

軟腐病菌による病害

前山形大学農学部生物生産学科 富 檉 二 郎

はじめに

植物の柔組織を軟化、腐敗を引き起こすペクチン分解酵素は *Erwinia* spp., *Bacillus subtilis*, *B. megatherium*, *B. polymyxa*, *Pseudomonas marginalis*, *Clostridium* spp., *Flavobacterium* spp.などの細菌によって分泌される。これらのなかで、実際野菜類に被害を与えるのは軟腐性 *Erwinia* 属と *Pseudomonas* 属のメンバーであり (PELOMBELON, et al., 1980), おのおの軟腐病 (白腐病) (Soft rot) および腐敗病 (Bacterial rot) を引き起こすが、前者が圧倒的に多い。

約 100 前の 1901 年に JONES がニンジン腐敗部から病原細菌を分離し、*Bacillus carotovorus* (ニンジンを食べるの意) と命名したのが軟腐病菌の最初の記録とされている。我が国では 1896 年にワサビ腐爛病 (軟腐病) (大森, 1896), その後 1920 年代からハクサイなどの軟腐病が報告されている (瀧元, 1927)。植物細菌病は全世界的に発生し、我が国では 2000 年現在 476 種に達している。その中で *Erwinia* 属の種による軟腐病は 84 種 (17.6%) で、被害は野菜、花き類からキノコ類、多肉植物まで広範囲におよび (日本植物病理学会, 2000), その効果的な防除法の確立が望まれている。

I 軟腐病の病原菌と発生様相

植物細菌病の病徴は病原菌と植物の反応の性質から四つに類別されている。その中の軟腐、腐敗は病原菌のペクチン分解酵素によって組織が水浸状に軟化、腐敗する病気で軟腐性の *Erwinia* 属とペクチン分解性の *Pseudomonas* 属のメンバーが関与し、それぞれ軟腐病および腐敗病を引き起こす。水浸状の病斑はその部位の植物細胞の膜透過性が変化し、内容物が漏出するために起こる (瀧川, 2002)。しかし、病徴の様相はその進展、宿主の生育時期、感染部位、環境因子などによって微妙に異なることがある。このため病原菌が別でも似た病徴や同種の病原菌でも違う様相の病徴を形成することがある。

1 軟腐性 *Erwinia* 属の病原菌

軟腐性 *Erwinia* 属の病原菌は *carotovora* 群に属し、生

理、生化学、性質などの差異により、4 種 2 亜種に類別された (LELLIOTT et al., 1984) が、その後 7 種 4 亜種とされた (PELOMBELON et al., 1995)。最近、16s RNA シークエンスなどから本属を 4 属とし軟腐病菌は *Pectobacterium* 属とすることが提案されている (瀧川, 2001)。病原菌は短桿菌、鞭毛は周毛性でグラム反応陰性、通性嫌気性でスクロース等の糖類を発酵する (図-1)。カタラーゼ活性陽性、オキシダーゼ活性陰性、生育適温 27 ~ 30℃、最高温度 32 ~ 40℃。GC 含量は 50 ~ 58 moles%。寒天培地上で 25℃、24 ~ 48 時間で全縁、平滑、中高、湿光の乳白色の集落 (コロニー) を形成する。また、多犯性でペクチン分解酵素が多様でしかも活性が高く、初夏 ~ 初秋の 25 ~ 30℃で降雨後などの温暖多湿下で病勢の進行が迅速で株全体が軟化、腐敗し、多くは悪臭を伴うが、ニンジンでは特有の臭いを放つ。ここでは *Erwinia* 属の 2 亜種およびいくつかの病原型に類別されている *E. chrysanthemi* pv. *chrysanthemi* による病害の病徴を述べる。

(1) *E. carotovora* subsp. *carotovora*

カブ、キャベツ、コンニャク、ジャガイモ、ニンジン、タマネギ、ハクサイなどの野菜類、アイリス、カトレア、クワカスなどの花き類に、いずれも生育の後期から葉、茎、葉柄、根、根茎、果実など多汁質で柔軟な組織に軟腐病を引き起こす。病原菌は導管にも侵入し、導管の褐変腐敗、萎ちょうを引き起こし、やがて株全体が軟化、腐敗する。ハクサイでは雨が連続と隣接の茎葉にも広がって株全体が油を注いだようになって軟化、倒伏する。

