

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 2016

## (4) イネいもち病菌

—テブフロキン—

Meiji Seika ファルマ株式会社 やまもと 山本 けんたろう 憲太郎・まつむら 松村 まこと 誠

### はじめに

テブフロキン（商品名；トライ）は Meiji Seika ファルマ（株）で創出された4-キノリノール骨格を有する特徴的な構造を持つ殺菌剤であり、イネいもち病、チャ輪斑病、ダイズ紫斑病、アスパラガス茎枯病等に高い防除効果を示す。

また、テブフロキンは、ベンゾイミダゾール系、フェニルアミド系、ストロビルリン系（QoI 剤）やアゾール系といった薬剤に耐性を示す既報の種々の耐性菌に対して交叉耐性を示さない（松村，2010）。さらに、ミトコンドリア複合体 III に作用し電子伝達系を阻害するが、ヘム c1 およびヘム b の還元を阻害しない（松村，2012）ことから、既存の電子伝達系阻害剤とは異なる作用機作を持つと考えられる。

特に、テブフロキンは散布部位から速やかにイネ葉身を移行することや、葉いもち病斑における胞子形成に対して高い阻害活性を示す（山本，2015）ことから、イネいもち病に対して優れた予防効果と治療効果を示すと考えられる。

本稿では、イネいもち病菌のテブフロキンに対する感受性検定方法およびその結果について紹介する。

### I 感受性検定方法

テブフロキンはイネいもち病菌に対し寒天培地上で、菌糸伸長阻害活性（松村，2012）、胞子形成阻害活性や胞子発芽阻害活性を示す。胞子の調製が不要である点や菌叢の直径を肉眼で測定できる点など、操作性がよいことから、菌糸伸長を指標とした検定方法を採用した。

#### 1 検定用のイネいもち病菌の調製

検定に用いるイネいもち病菌は、常法に従いイネに形成された病斑から単胞子分離したものをを用いる（大畑ら，1995）。しかしながら野外から採取したいもち病の罹病



図-1 野外採取材料からポットに栽培したイネへのイネいもち病菌の感染

葉や罹病穂首には、雑菌が付着していることが多く、イネいもち病菌を採取材料から直接分離することが困難な場合がある。そのような場合は、ポットに栽培したイネを採取材料とともにビニール袋に入れて（図-1）、25℃で24時間培養することで、イネいもち病菌を感染させ、形成された病斑から常法に従い単胞子分離を行う。

#### 2 検定菌の前培養

単胞子分離したイネいもち病菌を PSA 培地に移植し、25℃で4日間培養して得られる菌叢を検定に用いる。

#### 3 検定培地の調製

トライフロアブル（テブフロキン 15%）を滅菌水を用いて所定の濃度に希釈し、高压蒸気滅菌して温度が50℃程度に下がった9倍量の PSA 培地に添加しよく攪拌する。この培地をシャーレに分注し、検定培地とする。全農での試験においては、トライフロアブルの代わりに乳剤（テブフロキン 12.5%）、PSA 培地の代わりに PDA 培地を用いた。

#### 4 培養

前培養して得られたイネいもち病菌の菌叢の端を直径

A Method for Monitoring the Sensitivity of *Pyricularia oryzae* to Tebufloquin. By Kentaro YAMAMOTO and Makoto MATSUMURA  
(キーワード：イネいもち病，テブフロキン，感受性検定)

