

イネもみ枯細菌病菌感染種子に対する温湯処理の効果*

那須英夫・松田 泉**・金谷 元・畑本 求

Efficacy of Hot Water Treatment of Rice Seeds infected by *Pseudomonas glumae*

Hideo NASU, Izumi MATSUDA**, Gen KANADANI and Motomu HATAMOTO

緒 言

イネもみ枯細菌病は *Pseudomonas glumae* によって起こる病害^{3,13)}で、わが国では1955年に福岡県で始めて発見された後、次第に全国に拡大した。岡山県でも1964年には穂、1975年には箱育苗の苗で初発生が確認され、その後県内の主産地である南部地域に拡大して、1985、1986年には穂に多発した。本病の防除対策としては薬剤による種子消毒や本田での薬剤施用が実施されている。しかし、薬剤による種子消毒は苗腐敗の防止に効果があるが病原細菌の死滅には至らず、見かけ上健全な感染苗を本田に移植するために、穂の発病に繋がるとされている⁹⁾。そのため、根本的な防除対策としては本病の第一次伝染源である種子¹¹⁾中の本細菌を死滅させることが最も有効である。本細菌はイネ内穎・外穎の気孔から侵入⁹⁾して穎の表皮組織、海綿状柔組織やその細胞間隙で増殖しており¹¹⁾、玄米中には存在している可能性が低いことから、本細菌の死滅には温熱消毒が有効と考えられた。

そこで、種子に感染している病原細菌を死滅させるための手段として、1987~88年にわたって温湯処理の効果を検討したので、その概要を報告する。なお、本研究を行うに当たり、種籾を分譲して頂いた四国農業試験場、山口県農業試験場、愛媛県農業試験場の各位に感謝の意を表する。

材料および方法

1. 供試籾におけるイネもみ枯細菌病菌の感染状況

イネもみ枯細菌病の発生圃場から採取した岡山県産の2種類、茨城県および山口県産など4種類の籾について、本病細菌の感染状況をエライザー法^{7,9)}で調べた。

2. 温湯処理した籾からのイネもみ枯細菌病菌の検出

供試籾：岡山市藤田から採取した籾（朝日①）は発病籾と無病徴感染籾に分け、その他は無病徴感染籾を供試した（第1表）。

温湯処理：恒温槽{NESLAB (RTE-5B)}を用いて、朝日①の発病籾、無病徴感染籾はそれぞれ1区当たり10

粒、2g、その他の籾は1区当たり5gをそれぞれガーゼで軽く包み、浸漬温度は50~60℃、浸漬時間は10~120分間で行った。

本細菌の検出：温湯処理した発病籾は殺菌水1ml中、無病徴感染籾の朝日①は3ml中、その他の籾は10ml中ですり潰し、その粗汁液を1白金耳(0.03ml)とり、シャーレ内の松田培地(0.1% $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 0.5%のペプトン、ブドウ糖を含むジャガイモ煎汁寒天培地)上に画線して、38℃で培養2日後に形成されたコロニー中のシュウ酸カルシウムの結晶の有無で判定した。さらに、各処理温度の検出限界で結晶を形成したコロニーについてはエライザー法、寒天ゲル内沈降反応、病原性テストで確認した。病原性はシュウ酸カルシウムの結晶を形成したコロニーを増殖し、その懸濁液中に浸漬した健全籾が苗腐敗を生じるか否かで判定した。

3. イネもみ枯細菌病菌感染籾に対する温湯への殺菌剤、展着剤の加用処理

感染籾（朝日①、日本晴③）は本細菌の検出に1区当たり4g、苗の発病に1区当たり5gを供試し、温湯処理は恒温槽{TABAI (TS-11)}で、50、53、55℃の各90、120分間処理を行い、殺菌剤はカスミン液剤1000倍、展着剤はトクエース2000倍、ハイテンA5000倍を温湯に加用した。処理した籾からの本細菌の検出は前述の松田培地で調べるとともに、1/12に仕切った育苗箱に播種して、10日後に発芽率、発病苗率を調査した。

4. 温湯処理したイネもみ枯細菌病菌感染籾からの苗および穂の発病

(1)供試籾および温湯処理：朝日①、日本晴①、日本晴③、セトホマレはそれぞれ400g、100g、200g、100gを供試して、1988年5月17日に50℃120分間、53℃90、120分間、55℃60、90、120分間処理を行った。なお、日本晴①、セトホマレは55℃90、120分間とした。

