

(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 八重樫 元\*・伊藤 伝

所属 国研) 農研機構果樹茶業研究部門リンゴ研究領域、\*富山県農林水産総合技術センター園芸研究所 (現所属)

[〒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、本病の基幹防除剤として約 30 年間使用してきた DMI 剤に対する感受性が低下したリンゴ黒星病菌の発生が挙げられ、リンゴ生産地域に広がりつつある。さらに DMI 剤に加え、夏場に使用される QoI 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おり、防除指針を策定するために DMI 剤と QoI 剤の両者に対する感受性の評価が求められている。しかしながら、リンゴ苗木を用いる生物検定ならびに薬剤添加培地による培地検定には、多大な労力と時間を要するため、早急な対策が必要な生産現場においては、より迅速な診断技術が必要とされている。

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を明らかにしている。また、QoI 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事が報告されている。これらの塩基置換の有無を識別する遺伝子診断法は、迅速な診断技術として有効であるが、アレル特異的 PCR や PCR-RFLP などの従来法では、疑陽性・擬陰性となる場合があり、確実な判定結果を得るには経験と技術が必要とされる。そこで本課題では、CYP51A1 の Y133F および Cytb の G143A を正確かつ効率的に識別するため、Loop-Mediated Isothermal Amplification(LAMP)による 1 塩基置換検出系を利用したマルチプレックス検定法を開発する。

### 2. 調査方法

1) 黒星病菌(Vi1, Vi3, Vi7, Vi9)について市販のキット(MagExtractor Plant genome; TOYOBO)で培養菌体から抽出した DNA 溶液をサンプルとして用いた。これらの菌株の CYP51A1 遺伝子の Y133F および Cytb 遺伝子の G143A の有無は表 1 に示した。

2) LAMP-FLP 法は、FAM や ROX などの蛍光色素で標識したプライマーにより塩基置換箇所を含む領域を特異的に増幅し、消光活性を持つクエンチャープローブの塩基置換箇所にはハイブリダイズ(蛍光消失)する温度が、塩基置換の有無で異なることを利用して識別する方法である。CYP51A1 で

(様式1)

は FAM、Cytb では ROX で標識したプライマー・プローブセットをそれぞれ作出し、LAMP-FLP 法用 DNA 増幅セット(栄研化学)のマニュアルに従い、60°Cで 30 分間反応させた。その後リアルタイム PCR 装置(ABI-7300)を用いて解離曲線解析を行い、温度勾配における蛍光値の変化を解析した。

3) マルチプレックス LAMP-FLP では、CYP51A1 および Cytb に特異的なプライマー・プローブセットを混合し、同様の解析を行った。

### 3. 調査結果

1) Vi7 と Vi9 についてまず、従来のアレル特異的 PCR で Y133F 識別に必要な DNA 量を調べたところ、正確に識別するには 10 pg 以上の DNA が必要であった(図 1)

2) LAMP-FLP 法により Vi7 と Vi9 の CYP51A1 の Y133F を識別できるか解析したところ、10 pg 以上の DNA を用いた場合に識別することが出来た(図 2)。Vi1 と Vi3 を用いて Cytb の G143A を識別できるか解析した場合でも、同様の結果であった(データ省略)。

3) Vi1、Vi3、Vi7、Vi9 の 1 ng の DNA を用いてマルチプレックス LAMP-FLP を行ったところ、CYP51A1 の Y133F と Cytb の G143A を識別することが出来た(図 3)。

### 4. 考察

本課題では、従来のアレル特異的 PCR や PCR-RFLP 法に代わる塩基置換識別手法として LAMP-FLP 法を開発した。LAMP-FLP 法の感度は、従来のアレル特異的 PCR とほとんど差がないが、電気泳動などを要さず、1 反応で CYP51A1 および Cytb 遺伝子の塩基置換の有無を識別できるため、判定までにかかる時間と操作量を縮減できる効率的な手法である。

### 5. 今後の課題

- ・モニタリングの継続と Y133F を有する株の生物検定。
- ・LAMP-FLP 法はリアルタイム PCR 装置などの機器を必要とするため、使用場所が限定される。遺伝子解析を請け負う民間会社での受託サービスでも利用可能かを検証する必要がある。

### 6. 要約

リンゴ黒星病菌の CYP51A1 遺伝子および Cytb 遺伝子の DMI 剤と QoI 剤感受性低下に関わる塩基置換の有無を同時に解析できるマルチプレックス LAMP-FLP 法を開発した。

### 7. 成果の公表及び特許

Yaegashi et al. 2020. Point mutation in *CYP51A1* of *Venturia inaequalis* is associated with low sensitivity to sterol demethylation inhibitors. *Journal of General Plant Pathology* (印刷中)

(様式 1)

表 1. 試験に用いた菌株の CYP51A1 遺伝子および Cytb 遺伝子の多型

	CYP51A1	Cytb
Vi1	Y133F	G143A
Vi3	Y133F	非置換
Vi7	非置換	非置換
Vi9	Y133F	G143A

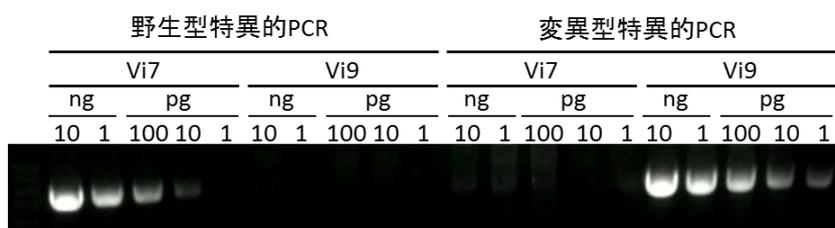


図 1. アリル特異的 PCR による CYP51A1 遺伝子の Y133F 識別に必要な DNA 量

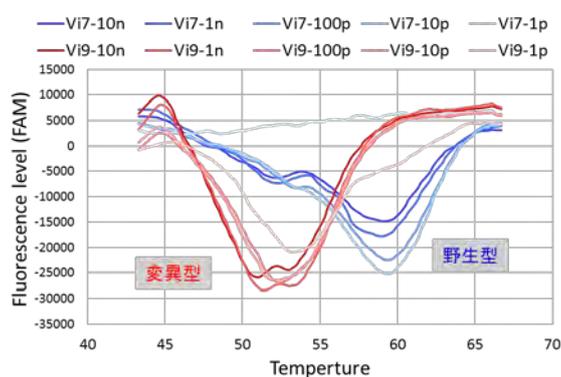


図 2. LAMP-FLP 法による CYP51A1 遺伝子の Y133F の識別

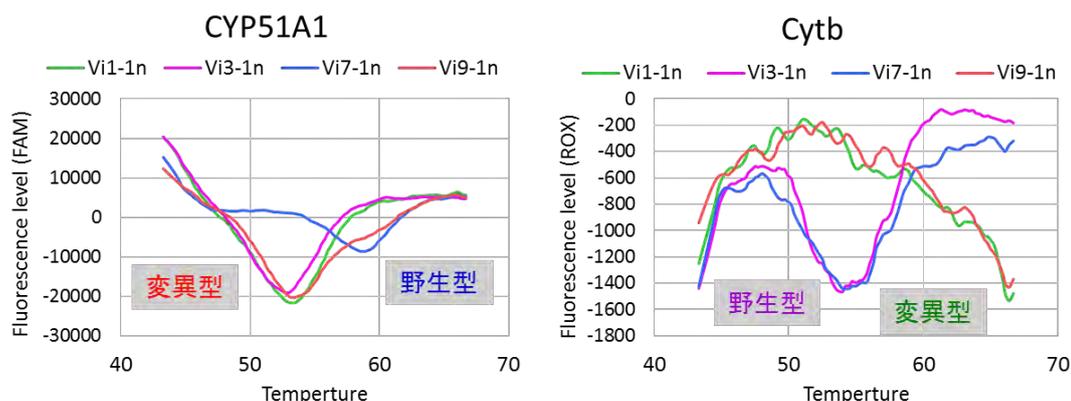


図 3. マルチプレックス LAMP-FLP 法による CYP51A1 遺伝子の Y133F(左)と Cytb 遺伝子 G143A(右)の識別

(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

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(平成28年度産、長野農試より分譲)を催芽させ、鳩胸状態の種子を選び、容量90mlの蓋つき透明プラスチック瓶に粉碎した水稻用無肥料焼土に対して資材Aを0, 0.1, 0.2, 0.3, 1g混和したものを20g詰めた上に播種し、さらに資材Aを同量種子に振りかけ、粉碎した水稻用無肥料焼土を種子が見えなくなるまで覆土した。種子は瓶あたり20粒とし、生育調節剤のウニコナゾールPの2000倍希釈液をピペットマンで瓶あたり6mlを灌注した。これに蓋をして25℃の陽光定温器内で12日間管理した後、ばか苗病の発病イネの有無を調査した(3反復)。

2) 直径10cmのポリポットに茨城培土を詰め、上記の籾に資材Aを塗抹した後、茨城培土で覆土し、その後25℃の温室で3週間管理した(4反復)。

3) 文献等の調査により、オーダー単位で種子の保菌率を低下させる方法を検討した。

### 3. 調査結果

1) 資材Aの量が多くなるにつれてばか苗病の発病個体数が減少した(図1)。本法を用いることにより、実験室内での本病に対する各種資材の影響を評価できる系を開発できた。

(様式1)

- 2) 資材Aを塗抹処理することで、ばか苗病の発病が幼苗期に抑制された。
- 3) オーダー単位で種子の保菌率を低下させる方法には、種子への浸透度が影響すると考えられる。

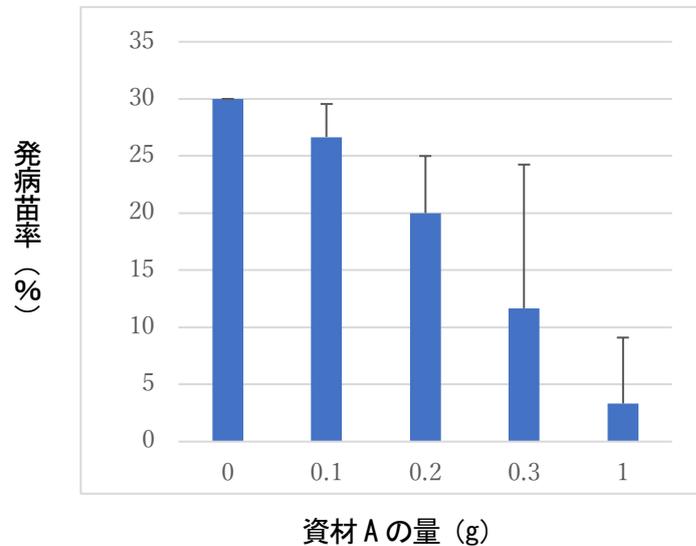


図1 室内実験系による資材Aのイネばか苗病の発病に及ぼす影響



図2 資材Aの種子塗抹処理によるばか苗病の発病への影響

#### 4. 考察

資材Aの処理が発病を抑制していると考えられるが、今後検討する必要がある。資材Aに対する植物体への影響があると考えられるので、資材の最適量を明らかにする必要があると考えられる。

#### 5. 今後の課題

資材Aの最適処理量や植物体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実験室レベルと育苗模擬試験で明らかになった。

