

# 温湯浸漬処理後の水稻種子における イネばか苗病菌感受性と育苗工程のリスク評価

鈴木智貴<sup>1)</sup>

## Rice Seedling Susceptibility to Bakanae Disease and Evaluation of infection Risks Associated with Seed Processing after Hot Water Treatment

Tomotaka SUZUKI

### 抄 録

温湯浸漬法により消毒をおこなった水稻種子のイネばか苗病菌感受性の評価を試みた。温湯浸漬処理種子は化学農薬処理種子と比較し、消毒後に本病原菌に接触した場合の発病が著しく増加した。無消毒種子と比較しても発病は多くなる傾向が認められた。また、接触させる病原菌の濃度が濃いほど発病が多くなるが、温湯浸漬処理種子の方が無消毒種子よりも被害が大きくなる傾向があった。育苗工程における本病原菌の感染リスクをメタアナリシスで評価した結果、浸種の工程よりも、催芽あるいは出芽の工程において感染リスクは高い傾向が認められた。以上より、温湯浸漬処理種子はイネばか苗病菌の感受性が高まり、化学農薬消毒種子あるいは無消毒種子よりも発病が増加する場合があると考えられた。

〔キーワード〕 温湯浸漬法, 種子消毒, イネばか苗病菌, 育苗工程, 感染リスク

Key words : Hot water treatment, Seed disinfection, Bakanae disease, Seedling process, Infection risk

### 緒 言

宮城県の水稲種子の消毒は温湯浸漬による方法が作付面積の約 8 割で行われている。これは本県で推進されている農薬節減栽培において、種子消毒の農薬成分数を節減するためであるが、普及当初からイネばか苗病の発生が問題となっている(中畑ら, 2012)。本病はイネばか苗病菌 *Fusarium fujikuroii* (入江, 2011; Nirenberg and O'Donnell, 1998) により引き起こされる種子伝染性病害である。保菌した種籾を播種することで育苗中に徒長苗が発生し、重症苗では枯死に至る。一方、徒長苗は本田へ移植しても収量には大きく影響しないとされており(鈴木ら, 1987)、一般に被害は問題とならない病害である。

本病の影響が最も懸念されるのは種子生産の場合で、主要農産物種子法によれば、水稻の種子生産においてイネばか苗病菌は保菌してはならないこととなっている。このような中で、健全な種子生産に影響を及ぼすことが懸念された。そのため、発生ほ場からのイネばか苗病菌の孢子飛散距離を緊急で調査し、種子生産ほ場周辺で本病を発生させてはならない範囲を設定した

(畑中ら, 2007; 畑中, 2009)。また、本田への徒長苗の持ち込みを防止するため、浸種、催芽、出芽といった育苗工程や育苗様式と本病の発生との関係を明らかにし(笹原, 2013)、育苗時に本病の発生を抑制する管理方法を生産者に指導している。これらの対策により県内のばか苗病の発生は抑えられつつあるものの問題の終息には至っておらず、種子生産ほ場周辺のほ場で発生させてしまい、ほ場審査の失格を招く事態がたびたび起きている。

そこで本研究では、本病の発生が未だに認められる要因の一つとして、本病の発生拡大とともに普及してきた温湯浸漬による種子消毒にあると仮定し、消毒後の種子のばか苗病菌感受性について検討した。また、笹原(2013)が明らかにした育苗工程と徒長苗の発生との関係について、感染リスクが高まる工程をより明確に示すことを目的として、育苗の各工程における感染のリスク評価を試みた。

### 材料および方法

#### I. 実験に供試した菌株

本研究に供試したイネばか苗病の菌株は、2010年に涌谷町で採集した徒長苗から組織分離法により分離したものをを用いた。本菌株はPSA斜面培地で維持し、接種源の作成のため適宜PDA培地(Difco社製)あるいはPSA培地(馬鈴薯200g, ショ糖15g, 棒寒天15g/蒸留水1L)で前培養後、無糖オートミール培地(オートミール粉末40g/蒸留水1L)で分生子を形成させた。なお本培地上に形成させた分生子はほとんどが小型分生子であったが、少数の大型分生子が混じる場合があった。

