ベノミル剤と DMI 剤を混用したイネ種子消毒による 本田のいもち病発病抑制効果

山口純一郎¹⁾・稲田 稔¹⁾・古田 明子¹⁾・鈴木 文彦²⁾・荒井 治喜²⁾・武田 敏幸³⁾
(¹⁾佐賀県農業試験研究センター・²⁾九州沖縄農業研究センター・³⁾JA 全農営農技術センター)

Effect of seed disinfection with a tank mixture of DMI and benomyl on rice blast in paddy fields. Jun-ichirou Yamaguchi¹⁾, Minoru Inada¹⁾, Akiko Furuta¹⁾, Fumihiko Suzuki²⁾, Michiyoshi, Arai²⁾ and Toshiyuki Takeda³⁾ (¹⁾Saga Prefectural Agriculture Research Center, Saga-shi, Saga 840-2205, Japan. ²⁾National Agricultural Research Center for Kyushu Okinawa Region, Koshi-shi, Kumamoto 861-1192, Japan. ³⁾ZEN-NOH Agricultural R & D Center, Hiratsuka-shi, Kanagawa 254-0016, Japan.)

More effective seed disinfection methods to control rice blast are needed due to the occurrence of MBI-D resistant strains of *Pyricularia grisea* in Kyusyu district. Seed disinfection with a tank mixture of DMI (a combination of ipconazole and copper hydroxide) and benomyl was found to be highly effective against seedling rice blast from infected seed. More importantly, in the paddy field where these seedlings were transplanted, the leaf blast was also effectively controlled. The rep-PCR fingerprint analyses showed that most of the isolates obtained from the leaf blast in the paddy field had the same haplotypes as that obtained from the remaining seedlings. These results suggested that leaf blast in the paddy field was effectively prevented by intercepting the import of infected seedlings with transplantation.

Key words : epidemiology, leaf blast, *Oryza sativa*, *Pyricularia grisea*

緒 言

イネいもち病 (病原菌 *Pyricularia grisea* (Cooke) Saccardo) はイネ (*Oryza sativa* L.) の種子伝染性病害であり、罹病種子の防除を徹底することは、本病を総合的に防除する上で非常に重要である。近年普及している長期残効型箱施薬剤の防除効果の不安定性や MBI-D 剤 (Scytalone Dehydratase Inhibitors of Melanin Biosynthesis) 耐性菌の発生要因の一つとして、保菌種子の使用と不完全な種子消毒が指摘されており、種子での防除徹底の重要性が再認識されている (早坂, 2000; 宗ら, 2004)。

種子消毒剤であるベノミル水和剤は、籾表面のみならず、玄米にまで感染したいもち病菌に対して高い殺菌効果を示し、苗いもちに対し高い効果を示す (早坂ら, 2002; 宗ら, 2004; 木村・小川, 2005)。しかしながら、ベノミル耐性ばか苗病菌対策やベノミル剤では種子消毒後に風乾が必要なことから、現状ではベノミル剤よりもいもち病に対してやや効果が劣るものの、

風乾の必要がなく、ばか苗病に高い効果を示す DMI 剤 (Sterol demethylation inhibitors) が主に使用されている (北村ら, 1982; 稲田ら, 1993)。

そこで、種子消毒を基軸としたいもち病の総合的な防除体系を構築するために、佐賀県で広く用いられている DMI 剤にベノミル剤を混用した種子消毒法について、育苗期に発生するいもち病に対する防除効果と本田での本病発病抑制効果を検討した。

なお、本試験の一部は九州病害虫防除推進協議会の委託により実施した。

材 料 お よ び 方 法

1. 供試種子

佐賀県唐津市相知町の現地農家圃場で2004～2007年の4カ年間、品種「ヒノヒカリ」で試験を実施した。供試種子は、2004～2006年が本田試験圃場の近接圃場で採種したものを、2007年は他地域で採種したものをを用いた。あらかじめ、供試種子50～200粒、3反復を水洗して2%寒天へ置床し、25℃、2日間培養後、光顕

