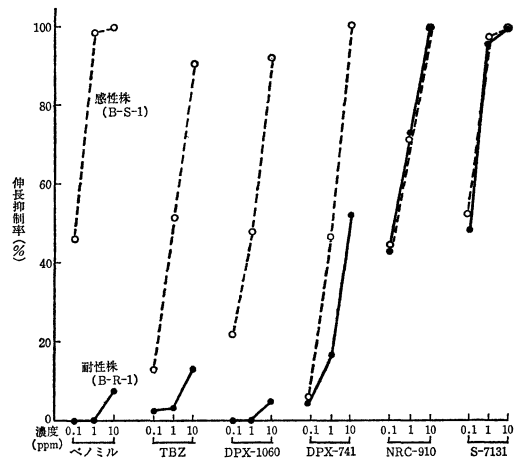
III 対策と問題点

耐性菌対策の上で、ほ場における耐性菌の経時的変動を把握することは重要な項目の一つとされている。本調査結果は耐性発達の過程を考える上でまだ十分とはいえない。しかし、施設栽培のような病原菌の増殖に最適な環境下では一度耐性菌が出現すれば選択的作用を持つ薬剤の使用によってそのまん延が急速に促がされることは、多発ほ場からの耐性菌の分離率が著しく高かったことから推察される。したがってハウスの環境改善特に湿度低下のための具体的措置は、耐性発達防止のためにも重要といえよう。

耐性発達に対する薬剤的予防措置としては異なった作用性を有する薬剤との交互使用あるいは混用が一般的な考え方である。そのような目的のために現在使用可能な薬剤としては CNA, スルフェン酸系, トリアジンなどが考えられる。しかし、これらの薬剤はいずれも感性菌に対するベノミルまたはチオファネートメチルの効果に



第 1 図 耐性株の他剤に対する反応 (その 1 主な市販薬剤)



第 2 図 耐性株の他剤に対する反応 (その 2 開発中の薬剤)

比較すると発育抑制程度が低い点に問題が残される。なお、本試験では用いなかったがポリオキシン複合体は本病に対して有効であり、野菜試久留米支場の成績ではベノミル耐性菌に対しても有効のようである。このような薬剤を含めて更に有効な薬剤の探索と実用的な計画使用法の確立が急がれる。なお、S-7131 及び NRC-910 は

現在最も有望な代替薬剤として実用化への期待が大きい。

参 考 文 献

- BOLLEN, G. J. and G. SCHOLTEN (1971) : Neth. J. Pl. Path. 77 : 83~90.
上杉康彦 (1973) : 植物防疫 27 (4) : 155~158.

人 事 消 息

新美善朗氏 (東海農政局生産流通部農産普及課) は農蚕園芸局植物防疫課防除班へ
鈴木穂積氏 (北陸農試環境部主任研究官) は東北農業試験場栽培第1部病害第1研究室長に
斎藤 泉氏 (北海道立中央農試病虫部病理科研究員) は北海道立中央農業試験場病虫部病理科長に
島田晃雄氏 (青森農試次長) は青森農試農業試験場長に
山田幸雄氏 (同上試験場) は退職
鷲尾貞夫氏 (青森農試作園芸試病理昆虫科長) は同上農園芸試験場研究管理員に
福島千男氏 (同上試) は同上場病理昆虫科長に
千葉弘毅氏 (岩手県農政部農産園芸課課長補佐) は岩手県大船渡農業改良普及所長に
藤村清一氏 (同上農試東北分場長) は同上農宮古農業改良普及所長に
古沢典夫氏 (同上農試本場経営科長) は同上農試農業試験場東北分場長に
末永喜三氏 (宮城県農業センター副所長) は宮城県農業センター所長に
宮本硬一氏 (同上センター農産部長) は同上農古川農業試験場長に
油井政敬氏 (同上農政部技術副参事) は同上農園芸試験場長に
木下 彰氏 (同上農試センター所長) は退職
鈴木惣蔵氏 (同上農古川農試場長) は退職
吉良 功氏 (同上農試園試場長) は宮城県農業短期大学教授に
大沼 昇氏 (山形県農林部土壤汚染対策室長) は山形県農林部次長に
中川尚志氏 (同上部蚕糸農産課長) は同上部土壤汚染対策室長に
渡辺信一氏 (同上農試庄内支場長) は同上部蚕糸農産課長に
中村俊雄氏 (同上農試県民会館副長) は同上農試農業試験場副場長に
鈴木 正氏 (同上農試庄内支場作物部長) は同上場庄内支場長に
河内信広氏 (同上試本場副場長) は退職
加藤公光氏 (福島農試浜支場研究員) は福島県郡山病虫害防除所主査に
藤森要吉氏 (同上農試園試副場長兼果樹部長) は福島農園芸試験場長に
熊倉正昭氏 (同上試病理昆虫部専門研究員) は同上場病理昆虫部部長に

原田良平氏 (福島農園試果樹部専門研究員) は福島農園芸試験場果樹部長に
木村穎治氏 (同上農政部農業改良課専門技術員) は同上場野菜部長に
山根一男氏 (同上試場長) ・戸井田義孝氏 (同上試野菜部長) は同上場付に
遠藤金弥氏 (同上試主任専門研究員兼病理昆虫部長) は同上場病理昆虫部長兼務を解かれ、同上農立農業短期大学園芸科長を兼務
中山 保氏 (栃木県高等園芸研修所長) は栃木県農業試験場長に
船山二郎氏 (同上農試場長) は退職
山賀一郎氏 (群馬農試栽培部長) は群馬農試農業試験場長に
五味美知男氏 (同上試環境部長) は同上場次長兼企画連絡室長に
中島文四郎氏 (同上農試技術課専門技術員) は同上場環境部長に
沼尾林一郎氏 (同上農試場長) は群馬女子短期大学教授に
斎藤榮賢氏 (同上試次長) は群馬県米麦改良協会へ
中村吉男氏 (同上農政部農業技術課第4専門技術員室長) は同上農園芸試験場長に
大鹿保治氏 (同上農園試場長) はトキタ種苗株式会社取締役技術部長に
池田 淳氏 (千葉農試林部長) は退職
大野俊雄氏 (山梨農試果樹試場長) は山梨農試農業試験場長に
足立元三氏 (同上試主任研究員兼営農科長) は同上農試果樹試験場長に
由井重文氏 (同上農試場長) は退職
宍口市良氏 (富山農試次長) は富山農試農業試験場長に
望月正巳氏 (同上試場長) は富山農立技術短期大学教授に
西川光一氏 (石川県農林水産部農業改良課副参事) は石川県農業試験場長に
河内芳治氏 (同上農試場長) は石川県経済農業協同組合連合会へ
伊阪実人氏 (福井農試環境部病理昆虫科長) は福井農立短期大学農学科植物病理学研究室へ
山仲 巖氏 (滋賀農試総合技術部長) は滋賀農試農業試験場長に
下島久雄氏 (同上農試場長) は退職
田森美治氏 (大阪府農林技術センター畜産部長) は大阪府農林技術センター所長心得に
菊池重次氏 (大阪府農林技術センター所長) は退職

オキシカルボキシ耐性キク白さび病菌の発生と対策

農林省野菜試験場 ^あ ^び ^こ ^{かず} ^お
我 孫 子 和 雄

キクの白さび病は *Puccinia horiana* P. Hennings の寄生によって起こるキクの重要病害である。本病の防除には従来から水和硫黄剤、マンネブ剤、アンバム剤、キャプタン剤などの薬剤が使用されてきたが、これらの薬剤は植物体に対する汚染がひどかったり、防除効果が十分でないなどの欠点があり、必ずしも適切な防除薬剤とはいえなかった。昭和 46 年日本植物防疫協会の委託試験に供されたオキシカルボキシ剤（プラントボックス）は本病に対して極めて防除効果の高いことが確認され、それ以後、本病の特効薬として使用されてきた。ところが 48 年秋以降、奈良県、三重県などのポットマム栽培の温室で、本剤を常用濃度あるいはそれ以上の濃度で散布しているにもかかわらず、白さび病が激しく発生し、問題になってきた。筆者らがこの原因について調査した結果、本剤の効果が減退した温室内には耐性菌が発生していることが明らかになった。本報では、耐性菌を確認した過程及び現地地で実施されている当面の耐性菌対策について概要を述べることにしたい。

I 耐性菌の発生

1 現地調査

オキシカルボキシ剤の効果が減退して問題になったのは、奈良県 五条市及び三重県桑名郡長島町のポットマム栽培の一部の温室であって、現地では本剤を 250~375 ppm という高濃度で使用していたにもかかわらず、白さび病が激発していた。現地では本剤が初めて使用されたのは昭和 43 年ころであり、当時は試供品として輸入された製剤であったが、極めて優れた防除効果が認められたといわれていた。そして、本剤が実用化されて後は他の薬剤をほとんど使用せず、本剤のみが本病の防除のた

めに連続して使用されてきた。また、三重県桑名郡長島町で栽培されていたポットマムの苗は、奈良県五条市から購入されたとのことであり、現地に発生した白さび病菌は苗に伴って搬入されたことが推察された。

2 耐性菌の検出

オキシカルボキシ剤の効果が減退したのは耐性菌が出現しているためではないかとの疑問が生じたため、現地地で採集した菌株の本剤に対する感受性を調査した。供試菌は現地からそれぞれ採集した奈良 No. 1 菌、No. 2 菌及び三重 No. 4 菌の 3 菌株であり、これに对照菌として三重県下から採集した 3 菌株（三重 No. 1, 2, 3 菌）を用いた。これらの对照菌はビニールハウス栽培の切花用キクに発生したもので、菌を採集する時までには本剤が 2~3 回使用されたことがあるが、本剤は高い効果を示したといわれていた。

薬剤感受性の検定は主として冬孢子発芽試験及び小生子発芽試験によって行い、これらの室内試験の結果が実際の防除効果と一致するかどうかを知るため、ポット試験を行った。

冬孢子発芽試験：所定濃度の本剤を含有した 1% 寒天片を厚さ 2mm 内外、大きさ 1.5×2.0cm くらいに切ってスライドグラスにのせ、この寒天片に冬孢子堆の横断切片を 10 片ずつ置き、シャーレに納めて 22°C に 15~20 時間保ったのち検鏡した。調査は冬孢子の発芽及び小生子の形成状況について行い、最も多いもの卍、中程度のもの卍、ごくわずかに認められるもの+、全く認められないもの-として表示した（第 1 表）。調査の結果、本剤の効果の減退が認められた場所から採集した菌株は、本剤の効果が認められている場所から採集した菌株に比べて、薬剤に対する感受性が低下していること

第 1 表 オキシカルボキシ剤感受性の菌株間の比較（室内試験）

処 理 濃 度	奈 良 No. 1 菌			三 重 No. 1 菌		
	冬孢子発芽	小生子形成	小生子発芽率	冬孢子発芽	小生子形成	小生子発芽率
200ppm	—	—	0.0%	—	—	0.0%
100	—~+	—	0.0	—	—	0.0
50	—~+	—	29.4	—	—	0.0
20	+~卍	+~卍	30.7	—	—	0.0
10	卍~卍	卍~卍	38.2	—~+	—	0.0
5	卍~卍	卍~卍	54.6	+~卍	—~+	14.2
2				卍~卍	+~卍	89.9
Cont.	卍	卍	79.3	卍	卍	91.0

が判明した。すなわち、三重 No. 1, 2, 3 菌の3菌株は 20ppm で冬胞子の発芽が抑制されたのに対し、奈良 No. 1, 2 菌及び三重 No. 4 菌の3菌株は 200ppm で初めて抑制された。また、小生子の形成では他の菌株が 10 ppm で阻止されたのに対し、奈良 No. 1, 2 菌及び三重 No. 4 菌では 50ppm で形成が阻止された。

小生子発芽試験：シャーレのふたの裏側に厚さ 2mm 内外、大きさ約 1.0cm 角の1%素寒天片をはりつけ、この寒天片に冬胞子堆の横断切片を2~3片ずつのせた。一方、所定濃度の本剤を含有した 1% 寒天片を厚さ 2mm 内外、大きさ約 1.5×2.0cm に切ってスライドグラスにのせ、シャーレに納めて小生子が寒天片上に落下する位置に置いた。そして 22°C に 15~20 時間保ったのち、検鏡して小生子の発芽状況を調査した(第1表)。三重 No. 1, 2 及び3菌の3菌株では 10ppm で小生子の発芽が完全に抑制されたのに対し、奈良 No. 1, 2 菌及び三重 No. 4 菌は 100ppm で抑制され、本剤の小生子発芽抑制効果についても、菌株によって明らかな差異があることが判明した。

以上から、本剤の効果の減退が認められた場所から採集した3菌株は、本剤の効果が認められている場所から採集した菌株に比べて、本剤に対する感受性が低下していることが明らかとなった。

