

第5章 強酸性土壌における多発原因の解明

ジャガイモそうか病の病原菌の一つで、各地に広く分布している *Streptomyces scabies* は一般に弱酸性から弱アルカリ性の土壌で激しく発病し、pH が 5.2 以下の強酸性土壌になるとその発生は急激に減少する^{4,36,132,175}といわれてきた。このため、本病の防除法として石灰質資材の投入を控え、収量に悪影響を及ぼさない程度にまで土壌 pH を低く保つ栽培法^{27,100,101,113}が古くから行われてきた。ところが、最近、我が国の一部のジャガイモ栽培地域ではこのような強酸性土壌においても本病の発生が増加して、大きな被害をもたらすようになり、現場ではその対応に苦慮する事態となっている^{61,62,64}。

そこで、本章ではこの原因を明らかにするために、まず、現地の強酸性土壌における本病発生の実態を調査し、さらに、強酸性土壌で発生している罹病塊茎から病原 *Streptomyces* 属菌を分離して、それら各菌株の性状、形態を調べ、pH に対する反応並びに強酸性土壌での発病の再現試験を行った。

第1節 現地での発生状況と土壌 pH との関係

強酸性土壌におけるジャガイモそうか病の発生実態を明らかにするために、現地での発生状況と土壌 pH との関係を調査した。

試験方法

第2章で述べた方法と同様にして、佐賀県の畑作地帯である上場地域（東松浦郡鎮西町、玄海町、肥前町）のジャガイモ栽培ほ場における本病の発生状況を1981年秋作から1985年秋作まで5か年間、延べ9作にわたって調査した。すなわち、各ほ場の対角線上で等間隔に3か所を設定して調査地点を設け、各調査地点の面積を3.3 m²として、この中の全株を掘り取り、40 g 以上の塊茎について本病の発病状況を調べ、各調査地点の発病塊茎率を平均し、そのほ場の発病塊茎率とした。また、土壌 pH を調べるための土壌採取も同時に行い、各調査地点から採取した土壌を混合して測定した。

結果

調査した5か年延べ9作のなかで、発生が少なかった1983年、1984年および1985年の各春作を除いた6作について、本病の発生程度と土壌 pH との関係を示したものが

Fig. 8である。本病は強酸性土壌から弱アルカリ性土壌までの幅広い pH 域で発生が認められたが、各作ともに pH 5.2 以下の強酸性土壌のほ場でも激しく発生している事例が多数認められた。これらの土壌 pH 5.2 以下のほ場のなかで、本病の被害が実用上問題となる発病塊茎率20%以上のほ場の割合は、1981年秋作で38.1%、1982年春作で38.8%、1984年秋作で50.0%、1985年秋作では31.3%に達していた。特に、pH 4.5 以下のほ場においても、1982年春作では発病塊茎率20%以上のほ場が11ほ場中4ほ場、1984年秋作では9ほ場中3ほ場存在しており、さらに、1982年春作では土壌 pH 3.9 のほ場でも21.5%の塊茎に発病がみられた例もあった。

以上のように、これまで本病が問題となることはないと言われてきた pH 5.2 以下の強酸性土壌においても本病は激しく発生していることが明らかとなった。

第2節 分離病原菌の性状

現地ほ場で発生しているジャガイモそうか病を引き起こす病原菌の分類学的所属について検討した。

試験方法

1981～1985年にわたり現地ほ場で採集した罹病塊茎から、第3章で述べた手法、すなわち、Harrisonの方法⁴⁴およびLawrenceの方法⁸¹を併用して病原放線菌の分離を行った。病原性の確認は第4章に示した切断萌芽茎接種法によって行い、病原菌株について全菌体のジアミノピメリン酸 (A₂pm) の分析を行い、細胞壁タイプ⁸⁵を判定し、さらに、孢子鎖の形態を光学顕微鏡で観察した。

結果

1981～1985年にかけて罹病塊茎から分離され、切断萌芽茎接種法によってジャガイモに病原性が確認された203菌株は、すべて菌体にLL-ジアミノピメリン酸を含んでいた。これはLechevalierらの分類⁸⁵によると、細胞壁タイプI型で、*Streptomyces* 属に所属していた。さらに、これらの菌株はPlate IVに示すような孢子鎖の形態がらせん状の121菌株 (S型菌) と直～波状の82菌株 (RF型菌) に分けられ、第3章の結果から、S型菌は *S. scabies*、RF型菌は *S. acidiscabies* と同定された。

