

試験課題2：孢子形成阻害効果試験

1、試験目的

被験薬剤希釈液の24時間種子浸漬処理による、いもち病菌汚染種子上での孢子形成阻害効果を検討する。

2、試験方法

1)、試験地場所

宮崎県宮崎郡佐土原町大字下那珂11913

社団法人日本植物防疫協会 研究所宮崎試験場内実験室

2)、試験実施期間

平成16年2月16日から2月25日

3)、試験方法

いもち病菌汚染イネ粉を被験薬剤希釈液で浸漬処理後、イネ粉上における孢子形成の有無を確認することで、調査粉数に対する孢子形成粉率を算出した。

(1)、供試種子

イネ(品種:コシヒカリ、平成14年採種)いもち病菌汚染粉

(2)、種子浸漬

2月16日から17日(24時間処理)。所定倍率に希釈した被験薬剤希釈液(内希釈)および無処理区用の蒸留水を、50ml容量のポリプロピレン製遠沈管に7ml入れた。ここに3gのイネ粉(およそ120粒)を入れ、試験管ミキサーにより瞬時攪拌した後、15℃、暗黒条件の定温器内に24時間静置した。

(3)、孢子形成

9cmシャーレに濾紙を2枚重ねて敷き、蒸留水にて濾紙を湿らせた。種子浸漬が終了した粉を浸漬液ごと別のシャーレにあげ、粉のみをピンセットを用いて先の濾紙上に50粒ずつ並べた。1試験区当たりこれを2シャーレずつ準備した。その後孢子形成促進のためのブラックライト蛍光灯(BLB)照射と孢子形成のための暗黒条件を12時間ずつ、25℃条件下で繰り返した。また、この間供試粉をシャーレごと-35℃の冷凍庫内に12時間静置した。この冷凍処理は粉上の孢子を顕微鏡下で容易に観察するために粉発芽能力を停止させるために行うもので、孢子形成に関して影響は無いとされ一般的に行われている手法である。これら作業は12時間サイクルでBLB照射(2月17日)→暗黒(2月18日)→冷凍(2月18日)→暗黒(2月19日)→BLB照射(2月19日)→暗黒(2月20日~2月23日)の行程にて行われた。

(4)、調査

2月23日から2月25日。実体顕微鏡を用いて供試粉の護穎部、副護穎部および枝梗基部における糸状菌の孢子形成の有無を確認し、糸状菌孢子形成粉率を算出した。また、以下に示す菌については菌種別の孢子形成粉率を算出した。なお、複数菌種が同一粉上で観察されることもあることから、菌種別の孢子形成粉率の総計が糸状菌孢子形成粉率と一致するとは限らない。また、被験薬剤の防除対象病原菌である *Pyricularia oryzae* に関しては防除率も併せて算出した。

a、観察対象菌

Pyricularia oryzae(イネいもち病菌)、*Cochliobolus*属菌(イネごま葉枯病菌と同属菌)、*Fusarium*属菌(イネばか苗病菌と同属菌)、*Alternaria*属菌、*Cladosporium*属菌、*Epicoccum*属菌、*Curvularia*属菌。これらの菌はいずれもイネに対して病原性を有する菌と同属菌であることは孢子的形態から判別可能であった。しかし、種の判別およびイネに対する病原性は簡易的な形態観察からは不可能であった。いもち病菌に関しては、本試験供試粉を用いてもち病の病徴再現を予め行い、供試粉由来菌によるいもち病の病徴再現に成功していることから、本観察により確認した *Pyricularia* 属菌を *Pyricularia oryzae* とした。

5)、被験薬剤

種別	被験薬剤名	有効成分名および量	Lot.No.
委託剤	クヌギ木酢液	酸度：3.8%**	229-1-1***
	竹酢液	酸度：4.6%**	229-2-1***
	スギ木酢液	酸度：2.4%**	232-1-1***
参考*	食酢(ミツカン穀物酢)	酸度：4.2%**	05.10.23***

*：今後行ういもち病に対する効果確認試験における対照薬剤として供試する。

**：被験薬剤に共通な有効成分に相当する情報が酸度以外になかったことからここに記載した。

***：被験薬剤にはLot.No.に相当する個別番号がなかったため、木酢液には試験実施機関の薬剤受付番号を、食酢には賞味期限を記載した。

6)、試験規模および構成

(1)、試験区規模

種子浸漬処理：1区 種子3g(およそ120粒) 無反復
孢子形成、調査：1区 種子50粒 2反復

(2)、試験区構成

No. 1: クヌギ木酢液 10倍希釈液 24時間種子浸漬処理
No. 2: クヌギ木酢液 50倍希釈液 24時間種子浸漬処理
No. 3: 竹酢液 10倍希釈液 24時間種子浸漬処理
No. 4: 竹酢液 50倍希釈液 24時間種子浸漬処理
No. 5: スギ木酢液 10倍希釈液 24時間種子浸漬処理

No. 6: スギ木酢液 50倍希釈液 24時間種子浸漬処理
 No. 7: 食酢 10倍希釈液 24時間種子浸漬処理
 No. 8: 食酢 50倍希釈液 24時間種子浸漬処理
 No. 9: 無処理(蒸留水)