ポット試験：供試菌の中から奈良 No. 1 菌と三重 No. 2 菌を選び、これら2菌株を接種した場合について本剤の防除効果を比較した。ポットに植えた 7~10 葉期のキク苗(品種：くれない)に本剤の 3,000 倍液(167ppm)、5,000 倍液(100ppm)、7,000 倍液(71ppm)をそれぞれ噴霧し、風乾したのち、接種箱(22°C、湿度 95%以上)に入れ、約 40cm 上方に病葉をつるして接種した。48 時間後接種箱より取り出し、ビニールハウス内に約 2 週間保ったのち、発病状況を調査した。結果は第2表に示すとおり、奈良 No. 1 菌を接種した場合には、本剤の 5,000 倍及び 7,000 倍液散布区で発病が多く、更に 3,000 倍液散布区でも 16.1% の発病がみられ、本剤の効果は劣った。これに対して、三重 No. 2 菌を接種した場合には、5,000 倍及び 7,000 倍液散布区でもわずかし

第2表 オキシカルボキシン剤の発病予防効果の比較(ポット試験)

散布濃度	奈良 No. 1 菌		三重 No. 2 菌	
	発病率	1 葉当たり病斑数	発病率	1 葉当たり病斑数
3,000倍(167ppm)	16.1%	5.3	0.0%	0.0
5,000倍(100%)	25.8	4.7	5.8	1.5
7,000倍(71%)	22.6	10.5	7.2	2.7
無散布	47.1	9.7	52.0	42.9

か発病がなく、3,000 倍液では全く発病が認められなかった。現地では本剤を常用濃度以上で使用していても激しい発病がみられたが、この試験の結果は本剤の防除効果が劣ったという現地の状況を裏付けているものと考えられる。以上の試験結果から、奈良県五条市や三重県長島町で本剤の防除効果が減退したのは耐性菌が発生したためであることが確認された。

II 対 策

キク白さび病菌における薬剤耐性菌の発生例は今日までなく、ここで述べたオキシカルボキシン耐性菌の発生が最初と考えられる。筆者らが行っている耐性菌に関する研究は今日までのところ、耐性菌の発生を確認した段階である。今後は本耐性菌がどのような機構によって実際の防除の場面で発生したのか、発生機構を解明し、これを基礎にして耐性菌を発生させない上手な薬剤の使用法及び発生した耐性菌を無効化する方法を早急にみつけるべく研究を進めたいと考えている。

当面の耐性菌対策としては、最近になって次々と報告されている各種植物病原菌における薬剤耐性菌についての研究結果を参考にして、耐性菌の発生が確認された場所では発病苗の廃棄処分を含めたほ場衛生につとめるとともに、防除薬剤としては水和硫黄剤、硫黄粉剤などの使用を勧めている。また、耐性菌の発生が未確認な場所では、本剤単一の連続使用を避け、他種薬剤(硫黄剤、マンネブ剤、キャプタン剤、アンバム剤など)との交互使用または混用を勧めている。

薬剤耐性植物病原細菌の発生と対策

農林省蚕糸試験場 たか はし こう きち
高 橋 幸 吉

最近植物の細菌病は種類及び被害面積ともに増加の傾向にある。我が国で近年新たに発見、または多発の傾向にある細菌病は約 30 種の植物に発生し、40 数種類の多きに達している。これらの細菌病の増加を助長している要因としては罹病しやすい品種の普及、栽培法の変化(ハウス栽培、スプリンクラー散水なども含む)、風雨・虫害による付傷などであるが、種苗伝染や土壌伝染するものでは有効薬剤の欠除あるいは防除の困難性があげられる。現在細菌病防除上共通した問題は有効な散布剤が極めて少ないことで、これを更に困難ならしめている原因の一つに薬剤耐性菌発生による効力低下がある。抗生物質は一般に抗細菌性のものが多く、植物病害に対する応用の研究も古くから盛んに行われ、ストレプトマイシン(SM)単用及びテトラサイクリン(TM)と併用が数種の細菌病防除に効果があり、かつ、薬剤防除が経済的で実用化されている。そのほかクロラムフェニコール及びセロサイジンもイネ白葉枯病の防除に利用された。

抗生物質は医学関係のおびただしい報告のように耐性菌株が出現しやすく、特に SM 系物質でその傾向が強い。それは植物病原細菌を用いた室内試験、ほ場散布試験でも立証されており、また、病原細菌が薬剤に接触する以前に既に耐性菌が存在する事例も知られている。

植物病原細菌の薬剤耐性についての研究は最近多くなっているが、その対策に取り組んだ報告は極めて少ないため、残念ながら対策の論議は十分でできなかった。また、諸外国における薬剤耐性植物病原細菌及び医薬領域における耐性菌研究の現状については本号で他の方々によって詳述されるので本文では参考程度にとどめたい。

I ほ場における薬剤耐性菌の発生と分布

ほ場における薬剤耐性菌の発生は、薬効低下がきっかけとなって確認されている。SHAW and THORNE(1956)、SHAW ら (1957) 及び COLE (1960) はタバコ野火病菌(*Pseudomonas tabaci*)、KNAUSS (1971) は *Xanthomonas dieffenbachiae* に対する SM 散布のほ場試験で殺菌効果が高いが耐性菌が出やすく、防除効果は急速に低下するとされ、COLE のほ場実験では 1 回の散布で耐性が生まれたと報告している。また、薬剤耐性菌は薬剤を防除剤として使用する以前に広く分布するという多くの報告がある。脇本・向 (1963) は全国各地の罹病葉から集団状

態で分離されたイネ白葉枯病菌 (*X. oryzae*) のなかには SM 耐性菌を高率に含んでいる菌株が多数存在し、その分布に規則性は認められなかった。その SM 耐性菌株のなかに含まれる SM 耐性菌の割合は、それぞれの菌株によって異なるが、最高 1,000mcg/ml に耐える細菌の割合がほとんど 100% に近い値を示した菌株もあった(第 1 表)。筆者らは薬剤散布の経験のない各地のクワ縮葉細菌病病斑から *P. mori* を単個あるいは集団状態で分離し、SM、TM 及びカスガマイシンの耐性菌の含有率を調べた結果、第 2 表のように耐性の程度には差があるが、かなり多くの菌株が耐性菌を含み、耐性菌株の出現は、単個と集団状態に起源した菌株間にほとんど差がなかった。また、12 都県から同様に耐性菌の分布を調べたが、第 3 表のように大部分の県で耐性菌株が発見され、耐性菌出現率の地域差はないものと考えられた。タバコに SM 500mcg/ml を散布すると、タバコ体内濃度は 8mcg/ml をはるかに越える場合があること(日高・村野, 1956a)、*P. tabaci* に対しては 5mcg/ml で完全に殺菌効果があり、1mcg/ml では生長を抑制し、のちに増殖してくる場合があること(日高・村野, 1956b) から前田・山口(1971 a) は *P. tabaci* の SM 耐性菌用分布検定培地は 10mcg/ml と低濃度耐性菌数測定のため 1mcg/ml の 2

第 1 表 イネ白葉枯病菌ストレプトマイシン耐性菌株の耐性菌含有率(脇本・向, 1963)

菌株番号	採集地	無添加培地の集落数に対する各濃度の出現比率		
		10 mcg/ml	100 mcg/ml	1,000 mcg/ml
N5618	熊本	14.4%	8.9%	0 %
N5619	鹿児島	100	91.3	43.5
N5710	秋田	87.9	24.1	0
N5811	宮城	48.0	0	0
N5817	群馬	99.1	77.7	48.2
N5829	福井	96.3	98.9	40.1
N5841	滋賀	85.4	86.1	51.0
N5843	岐阜	47.8	0.7	0.7
N5854	山口	102.4	88.0	98.9
N5856	〃	60.0	53.3	46.7
N5858	〃	73.6	81.4	56.6
N5867	高知	85.0	76.2	44.6
N5861	徳島	4.2	1.0	0
N5868	福岡	99.9	95.6	0
N5870	〃	74.1	48.1	17.7
N5902	山形	0	0	0
H5809	北陸	0.7	0	0
H5839	〃	0	0	0

第2表 クワ縮葉細菌病菌の集落の起源別耐性菌含有菌株数

集落の起源	供試菌株数	耐性菌含有菌株数								
		ストレプトマイシン			オキシテトラサイクリン		カスガマイシン			
		10 mcg/ml	100 mcg/ml	1,000 mcg/ml	10 mcg/ml	100 mcg/ml	10 mcg/ml	100 mcg/ml	1,000 mcg/ml	
集団集落	29 (%)	23 (79.3)	16 (55.6)	8 (27.6)	13 (44.8)	0 (0)	29 (100)	2 (6.9)	0 (0)	
単一集落	61 (%)	43 (70.5)	38 (62.3)	7 (11.3)	24 (39.3)	0 (0)	61 (100)	2 (3.3)	0 (0)	

第3表 採集地別のクワ縮葉細菌病菌抗生物質耐性菌含有菌株数

採集地	供試菌株数	耐性菌含有菌株数								
		ストレプトマイシン			オキシテトラサイクリン		カスガマイシン			
		10 mcg/ml	100 mcg/ml	1,000 mcg/ml	10 mcg/ml	100 mcg/ml	10 mcg/ml	100 mcg/ml	1,000 mcg/ml	
福島	11	9	9	4	6	0	11	1	0	
宮城	15	8	9	2	9	0	15	0	0	
岩手	18	15	7	6	4	0	18	2	0	
東京都	17	15	6	2	4	0	17	0	0	
長野	6	5	1	1	1	0	6	0	0	
兵庫	6	3	5	0	4	0	6	1	0	
京都	2	1	0	0	2	0	2	0	0	
島根	7	3	6	0	6	0	7	0	0	
群馬	6	4	5	1	2	0	6	0	0	
神奈川	2	2	0	0	0	0	2	0	0	
茨城	1	1	0	0	1	0	1	0	0	
愛知	1	0	1	0	0	0	1	0	0	
合計 (%)	92	66 (72)	53 (58)	16 (17)	39 (42)	0 (0)	92 (100)	4 (4)	0 (0)	

水準を設けて調査した。各地の病斑を磨砕し、その中から分離される集落数を SM 区の対照区に対する割合を求め、第4表の結果を得た。SM 10mcg/ml 耐性菌は最高 99% から最低 0.003% までの割合で 6 地点から検出され、古くから野火病が発生し、SM を連用していた富江町の菌はほとんど全部が 10mcg/ml 耐性であった。また、最近本病が発生した新潟県と東北地方からも 10mcg/ml 耐性菌が検出され、SM 耐性菌は低率であるが、SM 剤散布と無関係に存在することが考えられた。向ら(1954)はジャガイモ輪腐病菌 (*Corynebacterium sepedonicum*) では SM 処理すると SM 濃度が高いほど耐性菌が増加し、この耐性菌は SM 10,000mcg/ml 含有培地でもよく繁殖することを認めた。このような耐性菌の増加は自然状態でごく少量混在している耐性菌が SM 処理によって淘汰されて増加するものと推定している。

以上の自然における薬剤耐性菌の発生と分布の調査結果はいずれの耐性菌も抗生物質の使用に先立って存在することを示し、抗生物質を使用する場合には耐性菌の動向を重視しなければならないことを示している。

第4表 ストレプトマイシン耐性野火病菌の分布 (前田・山口, 1971 a)

分離場所	検定濃度	
	10mcg/ml	1mcg/ml
長野県 富江町	99%	100%
新潟県 小木町	27	91
山口県 益田市	11	88
広島県 新市市	3.9	29
青森県 八戸市	0.3	92
石川県 輪島市	0.003	73
新潟県 能生町	0	97
新潟県 十日町市	0	95
愛媛県 中山町	0	26
新潟県 新発田市	0	10

II 薬剤耐性菌出現の原因

細菌の薬剤耐性化現象は細菌の属、種、株、環境、ふれあい様式、薬剤の種類などにより異なる。この耐性化の機作は医学関係では次のいずれかあるいはその組み合わせであろうと考えられている。

① 突然変異と選択：細菌集団中に出現する突然変異の耐性菌が薬剤存在下、選択的に増殖して集団化する。そして感性菌は消滅する。

② 誘導変異：薬剤が直接細菌に作用して適応的に菌体の抵抗性を高め、かつ、遺伝的に耐性化を生じ、あるいは非特異的に遺伝子の変異を誘導し、耐性化したうえで選択的な環境におかれれば、耐性菌による集団の形成が起こる。

③ 遺伝子の組換え：耐性支配の遺伝子（R因子など）がある機作で耐性菌から感性菌体内にうつされると感性菌は耐性化する。その機作としては接合、形質転換、ファージによる形質導入などが知られている。

④ 薬剤を基質として利用：薬剤とふれている間に、その薬剤を基質として利用するようになって耐性化する菌株がある。SM がなくても発育するが、加えると更によく増殖する増強株、加えなければ増殖し得ない依存株などはその例である。

