

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

令和 2 (2020) 年 3 月
栃木県農業環境指導センター

1 目的

イネいもち病の QoI 剤（ストロビルリン系殺菌剤）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 (2016) 年度に実施した耐性菌発生状況調査により、矢板市で初確認され、平成 29 (2017) 年度は矢板市、大田原市で確認された（栃木県農業環境指導センター (2016, 2017)）。これらをうけ、現在本県では本病 QoI 剤耐性菌のまん延を防止するため、水稻作における QoI 剤の使用制限（本剤を含む箱施用剤使用中止、本田使用 1 回まで）を実施している。令和元 (2019) 年度は、県内の本病 QoI 剤耐性菌の発生状況について調査する。

2 材料および方法

(1) 供試菌株

令和元 (2019) 年 7～8 月に、県内 14 市町の水稲ほ場（31 地点）から採取したいもち病発病葉・発病穂から常法により本病菌を分離し、単菌糸分離によって得られた 62 菌株を供試した。

(2) 検定方法

① 薬剤添加培地による薬剤感受性検定

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 (2019) の「殺菌剤耐性イネいもち病菌対策マニュアル<QoI 剤>」に準じて行った。すなわち、PDA 培地に検定薬剤（アズキシストロビン水和剤（商品名：アミスター20 フロアブル））を 100ppm 添加し、さらに AOX（代替酸化酵素）阻害剤としてサリチルヒドロキسام酸（SHAM）を最終濃度が 1mM になるように加用し、平板培地を作成した。供試菌株をあらかじめ PDA 平板培地上で 7 日間前培養した後、菌叢を直径 4mm に打ち抜き、菌叢面が培地に接触するように検定培地に置床した。25℃で 3 日間培養後、菌糸生育の有無で判定を行った。検定は 3 反復で実施した。

② PCR-RFLP 法による遺伝子診断

薬剤添加培地による薬剤感受性検定により耐性菌と判定された菌株については、宮川ら (2013) の方法に準じた PCR-RFLP 法による遺伝子診断を併せて行った。すなわち、各菌株から抽出した DNA を用いてイネいもち病菌のチトクローム *b* 遺伝子増幅プライマー-KES415/KES416 により PCR を行い、得られた反応産物を制限酵素 *Fnu*4HI で処理後、アガロースゲル電気泳動を行い、バンドパターンにより耐性菌の判定を行った。

3 結果

薬剤添加培地による薬剤感受性検定の結果、供試した 62 菌株のうち、2 菌株（宇都宮市、鹿沼市の各 1 地点の合計 2 地点から採取）が耐性菌であった（表 1）。PCR-RFLP 法による遺伝子診断でも同様の結果となった。

4 引用文献

- ・国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 (2019)：殺菌剤耐性イネいもち病菌対策マニュアル<QoI 剤>
- ・宮川典子・富士真 (2013)：第 23 回殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム講演要旨集：25-36.
- ・栃木県農業環境指導センター (2016)：平成 28 年植物防疫年報：218.
- ・栃木県農業環境指導センター (2017)：平成 29 年植物防疫年報：216-217.

表1 令和元(2019)年度におけるイネいもち病のQoI剤耐性菌発生状況

採集地	供試菌株数	薬剤検定結果 (耐性菌検出/検定数)	遺伝子診断結果 (耐性菌検出/検定数)	
県北部	那須塩原市 ①	3	0/3	-
	②	3	0/3	-
	③	2	0/2	-
	④	2	0/2	-
	矢板市 ①	2	0/2	-
	②	2	0/2	-
	さくら市 ①	2	0/2	-
	②	2	0/2	-
	③	4	0/4	-
	④	2	0/2	-
	市貝町	1	0/1	-
	芳賀町	3	0/3	-
県中部	真岡市	1	0/1	-
	宇都宮市 ①	3	0/3	-
	②	1	1/1	1/1
	③	1	0/1	-
	上三川町 ①	1	0/1	-
	②	1	0/1	-
	日光市 ①	2	0/2	-
	②	1	0/1	-
	③	2	0/2	-
	④	1	0/1	-
	鹿沼市 ①	2	0/2	-
	②	2	1/2	1/1
県南部	下野市	3	0/3	-
	小山市	2	0/2	-
	壬生町 ①	1	0/1	-
	②	3	0/3	-
	栃木市 ①	1	0/1	-
	②	4	0/4	-
	③	2	0/2	-
	計	62	2/62	2/2

※1) 薬剤検定は3反復で実施した。

※2) 薬剤検定では菌糸の生育が認められた場合に耐性菌と判定した。

※3) 遺伝子診断は薬剤検定で耐性菌と判定した場合に実施した(-は未実施)。

※4) 遺伝子診断では制限酵素処理後のバンドパターンで耐性菌の判定を行った。