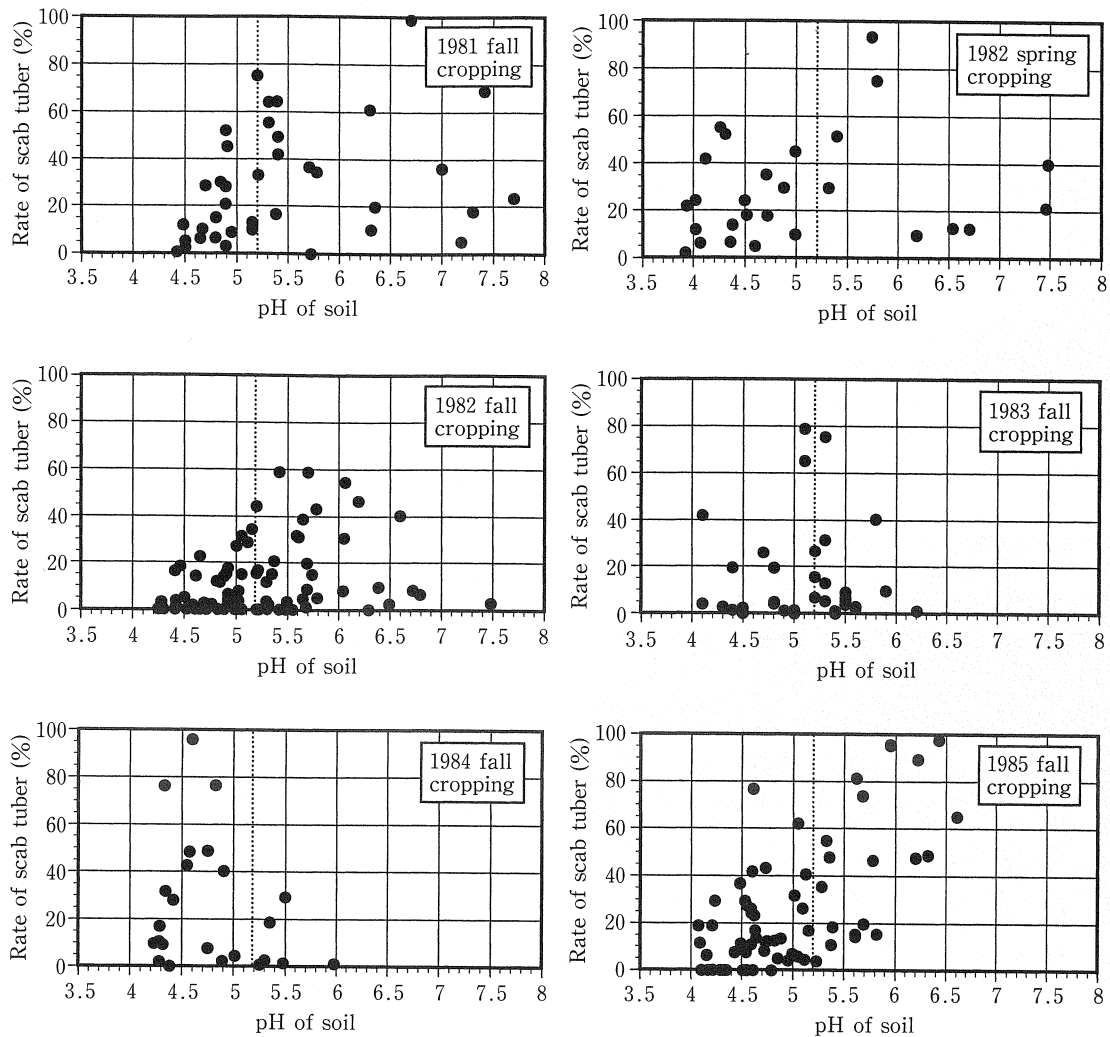


Fig. 8 Relation between occurrence of scab tuber of potato caused by *Streptomyces* spp. and pH (H₂O) value of soil in each field for five years from 1981 to 1985.

