

## 植物防疫基礎講座

## 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル(21)

## イネ褐条病菌

北海道立中央農業試験場稲作部 <sup>たけ</sup>竹 <sup>うち</sup>内 <sup>とおる</sup>徹

## はじめに

イネ褐条病は、*Pseudomonas avenae* によってイネ苗に発生する細菌病である。循環式催芽器の使用により発病が助長されるため(矢尾板ら, 1988), 本病の発生が問題となっているのは, 本器の使用頻度が高い新潟県と北海道である。

本病は種子伝染性であることから, カスガマイシン液剤の催芽時浸漬及びカスガマイシン粒剤の土壌混和による防除法が確立された(矢尾板ら, 1988)。しかし, 1990年に北海道で育苗中のイネに本病が多発し, これらの中にはカスガマイシン剤による催芽時消毒を行った地点も含まれていたことから, 薬剤耐性の検定を行った結果, カスガマイシン耐性イネ褐条病菌の出現が確認された(竹内・田村, 1991)。ここでは, イネ褐条病菌のカスガマイシンに対する耐性菌の検定方法を紹介するとともに, 今後の問題点についても言及したい。

## 1 病原細菌の分離方法

## (1) 細菌の分離

本病が種子伝染性であることから, 種子の来歴(品種や採種源など)に応じて, 1地点当たり10菌株程度を分離する。

褐色の条斑が葉鞘にみられる褐条病罹病苗の鞘葉部をアルコール消毒した剃刀で5mm程度の長さに取り取り(あまり基部に近い部分は土が付着しているのを避けたほうがよい), 少量の殺菌水とともに乳鉢ですりつぶして, KINGらのB培地(プロテオースペプトン:20g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>:1.5g, MgSO<sub>4</sub>・7H<sub>2</sub>O:1.5g, グリセリン:10ml, 寒天:15g, 水:1,000ml, pH:6.8~7.2)に画線する。25°Cで2~3日間培養後, 単コロニーを釣菌する。必要に応じて単コロニー分離を繰り返す。

イネ種子から分離する場合は, 直接病原細菌を分離するのは困難であるので, まず以下の方法で発病苗を作る。供試種子を浸種, 催芽させてから人工培土を入れた小型育苗箱に播種して育苗する。その際に発病を助長するような条件で育苗を行う必要がある。すなわち, 催芽

時は金魚ポンプなどを使って液を循環させ, 出芽時は加温し, さらに出芽後はビニールなどで被覆するなどの工夫をする。

## (2) 病原性の検定

分離した細菌の病原性は, 以下の方法で確認する。湿った脱脂綿を底に詰めた試験管内に, あらかじめ殺菌後に催芽させた籾を2粒ずつ入れ, 細菌の懸濁液(菌の1白金耳を10mlの殺菌水に懸濁)を注入する。32°C, 1週間後に鞘葉部に褐色の条斑が生じ, 病徴が再現された場合, 接種に用いたものを褐条病菌とする。

## 2 検定方法

## (1) 検定培地の調整

検定には肉エキス・ペプトン寒天培地(肉エキス:5g, ペプトン:10g, NaCl:5g, 寒天:15g, 水:1,000ml, pH:6.8)を用い, あらかじめ溶かして50°C前後に保温しておく。カスガマイシンの原体を蒸留水に溶解した原液またはカスガマイシン液剤を, ろ過滅菌し, それを滅菌水で希釈して, 最終濃度が有効成分として6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200, 400, 800, 1,600 µg/mlとなるように培地に加える。よく振とうしてかき混ぜた後, ペトリ皿に流し込み, 表面を乾かす。

## (2) 検定細菌の接種と培養

肉エキス・ペプトン寒天培地斜面で25°C, 2日間前培養を行った検定細菌を白金耳でかきとって, 殺菌水10mlに懸濁, 10<sup>4</sup>~10<sup>5</sup> cfu/mlに調整する。この1白金耳を上記の検定培地に画線接種後, 25°Cで2日間培養する。試験は3反復で行う。

## (3) 耐性菌の判定

接種した細菌の生育状況から薬剤のMIC(最小生育阻止濃度)を求め, これによって耐性菌を判定する。本菌のカスガマイシンに対する感受性分布は明確な2峰性を示し, MICが25 µg/mlの菌株と1,600 µg/ml以上の菌株とに分けられた(表-1)。矢尾板ら(1988)やHIRAMATSU et al. (1989)の報告でも, カスガマイシンの本菌に対するMICは25 µg/mlとされていることから, 2峰性を示す菌株のうち, 前者が感受性菌, 後者が耐性菌であると考えられた。したがって, 耐性菌か否かの判定だけを目的とする場合には, カスガマイシンの濃度を50~1,600

表-1 イネ褐条病菌のカスガマイシン耐性検定  
(北海道1990年)

