

学 位 論 文 題 名

テンサイの貯蔵腐敗に関する研究

学位論文内容の要旨

テンサイ貯蔵腐敗病の病原糸状菌および病原細菌の特定、これらによる菜根の品質変化、大型パイルにおける本病の発生と微生物環境の関係、および貯蔵腐敗病の制御に関する研究を行った。

1. 貯蔵腐敗病の病原と菜根の品質変化

貯蔵菜根には 4 科 19 属 28 種の糸状菌が認められ、腐敗組織から 12 属 16 種が分離された。菜根表面に発生する糸状菌にかかわらず、内部の腐敗組織からは *Botrytis* sp. が高率で分離された。接種試験の結果 *Botrytis* sp. の病原性が最も強く、*Fusarium* sp.、*Penicillium* sp. および *Phoma* sp. にも明瞭な病原性が認められ、これら 4 種を *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr.、*Fusarium culmorum* (W. G. Smith) Sacc.、*Penicillium expansum* Link ex Gray emend. Thom. および *Phoma betae* Frank と同定した。

貯蔵腐敗病罹病テンサイ、灰色かび病罹病の 4 農作物から分離した *B. cinerea* 菌株は、全て PDA、-2~30℃ で生育し、35℃ では生育しなかった。1 菌株を除き、生育最適温度は 20℃ であった。供試した菌株は全てテンサイに明瞭な病原性を示した。手堀収穫した菜根では、貯蔵腐敗病の病斑がタッピングの部位に集中していたが、機械収穫により損傷を受けた菜根では、腐敗個体率の増加とともに、全ての部位に病斑が出現した。*B. cinerea* の菌叢は角皮感染ができず、菜根の周皮剥離部からのみ感染した。分生孢子接種でも同様に傷感染が可能だったが、菌叢接種に比べると病斑はかなり小さかった。

貯蔵腐敗病により組織が腐敗した菜根では、根中糖分および pH が明瞭に低下し、還元糖が顕著に増加した。ラフィノース、ブリックス、全窒素も低下したが、カリウムおよびナトリウムは変化しなかった。罹病菜根を、腐敗組織と未腐敗の組織に分割して測定すると、腐敗組織では根中糖分と pH が著しく低下していたが、未腐敗の組織では、これらが健全な菜根と同等の値を示した。菜根の腐敗面積と、根中糖分との間には高い負の、還元糖との間には高い正の 2 次相関が認められた。滅菌した菜根圧搾汁、スクロースを炭素源とする培養液に *B. cinerea* または *P. expansum* を接種すると、腐敗菜根とほぼ同様の变化が認められたが、ラフィノースは低下しなかった。有機酸ではクエン酸が顕著に増加した。

上川地方の堆積直後から常に湿潤な状態にあるパイルで、明らかな軟腐症状が出現することを確認した。埴土、埴壤土および砂壤土畑から土壌（畑土）を採取し、同時に、収穫した菜根に付着し、パイラーの除土装置により除去される土壌（遊離土）を採取し、これらを健全なテンサイに塗布して貯蔵すると、埴土遊離土を塗布した時のみ、激しい軟腐症状が出現した。症状の出現部位からはグラム陽性球菌が分離された。

パイル内で軟腐症状を生じた菜根から分離したグラム陰性桿菌は、タバコ葉に過敏反応を生じ、*Erwinia carotovora* (Jones) Bergey, Harrison, Breed, Hammer and Huntoon と同定された。パイルおよび土壌塗布実験に用いた菜根から分離したグラム陽性球菌には、タバコに過敏反応を生じ、ジャガイモ塊茎およびテンサイ菜根に明瞭な壊死を生じる菌株があり、*Leuconostoc mesenteroides* (Tsenkvskii) van Tieghem と同定された。本細菌による新病害に、テンサイロイコノストック貯蔵腐敗病の病名を提案した。

パイル内で軟腐症状を生じた菜根は、糸状菌による腐敗菜根とほぼ同様の品質変化を示した。滅菌した菜根圧搾汁、スクロースを主な炭素源とする培養液に、*L. mesenteroides* または *E. carotovora* を接種する時も、*B. cinerea* または *P. expansum* 接種時とほぼ同様の変化が認められた。しかし、*E. carotovora* 接種時にはラフィノースの顕著な低下が認められ、有機酸では、*L. mesenteroides* 接種で D(-)-乳酸が特異的に増加し、*E. carotovora* 接種ではギ酸、D(-)-乳酸、L(+)-乳酸およびコハク酸が増加した。

