

## ショウガ青枯病の発生生態

矢野和孝・沖 友香\*・林 一沙・森田泰彰\*\*・堀田光生\*\*\*  
(高知県農業技術センター・\*高知県須崎農業振興センター・

\*\*元高知県農業技術センター・\*\*\*国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構)

### Ecology of Bacterial Wilt Caused by *Ralstonia solanacearum* on Ginger

By Kazutaka YANO, Tomoka OKI\*, Kazusa HAYASHI, Yasuaki MORITA\*\* and Mitsuo HORITA\*\*\*, (Kochi Agricultural Research Center, 1100 Hataeda, Nankoku, Kochi 783-0023, Japan; \*Susaki Agriculture Extension Center, 1-24 Nishifuruichimachi, Susaki, Kochi 785-0013, Japan; \*\*Former Kochi Agricultural Research Center; \*\*\*National Agriculture and Food Research Organization, 3-1-3 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8604, Japan)

**キーワード** : ショウガ, 青枯病, *Ralstonia solanacearum*, 発生生態

### 緒 言

ショウガ (*Zingiber officinale* (Willd.) Rosc.) は、ショウガ科の多年草で、3 世紀末には既に中国から日本に渡来していたとされ、古くから地下部の根茎や地上部の茎葉が食用や薬用に利用されている (川勝, 1990)。ショウガは、その利用部位の違いによって根ショウガ、葉ショウガと呼称されており (鈴木, 2001)、高知県では根茎が大きな大ショウガと呼ばれる根ショウガが露地を主体に施設でも栽培されている。2021 年の栽培面積は 432ha で、毎年約 16,000 t が出荷されており、高知県の野菜出荷額でみると第 3 位の重要な品目である (高知県, 2023)。

ショウガには根茎腐敗病 (桂・谷岡, 1967) や立枯病 (新須, 1967) などの土壌伝染性病害が発生する。これらの病害が発生すると、株全体が枯死して、時にほ場全体に被害が及ぶこともある。このため、土壌伝染性病害はショウガ栽培にとって大きな脅威であり、栽培開始前の土壌消毒は欠かすことができない栽培技術となっている (森田, 2012)。こ

のような状況の中で、1997 年に高知県において国内で初めて *Ralstonia solanacearum* による青枯病の発生が見られるようになり (土屋ら, 1999)、ショウガ栽培に新たな脅威が加わった。本病は以前から海外で発生が報告されており、また国内で発生するナス科植物等の青枯病菌はショウガ科植物に強い病原性を示さない (矢野ら, 2011) ことから、本病原細菌は海外から伝播した可能性が推測されている (土屋, 2008)。

青枯病菌は土壌中に長期間残存して次作の伝染源となり土壌伝染するため、防除には土壌消毒が必要になる。ところが、本病原細菌は土壌深部 (深さ 30cm 以上) にまで生息し、根茎腐敗病対策などで実施されている土くん蒸剤による土壌消毒では十分な効果が得られなかった (矢野ら, 2022)。矢野ら (2022) は、低濃度エタノールを用いた土壌還元消毒によって本病原細菌が分布する土壌深部まで消毒効果が得られることを報告し、土壌伝染対策として技術普及が進められている (農研機構, 2021)。しかし、病原細菌が灌漑用水などに混入していたり、雨水によって運ばれたりする水媒伝染

や、病原細菌が付着した根茎を次作の種に使用することで発病する種伝染に対しては有効な防除対策がない。そこで、これらの防除対策の開発に役立てるために本病の発生生態について調査したので、その概要について報告する。なお、本研究の一部は、2019年日本植物病理学会関西西部会において口頭発表した(矢野ら, 2020)。また、本研究の一部は、農研機構生研支援センター「イノベーション創出強化研究推進事業」の支援を受けて実施した研究課題「ショウガ科作物産地を維持するための青枯病対策技術の開発」の成果である。

## 材料および方法

### 1. 接種源の調製方法と接種方法

ショウガから分離した青枯病菌(菌株名:MAFF 211479)およびナスから分離した青枯病菌(菌株番号:MAFF 211282)をイースト・ペプトン・デキストロース液体培地(YPDB)で30°C, 150 rpm, 2日間振とう培養したものを比濁法によって所定の濃度に調整し、接種源として用いた。土壤灌注接種の場合には、約30 mL/ポットの割合で細菌液を株元に注いだ。穿刺接種の場合は細菌液を白金線の先端に付着させ、ショウガの地際部から約5 cm上の偽茎に突き刺した。

### 2. 青枯病菌の検出方法

#### 1) 希釈平板法

青枯病菌を土壤から検出する場合には、土壤10 gを滅菌水または0.5%のスキムミルク添加1 mM HEPES 緩衝液(pH 7.0) 100 mLで10分間振とうした後、約10分間静置し、上清およびその希釈液をそれぞれ100 µLずつ青枯病菌選択培地の改変SMSA平板培地(Denny and Hayward, 2001)上に注ぎ、コンラージ棒で塗布した。30°C, 3日間培養後、出現した青枯病菌の集落を計数し、生土1 g当たりの菌数を算出した。

水から検出する場合には、用いる水の原液100 µLを改変SMSA平板培地上に注ぎ、コンラージ棒で塗布した。同様な培養方法と調査方法で水1 mL当たりの青枯病菌濃度を算出した。

ショウガ根茎から検出する場合には、1次茎付近の根茎を30~100 g程度に分割し、土壤が付着した状態で100 mLの滅菌水または0.5%のスキムミルク添加1 mM HEPES 緩衝液(pH 7.0)が入ったポリエチレン袋(約20cm×18cm)に入れ、10分間、200 rpmで振とうして土壤懸濁液を得た。この土壤懸濁液およびその希釈液を同様に改変SMSA平板培地上で培養し、根茎1 g当たりの青枯病菌数を算出した。なお、いずれも1サンプルにつきペトリ皿3枚の改変SMSA平板培地を用いた。