## II. 消毒済み種子のイネばか苗病菌に対する感受性

### 1. 異なる種子消毒をおこなった種子の感受性

試験は2013年の9月下旬におこなった。宮城県古川農業試験場で採種した2012年産の水稻種子(品種:ひとめぼれ)を、60°C10分の温湯浸漬(以下、温湯浸漬区)あるいはペフラゾエート・フルジオキソニル・塩基性塩化銅水和剤(商品名:モミガードC水和剤, 200倍24時間浸漬処理, 以下、化学農薬区)で処理した消毒済み種子を作製し、消毒後7日間室温で風乾してから用いた。試験には対照区として、無消毒種子(以下、無消毒区)も加えた。上述の方法で作成した分生子を蒸留水に懸濁し、 $10^5$ 個/mlの濃度に調整した胞子懸濁液に、消毒済み種子を浸種前に24時間浸漬し、その後水道水で1回だけ洗浄した後に種子予措をおこなった。種子予措は浸種が15°C7日間、催芽が30°C24時間、播種して30°C72時間の加温出芽をおこなった。緑化は育苗の初日にシルバーマルチとラプシートをかけて夕方までおこなった。育苗はプール育苗とし、播種後28日間育苗した。試験規模は1区あたり16g(約600粒)として育苗箱の1/10サイズの弁当箱に播種し、各区3反復でおこなった。

### 2. 胞子懸濁液濃度の違いと消毒済み種子の発病との関係

試験は2015年の6月下旬におこなった。宮城県古川農業試験場で採種した2014年産の水稻種子(品種:ひとめぼれ)を前述と同様に種子消毒し、温湯浸漬区、化学農薬区ならびに無消毒区を準備した。胞子懸濁液は $10^5$ 個/ml濃度を作製し、10倍ずつ希釈して $10^4$ ~ $10^1$ 個/mlのものを準備した。各区の種子を浸種後、催芽時に各濃度の胞子懸濁液で催芽し、その後水道水で1回だけ洗浄した。その後の管理は前述と同様とし、

育苗期間は17日とした。試験規模は1区あたり600粒を計数して育苗箱の1/10サイズの弁当箱に播種し、各区3反復でおこなった。なお、本試験のみ、ばか苗病の徒長苗の判別を容易にするため、園田ら(2001)の方法に準じて緑化時に矮化剤(ウニコナゾールP液剤, 約42倍液, 100ml/箱)を処理した。

## III. 育苗工程の感染リスクの評価

試験は2013年と2014年の冬季に人工気象室(8:00~16:00が25°C, 16:00~8:00が15°C, 自然光)でおこなった。宮城県古川農業試験場で採種した2012年産の水稻種子(品種:ひとめぼれ)を用い、一部は $10^5$ 個/mlの胞子懸濁液に浸漬し、減圧化で接種して接種籾を作製し、他はすべて60°C10分の温湯浸漬により種子消毒した。接種籾は赤色の油性マジックで塗りつぶして健全籾と区別できるようにした。種子予措において保菌種子からの伝染リスクを評価するため、浸種、催芽、出芽工程のそれぞれで保菌種子と接触させる実験をおこなった(表1)。すなわち、温湯処理済みの健全籾に、浸種あるいは催芽の工程でのみ接種籾と接触するようプラビーカーでおこない、それ以外の工程は種子を試験管で1粒ずつおこなったのち、セルトレイに播種した。出芽の場合は、浸種、催芽を試験管で1粒ずつおこない、プラカップに接種籾とともに播種して出芽させた。対照として、接種籾を全く接触させず、すべての工程を1粒ずつでおこなう区を設けた。試験規模は1区あたり100粒を供試し、接触させる強度を粒数比で10%あるいは5%、各区3反復を1セットとして3セット試験を実施した。種子予措の条件は前述と同様におこなった。育苗期間はセットにより異なり30日~40日おこなった。

## IV. 発病調査方法と統計処理

各試験の発病程度は、健全苗数、徒長苗数、枯死苗

表1 伝染リスク評価のための試験の概要

試験区	接触させる工程		
	浸種	催芽	出芽
浸種	○		
催芽		○	
出芽			○
無処理			

注)○を付けた工程のみ、ばか苗病菌保菌種子と一緒に処理をおこなった

数および不発芽種子数を計数し、播種粒数に対する割合で調査した。データの統計処理は統計処理ソフト JMP8 あるいは 10.0.2 (SAS Institute) を用いた。また育苗工程の感染リスクはフリー統計処理ソフト EZR を用いてメタアナリシスをおこなった。

