

## Short Report

## イネばか苗病制御技術の開発(1)

## イネばか苗病菌の薬剤感受性が種子消毒の効果に及ぼす影響と農家施設のモニタリング

藤晋一<sup>1</sup>, 工藤学<sup>1</sup>, 佐々木南海<sup>1</sup><sup>1</sup> 秋田県立大学 生物資源科学部 生物生産科学科

イネばか苗病は、*Fusarium fujikuroi* (イネばか苗病菌) によって引き起こされる種子伝染性のイネの重要病害の一つである。本病の発生を未然に防ぐため、健全種子の利用に加え、EBI(DMI)系の化学合成農薬による種子消毒が広く行われ、近年では温湯種子消毒法も広く取り入れられるようになってきた。またその一方で、EBI 剤に対する低感受性菌の発生が増加傾向にある。そこで、本菌の EBI 剤に対する薬剤感受性の違いが、種子消毒に及ぼす影響を調査した。その結果、調査した 2 種類の EBI 剤はいずれの菌株に対しても高い防除効果を示した。しかしながら温湯消毒では、無処理区よりも発病苗率が高くなる菌株や発病程度が同等の菌株が存在した。また、化学合成農薬と温湯消毒による体系処理は、種子消毒の効果を向上させることが示された。一方、種子伝染以外の伝染源として農家施設の汚染が疑われた。そこで、選択培地を用いた農家施設の汚染のモニタリングを試みた。その結果、選択培地を暴露した 17 件の農家のうち 3 件から本菌が検出された。以上の結果は、近年、問題となっている化学合成農薬による消毒後のばか苗病の発生は、菌の薬剤感受性の低下が主な原因ではなく、農家施設内の汚染が大きく関与している可能性が考えられ

**キーワード:** イネばか苗病, *Fusarium fujikuroi*, 化学合成農薬, エルゴステロール生合成阻害剤, 温湯種子消毒法

イネばか苗病は *Fusarium fujikuroi* によって引き起こされる病害である。環境保全型農業と有機・減農薬栽培の高まりによって、これまで化学合成農薬により行われてきた水稻の種子消毒に、温湯種子消毒法や微生物防除資材を用いた方法が広く取り入れられるようになった。しかしながら、こうした化学農薬に依存しない種子消毒技術の普及は、これまで問題視されていなかった、ばか苗病の発生を増加させた。特に温湯種子消毒法の普及率の高い宮城県や微生物防除資材の普及率が高かった岩手県では、その発生が深刻な問題となっており、岩手県では化学合成農薬による種子消毒方法に戻すことによる、クリーン作戦に取り組んでいる。

イネばか苗病の研究については、1980 年代に広く研究が行われてきた (佐々木, 1987; 渡部, 1980)。しかしながら、現在とはイネの栽培体系が異なるこ

とから、その技術をそのまま利用することができない。また、イネばか苗病発生によって大きな減収を引き起こさないことも明らかとなり、化学合成農薬による種子消毒の卓越した防除効果から、その後は精力的な研究が行われてこなかった。

一方、韓国においても、本病の発生は深刻な問題となっている。韓国でも温湯種子消毒方法の普及は、本病が多発生となっている大きな要因の一つであるが、エルゴステロール生合成阻害 [EBI (DMI)] 系の種子消毒剤、プロクロラズの効果低下が問題となっている。日本でも本剤を使用したにもかかわらず、「ばか苗病が育苗中に多発した」、あるいは「本田で発生した」といった声が、農家および農業関係者から聞かれ、EBI 系薬剤の効果の低下が懸念されている。

加えて、種子更新と化学合成農薬による種子消毒

をしているにもかかわらず、ばか苗病が発生する農家が散見されている。

そこで本研究では、2005年～2013年に秋田県を中心に収集されたばか苗病菌のEBI剤とベノミル剤に対する薬剤感受性が異なる菌株を用いて、EBI剤および温湯消毒に対する効果について検証した。また、本病が種子以外の伝染源であることを明らかにするため、農家施設の本病汚染と薬剤感受性をモニタリングできる選択培地について検討したので、ここに報告する。

