

解 説

ハクサイ軟腐病の生物防除

富 樫 二 郎

山形大学農学部生物生産学科

(平成 11 年 8 月 20 日受理)

Biological Control of Soft Rot of Chinese Cabbage

Jiro TOGASHI

Department of Bioproduction, Faculty of Agriculture, Yamagata University, 1-23, Wakaba-machi, Tsuruoka, Yamagata 997-8555, Japan

Key words: soft rot bacteria, chinese cabbage, biological control, antagonism.

1. はじめに

ハクサイ *Brassica campestris* L. (pekinensis group) は地中海沿岸が原産地で、我が国には 1875 年(明治 8 年) 中国を経て輸入された。その後、栽培方法、採種、交配など多くの試験、研究がなされ日本独自の品種も育成された。現在、ハクサイは全国的に栽培され、作付面積、生産量とも野菜類の中で上位を占め鍋物用、漬物用などに広く用いられている¹⁾。

ハクサイの生育期間は約 2 か月であるが、その間べと病、白斑病など 25 種の病気が発生する²⁾。それらの中で軟腐病は病原菌のペクチン分解酵素によって柔組織が軟化、腐敗する病気で高温多湿下で病勢は急速に進行し、株全体が軟化し倒伏する。

病原菌は腸内細菌科 *Erwinia* 属の soft rot 群に属する細菌で *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* と呼ばれている³⁾。本菌はグラム陰性の周毛桿菌できわめて多犯性でありアブラナ科、ナス科、ユリ科にわたる 100 種以上の作物⁴⁾ や人工栽培のナメコなどのキノコ類⁵⁾ に大きな被害をあたえている。本菌はまた市場病害の病原菌でもある⁶⁾。このように軟腐病は農作物の重要病害であり、根こぶ病、ウィルス病とともに今日でも難防除病害とされその効果的な防除法の確立が強く要請されている。

2. ハクサイ軟腐病の伝染環

本病は土壌病害で病原菌は土壌に長期的に腐生的に生存

できる土壌生息型病原菌に属する^{7,8)}。しかし、その密度は低く通常の方法では検出できない。ところが過去に作物の栽培歴のない森林の土壌⁹⁾、原野開墾地¹⁰⁾、砂丘の砂¹¹⁾ でもハクサイ軟腐病が発生することから、本菌は耕地、未耕地を問わず広く 10^3 cfu/g 以下のレベルで栄養細胞のまま休止状態 (Starvation survival)¹²⁾ で生存していると推察されている。しかし、ハクサイやある種の雑草の根圏では根からの分泌物を利用して特異的に増殖する¹³⁾。ハクサイの場合、播種後約 50 日に根圏土壌や中肋基部と接触している土壌(以下葉圏土壌とする)で特異的に $10^6 \sim 10^7$ cfu/g のレベルに増殖する。この増殖には根圏における拮抗細菌の減少も関連していると推察されている¹⁴⁾。本病の発生はハクサイの生育期と密接に関係しており、通常結球期以降土壌と接触している中肋基部から発生する^{13,15,16)}。現在栽培されているハクサイは外葉基部が土壌と接触している砲弾型のもものが多く、その基部には普通擦傷や昆虫の喰痕が形成されている。ハクサイでは軟腐病の発生と根圏や葉圏での病原菌の増殖がほぼ同時期におこることから、この増殖した病原菌が感染源となり中肋基部の傷口から侵入し、感染する¹⁶⁾ものと理解されている。

一方、本菌はハクサイ茎葉上でも腐生的に生存しており¹⁶⁾、葉縁の水孔からも侵入、感染することができる¹⁷⁾。本病が土壌から離れた結球内部から発病するのはこの経路によるとされている。ハクサイ茎葉上の軟腐病菌は土壌から根や茎表面の水分を介しての上昇移動、土壌表面からの雨滴のはね上がりや土壌粒子とともに風による飛散、昆虫お



図1 ハクサイ軟腐病

およびジャガイモ黒脚病菌 (*Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*) のようにエロゾルによる飛散¹⁹⁾などに由来すると考えられる。また、ほ場に生息しているナノアオムシやヨトウムシなどの体表面や腸管等からも軟腐病菌が検出されており¹⁹⁾、昆虫が軟腐病菌の carrier と喰害による侵入門戸の形成を通して軟腐病の発生誘因になっていることはキスジノミハムシの駆除により発病率が著しく低下すること²⁰⁾やヒマワリの花の軟腐病が昆虫伝播である²¹⁾ことから容易に理解できる。本病が殺菌土壌で栽培したハクサイでも発生すること²²⁾、ほ場の雨水からも本菌が検出されること²³⁾および根圏と病斑で病原菌のフェージ型が異なること²⁴⁾なども本病には土壌との接触以外の伝染経路が存在することを示している。一方、本菌はハクサイ中肋組織に潜伏感染しているが¹³⁾感染源としての役割は未だ不明である。いずれにしても土壌中の病原菌は多様な経路で土壌からハクサイに伝播し、軟腐病をひきおこした後、罹病組織とともに土壌に帰るが、最近罹病組織の残渣中で越冬し、次年の感染源になることが明らかにされた²⁵⁾。

