

## 野菜軟腐病菌のハクサイ葉上における動態について

小林 研三・野中 弘人・吉田 政博（九州東海大学農学部）

**Behavior of soft-rot bacteria on Chinese cabbage leaf.** Kenzo KOBAYASHI,  
Hirototo NONAKA and Masahiro YOSHIDA (Faculty of Agriculture, Kyushu Tokai Uni-  
versity, Aso-gun, Kumamoto 869-14)

### 緒 言

野菜軟腐病菌は宿主範囲が非常に広く、土壤伝染が主体の代表的な土壤伝染性細菌である。本菌は土壤中で長期間生存し、その密度は表土で高いが、かなりの深部にもごく低密度で存在する<sup>2)</sup>。また、非根圈土壤では低密度であるが、宿主作物が栽培されるとその根圈、あるいはハクサイなどの外葉葉柄部の接触部分の葉圈土壤で増殖し急速にその密度が高まる。さらに、風雨などによる土砂の飛散によって茎葉上に分散し、風雨、農作業、害虫の食害による傷が主要な侵入の門戸となっている。すなわち台風や豪雨、水圧の強いスプリンクラー灌水などは土砂を飛散し、病原細菌を作物の地上部に分散、付着させるとともに作物に傷を与えて侵入を助長するといわれている<sup>3)</sup>。小林<sup>3-5)</sup>は、生育期における飛散土壤の付着状況を試験した結果、かなりの土砂量がハクサイ体上に飛散することや、それらの土砂中から細菌が検出され、土砂中に細菌はよく残存し、二次伝染源、その後の越冬源となりうることを明らかにした。また本病原細菌は根圈に集められた後、条件が備われば、生育初期でさえハクサイの茎葉上に所在が認められ、また、雨水による発病土壤からの飛散をみた場合、外見は健全とみられるものにもハクサイ体上のかなり上部まで本病原細菌の存在が認められることも明らかにしている。

一般に、土壤中の細菌数の測定方法は希釀平板法<sup>7)</sup>が用いられるが、軟腐病菌は本法において乾土 1 g 当たり  $10^3$  以上の菌量が検出限界とされていた<sup>1,13)</sup>。しかし、最近、低菌数の場合は種々の方法がとられ<sup>7)</sup>、特に土壤増菌法<sup>6,8,10,11)</sup>の使用により、本病原細菌のかなり微量の所在を確認することができるようになった。従って、本法の利用により、ハクサイ葉上における軟腐病菌の所在を明らかにすることは本病の発病機構の解明に極めて重要であると考えられたので、従来の土壤増菌法を一部改変した方法を用いてハクサイ栽培期間中の植物体上における本病原細菌の検出を行い、ハクサイ葉上での動態について検討した。

### 材 料 お よ び 方 法

試験は九州東海大学農学部の学内圃場（火山灰土）において実施し、ハクサイの供試品種は‘無双’を用いた。前期試験は1991年5月18日、後期試験は9月12日に播種した。前期試験では単作区のみ、後期試験では単作区、連作区の2区を設けて栽培を行った。これらの対照区として圃場より土壤を採取し、殺菌土と無殺菌土の2つを設け、ガラス温室内で栽培を行った。本葉が9~10枚程度に生育した時から10日間隔で採取し、外葉の上部と下部、ならびに本葉展開葉数の中間葉を内葉とし、上部と下部に分け、それぞれの部位について軟腐病菌の検出を行った。

軟腐病菌の検出は希釀平板法<sup>7)</sup>と増菌法<sup>8)</sup>を用いた。

a : 希釀平板法では、採取したハクサイ葉の各部位 10 g に殺菌水 90 mL を加えてホモジナイザーにより磨碎し、この磨碎液を往復振とう機で10分間振とうした。これを原液として、10倍段階希釀により  $10^2$  ~  $10^4$  倍の懸濁液をつくり、変法ドリガルスキー培地上に塗抹した。出現したコロニー中の軟腐病菌と思われる細菌を釣菌し、ジャガイモ半合成斜面培地上で 28°C、48 時間培養した菌体をハクサイ中肋部へ針接種して病原性の確認を行い、軟腐病菌と同定した。

