

MBI-D 耐性いもち病菌に対する各種種子消毒剤の防除効果

宗 和弘¹⁾・金山 正人¹⁾・山口純一郎²⁾

(¹⁾ JA 全農営技センター・²⁾ 佐賀試験研究農業センター)

Control efficacy of seed disinfectant treatments against MBI-D-resistant isolates of rice blast fungus. Kazuhiro So¹⁾, Masato Kanayama¹⁾ and Junichiro Yamaguchi²⁾

(¹⁾ ZEN-NOH Agricultural R & D Center, Hiratsuka-shi, Kanagawa 254-0016, Japan. ²⁾ Saga Agricultural Experiment Research Center, Saga-gun, Saga 840-2205, Japan)

Key words : MBI-D-resistance, rice blast, seed disinfectant treatments

緒 言

2001年7月、MBI-D系統薬剤(シタロン脱水酵素阻害型メラニン合成阻害剤)耐性イネいもち病菌(以下MBI-D耐性菌)が佐賀県において発生(宗ら, 2002; 山口ら, 2002)し、その後九州全域に分布が拡大するとともに、西日本の一部でも発生が認められている(荒井, 2004)。MBI-D耐性菌の耐性機構は、メラニンの生合成過程で活性化するシタロン脱水酵素遺伝子の1塩基変異によるものであり、その変異点を検出する遺伝子解析技術も確立されている(Kaku et al., 2003)。また、佐賀県の菌株を供試して行われたDNAフィンガープリント解析によれば、MBI-D耐性菌は発生地域内で独立したパターンを持ち、地域外から持ち込まれたものではないことが明らかにされている(Sawada et al., 2004)。このことから、保菌率の高い自家採取種籾の使用が大きな発生要因の1つと考えられ、MBI-D耐性菌の発生拡大を防ぎ、防除対策を確立するためには、従来のいもち病防除の基本と同様に、健全種籾の利用や種子消毒を徹底する初期の菌密度低下対策が重要と考えられる。しかしながら、MBI-D耐性菌防除対策については、他系統の育苗箱処理薬剤や本田散布剤の有効性に関する報告(宗ら, 2003)はあるが、MBI-D耐性菌に対する種子消毒剤の効果や初期の菌密度低下対策を検討した例はまだ少ない。

そこで、MBI-D耐性菌罹病種籾を供試し、種子消毒による分生子形成阻害効果および育苗から移植および本田初発に至るまでの発病経過を観察し、種子消毒剤のMBI-D耐性菌発生抑制効果について検討したので報告する。

材料および方法

1. 供試種籾

いもち病保菌率およびそのMBI-D耐性菌株率の異なる種籾を、第1表に示すとおり4種類供試した。それぞれの供試種籾から任意の200粒を選び、軽く水洗した種籾と脱ぶした玄米を2%素寒天培地上に置床し、25℃で2~3日間培養後、籾等の表面における分生子形成状況を光学顕微鏡観察により調査してイネいもち病菌の保菌率を求めた。MBI-D耐性菌株率は、保菌種籾からいもち病菌を単孢子分離し、生物検定により調査した。すなわち、2~3葉期のイネ苗(品種:ヒノヒカリ)にカルプロパミド濃度が100ppmとなるように調整したカルプロパミド水和剤の薬液を噴霧・風乾後、オートミール培地を用いて形成させた分離菌の分生子懸濁液(10×10⁵個/ml)を均一に噴霧接種した。接種後24時間26℃湿室に保持して感染を促し、25℃ガラス温室に7~10日間保持した。その後、形成された病斑数を調査し、それをもとに算出したカルプロパミド水和剤の防除価が80を下回る分離菌をMBI-D耐性菌とした。

2. 分生子形成抑制効果試験

供試種籾それぞれについて各種種子消毒剤の低濃度24時間浸漬処理(No. 1およびNo. 2種籾は3反復, No. 3およびNo. 4種籾は2反復)を行い、処理後の種籾から反復ごとに任意に50粒を選び、上記の保菌率調査法に準じて調査した。

3. 苗いもち防除効果試験

第1表のNo. 1種籾を供試し、各種種子消毒剤の低濃度24時間浸漬処理後、5日間浸種を行い、200cm²(水稲用育苗箱・1800cm²の1/9面積)のプラスチック容器1つ当たり20g播種した(3反復)。その後、播種

