

(様式 1)

以上の高い病斑形成阻害効果を示した。対照としたスコア顆粒水和剤は、感染3日後の処理まで防除価 80 程度を維持した。同じく対照としたSDHI 剤のオルフィンフロアブルは感染1日後の処理でも防除価 80 を大きく下回り、十分な病斑形成阻害効果が認められなかった。原因は不明である。

表 15 各種薬剤のリンゴ黒星病に対する病斑形成阻害効果 (試験 3)

| 供試薬剤            | 希釈<br>倍数 | 感染 1 日後処理 |                 |         |         | 感染 3 日後処理 |                 |         |         | 感染 5 日後処理 |                 |         |         | 感染 7 日後処理 |                 |         |         |
|-----------------|----------|-----------|-----------------|---------|---------|-----------|-----------------|---------|---------|-----------|-----------------|---------|---------|-----------|-----------------|---------|---------|
|                 |          | 調査<br>葉数  | 発病<br>葉率<br>(%) | 発病<br>度 | 防除<br>価 |
| カナメ<br>フロアブル    | 4,000    | 16        | 25.0            | 8.3     | 85.4    | 28        | 10.7            | 3.6     | 94.5    | 32        | 40.6            | 26.0    | 46.5    | 16        | 68.8            | 45.8    | 0       |
| ミギワ 20<br>フロアブル | 4,000    | 16        | 0               | 0       | 100     | 20        | 0               | 0       | 100     | 28        | 0               | 0       | 100     | 24        | 37.5            | 20.8    | 51.3    |
| オルフィン<br>フロアブル  | 4,000    | 15        | 80.0            | 28.9    | 49.0    | 24        | 87.5            | 45.8    | 29.9    | 28        | 57.1            | 25.0    | 48.6    | 20        | 80.0            | 61.7    | 0       |
| スコア<br>顆粒水和剤    | 3,000    | 16        | 25.0            | 8.3     | 85.4    | 16        | 12.5            | 4.2     | 93.6    | 12        | 33.3            | 19.4    | 60.1    | 20        | 30.0            | 13.3    | 68.9    |
| 無処理             | —        | 20        | 100             | 56.7    |         | 24        | 100             | 65.3    |         | 24        | 79.2            | 48.6    |         | 32        | 87.5            | 42.7    |         |

供試ポット、苗数：各区1～2ポット、2～3苗。

接種：令和2年10月1日に $1.5 \times 10^5$ 個/mlの孢子懸濁液を供試樹に噴霧した後、約23℃で約40時間、温室条件で保持した。なお、接種にはDMI 剤とQo I 剤に対して感受性の菌株を供試した。

調査方法：10月27日(感染25日後)に表11に示す調査方法に準じて調査した。

以上のことから、リンゴ黒星病に対する実用的な病斑形成阻害効果は、カナメフロアブルで感染3～5日後まで、ミギワ20フロアブルで感染5～7日後までの処理で得られると考えられた。またDMI 剤のスコア顆粒水和剤の病斑形成阻害効果と比べ、カナメフロアブルはほぼ同等、ミギワ20フロアブルはやや優ると考えられた。

(2) 治療効果 (孢子形成阻害効果) の検討 (表 16)

孢子形成抑制効果の高いジマンダイセン水和剤を対照として、供試薬剤の黒星病に対する孢子形成阻害効果を検討した。

試験1では、ジマンダイセン水和剤は無処理に対して7.9%に孢子形成を抑制した。いずれの供試薬剤も孢子形成を阻害する効果は認められたが(対無処理比、対照とした57.1～74.3)、ジマンダイセン水和剤と比較してその程度は著しく低かった。

試験2では、ジマンダイセン水和剤の孢子形成抑制効果はやや低く、無処理に対して49.9%に孢子形成を阻害した。なお、効果が低い原因は不明である。カナメフロアブル、ミギワ20フロアブルともにわずかに孢子形成を阻害する効果が認められたが、対照としたジマンダイセン水和剤と比較してその程度は低かった。

以上のことからカナメフロアブル、ミギワ20フロアブル、MIF-1002フロアブル、ミラピスフロアブルはいずれも病斑上で孢子形成を抑制する効果は低いと考えられる。

(様式1)

表16 各種薬剤の病斑におけるリンゴ黒星病の胞子形成阻害効果

| 供試薬剤          | 希釈倍数  | 試験1   |       |          | 試験2              |       |          |
|---------------|-------|-------|-------|----------|------------------|-------|----------|
|               |       | 調査病斑数 | 胞子形成度 | 対無処理比(%) | 調査病斑数            | 胞子形成度 | 対無処理比(%) |
| カナメフロアブル      | 4,000 | 5     | 50.0  | 71.4     | 6                | 71.4  | 82.4     |
| ミギワ20フロアブル    | 4,000 | 8     | 52.0  | 74.3     | 6                | 74.2  | 85.6     |
| MIF-1002フロアブル | 4,000 | 3     | 66.7  | 95.3     | nt <sup>a)</sup> |       |          |
| ミラビスフロアブル     | 5,000 | 5     | 40.0  | 57.1     | nt               |       |          |
| ジマンダイセン水和剤    | 500   | 9     | 5.5   | 7.9      | 6                | 43.3  | 49.9     |
| 無処理(蒸留水処理)    | —     | 5     | 70.0  | —        | 30               | 86.7  | —        |

a)nt:未実施

接種:  $1.5 \times 10^5$  個/ml の胞子懸濁液を供試樹に噴霧した。なお、接種にはDMI剤とQoI剤に対して感受性の菌株を供試した。  
 調査方法: 試験1は処理10日後に、試験2は処理8日後に病斑表面の胞子をグリセリンゼリーに転写し、光学顕微鏡下で100倍の視野あたりの胞子量を以下の程度別に調査し、胞子形成度を算出した。  
 胞子形成指数 0: 胞子なし 1: 1~100、2: 101~1,000、3: 1,001~10,000、4: 10,001以上  
 胞子形成度 =  $\Sigma(\text{指数} \times \text{程度別該当病斑数}) / (\text{調査病斑数} \times 4) \times 100$

#### 4. QoI剤(単剤)に替わる有効薬剤の検索

##### (1) 輪紋病に対する各種薬剤の効果(表17)

無処理区における輪紋病の発生は8月中旬からみられた。調査時の無処理区における発病果率は、樹上調査で32.5%と中発生、貯蔵調査で36.0%と中発生条件下の試験となった。対照薬剤のオキシラン水和剤の防除価は、樹上調査で94.5、貯蔵調査で100であり、高い防除効果であった。

各供試薬剤の防除効果は対照のオキシラン水和剤と比較して、ツインバリアー水和剤で同等、ビオネクトではほぼ同等、フルーツガードWDGでやや劣った。フルーツガードWDGは輪紋病の主要な感染時期の使用は注意が必要と考えられる。

表17 供試薬剤のリンゴ輪紋病に対する防除効果

| 供試薬剤       | 希釈倍数  | 樹上調査  |         |      | 貯蔵調査 |           |      |
|------------|-------|-------|---------|------|------|-----------|------|
|            |       | 調査果数  | 発病果率(%) | 防除価  | 調査果数 | 累積発病果率(%) | 防除価  |
| ビオネクト      | 1,000 | 85.3  | 3.7     | 88.6 | 50.0 | 5.5       | 84.7 |
| ツインバリアー水和剤 | 1,000 | 186.0 | 0.9     | 97.2 | 50.0 | 1.3       | 96.4 |
| フルーツガードWDG | 1,000 | 133.7 | 7.6     | 76.6 | 50.0 | 11.3      | 68.6 |
| オキシラン水和剤   | 500   | 103.0 | 1.8     | 94.5 | 50.0 | 0         | 100  |
| 無処理        | —     | 219.7 | 32.5    |      | 50.0 | 36.0      |      |

注) 表中の数値は3反復の平均値。

調査方法: 令和2年11月13日~19日に各区全果実を収穫し、発病の有無を調査して発病果率を算出した。調査日以前に樹上で発病した果実は随時摘除し、収穫時調査に含めた。また、収穫後、外観上健全な果実を各区50果任意に選び、コンテナに入れて25℃で10日間貯蔵して発病数を調査し、累積発病果率を算出した。防除価は樹上及び貯蔵後の発病果率の平均値からそれぞれ求めた。

防除価を求める式:  $\text{防除価} = 100 - (\text{処理区の発病果率} / \text{無処理区の発病果率}) \times 100$

(様式 1)

(2) すず点病、すず斑病に対する効果 (表 18)

無処理区におけるすず点病の発生は 6.6%、すず斑病の発生は 67.2%と、すず点病は少発生条件下、すず斑病は多発生条件下の試験となった。対照薬剤のオキシラン水和剤の防除価は、すず点病、すず斑病の両病害に対して 100 と高い防除効果であった。