植物病原細菌の耐性菌出現の機作は十分究明されていないが、上記のいずれかに該当すると考えられる事例が報告されている。ZAUMYER ら (1953) は *X. phaseoli* では突然変異により SM 1,000mcg/ml 耐性菌が得られたが、*P. phaseoli* ではこのような変異は起こらなかつたと報告した。ENGLISH and VAN HALSEMA (1954) は *X. vesicatoria* と *Erwinia amylovora* の罹病植物に SM を散布した場合に植物体内の病原細菌の SM 耐性が次第に高まることを報告した。RANGASWAMI (1957) は *X. citri* と *X. malvaceum* で順次高濃度の SM 含有培地に継代培養することにより、菌が次第に高度の SM 耐性を獲得することを確かめ、CORMONA-GROMEZ (1956) は *X. vignicola* と *X. phaseoli* var. *fuscans*, DYE (1958) は *P. syringae*, COLE (1960) は *P. tabaci* と *P. angulata*, 国枝 (1962) は *E. carotovora*, CHAKRAVARTI and ANILKUMAR (1970) は *E. carotovora* と *P. lapsa* を用いて RANGASWAMI と同様に耐性菌が得られる事実を確認している。前田・山口 (1971b) は *P. tabaci* が SM 2 倍段階希釈で馴致培養すると容易に耐性になり、自然耐性菌と同様に SM 無添加培地に 10 代継代しても耐性を失わなかつた。また、液体振とう培養で感性菌と耐性菌を同等混合培養すると耐性菌の割合が多くなり病斑中でも増加する傾向を示すという。筆者らは *P. mori* の 13 菌株の SM 耐性菌のうち 11 菌株が 5,000, 10,000 及び 20,000 mcg/ml の SM 含有培地上でも良く生育することを認めている。桜井 (未発表) は *P. tabaci* 及び *P. mori* の SM 感性菌及び耐性菌の最低生育阻止濃度 (MIC) 及び最大生育許容濃度 (MAC) を測定し、*P. tabaci* では感

性菌に対する耐性菌の MIC は 400~1,600 倍, MAC は 200~1,600 倍, *P. mori* では MIC は 50~800 倍, MAC は 100~400 倍の顕著な耐性濃度差があることを明らかにした。また、桜井は *P. mori* の耐性菌がときに耐性を失うことを観察している。国枝 (1962) は *E. carotovora* の SM 耐性は混合培養により極めて容易に一定頻度をもって耐性株から感性株に伝達される性状を有すること、継代によりその伝達性は失われ、また、伝達能は可逆であること、更にアクリジン色素処理するとこの伝達耐性は伝達能を消失し、耐性集団は感性化されることから *E. carotovora* の SM 耐性伝達現象は大腸菌 (*Escherichia coli*) における F 因子のような細胞質性遺伝伝達因子である JACOB (1958) の Resistance transfer Episome の概念を適用できるとした。

野生株及び継代保存中の感性菌から出現する耐性菌の割合は極めて少ないことが知られている。田部井・向 (1955) は *E. aroideae* と *E. carotovora* では 10^{-4} の頻度で SM/mcg/ml 耐性菌が存在し、 10^{-4} の頻度で 1,000 mcg/ml の耐性菌が存在するとし、10 mcg/ml 耐性菌は 1,000 mcg/ml にも耐性であることを認めている。筆者らは *P. mori* 19 菌株の SM 100 mcg/ml 耐性菌の出現頻度を調べ、すべての菌株は 10^{-8} ~ 10^{-9} の範囲内にあることを認めた(第5表)。一方、脇本・向(1963)は *X. oryzae* の SM に耐性の菌を高率に含んでいる菌株の耐性菌含有率は第1表にあげたようになら高率に耐性菌を含んでいることを示している。

QUADLING (1960) は *X. phaseoli* の SM 耐性菌のなかには SM 依存菌が存在するという。向 (1961) は *C. sepedonicum*, *X. oryzae*, *P. solanaceum* などの濃厚菌液を SM 含有培地に塗布することにより SM 依存菌を容易につくることができたという。

III 薬剤耐性菌の性状

医薬領域では多種抗生物質に対する細菌の交差耐性(2~4 剤耐性)が知られている(三橋, 1970)。通常耐性は同一系統薬剤間では共通である。山本・日下 (1965) は抗生物質 11 種に対する *X. oryzae* 8 菌株に対する MIC を調べ SM のみで菌株間の著しい差異を認めた(第6表)。前田・山口 (1971a) は抗生物質10種及びナリデキシン酸、スルフィソキサゾールに対する *P. tabaci* 9 菌株の MIC を調べ、SM で菌株間に大差を認め、クロラムフェニコールとセロサイジンでも多少の差異を認めたが、交差耐性は認められなかつた(第7表)。筆者らは TM 10 mcg/ml, カスガマイシン 100 mcg/ml, SM 1,000mcg/ml 含有培地に発生した *P. mori* の菌株を上記

第5表 クロ縮葉細菌病各菌株のストレプトマイシン耐性菌出現頻度

菌株番号	耐性菌出現頻度	菌株番号	耐性菌出現頻度
S 6806	$1/4 \times 10^8$	S 6801	$>1/10^8$ (融合)
S 6903-8	$1/3 \times 10^8$	S 6802	$1/3 \times 10^8$
S 7103-1	$1/2 \times 10^8$	S 6803	$1/9 \times 10^7$
S 7103-16	$>1/10^8$ (融合)	S 6804	$1/2 \times 10^9$
S 7107-1	$1/2 \times 10^8$	S 6805	$1/7 \times 10^8$
S 7107-3	$1/2 \times 10^9$	S 6806	$1/1 \times 10^8$
S 7214-7	$<1/2 \times 10^9$	S 6807	$1/1 \times 10^8$
S 7217-3	$1/1 \times 10^8$	S 6808	$1/3 \times 10^8$
S 7133-2(halo)	$1/7 \times 10^8$	S 6809	$1/2 \times 10^9$
S 7233-3(halo)	$1/2 \times 10^9$	S 6810	$1/1 \times 10^9$

検定培地の濃度 100mcg/ml

左欄は継代回数の少ない新鮮な分離菌株, 右欄は数年間継代した菌株を供試した。

第6表 イネ白葉枯病菌株の最低生育阻止濃度 (山本・日下, 1965)

薬 剤	菌 株 番 号							
	21	22	23	24	25	26	27	28
ストレプトマイシン硫酸塩	1,000	1,000	$>1,000$	$>1,000$	10	5.0	10	5.0
ジヒドロストレプトマイシン硫酸塩	1,000	1,000	$>1,000$	1,000	50	50	20	10
カナマイシン硫酸塩	10	10	10	5	5	2	2	5
デキストロマイシン塩酸塩	20	50	20	50	50	10	20	20
ストレプトスライシン硫酸塩	10	10	10	5	50	10	20	20
クロルテトラサイクリン	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
オキシテトラサイクリン	0.5	1.0	0.5	2	0.5	1	1	1
オレアンドマイシンリン酸塩	50	10	20	50	10	50	10	50
クロラムフェニコール	5	5	5	5	>5	>5	5	5
セロサイジン	5	5	5	5	5	5	5	5
ペニシリンGカリウム塩	>100	>100	>100	—	>100	>100	>100	>100
ノボピオシン	5	5	5	<0.05	5	5	2	2

単位: mcg/ml, 寒天希釈画線法

第7表 タバコ野火病菌株の最低生育阻止濃度 (前田・山口, 1971 a)

薬 剤	菌 株 番 号					
	PT 1	PT 2	PT 3	PT 4	PT 5	PT 6
ストレプトマイシン	3.1	>100	3.1	>100	>100	3.1
テトラサイクリン	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78
ジメチルクロルテトラサイクリン	0.78	0.39	0.78	0.78	0.78	0.39
ゲンタマイシン	1.6	0.78	1.6	1.6	1.6	0.78
コリスチン	13	6.3	6.3	6.3	13	6.3
ポリミキシンB	13	13	13	13	13	13
カナマイシン	13	6.3	6.3	13	13	6.3
クロラムフェニコール	13	6.3	13	50	50	6.3
ナリデキシン酸	50	25	50	100	100	50
スルフィソキサゾール	100	100	100	100	100	100
アグリマイシン	1.6	3.1	1.6	6.3	6.3	1.6
セロサイジン	100	100	50	100	50	>400

単位: mcg/ml

の3剤及びマイトマイシン含有培地に再接種した結果, 第8表のとおりで, 各薬剤内の高濃度含有培地でも生育する菌株があったが, 交差耐性は SM 1,000 mcg/ml 耐性菌 S 6806 が TM 100mcg/ml に耐性を示したのみであった。以上の少数例は交差耐性が明らかなものではな

く今後追究する必要がある。

耐性菌と病原性との関連について田部井ら (1957) は *X. oryzae* の SM 耐性菌と病原性に関して特に変化がないとし, 山本・日下 (1965) は同菌8菌株について病原性の大きいものが SM に耐性である結果を得たが少数例

第8表 薬剤添加培地上のクワ縮葉細菌病菌各耐性菌の生育状況

菌株番号	接種源	抗生物質濃度 (ppm)									
		ストレプトマイシン			オキシテトラサイクリン		カスガマイシン		マイトマイシン		無添加
		100	1,000	5,000	10	100	100	1,000	10	100	
S 6810	TM10R	—	+ ¹	—	###	##	+ ⁵	—	—	—	###
S 7103-16	〃	—	—	—	###	##	+ ²¹	—	+ ⁶	—	###
S 7105-5	〃	+ ¹	+ ⁶	+ ²	###	##	+ ⁵	—	—	—	###
S 7133-1	〃	+ ⁵	+ ⁹	+ ³	###	—	+ ¹⁶	—	+ ²	—	###
S 7214-7	〃	—	—	—	###	—	##	—	+ ¹	—	###
S 7226-3	〃	+ ²	+ ²	+ ¹	###	—	##	—	—	—	###
S 7103-1	KM100R	+ ⁴	—	—	##	—	###	—	—	—	###
〃 ₂	〃	+ ⁵	+ ¹	—	+ ⁴	—	###	—	+ ²	—	###
S 7107-3	〃	—	—	—	—	—	###	—	—	—	###
S 6806	SM1,000R	###	###	###	+ ²⁰	##	—	—	—	—	###
S 7103-16	〃	###	###	###	—	—	—	—	—	—	###
S 7107-1	〃	###	###	###	—	—	+ ¹	—	+ ²	—	###
S 7217-3	〃	###	###	###	—	—	—	—	—	—	###
S 6803	感性菌	—	+ ¹	—	—	—	—	—	—	—	###
S 6804	〃	—	—	—	—	—	—	—	—	—	###
S 6806	〃	+ ⁴	+ ⁴	—	—	—	+ ⁶	—	—	—	###

+～###：生育程度，肩数字は集落数

TM10R：オキシテトラサイクリン 10mcg/ml 含有培地に出現した耐性菌株

KM100R：カスガマイシン 100mcg/ml 〃

SM1,000R：ストレプトマイシン 1,000mcg/ml 〃

のため断定できないとしている。

E. carotovora の SM 耐性菌が感性菌に比べて糖の分解などいろいろな生化学的性状に差があることが知られている (国枝, 1958~60)。

細菌の耐性獲得機構について医学関係では細菌による薬剤の不活性化，細胞膜透過性低下，拮抗物質の産生及び代償性代謝系の成立などにより薬剤の作用をうけにくくしたり，耐性を示したりすることが知られているが，植物病原細菌では明らかにされていない。

IV 耐性菌検索と薬効検定法

医薬における定義を植物病理の分野に適用すれば，薬剤耐性菌の定義は「通常の施用によって防除効果の期待されない病原菌を指す」と表現されよう。細菌における薬剤耐性菌と感性菌は，MIC の差が明瞭で一般に糸状菌の場合に比較して区別しやすい。自然界からの薬剤耐性菌の検索にあたっては検定培地の組成・量・pH，接種菌量及び培養の温度・時間を一定にしなければ厳密な比較ができないであろう。また，被検菌株もできるだけ新鮮分離菌株を用いるべきである。田部井ら (1957) は *X. oryzae* の耐性菌を無殺菌のままイネ体から分離定量するため，基本培地に SM 500mcg/ml，Crystal violet 0.0005%，Furocidin 100mcg/ml を加え，更に BTB で pH 6.8 に調整した培地を開発している。

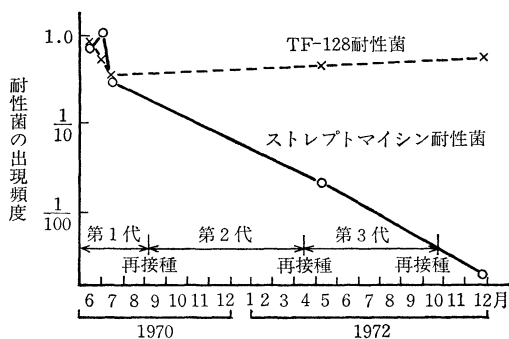
室内検定には目的により，平板希釈法 (寒天塗抹法)

