

ジャガイモ塊茎腐敗の発生条件を調べる —土壌混和接種法とその利用—



北海道大学 大学院農学研究院 植物病理学研究室

秋野 聖之

1. はじめに

ジャガイモ疫病に起因する塊茎腐敗は、流通や加工産業における大きな問題になっている。加工用貯蔵塊茎の数%以上が1～3か月の貯蔵期間中に細菌による腐敗症状を示す場合がある。この細菌性塊茎腐敗の原因の一つになると考えられているのがジャガイモ疫病菌による塊茎の感染である。

塊茎腐敗の効果的な防除のためにはまず栽培中の疫病の適切な防除が必要であり、実際に効果があることもよく知られている。しかし、それらの処理が疫病菌の動向にどのような影響を与えているかについては不明のことも多い。塊茎腐敗の発生、特に圃場における塊茎の疫病菌への感染の機構を更に詳細に検討するためには、圃場規模あるいは実験室規模で塊茎腐敗を再現できる簡便な方法が必要である。これまでの研究では土壌への疫病菌の散布・塊茎の芽や皮目への滴下接種・塊茎への注射接種・塊茎全面への噴霧接種などの方法が用いられていたが、いずれも安定的な病徴の再現は難しいものであった。本稿で紹介する「土壌混和接種法」は実際の塊茎腐敗の発生現場で生じていると考えられる条件を再現することで簡便に発病を再現できる方法とし

て有用であり、多くの応用が可能であると考えられた。本法の主要な目的は、① 人工的な環境下で塊茎が置かれる条件を変えることで塊茎腐敗が起こる要因を検討すること、② 実際の栽培現場で塊茎腐敗を起こすだけの疫病菌が存在しているかどうかを判定すること、の2つである。

2. 塊茎腐敗の発生条件とその再現

前述のとおり、貯蔵塊茎のうち腐敗症状を呈するのは全体の数%程度である。これらの腐敗塊茎が受けた条件を再現することにより実験的に高率で腐敗を起こすことが可能になると考え、その条件について検討した。

① 塊茎表面の受傷：実際の収穫・選果の現場では塊茎の打撲や受傷が貯蔵後の腐敗の発生に密接に関連していることが知られており、塊茎への衝撃をできるだけ軽減する対策が取られている。実験室環境でも感受性品種の塊茎は切断面に疫病菌を接種するとほぼ例外なく発病して腐敗するのに対し、無傷の塊茎表皮への接種では感染が起こりにくいことがわかっていた。これらのことは、塊茎表面の傷の有無が腐敗の発生の重要な要因であることを示唆している。したがって人工的に腐敗を発生させるため

には、塊茎に対する付傷処理が必要であろうと考えられた。多数の塊茎に一定の程度の傷をつけることができる方法について検討する必要がある。

② 疫病菌の付着：塊茎が疫病菌に感染する経路としては、栽培中に発病した茎葉部の病斑から疫病菌の胞子である遊走子のうが雨水によって土壌表面に落下して浸透し塊茎に達することによる場合と、土壌に落下した遊走子のうが収穫時に塊茎に付着する場合の2つが考えられている。前者では塊茎が疫病菌に接触した後に収穫による衝撃を受けることになるが、後者では衝撃と菌との接触が同時に起こる。実験作業としては菌の接種を付傷と同時にこなしたほうが簡便になる。

③ 発病条件下での貯蔵：収穫された塊茎は目的に応じて温度設定された条件下で貯蔵される。部分的に通気が悪く湿度や温度が上昇する箇所があり、このような場所では塊茎が発病する可能性が高くなる。疫病菌の生育適温は15～20℃であるが、10℃以下の環境でも生育することが確認されている。初期の貯蔵は18℃前後で行われることも多くこの温度は疫病菌の生育にも適しているので、実験的に発病させるには最適であろうと考えられた。