b : 増菌法では、同様に振とうした磨碎液について直接法と間接法<sup>6)</sup>により軟腐病菌の所在を検討した。直接法は、増菌液を10倍段階希釀により  $10^5$  ~  $10^7$  倍に希釀し、変法ドリガルスキー培地上に塗抹した。28°C、48時間培養後出現したコロニーについて同様に軟腐病菌の検定を行った。間接法は、ハクサイ中肋部に増菌液 0.1 mL を針接種し、28°C、48時間静置後腐敗を呈し、かつ軟腐病特有の異臭を放った腐敗部組織を 1 白金耳とり、10 mL の殺菌水に懸濁した。この懸濁液を変法ドリガルスキー培地上に塗抹し、28°C、48時間培養した。出現した軟腐病菌と思われるコロニーを前述と同様にハクサイ中肋部へ針接種して、病原性の確認を行った。なお検出結果は、+ : 検出される、- : 検出されない、として示した。

1回の検出に3株のハクサイを用い3回反復を行った。また、ハクサイ葉への土砂飛散量の測定は小林<sup>4)</sup>の方法に準じて行った。すなわち、42葉期において採取したハクサイの上位10枚(33~42葉期)のすべてを1日室温に放置後、毛筆で静かに葉面を払い、1日風乾後秤量した。

## 結 果

### 1. 供試圃場における土壤中の軟腐病菌の検出結果

本実験で使用した圃場における、ハクサイ播種前の土壤中の軟腐病菌の検出結果を第1表に示した。希釈平板法では、10倍段階希釀による $10^2$ ~ $10^4$ 倍の希釀液では軟腐病菌は認められなかったが、土壤増菌法の直接法と間接法において軟腐病菌と思われる菌が出現し、ハクサイ中肋部に針接種した結果、腐敗を呈し、かつ軟腐病特有な異臭を放ったため軟腐病菌とし、供試畑土壤中に軟腐病菌の存在を認めた。

第1表 供試圃場における土壤中の軟腐病菌の検出

調査年月日	希釀平板法 <sup>a)</sup>		増菌法 <sup>a)</sup>	
	直接法 <sup>b)</sup>	間接法 <sup>c)</sup>	直接法 <sup>b)</sup>	間接法 <sup>c)</sup>
1991.3.31	—	+	+	+
1991.9.10	—	+	+	+

a) 検出培地は変法ドリガルスキーブ地、+ : 検出、- : 未検出

b) 増菌液を直接検出

c) 増菌液をハクサイ葉に接種後検出

### 2. 前期試験におけるハクサイ葉上の軟腐病菌の検出結果

前期試験におけるハクサイ葉上の軟腐病菌の検出結果を第2表に示した。圃場のハクサイからの検出結果で、外葉上部では直接法で7月30日と8月20日に検出された。間接法では7月30日に初めて検出され、以後2回の検出で軟腐病菌が見られた。外葉下部においては、生育初期の7月2日を除き4回の調査とも直接法で検出された。内葉は8月10日より調査を開始したが、8月20日の内葉上部において間接法で検出された。対照区のガラス温室栽培において、細菌土では両検出法でも全く検出されなかつた。一方無殺菌土では、外葉上部において直接法で8月20日に検出され、間接法では7月12日と8月20日に検出された。外葉下部においては、直接法で7月30日を除いた他の4回の調査で検出され、間接法ではすべての調査で軟腐病菌の存在が認められた。内葉においては圃場栽培同様8月10日より調査を開始したが、軟腐病菌はいずれも検出されなかつた。

### 3. 後期試験におけるハクサイ葉上の軟腐病菌の検出結果

後期試験のハクサイ葉上からの軟腐病菌の検出結果を第3表に示した。希釈平板法による軟腐病菌の検出では、連作区において12月7日に外葉下部で検出された。その他はすべて検出されなかつた。