及び阻止円法 (カップ・ペーパーディスク法) が用いられ，通常前者は一定の薬剤に対する菌株間，後者は一定の菌株に対する薬剤間の比較に用いられている。また，液体培地法もあるが，精度が低いため特殊な場合においてのみ用いられる。前記のように植物病原細菌の薬剤耐性菌の存在する場合は薬効検定にあたり耐性菌を同時に供試することが望ましい。また，ほ場検定に代わるガラス室内ポット試験がそれぞれ工夫され利用されている。前田・山口 (1971 a) はタバコ葉に薬剤を散布し，1日後に *P. tabaci* の感性菌と耐性菌の 10⁷ cell/ml の菌液を葉裏に对照接種し，第9表のような結果を得た。SM を散布した場合に感性菌では防除効果があったが，SM 耐性菌では効果が認められなかった。ジメチルクロルテトラサイクリン，ゲンタマイシン，コリスチン及びアグリマイシン・100 は両菌株をよく防除し，カナマイシンとクロラムフェニコールがこれについて防除効果があり，これらは培地の結果とよく一致したという。小泉・山田 (1972a) はカンキツかいよう病に対する薬剤散布と薬剤耐性菌の消長をポット試験で調べ SM，2-アミノ-1,3,4-チアジアゾール (TF-128) 耐性菌と感性菌とを 1:1 に混合接種し，更に数か月ごとに病斑を磨砕し，新しい鉢植苗に接種し経時的に病斑中の耐性菌を調べた (第1図)。その結果から SM 剤では適当な間隔を置いて散布すれば薬剤耐性の出現のために防除効果が低下することはなく，これに対し，TF-128 の散布では耐性菌が累積され

第9表 ストレプトマイシン耐性タバコ野火病菌防除葉面散布実験 (前田・山口, 1971)

薬 剤	散布濃度 (mcg/ml)	罹 病 度	
		PT 1 (感性菌)	PT 2 (耐性菌)
ストレプトマイシン	200	6.3	81
ジメチルクロルテトラサイクリン	〃	4.2	8.4
ゲンタマイシン	〃	4.2	2.1
コリスチン	〃	6.3	15
カナマイシン	〃	13	13
クロラムフェニコール	〃	17	25
スルフィンキサゾール	100	75	73
アグリマイシン・100	200	4.2	8.4
セロサイジン	〃	13	40
サンケル	〃	88	88
デラン	〃	63	83
対 照	〃	85	88

罹病度：100×(ハロー形成数×1+枯死点のみ形成した病斑数×0.5)/接種点数

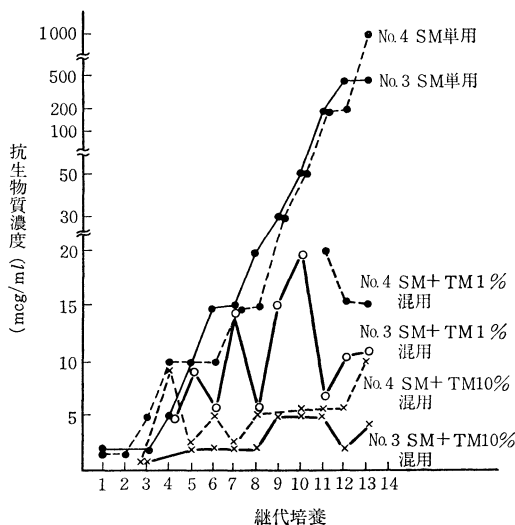


第1図 夏カン鉢植苗葉の病斑中における *Xanthomonas citri* 薬剤耐性菌の消長 (小泉・山田, 1972 a)

るために比較的速やかにその防除効果が低下すると考えられた。筆者らは *P. mori* の SM 耐性菌及び感性菌の 10^8 cell/ml の菌液をポット栽植クワ苗に接種する1日前と1日後に薬剤散布し、病斑阻止効果を調べたところ SM 耐性菌には SM 単独では効果がなかったが、TM と混用した場合に効果が著しく、特に接種前の散布、すなわち予防的散布で効果が高かった。

V 耐性菌をめぐる問題と対策

耐性菌を対象とした防除薬剤を検討した試験例として ENGLISH and HALSEMA (1954) は *E. amylovora* と *X. vesicatoria* が SM に 10% の TM を混合すると変異耐性菌の耐性濃度が下がることを認めた (第2図)。COLE (1960) は SM 耐性 *P. tabaci* に対しては TC, SM 及び銅剤を 1:1:2 に混合したものが、銅剤単独や銅剤と TC より防除効果が大きかったという。小泉・山田 (1972 a)



第2図 ストレプトマイシン (SM), テトラサイクリン (TM) とその混用培養による *Erwinia amylovora* 系統の耐性菌出現 (ENGLISH and VAN HALSEMA, 1954)

は前記のようにカンキツかいよう病防除に SM 剤を用いた場合、耐性菌の増加が低いことから適当な間隔で散布すれば、実用的にほとんど問題がないとしている。

以上の試験結果を考慮した農薬としては、SM と TM の混合剤アグリマイシン・100 などがリンゴ・ナシの火傷病、ミカンかいよう病、ジャガイモ軟腐病、タバコ野火病などに使用され始め、現在多くの細菌病に適用拡大されている。

植物病原細菌のうち耐性菌を確認した報告は少ないが、精査すればほとんどすべての菌種に存在するかあるいは発生するものと考えられる。例えば近年我が国で新たに発見され多発しているキュウリ斑点細菌病菌 (*P. lachrymans*) に SM 耐性菌が認められつつある。本病防除のため種子消毒及び散布剤としてカスガマイシンの効果もあるという。

植物の細菌病にはほ場散布で著効を示す薬剤が極めて少ないため防除上耐性菌が問題とされた実例が少ない。また、現在食用作物の病害防除に使用される農薬のほとんどが莫大な経費を要する毒性試験及び残留許容量が法的にきびしく規制されており、そのため細菌病防除用農薬は効果不十分、あるいは経済性が低く市場性のないなどの理由により次々と整理されつつあるのが現状といえよう。今後植物細菌病防除に適用できる薬剤は SM 系単剤、SM・TM 系混合剤、ノボビオシン剤などわずかの抗生物質と無機及び有機銅と若干の化学合成剤に限定

されつつある。また、食用作物では使用規制も行われているが、今後安全で著効のある細菌病防除剤の開発を自然物を含めて広く探索し実用化することを強く望みたい。

細菌病多発のためその対策に緊急を要するものが多いが、今後抵抗性品種の普及、耕種的防除特に清耕のほ場管理を行い、ほ場の衛生に留意し、伝染源や病原菌の密度を下げることで、そして薬剤耐性菌出現の対応策は、耐性菌の検索法を確立して耐性菌の分布状態及び変動を明らかにすること、もし耐性菌が出現し、防除上問題となった場合は、耐性のしくみ、耐性の薬剤間の関連性を明らかにし、耐性菌の存在比率を減少させる方法を確立することといえよう。

引用文献

- 1) CHAKRAVARTI, B. P. and ANILKUMAR, T. B. (1970): Hindustan Antibiot. Bull. 12: 73~74 [Rev. Pl. Path. 49: 654 (1970)].
- 2) COLE, J. S. (1960): Ann. Appl. Biol. 48: 291~298.
- 3) CORMONA-GOMETZ, J. (1956): Phytopath. 46: 522~523.
- 4) DYE, M. H. (1958): N. Z. F. agric. Res. 1: 48~50.
- 5) ENGLISH, A. R. and VAN HALSEMA, G. (1954): Plant Dis. Repr. 38: 429~431.
- 6) 日高 醇・村野久富 (1956a): 日植病報 20: 49~53.
- 7) ———— (1956b): 同上 20: 143~147.
- 8) 小泉銘冊・山田駿一 (1971): 園試興津年報 (病・虫) 7: 23~28.
- 9) ———— (1972a): 同上 8: 28~30.
- 10) ———— (1972b): 同上 9: 26~27.
- 11) 国枝鋳造 (1962): 日植病報 27: 85.
- 12) 草葉敏彦・向 秀夫 (1955): 日植病報 20: 41.
- 13) 前田 進・山口洋一 (1971a): 秦野たばこ試報 70: 91~98.
- 14) ———— (1971b): 日植病報 37: 185.
- 15) 三橋 進編 (1970): 薬剤耐性菌, 南江堂.
- 16) 向 秀夫 (1961): 植物防疫 15: 225~230.
- 17) ———— ら (1954): 日植病報 18: 177.
- 18) QUADLING, C. (1960): Canad. J. Microbiol. 6: 387~369.
- 19) RANGAOWAMI, G. (1957): Current Sci. India 26: 185~186.
- 20) SHAW, L. and THORNE, G. W. (1956): Plant Dis. Repr. 40: 325~327.
- 21) ————・LUCAS, G. B. and THORNE, G. F. (1957): ibid. 41: 99~102.
- 22) 田部井英夫・向 秀夫 (1955): 日植病報 20: 42.
- 23) ———— ら (1957): 同上 22: 9~10.
- 24) 高橋幸吉・佐藤 守 (1972): 日蚕関東 23 講演要旨集: 12.
- 25) ———— (1974): 薬剤耐性菌に関するシンポジウム講演要旨 (日本植物防疫協会): 28~35.
- 26) THAYER, P. L. and STALL, R. E. (1961): Phytopath. 51: 568~571.
- 27) 山本弘一・日下大器 (1965): 日植病報 30: 169~173.
- 28) 脇本 哲・向 秀夫 (1963): 同上 28: 153~158.
- 29) ZAUMYER, W. J., THOMAS, H. R. and MITCHELL, J. W. (1953): Ann. Vegetable Grower. 1: 5~16.

新しく登録された農薬 (50.3.1~3.31)

掲載は登録番号, 農薬名, 登録業者(社)名, 有効成分の種類及び含有量の順.

『殺虫剤』

PAP粉剤

13340 大塚バプチオン粉剤2 大塚化学薬品 PAP 2.0%

NAC水和剤

13342 ミノルセビモール 三笠産業 NAC 40.0%

『殺菌剤』

バリダマイシン粉剤

13343 ホクコーバリダシン粉剤 北興化学工業 バリダマイシンA 0.30%

13344 ヤシマバリダシン粉剤 八洲化学工業 同上

バリダマイシン液剤

13345 ホクコーバリダシン液剤 北興化学工業 バリダマイシンA 3.0%

13346 ヤシマバリダシン液剤 八洲化学工業 同上

フサライド・バリダマイシン粉剤

13347 ホクコーラブサイドバリダシン粉剤 北興化学工業 バリダマイシンA 0.30%, フサライド 2.50%

13348 ヤシマラブサイドバリダシン粉剤 八洲化学工業 同上

『殺虫殺菌剤』

MEP・バリダマイシン粉剤

13349 バリダスマミ粉剤 武田薬品工業 MEP 2.0%, バリダマイシンA 0.30%

MEP・フサライド粉剤

13349 山本ラブサイドスミチオン粉剤 山本農薬 MEP 2.0%, フサライド 2.5%

薬剤耐性菌の検定法

農林省農薬検査所 ^{さくら}桜 ^い井 ^{ひよし}寿

はじめに

GEORGOPOULOS ら¹⁾はベノミル耐性テンサイ褐斑病菌の検定の際、ベノミル 1 ppm を含む培地に生育した菌株を耐性菌、生育しない菌株を感性菌としている。筆者らはナシ黒斑病菌、いもち病菌及びクワ縮葉細菌病菌などの薬剤耐性菌の検定において、菌株によって程度の差はあるが、耐性菌も対象薬剤によって *in vitro* で生育が阻害されたり、*in vivo* で防除効果があることを認めている。したがって薬剤感受性値あるいは薬剤耐性の程度によって、感性菌と耐性菌を区別する基準をきめておく必要があると考えられる。

そこで薬剤耐性菌の検定を行うとき、私見として、「農業において薬剤耐性菌とは、通常の薬剤施用によって防除効果の期待されない病原菌をいう」と定義し、防除効果の期待されない病原菌とは、新農薬の薬効選抜試験の評価基準、及び第7表のカサガマイシン耐性いもち病菌に対する防除試験の結果などを考慮すると、感性菌の標準株の防除効果に比較して、その効果の期待値が 50% 以下の菌株を耐性菌と呼ぶことが適当ではないかと考えている。

病原菌の薬剤感受性を区別する用語として、耐性菌、非感受性菌、感受性菌及び感性菌など多くの言葉が用いられているが、用いる言葉によって誤解を招くおそれがあるので、三橋ら²⁾が述べていることを参考にした。すなわち植物病原菌の薬剤感受性についても、医薬領域における細菌と化学療法剤の関係と同様に、「感受性 (sensitivity)」という言葉は薬剤にのみ使用される言葉ではなく、外界の刺激全般に対する反応を表現する言葉である。化学療法剤に対する細菌の「感受性であるという時には“感性 (sensitive) である”と正しく発音されなければならない」とも述べられている。