第1表 供試種粉の来歴等

No.	供試種粉	品種	採種年	保菌種粉率% (玄米保菌率)	MBI-D 耐性菌株率% (耐性菌株数 / 検定菌株数)	試験項目
1	MBI-D 耐性菌保菌種粉	ヒノヒカリ	2002	7.5 (0.5)	100 (4/4)	分生子形成抑制効果 苗いもち防除効果
2	MBI-D 耐性菌保菌種粉	夢しずく	2002	4.0 (0.5)	100 (2/2)	分生子形成抑制効果
3	MBI-D 耐性菌・感受性菌混合保菌種粉	ヒノヒカリ	2003	4.0 (0)	40 (6/15)	分生子形成抑制効果
4	感受性菌保菌種粉	ヒノヒカリ	2003	17.0 (2.0)	0 (0/14)	分生子形成抑制効果

した種粉上にろ紙を敷き、その上に覆土し、播種3日後にろ紙と覆土を除去し、ガラス室内で管理した。なお、種子消毒剤処理後は風乾せずに浸種を行った。

播種20日後に、各処理区から25cm²分の苗マットを切り取り、立枯苗数および病斑形成苗数を調査し、それぞれの割合を算出した。なお、調査対象とした病斑は、典型的な紡錘形のいもち病斑のみとし、褐点等のまぎらわしい病斑は調査対象から除外した。

4. 葉いもち防除効果試験

第1表のNo. 1種粉を供試し、各種種子消毒剤のいもち病菌に対する初期菌密度抑制効果をMBI-D耐性菌発生地帯の圃場（佐賀県東松浦郡相知町）において検討した。各種種子消毒剤にて24時間浸漬処理後、浸種を8日間行った後に、試験区あたり育苗箱5箱を用いて播種し、覆土した。その後、屋外の平地に並べ、ビニルおよび寒冷紗で被覆して出芽を促した後、播種から10日後に被覆を取り除き緑化した。2003年6月16日に移植（3m×40m、反復なし）を行い、移植前に苗いもちの発病程度を調査した。また、苗におけるいもち病の発生を継続観察するために各区毎に移植後の残り苗（2反復）を放置し、10日後に1放置苗当たり90本の苗について苗における葉いもちの発病状況を調査した。その後も継続的に発病状況を調査し、葉いもち発生初期に至るまで観察した。

5. 各種種子消毒剤に対する薬剤感受性

MBI-D耐性菌および同感受性菌の中から代表的な計9菌株を選定し、薬剤含有平板培地を供試して菌糸生育により薬剤感受性を検定した。

薬剤は、ベノミル、プロクロラズ、イブコナゾール、ペフラゾエート、トリフルミゾールの各原体を供試し、50, 10, 5, 1, 0.5ppmとなるように調整してPDA平板を作製した。その平板に、あらかじめ前培養して形成させたいもち病菌菌叢の最縁部を径4mmのコルクボーラーで打ち抜き置床した。その後、25℃で5日間培養し、菌叢直径を測定して薬剤による菌糸生育阻害度を

算出し、それをもとに最小二乗法による回帰計算によりEC₅₀値を得た。

結 果

1. 分生子形成抑制効果

供試した種子消毒剤のうち、プロクロラズ乳剤、ベノミル水和剤およびチウラム・ベノミル水和剤区では、供試したいずれの種粉においても分生子の形成は認められず、MBI-D耐性菌および感受性菌のいずれに対しても高い抑制効果を示した（第2表）。イブコナゾール・銅水和剤は、No. 1およびNo. 2種粉では高い抑制効果を発揮したものの、保菌率の高いNo. 4種粉では抑制効果がやや低かった。しかし、イブコナゾール・銅水和剤にベノミル水和剤を加用することによって、いずれの種粉においても完全に分生子形成を抑制した。トリフルミゾール乳剤は、保菌率の低いNo. 2種粉で分生子形成抑制効果が認められ他剤との有意差もなかったが、No. 3やNo. 4については不安定な効果を示した。

また、玄米感染に対する防除効果では、No. 3およびNo. 4種粉に対し、イブコナゾール・銅水和剤の抑制効果がやや劣る傾向があるものの、いずれの薬剤も抑制効果を示していた。