各供試薬剤ともすず点病、すず斑病に対して対照のオキシラン水和剤と同等の高い防除効果が認められた。

表 18 供試薬剤のリンゴすず点病、すず斑病に対する防除効果

| 供試薬剤       | 希積<br>倍数 | 調査<br>果数 | すず点病     |            |     | すず斑病     |            |      |
|------------|----------|----------|----------|------------|-----|----------|------------|------|
|            |          |          | 発病<br>果数 | 発病率<br>(%) | 防除価 | 発病<br>果数 | 発病率<br>(%) | 防除価  |
| ビオネクト      | 1,000    | 84.7     | 0        | 0          | 100 | 0        | 0          | 100  |
| ツインバリアー水和剤 | 1,000    | 185.3    | 0        | 0          | 100 | 0.3      | 0.2        | 99.7 |
| フルーツガードWDG | 1,000    | 131.0    | 0        | 0          | 100 | 0.3      | 0.3        | 99.6 |
| オキシラン水和剤   | 500      | 102.7    | 0        | 0          | 100 | 0        | 0          | 100  |
| 無処理        | —        | 172.7    | 10.3     | 6.6        |     | 113.7    | 67.2       |      |

注) 表中の数値は 3 反復の平均値。

調査方法: 令和 2 年 11 月 13 日～19 日に各区全果実を収穫し、すず点病とすず斑病の発病の有無を調査して、それぞれ発病率を算出した。防除価は発病率の平均値から求めた (算出式は表 17 と同じ)。

(3) 炭疽病に対する効果 (表 19)

調査時の無処理区における発病率は、樹上調査で 73.3%と多発生、貯蔵調査で 22.1%と中発生条件下の試験となった。対照薬剤のオキシラン水和剤の防除価は、樹上調査で 88.8、貯蔵調査で 91.8 であり、高い防除効果であった。

ビオネクト、ツインバリアー水和剤は対照のオキシラン水和剤と比較して劣り、貯蔵調査では同等であった。フルーツガード WDG は対照のオキシラン水和剤と比較して、樹上調査、貯蔵調査とも劣った。いずれの薬剤もさらに試験データを蓄積する必要がある。

表 19 供試薬剤のリンゴ炭疽病に対する防除効果

| 供試薬剤        | 希積<br>倍数 | 樹上調査     |            |      | 貯蔵調査     |              |      |
|-------------|----------|----------|------------|------|----------|--------------|------|
|             |          | 調査<br>果数 | 発病率<br>(%) | 防除価  | 調査<br>果数 | 累積発病率<br>(%) | 防除価  |
| ビオネクト       | 1,000    | 152.0    | 23.1       | 68.5 | 50.0     | 7.3          | 90.0 |
| ツインバリアー水和剤  | 1,000    | 167.3    | 17.4       | 76.3 | 50.0     | 8.0          | 89.1 |
| フルーツガード WDG | 1,000    | 128.3    | 23.6       | 67.8 | 44.7     | 17.8         | 75.7 |
| オキシラン水和剤    | 500      | 140.7    | 8.2        | 88.8 | 50.0     | 6.0          | 91.8 |
| 無処理         | —        | 125.3    | 73.3       |      | 25.0     | 22.1         |      |

注) 表中の数値は 3 反復の平均値。

調査方法: 令和 2 年 11 月 12 日、13 日に各区全果実を収穫し、発病の有無を調査して発病率を算出した。調査日以前に樹上で発病した果実は随時摘除し、収穫時調査に含めた。また、収穫後、外観上健全な全ての果実をコンテナに入れて 25℃で 21 日間貯蔵して発病数を調査し、累積発病率を算出した。防除価は樹上及び貯蔵後の発病率の平均値からそれぞれ求めた (算出式は表 17 と同じ)。

(様式1)

4) 薬害、汚れ (表20)

いずれの薬剤も葉及び果実に対する薬害は認められなかった。

本試験の散布において、ツインバリアー水和剤では実用上問題となる程度の汚れの発生は認められなかった。バイオネクト及びフルーツガードWDGでは一部の果実に実用上問題となる程度の汚れの発生が認められた。

表20 供試薬剤のりんごに対する薬害、果実への汚れの発生状況

| 供試薬剤       | 希釈倍数  | 薬害                        |   | 汚れ    |
|------------|-------|---------------------------|---|-------|
|            |       | 7/8, 7/23, 8/6, 8/20, 9/2 | 葉 | 果実    |
| バイオネクト     | 1,000 | —                         | — | (±~+) |
| ツインバリアー水和剤 | 1,000 | —                         | — | (±)   |
| フルーツガードWDG | 1,000 | —                         | — | (±~+) |
| オキシラン水和剤   | 500   | —                         | — | (+)   |
| 無処理        | —     | —                         | — | (-~±) |

調査方法：薬害は、葉と果実を対象に表中に示す各時期に肉眼により観察し、薬害症状の有無を以下の内容で観察した。

また、収穫時には果実における薬液による汚れの発生程度を以下の内容で観察した。

薬害 —：薬害を認めない。+：軽微な薬害症状を認める。++：中程度の薬害症状を認める。

+++：重度の薬害症状を認める。

汚れ —：発生なし。±：発生が認められるが実用上問題ない程度。+：発生が認められ実用上問題がある

5. 子のう孢子飛散量を軽減する技術の開発

(1) 落葉時期と子のう孢子の飛散量 (表21、22)

黒星病、褐斑病とも、全ての時期の落葉から子のう孢子の飛散が認められたが、両病害とも10月16日~11月1日、11月1日~11月29日の落葉から、子のう孢子が旺盛に飛散した。落葉量を勘案し、落葉時期別の子のう孢子の飛散割合を算出すると、11月29日までの落葉から、黒星病で全体の96.7%、褐斑病で全体の95.4%の子のう孢子が飛散した。

このことから、すべての葉が落葉する前であっても、12月上旬の落葉処理によって、伝染源密度の低下効果が十分に期待できると考えられた。なお、これらの結果は、昨年度の調査結果と同様であった。

表21 落葉時期別の子のう孢子飛散量 (黒星病)

| 落葉時期       | 落葉量                            |              | 孢子採集器による捕捉数 <sup>a)</sup> |                                      | 推定飛散量 <sup>b)</sup> |              |
|------------|--------------------------------|--------------|---------------------------|--------------------------------------|---------------------|--------------|
|            | A時期別重量<br>(g/4m <sup>2</sup> ) | 時期別割合<br>(%) | B供試落葉量<br>(g)             | C総捕捉孢子数<br>(個/18×18mm <sup>2</sup> ) | D総飛散量<br>(個/落葉全体)   | 時期別割合<br>(%) |
| ~10/16     | 149.6                          | 16.6         | 50                        | 89                                   | 260                 | 12.7         |
| 10/16~11/1 | 86.8                           | 9.6          | 50                        | 270                                  | 469                 | 22.9         |
| 11/1~11/29 | 348.1                          | 38.7         | 50                        | 180                                  | 1,253               | 61.1         |
| 11/29~1/9  | 316.0                          | 35.1         | 50                        | 11                                   | 70                  | 3.3          |
| 計          | 900.5                          | 100          |                           |                                      | 2,052               | 100          |

注) 値は2反復の平均値。

a) カバーガラス 18×18 mmの範囲内の子のう孢子捕捉数を算出で調査 (C)

b) 各落葉時期ごとの子のう孢子飛散量を比較するため、落葉量を考慮した総飛散量 (D) を算出した。D=C×A/B

(様式 1)

表 22 落葉時期別の子のう孢子飛散量 (褐斑病)

| 落葉時期       | 落葉量                            |              | 孢子採集器による捕捉数 <sup>a)</sup> |                                      | 推定飛散量 <sup>b)</sup> |              |
|------------|--------------------------------|--------------|---------------------------|--------------------------------------|---------------------|--------------|
|            | A時期別重量<br>(g/4m <sup>2</sup> ) | 時期別割合<br>(%) | B供試落葉量<br>(g)             | C総捕捉孢子数<br>(個/18×18mm <sup>2</sup> ) | D総飛散量<br>(個/落葉全体)   | 時期別割合<br>(%) |
| ～10/16     | 149.6                          | 16.6         | 50                        | 1,639                                | 4,904               | 7.7          |
| 10/16～11/1 | 86.8                           | 9.6          | 50                        | 4,476                                | 7,770               | 12.2         |
| 11/1～11/29 | 348.1                          | 38.7         | 50                        | 6,917                                | 48,156              | 75.5         |
| 11/29～1/9  | 316.0                          | 35.1         | 50                        | 461                                  | 2,914               | 4.6          |
| 計          | 900.5                          | 100          |                           |                                      | 63,744              | 100          |

(2) 乗用草刈り機を用いた被害落葉の粉碎処理による発病抑制効果

ア 試験区の構成と圃場内での配置

試験区の構成、圃場内での試験区の配置は表 23、図 2 のとおりとした。

表 23 試験区の構成

| 試験区 | 処理時期・内容                   |                    |                           |                         |
|-----|---------------------------|--------------------|---------------------------|-------------------------|
|     | 令和元年 12 月 5、6 日           |                    |                           | 令和 2 年 3 月 18 日、4 月 8 日 |
|     | 樹冠下の落葉のかきだし <sup>a)</sup> | 粉碎処理 <sup>b)</sup> | 処理後の落葉の持ち出し <sup>c)</sup> | 落葉の持ち出し <sup>d)</sup>   |
| 1   | —                         | ○                  | —                         | —                       |
| 2   | ○                         | ○                  | ○                         | —                       |
| 3   | ○                         | ○                  | ○                         | ○                       |
| 4   | ○                         | ○                  | —                         | —                       |
| 5   | —                         | —                  | —                         | —                       |