#### 2) Bio-PCR法

Inoue and Nakaho (2014)の方法を改変して実施した。すなわち、土壤10 gを0.5%のスキムミルク添加1 mM HEPES 緩衝液(pH 7.0) 100 mLに入れ、10分間振とう、10分間静置後、上清5 mLを改変SMSA液体培地45 mLに入れ、25°C, 150 rpmで3日間振とう培養した。培養後は培養液1 mLに1 MのNaOHを50 µL加え、100°C, 10分間加熱後、遠心分離で得た上清500 µLに3Mの酢酸ナトリウム溶液(pH 5.2) 50 µLを加え、エタノール沈殿によりDNAを回収した。最後にTris-EDTA 緩衝液(pH 8.0) 50 µLを加えてDNAを溶解し、その20倍希釈液5 µLを鋳型とし、nested-PCRを実施した。最初のPCRは、プライマー(fliC3f: 5'-CCTCAATACCAACATCTCGT-3', fliC3r: 5'-CGTAGTCGGTATCGATCAG-3')をそれぞれ0.16 µM, dNTP Mixtureを0.2 mM, Takara EX Taq DNA Polymerase(タカラバイオ)を1 unitの最終濃度に調整し、添付バッファーを10倍希釈で加えて反応液の全量を20 µLとした。サーマルサイクラー(T100, BIO-RAD)を用いて、95°Cで3分のプレヒートの後、95°Cで15秒、60°Cで30秒、72°Cで30秒を35サイクル、最後に72°Cで5分反応させた。2回目のPCRは、1回目のPCR産物2 µLに蒸留水5 µLを加えて希釈し、これの5 µLを鋳型として1回目のPCRと同様に実施した。ただし、プライマーはfliCf(5'-GAACGCCAACGGTGCGAACT-3')およびfliCr(5'-GGCGCCTTCAGGGAGGTC-3')を使用し、反応は95°Cで3分のプレヒートの後、95°Cで15秒、63°Cで15秒、72°Cで15秒を30サイクル、最後に72°Cで5分とした。PCR産物は2%アガロースゲルを用いて電気泳動し、エチジウムブロマイド染色後、

紫外線照射下で 400 bp 付近に出現するバンドの有無を観察した。

また、根茎から検出する場合も前項の希釈平板法で記述した土壌懸濁液の上清から同様な方法で実施した。

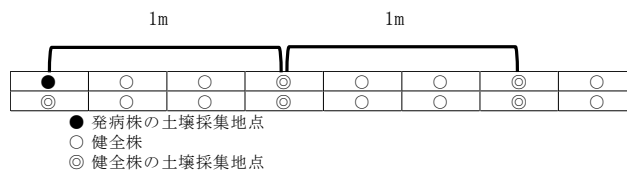
### 3) リアルタイム PCR 法

回収した水 10mL について、塩化ベンジル法を更に簡便化した改変塩化ベンジル法(景山法)(平山, 2012)を用いて DNA 抽出した。すなわち、回収水を遠心分離(4000 rpm, 10 min.)後、上清を除去し、ガラスビーズ(径 1.0 mm) 0.2 g, スキムミルク(0.2 g/mL) 10  $\mu$ L, 抽出バッファー(100 mM Tris-HCl, 0.5 M EDTA, pH 9.0) 250  $\mu$ L, 10%SDS 50  $\mu$ L, 塩化ベンジル 150  $\mu$ L を加え、ボルテックスした。60°C ウォーターバス内で 15 分間処理後、3 M 酢酸ナトリウム 150  $\mu$ L を加え、転倒混和した。氷上で 15 分間静置後、遠心分離(15,000 rpm, 10 min.)し、上清 300  $\mu$ L を DNA 精製に供した。精製方法は MagExtractor -PCR & Gel Clean up- (東洋紡) のプロトコルに従った。得られた DNA 溶液を SYBR 法によるリアルタイム PCR に供した。プライマーは RSF (5' -GTGCCTGCCTCCAAAACGACT- 3'), RSR (5' -GACGCCACCCGCATCCCTC -3') (Chen *et al.*, 2010) を使用し、反応組成液は THUNDERBIRD SYBR qPCR Mix (東洋紡) のプロトコルに従った。鋳型 DNA は 1 $\mu$ L とし、LightCycler 96 (ロシュ・ダイアグノスティックス) により 95°C 2 分間の熱変性の後、95°C で 15 秒, 62°C で 25 秒, 72°C で 35 秒を 40 サイクル行った。最後に 85°C で 10 秒, 65°C で 1 分間反応させた。検量線作成に用いるスタンダード DNA は YPDB 培地で 2 日間振とう培養したショウガ青枯病菌(菌株名:MAFF 211479)を 9 段階( $10^1 \sim 10^9$ cfu/mL)に希釈したものを用いた。

### 3. ショウガ青枯病発生ほ場における病原細菌の垂直および水平分布

2018 年 10 月 26 日に南国市のショウガ青枯病発生ほ場から採集した土壌を調査した。垂直分布は発病時期が異なる 2 地点からライナー採土器(DIK-110C, Daiki)を用いて、0~30 cm および 30~60 cm の深さから土壌を採集し、10 cm ごとの深さ別

に分割して青枯病菌を希釈平板法および Bio-PCR 法で検出した。水平分布は同ほ場の発病株とその周辺の無発病株付近の表層土壌を移植ゴテで採集して調査した。すなわち、うね幅 2 m, 2 条植えのショウガにおいて、発病株に隣接する別条の無発病株付近と、それらから 1 m および 2 m 離れた無発病株付近の土壌を採集して青枯病菌を同様に検出した(第 1 図)。