第2表 増菌法によるハクサイ葉上からの軟腐病菌の検出

調査年月日	検出部位	圃場栽培 <sup>a)</sup>				ガラス温室栽培 <sup>b)</sup>				供試植物の葉数	
		直接法 <sup>c)</sup>		間接法 <sup>d)</sup>		殺菌土		無殺菌土			
		直接法 <sup>c)</sup>	間接法 <sup>d)</sup>	発病の有無	直接法 <sup>c)</sup>	間接法 <sup>d)</sup>	発病の有無	直接法 <sup>c)</sup>	間接法 <sup>d)</sup>	発病の有無	
1991.7.2	外葉上部 外葉下部	— <sup>e)</sup>	— <sup>e)</sup>	無無	—	—	無無	—	—	無無	9~10
1991.7.12	外葉上部 外葉下部	—	—	無無	—	—	無無	—	—	無無	15~17
1991.7.30	外葉上部 外葉下部	+	+	無有	—	—	無無	—	—	無有	22~24
1991.8.10	外葉上部 外葉下部 内葉上部 内葉下部	—	+	無有	—	—	無無	—	—	無有	27~31
1991.8.20	外葉上部 外葉下部 内葉上部 内葉下部	+	+	無有	—	—	無無	+	+	無有	35~40

a) 熊本県阿蘇郡長陽村河陽九州東海大学農学部内圃場

b) 圃場栽培に対する対照区として圃場から土壤を採取し10号の素焼鉢に入れ殺菌土区と無殺菌土区を設けた

c) 増菌液を直接検出

d) 増菌液をハクサイ葉に接種後検出

e) 検出培地は変法ドリガルスキーブ地、+ : 検出、- : 未検出

増菌法による検出結果を第4表に示した。

a : 単作区では、直接法による外葉上部からの検出において、12月7日に軟腐病菌の存在が認められ、間接法でも同様であった。外葉下部では、直接法、間接法とも生育初期の10月28日を除いた4回の調査で検出された。内葉については11月27日より調査を行ったが、いずれも軟腐病菌は検出されなかった。

b : 連作区では、外葉上部ならびに下部において、直接法、間接法ともすべての調査で軟腐病菌が検出された。内葉は11月27日より調査を行ったが、いずれも検出されなかった。対照区のガラス温室栽培において、殺菌土で

第3表 希釈平板法によるハクサイ葉上からの軟腐病菌の検出

調査年月日	検出部位	圃場栽培 <sup>a)</sup>		ガラス温室栽培 <sup>b)</sup>	
		単作区	連作区	殺菌土	無殺菌土
1991.10.28	外葉上部	— <sup>c)</sup>	—	—	—
	外葉下部	—	—	—	—
1991.11.7	外葉上部	—	—	—	—
	外葉下部	—	—	—	—
1991.11.17	外葉上部	—	—	—	—
	外葉下部	—	—	—	—
1991.11.27	外葉上部	—	—	—	—
	外葉下部	—	—	—	—
	内葉上部	—	—	—	—
	内葉下部	—	—	—	—
1991.12.7	外葉上部	—	—	—	—
	外葉下部	—	—	—	—
	内葉上部	—	—	—	—
	内葉下部	—	—	—	—

a), b) 第2表と同じ

c) 検出培地は変法ドリガルスキーパー地、—：未検出、数字はcfu/g生体

はすべての調査で検出されなかった。無殺菌土において外葉上部では直接法、間接法とも10月28日に検出されたが、以後の調査では検出されなかった。外葉下部では、直接法で10月28日を除いたすべての調査で軟腐病菌が認められたのに対し、間接法では全調査において軟腐病菌が検出された。内葉については、まったく軟腐病菌の存在は認められなかった。

このように、単作区と連作区とでは軟腐病菌の検出状況に大きな差は見られないが、生育初期の検出の場合、前述のように単作区で軟腐病菌が検出されなかった部位においても連作区では検出された。なお菌の所在と発病との関係は、増菌法による菌量の検出が微量のため発病と直接結びつかなかった。

また、ハクサイ葉上への土砂飛散量は33~42葉期の10枚において1株当たり0.74gであり、圃場栽培で調査を行った期間の月別降水量は、7月：358.5mm、8月：188.5mm、10月：63.5mm、11月：107.0mm、12月：108.0mmであった。