このような条件を考慮し、簡便に塊茎を感染・発病させる方法としての「土壌混和接種法」を考案した。具体的な方法は以下のとおりである。

A. 実験室規模の土壌混和接種法（供試塊茎数100～400個程度）

この方法は主に小規模の試験で塊茎腐敗の発生条件を検討する発病実験と特定の圃

場土に疫病菌が存在しているかどうかを判定する土壌診断を目的としている。供試塊茎数は1セット6個を基本とし、3反復を設定する。

① 塊茎への付傷処理：供試塊茎としては目的に応じて圃場から掘りとった直後の塊茎または市販の塊茎を使用する。塊茎表皮の状態は土壌中にある場合と収穫後の肥厚した状態とは異なるが、同一品種であれば接種結果に大きな違いはないことがわかっている。いずれの場合でも無傷対照区を設定する必要があるので傷を付けないように扱う必要がある。また、塊茎の大きさをできるだけ揃えておくことが望ましい。付傷処理には塊茎表皮に浅い刺突傷をつけるために市販のおろし金（消毒しながら使用するのでアルミ製がよい・1平方センチメートル当たりの棘数が6程度のもの）を用いる。供試塊茎をこのおろし金で擦過するのではなく押し付けて規定の箇所でのみ転がすことで、ほぼ一定の数の傷を付けることができる。押し付ける塊茎の表面の割合（1/8面～全面）と転がす回数（1～5回）によって傷の程度を調節する（図1A）。

② 塊茎への疫病菌接種と土壌混和：発病実験の場合は付傷処理後の塊茎を直ちにたらいなどの容器に移し、疫病菌の接種を行なう。グリンピース寒天培地などで2週間培養して遊走子のうを形成した疫病菌株から遊走子のう懸濁液を作成し、スプレーで噴霧する（図1B）。懸濁液の密度は目的に応じて1,000～100,000遊走子のう／ミリリットルとし、50個の塊茎に対して80ミリリットル程度を噴霧する。あらかじめ供試塊茎に平均何ミリリットルの液が付着するかを計算しておくといい（例：風乾した直



図1 土壌混和接種法の操作手順

A：おろし金による塊茎への付傷 B：疫病菌の噴霧接種 C：土壌の混和处理 D：ポリ袋内での培養

径5センチメートルの塊茎表面には約1ミリリットルの懸濁液が付着するので塊茎1個当たり1,000～100,000個、塊茎表面1平方センチメートル当たり約13～1,300個の遊走子のうが付着することになる)。接種が完了した塊茎を適当な大きさのポリ袋に移し（6個／袋程度）、6グラム（湿重）程度の畑土壌（疫病が発生していない無関係な場所の土壌）を加え、蒸留水約5ミリリットルを噴霧してよく混和する（図1C）。この時土壌を混和するのは、実際の収穫時に土壌が付着していることを再現するとともに、接種後の菌が塊茎表面に付着するようにしてその後の発病を安定させることを目的としている（土壌を付着させないと発病程度の誤差が大きくなる）。土壌診断の場合は疫病菌の噴霧接種は行わず、菌の存在を確認したい畑の土壌をポリ袋内で混和する。

③ 発病条件下での培養：土壌混和处理後、塊茎を入れたポリ袋を封じて18～20℃の暗所で培養する（図1D）。密閉していても

12～24時間後に塊茎表面が乾燥してくる（塊茎が水分を吸収する）ので、塊茎1個あたり0.5ミリリットル程度の水を再噴霧して湿度を保つ。再び塊茎が乾燥してくる場合があるが、加水はこの1回で十分である（発病程度には影響しない）。

B. 圃場試験規模の土壌混和接種法（供試塊茎数400～1,000個程度）

多数の塊茎を用いて発病実験や土壌診断を行なう場合には供試塊茎におろし金で付傷するのは難しいので、ポリバケツなどの容器内で振盪することで付傷する。

① 塊茎への付傷処理：特定の圃場で収穫前の疫病菌の存在を調査する場合には、その圃場で手掘り収穫した直後の塊茎を用いる。収穫にあたっては傷をつけないように特に注意する。発病実験の場合には市販の塊茎を用いても良い。多数の塊茎に均一に付傷するために、45リットルのポリバケツに50個程度の塊茎と200ミリリットル相当の園芸用の砂利（直径約1センチメートル

