

(様式 1)

病害虫の効率的防除体制の再編委託事業

減農薬栽培に対応した水稻の種子伝染性病害に対する防除体系の確立 (1) ばか苗病の人工培土による防除技術の実証

太田光祐・芦澤武人

農研機構中央農業研究センター

[〒305-8666 茨城県つくば市観音台2-1-18]

1. 調査背景と目的

水稻の種子伝染性病害の防除技術を確立するには、種子での病原菌の汚染実態や発病リスクを予め把握することが重要であるため、病原菌を簡易、かつ高感度に検出できる技術の整備が必要となる。近年、温湯処理などを用いた減農薬栽培の普及に伴い、ばか苗病、もみ枯細菌病、いもち病などの種子伝染性病害の被害が全国的に問題になっている。そこで、これらの病害を対象として、既往の研究報告を参考にPCR法や選択培地を用いた原因菌の検出・診断技術の実用性を調査する。実用性が確認できた手法については、本田での病害診断や種子での検出に利用する際の作業手順を取りまとめる。また、検出法の調査を効率的に進めるため、参画機関より提供された試験材料を用いて試験を実施する。本事業で防除試験の有効性を評価する際にも活用する。

2. 調査方法

1) ばか苗病の発病に及ぼす資材の影響

コシヒカリの自然感染籾(2018年産、2019年産、長野農試より分譲)を催芽させ、鳩胸状態の種子を選び、資材Aを塗抹した。これを直径10cmのポリポットの下層にボンソル2号、上層に無肥料焼土を容積1:2の比で詰めて播種した。これを無肥料焼土で覆土し、25°Cの温室で管理した。播種日より2日後に生育調節剤のウニコナゾールPの500倍希釈液を灌注し、2週間後にばか苗病の発病の有無を調査した(3反復)。なお、2018年産種子については、分譲時期の違いにより2018_1、2018_2の2つに試験区を分けた。

2) 簡易選択培地を用いたばか苗病菌の検出

上記の試験で発病の有無を調査した後、資材A処理区から無病徴株を、無処理区から発病株を1反復につき30株ずつ選んだ。籾から葉鞘基部までを切り取り、70%エタノールで10秒間浸漬して表面殺菌し、滅菌蒸留水で3回洗浄した後、フザリウム簡易選択培地に置床した。これを室温で4日間培養後、顕鏡によりばか苗病菌コロニーの有無を確認した。

3. 調査結果

- 1) 資材Aの塗抹処理により、幼苗期のばか苗病の発病株数が減少した(図1、表1)。
- 2) 資材A処理区の無病徴株、無処理区の発病株ともにばか苗病菌が検出された(図2、表2)。

(様式 1)

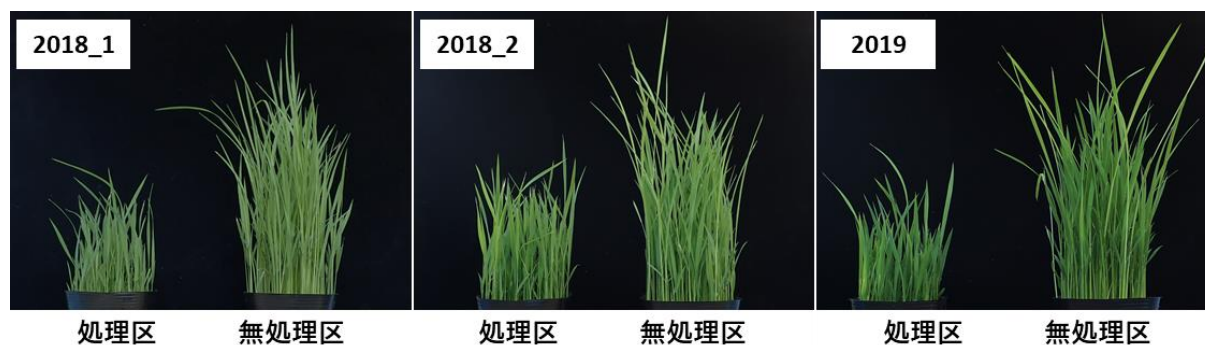


図 1 資材 A の種子塗抹処理による草丈への影響

表 1 資材 A の種子塗抹処理によるばか苗病の発病への影響

種子ロット	処理区			無処理区		
	発病株数	無病徴株数	全株数	発病株数	無病徴株数	全株数
2018_1	13.7±2.1	122.3±7.0	136.0±7.9	143.7±23.6	21.3±12.3	165.0±11.5
2018_2	26.3±3.2	94.7±5.1	121.0±2.6	144.3±7.2	21.7±6.4	166.0±1.0
2019	15.3±8.3	96.3±3.8	111.7±6.8	146.0±8.9	7.7±3.5	153.7±8.5

各数値は3反復の平均値±標準偏差



図 2 フザリウム簡易選抜培地上のばか苗病菌コロニーとガラス棒で掻き取り顕鏡した小型分生子

表 2 資材 A 処理区と無処理区のばか苗病菌検出数

種子ロット	処理区		無処理区	
	検出株数 ¹⁾	調査株数	検出株数 ¹⁾	調査株数
2018_1	29.7±0.6	30	30±0	30
2018_2	30±0	30	30±0	30
2019	30±0	30	30±0	30

1) 各数値は3反復の平均値±標準偏差

4. 考察

資材 A の種子塗抹処理により発病が抑制されていると考えられるが、選抜培地でのばか苗病菌の検出数に大きな差は無く、詳細な作用機作を明らかにする必要があると考えられる。また、資材 A の発病抑制効果を高めつつ、発芽率に影響しない最適な処理量・処理方法を検討する必要があるこ

(様式 1)

とが示唆された。

5. 今後の課題

資材 A の最適処理量や処理方法を検討する必要がある。資材 A の菌体とイネ体双方に対する影響を評価する必要がある。

6. 要約

資材 A は、ばか苗病の発病を抑制することが育苗の模擬試験で明らかになった。また、資材 A により発病が抑制されている株からもばか苗病菌は検出された。

7. 成果の公表及び特許

日本植物病理学会で発表予定。

(様式1)

病害虫の効率的防除体制の再編委託事業

減農薬栽培に対応した水稻の種子伝染性病害に対する防除体系の確立(2) ～飼料用水稻における温湯種子消毒技術の実証～

島田峻・西宮智美

茨城県農業総合センター農業研究所

[〒311-4203 茨城県水戸市上国井町 3402]

1. 調査背景と目的

近年、水稻栽培においては、温湯処理による種子消毒の普及に伴い、ばか苗病をはじめとした種子伝染性病害の被害が各地で問題となっている。温湯処理は、化学合成剤に比べて種子伝染性病害に対する防除効果がやや劣るが、減農薬栽培を推進する上では不可欠な技術に位置づけられる。そこで、温湯処理を含む既存の種子消毒技術を組み合わせた体系防除技術の有効性を実証するとともに、新たに効果の高い防除資材を活用し、減農薬栽培に対応した種子伝染性病害の防除技術を開発する。実証試験で効果が確認できた防除技術については、当該地域(県)が制作する防除指針へ掲載する。

2. 調査方法

1) 県内の主要な飼料用イネ品種等における温湯処理条件の解明

(1) 試験場所：農業研究所内(水戸市)およびガラスハウス

(2) 供試品種：「月の光(R1年産)」、「夢あおぼ(R1年産)」、「あさひの夢(R1年産)」、
「コシヒカリ(R1年産、参考品種)」

(3) 試験区： $\left(\begin{array}{c} \text{事前乾燥} \\ \text{あり、なし} \end{array} \right) \times \left(\begin{array}{c} \text{温湯処理条件} \\ 60^{\circ}\text{C}10\text{分、}60^{\circ}\text{C}15\text{分、}65^{\circ}\text{C}10\text{分、無処理} \end{array} \right)$

(4) 試験方法：事前乾燥は、温湯処理前の種子を恒温器の中に静置して40℃で乾燥させ、種子水分を10%未満に調製した。温湯処理は、浴比を1:4とし、ウォーターバスを用いて上記試験区のとおり処理後、ただちに流水で急冷し、風乾させた。

(5) 調査方法：素寒天(0.6%)を流し込んだシャーレに種子を置床して(100粒×3連制/区)30℃で静置し、7日後に芽と根が1cm以上正常に伸長した種子の割合(発芽率)を調査した。また、上記処理済みの種子を15℃で8日間浸種、30℃で24時間催芽後、育苗箱に1処理区あたり500粒播種し(2連制)、30℃で約3日間出芽させた。その後、ガラスハウス内で24日間(4月21日～5月13日)育苗して出芽数を調査した。

(様式1)

2) イネばか苗病に対する温湯処理およびMO-1液剤による防除効果の検討

- (1) 試験場所：農業研究所内（水戸市）およびガラスハウス
- (2) 供試品種：「月の光（R1年産）」、「夢あおば（R1年産）」、「あさひの夢（R1年産）」
- (3) 区制・面積：1区あたり育苗箱の1/12大のプラスチックパック 3連制
- (4) 試験区：温湯処理区 60°C10分、60°C15分、65°C10分
薬剤処理区 MO-1液剤 300倍希釈液 催芽時24時間浸漬
体系防除区 温湯処理 60°C10分 + MO-1液剤 300倍 催芽時24時間種子浸漬
温湯処理 60°C15分 + MO-1液剤 300倍 催芽時24時間種子浸漬
温湯処理 65°C10分 + MO-1液剤 300倍 催芽時24時間種子浸漬
対照区 銅・フルジオキシニル・ペフラゾエート水和剤
200倍希釈液 浸種前24時間種子浸漬
無処理区
- (5) 試験方法：イネばか苗病菌保菌種子（保菌種子率20%）を15°Cで6～7日間浸種し、30°Cで24時間催芽後、1パックあたり乾籾重量で約12g播種し、30°Cで3日間出芽させた。ウニコナゾールP液剤20倍希釈液を40ml/パック処理後、ガラスハウス内で約30日間育苗（試験①9月28日～10月29日、試験②11月16日～12月15日）し、出芽および発病調査を行った。なお、試験①は開花期接種種子、試験②は減圧接種種子を供試した。
- (6) 調査項目：出芽率、徒長苗率

3) 育苗箱に付着した残土からのイネばか苗病菌の検出

- (1) 試験場所：農業研究所（水戸市）病虫研究室内およびガラスハウス
- (2) 供試品種：「コシヒカリ」
- (3) 試験方法：イネばか苗病菌保菌種子（保菌種子率10%）を育苗箱に播種して育苗後、苗を取り除き、育苗箱に付着した残土を回収した。細根などの植物残渣を取り除き、DNA抽出キット（NucleoSpin Soil）を用いて抽出した鋳型DNAを、イネばか苗病菌同定プライマー（BknF3/BknR4 および Ff-S/Ff-R）を用いてPCRを行い、増幅の有無により判定した。

4) 発病苗（徒長苗または枯死苗）の根からのイネばか苗病菌の検出

- (1) 試験場所：農業研究所（水戸市）病虫研究室内およびガラスハウス、中央農研実験室
- (2) 供試品種：「コシヒカリ」、「夢あおば」
- (3) 試験区：健全苗（健全種子のみを播種）、発病苗（保菌種子率20%の種子を播種）
- (4) 試験方法：育苗した苗の根を水道水で洗浄後、10%KOHで10分間処理し、PBS(-)で2回洗浄した。次に、蛍光標識レクチン（フルオレセイン標識コムギ胚芽凝集素）で10分間染色し、PBS(-)で2回洗浄した。そして、TOMEI（東京化成工業株式会社）を

(様式1)

用いて濃度10%10分→30%10分→50%10分→70%10分→100%1時間処理し、オールインワン蛍光顕微鏡(キーエンス社、BZ-X700)で観察した。

また、発病苗を室温で保管し、駒田培地に根のみを置床し、菌糸伸長の有無を経時的に調査するとともに、イネばか苗病菌識別プライマー(BknF3/BknR4 および Ff-S/Ff-R)を用いてダイレクトPCRによる簡易同定を行った。

3. 調査結果

1) 県内の主要な飼料用イネ品種等における温湯処理条件の解明(表1、2)

種子水分は各品種ともに事前乾燥前は12~14%程度、事前乾燥後は9%程度であった(データ省略)。

【事前乾燥なしの場合】

- (1) 「月の光」の発芽率は、60°C10分および15分で90%以上(事前乾燥なしの無処理対比97以上)と高かったが、65°C10分では78%(#81)と低かった(表1)。
- (2) 「夢あおば」の発芽率は、60°C10分で90%以上(#100)と高かったが、60°C15分では86.0%(#90)とやや低下し、65°C10分では75.3%(#79)と低かった(表1)。
- (3) 「あさひの夢」の発芽率は、いずれの処理区でも90%以上(#95以上)と高かった(表1)。
- (4) いずれの品種においても、出芽率も同様の傾向が認められた(表2)

【事前乾燥ありの場合】

いずれの品種も事前乾燥により、温湯処理後の発芽率と出芽率が向上する傾向が認められた。

- (1) 「月の光」の発芽率は、60°C10分および15分で90%以上(#99以上)と高かったが、65°C10分では85.3%(#89)とやや低下した(表1)。
- (2) 「夢あおば」の発芽率は、60°C10分で90%以上(#98)と高かったが、60°C15分および65°C10分では85.7~88.3%(#90~92)とやや低下した(表1)。
- (3) 「あさひの夢」の発芽率は、いずれの処理区でも90%以上(#98以上)と高かった(表1)。
- (4) いずれの品種においても、出芽率も同様の傾向が認められた(表2)

(様式1)

表1 各品種に対する事前乾燥が温湯処理後の発芽率(%)に及ぼす影響

供試品種	事前乾燥 の有無 ¹⁾	無処理	温湯処理		
			60℃		65℃
			10分	15分	10分
月の光	無	96.3 (100) ²⁾	95.7 (99)	93.3 (97)	78.0 (81)
	有	94.7 (98)	98.0 (102)	95.3 (99)	85.3 (89)
夢あおば	無	95.7 (100)	95.3 (100)	86.0 (90)	75.3 (79)
	有	96.0 (100)	93.7 (98)	88.3 (92)	85.7 (90)
あさひの夢	無	99.7 (100)	98.7 (99)	99.0 (99)	94.7 (95)
	有	98.3 (99)	99.7 (100)	97.7 (98)	99.0 (99)
コシヒカリ (参考)	無	99.7 (100)	99.0 (99)	95.0 (95)	93.0 (93)
	有	99.3 (100)	100 (100)	93.0 (93)	93.0 (93)

