各種条件下におけるナス科野菜青枯病細菌の 死滅に要する温度と時間

伊達 寛敬*・那須 英夫*・畑本 求*

Hiroataka DATE*, Hideo NASU** and Motomu HATAMOTO* : Thermal Death Range of
Pseudomonas solanacearum under Various Conditions

Abstract

The thermal death range of *Pseudomonas solanacearum* was examined under several conditions. The bacterium strains belonging to biovars II and III were more tolerant than those belonging to biovars I and IV at 40, 43, and 45°C in sterilized water. All strains of the bacterium was killed at 43°C for a day regardless belonging biovars. The bacterium was able to survive in the diseased plant residues and in soil at 43°C for 2 days and at 40°C for 5 days.

(Received January 14, 1993)

Key words: thermal death range, *Pseudomonas solanacearum*.

太陽熱利用による土壌消毒⁹⁾ (以下太陽熱消毒) は、1970年代後半以降にイチゴ萎黄病⁷⁾、ナス半身萎ちょう病^{8,7)} およびキュウリつる割病⁹⁾を対象に実用化試験が実施され、高い防除効果が見出されることから暖地で広く普及している。しかし、トマトおよびナスの青枯病に対しては高い防除効果が得られる場合^{1,7)}と不十分な場合が報告^{5,11)}され、明確な評価は未だ得られていない。

太陽熱消毒の効果を適正に評価するには、病原の死滅条件を正確に把握することが不可欠で、上記の糸状菌による土壌病害ではその諸条件^{6,10)}が明らかにされている。しかし、青枯病細菌については純水中⁴⁾および被害残査⁹⁾での生存期間が明らかにされているだけで、各 biovar 間における耐熱性の差異についても片山・木村⁴⁾の報告に止まり、その詳細が十分解明されたとは言えない。

そこで、本報告では太陽熱消毒における諸要因を想定して、ナス科野菜青枯病細菌の死滅条件を明らかにすると同時に、biovar 間の差異を検討した。

滅菌水における青枯病細菌の死滅条件：ナス科野菜青枯病細菌の各 biovar⁹⁾ から任意に選定した 18 菌株 (biovar I : 2 菌株, II : 4 菌株, III : 5 菌株, IV : 7 菌株)

株) を供試して滅菌水における死滅条件を検討した。すなわち、供試菌株の菌体懸濁液 ($10^8 \sim 10^9$ cfu/ml) 10 ml を径 18 mm の試験管にとり、35~45°C の恒温水槽に所定期間保った後、その 0.5 ml をジャガイモ半合成培地に塗抹して、集落形成能から各菌株の生死を判定した。これとは別に各 biovar 当り 1 菌株ずつを供試して、菌体濃度と死滅条件との関係を究明した。

供試 18 菌株は 45°C の 6~12 時間処理および 43°C の 24 時間処理ですべて死滅することが判明した。処理温度が 40°C と低くなるにしたがい死滅するまでに時間を要し、その値は菌株間で著しく異なった (Table 1)。一方、38 および 35°C では、21 日後もすべての菌株が生存していることが確かめられた。Biovar I および IV の供試菌株は biovar II および III のそれらに比べて死滅するまでの時間が短く (Table 1)、ジャガイモ青枯病細菌 biovar IV の耐熱性が biovar II に比べて低いとする既往の知見⁴⁾に一致する結果を得た。

菌体濃度を $10^2 \sim 10^8$ cfu/ml に調整した場合、供試 4 菌株は 40°C 処理で 10 日後にいずれも死滅し、 10^4 cfu/ml では 3 日後に、 10^2 cfu/ml では 1 日後にそれぞれ死滅することが判明した (Table 2)。一方、処理温度を 35°C と低くすると、菌体濃度に関係なく 4 菌株が 21

* 岡山県立農業試験場 Okayama Prefectural Agricultural Experiment Station, Sanyo-cho, Okayama 709-08, Japan