第 1 図 水平分布調査の土壌採集地の見取り図

### 4. ショウガ青枯病菌の温度別生存期間

プラントボックス(6.4 cm×6.4 cm×高さ 9.5 cm)に 5 mm の篩を通した農技センター内の露地ほ場の土壌(灰色低地土, 滅菌処理なし)を 100 g 入れた。約  $10^7$ cfu/mL の濃度に調整したショウガ青枯病菌(菌株番号:MAFF 211479)およびナス青枯病菌(菌株番号:MAFF 211282)の細菌液 1 mL を土壌に注ぎ、よく攪拌してから滅菌水 10 mL を注いで土壌水分を調整後、ビニールテープで蓋との隙間を密閉した。5°C, 15°C および 25°C で、6 か月間、1 年間、1 年 6 か月間および 2 年 6 か月間静置後に一部の土壌を取り出し、希釈平板法で青枯病菌の菌密度を調査した。2 年 6 か月後の調査では Bio-PCR 法による青枯病菌の検出も実施した。なお、試験は 2 連制で実施し、1 年 6 か月後には土壌の乾燥を防ぐために滅菌水 10 mL を注いで土壌水分を調整した。

### 5. 土壌中の菌密度と発病との関係

農技センター内の露地ほ場の土壌にショウガ青枯病菌の所定の濃度細菌液を 40 mL/ポットの割合で土壌灌注して混和し、 $10^1, 10^3, 10^5$  および  $10^7$ cfu/g 土壌の汚染土壌となるように 1/5,000 a のワグネルポットに詰めた。また、オートクレーブ滅菌した同土壌にも同様に細菌液を混和し、汚染土壌とした。2017 年 5 月 17 日にショウガを 1 株ずつ植え付

け、最低夜温 20℃に設定したガラス室内で管理し、同年 10 月 30 日までの発病の有無を適宜観察した。なお、各濃度とも 5 ポットずつ供試し、土壌を汚染する際には 5 ポット分の土壌を一緒にして病原細菌を混和した後にそれぞれのポットに分けて土壌を詰めた。

2018 年にも同様の試験を繰り返した。5 月 17 日にシヨウガを 1 株ずつ植え付け、同年 7 月 31 日まで発病の有無を適宜観察した。なお、ポットに詰める際に残った一部の土壌の青枯病菌密度を希釈平板法と Bio-PCR 法を用いて調査した。

## 6. 土壌灌注接種における接種菌濃度と温度が発病に及ぼす影響

市販育苗培土を詰めた直径 10.5 cm のポリエチレンポットで栽培した 4~5 葉期のシヨウガを用いた。約  $10^9$ cfu/mL および  $10^7$ cfu/mL の濃度に調整したシヨウガ青枯病菌をシヨウガに穿刺接種および土壌灌注接種した。接種後は 20, 25, 30 および 35℃, 20,000 lux, 14 時間日長条件に設定したグロースチャンバー内で管理し、接種 30 日後まで適宜発病の有無を調査し、発病株率と平均発病日数を算出した。なお、接種 30 日後までに発病しなかった株については、30 日後に発病したと見なして平均発病日数を算出した。いずれの処理も 5 ポットずつ用いた。

## 7. 地際部に穿刺接種したシヨウガからの病原細菌の流出

市販育苗培土を詰めた直径 10.5 cm のポリエチレンポットで栽培した 5~6 葉期のシヨウガ 5 株を用いた。約  $10^9$ cfu/mL の濃度に調整したシヨウガ青枯病菌の細菌液を地際部の偽茎に穿刺接種した。接種後は最低夜温 20℃に設定したガラス温室内で管理し、接種 3, 5, 7, 9 日後に病徴を観察するとともに、100 mL の水道水をポット内に注ぎ、ポットの底の穴から流出してくる水を回収した。回収した水は、その量を測定するとともに、希釈平板法により青枯病菌の濃度を調査した。回収したサンプルの青枯病菌濃度が高すぎて計数できない場合には、-20℃で凍結保存しておいたサンプルを用い、リアルタイム PCR 法によって菌濃度を推定し

た。

## 8. 種根茎による伝染

1) シヨウガほ場から採集した種根茎を用いた試験  
2018 年 10 月 26 日に高知県南国市のシヨウガほ場から青枯病発病株および無発病株を掘り取り、それぞれの根茎を 1 株ずつポリエチレン袋に入れて 15℃で貯蔵した。無発病株は貯蔵前に 1 次茎と種根茎の接続部位を切断し、光学顕微鏡を用いた観察によって感染の有無を確認した。2019 年 3 月 12 日に貯蔵した根茎の腐敗の有無を調査し、一部の根茎から青枯病菌の検出を行った。腐敗の見られなかった根茎は 200 g 程度の大きさに分割し、それぞれポリエチレン袋に入れて 30℃で発芽を促した。同年 4 月 12 日に根茎の腐敗の有無を調査後、腐敗の見られなかった根茎を 1/5,000 a ワグネルポットに詰めた滅菌土壌に 1 株ずつ植え付けた。最低夜温 20℃に設定したガラス温室内で管理し、同年 11 月 1 日まで適宜発芽の状況と発病の有無を調査した。

### 2) 接種した種根茎を用いた試験

(1) 試験 1: 2016 年 11 月 22 日、市販育苗培土を詰めた 1/5,000 a ワグネルポットで栽培したシヨウガに約  $10^9$ cfu/mL の濃度に調整したシヨウガ青枯病菌の細菌液を穿刺接種および土壌灌注接種した。接種 9 日後 (12 月 1 日) にシヨウガを掘り取り、15℃で貯蔵した。2017 年 5 月 17 日に貯蔵した根茎の腐敗の有無を調査し、腐敗していない根茎の一部から青枯病菌を検出するとともに、1/5,000 a ワグネルポットに詰めた滅菌土壌に植え付けた。最低夜温 20℃に設定したガラス温室内で管理し、適宜発芽の状況と 11 月 24 日まで発病の有無を調査した。

(2) 試験 2: 2018 年 11 月 29 日に試験 1 と同様な方法でシヨウガに穿刺接種および土壌灌注接種した。接種 1 日後 (11 月 30 日), 8 日後 (12 月 7 日) および 20 日後 (12 月 19 日) にシヨウガを掘り取り、1 株ずつポリエチレン袋に入れて 15℃で貯蔵した。無接種株は 12 月 19 日に掘り取った。2019 年 3 月 28 日に貯蔵した根茎の腐敗の有無を調査し、一部の根茎から青枯病菌を検出した。腐敗の見ら