3. ハクサイ軟腐病の防除法

本病の防除法として非宿主作物との輪作などの耕種的方法、抵抗性品種の利用、土壌の加熱処理などの物理的方法および薬剤散布などがある^{4,15)}。本病のような土壌病害では土壌から病原菌を撲滅することが根本的な防除対策となるが、実際には不可能である。土壌を非選択性のクロールピクリン処理²⁶⁾や加熱処理²⁷⁾しても病原菌が短期間で復活し、処理前と同様に軟腐病が発生することはこのことがいかに困難であるかを示している。従って耕種的方法等で菌数を抑制したり、薬剤等によって侵入、感染を防ぐなどの対策がとられる。しかし、非宿主作物との輪作や休耕などの耕種的方法では防除効果はほとんどみられなかった²⁸⁾。抵抗性品種の利用は、土壌病害でも有効な防除手段であり、ハクサイの軟腐病抵抗性品種として“平塚一号”が育成さ

れた²⁹⁾。しかし、病原菌のレースは今のところ不明であり、軟腐病抵抗性はポリジーンによる量的抵抗性と見なされている。事実、同じ品種でも地域や年次によって被害程度が変動し、抵抗性といわれる品種でも激しい被害をうけることがある。このようなことから病原菌が増殖する根圏や葉圏土壌および茎葉上の菌数を発病最小以下のレベルに抑制することが防除の重要な手段となる。ところがこの根圏や葉圏は普通茎葉で被覆されており、農薬を散布しても病原菌と接触する機会は少なく、その上土壌への吸着や微生物の分解によりその効力が低下する可能性がある。また、降雨時には茎葉の雨水がこの部位に集中するが、その蒸発が茎葉で被覆されているため抑制され長期間湿润状態が保持される。この状態は侵入門戸である中肋基部の傷の治癒反応を遅延し、他方では軟腐病菌の侵入、感染に好適に作用し軟腐病の発生が助長される。この侵入、感染部位はまた直接目に触れることが少なく、軟腐病の発生に気がついた時はすでに病勢が相当進行しており、発病初期に適切に対応することが困難である。このように病原菌の生態的特性、伝染経路の多様性、感染、侵入部位の特殊性および抵抗性品種が育成されていないことなど本病を防除する上での障害が多く、難防除病害といわれる所以となっている。現在、唯一の確実な防除法は夏作で播種適期を遅延することである。これは秋期の低温による発病回避によるものであるが、余り遅く播くと軟腐病は発生しないもののハクサイの生育が遅れ結球も不完全となり、収量も低下する。このため、軟腐病の防除が可能でしかも品質、収量が維持できる播種期をその地域毎に設定する必要がある。山形県庄内地方ではこの播種期は8月10日~15日の間である³⁰⁾が、秋期が暖かい年や残暑の厳しい年には激しく発生することがある。

4. ハクサイ軟腐病の生物防除

1884年 *Penicillium* 属菌と細菌との間に拮抗現象があることが発表され、拮抗作用 (Antagonism) という術語が初めて登場した。1908年軟腐病菌 (*Erwinia carotovora*) とカンキツ青かび病菌 (*P. italicum*) でお互いに培養液中で死滅することが報告された³¹⁾。1928年 A. Fleming によるペニシリンの発見と伝染病に対する画期的な治療効果が契機となって、植物病理学の分野でも拮抗作用に関する研究が行われ、1930年代には *Penicillium*, *Trichoderma*, *Streptomyces* などが土壌中で gliotoxin, trichodermin, viridin などの抗生物質を産生することが明らかにされた³¹⁾。拮抗作用は微生物の他の微生物への寄生、代謝産物や抗生物質による抗生、栄養物や住み場所の競合などが含まれる。病原菌の増殖や感染などに拮抗的に作用する微生物 (拮抗微生物) を病害防除に利用する生物防除への関心も高まり、その最初の例として1921年拮抗性糸状菌を苗床に接種して *Pythium debaryanum* によるマツ苗立枯病の防除試験が試みられ

た³¹⁾。

細菌の場合、拮抗作用はプロトゾア、デロビブリオ、ファージによる捕食、寄生(溶菌)、agrocin, caratovoricinなどのバクテリオシン、ミクロシン、bacitracinなどの抗生物質、pseudobactinなどのsiderophore、栄養の競合、病原力低下、病原菌の吸着阻害、作物に対する病害抵抗性の誘導などが関係し、病原菌と拮抗菌の組合せによりこれらのいずれかが生物防除に利用されている^{32,33)}。ナシ、リンゴなどの火傷病(*E. amylovora*)、インゲン葉焼病(*X. campestris* pv. *phaseoli*)や斑点病(*Ps. syringae* pv. *syringae*)などで非病原性の拮抗細菌が病原菌の発育を抑制し防除に利用できる可能性が指摘された³²⁾。我が国ではクワ縮葉病菌(*Ps. syringae* pv. *mori*)、イネ白葉枯病菌(*X. oryzae* pv. *oryzae*)、カンキツかいよう病菌(*X. campestris* pv. *citri*)で拮抗菌の存在が指摘され³²⁾、タバコ立枯病(*R. solanacearum*)³⁴⁾、イネもみ枯細菌病(*B. glumae*)³⁵⁾、氷核活性菌によるキャベツ腐敗病³⁶⁾で拮抗菌による防除が試みられている。このような中で病原菌の非病原性菌株によりこれまで防除困難とされて来た根頭がんしゅ病が実用的に防除できることが示され、世界的な関心を生んだ。すなわち1980年、オーストラリアで土壌病害の*Agrobacterium tumefaciens*によるモモ根頭がんしゅ病がプラスミドpAgk84をもつ非病原性菌株*A. radiobacter* strain84で苗や種子の処理により実用的に防除できることが示された^{37,38)}。これは非病原性菌種が産生するバクテリオシンのアグロシン84の溶菌作用、宿主受容体への吸着阻害、DANおよび細胞壁成分合成阻害による。その後、世界各国でモモ、リンゴ、アーモンドなどの根頭がんしゅ病の防除にもこの菌株が効果をもつことが示された。我が国ではバラ根頭がんしゅ病で効果が認められている³⁹⁾。ところが、アグロシン84はノパリン型Tiプラスミドをもつ病原菌には有効であるが、オクトピン型およびアグロピン型のプラスミドをもつ病原菌や*A. tumefaciens* biovar 3(ブドウがんしゅ病菌)には防除効果がない。しかし、遺伝子組換えにより作出したstrain K1026やユーカリのがんしゅ組織から分離したstrain D286はアグロシン84で効果のない病原菌にも効果があるバクテリオシンを産生する^{40,41)}。

