

ジャガイモの種いも伝染性病害の切断刀伝染に対するマレイン酸の防除効果

北海道立総合研究機構中央農業試験場 ^{たなか ふみお しみず もとしげ} 田中 文夫・清水 基滋

種苗管理センター北海道中央農場 ^{ふわ ひであき おそ の まさのり} 不破 秀明・小曾納 雅則

ホクレン農業協同組合連合会農業総合研究所 ^{おおがみ だいすけ おがさわら み な こ} 大上 大輔・小笠原 美奈子

出光興産株式会社先進技術研究所 ^{すみ かずお} 角 一雄

はじめに

栄養繁殖性作物であるジャガイモでは、細菌やウイルス等による多くの種いも伝染性病害が知られている。

細菌病の中で、輪腐病 (*Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*) は現在国内では発生が見られないが、世界中で警戒されている重要病害の一つである (北海道中央農試, 1998)。また、青枯病 (*Ralstonia solanacearum*) は主に九州・沖縄地方で問題となっており、2005年には北海道内でも前出地方と同じ「レース3」(biovar N2, phylotype IV) の発生が確認されたが、侵入経路が不明で、今後警戒が必要である (堀田, 2006)。黒あし病は3種の病原菌が知られているが、北海道では毎年いずれかの地域で発生が見られ、依然として注意を要する病害となっている (成田, 1958)。

ウイルス病は日本国内で12種類の発生が報告されており、その中でも特にアブラムシ伝搬性のジャガイモYウイルス (*Potato virus Y*, PVY) やジャガイモ葉巻ウイルス (*Potato leafroll virus*, PLRV)、その他接触伝搬性のジャガイモSウイルス (*Potato virus S*, PVS) やジャガイモXウイルス (*Potato virus X*, PVX) が重要である (佐藤ら, 2000)。また、近年ではPVYの塊茎えそ系統 (PVY^{NTN}) (OHSHIMA et al., 2000)、ジャガイモモップトップウイルス (*Potato mop-top virus*, PMTV) によるジャガイモ塊茎褐色輪紋病の発生が報告されている (NAKAYAMA et al., 2010)。

これらの細菌病、ウイルス病を防除する最も有効な方法は健全種いもの使用であるが、種いもでは目視で保菌・保毒が確認できないことが多く、また1個の種いもを数切片に切断して植え付けるのが一般的であることから

ら、汚染塊茎が混入している場合、それを切断した刃物 (切断刀) を介して病原菌を健全塊茎に接触伝染させ、圃場での伝染源を拡大させてしまう恐れがある。そのため、切断刀の消毒は補助的ではあるが重要な防除手段となる。

北海道では切断刀の消毒用薬剤として、中性次亜塩素酸カルシウム (70%) の10倍希釈液への5秒間浸漬処理が推奨されている (北海道中央農試, 1998)。その防除効果は極めて高いが、同剤から発生する塩素ガスによる作業者の健康被害を防止するため、一部生産現場では、防毒マスクや目を保護するゴーグルが装着される等作業環境の悪化が著しい (図-1)。このため生産者からは、これに代わる新たな薬剤が望まれている。本試験では作業者への安全性が高いと考えられる有機酸であるマレイン酸について、上記3種の細菌病およびジャガイモXウイルスに対する防除効果とその実用性を検討したので紹介する。



図-1 種いも切断作業の様子

中性次亜塩素酸カルシウム使用、防毒マスクとゴーグル装着。種苗管理センター胆振農場で。

Efficacy of Maleic Acid as a Cutting Knife Disinfectant for Control of Potato Tuber-born Bacterial Pathogens and Viruses. By Fumio TANAKA, Motoshige SHIMIZU, Hideaki FUWA, Masanori OSONO, Daisuke OHGAMI, Minako OGASAWARA and Kazuo SUMI

(キーワード: ジャガイモ, 細菌, ウイルス, 切断刀消毒, マレイン酸)

I 細菌病に対する防除効果

1 黒あし病

2008 年に北海道内の 3 箇所（十勝支庁管内 1 箇所および空知支庁管内 2 箇所）の圃場で切断刀消毒による防除効果を検討した。あらかじめ培養した黒あし病菌 *Dickeya* sp. (syn. *Erwinia chrysanthemi*, 菌株名: 8263) の菌体を健全ジャガイモ塊茎のすりおろしに 1:1 の割合で混合した液をステンレス包丁に塗布して接種した。その後マレイン酸（商品名「マレクイック A」, 出光興産(株)）の 10 または 20 倍希釈溶液に瞬間～5 秒間浸漬し、健全種いも一個を切断した。包丁を流水で洗浄後、新たな種いもに上記の処理を繰り返した。発病を継続的に調査し、最終的に累積値で発病株率を求めた。対照として、中性次亜塩素酸カルシウム（市販品・有効成分 70%）の 10 倍希釈液、無処理は殺菌水を用いた。