れなかった根茎は 200 g 程度に分割し、30℃で発芽を促した。同年 4 月 29 日に根茎の腐敗の有無を調査後、試験 1 と同様に 1 株ずつ植え付け、以後も同様に発病を調査した。

## 結 果

### 1. ショウガ青枯病発生ほ場における病原細菌の垂直および水平分布

垂直分布では、いずれの調査地点も土壌表面だけでなく、深さ 50-60 cm まで青枯病菌が検出された。また、土壌深部よりも表面付近で菌密度が高い傾向であった。9 月に発病した A 地点は、7~8 月に発病した B 地点よりも全体的に菌密度が高い傾向であった（第 1 表）。

水平分布では、発病地点で高密度の青枯病菌が検出された。また、発病地点から 1 m 離れた地点は、発病条、無発病条とも検出されたが、発病地点よりも菌密度が低かった。発病地点の隣接条および発病地点から 2 m 離れた地点は、いずれも希釈平板法では検出されなかったが、Bio-PCR では検出された（第 2 表）。

### 2. ショウガ青枯病菌の温度別生存期間

ショウガ青枯病菌は、土壌接種 6 か月後、1 年後ともに、5, 15, 25℃いずれの温度でも希釈平板法で検出された。1 年 6 か月後には、5, 15℃で検出されたが、25℃では希釈平板法で検出限界以下になった。2 年 6 か月後には、5, 15℃で希釈平板法では検出されなかったが、Bio-PCR 法では検出された。一方、25℃では希釈平板法、Bio-PCR 法ともに検出されなかった。また、6 か月後~1 年後の菌密度は、5℃では 15~25℃の 10 分の 1 程度で、低下

が早い傾向であった。1 年 6 か月後~2 年 6 か月後には、5~15℃よりも 25℃で菌密度の低下が早い傾向であった。ショウガ青枯病菌は、ナス青枯病菌と比較して全体的に菌密度の低下が早く、特に 25℃では 1 年 6 か月後には検出限界以下になるなど、生存期間が短い傾向であった（第 3 表）。

### 3. 土壌中の菌密度と発病との関係

滅菌土壌では、2017, 2018 年の試験とも接種菌密度が高い ( $10^7$  cfu/g 土壌) 場合に高い発病株率を示し、接種菌密度が低い場合にいずれも発病はみられなかった。一方、無滅菌土壌では、接種菌密度が高くても発病せず、2017 年の試験において、7 月 15 日に  $10^5$ cfu/g 土壌の接種菌密度で 1 株だけ発病が見られた。また、10 月 30 日には  $10^1$ cfu/g 土壌の接種菌密度で 1 株だけ発病が見られた。2018 年の試験では、7 月 31 日に  $10^5$ ,  $10^1$ cfu/g 土壌の接種菌密度でそれぞれ 1 株だけ発病が見られた。2018 年には土壌中の菌密度を希釈平板法で調査したが、滅菌土壌、無滅菌土壌とも接種した病原細菌の 1/100 程度しか検出できなかった（第 4 表）。

### 4. 土壌灌注接種における接種菌濃度と温度が発病に及ぼす影響

土壌灌注接種よりも穿刺接種の方が、発病しや

第2表 ショウガ青枯病発生ほ場における病原細菌の水平分布

調査地点	水平距離別青枯病菌数 <sup>a)</sup>		
	発病地点	1m	2m
発病条	$3.9 \times 10^5$ +	$3.3 \times 10^1$ +	nd +
隣接条 (無発病)	nd +	$2.3 \times 10^3$ +	nd +

a) 上段および下段：第 1 表脚注参照

第1表 ショウガ青枯病発生ほ場における病原細菌の垂直分布

調査地点	土壌深度別青枯病菌数 <sup>a)</sup>					
	0-10cm	10-20cm	20-30cm	30-40cm	40-50cm	50-60cm
A	$5.5 \times 10^5$	$3.5 \times 10^5$	$6.2 \times 10^4$	$9.5 \times 10^3$	$8.3 \times 10^3$	$9.0 \times 10^3$
9 月発病	+	+	+	+	+	+
B	$3.7 \times 10^3$	$6.7 \times 10^4$	$1.0 \times 10^3$	$3.0 \times 10^2$	$4.7 \times 10^2$	$1.4 \times 10^3$
7~8 月発病	+	+	+	+	+	+

a) 上段：希釈平板法による土壌 1g 当たりの青枯病菌数 (cfu/g 土壌), nd: 検出限界以下, 下段: Bio-PCR 法 (+: 検出, -: 未検出)

すかった。また、接種菌濃度が高く、温度が高い方が発病しやすい傾向であった。温度が高いほど平均発病日数が短い傾向であった（第5表）。

## 5. 地際部に穿刺接種したショウガからの病原細菌の流出

接種3日後には、いずれのショウガ株も無病徴であったが、多くの株で青枯病菌が検出された。5

第3表 ショウガ青枯病の温度別生存期間

期間	温度 (°C)	ショウガ青枯病菌 (MAFF211479)		ナス青枯病菌 (MAFF211282)	
		I	II	I	II
6 か月後	5°C	4.0×10 <sup>2</sup>	1.0×10 <sup>2</sup>	1.7×10 <sup>2</sup>	6.7×10 <sup>2</sup>
	15°C	1.0×10 <sup>3</sup>	1.0×10 <sup>3</sup>	9.7×10 <sup>3</sup>	7.0×10 <sup>3</sup>
	25°C	3.0×10 <sup>3</sup>	1.7×10 <sup>3</sup>	6.1×10 <sup>3</sup>	4.9×10 <sup>3</sup>
1 年後	5°C	3.3×10 <sup>1</sup>	1.0×10 <sup>2</sup>	6.7×10 <sup>2</sup>	1.0×10 <sup>2</sup>
	15°C	3.3×10 <sup>2</sup>	1.7×10 <sup>2</sup>	2.7×10 <sup>3</sup>	1.9×10 <sup>3</sup>
	25°C	4.0×10 <sup>3</sup>	1.7×10 <sup>3</sup>	5.4×10 <sup>3</sup>	5.9×10 <sup>3</sup>
1 年 6 か月後	5°C	3.3×10 <sup>1</sup>	nd	1.7×10 <sup>2</sup>	3.3×10 <sup>2</sup>
	15°C	3.3×10 <sup>1</sup>	2.7×10 <sup>2</sup>	3.3×10 <sup>2</sup>	3.3×10 <sup>2</sup>
	25°C	nd	nd	1.3×10 <sup>2</sup>	1.7×10 <sup>2</sup>
2 年 6 か月後	5°C	nd (+)	nd (+)	nd (+)	nd (+)
	15°C	nd (+)	nd (+)	nd (+)	nd (+)
	25°C	nd (-)	nd (-)	nd (+)	nd (+)