## 結果

### I. 消毒済み種子の感受性

消毒済みあるいは無消毒種子をばか苗病菌孢子懸濁液に浸種前処理し、育苗した結果を図 1 に示した。温湯浸漬区は徒長苗割合が 31~51%，枯死苗割合は 48~68% で枯死苗が多かった。健全苗割合は 1% に満たなかった。化学農薬区は健全苗割合が 95% 以上であった。無消毒区は発病苗割合（徒長苗と枯死苗の合計割合）が温湯浸漬区と同等であったが、徒長苗の方が割合として高く、71~79% であった。

濃度の異なる孢子懸濁液に催芽時処理し、育苗した結果を図 2 に示した。温湯浸漬区と無消毒区では、孢子懸濁液の濃度が濃くなるほど徒長苗数と枯死苗数の発生が多くなった。また、同一の孢子懸濁液濃度の比較では、温湯浸漬区の方が無消毒区よりも徒長苗あるいは枯死苗数が多くなる傾向が認められた。化学農薬区はいずれの濃度でも徒長苗は認められず、枯死苗もわずかであった（図 3）。

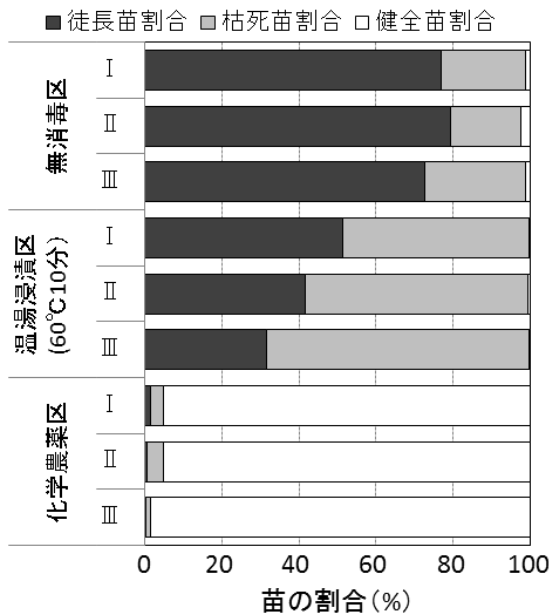


図 1 種子消毒および無消毒種子にばか苗病菌孢子を浸種前処理した種子の症状別の発病割合

注) 種子消毒後に 1 週間風乾し、ばか苗病菌を処理した。無消毒種子も同様に一度浸種して風乾後に処理した。

### II. 育苗工程の感染リスク

各工程のみにばか苗病罹病粒（接種粒）を接触させた場合、おこなった 3 セットの試験で徒長苗数、枯死苗数に変動がみられた（図 4）。温湯浸漬処理した健全粒の感染リスクを、徒長苗数を用いてメタアナリシスにより評価した結果、無処理区に対するリスク比は接触させる接種粒の量で異なり、粒数比 10% では 2.4 倍、催芽、出芽で 5.4 倍、粒数比 5% では浸種 1.7 倍、催芽 1.9 倍、出芽 4.5 倍であったが、統計的に有意なものは粒数比 10% では催芽と出芽、粒数比 5% では出芽のみであった（表 1）。

## 考察

温湯浸漬法による種子消毒（早坂ら，2001；横須賀ら，2004；山下ら，2000 など）は 60°C 前後のお湯に一定時間浸漬することで種子伝染性病害を防除する手法であり、近年求められている水稲の農薬節減栽培で

