

千葉県におけるイネもみ枯細菌病と褐条病の薬剤耐性菌の発生

大谷 徹・竹内妙子*

キーワード：薬剤耐性菌，イネもみ枯細菌病，イネ褐条病，オキシリニック酸，カスガマイシン

I 緒 言

水稻の育苗期に発生する細菌性病害にはもみ枯細菌病による苗腐敗症，褐条病，苗立枯細菌病が知られている。千葉県においても，もみ枯細菌病や褐条病がしばしば多発して苗質の低下や腐敗を引き起こし，健苗育成の阻害要因となっている。これらはいずれも種子伝染性病害であり，種子消毒や播種時の培土への薬剤処理による防除が必須となっている。従来はオキシリニック酸を有効成分とする種子消毒剤や，育苗箱に処理するカスガマイシン剤により高い防除効果が得られていた。しかし，1990年代以降，もみ枯細菌病ではオキシリニック酸耐性菌の発生が富山県（守川ら，1997），長野県（山下ら，1998），岩手県（福士ら，2000），新潟県（堀ら，2004），福島県（皆川・山田，2004）等において，また褐条病ではオキシリニック酸またはカスガマイシン耐性菌の発生が北海道（竹内・田村，1991），富山県（守川ら，1997），新潟県（堀ら，2004）で相次いで報告された。さらにこれらの県では，耐性菌の防除対策のため，オキシリニック酸の使用を中止した防除体系を指導していたところもあった（梅沢ら，2002）。千葉県においても，2000年に発生したもみ枯細菌病発病苗より分離した菌株を用いた防除試験で，オキシリニック酸剤の効果が認められない事例があり，薬剤耐性菌の発生が疑われた。

さらに，2001年に千葉県病害虫防除所（現農林総合研究センター病害虫防除課）の巡回調査対象の水田100圃場のうち，オキシリニック酸を含む種子消毒剤が43圃場，カスガマイシン・カヤベスト粉剤の育苗箱処理が21圃場で使用されており，細菌性病害の防除におけるオキシリニック酸やカスガマイシンへの依存度は高かった。このような状況から，千葉県におけるもみ枯細菌病菌及び褐条病菌の薬剤耐性菌の出現状況を早急に明らかにする必要がある。

そこで，発病苗や本県産の種子における薬剤耐性菌の発生状況を明らかにするとともに，耐性菌に対する防除対策を確立するため各種薬剤の効果を明らかにしたのでここに

報告する。

なお，本試験を実施するに当たり，当時千葉県農林水産部農業改良課（現担い手支援課）の坂井正史氏と池田清一氏には多大なご協力を頂いた。全国農業協同組合連合会千葉県本部の遠藤正樹氏には防除対策の決定や推進についてご尽力を頂いた。独立行政法人中央農業総合研究センターの畔上耕児博士（現野菜茶業研究所）と小原達二氏（現農林水産省消費・安全局）には種子からの細菌検出法についてご指導頂いた。ここに厚くお礼を申し上げる。また，発病苗や種子の収集及び実態調査にご協力頂いた各農林振興センター（現各農業事務所）及び千葉県農林水産部生産振興課（現生産販売振興課）農産振興室の担当者の方々に深く感謝の意を表す。

II 材料及び方法

1. 分離菌株

(1) 現地発病苗からの病原細菌分離

2003年から2005年に県内各地から採取した細菌病発病苗について発病部を切断し，常法により表面殺菌後，約2mLの滅菌水中で磨砕した。この磨砕液を2003年及び2004年は普通寒天培地に画線塗抹し，28℃で2～4日間の培養後に出現したコロニーを釣菌した。2005年はもみ枯細菌病菌*Burkholderia glumae*の選択培地であるCCNT培地（Kawaradani et al.,2000），褐条病菌*Acidovorax avenae* subsp. *avenae*の選択培地としてスイカ果実汚斑細菌病菌*A. avenae* subsp. *citrulli*の選択培地であるAacSM培地（白川ら，2000）を準用して用いた。これらは40℃で培養し，CCNT培地では2～4日後，AacSM培地では4～7日後に出現したコロニーを釣菌した。1地点当たりの分離菌株数は1～5菌株とした。得られた菌株について簡易同定96-MUC（西山ら，2001）により11項目の細菌学的性質を検査するとともに，各地点から分離された少なくとも1菌株についてはイネ催芽種子への浸漬接種を行い，幼苗への病原性を有することを確認して同定した。同定のための標準菌株には*Burkholderia glumae* KN121株（MAFF302748）と*Acidovorax avenae* H 8401株（MAFF311062）を用いた。

以上により分離されたもみ枯細菌病菌は34地点から55

受理日2012年8月8日

*元千葉県農林総合研究センター

菌株、褐条病菌は16地点から50菌株であり、これらを受感性検定に供試した。また、発病苗の由来する種子の産地について、苗の生産者から聞き取り調査を行った。

(2) 県内産種子からの病原細菌の分離

2004年に県内の採種圃24地点で生産された種子を供試した。品種別では「コシヒカリ」と「ふさおとめ」が各10地点、「ツキモチ」が2地点、「ヒメノモチ」と「ひとめぼれ」が各1地点であった。種子からの病原細菌の回収はメンブレンフィルター法（小原ら、2003）によった。種子約100g（約3,500粒相当量）を約200mLの滅菌水とともに300mL容量の三角フラスコに入れ、超音波洗浄機で10分間処理した。処理液をメンブレンフィルター（孔径0.45 μ m, 47mm径）で吸引濾過を行なって集菌した。集菌後のフィルターを試験管内の10mL滅菌水中に回収し、再び超音波洗浄機で5分間処理して試料液とした。

