

サンダーソニア乾腐病菌汚染種子に対する乾熱処理の殺菌効果

久保周子・種谷光泰・大谷 徹・河名利幸・須賀晴久*1

キーワード：サンダーソニア，乾腐病，種子伝染，乾熱処理，*Fusarium proliferatum*

I 緒 言

サンダーソニア乾腐病（以下乾腐病とする）は，病原菌 *Fusarium proliferatum* による，球根表面に微細なかさぶた状の傷（そうか症状）や生長点付近の乾腐症状が特徴的な病害である（久保ら，2019）．千葉県のサンダーソニア産地では，2014年頃から本病が一因の不発芽や生育不良による，生産量の減少が問題となっている．土壌消毒による対策は行っているものの，その効果は完全ではなく，栽培管理や病気の発生生態を考慮した有効な対策が求められている．

サンダーソニアの播種から採花までは，非常に長い時間を要する．このため，栽培期間短縮のための好適条件について検討されているが（北川，1991；北川，1995），産地では，播種から採花まで2年半以上を費やしているのが現状である．播種から採花までの流れは，次の通りである．12月に播種を行い，圃場を乾かさないう管理を行う．約4か月が経過した翌年4月頃より発芽が始まり，4か月後の7～8月に約1～2gの球根が得られる．この実生1年生の球根は，採花できる大きさではないため，4か月程度低温処理し，休眠打破した後，3月に定植，栽培すると，7月頃に採花に適した5～7gの球根（実生2年生）が得られる．実生2年生の球根を1年生の球根と同様に低温処理し，3月に定植，栽培すると，6月頃に商品価値のある切り花となる．つまり，播種から採花までは2年半以上を経過することになる．土壌消毒を行っても，種子や球根で圃場内に持ち込まれた乾腐病菌に栽培初期に感染すると，長い栽培期間に感染拡大し，採花率が低下することが懸念される．そこで本研究では，栽培初期の感染を防ぐため，自家採種した種子による種子伝染の可能性及びその対策として乾熱処理により消毒する方法を検討したので紹介する．

II 材料及び方法

2021年8月5日受領 (Received August 5, 2021)

2021年11月15日登載決定 (Accepted November 15, 2021)

*1 岐阜大学 糖鎖生命コア研究所

1. 種子伝染の可能性

(1) 供試菌及び接種源の調製

岐阜大学科学研究基盤センターで作出した，サンダーソニア乾腐病菌の *nit* 変異株（硝酸塩利用能欠損変異株（CKS1S① - 1 *nit1* 菌））を供試した．土壌ふすま培地（大貫ら，1995）に移植後，25℃で約1か月培養した培養物を接種源とした．

(2) 供試種子の作出

千葉県農林総合研究センター暖地園芸研究所（館山市山本）生産環境研究室のパイプハウス（ハウスI）内の枠圃場（6.9 m²/枠（8.6m×0.8m））及びガラス温室（ハウスII）内の枠圃場（7.7 m²/枠（8.1m×0.95m））で実施した．ハウスIは，2018年5月18日に接種源2.5kg/枠を土壌に混和後，20cm目合のフラワーネットを展張し，5月21日に現地由来のサンダーソニア球根を1目置き40cm間隔に定植した．ハウスIIは，2019年3月22日に接種源2.5kg/枠を土壌に混和後，ハウスIと同様フラワーネットを展張し，3月29日に購入したサンダーソニア球根を定植した．いずれのハウスも，自然交配で結実し，肥大した子房が十分に乾燥したことを確認した7月及び9月に，花茎を切り取り回収した．回収後，磨り潰して取り出し，夾雑物を除去した種子を作出種子とし，供試した．

(3) 病原菌の検出

ハウスI及びハウスII由来の種子を，それぞれ80粒供試した．*nit*変異株検出用培地であるFo-N2培地（西村，2002）5枚に16粒ずつ置床後，25℃で5日間培養し，菌糸の伸長が確認された種子粒数を計数し，検出率を算出した．