ハクサイ軟腐病ではこれまで抗生物質、非病原性菌株の産生するバクテリオシン、蛍光性*Pseudomonas*属菌の拮抗作用等を利用した生物防除について種々試験、研究が試みられている。しかし、いずれも解決すべき課題が多く残されているが、これまでの結果を概説することにする。

(1) 放線菌、抗生物質の利用

ハクサイ軟腐病の研究は1940年代までは主に病原学に関するものであったが、1950年代以降その発生生態学的研究が開始された。これらの一連の研究の中で防除のための抗生物質産生放線菌の探索も試みられた。すなわち、東北

地方の各地の土壌から分離した700余菌株の放線菌うち27菌株がstreptomycin, actinomycinなどの抗生物を産生すること、これらの抗生物質は軟腐病菌の発育やハクサイ種子の発芽に抑制作用があること、ハクサイ体内に注入した場合長期間安定していることなどが判明した⁴²⁾。さらにこれらの放線菌が産生するstreptomycin希釈液にハクサイ中肋切片を浸漬後減圧処理により抗生物質が細胞内間隙に滲入したときには、軟腐病菌を接種しても病斑は形成されなかった。また、根から抗生物質を吸収させた場合にも、その中肋組織で病斑形成が抑制された。しかし、ほ場で葉面散布したハクサイではこのような抑制作用はみられなかった。これらの事実から、組織内への注入方法を開発し、ハクサイ体内で長期間変化しないような抗生物質を用いることにより軟腐病は有効に防除される可能性が示唆された。しかし、この種の系統的な検討は未だなされていないが、ハクサイ中肋組織における軟腐病菌の潜伏感染の点からも今後の課題の一つである。

(2) 蛍光性*Pseudomonas*属細菌の利用

作物の根圏に生息している*Pseudomonas*属細菌は作物の生育を促進し、収量も増加させることから植物生育促進細菌Plant growth promoting rhizobacteria PGPRと呼ばれた。PGPRはsiderophoreや抗生物質によりジャガイモ黒脚病菌*E. carotovora* subsp. *atroseptica*の増殖を抑制し、病原菌を含む有害な根圏細菌Deleterious rhizobacteria DRBとの置換によってジャガイモの生育が促進され、増収をもたらす^{44,45)}。蛍光性*Pseudomonas*属細菌もpyrrolnitrinなどの抗生物質やpseudobactinなどのsiderophoreを産生し、ジャガイモ黒脚病菌に拮抗作用を示す^{46,47)}。これらのことから蛍光性*Pseudomonas*属細菌はハクサイ軟腐病の防除にも効果を示すことが想定されたので検討を行った。拮抗細菌を生物防除に用いる場合には先ず有効な拮抗細菌を分離しなければならない。普通拮抗細菌は病原菌が生息している部位に生存している。ハクサイ軟腐病菌はハクサイなどの野菜の他にアカザ、ツユクサ、ノゲシ、スベリヒユなどの畑の雑草根圏にも生存している^{13,15)}。そこで1997年5月から11月まで鶴岡市周辺で作物、雑草および野草の各根圏から蛍光性細菌の分離を試み、13科28種の102個体から165菌株の蛍光性細菌を分離した。この中で軟腐病菌に拮抗性のものはPDA上で46菌株、キングB培地上で76菌株であった⁴³⁾(表1)。蛍光性細菌はPDA上で抗生物質、キングB培地上ではsiderophoreを産生しやすいことから、今回の分離菌の拮抗性は抗生物質およびsiderophoreによると考えられる。いずれにしても、ハクサイ軟腐病菌に対する蛍光性拮抗細菌は主にハクサイ、キャベツ、ズメノテッポウ、メヒシバ、カヤツリグサなどから分離され、細菌学的諸性質などから*Pseudomonas*属細菌と同定された。