以上で得られた試料液の100~200 μ Lを、CCNT培地及びAacSM培地上に塗布し、(1)と同様に培養して出現したコロニーを釣菌した。病原細菌が検出された1地点につき、1~5菌株を分離した。

得られた全ての菌株について、(1)と同様に簡易同定96-MUCによる11項目の細菌学的性質及びイネ催芽種子への浸漬接種による幼苗への病原性にに基づき同定した。

以上により8地点からもみ枯細菌病菌23菌株及び4地点から褐条病菌10菌株が得られ、これらを薬剤感受性検定に供試した。

また、メンブレンフィルター法とは別に、磨砕法による供試種子からの病原細菌の回収を行った。種子約100粒に10mlの滅菌水を加えて乳鉢内で磨砕して検出用の試料液とし、上記と同様の手順で病原細菌の分離及び同定を行った。これにより、褐条病菌ではメンブレンフィルター法で得られた地点とは異なる2地点から4菌株が得られ、これらも薬剤感受性検定に供試した。

2. 薬剤感受性検定

薬剤感受性検定は竹内（1995）及び守川（1999）の方法に従って行った。2003年及び2004年の発病苗からの分離菌を対象とした検定では、オキシリニック酸の検定培地として、オキシリニック酸水和剤（20.0%）を0.1N水酸化ナトリウム溶液に溶解後、培地中の有効成分が0.2, 0.4, 12.5, 25, 50, 100ppmとなるよう添加した普通寒天培地（pH6.8）を用いた。カスガマイシンの検定培地には、カスガマイシン液剤（2.0%）を滅菌水で希釈後、有効成分が12.5, 25, 50, 100, 200, 400, 800, 1600ppmとなるよう添加した普通寒天培地を用いた。供試菌株を普通寒天培地で28℃、1~2日間培養し、菌体を滅菌水に懸濁して細菌濃度を約 10^8 cfu/mLとなるよう調製した後、細菌懸濁液を検定培地上に1白金耳量を移植した。28℃、2日間培養後に

生育の有無を調査し、最小生育阻止濃度（以下、MIC）を求めた。2004年産種子及び2005年の発病苗からの分離菌を対象とした検定では、オキシリニック酸またはカスガマイシンの有効成分がそれぞれ12.5ppm, 100ppmとなるよう製剤を添加した普通寒天培地上における生育の有無のみを調査した。

3. 薬剤耐性菌に対する各種薬剤の防除効果

2000年に発生した発病苗から分離したもみ枯細菌病菌と褐条病菌を2001年にPPGA培地で2日間培養し、各菌体を滅菌水に約 10^8 cfu/mLの濃度に懸濁し、開花期のイネ「ふさおとめ」に接種した後、収穫、調製し、2003年7月の試験実施まで7℃で冷蔵保存した種子を用いた。もみ枯細菌病菌では同年産の病原菌無接種種子と1:1に混合し、褐条病菌ではそのまま試験に供した。なお、接種に用いた菌株については2と同様の方法で調査し、もみ枯細菌病菌株のオキシリニック酸に対するMICは25ppm、カスガマイシンに対するMICは12.5ppm未満、褐条病菌株のオキシリニック酸に対するMICは25ppm、カスガマイシンに対するMICは12.5ppmであったことから、両種の菌株はともにオキシリニック酸耐性・カスガマイシン感受性であった。

種子消毒剤処理区としてオキシリニック酸・プロクラズズSE、イブコナゾール・銅フロアブル及びチウラム・ペフラゾエートフロアブルの各剤を供試し、乾籾10gを200倍に希釈した各薬剤に24時間浸漬処理を行った。浸漬処理後の種子を風乾した後、15℃下で6日間、1:1の浴比で浸種した。その後、種子を水切りして静置条件で30℃、20時間の催芽を行い、催芽種子を1/15サイズの育苗箱に播種した。

育苗箱処理区では、上記と同様に浸種、催芽を行った種子消毒剤無処理の種子を播種した後、カスガマイシン粒剤を種子上に育苗箱当たり1.3g（元の育苗箱当たり20g相当量）を散粒してから覆土した。

また、種子消毒剤と育苗箱処理の体系処理区では、イブコナゾール・銅フロアブル又はチウラム・ペフラゾエートフロアブルの各200倍液で種子の浸漬処理を行った後、上記と同様に、播種後にカスガマイシン粒剤の覆土前散粒処理を行った。

さらに、微生物農薬区ではシュードモナスCAB-02水和剤及びトリコデルマ・アトロピリデ水和剤を供試し、5日間浸種した種子消毒剤無処理の種子を各剤の200倍液に15℃下で24時間浸漬処理し、その後、上記と同様に催芽と播種を行った。