病原菌に対して「感受性」という言葉が薬理学的作用機序の上で用いられている場合、「耐性 (resistant)」とか「感性」という言葉は病原菌の遺伝学上用いられる言葉であって、その作用が酵素によるものであれなんであれ、ある種の薬剤の攻撃に対して、なお生物活性を失わないというはっきりした耐性因子を持っているものを耐性といい、それに対応して生物活性を失うものを感性ということにしたい。したがって、ここでは耐性菌及び感

性菌という言葉を用い、耐性の程度を区別する場合には「高度耐性 (highly resistant)」及び「中等度耐性 (intermediate resistant)」を用いることにした。

I 検 定 法

新農薬の開発研究の進歩に伴って、その作用機構が殺菌的な薬剤から静菌作用をもち、かつ、生体内組織において Sublethal Concentration (死なない程度の最大薬剤濃度) の持続時間の長い薬剤に耐性菌が出現する傾向にあるようである。そのために殺菌作用をもつ薬剤に対する感受性を測定し、薬効を判定してきた従来の生物検定法をそのまま耐性菌の検定法にあてはめても、薬剤耐性の程度を判定することが難しい場合も多い。

現在の薬剤耐性菌の検定法は供試薬剤が *in vitro* で生物活性を示す実験系のなかで、*in vivo* の病害防除効果と相関が高く、実験操作の簡便な検定法が採用されている。しかしながら *in vitro* で全く生物活性を示さないフサライドのような薬剤は、*in vivo* の防除試験が薬剤耐性の程度を判定する唯一の検定法であろうし、それは *in vitro* で抗菌力をもつ薬剤に対しても最も基本的な検定法であると考えられる。理想的には分離菌株の全株について *in vivo* の薬剤耐性の程度を調べるのが望ましい。しかし、現実には無理な場合も多いので、薬剤と検定法の組み合わせによって、*in vitro* の抗菌作用と *in vivo* の病害防除作用と一致する場合には、従来の薬剤感受性試験に用いられてきた検定法が、薬剤耐性菌の検定法として利用できることを紹介し、併せて *in vivo* の防除試験法についても触れたい。

なお、薬剤に対する感受性を測定する検定法の詳細については多くの著書^{3~13)}があり、また、多数の薬剤耐性菌に関する研究報告^{14~64)}及び昭和 49 年 11 月に日本植物防疫協会主催による「薬剤耐性菌に関するシンポジウム」も行われたので、ここでは主として筆者らの経験した、各種薬剤耐性菌の検定法の要点あるいは注意すべきことを述べ、今後の研究の参考に供するとともに、御批判御指導をいただきたい。

1 平板希釈法 (寒天塗まつ法)

薬剤を含む寒天平板に病原菌を接種し、その生育状態を観察して薬剤感受性を測定する。この検定法の利点は同一平板内に数菌株を同時に接種して、菌株間の薬剤感

受性を比較できることにある。正確な薬剤感受性を測定するための諸条件について述べる。

(1) 培地

培地の組成とpHが薬剤感受性に及ぼす影響は大きい。理想的には病原菌が生育している生体内組織と全く同一の組成を持ったものが望ましいが、これは望むべくもないので可能な限りの条件を整えることが必要である。例えばポリオキシンに対する感受性を調べる場合には、ポリオキシンと拮抗するグリシル-L-アラニンのような拮抗物質を含まない組成の培地を用いる。カスガマイシンに対する感受性を調べるとき、いもち病菌の場合は pH 5.0 で強い抗菌力がみられ、逆に細菌の場合は pH 7.0 で薬剤感受性が高くなるので、pH の調整に注意しなければならない。

このように薬剤と病原菌及び培地の組み合わせによって、薬剤感受性が異なるのは平板希釈法だけでなく、培地を用いる検定法には共通することである。また、培地材料の試薬から寒天に至るまで、一連の実験が終了するまで、同一製品で同一ロットのものを使用することが実験誤差を少なくする要因となっている場合も多い。

(2) 供試薬剤とその希釈濃度

薬剤感受性のみを調べる場合は純品または標準薬剤を用いる。原体及び製剤を並列した場合には、原体、製剤中の副成分などの影響も確かめることができる。寒天平板中の薬剤希釈濃度は日本化学療法学会が標準法に推奨した最小生育阻止濃度 (Minimum Inhibitory Concentration, 以下 MIC) の薬剤希釈濃度を用いる。すなわち有効成分量 100ppm を基準にして、800, 400, 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12, 1.56, 0.78, 0.39, 0.19 の各2倍階段希釈系列の平板を調製する。農薬の耐性菌検定においても薬剤希釈濃度を統一することによって、後日各地で行われる実験結果を比較する場合、個々の試料の有効薬量を換算したり、薬量反応曲線の傾斜などを考慮しなくともよいので、今後の実験にはこの希釈法を採用することが望ましい。

(3) 菌株と接種

ほ場における病原菌の生理生態を推定するためには、新鮮分離菌株を多数用いることが大切で、少なくとも継代培養3代以内の菌株を供試することが望ましい。接種する菌株の活力と菌濃度を揃えるために、一定の条件下で前培養したものを用い、接種菌量も揃える。接種菌量が薬剤感受性の測定値に著しい影響を与えることから、MIC で表現するときには mutant を理論的に除去することは難しいので、接種菌量を少なくし、mutant の影響を少なくして薬剤感受性を測定する必要がある。例え

ば細菌の場合は $10^4/ml$ の菌浮遊液を調製し、各平板を数分画にわけ、その1分画に内径1mm前後の白金耳(ニクロム線の場合はなるべく細いもの)を用い、1白金耳ずつ約2cmの長さに画線塗まつする。ただし、各平板の1分画に常に標準菌株を対照として塗まつすることがよい。糸状菌の胞子を用いる場合は顕微鏡の1視野(100倍)当たり30~60個の胞子浮遊液が用いられている。菌糸を用いる場合は菌叢周辺部の新しい菌糸を寒天とともに直径3~5mmの大きさに切り取った寒天ディスクを用いる。その際寒天ディスクの厚さは2~3mm以内のもので、菌叢面を下にして薬剤含有平板に直接植える。

(4) 観察と判定

肉眼的に明らかに生育を認めない最低濃度をもって感受性を表す MIC を求める方法と、薬剤の含まない培地に接種した菌量と同じ程度に生育する濃度のところまでをその菌株の感受性値とし、50%有効濃度 (50% Effective Concentration, 以下 EC_{50}) 及び最大生育許容濃度 (Maximum Allowable Concentration, 以下 MAC) を求めて薬剤感受性を量的に表現する方法もある。

細菌の場合は通常24~48時間培養後に MIC 及び MAC を求めることができる。糸状菌の場合48~96時間後に MIC を求め、3~7日間培養後に菌叢の直径を測定して EC_{50} 及び MAC を求める。ただし、測定した菌叢の直径から接種時の寒天ディスクの直径を差し引いた値を測定値とする。この検定法によるいもち病菌及びナシ黒斑病菌の菌株間の薬剤感受性を比較した結果を第1, 2表に示した。この表からカスガマイシン耐性いもち病菌はプラストサイジンS及びポリオキシンDに交差耐性 (cross-resistance) を示すが、ポリオキシン耐性ナシ黒斑病菌はプラストサイジンS及びストレプトマイシンには交差耐性を示さないことが認められた。

第3表にはストレプトマイシンに対するタバコ野火病菌及びクワ縮葉細菌病菌の MIC 及び MAC を示した。この表からストレプトマイシンに対する感受性の比較は MIC または MAC によって感性菌と耐性菌を明確に区別することができる。感性菌及び耐性菌とも各菌株間で薬剤感受性に差のあることも認められた。

一般にこの検定法による各菌株の薬剤感受性値の濃度別の分布状態は、47ページの図に示したように感性菌と耐性菌の2群に大別される。細菌において感性菌と耐性菌の境界となる薬剤濃度間隔は広いが、糸状菌においては感性菌と中等度耐性菌の境界となる薬剤濃度間隔が狭いか、連続することもあり、感性菌かあるいは耐性菌か区別することが難しい場合もある。

第1表 ポリオキシン耐性ナシ黒斑病菌の薬剤感受性の比較

菌株	Y-33(R)	N-Ka(R)	M-R(m-R)	K-22(S)	1215(S)
ポリオキシン B MIC (48hr) EC ₅₀ (96hr) MAC (96hr)	>200 u/ml >200 50	>200 u/ml >200 6.25	>200 u/ml >200 200	50 u/ml 56.1 <6.25	25 u/ml 38.8 <1.56
ブラストサイジン S MIC (48hr) MAC (96hr)	6.25 ppm 0.39	6.25 ppm 0.39	25 ppm 1.56	12.5 ppm 0.39	12.5 ppm 0.39
ストレプトマイシン EC ₅₀ (96hr)	135 ppm	50 ppm	200 ppm	118.5 ppm	507 ppm

R: 耐性菌, m-R: 実験室内耐性菌, S: 感性菌

第2表 カスガマイシン耐性いもち病菌の薬剤感受性の比較

菌株	71-3(R)	47-Y-15(R)	47-Y-3(R)	47-Y-35(R)	P-2(S)	北373(S)
カスガマイシン MIC (48hr)	>200 ppm	200 ppm	200 ppm	100 ppm	0.78 ppm	0.78 ppm
ブラストサイジン S MIC (48hr)	25 ppm	>100 ppm	12.5 ppm	12.5 ppm	<0.19 ppm	<0.19 ppm
ポリオキシン D MIC (48hr)	50 u/ml	50 u/ml	25 u/ml	25 u/ml	0.39 u/ml	1.56 u/ml

第3表 タバコ野火病菌及びクワ縮葉細菌病菌のストレプトマイシンの MIC 及び MAC

タバコ野火病菌			クワ縮葉細菌病菌		
菌株	MIC	MAC	菌株	MIC	MAC
6602 (S)	2.5 ppm	0.625 ppm	S-6802 (S)	1.25 ppm	<0.625 ppm
6828 (S)	2.5	1.25	S-6803 (S)	2.5	<0.625
PT-1 (S)	1.25	0.625	S-6809 (S)	1.25	<0.625
PT-7 (S)	2.5	0.625	PI-11-1 (S)	2.5	0.625
PT-9 (S)	1.25	<0.625	PI-11-2 (S)	1.25	0.625
PT-2 (R)	2,000	250	S-6806 (R)	500	<62.5
PT-3 (R)	1,000	250	S-7017-3 (R)	2,000	250
PT-4 (R)	500	125	S-7107-1 (R)	500	62.5
PT-5 (R)	1,000	250	S-7107-3 (R)	62.5	<62.5
PT-8 (R)	1,000	250	S-7133-2 (R)	250	<62.5

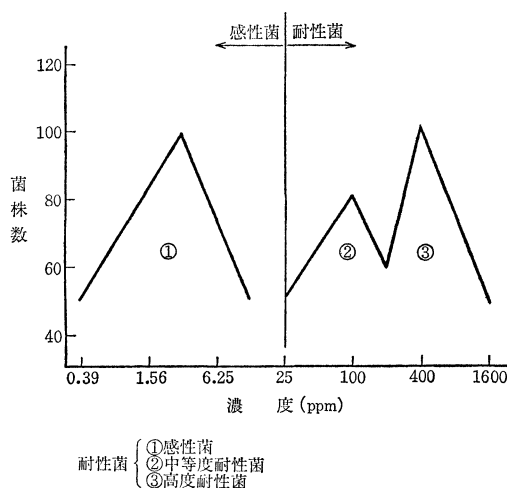
注 菌株番号は分譲先の保存菌株名を用いた。

MIC では感性菌か耐性菌かを区別することが難しい場合や病原菌の生育を阻害するが、MIC を求めがたい薬剤の場合は、MAC を求めることによって耐性菌の検定が可能であるかどうかを検討する必要もある。なお、用語の説明になるが、多くの薬剤に耐性を示すことを多剤耐性 (multiple resistance) といい、上杉らのいもち病菌の研究で、ホスホロチオール酸エステル型殺菌剤の耐性菌はホスホロアミド酸エステルは有効であるが、前者の感性菌には全く効果のない負相関交差耐性 (negatively cross-resistance) という現象もある。

2 阻止円法 (カップ法)

薬剤の抗菌力を定量的に示す方法として優れているので、ポリオキシン B 及び D の力価試験にリング斑点落葉病菌の分生孢子及びイネ紋枯病菌の液体培養菌糸を用いた方法が採用されている。

耐性菌の検定法として、同一平板内で薬剤間の抗菌力を比較するには便利な方法である。薬剤耐性細菌の検定はもちろん、糸状菌のポリオキシン耐性ナシ黒斑病菌とカスガマイシン耐性いもち病菌についても試験が行われている。通常耐性菌は阻止円を形成せず、感性菌は薬剤