拮抗細菌の防除効果は定着、増殖および抗菌スペクトル

表1 植物根圏からの軟腐病菌に対する蛍光性拮抗細菌の分離

| 分離源植物 | 分離個体数 | 分離菌株数 | 阻止帯形成菌株数 | |
|--|-------|-------|----------|---------------------|
| | | | PDA | キング B ¹⁾ |
| アブラナ (<i>Brassica campestris</i> L. subsp. <i>napus</i>) | 1 | 2 | 0 | 1 |
| イネ (<i>Oryza sativa</i> L.) | 1 | 1 | 0 | 1 |
| エンドウ (<i>Pisum sativum</i> L. var. <i>anense</i>) | 3 | 3 | 1 | 3 |
| キク (<i>Chrysanthemum morifolium</i> var. <i>anense</i>) | 1 | 2 | 0 | 1 |
| キャベツ (<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>capitata</i>) | 6 | 8 | 2 | 6 |
| シソ (<i>Perilla frutescens</i> var. <i>acuta</i>) | 3 | 6 | 1 | 0 |
| ジャガイモ (<i>Solanum tuberosum</i> L.) | 3 | 5 | 0 | 2 |
| ダイコン (<i>Raphanus sativus</i> L. <i>acanthiformis</i>) | 1 | 2 | 1 | 1 |
| ハクサイ (<i>Brassica campestris</i> L. var. <i>pekinensis</i> group) | 43 | 66 | 25 | 33 |
| アカザ (<i>Chenopodium album</i> L. var. <i>centrorubrum</i>) | 1 | 1 | 0 | 0 |
| オオアレチノギク (<i>Erigeron sumatrensis</i>) | 3 | 3 | 0 | 1 |
| オオバコ (<i>Plantago asiatica</i> L.) | 2 | 5 | 0 | 2 |
| カヤツリグサ (<i>Cyperus microiria</i>) | 5 | 10 | 2 | 6 |
| クサヨシ (<i>Phalaris arundinacea</i> L.) | 2 | 2 | 1 | 0 |
| クログアイ (<i>Eleocharis kuroguwai</i>) | 1 | 1 | 1 | 0 |
| ケイヌビエ (<i>Penicum crus-galli</i> L. var. <i>echinata</i>) | 1 | 1 | 0 | 1 |
| ショウブ (<i>Acorus Calamus</i> L. var. <i>asiaticus</i>) | 1 | 1 | 0 | 1 |
| スズメノテッポウ (<i>Alopecurus aequalis</i> Schol. var. <i>amurensis</i>) | 3 | 7 | 3 | 1 |
| スベリヒユ (<i>Portulaca oleracea</i> L.) | 2 | 2 | 0 | 2 |
| ツユクサ (<i>Commelina communis</i> L.) | 4 | 4 | 2 | 2 |
| ナズナ (<i>Capsella Bursa-pastoris</i>) | 1 | 1 | 0 | 0 |
| ヒメジョオン (<i>Erigeron annuus</i> L.) | 2 | 4 | 2 | 3 |
| ヒメヨモギ (<i>Artemisia lavandulaefolia</i>) | 1 | 1 | 0 | 1 |
| ヘラオモダカ (<i>Alisma canaliculatum</i>) | 1 | 3 | 0 | 1 |
| メヒシバ (<i>Digitaria adscendens</i>) | 5 | 8 | 3 | 4 |
| ミゾソバ (<i>Polygonum thunbergii</i>) | 1 | 1 | 1 | 0 |
| ヨモギ (<i>Artemisia vulgaris</i> L. var. <i>indica</i>) | 2 | 4 | 0 | 0 |
| ヤナギタデ (<i>Polygonum hydropiper</i> L.) | 2 | 2 | 1 | 1 |
| 計 | 102 | 156 | 46 | 74 |

1) 供試培地。

表2 拮抗細菌処理によるハクサイ軟腐病の発病指数の推移 (1998 春播)

| 処理方法 | 菌株 | 6/26 ¹⁾ | 6/30 | 7/3 | 7/6 | 7/9 | 7/12 | 7/15 | 7/18 |
|---------------|-----|--------------------|-----------------------|---------|-------------------------|------------------------|----------|----------|----------|
| 種子バクテリアゼーション区 | 75 | 0 | 1.5±0.8 ²⁾ | 7.0±1.1 | 19.0±4.2 ^{b3)} | 35.5±5.0 ^{c)} | 49.0±3.6 | 66.0±3.8 | 75.0±3.0 |
| | 206 | 0 | 1.5±0.8 | 5.0±1.2 | 15.5±4.1 ^{b)} | 27.5±5.1 ^{c)} | 51.0±3.0 | 62.0±3.4 | 72.0±3.5 |
| | 211 | 0 | 1.0±0.7 | 7.5±1.0 | 21.5±4.3 ^{b)} | 40.0±4.0 ^{b)} | 63.0±3.8 | 73.5±3.3 | 77.0±3.5 |
| | 214 | 0 | 0.5±0.5 | 5.0±1.2 | 16.5±4.4 ^{b)} | 40.5±5.2 ^{b)} | 62.0±4.9 | 74.0±3.9 | 85.0±3.4 |
| | 無処理 | 0 | 1.0±0.1 | 7.0±1.1 | 23.5±4.5 ^{a)} | 45.0±4.5 ^{a)} | 60.5±3.3 | 72.0±3.5 | 76.5±3.9 |
| 茎葉散布区 | 75 | 0 | 1.0±0.7 | 7.0±1.1 | 23.5±5.0 ^{b)} | 47.0±4.1 ^{b)} | 61.5±3.7 | 74.5±3.5 | 85.5±2.9 |
| | 206 | 0 | 1.0±0.7 | 6.0±1.1 | 23.5±4.9 ^{b)} | 34.0±6.1 ^{c)} | 58.0±3.9 | 71.5±4.0 | 77.5±3.0 |
| | 211 | 0 | 1.0±0.6 | 7.0±1.0 | 30.5±6.7 ^{a)} | 46.5±5.7 ^{b)} | 62.5±3.9 | 77.0±3.3 | 80.5±3.3 |
| | 214 | 0 | 0.5±0.5 | 3.5±1.1 | 14.5±4.1 ^{b)} | 39.5±4.7 ^{c)} | 53.0±2.1 | 65.0±3.4 | 77.5±3.0 |
| | 無処理 | 0.5±0.5 | 1.0±0.7 | 8.5±2.4 | 33.0±5.6 ^{a)} | 58.0±4.4 ^{a)} | 70.0±4.9 | 80.5±3.5 | 85.5±4.0 |