a) 数字は希釈平板法による土壌 1g 当たりの青枯病菌数 (cfu/g 土壌), nd: 検出限界以下, ( ) 内は Bio-PCR 法による検出結果 (+: 検出, -: 未検出), I、II は反復

第4表 土壌中の青枯病菌密度と発病との関係

土壌	接種菌密度 (cfu/g 土壌)	2017 年		菌密度 <sup>a)</sup>	2018 年	
		7 月 15 日	10 月 30 日		7 月 2 日	7 月 31 日
滅菌土壌	10 <sup>7</sup>	80	80	4.9×10 <sup>6</sup>	60	60
	10 <sup>5</sup>	0	20	1.3×10 <sup>3</sup>	20	20
	10 <sup>3</sup>	0	0	nd	0	0
	10 <sup>1</sup>	0	0	nd	0	0
	0	0	0	nd	0	0
無滅菌土壌	10 <sup>7</sup>	0	0	1.7×10 <sup>5</sup>	0	0
	10 <sup>5</sup>	20	20	6.0×10 <sup>2</sup>	0	20
	10 <sup>3</sup>	0	0	nd	0	0
	10 <sup>1</sup>	0	20	nd	0	20
	0	0	0	nd	0	0

数字は発病株率 (%), n=5

a) 土壌接種直後に希釈平板法により調査した。第1表脚注を参照。

第5表 ショウガ青枯病の発病に及ぼす接種菌濃度と温度の影響

接種方法	接種菌濃度 (cfu/mL)	調査項目 <sup>a)</sup>	温度 (°C)			
			20	25	30	35
穿刺	10 <sup>9</sup>	発病株率 (%)	100	100	100	100
		平均発病日数 (日)	12.2	9.2	6.6	4.2
	10 <sup>7</sup>	発病株率 (%)	80	80	60	100
		平均発病日数 (日)	21.6	19.6	21.6	5.4
土壌灌注	10 <sup>9</sup>	発病株率 (%)	20	60	80	100
		平均発病日数 (日)	28.6	22.0	20.8	6.8
	10 <sup>7</sup>	発病株率 (%)	0	20	0	100
		平均発病日数 (日)	30.0	28.8	30.0	7.8

a) 接種 30 日後まで調査し、発病しなかった場合には 30 日後に発病したと見なして平均発病日数を算出した。n=5

日後には下位葉が黄化する病徴が出現したが、病原細菌の流出濃度は3日後とほとんど変わらなかった。7日後には全株の株全体が黄化し、病原細菌の流出濃度は著しく高まった。9日後には全株枯死したが、7日後とほとんど変わらない流出濃度であった(第6表)。

## 6. 種根茎による伝染

1) ショウガほ場から採集した種根茎を用いた試験  
収穫時に発病していた株や無病徴感染株から採集した根茎は、貯蔵中にほとんどが腐敗したが、感染が確認できなかった未発病株の根茎でも一部で腐敗が見られた。30℃に加温して芽出した後の4月12日の調査では、発病株や無病徴感染株の根茎は全く腐敗しなかったが、無感染株の根茎の一部は腐敗した。しかし、植え付け後の根茎の腐敗や発病は、いずれも全く認められなかった(第7表)。

貯蔵後の腐敗調査時に根茎の一部から病原細菌を検出したところ、調査時に腐敗していたサンプル番号1、30℃で芽出し後に腐敗したサンプル番号5および6からは青枯病菌が検出された一方、植え付け後に発病しなかったサンプル番号3および4の株の種根茎からも検出された(第8表)。

### 2) 接種した種根茎を用いた試験

試験1の掘り取り時には、いずれのショウガ株も無発病であった。穿刺接種では、14株中12株が貯蔵中に腐敗した。腐敗しなかった2株を植え付けたところ、1株しか発芽せず、残りの1株は掘り取ると腐敗していた。発芽した株は11月24日まで発病しなかった。土壌灌注接種では、18株中3株が貯蔵中に腐敗した。腐敗しなかった15株を植え付けたところ、3株しか発芽せず、残りは掘り取ると腐敗していた。発芽した3株の内、1株が7月24日に発病したが、残りは11月24日まで発病しな

第6表 地際部に穿刺接種したショウガからの青枯病菌の流出

反復	調査項目	接種後の経過日数			
		3日後	5日後	7日後	9日後
I	病徴	無病徴	下位葉黄化	全体黄化	枯死
	青枯病菌の濃度 <sup>a)</sup>	$6.3 \times 10^2$	$1.3 \times 10^1$	$8.7 \times 10^7$	$1.0 \times 10^8$
	回収された水量 (mL)	62	82	61	88
II	病徴	無病徴	下位葉黄化	全体黄化	枯死
	青枯病菌の濃度	$2.0 \times 10^1$	nd	$4.4 \times 10^6$	$5.9 \times 10^7$
	回収された水量 (mL)	33	84	76	90
III	病徴	無病徴	下位葉黄化	全体黄化	枯死
	青枯病菌の濃度	$4.3 \times 10^1$	$1.8 \times 10^2$	$1.2 \times 10^8$	$9.1 \times 10^7$
	回収された水量 (mL)	38	87	73	86
IV	病徴	無病徴	下位葉黄化	全体黄化	枯死
	青枯病菌の濃度	nd	nd	$2.3 \times 10^8$	$6.3 \times 10^6$
	回収された水量 (mL)	57	79	82	90
V	病徴	無病徴	無病徴	全体黄化	枯死
	青枯病菌の濃度	$6.2 \times 10^6$	$4.3 \times 10^5$	$2.3 \times 10^8$	$6.3 \times 10^7$
	回収された水量 (mL)	80	82	85	84

