

イチゴ萎黄病菌が残存するビニルポットの温湯処理および 資材消毒剤による効果的消毒法

誌名	佐賀県農業試験研究センター研究報告
ISSN	13405241
著者名	稲田,稔
発行元	佐賀県農業試験研究センター
巻/号	42号
巻号補足	
掲載ページ	p. 1-7
発行年月	2022年2月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



イチゴ萎黄病菌が残存するビニルポットの
温湯処理および資材消毒剤による効果的消毒法

稲田 稔

(環境農業部)

受理年月日：令和3年11月26日

キーワード：イチゴ、萎黄病、伝染、ポット、消毒

Effective Sterilization Method by Hot water and Agricultural Material Disinfectant for Vinyl Pots with

Fusarium oxysporum f.sp. *fragariae*, the Causal Fungus of Strawberry Wilt.

Minoru INADA

(Division of Agro-Environmental Research)

Received : November.26, 2021

Key word : Strawberry, *Fusarium oxysporum*, Pot, Sterilization

目 次

I	緒言	2
II	方法	2
1	イチゴ萎黄病菌が残存するセルの作製	2
1)	セルで育成したイチゴへの萎黄病菌接種と <i>Fusarium oxysporum</i> の菌密度測定	2
2)	検出した <i>Fusarium oxysporum</i> の同定	2
2	温湯による殺菌効果の検討	2
1)	温湯浸漬の方法	2
2)	<i>Fusarium oxysporum</i> の密度測定	3
3	資材消毒剤による殺菌効果の検討	3
1)	資材消毒剤の種類	3
2)	資材消毒剤の処理方法	3
3)	<i>Fusarium oxysporum</i> の密度測定	3
4	ケミクロンGの効果的な浸漬時間の検討	3
1)	ケミクロンGの処理方法	3
2)	<i>Fusarium oxysporum</i> の密度測定	3
III	結果	3
1	試験に供試するセルでのイチゴ萎黄病菌の確認	3
2	各温度の温湯への浸漬による殺菌効果	3
3	資材消毒剤への浸漬による殺菌効果	4
4	ケミクロンGの浸漬時間による殺菌効果	4
IV	考察	5
V	摘要	6
	引用文献	6

I 緒言

イチゴ (*Fragaria* × *ananassa* Duchesne) 萎黄病は *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* による糸状菌病害であり、始め新葉の一部に黄化、奇形を生じた後、クラウン導管部の褐変、腐敗により株全体が萎凋、枯死する (岡本、1984)。本病が親株および苗で多発生すると、苗の枯死により定植苗の不足を招く他、感染苗の定植により本圃で立枯れを生じる。

育苗圃における本病の第一次伝染源は、前年に感染した親株や病原菌が混入した土壌 (岡本、1984) とされてきたが、筆者はこれらに加え、親株を植え付けるビニルポットを介した伝染を明らかとし、その除去および殺菌には水による洗浄と資材消毒剤への浸漬の組み合わせが有効であることを報告した (稲田、2016)。本対策の実施により現地での被害は抑制されているものの、実施には多くの労力を要するため、生産者からはより簡易な処理法が求められた。

そこで、温湯および資材消毒剤を用いた簡易な消毒法について検討し、殺菌効果を確保する諸条件を明らかにしたので、その概要を報告する。

II 方法

1 イチゴ萎黄病菌が残存するセルの作製

1) セルで育成したイチゴへの萎黄病菌接種と *Fusarium oxysporum* の菌密度測定

試験の実施には、本病原菌が残存した資材の確保が必要であるため、イチゴの育苗にも利用するセルトレーを供試した。野菜育苗培土 (与作 N15、ジェイカムアグリ (株)) を充填した未使用の 128 穴セル成型トレー ((株)東海化成、590×300mm、材質：合成樹脂、1 セル容量：25ml) で育成されたイチゴ苗 (品種：とよのか、購入苗) に、PD 液体培地にて 25°C、7 日間の振とう培養によって得られたイチゴ萎黄病菌の budcell を水道水で 10 倍に希釈し、平成 25 年 5 月 15 日にセル当たり 10ml をかん注接種した。その後、6 月 17 日までガラス室内 (20~30°C) で管理し、株の枯死を認めた 9 個のセルについて、滅菌水で湿らせた綿棒でセル内側の側面 2cm² (0.5×4cm) の付着物を拭き取り、*Fusarium oxysporum* の選択培地である Fo-G1 (西村、2008) 平板培地 (シャーレ直径：9 cm) にかく線した。その後、25°C、自然光にて 7 日間培養し、生育した同菌のコロニー数を計測した。