平板希釈法による耐性菌と感性菌の分布 (仮定図)

感受性に比例した阻止円を形成するので、阻止円の大きさを測定することによって、薬剤感受性の程度を知ることができる。ただし、ポリオキシン耐性の検定において、ナシ黒斑病菌の感性菌で正常な阻止円を形成しない菌株の観察例もあるので注意したい。

実験方法については多くの著書があり、また、培地、菌株、培養法など試験実施上の諸条件について平板希釈法と重複する部分は省略する。

この方法の利点はポリオキシン耐性ナシ黒斑病菌が同一平板内で、ポリオキシン各成分に交差耐性を示すことも確かめられたように、1枚の平板で薬剤間の抗菌力を比較するには便利な方法である。しかし、平板の調製時に接種する菌株の生育状態が等しく、接種菌量が同一であっても、実験操作の遅速などによって、菌株間の正確な薬剤感受性を比較することが難しい場合もある。

例えば薬剤希釈濃度を2倍階段希釈した場合、同一平板内で濃度間差による阻止円の直径の差は約3mm前後である。植物病原菌の細菌及び糸状菌は耐熱性の弱いものが多く、平板調製の操作の遅速及びその他の手順によって、最初に調製した平板と最後に調製した平板の間で、同一希釈液の阻止円直径が平板間で2~3mmの差を生ずることがある。したがって見掛け上約2倍の薬剤感受性の実験誤差を生ずる危険性があるので注意したい。

薬剤希釈液は通常カップに入れることが多いが、ペーパーディスクを用いることもある。MAGIEらはベノミル耐性 *Fusarium oxysporum* F. sp. *GLADIOLI* の検定にペーパーディスクを用いている。

3 孢子発芽試験法

孢子形成の良い純粋培養できる菌株だけでなく、活物寄生菌のうどんこ病菌及びキク白さび病菌の孢子についても孢子発芽試験が行われている。この検定法の利点は発芽床としてスライドガラス、タマネギリん片表皮及び生菜などを用い、低濃度の薬剤希釈液で18~20時間の培養によって、薬剤感受性を調べることができる簡便さにある。

濃度別の孢子発芽阻害率から LC_{50} または LC_{99} の値を求めて、菌株間の薬剤感受性を量的に比較することができる。この検定法において薬液と混和する孢子濃度によって感受性が左右されることから、顕微鏡1視野(100倍)当たり20~30個の孢子浮遊液が用いられている。

孢子発芽に対する薬理作用がポリオキシンのような発芽阻止よりも発芽管の膨潤、肥大による異常発芽を特徴とする場合に、その孢子が寄主植物に感染力をもつか否かを判定することが難しいものもある。したがって大沼らはポリオキシンによる孢子発芽阻害現象を次のように分類している。

正常発芽：全く正常な発芽管を伸ばしているもの、及びいったん異常発芽を起こしてから正常な菌糸を伸ばしているもの(感染力をもつと推定される孢子)。

異常発芽：異常な発芽状態のまま止まっているもの。

不発芽：全く発芽が認められないか、発芽直後に発芽管が破裂してしまったもの(以上2者は感染力をもたないと推定される孢子)。

このようにポリオキシンによる孢子発芽の影響と類似した現象が、ベノミルといもち病菌の関係においても観察されていることから、孢子の発芽状態をどのように分類して薬効を判定するか、それは薬剤耐性菌の検定法における孢子発芽試験の位置づけの課題でもある。

第4表に抗かび性抗生物質のなかで比較的殺菌作用の強いプラストサイジンS及び有機リン殺菌剤に対するいもち病菌の薬剤感受性を比較した結果を示した。この表からカスガマイシン耐性菌はプラストサイジンSの孢子発芽阻害においても交差耐性を示すことが認められた。

4 液体培地法

液体培地に薬剤を混和し、病原菌の生育量を観察して薬剤感受性を測定する方法である。細菌や糸状菌の孢子を接種する場合、 $10^6 \sim 8$ 個に1個の割合で存在する mutant が平板希釈法ではポツポツと平面的に生育してくるが、液体培地では立体的に生育するため、培養時間が長くなると正確な薬剤感受性を測定することができない欠点がある。したがって医薬領域において耐性菌検定法と

第4表 カスガマイシン耐性いもち病菌胞子に対するプラストサイジンSの発芽阻止効果

菌 株	供 試 薬 剤	濃 度	発 芽 止 率
71-3 (R)	プラストサイジンS IBP EDDP	1 ppm	10.3%
		50	98.6
		50	95.6
47-Y-3 (R)	プラストサイジンS IBP EDDP	1	34.1
		50	100
		50	100
47-Y-15(R)	プラストサイジンS IBP EDDP	1	36.5
		50	99.9
		50	99.9
47-Y-35(R)	プラストサイジンS IBP EDDP	1	59.7
		50	97.6
		50	96.0
P-2 (S)	プラストサイジンS IBP EDDP	1	90.0
		50	100
		50	100

して利用度は少なく、農薬においても同様と考えられる。供試菌株を接種して一定時間培養したのち、その生育量を調べる場合、細菌では濁度を測定して菌体量を求めたり、糸状菌では乾燥菌体重を秤量して薬剤感受性を測定することが多い。ポリオキシシン耐性ナシ黒斑病菌の菌糸を接種源とした実験結果を第5表に示した。平板希釈法と同様に菌株間の薬剤感受性の差を認めることができる。

第5表 液体培地法によるポリオキシシン耐性ナシ黒斑病菌に対するポリオキシシンBの生育阻害

菌 株	処 理 ^{a),b)}	無処理 ^{a)}	阻 害 度
Y-33 (R)	6.9mg/ml	16.0mg/ml	57.0
N-Ka (R)	4.0	10.5	62.0
K-22 (S)	1.9	11.3	83.2
1215 (S)	2.0	12.3	83.8

a: ツアベック培地に 65 時間培養した乾燥菌体重
b: ポリオキシシン B 100 u/ml 添加

II 防 除 試 験

殺菌剤における検定法で *in vitro* の抗菌力と *in vivo* の病害防除効果が一致することもあれば、一致しないこともある。それゆえに *in vitro* の薬剤耐性と *in vivo* の薬剤耐性とは必ず一致するとは限らないことから、薬剤耐性菌の検定には発病程度を比較する防除試験が基本的な検定法である。方法として DEKKER らによるキュウリうどんこ病菌のベノミル耐性検定に用いた leaf disc test からほ場試験まで、その種類と規模についても多くの検定法がある。

例えば簡便な方法として用いられる葉片法ではナシ黒斑病菌、野菜の灰色かび病菌などに試験が行われている。鉢試験として、いもち病菌、タバコ野火病菌、クワ縮葉細菌病菌、メロン及びキュウリうどんこ病菌、キク白さび病菌など各種病原菌について薬剤耐性の検定が行われている。

筆者らの行った二十世紀ナシ新梢切枝を用いたポリオキシシン耐性ナシ黒斑病菌及びイネ幼苗を用いたカスガマイシン耐性いもち病菌の防除試験の結果を第6、7表に示した。これらの表から薬剤耐性と病原性の強弱とは相関がなく、菌株によってそれぞれ薬剤耐性の程度が異なること。また、いもち病菌の場合 *in vitro* の平板希釈法で供試3抗生物質に交差耐性を示すことを認めたが、防除試験の結果から予防より治病効果に強い耐性を示す、不完全な交差耐性が認められた。この現象は感性菌に対するプラストサイジンSの作用が予防より治病に高い効果を示すとされた従来の報告とは全く逆の現象であり、感性菌では見いだせない作用機構があるものと推定される。

第6表 ポリオキシシン耐性ナシ黒斑病に対するポリオキシシンBの防除効果

菌 株	散 布 (ポリオキシシン B 100 u/ml)	無 散 布	防 除 価
Y-33 (R)	3.6*	4.5*	21.1
N-Ka (R)	3.2	4.7	31.6
M-R(m-R)	3.3	3.4	2.8
Y-105 (S)	1.0	3.2	68.2

* 罹病指数は 0 (無病斑) から 5 (全葉罹病) に分け 1区 60葉の平均値。

この検定法が他の方法と異なる点は、常に発病させることができる植物を準備しなければならないこと。実験期間が長く、実験結果のバラツキが *in vitro* の場合より大きいこと、及び防除効果のみを目的とした試験に比較し、耐性菌による環境汚染を避けるために、接種源、罹病植物の管理はきびしくしなければならないことである。

III サンプリングと耐性菌の分布密度

ほ場において薬効低下現象を起こしたときの耐性菌の分布密度について、鳥取県米子地区におけるポリオキシシン耐性ナシ黒斑病菌の調査結果は、昭和47年度の耐性菌検出率92.3%、耐性菌検出率37.8%が最高で、以後耐性菌の密度は減少の傾向にあること。山形県庄内地方におけるカスガマイシン耐性いもち病菌の検出率が8/16、北ギリシャにおけるベノミル耐性テンサイ褐斑病菌の検出率が60/65及び25/65であったことから、耐

第7表 カスガマイシン耐性いもち病菌の各種薬剤の防除効果

供試菌株	供試薬剤	濃度	予防効果	治病効果
71-3 (R)	カスガマイシン プラストサイジン S ポリオキシシン D IBP	20ppm	2.6%	13.4%
		10	50.3	0.2
		40	—	32.5
		480	100	77.3
47-Y-3 (R)	カスガマイシン プラストサイジン S ポリオキシシン D IBP	20	26.2	0
		10	73.8	27.6
		40	—	55.7
		480	99.5	76.7
47-Y-15(R)	カスガマイシン プラストサイジン S ポリオキシシン D IBP	20	7.1	8.5
		10	46.1	0
		40	—	34.7
		480	95.5	75.4
47-Y-35(R)	カスガマイシン プラストサイジン S ポリオキシシン D IBP	20	36.5	47.8
		10	87.5	41.0
		40	—	72.8
		480	99.0	71.5
P-2 (S)	カスガマイシン プラストサイジン S ポリオキシシン D IBP	20	100	99.0
		10	98.1	99.0
		40	—	99.0
		480	90.7	83.8

性菌の占める割合が 30~50% になると薬効の低下現象が顕著になるものと推定される。

そこでサンプリングする菌株数について述べると、上杉らはいもち病菌 175 菌株のカスガマイシン感受性を阻止円法で調べ、感性菌と耐性菌を区別することができたこと。筆者らもいもち病菌約 450 菌株について、カスガマイシン及びプラストサイジン S の感受性を平板希釈法で調べ、感性菌及び耐性菌の薬剤感受性値の範囲を知ることができた(未発表)。鳥取県で 204 菌株のナシ黒斑病菌に対するポリオキシシン感受性検定において、高度耐性菌、中等度耐性菌及び感性菌を区別し、その分布密度を知ることができた。また、いもち病菌レースの分布密度の調査成績などを考慮すると、理想的な耐性菌の分布密度の調査規模は、50ほ場(または園)を選び、それぞれ 1 ほ場の 4~5 か所の地点から 1 菌株ずつ分離し、全体として 200 以上の菌株の薬剤感受性値を調べることによって、調査地域の対象病原菌の薬剤感受性値の範囲及び耐性菌の分布密度を知ることができるよう考えられる。また、薬効減退の現象が認められたほ場から 2/5~3/5 以上の率で耐性菌が検出された場合は、その原因は耐性菌によるものと推定してよいのではないかと考えている。

なお、鳥取県でポリオキシシン耐性ナシ黒斑病菌の分布密度が 10% 台であっても、耐性菌を考慮した防除体系を立てられていることは、今後の耐性菌対策を考えるときに参考となる良い例もある。

おわりに

薬剤耐性菌の検定法において *in vitro* と *in vivo* の実験で相関があっても、それは相対的なことであって、平板希釈法で 2 倍の薬剤感受性の差を生じた菌株間で *in vivo* の防除効果にほとんど差のない場合もある。しかし、耐性菌であるか、感性菌であるかの区別はできる場合が多い。また、*in vitro* 及び *in vivo* における薬剤感受性値が明確に判定されたとしても、ほ場における薬効とは一致する場合と一致しない場合も考えられる。

例えば作物の種類、品種、栽培様式、施肥量と気象条件による作物の病原菌に対する抵抗性の減退及び病原菌のレースなどの条件が、病気の発生に好適な状態にあると、病原菌自体の薬剤感受性値から有効と考えられる薬剤が効果の減退を示すという、ほ場の耐性* の現象(昭和 49 年のいもち病の異常発生など)