2. 乾腐病菌汚染種子に対する乾熱処理の効果

(1) 供試種子

暖地園芸研究所内野菜花き研究室の乾腐病発病圃場から，2018年に採種した種子を供試した．

(2) 乾熱処理の条件

長型4号の封筒に入れた供試種子80粒を，定温乾燥機（ヤマト科学(株)DV-400）に据え付けの棚に平置きし，40℃で24時間乾燥後，75℃で120時間，168時間及び240時間乾熱処理を行った．試験は3回行った．

(3) 乾熱種子からの *Fusarium* 属菌の検出

乾熱処理後の種子を，*Fusarium* 属菌の選択培地であ

る駒田培地（大貫ら，1995）5枚に16粒ずつ置床し，25℃で7～10日培養した．菌糸の伸長が確認された種子粒数を計数し，検出率を算出した．また，ロジスティック回帰分析（JMP5.0.1J）により，検出率に及ぼす75℃処理（120～240時間）の影響を評価した．なお，供試した種子の汚染程度を把握するため，乾熱及び乾燥処理を行わない種子を処理区と同様に培養し，調査した．

3. 発芽に対する乾熱処理の影響

(1) 供試種子

10℃に設定した冷蔵庫内で管理した，ニュージーランド産購入種子（輸入後5年以上経過）を供試した．

(2) 乾熱処理の条件

長型4号の封筒に入れた供試種子1g（約185粒）を，試験2. に準じて定温乾燥機内に平置きし，40℃で24時間乾燥後，75℃で168時間及び240時間乾熱処理を行った．

(3) 発芽調査

乾熱処理後の種子を十分吸水させた8cm×12cmの播種用培土（商品名：ピートバン（株）サカタのタネ）に播種し，5℃，暗黒条件のクールインキュベーター（三菱電機（株）CN25A）内で12週間管理した．その後，20℃定温，16時間日長（14,600lx）に設定したグロースチャンパー（パナソニックヘルスケア（株）MLR-352）で管理し，20℃で管理を開始してから4か月間の発芽粒数を1か月ごとに計数した．無処理として，乾熱及び乾燥処理を行わない種子を処理区と同様に播種し，管理した．試験は3反復で行い，次式により平均発芽率及び無処理比を算出した．また，ロジスティック回帰分析（JMP5.0.1J）により，平均発芽率に及ぼす各処理の影響を評価した．なお管理中は，ピートバンが乾燥しないよう，ハンドスプレーで適宜灌水した．

$$\text{平均発芽率 (\%)} = \frac{\text{4か月の平均発芽粒数}}{\text{供試粒数}} \times 100$$

$$\text{無処理比 (\%)} = \frac{\text{各区平均発芽率}}{\text{無処理区平均発芽率}} \times 100$$

III 結 果

1. 種子伝染の可能性

ハウスI及びII由来の，それぞれ6.3%，7.5%の種子から *nit* 変異株が検出された（第1表）．

2. 乾腐病菌汚染種子に対する乾熱処理の効果

結果を第2表に示した．3回の試験で，無処理の16.3～40.0%の種子から，*Fusarium* 属菌が検出された．75℃で120時間乾熱処理した場合は，試験1及び3でそれぞれ3.8%，168時間処理した場合は試験3で3.8%と殺菌効果はあるものの，完全ではなかった．一方，75℃で240

時間乾熱処理した場合は，いずれの試験でも *Fusarium* 属菌は検出されず，完全に殺菌されたことが確認された．また，検出率に及ぼす75℃処理（120～240時間）の影響は，有意（ロジスティック回帰分析，尤度比検定，尤度比尤度比 $X^2=7.31$ ， $p<0.01$ ）であることが明らかとなった．

第1表 サンダーソニア乾腐病菌の種子からの検出

種子の由来	検出率 (%)
ハウス I	6.3
ハウス II	7.5

注1) ハウス I : 2018年に *nit* 変異株を接種したパイプハウス
ハウス II : 2019年に *nit* 変異株を接種したガラス温室

2) 供試粒数 (n) = 80 粒

3) Fo-N2 培地に置床し，検出した．

4) 検出率 (%) = *Fusarium* 検出粒数 / 80 × 100

第2表 サンダーソニア乾腐病発病圃場由来種子に対する乾熱処理の殺菌効果

処理条件 (時間)		検出率 (%)		
40℃	75℃	試験1	試験2	試験3
24	240	0	0	0
24	168	0	0	3.8
24	120	3.8	0	3.8
0	0	40.0	16.3	23.8