注) ほ場 A ではセイヨウナシが栽植された部分も含めて処理を行った

a) 粉碎処理に先立ち、熊手で樹冠下の落葉を列間にかきだした

b) 列間を乗用草刈り機で往復走行した。刈刃の位置は往路では地上約 10 cm、復路では約 5 cm とした

c) 粉碎処理後の落葉を熊手で集め、ほ場外へ持ちだした

d) 熊手で区内の落葉を再度集め、ほ場外へ持ちだした

図 2 試験ほ場における試験区の配置

|      |       |       |       |       |       |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|
| ほ場 A | 試験区 1 | 試験区 4 | 試験区 3 | 試験区 2 | 試験区 5 |
| ほ場 B | 試験区 5 | 試験区 2 | 試験区 1 | 試験区 3 | 試験区 4 |

イ 子のう孢子飛散に対する効果

約 1 m×50 cm の区画から採取した被害落葉 500 g から調査期間中に捕捉された子のう孢子数は、被害落葉を粉碎した区で平均 574.0 個、粉碎しなかった区で平均 2805.0 個であった (表 24)。区画に含まれた全落葉からの推定飛散量も、被害落葉を粉碎した区で少なく、粉碎しなかった区の約 8 割減となった。飛散消長のパターンは両区で同様の傾向であった (図 3)。

(様式1)

表24 粉碎処理した被害落葉からのリンゴ黒星病菌子のう胞子の飛散状況

| 落葉処理 | 反復<br>(場所) | 全重<br>(落葉+雑草、g) | 孢子採集器による捕捉数 |             | 推定飛散量            |
|------|------------|-----------------|-------------|-------------|------------------|
|      |            |                 | 供試量<br>(g)  | 総捕捉数<br>(個) | 総飛散量<br>(個/落葉全体) |
| 粉碎あり | I          | 900             | 500         | 300         | 540              |
|      | II         | 650             | 500         | 848         | 1102             |
|      | 平均         |                 |             | 574.0       | 821.0            |
| 粉碎なし | I          | 1,000           | 500         | 4457        | 8914             |
|      | II         | 700             | 500         | 1153        | 1614             |
|      | 平均         |                 |             | 2805.0      | 5264.0           |

注) スライドグラス 18mm×18mmの範囲に捕捉された子のう胞子数

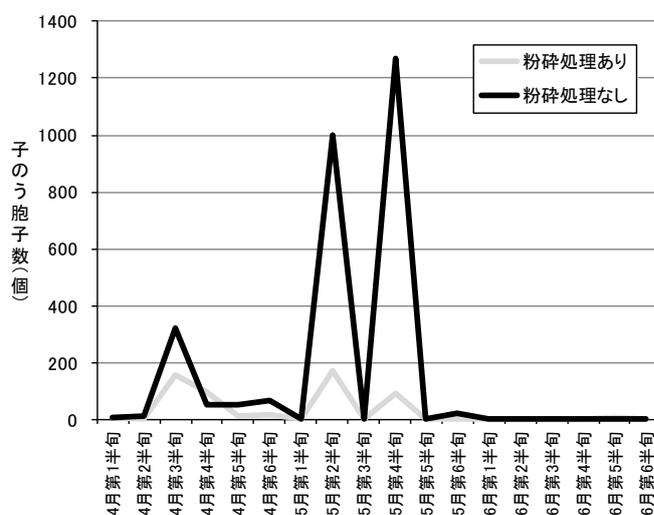


図3 被害落葉からのリンゴ黒星病菌子のう胞子の飛散消長 (半旬別、被害落葉 500gあたり)

ウ 発病抑制効果 (表 25、26)

試験開始前の黒星病の発生は、ほ場A、Bとも一部の試験区で発生量が多かったが、概ね同程度であった。令和2年6月10日調査で、ほ場Aでは被害落葉処理を行わなかった無処理区(試験区5)での発生が果そう、新梢葉ともに最も少ない結果となった。ほ場Bの果そう調査では、被害落葉処理を行った区(試験区1~4)での発生は無処理区(試験区5)と比較して少なく、樹冠下の落葉をかきだして粉碎処理を行った試験区2~4でより効果が高い傾向であった。しかし、新梢葉調査では、粉碎処理を行った各区と無処理区の発病の差は認められなかった。

子のう胞子の飛散は、被害落葉の粉碎処理によって減少したが、黒星病の発生は、試験ほ場間、調査部位間で結果が異なり、効果は判然としなかった。

(様式1)

表25 各試験区におけるリンゴ黒星病の発生状況 (ほ場A)

| 試験区 | 2019年11月25日調査 (処理前) |          | 2020年6月10日調査 |       |          |
|-----|---------------------|----------|--------------|-------|----------|
|     | 調査葉数                | 発病葉率 (%) | 果そう          | 新梢葉   |          |
|     |                     |          | 発病果そう率 (%)   | 調査葉数  | 発病葉率 (%) |
| 1   | 132.0               | 31.6     | 10.0         | 247.5 | 9.2      |
| 2   | 135.5               | 26.6     | 11.0         | 296.5 | 10.2     |
| 3   | 133.5               | 28.1     | 15.0         | 268.0 | 13.5     |
| 4   | 135.0               | 25.2     | 11.0         | 213.0 | 16.6     |
| 5   | 134.0               | 22.3     | 4.0          | 242.0 | 9.0      |

注) 表中の値は2または3ヵ所の平均値

表26 各試験区におけるリンゴ黒星病の発生状況 (ほ場B)

| 試験区 | 2019年11月25日調査 (処理前) |          | 2020年6月10日調査 |       |          |
|-----|---------------------|----------|--------------|-------|----------|
|     | 調査葉数                | 発病葉率 (%) | 果そう          | 新梢葉   |          |
|     |                     |          | 発病果そう率 (%)   | 調査葉数  | 発病葉率 (%) |
| 1   | 134.3               | 47.6     | 12.0         | 276.0 | 14.7     |
| 2   | 140.3               | 23.2     | 5.3          | 322.3 | 12.7     |
| 3   | 128.3               | 25.4     | 8.0          | 266.3 | 10.3     |
| 4   | 140.3               | 20.6     | 0            | 278.3 | 4.5      |
| 5   | 138.3               | 23.7     | 21.3         | 308.0 | 10.2     |

注) 表中の値は2または3ヵ所の平均値

#### 4. 考察

DMI 剤を使用しない、あるいは使用回数を減らした防除体系の有効性が確認できた。また、展葉～開花前までの防除における効果的な防除タイミングが明らかになった。DMI 剤代替剤として有望なSDHI 剤の新規剤カナメフロアブル及び新規系統のミギワ20フロアブル等について、黒星病に対する作用性 (治療効果の種類と効果の程度)、赤星病に対する防除効果が明らかになり、今後の防除体系構築の一助になる根拠が得られた。

昨年度の結果同様、12月以降の落葉からは、黒星病菌の子のう胞子の飛散量が少ないことが確認されたが、現地圃場で実施した乗用草刈り機による前年12月の落葉処理では、黒星病の発生抑制効果は判然としなかった。

#### 5. 今後の課題

DMI 剤代替剤の赤星病に対する効果、作用性 (治療効果の程度や浸透移行)、防除適期についてさらに検討を積み重ねる必要がある。また、完全落葉前 (降雪前) の落葉処理による発生抑制効果について検証する必要がある。

#### 6. 要約

DMI 剤を使用しない、あるいは使用回数を減らした防除体系は、黒星病をはじめとした春季主要病害に対する防除効果が高く、実用性が高いと考えられた。DMI 剤代替剤として有望な新

(様式1)

規SDHI剤のカナメフロアブル、新規系統のミギワ20フロアブルは、黒星病の感染後の処理で病斑形成を阻害する治療効果が認められたが、病斑上の孢子形成を阻害する効果はなかった。また、カナメフロアブルは赤星病に対しても治療効果を有すると考えられ、落花期の1回処理で実用的な防除効果が得られた。

長野県において、12月以降の落葉からは黒星病菌と褐斑病菌の子のう孢子飛散量が少なかった。乗用草刈り機による被害落葉の粉碎処理は、黒星病菌の子のう孢子の飛散量を8割程度抑制したが、圃場での発病は顕著な差が認められなかった。

## 7. 成果の公表及び特許

生産現場への防除指導に活用する。

(様式1)

病害虫の効率的防除体制の再編委託事業

東北ブロック：「DMI 剤感受性低下菌対策を主眼としたリンゴ黒星病防除体系の確立」

## DMI 剤感受性低下リンゴ黒星病菌の遺伝子診断技術の確立

氏名

佐々木 厚子\*・須崎 浩一

所属 国研) 農研機構果樹茶業研究部門リンゴ研究領域

[〒020-0123 岩手県盛岡市下厨川字鍋屋敷 92-24]

### 1. 調査背景と目的

近年、青森県をはじめとするリンゴ生産地域においてリンゴ黒星病が多発し、大きな問題となっている。多発要因の一つとして、DMI 剤に対する感受性が低下したリンゴ黒星病菌が生産地域に広がりつつあることが挙げられる。さらに DMI 剤に加え、Qol 剤に対する感受性も低下した複合低感受性菌の発生も認められている。