の角ばった形のもの)を入れる。発病実験(人工接種)の場合は500ミリリットル相当の疫病が発生していない圃場の土壌を、土壌診断の場合には現地の土壌(発病植物体直下の表層から採取)を入れ、人力で振幅20センチメートルで20回振盪する。この操作で塊茎の表面に軽微な傷をつけ、土壌を混和することができる。

② 塊茎への疫病菌接種：人工接種を行なう場合には付傷した塊茎をたらいなどの容器に入れ、全体を大ポリ袋で包んだ状態で前述の方法で噴霧接種を行なう。目的によっては①のポリバケツでの振盪時に土壌に菌懸濁液を加えておいても良い。

③ 発病条件下での培養：接種後の塊茎を試験区ごとに大サイズのポリ袋に入れた上で貯蔵用コンテナに入れ、所定の条件(通常は18℃)で培養する。輸送時に無傷区が受傷しないように注意する。

培養開始後の発病については実験室規模および圃場規模ともにほぼ同様の経緯をたどる。接種および培養条件にもよるが、接種から1週間程度で塊茎表面に疫病菌の菌糸が生じ、日数の経過とともに拡大する(図2 A)。本法で疫病に感染した塊茎はほとんどの場合で表面が軟化し、1か月以内に

滲出液と悪臭を伴う細菌性腐敗に移行する(図2 B)。これらの症状は貯蔵庫内で見られる腐敗塊茎によく似ているが、傷の程度・疫病菌の菌量・培養温度を疫病の発生に適した状態にしていることから実際の収穫・貯蔵条件に比べ発病の進展は早くなる。ここまでの経過を2～3日毎に観察して疫病の発病程度を評価する。評価方法には発病塊茎の個数(塊茎発病率)・発病の程度を無病徴～細菌性腐敗までの5段階に分けた評価(発病指数)・塊茎表面における疫病菌の菌糸生育面積の割合(発病面積率)などの指標を用いる。

3. 土壌混和接種法による発病実験

塊茎腐敗抵抗性「弱」の品種である「とうや」の場合、全面付傷(塊茎の表面全体におろし金を均等に押し付けて3回転させる)した塊茎を用いると接種菌量(塊茎1個当たり遊走子のう数)が1,400個の場合は発病面積率(塊茎表面積を100とした場合の発病面積の占める割合を%で表した数値・6個3反復の平均値)は約22%、35,000個の場合は約43%となった(図3)。他の品種でも同様の傾向が認められ、同一品種・同程度の付傷・同一の培養条件の場合、接種塊茎の発病程度は接種菌量に応じ