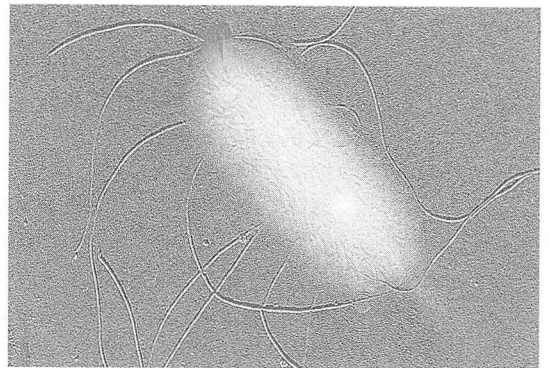


図-1 軟腐病菌の電顕写真

また、病状が進むと茎の表層は残るが、内部の髓部は崩壊、消失し空洞状となり、太鼓病（ダイコン）、空洞病（タバコ）とも呼ばれている（卜藏, 1934）。ニンジン、ハクサイなどで何らかの原因で病勢の進行が停止したときには、根頭部の葉柄基部から新しい葉が簇生することがあるが、奇形となることが多い。

(2) *E. carotovora* subsp. *atroseptica*

本菌はジャガイモ黒あし病の病原菌であり、病徴は種いもの腐敗で萌芽前に起こると欠株となる。萌芽1～2週間後下葉がやや退色して萎ちようする。やがて葉全体が黄化し、巻き上がる。茎は地際部で黒変して黒あし状となり、腐敗、倒伏する。多湿条件下では茎の黒変腐敗は葉柄に進展する。外見上健全でも導管は褐変していることが多い。塊茎では初期には病徴はみられないが、その肥大と地上部病勢の進行に伴いストロン維管束が褐変する。褐変が塊茎の維管束に達すると拡大して空洞化し、激しいときには塊茎が腐敗消失する。新塊茎の腐敗部は空気に触れると黒変する。土壌中で皮目を通して感染し、種いものは貯蔵中にも腐敗する。なお、北海道では本菌のほかにも *E. carotovora* subsp. *carotovora* と *E. chrysanthemi* pv. *chrysanthemi* もジャガイモ黒あし病を引き起こし、これらの簡易同定法が試みられている（谷井, 1983）。

(3) *E. chrysanthemi* pv. *chrysanthemi*

本菌はキクの病原菌として1953年に報告され、高温（27℃）、高湿度条件下で髓部の崩壊、葉の萎ちようが起こる。我が国ではジャガイモ萎凋細菌病を引き起こし（西山, 1997）、種いものがやや褐色をおびたゼリー状に腐敗する。また、葉の黄化程度や茎の伸長抑制程度は軽症であるが、茎の髓部腐敗による空洞化が顕著である。第一次伝染源は汚染および感染塊茎でそれらを播くと、種いもの腐敗に伴って茎が発病し、病原菌はストロンを径由して新塊茎の内部に侵入するとともに腐敗部から病原菌が土中に放出される。その後、皮目を通して種いものに侵入、感染する。また、罹病塊茎を切断した刃物で健全塊茎に伝染するが、伝染力は弱い。このほかヤーコン萎凋細菌病、チコリ萎凋細菌病、ナス茎腐敗菌なども本菌によって起こるが、その病原型は不明なものもある。なお、*Erwinia* 属 *carotovora* 群のメンバーによる軟腐病として *E. rhapontici* によるタマネギ腐敗病、*E. cypripedii* によるサクララン軟腐病、アツモリソウ褐色腐敗病、セッコク腐敗細菌病などがある。

2 腐敗性 *Pseudomonas* 属の病原菌

病原菌は桿菌でグラム反応陰性、芽胞を形成しない。鞭毛は1～数本の極毛で好気性である。カタラーゼ活性陽性、蛍光色素を産生するものが多い。増殖は4～

43℃で起こり、15～30℃に適温がある。寒天培地では白色で全縁、中高、湿光の集落を形成する。GC含量は51～53.1 moles%。（DOUDOROF et al., 1974）。これらのなかには *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis* によるネギ、キャベツ腐敗病、*P. syringae* pv. *syringae* によるタマネギ斑点細菌病、*P. cichorii* によるレタス腐敗病などがある（大畑ら, 1979）。病徴は軟腐病と似ており、両者を病徴から識別することが困難なことが多い。しかし、ペクチン分解酵素活性が弱いために、病勢の進展は緩慢で水浸状の淡褐色や緑色の局所病斑にとどまるものが多く、秋から春にかけて比較的低温下で発生する。軟腐病とは異なり悪臭はない。ネギ腐敗病では葉身、葉鞘部が水浸状に腐敗するが株全体の軟化、腐敗は起こらない。なお、東北地方で土壌から高い頻度で分離される *B. polymyxa* はニュートラルレッド培地上で赤色の集落を形成し、30℃のような高温下で植物柔組織に腐敗を引き起こすが、野菜類などに軟腐病を引き起こす例は報告されていない（Togashi, 1972）。