その結果を表-1 に示す。3 箇所ともに甚発生の試験条件であったが、いずれの試験も同様の結果を示した。すなわち、マレイン酸の 10 倍および 20 倍希釈液の瞬間～5 秒間浸漬による切断刀消毒は、黒あし病に対して対照に用いた中性次亜塩素酸カルシウムの 10 倍希釈液と比較してほぼ同等の高い防除効果があった。肉眼調査では対照区およびマレイン酸処理区で萌芽勢に差は認められず、最終的な萌芽率にも差はなかった。また生育株の外観上の異常もなく、萌芽遅延は観察されず、最終的な萌芽率もすべて 100%に近い値を示したことから、葉害はなかったものと判断した。以上の結果から、マレイン酸の実用性は高いと考えられた。

2 輪腐病と青枯病

輪腐病と青枯病に対する試験は、両病原菌が土壌に定着すると被害が甚大となること、および種いもへの接種の方法が確立されていないことから圃場試験の設計、実施は不可能であると判断し、以下の室内試験を行った。

試験に用いた菌株は、輪腐病菌はジーンバンク分譲株（18 農生研遺第 534 号による）、青枯病菌は北海道産ジャガイモ分離株、菌株名: N2（農環研・堀田光生氏より分譲）、黒あし病菌は北海道産ジャガイモ分離株、菌株名: 8263 である。

あらかじめ King's B 液体培地で培養した各菌種の菌体液を殺菌水で希釈して総量 20 ml の病原菌液に調製した。各病原菌液の濃度は、輪腐病菌の MAFF301045 株を 5×10^8 CFU/ml, MAFF301047 株を 7.3×10^9 CFU/ml, 青枯病菌を 8×10^8 CFU/ml, 対照の黒あし病菌を 6×10^9 CFU/ml に調製した。

これら病原菌液に滅菌した金属葉さじの台形の先端部分（面積 2.7 cm²）を浸漬した後、容器内の 5, 10, 20 および 30 倍希釈マレイン酸液各 25 ml に瞬間浸漬した。0.02% ツィーン 20 添加殺菌水 5 ml を 15 ml 容の遠心チューブに入れ、滅菌ろ紙片を浸したものを種いも切断面に見立て、各マレイン酸希釈溶液浸漬直後の葉さじ先端部を水上に露出したろ紙片にこすりつけた。その後、遠心チューブのふたをしてボルテックスミキサーでよく攪拌し、攪拌後の溶液 200 μ l を採取し、径 9 cm シャーレの普通寒天平板培地に 1 チューブ当たり 2 枚ずつ塗布し、培養後の出現菌（コロニー）数を計測した。培養条件は輪腐病菌が 25℃, 10 日間、青枯病菌と黒あし病菌は 31℃, 2 日間とした。対照としては圃場試験と同様に中性次亜塩素酸カルシウムの 10 倍希釈液を用いた。

表-2 に結果を示す。輪腐病菌 2 菌株と青枯病菌は供試したすべての薬剤濃度処理でコロニーの出現は認められず、完全な殺菌効果を示した。対照に用いた黒あし病菌は、マレイン酸 30 倍希釈液ではわずかながらコロニーが出現したが、それ以外の濃度では認められなかった。なお、対照薬剤とした中性次亜塩素酸カルシウム 10 倍希釈液ではすべての菌種でコロニーは観察されなかった。この結果から、マレイン酸の 10 倍および 20 倍

表-1 黒あし病汚染切断刀に対するマレイン酸の防除効果

供試薬剤	希釈 倍数	十勝農試圃場				中央農試圃場				ホクレン圃場			
		病株率 (%)	萌芽率 (%)	薬害	防除価	病株率 (%)	萌芽率 (%)	薬害	防除価	病株率 (%)	萌芽率 (%)	薬害	防除価
		8/7	6/10			7/2	6/23			7/31	6/2		
マレイン酸 100%	10 倍	0.0	100	—	100.0	0.4	99	100.0	—	0.0	100	99.3	—
	20 倍	0.0	100	—	100.0	0.0	100	99.6	—	0.0	100	99.3	—
対照 中性次亜塩素 酸カルシウム 70%	10 倍	0.0	100	—	100.0	0.0	100	99.3	—	0.0	100	98.9	—
無処理（殺菌水）		35.0	99.4	—	—	32.2	98.2	—	—	47.8	100.0	—	—