Table 1. Thermal death range of *P. solanacearum* in sterilized water

Biovar	Isolate no.	Host plant	Time (days) of bacteria absence after treating 3 different temperatures (°C)		
			45	43	40
I	823101	Tomato	1/4	1/4	7
	7322	Tomato	1/4	1/2	7
II	8344	Tomato	1/2	1	10
	8214	Tomato	1/4	1	14
	8352	Eggplant	1/2	1/2	14
	OE36-1	Eggplant	1/2	1	10
III	821301	Tomato	1/2	1/2	10
	8346	Tomato	1/4	1/2	10
	822201	Eggplant	1/2	1/2	10
	8227	Eggplant	1/2	1	21
	OE1-1	Eggplant	1/2	1/2	10
IV	8304	Tomato	1/2	1/2	10
	8207	Tomato	1/4	1/4	7
	8270	Potato	1/4	1/4	7
	826401	Potato	1/4	1/4	7
	8105	Eggplant	1/4	1/4	5
	OE37-1	Eggplant	1/4	1/2	14
	OE29-2	Eggplant	1/4	1/4	10

Table 2. Survival of *P. solanacearum* differing population in sterilized water

Temperature treated (°C)	Biovar	Isolate no.	Number of bacteria (cfu/ml)	Detection in various incubation periods of time (days) after treating					
				1	3	4	5	7	10
40	I	7322	10 ⁸	≡ ^{a)}	≡	≡	+	—	—
			10 ⁶	≡	≡	+	±	—	—
			10 ⁴	±	—	—	—	—	—
			10 ²	—	—	—	—	—	—
	II	OE36-1	10 ⁸	≡	≡	≡	≡	+	—
			10 ⁶	≡	+	+	+	±	—
			10 ⁴	—	—	—	—	—	—
			10 ²	—	—	—	—	—	—
	III	OE1-1	10 ⁸	≡	≡	+	+	+	—
			10 ⁶	≡	≡	+	+	+	—
			10 ⁴	±	—	—	—	—	—
			10 ²	—	—	—	—	—	—
	IV	OE29-2	10 ⁸	≡	+	+	±	±	—
			10 ⁶	≡	—	—	—	—	—
			10 ⁴	±	—	—	—	—	—
			10 ²	—	—	—	—	—	—

a) The range of the number of bacteria. — : 0, ± : 0-10 cfu/ml, + : 10-10² cfu/ml, ≡ : 10²-10³ cfu/ml, ≡ : 10³ cfu/ml-.

日後も生存していることが確かめられた。

これらの結果から、滅菌水中の青枯病細菌は biovar に関係なく 43°C の 24 時間処理で死滅し、10⁴ cfu/ml 以下の菌株濃度では 40°C の 3 日間処理で死滅すると判断される。

被害残渣における青枯病細菌の死滅条件 ナス（台木品種：ヒラナス、穂木品種：千両、以下同じ）の発病株を供試して、被害残渣における病原の死滅条件を検討した。すなわち、発病株を茎部（径約 3 cm、長さ 10 cm）および根部（最大径約 1 cm、長さ 10 cm の主

Table 3. Survival of *P. solanacearum* in diseased plant residues and in their soak

Temperature treated (°C)	Eggplant part	Detection in various incubation periods of time (days) after treating 4 different temperatures						
		1/2	1	2	3	4	5	8
45	Stem	— ^{a)}	—	—				
		(—) ^{b)}	(—)	(—)				
	Root	—	—	—				
		(—)	(—)	(—)				
43	Stem		+	—		—		
			(—)	(—)		(—)		
	Root		—	—		—		
			(—)	(—)		(—)		
40	Stem		卄		+	—		—
			(卄)		(卄)	(—)		(—)
	Root		卄		—	—		—
			(卄)		(卄)	(—)		(—)
38	Stem			卄		—		—
				(卄)		(+)		(—)
	Root			卄		—		—
				(卄)		(+)		(—)
Untreated control	Stem			(卄)	(卄)	(卄)	(卄)	—
	Root			(卄)	(卄)	(卄)	(卄)	(+)

a) The range of the number of bacteria in the residues. — : 0, + : <10 cfu/ml, 卄 : 10-10² cfu/ml, 卄 : 10²-10³ cfu/ml.

b) The range of the number of bacteria in the soak. — : 0, + : <10 cfu/ml, 卄 : 10-10² cfu/ml, 卄 : 10²-10³ cfu/ml.