第1表 各種種子消毒処理のイネいもち病罹病種子に対する分生子形成抑制効果

処理区名	種子消毒 ^{a)}	希釈倍数	分生子形成粒率 ^{b)}			
			2004年	2005年	2006年	2007年
			%	%	%	%
IP+B 混用区	イブコナゾール・銅水和剤 +ベノミル水和剤	200 +1,000	0	0	0	0
IP 単用区	イブコナゾール・銅水和剤	200	0	0	0	0
Tr 単用区	オキシリニック酸・トリフルミゾール水和剤	200	0	0.5	0	0
無消毒区	(水浸漬)	—	1.7	0.5	0	0
無処理区	—	—	5.0	1.5	0.5	2.0

a) 品種：ヒノヒカリ，24時間浸漬，風乾なし，50～200粒3反復。 b) 50～200粒，3反復調査，数値は反復の平均値。

観察でいもち病菌分生子形成粒率を調査したものを無処理区に分生子形成粒率とした。その結果，無処理区に分生子形成粒率は2004年5.0%，2005年1.5%，2006年0.5%，2007年2.0%であった（第1表）。

2. 種子消毒

種子消毒の各処理区として，現地慣行で用いられているDMIと銅の混合剤であるイブコナゾール・銅水和剤200倍にベノミル水和剤1,000倍を混用する区（IP+B混用区），またイブコナゾール・銅水和剤200倍区（IP単用区），オキシリニック酸・トリフルミゾール水和剤200倍区（Tr単用区），さらに，水道水浸漬区（無消毒区）を設けた。いずれの処理区にも殺虫剤としてMEP（50%）乳剤1,000倍を混用し，浴比を1：2として2004年，2005年および2007年は5月14日，2006年は5月12日に24時間浸漬を行った。その後は風乾することなく4日間水浸種し，2～3日間の水切りを行って各区5箱の苗箱（60cm×30cm）に播種（2004年および2005年：5月22日，2006年：5月19日，2007年：5月21日）した。なお，種子消毒直後の防除効果をみるために，種子消毒直後の種子を十分水洗し，上述の方法に従い分生子形成粒率を調査した。

3. 苗および残り苗における葉いもち調査

育苗は現地圃場で露地の平床で行った。播種23～28日後に苗箱の葉いもちについて発病苗率を調査し，約200m離れた本田に機械移植（2004年および2005年：6月14日，2006年：6月16日，2007年：6月13日）した。移植後，各苗箱の1/4程度残った苗（以降残り苗と表記）を，再び育苗圃場に戻して，管理と発病の有無の調査を継続した。発病が確認された播種37～43日後（移植13～20日後）に，残り苗の発病苗箱数と発病苗箱で任意の400～500本の苗について発病苗率（%）を調査した。

4. 本田における葉いもちの発生状況調査

前述の育苗圃場から直線で約200m離れた本田にTr単用区を除く3試験区の苗を1区75m²（3m×25m），2反復で機械移植し，その後は現地慣行の一般管理を行った。

葉いもちの初発生日を確認するために，移植から約7日おきに各区任意の800株を対象に発病を調査した。最多発病期（7月下旬～8月上旬）は株全体，8月中旬は上位4葉を対象に400株の発病株率を調査するとともに，40株の株当たり病斑数を調査した。

5. 種子，残り苗の葉いもち，本田の葉いもちから分離したいもち病菌の遺伝子型解析

試験圃場におけるいもち病菌の動態を検討するために，種子，IP単用区の残り苗および本田の葉いもちから分離した菌を対象に*Pot-2* rep-PCR法によるフィンガープリント解析を行った。

種子においては，上記の分生子形成粒率調査に準じた方法によって単胞子分離を行い，分離菌株を得た。残り苗においては，発病調査日にIP単用区で発病が認められた苗箱から発病苗を無作為に採取し，病斑部からの単胞子分離によって分離菌株を得た。試験区で発病が認められなかった2006年については，試験区外ではあるが同一種子でIP剤の種子消毒を行った発病苗5箱から同様に採取した。本田においては，最多発病期の発病調査時に2反復の試験区から無作為に発病葉を採取し，単胞子分離を行い分離菌株を得た。

得られた単胞子分離菌株を，Suzuki et al. (2007)の方法に準拠し，DNAを抽出後，*Pot-2* rep-PCR法によるフィンガープリントパターンに基づく遺伝子型（鈴木，2006）で類別した。

