

ブロッコリーとの輪作によるナス半身萎凋病の抑制

群馬県農業技術センター 池田 健太郎*・古澤 安紀子
東洋大学生命科学部 藤 村 まこと 真

はじめに

ナスは国内で最も消費されている野菜の一つである。群馬県は、平成25年度では全国第3位の生産量である。ナス栽培に大きな被害を及ぼす病害は多数あるが、なかでも半身萎凋病は、全国的に問題となっている。本病の病原菌である土壤伝染性植物病原糸状菌の半身萎凋病菌 (*Verticillium dahliae*) は宿主範囲が広く、ナス科、アブラナ科をはじめ多くの種に感染する (PEGG and BRADY, 2002)。なかでも、ナスは本病原菌に対する感受性が高く、被害は甚大である。それに加えて、病原菌の耐久体である微小菌核は土壤中に長期間生存する。これらのことから、本病害の対策は困難なものになっている。くん蒸剤による土壤消毒は、本病に対しても有効である。しかし、くん蒸剤の過剰な使用は環境に対して負のインパクトを与え、また作業者の健康上のリスクも高くなる。さらに、ビニルフィルムによる被覆が重労働なうえ、薬剤費、資材費等生産コストが必要となる。それゆえ、本県のナス生産者からは土壤消毒に替わる対策が求められていた。

これまでに、ブロッコリーとの輪作を行うことでカリフラワーの *Verticillium wilt* などに対して発病抑制効果があることが報告されている (SUBBARAO et al., 1999)。これらの研究を基に、筆者らはナスとブロッコリーとの輪作によって本病の抑制が可能なることを明らかにした (IKEDA et al., 2015)。本稿では、ブロッコリーとの輪作によるナス半身萎凋病を抑制する体系の実証と、その作用機作について紹介したい。

なお本成果は、平成20～24年度文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業および平成25～27年度農林水産省農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業 (25062C) によって得られたものである。

Suppressive Effect of Crop Rotation with Broccoli against *Verticillium Wilt* of Eggplant. By Kentaro IKEDA, Akiko FURUSAWA and Makoto FUJIMURA

(キーワード: ナス, *Verticillium dahliae*, 半身萎凋病, リアルタイム PCR)

*現所属: 群馬県農政技術支援課

I ブロッコリー輪作によるナス半身萎凋病抑制効果

群馬県内の5箇所の圃場で計6回の試験を実施した (表-1)。そのうち4回は微小菌核 (SHIRAIISHI et al., 2014) および土壤フスマ培地で培養した病原菌を土壤に接種して作成した汚染圃場で試験を実施した。その他の2回はナス生産者の自然発生圃場で効果の検討を行った。それらの汚染圃場でブロッコリーを栽培・収穫し、残渣を圃場にロータリーなどで鋤き込んだ。無処理区としてブロッコリーを作付けしない区 (試験5を除く全試験) およびナスを連作した区 (試験5) を設けた。ブロッコリーを栽培・鋤き込み後、次年度に全面にナスを作付けし、半身萎凋病の発病株割合を調査した。個別の事例の無処理区とブロッコリー区の発病株割合の差を Fisher の正確確率検定で解析した。また、メタアナリシス (DerSimonian 法) によって無処理区とブロッコリー区の発病株割合のリスク比を算出した (丹後, 2001; 田代, 2005)。試験2～4では2種の異なった台木品種で試験を行ったため、2事例 (例, 試験2-1および試験2-2など) として解析を行った。試験3-2では発病がまったく確認できなかったため、解析から除外した。5圃場で6回、8事例の検討を行った結果、試験1, 3-1, 4-1, 5, 6の5事例で無処理区と比較して有意な発病株割合の低下が確認された。8事例の結果をメタアナリシスによって解析したところ、無処理区に対するブロッコリー輪作のリスク比は0.53 (95%信頼区間0.34-0.83) であった (図-1)。このことから、ブロッコリー輪作を導入することで、なにも対処しない場合と比較してナス半身萎凋病が抑制されることが示唆された。しかし、試験間のばらつきを示す異質性が有意 ($I^2 = 92.2\%$, $\tau^2 = 0.43$, $p < 0.0001$) であり、効果の安定性については、判断に注意を要する。

一方で、圃場試験結果の統合におけるメタアナリシスの適用については、異論もある (光永, 2016)。今後は複数の圃場試験結果の解析方法については、さらなる議論が必要であろう。

