

シュードモナス フルオレッセンス水和剤 （ベジキーパー水和剤）による レタス腐敗病・キャベツ黒腐病の防除

長野県野菜花き試験場 小^ぎ木^そ曾^{ひで} 秀^き 紀

はじめに

レタス、キャベツは代表的な露地野菜であり、生産量も大きい。レタスでは *Pseudomonas cichorii* による腐敗病、キャベツでは *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* による黒腐病が時として大きな問題となる。両病害とも長野県では、初夏～秋季の多雨時に多発生し、圃場全面が壊滅的被害を被ることも少なくない。

筆者らはレタス腐敗病、キャベツ黒腐病に関する生物防除の研究を行い、両病防除に有効なエージェンツ *Pseudomonas fluorescens* G7090 株を見出した。実用化のため民間企業と共同研究を実施し、各種試験の後、ベジキーパー水和剤（シュードモナス フルオレッセンス水和剤）として農薬登録され、現在農家に利用されつつある。本稿では本剤開発の概要、利用技術について述べる。

I 開発の経緯

初夏～夏秋期に栽培されるレタスでは、主に細菌性病害の発生が問題になる。中でも腐敗病は長野県をはじめとするレタス産地で多発生し、大きな生産阻害要因になっている（白川，1996）。本病の病原菌としては *Pseudomonas cichorii*、*P. marginalis* pv. *marginalis*、*P. viridiflava* の3種が知られているが、高冷地の夏季栽培が主体の長野県では、主に *P. cichorii* による腐敗病が発生する（土屋ら，1979；関口ら，1982）。*P. cichorii* による腐敗病は主に銅剤、ストレプトマイシン剤で防除されているが、以下の問題点がある。①銅剤、ストレプトマイシン剤は結球期以降に散布すると、薬害発生の危険性が高い。その他の防除薬剤も安全使用基準により、使用可能な期間が制限されている。②特に多雨条件下では防除効果が不十分である。③銅およびストレプトマイシンに対する耐性菌の発生が認められている（松崎ら，1981；小木曾ら，1999）。

これらのことから、化学的防除のみではレタス腐敗病の防除は困難な状況であった。特にレタスの結球期以降は、農家が薬害や収穫前使用日数を心配することなく使用できる薬剤に乏しく、新たな防除法の開発が望まれていた。さらに環境保全型農業推進から、化学農薬の使用はできるだけ控えることが望ましく、減（化学合成）農薬技術の開発が求められていた。そこで、まずレタス腐敗病に対する生物防除技術の開発に着手した。

P. cichorii による腐敗病の場合、土壌、土壌中の罹病植物残渣、雑草等で生残した本病原菌が、降雨によるエーロゾルなどに伴ってレタス葉面に付着し、好適条件のもと、葉面で一定数以上の菌数に達すると感染が成立するものと考えられている（大畑ら，1982；BAZZI et al., 1984；HIKICHI et al., 1996；小木曾ら，1998）。そこで、本病原菌に対し葉面で拮抗的に働き、*P. cichorii* の菌数を抑制する能力を有するエージェンツをレタス葉面から得ることを目的とした。長野県各地のレタス圃場より栽培中のレタスを採取し、葉面細菌を多数分離した。葉面細菌の中でレタスに対して病原性がなく、室内実験および圃場試験で腐敗病発病抑制効果を有する菌株を選抜し、安定して発病抑制効果が高かった *Pseudomonas fluorescens* G7090 株（以後 G7090）を得た（小木曾ら，2000）。G7090 を生物農薬とするため（株）セントラル硝子と共同研究を実施し、水和剤として製剤化した。

一方、G7090 のレタス腐敗病以外の病害に対する防除効果を検討した結果、キャベツ黒腐病に対し防除効果を示すことが明らかとなった（小木曾ら，2004）。そこで、製剤のレタス腐敗病およびキャベツ黒腐病に対する農薬登録に関わる各種試験を実施した。薬効・薬害試験の結果、製剤の両病害に対する実用性が認められた。

以上により、2005年8月にレタス腐敗病に対し、06年5月にキャベツ黒腐病に対しベジキーパー水和剤（以後ベジキーパー）として農薬登録を取得した。ベジキーパーは、白色粉状の水和剤であり、1g 当たり有効成分の G7090 を約 1×10^{10} cfu 含む。

Biological Control of Bacterial Rot of Lettuce and Black Rot of Cabbage, by New Biopesticide "Vegekeeper". By Hideki Ogiso