第3節 強酸性土壌における発病状況と 分離病原菌の比較

当該地域では第1節に示すように、これまでジャガイモそうか病が問題となることはないと言われてきた pH 5.2 以下の強酸性土壌においても、本病が激しく発生していることが明らかとなった。そこで、強酸性土壌における本病の発生状況と罹病塊茎から分離される病原菌の関係について検討した。

試験方法

1985年の春作に調査した28ほ場のなかで、pH 5.2以下の強酸性土壌のほ場が15ほ場あり、そのうち発病が認められたのは7ほ場であった。そこで、これら7ほ場について土壌 pH と塊茎の発病率を調査し、また、罹病塊茎か

ら病原 *Streptomyces* 属菌を分離して種を調べた。

結 果

Table 15 に示すように、発病塊茎率が 0.6~2.8% と極めて発生が少ない4ほ場について、その罹病塊茎から分離された病原 *Streptomyces* 属菌 44 菌株のうち、43 菌株は *S. scabies* であった。一方、pH 5.2 以下の強酸性土壌であるにもかかわらず 18.6~43.4% の塊茎に発生が認められた3ほ場では、分離された病原 *Streptomyces* 属菌 71 菌株のうち、61 菌株は *S. acidiscabies* であるのに対し、*S. scabies* は 10 菌株であった。このように、強酸性土壌で多発した罹病塊茎から分離される病原菌の大部分は *S. acidiscabies* であることが判明した。

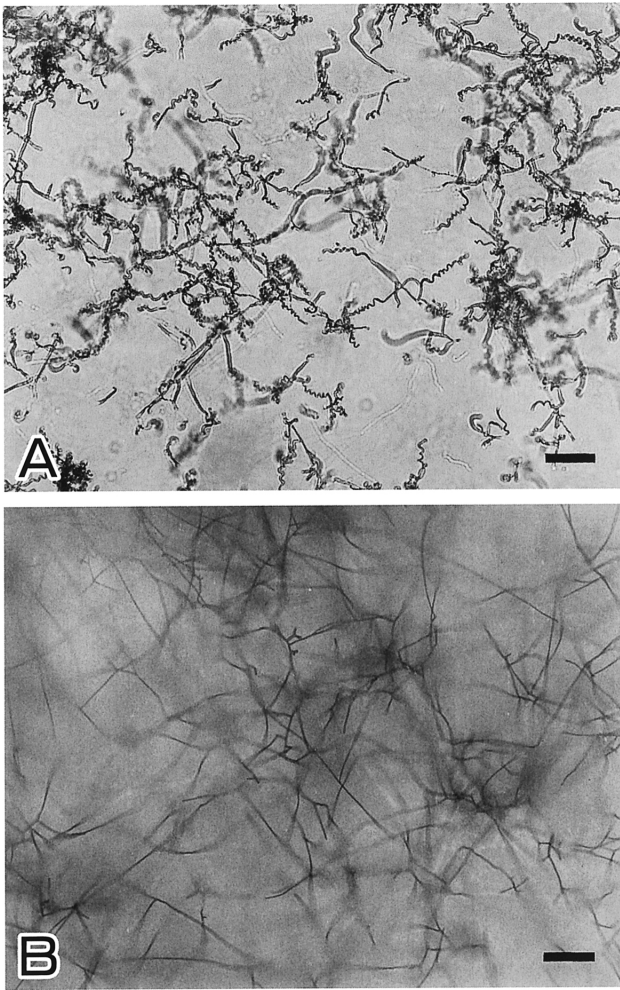


Plate IV Morphology of spore chains of *Streptomyces* sp. causing potato scab (Bar=10µm).

- A. Spiral spore chains of *S. scabies*
- B. Rectiflexible spore chains of *S. acidiscabies*

Table 15. Occurrence of scab and species of pathogenic *Streptomyces* spp. from scab tuber of potato planted in high acidic soil^{a)}.