以上の薬剤処理及び播種を行った後、32℃で2日間出芽処理を行い、以降は15~28℃のガラス温室内で管理した。なお、試験は各薬剤処理区につき3反復設置した。

もみ枯細菌病では、播種15日後にすべての苗250~350

本について、守川ら（1997）らの調査基準に準じて4段階（発病程度別指数：0；無病徴，1；葉に抽出異常や黄白化がみられ，草丈が無病徴苗の1/2以上，2；発病程度指数1の病徴がみられ，草丈が無病徴苗の1/2以下，3；枯死）の基準で発病の有無を調査した。褐条病では，播種17日後にすべての苗の約350本について，棚橋ら（1999）に従い6段階の基準（発病程度別指数：0；無病徴，0.1；不完全葉に病徴あり，1；第1本葉まで病徴あり，2；第2本葉まで病徴あり，3；生育停止または萎ちよう，4；枯死）で発病苗数を調査した。各病害の発病度を以下の式で算出した。

もみ枯細菌病発病度

$$= \Sigma (\text{指数} \times \text{発病程度別苗数}) / (3 \times \text{調査苗数})$$

褐条病発病度

$$= \Sigma (\text{指数} \times \text{発病程度別苗数}) / (4 \times \text{調査苗数})$$

Ⅲ 結 果

1. 発病苗から分離した菌株の薬剤感受性

(1)もみ枯細菌病

発病苗から分離したもみ枯細菌病菌のオキシリニック酸とカスガマイシンに対するMICの分布を第1表に示した。2003年及び2004年に計12地点から分離した33菌株では，23菌株のオキシリニック酸に対するMICが12.5～25ppmとなった一方，10菌株のMICが0.2ppm以下となり，MICの分布に二峰性を示した。守川ら（1997）の結果から，オキシリニック酸に対するMICが12.5ppm以上の菌株はオキシリニック酸耐性菌，MICが0.4ppm以下の菌株は感受性菌と判断された。また，カスガマイシンに対するMICはすべての分離菌で25ppm以下となり，これらは同様に，カスガマイシン感受性菌と判断された。

2005年に22地点から分離した44菌株では，42菌株のオ

第1表 発病苗から分離したイネもみ枯細菌病菌におけるオキシリニック酸及びカスガマイシンに対する最小生育阻止濃度（MIC）別の菌株数

分離年	種子産地の別	採取地点数	供試菌株数	MIC値（ppm）別菌株数																
				オキシリニック酸						カスガマイシン										
				≤0.2	0.4	12.5	25	50	100	<12.5 合計	12.5≤ 合計	≤12.5	25	50	100	200	400	800	1600<	<100 合計
2003	県内	4	11			8	3					11	10	1					11	
	県外	1	3				3					3	3						3	
	合計	5	14			8	6					14	13	1					14	
2004	県内	2	5				5					5	5						5	
	県外	1	2	2								2	2						2	
	不明	4	12	8		4					8	4	12						12	
	合計	7	19	10		9					10	9	19						19	
2005 ¹⁾	県内	15	30								2	28							30	
	県外	1	2									2	2						2	
	不明	6	12									12							12	
	合計	22	44								2	42							44	

注1) 2005年の分離菌については，オキシリニック酸に対しては12.5ppm，カスガマイシンに対しては100ppmの有効成分を含む検定培地上における生育の有無を調査した。

第2表 発病苗から分離したイネ褐条病菌におけるオキシリニック酸及びカスガマイシンに対する最小生育阻止濃度（MIC）別の菌株数

分離年	種子産地の別	採取地点数	供試菌株数	MIC値（ppm）別菌株数																
				オキシリニック酸						カスガマイシン										
				≤0.2	0.4	12.5	25	50	100	<12.5 合計	12.5≤ 合計	≤12.5	25	50	100	200	400	800	1600<	<100 合計
2003	県内	6	22	4			18					4	18	8		8	2	4	8	14
	県外	1	2				2					2			2					2
	不明	1	4			4						4	4						4	
	合計	8	28	4		24					4	24	12		10	2	4		12	16
2004	県内	2	5			4	1					5	2					3	2	3
	県外	2	9			9						9						9		9
	合計	4	14			13	1					14	2					12	2	12
2005 ¹⁾	県内	3	6									6								6
	県外	1	2									2								2
	合計	4	8									8								8

注1) 2005年の分離菌については，オキシリニック酸に対しては12.5ppm，カスガマイシンに対しては100ppmの有効成分を含む検定培地上における生育の有無を調査した。

第3表 苗から分離したイネ褐条病菌におけるオキシリニック酸及びカスガマイシンに対する感受性及び耐性の菌株数

分離年	供試菌株数	菌株数			
		オキシリニック酸感受性・カスガマイシン感受性	オキシリニック酸感受性・カスガマイシン耐性	オキシリニック酸耐性・カスガマイシン感受性	オキシリニック酸耐性・カスガマイシン耐性
2003	28	4	0	8	16
2004	14	0	0	2	12
2005	8	0	0	0	8
合計	50	4	0	10	36

注1) オキシリニック酸に対しては12.5ppm, カスガマイシンに対しては100ppmの有効成分を含む検定培地上で生育した菌株を耐性菌と判定した。

キシリニック酸に対するMICが12.5ppm以上であり、耐性菌と判断された。また、カスガマイシンに対するMICは全て100ppm未満であり、感受性菌と判断された。