1) 調査日, 2) 発病指数, 3) 異符号間に 5%水準で有意差あり。

が関係し、培地上でのこれらの性質を指標にして有効な抗菌細菌を選抜している。室内実験で抗菌活性が高く、増殖速度も速く抗菌スペクトルの広い菌株がほ場で必ずしも高い防除効果を示すとは限らないが、今回の分離菌株の中から比較的抗菌活性が高く(生育阻止帯が大きい)、抗菌スペクトルが広い(拮抗性の検定に用いた5系統の軟腐病菌全てに阻止帯を形成)ハクサイからの2菌株(No. 75, 206),

カヤツリグサおよびオオアレチノギクから各1菌株(No. 221, 214)合計4菌株を選び防除試験を試みた。すなわち、これらの菌株のハクサイ種子および根菌のバクテリアゼーション処理や葉面散布を行い、軟腐病に対する防除効果を検討した。各菌株とも 10^9 cfu/mlの濃度のけん濁液を用い、葉面散布の場合は外葉の外側にも充分散布した。春作と秋作、処理方法などで異なるものの発育初期から中期にかけ

表3 ハクサイ葉面に噴霧した拮抗細菌の生存

| 菌株 | 10/7(0) ¹⁾ | 10/15(8) | 10/21(14) |
|-----|---------------------------------|-------------------|-------------------|
| 75 | 5.6×10^4 ²⁾ | 0.8×10^1 | $< 10^1$ |
| 206 | 2.7×10^4 | 2.8×10^1 | $< 10^1$ |
| 211 | 2.3×10^4 | 4.0×10^1 | 3.3×10^1 |
| 214 | 1.1×10^5 | 1.1×10^2 | $< 10^1$ |

¹⁾ 調査日 (噴霧後の日数), ²⁾ cfu/cm².

て防除効果が見られた(表2)。葉面散布の場合、菌数は短期間で減少する傾向があり(表3)、さしあたり発病前から週に一度の割合で散布することによりさらに防除効果は高くなるものと推察された。今後、安定した高い防除効果を保持できるよう拮抗細菌の処理時期、頻度と菌数、定着性、増殖性などを詳細に検討する必要がある。また、血清型やファージ型などのようにほ場では供試拮抗菌に反応を異にする多くの系統の軟腐病菌が生存している可能性もあるので、現在前記の諸課題も含め詳細に検討している。

(3) 非病原性菌株の利用

細菌はバクテリオシンと呼ばれる同一種他の系統や近縁種に抗菌活性をもつ高分子の物質を産生する⁴⁸⁾。軟腐病菌もバクテリオシンを産生することが1961年Hamonらにより報告され、caratovoricinと命名された⁴⁹⁾。我が国ではEndoらによって分離され、その構造や諸性質が解明された⁵⁰⁾。バクテリオシンをハクサイ軟腐病の防除に利用するために、まず他の菌株に活性をもつバクテリオシンを産生し、他の菌株のそれに免疫性の菌株が探索された。しかし、この菌株を防除に利用するためには病原性を欠落させることが必要である。軟腐病菌の病原性の主因子はペクチン酸リアーゼでペクチンリアーゼおよびポリカラクツロナーゼが補助的な役割をもつ。ペクチン酸リアーゼの場合、複数のアイソザイムがあり少なくともエンド型とエキソ型の2種のペクチン酸リアーゼが知られている。この中の2種エンド型ペクチン酸リアーゼは常に柔組織の腐敗に関与する⁵¹⁾。軟腐病菌の病原性を欠落させるためにはペクチン酸リアーゼの産生を抑制するかアイソザイムの遺伝子を欠損させなければならない。前記の病原性でバクテリオシンを産生し、他の菌株のバクテリオシンに免疫性の菌株をエチルメタンサルファニルで処理することによりその非病原性菌株が選抜された。このような非病原性菌株の利点は生態的位が病原菌と同じであるため長期にわたり安定した効果が持続することである。ハクサイ、ニンジン、チンゲンサイなどをを用いた種々のポットおよびほ場試験でこの非病原性菌株の軟腐病に対する防除効果が確認され⁵²⁾、1998年バイオキーパーの商品名で市販された⁵³⁾。このことは1950年代から行われているハクサイ軟腐病に関する研究史の中で特筆すべきことであろう。バクテリオシンの溶菌作用は系統特異的であり、ほ場にはバクテリオシン感受性を異にする

系統が混在しており、抗菌スペクトルの広い菌株を使用することが重要である。さらにバクテリオシンによる防除効果をさらにたかめるためにバクテリオシン免疫菌株や銅剤との混用、銅剤耐性バクテリオシン産生株の使用などが試みられている。この研究の過程でハクサイ中肋の傷口からの溢泌液にはバクテリオシンとペクチナーゼ誘導物質が含まれていることが示され、現在その構造の解析等も進められている。