3、試験成績

被験薬剤	希釈倍率	反復	調査回数	糸状菌 胞子 形成割合	菌種別胞子形成割合							
					Pyr*	Fus*	Coc*	Alt*	Cla*	Epi*	Cur*	不明*
クヌギ木酢液	10倍	I	50	60	2	0	0	0	4	0	0	56
		II	50	70	0	2	0	2	16	0	0	56
		平均		65	1	1	0	1	10	0	0	56
	防除率			96.4								
	50倍	I	50	100	4	4	2	20	28	14	6	64
		II	50	100	2	6	2	16	36	12	10	80
平均			100	3	5	2	18	62	13	8	72	
防除率			89.3									
竹酢液	10倍	I	50	20	0	0	0	0	0	0	0	20
		II	50	14	0	0	0	0	0	0	0	14
		平均		17	0	0	0	0	0	0	0	17
	防除率			100								
	50倍	I	50	66	10	0	0	6	0	0	2	62
		II	50	70	16	8	0	12	0	0	14	42
平均			68	13	4	0	9	0	0	8	52	
防除率			53.6									
スギ木酢液	10倍	I	50	16	0	0	0	0	0	0	0	16
		II	50	4	0	0	0	0	0	0	0	4
		平均		10	0	0	0	0	0	0	0	10
	防除率			100								
	50倍	I	50	86	16	0	0	8	4	2	2	60
		II	50	74	2	18	0	6	0	4	14	50
平均			80	9	9	0	7	2	3	8	55	
防除率			67.9									
食酢	10倍	I	50	68	0	0	0	0	0	0	0	68
		II	50	98	2	0	0	0	0	0	0	98
		平均		83	1	0	0	0	0	0	0	83
	防除率			96.4								
	50倍	I	50	100	18	2	2	24	34	6	2	52
		II	50	100	6	2	2	36	28	8	14	46
平均			100	12	4	4	30	31	7	8	49	
防除率			57.1									
無処理 (蒸留水)	I	50	96	24	20	0	2	0	0	0	62	
	II	50	80	32	16	0	4	2	0	0	26	
	平均		88	28	18	0	3	1	0	0	44	

* : *Pyr*: *Pyricularia oryzae*(イネいもち病菌)、*Fus*: *Fusarium*属菌(イネばか苗病菌と同属菌)、*Coc*: *Cochliobolus*属菌(イネごま葉枯病菌と同属菌)、*Alt*: *Alternaria*属菌、*Cla*: *Cladosporium*属菌、*Epi*: *Epicoccum*属菌、*Cur*: *Curvularia*属菌、不明: 菌種不明の糸状菌。

4、考察

試験課題2: 孢子形成阻害効果試験

被験薬剤希釈液の24時間種子浸漬処理による、イネ籾上での孢子形成阻害効果

汚染種子による発病が一次発生源となる病害を防除する有効な手段として、種子消毒は広く普及している。特に稲作ではいもち病、ばか苗病、ごま葉枯病などの主要病害の多くが種子伝染することから、種子消毒を行わない栽培は無いに等しい。いもち病防除を目的とした木酢液の使用にあたって、この種子消毒は重要な防除手段となるものと想定されることから、その手始めに高濃度希釈液を用いた24時間種子浸漬による、イネ籾付着糸状菌の孢子形成阻害効果を検討した。本試験では数種糸状菌の孢子形成が確認されたが、被験薬剤の防除対象病原菌である *Pyricularia oryzae* に関して、被験薬剤による孢子形成阻害効果を以下に考察した。

1)、無処理(蒸留水)

本試験ではいもち病発病圃場より採取した汚染籾を供試した。その結果、無処理区でのいもち病菌孢子形成率は28%と高頻度に確認された。

2)、被験薬剤

(1)、クヌギ木酢液

10倍希釈液では *Pyricularia oryzae* に関する防除率が96.4%と高い孢子形成阻害効果を呈し、50倍希釈液では89.3%と十分な孢子形成阻害効果を呈した。今後行われるいもち病防除試験において、10倍、50倍希釈ともに種子浸漬処理単独の実用的な防除効果が期待されるが、50倍希釈では種子浸漬処理に併せて灌漑処理などの他の防除手段を併用することでさらなる防除効果が期待できると考える。

(2)、竹酢液

10倍希釈液では *Pyricularia oryzae* の防除率が100%と非常に高い孢子形成阻害効果を呈した。50倍希釈液では53.6%とやや低かったものの孢子形成阻害効果が認められた。今後行われるいもち病防除試験において、10倍希釈では種子浸漬処理単独でも実用的な防除効果が期待され、50倍希釈では種子浸漬処理に併せて灌漑処理などの他の防除手段を併用することで防除効果の向上が期待できると考える。

(3)、スギ木酢液

10倍希釈液では *Pyricularia oryzae* の防除率が100%と非常に高い孢子形成阻害効果を呈した。50倍希釈液では67.9%とやや低かったものの孢子形成阻害効果が認められた。今後

行われるいもち病防除試験において、10倍希釈では種子浸漬処理単独でも実用的な防除効果が期待され、50倍希釈では種子浸漬処理に併せて灌注処理などの他の防除手段を併用することで防除効果の向上が期待できると考える。

(4)、食酢

10倍希釈液では *Pyricularia oryzae* の防除率が96.4%と高い孢子形成阻害効果を呈した。50倍希釈液では57.1%とやや低かったものの孢子形成阻害効果が認められた。今後行われるいもち病防除試験において、10倍希釈では種子浸漬処理単独でも実用的な防除効果が期待され、50倍希釈では種子浸漬処理に併せて灌注処理などの他の防除手段を併用することで防除効果の向上が期待できると考える。