表-2 輪腐病菌と青枯病菌に対するマレイン酸の殺菌効果

供試薬剤	希釈倍数	出現菌数 ^{a)}			
		輪腐病菌		青枯病菌	黒あし病菌
		MAFF301045	MAFF301047	N2	8263
マレイン酸 100%	5 倍	0	0	0	0
	10 倍	0	0	0	0
	20 倍	0	0	0	0
	30 倍	0	0	0	75
対照 中性次亜塩素酸カルシウム 70%	10 倍	0	0	0	0
殺菌水	—	4.2×10^4	7.0×10^4	4.0×10^6	5.0×10^5

^{a)} 出現菌数はシャーレ 1 枚当たりの平均コロニー数 (CFU/シャーレ) とした。

希釈液は黒あし病菌に対して圃場試験で十分な防除効果が得られていることを考慮すれば、マレイン酸は輪腐病と青枯病に対しても切断刀消毒の効果が期待できると判断した。

II ウイルス病に対する防除効果

発生重要度の高いジャガイモウイルスの中から、接触伝搬する能力が高い PVX を防除対象ウイルスとした。生産現場での作業を想定し、PVX 感染塊茎を接種源に用いた。

供試した PVX は種苗管理センター北海道中央農場保存株で、PVX 感染塊茎は健全ジャガイモ幼植物体（品種：男爵薯）に PVX 感染トマト葉を 5 倍量 (W/V) の 0.1M リン酸緩衝液 (pH7.0) を加えて磨砕した粗汁液を汁液接種し、ELISA で感染が確認された株から収穫したものを用いた。さらにウイルスの感染を塊茎別に逆転写 (RT)-ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) で確認したものを切断刀接種試験に用いた。ELISA は種苗管理センター北海道中央農場作製抗血清を用いて、DAS 法により行った。RT-PCR は佐藤らの方法（佐藤ら、2000）により行った。

PVX 感染塊茎の萌芽部分を含むように、塊茎を 2～4 個に切断・分割し、室温で静置した。翌日切断塊茎毎に切断刀を用いて萌芽部分から感染塊茎に切れ込みを入れ、切断刀を汚染させた。なお、接種源は接種 1 回ごとに新たな感染切断塊茎を用い、ウイルス感染を再確認するため、接種源として使用した後に種苗管理センター北海道中央農場温室内のポットに植え付け、30 日後に葉を採取して PVX の検出を ELISA で行った。切断刀の汚染後、円柱状ガラス容器（直径 9 cm × 高さ 20 cm）にマレイン酸（100%）を水道水で 20 倍希釈した溶液を入れ、切断刀の汚染部分を容器内の薬液に瞬間浸漬した。

表-3 PVX 汚染切断刀に対する薬剤の防除効果

供試薬剤	希釈倍数	反復	試料数	検出数	検出率 (%)
マレイン酸 100%	20	1	30	0	0.0
		2	29	0	0.0
		平均	29.5	0.0	0.0 a ¹⁾
中性次亜塩素酸カルシウム 70%	10	1	30	0	0.0
		2	29	0	0.0
		平均	29.5	0	0.0 a
無処理 ⁴⁾	—	1	26	20	0
		2	30	12	0
		平均	28.0	16.0	58.5 b

¹⁾ 異なる英文字間には多重比較検定法（Fisher の最小有意差法）で有意差あり。

その後直ちに健全塊茎の萌芽部分から切断刀で切れ込みを入れ、接種を行った。対照として同型の容器に中性次亜塩素酸カルシウム（70%）の水道水 10 倍希釈液と薬剤を加えない水道水を入れた。植え付け 20 日後に各株の葉を採取し、PVX の検出を ELISA で行った。その結果を表-3 に示す。

薬剤無処理区では 1 反復で 26 株中 20 株に、他 1 反復で 30 株中 12 株に PVX の感染が認められ、切断刀による伝搬率の平均は 58.5% となった。この接種圧の条件下で、マレイン酸処理区、中性次亜塩素酸カルシウム処理区では、PVX の感染は認められなかった。また、危険率 5% で無処理区とマレイン酸および中性次亜塩素酸カルシウム処理区で伝搬率の平均値に有意差が認められた。本試験のほかに、さらに高濃度のウイルスを接種することを想定して、PVX 感染トマト（品種：マグローブ）茎葉磨砕液を、切断刀に接種した試験を行ったが、

試験結果は上記と同様であったので、紙面の都合上省略する。

お わ り に

今回とは別に行った試験では、これら 3 種の病原菌はマレイン酸に接触すると瞬時に死滅することが観察されている（角ら、データ未公表）。マレイン酸の作用機作については、10～20 倍希釈液の強酸性（pH1.0 前後）が細菌を瞬時に殺菌し、ウイルス粒子を破壊するものと考えられる。3 種の細菌病害ともに汚染塊茎での保菌部位は維管束部であることから、切断刀への付着菌量に多少の相違はあっても、今回の室内試験の供試菌密度には及ばないし、実際の汚染塊茎を用いても十分な防除効果が得られると考えられる。ウイルスに関しても極めて高濃度の接種試験（結果省略）でも同様な防除効果であった。

