

根こぶの熱処理が根こぶ病菌の病原性に及ぼす影響

誌名	日本土壌肥料学雑誌 = Journal of the science of soil and manure, Japan
ISSN	00290610
著者	村上, 弘治 對馬, 誠也 片平, 光彦 ほか2名,
巻/号	75巻6号
掲載ページ	p. 707-710
発行年月	2004年12月

ノ ー ト

根こぶの熱処理が根こぶ病菌の
病原性に及ぼす影響村上弘治*1・對馬誠也*2・片平光彦*3
秋元孝行*4・宍戸良洋*1

キーワード アブラナ科野菜根こぶ病, 休眠孢子, 熱処理, 病原性

1. はじめに

アブラナ科野菜根こぶ病は *Plasmodiophora brassicae* により引き起こされる難防除土壌病害の一種である。本病原菌は絶対寄生菌であるため、宿主植物の根内でのみ増殖し、罹病根に形成した根こぶの腐敗に伴って、耐久体である休眠孢子として土壌中に拡散し、この状態で長期間生存している^{3,11)}。発病にはこの土壌中の休眠孢子密度（病原菌密度）が深くかかわっているため⁸⁾、本病の拡散、まん延には罹病根のすき込みによる影響が大きい⁹⁾。このため、罹病根を圃場外に持ち出すことが圃場衛生の観点から重要であるが、持ち出した罹病根の処理が問題として残る。生産農家では罹病根を圃場外に持ち出しても土中への埋設などで対応しているため、宿主植物が存在しない条件下でも休眠孢子は10数年生残するとの報告²¹⁾もあることから、新たな感染源となる恐れがあり、消毒するなどの適切な処理が必要である。しかし、これまで根こぶ病を対象とした圃場における土壌消毒については、太陽熱を利用した方法や薬剤処理及びそれらの併用などの報告^{1,2,10,12~14)}や熱水による報告⁴⁾があるが、根こぶそのものの熱処理に関する報告はみられない。そこで、本研究では、根こぶの処理方法として、蒸気による熱処理を検討し、根こぶに含まれる休眠孢子の病原性に及ぼす影響を調査した。

2. 方法

1) 供試根こぶ：東北農業研究センター福島研究拠点のアブラナ科野菜根こぶ病汚染圃場（土壌：普通黒ボク土）で慣行栽培したハクサイ (*Brassica rapa* var. *pekinensis*)

Hiroharu Murakami, Seiya Tsushima, Mitsuhiko Katahira, Takayuki Akimoto and Yoshihiro Shishido: Effect of Steam Treatment of Clubbed Roots on Pathogenicity of *Plasmodiophora brassicae*

*1 東北農業研究センター (960-2156 福島市荒井字原宿南 50 現在, 野菜茶業研究所 305-8666 つくば市観音台 3-1-1)

*2 同上 (現在, 農業環境技術研究所 305-8604 つくば市観音台 3-1-3)

*3 同上 (現在, 秋田県農業試験場 010-1231 秋田県河辺郡雄和町相川字源八沢 34-1)

*4 同上 (現在, 種苗管理センター上北農場 039-2701 青森県上北郡天間林村大字天間館字柳平 43-86)

2004年7月29日受付・受理

日本土壌肥料学雑誌 第75巻 第6号 p.707~710 (2004)

sis) (品種：ビクトリア) の根こぶ罹病根から採取し、 -80°C で冷凍保存していた根こぶ (重量は50~100g程度) を供試した。

2) 熱処理：厚さ12mmの合板 (熱伝導率 $\lambda: 0.42 \text{ kJ m}^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$) で立体型の処理室 (L: 600×W: 600×H: 800mm, 内容積: 0.288 m^3) を作成し、内壁を吸湿防止にアルミ箔で被覆した。外壁は熱貫流を防止するため、厚さ50mmのスタイロフォーム (熱伝導率 $\lambda: 0.084 \text{ kJ m}^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$) で全面被覆した。処理室内部には、下面から200mmの位置に根こぶを配置する金網と、出力400Wの加熱用ヒーター (井内, EH-1型) を2台配置した。加熱用ヒーターは、1台が上面に水を2L入れたステンレス製バット (L: 200×W: 300×H: 80mm) を置いて蒸気を生じさせ、他方を庫内温度の調節に用いた (図1)。熱処理は、庫内が加熱蒸気で充満し、ほぼ一定温度 ($80\sim 90^{\circ}\text{C}$) になった後、ステンレス製バットに入れた根こぶ27~36個を金網上に並べて行った。この熱処理試験は2回行った。