拮抗性細菌による病害防除の機構の一つに拮抗性の誘導がある。今回の非病原性菌株による病斑抑制は非病原性菌株が産生するバクテリオシン免疫性の菌株でもおこることから、この抑制には競合や誘導抵抗性も関与している可能性があり今後の課題となっている。

このような非病原性菌株の産生するバクテリオシンによる生物防除はタバコ立枯病、トマトかいよう病、インゲンかき病などで試みられ³²⁾、トマトかいよう病菌ではニトロゾルアニン処理⁵⁴⁾やTn5挿入失活法⁵⁵⁾で非病原性菌株を選抜、作出している。

(4) バクテリオファージの利用

バクテリオファージ(以下ファージと略す)の溶菌作用を利用した細菌病防除は根頭がんしゅ病(*A. tumefaciens*)、タバコ野火病(*Ps. syringae* pv. *tabaci*)、トマト青枯病(*R. solanacearum*)、モモ穿孔細菌病(*X. campestris* pv. *pruni*)などで試みられ^{32,57)}、トウモロコシに凍霜害をひきおこす氷核活性菌(*E. herbicola*)の防除にファージErh1が用いられた⁵⁶⁾。これらは主に温室内で行われたものでモモ穿孔細菌病のように効果がみられた例もあるが、ほ場レベルで実用化の成功例は未だ報告されていない。

軟腐病の場合、ニンジン、ジャガイモ、キャベツなどでファージによって感染が抑制される⁵⁷⁾。ところで生物防除にファージを利用する場合、まず宿主範囲が指標となる。ハクサイ軟腐病菌のファージは6月~7月に病斑や根圏から高い頻度で分離できる。しかし、いずれも系統特異的で宿主範囲はきわめて狭い。ファージの宿主範囲は病原菌によって大きく異なり、一般に罹病組織から分離したファージでは宿主範囲は狭く、土壌からのものは広いといわれている。しかし、軟腐病菌ファージでは土壌からのものが必ずしも広いとはかぎらなかった。一方、軟腐病菌はファージ感受性の差異により多くの系統(ファージタイプ)に類別される。1984年から1986年まで鶴岡市周辺でハクサイ等の病斑から分離したファージと軟腐病菌との反応を調べたところ、10系統のファージに感受性の菌株数の割合は年次によっても異なるが、3年間の平均でおおよそ35%台と低く、しかもいくつかのファージ型に類別された(表4)。したがって、残りの約65%台の菌株は供試ファージには免疫であり⁵⁸⁾、防除効果は期待出来ないことになる。ハクサイ中肋組織片に傷を付け軟腐病菌の殺菌水けん濁液を添加後直

表4 軟腐病菌のファージ感受性による系統への類別 (1986年)

| 分類作物 | 分離に用いた 病班数 | 分離菌株数 | ファージ感受性 菌株数 | ファージ感受性菌株のファージ型 | | | | | | | | | | | | |
|--------|---------------|-------|----------------|-----------------|---|---|---|---|---|---|----|---|---|-----------------|--|---|
| | | | | A | B | C | D | E | F | G | H | I | J | O ¹⁾ | | |
| カブ | 4 | 15 | 7 | | | 2 | | | 3 | 2 | | | | | | |
| カリフラワー | 4 | 16 | 3 | | | | | | | 3 | | | | | | |
| キャベツ | 5 | 22 | 8 | | | 1 | | | | 7 | | | | | | |
| ジャガイモ | 5 | 14 | 2 | | | | | | | 2 | | | | | | |
| ダイコン | 6 | 25 | 5 | | | | | | | 4 | | | | | | 1 |
| タイサイ | 5 | 23 | 8 | | | | | | 1 | 4 | | | | 2 | | 1 |
| タマネギ | 2 | 9 | 5 | | | 1 | | | | 4 | | | | | | |
| ニラ | 1 | 2 | 0 | | | | | | | 8 | 2 | | | 2 | | 4 |
| ニンジン | 5 | 22 | 16 | | | | | | | | | | | | | |
| ハクサイ | 29 | 125 | 50 | | 1 | 4 | | | | 1 | 41 | 3 | | | | |
| レタス | 4 | 18 | 8 | | | | | | | | 8 | | | | | |
| 計 | 70 | 291 | 112 | | 1 | 8 | | | 1 | 4 | 83 | 5 | | 4 | | 6 |

¹⁾ OはA~Jとは異なった反応パターンを示す菌株。

ちにファージ液を添加したときには病斑形成は抑制された。しかし、病斑形成が起こったあとにファージ液を添加してもこの抑制は起こらなかった。また、これらのファージけん濁液 (10^9 cfu/ml) をほ場のハクサイに数回散布したが、防除効果は全くみられなかった。ファージによる防除効果が低いのは病斑の病原菌が組織片などの夾雑物等によりファージとの吸着が阻害されることが一要因⁵⁷⁾であるが、ハクサイ軟腐病ではさらにファージの宿主範囲が狭いことにも大きく依存していると考えられる。

ファージによるハクサイ軟腐病の生物防除法を確立するためには、ファージの土壌やハクサイ等面上での生存、他の微生物、UV、農薬に対する安定性と変異等³²⁾、さらにほ場における病原菌のファージタイプの実態把握など克服しなければならない課題が多く詳細な調査、研究を要すると思われる。

