特集：QoI剤耐性菌の発生状況とその対策（水稲編）

岡山県におけるQoI剤耐性イネいもち病菌の発生とその対策

岡山県農林水産総合センター　農業研究所　畔柳（くろやなぎ）　泰典（やすのり）・井上（いのうえ）　幸次（こうじ）・森本（もりもと）　泰史（やすし）*
病虫研究室（岡山県病害虫防除所兼務）

はじめに

岡山県では，2003年にMBI-D剤耐性のイネいもち病菌が発生した過去の経験を踏まえ，MBI-D剤と同様にイネいもち病防除に卓効を示し，県内で広く使用されているQoI剤に対する耐性菌の発生および拡大を防ぐため（石井，2012），日本植物病理学会殺菌剤耐性菌研究会（2008）のガイドラインを参考にQoI剤連用防止のための他系統薬剤とのローテーション散布や，採種圃場およびその周辺圃場で使用しない等の対策指導を行ってきた。さらに，農業現場においてQoI剤耐性イネいもち病菌による発病が山口県，島根県，愛媛県で2012年にあいついで報告された（石井，2014）ことを受け，岡山県病害虫防除所では（以下，防除所）2013年4月に植物防疫情報を発表し，耐性菌発生の防止対策の徹底を強く呼びかけ，発生が疑われる事例が見られた場合，速やかに病害虫防除所などの技術指導機関へ情報提供するよう呼びかけた。そうしたところ，早くも同年7月上旬にQoI剤（オリサストロビンを含んだ箱粒剤）を使用したにもかかわらず，いもち病が多発生しているとの連絡を受け，岡山県農林水産総合センター農業研究所（以下，農研）および防除所が，現地調査および薬剤感受性検定を行った結果，耐性菌の発生を認め，防除所が同年8月に植物防疫情報で，いもち病被害拡大の注意，対策を呼びかけた。ここでは，九州病害虫研究会で報告した（畔柳ら，2014）QoI剤耐性イネいもち病菌の発生経緯を中心に，その後の経過や現場の対応について若干の内容を加えて紹介したい。

I　QoI剤耐性菌の発生状況

1　現地調査

2013年7月上旬に，QoI剤であるオリサストロビンを含む箱粒剤を使用したにもかかわらず，いもち病（葉いもち）が多発生していた県内2地域4圃場について，同月中に現地調査を行った。調査対象圃場として他系統箱粒剤を使用した近隣の4圃場を加え，岡山県の水稲予察調査基準に従い発病程度を算出し比較したところ，オリサストロビンを含む箱粒剤を使用した圃場の葉いもち発病程度が，他系統の薬剤を使用した圃場より高い傾向を示し（表-1），他系統剤よりも高い防除価を示すとされる（鳥取県農業試験場，2007）QoI剤に期待される防除効果が，認められなかったことから，QoI剤に対する耐性菌の発生が疑われた。調査圃場ではオリサストロビンを含む箱粒剤を毎年使用しており（耕作者への聞き取り調査による），また，2012年以前の防除所による調査では岡山県のいもち病発生状況が並である年においても，いもち病の被害がほとんど見られず，2013年に初めて多発したことからも，耐性菌の発生によって防除効果が低下した可能性が示唆された。

2　薬剤感受性検定

薬剤感受性検定は，宮川・冨士（2013）を一部改変した寒天希釈平板法と遺伝子検定で行った。菌株は，上記1で現地調査を行った圃場を含む県内3地域の8圃場の葉いもちから単胞子分離した計39菌株を供試した。寒天希釈平板法には，検定薬剤にオリサストロビン原体（BASF社提供）を使用し，濃度は0.1，1.0，10，100 ppmに調整し，AOX（代替酸化酵素）阻害剤としてサリチルヒドロキサム酸（SHAM）を200 μMとなるよう加用した。供試菌株はPSA平板培地上で7日間，25℃で前培養した後，直径5 mmのコルクボーラーで打ち抜いて，菌そうが検定培地に接するよう置床した。25℃で3日間培養したのち最小生育阻止濃度（MIC値）を求めた。その結果，QoI剤を使用したにもかかわらずいもち病が多発生した圃場から採集した菌株すべてのMIC値が100 ppmを超え，耐性菌と判定された（表-2）。寒天希釈平板法で耐性菌と判定された菌株のうち17菌株について，宮川・冨士（2013）を一部改変してさらに遺伝子検定した。遺伝子検定は，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/KE416を用いて

