

# 特産アブラナ科野菜「はなっこりー」の出荷後の腐敗発生の原因解明と対策に関する研究

誌名	山口県農林総合技術センター研究報告
ISSN	21850437
著者名	出穂,美和 鍛冶原,寛 中村,宣貴 角田,佳則
発行元	山口県農林総合技術センター
巻/号	10号
掲載ページ	p. 27-35
発行年月	2019年9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



## 特産アブラナ科野菜「はなっこりー」の出荷後の腐敗発生の 原因解明と対策に関する研究

出穂 美和\*・鍛冶原 寛\*\*・中村 宣貴\*\*\*・角田 佳則

### Causes and Countermeasures against Softening-induced Spoilage After Shipment of Cruciferous Vegetable "Hanakkori"

Miwa IZUHO, Hiroshi KAJIHARA, Nobutaka NAKAMURA and Yoshinori SUMIDA

Abstract: Shipped cruciferous vegetable "Hanakkori" cultivated in 2011 and 2012, exhibited softening and decaying in shipping bags and were returned from the market. This phenomenon became a serious problem for farmers and distributors. Therefore, research to elucidate the cause of softening-induced spoilage and countermeasures were undertaken in accordance with the requests of farmers and distributors. The result showed that not only *Pectobacterium carotovorum*, but also several nonpathogenic bacteria were detected in the softened and decayed parts of the plants. Reproduction experiments using artificial inoculation proved that the nonpathogenic bacteria also caused the softening-induced spoilage. The growth of softening spoilage bacteria is remarkable at  $\geq 15^{\circ}\text{C}$ , and plants decompose in several days at a temperature of  $\geq 25^{\circ}\text{C}$ . Construction of a system that stores and distributes products at low temperature is an effective strategy to prevent the spoilage of "Hanakkori" because bacteria growth is suppressed at a low temperature of  $\leq 10^{\circ}\text{C}$ . Hygiene control including disinfection of utensils during preparation processes is effective in preventing bacterial contamination of harvested vegetables. Furthermore, comprehensive measures, including controlling *P. carotovorum* in the field, are important for suppressing the occurrence of softening-induced spoilage after shipment.

Key Words: fermented odor, hygiene control, nonpathogenic bacteria, rot

キーワード: 発酵臭、衛生管理、非病原性細菌、腐敗

### 緒言

「はなっこりー（以下、本品種を示す場合は「初代」）は、1990年に山口県農業試験場（現・山口県農林総合技術センター）が、中国野菜のサイシンを母親、ブロッコリーを父親に育成し、品種登録したアブラナ科アブラナ属の野菜である。頂花蕾を摘芯した後、伸長した脇芽を収穫する野菜で、キャベツや白菜などの重量野菜と比べて収穫が軽作業であること等から県内の多くの農家で栽培されるようになっていく。また、育成以来、継続して行われ

てきた品種改良により、これまでに厳寒期の生産安定を実現できる中早生種の「はなっこりーME」（以下、「ME」）と晩生種の「はなっこりーL」（以下、「L」）の2品種が開発され、3品種を用いた作型組み合わせにより長期出荷が可能となった。その結果、2017年における作付面積は約15haに増加し、現在は県の重点推進品目として県内市場はもとより東京、大阪、岡山、広島、福岡などに出荷されている。ところが、MA包装しているにも関わらず出荷した生産物がガス透過性の袋の中で腐敗と推測される事例が確認され、2011年11月には大阪で、2012

\*現在：農業振興課、\*\*現在：ぶちうまやまぐち推進課、\*\*\*現在：国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構

年 11 月には東京の市場から返品される事態が発生し、問題となった。流通過程での商品の軟化腐敗は、直接的な経済被害となるだけでなく、ブランド力の低下など今後の販売の障害となることから、関係機関および農家から早急な発生要因の解明と対策の確立が求められた。そのため、2013 年から試験研究課題として検討を行った。しかしながら、試験開始当時、軟化腐敗した検体は保存されておらず、新たな検体がすぐに入手できる見込みもないため、市場流通サンプルによる直接の原因究明は不可能な状況であった。そこで、「はなっこりー」を農林総合技術センター内で慣行に準じた栽培を行って収穫したもの、あるいは近隣農家から購入したものを検体として用い、出荷時と同様の荷姿を再現し、温度条件を変えて貯蔵することにより、軟化腐敗の再現や検体からの腐敗菌の分離・同定を試みた。その結果、出荷後の腐敗発生の要因および対策について、いくつかの知見を得たので報告する。

