

イネいもち病菌の QoI 剤に対する耐性菌発生状況調査結果

平成 29 年 11 月
栃木県農業環境指導センター

(1) 目的

イネいもち病菌の QoI (Quinone outside inhibitor) 剤耐性菌は、近年、西日本や東北地方で発生が拡大している。栃木県では、平成 28 年に行った耐性菌発生状況調査において、35 検体中 1 検体 (矢板市) で耐性菌が初めて検出された。そこで今年度は、耐性菌の発生実態を明らかにするため、さらに地点を増やし調査を行う。

(2) 検定方法

病斑葉の採集は、栃木県農業環境指導センター及び農業振興事務所により行い、採集方法の違いにより、生葉を用いた液体培地による検定、又は乾燥葉を用いた遺伝子診断による検定を行った。なお、2つの検定で検体は重複していない。

液体培地による検定

「殺菌剤耐性イネいもち病菌対策マニュアル<QoI 剤>」に従う。

①材料

平成 29 年 6～9 月に県内 46 ほ場の発病株から病斑葉を採取し、シャーレ内に低温・湿潤条件で保管した後、顕微鏡下でいもち病菌の胞子を確認したものを検体として即日供した。

②方法

オリサストロビン (最終濃度 100ppm) を含む PDB 液体培地に、表面殺菌した罹病部位を浸漬し、病斑部からの菌糸生育の有無により耐性菌を判定した。判定は培養 5 日目に行った。

遺伝子診断による検定

① 材料

平成 29 年 6～9 月に県内 40 ほ場の発病株から病斑葉を採取し、紙封筒内に乾燥状態で保管後、顕微鏡下でいもち病菌の胞子を確認したものを検体とし、原則として 2 週間以内に供した。

②方法

乾燥した発病葉 1～3 枚からそれぞれ罹病部位を幅 5mm 程度に切断し、まとめて 1 ほ場 1 検体とした。PCR-RFLP 法 (宮川ら, 2013) による検定を行った。罹病部位から抽出した DNA からチトクローム *b* 遺伝子の断片を PCR 増幅し、反応産物を *Fnu4HI* で処理後、酵素による切断の有無をアガロースゲル電気泳動で確認し、耐性菌を判定した。

(3) 結果

液体培地による検定の結果、114 検体 (46 ほ場) のうち 10 検体 (矢板市の 4 ほ場から採取) が耐性菌であり、遺伝子診断による検定の結果、40 検体 (40 ほ場) のうち 1 検体 (大田原市の 1 ほ場から採取) が耐性菌であった (表 1)。

表1 市町別検定結果*1

市町名	耐性菌検出 ほ場数 / 調査ほ場数	液体培地による検定*2 (耐性菌検出/検定数)		遺伝子診断による検定*3 (耐性菌検出/検定数)	
		ほ場	検体	ほ場	検体
那須塩原市	0/2	0/1	0/3	0/1	0/1
大田原市	1/10	0/2	0/7	1/8	1/8
那珂川町	0/2	0/2	0/5	-	-
那須烏山市	0/1	0/1	0/3	-	-
矢板市*4	4/12	4/12	10/26	-	-
さくら市	0/7	0/6	0/15	0/1	0/1
高根沢町	0/1	0/1	0/2	-	-
茂木町	0/3	0/2	0/4	0/1	0/1
市貝町	0/2	-	-	0/2	0/2
益子町	0/1	-	-	0/1	0/1
芳賀町	0/3	-	-	0/3	0/3
真岡市	0/2	0/2	0/2	-	-
宇都宮市	0/13	0/5	0/15	0/8	0/8
上三川町	0/1	-	-	0/1	0/1
日光市	0/2	0/1	0/2	0/1	0/1
鹿沼市	0/4	0/2	0/7	0/2	0/2
下野市	0/2	0/2	0/6	-	-
小山市	0/1	-	-	0/1	0/1
栃木市	0/6	0/2	0/7	0/4	0/4
佐野市	0/2	0/2	0/4	0/5	0/5
足利市	0/4	0/3	0/6	0/1	0/1
計	5/86	4/46	10/114	1/40	1/40

※1 液体培地による検定と遺伝子診断による検定では、検体の重複はない。

※2 菌系の生育が見られた場合に耐性菌とする。

※3 制限酵素により切断された場合に耐性菌とする。

※4 昨年耐性菌が確認された矢板市については、重点的に調査を実施した。