6. おわりに

作物の病害防除にはこれまで農薬の施用が主流であり食糧生産の獲得に大きく貢献して来た。しかし、長期にわたる農薬の偏重は食品への残留、土壌や地下水の汚染など自然環境への悪影響等を顕在化させ、他方では薬剤耐性菌の出現による防除効果の低下をひきおこした⁵⁹⁾。これらの反省から農薬への依存性を可能なかぎり軽減し、生態系との調和を重視した環境保全型農業の確立に向けた新たな防除技術の開発が課題となり、その一つとして拮抗微生物を利用した生物防除に大きな関心と期待が寄せられている⁶⁰⁾。

微生物の拮抗作用は宿主、溶菌、抗生などのいずれであれ、厳しい競争に耐えて自己を守り子孫を残すために進化等の過程で獲得した智恵と考えられる。土壌、水中、葉面および組織内でこの作用は与えられた条件に敏感に反応しながら展開される拮抗微生物と病原菌の複雑で巧妙な相互作用を基盤にしている。生物防除ではこの相互作用を保障

するための条件を解析し、再構築することが重要であり、そうすることによって高い防除効果が期待できる。

ハクサイ軟腐病ではすでに記した通り生物防除の試みは1950年代になされたが、本格的な研究は最近始まったばかりであり、非病原性菌株によるバクテリオシンの利用以外は未だ実用化のレベルに達したものはなく今後の進展に大きな期待が寄せられている。

生物防除にとって最初の課題は定着性、増殖性、効果の持続性がすぐれた拮抗菌を得ることである。これまで多くは今回の実験のように土壌や植物根圏などの自然の素材をその分離源として来たが、このような方法と同時に今後は土壌や水中で広範囲のグラム陰性菌に寄生して増殖する細菌 *Bdellovibrio*³²⁾ や、土壌中での他の微生物の細胞壁を溶解するほふく細菌 *Myxobacteria*⁶¹⁾ および病原菌を捕食するプロトゾア⁶²⁾ などについての検討も必要である。さらに細菌は変異しやすいことからUV照射やニトロソグアニンなどの化学変異原により人工的に変異を誘発しその中から有効な拮抗菌を選抜することも必要である。また、形質導入 (Transduction)、形質変換 (Transformation)、組換えDNA技術などを積極的に利用して人工的に拮抗性などの機能を改良し、有効で安全な拮抗菌を作出する方法³²⁾ の検討も提起されている。

拮抗菌は有効なものでも農薬と異なり生きものであり、分離、採種された環境とは異なる環境で温度、湿度、pH、他の微生物等の影響を受けながら、その潜在能力を充分発揮できるように処理後の環境を管理することも重要である。タバコ立枯病の場合³⁹⁾、拮抗菌の防除効果が湛水処理と組み合わせることによって高くなることは処理後の土壌環境の修正が必要であることを示している。

ハクサイ軟腐病菌は土壌を基本的な生活の場としており、その防除にあたって直接土壌中の病原菌を標的にすることはもっとも効果的であるが、実際には不可能であり、

ハクサイの生育にともなって繰り広げられる根圏や葉圏での増殖や茎葉上での腐生相の菌数を発病最小菌数のレベルに抑制することに向けてることが必要である。

生物防除には捕食、溶菌、抗生など用いる拮抗微生物によってその機作は異なるがいずれにしても単独で難防除のハクサイ軟腐病を効果的に防除することは困難である。このためこれまで行われてきたいろいろの防除法と生物防除法をお互いに弱点を補完できるように配慮しながら有機的に結合した総合的な防除法の確立を目指すことが重要である。ハクサイの根の伸長を抑制したり、施肥条件によって地上部の生育を制御することによって軟腐病の被害を軽減できる。また、抗生物質などの葉面散布や土壌への有機資材の投入によってハクサイ根圏における軟腐病菌の増殖を制御できる可能性がある。

抗微生物の拮抗作用は抗生物質、バクテリオシン、ファージなどによる病原菌の抑制、殺菌（溶菌）にとどまらず、植物ホルモンなどの生長物質の産生、病害抵抗性の誘導にも係わっている³³⁾。この拮抗作用のもつ諸機能を多面的に活用し、上記の耕種的防除法等といろいろ組み合わせることにより、ハクサイ軟腐病をより効果的に防除できるものと考えられる。