## 材料および方法

### 1 健全株を用いた腐敗症状の再現と菌の分離

#### 1) 腐敗症状の再現

試験開始直後は、腐敗検体が入手できなかったため、センター内または、現地で栽培・収穫された「はなっこりー」を用いて、軟化腐敗の再現試験を実施した。収穫時期の温度等の気象条件により腐敗の発生も異なるのではないかと考え、供試株には、収穫時期の異なる「初代」と「ME」の 2 品種を用いた。「初代」は、2013 年 8 月中旬にセルトレイに播種し、9 月中旬にセンター内のほ場に定植し、10 月 17 日に収穫したものを供試した。「ME」は 9 月下旬に播種して 10 月下旬に定植し、2014 年 4 月 18 日に収穫したものを供試した。施肥は県内で共通に使用されている緩効性の化成肥料のみを施用し、堆肥等は施用しなかった。また、「ME」では、山口市内の農家ほ場で栽培され 2014 年 6 月 3 日に収穫されたもの（栽培歴不詳）を別途供試し、再試験を行った。

収穫にあたっては、農家と同様の方法により手で摘み取った後、消毒したバットに入れて持ち帰った。実際の出荷では、摘み取った茎を規格に合わせて切り取り、専用袋に入れることから、本試験でも袋詰めした状態で検討することとした。長さの調整

に使用する、まな板、包丁などの器具は水洗・乾燥させたものを 70 %エタノールで消毒した。収穫物は、切り揃えて出荷規格容量の 170 g になるように本数を調整し、切り口を下にして袋詰めした後、シーラーで封をした。出荷袋は実際に使用されている鮮度保持フィルム「P-プラス」（住友ベークライト）を用い、これを 3 袋ずつ立てた状態でバットに入れ、5 ~30℃の 5℃きざみの恒温培養器を用いて暗黒条件下で保存した。その後、7 日目まで毎日、軟化腐敗状態を見取り調査した。軟化腐敗が認められた検体は袋から取り出し、微生物の検出に供試した。

#### 2) 菌の分離と腐敗能の調査および簡易同定

2013 年 10 月に収穫貯蔵し、5 日目に腐敗が認められたものについて、腐敗部と健全部との境界部を切り出し、常法により表面殺菌し、「ホモジナイザー（ニッピ社製、バイオマッシャー II）」を用いて、滅菌水中で磨砕液を作成した。その後、PSA 培地で 27℃培養し、培養 4 日後に生じたコロニーを単離し、斜面培地に移して 2 ~3 日間増殖後、スキムミルクとグルタミン酸ナトリウム、水を加え乾熱殺菌した西山の凍結保存用分散媒に混和し、-20℃で保存し、その後の試験に用いた。なお、軟化腐敗が認められるにも関わらず平板で菌の分離ができなかったものについては、腐敗部を針でかき取り、嫌氣的に糖を分解するかどうかを調べるために OF 試験用培地に穿刺し、発酵性試験を試み、反応を観察した。

得られた分離菌の腐敗能を再確認するため、1) で用いたものと同様に栽培した健全な「はなっこりー」を用い、70%アルコールで表面殺菌後、茎を切り返して収穫時の折取り部を殺菌メスで切り落とし、切り口に 1 白金耳の菌体を塗布接種した。調整したサンプルを出荷の似姿同様に出荷袋に入れてシーラーで密封し、25℃の恒温培養器に 7 日間静置した。軟化腐敗を認めたものについては、菌の再分離を行った。再分離菌は同定を目的に InstaGene Matrix（バイオ・ラッド ラボラトリーズ（株））により DNA を抽出調整し、10F/800R プライマーセットを用いて PCR を行い、簡易同定に供するための 16SrDNA 領域を増幅した。得られた PCR 産物はオペロンバイオテクノロジー（株）に依頼し、塩基配列を解析しそのデータを基にホモロジー検索プログラム（BLAST）を用いて相動性検索を行い、該当す

る属を探索した。また、これらの菌の生育植物における病原性を確認するために、「はなっこりー」のポット苗を用い、本葉3葉期の葉柄を切り離し、台側の切り口に1白金耳の菌体を塗布接種し、25℃の接種箱内で24時間管理し、その後25℃の低温小型ハウスに移動し、7日間観察した。

### 3) 貯蔵温度と袋内のO<sub>2</sub>およびCO<sub>2</sub>ガス濃度の関係

青果物は品温により呼吸速度が大きく異なるため、貯蔵温度が異なると包装内のガス環境も異なり、結果として品質に及ぼす効果も異なると想定される。そこで、本項目については、貯蔵温度と包装内ガス濃度の関係について調査を行った。センター内で栽培された1)と同様の「はなっこりー」を別ロットで収穫・袋詰めしたものをを用い、出荷時と同様の暗黒条件下で温度を変えて貯蔵し、袋内のガス濃度(O<sub>2</sub>、CO<sub>2</sub>)の推移を測定した。試験は時期を変えて2回行い、2014年11月は「初代」を、2015年2月は「ME」と「L」を供試した。検体は収穫後、速やかに調製し、クール便で国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構(茨城県つくば市)に送付し、5~30℃の5℃きざみの恒温器に静置した。2014年は毎日、2015年は1~3日おきに袋内のガス濃度を調査した。ガス濃度の測定には、Dansensor社製のCheckPointを用いた。