1) 事前乾燥は温湯処理前の種子を40℃の恒温器内に静置して乾燥させ、種子水分を約9%に調製した。

2) ()内は無処理(事前乾燥なし)との対比である

表2 各品種に対する事前乾燥が温湯処理後の出芽率(%)に及ぼす影響

供試品種	事前乾燥 の有無 ¹⁾	無処理	温湯処理		
			60℃		65℃
			10分	15分	10分
月の光	無	83.5 (100) ²⁾	91.1 (109)	85.2 (102)	71.5 (86)
	有	84.1 (101)	82.8 (99)	89.5 (107)	78.0 (93)
夢あおば	無	90.2 (100)	87.1 (97)	68.6 (76)	65.4 (73)
	有	85.9 (95)	87.3 (97)	77.9 (86)	72.1 (80)
あさひの夢	無	92.4 (100)	94.6 (102)	96.4 (104)	92.2 (100)
	有	91.2 (99)	95.8 (104)	97.6 (106)	93.9 (102)
コシヒカリ (参考)	無	96.3 (100)	96.8 (101)	93.4 (97)	91.5 (95)
	有	96.1 (100)	98.2 (102)	93.7 (97)	86.2 (90)

1~2)表1と同様

(様式1)

2) イネばか苗病に対する温湯処理およびMO-1液剤による防除効果(表3、4)

- (1) 試験①において、無処理区の徒長苗率は「月の光」および「あさひの夢」は10.9~12.8%と少発生、「夢あおば」は53.7%と甚発生条件下のなか、対照薬剤の銅・フルジオキシニル・ペフラゾエート水和剤区は、「月の光」および「あさひの夢」では高い防除効果が認められたが、「夢あおば」では防除効果はやや低かった(表3)。
- (2) 試験②において、無処理区の徒長苗率は50.4~69.6%であり、いずれの品種においても甚発生条件下のなか、対照薬剤の銅・フルジオキシニル・ペフラゾエート水和剤区は高い防除効果が認められた(表4)
- (3) 温湯処理区は、いずれの処理区でも防除効果が認められた(防除価93.8~100)。特に、65℃10分では防除効果が高かつ安定していたが、著しい出芽率の低下が認められた(表3、4)。
- (4) MO-1液剤区は、試験①の「あさひの夢」において防除効果は認められたが、その程度は低かった(防除価80.5)。また、他の試験区においては防除効果が認められなかった(防除価21.3~61.5)。なお、葉害は認められなかった(表3、4)。
- (5) 温湯処理とMO-1液剤との体系防除区は、いずれも高い防除効果が認められた(防除価94.0~100)。また、温湯処理区のみと比較し、出芽率が向上する傾向が認められた(表3、4)。

表3 イネばか苗病に対する種子消毒による防除効果(試験①:開花期接種種子)

試験区		「月の光」			「夢あおば」			「あさひの夢」		
温湯処理	MO-1液剤	対無処理比 の出芽率 (%)	徒長苗率 (%)	防除価	対無処理比 の出芽率 (%)	徒長苗率 (%)	防除価	対無処理比 の出芽率 (%)	徒長苗率 (%)	防除価
60℃10分	—	90	0	100	108	1.6	97.0	102	0.8	93.8
	有	105	0	100	122	2.8	94.8	101	0.4	96.9
60℃15分	—	88	0	100	103	1.8	96.6	97	0	100
	有	95	0	100	107	3.2	94.0	98	0.1	99.2
65℃10分	—	56	0	100	73	0	100	70	0	100
	有	49	0	100	75	0	100	78	0	100
—	有	93	4.2	61.5	101	27.7	48.4	101	2.5	80.5
銅・フルジオキシニル ・ペフラゾエート水和剤		111	0	100	143	6.3	88.3	108	0	100
無処理		100	10.9	—	100	53.7	—	100	12.8	—

注1) 健全種子:開花期接種種子=4:1で実施した。

注2) 試験期間は9月17日(温湯処理後、浸種開始)~10月29日(発病調査)である。

注3) 防除価=(無処理区の徒長苗率-処理区の徒長苗率)/無処理区の徒長苗率×100

(様式1)

表4 イネばか苗病に対する種子消毒による防除効果 (試験②: 減圧接種種子)

試験区		「月の光」			「あさひの夢」			「夢あおば」		
温湯処理	M0-1液剤	対無処理比 の出芽率 (%)	徒長苗率 (%)	防除価	対無処理比 の出芽率 (%)	徒長苗率 (%)	防除価	対無処理比 の出芽率 (%)	徒長苗率 (%)	防除価
60℃10分	—	130	0.1	99.9	126	0.2	99.6	129	0.7	99.0
	有	135	0	100	124	0.2	99.6	139	2.0	97.1
60℃15分	—	108	0	100	120	0	100	120	0.2	99.7
	有	124	0	100	124	0	100	111	0.3	99.6
65℃10分	—	/			110	0	100	105	0	100
	有				117	0	100	108	0.2	99.7
—	有	108	28.7	58.8	98	30.2	40.1	88	53.7	21.3
銅・フルジオキソニル ・ペフラゾエート水和剤		138	0.5	99.3	128	0	100	146	0.2	99.7
無処理		100	69.6	—	100	50.4	—	100	68.2	—

注1) 健全種子: 減圧接種種子=4:1で実施した。

注2) 試験期間は11月5日(温湯処理後、浸種開始)~12月15日(発病調査)である。

注3) 防除価=(無処理区の徒長苗率-処理区の徒長苗率)/無処理区の徒長苗率×100

3) 育苗箱に付着した残土からのイネばか苗病菌の検出

(1) 使用したDNA抽出キットではDNAが抽出されず、残土中の病原菌の有無を明らかにできなかった(データ省略)。

4) 発病苗(徒長苗または枯死苗)の根からのイネばか苗病菌の検出

- (1) 健全苗の根には、菌糸がほとんど認められなかった(図1)。
- (2) 徒長苗の根には細い菌糸が認められ、特に枯死苗の根には多くの菌糸が認められた(図1、2)。
- (3) 菌糸は根表面のみでなく、表皮から外皮の細胞間隙にも認められた(図3)。
- (4) 駒田培地上に生育してきた菌糸を簡易同定した結果、根表面上に付着している菌糸はイネばか苗病菌の可能性が高い(図4)。

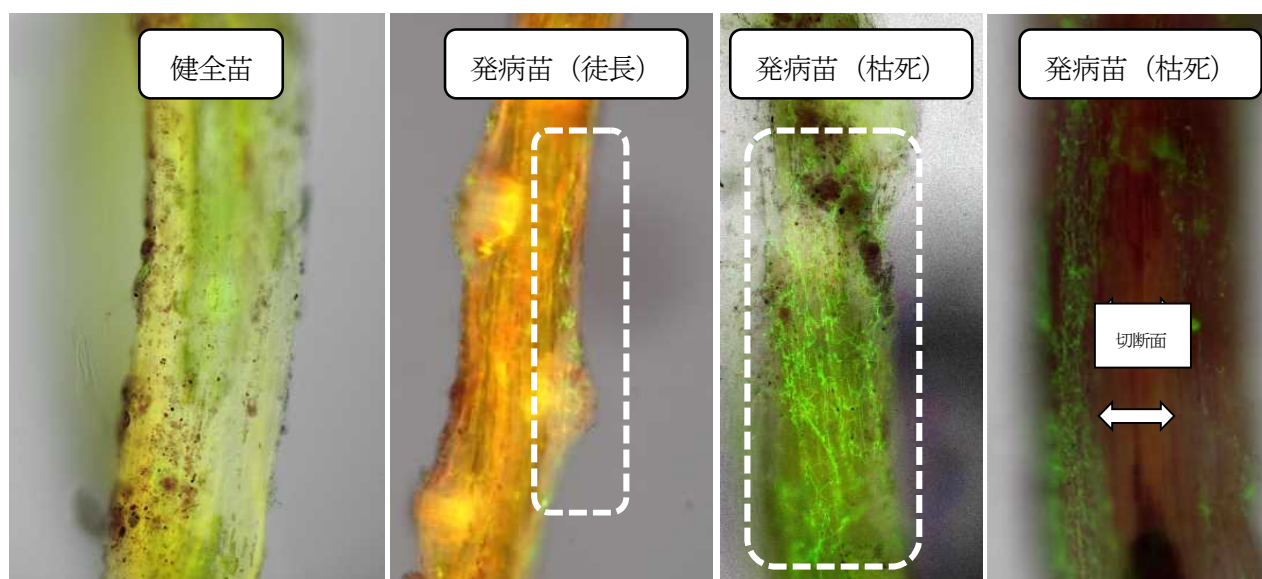


図1 根表面上における菌糸の蛍光観察(コシヒカリ)

(様式1)

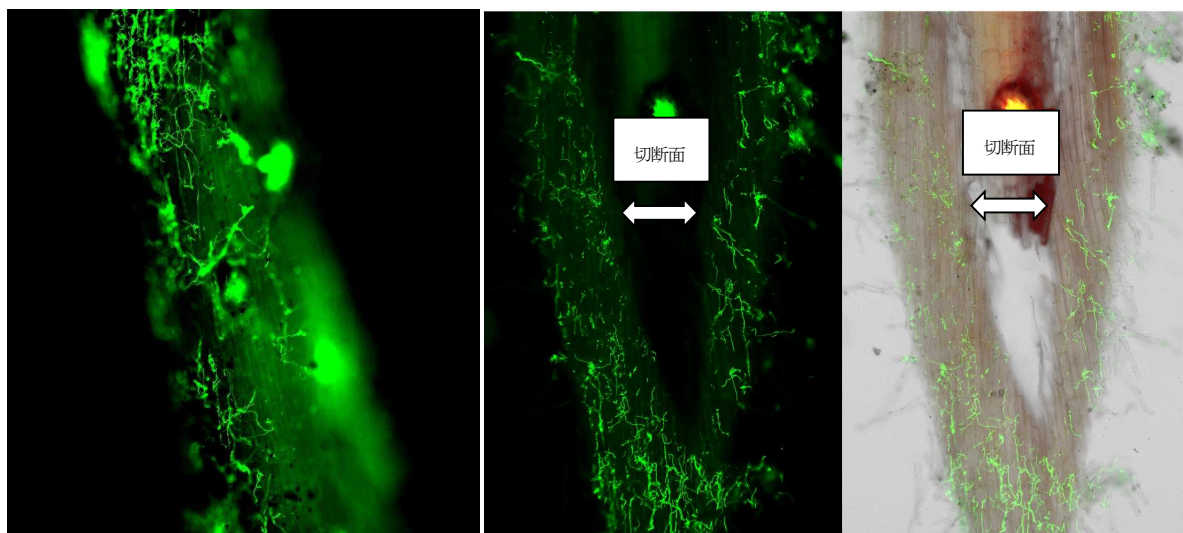


図2 根表面上における菌糸の蛍光観察 (夢あおば)

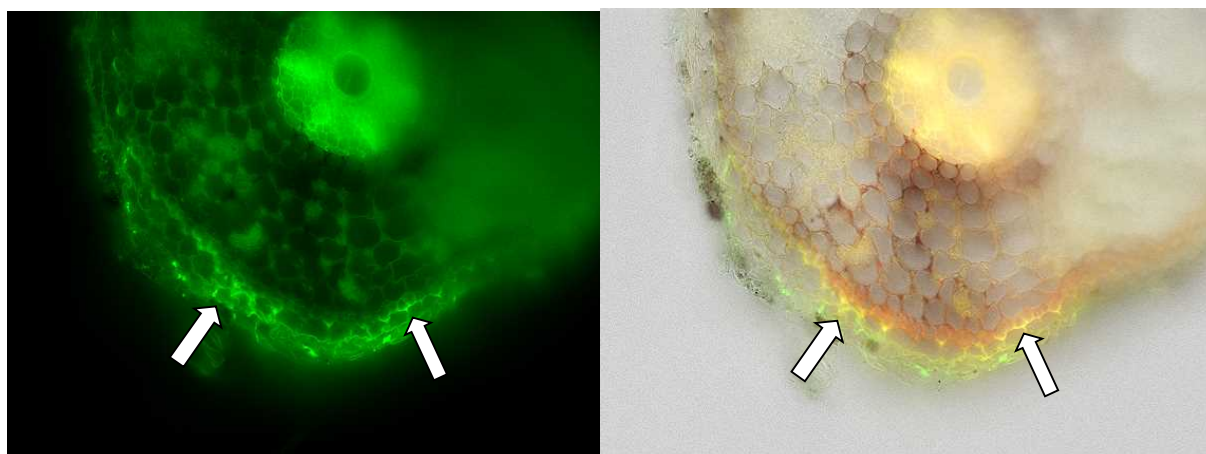


図3 枯死苗の根切片における菌糸の蛍光観察 (コシヒカリ)

注) 白矢印は菌糸が表皮から外皮の細胞間隙に認められている部分を示す



図4 発病苗の根から生育した糸状菌の簡易同定

(左: 駒田培地による菌の分離、右: 識別プライマー (Ff-S/Ff-R) による簡易同定)

(様式1)

4. 考察

1) 茨城県内の主要な飼料用イネ等3品種において、温湯処理条件が60°C10分>60°C15分>65°C10分の順に発芽率等が低下する傾向が認められた。また、事前乾燥により種子水分を10%未満にすることで、いずれの品種においても温湯処理後の発芽率と出芽率が向上する傾向が認められたことから、事前乾燥処理は供試した3品種においても有効であることが明らかとなった。

「月の光」において、本年の結果では60°C15分までなら発芽率90%以上を確保できたが、過去の試験成績をふまえると、60°C10分が適正な温湯処理条件であると考えられた。