II 軟腐病の診断

植物細菌病を早期に的確に診断することは効果的な防除対策をたてる上で重要である。軟腐病の診断方法には他の細菌病と同様に病徴や標徴による肉眼的診断、顕微鏡による診断、培養による診断、血清学的診断などがある。

1 病徴による診断

軟腐病の病徴は汚白色で水浸状の軟化腐敗であり、萎ちようや導管の褐変を伴う。ハクサイの外葉基部の初期病斑では縦走している導管が観察される。しかし、病徴や発生様相は病原菌や植物の種類によって異なることがあるので注意する必要がある。他の細菌病でみられる病斑部から溢し出す細菌粘塊などの標徴はみられないが葉縁水孔から溢出している水滴が菌体で白濁したり（ハクサイ）、病斑上に乳白色の菌塊（多肉植物の葉）が観察される。腐敗性 *Pseudomonas* 属では局所病斑が多く全身的に進展する例は少ない。タマネギ腐敗病は *E. rhapontici* と *P. marginalis* pv. *marginalis* によって起こるが、前者では葉鞘部や鱗茎の患部が淡黄色となり萎ちよう、軟化するが、後者では褐色に変色し淡黄の菌泥を溢出する。

2 顕微鏡による診断

健全組織と接する病斑や罹病組織の一部をスライドグラス上にとり水をマウントして100～400位の位相差顕微鏡（暗視野）で検鏡する。それらの部位には1g当たりおおよそ10億個の病原菌が活動しており、菌体集団

(菌塊)として組織片から噴出している状態がみられる。しかし、細菌細胞とデンプン粒などの細胞内顆粒と間違えないように留意する必要がある。細菌細胞は大きさ、形が斉一であるが、デンプン粒は多様である。また、疫病や菌核病などの菌類による腐敗病では細菌はほとんどみられない。これらの病斑部を湿室におくと白色の菌糸が生育してくるので軟腐病とは容易に判別できる。病斑中の細菌を病原菌と判定するためには、病原菌を分離し病原性の確認、細菌的性質の調査が必要である。

3 病原菌の分離

病斑や罹病組織の周辺部の一部を滅菌水に加えて適宜希釈後、選択培地で平板培養する。病斑が古くなると腐生菌の汚染によって病原菌が急速に減少するので、できるだけ病斑の新しい部分を供試することが肝要である。病斑が古いときには新しい組織片に接種して形成された新しい病斑を用いるとよい。この希釈液の1 mlをあらかじめ加熱溶解し、約40℃前後に保った変法ドリガルスキー培地(MD)(津山, 1962)やクリスタルバイオレットベクター培地(CVP培地)とともにシャーレに流し込む。また、あらかじめ平板固化した平板上に希釈液1 mlを滴下しL字型ガラス棒で一面に広げたり、希釈液を白金耳で画線してもよい。軟腐病菌は25℃、48～72時間培養するとMDで糖分解、酸生成により中央部が黄色、周辺部が透明の銀白色に輝く集落を形成する。また、CVPではペクチンが溶分解されて基部が鋭利で円状な穿孔(ピット)が形成される。このような集落の特徴はシャーレ当たり30～300 CFU位のときによく表れ、集落数が多いときや培養時間が長いとき、また培養温度が高いときには集落は一様に青色になり識別が難しくなる。また、土壌や植物表面に高頻度で生存している*E. herbicola*もMDで鈍い黄色集落を形成するので軟腐病菌と混同しないようにする。単一の集落でも雑菌が混入していることがあるので、単集落分離を2～3回繰り返した後、集落の一部を釣菌して斜面保存培地に移植する。なお、同一種とみられる集落の2～3個から各々移植し、保存する。

Pseudomonas 属の腐敗病細菌でもこのような方法で分離されるが、あまり選択性の高い培地はない。*P. cichorii*ではPCSM培地が用いられる(田部井, 1991)。