なお、マレイン酸は食品添加物として認可されているリンゴ酸やコハク酸合成の主原料として利用されているフマル酸の幾何異性体である。

本試験で供試されたマレイン酸はすでに市販されており、容易に入手が可能である。

本剤は水に溶解させて調製・使用するが、水への溶解度は 25℃で 79 g/100 ml で、現在使用されている中性次亜塩素酸カルシウム（21 g/100 ml, 25℃）と比較して溶かしやすく、さらに有害な塩素ガスの発生もない。安全性は高いと考えられるが、マレイン酸の流通形態が微

粉末体であることから空气中に飛散しやすく、皮膚、眼および鼻咽頭に刺激を与えることがあり、溶解作業時にはマスクを着用するなど取り扱いには注意が必要である。

本試験において、時間経過や種いも切断時に薬液槽に混入するデンプンを含む塊茎残渣や土壌の混入に対しても pH の変動はほとんどなく、安定であった（データ未表示）。また、廃液処理については、処理用の中和剤（炭酸カルシウム）が添付されているので、添付指示書に従い適切に処理したのち、上清を一般排水、沈殿物を可燃物として廃棄することが可能である。切断刀消毒のための資材には販売に関しては該当する法令はなく、国の認可を取得する必要はない。

さらに現在は、トラクター装着の植付け機カッティングプランターの切断部の消毒への可能性を検討中である。これまでは中性次亜塩素酸カルシウム液に金属腐食性があることから適用が困難であったが、マレイン酸は金属腐食性が低いことが確認されているので問題とはならず、本資材の応用による省力化が今後期待される。

引 用 文 献

- 1) 北海道立中央農業試験場 (1998): 北海道における農作物および観賞植物の病害誌, 北海道立中央農業試験場, 長沼, 153 pp.
- 2) 堀田光生 (2006): 植物防疫 60: 37～39.
- 3) NAKAYAMA, T. et al. (2010): American Journal of Potato Research 87: 218～225.
- 4) 成田武四 (1958): 北海道立農試報告 8: 1～80.
- 5) OHSHIMA, K. et al. (2000): Plant Disease 84: 1109～1115.
- 6) 佐藤仁敏ら (2000): 北日本病虫研報 51: 87～92.

(新しく登録された農薬 30 ページからの続き)

22942: クミアイウルフェース粒剤 17 (クミアイ化学工業) 11/07/19

ベンスルフロンメチル: 0.17%, ベンチオカーブ: 5.0%, メフェナセツト: 1.0%

移植水稻: 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ウリカワ, ミズガヤツリ, クログワイ, オモダカ, ヒルムシロ, セリ, アオミドロ・藻類による表層はく離, ヘラオモダカ (北陸), コウキヤガラ (九州)

直播水稻: 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ウリカワ, ミズガヤツリ, ヒルムシロ, セリ, アオミドロ・藻類による表層はく離

22943: クミアイウルフェース粒剤 25 (クミアイ化学工業) 11/07/19

ベンスルフロンメチル: 0.25%, ベンチオカーブ: 5.0%, メフェナセツト: 1.5%

移植水稻: 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ウリカワ, ミズガヤツリ, ヘラオモダカ, ヒルムシロ, アオミドロ・藻類による表層はく離, エゾノサヤヌカグサ (北海道), シズイ (東北), セリ, オモダカ (東北), クログワイ

22944: クミアイウルフェース 1 キロ粒剤 51 (クミアイ化学

工業) 11/07/19

ベンスルフロンメチル: 0.51%, ベンチオカーブ: 15.0%, メフェナセツト: 3.0%

移植水稻: 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ウリカワ, ミズガヤツリ, クログワイ, オモダカ, ヒルムシロ, セリ, コウキヤガラ (九州), アオミドロ・藻類による表層はく離

直播水稻: 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ウリカワ, ミズガヤツリ, ヒルムシロ, セリ, アオミドロ・藻類による表層はく離

22945: クミアイウルフェース 1 キロ粒剤 75 (クミアイ化学工業) 11/07/19

ベンスルフロンメチル: 0.75%, ベンチオカーブ: 15.0%, メフェナセツト: 4.5%

移植水稻: 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ウリカワ, ミズガヤツリ, ヘラオモダカ, ヒルムシロ, クログワイ, セリ, エゾノサヤヌカグサ (北海道), シズイ (東北), オモダカ (東北), アオミドロ・藻類による表層はく離

●プロピザミド水和剤 ※新製剤

22946: カーブ SC (ダウ・ケミカル日本) 11/07/20

プロピザミド: 36.0%

日本芝: 一年生雑草 (キク科を除く)