と、病原菌の薬剤感受性値から防除効果はあまり期待できないが、気象条件の好転によって病気の発生が抑制されるようになったり、生体内組織における薬剤濃度が病原菌自体の感受性値を越える場合、あるいはポリオキシシン耐性ナシ黒斑病菌でみられたように、菌と薬剤が長時間接触するような場合は予想以上の防除効果を示すという、ほ場の感性* の現象もあるように考えられる。したがってほ場において薬剤の効果減退の現象がみられても、単純に耐性菌が出現したと断定できないし、一見効果の認められているほ場においても、耐性菌が増殖している可能性もある。*in vivo* における耐性菌の検定は、耐性菌の発生をなるべく速やかに把えることを考慮し、対象病害の発病に好適な条件下で行うことが望ましい。

最後にカスガマイシン耐性いもち病菌の防除作用において、プラストサイジン S が治病効果よりも予防効果の高い現象が認められたことは、従来の感性菌を用いた研究では考えられなかった作用機構があることを示唆しているように推定される。それはまた新しい生物学の研究にもつながっているようにも考えられる。それゆえに耐性菌の研究が盛んになればなるほど、耐性菌の検定法が重要であろうし、今後は多くの研究者の協力によってより良い検定法の確立されることが望まれる。

* 医薬領域において、「臨床的感性」及び「臨床的耐性」という用語が用いられているので、それと対比した言葉として用いてみた。不適当であれば改めたい。

参 考 文 献

- 1) GEORGOPOULOS, S. G. et al. (1973) : Plant Dis. Repr. 57 : 321~324.
- 2) 三橋 進編 (1970) : 薬剤と耐性菌, 南江堂.
- 3) 山本 亮監修 (1958) : 新農薬研究法, 南江堂.
- 4) 明日山秀文ら編 (1962) : 植物病理実験法, 日本植物防疫協会.
- 5) 古山 清ら編 (1965) : 農薬の生物検定法, 南江堂.
- 6) 住木諭介ら編 (1966) : 新農薬研究施設, 南江堂.
- 7) 飯田 格ら編 (1971) : 現代農薬講座Ⅱ, 朝倉書店.
- 8) 浅川 勝ら編 (1972) : 農薬の科学と応用, 日本植物防疫協会.
- 9) 東大農芸化学教室編 (1952) : 実験農芸化学(上), 朝倉書店.
- 10) 梅沢純夫 (1944) : 抗菌性物質, 培風館.
- 11) 住木諭介 (1961) : 抗生物質, 東大出版会.
- 12) 京大農芸化学教室編 (1957) : 農芸化学実験書(Ⅲ), 産業図書.
- 13) 滝本清透 (1952) : 微生物及植物病理学実験法, 養賢堂.
- 14) 日本植物防疫協会 (1974) : 薬剤耐性菌に関するシンポジウム講演要旨.
- 15) 上杉康彦ら (1969) : 農技研報告 C 23 : 93~112.
- 16) 西村正暘ら (1972) : 植物防疫 26 : 157~159.
- 17) 島田徳治ら (1972) : 農薬検査所報告 12 : 96~99.
- 18) ————ら (1973) : 同上 13 : 37~42.
- 19) 片桐政子ら (1974) : 日植病報 40 : 106~107.
- 20) 大沼幸男ら (1973) : 北日本病虫害研究会報 24 : 70~77.
- 21) 中村広明ら (1968) : 農薬検査所報告 8 : 21~25.
- 22) OHMORI, K. (1967) : J. Antib. A 20 : 109~114.
- 23) 福見秀雄ら (1953) : 日医新報 1513 : 14~16.
- 24) 前田 進ら (1971) : 秦野たばこ試験場報告 70 : 91~98.
- 25) 桜井 寿ら (1974) : 農薬検査所報告 14 : 54~65.
- 26) MAGIE, R. O. et al. (1974) : Plant Dis. Repr. 58 : 256~259.
- 27) 江口 潤ら (1974) : 日植病報 40 : 220.
- 28) 甲元啓介ら (1974) : 同上 40 : 220.
- 29) 伊藤 弘ら (1974) : 同上 40 : 220.
- 30) 三浦春夫ら (1974) : 同上 40 : 220~221.
- 31) UESUGI, Y. et al. (1974) : Agr. Biol. Chem 38 : 907~912.
- 32) 上杉康彦ら (1974) : 日植病報 40 : 252~260.
- 33) 田部井英夫ら (1955) : 同上 20 : 42.
- 34) 藤本 哲ら (1963) : 同上 28 : 153~158.
- 35) 我孫子和雄ら (1973) : 同上 39 : 173~174.
- 36) 高橋幸吉 (1974) : 蚕糸科学と技術 13 : 40~43.
- 37) SCHROEDER, W. T. et al. (1969) : Plant Dis. Repr. 52 : 271~275.
- 38) RUPPEL, E. G. et al. (1974) : ibid. 58 : 434~436.
- 39) TATE, K. G. et al. (1974) : ibid. 58 : 663~665.
- 40) BOLLEN, G. J. et al. (1971) : Neth. J. Pl. Path. 77 : 83~90.
- 41) VAN TUYL, J. M. et al. (1974) : ibid. 80 : 165~168.
- 42) EVANS, E. (1972) : Pesti. Sci. 2 : 192~196.
- 43) DEKKER, J. (1973) : OEPP/EPPO Bull, n° 10 : 47~57.
- 44) MARION, H. E. et al. (1973) : Proc. 7th Br. Insectic. Fungic. Conf. 211~216.
- 45) GOLDBERG, C. W. et al. (1973) : Phytopathology. 63 : 201~202.
- 46) VARGAS, J. M. (1973) : ibid. 63 : 1366~1368.
- 47) WUEST, P. J. (1974) : ibid. 64 : 331~334.
- 48) 薬師寺国人ら (1971) : 日植病報 37 : 191.
- 49) 小泉鎧冊ら (1971) : 同上 37 : 365.
- 50) ————ら (1972) : 園芸試験場報告 B 12 : 245~256.
- 51) 古本市重郎 (1972) : 野菜病害防除に関するシンポジウム講演要旨 23~28 (日本植物防疫協会)
- 52) 三浦春夫ら (1975) : 日本植物病理学会講演予稿集 C 13.
- 53) 上杉康彦ら (1975) : 同上 C 14.
- 54) 桜井 寿ら (1975) : 同上 C 15.
- 55) 山村宏志ら (1975) : 同上 C 16.
- 56) 手塚信夫ら (1975) : 同上 C 17.
- 57) 大沼幸男ら (1975) : 同上 C 18.
- 58) 山崎義人 (1961) : 植物防疫. 15 : 220~224.
- 59) 三浦春夫 (1975) : 同上 29 : 21~24.
- 60) 沢村健三 (1975) : 同上 29 : 25~26.
- 61) 宇田川英夫 (1975) : 同上 29 : 27~31.
- 62) 山本 磐 (1975) : 同上 29 : 32~34.
- 63) 我孫子和雄 (1975) : 同上 29 : 35~36.
- 64) 高橋幸吉 (1975) : 同上 29 : 37~43.

中央だより

—農 林 省—

○農作物有害動植物発生予察事業特殊調査の成績検討及び計画打ち合わせ会開催さる

発生予察事業特殊調査の昭和 49 年度の事業成績の検討と昭和 50 年度の事業計画の打ち合わせのため、標記会議が各課題ごとに開催された。各課題ごとの会議開催月日：開催場所：参集人数などは次のとおりである。

☆果樹うどんこ病の発生予察方法の確立に関する特殊調査—3月10日：農蚕園芸局第1会議室：10 数名。

☆ハダニ類の発生予察方法の確立に関する特殊調査—3月11日：農業技術研究所中会議室：約 30 名。なお、本調査は昭和 49 年度をもって終了することとなり、成果の取りまとめなどについても協議された。

☆水田転換畑における線虫の発生変動に関する特殊調査—3月13日：農業技術研究所中会議室：約 20 名。なお、本調査は昭和 50 年度が最終年度となる予定である。

☆カメムシ類の発生予察方法に関する特殊調査—4月7～8日：農業技術研究所講堂：約 50 名。本会議は最初の成績検討会であるが、各地で斑点米の問題が起きている折から担当県以外からも多数参加され、熱心に討議された。

☆果樹ハモグリガ類の発生予察方法の確立に関する特殊調査—3月17日：農蚕園芸局第1会議室：10 数名。なお、本調査は昭和 50 年度からの新規課題であり、対象虫及び担当県は次のとおりである。キンモンホソガ：青森・長野、ナシチビガ：千葉、モモハモグリガ：山形・富山・広島。

○病害虫発生予報第 1 号発表さる

農林省は昭和 50 年 4 月 26 日付け 50 農蚕第 2578 号昭和 50 年度病害虫発生予報第 1 号でもって、主な病

害虫の向こう約 1 か月間の発生動向の予想を発表した。その概要は、①発生時期は全般的に並ないしやや遅い。②5 月中に大発生して問題となるような病害虫はない。というものである。なお、今回の予報にとりあげられた病害虫は下記のとおりである。

〔イネ〕 苗立枯病、ニカメイチュウ、ヒメトビウシカ、ツマグロヨコバイ、〔ムギ〕 さび病類、うどんこ病、赤かび病、〔カンキツ〕 そうか病、黒点病、かいよう病、ヤノネカイガラムシ、ミカンハダニ、〔リンゴ〕 モニリア病、うどんこ病、キンモンホソガ、リンゴハダニ、クワコナカイガラムシ、〔ナシ〕 黒斑病、黒星病、シンクイムシ類、コカクモンハマキ、ハダニ類、クワコナカイガラムシ、〔モモ〕 黒星病、モモハモグリガ、ハダニ類、クワシロカイガラムシ、〔カキ〕 カキミガ、フジコナカイガラムシ、〔チャ〕 炭そ病、コカクモンハマキ、チャハマキ、チャノサンカクハマキ、カンザワハダニ

○農薬危害防止運動の実施

農業による事故発生の原因を見てみると、近年、農薬が低毒化されてくるに伴い、散布作業者の慣れなどから農薬を安易に取り扱うことが多くなり、作業者の装備不十分や農薬の管理不良など、散布者の不注意に起因する事故が多くなっている。また、最近特に防除機及び防除施設が大型化し、かつ、広面積散布の形態がとられてくると、それに伴って、上水道汚染や魚貝類の斃死事故なども目立ってきた。

このようなことから、本年も 6 月 1 日から 30 日までの 1 か月間、農薬危害防止運動を強力に実施することになった。本運動は、例年のように、厚生省、農林省、都道府県の共催で行い、事故防止のために、広報機関などによる啓発宣伝、各種講習会の開催、貢献団体などの表彰、医療機関との連携強化、農薬取り扱いの指導、散布作業者の健康管理などについて実施することとしている。

協会だより

—本 会—

○編集部より

☆本号は、3 月号の「昆虫の休眠」に続く本年 2 冊目の特集号です。口絵写真はありませので休載いたしました。御了承下さい。

☆本誌では、10 数年来作物名をカタカナ書きで、日本植物病理学会発行の「日本有用植物病名目録」第 1～3 巻に記載されている作物名に従って統一し、編集してきました。たまたま 4 月号の堀 浩二氏の論文「メクラガメ類による作物の被害生理」を編集集中テンサイの文字の記載があり、サトウダイコンに直したところ、4 月 1 日に発

行された同書第1巻の改訂版に前版と作物名の表示が変わったものがあり、4月号以降は新版の作物名を使用することにしました。

ちなみに、変わった点を列記すると

カラスムギ→エンバク (カラスムギ)

インゲン→インゲンマメ (インゲン)

ライマビーン→ライマメ

ナンキンマメ→ラッカセイ (ナンキンマメ)

サトウダイコン→テンサイ (サトウダイコン, ビート)

タタミガヤツリ→カンゾウ (カンエンガヤツリ, タタミガヤツリ, ワングル)

イ→イグサ

アサ→タイマ (アサ)

カラムシ→チョマ (カラムシ, マオ, ラミー)

チンマ→ボウマ (チンマ, キリアサ, イチビ)

タデアイ→アイタデ (アイ, タデアイ)

ヤクヨウニンジン→チョウセンニンジン

ムシヨケギク→ジョチュウギク (ムシヨケギク)

ハッカ→ニホンハッカ

トウゴマ→ヒマ (トウゴマ)

で、前版のもの→新版のものとなっており、本誌では原則として () 内は使いません。

なお、化学名は日本化学会発行の「文部省学術用語集化学編〔増訂版〕」を採用しております。

(編集部 川村 茂)

人事消息

名原保徳氏 (島根県大阪事務所長) は島根県農林水産部次長に

曾田信光氏 (同上県松江農林改良普及所長) は同上部農業改良課長に

平田洋一氏 (同上部農林水産部農業改良課長) は同上部農林総合研修所長に

杉谷貞夫氏 (同上部次長) は財団法人島根県環境保健公社へ

西村利幸氏 (長崎県総合農林試験場) は長崎県総合農林試験場長に

高木陸夫氏 (同上試験場) は全農福岡支所技術主幹に

川田 計氏 (大分県温泉熱利用農業研究所長) は大分県農業技術センター所長兼務

大村林平氏 (同上部農業技術センター所長) は退職

衛藤良助氏 (佐賀県農業専門技術員室嘱託) は大分短期大学講師に

兵庫県の機構改革に伴い、農業総合センターが新設された。センターは事務局、農業試験場 (病虫部, 作物部, 園芸部, 化学部, 環境保全部の5部, 宝塚分場, 但馬分場, 淡路分場の3分場, 原種農場, フラワーセンター), 経営実験場 (実験部と県庁普及教育課より所属がえの普及部), 県立農業大学の4本立。