（キーワード：生物防除，レタス，キャベツ，腐敗病，黒腐病，ベジキーパー）

II 防除効果

製剤化前の段階で、G7090の生菌としての腐敗病防除効果を検討した。露地全面マルチ栽培したレタスの結球始期に、G7090懸濁液 (1×10^8 または 1×10^7 cfu/ml) を 300 l/10 a の割合で散布し、その1~4日後にレタス腐敗病菌 *P. cichorii* の懸濁液 ($1 \times 10^6 \sim 10^8$ cfu/ml) を噴霧接種し、収穫期に発病程度を調査した。試験は1998年春作から2000年秋作まで、のべ5回実施した。その結果、腐敗病少発生条件下の試験であった2000年秋作試験および中発生条件下の1998年春作試験では、対照の塩基性硫酸銅水和剤500倍と比較し、勝る防除効果であり、無処理との比較でも高い防除効果が認められた。腐敗病多発生条件下の試験である1998年秋作、

99年春作および秋作試験では、十分な効果とは言えないが、対照薬剤と同等もしくは勝る防除効果が認められた(表-1)。これらは病原菌接種条件下の試験であるが、後の試験でベジキーパー散布開始前に、病原細菌を先行して接種した場合には、防除効果が認められなかった(データ略)。したがって、病原細菌感染後の散布では防除効果が期待できず、予防的な散布が必要であると考えられる。2000年以降、製剤(ベジキーパー)としての防除効果を検討した。その結果の一部を表-2に示す。表-2は2003年の長野県野菜花き試験場佐久支場の試験で、ベジキーパーの1,000倍液は対照の塩基性硫酸銅水和剤の500倍と比較し、同等の防除効果であった。

一方キャベツ黒腐病については、同様にG7090の生菌を用いた防除試験を実施したところ、発病抑制効果が

表-1 *P. fluorescens* G7090接種によるレタス腐敗病発病抑制効果

試験区	発病度 (防除価)				
	1998年春作	1998年秋作	1999年春作	1999年秋作	2000年秋作
G7090前接種	14.3 (57.8)	22.4 (66.1)	41.7 (33.1)	18.4 (62.0)	2.5 (75.2)
塩基性硫酸銅水和剤 (500倍)	29.9 (11.3)	44.9 (31.9)	—	—	7.1 (24.7)
ストレプトマイシン水和剤 (2,000倍)	—	—	45.8 (26.5)	16.6 (65.7)	—
無処理	33.7	66.0	62.3	48.3	10.1

—: 未試験。

表-2 ベジキーパー水和剤のレタス腐敗病に対する防除効果

供試薬剤	希釈倍数 ^{a)}	調査株数	発病株率 (%)	発病度	防除価	薬害
ベジキーパー水和剤	500	35.5	4.8	2.9	80.5	—
	1,000	34.6	6.8	5.5	63.1	—
塩基性硫酸銅水和剤	500	34.3	12.6	6.2	58.4	+
無処理		35.7	26.1	14.9		

^{a)} 500倍は未登録。試験場所: 長野県野菜花き試験場佐久支場内。定植: 2003年8月27日。品種: Vレタス (露地マルチ栽培)。栽植密度: 45 cm × 25 cm。区制・面積: 1区 7.4 m² (2.7 m × 2.8 m), 66株, 3連制。薬剤散布: 9月19日, 26日, 10月3日に背負動噴で所定濃度の薬液を10a当たり250 l散布。

表-3 ベジキーパー水和剤のキャベツ黒腐病に対する防除効果

供試薬剤	希釈倍数	調査株数	発病株率 (%)	発病度	防除価	薬害
ベジキーパー水和剤	1,000	40.0	30.0	12.8	54.3	—
塩基性硫酸銅水和剤	500	40.0	32.5	11.9	57.5	+
無処理		40.0	53.3	28.0		

試験場所: 長野県野菜花き試験場内。定植: 2004年6月4日。品種: YRSE。栽植密度: 50 cm × 40 cm。区制・面積: 1区 10 m² (2.5 m × 4 m), 50株, 3連制。薬剤散布: 7月7日, 14日, 21日に背負動噴で所定濃度の薬液を10a当たり300 l散布。7月13日に *X. camp. pv. campestris* CAX303の細菌懸濁液 (5×10^6 cfu/ml) を, 150 ml/m² の割合で噴霧接種。