## 2 出荷後に腐敗した検体の収集と菌の分離および関連情報の調査

出荷後の腐敗症状の発生実態を把握するため、山口県とJAグループで構成する「はなっこりー生産出荷協議会」の協力により、事務局である全農山口県本部を通じて、2013年から2015年にかけて毎年9月から翌年6月の出荷時期に、軟化腐敗し返品された検体の収集を行った。また、当該生産者に収穫から出荷までの管理について、収穫・調製作業の時間帯、収穫後の集荷場の予冷库の有無等に関する聞き取り調査を行うとともに、可能な場合は、ほ場での軟腐病の発病調査を行った。なお、収集した検体については、速やかに細菌および糸状菌の分離を行った。菌の分離、腐敗能および病原性に関する試験は1-2)と同様の方法で実施した。

## 3 腐敗症の予防対策試験

### 1) 調製器具の消毒による腐敗防止試験

腐敗の対策として、収穫後の衛生管理に着目し、

調製時に使用する器具の消毒による予防を試みた。収穫後の「はなっこりー」は、出荷袋に入れる前に長さを調製する作業が必要となる。その際、切り口から腐敗菌を感染させてしまう可能性があるため、調製に使用する器具(包丁)の消毒方法について検討した。センター内のほ場の「はなっこりー」から分離した*Pectobacterium carotovorum*を用い、培養菌体を滅菌した綿棒で直接包丁に塗布し、常温で風乾後、包丁の殺菌処理を行った。殺菌処理の種類は、①沸騰水に10秒浸漬、②70%エタノールに1分浸漬、③70%エタノールに3分浸漬、④70%エタノール噴霧とし、*P. carotovorum*の生残程度を塗布のみの無処理と比較した。包丁は各3本ずつ用い、菌の検出については、殺菌水に10<sup>4</sup>倍のTween20を加え、滅菌綿棒に含ませて、菌体を塗布した包丁1本当たり、表裏それぞれ各2か所ずつ綿棒を替えて計4か所を擦り取り、綿棒ごとに普通寒天培地に画線し、*P. carotovorum*の検出の有無で消毒効果を評価した。また、消毒した包丁を用いて出荷調製を行い、10℃および25℃で静置し、6日間の腐敗の推移を調査した。

### 2) ほ場における軟腐病菌を対象とした薬剤防除試験

ほ場からの軟腐病菌の持ち込みによる収穫調製後の腐敗を防ぐため、2014、2015年にセンター内において自然感染条件下での軟腐病に対する薬剤効果試験を行った。両年とも薬剤には、オキシソリニック酸水和剤、炭酸水素ナトリウム・銅水和剤、非病原性エルビニア・カロトボーラ水和剤を供試した。薬液には、展着剤(クミテン10,000倍)を加用した。区制は1区20株で5連制とした。散布時期および希釈倍率・回数は、2014年についてはオキシソリニック酸水和剤は頂花蕾摘芯直後(10月28日)とその14日後の2回、2,000倍液を散布した。また、炭酸水素ナトリウム・銅水和剤は1,000倍液を、非病原性エルビニア・カロトボーラ水和剤は500倍液を、頂花蕾摘芯直後とその7日おきに2回の計3回散布した。2015年については、薬剤の使用濃度はそのままとし、散布時期および回数を頂花蕾摘芯直後(10月29日)とその14日後の2回に統一して散布した。散布器具は肩掛け電動噴霧器を用い、散布量は1回当たり150L/10aとした。発病調査は、2014年は最終散布の8日後(11月20日)、2015年は最終散布の14日後(11月27日)に実

施し、発病株率から防除価を算出した。

## 結 果

### 1 健全株を用いた腐敗症状の再現と菌の分離

#### 1) 腐敗症状の再現

2013年10月の試験では、20℃で5日目、25℃で3日目、30℃では2日目に切り口が軟化腐敗し始めている茎が認められ、25℃で4日目には漬物のような発酵臭を確認した。2014年4月の試験では、20℃で5日目、25℃で4日目、30℃では3日目に切り口から軟化腐敗し始めている茎が認められ、30℃で4日目には発酵臭を確認した。2014年6月3日に現地で収穫した検体については、15℃で2日目、20℃以上では翌日には切り口が軟化腐敗し始める茎が認められ、30℃では2日目に葉が変色し3日目には発酵臭を確認した。3回実施したいずれの試験においても、10℃以下では切り口の軟化腐敗は認められなかった(第1表)

#### 2) 菌の分離と腐敗能の調査および簡易同定

2013年10月に収穫したセンター内栽培の検体を貯蔵し、5日後に腐敗した部分から細菌の分離を行い、普通寒天平板上で生育可能な28菌株の分離株を得た。また、軟化腐敗が認められるにも関わら

