

ミニ特集：根こぶ病の国内事情

キャベツ根こぶ病の発病ポテンシャルの評価と それに応じた殺菌剤による防除

三重県農業研究所 ^{すずき}鈴木 ^{ひろふみ}啓史・辻 ^{ともこ}朋子・黒田 ^{かつとし}克利

はじめに

キャベツ根こぶ病に対して殺菌剤を処理したにもかかわらず、発病することがある。この原因としては、殺菌剤の処理から定植までの間隔が長すぎたことや、定植後の降雨が発病を助長したこと等の要因が考えられるが、そもそも殺菌剤で抑えられるレベル以上に圃場の発病ポテンシャル（発病のしやすさ）のレベルが高かったことも考えられる。逆に、殺菌剤を処理して根こぶ病の発病がなかった場合、実は、殺菌剤を使用するまでもない状態、つまり、圃場の発病ポテンシャルのレベルが低かったということも考えられる。

一方、根こぶ病をはじめとして土壤病害の対策は、定植前に講じる必要があるため、事前に防除実施の必要性の有無と対策方法の判断が求められる。この判断を行う際に、圃場の発病ポテンシャルのレベルがわかっているれば、どのような対策を行うかの判断に役立つと考えた。そこで、2011～13年にかけて委託プロジェクト研究「気候変動に対応した循環型食料生産等の確立のためのプロジェクト」により、圃場の発病ポテンシャルの評価法と、その評価に基づく防除対策を検討し、キャベツ根こぶ病のヘソディム（圃場の健康診断；TSUSHIMA and YOSHIDA, 2012）のマニュアルを作成した（農環研 URL: <http://www.niaes.affrc.go.jp/techdoc/hesodim/>）。ヘソディムとは、圃場の土壤を「診断」し、そこに作物を栽培したときの発病しやすさを総合的に「評価」して3段階にレベル分けし、そのレベルに応じた「対策」を提案するものである。ここでは、キャベツ根こぶ病に対する診断項目の選定と、病原菌密度の簡易検出法の開発に取り組み、さらに、診断された発病ポテンシャルに応じた防除対策の検討を行ったので紹介する。

I キャベツ根こぶ病の発病ポテンシャルに影響する土壤病害診断項目の選定

1 土壤診断

キャベツ根こぶ病の発病ポテンシャルを圃場ごとにレベル分けするため、三重県内で2か年36箇所の圃場から土壤を採取し、土壤理化学性14項目と土壤生物性2項目の測定および対象圃場の前作発病程度の聞き取り調査を行った（表-1）。

土壤は、圃場の4隅と中央の5地点から、表層1cm程度取り払い、深さ10cm程度の土壤を採取した。5地点の土壤を混合して（1kg程度）、2mm目で篩別し、篩下をさらに混合した。

2 発病診断

採取土壤をセルトレイに充てんし、底面給水による生物検定（以下セルトレイ検定；吉本・前田，2001）を実施した。ハクサイ根こぶ病の発病程度（図-1）から発病度（村上，2002）を求め、その土壤の発病ポテンシャル

表-1 土壤病害診断の候補項目

土壤理化学性	土壤生物性
1. 土壤分類	15. 土壤微生物の多様性
2. 土性	16. 病原菌密度
3. pH (H ₂ O)	
4. EC (電気伝導度)	
5. 炭素含有率	<u>聞き取り</u>
6. 窒素含有率	17. 前作発病程度指数
7. 可給態リン酸	+ 2: 発病あり
8. 土壤水分	+ 1: 一部発病あり
9. 硝酸態窒素	0: 不明
10. 石灰	- 1: 未発生
11. 苦土	
12. 加里	
13. 石灰苦土比	
14. 苦土加里比	

Evaluation of Potential Onset Cabbage Clubroot, and Control by Fungicides Corresponding Thereto. By Hirofumi SUZUKI, Tomoko TSUJI and Katsutoshi KURODA

(キーワード：キャベツ根こぶ病，ヘソディム，発病ポテンシャル，防除対策，病原菌密度，LAMP法)

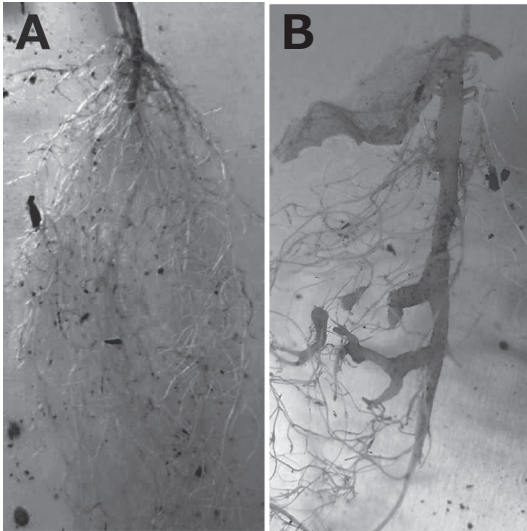


図-1 セルトレイ検定法による発病の様子
 A: 根こぶなし (発病程度 0).
 B: 主根の 50% 以上に肥大した根こぶあり (発病程度 3).