2. 苗いもち防除効果試験

各種種子消毒剤の苗いもちに対する防除効果を評価するにあたり、枯死苗は他病害（細菌病）により引き起こされたものと考えられたため評価対象から除外し、いもち病斑形成苗率によって検討した。その結果、トリフルミゾール水和剤以外の種子消毒剤処理は、苗いもちの発生が認められず高い防除効果を示した。一方、トリフルミゾール水和剤処理は、いもち病斑苗の発生がみられ、他の薬剤に比べ防除効果が低い傾向にあった（第3表）。

3. 葉いもち防除効果試験

移植時（6月16日）の調査において、すべての区の苗で苗いもちの発生は認められなかったが、播種33日後

第2表 各種種子消毒剤のいもち病菌分生子形成抑制効果

薬 剤 (有効成分含量%)	希釈倍率	分生子形成率 (%)							
		No. 1種粉 ^{a)}		No. 2種粉		No. 3種粉 ^{e)}		No. 4種粉 ^{f)}	
		種粉 (7.5%) ^{b)}	玄米 (0.5%)	種粉 (4%)	玄米 (0.5%)	種粉 (4%)	玄米 (0%)	種粉 (17%)	玄米 (2%)
チウラム・ベノミル水和剤 (チウラム20%, ベノミル20%)	200倍	0.0a ^{c)}	0NS ^{d)}	0a	0NS	0	0	0	0
ベノミル水和剤 (ベノミル50%)	500倍	0.0a	0	0a	0	0	0	0	0
ベノミル水和剤 (ベノミル50%)	1000倍	0.0a	0	0a	0	0	0	0	0
イブコナゾール・銅水和剤 (イブコナゾール5%, 水酸化第二銅4.6%)	200倍	0.0a	0	0a	0	0	1.0	2.0	1.0
プロクロラズ乳剤 (プロクロラズ25%)	1000倍	0.0a	0	0a	0	0	0	0	0
トリフルミゾール乳剤 (トリフルミゾール15%)	300倍	0.6a	0	0a	0	4.0	0	8.0	0
イブコナゾール・銅水和剤 +ベノミル水和剤	200倍 1000倍	0.0a	0	0a	0	0	0	0	0
無処理 (水浸漬)	-	4.0b	0.6	2.0b	0.6	5.0	1.0	10.0	1.0

a) 第1表に示した供試種粉, b) 括弧内の数値はいもち病保菌率を示す, c) 同一英文字を付した数値間にはダンカンの多重検定による有意差 ($p = 0.05$) が無いことを示す, d) F検定による有意差 ($p = 0.05$) が無いことを示す, e), f) 2反復のため統計処理は実施しない。

第3表 各種種子消毒剤の苗いもちに対する防除効果

処理薬剤	希釈倍率	No. 1種粉 ^{a)} (耐性菌保菌7.5%)		
		枯死苗率 (%) ^{b)}	病斑苗率 (%)	防除価
チウラム・ベノミル水和剤 (チウラム 20%, ベノミル 20%)	200倍	1.2	0NS ^{c)}	100
ベノミル水和剤 (ベノミル50%)	500倍	0.2	0	100
ベノミル水和剤 (ベノミル50%)	1000倍	0.3	0	100
イブコナゾール・銅水和剤 (イブコナゾール5%, 水酸化第二銅4.6%)	1000倍	0	0	100
プロクロラズ乳剤 (プロクロラズ25%)	1000倍	0	0	100
トリフルミゾール乳剤 (トリフルミゾール15%)	300倍	0.2	0.3	57
イブコナゾール・銅水和剤 +ベノミル水和剤	200倍 1000倍	0	0	100
無処理 (水浸漬)	-	2.9	0.7	-

a) 第1表に示した供試種粉, b) 他病害 (細菌病) によるもの, c) F検定による有意差 ($p = 0.05$) がない。

にあたる移植10日後 (6月25日) に, 放置苗における葉いもちの発病状況を調査した結果, オキシロニック酸・トリフルミゾール水和剤区の放置苗に, 発病苗率90%となる葉いもち病斑が多数認められた (第4表)。それ以外の種子消毒剤処理区においては, 放置苗における葉いもちの発生は認められなかった。

本田における葉いもちの初発は, 移植約1ヶ月後の7月14日であった。チウラム・ペフラゾエート水和剤およびチウラム・ベノミル水和剤区では葉いもちの発生が全く認められなかったが, それ以外の区では発病株率0.13~1.00%の発病がみられ, オキシロニック酸・トリフル