#### 7. 成果の公表及び特許

特になし。

(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稲品種における温湯処理条件の解明

(1) 試験場所：農業研究所内(水戸市上国井町)およびガラスハウス室

(2) 供試品種：「月の光(H30年産)」、「あさひの夢(H30年産)」、「夢あおぼ(H30年産)」

「コシヒカリ(H30年産、参考品種)」

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

(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%以下に調製した。温湯処理は、ウォーターバスを用いて60℃または65℃で10分または15分間浸漬後、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6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(反復なし)、30℃で2日間出芽させた。その後、ガラスハウス室内で19日間(11月8日～11月27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過酢酸製剤による防除効果の検討

(1) 試験場所：農業研究所内（水戸市上国井町）およびガラスハウス室

(2) 供試品種：「月の光（H30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℃10分

65℃10分

薬剤処理区 過酢酸製剤 300倍希釈液 催芽時24時間浸漬

体系防除区 温湯処理 60℃10分 + 過酢酸製剤 300倍 催芽時24時間種子浸漬

温湯処理 65℃10分 + 過酢酸製剤 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：ばか苗病菌保菌種子（健全種子：開花期接種種子＝9：1）を15℃で6日間浸種し、30℃で24時間催芽し、1パックあたり乾粒重量で12g（約416粒）播種後に30℃で3日間出芽させた。その後、ガラスハウス室内で23日間（10月7日～10月30日）育苗し、発病調査を行った。

(6) 調査項目：出芽率、徒長苗率

3) 育苗箱の瞬時浸漬消毒による殺菌効果の検討

(1) 試験場所：農業研究所内（水戸市上国井町）およびガラスハウス室

(2) 供試品種：「コシヒカリ」

(3) 試験区：①水洗い（マット育苗箱洗浄機（LSC-4、みのる産業（株））を用いて、給排水しながら10往復させた）

②ベンチアゾール乳剤（商品名：イチバン）500倍希釈液 瞬時浸漬処理

③水洗い＋ベンチアゾール乳剤 500倍希釈液 瞬時浸漬処理

④未洗浄

(4) 試験方法：ばか苗病菌保菌種子（健全種子：開花期接種種子＝4：1）を15℃で7日間浸種し、30℃で24時間催芽後、1/3大の育苗箱に乾粒重量で50g播種した。30℃で3日間出芽させ、ガラスハウス室で32日間（5月13日～6月14日）育苗し、苗を取り除いた後、育苗箱を室内（暗所、室温）で111日間保管した。その後、上記の試験区のとおり処理を行い、健全種子（温湯消毒済み、15℃6日間浸種後、30℃で24時間催芽）を播種し、30℃で3日間出芽させ、ガラスハウス室内で29日間（10月7日～11月5日）育苗した。なお、各区3連制で実施した。

(5) 調査方法：各区任意の苗500本について、発病の有無を調査し、徒長苗率を算出した。

(様式1)

### 3. 調査結果

#### 1) 県内の主要な飼料用稲品種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分で85%であったが、60°C15分および65°Cでは80%未満であった。また、出芽率は60°C10分で74%、60°C15分で68%であったが、65°Cでは20%未満であった。
- (2) 「あさひの夢」の発芽率は60°C10分および15分で90%以上であった。また、出芽率は60°C10分および15分では約90%であった。
- (3) 「夢あおば」の発芽率は60°C10分で92%、60°C15分および65°Cでは90%未満であった。また、出芽率は60°C10分および15分で約88%であったが、65°Cでは60%未満であった。
- (4) 「コシヒカリ」の発芽率は60°C10分、15分および65°C10分では90%以上であった。また、出芽率は60°C10分および15分では90%以上、65°C10分では89%であった。

##### 【事前乾燥ありの場合】

いずれの品種も事前乾燥により、温湯処理時の高温耐性の向上が認められた。

- (1) 「月の光」の発芽率は60°C10分で87%であったが、60°C15分および65°Cでは80%未満であった。また、出芽率は60°C10分で78%、60°C15分で75%であったが、65°Cでは70%未満であった。
- (2) 「あさひの夢」の発芽率はいずれの試験区でも90%以上であった。また、出芽率は60°C10分および15分では90%以上であった。
- (3) 「夢あおば」の発芽率は60°C10分および15分では90%以上であった。また、出芽率は60°C10分で89%、60°C15分で90%であった。
- (4) 「コシヒカリ」の発芽率および出芽率ともに60°C10分、15分および65°C10分では90%以上であった。

(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 の有無	無処理	温湯処理			
			60℃		65℃	
			10分	15分	10分	15分
月の光	有	90.3	87.0	79.7	72.7	43.0
	無	92.7	85.0	78.0	39.7	4.3
あさひの夢	有	97.3	93.7	91.3	90.3	90.7
	無	97.0	93.0	94.0	89.0	52.0
夢あおば	有	88.0	94.7	90.3	89.0	86.3
	無	92.7	92.0	88.7	84.0	57.0
コシヒカリ (参考)	有	97.3	99.0	97.3	97.3	88.3
	無	99.7	99.0	94.0	93.7	70.7

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 の有無	無処理	温湯処理			
			60℃		65℃	
			10分	15分	10分	15分
月の光	有	84.4	78.0	74.8	61.6	23.0
	無	89.6	74.2	68.2	18.0	0.6
あさひの夢	有	90.2	90.6	92.0	86.2	77.6
	無	92.2	88.6	90.0	81.2	46.4
夢あおば	有	82.4	88.8	90.4	83.0	68.2
	無	90.6	88.4	87.4	57.6	21.2
コシヒカリ (参考)	有	98.6	98.0	96.2	93.2	89.0
	無	98.8	97.2	95.2	88.8	53.0

(様式1)

2) イネばか苗病に対する温湯処理および過酢酸製剤による防除効果 (表3)

- (1) 無処理区の徒長苗率が 23.5%と中発生条件下のなか、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 (防除価 100)。
- (2) 温湯処理区は 60°C10 分および 65°C10 分ともに高い防除効果が認められた (防除価 100)。ただし、出芽率の低下が認められ、特に 65°C10 分では著しい低下が認められた。
- (3) 過酢酸製剤区は、防除効果は認められたが、その程度は低かった (防除価 86.0)。なお、出芽率への影響は認められなかった。
- (4) 温湯処理と過酢酸製剤との併用処理区は、いずれも高い防除効果が認められた (防除価 100)。ただし、出芽率は 65°C10 分処理で著しく低かった。

表3 イネばか苗病に対する各種処理による防除効果

試験区		連制	出芽率 (%)	徒長苗率 (%)	防除価
温湯処理	60°C10分	I	68.3	0.0	100
		II	69.0	0.0	
		III	73.6	0.0	
		平均	70.3	0.0	
温湯処理	65°C10分	I	11.8	0.0	100
		II	9.1	0.0	
		III	12.7	0.0	
		平均	11.2	0.0	
過酢酸製剤	300倍希釈液 催芽時24時間種子浸漬	I	95.7	6.3	86.0
		II	95.9	2.5	
		III	91.8	1.0	
		平均	94.5	3.3	
温湯処理 + 過酢酸製剤	60°C10分 + 300倍希釈液 催芽時24時間種子浸漬	I	82.0	0.0	100
		II	80.0	0.0	
		III	78.6	0.0	
		平均	80.2	0.0	
温湯処理 + 過酢酸製剤	65°C10分 + 300倍希釈液 催芽時24時間種子浸漬	I	14.7	0.0	100
		II	14.4	0.0	
		III	13.5	0.0	
		平均	14.2	0.0	
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	I	99.0	0.0	100
		II	99.8	0.0	
		III	99.8	0.0	
		平均	99.5	0.0	
無処理	-	I	96.9	33.0	-
		II	93.8	26.2	
		III	89.9	11.2	
		平均	93.5	23.5	

注) 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) 育苗箱の瞬時浸漬消毒による殺菌効果

いずれの試験区も発病が認められなかった (データ省略)。

(様式1)

#### 4. 考察

1) 茨城県内の主要な飼料用稲3品種において、温湯処理条件が60°C10分>60°C15分>65°C10分>65°C15分の順に発芽率等が低下する傾向が認められた。特に、65°C15分では著しい発芽率の低下が認められ、処理条件は65°C10分が上限と考えられた。また、事前乾燥により種子水分を10%以下にすることで、いずれの品種においても温湯消毒時の高温耐性が向上すると考えられ、前年度の試験結果と一致した。

「あさひの夢」および「夢あおば」は温湯消毒時の高温耐性が比較的強いと考えられた。また、事前乾燥処理により高温耐性がさらに強くなり、60°C15分処理でも発芽率および出芽率ともに90%以上確保できることが明らかとなった。

「月の光」では、前年度の試験(H29年産種子)で60~65°C10分までは発芽率90%以上確保できたが、本年度(H30年産種子)は60°C10分で85%および65°C10分で40%であり、90%以上の発芽率を確保できなかった。無処理区の発芽率が90%程度であったことも要因であるが、種子生産年の違い(気象条件など)による影響も考えられることから、次年度も継続して検討する必要がある。

2) イネばか苗病に対する防除効果試験では、温湯処理のみでも高い防除効果が認められた。ただし、これは本試験の処理量は約50g/試験区であり、処理ムラが生じなかったためと考えられた。実用場面において数kg~数十kg単位で処理した場合、処理ムラが生じる可能性があり、温湯処理のみでは防除効果が低下する可能性が考えられた。また、過酢酸製剤の防除効果は認められたが、その程度は低く、温湯処理との併用が必要と考えられた。

3) 育苗箱消毒によるイネばか苗病に対する防除効果は、無処理区でも無発病のため判定できなかった。育苗した苗を取り除いた後の土壌の付着量はわずかであったが、育苗箱に付着していたわずかな土壌や苗の残渣から病原菌が検出された(越智・横山, 2016)ことがすでに報告されているため、保管期間や反復数などを考慮し、次年度も検討する必要がある。

#### 5. 今後の課題

- 1) 本県内の主要な飼料用稲3品種の温湯処理条件について、データの蓄積を図り、イネばか苗病に対して防除効果の高い処理条件を明らかにする。また、過酢酸製剤との併用処理による防除効果を明らかにする。
- 2) 育苗箱消毒試験について再検討する。

#### 6. 要約

- 1) 「あさひの夢」および「夢あおば」は温湯消毒時の高温耐性が比較的強いと考えられた。
- 2) イネばか苗病に対して過酢酸製剤による防除効果は認められたが、その程度は低かった。そのため、温湯処理との併用が必要と考えられた。

#### 7. 成果の公表及び特許

特になし

(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) 事前乾燥処理を組み込んだ温湯消毒処理による防除効果の検証と、  
採種年次の異なる種子に対する影響評価

氏名：酒井和彦・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、一般栽培ほ場を想定して、前年産自然感染種子粃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を明らかにするとともに、採種年次が異なる種子に対する事前乾燥処理と温湯浸漬処理による発芽への影響を明らかにする。事前乾燥処理は、種子粃の水分を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) 前年の自然感染粃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

2018年産「彩のきずな」および2018年産「彩のかがやき」を供試した。これらは、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3週間保った。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粃の乾燥を行った。試験区の構成は以下のとおりとした。