根) とに分け、それぞれ3本ずつを1区として蒸留水300 mlを入れたビニル袋内に密封し、38~45°Cの恒温水槽に所定期間保った。処理終了後、各ビニル袋内の浸漬液、および各供試材料の中央部3切片(長さ各1 cm)を10 mlの滅菌水と共に磨砕し、その0.5 mlを選択培地⁹⁾に塗抹して病原を検出した。

45°C、12時間処理した供試材料からは本病原は全く検出されず、いずれも死滅したと判断される。死滅に要する時間は43°Cで2日間、38°Cで8日間と判定され、処理温度が低くなるにしたがい長時間を要した(Table 3)。

それゆえ、被害残渣を水に浸漬して青枯病細菌を死滅させるには、温度によって処理時間を変える必要があると判断される。被害茎を塩ビ管内の土壤に埋没して湯湯処理した孫工・野村⁹⁾の実験では、本病原が死滅するまでに50°C以上で5日間、40°C以上で10日間を要するとされ、本実験の結果と多少異なる知見を得ている。その理由として、本実験では高水分条件としたために病原が短期間のうちに死滅したと考えられる。

土壤における青枯病細菌の死滅条件 土壤の水分含量が病原の密度変化に及ぼす影響を検討した。すなわ

ち、当農試圃場(土性: 埴壤土)で発病したナスの根圏土壤を採取し、その100 gをビニル袋に入れただけの低水分区(含水比: 13%)と、それに蒸留水100 mlを加えた高水分区(含水比: 100%)の2区を設け、38~45°Cの恒温水槽に所定期間保った。処理終了後、選択培地を用いる希釈平板法にしたがって病原を検出した。

土壤水分含量の程度にかかわらず、病原の密度は45°Cの12時間処理および40°Cの3日処理で著しく減少することが判明した。38°Cの処理では水分含量による密度変化に差異が生じ、高水分区における密度の減少がより顕著と判断される(Table 4)。

次に、土性の相違と被害残渣の有無が病原の密度変化に及ぼす影響を検討した。すなわち、当農試の2圃場(土性: 砂土, 埴壤土)と現地の1圃場(土性: 壤土)から発病したナスの根圏土壤を採取し、蒸留水100 mlを加えて前項と同様に処理した。また、実験1では採取土壤を網目2 mmのふるいでふるって被害残渣を除去した区を別に設けた。

土性の相違にかかわらず、病原の密度は43°Cの24時間処理および40°Cの5日間処理で著しく減少する

Table 4. Survival of *P. solanacearum* in soils differing water content

Temperature treated (°C)	Water content by weight (%)	Number of bacteria/g dry soil detected in various incubation periods of time (days) after treating 4 different temperatures					
		1/2	1	2	3	5	8
45	100	<10	<10	<10			
	13	<10	<10	<10			
43	100		<10	<10	<10		
	13		<10	<10	<10		
40	100		5.3×10^2		<10	<10	
	13		1.6×10^4		<10	<10	
38	100		4.1×10^4		9.2×10^2	<10	<10
	13		4.2×10^4		1.7×10^3	6.4×10^2	1.5×10^3
Untreated control	100		5.3×10^4	3.8×10^4	3.1×10^4	5.8×10^4	1.0×10^5
	13		5.2×10^4	2.4×10^4	9.3×10^3	2.6×10^4	4.1×10^4

Table 5. Survival of *P. solanacearum* in rhizosphere soils with different soil textures in the presence or absence of diseased plant residues

Temperature treated (°C)	Days after treatment	Exp. 1				Exp. 2	
		Sand		Clay loam		Loam	Caly loam
		With diseased plant residues	Without diseased plant residues	With diseased plant residues	Without diseased plant residues	With diseased plant residues	With diseased plant residues
40	1	$1.4 \times 10^{3a)}$	5.9×10^2	2.0×10^2	4.7×10^2	2.7×10^4	1.5×10^4
	3	<10	<10	<10	<10	1.1×10^3	4.3×10^2
	5	<10	<10	<10	<10	<10	<10
43	1	<10	<10	<10	<10	<10	<10
	3	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Untreated control		7.2×10^4	5.1×10^4	5.7×10^4	4.5×10^4	5.3×10^4	3.7×10^4

a) Number of bacteria/g dry soil detected.