### 接種濃度

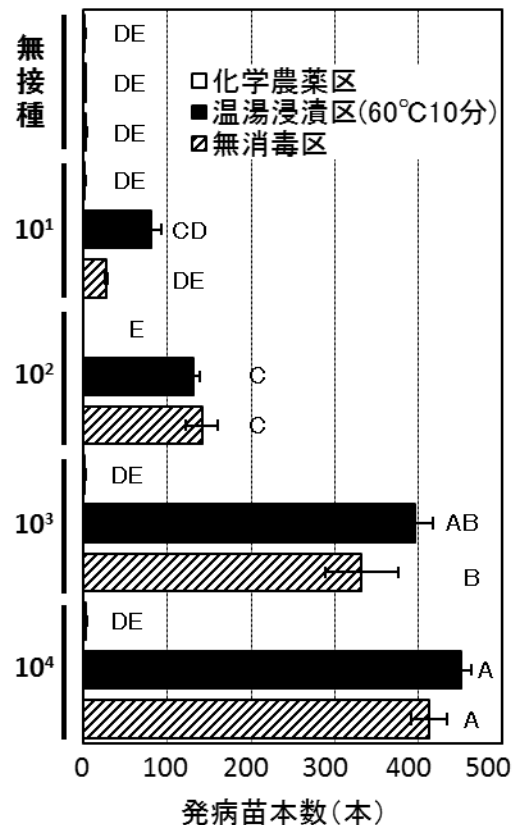


図 2 異なる接種濃度で催芽処理した各処理種子のばか苗病発病苗本数

注 1) 接種濃度は、無接種、10<sup>1</sup> 個/ml、10<sup>2</sup> 個/ml、10<sup>3</sup> 個/ml、10<sup>4</sup> 個/ml である。

注 2) グラフ上のバーは標準誤差 SE を示す。

注 3) 異符号間に 5% 水準で差がある (Tukey's HSD test)。

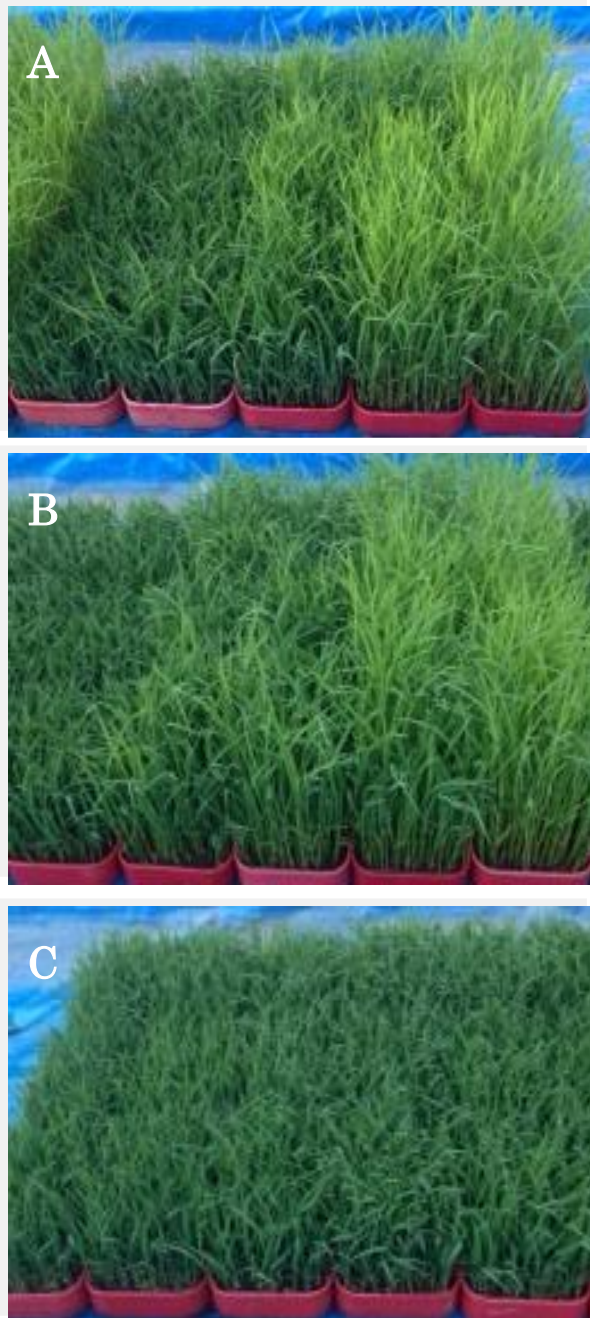


図3 種子消毒および無消毒種子にばか苗病菌胞子を浸種前処理した種子の発病状況

注1) は種17日目の様子。A:無消毒区, B:温湯浸漬区, C:化学農薬区。

注2)すべて、左から無処理, 処理濃度 $10^1$ 個/ml,  $10^2$ 個/ml,  $10^3$ 個/ml,  $10^4$ 個/mlの苗の症状を示す。