明らかになり（データ略）、以後製剤（ベジキーパー）を利用した防除試験を実施した。その一例を示す（表-3）。2005年の試験では、本剤の1,000倍散布を対照の塩基性硫酸銅水和剤500倍と比較し、同等の効果で無処理との比較でも効果が認められた。対照薬剤は実用上問題となる薬害が発生したが、ベジキーパー散布による薬害は認められなかった。

菌類病を含めた他病害についても、防除効果の検討を行っている。現在までに試験した病害は限られるが、ベジキーパーの菌類病に対する効果は現状期待できない。しかし葉菜の細菌性病害であるなら、発病環境がG7090の分離源となった生息環境に近いことから、適用できる可能性がある。そもそも生物防除ではエージェントの対象病害に対するスペクトラムの狭さが問題とされる。ベジキーパーが当初目的としたレタス病害以外にも、キャベツ病害で効果が認められたのは興味深い。現在葉洋菜の細菌性病害を中心に、効果が期待できる対象病害をさらに検討している。

III 防除効果発現のメカニズム

野菜類の地上部病害に対する生物農薬として、先行して販売されているものに非病原性エルビニア カロトボーラ水和剤やバチルスズブチリス水和剤などがある。前者の防除効果発現の作用機作として、①病原菌との葉面上での栄養分の競合、②バクテリオシン産生による抗生作用、特に作物の傷口でバクテリオシンを生産することによる軟腐病菌の増殖抑制が推察されている。また後者の作用機作は、植物体表面での病原菌との棲息場および栄養物の奪い合いによるものと考えられている。このように地上部病害に対する生物防除には、葉面におけるエージェントと病原菌の栄養的、空間的な競合を利用するケースが多い。ベジキーパーがどのような作用機作により防除効果を発現しているか検討を行った。

マーカー付与したG7090および*P. cichorii*をそれぞれ圃場で栽培したレタス葉に接種し、両菌のレタス葉における菌数変化を調査した。2000年に実施した試験では、G7090接種区はG7090無処理（*P. cichorii*のみ接種）と比較し、*P. cichorii*の菌数が約1/10程度に低く推移した。また対照のストレプトマイシン剤処理区では、最終散布15日後（*P. cichorii*接種19日後）病原菌数が上昇したが、G7090接種区では病原菌数の上昇は認められなかった。2002年試験では、G7090と*P. cichorii*をそれぞれ 6×10^7 cfu/mlで同時に接種した。その結果、腐敗病菌数は漸減し、接種19日後で約 10^4 cfu/生葉1gとなり発病は抑制された。一方G7090は*P. cichorii*と

比較し、高い菌数で推移し、収穫時には約 10^5 cfu/g生葉となった。この原因については、両菌のレタス葉における競合が考えられた。

さらにレタス葉片に各種濃度でG7090を接種した後、*P. cichorii*を接種した場合、*P. cichorii*よりG7090の濃度が高いと明らかな発病抑制効果が認められた。同様にレタス葉片を利用した試験で、G7090の培養ろ液や、死菌では発病抑制効果は低く、生菌接種で発病抑制効果が認められた。これからも、G7090のレタス葉における病原細菌との競合が示唆された。

作用機作についてはさらに検討中であるが、G7090は、培地上で*P. cichorii*に対する抗菌物質を産生することも判明している。この抗菌物質の同定、防除効果へ与える影響などは残された課題になっている。

IV 生物農薬を基幹としたレタス・キャベツ病害の体系的防除

レタスでは作型にもよるが、ベジキーパーが対象としている腐敗病以外にも軟腐病、斑点細菌病といった細菌性病害や、すそ枯病、菌核病、べと病等の菌類病が発生して問題となる。生産に及ぼす実害は腐敗病が大きい。レタス生産上、他病害の発生も念頭に置かななくてはならない。キャベツの場合も同様に黒腐病以外に菌核病、株腐病等が発生する可能性がある。生物農薬普及上のネックの一つとなるのが、対象病害スペクトラムの狭さである。この問題を克服するため、他病害の発生を抑制しつつ本剤を有効活用できる防除体系を検討した。

ベジキーパーは薬害を生じず、登録上収穫前使用日数の規定がないことから、防除上の問題点にあった結球期以降の防除に適用できる。一方、結球期までは化学合成殺菌剤（以後殺菌剤）で多くの病害が防除できる。腐敗病の防除だけを目的とするなら、定植後一貫してベジキーパーのみで防除すればよいが、他病害が発生する危険がある。そこで結球期までは殺菌剤で初期防除し、結球期以降はベジキーパーを利用する体系を検討した。殺菌剤としては防除スペクトラムの広い銅剤を用いた。