Field No.	Soil pH	Rate of scab tuber (%)	Number of isolate	
			<i>S. scabies</i>	<i>S. acidiscabies</i>
Y-1	4.3	0.6	4	0
Y-2	4.2	2.8	26	1
Y-3	4.2	0.6	5	0
A-3	4.5	1.3	8	0
Total			43	1
A-1	5.1	43.4	8	22
T-1	4.5	18.6	2	23
T-2	4.3	21.3	0	16
Total			10	61

a) Spring cropping in 1985.

第4節 pH調整平板培地における *S. scabies* と *S. acidiscabies* の生育の比較

2種のジャガイモそうか病菌 *S. scabies* と *S. acidiscabies* の pH に対する反応を明らかにするために、各 pH 値に調整した平板培地上での生育を調べた。

試験方法

罹病塊茎から分離され、切断萌芽茎接種法によって病原性が確認された *S. scabies* 106 菌株および *S. acidiscabies* 59 菌株の計 165 菌株を用い、各菌株の濃厚孢子懸濁液を準備し、一方、0.02 M クエン酸緩衝液 (クエン酸, リン酸 2 ナトリウム) を用いて pH を 4.0~6.5 までの 6 段階に調整した培地 (イーストエキス 0.5g, アスパラギン 1.0g, グルコース 0.5g, グリセロール 5.0g, MgSO₄·7H₂O 0.01g, CaCl₂·2H₂O 0.01g, K₂HPO₄ 0.1g, 寒天 20g, 蒸留水 1,000 ml) をペトリ皿に 10 ml ずつ分注して、固化後、これに先の濃厚孢子懸濁液を塗抹接種し、25°C で 7 日間培養後に菌叢生育の有無を調べ、各 pH 値における生育菌株率を求めた。なお、培地の pH 値はオートクレーブ処理後の値である。

結果

Fig. 9 に示すように、*S. scabies* は pH 5.5~6.5 の範囲では供試した 106 菌株すべてが生育したが、pH 5.0 で生

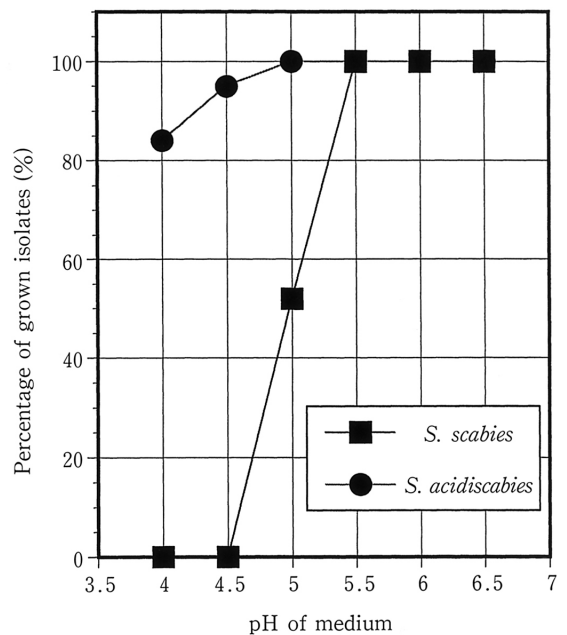


Fig. 9 Growth of *S. scabies* (106 isolates) and *S. acidiscabies* (59 isolates) on media adjusted to different pH values.

育したのは約半数の 55 菌株で、pH 4.5 以下の強酸性域では生育する菌株は全くみられなかった。これに対して、*S. acidiscabies* 59 菌株のうち約 95% の菌株が pH 4.5 まで、また、約 84% の菌株が pH 4.0 まで生育した。なお *S. acidiscabies* の pH 4.5 での菌そう生育は pH 6.5 の場合と同程度であったが、pH 4.0 では pH 6.5 に比べて菌そう密度が劣っていた。

第 5 節 培地 pH を異にした場合の *S. scabies* と *S. acidiscabies* の菌体中における ATP 生成量の比較

2 種のジャガイモそうか病菌 *S. scabies* と *S. acidiscabies* の生育に及ぼす pH の影響を定量的に解析するために、各 pH 条件下で培養した菌体中の ATP (アデノシン 3 リン酸) 生成量を調べた。