Occurrence of QoI Resistant Isolates of *Magnaporthe oryzae* in Okayama Prefecture, Japan and its Control Measure.　By Yasunori Kuroyanagi, Koji Inoue and Yasushi Morimoto

（キーワード：イネいもち病，QoI剤，耐性菌）

*現所属：岡山農研 野菜花研究室

表-1　オリサストロビンを含む箱粒剤を使用した圃場およびその近隣圃場におけるイネいもち病発生程度

オリサストロビンを含む箱粒剤使用圃場						近隣の他系統の箱粒剤使用圃場					
圃場 No	地域	品種	使用箱粒剤	葉いもち発生程度		圃場 No	圃場位置	品種	使用箱粒剤	葉いもち発生程度	
				7 月 16 日	7 月 29 日					7 月 16 日	7 月 29 日
1–1	M 町	コシヒカリ	オリサストロビンを含む	中	多	1–2	No.1–1 隣接	あきたこまち	プロベナゾールを含む	微	少
2–1	M 町	きぬむすめ	オリサストロビンを含む	中	多	2–2	No.2–1 隣接	ヒノヒカリ	プロベナゾールを含む	少	多
3–1	M 町	ひとめぼれ	オリサストロビンを含む	多	多	3–2	No.3–1 隣接	あきたこまち	プロベナゾールを含む	微	少
4–1	K 町	きぬむすめ	オリサストロビンを含む	NT[a]	多	4–2	No.4–1 周辺[b]	きぬむすめ	ピロキロンを含む	NT	微

[a] 調査を実施せず.
[b] 距離が 50 m 以内.
7 月 16 日，7 月 29 日に，下記岡山県水稲予察巡回調査基準に従い，発生程度を調査（岡山県水稲予察巡回調査基準）.
畦畔から 3 ～ 4 m 入った水田内を 20 m 歩いて達観調査.
極微：病斑が圃場で数個認められる.
微：病斑のある株が散見される（1 株当たり平均病斑数が 1 個未満）.
少：1 株当たり病斑が 10 個未満.
中：1 株当たり病斑が 10 ～ 50 個未満.
多：1 株当たり病斑が 50 個以上，上位葉にも病斑がかなり見られ，下位葉には枯死葉も見られる.
甚：枯死葉がかなり見られ，一部にズリコミ症状を呈している.

表-2　岡山県内で採集したイネいもち病菌株のオリサストロビンに対する薬剤感受性検定

圃場 No	採集地域	品種	供試菌株数	寒天希釈平板法による検定 MIC 別菌株数（ppm）						遺伝子検定	
				0	0.1	1	10	100	＞ 100	供試菌株数	陽性[c] 菌株数
1	M 町	コシヒカリ	4	0	0	0	0	0	4	2	2
2	M 町	きぬむすめ	8	0	0	0	0	0	8	1	1
3	M 町	ひとめぼれ	3	0	0	0	0	0	3	1	1
4	T 市	ヒノヒカリ	4	0	0	0	0	0	4	2	2
5	T 市	きぬひかり	6	0	0	0	0	0	6	3	3
6	T 市	きぬむすめ	4	0	0	0	0	0	4	3	3
7	K 町	きぬむすめ	7	0	0	0	0	0	7	2	2
8	K 町	あきたこまち	3	0	0	0	0	0	3	3	3
〔対照菌株[e]〕											
感受性菌（No.198–1）				＋[a]	＋	＋	－[b]	－		陰性[d]	
感受性菌（No.203–1）				＋	＋	＋	－	－		陰性	
耐性菌（No.108–1）				＋	＋	＋	＋	＋		陽性	
耐性菌（No.117–1）				＋	＋	＋	＋	＋		陽性	

[a] 菌糸生育あり.
[b] 菌糸生育なし.
[c] 遺伝子検定で耐性菌と判定.
[d] 遺伝子検定で感受性菌と判定.
[e] 島根県農業技術センターから分譲.