II ナス半身萎凋病菌のブロッコリーへの感染

全6回の試験すべてでナス半身萎凋病菌のブロッコリーへの感染を調査した。ブロッコリーの栽培時期が秋か

表-1 試験の詳細および栽培履歴

試験	年次		圃場		ナス品種	
	ブロッコリー	ナス	場所	接種法	穂木	台木
1	2009	2010	伊勢崎 A	微小菌核	千両二号	自根
2-1	2010	2011	伊勢崎 B	土壌フスマ培地	千両二号	自根
2-2					なし	トナシム
3-1	2011	2012	伊勢崎 C	微小菌核	千両二号	自根
3-2					なし	トナシム
4-1	2012	2013	伊勢崎 B	土壌フスマ培地	千両二号	自根
4-2					千両二号	台太郎
5	2012	2013	榛東	自然発生	艶姿	トナシム
6	2012	2013	富岡	自然発生	千両二号	トナシム

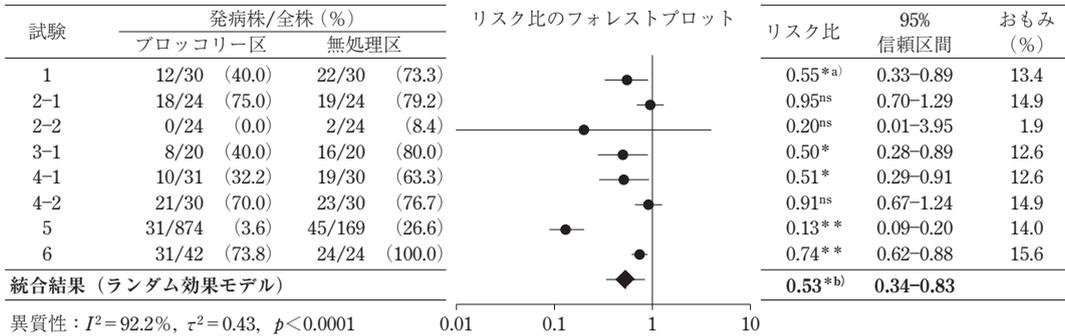


図-1 ブロッコリーを前作した場合のナス半身萎凋病に対する抑制効果のメタアナリシスによる評価
 ●はそれぞれのリスク比を示す. ◆は統合したリスク比を示す. エラーバーは95%信頼区間を示す.
 a) 個別の試験例のリスク比を Fisher の正確確率検定によって解析した (ns: 有意差なし, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).
 b) メタアナリシスによる統合結果のアスタリスクは有意差があることを示す ($p < 0.05$).

表-2 ナス半身萎凋病汚染圃場におけるブロッコリーの発病株率および発病程度

試験	品種	発病指数				発病株率 (%)	発病程度
		0	1	2	3		
1	緑嶺	17	13	0	0	43	0.43
2	緑嶺	6	93	0	0	94	0.94
3	緑嶺	71	42	0	0	37	0.37
4	緑嶺	29	132	16	0	84	0.93
5	直緑 93 号	15	23	2	0	63	0.68
6	のぞみ 424 号	19	22	2	0	56	0.60

発病株率および発病程度はブロッコリーの茎および主根を垂直に切断し、維管束の褐変の進展を0~3の指数で分類した。

0: 褐変なし, 1: 根のみに褐変, 2: 収穫した花蕾の切り口以下の褐変, 3: 収穫した花蕾に至る褐変
 指数を平均した数値をブロッコリーの発病程度とした。

ら冬にかかり、低温による外葉の老化などが見られたため、地上部の病徴による感染確認はできなかった。そこで、維管束組織の褐変によって発病を確認した(表-2)。その結果、すべての試験でブロッコリーの維管束は褐変しており、発病が確認された。発病株率は試験ごとに異なり、試験3では37%であったのに対し、試験2では94%であった。維管束褐変の進展を表した発病指数は、試験4~6で一部2のものもあったが、平均値である発病程度は、いずれも1.0を下回っていた。このことは、本病原菌によるブロッコリーの維管束褐変はほとんどの場合において根部のみに限定されることを表している。以上から、本病原菌はブロッコリーに感染し維管束を褐変させるものの、その褐変は花蕾部までには至らないと考えられる。