2004年から06年まで長野県軽井沢町においてレタスおよびキャベツを栽培し、体系防除試験を実施した。体系の一例を表-4に示す。この体系では気温上昇期の試験のため軟腐病の発生も予想された。そこで結球期以降に非病原性エルビニアカロトボーラ水和剤を利用する体系区も設けた。さらに生物農薬間の影響を調査するため、結球期以降に生物農薬を同時散布する体系も設置した。

対照区として現地慣行で標準的な殺菌剤体系区を設けた。その結果、ベジキーパー体系区（VK体系区）は慣

表-4 ベジキーパーを基幹としたレタス病害の体系防除試験^{a)} 薬剤防除実績

処理区	定植時 (6/15)	定植 5 日後 (6/20)	定植 10 日後 (6/24)	定植 16 日後 (6/30)	定植 22 日後 (7/7)	定植 28 日後 (7/13)	定植 34 日後 (7/19)
VK ^{b)} 体系区	— ^{d)}	—	塩基性硫酸銅	塩基性硫酸銅	VK	VK + ジェトフェンカルブ・ チオファネートメチル	VK
BK ^{c)} 体系区	—	—	塩基性硫酸銅	塩基性硫酸銅	BK	BK + ジェトフェンカルブ・ チオファネートメチル	BK
VK + BK 体系区	—	—	塩基性硫酸銅	塩基性硫酸銅	VK + BK	VK + BK + ジェトフェンカルブ・ チオファネートメチル	VK + BK
定植時粒剤処理区	プロベナ ゾール	—	—	—	VK	VK + ジェトフェンカルブ・ チオファネートメチル	VK
慣行防除区	—	有機銅	ストレプトマ イシン	オキシソリニッ ク酸	オキシソリニッ ク酸 + TPN	ジェトフェンカルブ・チオフ ァネートメチル	バリダマイ シン
無処理区	—	—	—	—	—	—	—

^{a)} 試験場所：長野県軽井沢町，定植：2005 年 6 月 15 日，品種：イーザー，1 区，90 株，3 連制。^{b)} VK：ベジキーパー（シユードモナス フルオレッセンス水和剤）。^{c)} BK：非病原性エルビニア カロトボーラ水和剤。^{d)} —：無散布。

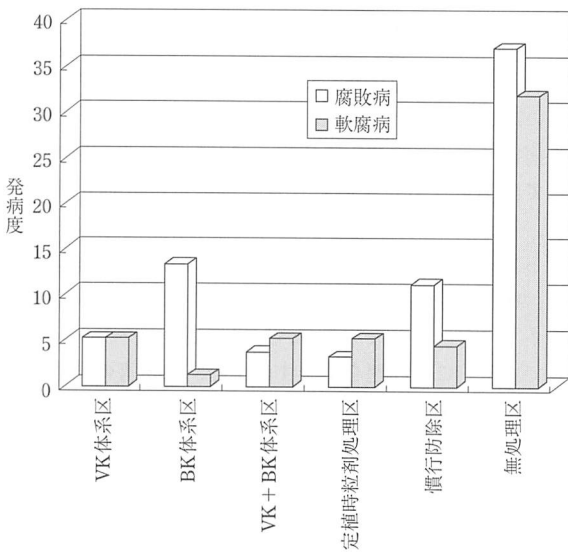


図-1 各体系区における腐敗病，軟腐病の発病程度

行防除区に優る腐敗病防除効果が認められた (図-1)。本試験では軟腐病が併発したが，本体型では銅剤による初期防除で，実用上問題ない程度に軟腐病の発生が抑えられた。生物農薬の同時処理区では，防除効果の面から薬剤間の影響は認められなかった。同様な現地試験を2006年までにのべ5回実施したが，いずれも銅剤とベジキーパーを組み合わせた体系で高い腐敗病防除効果が認められた。この体系は，銅剤のみあるいはベジキーパーのみで防除した体系に勝る腐敗病防除効果であった。しかし本体系では斑点細菌病，灰色かび病，すそ枯病の発生が問題となる場合があった。したがって，それら病害の発生するおそれがある際は，薬剤を追加または変更