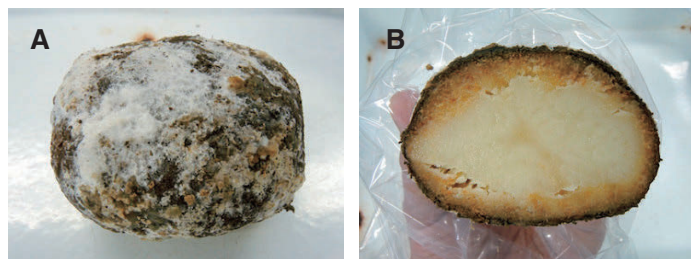


図2 土壌混和接種法によって発病した塊茎の症状

全面付傷した塊茎(品種「男爵薯」・市販品)に約1,300個の遊走子のうを接種しポリ袋内18℃で20日間培養したもの。

A：塊茎表面での疫病菌の生育 B：塊茎組織の軟化と細菌性腐敗の発生

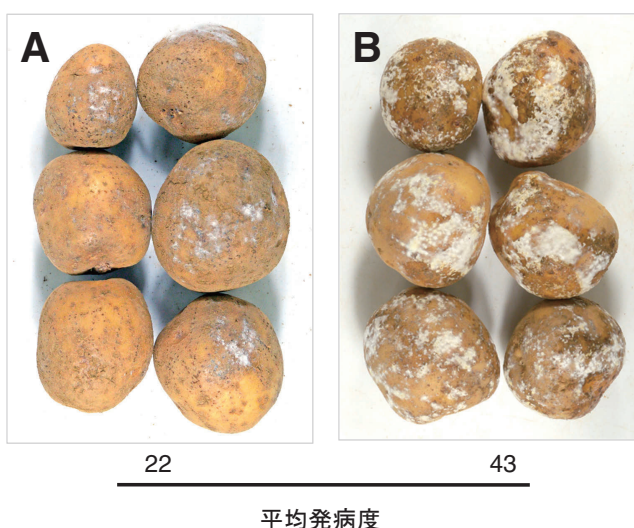


図3 接種菌量による発病程度の違い

全面付傷した塊茎（品種「とうや」・収穫後1か月目に供試）に遊走子のうを接種しポリ袋内18℃で12日間培養したもの。塊茎1個あたりに接種した遊走子のう数は A：1,400個 B：35,000個（平均発病度：塊茎表面積を100とした場合の発病面積の占める割合を%で表した数値・6個3反復の平均値）

て変化することが確認された。

接種試験で得られた結果のうちで特に興味深い点は、塊茎に対する処理条件による発病の違いであった。本実験では前述のとおりおろし金で塊茎に付傷して疫病菌を接種する区以外にも対照区として「付傷して土壌を混和するが疫病菌は接種しない区（有傷・無接種区）」「付傷せずに土壌混和および疫病菌接種を行なう区（無傷・接種

区）」の2つを設定した。前者は傷と土壌中の微生物によって塊茎が影響を受ける可能性を見るためのものであり、後者は傷がない場合の感染確率を確認するためのものであった。いずれの試験区でもある程度の発病を予想していたが、試験の結果無接種区だけでなく接種区でも塊茎はほとんど発病しなかった（図4）。この結果は塊茎が発病するのは傷と疫病菌の両者がそろった

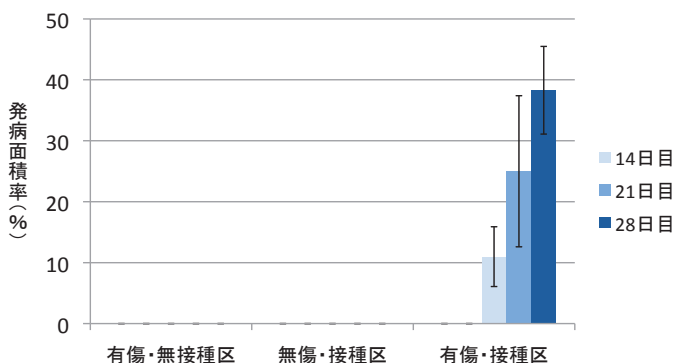


図4 処理条件による発病の違い

無傷および全面付傷した塊茎（品種「男爵薯」・収穫直後に供試）に遊走子のうを塊茎1個あたり7,000個接種しポリ袋内18℃で培養した（平均発病度：塊茎表面積を100とした場合の発病面積の占める割合を%で表した数値の平均）。数値は3反復の平均、バーは標準誤差を示す。

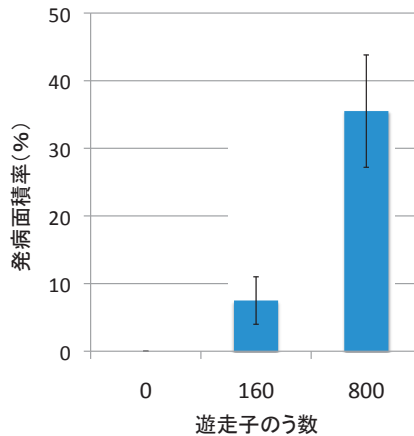


図5 塊茎バイオアッセイ法による人工接種土壤からの疫病菌の検出

全面付傷した塊茎（品種「男爵薯」・市販品）6個に遊走子のうを人工接種した土壤6グラムを混和し、ポリ袋内18℃で培養した（遊走子のう数：塊茎に混和した土壤1グラムあたりに含まれる遊走子のう数）数値は3反復の平均、バーは標準誤差を示す。