種子の産地別では、オキシリニック酸耐性菌は県内産及び県外産種子由来の苗からともに分離された。

(2)褐条病

2003年及び2004年に計12地点から分離した42菌株のうち、38菌株のオキシリニック酸に対するMICが25~50ppmであり、4菌株のMICが0.2ppm以下と、もみ枯細菌病と同様にMICの分布に二峰性を示し、守川ら(1997)の結果より、オキシリニック酸に対するMICが12.5ppm以上の菌株はオキシリニック酸耐性菌、MICが0.4ppm以下の菌株は感受性菌と判断された(第2表)。また、カスガマイシンに対するMICは28菌株が200ppm以上、14菌株が12.5ppm以下を示し、前者はカスガマイシン耐性菌、後者は感受性菌と判断された。

2005年に4地点から分離した8菌株については、すべてオキシリニック酸に対するMICは12.5ppm以上、カスガマイシンに対しては100ppm以上を示し、各剤に対する耐性菌と判断された。

なお、3年間に16地点から分離した50菌株のうち、13地点の36菌株はオキシリニック酸及びカスガマイシンの両剤に対する耐性菌であった(第3表)。両剤に対する感受性菌は1地点から分離した4菌株のみで認められた。

種子の産地別では、オキシリニック酸耐性菌及びカスガマイシン耐性菌ともに、県内産及び県外産種子由来の苗から分離された。

2. 県内産種子から分離した菌株の薬剤感受性

県内産種子から分離したもみ枯細菌病では、「コシヒカリ」5地点、「ふさおとめ」1地点及び「ツキモチ」2地点の計8地点から分離した23菌株のオキシリニック酸に対するMICはすべて12.5ppm以上であり、オキシリニック酸耐性菌であると判断された(第4表)。カスガマイシンに対

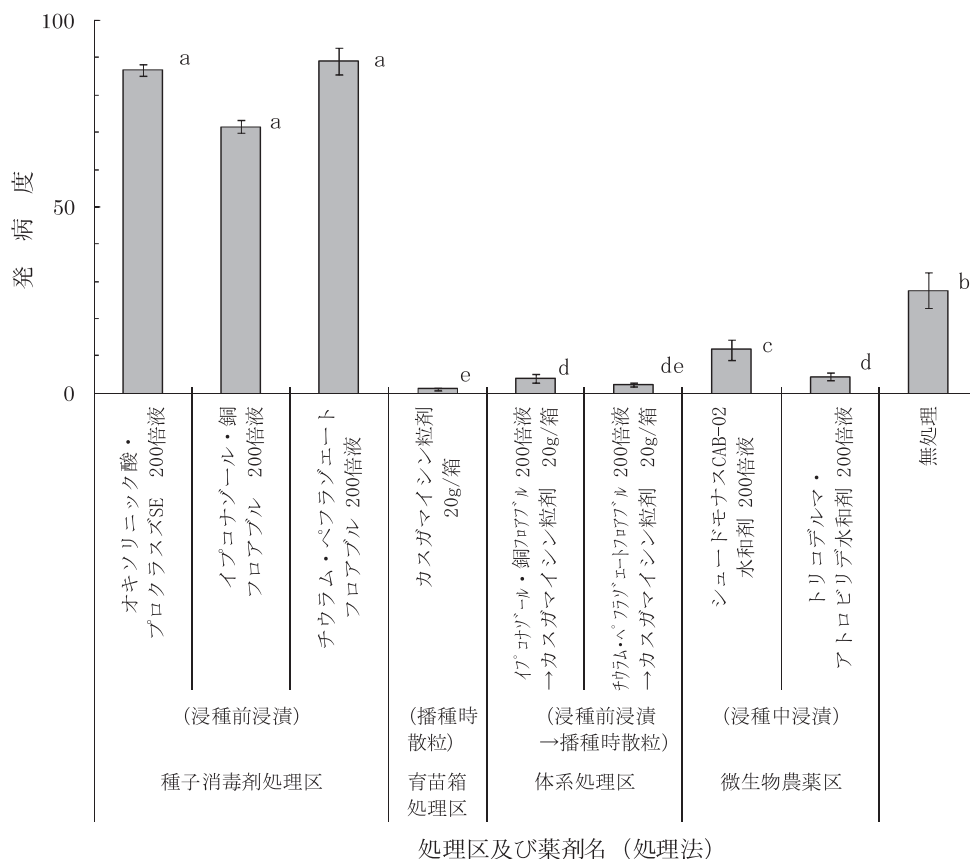
第4表 県内産種子から分離したイネもみ枯細菌病菌におけるオキシリニック酸及びカスガマイシンに対する最小生育阻止濃度(MIC)別の菌株数

供試品種	採取地点数	供試菌株数	MIC値(ppm)別菌株数			
			オキシリニック酸		カスガマイシン	
			<12.5	12.5≤	<100	100≤
コシヒカリ	5	15	0	15	15	0
ふさおとめ	1	2	0	2	2	0
ツキモチ	2	6	0	6	6	0
合計	8	23	0	23	23	0