ず、平板培地で分離ができなかったものが3検体あり、腐敗組織を針につけて発酵性試験用培地で嫌気培養したところ、培地が黄色に着色し、何らかの微生物が嫌氣的に糖を分解し酸を生成していることが推定された。

得られた28菌株を「はなっこりー」の切り口に塗布し、出荷時と同様の状態で7日間貯蔵したところ、17菌株が切り口に軟化腐敗症状を示した。これら、17菌株について簡易同定を行ったところ、*Bacillus* 属が70.6%、*Pseudomonas* 属が11.8%、*Staphylococcus* 属が11.8%、*Enterobacteriaceae* が5.9%であった(第2表)。これらの菌株をポットの葉柄に接種して7日間観察した結果、いずれの菌株も生育中の植物に変色や軟化腐敗の症状は示さなかった。

#### 3) 貯蔵温度と袋内のO<sub>2</sub>およびCO<sub>2</sub>ガス濃度の関係

暗黒貯蔵条件下における6日間の袋内のO<sub>2</sub>濃度の推移は、いずれの系統の「はなっこりー」を用いた場合も、貯蔵開始の数時間後に低下し、貯蔵温度が高いほど、濃度が低くなった。一方、CO<sub>2</sub>濃度については、貯蔵開始から数時間後には急激に増加し、温度が高いほど濃度も高くなった。しかし、1~2日後には低下し始めたが、温度ごとの濃度の順位は維持された。また、同温度のサンプルでは、貯

第1表 貯蔵温度および日数と腐敗発生との関係

収穫日	温度 (℃)	品種	貯蔵日数							
			1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	6日目	7日目	
2013	10/17	初代	10	—	—	—	—	—	—	—
			15	—	—	—	—	—	—	—
			20	—	—	—	—	2△	3△	3△
			25	—	—	1△	2■	2■	2■	2■
			30	—	1■	1△2■	3■	3■	3■	3■
2014	4/18	ME	5	—	—	—	—	—	—	—
			10	—	—	—	—	—	—	—
			15	—	—	—	—	—	—	—
			20	—	—	—	—	1△	1△	1■
			25	—	—	—	1△1■	1△1■	1△1■	1△1■
2014	6/3	ME	30	—	—	3△	3■	3■	3■	3■
			5	—	—	—	—	—	—	—
			10	—	—	—	—	—	—	—
			15	—	1△	1△	1■	1■	1■	1■
			20	1△	1△	1■	1△1■	1△1■	2■	1△2■
25	1△	1■	1■	1△1■	1△1■	2△1■	2△1■			
30	1△	1△2■	1△2■	3■	3■	3■	3■			

注1) 3袋調査し数字は袋数

注2) △: 切り口が湿潤になったものが1茎以上認められる。■: 切り口が軟化腐敗したものが1茎以上認められる。

第2表 腐敗部位から分離され袋の中で新鮮な「はなっこりー」に腐敗能を示した細菌(2013)

菌の種類	菌株数	菌株率%
<i>Bacillus</i> sp.	12	70.6
<i>Pseudomonas</i> sp.	2	11.8
<i>Staphylococcus</i> sp.	2	11.8
<i>Enterobacteriaceae</i> s	1	5.9

注) 16S rDNAを決定しDDBJ登録データより検索

蔵 4 日目には漬物の様な発酵臭が確認された。なお、10℃以下の温度では、両ガスの濃度には貯蔵開始時に若干の変動は認められるものの、変動幅は小さく推移した (図)。

## 2 出荷後に腐敗した検体の収集と菌の分離および関連情報の調査

各産地における出荷後の軟化腐敗の発生状況を調査した結果、2013 年は出荷後の軟化腐敗の報告はなかったが、2014 年～2015 年は合わせて 3 産地で 8 事例のクレームの発生を確認した。軟化腐敗の発生時期はいずれの場合も収穫後の 2～3 日で、クレームの対象となった症状は、第 3 表に示すように、軟化腐敗症状を示すもの、漬物の様な発酵臭を発するもの、切り口が黒変するもの、葉にかびが生じるものなど様々であり、症状が重複する場合もあった。また、軟化腐敗が認められ、返品された 7 検体の栽培ほ場について、軟腐病の発生株率を調査したところ、返品の少ないほ場で 0～13%、多かったほ場では 64.7%であった (第 3 表 「返品程度」参照のこと)。収集した検体ごとの軟化腐敗の有無と、ほ場における軟腐病の発生および生産管理状況

の調査結果は第 4 表に示した。軟化腐敗が認められた 7 検体のうち、栽培ほ場の調査で、軟腐病の発生が認められたのは 4 事例であった。収穫・調製の時間帯については、第 3 表に示すように、返品程度が中～多の事例で午後にも収穫・調製が行われていた。また、返品程度の多い事例では、個人および集荷場における予冷库の導入がなされていない傾向があった。