は重要な技術となっている。一般に、温湯浸漬の条件は $60\sim 62^{\circ}\text{C}$ 10分が有効な処理の目安として用いられる(金子, 2008)が、イネばか苗病に対しては $63^{\circ}\text{C}$ 5分が十分な発病抑制効果が認められるとし(林ら, 1999), 宮城県では本病防除のより有効な条件として提示している。一方で、温湯浸漬による種子消毒の普及とほぼ同じくしてばか苗病が目立つようになり、種

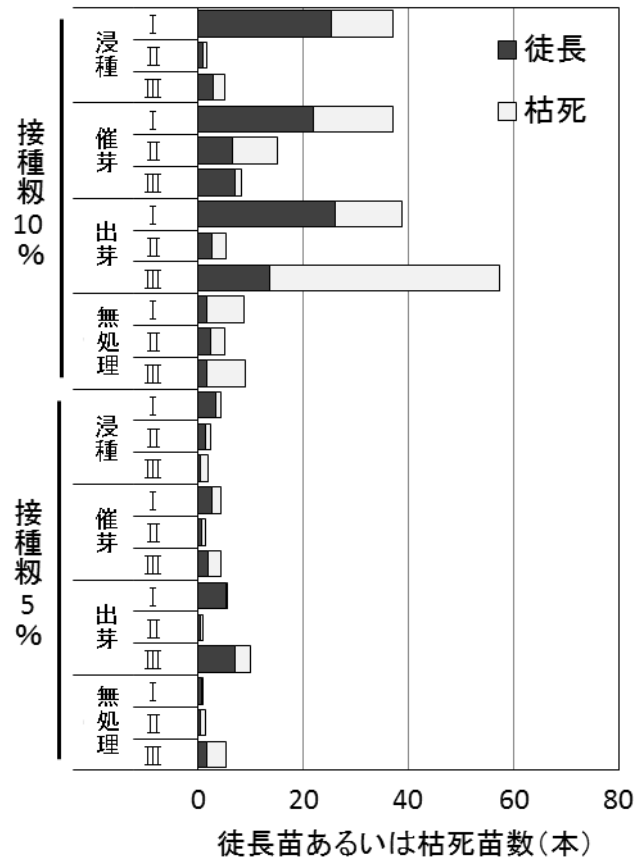


図4 種子予措の各工程に接種粉を混入させた場合の健全粉の発病状況

注1) ローマ数字は試験のセット数を示す。

注2) 100粒での試験。接種粉10%の場合は健全粉90粒, 5%の場合は健全粉95粒。

注3) 値は3反復の平均値を示す。

子生産ほ場周辺での発生は特に問題となっている。そこで本研究では、温湯浸漬法とイネばか苗病の発生との関係を明らかにするため、本手法による消毒後の種子のばか苗病感受性について検討した。

消毒済みあるいは無消毒種子にイネばか苗病菌の孢子懸濁液を接触させた結果、化学農薬処理種子は浸種前あるいは催芽時に接触させても、孢子懸濁液の濃度を变化させても育苗中のばか苗病の発生はほとんど認められなかった。一方、温湯浸漬処理種子では浸種前、催芽時の接触でいずれも徒長苗と枯死苗が発生したが、無消毒種子では発病苗として徒長苗の比率が高かったのに対し、温湯浸漬処理種子では枯死苗の比率が高くなり、被害が大きくなった。また、接触させる孢子懸濁液の濃度を变化させると、双方とも濃度が濃くなるにつれ発病苗も多く発生したが、温湯浸漬処理種子の方が薄い孢子濃度でも発生が多くなる傾向が認められた。以上から、温湯浸漬処理種子は暴露される菌密度

表2 種子の浸種、催芽、出芽工程におけるイネばか苗病の感染リスク

種子予措 工程	統合リスク比 (95%信頼区間)			
	保菌糶5%混入	有意水準	保菌糶10%混入	有意水準
浸種	1.7倍 (0.2–12.3倍)	P=0.59	2.4倍 (0.3–18.6倍)	P=0.41
催芽	1.9倍 (0.8–4.5倍)	P=0.15	5.4倍 (2.1–13.5倍)	P<0.05
出芽	4.5倍 (2.1–9.7倍)	P<0.05	5.4倍 (1.2–23.9倍)	P<0.05