3) 休眠孢子の回収：熱処理機の庫内から経時的に9個ずつサンプリングした根こぶから、その翌日に常法¹⁷⁾に従って休眠孢子懸濁液を調製し、 4°C にて保存した。

4) 休眠孢子の活性評価：休眠孢子懸濁液を調製後、直ちにTakahashi and Yamaguchiの方法により¹⁸⁾カルコフルオール・ホワイトM2R (CFW) と臭化エチジウム (EB) により二重染色し、総数300個以上の休眠孢子を検鏡し (3反復)、青色孢子 (活性孢子) と赤色孢子 (不活性孢子) の比率を求めた。

5) 発病試験 (病原性の検定)：休眠孢子懸濁液を調製した翌日 (2回目) または翌々日 (1回目) に普通黒ボク土 (福島) に 10^6 個休眠孢子 g^{-1} になるように噴霧接種して汚染土壌を調整し、硬質ポリ鉢 (直径115mm, 高さ110mm, 5反復) に詰めて、ハクサイ (品種：新あづま) を播種し (13粒/ポット), ガラス室において5週間栽培後、発病を調査した⁷⁾。植物体ごとに発病程度を4段階 (0: 根こぶなし, 1: 側根にのみ根こぶあり, 2: 主根の半分以下に根こぶあり, 3: 主根の半分以上に根こぶあり) に分け、次式に従いポットごとの発病度を算出した。

発病度 = $\frac{\sum (i \times n_i)}{(3 \times N)} \times 100$, i : 発病程度, n_i : 発病程度 i の植物体数, N : ポット内の全植物体数。

3. 結果

1) 熱処理機は断熱材の配置により外気への貫流熱量が少ないため、庫内温度の変動が小さく、処理期間を通して 80°C 以上を保持できた。なお、庫内からの根こぶのサンプリングに際し、庫内温度は 75°C 程度まで低下したが、短時間で 80°C 以上に回復できた (図2)。

2) 無処理の根こぶでは、青色孢子率は1回目では90%以上で、2回目は50%程度と差がみられたが、いずれも熱処理時間が長いほど青色孢子率が減少し、赤色孢子率が增大する傾向がみられ、90分の処理ではともに95%以上が赤色孢子となった (図3左, 右)。