## 材料および方法

### 供試菌株

本試験に供試した菌株の薬剤感受性を表1に示す。

表1 供試菌株の薬剤感受性

No.	菌株コード	薬剤感受性
1	APF13-050A	EBIMR/ベノミルR
2	APF13-014A	EBIMR/ベノミルR
3	APF13-047A	EBIMR/ベノミルR
4	APF13-009	EBIMR/ベノミルR
5	APF13-003A	EBIMR/ベノミルR
6	APF13-019A	EBIMR/ベノミルR
7	APF13-075A	EBIS/ベノミルR
8	APF13-042A	EBIS/ベノミルR
9	APF13-021A	EBIS/ベノミルR
10	AFM06-014A	EBIS/ベノミルR
11	APF06-083A	EBIS/ベノミルR
12	nakata gf	EBIS/ベノミルR
13	AFM06-29C	EBIMR/ベノミルR
14	APF13-072A	EBIS/ベノミルS
15	APF13-010A	EBIS/ベノミルS
16	AFM06-27A	EBIS-MR/ベノミルS

EBIMR: EBI低感受性菌

EBIS: EBI感受性菌

ベノミルR: ベノミル耐性菌

ベノミルS: ベノミル感受性菌

なお、薬剤感受性については入江・井上(1998)に基づいて行った。

### 人工汚染粗の作製

薬剤感受性の異なる16菌株を滅菌稲わら上に接種し、25℃下で培養し、分生胞子を形成させた。分生胞子を滅菌水に懸濁し、 $1 \times 10^6$ 個/mlの濃度の分生胞子懸濁液を作製した。この分生胞子懸濁液にイネ種子(短銀坊主、あきたこまち)を入れ、減圧下で30分間接種して、汚染種子を作製した。

### 薬剤感受性の違いがEBI剤の効果に及ぼす影響

減圧接種により作製した汚染種子(短銀坊主50%混入)を用いて、2種のEBI剤200倍希釈24時間浸種前処理の効果を調査した。各薬剤の浸種前処理は、15℃下で行い、処理後の風乾は行わなかった。浸種は15℃で3日間行い、催芽は30℃で24時間行った。催芽粗は1/15育苗箱(2反復)に播種し、30℃2日間出芽処理を行った。出芽後は、グロースチャンパー内(藤・茂木2007)で維持し、播種21日後に全株を調査することで、発病苗率を算出した。

### 薬剤感受性の違いが温湯消毒の効果に及ぼす影響

減圧接種により作製した汚染種子を用いて、温湯消毒(60℃10分間)処理の効果を調査した。試験1における浸種、催芽、出芽、規模および育苗条件は、前述と同様とし、種子には短銀坊主(50%混入)を用いた。試験2では、種子にあきたこまち(100%混入)を用い、試験規模は1/6育苗箱(3反復)とした。

### EBI剤と温湯消毒の体系処理における効果の検証

EBI剤に対して感受性から低感受性の境界に位置するAFM06-29C(ベノミルS)菌株を開花期接種した汚染もみ(短銀坊主)を用いて、2種のEBI剤200倍希釈24時間処理と温湯消毒(60℃10分)処理の体系処理により防除効果が向上するかどうか調査した。浸種、催芽、出芽、および育苗条件は、前述と同様とし、試験規模は1/6育苗箱(3反復)として播種21日後に調査を行った。

### 選択培地を用いた農家施設のモニタリング

イネばか苗病菌が属するフザリウムを選択的に分離可能な駒田培地にペフラゾエート6.25ppm、ベノミル剤1600ppmおよび両薬剤を加えて培地を作製し

た。これら4種の培地を17戸の農家に配布し、種子予措を行う農家施設内に暴露後回収した。回収した培地上に形成した菌相のうち、ばか苗病菌と思われる菌そうを切り取り、DNA すいすいF (リーゾ社) を用いてDNAを抽出した。抽出したDNAを鋳型にリアルタイムPCR (Amatulli *et al.*, 2012; 藤, 2013) により、イネばか苗病菌かどうかを判定した。

## 結果及び考察

### 薬剤感受性の違いがEBI系薬剤および温湯消毒の効果に及ぼす影響

分生子懸濁液で減圧接種したイネ種子を用いて、病原性と2種のEBI剤および温湯消毒(60℃ 10分)の効果を調査した。その結果、菌株によって明らかな病原性の違いが認められたが、2種類のEBI剤はいずれの菌株に対しても高い防除効果を示した(図1)。