ミゾール水和剤区においては発病株率が1%と他の試験区に比較して高かった。

また, 初発時から14日経過すると試験圃場全体で葉いもち発病株率や株当たり病斑数が増加し, 初発時に認められた試験区間の明らかな発病程度の差は認められなくなった。

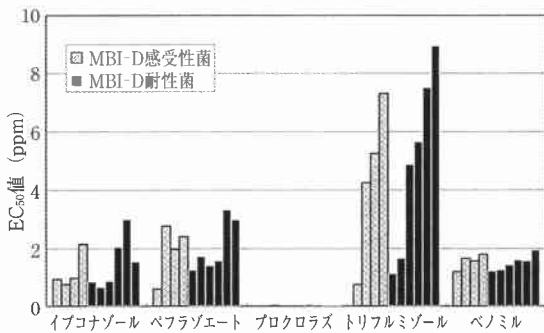
4. 各種種子消毒剤に対する薬剤感受性

薬剤感受性検定の結果, プロクロラズはEC₅₀値: 0.001~0.063ppm, MIC値: 0.5~5ppm未満を示し最も活性が高かった。次いでベノミル (EC₅₀値: 1.2~1.96ppm, MIC値: 5~50ppm), イブコナゾール (EC₅₀

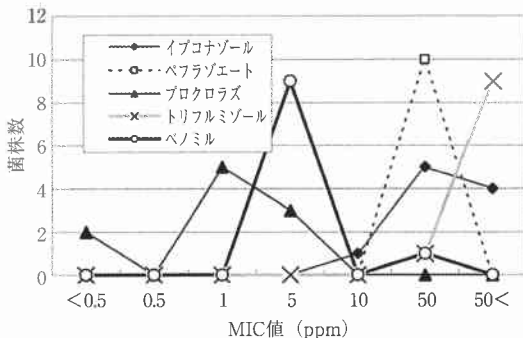
第4表 種子消毒によるイネいもち病菌初期密度抑制効果

種子消毒剤 ^{a)}	放置苗調査 (6/25) ^{b)}		初発時(7/14) 葉いもち調査		葉いもち調査 (7/28)	
	発病苗率 (%)	病斑数 (個/苗)	発病株数	発病株率 (%)	発病株率 (%)	株当たり 病斑数
オキシリニック酸・プロクロラズ水和剤 (オキシリニック酸20%, プロクロラズ5%)	0	0	3	0.38	7.2	0.11
イブコナゾール・銅水和剤 (イブコナゾール5%, 水酸化第二銅4.6%)	0	0	2	0.25	7.9	0.22
オキシリニック酸・トリフルミゾール水和剤 (オキシリニック酸20%, トリフルミゾール10%)	90	9.2	8	1.00	6.0	0.07
チウラム・ペフラゾエート水和剤 (オキシリニック酸20%, ペフラゾエート20%)	0	0	0	0	2.5	0.03
銅・フルジオキシソニル・ペフラゾエート水和剤 (塩基性塩化銅7.6%, フルジオキシソニル2%, ペフラゾエート12%)	0	0	1	0.13	0.8	0.01
チウラム・ベノミル水和剤 (チウラム20%, ベノミル20%)	0	0	0	0	6.1	0.10
薬剤無処理	0	0	1	0.13	5.1	0.08

a) 各種種子消毒剤はいずれも200倍, 24時間浸漬処理を行った。b) 各区の移植後残存苗を各区前の畦畔に放置し, 移植10日後に苗の葉いもち発生程度を調査。



第1図 イネいもち病菌の種子消毒剤に対する薬剤感受性。



第2図 いもち病菌の種子消毒剤に対する薬剤感受性。

値: 0.7~3 ppm, MIC値: 10~50ppm以上), ペフラゾエート (EC₅₀値: 0.6~3.3ppm, MIC値: 50ppm) となり, ほぼ安定した活性を示した。これに対して, トリフルミゾールは, EC₅₀値: 0.8~8.9ppm, MIC値: 50~50ppm以上と供試薬剤中最も活性が低く, 菌株による感受性の差も大きかった。また, いずれの種子消毒剤においても, MBI-D耐性菌と感受性菌の間に活性の差は認められなかった(第1図, 第2図)。