注1) 定温乾燥機（ヤマト科学（株）DV-400）で処理した．

2) 所内発病圃場由来種子を供試した．

3) 供試粒数(n)=80粒/試験

4) 検出率の算出は，第1表注4)と同じ．

5) 検出率に及ぼす75℃処理（120～240時間）の影響は有意（ロジスティック回帰分析，尤度比検定，尤度比 $X^2=7.31$ ， $p<0.01$ ）．

3. 発芽に対する乾熱処理の影響

結果を第3表に示した．無処理の平均発芽粒数が54.7粒（平均発芽率29.5%）であったのに対し，75℃で168時間乾熱処理した場合平均発芽粒数94.7粒（平均発芽率51.2%），75℃で240時間乾熱処理した場合は，平均発芽粒数88.0粒（平均発芽率47.6%）で，いずれの乾熱処理区も無処理比173%及び161%と高くなった．また，平均発芽率に及ぼす各処理の影響は，有意（ロジスティック回帰分析，尤度比検定，尤度比 $X^2=63.69$ ， $p<0.001$ ）であることが明らかとなった．

第3表 サンダーソニア種子の発芽に対する乾熱処理の影響

処理条件 (時間)		20℃管理 期間	発芽粒数				平均 発芽率 (%)	無処理比 (%)
40℃	75℃		反復1	反復2	反復3	平均		
24	240	0-1か月	29	31	37	32.3	47.6 a	161
		1-2か月	33	35	46	38.0		
		2-3か月	16	23	14	17.7		
		3-4か月	0	0	0	0		
		合計	78	89	97	88.0		
24	168	0-1か月	31	15	31	25.7	51.2 a	173
		1-2か月	42	36	58	45.3		
		2-3か月	30	27	12	23.0		
		3-4か月	1	1	0	0.7		
		合計	104	79	101	94.7		
0	0	0-1か月	4	3	18	8.3	29.5 b	
		1-2か月	27	34	44	35.0		
		2-3か月	8	22	4	11.3		
		3-4か月	0	0	0	0		
		合計	39	59	66	54.7		

注 1) 乾熱処理は第 2 表注 1) と同じ。

2) ニュージーランド産購入種子を 1g (185 粒) /区供試した。

3) 乾熱滅菌後ピートバン (8cm×12cm) に播種し、5℃暗黒条件で 12 週間管理後、20℃に設定した。グロースチャンバー (16L-8D) で管理した。

4) 平均発芽率 (%) = 4 か月間の平均発芽粒数/185×100

5) 無処理比 (%) = 各区平均発芽率/無処理区平均発芽率×100

6) 平均発芽率に及ぼす各処理の影響は有意 (ロジスティック回帰分析, 尤度比検定, 尤度比 $X^2=63.69$, $p<0.001$)。

7) 異なるアルファベット間で有意差あり (ボンフェローニ補正)。

IV 考 察

*Fusarium*属菌は、多くの作物で土壌病害を引き起こすことが知られている。しかしながら土壌には、作物に病原性を示さない非病原性の *Fusarium*属菌も多く存在しており、病害の生態を解明するためには、目的とする菌を選択的に培養する必要がある。nit変異株は栄養要求性の異なる変異株で、選択培地を用いることで、nit変異株のみを培養できることから、発生生態や防除試験に古くから利用されている (Esther・Katanら; 竹原・國安, 1994a; 竹原・國安, 1994b; 後藤ら, 2004; 林ら, 2019)。本試験は、サンダーソニア乾腐病菌のnit変異株を用いて行い、接種圃場から採種された種子からnit変異株が検出された。このことから、本病は種子伝染することが示唆され、急ぎ何らかの対策を取る必要があると考えられた。