a) 水1mL当たりの青枯病菌数 (cfu/mL), nd: 検出限界以下, アンダーラインの数値はリアルタイムPCR法での検出結果を示す。

第7表 ショウガ青枯病発生ほ場から採集した種根茎の貯蔵中の腐敗および植え付け後の発病

採集株	感染	15℃貯蔵後 (3/12)		30℃芽出し後 (4/12)		植付後	
		調査株数	腐敗株数	調査株数	腐敗株数	調査株数	発病株数 (不出芽数)
発病株	未調査	13	11	2	0	2	0(0)
未発病株	有	4	3	1	0	1	0(0)
	無	21	2	19	2	17	0(0)

かった。貯蔵後の調査時に腐敗していなかった根茎の一部から青枯病菌を検出したところ、根茎 1g 当たり  $10^2 \sim 10^5$  cfu の青枯病菌が検出された（第 9 表）。

試験 2 では、穿刺接種、土壌灌注接種とも接種 20 日後には下位葉が黄化する株が見られた。しかし、 $15^\circ\text{C}$  で貯蔵後には、このような株から採集した根茎を含めて、いずれも全く腐敗しなかった。貯蔵後に  $30^\circ\text{C}$  に加温すると、一部の根茎で腐敗が見られ、接

種 1 日後に貯蔵した根茎で腐敗するものがあった。植え付け後にも発病株が見られ、不出芽株は掘り取ると根茎が腐敗していた。接種方法が異なっても発病に差は見られなかった（第 10 表）。貯蔵後の腐敗調査時に根茎の一部から病原細菌を検出したところ、穿刺接種株由来の根茎では一部で検出されたのみであったが、土壌灌注接種株由来の根茎では全ての株から検出された（第 11 表）。

第8表 ショウガ青枯病発生ほ場から採集した種根茎貯蔵後の病原細菌検出

調査時の腐敗	収穫時		サンプル番号	青枯病菌の検出 <sup>a)</sup>		検出後の調査 <sup>b)</sup>	
	発病	感染		希釈平板法	Bio-PCR	$30^\circ\text{C}$ 芽出し後	植付後
有	有	未調査	1	$8.7 \times 10^4$	+	nt	
	有	未調査	2	nd	-	-	-
			3	$2.8 \times 10^1$	+	-	-
		有	4	計数不能 <sup>c)</sup>	+	-	-
			5	$2.0 \times 10^4$	+	一部腐敗	nt
無			6	$1.7 \times 10^4$	+	腐敗	nt
	無	無	7	nd	-	-	-
			8	nd	-	-	-
			9	nd	-	-	-
			10	nd	-	-	-

a) 数字は根茎1g当たりの青枯病菌数 (cfu/g根茎), nd: 検出限界以下, +: 検出された, -: 検出されなかった

b) -: 異常なし, nt: 植え付けなかった

c) 出現する集落数が多すぎて計数できなかった

第9表 ショウガ青枯病菌の接種方法が貯蔵中の腐敗および植え付け後の発病に及ぼす影響（試験1）

接種方法	腐敗数/調査数	青枯病菌の検出 (根茎 1g 当たりの菌数)		植え付け後の発病			
		I	II	調査数	不出芽	生育中に発病	無発病
穿刺接種	12/14	$3.7 \times 10^2$	$1.3 \times 10^2$	2	1	0	1
土壌灌注接種	3/18	$3.1 \times 10^5$	$1.2 \times 10^4$	15	12	1	2

第10表 ショウガ青枯病菌接種株から採集した種根茎の貯蔵中の腐敗および植え付け後の発病（試験2）

接種方法	接種後貯蔵日	発病の有無	$15^\circ\text{C}$ 貯蔵後 (3/28)		$30^\circ\text{C}$ 芽出し後 (4/29)		植付後	
			調査株数	腐敗株数	調査株数	腐敗株数	調査株数	発病株数 (不出芽数)
穿刺接種	1 日後	無	8	0	8	1	7	0(0)
	8 日後	無	8	0	8	1	7	1(0)
	20 日後	無	4	0	4	0	4	0(1)
		有	4	0	4	0	4	1(0)
土壌灌注接種	1 日後	無	8	0	8	1	7	0(0)
	8 日後	無	8	0	8	1	7	0(0)
	20 日後	無	6	0	6	1	5	2(1)
		有	2	0	2	0	2	0(0)
無接種	-	無	8	0	8	0	8	0(0)

第11表 ショウガ青枯病菌接種株から採集した種根茎貯蔵後の病原細菌検出（試験2）

接種方法	接種後貯蔵日	発病の有無	青枯病菌の検出 <sup>a)</sup>	
			希釈平板法	Bio-PCR
穿刺接種	1日後	無	nd	—
			nd	—
	8日後	無	$5.3 \times 10^4$	+
			nd	—
	20日後	無	$1.7 \times 10^3$	+
			nd	—
		有	nd	—
土壌灌注接種	1日後	無	$8.0 \times 10^4$	+
			$4.5 \times 10^4$	+
	8日後	無	$5.0 \times 10^3$	+
			$1.8 \times 10^4$	+
	20日後	無	$9.3 \times 10^3$	+
			$4.3 \times 10^4$	+
		有	$3.9 \times 10^3$	+
			$8.8 \times 10^4$	+
無接種	—	—	nt	nt