4 分離菌株の病原性検定

分離菌株の病原性はハクサイ茎部、ジャガイモ塊茎、ニンジン根部(市販のものでよい)などの組織片に対する接種試験で検定する。シャーレやバットの底部にろ紙を敷き、殺菌水を加えて湿室にする。水が多いと汚染が起りやすいので過剰にならないようにする。供試組織

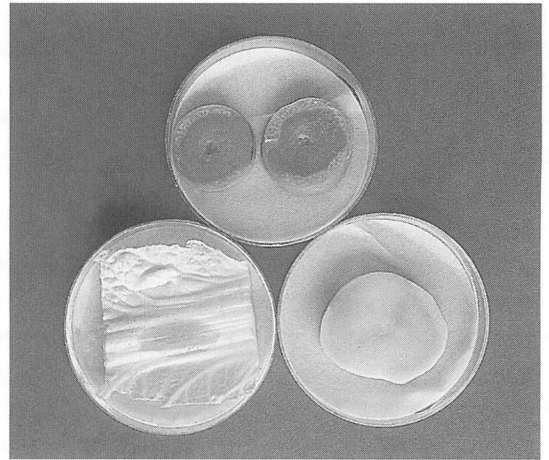


図-2 軟腐病菌の病原性検定

片を70%エタノールで表面殺菌後、滅菌水で2～3回洗浄して湿室に静置する。直ちに分離菌株をその中央部に穿刺接種し25℃で培養する。ニンジン、ジャガイモでは切断面に滅菌水けん濁($10^4 \sim 10^5$ CFU/ml)を滴下してもよい。軟腐病菌は24時間前後に水浸状の軟腐病斑を形成する(図-2)。ニンジン根部は潜在感染や汚染菌によっても腐敗することがあるので長時間培養後の判定は避ける。また、組織表面が乾燥すると腐敗しないことが多い。

5 分離菌株の細菌学的性質

病原性をもつ分離菌株の形態、培養的性質、生理生化学的性質、血清学性質など約100項目にわたる細菌学的性質を調べ、同定する(後藤ら, 1984)。しかし、判定までかなりの時間がかかることから、防除などの実用的な診断を目的とした軟腐病菌の簡易同定法が考案された(西山, 1978)。この方法では植物組織に軟腐を引き起こし、鞭毛が周毛性、グラム反応陰性、スクロースの発酵試験が陽性の菌株は軟腐性の*Erwinia*属のメンバーと判定する。さらに、黄色色素を形成することなく、硝酸塩を還元するときには軟腐性の病原菌とする。しかし、この簡便法は既知の病原菌にかぎって組み立てられていることに留意する必要がある。*Pseudomonas* 属の腐敗菌ではジャガイモ腐敗、蛍光色素の産生、タバコ過敏反応、OF試験なども調べる。また、同定試験には植物病原細菌のために開発されたものではないが、市販の同定のキッドも利用される。このほか、軟腐病菌を同定する方法として抗血清の利用、ファージの利用、PCR法などがある(KIKUMOTO, 1980)。

判定を確実にするため、特にまだ慣れていないときには分離菌株が所属すると推定される既知の菌株(参考菌

株)を同時に供試する方がよい。これらの結果を総合して最終的に分離菌株の所属を判定する。

おわりに

軟腐病菌は多犯性で宿主範囲は61科140余種に及び、全世界的に分布、発生する。既に記したように普通、土壌などの生態系では検出限界以下の低いレベルで生存している。細菌類は二分法で増殖し、栄養や培養条件にもよるが、世代時間は短く軟腐病菌では25℃の場合25～30分であり、計算上1個の細胞は24時間で200京倍(京は一兆の1万倍)に達する。しかし、実際には種々の阻害要因があってこのようには増殖しないが、わずかな数でも温度、湿度などの条件が満たされたときには短時間で急速に増殖し、予想外の大きな被害を引き起こすのが細菌病の特徴の一つである。また、軟腐病や腐敗病のような土壌病害では多くの場合、侵入、感染部位が土壌中でかなり病勢が進行したあとに気が付くことが多い。また、伝染経路も植物や病原菌により多様であり、難防除病害とされる理由の一つとなっている。このため、できるだけ発生初期に的確に診断することが極めて重要であり、その結果に基いて適宜農業散布などで二次伝染を予防したり、罹病植物を除去して次年度の第一次伝染