III 土壤中におけるナス半身萎凋病菌の動態

土壌中の本病原菌の微小菌核の密度と発病には相関が認められる。しかし、*Verticillium* 属菌の土壌中の菌密度を正確に把握することは非常に困難である。そこで、試験1での土壌中のナス半身萎凋病菌の動態を、quantitative nested real-time polymerase chain reaction (QNRT-PCR; BANNO et al., 2011) によって調査した。QNRT-PCRは土壌中の半身萎凋病菌のDNAのコピー数をCt値として定量する手法であり、Ct値が高いほど本病原菌の密度が低く、Ct値が低いほど菌密度が高いことを示している。本病原菌のブロッコリーとナスの輪作中に

おけるCt値の推移を図-2に示す。ブロッコリー定植時はブロッコリー区と無処理区(休作)はほぼ同じ値であった。ブロッコリー栽培終了時では、ブロッコリー区のCt値は無処理区と比較して有意に上昇し、菌密度の低下が認められた。ブロッコリー栽培終了2週間後からナス栽培終了まで、ブロッコリー区では無処理区と比較してCt値は高い傾向を示した。これらのことから、ブロッコリーとの輪作体系においてナス半身萎凋病菌はブロッコリーの栽培中に減少することが示された。

IV 作用機作

ブロッコリーの残渣すきこみが半身萎凋病菌の微小菌核密度を減少させ、カリフラワーの*Verticillium wilt*を抑制する機構としては、以下の三つが示されている(SHETTY et al., 2000)。

- 1) アリルイソチオシアネートなどのブロッコリー残渣から発生する揮発性の抗菌物質
- 2) 拮抗微生物の増加
- 3) 土壌中の糸状菌が分泌するリグニナーゼによる微小菌核の分解

試験1では土壌中のナス半身萎凋病菌密度を示すQNRT-PCRのCt値は、ブロッコリーすきこみ2週間後には上昇は見られなかった。このことから、SHETTY et al. (2000) が示唆したような、土壌微生物の影響による土壌中の本病原菌の減少は、本研究の試験1では起こらなかったと考えられる。一方で、Ct値はブロッコリー

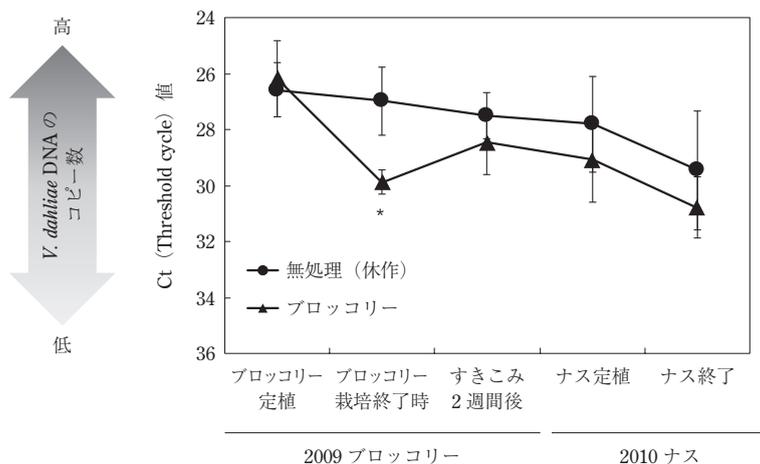


図-2 ブロッコリーを前作した場合のナス半身萎凋病菌 *V. dahliae* の土壌中での動態 (試験1) *V. dahliae* のDNAコピー数はQNRT-PCR (BANNO et al., 2011) によってCt値として検出された。土壌サンプルは完全無作為化された3反復の区画からそれぞれ採取した。エラーバーは95%信頼区間を示す。図中のアスタリスクはそれぞれの調査時期におけるCt値に有意差 (Student's *t* 検定, $p < 0.05$) があることを示す。