事前乾燥有	]	×	[	65℃・10分間温湯浸漬
事前乾燥無				60℃・10分間温湯浸漬
				温湯浸漬無

## (様式1)

水温 15～20℃で数日間浸種し、播種前日に 25℃で 1 日間の催芽処理を行った。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。その後、所内鉄骨造ガラス温室内の育苗ベンチ上で管理、3 葉期まで育苗した。試験は 3 連制で実施した。試験実施時期が 12～1 月の低温期となったため、育苗ベンチ上には断熱材と電熱マット（農電園芸マット）を敷き、地温は、出芽までは 25℃、出芽・緑化後は 22℃となるようにサーモスタットを設定した。水管理は、ステンレス製バット（長さ 40cm×幅 29cm×深さ 6cm）を置いて 1～2 cm の深さに水を張り、そこにイチゴ用パックを置いて底面給水とした。また、試験温室は温湯管暖房が設置されているが夜間～早朝は室温が 15℃を下回る場合があるため、電熱式オイルヒータ（D社）を 3 台設置し、17～18℃以上となるようにした。日中の換気温度は 30℃設定とした。

播種 3 週間後に、発病調査と苗立率の調査を行い、防除効果を評価した。

## (2) 採種年次の異なる種子における事前乾燥と温湯浸漬の発芽に対する影響

### 1) 供試材料

「彩のきずな」（2018 年産、2017 年産）および「彩のかがやき」（2018 年産、2015 年産）の 2 品種・計 4 ロットを対象とした。これら種子は夏作試験用に埼玉県種苗センターより分譲を受けたもので、9℃の冷蔵庫で保管しておいたものである。

### 2) 方法

種子の乾燥方法は前述の（1）と同様である。試験区は次のように設けた。

- |                     |                     |
|---------------------|---------------------|
| ①事前乾燥有・65℃10 分間温湯浸漬 | ②事前乾燥無・65℃10 分間温湯浸漬 |
| ③事前乾燥無・60℃10 分間温湯浸漬 | ④事前乾燥無・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。

発芽検査は定法（100 粒×4 反復、25℃）に準じて行った。径 90mm ガラスシャーレに濾紙を敷き、供試種子粕を入れ、蒸留水で濾紙を湿らせて 25℃の定温器で管理した。

播種後は経時的に発芽調査を行い、完全に幼芽・幼根が伸長した粕を発芽粕として拾い出して計数し、発芽率を求めた。

## 3. 調査結果

### (1) 前年の自然感染粕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

「彩のきずな」の結果は表 1 のとおりである。

苗立率は 93～98%で試験区間の有意差は認められなかったが、65℃・10 分間処理では事前乾燥の有無にかかわらず他の試験区より低かった。

「彩のきずな」での苗腐敗症の発生は極少なく、事前乾燥および温湯浸漬消毒による防除効果は判然としなかった。

(様式1)

表1 2018年産「彩のきずな」採種種子の育苗試験における苗立率および防除効果

事前乾燥	温湯消毒	苗立率 (%)	発病苗率 (%)	枯死苗率 (%)	発病度	防除価 (病苗率)
有	65°C・10分間	93.8 n.s.	0.17 ab	0 n.s.	0.17	0
有	60°C・10分間	97.0	0.34 ab	0	0.17	0
有	無	95.5	2.10 c	0	1.39	0
無	65°C・10分間	92.7	0 a	0	0	100
無	60°C・10分間	97.2	0.17 ab	0	0.12	0
無	無	98.0	0.17 ab	0	0.11	-

注1) 異なる英小文字間に有意差あり arcsin変換後の値を用いて検定 :Tukey-Kramer,  $p < 0.05$ . )

注2) 供試籾の水分は、事前乾燥有が5.8%, 無が10.0%.

防除価: 苗腐敗症の調査基準を、0=健全、1=苗の奇形または白化、2=葉鞘・葉身に褐変、3=全体腐敗または枯死とし、  

$$\left\{ \sum (\text{階級値} \times \text{個体数}) \div (\text{調査個体数} \times 3) \right\} \times 100$$
で算出

「彩のかがやき」の結果は表2のとおりである。

苗立率は95~99%で試験区間に有意差は認められなかったが、「彩のきずな」と同様に65°C・10分間処理では事前乾燥の有無にかかわらず他の試験区より低かった。ただし、低下の度合いは「彩のきずな」より小さかった。

発病苗率は10.5%、枯死株率は0.5%で少発生での検討となった。65°C・10分間の温湯浸漬では事前乾燥の有無によらず防除効果は認められ、病苗率に基づく防除価は78~82であった。

事前乾燥有・60°C・10分間の温湯浸漬では防除効果が大きく低下した。また、事前乾燥のみでも防除効果は認められたが、これらの原因は明らかではない。

表2 2018年産「彩のかがやき」採種種子の育苗試験における苗立率および防除効果

事前乾燥	温湯消毒	苗立率 (%)	発病苗率 (%)	枯死苗率 (%)	発病度	防除価 (病苗率)
有	65°C・10分間	95.2 n.s.	2.29 a	0 n.s.	1.41	78.2
有	60°C・10分間	97.8	7.86 ab	0.17	5.75	25.1
有	無	97.2	4.58 ab	0.69	3.41	56.4
無	65°C・10分間	96.3	2.25 a	0	1.67	78.6
無	60°C・10分間	98.7	1.85 a	0	1.24	82.3
無	無	98.5	10.50 b	0.51	8.07	-

注1) 異なる英小文字間に有意差あり arcsin変換後の値を用いて検定 :Tukey-Kramer,  $p < 0.05$ . )

注2) 供試籾の水分は、事前乾燥有が6.5%, 無が11.3%.

防除価: 苗腐敗症の調査基準を、0=健全、1=苗の奇形または白化、2=葉鞘・葉身に褐変、3=全体腐敗または枯死とし、  

$$\left\{ \sum (\text{階級値} \times \text{個体数}) \div (\text{調査個体数} \times 3) \right\} \times 100$$
で算出

(2) 採種年次の異なる種子における事前乾燥と温湯浸漬の発芽に対する影響

1) 「彩のきずな」における結果

(様式1)

表3のとおりである。2018年産種子、2017年産種子とも、事前乾燥を行わなかった場合は65℃・10分間の処理により播種（シャーレに置床）4日後および5日後の発芽率が明らかに低かった。7日後では、両年産種子とも事前乾燥の有無にかかわらず65℃・10分間の温湯浸漬は、事前乾燥無・60℃・10分間温湯浸漬および無処理区に比較して発芽率が低く、14日後でも同様であった。本品種は65℃・10分間の温湯浸漬は適用困難な可能性が示唆された。

表3 「彩のきずな」における発芽率

採種年	事前乾燥	温湯浸漬	発芽率 (%)										
			4日後	5日後	7日後	10日後	11日後	14日後					
2018年	有	65℃10分	14.3	b	64.5	ab	91.8	a	-	93.5		94.0	a
	無	65℃10分	2.3	a	50.8	a	91.3	a	-	93.8		94.5	a
	無	60℃10分	34.5	c	80.3	b	96.3	ab	-	97.8		97.8	ab
	無	無	11.0	ab	73.8	b	99.0	b	99.3	-		99.3	b
2017年	有	65℃10分	38.0	ab	87.3	bc	91.8	ab	-	93.3		93.5	n.s.
	無	65℃10分	25.0	a	76.0	a	88.8	a	-	89.8		91.0	
	無	60℃10分	78.3	c	97.0	bc	98.0	b	-	98.5		98.5	
	無	無	60.0	bc	86.8	c	96.8	b	98.0	-		98.5	

注) 種子粗の水分は、事前乾燥有は2018年産・2017年産とも6.5%。事前乾燥無は、2018年産は11.8%、2017年産は12.5%。異なる英小文字間に有意差あり (Tukey-Kramer,  $p < 0.05$ )。

2) 「彩のかがやき」における結果

表4のとおりである。播種（シャーレに置床）4日後では、2018年産・2015年産とも、65℃・10分間の温湯浸漬は60℃・10分間温湯浸漬および無処理区に比較して発芽率が低く、事前乾燥無では大きく低下した。5日後では、2018年産での65℃・10分間温湯浸漬は事前乾燥有無での差はほとんど認められなかったものの、60℃・10分間温湯浸漬および無処理区に比較して低下する傾向であった。一方、5日後において、2015年産種子での65℃・10分間の温湯浸漬処理の発芽率は他の処理区より低く、事前乾燥無では明らかに低かった。7日後では、2018年産種子は事前乾燥有無にかかわらず65℃・10分間温湯浸漬での発芽率は他区よりやや低く、14日後も同様であった。2015年産では、播種7日後および14日後とも、65℃・10分間の温湯浸漬は事前乾燥の有無にかかわらず他区より発芽率が明らかに低かった。

表4「彩のかがやき」における発芽率

採種年	事前乾燥	温湯浸漬	発芽率 (%)										
			4日後	5日後	7日後	10日後	11日後	14日後					
2018年	有	65℃10分	27.0	ab	84.8	n.s.	93.5	n.s.	-	95.5		96.3	n.s.
	無	65℃10分	17.8	a	82.3		93.3		-	95.8		96.0	
	無	60℃10分	46.8	b	90.3		96.0		-	98.0		98.5	
	無	無	36.8	ab	86.8		96.8	97.3	-			97.8	
2015年	有	65℃10分	42.5	b	74.3	b	86.5	a	-	88.3		90.5	a
	無	65℃10分	8.8	a	49.0	a	82.3	a	-	86.3		87.5	a
	無	60℃10分	67.3	c	92.8	c	97.5	b	-	98.5		98.5	b
	無	無	74.0	c	94.5	c	98.0	b	98.5	-		98.5	b

注) 種子粗の水分は、事前乾燥有は2018年産・2017年産とも6.5%。事前乾燥無は、2018年産は12.2%、2015年産は13.0%。異なる英小文字間に有意差あり (Tukey-Kramer,  $p < 0.05$ )。

(様式1)

#### 4. 考察

前年産自然感染種子を用いた育苗検定では、「彩のきずな」での65℃・10分間の温湯浸漬による防除効果は明らかではない。「彩のかがやき」では、事前乾燥を行わない60℃・10分間の温湯浸漬処理による防除効果も認められ、熱処理強度を強めた65℃・10分間の温湯浸漬処理の優位性は、本試験の範囲では認められなかった。無処理区での発病苗率10%程度の条件であれば、事前乾燥有無によらず65℃・10分間の温湯浸漬で一定の防除効果は有するものと考えられた。

65℃・10分間の温湯浸漬処理が発芽に及ぼす影響は品種間差が認められ、事前乾燥と組み合わせても「彩のきずな」は「彩のかがやき」に比較して種子粗の高温耐性が低いことが示唆された。一方、「彩のかがやき」では供試した種子が2018年産と2015年産で採種年に3年の開きがあるが、65℃・10分間の温湯浸漬処理は、前年産種子であれば発芽が1日遅れる程度で実用上の大きな支障はないと考えられるものの、採種後4年を経過した種子では事前乾燥処理を行っても適用は困難と考えられた。