注1) 伝染リスクを評価する工程のみでばか苗病菌に接触させるため、接触させる工程以外は全て種糶を1粒ごとに個別に育苗した。

注2) 試験は3回繰り返し、メタアナリシスで結果を統合した。

注3) 1回の試験は100粒を供試した。保菌糶は粒数比で混入(5%は100粒のうち5粒, 10%は100粒のうち10粒)させた。

が低くてもばか苗病の発生が多くなり、被害が大きくなることが明らかとなった。その原因はいくつかあると思われるが、今回の場合は、用いた化学農薬が浸透移行性の成分を含んでおり、消毒後も効果が持続するのに対し、温湯浸漬法は消毒後の残効性がなく、消毒後に病原菌等にさらされると感染しやすいと考えられる。無消毒種子よりも被害が大きくなったのは、種子表面に常在している微生物が、温湯浸漬により病原菌とともに殺菌されてしまい、従来の発病抑制効果が発揮されなくなると考えられる。これは、土壌病害防除に土壌消毒をおこなうと、消毒前より多発する現象(豊田, 2005; 星野ら, 2005)と似ている。いずれにしても、温湯浸漬処理種子でばか苗病が多くなるメカニズムについては、種子上の微生物相解析など今後の検討が待たれる。

次に、育苗工程の感染リスクについて検討した。笹原(2013)は育苗工程とばか苗病の発生について、本病が発生しやすい育苗条件を提示していることから、今回は各工程において再感染を想定したリスクをメタアナリシスで評価した。その結果、各工程のリスクの変動が大きく、さらに詳細な検討は必要ではあるが、温湯浸漬処理種子において浸種、催芽、出芽の工程でばか苗病菌に再感染するリスクが高いと考えられるのは、催芽と出芽の工程であった。これは、浸種が15°Cの低温で処理するのに対し、催芽と出芽は30°Cで処理するので、ばか苗病菌の生育温度としては最適な温度範囲にあると考えられ、より感染が容易におこなえたと考えられる。

以上から、温湯浸漬法はイネばか苗病に対する防除効果は高いものの、処理後の種子は再感染しやすいこと、再感染のリスクは浸種よりも催芽と出芽の種子予措工程で高いことが明らかになった。

温湯浸漬法による種子消毒は宮城県において水稲生産の基幹技術に位置付けられており、今後も継続して使用していくものと考えられる。温湯浸漬法と化学農薬あるいは微生物資材の種子処理の併用が本病に対し有効であることはすでに報告されている(藤ら, 2015; 小倉ら, 2011)。宮城県でも微生物資材の体系利用を採用しているが、今回の結果を踏まえ、種子消毒後に再感染リスクが高い催芽あるいは出芽時に処理できる薬剤あるいは資材を重点的に探索し、新たな防除技術として生産者に提示する必要がある。例えば藤・工藤(2016)は、ばか苗病菌の再感染を想定した催芽時のEBI剤の防除効果を確認している。Miyake et al. (2012)は、イネ育苗時病害に対する新しい培土型微生物農薬について報告しており、育苗培土に用いることで温湯浸漬法の効果が安定することも確認していることから、資材化が期待される。今後、これらのような技術を組み合わせて、イネばか苗病の総合的な育苗期防除をおこなうことが重要である。

#### 引用文献

- 1) 藤 晋一, 工藤 学. 2016. イネばか苗病制御技術の開発(2) 種子消毒剤処理後のイネばか苗病菌の侵入がイネばか苗病の発生に及ぼす影響. 秋田県立大学ウェブジャーナル B3: 200-205.
- 2) 藤 晋一, 工藤 学, 佐々木南海. 2015. イネばか苗病制御技術の開発(1) イネばか苗病菌の薬剤感受性が種子消毒の効果に及ぼす影響と農家施設のモニタリング. 秋田県立大学ウェブジャーナル B2: 181-186.
- 3) 畑中教子, 畑谷みどり, 笹原剛志. 2007. イネばか苗病の多発圃場が周辺圃場の種子保菌率に及ぼす影響. 北日本病虫研報 58: 25-29.