試験方法

S. scabies と *S. acidiscabies* の菌体中における ATP 生成量が、異なる培地 pH によってどのような影響を受けるかにつき、Miyashita らの方法¹¹⁾ に準じて検討した。まず、0.02M・クエン酸緩衝液を用いて、第 4 節に示したものと同一組成の液体培地の pH を 4.0~8.0 までの 7 段階に調整し、液体培地 10 ml に対して濃厚孢子懸濁液を 0.2 ml ずつ接種した。供試菌株として、*S. scabies* (S-131) と *S. acidiscabies* (S-151) を用いた。すなわち、両菌を 25°C で 3 日間振とう培養後、遠心分離 (2,500rpm, 5 分) によって培養菌体を沈澱させ、回収し、この菌体を小試験管に移し、TCA (トリクロロ酢酸) を 2 ml 加え、20 秒間攪はん後、1 分間沸騰水中に浸漬し、その後、15 分間、冷水 (0°C) 中に静置して ATP の抽出を行った。この ATP 抽出試料 100 μ l と Firefly Lantern 抽出物 100 μ l を Tris 緩衝液 (100 mM-Tris, 20 mM・MgSO₄, 2 mM-EDTA) 10 ml に加え、ATP-Photometer (Model-2000 : SAI Technology Co.) を用いて生成 ATP 量の測定を行い、最も良好に生成された pH 値における生成量を 100 として、他の pH 値における生成量を相対値として求めた。

結 果

培養菌体中の ATP 生成量を調べたところ、Fig. 10 に示すように、*S. scabies* (S-131) では培地の pH が 4.0~5.0 と低い場合にはその生成は少ないが、pH 5.5 になると急に増加し、pH 6.0 で最高となり、それ以上の pH 域では pH 8.0 までゆるやかに減少した。これに対して、*S. acidiscabies* (S-151) では培地の pH が 4.0 および 4.5 と

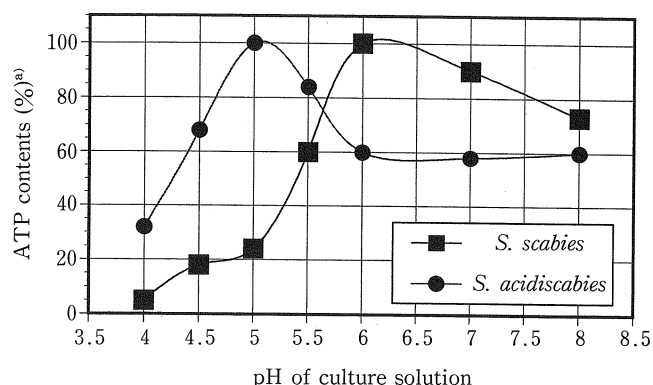


Fig. 10. ATP productivity of two potato scab pathogens, *S. scabies* (S-131) and *S. acidiscabies* (S-151), in culture solutions adjusted to different pH values.

a) A percentage of the ATP productivity of two potato scab pathogens taken as 100 at pH value of 5 in *S. acidiscabies* (S-151) and that of 6 in *S. scabies* (S-131).

強酸性条件下であっても最適値である pH 5.0 のそれぞれ約 30% および約 65% が生成され、pH 5.0 で最高となり、pH 5.5 から 6.0 で減少し、それ以上の pH 域では pH 8.0 まで同程度で、pH 5.0 の場合の約 60% であった。

第 6 節 pH 調整土壌での菌接種による発病の実証

第 5 節までに得られた結果から、*S. acidiscabies* は強酸性土壌で発生するそうか病からの分離頻度が高く、さらに、*S. scabies* よりも低 pH 域での生育が良好なことが明らかになったため、強酸性土壌で発生しているそうか病の病原菌であることが示唆された。そこで、本節では強酸性土壌における *S. acidiscabies* による発生について実証試験を試みた。