2014 年に収集した検体の腐敗部から 24 菌株の細菌を分離し、収穫した「はなっこりー」の茎の切り口に接種して荷姿で保存した結果、18 菌株が 7 日以内に切り口の軟化腐敗症状を発生させた。腐敗能を認めた菌株について簡易同定を行った結果、分離株全体に占める各菌種の割合は *Enterobacteriaceae* に属する細菌が 72.2%で、*Pseudomonas* 属細菌が 16.7%、*Acinetobacter* 属細菌が 5.6%、*Agromyces* 属細菌が 5.6%であった。なお、*Enterobacteriaceae* のうち 61.1%が *P. carotovorum* であった (第 5 表)。また、ポット苗を用いた接種試験の結果、7 日後に軟化腐敗を生じたのは、*P. carotovorum* のみであった。

第 3 表 収集した検体の状況

No.	年次	出荷日	返品発生日	産地	品種	返品程度	クレーム対象の症状
1	2014	11/4	11/6	N	初代	中	切り口が軟化腐敗、漬物臭
2		11/25				少	切り口が軟化腐敗、漬物臭
3		11/28	11/29	Y	ME	少	切り口が軟化腐敗
4						少	切り口が黒変、軟化腐敗
5	2015	11/5～6	11/8	Y	初代	不明	切り口が軟化腐敗
6						不明	葉にかびが発生
7		—	—	S	ME	少	切り口が軟化腐敗、漬物臭
8		11/23～24	11/26	N		多	切り口が軟化腐敗

注) 返品程度は10袋未満を少とし、10袋以上100袋未満を中、100袋以上を多とした。

第 4 表 収集した検体の軟化の有無とほ場における軟腐病の発生及び生産管理状況

No.	年次	軟化の有無	ほ場での軟腐病発病株率 (%)	収穫・調製時間帯	個人予冷库	集荷場予冷库
1	2014	+	8.7	出荷当日午前中～午後	無	無
2		+	—	出荷当日午前中～午後	無	無
3		+	13.0	出荷当日午前中	無	有
4		—	—	出荷当日午前中	無	有
5	2015	+	64.7	出荷当日午前中	無	有
6		—	—	出荷当日午前中	無	有
7		+	0	—	有	有
8		+	64.5	出荷当日午前中～午後	無	無