(2)耕種概要：岡山市の一般現地圃場で、5月20~21日に播種(育苗箱)した苗を6月20~21日(朝日①、日本晴③は機械移植、日本晴①およびセトホマレは2本ずつの手植え)に移植した。6月15日にくみあい被覆尿素入

* 本報告の一部は昭和63年日本植物病理学会大会で発表した。 ** 農林水産省農業環境技術研究所 1994年12月12日受理

複合444-D80号 (14-14-14) 40kg/10aを基肥, 8月12日に硫酸20kg/10aを追肥として施用した。

(3)区制・面積: 朝日①は1区当たり60㎡, 日本晴①は8㎡, 日本晴③は24㎡, セトホマレは16㎡で, 反覆なしとした。

(4)苗からの本細菌の検出および穂の発病調査: 各感染穂は播種10~15日後に苗の発病を調査した後, 直ちに見かけ上健全苗の根付き基部(茎部1cm+根部0.3cm)に殺菌水1mlを加えてすり潰し, その粗汁液および希釈液から, 前述した方法で本細菌を検出した。なお, 分離本数は朝日①の55℃ 90分間区で25本, その他の区は50本とした。穂の発病は各品種の傾穂期に茂木の基準で調査した。

5. 温湯処理が籾の発芽に及ぼす影響

イネ籾(アケボノ, 朝日, 日本晴)を供試して, 恒温槽(NESLABおよびTABAI)で51~60℃ 10~120分間の温湯処理を行い直ちに水道水で冷やした後, 育苗器内で出芽させ, ガラス温室で管理した。各品種とも1区100粒を供試し, 2反覆とした。

播種約15日後に発芽率および1区20本について草丈, 茎数を調べた。

結 果

1. 供試籾におけるイネもみ枯細菌病菌の感染状況

無病徴感染籾における本細菌の感染状況をエライザー法で調べた結果は第1表に示すように, 1~23%と発生圃場によってかなり異なった。岡山市藤田の多発圃場で30~50%の発病穂率の株から採取した籾(朝日①)でも, 発病程度の激しい籾は収穫中に除去されるためか, 感染率は22%であった。茨城県や山口県産の籾もほぼ同程度の感染率であった。

2. 温湯処理した感染籾からのイネもみ枯細菌病菌の検出

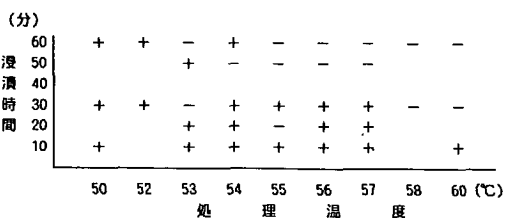
発病籾(朝日①)では第1図に示すように, 本細菌は55~57℃ 50~60分間, 58~60℃ 30分間処理で検出されなくなった。無病徴感染籾では, 50~60℃ 10~120分間処理の結果を第2図に, 53~57℃ 60, 90, 105, 120分間

第1表 エライザー法によるイネもみ枯細菌病菌の感染状況 (1987)

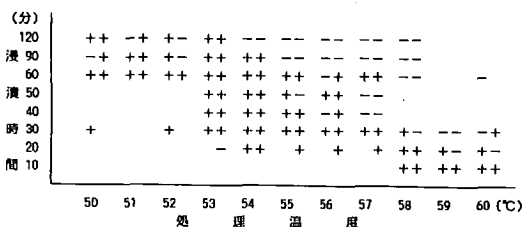
供試籾	年産	採取場所	接種または自然発病	感染率
日本晴①	1986	茨城県つくば市観音台	接種	20%
〃②	1987	愛媛県松山市道後一方	自然発病	3
〃③	1987	山口県山口市大内御掘	〃	23
朝日①	1987	岡山県岡山市藤田	〃	22
〃②	1987	岡山県岡山市矢井	接種	3
〃③	1991	〃	〃	
セトホマレ	1986	香川県善通寺市	自然発病	1