## 考 察

ハクサイ軟腐病の発病経過については、播種後40日以上経過した時期に発生し、25~30°Cの降雨時に非常に早く進行する。土壤中での軟腐病菌の菌数は季節的に変動し、ハクサイの栽培がその増殖に密接に関係しており、根圈土壤で増殖した本病原細菌は感染源となるので、その増殖は軟腐病の発生上大きな役割を持つことが知られている<sup>10)</sup>。

第4表 増菌法によるハクサイ葉上からの軟腐病菌の検出

調査年月日	検出部位	圃場栽培 <sup>a)</sup>						ガラス温室栽培 <sup>b)</sup>						供試植物の葉数	
		単作区			連作区			殺菌土			無殺菌土				
		直接法 <sup>c)</sup>	間接法 <sup>d)</sup>	発病の有無	直接法 <sup>c)</sup>	間接法 <sup>d)</sup>	発病の有無	直接法 <sup>c)</sup>	間接法 <sup>d)</sup>	発病の有無	直接法 <sup>c)</sup>	間接法 <sup>d)</sup>	発病の有無		
1991.10.28	外葉上部	— <sup>e)</sup>	—	無	+	+	無	—	—	無	+	+	無	9~11	
	外葉下部	—	—	無	+	+	無	—	—	無	—	+	無		
1991.11.7	外葉上部	—	—	無	+	+	無	—	—	無	—	+	無	14~17	
	外葉下部	+	+	無	+	+	無	—	—	無	+	+	有		
1991.11.17	外葉上部	—	—	無	+	+	無	—	—	無	—	—	無	23~25	
	外葉下部	+	+	無	+	+	無	—	—	無	+	+	有		
1991.11.27	外葉上部	—	—	無	+	+	無	—	—	無	—	—	無	27~33	
	外葉下部	+	+	無	+	+	無	—	—	無	—	+	無		
	内葉上部	—	—	無	—	—	無	—	—	無	—	—	無		
	内葉下部	—	—	無	—	—	無	—	—	無	—	—	無		
1991.12.7	外葉上部	+	+	無	+	+	無	—	—	無	—	—	無	35~42	
	外葉下部	+	+	無	+	+	無	—	—	無	—	+	有		
	内葉上部	—	—	無	—	—	無	—	—	無	—	—	無		
	内葉下部	—	—	無	—	—	無	—	—	無	—	—	無		

a), b), c), d), e) 第2表と同じ

本病原細菌がハクサイを侵す流行機構の一因として、降雨による土砂飛散、細菌自体の飛沫飛散による植物体上への付着がある。その他、水分の移動に伴う葉上への病原細菌の移動が考えられる。津山<sup>12)</sup>は、タバコ空洞病菌のタバコ葉上における移動を認め、小林<sup>3)</sup>は、ハクサイの軟腐病菌では根部からの直接侵入は認められず、地上部から土壤水の上昇によりハクサイ葉上へ移動するとし、また植物体上の分布においては、土砂飛散によって植物体のかなり上部にも軟腐病菌の存在が認められる<sup>4)</sup>としている。

一般に軟腐病菌の検出において用いられている希釈平板法では、土壤中の軟腐病菌は、土壤1g当たり10<sup>3</sup>個以下での菌数ではその変動について明らかにできないとされていたが、MENELEY and STANGHELINI<sup>8)</sup>は、0.1~0.2 cfu/乾土 g の軟腐病菌を検出し、また、谷井<sup>9)</sup>によっても少量の軟腐病菌の定量について述べられている。さらに小林ら<sup>6)</sup>は土壤増菌法を土壤増菌法直接法と土壤増菌法間接法として報告し、かなり微量の本病菌の検出を行っている。

他方、ハクサイ葉上に傷口がいかなる方法で形成されても、軟腐病菌の感染に必要な菌量が存在しなければ発病しない<sup>13)</sup>とされているが、ハクサイ葉上に軟腐病菌が存在して感染に必要な菌量にまで増加し、傷口から侵入すれば、植物体内で軟腐病菌が再び増殖し、そこから発病に至ると考えられる。