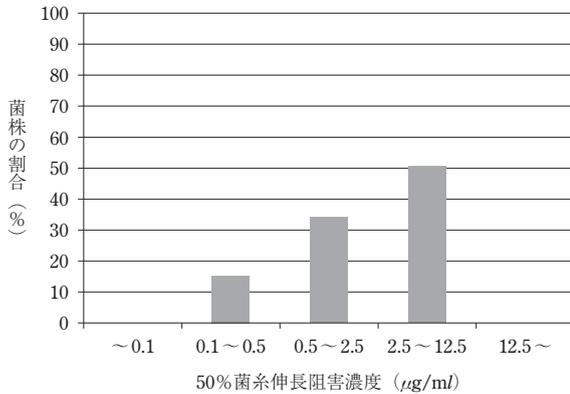


図-2 2007～11年にかけて分離したイネいもち病菌のテブフロキンに対する感受性

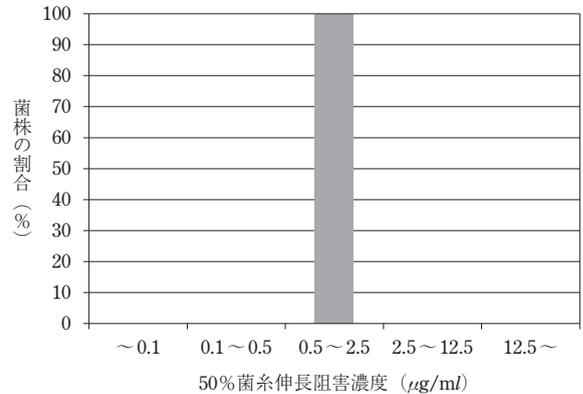


図-3 2005年に分離したイネいもち病菌のテブフロキンに対する感受性 (JA全農 営農技術センター 農薬研究室にて実施)

6 mm のコルクボーラーで切り取り、検定培地の上に静置した後、25℃で4日間培養する。

### 5 検定

検定培地に形成された菌叢の直径をノギスで測定する。検定培地とコントロール培地（テブフロキンを含まない培地）に形成された菌叢の直径から菌糸伸長阻害率を下記の式を用いて算出し、50%菌糸伸長阻害濃度（EC<sub>50</sub>）を求める。なお、検定培地に形成された菌叢の直径から静置した菌叢ディスク分（6 mm）を差し引いた分を菌叢の直径とする。

$$\text{菌糸伸長阻害率 (\%)} = (\text{コントロール培地での菌叢の直径} - \text{検定培地での菌叢の直径}) / \text{コントロール培地での菌叢の直径} \times 100$$

## II 検定結果

2007～11年にかけて全国からイネいもち病菌を採取し、分離した79株についてテブフロキンのEC<sub>50</sub>を算出し検定した結果、EC<sub>50</sub>の平均値が2.16 µg/ml、最小値が0.1 µg/ml、最大値が4.07 µg/mlのほぼ一峰性の分布を示した（図-2）。

また、JA全農 営農技術センター 農薬研究室にて実施された、2005年に分離されたイネいもち病菌93株の感受性検定結果を示した（図-3）。この試験におけるEC<sub>50</sub>の平均値は、1.17 µg/mlで、範囲が0.50 µg/ml～2.04 µg/mlであり、EC<sub>50</sub>の値が平均値近傍の一定の範囲に

存在した。

## III 考 察

実験材料は異なるものの、2005年に分離された株、2007～11年にかけて分離された株の検定結果は、いずれも一峰性の分布を示し、EC<sub>50</sub>の平均値はいずれの検定においてもほぼ同程度であった。テブフロキンに対する感受性検定には、PSA培地、PDA培地のいずれを用いてもEC<sub>50</sub>の値に大きく影響しないことが示唆された。また、今回の検定で用いた菌株は、テブフロキンの上市前に分離された株であることから、今回の検定で得られた値がテブフロキン感受性のベースラインに相当すると考えられた。

末筆ながら、感受性検定にあたり貴重な菌株を分譲くださった各研究機関の方々、また感受性検定を実施してくださったJA全農 営農技術センター 農薬研究室の方々に深く感謝申し上げます。

### 引用文献

- 1) 松村 誠 (2010): 第27回農薬生物活性シンポジウム講演要旨集: 1～4.
- 2) ——— (2012): 第22回殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム講演要旨集: 29～38.
- 3) 大畑貫一ら (1995): 作物病原菌研究技法の基礎—分離・培養・接種—, 日植防, 東京, p.37～41.
- 4) 山本一美 (2015): ファインケミカル 44(6): 17～22.