試験方法

試験ほ場として開畑直後の石灰質資材を施用していないジャガイモ未栽培地を用い、植え付け前にクロロピクリンによる土壌消毒 (施用量: 40 l/10 a) を行った。試験区の規模は 1 区 7.5 m² (2.5 m×3.0, 50 株) の 2 連制とし、試験区間の土壌および雨水の移動を防ぐために各試験区の境界を地上 20 cm の高さまで、また、地下 30 cm の深さまで塩化ビニール製の波板で区切った。作付け前の土壌 pH は 4.5 前後で、強酸性であったことからそのまま強酸性土壌区として設定し、さらに、試験区土壌の炭酸カルシウムと pH との緩衝曲線を求め、微酸性土壌区として pH が 6.5 となるように炭酸カルシウムを施用した。供試菌株として、前記と同様に *S. scabies* (S-131) と *S. acidiscabies*

(S-151) を用い、1986年9月6日に、接種源として前記の液体培地で14日間振とう培養した両菌株の菌体浮遊液500 ml を殺菌蒸留水10 l に希釈し、これを各試験区の土壌に混和した。その後、直ちに、80%エタノールに3分間浸漬して表面殺菌を行ったジャガイモ塊茎(品種:デジマ)を植え付け、試験区間の汚染を防止するためにポリエチレンフィルムで地表面を被覆した。なお、9月下旬まではマルチングによって土壌が高温状態になるのを抑えるために、麦わらをポリエチレンフィルム上に敷いた。12月17日に1区25株を掘り取り、40g以上の塊茎について発病塊茎率を求め、下記の式より発病度を算出した。また、罹病塊茎から病原菌の分離を行い、分離菌株の病原性およびその形態を調査した。さらに、その後同一試験区で1987年春作および同年秋作まで栽培を継続して同様の調査を行った。

$$\text{発病度} = \frac{\sum (\text{発病程度別塊茎数} \times \text{指数})}{4 \times \text{調査塊茎数}} \times 100$$

発病程度1 (指数1): 1塊茎あたりの病斑数が1~3個、
 発病程度2 (指数2): 1塊茎あたりの病斑数が4~10個、
 発病程度3 (指数3): 1塊茎あたりの病斑数が11~20個
 または病斑面積率が13~25%、発病程度4 (指数4): 1塊茎あたりの病斑数が21個以上または病斑面積率が26%以上。

結 果

pHを強酸性(pH 4.4~4.6)および微酸性(pH 6.5)に調整した畑土壌におけるジャガイモそうか病の発生を調査したものがTable 16およびPlate Vである。クロルピクリン処理直後の1986年秋作では、*S. scabies* (S-131)を接種した場合、pH 6.5の微酸性条件下では発病塊茎率37.5%で中程度の発生がみられ、一方、pH 4.6の強酸性土壌では同5.9%と極めて少ない発生であった。これに対して、*S. acidiscabies* (S-151)を接種した場合、pH 6.5およびpH 4.4の土壌のいずれにおいても発病塊茎率は56%前後と多発し、その発病程度も高かった。また、罹病

塊茎から病原菌の再分離を行った結果、それぞれ接種菌株と同一の菌株が分離された。その後、2作目である1987年の春作での発病は全体的に少なかったが、すべての処理区で前作と同様の傾向が認められた。3作目の1987年の秋作になると、*S. scabies* 接種区では初作目である前年の秋作と同程度の発病がみられ、土壌pHに対する反応も前作までと同様であった。これに対して、*S. acidiscabies* 接種区での両pHの土壌における発病傾向はこれまでと同様であったが、強酸性土壌区での発病塊茎率は19.0%、微酸性区では同25.0%となっており、初作目よりも発生が大幅に減少した。なお、病原菌無接種区における発病は3作を通じて認められなかった。

第7節 考 察

これまでジャガイモそうか病は一般にpH 5.2以下の強酸性土壌では発生が極めて少ないことから、土壌pHを5.0~5.3程度に保つことによって本病の防除は可能である^{4,27,36,100,101,132,175)}との多くの報告がなされてきた。ところが、今回の現地調査の結果から、本病はpHが5.2以下の強酸性土壌でも多く発生していることが明らかとなり、さらに、一部ではpH 4.0以下の極めて酸性度の高い土壌においても中程度の発生がみられる場合があった。このような強酸性土壌の罹病塊茎からは直~波状の孢子鎖を形成する*S. acidiscabies*が高率に分離され、孢子鎖がらせん状である*S. scabies*の分離率は低かった。このことから、強酸性土壌で被害をもたらしている病原菌は*S. acidiscabies*である可能性が示唆された。そこで、*in vitro*における*S. scabies*と*S. acidiscabies*のpHに対する反応を菌の生長について調べたところ、強酸性域での生育は明らかに*S. acidiscabies*が*S. scabies*に比べて優っていた。さらに、*S. acidiscabies*はpH 4.4という強酸性土壌でも強い病原性を示すことがほ場試験で実証された。このことから、強酸性土壌で発生するそうか病の病原菌は*S. acidiscabies*であることが証明され、強酸性土壌でも病原性を発揮するこ