そこで、種子を消毒する方法を検討することとした。現状では、花き類の種子消毒に適用可能な薬剤はなく、適用拡大には長期間を要するため、早急な指導はできな

い。このため本試験では、熱を利用した物理的な消毒法を検討することとした (白川, 2005)。ただし、温湯浸漬法は、現地で広く活用されている、クリーンシーダ((株)アグリテクノサーチ)等の手押し式播種機を使用する際、吸水した複数の種子が固まって作業性が悪化することや均一に播種できないことが懸念された。そこで、乾熱消毒法に限定し、その処理条件について検討することとした。乾熱処理の条件として検討すべき点は、2つある。1つは十分な殺菌効果が得られること、1つは種子の発芽に悪影響を及ぼさないことである。*Fusarium*属菌による病害を対象とした種子の乾熱処理は、70~80℃の温度で3~10日間処理した報告がある (國安・竹内, 1982; 高野ら, 1985; 挟間・吉松, 1999; 吉田ら, 2010)。そこで本試験では、75℃を処理温度とした。また、発芽率の低下は、事前に予備乾燥を行うことで避けられることが報告されている (挟間・吉松, 1999; 吉田ら, 2010)。そこで、40℃で24時間予備乾燥することを基本とし、乾熱処理時間について検討した。なお、乾熱処理に用いられる定温乾燥機は使用する機器の種類や大きさなど、様々

な条件によって、目的とする温度に達するまでの時間や庫内温度の安定性が異なる(窪田ら, 2010)。そこで本試験では、全ての試験で殺菌効果が確認された条件を最適な処理条件とすることとした。その結果、サンダーソニア乾腐病を対象とした種子消毒の条件として、40℃で24時間予備乾燥後75℃で240時間乾熱処理する方法が適していると判断された。

日本の気象条件では、サンダーソニアは12月に播種後、乾燥しないように灌水し、低温に曝露することで、およそ4か月が経過した4月頃から発芽が始まるとされる(北川, 1991)。ただし、発芽は気象条件の影響を受けやすく、安定しない。そこで播種後の環境を人工的に再現し、40℃で24時間予備乾燥後、75℃で240時間乾熱処理を行った場合、種子の発芽にどのような影響があるか検討したところ、無処理に比べて発芽率が61%向上した。作物によっては、乾熱処理をすることにより休眠打破され、発芽率が向上するものもある(白山・小松, 1996; 田村, 2009)。本試験で発芽率が向上した理由として、乾熱処理がサンダーソニアの休眠打破に有利に働いたのではないかと推測される。なお、統計処理上有意な差は認められないものの、75℃で168時間乾熱処理した場合に比べると、75℃で240時間乾熱処理した場合の発芽率は低い傾向が認められた。先に記した通り、定温乾燥機の種類によって庫内の温度条件は異なる。75℃で240時間を基本とし、完全な殺菌効果が得られるよう、使用する機器によって時間の補正を行うべきであるが、240時間を大幅に超過する場合は、発芽率への影響を改めて確認することが望ましい。

乾腐病の防除に加え、発芽率向上に寄与するのであれば、乾熱処理は安定生産を可能とする、優れた技術と言える。今後、サンダーソニア産地で乾熱処理技術の導入が進み、健全種苗の増殖につながることを期待される。

V 摘 要

サンダーソニア乾腐病の種子伝染性の可能性について、*nit* 変異株を接種した圃場由来の種子を用いて検討したところ、種子伝染することが示唆された。汚染種子の消毒法として、乾熱処理の殺菌効果を確認したところ、40℃で24時間予備乾燥後、75℃で240時間乾熱処理することで殺菌でき、さらに発芽率が向上することが明らかとなった。

VI 引用文献

Esther, H. and J. Katan (1989) The Use of Nitrate-Nonutilizing Mutants and Selective Medium for

Studies of Pathogenic Strains of *Fusarium oxysporum*. Plant Disease 73: 800-803.

後藤知昭・小山田浩一・中山喜一 (2004) イチゴ萎黄病菌の*nit*変異菌株の作出とその諸性質. 関東東山病虫研報 51: 29-32.

挟間 渉・吉松英明 (1999) シソ斑点病の種子伝染と乾熱消毒法. 九病虫研会報 45: 30-33.

林可奈子・田中弘毅・宮本拓也・小河原孝司 (2019) ミズナ萎凋病に対する土壌還元消毒による防除効果と持続効果の検討. 関東東山病虫研報 66: 124.