これまでに、リンゴ黒星病菌の DMI 剤標的遺伝子である CYP51A1 の 133 番目のアミノ酸置換を伴う塩基置換(Y133F)が DMI 剤感受性の低下に関わることが明らかになっている。また、Qol 剤においては、標的遺伝子シトクローム b(Cytb)の 143 番目のアミノ酸置換を伴う 1 塩基置換(G143A)が感受性低下に関わることが報告されている。これらの塩基置換の有無を識別する遺伝子診断法は、CYP51A1 では Yaegashi et al. (2020)によるアリル特異的 PCR、CytbG143A については Fontaine et al. (2008)によるプライマーを用いた PCR-RFLP を行われている。これらの遺伝子を検出するには罹病組織あるいは培養した菌体からの DNA の抽出が必要である。また CytbG143A はさらに PCR 後の制限酵素処理が必要で手間とコストがかかる。そこで本課題では、CYP51A1 の Y133F および Cytb の G143A を罹病要や果実、培養したコロニーから菌の DNA の抽出を行わず PCR のみで検出するように手法を簡便化する。

### 2. 調査方法

- 1) PrepMan™ Ultra Sample Preparation Reagent (ThermoFischer Scientific) (以下 PrepMan) をテンプレート作成に使用し、条件を検討した。
- 2) PCR 反応は KOD FX Neo (TOYOBO) を使用し、プライマー、条件について検討した。ポジティブコントロール(PC)としては ARI16Vi7(CYP51A1: 野生型、Cytb: 野生型)、ARI16Vi9(CYP51A1:変異型、Cytb: 変異型)の菌糸を用いた。

### 3. 調査結果

- 1) 葉あるいは果実の病斑をテンプレートとする場合は PCR チューブに PrepMan20µl をあらかじめ分注し、そこから 7µl 程度をチップで取って病斑上で何度かこすりながらピペティングして菌糸や分生子を懸濁し、チューブに戻すことで調製できた。葉の感染があまりない場合や、病斑

(様式 1)

が古い場合は、病斑を実体顕微鏡で確認しながら菌を回収した。PDA 等で培養したコロニーの場合は虫ピンで菌をわずかにかき取り、20 $\mu$ l PrepMan を分注した PCR チューブに落とし込んだ。コロニーからかき取る菌の量は差があっても問題はなかった (データ省略)。これらをマニュアル通り PCR 装置で 99 $^{\circ}$ C 10 分加熱したものをテンプレートとして使用可能であった。

- 2) CYP51A1 では Yaegashi et al. (2020) のプライマーをそのまま用いた。Cytb G143A では Fontaine et al. (2008) が構築した変異型遺伝子検出プライマーに加え、野生型遺伝子を検出するプライマーを構築したが、野生型の配列そのままでは変異型とも反応してしまったことから、もともとの配列の 3' 側から 2 番目の配列を T に変更したプライマー G143MMT (GGTTTGTGATGACAGTTGCTC : アンダーラインが変更部、太字が野生型と変異型で差のある塩基) を作成した。PCR 反応は KOD FX Neo を使用し、マニュアル通りの組成で 10 $\mu$ l の系で行った (表 1)。PCR 条件はアニーリング温度が CYP51A1 では 58 $^{\circ}$ C、Cytb では 62 $^{\circ}$ C、伸長反応時間は両遺伝子ともに 30 秒、サイクル数は 30 回で行った (表 2)。この方法で、CYP51A1 は病斑、コロニーから遺伝子の直接検出が可能であった。Cytb は病斑については検出を行っていないが、コロニーから直接検出が可能であった (図 1、2)。病斑からの検出でシグナルが弱い場合は PCR のサイクル数を 35 回まで増やして検出できるが、その場合 PC の野生型と変異型両方が反応してしまうので、PC テンプレートの希釈が必要であった。なお、本法は病斑から DNA を抽出したテンプレート (リンゴの DNA を含む状態) では非特異が多く使用できなかった。
- 3) コストの計算を行ったところ (プライマーと電気泳動関係は共通なのでコストに入れずに計算)、従来法の MagExtractor Plant Genome で抽出し、EXtaq (20 $\mu$ l の系) で検出した場合、1 サンプルあたり約¥360、PrepMan で抽出し、KOD FX Neo (10 $\mu$ l の系) で検出した場合、1 サンプルあたり約¥98 だった (表 3)。

#### 4. 考察

本法は従来よりも安価であり、DNA の抽出や制限酵素処理にかかるコストと時間が省略できる。特にコロニーの場合は、液体 or セロファン上で DNA 抽出用の菌を培養する時間が省略できる。特殊な装置や試薬は必要ないので、様々な機関で利用可能である。

#### 5. 今後の課題

病斑から直接 Qol 剤耐性菌の検出を行う。

#### 6. 要約

リンゴ黒星病菌の DMI 剤と Qol 剤感受性低下に関わる CYP51A1 遺伝子および Cytb 遺伝子の塩基置換の有無を DNA の抽出をせず病斑やコロニー上の菌をテンプレートとして PCR で検定できる系を作成した。

#### 7. 成果の公表及び特許

(様式1)

なし。

※プロジェクト参画機関の間で別添の詳細プロトコルを共有する。

表 1. PCR 反応液の組成

|                                      |             |                                 |
|--------------------------------------|-------------|---------------------------------|
| テンプレート (PrepMan+菌)                   | 1 $\mu$ l   | ※注. プライマーは                      |
| 2 $\times$ PCR Buffer for KOD FX Neo | 5 $\mu$ l   | CYP51A1 の場合、                    |
| dNTP Mixture                         | 2 $\mu$ l   | FW: AJ250 (野生型) または AJ251 (変異型) |
| 10pmol/ $\mu$ l FW※                  | 0.3 $\mu$ l | RV: Vlcyp1242(-)                |
| 10pmol/ $\mu$ l RV※                  | 0.3 $\mu$ l | Cytb の場合、                       |
| KOD FX Neo                           | 0.2 $\mu$ l | FW: PS1                         |
| D.W.                                 | 1.2 $\mu$ l | RV:G143MMT (野生型) または G143AMM1   |
| 合計                                   | 10 $\mu$ l  | (変異型)                           |

参考 : PS1: GTTACAGCCTTCCTGGGTTAT、G143AMM1: GGTTTGTGATGACAGTTGCTG

表 2. PCR 反応サイクル

|      |      |       |       |                    |
|------|------|-------|-------|--------------------|
| 変性   | 94°C | 2min  | } ×30 | ※注. アニール温度は        |
| 変性   | 98°C | 10sec |       | CYP51A1 の場合 : 58°C |
| アニール | ※°C  | 30sec |       | Cytb の場合 : 62°C    |
| 伸長   | 68°C | 30sec |       |                    |
| 終了   | 20°C | ∞     |       |                    |

表 3. コスト比較 (価格は税込み)

| テンプレート作成  | PCR (野生型と変異型の 2 回分)  | 計    |
|---|--|------|
| PrepMan ¥20,790、20ml<br>1 サンプルに 20 $\mu$ l 使用なので、1,000 回分。<br>約¥21/ 1 サンプル  | KOD FX Neo ¥38,500、酵素 200 $\mu$ l<br>1 反応に 0.2 $\mu$ l 使用なので、1,000 回分。<br>¥38,5/ 1 反応 $\times$ 2=¥77/ 1 サンプル | ¥98  |
| Mag Extractor Plant Genome<br>溶解液 (40ml) の使用量から換算すると、改<br>変プロトコルに従い、半分に希釈し、1 サ<br>ンプル当たり 250 $\mu$ l 使用すると 320 回分。<br>¥96.2/ 1 サンプル | Ex Taq ¥33,000、酵素 50 $\mu$ l<br>1 反応に 0.2 $\mu$ l 使用なので、250 回分。<br>¥132/ 1 反応 $\times$ 2=¥264/ 1 サンプル        | ¥360 |

(様式1)

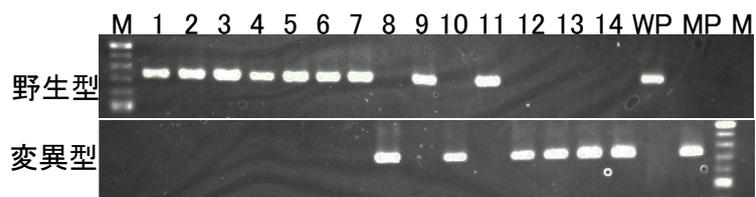


図1.DMI 剤耐性遺伝子の検出例

テンプレートはコロニーを使用。レーン 8、10、12~14 が変異型。WP は野生型ポジコン、MP は変異型ポジコン。

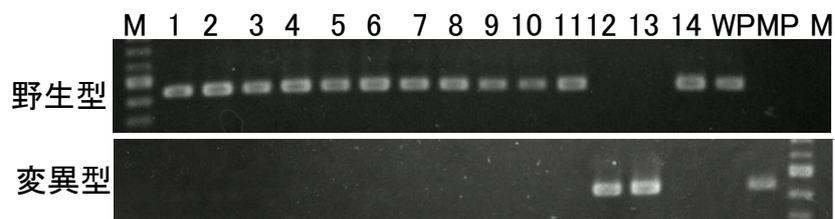


図2.QoI 剤耐性遺伝子の検出例

テンプレートはコロニーを使用。レーン 12、13 が変異型。WP は野生型ポジコン、MP は変異型ポジコン。

(様式 1)