#### 5. 今後の課題

前年産自然感染種子を用いた検定では、年次変動を考慮して採種年の異なる種子を供する必要があると考えられる。

#### 6. 要約

「彩のきずな」および「彩のかがやき」を対象に、種子粗水分10%未満に低下させる事前乾燥と熱処理強度を高めた65℃・10分間の温湯浸漬処理が、自然感染種子における苗立率および育苗中の苗腐敗症を抑制する効果と、採種年を異にする種子での発芽勢・発芽率に及ぼす影響について検討した。育苗試験の結果、「彩のきずな」での防除効果は判然としなかったが、「彩のかがやき」では65℃・10分間の温湯浸漬は防除効果が認められた。

「彩のきずな」では「彩のかがやき」より種子の耐熱性が低い傾向があること、採種後4年以上経過した種子では65℃・10分間の温湯浸漬は適用困難であることを明らかにした。

#### 7. 成果の公表及び特許

とくになし

(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) もみ枯細菌病による穂枯症および苗腐敗症に対する効率的な防除体系の確立

氏 名：酒井和彦・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、本県で普及している病害虫複合抵抗性品種を用い、一般生産ほ場を想定した温湯浸漬による種子消毒、育苗箱施用薬剤と本田防除を組み合わせた防除体系を検討し、減農薬栽培の実効性を明らかにする。

### 2. 調査方法

#### (1) 本田における効率的な防除

##### 1) 供試品種・場所・耕種概要

「彩のきずな」「彩のかがやき」の2品種で検討した。これら品種は縞葉枯病、穂いもち、ツマグロヨコバイに抵抗性を持つ。前者は2019年5月15日移植、後者は6月10日移植で、埼玉県農業技術研究センター 玉井試験場 水田ほ場（灰色低地土：宝田統）で検討した。

施肥は基肥+穂肥の分施とし、基肥は10a当たりNPK各5kg、穂肥は「彩のきずな」でNK各3kg、「彩のかがやき」でNK各2kgを幼穂形成初期に施用した。水管理は慣行により行った。

##### 2) 処理区の構成・方法

本県の減農薬栽培の基準である6成分以内に抑えるため、種子消毒は60℃・15分間の温湯浸漬処理とした。育苗は慣行の育苗箱（60cm×30cm）で、ホーネンス培土3号を用いて行った。

箱処理薬剤はジノテフラン・トルプロカルブ粒剤（ゴウケツバスター箱粒剤）を移植当日に箱当たり50g処理した。剤の選定は、過去の試験事例から本病にトルプロカルブが有効である知見に基づく。本田での生育期防除は、①出穂期10日前の銅（塩基性塩化銅）水和剤2,000倍液1回、または②出穂期前後のオキシリニック酸水和剤1,000倍液2回散布とした（表1）。本田散布剤には、展着剤としてグラミンSを薬液10L当たり3ml加用した。

移植は歩行型田植機（I社製2条型）で行い、株間20cm×条間30cmとした。本田除草剤はピリミスルファン・フェントラザミド粒剤（ヤイバジャンボ）1kg/10aを移植数日後に水田に投入した。水田面積の関係上反復を設けられないため、試験規模は1区1.3（彩のかがやき）

(様式1)

～1.4a (彩のきずな) とし、発病調査および収量調査時に疑似反復3地点を設けた。

表1 試験区の構成(防除体系)

試験区番	種子消毒 温湯処理	箱粒剤 移植時	本田防除	濃度・量	防除時期および回数
1	○	○	銅水和剤 塩基性塩化銅84.1%)	×2,000 110～120L/10a	出穂10日前・1回
2	○	○	オキシリニック酸水和剤	×1,000 110～120L/10a	出穂始期および 穂揃い期の2回
3	○	—	—	—	—

### 3) 発病調査

「彩のきずな」では出穂期の25日後、「彩のかがやき」では出穂期の24日後に、疑似反復の各地点につき50株(連続25株×2条)を対象に、各株任意の10穂について発病調査を行った(表2)。調査基準は新農薬実用化試験(日本植物防疫協会)に基づき、発病穂率および発病度を算出し、発病度から防除価を求めた。

$$\text{発病度} = \{ \Sigma (\text{階級値} \times \text{穂数}) \div (\text{調査穂数} \times 4) \} \times 100$$

階級値(調査基準) 0:健全 1:1穂内の発病穂数が10%以下 2:11%以上30%以下  
3:31%以上60%以下 4:61%以上

表2 各品種の防除実施日、出穂期、発病調査

移植月日・ 品種	試験区および防除体系	本田防除 実施月日	出穂期	発病 調査
2019/5/15 彩のきずな	1. 箱剤+出穂前銅水和剤1回	7/24	8/1 (高温で早 まった)	8/26
	2. 箱剤+出穂・穂揃期の2回	7/30・8/3		
	3. 無処理(温湯浸漬のみ)	—		
2019/6/10 彩のかがやき	1. 箱剤+出穂前銅水和剤1回	8/12	8/20 (高温で早 まった)	9/13
	2. 箱剤+出穂・穂揃期の2回	8/20・22		
	3. 無処理(温湯浸漬のみ)	—		

箱剤: ジノテフラン・トルプロカルブ粒剤(ゴウケツバスター箱粒剤) 50g/箱 移植当日処理  
出穂前1回: 塩基性塩化銅水和剤(ドイツボルドーA) 2,000倍  
出穂・穂揃期2回: オキシリニック酸水和剤(スターナ水和剤) 1,000倍

### 4) 籾の収量調査

一般栽培を想定した試験であるが、採種への適用も考慮して籾の収量調査を行った。成熟期に坪刈を行った。刈取面積は各反復地点につき3m<sup>2</sup>(2.5m×4条)とした。鉄骨造アクリルハウス内で風乾後、脱穀して脱芒機を用いて芒と枝梗を除去、電動唐箕を用いて風選して夾雑物を除き籾の重量測定を行った。その後、電動式穀粒選別機を用い縦目篩(2.2mm)で選別を行い、篩上に残った籾の重量を測定して種子収量とした。

(様式1)

(2) 採種種子の収量・発芽率と苗腐敗症の発生程度

1) 成熟期に刈刈を行った。刈取面積は各反復地点につき 3 m<sup>2</sup> (2.5m×4条) とした。鉄骨造アクリルハウス内で風乾後、脱穀して脱芒機を用いて芒と枝梗を除去、電動唐箕を用いて風選して夾雑物を除き籾の重量測定を行った。その後、電動式穀粒選別機を用いて 2.2mm 縦目篩で選別を行い、篩上に残った籾の重量を測定して種子収量とした。

2) 得られた種子籾は、定法により発芽率の検定を行った。径 9cm ガラスシャーレに濾紙を敷き、種子を 100 粒入れ、蒸留水で湿らせて 25℃ の定温器で培養した。

3) 苗腐敗症の検定は、次のように行った。

供試種子は水温 15~20℃ で数日間浸漬し、播種前日に 25℃ で 1 日間の催芽処理を行った。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。その後、所内鉄骨造ガラス温室内の育苗ベンチ上で管理、3葉期まで育苗した。試験は 3 連制で実施した。試験実施時期が 12~1 月の低温期であったため、育苗ベンチ上には断熱材と電熱マット (農電園芸マット) を敷き、地温は、出芽までは 25℃、出芽・緑化後は 22℃ となるようにサーモスタットを設定した。播種 3 週間後に、発病調査と苗立率の調査を行い、本田での防除が苗腐敗症の発生に及ぼす影響を評価した。

3. 調査結果

(1) 本田における効率的な防除

防除効果は図 1 のとおりである。

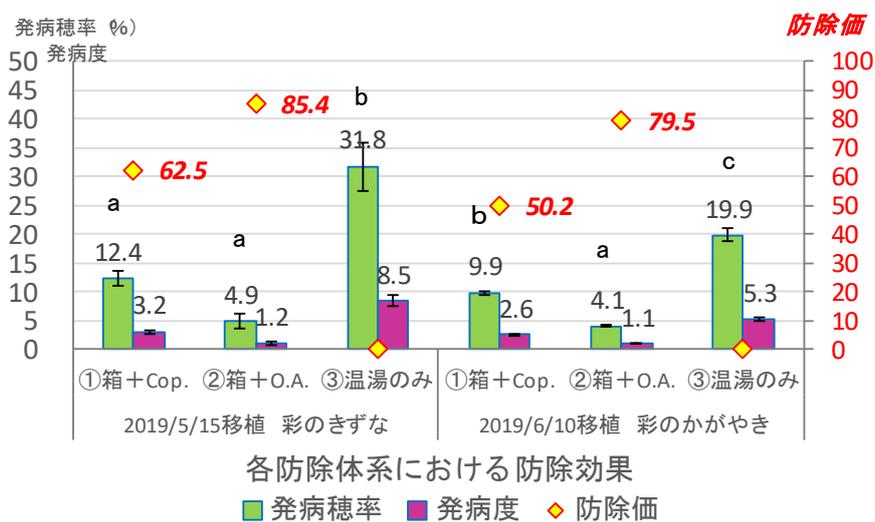


図1 各防除体系における防除効果

エラーバーは標準誤差 (n=3)、異なる英小文字間に有意差あり (p<0.05, Tukey)

Cop.: 銅水和剤 2,000 倍・1 回、O.A.: オキシリニック酸水和剤 1,000 倍・2 回

(様式 1)

「彩のきずな」では本田無処理区（箱施薬のみ）における発病穂率は31.8%、発病度は8.5であったのに対し、出穂10日前の銅水和剤1回散布区で防除価62.5、出穂期・穂揃い期のオキシソリニック酸水和剤2回残布区で85.4であった。

「彩のかがやき」では本田無処理区（箱施薬のみ）における発病穂率は19.9%、発病度は5.3であったのに対し、出穂10日前の銅水和剤1回散布区で防除価50.2、出穂期・穂揃い期のオキシソリニック酸水和剤2回残布区で79.5であった。

## (2) 種子籾の収量・発芽率と苗腐敗症の発生程度

### 1) 種子籾の収量

各品種・各防除体系における種子籾の収量は図2のとおりである。

「彩のきずな」「彩のかがやき」とも、各試験区における2.2mm上の種子収量は本県における採種の基準である380kg/10aを上回った。「彩のきずな」では有意差は認められなかったものの、出穂期・穂揃い期のオキシソリニック酸水和剤2回散布区で最も多収となる傾向であった。「彩のかがやき」では、出穂期・穂揃い期のオキシソリニック酸水和剤2回散布区で最も多収であった。

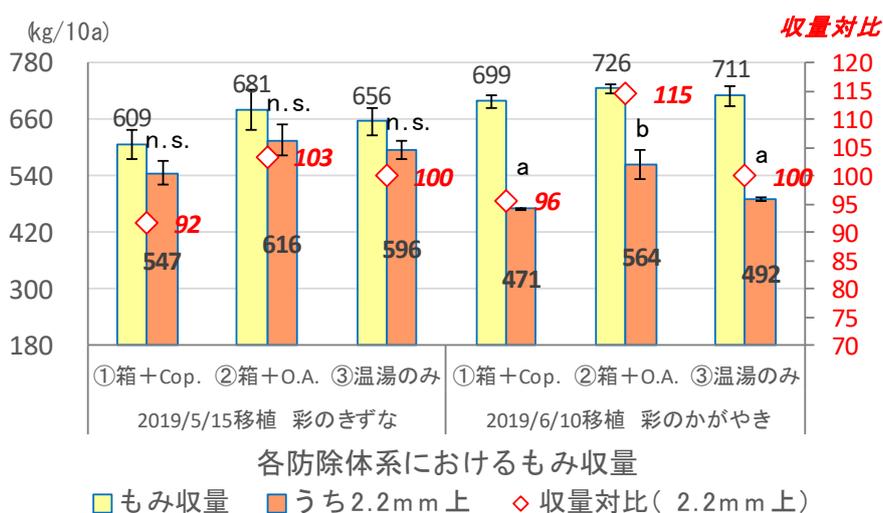


図2 各防除体系における種子籾の収量

エラーバーは標準誤差(n=3)、異なる英小文字間に有意差あり(p<0.05、Tukey)