結 果

1. 種子消毒直後における分生子形成状況

いずれの試験年も水浸漬した無消毒区において，無

第2表 各種種子消毒処理の苗の葉いもちに対する防除効果（移植時）

処理区名 ^{a)}	発病苗率（％）			
	2004年 6月14日 (播種23日後)	2005年 6月14日 (23日後)	2006年 6月16日 (28日後)	2007年 6月13日 (23日後)
	%	%	%	%
IP + B 混用区	0	0	0	0
IP 単用区	0	0	0	0
Tr 単用区	0	0	0	0
無消毒区	0	0	0	0

a) 処理区の種子消毒は第1表参照。播種：2004年5月22日、2005年5月22日、2006年5月19日、2007年5月22日。

第3表 各種種子消毒処理の移植残り苗の葉いもちに対する防除効果

処理区名 ^{a)}	2004年 7月4日 (播種43日後) (移植20日後)		2005年 6月28日 (播種37日後) (移植14日後)		2006年 7月2日 (播種44日後) (移植16日後)		2007年 6月26日 (播種39日後) (移植13日後)	
	発病 苗箱数 /5箱	発病 苗率 ^{b)}	発病 苗箱数 /5箱	発病 苗率 ^{b)}	発病 苗箱数 /5箱	発病 苗率 ^{b)}	発病 苗箱数 /5箱	発病 苗率 ^{b)}
	%		%		%		%	
	%		%		%		%	
IP + B 混用区	0	0	0	0	0	0	1 ^{c)}	3.4 ^{c)}
IP 単用区	2	68.0	1	23.0	0	0	1 ^{c)}	3.0 ^{c)}
Tr 単用区	4	25.0	2	25.0	0	0	5	49.7
無消毒区	2	0.3	5	26.0	0	0	5	37.1

a) 処理区の種子消毒は第1表参照。播種日は第2表参照。b) 発病苗箱における平均値。c) 隣接区からの二次発病。

処理区と比較して分生子形成率が低下した（第1表）。特に、2006、2007年は無消毒区でも分生子形成が認められない程低下した。IP + B 混用区、IP 単用区、Tr 単用区は、消毒後の種子で分生子形成が認められず、防除効果が認められた。

2. 苗の葉いもちの発生状況

いずれの試験年も播種23～28日後の苗において、各種子消毒区および無消毒区で苗の葉いもちは認められなかった（第2表）。

播種37～44日後（移植13～20日後）の無消毒区の残り苗において、2006年を除く3カ年発病が認められた。特に2005年と2007年は供試した5箱すべてで、高い苗率での発病が認められた。IP + B 混用区において、2007年の発病は上位葉に限られ、また病斑数は1～数個と少なかったため、隣接苗からの二次伝染による発病と考えられた。このことから、IP + B 混用区の種子由来の発病は4年間認められず、高い発病抑制が認められた。IP 単用区では、2007年の発病はIP + B 混用区と同様に二次伝染と考えられたが、2004と2005年

の2カ年は発病が認められた。さらに、Tr 単用区では2004、2005および2007年の3カ年無消毒区とはほぼ同等の発生が認められ、抑制効果はみられなかった（第3表）。

3. 本田移植後の葉いもちの発生状況

各試験年の葉いもちの本田における発生推移と防除価を第4表に示した。

2004年の移植後の本田において無消毒区の葉いもちの発生は8月1日に認められ、同日の病斑数は2.2個/株と少発生であった。IP + B 混用区の初発生日は無消毒区と同日であったが、防除価は67～80を示した。IP 単用区の初発生日は7月11日と無消毒区より早く、防除効果も認められなかった。

2005年の無消毒区の発病は7月4日に認められ、7月31日の病斑数は11.2個/株と中発生であった。IP + B 混用区の初発生日は無消毒区と同日であったが、防除価は79～71を示した。IP 単用区の初発生日は7月17日で無消毒区より遅く、防除価は48～42を示した。

2006年の無消毒区の発病は7月28日に認められ、8

第4表 各種種子消毒処理の本田における葉いもちに対する防除効果

試験年 処理区 ^{a)}	本田における葉いもちの発生推移 ^{b)}									
	発病株率 ^{c)}				発病 株率 ^{d)}	株当り 病斑数 ^{e)}	防除 価 ^{f)}	発病 株率 ^{d)}	株当り 病斑数 ^{e)}	防除 価 ^{f)}
2004年	7/4	7/11	7/15	7/19	8/1			8/14 ^{g)}		
IP+B混用区	0	0	0	0	39.5	0.7	67	16.0	0.2	80
IP単用区	0	0.1	0.1	0.3	88.0	7.1	0	53.0	2.0	0
無消毒区	0	0	0	0	68.0	2.2		50.0	1.2	
2005年	7/4	7/9	7/17	7/23	7/31			8/15 ^{g)}		
IP+B混用区	0.1	0.0	0.7	13.1	35.5	2.3	79	6.1	0.1	71
IP単用区	0	0	1.1	20.3	60.0	5.8	48	13.4	0.2	42
無消毒区	0.6	0.3	3.0	39.8	76.0	11.2		23.5	0.4	
2006年	7/2	7/15	7/21	7/28	8/4			8/14 ^{g)}		
IP+B混用区	0	0	0	0	0	0	100	1.4	0.0	90
IP単用区	0	0	0	1.5	1.8	0	38	11.3	0.2	5
無消毒区	0	0	0	1.8	3.0	0.1		11.8	0.2	
2007年	7/1	7/8	7/15	7/22	7/29			8/12 ^{g)}		
IP+B混用区	0	0	0.1	1.4	51.3	3.3	94	100.0	15.8	60
IP単用区	0	0	0.3	3.4	73.8	15.6	69	97.5	27.1	32
無消毒区	0	0	0.8	16.5	92.5	50.3	0	100.0	39.6	0