a) 第1表を参照

## 考 察

青枯病菌をショウガの地際部に穿刺接種し、その数日後に株元に水を注ぐと、回収した水から容易に病原細菌が検出された。しかも接種3日後には、無病徴にもかかわらず、ショウガから病原細菌の流出が始まっており、病徴出現後には、その濃度は急激に高まることが今回の試験結果から明らかとなった。よって、実際にはほ場で青枯病の発病株が発見された時には、既にかかなりの量の病原細菌が周辺の土壌に流出してしまっていると考えられる。流出した病原細菌は雨水によって地中の垂直方向だけでなく、水平方向の周囲に拡散することが病原細菌の分布調査から推測される。しかし、発病株の隣接株でも、無発病であれば土壌中の菌密度は比較的低かった。穿刺接種後のショウガ発病株に注いだ水は、露地栽培のショウガの発病株に降り注ぐ雨と同じと考えることができるので、降雨の状況にもよるが、発病株付近では雨水が流れていた場所の菌密度が高くなると考えられる。従って、土壌中の病原細菌の分布は、発病株付近や雨水が流れていた場所で菌密度が高く、それ以外は比較的lowく、かなり不均一であると考えられる。

発病株付近の土壌中の菌密度は、7～8月発病株

よりも9月発病株で高い傾向であった。青枯病に罹病したショウガの偽茎や根茎の切断面からは、しばしば白い菌泥の噴出が見られ、切断面を水に浸漬すると白い糸を引いたような細菌の流出が観察される（土屋ら、1999）。ショウガの生長に伴う発病株からの病原細菌の流出量の変化について今回は調査していないが、9月にはショウガ根茎や茎葉が大きく生長しており、このような状態のショウガが青枯病に罹病した場合、植物体内で増殖する細菌量やそれに伴う流出量も増加すると推測される。現地栽培ほ場では、青枯病の発病株が発見されると、発病株だけでなく周囲の健全株も一緒に除去し、ポリエチレンフィルムなどで土壌表面を被覆することで周囲への進展を防止する対策が一般的に行われており（堀田、2022）、その後の発病を防止できたという話を現地で複数回聞いている。発病株に雨が降り注ぐと、雨水とともに病原細菌が周囲に拡散すると考えられるので、できるだけ早期に発病株を発見し、降雨前に雨水を遮断するこのような対策は有効と考えられる。その証拠に、雨が当たらない施設栽培では青枯病が発生しても、露地栽培のようにほ場全体が発病するような事例は知られていない。施設栽培では降雨の影響を排除できるため、灌水による病原細菌の拡散に十分注意しさえすれば、露地に比べて発病を制御しや

すいと考えられる。また、ショウガが大きく生育した9月以降に発病した場合には、多量の病原細菌が流出する可能性が高くなり、より迅速な対応が必要になると考えられる。

ナス科植物青枯病の発生ほ場では、病原細菌が土壌中に長期間残存することが報告されている(田中, 1984)。ショウガ青枯病菌も同様に、発生ほ場では翌年も病原細菌が検出されることを確認している(矢野ら, 2022)。しかし、何年経過すれば菌密度が低下し、発病リスクがなくなるのか不明であった。恒温器内で実施した試験の結果ではあるが、ショウガ青枯病菌は5, 15°Cでナス青枯病菌と同様に2年6か月後にも検出され、検出限界以下の菌密度でも発病が認められることから、少なくとも3年間は発病の危険性があると考えられる。また、ショウガ青枯病菌は、ナス青枯病菌よりもやや菌密度の低下が早い傾向であったが、特に死滅しやすいということはなかったことから、輪作や栽培回避など、ナス科植物青枯病と同様な対策が有効と考えられた。今回の試験において、6か月~1年後の5°Cで菌密度の低下がやや早い傾向であった結果は、ナス科植物青枯病菌の結果と一致する(田中・野田, 1973)。また、1年6か月後~2年6か月後には、25°Cで菌密度の低下が早い傾向であった。この理由として、1年6か月後の調査時に、特に25°Cで土壌が乾燥気味であったことが影響している可能性がある。土壌水分の影響については今回詳細な調査を実施していないが、田中・野田(1973)もナス科植物青枯病菌について述べているように、冬期の低温や乾燥の影響を受けやすい土壌表面付近は死滅しやすく、温度や土壌水分が安定している土壌深部は長期間生存しやすいと考えることができる。

露地ショウガの収穫時期である11月は、青枯病の発生が見られる7~9月と比較すると気温が低いために、感染していても病徴が見られるようになるまでに時間がかかる。従って、青枯病発生ほ場では外観が健全でも感染している無病徴感染株が収穫されてしまう可能性がある。発病株はもちろん、このような株は15°Cで貯蔵されている間に多くが腐敗することが本試験から明らかとなった。また、腐敗まで至らなくても種として植え付けると腐敗して発芽しない場合があることも明らかとなった。

ショウガ根茎を植え付けた後の温度は、貯蔵温度の15°Cよりも高いと考えられるので、青枯病菌を保菌している根茎を事前に除去するためには、植え付け前に30°C程度の温度で保管することが有効と考えられた。しかし、全ての株が必ずしも腐敗するわけではなかったため、これらを完全に除去するのは困難と考えられる。15°Cで貯蔵後に腐敗しなかった根茎から病原細菌の検出を試みたところ、多くの根茎から青枯病菌が検出された。特に土壌灌注接種した根茎からは高率に検出されたことから、青枯病が発生したほ場では、発病株から流出した病原細菌が根茎表面に付着している可能性が高くなると予想される。種根茎は、表面に付着した土壌を洗浄することなく、土壌が付着したまま使用されることを考慮すると、発生ほ場から種根茎を採集することは避けるべきと考えられる。