a) 稔孕期~開花期に接種

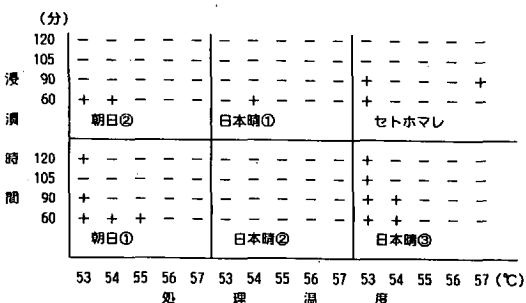
処理の結果を第3図に示した。自然発生圃場から採取した籾(朝日①)と稔孕期に接種した無病徴感染籾(日本晴①)も同様な傾向を示しており, 54℃ 120分間, 55~57℃ 90分間, 58, 60℃ 60分間で検出されなくなった(第2図)。さらにその他の籾を加えた場合には, 接種した無病徴感染籾(朝日②, 日本晴①)では, 53, 54℃ 90分間, 55℃以上の60分間処理で, 検出されなくなった。自然感染籾(朝日①, 日本晴②, ③, セトホマレ)では, 54℃ 105分間, 55℃ 90分間, 56℃ 60分間で検出されなくなった。しかし, セトホマレでは57℃ 90分間でも検出された。自然感染籾は感染率の高い籾の方が, 低率の籾よりも温湯処理で検出されなくなるまでに長い時間を要した。また, 自然感染籾は接種籾と比較しても同様の傾向であった。



第1図 温湯処理した発病籾(朝日①)からの本細菌の検出(1987) (+: 検出, -: 未検出)



第2図 温湯処理した無病徴感染籾からの本細菌の検出(1987) (+: 検出, -: 未検出) { 左: 朝日①, 右: 日本晴① }



第3図 温湯処理した無病徴感染籾からの本細菌の検出(1987) (+: 検出, -: 未検出)

3. イネもみ枯細菌病菌感染籾に対する温湯処理および温湯への殺菌剤、展着剤の加用効果

温湯処理の効果は第2表に示した。12時間浸後の52℃ 10分間の温湯処理は効果が認められなかった。55℃ 60分間処理は、十分ではないが効果が認められた。ただし、朝日は発芽率がやや低下した。55℃ 90分間処理は、発芽率がかなり低下したが、効果は高かった。

温湯処理の効果を高めるために、殺菌剤(カスミン液剤)、展着剤(トクエース、ハイテンA)を加用した結果は第2表に示した。50℃ 90、120分処理では、いずれの処理区でも籾から本細菌が多数検出された。しかも、無加用区の苗は発病しなかったが、日本晴③の加用区では高率に発病した。53と55℃の各90、120分間処理区では、殺菌剤、展着剤の有無にかかわらず、本細菌が検出されなかった。しかし、加用区は無加用区より苗の発病が多く、殺菌剤、展着剤加用の効果が認められなかった。なお、殺菌剤、展着剤を加用しても、発芽への影響はな

かった。

4. 温湯処理したイネもみ枯細菌病菌感染籾からの苗および穂の発病

苗の発病は日本晴③の50℃・120分間、朝日①の無処理および55℃、60分間でわずかにみられたが、その他の区ではみられなかった(第3表)。しかし、無処理区の見かけ上健全苗での感染苗率が16~66%の条件下で、55℃ 90分間ではいずれの苗にも本細菌が低率に検出されたが、55℃120分間処理は日本晴①でわずかに検出されただけであった。感染苗率は感染籾率の高い籾で高かった(第3表)。

これらの苗を圃場に植えて穂の発病をみたのが第4表である。穂の発病は低率であったが、無処理区の発病は日本晴③で多く、次いで朝日①、セトホマレ、日本晴①で、苗の感染程度とは相関が認められなかった。55℃ 90分間ではいずれの籾も穂の発病が認められ、55℃ 120分間でも日本晴①で発病を認めなかったが、他の3種類の

第2表 イネもみ枯細菌病菌感染籾に対する温湯への殺菌剤^{a)}または展着剤^{b)}の加用効果 (1988)

供試籾	処理温度・時間		籾からの <i>P. glumae</i> 菌量 (cfu)				発病苗率 (%)				発芽率 (%)			
	℃	分	カ	ト	ハ	—	カ	ト	ハ	—	カ	ト	ハ	—
朝	50	90	2×10 ⁴	1×10 ⁵	6×10 ⁵	1×10 ⁵	0	3	0	4	85	80	88	88
	"	120	1×10 ³	1×10 ⁴	2×10 ³	2×10 ⁴	0	3	12	9	80	72	73	81
	53	90	0	0	0	0	1	0	0	1	64	63	66	57
	"	120	0	0	0	0	0	0	0	1	53	49	52	44
日 ①	55	90	0	0	0	0	0	0	0	0	34	32	35	27
	"	120	0	0	0	0	0	0	0	0	11	6	14	8
	無	処				2×10 ⁷				0				92
日 本 晴 ③	50	90	1×10 ⁵	6×10 ⁵	1×10 ⁶	2×10 ⁶	6	29	39	63	65	63	60	54
	"	120	6×10 ³	1×10 ⁵	1×10 ⁵	5×10 ⁴	74	36	15	22	53	61	57	63
	53	90	0	0	0	0	4	7	2	0	57	61	59	59
	"	120	0	0	0	0	0	0	2	0	51	52	47	47
	55	90	0	0	0	0	0	33	1	0	49	42	47	42
	"	120	0	0	0	0	0	0	0	0	32	31	35	30
	無	処				6×10 ⁷				1				66