「夢あおば」において、本年の結果では60°C10分で発芽率90%以上を確保できたが、60°C15分では86%と低くなった。この要因として、割れ粳が散見されたことから、温湯処理による影響が大きかったためと考えられた。H30年試験では、65°C10分でも発芽率90%以上確保できたが、過去の試験成績をふまえると、60°C10分が適正な温湯処理条件であると考えられた。

「あさひの夢」において、60°C10分および15分、65°C10分処理でも発芽率90%以上を確保でき、過去の試験をふまえても同様の結果であることから、60°C10分および15分、65°C10分が適正な温湯処理条件であると考えられた。

採種年度により温湯処理による発芽率等への影響が異なる可能性があるため、事前に発芽率を確認する必要がある。特に割れ粳が多い場合には、発芽率が低下する恐れがあるので注意する必要がある。

2) イネばか苗病に対する防除効果試験では、前述の適正処理条件での温湯処理は、高い防除効果が認められた。また、出芽率への影響を除いた場合、60°C10分<60°C15分<65°C10分の順に防除効果が安定した。よって、防除効果を安定させるために、より厳しい条件で実施する場合には、事前乾燥処理が有効であると考えられた。

M0-1液剤の防除効果は一部で認められたが、その程度は低く、イネばか苗病に対しては防除効果が不安定であると考えられた。しかし、温湯処理との併用により出芽率の向上が認められ、発病抑制のみでなく副次的な効果もあると考えられた。

3) 発病苗の根には、高率でイネばか苗病菌が確認されたため、育苗箱に残根がある場合は伝染源となる可能性があると考えられた。

5. 今後の課題

1) 育苗箱に付着していた残土からDNA抽出ができなかったため、スキムミルクなどの添加物を併用して再試験する必要がある。

2) 発病苗の残根上でのイネばか苗病菌の生存期間は明らかとなっていないため、今後調査する必要がある。

(様式1)

6. 要約

- 1) 各品種の適正な温湯処理条件は、「月の光」および「夢あおば」は60℃10分、「あさひの夢」は60℃10～15分および65℃10分であり、本処理条件におけるイネばか苗病に対する防除効果は高い。
- 2) イネばか苗病発病苗の根には病原菌が寄生し、表皮から外皮の細胞間隙にも認められることから、育苗箱に発病苗の残根がある場合は伝染源となる可能性がある。

7. 成果の公表及び特許

- ・茨城県の主要成果（技術情報）「飼料用イネ品種等の適正な温湯処理条件」として公表
- ・茨城県の主要成果（研究）「イネばか苗病発病苗の根には病原菌が寄生している」として公表
- ・当該試験で得られた成果をR4年度病害虫防除指針に記載予定

(様式1)

減農薬栽培に対応した水稻の種子伝染性病害に対する防除体系の確立(3)

(1) 事前乾燥と熱処理強度を高めた温湯処理を組み合わせた防除効果の検証

氏名：酒井和彦・小巻康平・宮田穂波・植竹恒夫

所属：埼玉県農業技術研究センター

[〒360-0102 埼玉県熊谷市須賀広 784]

1. 調査背景と目的

本事業において、関東・東山ブロックでは減農薬栽培に対応した水稻種子伝染性病害に対する防除技術確立のための調査研究を実施する。埼玉県では「もみ枯細菌病」に対する、減農薬栽培技術に対応した防除体系の確立のための調査研究を行う。

ここでは、採種年次が異なる自然感染種子籾に対する事前乾燥処理と温湯浸漬を組み合わせた防除効果および発芽への影響を明らかにする。事前乾燥処理は、種子籾の水分を10%未満に低下させることで耐熱性が向上するとの既往の知見に基づく。

2. 調査方法

(1) 前年の自然感染籾に対する事前乾燥と温湯浸漬を組み合わせた防除効果の検証

1) 供試材料

「彩のかがやき」の2018年産および2019年産を供試した。両試料とも、埼玉県農業技術研究センター玉井試験場内水田で、もみ枯細菌病発生ほ場より採種したものである。

2) 方法

種子の事前乾燥処理は、ガラス製デシケータを用いて実施した。野菜用網袋(250g用)に供試種子を入れて粒状シリカゲル(青色)と共にデシケータへ入れ、常温で約1か月保った。シリカゲルが吸湿して青色の標識が薄れた際は新たなシリカゲルと交換し種子籾の乾燥を行った。試験区の構成は以下のとおりとした。

事前乾燥有]	×	[65°C・10分間温湯浸漬
事前乾燥無				60°C・15分間温湯浸漬
				60°C・10分間温湯浸漬
				温湯浸漬無

温湯浸漬処理は、ウォーターバス用恒温器をセットしたポリエチレン製22.1L容の水槽を用いて行い、所定時間処理後はただちに流水(水道水)で十分に冷却した。温湯処理後ただちに水温15~20°Cで数日間浸種し、播種前日に26°Cで1日間の催芽処理を行った。

ポリプロピレン製280g型イチゴ用パックに粒状培土(ホーネンス培土3号)を充てんし、1パックあたり200粒を播種、覆土した。播種後は鉄骨造ガラス温室内の育苗ベンチ上で管理、

(様式1)

3葉期まで育苗した。試験は3連制で実施した。試験を実施した時期が12月で低温期のため、育苗ベンチ上には断熱材と電熱マット（農電園芸マット：N社製）を敷き、地温は、出芽までは25℃、出芽・緑化後は20℃となるようにサーモスタットを設定した。水管理は、ステンレス製バット（長さ40cm×幅29cm×深さ6cm）を置いて1～2cmの深さに水を張り、そこにイチゴ用パックを置いて底面給水とした。なお、試験温室は温湯管暖房が設置されているが、夜間～早朝は室温が15℃を下回る場合があるため、電熱式オイルヒータ（D社製）を3台設置し、室温15℃以上を保てるようにした。日中の換気温度は32℃設定とした。

播種後21および22日に、全個体を対象として発病調査と苗立率の調査を行い、防除効果を評価した。

(2) 採種年次の異なる種子における事前乾燥と温湯浸漬の発芽に対する影響

1) 供試材料

「彩のきずな」（2018年産、2019年産）および「彩のかがやき」（2018年産、2019年産）の2品種・計4ロットを対象とした。これら種子は、試験開始前まで9℃の冷蔵庫で保管しておいたものである。

2) 方法

種子の乾燥方法と温湯浸漬処理方法は前述の（1）と同一である。浸漬処理後の供試籾は野菜用網袋（250g用）に入れて実験室内で風乾した。

発芽検査は定法（100粒×4反復、25℃）に準じて行った。径90mmガラスシャーレに径85mm濾紙（規格No.2）を敷き、供試種子籾を入れ、蒸留水で濾紙を湿らせて検定した。ガラスシャーレは32枚ずつポリエチレン製13L容の蓋付きコンテナに入れ、当センター実験棟に設置の昆虫飼育室（25℃、L16hr-D8hr）で管理した。

播種後は経時的に発芽調査を行い、完全に幼芽・幼根が伸長した籾を発芽籾として拾い出して計数し、発芽率を求めた。

3. 調査結果

(1) 前年の自然感染籾に対する事前乾燥と温湯浸漬を組み合わせた防除効果の検証

2018年産「彩のかがやき」の結果は表1のとおりである。

苗立率は97～98%で試験区間に有意差は認められなかったが、65℃・10分間浸漬では事前乾燥の有無にかかわらず他の試験区に比較しわずかに低下する傾向が認められた。

苗腐敗症の発生はごく少なく、期間中に枯死した苗は各区とも皆無であった。事前乾燥および温湯浸漬消毒による防除効果は判然としなかったが、事前乾燥と65℃10分間浸漬、および、事前乾燥と60℃15分浸漬の組み合わせでは発病が全く認められなかった。

(様式1)

表1 2018年産「彩のかがやき」の育苗試験における苗立率および防除効果

事前乾燥	温湯浸漬	苗立率 (%)	発病苗率 (%)	枯死苗率 (%)	発病度	防除価 (発病苗率で算出)
有	65°C・10分間	97.3 n.s.	0 a	0	0	100
有	60°C・15分間	98.3	0 a	0	0	100
有	60°C・10分間	98.2	0.68 ab	0	0.28	63.9
有	無	98.2	1.35 ab	0	0.79	28
無	65°C・10分間	97.3	1.89 b	0	1.20	0
無	60°C・15分間	98.5	1.69 b	0	1.13	9.7
無	60°C・10分間	98.3	0.85 ab	0	0.45	54.7
無	無	98.2	1.87 b	0	1.19	-

注1) 異なる英小文字間に有意差あり(arcsin変換後の値を用いて検定: Tukey-Kramer, $p < 0.05$.)

注2) 供試籾の水分は, 事前乾燥有が6.0%, 無が10.5%.

防除価: 苗腐敗症の調査基準を, 0=健全, 1=苗の奇形または白化, 2=葉鞘・葉身に褐変, 3=全体腐敗または枯死 とし、 $\{ \sum \text{階級値} \times \text{個体数} \} \div \{ \text{調査個体数} \times 3 \} \times 100$ で算出 表2も同じ。

2019年産「彩のかがやき」の結果は表2のとおりである。

苗立率は95~99%で、65°C・10分間浸漬では事前乾燥有の場合に他区より低下したが、その度合いは小さかった。

発病苗率は2.5%、枯死株率は0.2%で少発生での検討となった。事前乾燥無・65°C10分間の温湯浸漬処理区でのみ低いが防除効果を認めたが、それ以外の処理では防除効果を認めなかった。発病苗率には有意差は無く全体に少発生であるため、本処理による防除効果の評価は困難と考えられた。

表2 2019年産「彩のかがやき」の育苗試験における苗立率および防除効果

事前乾燥	温湯浸漬	苗立率 (%)	発病苗率 (%)	枯死苗率 (%)	発病度	防除価 (発病苗率で算出)
有	65°C・10分間	95.5 a	2.79 n.s.	0.17 n.s.	1.86	0
有	60°C・15分間	98.3 ab	4.73	0	2.76	0
有	60°C・10分間	98.5 ab	2.70	0	1.46	0
有	無	98.8 ab	3.20	0	2.08	0
無	65°C・10分間	98.0 ab	1.53	0	0.85	39.1
無	60°C・15分間	97.7 ab	5.81	0	4.10	0
無	60°C・10分間	97.5 ab	5.13	0.17	3.76	0
無	無	99.2 b	2.52	0.17	1.56	-

注1) 異なる英小文字間に有意差あり(arcsin変換後の値を用いて検定: Tukey-Kramer, $p < 0.05$.)

注2) 供試籾の水分は, 事前乾燥有が6.5%, 無が11.0%.

防除価: 苗腐敗症の調査基準を, 0=健全, 1=苗の奇形または白化, 2=葉鞘・葉身に褐変, 3=全体腐敗または枯死 とし、 $\{ \sum \text{階級値} \times \text{個体数} \} \div \{ \text{調査個体数} \times 3 \} \times 100$ で算出

(様式1)

(2) 採種年次の異なる種子における事前乾燥と温湯浸漬の発芽に対する影響

1) 「彩のきずな」における結果

表3および表4のとおりである。2018年産種子では、事前乾燥有無によらず65°C10分間浸漬では調査の期間を通じて他の処理に比較し発芽率が低く推移した。とくに、5日後（発芽勢評価時）では明らかに低く、事前乾燥無の場合は、より低下した。2019年産でも同様の傾向が認められ、65°C10分間浸漬では他の処理に比較し調査期間を通じて発芽率は低く推移した。但し、発芽率の低下は2018年産に比較し軽度であった。また、60°Cの処理でも、事前乾燥の有無によらず15分間浸漬では10分間浸漬に比較し発芽率は低下する傾向が認められた。

「彩のきずな」での温湯浸漬処理は60°C・10分間を基本とし、処理を強める場合でも60°C・15分間にとどめることが望ましいと考えられる。事前乾燥を行った場合でも65°C・10分間の温湯浸漬は適用困難と判断した。

表3 2018年産種子における発芽率

事前乾燥	温湯浸漬	発芽率(%)		
		5日後	7日後	14日後
有	65°C10分間	40.5 a	80.5 a	88.3 a
有	60°C15分間	76.0 b	91.0 bc	94.8 abc
有	60°C10分間	85.3 bc	93.3 bc	96.0 bc
有	無	88.0 bc	96.0 b	97.5 b
無	65°C10分間	36.3 a	86.3 a c	89.0 a c
無	60°C15分間	84.0 bc	91.8 bc	96.5 b
無	60°C10分間	89.5 bc	96.0 b	97.3 b
無	無	94.3 c	98.3 b	98.3 b

注) 種子粗の水分は、事前乾燥有は6.0%。事前乾燥無は10.0%、異なる英小文字間に有意差あり(Tukey-Kramer, $p < 0.05$)。

表4 2019年産種子における発芽率

事前乾燥	温湯浸漬	発芽率(%)		
		5日後	7日後	14日後
有	65°C10分間	59.0 ab	87.8 a	91.5 a
有	60°C15分間	71.3 bc	93.5 bcd	94.5 ab
有	60°C10分間	84.0 c	95.8 bc	97.5 b
有	無	66.8 ab d	95.5 bc	98.3 b
無	65°C10分間	55.5 a	87.5 de	92.3 a
無	60°C15分間	70.3 abc	92.3 bc e	94.5 ab
無	60°C10分間	81.5 cd	96.5 c	98.0 b
無	無	81.3 cd	97.0 c	98.3 b

注) 種子粗の水分は、事前乾燥有は6.0%。事前乾燥無は10.0%、異なる英小文字間に有意差あり(Tukey-Kramer, $p < 0.05$)。

(様式1)

2) 「彩のかがやき」における結果

表5および6のとおりである。5日後では、65°C・10分間の温湯浸漬は事前乾燥の有無によらず他の処理より低下したが、その度合いは「彩のきずな」に比較し小さかった。ただし、2018年産では2019年産より低下の度合いが大きく、採種後の期間が長期化することによる種子の活力低下が示唆された。60°C・15分間浸漬処理では、事前乾燥無でも発芽率の大幅な低下は認められなかったが、2018年産すなわち採種2年経過後では発芽勢が低下する可能性が考えられた。