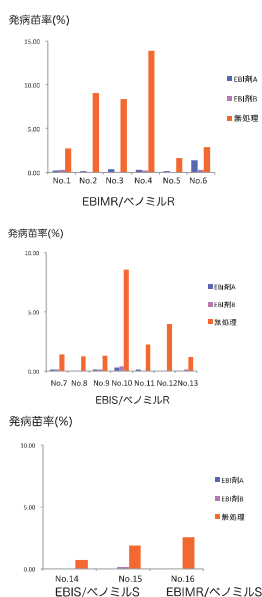


図1 ばか苗病菌分生子減圧接種粉を使用したEBI剤の種子消毒効果

一方温湯消毒区では、無処理区よりも発病苗率が高くなる菌株や発病程度が同等の菌株が存在し、温湯消毒で十分な効果が得られない菌が存在する可能性が示唆された(図2-3)。

### EBI剤と温湯消毒の体系処理における効果

EBI系薬剤と温湯消毒との体系処理による効果向上について検討した結果、両消毒法の併用によって、効果が向上することが明らかとなった(図4)。

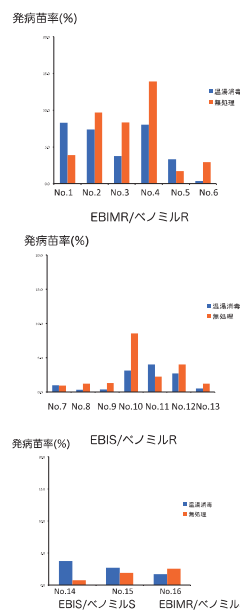


図2 ばか苗病菌分生子減圧接種粉を使用した温湯消毒(60℃10分)の効果

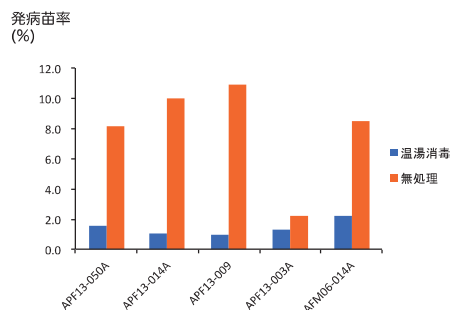


図3 ばか苗病菌分生子減圧接種粉を使用した温湯消毒(60℃10分)の効果(試験2)

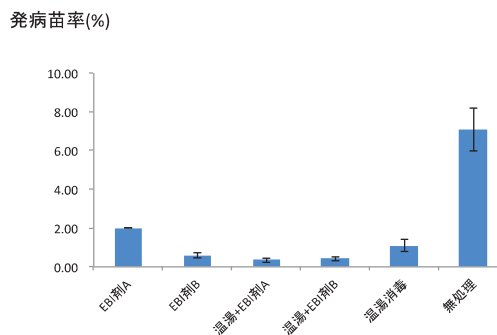


図4 EBI剤と温湯消毒の体系処理がばか苗病の発病に及ぼす影響

### 選択培地を用いた農家施設のモニタリング

4種の培地を農家施設内で暴露した結果、フザリウム選択培地でばか苗病菌を捕獲することができた(図4)。17件の農家のうち3件の農家では、ばか苗病菌が確実に存在した(11件の農家は偽陽性)。なお、農家Aからは8コロニー、農家Bからは3コロニー、農家Cからは5コロニー検出された。また、本結果から、ばか苗病菌の伝染環として、種子伝染以外に農家の施設内に存在する菌が伝染源となり得ることが明らかとなった。

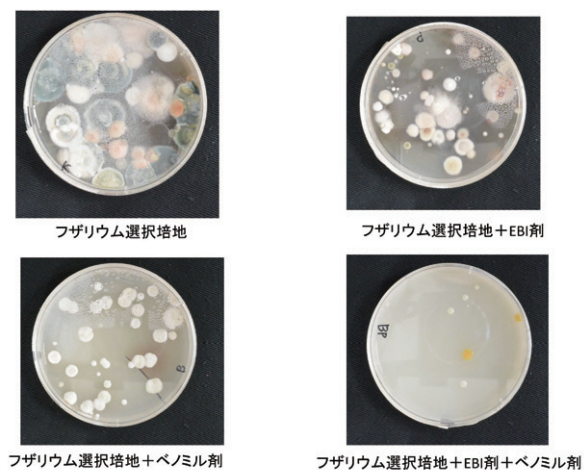


図4 施設内でトラップされた菌そう

## まとめ

本研究により、現在分布が拡大している EBI 剤低感受性菌の薬剤に対する効果は大きく低下していないことが明らかとなり、現時点では実用上問題なく使用できることが明らかとなった。一方で、温湯消毒の効果が高い菌の存在が示唆された。このことについては、試験を反復するとともに、開花期接種粒を利用した試験や温湯消毒機を用いた検証が必要である。本試験は、一般農家において EBI 剤で消毒したにもかかわらず、ばか苗病が発生した事例を検証するために行ったが、それら農家の一部では、温湯消毒との併用を行っている。そこで本試験では温湯消毒との併用も併せて行った。その結果、温湯消毒との併用は、種子に存在するばか苗病菌を徹底的に殺菌する上で有効な手段であることが明らかとなった。