Table 16. Severity of scab of potato planted in highly or slightly acidic field soils infested with *S. scabies* (S-131) and *S. acidiscabies* (S-151), respectively

Pathogen	Fall cropping, 1986			Spring cropping, 1987			Fall cropping, 1987		
	Soil pH	Scab tuber (%)	Disease severity	Soil pH	Scab tuber (%)	Disease severity	Soil pH	Scab tuber (%)	Disease severity
<i>S. scabies</i>	4.6	5.9	2.0	4.7	1.0	0.3	4.6	6.0	1.7
	6.5	37.5	15.9	6.3	13.0	3.4	6.0	41.4	13.0
<i>S. acidiscabies</i>	4.4	56.5	24.3	4.6	12.0	3.5	4.5	19.0	5.5
	6.5	55.5	26.2	6.4	6.0	2.2	6.0	25.0	6.6

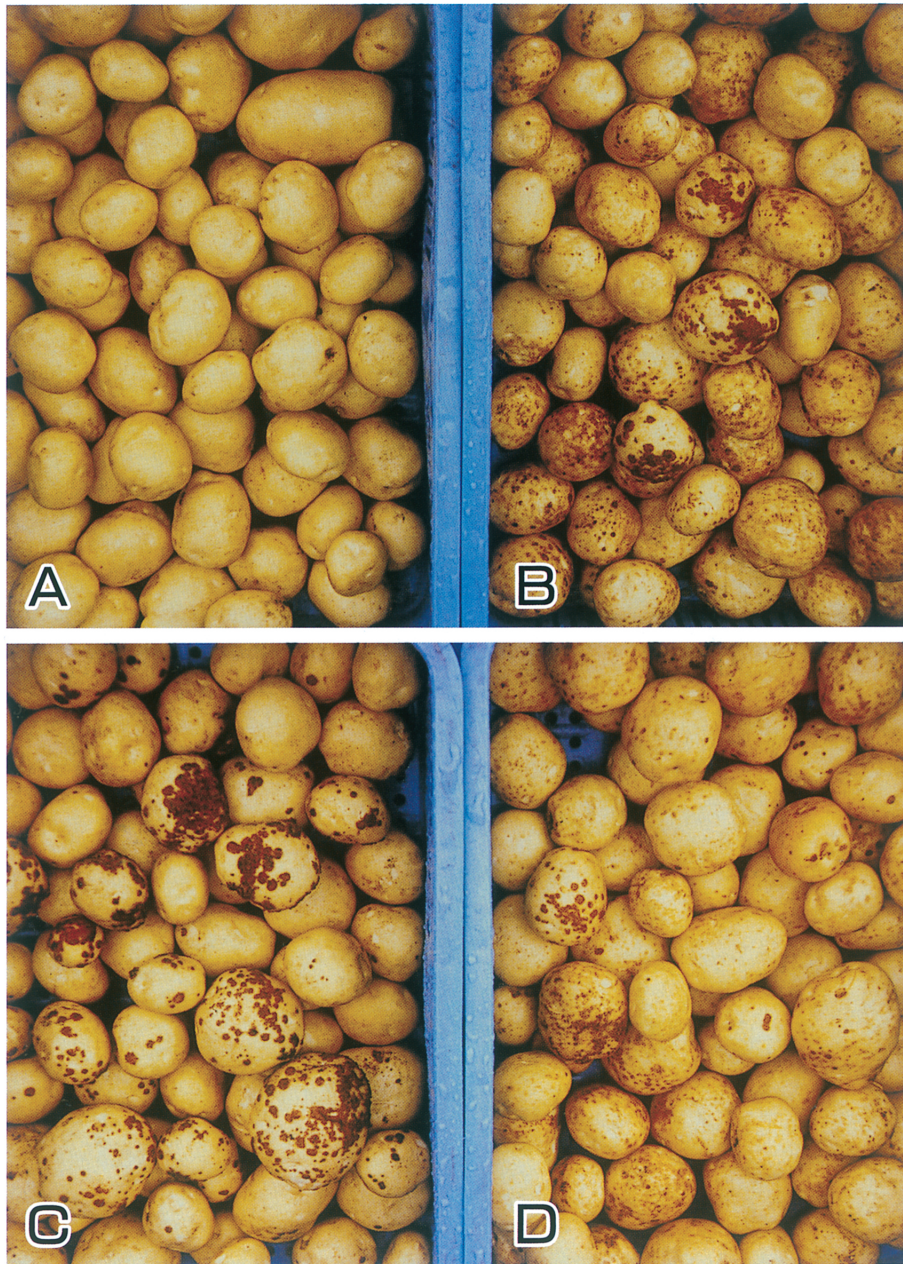


Plate V Scab symptoms of potato planted in slightly or highly acidic soil.

- A. Potato planted in highly acidic soil (pH4.6) by inoculation with *S. scabies* (S-131)
- B. Potato planted in slightly acidic soil (pH6.5) by inoculation with *S. scabies* (S-131)
- C. Potato planted in highly acidic soil (pH4.5) by inoculation with *S. acidiscabies* (S-151)
- D. Potato planted in slightly acidic soil (pH6.5) by inoculation with *S. acidiscabies* (S-151)

とのできる病原菌の存在が我が国で初めて確認された。