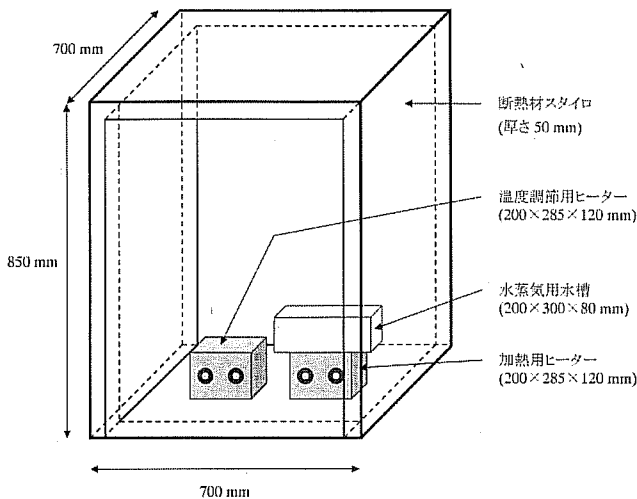


図1 根こぶ熱処理機模式図

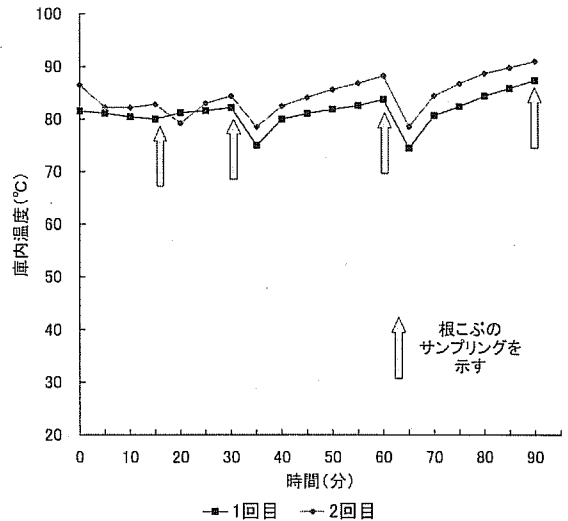
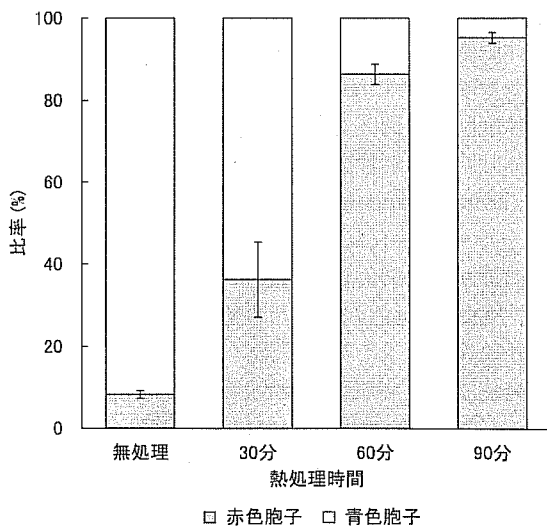
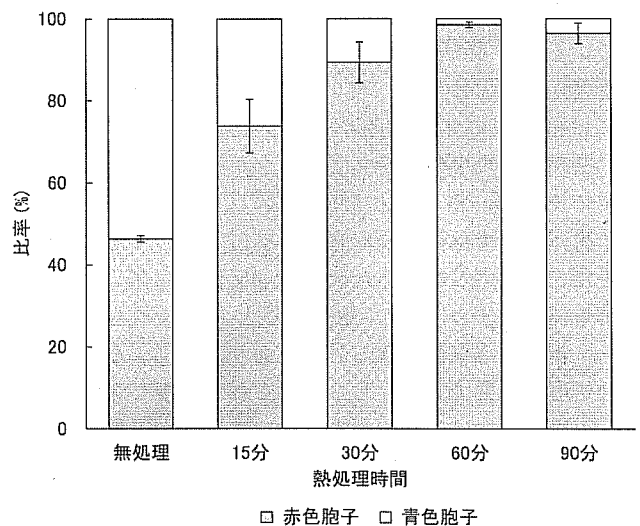


図2 根こぶ熱処理機の庫内温度変化
庫外温度（屋内）は1回目25°C、2回目19°C。



□ 赤色胞子 □ 青色胞子



□ 赤色胞子 □ 青色胞子

図3 根こぶの熱処理が休眠胞子の活性に及ぼす影響

左：1回目、右：2回目。熱処理した根こぶより回収・調製した休眠胞子懸濁液をカルコフルオール・ホワイトM2Rおよび臭化エチジウムにて二重染色。縦棒は標準誤差を示す。

3) 無処理 (0分) の根こぶから得た休眠胞子を接種した場合、発病度は1回目は62、2回目は86とばらつきはみられたものの、いずれも高かった。根こぶの熱処理時間が15分の場合 (2回目のみ) には無処理とほぼ同様に発病がみられたが (発病度74)、30分処理ではわずかな発病となり (発病度5~6)、60分以上の処理ではほとんど発病はみられなかった (発病度0~1) (図4)。

4. 考察

アブラナ科野菜根こぶ病の発病は、土壤の種類やpH等の土壤環境、栽培する植物の種類や品種などとともに、土壤中の病原菌密度 (休眠胞子密度) や病原力に大きく影響される⁸⁾。絶対寄生菌である本病原菌の土壤中の密度増加要因は、罹病根のすき込みが主因である。握りこぶし大程度の根こぶには生重1g当たり約10⁹個の休眠胞子が含ま

れており、この根こぶが1個土壤中にすき込まれれば、たちまち土壤中の病原菌密度は閾値を越えて発病を引き起こす⁹⁾。さらに、「アブラナ科野菜根こぶ病の病原菌密度動態モデル」によれば、条件によっては、一度発病がみられると罹病根をすき込んだ場合には数作のうちに発病多発圃場になることが予測されるため²⁰⁾、罹病根の圃場外への持ち出しが圃場衛生の観点から極めて重要である。