a) 殺菌剤または展着剤；カ：カスミン液剤1000倍、ト：トクエース2000倍、ハ：ハイテンA5000倍、—：無加用

第3表 温湯処理したイネもみ枯細菌病菌感染籾からの苗の感染・発病 (1988)

処理温度	時間	朝日①		日本晴③		日本晴①		セトホマレ	
		発病 ^{a)}	感染苗率 ^{b)}	発病	感染苗率	発病	感染苗率	発病	感染苗率
50 (℃)	120 (分)	—	46%	+					
53	90	—		—					
"	120	—		—					
55	60	+		—					
"	90	—	44	—	2	—	30	—	4
"	120	—	0	—	0	—	6	—	0
無	処	+	66	—	28	—	28	—	16

a) +：育苗箱でわずかに発病、—：無発病 b) 苗からの *P. glumae* の検出

第4表 温湯処理したイネもみ枯細菌菌感染稈の本田における穂の発病 (1988)

処理温度	処理時間	朝日①			日本晴③			日本晴①			セトホマレ		
		調査株数	発病株率	発病稈率	調査株数	発病株率	発病稈率	調査株数	発病株率	発病稈率	調査株数	発病株率	発病稈率
50 (°C)	120 (分)	100	5%	0.2%	100	13%	1.0%						
53	90	100	6	0.3	100	4	0.3						
"	120	100	6	0.3	100	6	0.5						
55	60	100	14	1.1	100	12	1.2						
"	90	100	11	0.7	100	4	0.3	79	1.3	0.1	104	4.8	0.3
"	120	100	5	0.3	100	5	0.4	74	0.0	0.0	112	0.8	0.1
無処理		100	4	0.2	100	16	1.2	81	0.0	0.0	106	1.8	0.2

出穂期:朝日①:9月8日,日本晴③:8月25日,日本晴①:8月23日,セトホマレ:8月30日

調査月日:朝日①:9月28日,日本晴③:9月12日,日本晴①:9月12日,セトホマレ:9月12日

第5表 温湯処理した種籾の発芽率 (1987)

処理温度	品質	処理時間 ¹⁾ (分)						処理時間 ²⁾ (分)				
		10	20	30	60	90	120	60	90	105 ³⁾	120	
51 (°C)	アケボノ	(%)		100	96	93	91	(%)				
	朝日			99	100	98	99					
52	日本晴			98	97	98	100					
	アケボノ			100	100	100	91					
53	朝日			98	97	96	97					
	日本晴			100	100	96	94					
54	アケボノ			98	91	89	91	97	98	94	89	
	朝日			96	96	98	98	95	89	67	56	
55	日本晴			99	97	93	90	98	95	91	99	
	アケボノ			100	91	93	77	97	97	90	77	
56	朝日			100	99	97	94	93	66	39	31	
	日本晴			94	93	94	85	97	93	87	90	
57	アケボノ			99	89	86	61	96	87	77	50	
	朝日			99	97	96	91	88	55	18	16	
58	日本晴			95	90	90	76	96	89	72	66	
	アケボノ			98	99	76	33	96	47	69	21	
59	朝日			94	95	95	62	56	12	3	2	
	日本晴			96	95	78	57	93	66	44	22	
60	アケボノ			96	83	46	7	85	35	27	8	
	朝日			97	98	81	24	61	6	0	0	
無処理	日本晴			98	93	61	25	91	32	18	9	
	アケボノ	93	92	96	75	10	0	65	15	9	3	
58	朝日	99	97	96	93	6	1	22	1	0	0	
	日本晴	96	100	92	83	12	1	68	8	2	2	
59	アケボノ	94	93	92								
	朝日	100	96	98								
60	日本晴	96	93	92								
	アケボノ	93	91	87								
無処理	朝日	99	95	97								
	日本晴	94	96	88								
無処理	アケボノ	99						99				
	朝日	96						97				
	日本晴	100						95				