注) ほ場での軟腐病発病株調査は、代表的な栽培畝を3列抽出し全株調査した。

特産アブラナ科野菜「はなっこりー」の出荷後の腐敗発生の原因解明と対策に関する研究

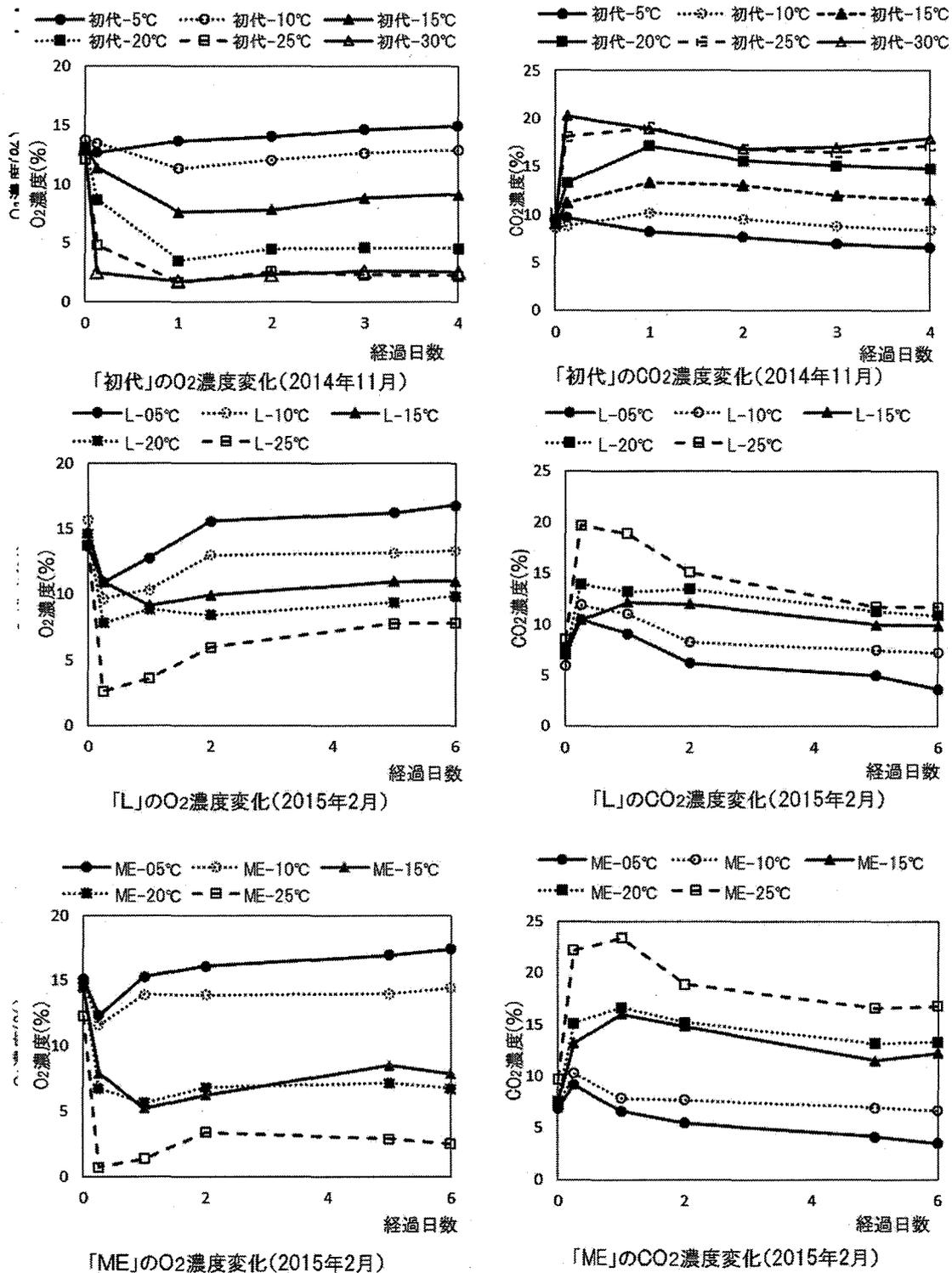


図 各品種別の貯蔵温度と袋内ガス濃度の推移

第5表 出荷後に腐敗検体から分離され袋の中で新鮮な「はなっこりー」に腐敗能を示した細菌 (2014)

菌の種類	菌株数	菌株率%
<i>Enterobacteriaceas</i>	13	72.2
( <i>Pectobacterium carotovorum</i> )	(11)	(61.1)
<i>Pseudomonas</i> sp.	3	16.7
<i>Agromyces</i> sp.	1	5.6
<i>Acinetobacter</i> sp.	1	5.6

注) 16S rDNAを決定しDDBJ登録データより検索

### 3 腐敗症の予防対策試験

#### 1) 調製器具の消毒による腐敗防止試験

包丁に *P. carotovorum* を塗布して殺菌処理を行った後、綿棒による擦り取りで菌の検出を試みた結果、沸騰水 10 秒浸漬処理では検出されず、70%エタノール 1 分浸漬では 16.7%、70%エタノール 3 分浸漬では 16.7%、70%エタノール噴霧では 83.8% 検出され、エタノール浸漬処理ではやや効果が認められるが、噴霧処理の効果は期待できない（第 6 表）。実際に沸騰水に 10 秒浸漬処理して消毒した

第 6 表 包丁の消毒方法と消毒後の軟腐病菌の検出

方法		検出率%
沸騰水	浸漬 10秒	0
	浸漬 1分	16.7
70%エタノール	浸漬 3分	16.7
	噴霧	83.8
無処理		100

注1) 軟腐病菌を塗布した包丁を供試した。

注2) 各処理、表刃先、裏刃先、表刃手元、裏刃手元をそれぞれ擦り取って3反復12シャーレを供試した。

包丁と消毒無しの包丁を用いて「はなっこりー」を調製し、10℃および 25℃で 6 日間貯蔵した結果、消毒した包丁を用いると貯蔵温度に関わらず明らかに腐敗の発生が減少し、10℃で貯蔵した場合には 6 日後でも軟化腐敗は認められなかった（第 7 表）

#### 2) ほ場における軟腐病菌を対象とした薬剤防除試験

ほ場における自然感染条件下での軟腐病の発病は、2014 年の試験では無処理区で約 18%の発病株率であったのに対し、薬剤処理区の防除価は、オキシソリニック酸水和剤で 94.2、非病原性エルビニア・カロトボーラ水和剤で 94.1 と効果は高かったが、炭酸水素ナトリウム・銅水和剤は 59.7 で効果がやや低かった。また、2015 年は発病株率約 70%の多発条件であったが、オキシソリニック酸水和剤で 74.3、非病原性エルビニア・カロトボーラ水和剤で 57.1、炭酸水素ナトリウム・銅水和剤で 34.9 の防除価で、前年の結果と同じ傾向を示した（第 8 表、第 9 表）。

第 7 表 調製作業時の包丁の消毒の有無と貯蔵温度が腐敗に与える影響 (2017)