病害虫の効率的防除体制の再編委託事業

## 減農薬栽培に対応した水稻の種子伝染性病害に対する防除体系の確立 (1) ばか苗病の人工培土による防除技術の実証

太田光祐・芦澤武人

農研機構中央農業研究センター

[〒305-8666 茨城県つくば市観音台2-1-18]

### 1. 調査背景と目的

水稻の種子伝染性病害の防除技術を確立するには、種子での病原菌の汚染実態や発病リスクを予め把握することが重要であるため、病原菌を簡易、かつ高感度に検出できる技術の整備が必要となる。近年、温湯処理などを用いた減農薬栽培の普及に伴い、ばか苗病、もみ枯細菌病、いもち病などの種子伝染性病害の被害が全国的に問題になっている。そこで、これらの病害を対象として、既往の研究報告を参考に PCR 法や選択培地を用いた原因菌の検出・診断技術の実用性を調査する。実用性が確認できた手法については、本田での病害診断や種子での検出に利用する際の作業手順を取りまとめる。また、検出法の調査を効率的に進めるため、参画機関より提供された試験材料を用いて試験を実施する。本事業で防除試験の有効性を評価する際にも活用する。

### 2. 調査方法

#### 1) ばか苗病の発病に及ぼす資材の影響

コシヒカリの自然感染籾 (2018 年産、2019 年産、長野農試より分譲) を催芽させ、鳩胸状態の種子を選び、資材 A を塗抹した。これを直径 10cm のポリポットの下層にボンソル 2 号、上層に無肥料焼土を容積 1:2 の比で詰めて播種した。これを無肥料焼土で覆土し、25°C の温室で管理した。播種日より 2 日後に生育調節剤のウニコナゾール P の 500 倍希釈液を灌注し、2 週間後にばか苗病の発病の有無を調査した (3 反復)。なお、2018 年産種子については、分譲時期の違いにより 2018\_1、2018\_2 の 2 つに試験区を分けた。

#### 2) 簡易選択培地を用いたばか苗病菌の検出

上記の試験で発病の有無を調査した後、資材 A 処理区から無病徴株を、無処理区から発病株を 1 反復につき 30 株ずつ選んだ。籾から葉鞘基部までを切り取り、70% エタノールで 10 秒間浸漬して表面殺菌し、滅菌蒸留水で 3 回洗浄した後、フザリウム簡易選択培地に置床した。これを室温で 4 日間培養後、顕鏡によりばか苗病菌コロニーの有無を確認した。

### 3. 調査結果

- 1) 資材 A の塗抹処理により、幼苗期のばか苗病の発病株数が減少した (図 1、表 1)。
- 2) 資材 A 処理区の無病徴株、無処理区の発病株ともにばか苗病菌が検出された (図 2、表 2)。

(様式 1)

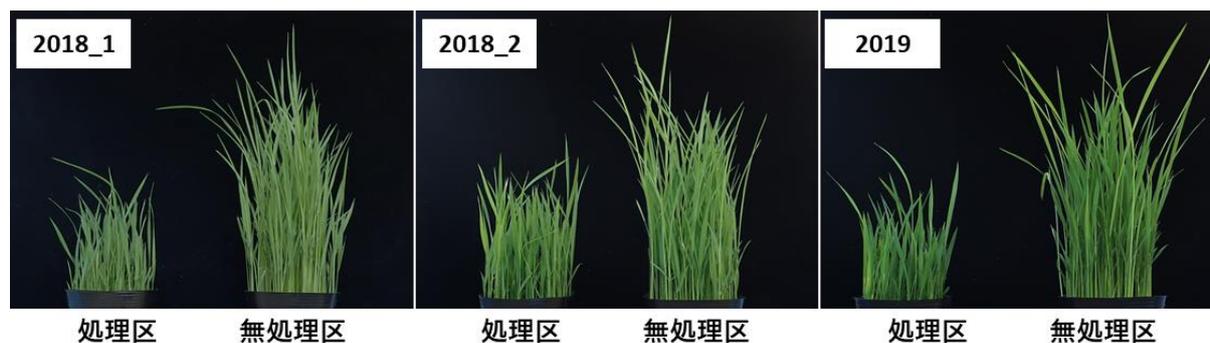


図 1 資材 A の種子塗抹処理による草丈への影響

表 1 資材 A の種子塗抹処理によるばか苗病の発病への影響

| 種子ロット  | 処理区      |           |           | 無処理区       |           |            |
|--------|----------|-----------|-----------|------------|-----------|------------|
|        | 発病株数     | 無病徴株数     | 全株数       | 発病株数       | 無病徴株数     | 全株数        |
| 2018_1 | 13.7±2.1 | 122.3±7.0 | 136.0±7.9 | 143.7±23.6 | 21.3±12.3 | 165.0±11.5 |
| 2018_2 | 26.3±3.2 | 94.7±5.1  | 121.0±2.6 | 144.3±7.2  | 21.7±6.4  | 166.0±1.0  |
| 2019   | 15.3±8.3 | 96.3±3.8  | 111.7±6.8 | 146.0±8.9  | 7.7±3.5   | 153.7±8.5  |

各数値は3反復の平均値±標準偏差



図 2 フザリウム簡易選抜培地上のばか苗病菌コロニーとガラス棒で掻き取り顕鏡した小型分生子

表 2 資材 A 処理区と無処理区のばか苗病菌検出数

| 種子ロット  | 処理区                |      | 無処理区               |      |
|--------|--------------------|------|--------------------|------|
|        | 検出株数 <sup>1)</sup> | 調査株数 | 検出株数 <sup>1)</sup> | 調査株数 |
| 2018_1 | 29.7±0.6           | 30   | 30±0               | 30   |
| 2018_2 | 30±0               | 30   | 30±0               | 30   |
| 2019   | 30±0               | 30   | 30±0               | 30   |

1) 各数値は3反復の平均値±標準偏差

#### 4. 考察

資材 A の種子塗抹処理により発病が抑制されていると考えられるが、選抜培地でのばか苗病菌の検出数に大きな差は無く、詳細な作用機作を明らかにする必要があると考えられる。また、資材 A の発病抑制効果を高めつつ、発芽率に影響しない最適な処理量・処理方法を検討する必要があるこ

(様式 1)

とが示唆された。

## 5. 今後の課題

資材 A の最適処理量や処理方法を検討する必要がある。資材 A の菌体とイネ体双方に対する影響を評価する必要がある。

## 6. 要約

資材 A は、ばか苗病の発病を抑制することが育苗の模擬試験で明らかになった。また、資材 A により発病が抑制されている株からもばか苗病菌は検出された。

## 7. 成果の公表及び特許

日本植物病理学会で発表予定。

(様式1)

病害虫の効率的防除体制の再編委託事業

## 減農薬栽培に対応した水稻の種子伝染性病害に対する防除体系の確立（2） ～飼料用水稻における温湯種子消毒技術の実証～

島田峻・西宮智美

茨城県農業総合センター農業研究所

[〒311-4203 茨城県水戸市上国井町 3402]

### 1. 調査背景と目的

近年、水稻栽培においては、温湯処理による種子消毒の普及に伴い、ばか苗病をはじめとした種子伝染性病害の被害が各地で問題となっている。温湯処理は、化学合成剤に比べて種子伝染性病害に対する防除効果がやや劣るが、減農薬栽培を推進する上では不可欠な技術に位置づけられる。そこで、温湯処理を含む既存の種子消毒技術を組み合わせた体系防除技術の有効性を実証するとともに、新たに効果の高い防除資材を活用し、減農薬栽培に対応した種子伝染性病害の防除技術を開発する。実証試験で効果が確認できた防除技術については、当該地域（県）が制作する防除指針へ掲載する。

### 2. 調査方法

#### 1) 県内の主要な飼料用イネ品種等における温湯処理条件の解明

(1) 試験場所：農業研究所内（水戸市）およびガラスハウス

(2) 供試品種：「月の光（R1年産）」、「夢あおぼ（R1年産）」、「あさひの夢（R1年産）」、「コシヒカリ（R1年産、参考品種）」

(3) 試験区： $\left( \begin{array}{c} \text{事前乾燥} \\ \text{あり、なし} \end{array} \right) \times \left( \begin{array}{c} \text{温湯処理条件} \\ 60^{\circ}\text{C}10\text{分、}60^{\circ}\text{C}15\text{分、}65^{\circ}\text{C}10\text{分、無処理} \end{array} \right)$

(4) 試験方法：事前乾燥は、温湯処理前の種子を恒温器の中に静置して40℃で乾燥させ、種子水分を10%未満に調製した。温湯処理は、浴比を1:4とし、ウォーターバスを用いて上記試験区のとおり処理後、ただちに流水で急冷し、風乾させた。

(5) 調査方法：素寒天（0.6%）を流し込んだシャーレに種子を置床して（100粒×3連制/区）30℃で静置し、7日後に芽と根が1cm以上正常に伸長した種子の割合（発芽率）を調査した。また、上記処理済みの種子を15℃で8日間浸種、30℃で24時間催芽後、育苗箱に1処理区あたり500粒播種し（2連制）、30℃で約3日間出芽させた。その後、ガラスハウス内で24日間（4月21日～5月13日）育苗して出芽数を調査した。

(様式1)