PCRを行い，得られた増幅産物を制限酵素*Fun4*HIで処理するPCR-RFLP法で行った。ゲノムDNAの抽出は，PSA培地上で約7日間培養した菌そうを3 mm角に切り出し，マルチビーズショッカーの2 m*l*容器の磨砕チューブに入れ，0.8 m*l*のTEバッファーを加えて，2,500 rpmで30分間磨砕し，その後，別のマイクロチューブに移して15,000 rpmで10分間遠心した上澄み液を使用することで行った。その結果，検定した菌株すべてが耐性菌と判定され，寒天希釈平板法によって得られた結果と一致した（表-2）。さらに生物検定を行い，防除効果について検討した。菌株は耐性菌のNo.1-I株，感受性菌のNo.4-3およびNo.真備坪田5株を供試し，薬剤をフィプロニル・オリサストロビン粒剤（商品名　嵐プリンス箱粒剤6），イネ品種を‘朝日’とした。イネ苗の本葉1枚時に，1箱当たり50 gの箱粒剤を施用して25日後に，オートミール寒天培地上で25℃，18日間胞子形成させたいもち病菌胞子懸濁液（約1 × 10^5個/m*l*）を噴霧接種した。その結果，接種7日後の各区の総病斑数は，耐性菌を接種した区では感受性菌を接種した区より多くなり（図-1），宮川・冨士（2013）の報告と同様に，本県においても防除効果の低下が認められた。なお，原体メーカーが行った遺伝子検定においても耐性菌の発生を確認した。

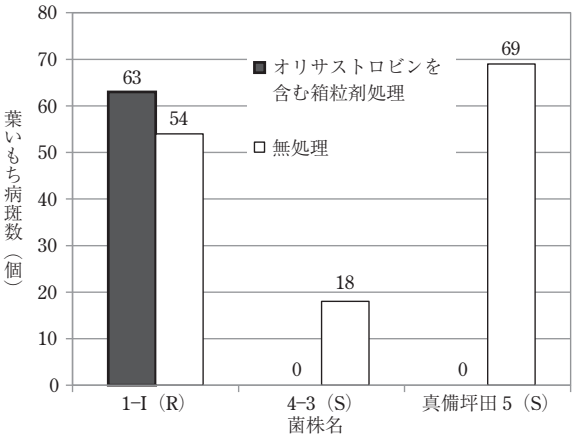

図-1　オリサストロビンを含む箱施用剤の生物検定
（R）：耐性菌，（S）：感受性菌.

3　県内での耐性菌発生分布状況

県内におけるQoI剤耐性イネいもち病菌の発生分布

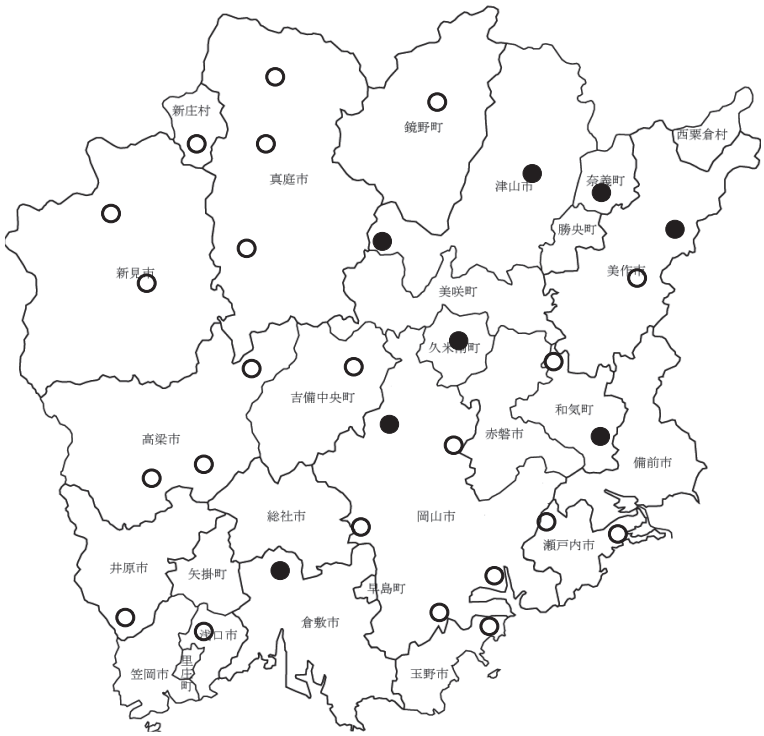

図-2　病害虫防除所巡回地点における岡山県内のQoI剤耐性イネいもち病菌の発生状況（2013年）
○：耐性菌が確認されなかった地点.
●：耐性菌が確認された地点.