源を除去することが重要であろう。

引用文献

- 1) 卜藏梅之丞 (1934) : 病害虫雑誌 21 : 682 ~ 684.
- 2) DOUDOROF, M. and N. J. PALLERONI (1974) : Genus I. *Pseudomonas*. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, p.217 ~ 243.
- 3) 後藤正夫・瀧川雄一 (1984) : 植物防疫 38 : 339 ~ 344, 385 ~ 389, 432 ~ 437, 479 ~ 484.
- 4) KIKUMOTO, T. (1980) : Bull. Inst. Agr. Res. Tohoku Univ. 31 : 19 ~ 41.
- 5) LELLIOTT, R. A. and R. S. DICKEY (1984) : Genus VII. *Erwinia*. Bergey's Manual of Systematic bacteriology, p.469 ~ 476.
- 6) 西山幸司 (1978) : 植物防疫 32 : 283 ~ 287.
- 7) ——— (1997) : 日本産植物細菌病の病名と病原細菌の学名, 日植防協, 東京, 227 pp.
- 8) 日本植物病理学会 (2000) : 日本植物病名目録, 日植防協, 東京, 856 pp.
- 9) 大畑貫一ら (1979) : 日植病報 45 : 333 ~ 338.
- 10) 大森順造 (1896) : 官報 3763 : 310 ~ 312.
- 11) PEROMBELON, M. C. M. and A. KELMAN (1980) : Annu. Rev. Phytopathol. 18 : 361 ~ 387.
- 12) ——— and G. P. C. SALMOND (1995) : Pathogenesis and Host specificity in Plant Diseases, p.1 ~ 20.
- 13) 瀧川雄一 (2001) : 日植病報 67 : 76 ~ 86.
- 14) ——— (2002) : 野菜・果樹の細菌性病害, 武田薬品工業(株), 東京, p.21 ~ 28.
- 15) 瀧元清透 (1927) : 農及園 2 : 843 ~ 852.
- 16) 谷井昭夫 (1983) : 北海道畑作物の土壌病害, 同書刊行会, 札幌, p.15 ~ 25.
- 17) 田部井英夫ら (1991) : 作物の細菌病, 日植防協, 東京, 308 pp.
- 18) TOGASHI, J. (1972) : Re. Inst. Agr. Res. Tohoku Univ. 23 : 17 ~ 52.
- 19) 津山博之 (1962) : 東北大農研彙報 13 : 221 ~ 345.

! 細菌病の解説!

作物の細菌病

—診断と防除—

田部井 英夫 他編 A5判 本文308頁 口絵カラー16頁
定価 6,116 円税込み (本体5,825 円) 送料 340 円

(CD-ROM版 : for Windows) **2001年追補** —病徴診断と病原の同定—

西山幸司・高橋幸吉・高梨和雄 編

定価 2,100 円税込み (本体2,000 円) 送料 200 円

診断, 分離と同定, 生態, 発生機構, 防除法について解説した後, わが国で発生している66作物115の細菌病についてさらに詳しく解説した書です。

2001年追補では, その後の最新知見とともに病徴写真を豊富に取り入れ, 病原や病名からの検索機能も完備しております。

お申し込みは直接当協会へ, 前金(現金書留・郵便振替)で申し込むか, お近くの書店でお取り寄せ下さい。
社団法人 日本植物防疫協会 出版情報グループ 〒170-8484 東京都豊島区駒込1-43-11
郵便振替口座 00110-7-177867 TEL (03)3944-1561(代) FAX (03)3944-2103 メール : order@jppa.or.jp

! 好評の病害虫見分け方リーフレット!

1部送料120円, 50部以上のご注文は送料サービス, 200部以上は1割引, 500部以上は2割引

作物細菌病の見分け方

A4判 16頁カラー 主要83種を収録

定価 945 円税込み (本体900 円) 送料 120 円

ワタヘリクロノメイガのリーフレット

A4判 4頁 (カラー2頁+解説2頁)

定価 105 円税込み (本体100 円) 送料 120 円

お申し込みは直接当協会へ, 前金(現金書留・郵便振替)で申し込むか, お近くの書店でお取り寄せ下さい。
社団法人 日本植物防疫協会 出版情報グループ 〒170-8484 東京都豊島区駒込1-43-11
郵便振替口座 00110-7-177867 TEL (03)3944-1561(代) FAX (03)3944-2103 メール : order@jppa.or.jp