「彩のかがやき」では「彩のきずな」に比較し温湯浸漬処理に対する耐性が高いと考えられるが、発芽勢を考慮すると、65°C・10分間浸漬処理は事前乾燥と組み合わせることが必要と考えられる。ただし、採種後2年を経過した種子では発芽勢と発芽率の低下が見られるため、採種後1年の種子に限るほうが良いと考えられる。

表5 2018年産における発芽率

事前乾燥	温湯浸漬	発芽率(%)		
		5日後	7日後	14日後
有	65°C10分間	70.3 b	90.3 a	93.5 ab
有	60°C15分間	84.3 c	91.5 a c	93.8 a
有	60°C10分間	91.8 c	96.5 b	97.5 a c
有	無	85.8 c	96.3 b	98.5 c
無	65°C10分間	59.8 a	91.8 a	93.5 ab
無	60°C15分間	88.8 c	96.3 b	98.0 abc
無	60°C10分間	91.3 c	97.0 b	98.5 c
無	無	84.5 c	95.5 bc	98.5 c

注) 種子粗の水分は、事前乾燥有は6.0%、事前乾燥無は10.5%、異なる英小文字間に有意差あり(Tukey-Kramer, $p < 0.05$)。

表6 2019年産における発芽率

事前乾燥	温湯浸漬	発芽率(%)		
		5日後	7日後	14日後
有	65°C10分間	90.8 ab	96.8 a	98.5 n.s.
有	60°C15分間	94.8 b d	99.0 ab	99.5
有	60°C10分間	97.3 bc	99.5 ab	99.5
有	無	96.3 bc	99.8 bc	100.0
無	65°C10分間	86.3 a	98.5 a c	99.0
無	60°C15分間	95.0 bc	98.8 a c	99.0
無	60°C10分間	99.3 cd	99.8 bc	99.8
無	無	95.5 bc	99.0 abc	99.5

注) 種子粗の水分は、事前乾燥有は6.5%、事前乾燥無は11.0%、異なる英小文字間に有意差あり(Tukey-Kramer, $p < 0.05$)。

(様式1)

4. 考察

自然感染種子を用いた育苗検定では、事前乾燥と65℃・10分間温湯浸漬、または、事前乾燥と60℃・15分間の温湯浸漬で防除効果が認められた場合もあったが、無処理区を含めて全般に発病が少なかったため、事前乾燥と温湯浸漬との組み合わせによる苗腐敗症（もみ枯細菌病）の低減効果は明らかとはならなかった。

65℃・10分間の温湯浸漬処理が発芽に及ぼす影響は品種間差が認められ、事前乾燥と組み合わせても「彩のきずな」は「彩のかがやき」に比較して種子籾の高温耐性が低いことが示唆され、「彩のきずな」での適用は困難と判断された。「彩のかがやき」に比較し「彩のきずな」での種子籾の高温耐性が低い結果は昨年と同様であり、これは品種特性と考えられる。

一方、「彩のかがやき」では「彩のきずな」に比較し強度の熱処理に耐え、発芽勢（5日後）および7日後の発芽率から考えて、前年産種子であれば65℃・10分間の温湯浸漬処理も適用可能と考えられた。しかし、採種後2年経過した種子では60℃・15分間処理にとどめることが望ましいと考えられる。

5. 今後の課題

自然感染種子を用いた検定では、複数ロットの種子を供する必要があると考えられる。

6. 要約

「彩のかがやき」を対象に、種子籾水分10%未満に低下させる事前乾燥と熱処理強度を高めた65℃・10分間または60℃・15分間の温湯浸漬処理による、自然感染種子における育苗中の苗腐敗症を抑制する効果と苗立率に及ぼす影響を調査した。また、採種年を異にする「彩のきずな」「彩のかがやき」両品種の種子における発芽勢・発芽率に及ぼす影響について検討した。

育苗試験の結果より、防除効果は判然としなかったものの、事前乾燥と65℃・10分間または60℃・15分間の温湯浸漬で防除効果が認められる場合があることを明らかにした。

発芽試験の結果から、「彩のきずな」では「彩のかがやき」より種子の高温耐性が低い傾向があることが明らかとなった。また、「彩のきずな」では、採種後2年以上経過した種子では事前乾燥を行っても65℃・10分間の温湯浸漬は適用困難であることを明らかにした。

7. 成果の公表及び特許

品種や採種年次など、温湯浸漬処理に際し発芽率に大きく影響することが判明した知見は、現地指導の際に活用。

(様式1)

病害虫の効率的防除体制の再編委託事業

減農薬栽培に対応した水稻の種子伝染性病害に対する防除体系の確立(3)

(2) 効率的な防除体系の確立

氏名：酒井和彦・小巻康平・宮田穂波・植竹恒夫

所属：埼玉県農業技術研究センター

[〒360-0102 埼玉県熊谷市須賀広 784]

1. 調査背景と目的

本事業において、関東・東山ブロックでは減農薬栽培に対応した水稻種子伝染性病害に対する防除技術確立のための調査研究を実施する。埼玉県では「もみ枯細菌病」に対する、減農薬栽培技術に対応した防除体系の確立のための調査研究を行う。本県における水稻（早植栽培、普通植栽培）の減農薬栽培の基準は「6成分以内」である。この基準内におさまるよう、効率的に「もみ枯細菌病」を防除できる体系を構築し、生産現場に適用する。

ここでは、薬剤の育苗箱施用と本田生育期処理の体系防除による効果を検証する。

2. 調査方法

(1) 本田における効率的な防除

1) 供試品種・場所・耕種概要

「彩のきずな」「彩のかがやき」の2品種で検討した。これら品種は縞葉枯病、穂いもち、ツマグロヨコバイに抵抗性を持つ。前者は2020年5月18日移植、後者は6月12日移植で、埼玉県農業技術研究センター 玉井試験場 水田ほ場（灰色低地土：宝田統）で検討した。

施肥は基肥＋穂肥の分施とし、基肥は10a当たりNPK各5kg、穂肥は「彩のきずな」でNK各3kg、「彩のかがやき」でNK各2kgを幼穂形成初期に施用した。水管理は慣行により行った。

2) 処理区の構成・方法

試験区の構成は表1のとおりである。両品種とも試験区3を除き種子消毒は60℃・15分間の温湯浸漬処理とした。試験区3は化学合成農薬による24時間乾粒浸漬により消毒を行った。各区、消毒処理後は直ちに4日間浸種（水温15～20℃）し、播種前日に25℃に加温して催芽を行った。育苗は慣行の育苗箱（60cm×30cm）、培土はホーネンス培土3号を用いた。

なお、箱処理剤（ジノテフラン・トルプロカルブ粒剤）の選定は、過去の試験事例から本病にトルプロカルブが有効との知見に基づいた。移植は歩行型田植機（I社製2条型）で行い、株間20cm×条間30cmとした。水田面積の関係上反復を設けられないため、試験規模は1区1.3a（彩のかがやき）または1.4a（彩のきずな）とし、発病調査および収量調査時に疑似反復3地点を対角線上（左手前・中央・右奥）に設けた。

本田での液剤散布は、エンジン式動力噴霧器または背負い型手動式散布機を用いて10a当た

(様式1)

り110～140Lとした。薬液には展着剤としてグラミンSを3,330倍で加用した。なお、「彩のきずな」「彩のかがやき」とも同一の防除体系では場試験を開始したが、オキシリニック酸水和剤については令和2年9月9日付での農薬登録変更(使用制限)通知(令和2年8月7日付文書、農林水産省消費・安全局)を受けたことから、「彩のかがやき」では本田での散布を取りやめた。したがって、「彩のかがやき」での試験区1と試験区2は同一内容となるため試験区2での発病・収量調査は行わず、試験区1、3および4の3水準で検討した。

表1 試験区の構成および防除体系

供試品種	試験区番	種子消毒		箱粒剤*2		本田防除				化学合成農薬の成分数計	備考
		温湯	薬剤*1	移植時50g/箱	除草剤*3 初中期一発剤	プロベナゾール 粒剤 4kg/10a	銅水和剤*4 ×2,000	オキシリニック酸 水和剤 ×1,000			
彩のきずな	1	4/22	-	5/18	5/28	-	7/10,20	-	4		
	2	4/22	-	5/18	5/28	-	7/10,20	8/4	5		
	3	-	4/21	5/18	5/28	7/6	7/10,20	8/4	7		
	4	4/22	-	-	5/28	-	-	-	2		
彩のかがやき	1	5/17	-	6/12	6/18	-	7/30,8/11	-	4		
	2	5/17	-	6/12	6/18	-	7/30,8/11	- *5	4	オキシリニック酸散布中止	
	3	-	5/16	6/12	6/18	7/27	7/30,8/11	- *5	6	オキシリニック酸散布中止	
	4	5/17	-	-	6/18	-	-	-	2		

*1 彩のきずな:オキシリニック酸・プロクロラズ水和剤(スボルタックスターナSE), 彩のかがやき:イブコナゾール・銅水和剤(テクリードCフロアブル).

*2 箱粒剤:ジノテフラン・トルプロカルブ粒剤(ゴウケツバスター箱粒剤).

*3 ピリミスルファン・フェントラザミド剤(ヤイバジャンボ).

*4 有効成分は塩基性塩化銅(84.1%) (ドイツボルドーA).

*5 2020年9月9日付での本剤の農薬登録内容変更(種子消毒時のみ1回以内の使用)に対応し, 本田散布を取りやめた.

3) 発病調査

「彩のきずな」では出穂期(8月3日)の24日後(8月27日)、「彩のかがやき」では出穂期(8月20日)の20日後(9月9日)に、疑似反復の各地点につき50株(連続25株×2条)を対象に、各株任意の10穂について発病調査を行った。調査基準は新農薬実用化試験(日本植物防疫協会)に基づき、発病穂率および発病度を算出し、発病度から防除価を求めた。

$$\text{発病度} = \{ \Sigma (\text{階級値} \times \text{穂数}) \div (\text{調査穂数} \times 4) \} \times 100$$

階級値(調査基準) 0:健全 1:1穂内の発病穂数が10%以下 2:11%以上30%以下
3:31%以上60%以下 4:61%以上

4) 収量調査

成熟期に坪刈を行った。刈取面積は各反復地点につき3㎡(2.5m×4条)とした。

鉄骨造アクリルハウス内で風乾後、脱穀して脱芒機を用いて芒と枝梗を除去、電動唐箕を用いて風選して夾雑物を除き籾の重量測定を行った。その後、電動式穀粒選別機を用い縦目篩(2.2mm)で選別を行い、篩上に残った籾の重量を測定して種子収量とした。

(2) 採種種子を用いた苗腐敗症の育苗検定調査

表1に掲げる試験区の栽培で得られた種子(前項(1)の4)で得た種子)を用いて育苗試験を行い、本田での体系防除による効果を検証するため苗腐敗症の発生を調査した。育苗試験は2回実施し、1回目は2020年12月9日播種、2回目は2021年1月8日播種で実施した。

(様式1)

供試種子は水温 15~20℃で数日間浸漬し、播種前日に 26℃で1日間の催芽処理を行った。280g 型ポリプロピレン製イチゴ用パックに粒状培土（ホーネンス培土3号）を充てんし、1パックあたり 200 粒を播種、覆土した。その後、所内鉄骨造ガラス温室内の育苗ベンチ上で管理、3葉期まで育苗した。試験は3連制で実施した。

採種種子の休眠性を考慮して育苗試験実施時期を 12~1月に遅らせたことに伴い、低温対策として育苗ベンチ上には断熱材（エアパッキン）と電熱マット（農電園芸マット:N社製）を敷き、地温は、出芽までは 25℃、出芽・緑化後は 20℃となるようにサーモスタットを設定した。水管理は、ステンレス製バット（長さ 40cm×幅 29cm×深さ 6cm）を置いて 1~2 cm の深さに水を張り、そこにイチゴ用パックを置いて底面給水とした。なお、試験温室は温湯管暖房が設置されているが、夜間~早朝は室温が 15℃を下回る場合があるため、電熱式オイルヒータ（D社製）を 3台設置し、室温 15℃以上を保てるようにした。日中の換気温度は 32℃設定とした。

3. 調査結果

(1) 本田における効率的な防除

防除効果は図1のとおりである。

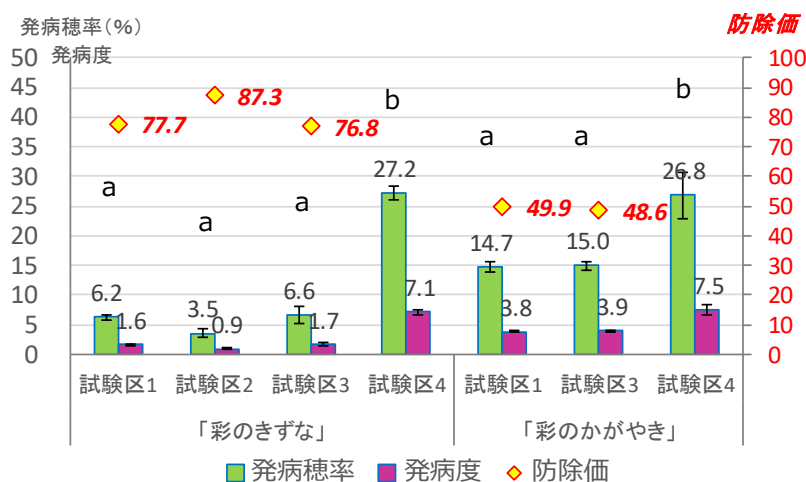


図1 各防除体系における防除効果

エラーバーは標準誤差 (n=3). 各品種の異なる英小文字間に有意差あり (arcsin 変換後に検定, $p < 0.05$, Tukey-Kramer).