状況を明らかにするため，イネの病害虫発生予察事業における巡回調査 30 地点について，耐性菌の発生状況を調査した。穂いもちから払い落とし法によって分離した菌株を供試した。払い落し法は，穂首および枝梗の病斑部組織を表面殺菌後，PSA 平板培地の蓋の裏に貼り付けた 1 cm 角の 2％素寒天培地に付着させ，25℃，自然光下で 7 ～ 10 日間静置した。その後，PSA 平板培地上に生じた菌そうの一部を PSA 斜面培地に保存することで分離した。検定方法は前項に示した寒天希釈平板法と遺伝子検定を行い，両検定方法で耐性菌と判定された場合，耐性菌発生地点とした。ただし，寒天希釈平板法については，検定濃度を 100 ppm のみとし，菌糸伸長の有無を判定し，伸長が見られない場合を感受性菌，見られる場合を耐性菌とした。また，寒天希釈平板法で耐性菌と判定されたそれぞれの調査地点のうち，1 ～ 3 菌株をさらに遺伝子検定した。その結果，図-2 に示す通り，調査 30 地点のうち，8 地点で耐性菌の発生を確認し，やや県東部に集中して発生していることが明らかとなった。

Ⅱ　耐 性 菌 対 策

1　指導機関の対応

農研において QoI 剤に耐性を示すいもち病菌の発生が確認され，2013 年 8 月に防疫所が植物防疫情報を発表し，県内の農家，農協，農薬卸会社，農業普及指導センター等，関係者および関係機関に広く情報発信した。県は今後の主な防除対策の方針として，日本植物病理学会殺菌剤耐性菌研究会（2008）のガイドラインを参考に，QoI 剤の効果が維持されていると考えられる圃場では，成分使用回数で年 1 回のみの使用とし，使用後もいもち病の発生に注意し，被害の拡大が認められる場合は速やかに他系統の薬剤を追加防除すること，また，耐性菌の発生が確認された地域やこれまでのような QoI 剤の効果が得られなくなった地域では，他系統の薬剤を使用することなどを示している。

2　産地の対応

県内各農協では，防除所および農研等技術指導機関からの QoI 剤に対する耐性菌発生の情報によって，2014 年作の水稲栽培暦における薬剤散布体系を見直した。箱剤における QoI 剤の使用は，耐性菌が発生した場合，いもち病が生育の初期段階で多発すると被害が大きいとして，耐性菌の発生が確認されていない地域も含めて県内の全農協が使用を中止した。本田散布剤については，耐性菌の発生を確認した地域は使用を中止し，確認されていない地域では，QoI 剤が効果の高い剤であり無人ヘリによる防除剤として使用が多いこと，粒剤の剤型が小規模農家が手散布するのに簡便であること，薬剤散布後に耐性菌による被害が拡大したとしても追加防除で対応可能であること等の理由から，メトミノストロビン粒剤（商品名　イモチエース）またはアゾキシストロビン水和剤（商品名　アミスターエイト）を引き続き暦に掲載することとした。また，QoI 剤はいもち病のみならず紋枯病にも効果が高いことから，紋枯病の防除薬剤として位置づける地域もあった。個々の農家対象に指導する場合は，QoI 剤の使用を希望する農家に対して，使用方法の説明や耐性菌発生による被害発生の可能性とその対策について指導を徹底していくこととされた。

お　わ　り　に

現地農家，農協，原体メーカー，農業普及指導センターなど関係機関の協力により迅速に耐性菌の発生を確認でき，各地域の防除暦作成においてこの情報が考慮され，2014 年作については耐性菌発生の影響によるものと思われるいもち病の発生は見られなかった。多大な協力やアドバイスをいただいた方々にこの場を借りて感謝の意を表する。耐性菌発生の原因については，薬剤の連用や汚染種子による拡散など様々な原因が考えられるが，今回の事例では，詳細な情報が得られず原因を特定するには至らなかった。今後，このような耐性菌発生を極力防ぐため，殺菌剤耐性菌研究会（2008）が提示するガイドラインなどを参考に現地農家への指導を徹底することが重要と考えられる。

引　用　文　献

1）石井英夫（2012）: 植物防疫 **66**：481 ～ 487.
2）――――（2014）: 同上 **68**：49 ～ 54.
3）畔柳泰典・井上幸次（2014）: 九州病虫研会報第 87 回研究発表会講要旨（病害）.
4）鳥取県農業試験場（2007）: 平成 18 年度成果情報カード：成果情報番号 2007-02.
5）日本植物病理学会殺菌剤耐性菌研究会（2008）: イネいもち病防除における QoI 剤および MBI-D 剤耐性菌対策ガイドライン.
6）宮川典子・冨士　真（2013）: 第 23 回殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム講要集：25 ～ 36.