第5表 県内産種子から分離したイネ褐条病菌におけるオキシリニック酸及びカスガマイシンに対する最小生育阻止濃度(MIC)別の菌株数

供試品種	採取地点数	供試菌株数	MIC値(ppm)別菌株数			
			オキシリニック酸		カスガマイシン	
			<12.5	12.5≤	<100	100≤
コシヒカリ	4	8	0	8	4	4
ふさおとめ	1	4	0	4	0	4
ツキモチ	1	2	0	2	0	2
合計	6	14	0	14	4	10

するMICは全ての菌株で100ppm未満となり、発病苗からの分離菌と同様に、カスガマイシン耐性菌は認められなかった。褐条病菌では、「コシヒカリ」4地点、「ふさおとめ」1地点及び「ツキモチ」1地点の計6地点から分離した14菌株のオキシリニック酸に対するMICは全て12.5ppm以上であり、オキシリニック酸耐性菌であると判断された(第5表)。さらに、これらのうち4地点から分離した10菌株ではカスガマイシンに対するMICが100ppm以上を示し、オキシリニック酸、カスガマイシン両剤に対する耐性菌であった。また、これら耐性菌の分離地点の分布に大きな偏りはなく、県内の各種子産地において耐性菌の発生が認め



第1図 オキシロニック酸耐性イネもみ枯細菌病菌に対する各種薬剤の防除効果
 注1) 開花期接種種子を供試。接種菌のオキシロニック酸及びカスガマイシンに対するMICはそれぞれ25ppm, <12.5ppm。
 2) 発病度 = Σ (指数×発病程度別苗数) / (3×調査苗数)
 発病程度別指数：0：無病徴，1：葉に抽出異常や黄白化がみられ，草丈が無病徴苗の1/2以上，2：発病程度指数1の病徴がみられ，草丈が無病徴苗の1/2以下，3：枯死。
 3) 棒グラフに付した縦線は標準誤差 (n=3) を示す。
 4) 棒グラフに付した英字の異なる文字間には，Tukey-Kramer法による多重比較で5%の危険率で有意差があることを示す。なお，多重比較には対数変換後 (log(x+1)) の値を用いた。

られた。

3. 薬剤耐性菌に対する各種薬剤の防除効果

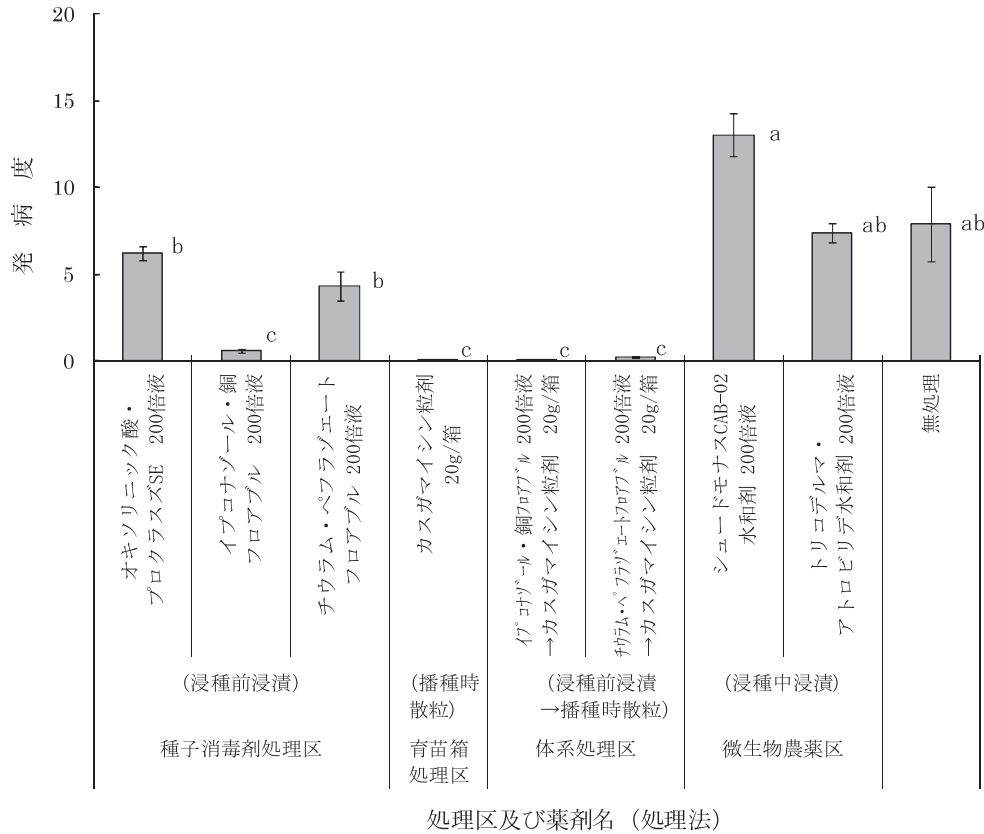
オキシロニック酸耐性もみ枯細菌病菌に対する各種薬剤による防除試験の結果を第1図に示した。種子消毒剤のオキシロニック酸・プロクラスズSE，イブコナゾール・銅フロアブル及びチウラム・ペフラゾエートフロアブルの各200倍液処理による防除効果は全く認められず，無処理区より発病が増加した。その一方，カスガマイシン粒剤20g/箱の播種時処理及び種子消毒剤のイブコナゾール・銅フロアブルやチウラム・ペフラゾエートフロアブルの各200倍液とカスガマイシン粒剤20g/箱との体系処理による防除効果は高かった。微生物農薬のトリコデルマ・アトロピリデ水和剤200倍液処理による防除効果は2種の種子消毒剤とカスガマイシン粒剤20g/箱との体系処理と同程度であった。シュードモナスCAB-02水和剤200倍液処理ではこれらより劣るものの，防除効果が認められた。