北川 勉 (1991) サンダーソニア・オーランチカの種子より発芽までの研究. 植物工場学会誌 3: 24-30.

北川 勉 (1995) サンダーソニア・オーランチカ塊茎の低温処理および肥大に関する諸要因. 植物工場学会誌 7: 79-90.

久保周子・鐘ヶ江良彦・植松清次・海老原克介・中田菜々子・綿貫俊貴・林 聖麗・大谷 徹・河名利幸・須賀晴久 (2019) *Fusarium proliferatum* によるサンダーソニア乾腐病 (病原追加). 関東東山病虫研報 66: 32-35.

窪田昌春・白川 隆・西 和文 (2010) 様式が異なる種子消毒用の乾熱機内の温度分布. 関西病虫研報 52: 27-34.

国安克人・竹内昭士郎 (1982) トマト萎ちょう病菌 (レースJ3) の種子伝染. 関西病虫研報 24: 1-4.

西村範夫 (2002) *Fusarium oxysporum* 用の3系統9種の選択培地. <https://www.naro.go.jp/project/results/laboratory/karc/2002/konarc02-44.html> 最終アクセス年月日. 2021年7月27日.

大貫貫一・荒木隆男・木曾 皓・工藤 晟・高橋廣治 (1995) 作物病原菌研究技法の基礎—分離・培養・接種—. pp. 1-22. (社) 日本植物防疫協会, 東京.

白川 隆 (2005) 種子伝染性病害とその対策について. https://www.naro.go.jp/training/files/2005_6-06.pdf 最終アクセス年月日. 2021年7月27日.

白山竜次・小松敏憲 (1996) バヒアグラス「ナンオウ」種子の休眠打破. 日草九支報 26: 9-15.

高野利達・高山睦雄・萩原 潤 (1985) 植物検疫上重要な種子伝染性病原菌3種に対する乾熱殺菌効果. 植防研報 21: 1-9.

竹原利明・國安克人 (1994a) *nit*変異株を用いたフザリウム病の発生生態の解明 I. *Fusarium oxysporum* の各分化型の*nit*変異菌株の作成. 日植病報 60: 699-704.

竹原利明・國安克人 (1994b) *nit*変異株を用いたフザリウム病の発生生態の解明 II. *Fusarium oxysporum* の*nit*変異菌株の選択分離培地を用いた分離. 日植病

久保・種谷・大谷・河名・須賀：サンダーソニア乾腐病菌汚染種子に対する乾熱処理の殺菌効果

報 60: 705-710.

田村貢一（2009）収穫時期と乾熱処理による休眠打破が
水積種子の発芽に及ぼす影響(短報). 山口農試研報
57: 84-87.

吉田桂子・加藤晋朗・松崎聖史（2010）メボウキ萎凋病の
種子消毒方法の確立. 愛知農総試研報 42: 45-50.

The Sterilization Effect of Dry Heat Treatment of Seeds of *Sandersonia aurantiaca* exposed to *Fusarium proliferatum*

Chikako KUBO*, Mitsuyasu TANEYA, Toru OHTANI,
Toshiyuki KAWANA and Haruhisa SUGA^{†1}

Key words: *Sandersonia aurantiaca*, bulb rot, seed transmission,
dry heat treatment, *Fusarium proliferatum*

Summary

The possibility of seed transmission of bulb rot of *Sandersonia aurantiaca* (Chinese lantern lily) caused by *Fusarium proliferatum* was examined. Using seeds derived from fields inoculated with nitrate-nonutilizing mutant strains of *F. proliferatum*, we showed that seed transmission was possible. It was also shown that dry heat treatment at 75 °C for 240 hours after pre-heating at 40 °C for 24 hours effectively sterilizes seeds that had been exposed to *F. proliferatum*. This treatment also increased the germination rate of *S. aurantiaca* seeds.

* Warm Region Horticulture Institute, Chiba Prefectural Agriculture and Forestry Research Center; 1762, Yamamoto, Tateyama, Chiba 294-0014, Japan.

^{†1} Institute for Glyco-core Research, Gifu University