採取地点	種子消毒*	MIC( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	
		25	>1,600
滝川市1	—	9**	
秩父別町1	—	14	
長沼町	—	8	
滝川市2	—	14	
滝川市3	+		5
秩父別町2	+		18
秩父別町3	+	6	6
秩父別町4	+		12
栗沢町	+		12

\*カスガマイシン液剤1,000倍液の催芽時浸漬  
(+)または浸漬せず(-)

\*\*菌株数

表-2 イネ褐条病菌に対するカスガマイシン剤の防除効果

接種細菌 処理	発病苗率 (%)
感受性菌 カスガマイシン液剤1,000倍液の催芽時浸漬	1.2
無処理	12.0
耐性菌 カスガマイシン液剤1,000倍液の催芽時浸漬	19.5
無処理	9.3

$\mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲内に設定すれば、検定培地における生育の有無で判定が可能である。その際には薬剤濃度を100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 程度に設定するのが妥当であると考えられる。

### 3 防除効果との関係

実際に感受性菌と耐性菌をイネ種子に接種して、カスガマイシン液剤の1,000倍液催芽時浸漬を行うと、耐性菌接種では明らかな防除効果の低下が認められ(表-2)、薬剤処理区ではむしろ発病が増加する傾向が認められた。

また、薬剤無処理区における発病程度の比較から、感受性菌と耐性菌の病原力には大差がないと推察された。

### 4 今後の問題点

#### (1) 他の細菌病

イネの育苗期に発生する細菌病には、褐条病のほかに *P. glumae* によるもみ枯細菌病(苗腐敗症)及び *P.*

表-3 イネ苗の病原細菌のカスガマイシンに対する感受性

病原細菌	MIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	引用文献
イネ褐条病菌 <i>Pseudomonas avenae</i>	25	矢尾板ら(1988)
	25	HIRAMATSU et al. (1989)
	25*	竹内・田村(1991)
イネもみ枯細菌病菌 <i>P. glumae</i>	50	HIRAMATSU et al. (1989)
イネ苗立枯細菌病菌 <i>P. plantarii</i>	25~50	竹内・田村(1992)

\*感受性菌

*plantarii* による苗立枯細菌病とがあるが、カスガマイシン粒剤の土壌混和が有効である。これらの病原細菌のカスガマイシンに対する感受性は表-3に示したとおりで、褐条病菌とほぼ同程度であるが、細菌病には有効な防除薬剤が乏しいので、今後は褐条病菌と同様に耐性菌の出現に留意する必要がある。

#### (2) 耐性菌対策

北海道でカスガマイシン耐性イネ褐条病菌が出現した地点はいずれも種子消毒にカスガマイシン液剤の催芽時浸漬を行っていたが(表-1)、これらの地点ではまた本田で出穂前後にカスガマイシン系の薬剤の茎葉散布が高頻度で行われていた。最近、出穂期にカスガマイシン系の薬剤を散布することによりイネ褐条病菌の保菌が抑制されたことが報告されている(棚橋ら, 1994)。これは、茎葉散布が種子伝染性病害における耐性菌出現の選択圧になり得ることを示唆する知見であり、採種圃では茎葉散布剤と種子消毒剤との関係にも留意しなければならないだろう。

### 引用文献

- HIRAMATSU, M. et al. (1989): Plant Pathogenic Bacteria, Proc. 7th Int. Conf. Plant Path. Bact.: 219~224.
- 竹内・田村 修 (1991): 日植病報 57: 117~118 (講要).
- (1992): 北海道立農試集報 64: 35~42.
- 棚橋 恵ら (1994): 日植病報 60: 373 (講要).
- 矢尾板恒雄ら (1988): 新潟農試研報 38: 35~43.

## 新刊紹介

### 「ハイテク農業情報 II」

—宇宙から根こぶ病が見えた—

化学工業日報社(株)「今月の農業」編集部編

A5判, 300頁 定価2,500円

「ハイテク農業情報—オレタチの時がきた」に続く二度目の編集企画として発行された。今回は「ハイテク農業情報II—宇宙から根こぶ病が見えた」というサブタイトルで約130課

題を掲載、前回の内容を一新し最新の農業技術をイラスト・写真などを用いわかりやすく解説。農林水産省をはじめとする各研究機関、植物防疫研究者ら、第一線で活躍している専門家が執筆している。今日の農業が抱えている諸問題、環境保全、食糧の安定供給など多くの難問に対し遺伝子工学、コンピュータ等の先端技術がどのような解決への道を模索するのか、さまざまな角度から検証する。内容は「新品種」、「種苗」、「育種」、「バイオテクノロジー」、「栽培」、「生育調整」、「土壌」、「肥料」、「施設」、「機械」、「病害虫・雑草対策と農業」、「食品」、「畜産」、「漁業」に分類され、21世紀をめざした夢の新技術の現状についての報告書である。