試験区の構成は表1を参照

「彩のきずな」では試験区4（本田の病害虫防除無し）における発病率率は 27.2%、発病度は 7.1であったのに対し、試験区1~3のすべてで高い防除効果が認められた。オキシリニック酸水和剤散布があった試験区2で最も効果が高かったが、試験区1および3との間に有意な差は認められなかった。「彩のかがやき」では試験区4（本田の病害虫防除無し）における発病率率は 26.8%、発病度は 7.5であったのに対し、試験区1および試験区3での防除効果は認められたが、その程度はやや低かった。

(様式 1)

両品種とも試験区 3 では幼穂形成初期にプロベナゾール粒剤処理を実施しているが、「彩のきずな」では試験区 2 との比較、「彩のかがやき」では試験区 1 との比較において、同剤処理による防除効果の上乗せは認められなかった。

(2) 籾の収量と苗腐敗症の発生程度

1) 籾の収量

図 2 のとおりである。「彩のきずな」は全般に多収、「彩のかがやき」は全般に低収であった。各試験区における 2.2mm 上の収量比は、両品種とも試験区 4 (本田の病害虫防除無し) を 100 とした場合、試験区 1～3 のいずれも 82～90 に減少した。試験区 1～3 では銅水和剤散布による薬害が葉身に普遍的に生じており、籾の充実が悪化した可能性が考えられる。

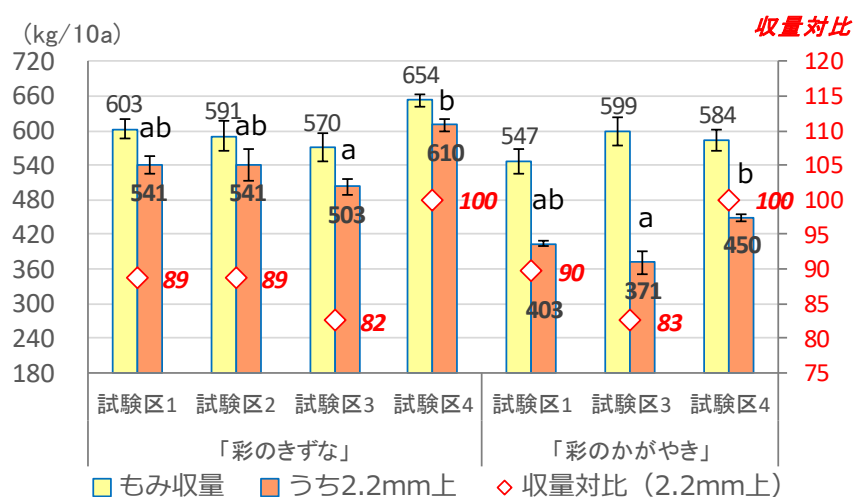


図2 各防除体系における種子籾の収量

エラーバーは標準誤差(n=3), 各品種の 2.2mm 上収量に付した異なる英小文字間に有意差あり($p < 0.05$, Tukey-Kramer).

試験区の構成は表 1 を参照

一方、生育差による影響の可能性について考察するため、イネ株の全長、稈長、穂長および 1 株穂数を表 2 に示す。

表 2 各品種の全長、稈長、穂長および 1 株穂数

品 種	試験区	全長(cm)	稈長(cm)	穂長(cm)	1株穂数(本)
彩のきずな	1	104.5 n.s.	75.0 n.s.	22.5 b	22.5 n.s.
	2	104.5	73.9	21.7 ab	23.7
	3	103.5	75.8	20.9 a	23.1
	4	105.0	73.3	22.7 b	23.4
彩のかがやき	1	101.5 a	75.6 a	19.7 n.s.	17.9 n.s.
	3	104.8 ab	77.3 ab	20.2	19.2
	4	107.7 b	80.3 b	20.3	17.7

注 1) 各試験区につき調査地点の連続 10 株をサンプリング, 10 株 × 3 = 30 株の平均。

注 2) 各品種の調査項目間に付した英小文字に有意差あり(Tukey-Kramer, $p < 0.05$).

(様式1)

「彩のきずな」では試験区3で穂長が明らかに短く、これが減収の一因と考えられるが、試験区3ではプロベナゾール粒剤が幼穂形成初期に本田施用されており、本剤の影響が示唆される。

「彩のかがやき」では穂長および1株穂数には明瞭な差が無いが、全長および稈長で区間差が生じた。試験区1と3での銅水和剤散布の影響も考えられるが「彩のきずな」では全長と稈長に差が見られないため、原因は明らかでない。なお、「彩のかがやき」での粗粒収量は試験区ごとの差が小さく、2.2mm 篩上の歩合が試験区3で大きく低下したことが精粒の減収に影響しており、「彩のきずな」同様にプロベナゾール粒剤の本田処理が粒の充実に影響した可能性は考えられる。

2) 採種種子の苗腐敗症発生程度

「彩のきずな」は表3、「彩のかがやき」は表4のとおりである。両品種とも、苗立率は96%以上で高かった。

表3 「彩のきずな」採種種子の苗立率および苗腐敗症の発生程度

試験回次 (播種・調査月日)	本田での 試験区番	苗立率 (%)	発病苗率 (%)	枯死苗率 (%)	発病度	防除価 (発病苗率で算出)
1回目 (12/9播種) (1/5調査)	1	97.0 n.s.	21.5 b	1.4 a	15.22	0
	2	96.0	44.3 c	29.9 b	42.70	0
	3	97.5	2.7 a	1.2 a	2.62	59.8
	4	98.2	6.8 a	0.2 a	4.54	-
2回目 (1/8播種) (1/30調査)	1	97.7 n.s.	22.8 b	0.3 n.s.	16.31	0
	2	97.8	4.8 a	1.2	3.52	78.5
	3	98.2	6.6 a	0.2	4.58	70.1
	4	97.8	22.2 b	0.9	17.40	-

注) 異なる英小文字間に有意差あり

(arcsin変換後の値を用いて検定: Tukey-Kramer, $p < 0.05$.)

防除価: 苗腐敗症の調査基準を、0=健全、1=苗の奇形または白化、2=葉鞘・葉身に褐変、3=全体腐敗または枯死 とし、 $\{ \Sigma \text{階級値} \times \text{個体数} \} \div \{ \text{調査個体数} \times 3 \} \times 100$ で算出

「彩のきずな」「彩のかがやき」とも、本田での試験区4由来種子における発病程度は、1回目試験に比較し2回目試験で大きかった。試験時期が約1か月違うため、2回目試験のほうが日中の施設内の温度が上昇しやすかったことが影響したと考えられる。

「彩のきずな」では、本田での試験区2由来種子において、1回目試験と2回目試験とで結果が大きく異なった。1回目は、本田での試験区4に比較し発病苗率、枯死株率ともに大きく上回って苗腐敗症の発生抑制効果が認められなかったのに対し、2回目試験では苗腐敗症の発生は大きく減少した。本田での試験区1由来種子での苗腐敗症の発生抑制効果は、2回とも認められなかった。本田での試験区3由来種子では、2回とも苗腐敗症の発生抑制効果が認められた。

本田試験区2における結果が1回目試験と2回目試験とで大きく異なった原因は明らかでないが、保菌程度の大きい種子が偶発的に混入し、浸種・催芽の過程で病原細菌が急増した可能性は考えられる。

「彩のかがやき」では、1回目試験と2回目試験とで苗腐敗症発生における各試験区の傾向は

(様式1)

同様であった。「彩のきずな」と異なり、本田での試験区1由来種子における苗腐敗症の発生抑制効果が認められた。一方、本田での試験区3由来種子における苗腐敗症の発生抑制効果は低かった。

このように、本田での防除体系が同じ(試験区番1)であっても、苗腐敗症の発生程度に大きな品種間差が生じる場合があること、また、同一品種・同一防除体系で本田での防除効果が高くても、採種種子での苗腐敗症発生抑制効果が必ずしも高くない場合があることが示された。

表4 「彩のかがやき」採種種子の苗立率および苗腐敗症の発生程度

試験回次 (播種・調査月日)	本田での 試験区番	苗立率 (%)	発病苗率 (%)	枯死苗率 (%)	発病度	防除価 (発病苗率で算出)
1回目 (12/9播種) (1/5調査)	1	98.5 n.s.	1.5 n.s.	0.5 n.s.	1.01	65.4
	3	98.3	3.9	0.2	2.65	11.7
	4	98.3	4.4	0.7	2.71	-
2回目 (1/8播種) (1/30調査)	1	98.8 n.s.	5.1 a	0.0 a	3.43	56.3
	3	97.8	7.8 ab	1.0 b	5.85	32.3
	4	99.3	11.6 b	0.3 ab	7.89	-

注) 異なる英小文字間に有意差あり
(arcsin変換後の値を用いて検定: Tukey-Kramer, $p < 0.05$.)

4. 考察

水稻種子伝染性病害のうちイネもみ枯細菌病を対象とし、減農薬栽培のための効率的な防除体系として、種子粒の温湯浸漬、移植時の箱粒剤および本田散布で対応する場合、60°C15分間の温湯浸漬、ジノテフラン・トルプロカルブ粒剤の50g/箱処理、出穂の20日前と10日前の2回、銅(塩基性塩化銅)水和剤2,000倍液の散布で防除効果は得られるが、「彩のきずな」に比較し「彩のかがやき」では十分ではないと考えられた。「彩のかがやき」では、オキシリニック酸水和剤登録内容変更に対応した本田散布中止により、種子消毒剤をイプコナゾール・銅水和剤とした場合(試験区3)でも結果的に6成分以内に抑制できたが、幼穂形成初期のプロベナゾール剤処理が追加されても試験区1に対する防除効果の上乗せにはつながらなかった。出穂期は「彩のきずな」は8月上旬、「彩のかがやき」は8月下旬であり、2020年は8月上中旬が顕著な高温少雨、8月下旬以降は9月上旬にかけて強い雷雨や大雨が複数回あったことから、品種間差ではなく、出穂期から出穂2週間後の気象条件の差が強く関与して防除効果が上がらなかった可能性も考えられる。

本病が種子伝染性であることから採種生産を想定して本田での防除体系ごとの種子収量および品質を検討した。この結果、銅水和剤の2回散布は葉での薬害により減収となる可能性があることが示された。採種種子の苗立率については、検討した防除体系では差がほとんどなく実用上の問題とはならないと考えられる。採種種子における育苗期間中の苗腐敗症に対しては本田での防除体系ごとの差は明確ではない。出穂前20日および10日の銅水和剤2回散布は、品種によっては苗腐敗症の発生を軽減できる可能性があることが示された。

(様式1)

5. 今後の課題

本病に対し適用のある地上部散布剤が皆無となったため、種子消毒剤、箱施用薬剤、プロベナゾール剤等本田処理粒剤と、銅水和剤を組み合わせた体系的な防除方法について、防除効果だけでなく収量性も含めて検討する余地が大きい。

6. 要約

「彩のきずな」「彩のかがやき」を対象に、化学合成農薬の使用成分数を埼玉県基準の6成分以内とした減農薬栽培による防除体系の効果を検討した。もみ枯細菌病に対し、種子を60°C15分間の温湯浸漬で消毒し、移植当日にジノテフラン・トルプロカルブ粒剤50g/箱を処理し、本田防除は出穂期の20日前と10日前の2回、銅(塩基性塩化銅)水和剤2,000倍を散布することで防除効果が得られることが明らかとなった。ただし、減収する可能性があることが示された。本防除体系による苗立率は実用的であったが、苗腐敗症の発生抑制効果は明確ではなかった。

7. 成果の公表及び特許

2020年度は無し。

減農薬栽培に対応した水稻の種子伝染性病害に対する防除体系の確立（４）

～イネばか苗病等に対する温湯処理と食酢、生物農薬等を組み合わせた効果の高い体系処理の検証～

氏名 中島 宏和、内田 英史

所属 長野県農業試験場

[〒382-0072 住所 長野県須坂市小河原 492]

1. 調査背景と目的

水稻栽培においては、減農薬栽培に対応した防除方法として温湯処理や生物農薬が普及しているが、単用では効果が不安定な場合があり、ばか苗病をはじめとした種子伝染性病害が各地で問題となっている。そこで、既存の種子消毒技術および新規の資材や防除法を組み合わせた体系防除技術の有効性を検証する。また、これらの防除方法は化学合成農薬と作用機作が異なるため、耐性菌発達リスクの低減につながる。種子生産圃場またはその周辺圃場での使用を想定して、育苗期のみならず本田期における防除効果を併せて評価する。実証試験で効果が確認できた防除技術については、当該地域（県）が制作する防除指針へ掲載する。

2. 調査方法

（１）イネばか苗病

1) 試験内容

浸種前処理	催芽時処理（播種時処理）	略称
温湯処理 60°C10分	—	60°C10m
事前乾燥+温湯処理 65°C10分	—	65°C10m
—	MO-1 液剤 300 倍 24 時間浸漬	MO
—	タラロマイセスフラバス水和剤 200 倍 24 時間浸漬	タラロ
—	トリコデルマアトロビリデ水和剤 (DJ) 200 倍 24 時間浸漬	DJ
—	(タラロマイセスフラバス水和剤 播種時 1,000 倍 1L/箱灌注)	タラロ灌注
温湯処理 60°C10分	醸造酢液剤 100 倍 24 時間浸漬	湯+酢
または	MO-1 液剤 300 倍 24 時間浸漬	湯+MO
事前乾燥+温湯処理 65°C10分	タラロマイセスフラバス水和剤 200 倍 24 時間浸漬	湯+タラロ
	トリコデルマアトロビリデ水和剤 (DJ) 200 倍 24 時間浸漬	湯+DJ
	(タラロマイセスフラバス水和剤 播種時 1,000 倍 1L/箱灌注)	湯+タラロ灌注
イブコナゾール銅水和剤 200 倍 24 時間浸漬	—	イブ Cu

2) 試験条件

試験場所：長野県農業試験場内ガラス室

供試籾：コシヒカリ（平成30年産の自然感染籾または開花期接種籾を一定割合で健全籾に混和）

管理工程：浸種前処理後 15°Cで5日間程度浸種。催芽・播種後、恒温器内に入れ 28°Cで2~3日間出芽させ、その後はガラスハウスで管理した。なお、籾の事前乾燥処理は籾水分が9%程度になるように通風乾燥機で 50°C5時間程度処理した。温湯処理はウォーターバスを用いて所定の処理を実施した後、浸種を開始した。