収穫日	貯蔵温度 (°C)	消毒の有無	貯蔵日数ごとの腐敗率 (%)				
			2日目	3日目	4日目	5日目	6日目
10/20	10	無	0	0	10△	10△5■	10△5■
		有	0	0	0	0	0
	25	無	100■	100■	100■	100■	100■
		有	0	5△	10△	10△	10△5■

注1) 軟腐病を塗布した包丁を消毒または無消毒で用い、調製作業を実施

注2) 消毒方法は沸騰水に10秒浸漬処理

注3) 各処理ははなっこりーを20本供試

注4) △：切り口が湿潤になったもの ■：切り口が軟化腐敗したもの

第 8 表 ほ場における軟腐病防除効果試験結果 (2014)

	調査株数	発病株数	発病株率%	防除価
オキシソリニック酸水和剤	97	1	1.0	94.2
非病原性エルビニア・カロトボーラ水和剤	95	1	1.1	94.1
炭酸水素ナトリウム・銅水和剤	97	7	7.2	59.7
無処理	95	17	17.9	

第 9 表 ほ場における軟腐病防除効果試験結果 (2015)

	調査株数	発病株数	発病株率%	防除価
オキシソリニック酸水和剤	100	18	18.0	74.3
非病原性エルビニア・カロトボーラ水和剤	100	30	30.0	57.1
炭酸水素ナトリウム・銅水和剤	96	44	45.8	34.9
無処理	100	70	70.0	

## 考 察

2011年から2012年にかけて、出荷先の市場で発生した「はなっこりー」の軟化腐敗は、生産および流通関係者の中で大きな問題となり、原因解明と対策技術の確立が緊急の研究要望課題として持ち上がった。そこで、「はなっこりー」を農林総合技術センター内で慣行に準じた栽培を行って収穫したもの、あるいは近隣農家から購入したものを検体として用い、出荷時と同様の荷姿を再現し、温度条件を変えて貯蔵することにより、軟化腐敗の再現や検体からの腐敗菌の分離・同定を試みた。

その結果、収穫時期や系統によって腐敗の早さは異なるが、センター内での栽培や農家による栽培の別なく、貯蔵温度が高くなればなるほど短時間で軟化腐敗を生じることが明らかになった。貯蔵温度が20℃以上では収穫時期や品種に関わらず7日以内に軟化腐敗を確認した。15℃では10月と4月では切り口の軟化腐敗は認められず、6月では軟化腐敗が認められ、収穫時期の温度環境によって発生に差が認められた。10℃以下では軟化腐敗は認められなかった。また、25℃以上では3日目に漬物の様な発酵臭の発生を確認した。腐敗部から分離された菌は、*Bacillus* 属、*Pseudomonas* 属、*Staphylococcus* 属、*Enterobacteriaceae* 等の様々な細菌で、いずれも収穫された「はなっこりー」に腐敗性を有するが、生育中の植物には病原性を示さなかった。このことから、腐敗に関与している細菌は病原菌だけではないことが示唆された。簡易同定の結果、これらの細菌の中には *Enterobacteriaceae* のような通性嫌気性菌が含まれていたことや平板培地上で生育しないが、発酵性 OF 試験用培地で生育する嫌気性菌の存在が示唆されたことから、腐敗には袋内のガス濃度が影響しているのではないかと推測された。そこで、貯蔵中の袋内の  $O_2$  と  $CO_2$  の濃度について調査したところ、植物が光合成の行えない暗黒条件下で、貯蔵温度が高くなるほど袋内の  $O_2$  濃度は低くなり、 $CO_2$  濃度が高くなることを確認した。25℃以上の貯蔵温度では  $O_2$  濃度は数時間で約3%まで減少し、4日目には漬物の様な発酵臭を確認した。壇 (2008) は嫌気条件下においてブロッコリーの漬物の様な発酵臭を確認している。今回の軟化腐敗について、組織は健全であったが、腐敗細菌により組織劣化・腐敗に至ったのか、さらにガス障害による生理異常