1) 恒温槽は NESLAB (RTE-5B) 反覆なし 2) 恒温槽は TABAI (TS-11) 2 反覆 3) 反覆なし

穂では発病が認められた。なお、温湯処理による茎数や草丈への影響は認めなかった。

5. 温湯処理が穂の発芽に及ぼす影響

結果は第5表に示した通りで、温湯処理した穂の発芽率は品種により異なり、アケボノ、日本晴はほぼ同等であったが、朝日はやや劣った。80%以上の発芽率を示したのはアケボノ、日本晴では53℃ 30~120分間、54℃ 30~105分間、55℃ 60~90分間、56℃ 60分間、57℃ 60分間、58~60℃ 30分間、朝日では53℃ 30~90分間、54℃ 60分間、55℃ 60分間、56~60℃ 30分間であった。草丈・茎数についてはアケボノ、日本晴、朝日の処理区はいずれも無処理区とほぼ同等であった。

考 察

イネもみ枯細菌病は種子伝染性の病害で、発病苗や見かけ上健全苗を本田に持ち込むことが穂の発病に繋がるとされている⁹⁾ことから、種子消毒、特に温熱処理による殺菌消毒が有効と考えられた。

十河¹⁰⁾は70℃ 4日間の乾熱処理では本細菌が高率に検出されたが、55℃ 60分間の温湯処理は穂からの検出率も低く、発芽への影響も少なかったことから有効とした。後藤・渡辺²⁾は57℃ 10分間の温湯処理では穂から検出される菌量や罹病苗数に無処理区と差がなかったが、70℃ 4日間の乾熱処理では本細菌が検出されず効果があった。牧野⁴⁾は乾熱処理した穂の70℃ 4日間で苗の発病が認められたが、70℃ 6日間で発病しなかったと報告している。このように、イネもみ枯細菌病菌に感染した種穂の温熱消毒についての報告は非常に少ない。

穂中の本細菌を死滅させようと試みた本実験結果から、55℃ 90~120分間の温湯処理は無病徴感染穂から本細菌が検出されず、発病苗もなかった。しかし、55℃ 90分間処理では見かけ上健全な苗から本細菌が低率に検出されたが、発芽障害はなかった。55℃ 120分間処理ではわずかに本細菌が検出されただけであったが、発芽率がやや低下することが明らかになった。これらの処理で苗中の菌量を低下させることができたことから、本処理をした苗では本田中で雑菌との競合によって穂の発病がかなり抑制されることが考えられる。

70℃ 4日間の乾熱処理では穂中から本細菌が検出されなかった²⁾が、発病苗で確認された¹⁾ことは温湯処理の場合と同様の傾向と考えられる。このことは温熱処理した種穂を松田培地、エライザーおよび抗血清などで本細菌が未検出という結果だけでは本細菌の死滅には不十分で、処理した穂を播種して発病苗や見かけ上健全な苗の感染の有無も調べる必要があることを示唆している。

温湯処理は乾熱処理と同様に本試験のような少量の種穂では可能であるが、大量の穂を扱う場合には処理槽全

体の温度調整が難しく、また50℃ 30~60分間処理では苗腐敗が増加する場合があった(未発表)ことから、一般の種子消毒法としては実用性が低いと推測される。しかし、一般農家圃場から採取した穂の20~35%から本病細菌が検出されている¹²⁾ことから、イネの原原種、原種を扱っている公的機関では、採種栽培における本病の拡散を極力避けるために、55℃ 90分間、さらには発芽率がやや低下するが55℃ 120分間温湯処理した種穂の増殖配布が有効であると考えられる。温湯処理には殺菌剤、展着剤加用の効果は低いものと考えられた。なお、温湯処理した苗を本田に移植して穂の発病をみたが、発病が少なかったことや圃場での感染を否定できないことから、その処理効果は明らかではなく、穂での発病防止効果については今後の課題である。

摘 要

イネもみ枯細菌病菌感染穂を供試して、温湯処理の効果を検討した。

1. イネもみ枯細菌病菌に感染した穂の感染率はエライザー法検定で1~23%であった。

2. 発病穂を温湯処理すると、本細菌は55~57℃ 50~60分間処理、58~60℃ 30分間処理で検出されなくなった。無病徴感染穂では54℃ 105分間、55~56℃ 90~120分間で検出されなくなった。感染率の高い自然感染穂は低い穂よりも温湯処理で検出されなくなるまでの時間が長かった。