- 4) 畑中教子. 2009. イネばか苗病の多発圃場が周辺圃場の保菌初率に与える影響. 植物防疫 63 (3) : 131-134.
- 5) 早坂 剛, 石黒清秀, 渋谷圭治, 生井恒雄. 2001. 数種のイネ種子伝染性病害を対象とした温湯種子消毒. 日植病報 67 : 26-32.
- 6) 林かずよ, 城所 隆, 小山 淳. 1999. 種子の温湯浸漬によるイネばか苗病の発病抑制効果. 北日本病虫研報 50 : 40-42.
- 7) 星野(高田)裕子, 松本直幸, 西村範夫, 紀岡雄三. 2005. 病害防除と微生物多様性 - 土壌消毒が微生物群衆および植物病原菌に与える影響解析 -. 土と微生物 59 : 77-82.
- 8) 入江和己. 2011. フザリウムー分類と生態・防除 - (駒田 亘, 小川 奎, 青木孝之編). 東京. 全国農村教育協会. p676-677.
- 9) 金子 誠. 2008. 水稻種子消毒における温湯浸漬処理技術の変遷. 関西病虫研報 50 : 29-31.
- 10) Miyake T., Tateishi H., Sakuma Y. and Saishoji T. 2012. A novel soil-type biopesticide KNB422-soil against rice seedling disease. J. Pestic. Sci. 32: 129-134.
- 11) 中畑庸子, 渡邊真紀子, 辻 英明, 鈴木智貴. 2012. 宮城県における近年の種子消毒の変遷とイネばか苗病発生の関係. 北日本病虫研報 63:239 (講要).
- 12) Nirenberg, H. I. and O'Donnell, K.. 1998. New *Fusarium* species and combinations within the *Gibberella fujikuroi* species complex. Mycologia 90: 434-458.
- 13) 小倉玲奈, 美濃健一, 白井佳代. 2011. 生物農薬, 温湯消毒と催芽時食酢処理を組み合わせた体系処理によるイネ種子伝染性病害の効果的な防除. 北日本病虫研報 62 : 18-25.
- 14) 笹原教子. 2013. 育苗管理方法がイネばか苗病の発生に及ぼす影響. 宮城古川農試研報 11 : 85-92
- 15) 鈴木穂積, 高橋正二, 藤田佳克, 園田亮一. 1987. イネばか苗病徒長苗の移植による減収. 北日本病虫研報 38 : 26-28.
- 16) 園田亮一, 李家瑞, 宮坂 篤, 岩野正敬. 2001. 矮化剤を利用したイネばか苗病発病苗の判別方法. 関東病虫研報 48 : 7-11.
- 17) 豊田剛己. 2005. モデル土壌中における土壌伝染性病原菌の個生態研究 - ダイコン萎黄病とトマト青枯病を例に -. 土と微生物 59 : 45-52.
- 18) 山下 亨, 江口直樹, 赤沼礼一, 斉藤 栄成. 2000. 水稻種子の温湯浸漬法による種子伝染性病害の防除(1): 苗いもちおよびばか苗病に対する温湯浸漬処理の防除効果. 関東東山病害虫研究会 47:7-11.
- 19) 横須賀知之, 市毛一永, 諏訪順子, 渡邊 健. 2004. 温湯浸漬による水稻種子伝染性病害の防除. 茨城農総セ研報 7 : 13-22.

## Rice Seedling Susceptibility to Bakanae Disease and Evaluation of infection Risks Associated with Seed Processing after Hot Water Treatment

Tomotaka SUZUKI

### Summary

This study evaluated the susceptibility to bakanae disease of rice seeds after hot water treatment. When sterilized seeds were soaked in spore suspension of bakanae disease fungus, the disease occurred much more frequently the seeds of the hot water treatment than the seeds of chemical fungicide treatment. There were also more death seedlings when compared to non-sterilized seed. As a result of having evaluated the infection risk of the bakanae disease fungi in the seedling process for meta-analysis, the hastening of germination and the emergence was high risk. These result is suggest that the rice seed after hot water treatment are more susceptible to bakanae disease fungus and the disease becomes severer than chemical fungicide treatment or non-sterilized seed.