Cop.:銅水和剤2,000倍・1回、O.A.:オキシソリニック酸水和剤1,000倍・2回

### 2) 採種種子の発芽率

結果は表3のとおりである。

「彩のきずな」では、5日後では各区とも53~62%でやや低かったが、7日後には95%以上となり、14日後では99%以上と、十分に高かった。

「彩のかがやき」では、5日後では8~21%と低く、7日後でも88~93%で「彩のきずな」より低かった。しかし、10日後では98%以上、14日後では99%以上と、採種事業における生産物

(様式1)

審査基準 (25°C・14日後で90%以上)であった。「彩のかがやき」では、採種後の期間が約2か月で休眠覚醒が十分でなかったため、5および7日後の発芽率が低かったものと考えられた。

表3 採種種子の発芽率

品種名	栽培期間の防除方法	発芽率 (%)			
		5日後	7日後	10日後	14日後
彩のきずな	箱施薬+塩基性塩化銅wp	53.3 a	97.8 a	99.5 n.s.	99.5 n.s.
	箱施薬+オキシロニック酸wp	61.8 b	96.8 b	99.0	99.3
	無処理 種子温湯消毒のみ)	53.3 b	95.0 a	100	100
彩のかがやき	箱施薬+塩基性塩化銅wp	8.3 n.s.	88.3 n.s.	98.5 n.s.	99.3 n.s.
	箱施薬+オキシロニック酸wp	16.8	92.8	98.8	99.3
	無処理 種子温湯消毒のみ)	20.5	89.0	98.3	99.5

注) 異なる英小文字間に有意差あり (FischerのLSD法,  $p < 0.05$  ) .

### 3) 採種種子の苗立ち率と苗腐敗症

「彩のきずな」は表4、「彩のかがやき」は表5のとおりである。両品種とも、苗立ち率は97%以上で十分に高かった。「彩のきずな」では、無処理 (種子温湯消毒のみ) 区で発病苗率 2.7%、枯死苗率は 0.5%で、苗腐敗症の発生は少なかった。本田防除体系を箱施薬+オキシロニック酸水和剤2回散布とした場合、発病苗率に基づく防除価は 65.9 であった。「彩のかがやき」では無処理 (種子温湯消毒のみ) 区で発病苗率 10.9%、枯死苗率は 1.0%で、「彩のきずな」に比較し苗腐敗症の発生が多かった。本田防除体系を箱粒剤+オキシロニック酸水和剤2回散布とした場合の防除価は 42.1 で、やや低い効果が認められた。本田防除体系を箱粒剤+銅水和剤1回散布の場合は防除価が 21.9 で、効果が低かった。

表4 「彩のきずな」採種種子の苗立ち率および苗腐敗症の発生程度

防除体系	苗立ち率 (%)	発病苗率 (%)	枯死苗率 (%)	発病度	防除価 (病苗率)
箱施薬+銅 塩基性塩化銅)wp.	98.7 n.s.	1.52 ab	0.34 n.s.	1.01	44.1
箱施薬+オキシロニック酸wp.	99.3	0.93 a	0	0.70	65.9
無処理 種子温湯消毒のみ)	98.2	2.72 b	0.51	2.04	-

注) 異なる英小文字間に有意差あり arcsin変換後の値を用いて検定 (FischerのLSD法,  $p < 0.05$  ) .

表5 「彩のかがやき」採種種子の苗立ち率および苗腐敗症の発生程度

防除体系	苗立ち率 (%)	発病苗率 (%)	枯死苗率 (%)	発病度	防除価 (病苗率)
箱施薬+銅 塩基性塩化銅)wp.	97.4 a	8.54 ab	0.94 n.s.	6.67	21.9
箱施薬+オキシロニック酸wp.	97.2 ab	6.34 a	0.52	4.51	42.1
無処理 種子温湯消毒のみ)	99.0 b	10.94 b	1.01	8.08	-

注) 異なる英小文字間に有意差あり arcsin変換後の値を用いて検定 (FischerのLSD法,  $p < 0.05$  ) .

防除価: 苗腐敗症の調査基準を、0=健全、1=苗の奇形または白化、2=葉鞘・葉身に褐変、3=全体腐敗または枯死 とし、 $[\sum (\text{階級値} \times \text{個体数}) \div (\text{調査個体数} \times 3)] \times 100$ で算出

(様式1)

#### 4. 考察

減農薬栽培のための効率的な防除体系として、もみ枯細菌病を種子粕の温湯浸漬、移植時の箱粒剤および本田散布で対応する場合、箱施用薬剤としてジノテフラン・トルプロカルブ粒剤を50g/箱処理して移植し、出穂期前後のオキシリニック酸水和剤1,000倍液の2回散布で、本田での発病を大きく抑制できると考えられた。本田散布剤を銅（塩基性塩化銅）2,000倍液の出穂前1回散布でも防除効果は得られるが、十分ではないと考えられた。

採種生産では減農薬栽培を前提としていないが、本病が種子伝染性であることを考慮して、本田での防除体系ごとの種子収量および品質を検討した結果、収量についてはいずれの体系も本県の基準収量380kg/10aを確保できること、本田散布剤はオキシリニック酸水和剤としたほうが、より多収となると考えられた。採種種子の発芽率および苗立率については、検討した防除体系では差がほとんどなく、実用上の問題とはならないと考えられる。一方、育苗期間中の苗腐敗症に対しては本田散布剤として銅水和剤1回よりもオキシリニック酸水和剤2回のほうが適すると考えられた。ただし、その効果は、品種によっては十分でないと考えられた。

#### 5. 今後の課題

年次変動をふまえた検証が必要である。

#### 6. 要約

「彩のきずな」「彩のかがやき」を対象に、農薬の使用成分数を6成分とした減農薬栽培による移植時粒剤処理と本田防除の体系防除の効果を検討した。もみ枯細菌病に対し、ジノテフラン・トルプロカルブ粒剤50g/箱を移植当日に処理し、本田防除は出穂期および穂揃期にオキシリニック酸水和剤1,000倍を2回散布することで高い防除効果が得られた。採種種子の収量、発芽率、苗立率は実用的であったが、苗腐敗症の発生抑制には十分ではなかった。

#### 7. 成果の公表及び特許

関東東海北陸農業試験研究推進会議病害虫部会 病害・虫害研究会 (2019.10.23、つくば市)

関東東山病害虫研究会第67回研究発表会 (2020.2.28、浜松市、予定)

## 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（４）

～イネばか苗病等に対する温湯処理と食酢、生物農薬等を組み合わせた効果の高い体系処理の検証～

氏名 中島 宏和、内田 英史

所属 長野県農業試験場

[〒382-0072 住所 長野県須坂市小河原 492]

### 1. 調査背景と目的

水稻栽培においては、減農薬栽培に対応した防除方法として温湯処理や生物農薬が普及しているが、単用では効果が不安定な場合があり、ばか苗病をはじめとした種子伝染性病害が各地で問題となっている。そこで、既存の種子消毒技術および新規の資材や防除法を組み合わせた体系防除技術の有効性を検証する。また、これらの防除方法は化学合成農薬と作用機作が異なるため、耐性菌発達リスクの低減につながる。種子生産圃場またはその周辺圃場での使用を想定して、育苗期のみならず本田期における防除効果を併せて評価する。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）イネばか苗病

##### 1) 試験内容

処理NO.	浸種前処理	催芽時処理	略称
1	温湯処理 60°C10分	—	60°C10m
2	温湯処理 60°C15分	—	60°C15m
3	事前乾燥+温湯処理 65°C10分	—	65°C10m
4	—	過酢酸製剤 300倍 24時間浸漬	過酢酸
5	—	タラロマイセスフラバス水和剤 200倍 24時間浸漬	タラロ
6	—	トリコデルマトロピリデ水和剤 (DJ) 200倍 24時間浸漬	DJ
7	タンニン鉄重量比5%種子塗抹	—	タンニン鉄
8	温湯処理 60°C10分	醸造酢液剤 100倍 24時間浸漬	湯+酢
9	温湯処理 60°C10分	過酢酸製剤 300倍 24時間浸漬	湯+過酢酸
10	温湯処理 60°C10分	タラロマイセスフラバス水和剤 200倍 24時間浸漬	湯+タラロ
11	温湯処理 60°C10分	トリコデルマトロピリデ水和剤 (DJ) 200倍 24時間浸漬	湯+DJ
12	金属銀水和剤 400倍 24時間浸漬	—	銀
13	イプロナゾール銅水和剤 200倍 24時間浸漬	—	イプCu
14	温湯処理 60°C10分 + イプロナゾール銅水和剤 200倍 24時間浸漬	—	湯+イプCu

## 2) 試験条件

試験場所：長野県農業試験場内ガラス室

供試籾：コシヒカリ（平成30年産の自然感染籾または開花期接種籾を一定割合で健全籾に混和）

管理工程：浸種前処理後15°Cで5日間程度浸種。催芽・播種後、恒温器内に入れ28°Cで2～3日間出芽させ、その後はガラスハウスで管理した。なお、籾の事前乾燥処理は籾水分が9%程度になるように通風乾燥機で60°C5時間程度処理した。

浴比：浸種前処理は1：1（籾：液）、催芽時処理は1：2（籾：液）

供試培土：しなの培養土1号

区制・面積：1区育苗箱の1/25大プラスチックカップ 3反復 播種量8g/区

育苗環境：ガラスハウス内に設置された水槽内に各育苗箱を静置し、1日2回底面灌水した。温度設定は30°Cで天窓開、15°Cで加温とした。

調査方法：播種3～4週間後に各区全苗について枯死苗数、徒長苗数、健全苗数を調査し、枯死苗数、徒長苗数の合計を発病苗率とした。発病苗率から防除価を算出した。

薬害は随時肉眼で観察した。

なお、試験年月日等の詳細な試験条件は各図の脚注に記載した。

## 3) タンニン鉄の処理条件の検討

予備試験において種子伝染性病菌に対して活性が認められたタンニン鉄の処理条件を検討した。

使用資材：鉄は硫酸鉄（Ⅱ）七水和物、タンニンはタンニン酸を使用

処理条件：浸種前種子コーティング；タンニン鉄は各資材を籾重量比1%、5%、10%で処理  
単用として鉄5%、タンニン5%で処理

浸種後催芽前の種子コーティング処理；各資材の籾重量比1%、5%

処理方法：資材を籾に添加して蒸留水を籾重量の25%滴下し1分程度混和後、十分に風乾した。

催芽時処理は浸種液を切って各資材を1分程度混和後、十分に風乾した。

苗試験：上記2)の条件に従って試験を実施した。

## 4) 本田における発病調査

各処理の本田における効果の持続程度を検討するため、処理苗を移植後、定期的に本田での徒長株および枯死株を調査した。

試験場所：長野県農業試験場内圃場

供試籾：コシヒカリ（平成30年産開花期接種籾の重量比40%を平成30年産自然感染籾に混和）

育苗条件：播種量は150g/箱で1処理3箱、移植直前に徒長苗数を調査した。徒長苗は除去せずに圃場に移植した。

本田調査：1処理45㎡区内の全株（約1000株）について、移植1ヵ月後から約2週間毎に徒長株数および枯死株数を継続調査した。

(2) もみ枯細菌病（苗腐敗症）；記載箇所以外の条件はばか苗病と同様

1) 試験条件

供試籾：コシヒカリ（令和元年産の開花期接種籾を一定割合で健全籾に混和）

管理工程：催芽、出芽温度 32℃

調査方法：各区全苗について、下記の基準に従い発病程度別に発病の有無を調査し、発病苗率および次式により発病度を算出した。

発病程度指数 枯死苗・萎凋苗；3、重症苗（罹病苗のうち草丈が健全苗の 1/3 未満）；

2、軽症苗（罹病苗のうち草丈が健全苗の 1/3 以上）；1、健全；0

発病度 =  $\{ \sum (\text{発病程度別苗数} \times \text{指数}) \div (\text{調査苗数} \times 3) \} \times 100$