## 2) イネばか苗病に対する温湯処理およびMO-1液剤による防除効果の検討

- (1) 試験場所：農業研究所内（水戸市）およびガラスハウス
- (2) 供試品種：「月の光（R1年産）」、「夢あおば（R1年産）」、「あさひの夢（R1年産）」
- (3) 区制・面積：1区あたり育苗箱の1/12大のプラスチックパック 3連制
- (4) 試験区：温湯処理区 60°C10分、60°C15分、65°C10分  
薬剤処理区 MO-1液剤 300倍希釈液 催芽時24時間浸漬  
体系防除区 温湯処理 60°C10分 + MO-1液剤 300倍 催芽時24時間種子浸漬  
温湯処理 60°C15分 + MO-1液剤 300倍 催芽時24時間種子浸漬  
温湯処理 65°C10分 + MO-1液剤 300倍 催芽時24時間種子浸漬  
対照区 銅・フルジオキシニル・ペフラゾエート水和剤  
200倍希釈液 浸種前24時間種子浸漬  
無処理区
- (5) 試験方法：イネばか苗病菌保菌種子（保菌種子率20%）を15°Cで6～7日間浸種し、30°Cで24時間催芽後、1パックあたり乾籾重量で約12g播種し、30°Cで3日間出芽させた。ウニコナゾールP液剤20倍希釈液を40ml/パック処理後、ガラスハウス内で約30日間育苗（試験①9月28日～10月29日、試験②11月16日～12月15日）し、出芽および発病調査を行った。なお、試験①は開花期接種種子、試験②は減圧接種種子を供試した。
- (6) 調査項目：出芽率、徒長苗率

## 3) 育苗箱に付着した残土からのイネばか苗病菌の検出

- (1) 試験場所：農業研究所（水戸市）病虫研究室内およびガラスハウス
- (2) 供試品種：「コシヒカリ」
- (3) 試験方法：イネばか苗病菌保菌種子（保菌種子率10%）を育苗箱に播種して育苗後、苗を取り除き、育苗箱に付着した残土を回収した。細根などの植物残渣を取り除き、DNA抽出キット（NucleoSpin Soil）を用いて抽出した鋳型DNAを、イネばか苗病菌同定プライマー（BknF3/BknR4 および Ff-S/Ff-R）を用いてPCRを行い、増幅の有無により判定した。

## 4) 発病苗（徒長苗または枯死苗）の根からのイネばか苗病菌の検出

- (1) 試験場所：農業研究所（水戸市）病虫研究室内およびガラスハウス、中央農研実験室
- (2) 供試品種：「コシヒカリ」、「夢あおば」
- (3) 試験区：健全苗（健全種子のみを播種）、発病苗（保菌種子率20%の種子を播種）
- (4) 試験方法：育苗した苗の根を水道水で洗浄後、10%KOHで10分間処理し、PBS(-)で2回洗浄した。次に、蛍光標識レクチン（フルオレセイン標識コムギ胚芽凝集素）で10分間染色し、PBS(-)で2回洗浄した。そして、TOMEI（東京化成工業株式会社）を

(様式1)

用いて濃度10%10分→30%10分→50%10分→70%10分→100%1時間処理し、オールインワン蛍光顕微鏡(キーエンス社、BZ-X700)で観察した。

また、発病苗を室温で保管し、駒田培地に根のみを置床し、菌糸伸長の有無を経時的に調査するとともに、イネばか苗病菌識別プライマー(BknF3/BknR4 および Ff-S/Ff-R)を用いてダイレクトPCRによる簡易同定を行った。

### 3. 調査結果

#### 1) 県内の主要な飼料用イネ品種等における温湯処理条件の解明(表1、2)

種子水分は各品種ともに事前乾燥前は12~14%程度、事前乾燥後は9%程度であった(データ省略)。

##### 【事前乾燥なしの場合】

- (1) 「月の光」の発芽率は、60°C10分および15分で90%以上(事前乾燥なしの無処理対比97以上)と高かったが、65°C10分では78%(#81)と低かった(表1)。
- (2) 「夢あおば」の発芽率は、60°C10分で90%以上(#100)と高かったが、60°C15分では86.0%(#90)とやや低下し、65°C10分では75.3%(#79)と低かった(表1)。
- (3) 「あさひの夢」の発芽率は、いずれの処理区でも90%以上(#95以上)と高かった(表1)。
- (4) いずれの品種においても、出芽率も同様の傾向が認められた(表2)

##### 【事前乾燥ありの場合】

いずれの品種も事前乾燥により、温湯処理後の発芽率と出芽率が向上する傾向が認められた。

- (1) 「月の光」の発芽率は、60°C10分および15分で90%以上(#99以上)と高かったが、65°C10分では85.3%(#89)とやや低下した(表1)。
- (2) 「夢あおば」の発芽率は、60°C10分で90%以上(#98)と高かったが、60°C15分および65°C10分では85.7~88.3%(#90~92)とやや低下した(表1)。
- (3) 「あさひの夢」の発芽率は、いずれの処理区でも90%以上(#98以上)と高かった(表1)。
- (4) いずれの品種においても、出芽率も同様の傾向が認められた(表2)

(様式1)

表1 各品種に対する事前乾燥が温湯処理後の発芽率(%)に及ぼす影響

| 供試品種       | 事前乾燥<br>の有無 <sup>1)</sup> | 無処理                         | 温湯処理          |              |              |
|------------|---------------------------|-----------------------------|---------------|--------------|--------------|
|            |                           |                             | 60℃           |              | 65℃          |
|            |                           |                             | 10分           | 15分          | 10分          |
| 月の光        | 無                         | 96.3<br>(100) <sup>2)</sup> | 95.7<br>(99)  | 93.3<br>(97) | 78.0<br>(81) |
|            | 有                         | 94.7<br>(98)                | 98.0<br>(102) | 95.3<br>(99) | 85.3<br>(89) |
| 夢あおば       | 無                         | 95.7<br>(100)               | 95.3<br>(100) | 86.0<br>(90) | 75.3<br>(79) |
|            | 有                         | 96.0<br>(100)               | 93.7<br>(98)  | 88.3<br>(92) | 85.7<br>(90) |
| あさひの夢      | 無                         | 99.7<br>(100)               | 98.7<br>(99)  | 99.0<br>(99) | 94.7<br>(95) |
|            | 有                         | 98.3<br>(99)                | 99.7<br>(100) | 97.7<br>(98) | 99.0<br>(99) |
| コシヒカリ (参考) | 無                         | 99.7<br>(100)               | 99.0<br>(99)  | 95.0<br>(95) | 93.0<br>(93) |
|            | 有                         | 99.3<br>(100)               | 100<br>(100)  | 93.0<br>(93) | 93.0<br>(93) |

1) 事前乾燥は温湯処理前の種子を40℃の恒温器内に静置して乾燥させ、種子水分を約9%に調製した。

2) ( )内は無処理(事前乾燥なし)との対比である

表2 各品種に対する事前乾燥が温湯処理後の出芽率(%)に及ぼす影響

| 供試品種       | 事前乾燥<br>の有無 <sup>1)</sup> | 無処理                         | 温湯処理          |               |               |
|------------|---------------------------|-----------------------------|---------------|---------------|---------------|
|            |                           |                             | 60℃           |               | 65℃           |
|            |                           |                             | 10分           | 15分           | 10分           |
| 月の光        | 無                         | 83.5<br>(100) <sup>2)</sup> | 91.1<br>(109) | 85.2<br>(102) | 71.5<br>(86)  |
|            | 有                         | 84.1<br>(101)               | 82.8<br>(99)  | 89.5<br>(107) | 78.0<br>(93)  |
| 夢あおば       | 無                         | 90.2<br>(100)               | 87.1<br>(97)  | 68.6<br>(76)  | 65.4<br>(73)  |
|            | 有                         | 85.9<br>(95)                | 87.3<br>(97)  | 77.9<br>(86)  | 72.1<br>(80)  |
| あさひの夢      | 無                         | 92.4<br>(100)               | 94.6<br>(102) | 96.4<br>(104) | 92.2<br>(100) |
|            | 有                         | 91.2<br>(99)                | 95.8<br>(104) | 97.6<br>(106) | 93.9<br>(102) |
| コシヒカリ (参考) | 無                         | 96.3<br>(100)               | 96.8<br>(101) | 93.4<br>(97)  | 91.5<br>(95)  |
|            | 有                         | 96.1<br>(100)               | 98.2<br>(102) | 93.7<br>(97)  | 86.2<br>(90)  |

1~2)表1と同様

(様式1)

2) イネばか苗病に対する温湯処理およびMO-1液剤による防除効果(表3、4)

- (1) 試験①において、無処理区の徒長苗率は「月の光」および「あさひの夢」は10.9~12.8%と少発生、「夢あおば」は53.7%と甚発生条件下のなか、対照薬剤の銅・フルジオキシニル・ペフラゾエート水和剤区は、「月の光」および「あさひの夢」では高い防除効果が認められたが、「夢あおば」では防除効果はやや低かった(表3)。
- (2) 試験②において、無処理区の徒長苗率は50.4~69.6%であり、いずれの品種においても甚発生条件下のなか、対照薬剤の銅・フルジオキシニル・ペフラゾエート水和剤区は高い防除効果が認められた(表4)
- (3) 温湯処理区は、いずれの処理区でも防除効果が認められた(防除価93.8~100)。特に、65℃10分では防除効果が高かつ安定していたが、著しい出芽率の低下が認められた(表3、4)。
- (4) MO-1液剤区は、試験①の「あさひの夢」において防除効果は認められたが、その程度は低かった(防除価80.5)。また、他の試験区においては防除効果が認められなかった(防除価21.3~61.5)。なお、葉害は認められなかった(表3、4)。
- (5) 温湯処理とMO-1液剤との体系防除区は、いずれも高い防除効果が認められた(防除価94.0~100)。また、温湯処理区のみと比較し、出芽率が向上する傾向が認められた(表3、4)。