2) 検出した *Fusarium oxysporum* の同定

前述の試験において、Fo-G1 (西村、2008) 平板培地上に発生したコロニーから気中菌糸を採取し、キット ((株)東洋紡、MagExtractor™-Plant Genome) を用いて全 DNA を抽出後、イチゴ萎黄病菌を特異的に検出するプライマーを用いた PCR (Suga, H. et al, 2013) を行い、特異的バンドの有無を確認し同定を行った。

2 温湯による殺菌効果の検討

1) 温湯浸漬の方法

セルに残存するイチゴ萎黄病菌の温湯による殺菌効果を明らかとするため、深さ 10cm になるよう水道水を貯めたウォータバス (タイテック社製、パーソナル 11 型) を各温度 (45°C、50°C、55°C、60°C) に調整し、前述のセル成型トレーのセル (各処理につき 3 セルを供試) 全体を各時間 (2 秒間、1 分間、10 分間、30 分間) 浸漬し、その後室内にて風乾した。なお、試験は平成 25 年 6 月 24 日に各区 3 反復 (合計 9 セル) により実施した。

2) *Fusarium oxysporum* の菌密度測定

方法 1-2) と同様に実施した。

3 資材消毒剤による殺菌効果の検討

1) 資材消毒剤の種類

イチゴのビニルポット消毒用として現地での利用頻度が高いケミクロン G (カルシウムハイポクロライト 70.0% (有効塩素)、日本曹達株式会社製) およびイチバン (ベンチアゾール 30.0%、OAT アグリオ株式会社製) を供試した。

2) 資材消毒剤の処理方法

水道水で各濃度に調整したケミクロン G (500、1,000、2,000 倍) およびイチバン (250、500、1,000 倍) の希釈液 2L に、前述のイチゴ萎黄病菌残存セル (各処理につき 3 セルを供試) 全体を 60 分間浸漬し、その後室内にて風乾した。なお、試験は平成 25 年 6 月 24 日に各区 3 反復 (合計 9 セル) により実施した。

3) *Fusarium oxysporum* の密度測定

方法 1-2) と同様に実施した。

4 ケミクロン G の効果的な浸漬時間の検討

1) ケミクロン G の処理方法

水道水で 500 倍に調整したケミクロン G の溶液 2L に、前述のイチゴ萎黄病菌残存セル (各処理につき 3 セルを供試) を、方法 3-2 と同様の手順で、各時間 (2 秒間、10 分間、60 分間)、セル全体を浸漬し風乾した。なお、2 秒間浸漬については、浸漬後、ビニル袋内で 24 時間保湿する試験区を設けた。試験は平成 25 年 9 月 18 日に各区 3 反復 (合計 9 セル) により実施した。

2) *Fusarium oxysporum* の密度測定

方法 1-2) と同様に実施した。

III 結果

1 試験に供試するセルでのイチゴ萎黄病菌の確認

イチゴ萎黄病菌の接種により苗が枯死したセルにおける *Fusarium oxysporum* の検出密度は $20.2 \pm 4.0 \text{ cfu/cm}^2$ であった (第 1 表、写真 1 参照)。また、任意に採取した 11 個のコロニーから採取した全 DNA について、イチゴ萎黄病菌を検出する PCR を行った結果、10 個のコロニーにおいて特異的遺伝子の増幅が認められ、本病原菌であることが確認された。

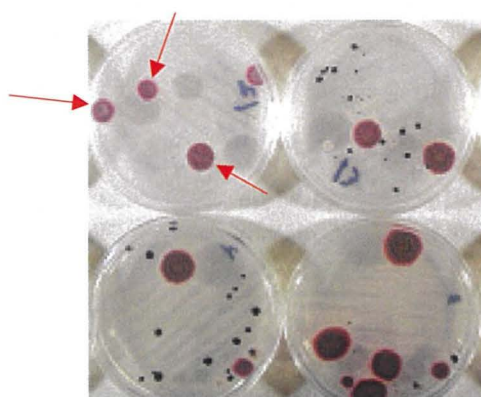
2 各温度の温湯への浸漬による殺菌効果

温湯処理による本病原菌の殺菌効果を検討した結果、45°C および 50°C の温湯への 1~30 分間浸漬、55°C の温湯への 2 秒間、1 分間浸漬による *Fusarium oxysporum* の検出密度は $0.2 \pm 0.1 \sim 12.2 \pm 2.1 \text{ cfu/cm}^2$ であり、無処理 ($20.2 \pm 4.0 \text{ cfu/cm}^2$) に比べ少ないものの、コロニーが検出できないレベルにまで殺菌することはできなかった。一方、55°C での 10 分間以上および 60°C での 2 秒間以上の浸漬処理は、コロニーの生育が全く認められず十分な殺菌効果を示した (第 1 表参照)。