a) 処理区の種子消毒は第1表参照. b) 数字は2反復の平均値. c) 800株調査. d) 400株調査. e) 40株調査. f) 防除価 = (無消毒区株当り病斑数 - 種子消毒区株当り病斑数) × 100 / 無消毒区株当り病斑数. g) 上位4葉調査.

第5表 各時期に分離したイネいもち病菌の遺伝子型

試験年	分離 部位 ^{a)}	菌株計	遺伝子型 ^{b)}							備 考
			Sa2	Sa5	Sa15	Sa30	Sa51	Sa77	他	
2004	種子	8	1	1		1	1		4	近隣圃場補植置き苗分離菌; Sa5 (21菌株)
	残り苗	20					19		1	
	葉(本田)	21	2	2		3	11		3	
2005	種子	8		5			1	1	1	
	残り苗	18						18		
	葉(本田)	15						14	1	
2006	種子	3							3	
	残り苗	6		6						
	葉(本田)	5		5						
2007	種子	3			3					
	残り苗	2			2					
	葉(本田)	12	2	7	2				1	

a) 種子消毒: イブコナゾール・銅水和剤200倍, 24時間浸漬. b) *pot-2* rep-PCR 法によるフィンガープリント解析による遺伝子型(鈴木, 2006).

月4日の発病株率は3%と極少発生であった。IP+B混用区においては8月14日まで発生が認められず、また防除価は100~90を示した。IP単用区において、初発生は無消毒と同一日であり、防除効果は認められなかった。

2007年の無消毒区の発病は7月15日に認められ、7

月29日の病斑数は50.3個/株と多発生であった。IP+B混用区の初発生日は無消毒と同日であったものの、防除価は94~60を示した。IP単用区において、初発生は無消毒区と同日で、防除価は69~32を示した。

4. 種子、残り苗の葉いもち、本田の葉いもちから分離したいもち病菌の遺伝子型

Suzuki et al. (2007) の解析に従い、種子、IP 単用区に残り苗および本田の葉いもちから分離した菌をフィンガープリントパターンによる遺伝子型に類別した(第5表)。遺伝子型は、鈴木(2006)が2002～2005年に佐賀県の葉および穂いもちから分離した菌株を対象に同方法で解析して類別した94種類の遺伝子型(Sa 1～94)により主要なものを表記した。

2004年は、残り苗から分離した20菌株中19菌株がSa51であった。また、本試験とは別の試験圃場から100m離れた近隣の一般圃場において発病した補植用置き苗から分離した21菌株はすべてSa 5であり、残り苗とは別の遺伝子型であった。本田の葉いもちにおいて21菌株中Sa51が11菌株、Sa 5が2菌株であり、残り苗で認められたSa51が優占していた。なお、種子においては分離菌8菌株中、Sa51およびSa 5はそれぞれ1菌株であった。

2005年は、残り苗で分離した18菌株すべてがS77であり、また本田においてもSa77が優占していた。なお、種子においては分離菌8菌株中、Sa77は1菌株であった。

2006年は、残り苗6菌株および本田5菌株すべてがSa 5であった。なお、種子においては分離菌3菌株中、Sa 5は認められなかった。

2007年は、残り苗分離2菌株がSa15であり、また本田12菌株中Sa15は2菌株認められた。なお、種子分離菌3菌株はすべてSa15であった。

考 察

種子はいもち病の第一次伝染源として非常に重要であり、伝染環を絶つ上からも種子消毒の重要性が再認識されている。

ベノミル水和剤をDMI剤であるIP(イブコナゾール・銅水和剤)に混用する種子消毒(24時間浸漬)は、育苗期に発生するいもち病に対し、播種37～44日後まで高い効果を示した。このことから、本種子消毒は、種子由来の苗の葉いもちに対して高い効果を長期間示すことが確認された。さらに、その苗を移植した本田において、初発日の遅延は明らかではなかったが、葉いもちの発生を抑制する防除効果が認められた。