表3 イネばか苗病に対する種子消毒による防除効果(試験①:開花期接種種子)

| 試験区                       |        | 「月の光」                |             |      | 「夢あおば」               |             |      | 「あさひの夢」              |             |      |
|---------------------------|--------|----------------------|-------------|------|----------------------|-------------|------|----------------------|-------------|------|
| 温湯処理                      | MO-1液剤 | 対無処理比<br>の出芽率<br>(%) | 徒長苗率<br>(%) | 防除価  | 対無処理比<br>の出芽率<br>(%) | 徒長苗率<br>(%) | 防除価  | 対無処理比<br>の出芽率<br>(%) | 徒長苗率<br>(%) | 防除価  |
| 60℃10分                    | —      | 90                   | 0           | 100  | 108                  | 1.6         | 97.0 | 102                  | 0.8         | 93.8 |
|                           | 有      | 105                  | 0           | 100  | 122                  | 2.8         | 94.8 | 101                  | 0.4         | 96.9 |
| 60℃15分                    | —      | 88                   | 0           | 100  | 103                  | 1.8         | 96.6 | 97                   | 0           | 100  |
|                           | 有      | 95                   | 0           | 100  | 107                  | 3.2         | 94.0 | 98                   | 0.1         | 99.2 |
| 65℃10分                    | —      | 56                   | 0           | 100  | 73                   | 0           | 100  | 70                   | 0           | 100  |
|                           | 有      | 49                   | 0           | 100  | 75                   | 0           | 100  | 78                   | 0           | 100  |
| —                         | 有      | 93                   | 4.2         | 61.5 | 101                  | 27.7        | 48.4 | 101                  | 2.5         | 80.5 |
| 銅・フルジオキシニル<br>・ペフラゾエート水和剤 |        | 111                  | 0           | 100  | 143                  | 6.3         | 88.3 | 108                  | 0           | 100  |
| 無処理                       |        | 100                  | 10.9        | —    | 100                  | 53.7        | —    | 100                  | 12.8        | —    |

注1) 健全種子:開花期接種種子=4:1で実施した。

注2) 試験期間は9月17日(温湯処理後、浸種開始)~10月29日(発病調査)である。

注3) 防除価=(無処理区の徒長苗率-処理区の徒長苗率)/無処理区の徒長苗率×100

(様式1)

表4 イネばか苗病に対する種子消毒による防除効果 (試験②: 減圧接種種子)

| 試験区                       |        | 「月の光」                |             |      | 「あさひの夢」              |             |      | 「夢あおば」               |             |      |
|---------------------------|--------|----------------------|-------------|------|----------------------|-------------|------|----------------------|-------------|------|
| 温湯処理                      | M0-1液剤 | 対無処理比<br>の出芽率<br>(%) | 徒長苗率<br>(%) | 防除価  | 対無処理比<br>の出芽率<br>(%) | 徒長苗率<br>(%) | 防除価  | 対無処理比<br>の出芽率<br>(%) | 徒長苗率<br>(%) | 防除価  |
| 60℃10分                    | —      | 130                  | 0.1         | 99.9 | 126                  | 0.2         | 99.6 | 129                  | 0.7         | 99.0 |
|                           | 有      | 135                  | 0           | 100  | 124                  | 0.2         | 99.6 | 139                  | 2.0         | 97.1 |
| 60℃15分                    | —      | 108                  | 0           | 100  | 120                  | 0           | 100  | 120                  | 0.2         | 99.7 |
|                           | 有      | 124                  | 0           | 100  | 124                  | 0           | 100  | 111                  | 0.3         | 99.6 |
| 65℃10分                    | —      | /                    |             |      | 110                  | 0           | 100  | 105                  | 0           | 100  |
|                           | 有      |                      |             |      | 117                  | 0           | 100  | 108                  | 0.2         | 99.7 |
| —                         | 有      | 108                  | 28.7        | 58.8 | 98                   | 30.2        | 40.1 | 88                   | 53.7        | 21.3 |
| 銅・フルジオキソニル<br>・ペフラゾエート水和剤 |        | 138                  | 0.5         | 99.3 | 128                  | 0           | 100  | 146                  | 0.2         | 99.7 |
| 無処理                       |        | 100                  | 69.6        | —    | 100                  | 50.4        | —    | 100                  | 68.2        | —    |

注1) 健全種子: 減圧接種種子=4:1で実施した。

注2) 試験期間は11月5日(温湯処理後、浸種開始)~12月15日(発病調査)である。

注3) 防除価=(無処理区の徒長苗率-処理区の徒長苗率)/無処理区の徒長苗率×100

### 3) 育苗箱に付着した残土からのイネばか苗病菌の検出

(1) 使用したDNA抽出キットではDNAが抽出されず、残土中の病原菌の有無を明らかにできなかった(データ省略)。

### 4) 発病苗(徒長苗または枯死苗)の根からのイネばか苗病菌の検出

- (1) 健全苗の根には、菌糸がほとんど認められなかった(図1)。
- (2) 徒長苗の根には細い菌糸が認められ、特に枯死苗の根には多くの菌糸が認められた(図1、2)。
- (3) 菌糸は根表面のみでなく、表皮から外皮の細胞間隙にも認められた(図3)。
- (4) 駒田培地上に生育してきた菌糸を簡易同定した結果、根表面上に付着している菌糸はイネばか苗病菌の可能性が高い(図4)。

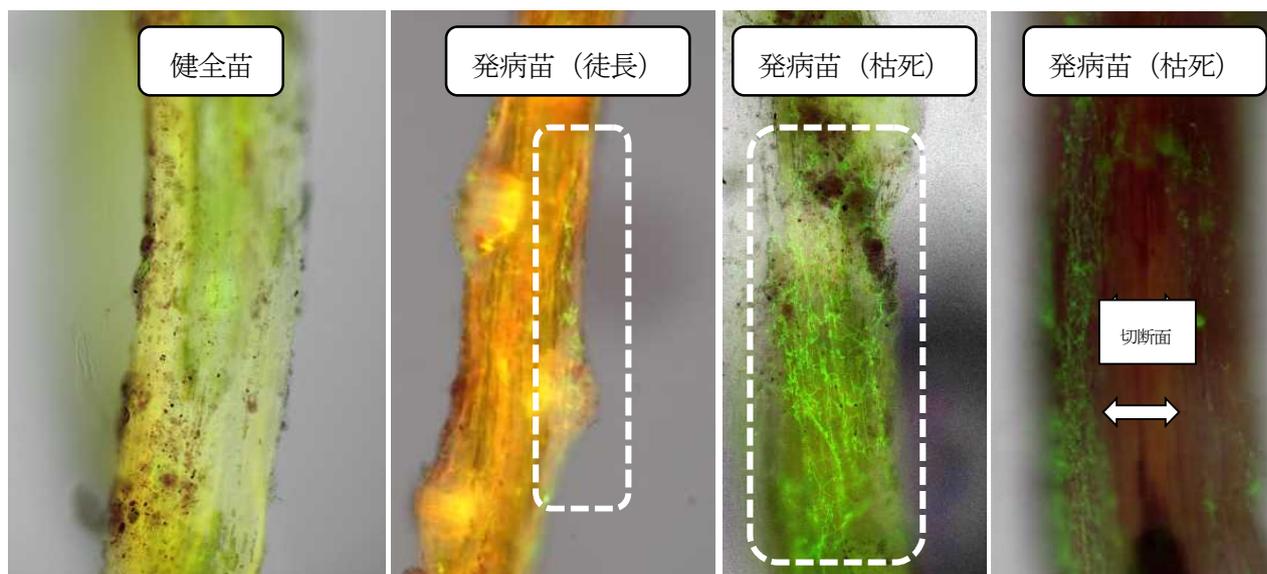


図1 根表面上における菌糸の蛍光観察(コシヒカリ)

(様式1)