2. パイル内に棲息する糸状菌と環境

パイル内の菜根表面に発生する糸状菌には、5 つの主要な菌叢型が認められた。Botrytis 型はパイルの全ての部位に高率で発生した。Penicillium 型も全ての部位に発生したが、Botrytis 型に比べて平均発生率は低かった。しかし、天場での発生率はこれを上回った。Fusarium 型も全ての部位で観察されたが、発生はかなり少なかった。Cladosporium 型は主に乾燥した側面に、Geotrichum 型は主に湿潤な天場に発生した。パイル天場における糸状菌発生個体は、堆積 15 日後の 11 月中旬から認められ、以後、漸増した。発生する菌叢型中、Botrytis 型は 11 月中旬から認められ、漸増した。Penicillium 型も早期から観察されたが、1 月以降になって漸増した。Fusarium 型は 2 月中旬以後にわずかに発生した。Cladosporium 型は 11 月中旬から観察されたが、12 月中旬を境に、以後ほとんど観察されなくなった。Geotrichum 型は貯蔵期間の前半には観察されず、1 月中旬以降から観察され、急増した。パイル天場の空間内に浮遊する主要な糸状菌胞子は *Cladosporium*、*Botrytis* および *Penicillium* の 3 属で、*Cladosporium* は、パイル堆積直後には構成比の半分を占めていたが漸減し、代わって *Botrytis* の構成比が漸増した。*Botrytis* の構成比と、パイル内の腐敗の進行、特に腐敗個体率との間には、高い正の相関が認められた。

底辺 22 m、高さ 4.5 m、長さ約 100 m のパイルを、平均 115 日間貯蔵する実験を、3 カ年行った結果、パイル内の日平均温度は 3.5℃、菜根の腐敗程度は、0~5 の指数で平均 0.20 となった。期間中の砂糖損失量は、菜根が含有する全砂糖量の 5.5 % に達し、日平均 79 g/t/day となった。腐敗程度、砂糖損失量とも、パイルの部位により大きく異なったが、パイル内温度と密接な関係があり、日平均温度と、腐敗程度および砂糖損失量との間には有意な正の相関が認められた。

3. 貯蔵腐敗病の制御

収穫した菜根を、短期間に最大 20% まで乾燥して貯蔵すると、乾燥割合が高くなるにしたがって腐敗が激しくなり、逆に、長期間にわたって 10% まで徐々に吸水させると、吸水割合が高いほど腐敗が減少し、根中糖分の低下と還元糖の増加が抑制された。

手堀した菜根を長期間、低温域で貯蔵し、呼吸および腐敗による砂糖損失量を比較した結果、平均 9.3℃ で貯蔵する時の、呼吸による砂糖損失量は 59 g/t/day、腐敗による値は 16 g/t/day、平均 4.5℃ で貯蔵する時は、各々 37 g/t/day、12 g/t/day

と算出され、呼吸または腐敗による砂糖損失量とも、氷点に近づくほど抑制された。

殺菌剤および食品添加物による貯蔵腐敗病の防除効果を検討した結果、ジクロランとチアベンダゾールの効果が高く、両者では、ジクロランが安定して貯蔵腐敗病の発生と砂糖の損失を抑制した。

土壌 133 点、菜根組織片 36 点を材料に、3114 細菌株を分離し、*B. cinerea* と *P. expansum* の両病原菌に抗菌活性を有し、低温での生育が可能で、テンサイに対する病原性がなく、かつ、選抜時のテンサイ菜根における根中糖分の低下の小さい *Pseudomonas cepacia* の 5 菌株を得た。これら进行处理した菜根を長期間貯蔵すると、貯蔵腐敗病が明らかに抑制され、特に D-202 菌株では、腐敗株率および腐敗程度が、無処理の 3 分の 1 まで抑制されたが、砂糖損失量が無処理より小さくすることはできなかった。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 生 越 明

副 査 教 授 小 林 喜 六

副 査 教 授 喜久田 嘉 郎

副 査 助教授 近 藤 則 夫

学 位 論 文 題 名

テンサイの貯蔵腐敗に関する研究

本論文は、これまでほとんど研究のなかったテンサイ貯蔵腐敗病について、その病原糸状菌および病原細菌の特定、これらによる菜根の品質変化、大型パイルにおける本病の発生と微生物環境の関係、および貯蔵腐敗病の制御に関する研究をまとめたものである。