センター所長 岩田善明氏 (前農林部次長)

事務局長 田中 清氏 (前普及教育課副課長)

〃 次長 秋葉圭祐氏

〃 主任技術専門員 大川義一氏

農業試験場は変わらず、場長一岩本利一氏, 病虫部長一山口福男氏, 次長一松尾綾男氏

経営実験場長 加藤真市氏 (前普及教育課主任専門技術員 (果樹))

〃 実験部長 木村 直氏

〃 〃 次長 安水賢吾氏

〃 普及部長 菊池年夫氏 (前普及教育課主任専門技術員 (主作))

〃 〃 次長 植田春重氏

〃 〃 主任専技 (病害虫) 山根伸夫氏

県立農業大学校長 竹崎通善氏

〃 副校長 岡本幹夫氏

本会発行図書

農薬安全使用基準のしおり

昭和49年版

A5判 34 ページ 200 円 送料 55 円

農薬残留に関する安全使用基準, 農薬の残留基準, 作物残留性農薬および土壌残留性農薬の使用基準, 水産動物の被害の防止に関する安全使用基準を1冊にまとめた書

植物防疫

第29巻 昭和50年5月25日印刷
第5号 昭和50年5月30日発行

実費 320 円 送料 16 円 1か年 3,360 円 (送料共概算)

昭和50年

5月号

(毎月1回30日発行)

編集人 植物防疫編集委員会

発行人 遠藤武雄

印刷所 株式会社 双文社

東京都板橋区熊野町13-11

——発行所——

東京都豊島区駒込1丁目43番11号 郵便番号 170

社団法人 日本植物防疫協会

電話 東京 (03) 944-1561-4 番

振替 東京 177867 番

—禁 転 載—

稲の一生の スタートを守る

新発売!

増収を約束する

日曹の農薬

水銀を含まない種子消毒剤

ホーマイ

- 種もみのばかなえ病、いもち病、ごまはがれ病防除にすぐれた効果があります。
- 箱育苗に浸種前処理ができます。また、高濃度短時間処理、低濃度長時間処理が可能です。
- 毒性やかぶれの心配がない安全な薬剤です。



日本曹達株式会社

本社 東京都千代田区大手町2-2-1 〒100
支店 大阪市東区北浜2-90 〒541



本会刊行図書

農薬の商品名, 一般名, 化学名索引 (英文)

農林省農業技術研究所 上杉康彦 著

B5判 56 ページ

国内価格 1,200 円 (送料とも) 海外価格 5 ドル (送料とも)

現在使用されている農薬の名称をアルファベット順に、また、個々に一般名 (それを採用または推奨している機関名)、殺虫剤・殺菌剤などの用途分類、商品名 (取り扱い会社名)、化学名、構造式の順に収録した辞典形式の索引書。農薬の製造・販売関係者、病虫害防除で国際協力を行っている専門家、これから農薬研究を志さず研究者にとって必携書。

お申込みは前金 (現金・振替・小為替) で下記へ

農薬輸出振興会 (郵便番号 103 東京都中央区日本橋室町1の8 日本橋クラブビル内
電話 03-241-0215 番)

本 会 出 版 物

本会に委託された農薬や抵抗性の試験成績などをまとめた印刷物。在庫僅少のものあり、お申込みは前金で本会へ。〔記載以外は品切れ〕

☆委託試験成績 正編

昭和 40 年度	〔第 10 集〕	(殺虫剤・殺線虫剤)	1900円
〃	〔 〃 〕	(殺菌剤・防除機具)	1900円
昭和 41 年度	〔第 11 集〕	(殺虫剤・殺線虫剤・殺虫殺菌混合剤)	2000円
〃	〔 〃 〕	(殺菌剤・防除機具)	1900円
昭和 42 年度	〔第 12 集〕	(殺菌剤・防除機具)	2000円
昭和 45 年度	〔第 15 集〕	稲関係 (殺虫剤・殺虫殺菌剤)	2000円
〃	〔 〃 〕	野菜等関係 (殺虫剤・殺虫殺菌剤)	1400円
昭和 46 年度	〔第 16 集〕	稲関係 (殺虫剤・殺虫殺菌剤)	1800円
〃	〔 〃 〕	〃 (殺菌剤)	1500円
〃	〔 〃 〕	野菜等関係 (殺虫剤・殺線虫剤)	1500円
〃	〔 〃 〕	〃 (殺菌剤)	1200円
昭和 47 年度	〔第 17 集〕	稲関係 (殺虫剤・殺虫殺菌剤)	2000円
〃	〔 〃 〕	〃 (殺菌剤)	1500円
〃	〔 〃 〕	野菜等関係 (殺虫剤・殺線虫剤)	2000円
〃	〔 〃 〕	〃 (殺菌剤)	1500円
昭和 48 年度	〔第 18 集〕	稲関係 (殺虫剤・殺虫殺菌剤)	2000円
〃	〔 〃 〕	野菜等関係 (殺虫剤・殺線虫剤)	2000円
〃	〔 〃 〕	〃 (殺菌剤)	2000円
昭和 49 年度	〔第 19 集〕	野菜等関係 (殺虫剤・殺線虫剤)	2500円
〃	〔 〃 〕	〃 (殺菌剤)	2700円

☆委託試験成績 続編

昭和 40 年度	〔第 10 集〕	750円
昭和 42 年度	〔第 12 集〕	800円
昭和 43 年度	〔第 13 集〕	1000円
昭和 44 年度	〔第 14 集〕	1000円

☆BT剤に関する試験成績

1972 年	1400円
1973 年	1500円
1974 年	1700円

☆委託試験成績 総合考察

昭和 40 年度	〔第 10 集〕	400円
昭和 41 年度	〔第 11 集〕	520円
昭和 42 年度	〔第 12 集〕	570円
昭和 43 年度	〔第 13 集〕	770円
昭和 44 年度	〔第 14 集〕	570円
昭和 45 年度	〔第 15 集〕(稲・野菜関係)	800円
〃	〔 〃 〕(カンキツ等関係)	700円
昭和 46 年度	〔第 16 集〕(稲・野菜関係)	1000円
昭和 47 年度	〔第 17 集〕(〃)	1000円
昭和 48 年度	〔第 18 集〕(〃)	1400円

☆フェロモン利用に関する試験成績

1974 年	1200円
--------	-------

☆果樹ハダニ類の薬剤抵抗性に関する試験成績

1963 年	350円
1964 年	800円
1968 年	1000円

☆土壌殺菌剤特殊委託試験成績

1965 年	1300円
1967 年	1000円
1968 年	900円

☆カンキツ農薬連絡試験成績

昭和 39 年度	〔第 1 集〕	1800円
昭和 40 年度	〔第 2 集〕	1800円
昭和 41 年度	〔第 3 集〕	1200円
昭和 47 年度	〔第 9 集〕	2000円

☆農薬の新施用法に関する特別研究試験成績

1969 年	1800円
1970 年 (殺虫剤)	1600円
〃 (殺菌剤)	1300円
1971 年 (殺虫剤)	1500円
〃 (殺菌剤)	1200円

☆落葉果樹連絡試験成績

昭和 42 年度	〔第 2 集〕	1200円
昭和 43 年度	〔第 3 集〕	1500円
昭和 44 年度	〔第 4 集〕	1600円
昭和 48 年度	〔第 8 集〕	2400円

☆非水銀いもち病防除剤全国連絡試験成績

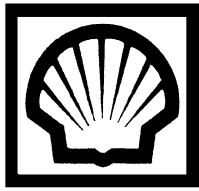
1967 年	500円
--------	------

☆いもち病防除剤全国連絡試験成績

1968 年	500円
--------	------

☆キタジンP粒剤の水面施用に関する特別研究試験成績

1969 年	1000円
--------	-------



前進する
シェルの農薬

果樹 カイガラムシ・ハマキ類の防除に

ビニフェート 乳剤を！



● 茶・果樹・そさいに

ビニフェート 乳 剤

● みかんに

ビニフェート 乳剤50

シェル化学株式会社

東京都千代田区霞が関 3-2-5 (霞が関ビル)
札幌・名古屋・大阪・福岡

これ効きめのキマキ



作物の播種、植付時の土壌処理で
長期間にわたり
高い効果を示します。
さらにガス効果が強いので、
作物の成育中の
葉面・地表面散粒で、
特効を示します。
毒性が少なく、
葉害の
心配もないので
安心して使えます。

手まきでアブラムシが防げる

イソチオエート粒剤

ホスドン粒剤



日本農薬株式会社 東京都中央区日本橋1-2-5 栄太楼ビル ☎103

近畿大学教授・平井篤造

神戸大学教授・鈴木直治共編

—第2版出来—

感染の生化学 —植物—

A5版 474頁

2800円 千200円

前編—糸状菌および細菌病

* 感染 (神戸大学農学部教授・鈴木直治) * 細胞壁と細胞膜 (香川大学農学部教授・谷 利一) * 呼吸 (北海道農業試験場病理昆虫部技官・富山宏平) * 光合成 (農業技術研究所病理昆虫部技官・稲葉忠興) * 蛋白質代謝 (近畿大学農学部教授・平井篤造) * 核酸代謝 (京都大学農学部助教授・獅山慈孝) * フェノール物質の代謝 (東北大学農学部教授・玉利勤治郎) * ファイトアレキシン (島根大学農学部教授・山本昌木) * ホルモン (農業技術研究所生理遺伝部技官・松中昭一) * 毒素 (鳥取大学農学部教授・西村正暘)

後編—ウイルス病

* 感染 (近畿大学農学部教授・平井篤造) * 呼吸 (岩手大学農学部教授・高橋 壯) * 葉緑体 (名古屋大学農学部助手・平井篤造) * 蛋白質代謝 (植物ウイルス研究所研究第1部技官・児玉忠士) * 核酸代謝 (岡山大学農学部助教授・大内成志) * 感染阻害物質 (九州大学農学部助手・佐古宣道)

農業技術協会刊

東京都北区西ヶ原1-26-3 (千114)

振替 東京 176531 TEL (910) 3787 (代)



は信頼のマーク



予防に優る防除なし
果樹・そ菜病害防除の基幹薬剤

キノドール[®] 水和剤
40

殺虫・殺ダニ 1剤で数種の剤
の効力を併せ持つ

トーラック 乳剤

宿根草の省力防除に
好評! 粒状除草剤

カソロン 粒剤
6.7

人畜・作物・天敵・魚に安全
理想のダニ剤

デデオン 乳剤
水和剤

兼商株式会社

東京都千代田区丸の内2-4-1

展着剤はグラミンS・展着剤はグラミンS・展着剤はグラミンS・展着剤はグラミンS・展着剤はグラミンS

展着剤はグラミンS・展着剤はグラミンS・展着剤はグラミンS・展着剤はグラミンS・展着剤はグラミンS

S展着剤はグラミンS・展着剤はグラミンS・展着剤はグラミンS・展着剤はグラミンS・展着剤はグラミンS

茶・花木・みかん害虫の同時防除 野菜・たばこの土壌害虫に

カルホス[®]乳粉 剤

- 三共が研究開発した全く新しい天然物誘導型（ハエトリシメジの成分と類似）の殺虫剤です。
- 接触毒と食毒の両作用により的確な効果を発揮します。
- 活性持続効果がすぐれます。
- 動物体外への排泄は急速に行なわれますので安心して使用できます。
- 悪臭や刺激性がなく使い易い薬剤です。
- 薬害の心配がほとんどありません。



三共株式会社

農業部 東京都中央区銀座3-10-17
支店 仙台・名古屋・大阪・広島・高松

北海三共株式会社
九州三共株式会社

■資料進呈■

展着剤はグラミンS・展着剤はグラミンS・展着剤はグラミンS・展着剤はグラミンS・展着剤はグラミンS

昭和五十年五月二十五日
昭和五十年五月三十日
昭和二十四年九月九日
印刷
植物防疫
第二十九卷第五号
（毎月一回三十日発行）
郵便物認可

ゆたかな実り＝明治の農薬



野菜、かんきつ、もも、こんにゃくの細菌性病害防除に
タバコの立枯病に

アグレプト水和剤

テラウエアの種なしと熟期促進に 野菜の成長促進・早出しに

ジベレリン明治

トマトのかいよう病特効薬

農業用ノボビオシン明治

イネしらはがれ病防除に

フェナジン明治粉剤・水和剤



明治製菓・薬品部
東京都中央区京橋2-8

実費 三三〇円（送料一六円）