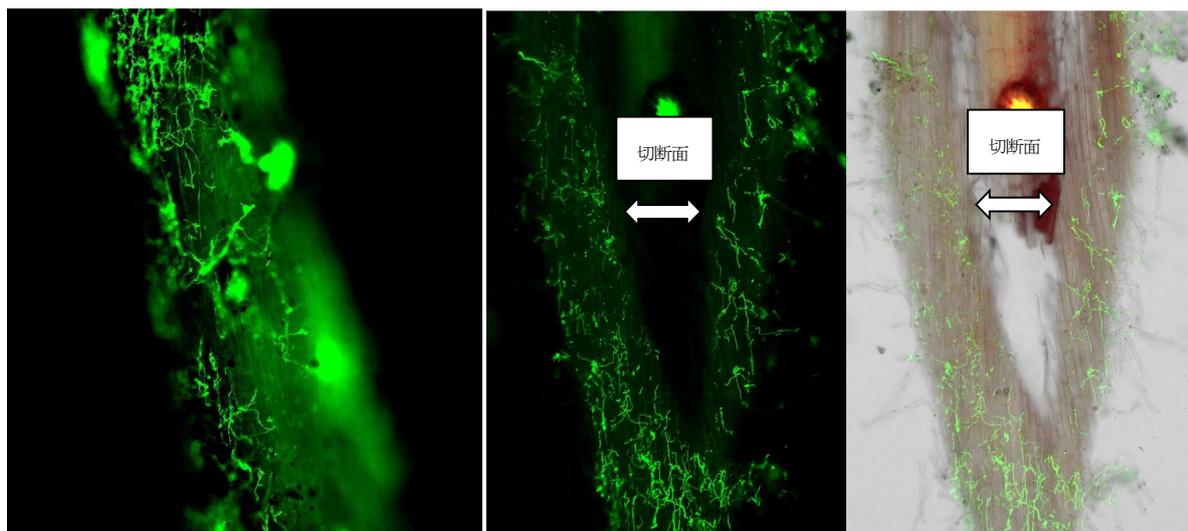


図2 根表面上における菌糸の蛍光観察 (夢あおば)

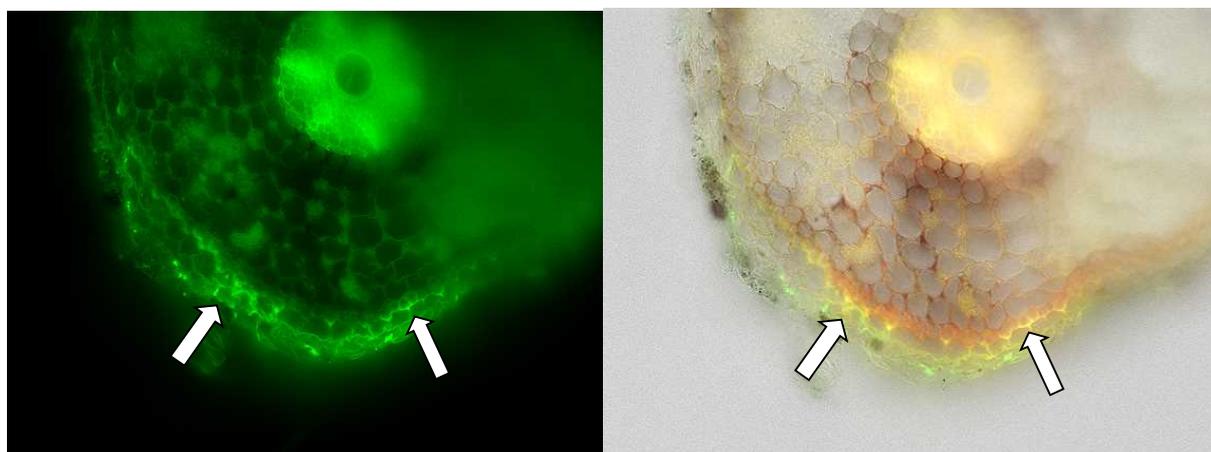


図3 枯死苗の根切片における菌糸の蛍光観察 (コシヒカリ)

注) 白矢印は菌糸が表皮から外皮の細胞間隙に認められている部分を示す



図4 発病苗の根から生育した糸状菌の簡易同定

(左: 駒田培地による菌の分離、右: 識別プライマー (Ff-S/Ff-R) による簡易同定)

(様式1)

#### 4. 考察

1) 茨城県内の主要な飼料用イネ等3品種において、温湯処理条件が60°C10分>60°C15分>65°C10分の順に発芽率等が低下する傾向が認められた。また、事前乾燥により種子水分を10%未満にすることで、いずれの品種においても温湯処理後の発芽率と出芽率が向上する傾向が認められたことから、事前乾燥処理は供試した3品種においても有効であることが明らかとなった。

「月の光」において、本年の結果では60°C15分までなら発芽率90%以上を確保できたが、過去の試験成績をふまえると、60°C10分が適正な温湯処理条件であると考えられた。

「夢あおば」において、本年の結果では60°C10分で発芽率90%以上を確保できたが、60°C15分では86%と低くなった。この要因として、割れ粳が散見されたことから、温湯処理による影響が大きかったためと考えられた。H30年試験では、65°C10分でも発芽率90%以上確保できたが、過去の試験成績をふまえると、60°C10分が適正な温湯処理条件であると考えられた。

「あさひの夢」において、60°C10分および15分、65°C10分処理でも発芽率90%以上を確保でき、過去の試験をふまえても同様の結果であることから、60°C10分および15分、65°C10分が適正な温湯処理条件であると考えられた。

採種年度により温湯処理による発芽率等への影響が異なる可能性があるため、事前に発芽率を確認する必要がある。特に割れ粳が多い場合には、発芽率が低下する恐れがあるので注意する必要がある。

2) イネばか苗病に対する防除効果試験では、前述の適正処理条件での温湯処理は、高い防除効果が認められた。また、出芽率への影響を除いた場合、60°C10分<60°C15分<65°C10分の順に防除効果が安定した。よって、防除効果を安定させるために、より厳しい条件で実施する場合には、事前乾燥処理が有効であると考えられた。

M0-1液剤の防除効果は一部で認められたが、その程度は低く、イネばか苗病に対しては防除効果が不安定であると考えられた。しかし、温湯処理との併用により出芽率の向上が認められ、発病抑制のみでなく副次的な効果もあると考えられた。

3) 発病苗の根には、高率でイネばか苗病菌が確認されたため、育苗箱に残根がある場合は伝染源となる可能性があると考えられた。

#### 5. 今後の課題

1) 育苗箱に付着していた残土からDNA抽出ができなかったため、スキムミルクなどの添加物を併用して再試験する必要がある。

2) 発病苗の残根上でのイネばか苗病菌の生存期間は明らかとなっていないため、今後調査する必要がある。

(様式1)

## 6. 要約

- 1) 各品種の適正な温湯処理条件は、「月の光」および「夢あおば」は60℃10分、「あさひの夢」は60℃10～15分および65℃10分であり、本処理条件におけるイネばか苗病に対する防除効果は高い。
- 2) イネばか苗病発病苗の根には病原菌が寄生し、表皮から外皮の細胞間隙にも認められることから、育苗箱に発病苗の残根がある場合は伝染源となる可能性がある。

## 7. 成果の公表及び特許

- ・茨城県の主要成果（技術情報）「飼料用イネ品種等の適正な温湯処理条件」として公表
- ・茨城県の主要成果（研究）「イネばか苗病発病苗の根には病原菌が寄生している」として公表
- ・当該試験で得られた成果をR4年度病害虫防除指針に記載予定

(様式 1)

## 減農薬栽培に対応した水稻の種子伝染性病害に対する防除体系の確立(3)

(1) 事前乾燥と熱処理強度を高めた温湯処理を組み合わせた防除効果の検証

氏 名：酒井和彦・小巻康平・宮田穂波・植竹恒夫

所 属：埼玉県農業技術研究センター

[〒360-0102 埼玉県熊谷市須賀広 784]

### 1. 調査背景と目的

本事業において、関東・東山ブロックでは減農薬栽培に対応した水稻種子伝染性病害に対する防除技術確立のための調査研究を実施する。埼玉県では「もみ枯細菌病」に対する、減農薬栽培技術に対応した防除体系の確立のための調査研究を行う。

ここでは、採種年次が異なる自然感染種子籾に対する事前乾燥処理と温湯浸漬を組み合わせた防除効果および発芽への影響を明らかにする。事前乾燥処理は、種子籾の水分を 10%未満に低下させることで耐熱性が向上するとの既往の知見に基づく。

### 2. 調査方法

(1) 前年の自然感染籾に対する事前乾燥と温湯浸漬を組み合わせた防除効果の検証

#### 1) 供試材料

「彩のかがやき」の 2018 年産および 2019 年産を供試した。両試料とも、埼玉県農業技術研究センター玉井試験場内水田で、もみ枯細菌病発生ほ場より採種したものである。

#### 2) 方法

種子の事前乾燥処理は、ガラス製デシケータを用いて実施した。野菜用網袋 (250g 用) に供試種子を入れて粒状シリカゲル (青色) と共にデシケータへ入れ、常温で約 1 か月保った。シリカゲルが吸湿して青色の標識が薄れた際は新たなシリカゲルと交換し種子籾の乾燥を行った。試験区の構成は以下のとおりとした。

|       |   |   |   |                |
|-------|---|---|---|----------------|
| 事前乾燥有 | ] | × | [ | 65°C・10 分間温湯浸漬 |
| 事前乾燥無 |   |   |   | 60°C・15 分間温湯浸漬 |
|       |   |   |   | 60°C・10 分間温湯浸漬 |
|       |   |   |   | 温湯浸漬無          |

温湯浸漬処理は、ウォーターバス用恒温器をセットしたポリエチレン製 22.1L 容の水槽を用いて行い、所定時間処理後はただちに流水 (水道水) で十分に冷却した。温湯処理後ただちに水温 15~20°C で数日間浸種し、播種前日に 26°C で 1 日間の催芽処理を行った。

ポリプロピレン製 280g 型イチゴ用パックに粒状培土 (ホーネンス培土 3 号) を充てんし、1 パックあたり 200 粒を播種、覆土した。播種後は鉄骨造ガラス温室内の育苗ベンチ上で管理、