伝染源としての罹病根を比較的簡便かつ大量に処理する方法として熱処理があり、これまでに土壤中の休眠胞子の殺菌効果に関しては、夏期にマルチして太陽熱等を利用した土壤消毒についての数多くの研究^{1,2,10,12~14)}や休眠胞子懸濁液を用いた温度条件の影響についての研究^{5,18)}はなされているものの、根こぶそのものに対する熱処理の影響についてはほとんど検討されていない。本接種試験に

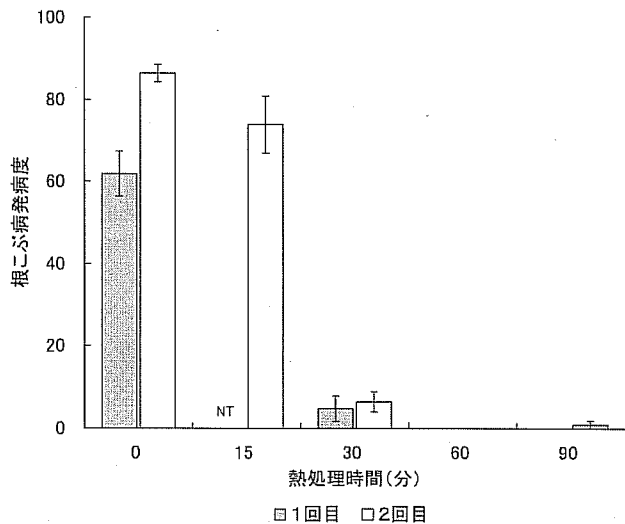


図4 根こぶの熱処理が根こぶ病の発病に及ぼす影響
熱処理した根こぶより回収・調製した休眠孢子懸濁液を 10^6 g^{-1} 土壌接種し、ハクサイ（品種：新あづま）を5週間、ガラス室内にてポット栽培して発病を調査。縦棒は標準誤差を示す。1回目の15分処理はデータなし。

よる発病調査の結果から、根こぶのままでも $80^{\circ}C$ 程度で60分以上熱処理することにより、発病をほぼ抑えられることが明らかとなった。

CFW と EB による二重染色では、休眠孢子懸濁液ばかりでなく、土壌中の休眠孢子についても CFW により細胞壁のみ青く染まる青色孢子（活性孢子）と、CFW により細胞壁が青く、かつ EB により内部が赤く染まる赤色孢子（不活性孢子）とに区別できることが報告されている^{18,19)}。この方法では、 $50\sim 60^{\circ}C$ の熱処理により時間とともに赤色孢子率が増大し、発病が低下するという高い相関が認められたことから、病原力の評価が可能であった^{18,19)}。ただし、赤色孢子率は発芽した孢子と考えられる空殻孢子率と高い正の相関があるものの¹⁵⁾、発芽孢子率（空殻孢子率）よりも赤色孢子率の方が高い傾向にあり、赤色孢子が全て発芽孢子ではなく、何らかのダメージを受けたり、あるいは未成熟で発芽能をまだ有していない不活性な孢子も含まれると考えられている¹⁶⁾。以上のことから、本試験の根こぶの熱処理においても処理時間の増大とともに赤色孢子率が増大し、発病も減少する傾向がみられたが、これは熱処理により休眠孢子がダメージを受けて不活化したためであると考えられた。

当初の休眠孢子懸濁液中において赤色孢子と青色孢子的比率が2回の試験で大きく異なっていた。この比率と発病度との間には、赤色孢子的増加に伴い発病度が減少するという相対的な相関関係はみられたが、青色孢子率（または、赤色孢子率）から発病度が予測できるような絶対的な関係は認められなかった。これは同一圃場内でも根こぶ間、あるいは1個の根こぶ内でも病原力が異なる場合があり⁹⁾、染色比率が変動する可能性があるためと推測された。また、この活性評価法も染色液の混合割合により、休

眠孢子的の染色比率が変わるため、絶対的ではなく、相対的な評価法であることも¹⁸⁾一因として考えられた。しかし、当初の比率にかかわらず、発病がほぼ抑制されている場合には、赤色孢子率が95%以上であることから、熱処理により休眠孢子的の活性を充分低下させれば発病を抑制できると考えられた。

本熱処理の方法は、圧力をかけることなく、蒸気による処理であるので、比較的簡便な方法であると考えられるが、圃場から持ち出した罹病根の大量処理については、処理機械やコストも含めさらに検討する必要がある。