第1表 温湯温度および浸漬時間による*Fusarium oxysporum* の殺菌効果

温湯温度 (°C)	浸漬時間ごとの <i>Fusarium oxysporum</i> コロニー数 (cfu/cm ²)			
	2秒間	1分間	10分間	30分間
45	—	12.2±2.1	8.5±2.4	7.0±1.3
50	—	2.5±2.5	4.8±2.1	0.2±0.1
55	3.0±0.8	0.3±0.9	0	0
60	0	0	0	0
無処理	20.2±4.0			

注) 数値は平均値±標準誤差.

写真1 *Fusarium oxysporum* の検出状況

3 資材消毒剤への浸漬による殺菌効果

資材消毒剤であるケミクロンG、イチバンの各60分間浸漬による殺菌効果を検討した結果、ケミクロンG1,000および2,000倍、イチバン250~1,000倍による*Fusarium oxysporum*の検出密度は $0.1 \pm 0.1 \sim 1.8 \pm 0.7 \text{ cfu/cm}^2$ であり、無処理 ($20.2 \pm 4.0 \text{ cfu/cm}^2$) に比べ少ないものの、コロニーが検出できないレベルにまで殺菌することはできなかった。一方、ケミクロンG500倍ではコロニーの生育が全く認められず十分な殺菌効果を示した。(第2表参照)

4 ケミクロンGの浸漬時間による殺菌効果

ケミクロンGの効果的な処理方法について検討した結果、本剤500倍液の殺菌効果は浸漬時間の延長とともに高まり、60分間の浸漬処理によりコロニーの生育が全く認められず十分な殺菌効果を示した。また、2秒間の浸漬後に風乾した場合のコロニー数は $5.9 \pm 1.6 \text{ cfu/cm}^2$ であり、無処理区 ($14.1 \pm 2.8 \text{ cfu/cm}^2$) に比べ少ないものの効果が不十分であったが、浸漬後に24時間保湿した場合はコロニーの生育が全く認められず十分な殺菌効果を示した。(第3表参照)

第2表 資材消毒剤による*Fusarium oxysporum* の殺菌効果

資材消毒剤	希釈倍率 (倍)	浸漬時間	<i>Fusarium oxysporum</i> コロニー数 ^{a)} (cfu/cm ²)
	500		0
ケミクロンG	1,000	60分間	0.2±0.1
	2,000		0.4±0.2
イチバン	250	60分間	0.1±0.1
	500		1.8±0.6
	1,000		1.8±0.7
無処理			20.2±4.0

a) 数値は平均値±標準誤差.

第3表 ケミクロンG500倍の浸漬時間および浸漬後の保湿の有無が
Fusarium oxysporum の殺菌効果に及ぼす影響

浸漬時間	浸漬後の処置	<i>Fusarium oxysporum</i> コロニー数 ^{a)} (cfu/cm ²)
2秒間	24時間保湿 ^{b)}	0
	風乾	5.9±1.6
10分間	風乾	0.6±0.2
60分間	風乾	0
	無処理	14.1±2.8

a) 数値は平均値±標準誤差. b) 浸漬後にビニル袋内で24時間保湿.

IV 考 察

イチゴ萎黄病菌が残存したビニルポットに株を植え付けると高い確率で発病するため(稲田、2016)、ビニルポットを再利用しながら安定したイチゴ栽培を行うには、効率的にビニルポットを殺菌できる技術の確立が必要である。本試験では、先に著者が提示した水洗浄と資材消毒剤への浸漬の組み合わせによる消毒技術(稲田ら、2016)を簡便な手法へ改良するため、温湯および資材消毒剤を用い、十分な殺菌効果を確保する諸条件について検討した。

まず各種試験に供試する消毒資材としてセルトレーの利用を検討し、本病原菌の付着度を調査した結果、接種により苗が発病したセルからは、*Fusarium oxysporum* が 14.1~20.2cfu/cm² の密度で検出され、現地の発病ポット(4.2~8.0cfu/cm²) (稲田、2016) に比べ、密度がやや高いものの、そのほとんどが本病原菌であり、試験に供試できると考えられた。

本セルを用いて温湯による殺菌効果を検討した結果、55℃で10分間以上、または60℃で2秒以上の浸漬が、本病原菌を検出できないレベルにまで殺菌できる実用的な殺菌技術であることが明らかとなった。竹内・大須賀(1995)は、水耕栽培パネルに付着したミツバ株枯病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. apii) の温湯消毒法を検討し、55℃で10分間、または60℃で5分間の浸漬により殺菌で