オキシロニック酸耐性褐条病菌に対する各種薬剤による防除試験の結果を第2図に示した。無処理区と比べ，種子

消毒剤のオキシロニック酸・プロクラスズSE200倍液及びチウラム・ペフラゾエートフロアブル200倍液の防除効果は認められなかったが，イブコナゾール・銅フロアブル200倍液処理では高い防除効果が認められた。また，カスガマイシン粒剤20g/箱の播種時処理及びイブコナゾール・銅フロアブルやチウラム・ペフラゾエートフロアブルの各200倍液とカスガマイシン粒剤20g/箱との体系処理においても防除効果は高かった。微生物農薬のトリコデルマ・アトロピリデ水和剤及びシュードモナスCAB-02水和剤の各200倍液処理では防除効果が認められなかった。

IV 考 察

千葉県で発生した水稻の発病苗からの分離菌について感受性検定を行った結果，オキシロニック酸耐性 (MIC12.5ppm以上) のイネもみ枯細菌病菌とオキシロニック酸耐性 (MIC12.5ppm以上) 及びカスガマイシン耐性 (MIC100ppm以上) の褐条病菌が発生していることが明らかになった。



第2図 オキシロニック酸耐性イネ褐条病菌に対する各種薬剤の防除効果

- 注1) 開花期接種種子を供試。接種菌のオキシロニック酸及びカスガマイシンに対するMICはそれぞれ 25ppm, <12.5ppm.
- 2) 発病度 = $\sum (\text{指数} \times \text{発病程度別苗数}) / (4 \times \text{調査苗数})$
 発病程度別指数: 0: 無病徴, 0.1: 不完全葉に病徴あり, 1: 第1本葉まで病徴あり, 2: 第2本葉まで病徴あり, 3: 生育停止または萎ちょう, 4: 枯死.
- 3) 棒グラフに付した縦線は標準誤差 (n=3) を示す.
- 4) 棒グラフに付した英字の異なる文字間には, Tukey-Kramer法による多重比較で5%の危険率で有意差があることを示す. なお, 多重比較には対数変換後 (log (x+1)) の値を用いた.

薬剤耐性菌の耐性程度を示すMICは、これまでに他県で報告されている値とおおむね一致した (守川, 1999; 堀ら, 2004; 守川・関原, 2009). また, 褐条病におけるオキシロニック酸及びカスガマイシンの両剤に対する耐性菌の発生は, 富山県 (守川ら, 1997) 及び新潟県 (堀ら, 2004) に続いて3例目となった. 種子の産地別では, 両種の病原細菌ともに, すでに薬剤耐性菌の発生が報告されている他県のほか, 千葉県産種子に由来する苗においても, 薬剤耐性菌が多く分離された. さらに, 千葉県産種子から分離した両種の病原細菌について感受性検定を行った結果, 薬剤耐性菌株率は高く, 本県における種子生産の段階において, 薬剤耐性菌が発生していることが明らかになった.

病原細菌の分離に供した採種圃産の種子について薬剤使用歴が明らかになった18件の中で, オキシロニック酸を含む種子消毒剤が16件, カスガマイシンを含む育苗箱処理剤が3件で使用されていた. さらに本田では, カスガマイシンを含む散布剤が13件で, オキシロニック酸剤を含む剤が

3件で使用されていた (データ省略).

本県では, 育苗期に発生する細菌性病害の防除に使用するカスガマイシン剤は1980年代に, オキシロニック剤は1990年代に広く普及した. 種子生産圃場では, これに加えて, 種子伝染性病害であるいもち病の防除のためカスガマイシン剤の本田散布が1990年代から広く行われていた. また, 1990年代後半には種子検査で不合格要因となる内穎褐変病の対策として, 本病に効果の高いオキシロニック酸剤の出穂期散布を行う事例が見られるようになった. このように, 育苗期の病害防除に加えて, 種子生産現場では本田期にもカスガマイシン剤やオキシロニック酸が広く使用されたことが, これらの剤に対する耐性菌が出現する要因となったと考えられる.

防除効果試験では, オキシロニック酸耐性もみ枯細菌病菌に対してはカスガマイシン剤の育苗箱処理の効果が高かった. また, イプロナゾール・銅フロアブルやチウラム・ペフラゾエートフロアブルの単剤処理ではもみ枯細菌病の

発病が助長されたが、これらの剤の本病に対する効果が不安定であること（守川ら，1999）や、種子に存在する拮抗細菌（梅沢・守川，2006）が減少したことにより生じたものと考えられる。しかし、これらの種子消毒剤とカスガマイシン剤の体系処理では高い効果が得られた。このことから、ばか苗病等の糸状菌性病害や後述する褐条病の防除のために使用するこれらの種子消毒剤が、カスガマイシンのもみ枯細菌病に対する効果へ及ぼす影響は少なく、実用上の問題はないものと考えられた。