により組織が劣化し、その結果、腐敗が助長されたのか、さらに検討していく必要がある。

また、2014年以降は、流通過程の軟化腐敗検体が入手できたため、菌の分離・同定を行うとともに、栽培状況や調製作業等に関する情報の調査を行った。腐敗を起こす細菌については2013年の結果と比べ異なる菌種もあったが、*Enterobacteriaceae* や *Pseudomonas* 属菌など共通種も多く検出され、多種の微生物が関与している可能性が確認された。なお、流通過程で軟化腐敗した検体は、約9割が軟化腐敗症状を示すもので、漬物の様な発酵臭を発するものも認められた。「はなっこりー」の「初代」と「ME」のいずれでも軟化腐敗が認められており、センター内で栽培した株を用いた試験結果と同様に品種間の差は認められなかった。また、軟化が認められ返品された7検体の栽培ほ場を調査したところ、4ほ場で軟腐病の発生が認められた。センター内ほ場の株を用いた再現試験でも、軟腐病菌の検出は多くはないものの確認されており、流通過程での軟化腐敗とほ場での軟腐病菌の関連性の高いことが示唆された。収穫・調製に関する調査では、返品程度が大きい生産者ほど収穫から出荷までの時間が長く、午前中から午後までかかっていたことが判明し、腐敗菌の増殖を助長したと考えられた。さらに、個人および集荷場での予冷库 (8~12℃) の導入が不備であるケースで問題の発生が多い傾向があった。今後、さらにサンプルデータを収集していく必要がある。なお、実際の軟化腐敗の発生は、出荷後の2~3日後であり、センター内栽培株による再現試験において、温度が高ければ (25℃以上) 3日以内に腐敗が発生することと一致した。予冷库の無い条件では、調製を行う室内の温度は容易に25℃以上に達すると考えられ、予冷库の導入や低温流通が必要不可欠と考えられた。腐敗した検体からの菌の分離および接種試験の結果から、関与する菌は必ずしも植物病原細菌ばかりではなく、自然界に普通に生息する菌が収穫後の「はなっこりー」で増殖することによって問題を発生させると考えられる。井上ら (2011) はスイカにおいて、病原菌以外の様々な微生物 (細菌) が収穫後に出来た傷口から侵入し、果実に軟化腐敗を生じることが明らかになっており、「はなっこりー」でも、同様の現象が起こったと想定される。調製時に使用する器具の消毒による予防を試みた結果、調製用の包丁を沸騰水に10秒以上

浸漬して消毒してから調製し、調製後は10℃で貯蔵することで軟化腐敗を防ぐことができた。試験では軟腐病菌を用いたが、本手法は *Bacillus* 属菌などの耐熱性の菌以外であれば同様の効果が期待できる。アルコール消毒も菌密度を低減する効果が認められたことから、併用すれば効果は安定すると思われる。このような衛生対策は包丁だけでなく、調製に用いるまな板などにも同様の効果があると考えられる。一方、軟腐病菌については、今回の流通過程の腐敗検体の調査で「はなっこりー」の腐敗菌の一つとして関与していることも判明した。

このことから、軟腐病菌については、効果のある薬剤による適切な収穫前防除を実施し、調製作業にできるかぎり持ち込まないように栽培管理を行うことが重要と考えられる。「はなっこりー」の流通時における腐敗には、軟腐病菌などの病原菌はもとより好気性や通性嫌気性菌の他、嫌気性菌を含めた様々な非病原性の細菌が関与することが判明した。対策については、収穫後の調製から流通期間にわたる低温管理が何より重要で、収穫物への腐敗菌の付着量を減じる衛生管理や、栽培ほ場での軟腐病防除など、総合的な対策を講じることが、リスク低減のために望まれる。本研究結果が、生産流通現場において役立てば幸いである。

本研究を行うにあたっては、サンプル採集および現地調査において、「はなっこりー生産出荷協議会」の構成者である JA、各農林水産事務所等の担当者および農家、市場担当者の方々など、多くの皆さんにご協力を頂いた。ここに記して感謝の意を表す。

## 摘 要

2011年と2012年に山口県のオリジナル野菜である「はなっこりー」が、出荷後に袋の中で軟化腐敗し返品される事例が発生した。生産関係者からの要望によって、原因の調査および対策に関する研究を行った。その結果、腐敗部から軟腐病菌が検出されることもあるが、それ以外に複数の非病原性細菌が分離され、これらも軟化腐敗を発生させることが明らかになった。腐敗性の細菌は15℃以上で増殖し、25℃以上では数日で軟化腐敗を生じる。軟化腐敗の発生を抑制するためには、MA包装条件下でガス障害が起こらず、腐敗性の細菌が増殖しにくい10℃以下

の温度で流通を行える環境の構築が望まれる。また、腐敗性の細菌の収穫物上での伝搬を防ぐための対策として、調製時の刃物などの器材の消毒を含む衛生管理は効果がある。腐敗は軟腐病菌によっても起こるため、これらの対策と合わせて、ほ場での薬剤等による防除を励行し、総合的な対策を実施することが重要である。

## 引用文献

- 山本雄慈. 2002. 胚珠培養を利用したアブラナ科新野菜「はなっこりー」の育成. 農業および園芸. 77:1107-1110
- 藤井宏栄・岡藤由美子・陶山紀江. 2012. 新系統「はなっこりーME」と「はなっこりーL」の育成および特性. 山口農林総技セ研報. 3:25-30
- 井上興・村本和之・岡田知子・鍛冶原寛・金治直子・角田佳則. 2011. 市場で発生したスイカの果実腐敗症の実態と防除. 近畿中国四国農業研究. 19:7-13
- 壇和弘. 2008. 嫌気条件下におけるブラシカ属野菜の異臭発生機構について. 植調. 42(6):215-221