本種子消毒による育苗期の防除効果は、DMI剤であるイブコナゾール剤の防除効果に加えて、ベノミル剤の粉表面のみならず玄米にまで感染した菌への高い殺菌効果(早坂ら, 2002; 宗ら, 2004; 木村・小川, 2005)によって、苗いもちに高い効果を示したと考えられる。さらに、ベノミル剤による育苗期の二次感染

抑制効果(木村・小川; 2005)も働いたと考えられる。

残り苗分離菌で認められた遺伝子型が本田の葉いもち分離菌においても多く存在していた。本田の葉いもち分離菌株の遺伝子型において、残り苗の葉いもちの遺伝子型と同じ型が優占することから、移植期の発病は認めなくても育苗期に感染した苗が移植されることで、本病菌が多く本田に持ち込まれることが示唆された。特に2004年の試験で残り苗での遺伝子型が、育苗圃場よりも近い圃場で分離された菌株の遺伝子型より本田で多く認められることからその可能性は高いと考えられる。

これらのことから、IPにベノミル剤を混用した種子消毒は、育苗期の高い防除効果によって本田への育苗期感染苗の持ち込みを抑制し、本田での葉いもちの発生を抑制すると考えられる。

育苗期感染苗の本田への持ち込みについては、本試験と同様に罹病苗(三上ら, 2000; 笹原ら, 2000)や発病が認められなくとも種子由来の菌(小倉ら, 2000, 2001; 平八重ら, 2000)によって起きることがDNAマーカーを用いた手法によって指摘されている。本試験においては、遺伝子型の解析に加えて、育苗期防除の徹底が本田発生を抑制することからも、育苗期に感染した苗が本田へ持ち込まれて、本田での発生源となることが裏付けられたと考えられる。

ベノミル剤を混用した種子消毒は、同剤の育苗箱灌注(木村・小川; 2005)と比較して簡便であり、また低濃度浸漬処理であるため低コストである。さらに、他系統であるDMI剤との混用であり、耐性菌発生リスクの面からも有効と考えられる。

引 用 文 献

- 早坂 剛(2000) イネ種子玄米に寄生しているいもち病菌に対する種子消毒剤の効果. 北日本病虫研報 51: 9-11.
- 早坂 剛・松浦孝幸・生井恒雄(2002) イネ種子の玄米における侵入いもち病菌の動態と防除. 日植病報 68: 297-304.
- 平八重一之・山口純一郎・口本文孝・藤田佳克・西和文(2000) 分子マーカーによるイネいもち病伝染源の解明. 日植病報66: 107(講要).
- 稲田 稔・山口純一郎・松崎正文(1993) 佐賀県におけるイネばか苗病菌の種子保菌率及び葉剤感受性の推移. 佐賀農セ研報28: 1-10.
- 北村義男・保積隆夫・田中徳己(1982) ベノミル剤耐性イネ馬鹿苗病菌の出現. 日植病報48: 380(講要).

- 木村教男・小川正臣（2005）ベノミル水和剤灌注による育苗期イネいもち病の防除. 日植病報71：111-118.
- 三上綾子・笹原剛志・辻 英明（2000）イネいもち病罹病苗の持ち込みと本田初発の関係. 北日本病虫研報51：290（講要）.
- 小倉玲奈・竹内 徹・白井佳代（2000）苗いもちおよび本田初発病斑から分離されたイネいもち病菌の *Pot2* rep-PCR による DNA フィンガープリント. 北日本病虫研報51：291（講要）.
- 小倉玲奈・西脇由恵・白井佳代（2001）*Pot2* rep-PCR DNA フィンガープリントによるイネいもち病の種子伝染の検討. 日植病報67：194（講要）.
- 宗 和弘・金山正人・山口純一郎（2004）MBI-D 耐性いもち病菌に対する各種種子消毒剤の防除効果. 九病虫研会報：1-5.
- 笹原剛志・三上綾子・辻 英明（2000）補植用取置き苗の放置や罹病苗の本田移植が地域の葉いもち発生に及ぼす影響. 北日本病虫研報51：290（講要）.
- 鈴木文彦（2006）耐性菌の遺伝的多様性と個体群動態. 第16回殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム講演要旨集：51-60.
- Suzuki, F., M. Arai and J. Yamaguchi（2007）Genetic analysis of *Pyricularia grisea* population by rep-PCR during development of resistance to scytalone dehydratase inhibitors of melanin biosynthesis. Plant Dis. 91: 176-184.
- （2009年4月30日受領；7月24日受理）