防除価は発病度から算出した。

### 3. 調査結果

(1) 各処理の単用および体系処理のばか苗病（育苗期）に対する効果

今回の試験では体系防除の効果向上の程度を明らかにするために、自然感染籾 100%、開花期接種籾 50%混和籾と強汚染籾を供試したため、全ての試験で無処理の発病は多〜甚発生となった。

いずれの試験においても、温湯処理と催芽時処理（醸造酢液剤、過酢酸製剤、タラロマイセスフラバス水和剤、トリコデルマトロビリデ水和剤（DJ））の体系防除では明らかな相乗効果があり、化学農薬であるイプコナゾール銅水和剤と比較するとほぼ同等〜やや劣り、金属銀水和剤とほぼ同等の高い効果が認められた（図 1〜4）。

温湯処理では事前乾燥 65℃10 分処理は 60℃10 分処理と比較して 1 事例のみ効果の向上が認められたが、3 事例では明らかな効果向上は認められなかった（図 1〜4）。

単用処理では今回のような強汚染籾を供試した場合、効果が劣る事例が多かった（図 1〜4）。

タンニン鉄の浸種前処理では、処理濃度と効果の関係が明瞭ではなかったが、5%処理で見ると、鉄とタンニン酸の単用と比較して相乗効果が認められた（図 5）。ただ、1 試験のみの結果であり、今後試験を重ねることが必要である。

全ての試験を通じて実用上問題となるような薬害はなかったが、金属銀水和剤では生育が抑制される（苗丈が短い）傾向で根上がりが生じる場合があった。

(2) 各処理（単用、体系）のばか苗病に対する本田における評価

各処理の単用および体系処理の移植直前のばか苗病に対する効果は、少発生条件であったが、前述の育苗期の試験結果とほぼ同等であった。ただ、金属銀水和剤の効果がやや低めであった。なお、全ての処理で薬害は見られなかった。

本田における徒長株率の推移をみると移植 1 ヶ月後に最も高くなり、以後徐々に減少した（データ省略）。枯死株率は出穂期頃まで徐々に増加した。各処理の枯死株に対する効果は育苗期の発病苗率に対する効果と相関関係が見られたが、トリコデルマトロビリデ水和剤（DJ）は傾向が異なり、移植時の発病が少ない割に本田での枯死株率が多かった（図 6）。

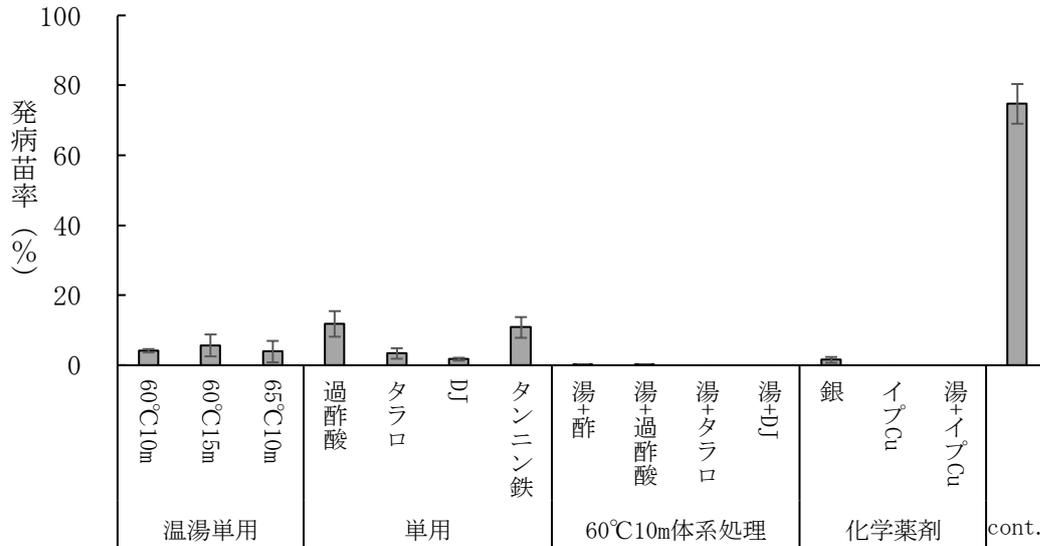


図1 各処理の単用または体系処理の自然感染籾のばか苗病に対する効果 (1)

対象病害の発生状況：多、供試籾：自然感染籾 100%、区制・面積：1区育苗箱の1/25大プラスチックカップ 3反復、播種量：8g/区、温湯処理および浸種前処理：10月17日15°C24時間、浸種：10月18日～24日15°C、催芽：10月24～25日28°C24時間、播種：10月25日、出芽：10月25～28日28°C、緑化：10月28～29日25°C、以降はガラスハウスで通常管理、調査：11月22日（播種28日後）

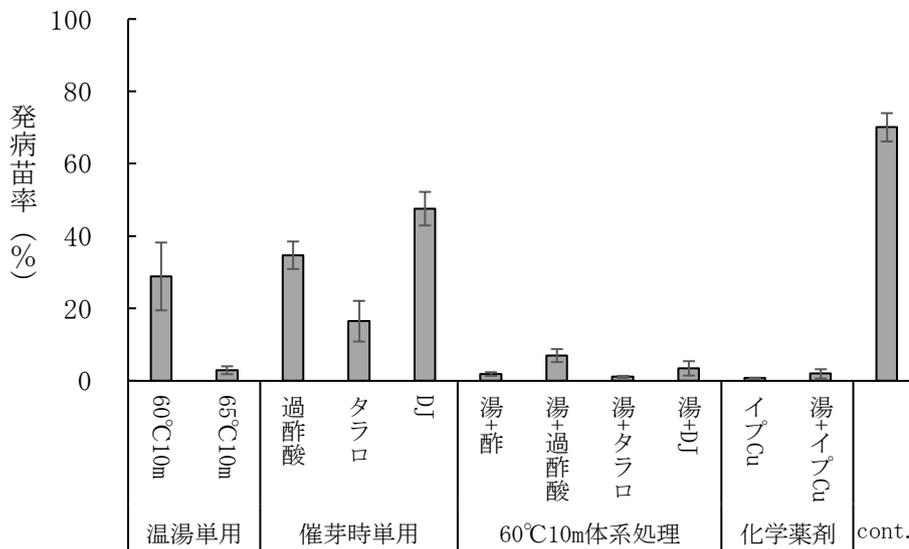


図2 各処理の単用または体系処理自然感染籾のばか苗病に対する効果 (2)

対象病害の発生状況：多、供試籾：自然感染籾 100%、区制・面積：1区育苗箱の1/25大プラスチックカップ 3反復、播種量：8g/区、温湯処理および浸種前処理：4月11日15°C24時間、浸種：4月12日～17日15°C、催芽：4月17～18日28°C24時間、播種：4月18日、出芽：4月18～20日28°C、以降はガラスハウスで通常管理、調査：5月17日（播種29日後）

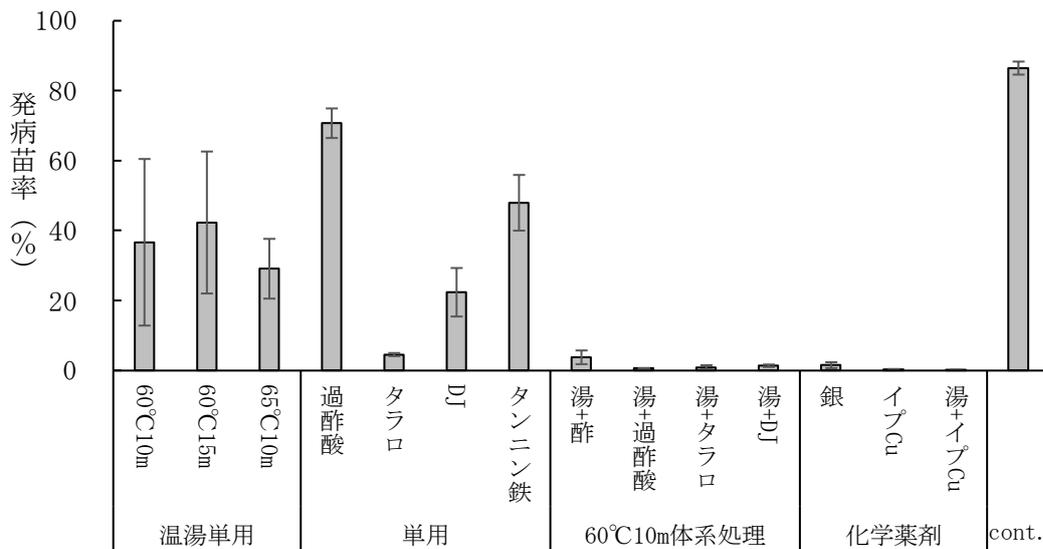


図3 各処理の単用または体系処理の開花期接種籾のばか苗病に対する効果 (1)

対象病害の発生状況：多、供試籾：開花期接種籾 50%を健全籾に混和、区制・面積：1区育苗箱の 1/25 大プラスチックカップ 3 反復、播種量：8g/区、温湯処理および浸種前処理：10月17日 15°C24時間、浸種：10月18日～24日 15°C、催芽：10月24～25日 28°C24時間、播種：10月25日、出芽：10月25～28日 28°C、緑化：10月28～29日 25°C、以降はガラスハウスで通常管理、調査：11月14日（播種20日後）