1. 貯蔵腐敗病の病原と菜根の品質変化

貯蔵菜根には4科19属28種の糸状菌が認められ、これらのうち12属16種は腐敗組織からも分離された。中でも *Botrytis* 菌が高率で分離され、菜根に対する病原性も強かった。明らかな病原性が認められた糸状菌は4種で、*Botrytis cinerea*、*Fusarium culmorum*、*Penicillium expansum* および *Phoma betae*と同定した。テンサイおよび他作物から分離した *B. cinerea* 菌株は全て-2~30℃で生育し、最適温度はほぼ20℃で、35℃では生育しなかった。これらは全てテンサイに明瞭な病原性を示した。*B. cinerea*の菌叢および分生胞子は、菜根に対して傷感染のみが可能で、両者の比較では菌叢の感染力がはるかに強かった。土質の異なる畑土、およびパイラーの除土装置により菜根から除去される土壌（遊離土）を、健全なテンサイに塗布して貯蔵すると、埴土遊離土を塗布した時にのみ激しい軟腐症状が出現し、グラム陽性球菌が分離された。軟腐症状を生じた菜根から分離され、病原性の認められたグラム陰性桿菌を *Erwinia carotovora*、グラム陽性球菌を *Leuconostoc mesenteroides*と同定した。*L. mesenteroides*による新病害に、テンサイロイコノストック貯蔵腐敗病の病名を提案した。貯蔵腐敗病の罹病菜根、軟腐症状出現菜根、*B. cinerea*、*P. expansum*、*L. mesenteroides*または *E. carotovora*を接種した圧搾汁または培養液では、いずれも根中糖分およびpHの明瞭な低下と、還元糖の顕著な増加が認められた。接種根の中 *B. cinerea* または *P. expansum*の接種では、クエン酸が顕著に増加し、*L. mesenteroides* の接種ではD(-)-乳酸が特異的に増加し、*E. carotovora* の接種ではラフィノースが顕著に低下し、比較的低分子の有機酸が増加した。腐敗菜根を、腐敗組織と未腐敗の組織に分割して測定すると、根中糖分、pHの低下は腐敗組織でのみ認められた。菜根の腐敗面積と根中糖分または還元糖との間には、高い2次相関が認められた。

2. パイル内に棲息する糸状菌と環境

菜根表面に発生する5つの主要な菌叢型の中、*Botrytis*型、*Penicillium*型および*Fusa*

rium型はパイルの全ての部位に、Cladosporium型は主に乾燥した側面に、Geotrichum型は主に湿潤な天場に発生した。パイル天場において、Botrytis型は堆積直後から認められ、漸増した。Penicillium 型も早期から観察されたが、1月以降に漸増した。Fusarium型は2月中旬以後にわずかに発生した。Cladosporium型は堆積直後から観察されたが、12月中旬を境にほとんど観察されなくなった。Geotrichum型は1月中旬以降から観察され、急増した。パイル天場の空間内には主に *Cladosporium*、*Botrytis* および *Penicillium* の分生胞子が浮遊しており、パイル堆積直後には *Cladosporium* が構成比の半分を占めていたが漸減し、代わって *Botrytis* の構成比が漸増した。*Botrytis* の構成比と腐敗個体率との間には高い正の相関が認められた。野外の大型パイルを、日平均温度3.5℃で平均115日間貯蔵した結果、菜根の腐敗程度は0～5の指数で平均0.20、期間中の砂糖損失量は、日平均79 g/t/dayとなった。パイル内温度と腐敗程度または砂糖損失量との間には有意な正の相関が認められた。

3. 貯蔵腐敗病の制御

収穫した菜根を短期間に乾燥して貯蔵すると、乾燥割合が高いほど腐敗が激しくなり、逆に、長期間にわたって徐々に吸水させると、吸水割合が高いほど腐敗が抑制された。手堀した菜根を長期間、低温域で貯蔵した結果、呼吸または腐敗による砂糖損失量とも氷点に近づくほど抑制され、平均4.5℃で貯蔵する時の値は、各々37 g/t/day、12 g/t/dayとなった。殺菌剤および食品添加物による貯蔵腐敗病の防除効果を検討した結果、ジクロランとチアベンダゾールの効果が高く、両者ではジクロランが安定していた。土壌および菜根組織片を材料に、3114細菌株を分離し、*B. cinerea* と *P. expansum* の両病原菌に抗菌活性を有する *Pseudomonas cepacia* の5菌株を得た。これら进行处理した菜根を長期間貯蔵すると、貯蔵腐敗病が顕著に抑制されたが、砂糖損失量を無処理より小さくすることはできなかった。

以上の研究成果は、これまで明らかでなかったテンサイの貯蔵腐敗について、その病原を明らかにし、その制御方法を提示したものであり、学術上応用上高く評価される。よって審査員一同は、内野浩克が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。