浴比：浸種前処理は1:1（籾：液）、催芽時処理は1:2（籾：液）

供試培土：しなの培養土1号（粒状培土）または ISEKI 軽量培土（軽量培土）

区制・面積：1区育苗箱の1/25大プラスチックカップ 3反復 播種量 8g/区

育苗環境：ガラスハウス内に設置された水槽内に各育苗箱を静置し、1日2回底面灌水した。

温度設定は 30°Cで天窓開、15°Cで加温とした。

調査方法：播種3~4週間後に各区全苗について枯死苗数、徒長苗数、健全苗数を調査し、枯死苗数、徒長苗数の合計を発病苗率とした。発病苗率から防除価を算出した。

薬害は随時肉眼で観察した。

なお、試験年月日等の詳細な試験条件は各図の脚注に記載した。

3) 本田における発病調査

各処理の本田における効果の持続程度を検討するため、処理苗を移植後、定期的に本田での徒長株および枯死株を調査した。

試験場所：長野県農業試験場内圃場

供試籾：コシヒカリ（令和元年産開花期接種籾と令和元年産自然感染籾を2:1で混和）

処理内容

浸種前処理	催芽時処理（播種時処理）	略称
温湯処理 60°C10分	—	60°C10m
事前乾燥+温湯処理 65°C10分	—	65°C10m
	トリコデルマアトロビリデ水和剤 (DJ) 200倍 24時間浸漬	DJ
温湯処理 60°C10分	トリコデルマアトロビリデ水和剤 (DJ) 200倍 24時間浸漬	湯 60°C+DJ
事前乾燥+温湯処理 65°C10分	トリコデルマアトロビリデ水和剤 (DJ) 200倍 24時間浸漬	湯 65°C+DJ
イプコナゾール銅水和剤 200倍 24時間浸漬	—	イプ Cu
金属銀水和剤 400倍 24時間浸漬	—	銀
上記2薬剤の混用	—	イプ Cu&銀

温湯処理はタイガーカワシマ社製温湯処理機（YS-200HS）を使用

育苗条件：播種量は 150g/箱で1処理5箱、移植直前に各処理2箱について箱当たり徒長苗数を調査した。徒長苗は除去せずに圃場に移植した。

区制・面積：1区 45 m² (3m×15m) 2反復 栽植密度：22.2 株/m²

本田調査：1 処理 45 m²区内の全株（約 990 株）について、移植後（DAT）3 週間から約 2 週間毎に穂ばらみ期まで徒長株数および枯死株数を継続調査した。

4) 200 穴セルトレイでのばか苗病発病株の評価

本田のばか苗病調査は多大な労力がかかるため、200 穴セルトレイによる本田のばか苗病発病株の簡易調査法を検討した。

試験場所：長野県農業試験場内ガラス室 供試籾：3）と同様（処理時期は別）

試験条件：各処理の種籾を 200 穴セルトレイ（1 穴：2.5 cm×2.5 cm×4.5 cm）に 1 粒ずつ、処理毎に 200 粒を播種し、30°C で 3 日間出芽した。出芽後、ビビフルフロアブル（矮化剤）20 倍液を箱当たり 250ml 散布した。以降はガラスハウスに静置して 1 日 2 回底面灌水した。天窗、側窓は常時全開にした。

調査方法：播種 3 週間後から 2~3 週間毎に穂揃期頃まで徒長苗数および枯死苗数を調査した。

なお、不出芽苗や出芽直後の立枯苗は除外して調査した。

(2) もみ枯細菌病（苗腐敗症）；記載箇所以外の条件はばか苗病と同様

供試籾：コシヒカリ（令和元年産の開花期接種籾を一定割合で健全籾に混和）

管理工程：催芽、出芽温度 32°C

調査方法：各区全苗について、下記の基準に従い発病程度別に発病の有無を調査し、発病苗率および次式により発病度を算出した。

発病程度指数 枯死苗・萎凋苗；3、重症苗（罹病苗のうち草丈が健全苗の 1/3 未満）；

2、軽症苗（罹病苗のうち草丈が健全苗の 1/3 以上）；1、健全；0

発病度 = { Σ (発病程度別苗数×指数) ÷ (調査苗数×3)} × 100

防除価は発病度から算出した。

3. 調査結果

(1) 各処理の単用および体系処理のばか苗病（育苗期）に対する効果

今回の試験では体系防除の効果向上の程度を明らかにするために、自然感染籾 100%、開花期接種籾 50%混和籾と強汚染籾を供試したため、全ての試験で無処理の発病は多発生となった。

温湯単用処理のばか苗病に対する効果は、事前乾燥 65°C10 分処理は 60°C10 分処理と比較して粒状培土の 2 事例では効果が高まる傾向であったが、軽量培土では 1 事例は効果が低下し、1 事例は温湯単用処理で効果が高く比較ができなかった。

単用処理のばか苗病に対する効果は、タラロマイセスフラバス水和剤（以下、タラロマイセス、催芽時および播種時）およびトリコデルマトロビリデ水和剤（以下、DJ）ではほぼ同等、MO-1 液剤（以下、MO）では劣る効果であった。

いずれの試験においても、温湯処理と催芽時処理（醸造酢液剤、MO、タラロマイセス、DJ）の体系防除では明らかな相乗効果があり、化学農薬であるイプコナゾール銅水和剤と比較するとほぼ同等～やや劣るが、高い効果が認められた（図 1, 2）。また、事前乾燥 65°C10 分処理による

体系処理と 60°C10 分処理による体系処理では、いずれの体系処理でもほぼ同等の高い効果が認められた。

培土の比較では生物農薬以外では 65°C10 分の 1 事例を除き、軽量培土の方が粒状培土より発病が少なくなる傾向であった。生物農薬ではいずれの処理でも軽量培土の方が粒状培土より発病が多くなった。全ての試験を通じて実用上問題となるような薬害はなかった。

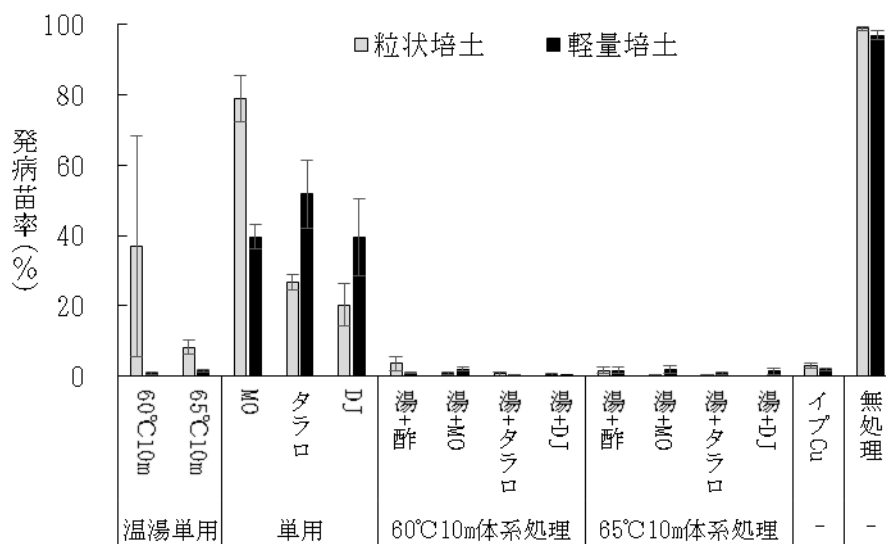


図1 各処理の自然感染籾のばか苗病に対する効果

供試籾：コシヒカリ（平成30年産の自然感染籾） 対象病害の発生状況：多 温湯処理および浸種前処理：10月2日15°C 24時間、浸種：10月2日～7日15°C、催芽：10月7～8日28°C24時間、播種：10月8日、出芽：10月8～11日28°C、緑化：10月11～12日25°C、以降はガラスハウスで通常管理、調査：11月2日（播種25日後）
 緑化時にビビフルフロアブル（矮化剤）の20倍希釈液をカップ当たり20ml 灌注した。

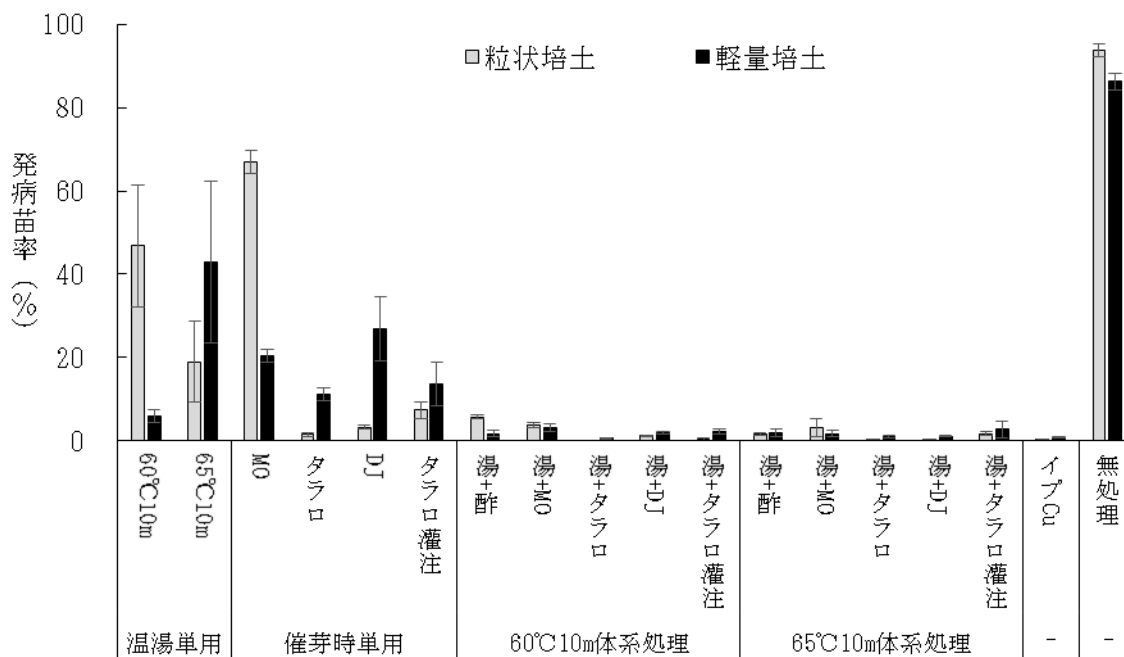


図2 各処理の開花期接種籾のばか苗病に対する効果

供試籾：コシヒカリ（令和元年産の開花期接種籾を健全籾に50%混和） 対象病害の発生状況：多 温湯処理および浸種前処理：2020年11月6日15°C24時間、浸種：11月7日～11日15°C、催芽：11月11～12日28°C24時間、播種：11月12日、出芽：11月12～15日28°C、緑化：11月15～16日25°C、以降はガラスハウスで通常管理、調査：12月1日（播種19日後）
 緑化時にビビフルフロアブル（矮化剤）の20倍希釈液をカップ当たり20ml 灌注した。

(2) 各処理の本田におけるばか苗病に対する効果および簡易調査法の検討

各処理の本田でのばか苗病の発病に対する効果を評価した。徒長株は DAT21～35 に最も多くなったが、徐々に枯死株に移行した。今回は感染源として重要な枯死株によって効果を評価した。温湯処理または DJ の単用では効果は低かったが、いずれの温湯処理条件でも DJ と体系処理することでイプコナゾール銅水和剤と同等の効果が得られた。銀水和剤は効果がなく、イプコナゾール銅水和剤と銀水和剤の混用はイプコナゾール銅水和剤単用より効果がわずかに低下した(図3)。なお、全ての処理で薬害は見られなかった。

育苗期の徒長苗数と本田の枯死株率での各処理の防除価を比較すると、全ての処理で徒長苗数より枯死株率で低下した。温湯処理、DJ の単用および銀水和剤では顕著な低下であったが、体系処理ではイプコナゾール銅水和剤と同等の効果が維持されていた(表1)。

本田におけるばか苗病の発病の簡易調査法として同一種子を用いて圃場とセルトレイ栽培を比較した。出穂期前後の調査において圃場調査と比較してセルトレイでは枯死株率はほぼ同等からやや少なく、徒長株は多かった。圃場とセルトレイの枯死株率には相関関係が見られたが、湯65+DJ および無処理ではセルトレイで枯死株が少なく、銀水和剤の発病はセルトレイで明らかに少なかった(表2)。

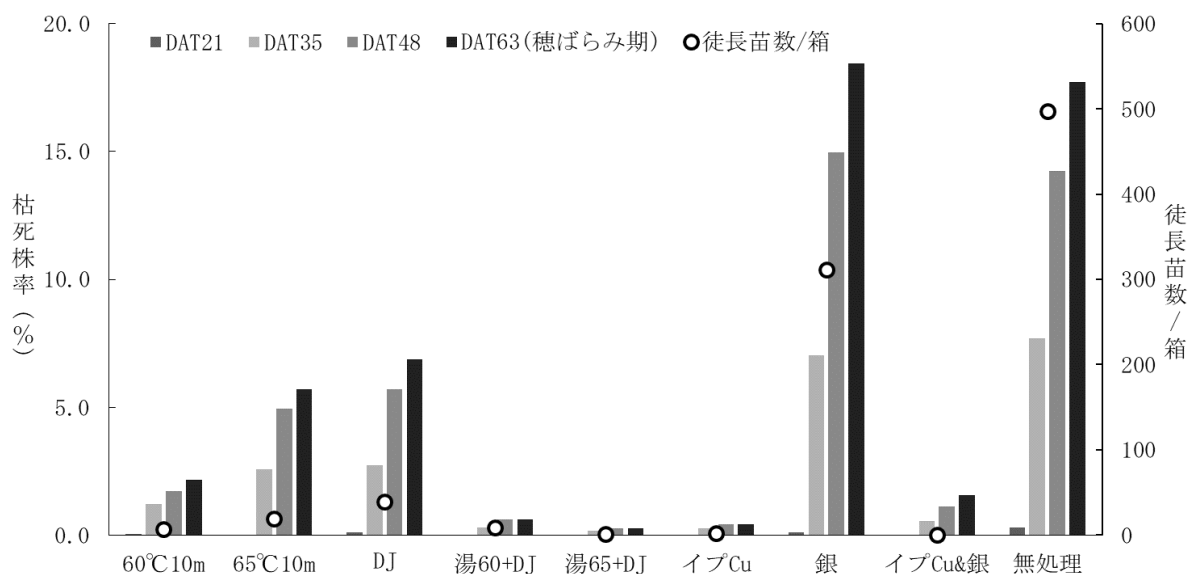


図3 各処理の本田及び育苗期のばか苗病に対する効果の関係

供試籾：コシヒカリ（令和元年産の自然感染籾に開花期接種籾を1：2で混和）温湯処理および浸種前処理：5月6日
 浸種：5月6日～12日15℃ 催芽：5月12～13日28℃24時間 播種：5月13日 播種量：150g/箱 出芽：5月13～15日28℃ 以降はビニールハウスで通常管理 移植：6月3日 出穂期8月16日