オキシリニック酸耐性褐条病菌に対しては銅を含むイブコナゾール・銅フロアブルによる種子消毒とカスガマイシン剤の育苗箱処理の効果が高かった。また、今回はオキシリニック酸及びカスガマイシンの両剤耐性褐条病菌に対する防除試験を実施しなかったが、堀ら（2004）は両剤耐性の褐条病菌を対象にした防除試験を行い、カスガマイシン剤の効果は低いものの、カスガマイシン感受性菌と同様に、銅含有種子消毒剤のイブコナゾール・銅フロアブルとフルジオキシニル・ペフラゾエート・銅水和剤の効果が高いことを報告している。

以上のことから、両細菌病の薬剤耐性菌対策として、銅含有剤による種子消毒とカスガマイシン剤の育苗箱処理による体系防除を実施することが必要であると考えられた。この方法は、すでに薬剤耐性菌の発生を報告している県ばかりでなく、育苗期に発生する細菌病の防除体系として全国的に採用されている。

ところが、千葉県では銅含有種子消毒剤の使用実績はほとんどない（日本植物防疫協会，2010）。これは、銅含有剤を処理した種子を低水温で浸種すると催芽や出芽の遅延及び播種後の生育遅延が認められる事例があり（佐山ら，1999）、早場米産地である千葉県では育苗の開始時期が早いため低水温浸種となり（平井ら，2008）、銅含有剤による葉害の発生が懸念されることによる。このため、千葉県ではオキシリニック酸に替わる種子消毒剤として銅剤の使用を推奨せず、チウラム・ペフラゾエート剤等によるばか苗病等の糸状菌性病害を対象とした種子消毒と、細菌病を対象としたカスガマイシン剤の育苗箱処理を薬剤耐性菌対策の指針として提示するにとどまった（千葉県，2006）。しかし、最近になってカスガマイシン耐性もみ枯細菌病菌の出現が確認されたことから（堀ら，2007）、少なくとも種子生産現場での銅含有種子消毒剤の使用については再検討する必要がある。

チウラム・ペフラゾエート剤の有効成分であるチウラムは細菌性病害に対して効果があり、本剤の農薬登録は褐条病に対しても適用されている。しかし、今回の試験で示したように、その効果は不安定であり、上記の指針では褐条病に対する対策がさらに必要となる。本病は水を循環させ

る催芽器を使用した場合に多発することが示されており（矢尾板ら，1984）、本病の薬剤耐性菌が問題となった富山県では、使用薬剤を切り替えるとともに循環式催芽器の使用を止めた結果、褐条病の発生が著しく減少したことを報告している（梅沢・守川，2000）。そこで本県においても、褐条病対策として、循環式催芽器の使用や水中でエアレーションしながらの催芽を避け、静置催芽または蒸気催芽を行うことを指針に記載した。

一方、種子生産においては、本田期のオキシリニック酸剤及びカスガマイシン剤の使用が自粛され、いもち病も含む種子伝染性病害で薬剤耐性菌の発達事例がないプロベナゾール剤等の使用や、内穎褐変病対策としての耕種的防除が指導されるようになった（千葉県，2008；平井，未発表）。

さらに、今回の試験で供試した微生物農薬の処理では褐条病に対する防除効果は認められなかったが、現在では、製剤を改良したトリコデルマ・アトロビリデ水和剤（尾崎ら，2007）やタラロマイセス・フラバス水和剤（能城ら，2007）が褐条病を含む種子伝染性病害に登録を有する微生物農薬として上市されている。前者は本県各地の育苗センターでも使用され、広く普及している。これらの剤は環境保全型農業を推進する目的のみならず、薬剤耐性菌に対する防除手段として期待される。しかし、微生物農薬の効果を安定させるためには病原菌による種子の汚染程度が低いことが条件となり、種子生産段階において病原菌密度の増加を促さない防除体系の実施が求められる。

V 摘 要

千葉県で2003～2005年に採取したイネ育苗期の細菌病発病苗及び2004年に生産されたイネ種子からもみ枯細菌病菌及び褐条病菌を分離し、オキシリニック酸とカスガマイシンに対する感受性検定を行った。

その結果、もみ枯細菌病菌ではオキシリニック酸耐性菌、褐条病菌ではオキシリニック酸耐性菌とカスガマイシン耐性菌の発生が認められた。オキシリニック酸耐性のもみ枯細菌病菌に対してはカスガマイシン剤による育苗箱処理の効果が高かった。オキシリニック酸耐性・カスガマイシン感受性の褐条病菌に対してはカスガマイシン剤による育苗箱処理及び銅剤による種子消毒の効果が安定して高かった。