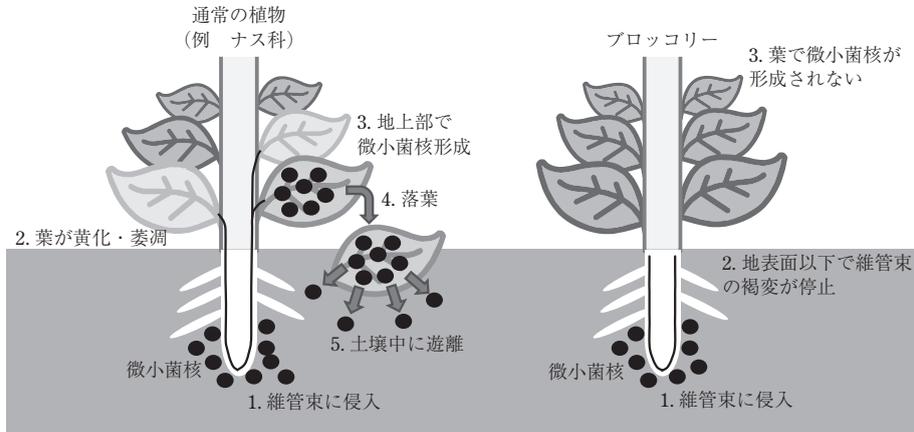


図-3 ブロッコリーの前作による発病抑制・菌密度減少の作用機作

の栽培中に大きく上昇した。

この結果は、本病原菌がブロッコリーに感染していることを示していると思われる。現に、ブロッコリーには維管束の褐変がすべての試験で確認されている。しかし、ブロッコリーの維管束の褐変は根部組織のみにとどまっており、このことは過去の報告とも一致している (BHAT and SUBBARAO, 2001)。本病原菌の微小菌核は、植物体の根などの地下部の組織ではなく、葉などの地上部で主に形成されることが報告されている (MOL, 1995)。アブラナ科植物においては、半身萎凋病菌が感染した場合、全微小菌核のおよそ 81% が地上部で形成される。また、ナスでは罹病株を部位別 (葉, 茎, 根) に土壤に混和したところ、葉を混和した区のみで著しく発病することも報告されている (橋本, 1989)。これらのことから、発病葉などの地上部の罹病部位が、次作の発病につながる微小菌核の供給源となっていることが推察された。本研究で得られた結果から、ナス半身萎凋病菌はブロッコリーに感染したものの、地上部に進展できず、微小菌核の形成が著しく抑えられたことが考えられる (図-3)。このようにして次作に残存する微小菌核が減少し、ナス半身萎凋病の発病を抑制したのではないか。一方で、SHETTY et al. (2000) が提唱しているブロッコリー残渣から発生する揮発性抗菌物質や拮抗微生物、土壤微生物相の変化、糸状菌の産生するリグニナーゼの関与等も、今後の研究で明らかにしていく必要があるだろう。

おわりに

本法を適用する際の主な注意点は以下の通りである。

1) 本法では、圃場の汚染程度が高い場合、効果が劣る傾向がある。発病株率がおよそ 30% までの圃場で適用する。

2) トナシムやトルバムビガー等の半身萎凋病に抵抗性を持つ台木を併用する。

3) 半身萎凋病菌の微小菌核は黄化・萎凋した葉に形成される。そのため、微小菌核の密度を低く抑えるため、罹病株からの落葉は栽培期間を通して圃場外に持ち出して処理する。

4) 半身萎凋病が未発生状態から予防的に導入してもよい。

これらの点に注意しながらナスとブロッコリーの輪作体系を導入することで、ナスの持続的な生産に役立てていただければ幸いである。

引用文献

- 1) BANNO, S. et al. (2011): J Gen Plant Pathol 77: 282 ~ 291.
- 2) BHAT, R. G. and K. V. SUBBARAO (2001): Plant Dis 85: 141 ~ 146.
- 3) 橋本光司 (1989): 埼玉園試特報 2: 1 ~ 110.
- 4) IKEDA, K. et al. (2015): J Gen Plant Pathol 81: 77 ~ 82.
- 5) 光永貴之 (2016): 第 63 回関東病虫研発表会講演要旨集, p.8.
- 6) MOL, L. (1995): Neth J Agr Sci 43: 205 ~ 215.
- 7) PEGG, G. L. and B. L. BRADY (2002): Verticillium wilts, CABI Publishing, Wallingford, p.296 ~ 330.
- 8) SHETTY, K. G. et al. (2000): Phytopathology 90: 305 ~ 310.
- 9) SHIRAIISHI, T. et al. (2014): J Gen Plant Pathol 80: 475 ~ 478.
- 10) SUBBARAO, K. V. (1999): Plant Dis 83: 124 ~ 129.
- 11) 丹後俊郎 (2001): 行動計量学 28: 56 ~ 67.
- 12) 田代暢哉 (2005): EBC 研究会誌 1: 1 ~ 10.