場合に限られることを示している。今回の試験は疫病による腐敗のみを対象としており、実際の圃場では疫病以外の原因で腐敗する例も見られるのですべての場合でこの結果が当てはまるとは言い切れないことに注意が必要である。しかし本法による試験の結果、塊茎に傷があっても土壤中の微生物だけで腐敗することはほとんどなく、また無傷の塊茎では疫病による感染の確率が予想したほど高くない可能性が示された。ただし遊走子のうの接種量を極端に高くした場合（塊茎1個当たり35,000個以上）では無傷であっても塊茎表面が褐変する例が見られたため、菌量と塊茎感染の関係についてはさらに検討する必要があると考えられた。

4. 土壤混和接種法による土壤診断（塊茎バイオアッセイ法）

土壤混和接種法は塊茎腐敗における疫病菌の菌量・塊茎の傷・貯蔵条件の影響を調査することに用いることができると考えられた。とくに疫病菌の菌量を反映できるこ

とから、土壤中の菌量を簡便に測定する方法として使用できる可能性がある。この目的で土壤混和接種法を圃場土から疫病菌を検出する「塊茎バイオアッセイ法」として応用できるかについて検討した。2015年は気候の影響などで調査地域に選定していた北海道十勝地方ではほとんど疫病の発生が見られなかったため、実験室内における人工接種土壤を用いた予備試験を行なった。

まず前述の方法で作成した遊走子のう懸濁液を土壤に噴霧し、乾土1グラム当たり160および800個の遊走子のうを含む保菌土壤を作成した。ここから乾土6グラム相当の保菌土壤をとり、6個の全面付傷塊茎（品種「男爵薯」）に混和後保湿して培養した。この実験で用いる塊茎は疫病に感染していないことを確認した市販塊茎を用いることが望ましい。培養10日後の発病面積率を測定し、3反復を平均して結果を得た。その結果、無接種土壤を処理した塊茎は全く発病しなかったが、160および800個の遊走子のうを含む土壤の場合はそれぞれ発病面積率は8および36%となり、菌量に応じた発

病が確認された（図5）。

現時点ではこの方法に厳密な定量性はないが、栽培期間中から収穫期までの間に疫病が発病した茎葉から遊走子のうが土壌に落下し、塊茎に達するまで生存しているかどうかを確認する目的に使用できる可能性がある。特にその土壌中に実際に塊茎を発病させるだけの菌量が存在しているかを判定できるのではないかと考えられるので、2016年の栽培期間中には実際の発病圃場での検出精度を確認する試験を行なう予定である。

5. おわりに

北海道におけるジャガイモ疫病菌は1980年代までのUS-1・JP-1系統に代わって2000年代以降は新たなJP-3・JP-4系統に変化してきた。これに伴い疫病の発生生態にも多くの変化が生じていることがわ

かってきた（胞子の発芽および生育適温・薬剤耐性・茎葉ならびに塊茎残渣上での生存性など）。

塊茎腐敗による損失を低減するためには現在の疫病菌の塊茎への侵入と感染および発病に関わる諸条件を明らかにする必要がある。この点で本稿で紹介した「土壌混和接種法」は塊茎腐敗の発生生態を調査するための有用な方法の一つであると考えられた。特に、①塊茎が受ける傷の程度と発病との関係、②栽培期間中における感染のタイミングと発病との関係、③疫病菌の系統の違いと発病との関係、④ジャガイモ品種による疫病感受性の違い、などについての知見は重要なので早急に検討したいと考えている。今後もさらに本法の精度を高めるような改良を加え、実際の場面に応用できる検定法としての確立をめざす予定である。