種根茎伝染の試験では、腐敗まで至らない根茎を種として使用しても、意外と発病が少ない結果が得られた。汚染土壌を作成して実施した土壌伝染の試験においても同様な結果が得られ、ほ場で検出されるような土壌中の菌密度であっても発病は少なかった。これらの結果は、ほ場で観察されるような急激で広範囲な発病とは異なる。その理由として、種根茎伝染や土壌伝染によって低率ながら発病したショウガ株から多量の病原細菌が流出し、雨水によって広範囲に拡大することで、発病が拡大している可能性が予想される。ポットで栽培したショウガ株から流出する病原細菌の濃度は、植物が小さいにもかかわらず、土壌灌注接種で温度が高いときに発病可能な濃度であったことから、ショウガ青枯病の被害の大きさには二次伝染が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

## 摘 要

ショウガ青枯病の発生生態について調査し、以下の結果を得た。病原細菌の土壌中における分布を調査したところ、深さ50~60 cmの土壌深部からも検出されたが、土壌深部よりも表面付近で菌密度が高かった。また、植物体が大きくなる栽培後期に発病した場合に、発病株付近で菌密度が高かった。本病原細菌の汚染土壌を恒温器で保存した

ところ、5 および 15°C では 2 年 6 か月後にも検出されたが、25°C では検出されなくなった。菌密度が異なる汚染土壌にショウガを植え付けたところ、菌密度が高くても発病しない場合がある一方、低くても発病する場合があった。本病原細菌をショウガに土壌灌注接種および穿刺接種したところ、接種菌濃度が高く、温度が高い方が発病しやすかった。ショウガに穿刺接種後、株元に注いだ水を回収して病原細菌を検出したところ、無病徴にも関わらず接種 3 日後には検出され、病徴出現後には菌密度が急上昇した。ショウガ青枯病発生ほ場からショウガ根茎を収穫し、15°C で貯蔵したところ、発病株や無病徴感染株のほとんどが腐敗したばかりでなく、感染が確認できなかつた根茎も一部が腐敗した。また、貯蔵後の根茎から青枯病菌が検出された。本試験結果から、ショウガ青枯病の被害の大きさには二次伝染が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

## 引用文献

- Chen, Y., W. Zhang, X. Liu, Z. Ma, B. Li, C. Allen, and J. Guo (2010): A Real-Time PCR Assay for the Quantitative Detection of *Ralstonia solanacearum* in Horticultural Soil and Plant Tissues. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 20 (1): 193-201.
- Denny, T. P. and A. C. Hayward (2001): Gram-negative bacteria *Ralstonia*. In *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*, 3rd ed. (Schaad, N. W., Jones, J. B., and Chun, W., eds.). APS Press, St. Paul: 151-174.
- 平山喜彦(2012): イチゴ萎黄病感染苗検査マニュアル。「平成 23 年度成果普及技術資料」イチゴ炭疽病・萎黄病・疫病感染苗検査マニュアル ([https://www.pref.chiba.lg.jp/lab-nourin/nourin/koukaishiryoudocuments/lmanual\\_full.pdf](https://www.pref.chiba.lg.jp/lab-nourin/nourin/koukaishiryoudocuments/lmanual_full.pdf)), 千葉県農林総合研究センター: 11-17.
- 堀田光生(2022): 圃場・種イモの診断に基づくショウガ青枯病防除体系. *植物防疫*, 76: 68-72.
- Inoue, Y and K. Nakaho (2014): Sensitive quantitative detection of *Ralstonia solanacearum* in soil by the most probable number-polymerase chain reaction (MPN-PCR) method. *Appl Microbiol Biotechnol*, 98: 4169-4177.
- 桂 琦一・谷 岡 義 春(1967): *Pythium* によっておこるショウガおよびミョウガの根茎腐敗病. *関西病虫研報*, 9: 49-55.
- 川勝義人(1990): 園芸植物大辞典 2 (塚本洋太郎監修). 小学館. 東京: 563-565.
- 高知県農業振興部(2023). 高知県の園芸. 4p, 26p.
- 森田泰彰(2012): 高知県の露地ショウガ産地のための脱臭化メチル栽培マニュアルの開発(特集 臭化メチル剤から完全に脱却した産地適合型栽培マニュアルの開発). *植物防疫*, 66: 660-664.
- 農研機構 (2021): 圃場・種イモの診断に基づくショウガ青枯病防除標準作業手順書 (ver. 1.1) [https://www.naro.go.jp/publicity\\_report/publication/files/SOP20-404K20210426.pdf](https://www.naro.go.jp/publicity_report/publication/files/SOP20-404K20210426.pdf)
- 新須利則(1967): *Fusarium* 菌によるショウガ根茎の腐敗について. *九州病虫研会報*, 13: 40-42.
- 鈴木健司(2001): ショウガ, 新野菜づくりの実際 軟化・芽物 —誰でもできる露地・トンネル・無加温ハウス栽培—. 農山漁村文化協会, 東京: 65-67.
- 田中行久(1984): 青枯病菌. 新版土壤病害の手引(「新版土壤病害の手引」編集委員会編), 日本植物防疫協会, 東京: 120-122.
- 田中行久・野田二郎(1973): タバコ立枯病菌の生存を支配する要因に関する研究. *岡山たばこ試験場報告*, 32: 81-94.
- 土屋健一・矢野和孝・堀田光生・森田泰彰・川田洋一・d' Ursel, C. M. (1999): わが国におけるショウガ青枯病 (Bacterial wilt: 新称) の初発生. *日植病報*, 65: 363 (講要).
- 土屋健一(2008): 外来性レース系統によるショウガ科植物青枯病の発生と伝播. *植物防疫*, 62: 72-75.
- 矢野和孝・川田洋一・堀田光生・曳地康史・土屋健一(2011): ショウガ科植物から分離された青枯病菌の系統とそれらの寄主範囲. *日植病報*, 77:

88-95.

矢野和孝・沖 友香・林 一沙・森田泰彰・堀田光生(2020)：ショウガ青枯病の発病に及ぼす土壌中の菌密度および種根茎伝染の影響. 日植病報, 86: 65 (講要) .

矢野和孝・沖 友香・林 一沙・堀田光生・森田泰彰(2022)：低濃度エタノールを利用した土壌還元消毒法によるショウガ青枯病の防除. 高知農技セ研報, 31: 23 -33.