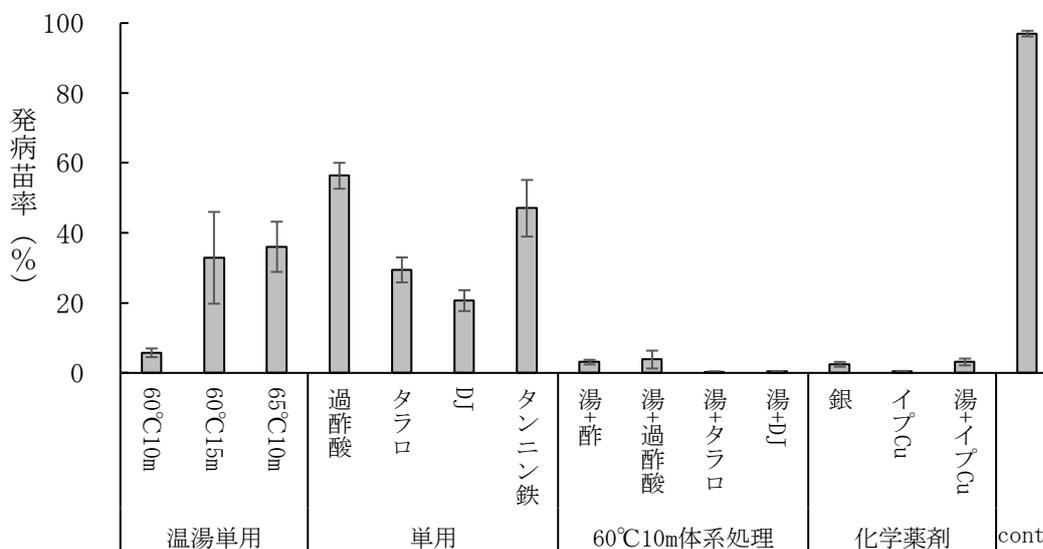


図4 各処理の単用または体系処理の開花期接種籾のばか苗病に対する効果 (2)

対象病害の発生状況：甚、供試籾：開花期接種籾 50%を健全籾に混和、区制・面積：1区育苗箱の 1/25 大プラスチックカップ 3 反復、播種量：8g/区、温湯処理および浸種前処理：11月7日 15°C24時間、浸種：11月8日～13日 15°C、催芽：11月13～14日 28°C24時間、播種：11月14日、出芽：11月14～17日 28°C、緑化：11月17～18日 25°C、以降はガラスハウスで通常管理、調査：12月6日（播種22日後）  
播種時にビビフルフロアブル（矮化剤）の20倍希釈液をカップ当たり20ml灌注した。

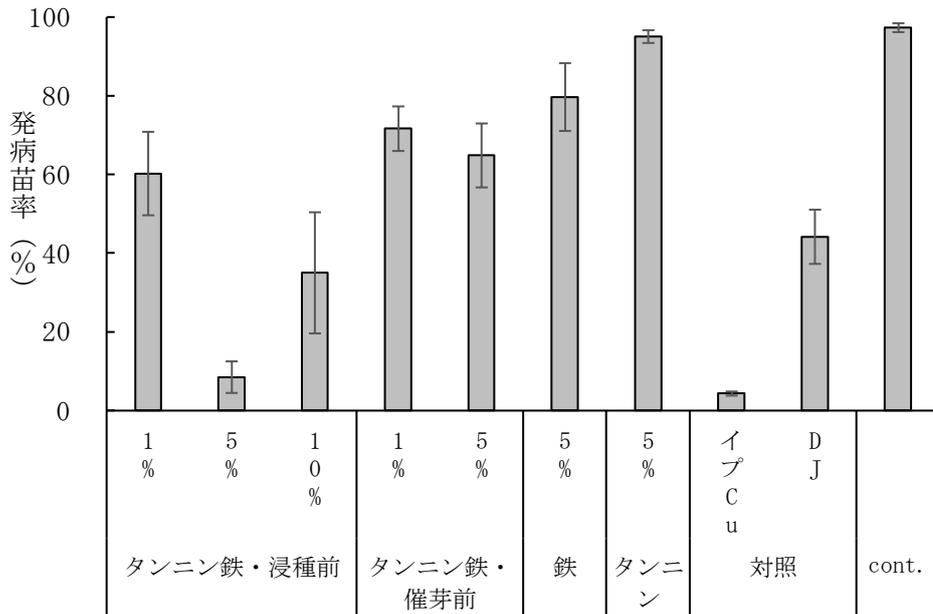


図5 処理方法別のタンニン鉄のばか苗病に対する効果

対象病害の発生状況：甚、供試籾：自然感染籾50%を健全籾に混和、区制・面積：1区育苗箱の1/25大プラスチックカップ3反復、播種量：8g/区、温湯処理および浸種前処理：7月18日15°C24時間、浸種：7月19日～23日15°C、催芽：7月23～24日28°C24時間、播種：7月24日、出芽：7月24～26日28°C以降はガラスハウスで通常管理、調査：8月11日（播種18日後）  
播種時にピビフルフロアブル（矮化剤）の20倍希釈液をカップ当たり20ml灌注した。

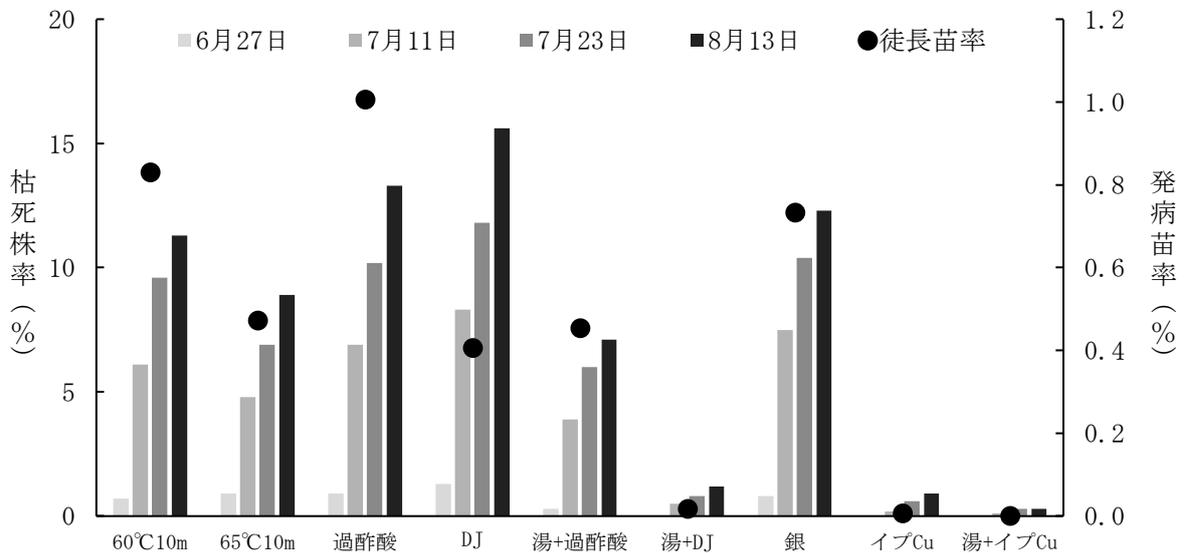


図6 各処理の単用または体系処理の本田及び育苗期のばか苗病に対する効果の関係

対象病害の発生状況：少～中、温湯処理および浸種前処理：5月1日15°C24時間、浸種：5月1日～6日15°C、催芽：5月6～7日28°C24時間、播種：5月7日、出芽：5月7～10日28°C以降はガラスハウスで通常管理、苗調査：5月27日（播種20日後）、移植：5月28日 出穂期8月11日

(3) 各処理の単用および体系処理のもみ枯細菌病（苗腐敗症）に対する効果

多発～甚発生条件の試験から、単用処理でみると金属銀水和剤≧トリコデルマアトロビリデ水和剤（DJ）>過酢酸製剤≧タンニン鉄の順で効果が見られ、いずれも実用的な効果と判断された。過酢酸製剤、タンニン鉄の苗腐敗症に対する効果は、ばか苗病に対する効果より高い傾向が認められた。イプコナゾール銅水和剤は効果が低めであった。

温湯処理では処理温度を上げるほど効果が高まる傾向が見られたが、甚発生条件下では事前乾燥 65°C10 分処理でも高い効果は得られなかった。

温湯処理と催芽時処理の体系処理をみると、ばか苗病と異なり、いずれの処理においても明らかな相乗効果は認められなかった。

タンニン鉄では図 7 の試験で出芽数が対照のイプコナゾール銅水和剤と比較して 17%程度低下した。また、金属銀水和剤では生育が抑制される（苗丈が短い）傾向で根上がりが生じる場合があった。その他の処理では、実用上問題となるような薬害はなかった。

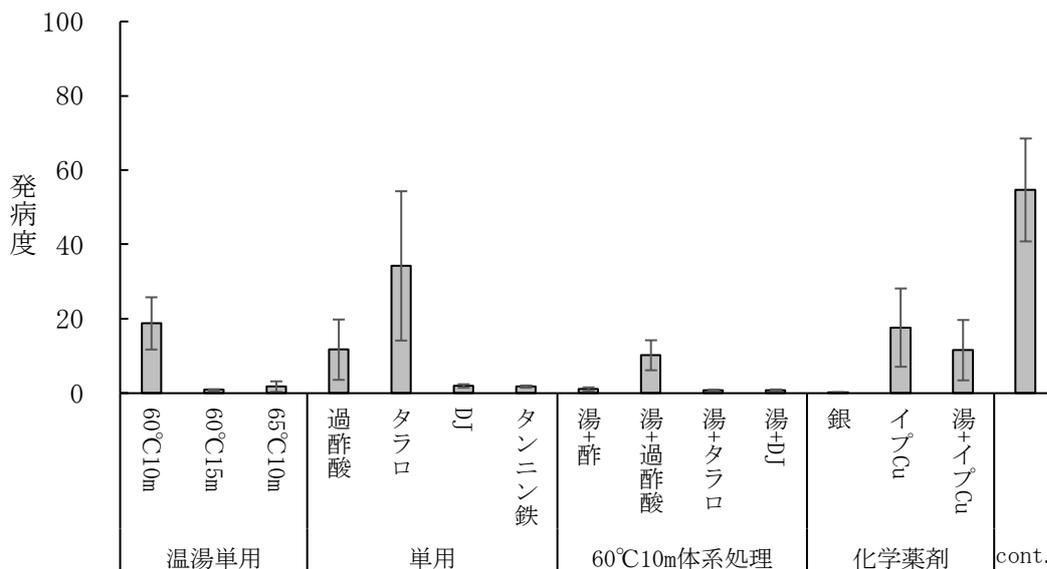


図 7 各処理の単用または体系処理のもみ枯細菌病に対する効果 (1)

対象病害の発生状況：多、供試籾：開花期接種籾 3%を健全籾に混和、区制・面積：1 区育苗箱の 1/25 大プラスチックカップ 3 反復、播種量：8g/区、温湯処理および浸種前処理：12 月 3 日 15°C24 時間、浸種：12 月 4 日～9 日 15°C、催芽：12 月 9～10 日 32°C24 時間、播種：12 月 10 日、出芽：12 月 10～12 日 32°C、緑化：12 月 12～16 日 25°C、以降はガラスハウスで通常管理、調査：12 月 24 日（播種 14 日後）