VI 引用文献

- 千葉県 (2006) 平成18年版農作物病害虫雑草防除指針. p22.
- 千葉県 (2008) 水稻の採種栽培. 農林水産技術会議指導資料. p5.
- 福士敬子・勝部和則・宍戸 貢 (2000) 岩手県におけるオキソリニック酸耐性イネもみ枯細菌病の発生. 北日本病虫研報 (講要). 51:293.
- 平井達也・和田潔志・斉藤幸一 (2008) 水稻機械生産種子の低温期における浸種方法について. 千葉農総研報. 7:27-34.
- 堀 武志・小渦慶司・原澤良栄 (2004) 新潟県におけるイネ褐条病, もみ枯細菌病の薬剤耐性菌の発生およびその防除法の検討. 北陸病虫研報. 53:5-11.
- 堀 武志・黒田智久・石川浩司 (2007) カスガマイシン耐性イネもみ枯細菌病菌の出現. 日植病報 (講要). 73(3):278.
- Kawaradani M., K. Okada and S. Kusakari (2000) New Selective Medium for Isolation of *Burkholderia glumae* from Rice Seeds. *J. Gen. Plant Pathol.* 66: 234-237.
- 皆川博孝・山田真孝 (2008) 福島県内のイネから分離したもみ枯細菌病菌と苗立枯細菌病菌のオキソリニック酸感受性検定. 北日本病虫研報 (講要). 59:223.
- 守川俊幸・松崎卓志・西山幸司・宮川久義・向島博行 (1997) イネ褐条病ともみ枯細菌病のオキソリニック酸およびカスガマイシンに対する感受性. 日植病報 (講要). 63:516.
- 守川俊幸 (1999) イネもみ枯細菌病菌および褐条病菌の薬剤耐性. 第9回殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム講演要旨集. 27-34.
- 守川俊幸・中保由美・梅沢順子・山崎陽子 (1999) DMI剤と育苗培土の種類がイネもみ枯細菌病菌苗腐敗症に対する銅含有製剤の防除効果に及ぼす影響. 日植病報 (講要). 65:375.
- 守川俊幸・関川順子 (2009) イネ苗の細菌性病害. 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアルII. pp.17-19. 日本植物防疫協会. 東京.
- 日本植物防疫協会 (2010) 農薬要覧 (2010年版).
- 西山幸司 (1996) パソコンを用いた植物病原細菌同定システム「簡易同定96」の使い方. 農業環境技術研究所資料. 19:1-24.
- 能城こずえ・尾川新一郎・千田茂樹・岩上直子・藤 晋一・石川成寿 (2007) タラロマイセスフラバス水和剤(IK-155WP)を用いたイネ種子伝染性病害の生物防除. 日植病報 (講要). 73:260.
- 小原達二・安達直人・畔上耕児 (2003) メンブレンフィルター・免疫染色法によるイネ種子からのもみ枯細菌病菌の高感度定量検出. 日植病報 (講要). 69:309-310.
- 尾崎剛一・渡辺 哲・片岡 智・武田和男・松尾和敏・野崎和俊 (2007) *Trichoderma asperellum* SKT-1株によるイネ種子伝染性病害の生物防除(9):エコホープDJの各種病害防除効果. 日植病報 (講要). 73:261.
- 白川 隆・會澤雅夫・小宮友紀子・我孫子和雄 (2000) 種子, 植物体からの*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*の分離・検出を目的とした選択培地の開発. 日植病報 (講要). 66:132.
- 竹内 徹・田村 修 (1991) カスガマイシン耐性イネ褐条病菌の出現. 日植病報 (講要). 57:117-118.
- 竹内 徹 (1995) 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. 植物防疫. 49:39-40.
- 棚橋 恵・原澤良栄・藤巻雄一 (1999) 出穂期前後の薬剤散布によるイネ褐条病菌の種子保菌抑制. 新潟農総研報. 1:29-32.
- 梅沢順子・守川俊幸 (2000) 富山県における育苗期のイネ褐条病の発生変動要因の解析. 北陸病虫研報. 48:15-18.
- 梅沢順子・守川俊幸・岩田忠康 (2002) 富山県におけるイネ苗細菌性病害の薬剤感受性の変化. 日植病報 (講要). 68:94.
- 梅沢順子・守川俊幸 (2006) 拮抗細菌あるいは土壌懸濁液を用いたイネもみ枯細菌病菌苗腐敗症の防除効果. 北陸病虫研報. 55:7-12.
- 山下 亨・江口直樹・斉藤栄成 (1998) 長野県におけるオキソリニック酸耐性もみ枯細菌病の発生. 関東病虫研報. 45:19-21.
- 矢尾板恒雄・藤巻雄一・阿部徳太郎・辻本一幸 (1984) ハトムネ自動催芽器へのカスガマイシン剤加用によるイネ褐条病の防除. 北陸病虫研報. 32:86-90.

Occurrence of Bactericide-resistant *Burkholderia glumae* and *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* in Chiba Prefecture

Toru OHTANI and Taeko TAKEUCHI

Key words : *Acidovorax avenae* subsp. *avenae*, *Burkholderia glumae*, kasugamycin, oxolinic acid, tolerance to bactericides

Summary

We isolated strains of the bacteria *Burkholderia glumae* and *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* from rice seedlings collected between 2003 and 2005, or rice seed produced in 2004, in Chiba Prefecture. We tested the susceptibility of these strains to oxolinic acid and kasugamycin. We found *B. glumae* tolerant to oxolinic acid and *A. avenae* tolerant to oxolinic acid or kasugamycin, or both. Nursery-box treatment with kasugamycin was effective for control of oxolinic acid-tolerant *B. glumae*. For the control of oxolinic acid-tolerant and kasugamycin-sensitive *A. avenae*, nursery-box treatment with kasugamycin and seed disinfection with copper bactericide were effective.