3. 温湯処理への殺菌剤(カスミン液剤)、展着剤(トクエース、ハイテンA)加用の効果は認められなかった。なお、殺菌剤、展着剤を加用しても、発芽への影響がなかった。

4. 55℃ 90~120分間の温湯処理では発病苗が発生しなかった。しかし、55℃ 90分間処理では見かけ上健全な苗から、本細菌がかなり検出されたが、55℃ 120分間処理ではわずかに検出されただけであった。

5. 温湯処理した穂が80%以上の発芽率を示したのは53℃ 60~90分間、54℃ 60分間、55℃ 60~90分間で、55℃ 120分間でも平均約60%の発芽率であった。処理区の草丈・茎数はいずれも無処理区とほぼ同等であった。

引用文献

1. 後藤孝雄・渡辺文吉郎(1975)イネもみ枯細菌病の種子伝染について、日植病報, 41: 279(講要)。
2. 後藤孝雄・渡辺文吉郎(1979)イネもみ枯細菌病の乾熱処理による種子消毒効果、日植病報, 45: 91(講要)。
3. 加藤 肇編(1990)イネもみ枯細菌病—発生と防除対策—住友化学工業, 東京, pp 180。

4. 牧野秋雄 (1981) イネもみ枯細菌病菌による苗腐敗症に対する乾熱種子消毒効果, 関東東山病虫研報, 28: 6.
5. 茂木静夫・内藤秀樹・対馬誠也 (1981) イネもみ枯れ細菌病に対する数種薬剤の効果, 九病虫研報, 27: 9-11.
6. 松田 泉・佐藤善司 (1987) 移植後から登熟期までのイネもみ枯細菌病の生態, 日植病報, 53: 122(講要).
7. 松田 泉・佐藤善司 (1987) 酵素標識抗体法によるイネもみ枯細菌の検出, 日植病報, 53: 403(講要).
8. 松田 泉・佐藤善司 (1987) 酵素抗体法によるイネもみ枯細菌病原細菌のみみからの検出, 日植病報, 54: 74(講要).
9. 田部井英夫・畔上耕児・福田徳治・後藤孝雄 (1989) イネもみ枯細菌病菌の籾における気孔侵入, 日植病報, 55: 224-228.
10. 十河和博 (1980) 稲モミ枯細菌病の種子消毒法, 今月の農薬, 24: 48-51.
11. 対馬誠也・津野和宣・茂木静夫・脇本 哲・斉藤初雄 (1987) イネもみ枯細菌病菌の籾での増殖, 日植病報, 53: 663-667.
12. 対馬誠也・茂木静夫・内藤秀樹・斉藤初雄 (1989) イネもみ枯細菌病菌の種籾での生存期間と種籾洗浄液利用による汚染籾簡易検定法, 九州農試報告, 25(3): 261-270.
13. 後藤和夫・大畑貫一 (1956) 稲の新しい細菌病(褐条病及び糊粘性細菌病) 日植病報, 21: 46-47.

Summary

Efficacy of hot water treatment of rice seeds infected by *Pseudomonas glumae* was examined.

1. An ELIZA test showed that 1 to 23% of rice seeds had been infected by *P. glumae*.
2. The bacterium of *P. glumae* became not to be detected after the infected seeds, which showed symptom, had been treated with hot water at 55~57°C for 50~60 min. or 58~60°C for 30 min.. On the other hand, no bacterium was detected in rice seeds, which showed no symptom, by treatment with hot water at 54°C for 105 min. or 55~56°C for 90~120 min.. It seems that the time for sterilization of the bacterium on the severely infected seeds was longer than that on the slightly infected ones.
3. The addition of a fungicide (Kasugamycin wp.) or spreaders, such as Toku-Ace and Haiten A, into hot water did not affect the population of *P. glumae* and the germination of rice seeds.
4. While the disease symptom did not appear on rice seedlings after treatment with hot water at 55°C for 90 min. and 55°C for 120 min., the considerable number of *P. glumae* were detected from the seedlings by the former treatment, but not from the latter one.
5. The germination rate of rice seeds was above 80% after hot water treatment at 53°C for 60~90 min., 54°C for 60 min. and 55°C for 60~90 min..

Even by treatment with hot water 55°C for 120 min., the average of germination rates was about 60%. There was no difference between the treated and untreated rice with respect to both the length and the number of stems.