前期試験では、9~10葉期には外葉下部で間接法により検出され、以後すべての外葉下部からの検出において軟腐病菌の存在が認められた。外葉上部においては22~24葉期において初めて検出され、それ以降も菌の存在が認められた。さらに、35~40葉期においては内葉上部からも軟腐病菌が検出された。一方対照温室内の殺菌土ではすべての検出法で軟腐病菌の存在は認められず、無殺菌土では、外葉下部において両方法により圃場栽培と同様9~10葉期で検出された。その後も軟腐病菌の存在は認められたが、土砂飛散はなかったことから、外葉下部が直接地表に接したためであると考えられる。外葉上部では、ほとんど軟腐病菌の存在は認められなかった。

後期試験の連作区の外葉下部では、9~11葉期から軟腐病菌が検出され、以後も軟腐病菌の存在が認められた。外葉上部においては、9~11葉期すでに軟腐病菌が検出され、それ以降もすべて検出された。単作区においては、14~17葉期で初めて外葉下部から軟腐病菌が検出され、その後も検出された。外葉上部では35~42葉期でのみ検出された。対照区の温室内では、植物体上における軟腐病菌の存在はほとんど認められなかった。また、本

実験では3種の方法で軟腐病菌の検出を実施したが、希釈平板法で検出できなかった部位においても増菌法直接法、さらに間接法で検出されることが明らかになった。

軟腐病菌は、生育初期において植物体の上部に存在すると報告されている<sup>4)</sup>が、本実験の単作区においては生育初期での軟腐病菌の存在は認められなかった。しかし、連作区においては生育初期にも検出され、小林<sup>4)</sup>の報告と同様の結果が得られた。これは播種時の菌量の差や、栽培条件の違いなどが要因と思われる。

上述したように、播種時にある程度の菌量が存在する圃場でのハクサイの栽培において、生育のかなり初期より土砂飛散などが要因となり、植物体の下部およびかなり上部にまで菌が付着し、水滴などで増殖し、植物体の上部からでも発病することが考えられる。当然のことながら防除についても発生、流行機構の面からもハクサイ葉上における本細菌の動態の解明は極めて重要なことであり、とくに本病の防除時期と密接な関係があると考えられるので、今後、詳細に検討していきたい。

## 要 約

ハクサイ葉上における軟腐病菌の分布を知るため希釈平板法、土壤増菌法の改良法（直接法、間接法）により検討した。

ハクサイの栽培過程において、生育初期でハクサイ葉の下部および上部にまで軟腐病菌の存在が認められた。また、播種時に菌量が少ない場合でも、土砂飛散によりハクサイ葉上の下部では、生育初期から軟腐病菌の存在が認められた。希釈平板法では検出できない場合でも、増菌法では検出でき、植物体上部においても20葉期前後から結球期以降に至るまで本病原細菌が存在することが、明らかになった。

## 引 用 文 献

- 1) CUPPELS, D. and KELMAN, A. (1974) *Phytopathology* **64**: 468-475.
- 2) 石井正義・竹内昭士郎 (1983) 植物防疫講座、日本植物防疫協会 pp. 225-227.
- 3) 小林研三 (1960) 九病虫研会報 **6**: 83-85.
- 4) 小林研三 (1971) 九州農業研究 **33**: 91-92.
- 5) 小林研三 (1972) 九州農業研究 **34**: 75-76.
- 6) 小林研三・春田潔・吉田政博 (1990) 九州東海大農紀要 **9**: 9-16.
- 7) 近藤 熙・加藤邦彦 (1979) 土壤微生物実験法 養賢堂 pp. 21-24.
- 8) MENELEY, J. C. and STANGHELINI, M. E. (1976) *Phytopathology* **66**: 367-370.
- 9) 谷井昭夫 (1984) 北海道立農試報告 **45**: 38-55.
- 10) 富樫二郎 (1987) 山形農林学会報 **44**: 99-102.
- 11) 津山博之 (1962) 東北大農研報 **13**: 234.
- 12) 津山博之 (1984) 新版土壤病害の手引、日本植物防疫協会 pp. 122-125.
- 13) 津山博之・三上祥子・三浦 渉 (1985) 日植病報 **51**: 338-339.