きるとしている。この報告ではより短時間での浸漬による効果を検討していないが、これは水耕栽培用パネルが大型で浸漬時間を短縮すると殺菌効果にムラを生じる可能性がある他、浸漬作業を連続して行うことにより湯温が低下し、効果の低下につながることを危惧したためではないかと推察される。ビニルポットの場合も同様の懸念があるが、温度ムラを生じにくい温湯消毒機器を利用し、一度に浸漬するポットの数を制限すれば、60℃で2秒間の短時間浸漬でも効果的な殺菌が可能と考えられる。ただし、ポットに多くの培土が付着した状態では、殺菌効果が低下する可能性があるため、予め布でこするか水洗するなどして除去した後に消毒を行う必要がある。

また、資材消毒剤の殺菌効果について同様に検討した結果、カルシウムハイポクロライトを成分とするケミクロンGの500倍液への60分間浸漬は、本病原菌を検出できないレベルにまで殺菌でき十分な効果が認められた。また、同液への2秒間浸漬後に風乾した場合の殺菌効果は不十分であったが、浸漬後にセルを24時間保湿することで効果が向上し、60分間浸漬と同等の十分な殺菌効果が認められた。本病原菌は厚膜孢子（岡本、1981、小倉ら、1990）の状態ではイチゴの根の残骸や土壌とともにセル表面に付着していると考えられるが、消毒液は速やかにこれらに浸達するため、短時間の浸漬であっても成分が本病原菌へ到達し効果を示すと思われる。また、詳細な検討は行っていないが、浸漬後の保湿処理は乾燥による成分の蒸発を防ぐことで効果を增强すると推察される。ただし、本剤の成分である塩素は酸化しやすく事故の危険性があるため、保湿処理については安全対策を含めた使用法の確立が必要である。

ケミクロンGによるビニルポットの消毒法については、販売メーカーから500倍液への瞬間浸漬またはジョウロ散布、1,000倍液の10分間浸漬が推奨されているが、利用後のビニルポットには土壌の付着があるため、いずれの処理も殺菌効果は不十分であり、500倍液への60分浸漬が必要である。本消毒法は処理にある程度の時間を要するものの、浸漬のみにより高い殺菌効果が得られるため実用性があると考えられる。なお、ポット内面の全体に土壌が付着しているような場合は、より安定した殺菌効果を得るため、浸漬前に土壌を除去する必要がある。

V 摘要

イチゴ萎黄病菌が残存するビニルポットの温湯処理および資材消毒剤による効果的かつ簡便な消毒技術について検討し、以下の結果を得た。

- 1 セルトレーのセルを用いて温湯による殺菌効果を検討した結果、55℃で10分以上、または60℃で2秒以上の処理は十分な殺菌効果を示し実用的な殺菌方法であると明らかとした。
- 2 資材消毒剤について同様に検討した結果、カルシウムハイポクロライトを成分とするケミクロンGの500倍液への60分間浸漬により高い殺菌効果が認められた。本消毒法は処理に要する時間はやや長いものの、浸漬のみで十分な殺菌効果が得られ実用性があると考えられる。なお、本剤浸漬後の保湿処理は殺菌効果を向上させるものの、塩素による事故の危険性があるため、安全対策を考慮した使用法を確立する必要がある。

引用文献

- 岡本康博・1984. イチゴ萎黄病に関する研究. 岡山県立農業試験場臨時報告 73 : 1-92.
稲田稔・2016. ポットを介したイチゴ萎黄病の伝染と防除対策. 九州病害虫研究会報 62 : 64-71.

- 西村範夫・2008. PCNB を用いない *Fusarium oxysporum* 用選択培地. 植物防疫 62 : 164-167.
- Suga, H. et al. 2013. Development of PCR Primers to Identify *Fusarium oxysporum f.sp. fragariae*. Plant Disease 97 : 619-625.
- 竹内妙子・大須賀尚武・1995. 溶液栽培におけるミツバ立枯病および株枯病のパネル消毒による防除. 関東東山病虫研報 42 : 69-70.
- 岡本康博・1981. 根圏土壌中におけるイチゴ萎黄病菌の動静. 岡山県立農業試験場研究報告 4 号 : 72-75.
- 小倉寛典・梅澤武司・1990. 土壌中の *Fusarium oxysporum* の活性の評価 I. 土壌中の厚膜孢子型生存. 高知大学学術研究報告 39 : 9-15.