する必要がある。

慣行防除では殺菌剤を，のべ7回使用したが，ベジキーパーを基幹とした体系防除では2回の殺菌剤散布でレタス生産が可能であった。また，定植時のプロベナゾール粒剤 0.5 g/株元処理 (未登録) と結球期以降のベジキーパー散布の体系でも高い腐敗病防除効果を得た (図-1)。これにより，さらに殺菌剤を削減できる可能性が示唆された。

キャベツ黒腐病に対する体系防除試験でも同様な結果を得ており，銅剤とベジキーパーの組み合わせは高い黒腐病防除効果であった。

おわりに

ベジキーパーは2006年から本格的に市販され，長野県ではほぼ順調に普及しつつあるが，研究上，普及上の課題も残されている。研究上の課題は防除効果の作用機作に関するさらなる解明が必要なことである。*P. cichorii* および G7090 の葉面における存在部位，競合の実態を検討しなければならない。普及上は栽培環境に応じた防除体系の構築が必要なことである。現状では簡便性を優先して銅剤とベジキーパーの組み合わせによるスケジュール的な体系防除モデルを提示したが，本来なら病害の発生予察に基づいた適期防除が望ましい。細菌性病害では特にこれが困難ではあるが，発病に関わる降雨などの気象要因解明，レタス葉における病原菌数の迅速定量技術の開発，品種の感受性差異を利用した発生予察技術の開発など，基礎的知見を集積し，さらなる体系化を図りたい。

ベジキーパーは，レタス腐敗病およびキャベツ黒腐病に対する世界初の生物農薬として開発されたが，その効

果を生かすためには、化学的防除や耕種の防除との組み合わせが必要である。特に抵抗性品種の利用や圃場衛生などの耕種の防除と共に利用されるべきであり、総合防除で対処する必要がある。本剤は現在、レタス、キャベツ以外の病害に対する効果を検討中であり、今後の展開が期待される。

引用文献

1) BAZZI, C. et al. (1984) : Phytopath. Z. 111 : 251 ~ 258.

2) HIKICHI, Y. et al. (1996) : Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 62 : 141 ~ 146.
 3) 松崎正文ら (1981) : 日植病報 47 : 297 ~ 300.
 4) 小木曾秀紀ら (1998) : 関東東山病虫研報 45 : 65 ~ 68.
 5) ———ら (1999) : 日植病報 65 : 369 ~ 370.
 6) ———ら (2000) : 同上 66 : 187 ~ 188.
 7) ———ら (2004) : 同上 70 : 239 ~ 240.
 8) 大畑貴一ら (1982) : 長野県野菜花き試験場報告 2 : 51 ~ 62.
 9) 白川 隆 (1996) : 植物防疫 50 : 57 ~ 60.
 10) 土屋行夫ら (1979) : 農技研報 C33 : 77 ~ 99.

植物ウイルス・細菌診断用抗血清の配布のお知らせ

当協会研究所では、植物病害の同定診断の受託、ならびに免疫研究用に植物ウイルスや細菌の診断用抗血清を作製して実費で配布しています。

配布している主な植物ウイルスおよび細菌の抗血清*

抗血清の種類	試薬の種類	価格 (税込)
イネ縞葉枯ウイルス (RSV)	ラテックス凝集反応液 (500検体分)	29,925円
トウガラシマイルドモットルウイルス (PMMoV)	DAS-ELISA用セット (2,500検体分)	40,950円
キュウリモザイクウイルス (CMV)	DAS-ELISA用コーティング抗体 (2,500検体分)	21,262円
トマト黄化えそウイルス (TSWV)	DAS-ELISA用コンジュゲート抗体 (2,500検体分)	24,937円
スイカ灰白色斑紋ウイルス (WSMV)	DAS-ELISA用セット (2,500検体分) 【モノクローナル抗体】	51,450円
シンビジウムモザイクウイルス (CyMV)	ランのウイルス病診断薬 (5検体分)	5,250円
スイカ果実汚斑細菌病菌 (Aac)	高比重ラテックス凝集反応液 (500検体分)	29,925円

*他にも36種類の抗血清を作製し試薬に調整して配布中

お申し込みは下記あてに内容を明記したFAXをお送り頂くか、HPからお願いします。
 また、植物ウイルス病等の同定診断の詳しい内容については、当研究所ウイルス担当までご相談下さい。

(申し込み先) (社)日本植物防疫協会研究所 総務担当
 TEL: 0298-72-5172 FAX: 0298-72-3078
 〒300-1212 茨城県牛久市結束町535
<http://www.sp.jpqa.or.jp/kenkyusho/>