稿を終えるにあたり貴重な論文を引用させていただいた各位に心よりお礼申し上げる。

引用文献

- 1) 斎藤 隆：新版蔬菜園芸，文永堂出版，p. 32, 1996
- 2) 日本植物病理学会：日本有用植物病名目録II，p. 3, 1993
- 3) R. A. Lelliot & R. S. Dickey: "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8th ed.," p. 469, 1984
- 4) 田部井英夫ら：植物の細菌病，日本植物防疫協会，p. 221, 1991
- 5) 伊阪実人ら：日植病報 **58**, 569 (1992)
- 6) 田中寛康：植物病害ガイドブック，日本植物防疫協会，p. 38, 1990
- 7) I. W. Buddenhagen: "Ecology of Soil-Borne Plant Pathogen," Univ. Calif. Press, p. 269, 1965
- 8) M. C. M. Perombelon *et al.*: *Ann. Rev. Phytopathol.* **18**, 361 (1980)
- 9) J. Togashi: *Bull. Yamagata Univ. Agric. Sci.* **11**, 266 (1991)
- 10) 小林研三ら：九病虫研会報 **32**, 49 (1986)
- 11) 富樫二郎：山形農林学会報 **48**, 55 (1986)
- 12) R. Y. Morita: *Adv. Microb. Ecol.* **6**, 171 (1982)
- 13) T. Kikumoto: *Rep. Inst. Agric. Res. Tohoku Univ.* **31**, 19 (1980)
- 14) S. M. Khorshed Alam *et al.*: *Ann. Phytopathol. Sci. Jpn.* **64**, 540 (1998)
- 15) 津山博之：東北大農研彙 **13**, 221 (1962)
- 16) J. Togashi: *Rep. Inst. Agric. Res. Tohoku Univ.* **23**, 17 (1972)
- 17) 小林研三：熊本農試彙報 **1**, 1 (1962)
- 18) M. C. M. Perombelon: *Proc. 4th. Int. Conf. Plant Pathol. Bact.*, 563 (1978)
- 19) 浜田正美ら：日植病報 **29**, 64 (1964)
- 20) ト蔵梅之丞：実用農作物病害要記，東京西ヶ原刊行会，p. 170, 1928
- 21) L. Fucikovsky *et al.*: *Proc. 4th. Int. Conf. Plant Pathol. Bact.*, 603 (1978)
- 22) 富樫二郎：日植病報 **61**, 254 (1995)
- 23) 富樫二郎：山形農林学会報 **48**, 55 (1991)
- 24) 富樫二郎ら：山形大紀要（農学）**12**, 167 (1985)
- 25) 富樫二郎ら：日植病報 **64**, 380 (1998)
- 26) 津山博之：土と微生物 **7**, 23 (1965)
- 27) 小林 裕：宮城県庁委託，白菜軟腐病に関する試験研究（昭和27年度報告），7 (1954)
- 28) 富樫二郎：山形大紀要（農学）**10**, 771 (1989)
- 29) 清水 茂ら：園試報 **A1**, 157 (1962)
- 30) 富樫二郎ら：山形農林学会報 **49**, 1 (1992)
- 31) K. F. Baker: *Ann. Rev. Phytopathol.* **25**, 67 (1987)
- 32) 脇本 哲：農及園 **48**, 5 (1973)
- 33) 白田 昭：農業技術 **41**, 533 (1986)
- 34) 小野邦明ら：日植病報 **56**, 398 (1990)
- 35) 鳥越博明ら：日植病報 **56**, 398 (1990)
- 36) 横山とも子ら：日植病報 **57**, 439 (1991)
- 37) P. B. New *et al.*: *J. Appl. Bacteriol.* **35**, 279 (1972)
- 38) A. Kerr: *Plant Dis.* **62**, 25 (1980)
- 39) 牧野孝宏他：静岡農試験報 **30**, 45 (1985)
- 40) 横山とも子：植物病疫 **46**, 15 (1992)
- 41) T. J. Burr: *Plant Dis.* **82**, 1288 (1998)
- 42) 坂本正幸ら：宮城県庁委託，白菜軟腐病に関する試験研究（昭和28年度報告），19 (1954)
- 43) 上原大典ら：日植病報 **64**, 609 (1998)
- 44) J. W. Kloepper: *Phytopathology* **73**, 217 (1983)
- 45) R. J. Cook *et al.*: *The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens APS.*, 112 (1983)
- 46) G. W. Xuら：Phytopathology **76**, 424 (1986)
- 47) C. H. Liao: *Plant Dis.* **73**, 223 (1989)
- 48) 今堀和友ら編：バクテリオシン 蛋白質 核酸 酵素 **24**, 714 (1979)
- 49) Y. Hamon *et al.*: *Ann. Inst. Pasteur* **104**, 55 (1963)
- 50) Y. Endo *et al.*: *Ann. Phytopathol. Sci. Jpn.* **41**, 40 (1975)
- 51) 後藤正夫：新植物細菌病学，ソフトサイエンス社，p. 64, 1981
- 52) 高原吉幸：植物病疫 **46**, 484 (1992)
- 53) T. Kikumoto *et al.*: *Proc. 4th. Int. Workshop PGPR*, 118 (1997)
- 54) 白田 昭：植物病疫 **40**, 23 (1986)
- 55) D. A. Cooksey: *Phytopathology* **76**, 424 (1986)
- 56) L. M. Kozloff *et al.*: *J. Bacteriol.* **153**, 221 (1983)
- 57) N. Okabe *et al.*: *Ann. Rev. Phytopathol.* **1**, 413 (1963)
- 58) 富樫二郎：日植病報 **56**, 309 (1990)
- 59) 大畑貫一：植物防疫 **40**, 1 (1986)
- 60) 駒田 旦：植物防疫 **43**, 11 (1989)
- 61) Y. Honma: *Phytopathology* **74**, 1234 (1984)
- 62) 佐藤 守：日植病報 **48**, 325 (1982)

略歴

富樫二郎

略歴：1936年3月 山形大学農学部農学科卒
 1936年7月 東北大学農学研究所（現遺伝生態研究センター）教務員
 1946年3月 農学博士（東北大学）
 1946年4月 山形大学農学部助教授
 1987年4月 山形大学農学部教授
 専攻：植物細菌病学，野菜類細菌病の発生生態と防除に関する研究。
 趣味：読書，散策。