文 献

- 1) 赤坂安盛：フィルムマルチを利用した太陽熱消毒によるハクサイ根こぶ病の防除，北日本病虫研報，37，90～92（1986）
- 2) 堀内誠三：太陽熱利用による根こぶ病の土壌消毒，植物防疫，37，323～326（1983）
- 3) 池上八郎：アブラナ科野菜の根こぶ病，化学と生物，17，714～723（1979）
- 4) 森谷 茂・渡邊和洋・西 和文：熱水土壌消毒によるハクサイ根こぶ病の防除，北日本病虫研報，45，76～79（1994）
- 5) 本橋精一・土方 智・小川照雄：ツケナ根瘤病防除に関する研究，東京農試研報，2，63～91（1957）
- 6) 村上弘治：土壌病害における病原菌密度と発病—アブラナ科野菜根こぶ病の場合，土と微生物，54，129～137（2000）
- 7) Murakami, H., Tsushima, S., Kuroyanagi, Y. and Shishido, Y.: Reduction of resting spore density of *Plasmodiophora brassicae* and clubroot disease severity by liming. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 48, 685～691（2002）
- 8) Murakami, H., Tsushima, S. and Shishido, Y.: Factors affecting the pattern of the dose response curve of clubroot disease caused by *Plasmodiophora brassicae*. *ibid.*, 48, 421～427（2002）
- 9) Murakami, H., Tsushima, S., Akimoto, T., Kuroyanagi, Y. and Shishido, Y.: Quantitative studies on the relationship between plowing into soil of clubbed roots of preceding crops caused by *Plasmodiophora brassicae* and disease severity in succeeding crops. *ibid.*, 50, in press
- 10) Myers, D. F., Campell, R. N. and Greathead, A. S.: Thermal inactivation of *Plasmodiophora brassicae* Woron. and its attempted control by solarization in the Salinas Valley of California. *Crop Prot.*, 2, 325～333（1983）
- 11) 内記 隆：アブラナ科野菜根こぶ病菌の生活環からみた防除視点，土と微生物，29，25～39（1987）
- 12) Porter, I. J., Merriman, P. R. and Keane, P. J.: Soil solarisation combined with low rates of soil fumigants controls clubroot of cauliflowers, caused by *Plasmodiophora brassicae* Woron. *Aust. J. Exp. Agric.*, 31, 843～851（1991）
- 13) 清水寛二・川田 和：太陽熱利用による水田転換畑露地野菜の土壌病害防除に関する研究（第1報）二重トンネル被覆によるフザリウム病及び根こぶ病の防除効果，滋賀農研報，27，47～56（1986）
- 14) 清水寛二・鈴木良治・高士祥助・川田 和：太陽熱利用による水田転換畑露地野菜の土壌病害防除に関する研究

- (第 2 報) アブラナ科野菜の根こぶ病に対する防除効果, 同上, 28, 7~21 (1987)
- 15) Takahashi, K.: Correlation between fluorescent staining reaction and germination in resting spores of *Plasmodiophora brassicae*. *Ann. Phytopath. Soc. Jpn.*, 57, 160~164 (1991)
- 16) Takahashi, K.: Influences of some environmental factors on the viability of resting spores of *Plasmodiophora brassicae* Wor. incubated in sterile soil. *ibid.*, 60, 658~666 (1994)
- 17) Takahashi, K. and Yamaguchi, T.: An improved method for estimating the number of resting spores of *Plasmodiophora brassicae* in soil. *ibid.*, 53, 507~515 (1987)
- 18) Takahashi, K. and Yamaguchi, T.: A method for assessing the pathogenic activity of resting spores of *Plasmodiophora brassicae* by fluorescence microscopy. *ibid.*, 54, 466~475 (1988)
- 19) Takahashi, K. and Yamaguchi, T.: Assessment of pathogenicity of resting spores of *Plasmodiophora brassicae* in soil by fluorescence microscopy. *ibid.*, 55, 621~628 (1989)
- 20) Tsushima, S., Murakami, H., Akimoto, T. and Shishido, Y.: A model for integrated control of clubroot disease caused by *Plasmodiophora brassicae*. 12th Biennial Conference of Asia-Pacific Plant Pathology, Conference Handbook, p.299 (1999)
- 21) Wallenhammar, A. C.: Prevalence of *Plasmodiophora brassicae* in a spring oilseed rape growing area in central Sweden and factors influencing soil infestation levels. *Plant Pathol.*, 45, 710~719 (1996)
-