一方、選択培地を使ったモニタリングでは農家施設内にばか苗病菌が広く存在することが明らかとなった。今回、施設内に菌が広く分布した農家の苗および本田ではばか苗病菌が発生しなかった。このことは、施設内が汚染されていたとしても、種子消毒を徹底することで、本病の発生を防ぐことができることを示唆している。化学合成農薬による種子消毒は、種子中に存在する病原菌を殺菌することを目的にしており、その後の種子予措中の病原菌の侵入に対する効果を目的としていない。消毒後の病原菌の侵入に対しては、一定の効果が持続していると思われるが、低感受性菌の密度が拡大している今日にお

いては、その後の侵入を十分に抑えられない可能性があり、EBI 低感受性菌で施設内が汚染された農家において、ばか苗病が発生している可能性が考えられる。いずれにせよ、伝染源を断つことは極めて重要であることから、農家施設内の環境衛生の保持について、指導していく必要がある。

## 謝辞

本研究は、秋田県立大学平成 26 年度産学連携・共同研究推進事業および平成 25 年～26 年度大潟村農業協同組合との共同研究によって行われた。

## 文献

- Amatulli, M.T., Spadaro, D., Gullino, M.L., Garibaldi, A. (2012). Conventional and real-time PCR for the identification of *Fusarium fujikuroi* and *Fusarium proliferatum* from diseased rice tissues and seeds. *European Journal of Plant Pathology*, 134, 401-408.
- 藤晋一 (2013). 「化学農薬を用いない水稻種子消毒法の普及による諸問題とその対策」『植物防疫』67(4), 223-227.
- 藤晋一, 茂木貴恵(2007). 「グロースキャビネットを利用した苗もち, およびばか苗病の検定」『植物防疫』61(9) 475-480.
- 入江和己, 井上幸次 (1998). 「イネばか苗病菌」. 日本植物病理学会殺菌剤耐性菌研究会 (編) 『植物防疫特別増刊号 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル』 pp16-20.
- 佐々木次郎 (1987). 「イネばか苗病の発生生態と防除に関する研究」『東北農業試験場研究報告』74.
- 渡部茂 (1980). 「育苗箱内におけるイネ馬鹿苗病の発生特徴」『岩手県立農業試験場研究報告』22, 31-54.

〔 平成 27 年 6 月 30 日 受付  
平成 27 年 7 月 31 日 受理 〕

## Development of a method to control bakanae disease (1)

Effect of seed disinfection using EBI chemical fungicides and hot water treatment, and monitoring of *F. fujikuroi* contamination in farmer facilities

---

Shin-ichi Fuji<sup>1</sup>, Gakub Kudo<sup>1</sup>, and Minami Sasaki<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Bioresource Science, Faculty of Bioproduction Science, Akita Prefectural University

*Fusarium fujikuroi* is a haploid filamentous fungus and is a seed-borne pathogen causing “bakanae” (foolish seedling) disease in rice. Although several chemical fungicides (Ergosterol Biosynthesis Inhibitor: EBI) have been generally used as seed disinfectant to control seed-borne fungal and bacterial diseases, a simple method using hot water has rapidly been used with the popularization of eco-friendly agriculture. Recently, the number of *F. fujikuroi* isolates moderately sensitive to EBI fungicides has shown an upward trend. Therefore, in this study we investigated the effect of seed disinfection using EBI chemical fungicides and hot water treatment to *F. fujikuroi* isolates with various EBI sensitivity. Two EBI fungicides showed strong effects, but hot water treatment failed to control several isolates. Combination of chemical fungicides and hot water treatment enhanced the control. In addition, we monitored the contamination of *F. fujikuroi* in 17 farmer facilities using *Fusarium* selection medium. *F. fujikuroi* was detected in three facilities, suggesting that the contamination of farmer facilities is involved in the occurrence of bakanae disease.

**Keywords:** *Fusarium fujikuroi*, Bakanae (foolish seedlings) disease, chemical fungicide, ergosterol biosynthesis inhibitor, hot water treatment