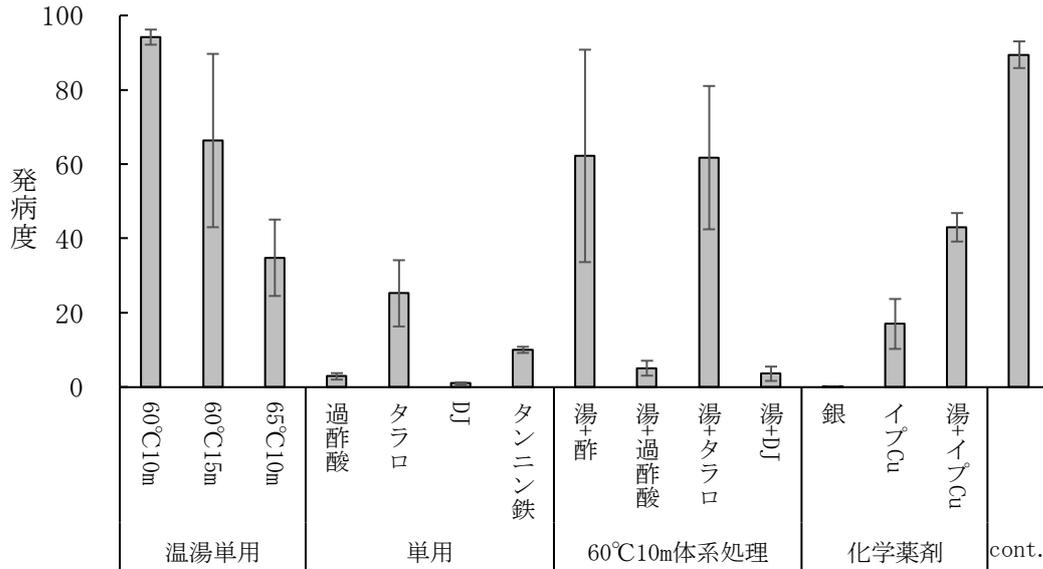


図8 各処理の単用または体系処理のもみ枯細菌病に対する効果（2）

対象病害の発生状況：甚、供試籾：開花期接種籾10%を健全籾に混和、区制・面積：1区育苗箱の1/25大プラスチックカップ 3反復、播種量：8g/区、温湯処理および浸種前処理：10月31日15°C24時間、浸種：11月1日～7日15°C、催芽：11月7～8日32°C24時間、播種：11月8日、出芽：11月8～10日32°C、緑化：11月10～11日25°C、以降はガラスハウスで通常管理、調査：11月29日（播種21日後）

#### 4. 考察

- (1) 今回の試験では体系防除の効果向上の程度を明らかにするために、いずれも強汚染籾を供試したため、全ての試験が多～甚発生条件での試験となった。
- (2) ばか苗病に対しては、温湯処理と催芽時処理（醸造酢液剤、過酢酸製剤、タラロマイセスフラスバ水和剤、トリコデルマトロビリデ水和剤（DJ））の体系防除では明らかな相乗効果があり、イプコナゾール銅水和剤、金属銀水和剤と比較するとやや劣る～ほぼ同等の高い効果が認められた。一方、苗腐敗症に対しては、いずれの体系処理においても明らかな相乗効果は認められなかった。今回のような強汚染籾を供試した場合、苗腐敗症の試験では60°C10分の温湯処理単用の効果が低く、他の単用処理で効果が高かったため、体系処理によって相乗効果が得られなかったと考えられる。
- (3) 温湯処理での事前乾燥65°C10分処理は、ばか苗病に対して60°C10分処理と比較して効果向上が認められなかった。また、苗腐敗症においても処理温度を上げるほど効果が高まる傾向が見られたが、甚発生条件下では事前乾燥65°C10分処理でも高い効果は得られなかった。
- (4) ばか苗病に対する単用処理では、今回のような強汚染籾を供試した場合、効果が劣る事例が多かった。一方、苗腐敗症に対しては金属銀水和剤≧トリコデルマトロビリデ水和剤（DJ）>過酢酸製剤≧タンニン鉄の順で効果が見られ、いずれも実用的な効果と判断された。イプコナゾール銅水和剤は効果が低めであった。

過酢酸製剤およびタンニン鉄は、ばか苗病よりも苗腐敗症で高い効果が認められた。また、タンニン鉄は1事例で葉害が認められたことから、今後処理法について検討の余地があると思われる。

- (5) ばか苗病において処理苗の本田における発病は、過去の事例からもかなり長期間にわたる。イプコナゾール銅水和剤のような浸透性の高い薬剤は、イネ体中の菌をほぼ死滅させるため、本田における発病はほとんど見られない。温湯処理は処理時の殺菌効果しかなく、生物農薬も移植後水中のなかで急速に活性が低下し、ばか苗病菌の生育が優る株が生ずることから、移植後、発病株が発生することがある。今後、これらの処理法を使用する際は、本田での効果も併せて考慮する必要があると思われる。
- (6) 金属銀水和剤の育苗期の試験で見られた生育抑制は圃場に移植する際の箱育苗の試験では見られなかった。育苗期の試験は秋～冬期に実施しているため、低温によって生育抑制が助長された可能性が考えられた。また、金属銀水和剤の発病苗率は、全処理の中で相対的な比較をすると、育苗期の試験では効果が高い処理であるが、圃場に移植する際の箱育苗の試験では、効果が低い処理になる。この原因として、育苗期の試験では薬害によってばか苗病の発病が見かけ上少なくなった可能性がある。
- (7) 供試籾の種類や試験手法によって得られる結果が異なることがある。今回は強汚染籾を供試し試験を実施したが、目的にあった試験法を検討することは重要である。

## 5. 今後の課題

ばか苗病の本田での発病に対する防除効果の簡易な評価方法の検討  
各病害について少～中発生条件での各処理の防除効果の検証

## 6. 要約

全ての試験で強汚染籾を供試して多～甚発生条件となった。ばか苗病に対する単用処理では効果の低い事例が多かったが、温湯処理と催芽時処理（醸造酢液剤、過酢酸製剤、タラロマイセスフラバス水和剤、トリコデルマアトロビリデ水和剤（DJ））の体系防除では明らかな相乗効果が認められた。苗腐敗症に対しては単用処理でも実用的な効果が認められ、金属銀水和剤≧トリコデルマアトロビリデ水和剤（DJ）>過酢酸製剤≧タンニン鉄の順で効果が高かった。事前乾燥 65℃ 10 分処理は、60℃10 分処理と比較して明らかな効果の向上は見られなかった。

## 7. 成果の公表及び特許

特になし

(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(4)

内田 英史、中島 宏和

長野県農業試験場

[〒382-0072 長野県須坂市小河原 492]

## 1. 調査背景と目的

近年、水稻の温湯消毒処理などの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。これらの種子伝染性病害の防除技術を確立するには、種子や本田での病原菌の汚染実態や発病リスクを把握することが重要となる。そこで、文献等を参考に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し、本田での病害診断や種子での検出を行う際の作業手順を取りまとめる。なお、参画機関間では情報の共有や試験材料を融通するなどの連携体制をとり潤滑な試験の実施をおこなっていく。

## 2. 調査方法

1) 水稻種子伝染性病害を対象に昨年度設計・評価された特異的なプライマーを用いて、長野県農業試験場で分離されている約100菌株の病原菌についてDNAの抽出およびPCRを行い、簡易で高感度なPCR検出法を調査した。ばか苗病菌の簡易診断方法については海外で報告されている Translation Elongation Factor 1 $\alpha$  (TEF-1 $\alpha$ ) 遺伝子を標的に設計された BknF2/BknR4、BknF3/BknR4 を用いて評価した。Internal control としては、糸状菌共通プライマー(NS1/NS2 primers; White et al. 1990 : 昨年度評価済み)を用いた。

DNAについてはインスタジーンマトリックス(バイオラッド社)に分離菌株を白金耳で掻き取り懸濁、熱処理し粗抽出液を調製しPCRのテンプレートとした。PCR試薬は、KOD One (TOYOBO)を使用し、PCR条件は98°C/10秒→60°C/10秒→68°C/10秒(35サイクル)で行った。

2) 開花期接種糲混和率を5%、1%、0.5%、0.25%と設定したこれらの混合糲を滅菌蒸留水で25°C、3日間振とう培養(100rpm)し、その浸種液をインスタジーンマトリックスで処理しPCRのテンプレートとした。

## 3. 調査結果

1) BknF2/BknR4、BknF3/BknR4 両方とも増幅かかっていたが、BknF3/BknR4のプライマーセットの方が若干安定的であったため今後はBknF3/BknR4を用いてばか苗病菌の検出に用いることとした。

2) 長野県内で2018年に分離されたばか苗病菌66菌株について糸状菌検出共通プライマーとばか

(様式 1)

苗病菌検出プライマーをマルチプレックス PCR で解析した (表 1)。

表1 :長野県内で分離されたばか苗病菌の判定結果

	判定結果 糸状菌 プライマー/ばか苗 プライマー)			計
	+/+	+/-	-/-	
病徴有り	51	0	0	51
病徴無し	13	2	0	15
計	64	2	0	66

この結果、病原性のあるものについてはすべての菌株でばか苗病菌検出プライマーでバンドが確認された。病原性が見られなかった 15 菌株のうち 13 菌株に関してはばか苗病菌検出プライマーでバンドが確認されたものの 2 菌株についてはバンドが確認されなかった。

3) 浸種液を用いた検出では糸状菌検出共通プライマー、ばか苗病菌検出プライマー共に PCR がかからずより感度・特異性の高いリアルタイム PCR でもばか苗病菌検出を試みたが増幅は見られなかった。

#### 4. 考察

- ・ BknF2/BknR4 でばか苗菌を判定することは可能であることが分かった。
- ・ 長野県内で分離された病原性のある菌株については全てばか苗病菌であることが判明した。
- ・ 病原性のない菌株については 15 菌株中 13 菌株についてはばか苗病菌であることが分かったが病原性がないことからフモニシン生産型の菌株であると考えられる。病原性のない菌株のうち 2 菌株についてはばか苗病菌である可能性は低いか、あるいは Bkn プライマーでの増幅が芳しくなかった可能性が考えられる。
- ・ 浸種液を用いた検討ではばか苗病菌は検出することができなかった。考えられる原因としては  
①DNA の抽出不良  
②浸種液に含まれる菌量が PCR の検出限界以下であったこと  
の 2 点が考えられる。(※なお、生物検定では浸種液の調製に用いたすべての混合粃で発病が認められた)

#### 5. 今後の課題

今後の検討課題としては、①汚染粃からのばか苗病菌の検出の確立②分離されたばか苗病菌がジベレリン生産型/フモニシン生産型かを判別する技術の確立することの 2 点が挙げられる。

①混合粃からのばか苗病菌の検出の確立については、混合粃の懸濁液からいかに効率よくばか苗病菌の DNA を抽出するか、また PCR の感度をどれだけあげられるかが課題となる。

②分離されたばか苗病菌がジベレリン生産型/フモニシン生産型かを判別する技術の確立について

(様式1)

では、ジベレリン生産型/フモニシン生産型を分ける SNP が存在することからこの SNP を SSP (sequence specific primer) で判別できないか検討する。

## 6. 要約

長野県内で分離されたばか苗病菌について TEF-1 $\alpha$  遺伝子を標的にした Bkn プライマーを用いた PCR 法で判定した結果、病原性のあるものについては全てばか苗病菌であることが判明した。

汚染物からのばか苗病菌の検出については、DNA の抽出方法、PCR の感度を改善する必要があることが分かった。

## 7. 成果の公表及び特許

予定はない。