表1 調査時期別の各処理の防除価

調査時期	60°C10m	65°C10m	DJ	湯60+DJ	湯65+DJ	イプCu	銀	イプCu&銀
徒長苗数	98.6	96.1	92.2	98.3	99.7	99.6	37.4	99.9
枯死株率 (穂ばらみ期)	88.1	68.0	59.5	96.6	98.4	97.1	0.0	91.0

防除価=100-(処理の徒長苗数又は枯死株率/無処理の徒長苗数又は枯死株率)×100

表2 各処理の出穂期頃のばか苗病発病株に対する調査法の比較

処理	圃場調査 (穂ばらみ期)		セルトレイ (穂揃期頃)	
	枯死株率	徒長株率	枯死株率	徒長株率
60°C10m	2.2	0.1	2.3	1.7
DJ	6.9	0.9	7.0	6.3
65°C10m	5.7	0.4	1.2	7.4
湯60+DJ	0.6	0.1	0.0	1.2
湯65+DJ	0.3	0.1	0.0	0.0
イブCu	0.4	0.2	0.0	2.2
銀	18.4	1.3	2.9	1.2
イブCu&銀	1.6	0.2	1.1	0.5
無処理	17.7	1.4	12.0	39.8

(3) 各処理の単用および体系処理のみみ枯細菌病（苗腐敗症）に対する効果

粒状培土では中～多発生となったが、軽量培土では少発生となった。粒状培土では処理によって発病度が異なったが、軽量培土では多くの処理で発病が著しく抑制されたため処理の効果の比較はできなかった（図4，5）。なお、調査時の培土のpHは処理によらず4.4～4.9であった。

粒状培土の温湯処理単用では60°C10分処理に比較して事前乾燥65°C10分処理で効果が高かった。単用処理ではDJの効果が高く、次いでMO、タラロマイセスの順となった。事前乾燥65°C10分処理による体系処理と60°C10分処理による体系処理では、いずれの体系処理でもほぼ同等の高い効果が認められた。一方で、事前乾燥65°C10分処理、DJ、MOは単用でも効果が高かったため、体系処理による相乗効果は判然としなかった。イブコナゾール銅水和剤はやや効果が低かった（図4，5）。

一昨年産の種子を用いた図4の試験では全体的に出芽数が少なく、温湯処理の強度が高いほど出芽数が減少した（図6）。前年産の種子を用いた図5の試験では全ての処理で出芽数は多く処理による影響はほぼ認められなかった。生育不良苗率は多くの処理で1～2%であったが、温湯+MO処理ではやや多かった（図7）。

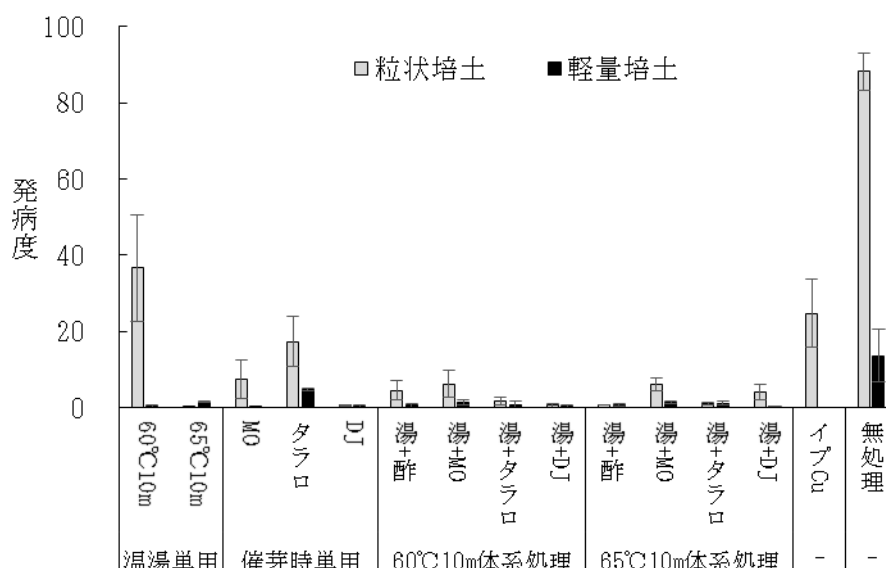


図4 各処理のもみ枯細菌病（苗腐敗症）に対する効果1

対象病害の発生状況：少～多 供試粒：令和元年産開花期接種粒3%を平成30年産健全粒に混和
 温湯処理および浸種前処理：10月7日 浸種：10月8日～13日15°C 催芽：10月13～14日32°C24時間
 播種：10月14日 出芽：10月14～16日32°C 以降はガラスハウスで通常管理 調査：11月5日（播種22日後）

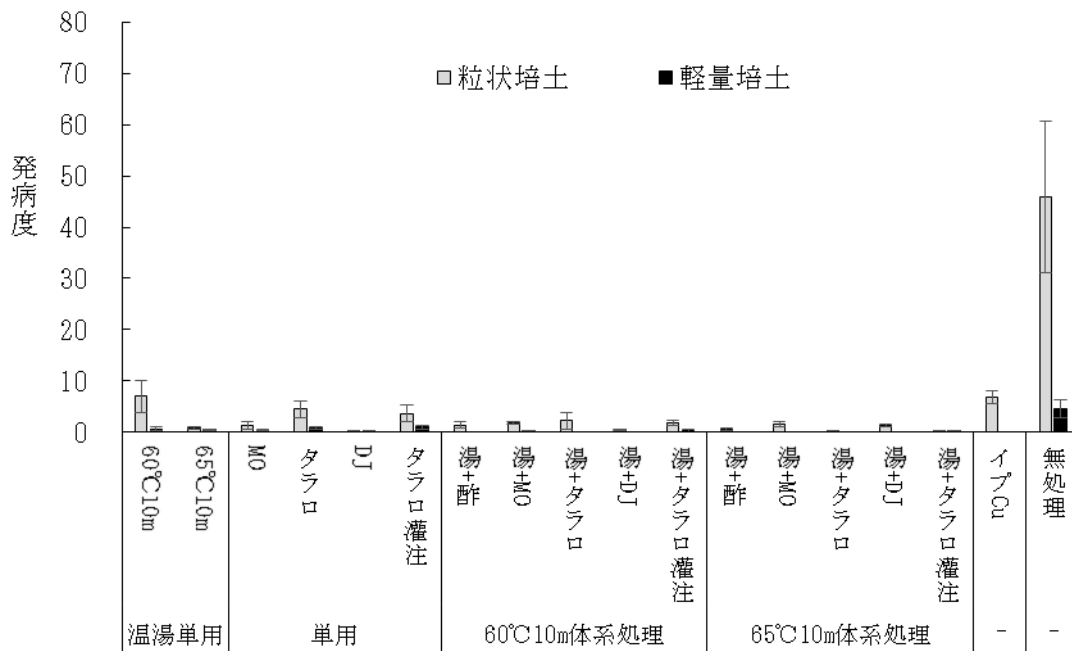


図5 各処理のもみ枯細菌病（苗腐敗症）に対する効果2

対象病害の発生状況：少～中 供試籾：令和元年産開花期接種籾 3%を令和元年産健全籾に混和
 温湯処理および浸種前処理：11月17日 浸種：11月18日～24日 15°C 催芽：11月24～25日 32°C 24時間
 播種：11月25日 出芽：11月25～27日 32°C 緑化：11月27～30日 25°C
 以降はガラスハウスで通常管理 調査：12月14日（播種日19後）

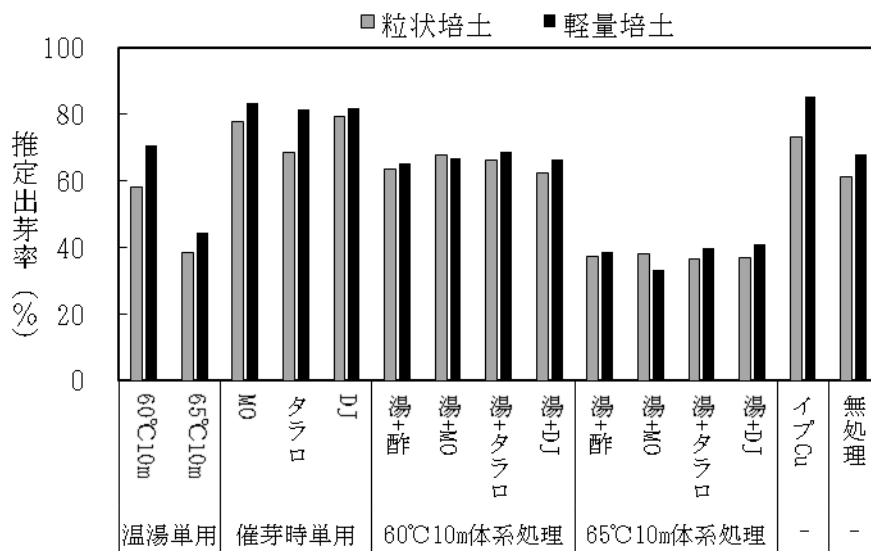


図6 各処理の苗の生育に与える影響1（図4の苗を調査）

カップ毎に出芽数を測定した。推定出芽率＝出芽数/310×100

(3) ばか苗病に対しては、温湯処理と催芽時処理（醸造酢液剤、M0、タラロマイセス、DJ）の体系防除では明らかな相乗効果があり、イプコナゾール銅水和剤と比較するとやや劣る～ほぼ同等の高い効果が認められた。また、事前乾燥 65°C10 分処理による体系処理と 60°C10 分処理による体系処理の比較では、いずれの体系処理でもほぼ同等の高い効果が認められた。以上のことから、体系処理をする場合は 60°C10 分処理で十分高い効果が得られると考えられた。一方、苗腐敗症に対しては、いずれの体系処理においても高い効果は認められたものの、各単用処理においても効果が高く、体系処理による防除効果の向上については判然としなかった。

(4) 軽量培土は粒状培土と比較してばか苗病、苗腐敗症の発病に対して抑制的に作用し、特に苗腐敗症に対しては発病抑制効果が高かった。一方で、生物農薬の場合は軽量培土の方が粒状培土よりばか苗病の発病が多くなった。また、苗腐敗症においてはタラロマイセス処理で比較すると粒状培土より軽量培土で発病は少なくなっているが、各培土ごとの防除価は軽量培土で低下する傾向であった。軽量培土は培土に含まれる微生物相が多様性に富むため、病原菌の増殖に抑制的に作用することが報告されている。このため、同様に生物農薬の有効成分の増殖に対しても抑制的に作用して防除効果を低下させている可能性がある。

(5) 本田でのばか苗病の枯死株率は、温湯処理または DJ の単用では効果が低かったが、いずれの温湯処理条件でも DJ と体系処理することでイプコナゾール銅水和剤と同等の効果が得られた。育苗期の徒長苗数と本田の枯死株率での各処理の防除価を比較すると、全ての処理で育苗期より本田で防除価が低下した。温湯処理、DJ の単用および銀水和剤では顕著な低下であったが、体系処理ではイプコナゾール銅水和剤と同等の効果が維持されていた。このことから、体系処理により防除効果が長期にわたって維持されていると考えられた。

(6) ばか苗病の本田の発病に対するセルトレイによる簡易調査法では、出穂期前後の調査において圃場調査と比較してセルトレイでは枯死株率はほぼ同等からやや少なく、徒長株は多かった。セルトレイ栽培はガラスハウスで底面かけ流し栽培をしたため、圃場の湛水栽培と比較して種子由来の菌が死滅しづらく徒長株数が増加したと考えられた。

セルトレイでは圃場と比較して、湯 65+DJ および無処理では枯死株率が少なかった。ただし、徒長株数は多かったことから、観察期間をさらに延長することにより枯死株率を増加させることが可能であると考えられた。一方、銀水和剤はセルトレイで枯死株率および徒長株数が明らかに少なかった。セルトレイ栽培では出穂期の草丈は健全株で 40 cm 未満であり、圃場と比較すると極めて小さい。また根域も制限されるため、種子消毒剤の残効が助長される可能性がある。圃場とセルトレイの枯死株率には相関関係が見られたことから、簡易調査法として利用できる可能性はあるが、実用性を高めるためには調査時期、栽培方法等を改善する必要があると考えられた。

5. 今後の課題

苗いもち、苗立枯細菌病、褐条病等の種子伝染性病害への体系処理の効果は未確認であり、生産現場における普及性を高めるためには、今後これらの病害に対する防除効果について検討する必要がある。

6. 要約

温湯処理と催芽時処理（醸造酢液剤、MO、タラロマイセス、DJ）の体系防除は、ばか苗病に対して明らかな相乗効果があり、イプコナゾール銅水和剤と比較するとほぼ同等～やや劣る程度の高い効果が認められた。また、事前乾燥 65°C10 分処理または 60°C10 分処理による体系処理の比較では、いずれの体系処理でもほぼ同等の高い効果が認められた。前年産の種子を用いて処理する場合は問題ないが、2 年以上前の種子を使用する場合は事前に発芽率の調査等が必要と思われた。軽量培土は粒状培土と比較してばか苗病、苗腐敗症の発病に対して抑制的に作用し、特に苗腐敗症に対しては発病抑制効果が高かったが、生物農薬の場合は軽量培土の方が粒状培土よりばか苗病の発病が多くなった。本田でのばか苗病に対して温湯処理または DJ の単用では効果は低かったが、いずれの温湯処理条件でも DJ と体系処理することでイプコナゾール銅水和剤と同等の効果が得られた。本田のばか苗病のセルトレイによる簡易調査法の有効性は認められたが、調査時期や栽培方法等の改善が必要と考えられた。