ことが判明した。一方、被害残渣の除去による病原密度の減少は明確でなく、その効果は顕著でないと判断される (Table 5)。それゆえ、土壤水分含量、土性の違いおよび被害残渣の有無にかかわらず、土壤中の病原密度は 43°C の 24 時間処理および 40°C の 3 日間処理で急激に減少し、38°C では減少が緩慢になると考えられる。

以上、太陽熱消毒を想定して高水分・高温条件で実施した実験から、青枯病細菌の生存期間は 43°C で 2 日間および 40°C で 5 日間程度と推考され、耐久生存器官を持つ土壤病原系状菌^{8,9,10)} に比べて耐熱性は低いと判断される。

太陽熱消毒は一般に高温期の 7 月中旬～8 月中・下旬に実施されているが、所期の目的を達成できない場合がしばしば見受けられる。そのうち、防除効果の高い筆者らの事例¹⁾ では地表下の 20～50 cm が、米山の

事例¹²⁾ では 10～30 cm が、40°C 以上の温度を 5 日間以上維持していることが明らかにされている。それゆえ、この消毒法では地表下 30～50 cm までに分布する本病原の密度は急激に減少するものの、それ以下の下層土では密度にほとんど影響を与えないと推測される。したがって、下層土の地温が本病原の密度低下につながるほど高まる場合には、太陽熱消毒の単独処理で目的が達成できるが、そのような最適条件が得られない場合には明・暗渠の設置による排水対策のほか、抵抗性品種・台木の利用、薬剤による土壤消毒、寒冷紗被覆による地温上昇の防止など、他の有効な制御技術を組合わせた総合防除が不可欠である。今後太陽熱消毒は、有機質資材と拮抗微生物とを組合わせた処理との併用により、さらに安定した防除技術になることが期待される。

本実験を実施するに当たり、貴重な青枯病細菌の分 克己博士に厚くお礼申し上げる。
 讀と御校閲いただいた野菜茶業試験場盛岡支場の尾崎

引用文献

1. 伊達寛敏・那須英夫・畑本 求 (1990). 促成栽培ナスの青枯病に対する太陽熱消毒および抵抗性台木などとの組合せ効果. 岡山農試研報 8: 25-30.
2. 原 秀紀・小野邦明 (1983). タバコ立枯病の発生生態に関する研究 第1報 病原細菌の検出・定量用培地. 岡山たばこ試報 42: 127-138.
3. Hayward, A.C. (1964). Characteristics of *Pseudomonas solanacearum*. J. Appl. Bact. 27: 265-277.
4. 片山克己・木村貞夫 (1986). ジャガイモ青枯病の発生生態と防除に関する研究 第1報 発生生態と病原細菌の系統. 長崎総農林試研報 (農業部門) 14: 1-30.
5. 関東東山東海地域技術連絡会議・農林水産省農業研究センター編 (1982). 太陽熱利用による土壤消毒に関する実証的研究. 農林水産省農業研究センター, つくば. p. 146.
6. 小玉孝司・福井俊夫 (1979). 太陽熱とハウス密閉処理による土壤消毒法について I. 土壤伝染性病原菌の死滅条件の設定とハウス密閉処理による土壤温度の変化. 奈良農試研報 10: 71-82.
7. 小玉孝司・福井俊夫・中西善徳 (1979). 太陽熱とハウス密閉処理による土壤消毒法について II. イナゴ萎黄病ほか土壤伝染性病害に対する土壤消毒効果と効果判定基準の設定. 奈良農試研報 10: 83-92.
8. 坂本 庵・神納 浄・相野公孝・吉倉惇一郎・塩飽邦子 (1986). 露地太陽熱利用によるハクサイ土壤病害防除 第1報 フィルムマルチ条件下における殺菌有効地温の解明. 兵庫農総セ研報 34: 63-68.
9. 孫工弥寿雄・野村良邦 (1987). 施設野菜病害の感染源制御 第4報 ナス青枯病被害残さ部位の第一次感染源能力と太陽熱消毒の効果解析. 日植病報 53: 85 (摘要).
10. 鈴木良治・清水寛二・川田 和 (1983). 太陽熱利用による露地野菜の土壤病害防除 (4)変温処理による各種土壤病原菌の有効死滅温度. 関西病虫研報 25: 49.
11. 山口純一郎・浦田丈一・菅 正道 (1987). 施設栽培のナス青枯病に対する太陽熱利用の防除効果. 九病虫研会報 33: 45-47.
12. 米山伸吾 (1982). 太陽熱利用による土壤消毒に関する実証的研究 (関東東山東海地域技術連絡会議・農林水産省農業研究センター編). 農林水産省農業研究センター, つくば. pp. 51-59.