考 察

種子消毒剤の苗いもち発病抑制効果については数多くの試験が行われ, ベノミル剤やプロクロラズ剤の効果が優れることが報告されている(早坂ら, 2002)。本試験で供試した MBI-D耐性菌保菌種粉についても同様な傾向が認められ, 菌の MBI-D耐性, 同感受性に関わらず, ベノミル剤やプロクロラズ剤が高い種子消毒効果を発揮することを確認できた。したがって, 種子消毒の徹底は, いもち病菌の初期密度を抑えるという目的で, MBI-D耐性菌防除に有効であると考えられた。また, 本試験の結果から防除効果の安定度を製剤による防除効果および原体による薬剤感受性検定結果から総合的に推定すると, ベノミルとプロクロラズが最も安定しており, 次いでイブコナゾール, ペフラゾエートと続き, 最後にトリフルミゾールという順であった。この傾向は, 保菌率の高い種粉ほど顕著であった。

一方, ステロール脱メチル阻害剤(以下DMI剤)は, 玄米感染に対して効果が劣ることが知られている(早坂

ら、2002)が、今回の試験においては、いずれの種籾も玄米保菌率が低く、DMI剤の効果との関係は判然としなかった。それに対して、種籾保菌の場合には、保菌率が高い場合にいくつかのDMI剤で防除効果が低下する場合があることが確認できた。また、保菌率が高い場合に防除効果の低下が認められたイブコナゾール・銅水和剤にベノミル水和剤を加用したところ、保菌率の高低や玄米感染の有無に関わらず高い分生子形成抑制効果や苗いもち防除効果を発揮した。このことから、DMI剤にベノミル水和剤を加用することで、イネいもち病防除効果が安定し、保菌率の高い種籾の場合など、より確実な効果が必要な場面で有効と考えられた。

摘 要

2001年夏、佐賀において発生したMBI-D耐性菌は、その後九州や西日本を中心に分布が拡大し、今後の動向に指導機関等は注意を払っている。MBI-D耐性菌の防除対策としては、いもち病防除の基本に返った対策やMBI-D系統薬剤とは作用性の異なる育苗箱処理剤の使用、あるいは本田散布剤の使用などが成果をあげている。本試験では、いもち病防除の基本のひとつである種籾段階での防除の徹底について検討を行った。その結果、MBI-D耐性菌においても、種子消毒剤が有効であること、種子消毒剤の種類により防除効果に差がありベノミル剤やプロクロラズ剤の効果が優れること、DMI剤へのベノミル水和剤の加用効果が高く安定していたこと、種籾の保菌率によって種子消毒効果に差がでる場合があること、薬剤感受性の違いによる種子消毒効果に差はなかったこと、などが明らかとなった。これらの結果を、

より確かなMBI-D耐性菌対策に役立てたい。

引用文献

- 荒井治喜 (2004) 第14回殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム講演要旨集14: 27-36.
- Kaku, K., M. Takagaki, T. Shimizu and K. Nagayama (2003) Diagnosis of dehydratase inhibitors in melanin biosynthesis inhibitor (MBI-D) resistance by primer-introduced restriction enzyme analysis in scytalone dehydratase gene of *Magnaporthe grisea*. *Pest Manag. Sci.* 59: 843-846.
- 早坂 剛・松浦孝幸・生井恒雄 (2002) イネ種籾玄米における侵入いもち病菌の動態と防除. *日植病報*68: 297-304.
- Sawada, H., M. Sugihara, M. Takagaki and K. Nagayama (2004) Monitoring and characterization study of *Magnaporthe grisea* isolates showing decreased sensitivity to Sytalone Dehydratase Inhibitors. *Pest Manag. Sci.* 60: 777-785.
- 宗 和弘 (2003) 第13回殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム講演要旨集13: 37-47.
- 宗 和弘・岩淵博己・金山正人・山口純一郎 (2002) 佐賀県西北部地区において発生したカルプロバミド低感受性イネいもち病菌に対する各種薬剤の防除効果. *日植病報*68: 262 (講要).
- 山口純一郎・古田明子・口木文孝・宗 和弘 (2002) 2001年佐賀県西北部におけるカルプロバミド剤の防除効果の低下. *日植病報*68: 261 (講要).
- (2004年4月30日受領; 8月30日受理)