7. 成果の公表及び特許

- ・「温湯処理と生物農薬の体系処理による水稻種子伝染性病害への効果」長野県の普及技術として公表予定
- ・上記の成果を令和 4 年度長野県農作物病害虫・雑草防除基準に記載予定
- ・関東東山病害虫研究会報（第 68 集）へ投稿予定

(様式1)

病害虫の効率的防除体制の再編委託事業

減農薬栽培に対応した水稻の種子伝染性病害に対する防除体系の確立(4)

～ばか苗病菌保菌籾の高感度・効率的な検出法の確立～

内田 英史、中島 宏和

長野県農業試験場

[〒382-0072 長野県須坂市小河原 492]

1. 調査背景と目的

近年、水稻の温湯消毒処理などの減農薬栽培の普及に伴い、ばか苗病、もみ枯細菌病、いもち病などの種子伝染性病害の被害が全国的に問題になっている。これらの種子伝染性病害の防除技術を確立するには、種子や本田での病原菌の汚染実態や発病リスクを把握することが重要となる。そこで、文献等を参考にPCR法や選択培地を用いた原因菌の検出・診断技術の実用性を調査し、本田での病害診断や種子での検出を行う際の作業手順を取りまとめる。なお、参画機関間では情報の共有や試験材料を融通するなどの連携体制をとり潤滑な試験の実施をおこなっていく。

2. 調査方法

(1) 混合籾からのばか苗病菌の検出

1) 検討に用いた籾：①減圧接種籾(2018年産コシヒカリ、接種濃度 4×10^6 spore/ml)

②自然感染籾(2018年産 コシヒカリ 長野県農業試験場内で採種
感染籾率90%以上)

汚染籾混和率1%での検出を目標として健全籾(温湯消毒籾)40g(約1500粒)に上記の籾を混和率0.7%、0.07%となるよう混和し以下の方法でばか苗病菌をPCRで検出できるか検討した。

2) 磨砕による検討：小型超高速粉砕機：wonder blender WB-1(大阪ケミカル株式会社)を用いて籾を20秒間粉砕後、粉砕した籾0.1gをキアゲン社のDNeasy Plant Mini Kitを用いてDNAを抽出しPCRに供した。

3) 液体培地を用いた検討：50mlの液体駒田培地で振とう培養器を用いて25°C、100rpmで数日間培養(1, 2, 3, 5, 7日間)した。1mlの培養液を遠心後上清を除去し残ったペレットからキアゲン社のDNeasy Plant Mini Kitを用いてDNAを抽出しPCRに供した。

PCR試薬は、KOD One (TOYOBO)を使用し、PCR条件は98°C/10秒→60°C/10秒→68°C/10秒(35サイクル)で行った。プライマーについては海外で報告されているTranslation Elongation Factor 1 α (TEF-1 α)遺伝子を標的に設計されたBknF2/BknR4を用いて評価した。

Internal controlとしては、糸状菌共通プライマー(NS1/NS2 primers; White et al. 1990 : 一昨年度評価済み)を用いた。

(様式 1)

(2) ばか苗病菌の生菌のみを検出できるような方法の検討

- 1) タカラ社の EMA(ethidium monoazide) を用いて染色体にインターカレートする化合物の利用と PCR を組み合わせた検出方法 (ターゲットの遺伝子としては P450-3 や従来ばか苗病菌の検出に用いた TEF1 を検出する Bkn プライマーを候補とする)

※EMA は死菌では細胞壁が破壊されているので EMA が細胞壁を透過し DNA にインターカレートするため EMA 処理後に抽出した DNA は PCR がかからない。一方、生菌では EMA が細胞壁を透過できないため EMA 処理後に抽出した DNA は PCR がかかる。この EMA 処理と PCR を組み合わせて死菌、生菌の判別を行う。

- 2) ばか苗病菌から RNA を抽出しリアルタイム PCR により検出する方法

(死菌では RNA が分解あるいは転写が起きないため生菌由来の RNA との検出量の差がでることを想定)

以上の二つの方法で検討した。

上記の検出方法を検討する際に用いたサンプルは生菌についてはばか苗病菌を液体駒田培地で 25°C 2 週間培養したものを、死菌については同様にばか苗病菌を液体駒田培地で培養した後 65°C 15 分で加熱することで死滅させたものを用意しそれぞれから DNA もしくは RNA を抽出し上記の各種の方法の検討用のサンプルとした。加熱処理したサンプル (死菌サンプル) については、一部を駒田培地のプレート上で増殖しないことを確認し、未加熱サンプル (生菌サンプル) については同様に駒田培地上で増殖してくることを確認した。

リアルタイム PCR でデータを収集した際に用いたプライマーとしては先に述べた NS、Bkn に加えジベレリン合成遺伝子クラスターの一部である P450-3 のプライマー、FUB (ユビキチン合成関連遺伝子(FUB1) : *S. Janyvdka et al.* 2018) のプライマーを用いてリアルタイム PCR で Ct 値を得た。得られた Ct 値は細胞内で安定的に発現している FUB を内在性コントロールとして (サンプル間でのアプライした RNA 量のばらつきを補正するため) $\Delta \Delta Ct$ 法により相対定量値を算出した。

$\Delta Ct = \text{ターゲット遺伝子 Ct 値 (NS or Bkn or P450-3)} - \text{内在性コントロール Ct 値 (FUB)}$

$\Delta \Delta Ct = \Delta Ct (\text{死菌}) - \Delta Ct (\text{生菌})$ または $\Delta \Delta Ct = \Delta Ct (\text{生菌}) - \Delta Ct (\text{生菌})$

得られた $\Delta \Delta Ct$ を $2^{(-\Delta \Delta Ct)}$ にあてはめてコピー数 (発現量) の比較を行う

3. 調査結果

(1) ばか苗病菌感染混合粳からのばか苗病菌の検出

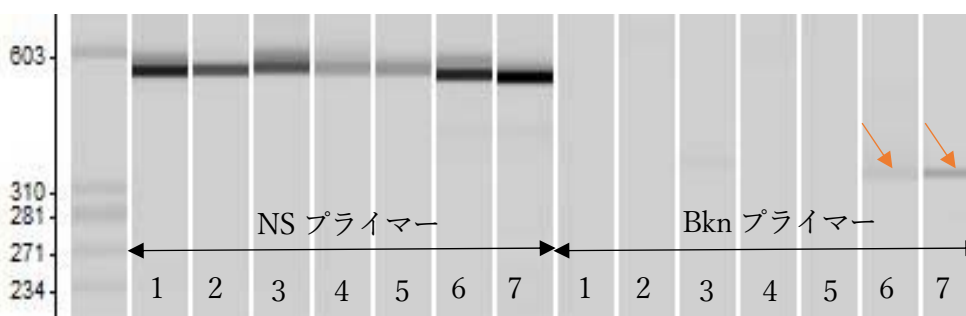
- 1) 健全粳 40g (約 1500 粒) に減圧接種粳 10 粒を混和して感染粳混和率 0.7% とした混合粳を小型超高速粉碎で粳を粉碎後、粉碎した粳 0.1 g をキアゲン社の DNeasy Plant Mini Kit を用いて DNA を抽出し PCR に供した。プライマーは糸状菌検出を検出する NS、ばか苗病菌を検出する Bkn プライマーを用いた。NS のバンドは確認できたもののばか苗病菌を検出する Bkn のバンドは確認す

(様式 1)

ることができなかった。

2) 健全籾 40g (約 1500 粒) に減圧接種籾 10 粒を混和し感染籾混和率 0.7%とした混合籾を 50ml の液体駒田培地で数日間培養 (1, 2, 3, 5, 7 日間) し 1ml の培養液からキアゲン社の DNeasy Plant Mini Kit を用いて DNA を抽出し PCR に供した。プライマーは糸状菌検出を検出する NS, ばか苗病菌を検出する Bkn プライマーを用いた。

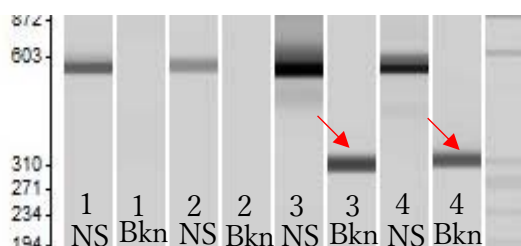
No	サンプル名	プライマー	
		NS	Bkn
1	健全籾のみ 3日間培養	+	-
2	健全籾のみ 7日間培養	+	-
3	減圧接種籾 混合率0.7% 1日間培養	+	-
4	減圧接種籾 混合率0.7% 2日間培養	+	-
5	減圧接種籾 混合率0.7% 3日間培養	+	-
6	減圧接種籾 混合率0.7% 5日間培養	+	+
7	減圧接種籾 混合率0.7% 7日間培養	+	+



NS プライマーではいずれのサンプルにおいてもバンドが確認された。Bkn プライマーにおいては培養 5 日間以上のサンプルにおいてばか苗病菌を検出することができた。

3) 感染籾混和率 0.7%では液体駒田培地で 5 日間以上培養することによりばか苗病菌を検出することが可能であることが判明したのでより低い混和率 (0.07%) でも検出できるか検討した。

No	サンプル名	プライマー	
		NS	Bkn
1	健全籾のみ 3日間培養	+	-
2	健全籾のみ 7日間培養	+	-
3	減圧接種籾 混合率0.07% 5日間培養	+	+
4	減圧接種籾 混合率0.07% 7日間培養	+	+



その結果、NS プライマーではいずれのサンプルにおいてもバンドが確認され、Bkn プライマーにおいては培養 5 日間、7 日間いずれの培養日数のサンプルにおいてもばか苗病菌を検出することがで

(様式1)

きた。

4) 感染糞として自然感染糞を用いて健全糞との混和率 0.7%、0.07%として液体駒田培地で5日間、7日間培養で同様に検討をおこなった。しかし、DNA抽出後のPCRではNSプライマーではバンドが確認されたものの Bkn を用いたプライマーでは増幅バンドは確認できなかった(データ省略)。

(2) ばか苗病菌の検出に際し生菌のみを検出できるような方法を以下の2通りの方法で検討した。

1) 熱処理を施した死菌、未処理の生菌それぞれの培養液にEMA処理をした。生菌、死菌いずれのサンプルにおいてもPCRがかかってしまいEMA処理がうまくいっていないことが分かった。

2) ばか苗病菌からRNAを抽出しリアルタイムPCRにより検出する方法

調査方法の項で述べた方法により各サンプルのCt値及び相対定量値($\Delta \Delta Ct$ 値)が算出された(表1、表2)。

NSについては死菌では生菌に比べて相対定量値が下がっていたものの、Bkn、P450-3については生菌より死菌の方が相対定量値大きい結果になった。

表1：リアルタイムPCRにより得られた各ターゲットのCt値

加熱後直ちに抽出した場合

使用プライマー	FUB	NS	Bkn	P450-3
生菌(未処理)	23.64	22.60	27.86	26.45
死菌(加熱処理)	26.08	28.72	26.39	26.68

加熱後24時間後に抽出した場合

使用プライマー	FUB	NS	Bkn	P450-3
生菌(未処理)	21.42	13.63	24.30	24.20
死菌(加熱処理)	26.20	22.52	25.44	27.16

表2： $\Delta \Delta Ct$ 法により求められた発現量

加熱後直ちに抽出した場合

使用プライマー	NS	Bkn	P450-3
生菌(未処理)	1.00	1.00	1.00
死菌(加熱処理)	0.08	14.98	4.62

加熱後24時間後に抽出した場合

使用プライマー	NS	Bkn	P450-3
生菌(未処理)	1.00	1.00	1.00
死菌(加熱処理)	0.06	12.47	3.53

(様式1)

4. 考察

減圧接種糞を用いた検討では混合率 0.1%以下でも液体駒田培地で5日以上培養することにより PCR でばか苗病菌を検出可能であることが分かった。しかし、自然感染糞を用いた試験ではばか苗病菌を検出することはできなかった。これは自然感染糞に付着しているばか苗病菌が減圧接種糞に比べて少ないことが推測される。よって、自然感染糞での検出を可能とするためには糞に付着したばか苗病菌の培養条件（培地の種類、培養期間、温度、振とう速度等）、PCR の条件（サイクル数を増やす、PCR 試薬の変更等）の2つの要素を検討していく必要があると思われる。

死菌・生菌判別は EMA と PCR を組み合わせた方法では不可能であることが分かった。

また、リアルタイム PCR を用いた方法では、生菌より死菌の相対定量値が低い（=RNA 量が少ない）ことを想定していたが、Bkn と P450-3 では想定に反して生菌より大きい結果となった。NS では生菌より死菌の相対定量値が低い結果となった。これは NS プライマーの template となる ribosomal RNA は加熱による劣化や分解が起きやすいが、Bkn の template となる TEF1a や P450-3 の RNA は加熱後も死菌内で安定的に残存する可能性があるためと考えられる。

5. 今後の課題

今後の検討課題としては、自然感染糞からの検出である。

①培養条件の検討

②PCR の条件検討

以上の2つの要素について更なる検討が必要である。そして、PCR での検出限界についても詳細に調査を行う必要があると思われる。

6. 要約

感染糞として減圧接種糞を用いた健全糞との混合糞では、混合糞を最低5日間液体駒田培地で培養し培養液から抽出した DNA を template し PCR を行うことで感染糞の混和率 0.1%以下まで検出することが可能であることが分かった。しかし、自然感染糞を用いた培養液から抽出した DNA からはばか苗病菌を検出することはできなかった。また、ばか苗病菌の生菌のみを検出する方法の確立にはより多くのデータを取得し検証する必要があると思われる。

7. 成果の公表及び特許

予定はない。