強酸性土壌における本病の発生については Bonde らにより uncommonscab として最初に報告されており¹⁰⁾、その病原菌については孢子鎖の形態が直〜波状であることを記載している。その後、Manzer らにより強酸性土壌で発生するそうか病の病原 *Streptomyces* 属菌は強酸性土壌では病原性を発揮することのできない普通のそうか病菌 (*S.*

scabies) と比較して色素産生、ラフィノースの利用能、孢子鎖の形態、低 pH に対する耐性の面で異なっている⁹⁸⁾ こと、また、Hughes らにより菌体タンパク質の電気泳動像も両者の間に差がみられる⁵⁵⁾ ことがそれぞれ報告されており、強酸性土壌でそうか病を引き起こす病原菌は普通のそうか病菌とは形態・性質などの点で異なることがすでに知られていた。さらには、強酸性土壌で発生するそうか

病はアメリカ北東部の多くの地域で見られることが Loria により報告され⁹¹⁾、その病原菌として *Streptomyces acidiscabies* が提案された⁷³⁾。一方、普通のそうか病 (common scab) の病原菌である *S. scabies* は 1974 年以來、不確定種とされてきたが、1989 年に種名が復活されている⁷²⁾。

なお、*S. acidiscabies* による本病の発生はクロロピクリンによる土壤消毒を行った直後の土壤では激しかったが、その後、時間の経過と共に強酸性土壤および微酸性土壤のいずれにおいても発生は減少する傾向にあった。これに対して、*S. scabies* 接種土壤での発生程度はクロロピクリン処理後 1 年を経過してもほとんど変わらなかった。このことは *S. scabies* よりも *S. acidiscabies* が一般土壤微生物に

よる発病抑制を受けやすいことを示しているように思われた。同様に Manzer らは強酸性土壤で発生するそうか病菌の土壤中での生存能力は比較的弱いことを指摘しており、罹病種いもによる病原菌の持ち込みがその主要な発生要因であるとしている⁹⁸⁾。

ところで、pH 5.2 以下の強酸性土壤の罹病塊茎からは *S. scabies* も低率ではあるが分離され、*S. scabies* の存在が確認された。この現象はほ場内の土壤 pH の不均一性に起因するとも考えられるが、一方で *S. scabies* は強酸性土壤条件下でも生存が可能で、石灰質資材等の施用によって pH が上昇した場合には発病が促進させられる可能性のあることを示唆するものである。