とした (図-2)。

セルトレイ検定は、50 穴セルトレイに検定土壌 60 g を充てんし、ハクサイ‘大福 75’を 1 セル当たり 5 粒播種し、5 反復で行った。不織布をセルの穴から垂らすことで底面給水を行い、4～5 週間後に根こぶの着生程度を調査し、発病の有無と程度により発病度を求めた。

3 回帰分析

セルトレイ検定により得られた発病度 (発病ポテンシャル) と土壤病害診断の各候補項目との単回帰分析を行

った結果、各項目の相関係数は病原菌密度が 0.41 と最も高く、次に、前作発病程度指数が 0.35、土壌 pH が -0.31 となった (表-2)。

病原菌密度は、アブラナ科野菜根こぶ病総合防除マニュアル (村上, 2002) に基づき測定した。

本法は、検鏡により休眠孢子数を調査するが、検出限界が約 1×10^4 個/g 土壌であることに留意する必要がある。そこで、36 地点のうち、検出限界以下の 13 地点を除いた 23 地点で回帰分析したところ、病原菌密度の相関係数は 0.59 と向上した。

また、土壌 pH の指数を 5.5 以下は +1, 5.6 以上 6.5 以下は 0, 6.6 以上は -1 と 3 段階の指数に区分したところ、相関係数は 0.45 に向上した。

これら 3 項目を用いて重回帰分析を行ったところ、修正済決定係数は 0.58 であった (表-3)。

以上の結果から、病原菌密度、前作発病程度指数、土壌 pH 指数を発病ポテンシャル推定のための土壤病害診断項目とした。

II LAMP 法による土壌中のアブラナ科野菜根こぶ病菌の検出

発病ポテンシャルと最も相関が高い病原菌密度について、より簡易に、より感度高く検出するため、LAMP 法による根こぶ病菌の簡易検出法を検討した。

1 プライマーの作製

LAMP プライマーは、既報の PCR プライマー (Cao et al., 2007) の遺伝子配列を参考に、株式会社ニッポンジーンの「LAMP プライマー設計・合成サービス」により作製した。

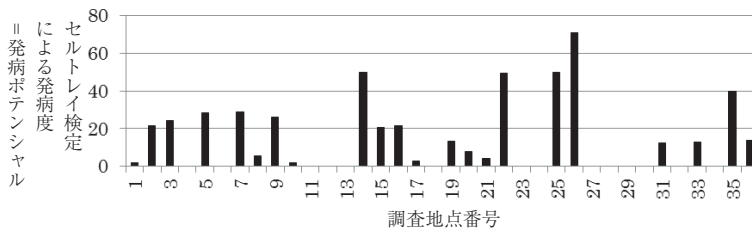


図-2 調査地点ごとの発病ポテンシャル

本調査に用いた発病指数と発病度算出法。

$$\text{発病度} = (1 \times n_1 + 2 \times n_2 + 3 \times n_3) / (3 \times N) \times 100.$$

n_i : 発病程度の区分が i の個体数, N : 全個体数。

発病程度の区分

- 0: 根こぶなし.
- 1: 側根のみに根こぶあり.
- 2: 主根の 50% 未満に根こぶあり.
- 3: 主根の 50% 以上に根こぶあり.

表-2 各診断項目と発病ポテンシャルの相関係数

診断項目	全調査地点の相関係数	休眠孢子検出限界以下の地点を除いた相関係数
病原菌密度 (乾土 1g)	0.41	0.59
前作発病程度指数	0.35	0.27
土壌 pH (H ₂ O)	- 0.31	- 0.41
土壌 pH (H ₂ O) 指数	0.45	0.64
検定数	36	23

a) 前作発病程度指数; + 2: 発病あり, + 1: 一部発病あり, 0: 不明, - 1: 未発生
 b) 土壌 pH (H₂O) 指数; + 1: 5.5 以下, 0: 5.6 以上 6.5 以下, - 1: 6.6 以上

表-3 発病ポテンシャルと診断項目との関係 (2 年 23 地点の重回帰)

		決定係数	0.64	
		修正済決定係数	0.58	
重回帰式				
変数名	偏回帰係数	T 値	P 値	
病原菌密度 (乾土 1g)	0.0003374	3.19	0.00	
前作発病程度	1.475	0.63	0.54	
土壌 pH (H ₂ O) 指数	26.66	3.68	0.00	
定数項	2.824	0.71	0.49	

a) 前作発病程度指数; + 2: 発病あり, + 1: 一部発病あり, 0: 不明, - 1: 未発生
 b) 土壌 pH (H₂O) 指数; + 1: 5.5 以下, 0: 5.6 以上 6.5 以下, - 1: 6.6 以上

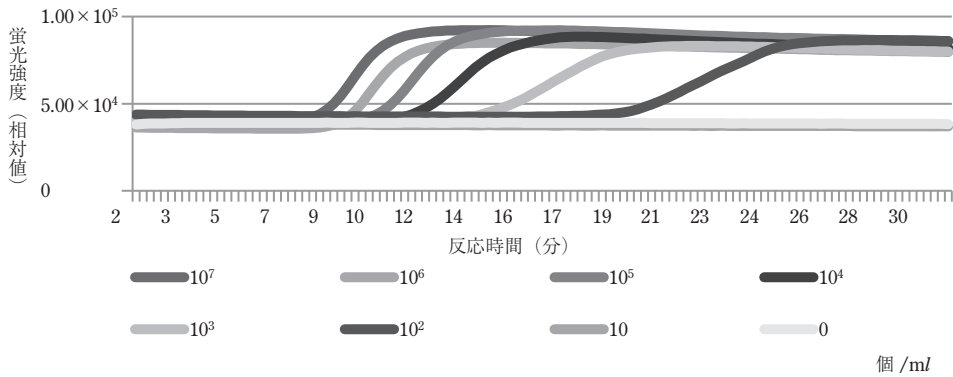


図-3 LAMP 法による病原菌密度別検出曲線

表-4 セルトレイ検定と LAMP 反応との関係

調査地点番号	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	
指標作物発病度	21.7	2.7	0	13.3	7.7	4	49.3	0	0	49.7	71.1	0	0	0	0	12.59	0	12.88	0	
LAMP 反応時間 (反復ごとに抽出)	I 14:12				19:42		10:27		13:12		12:42		10:27		16:05		30:00			
	II						14:45				13:15									
	III 15:30				15:00				10:00				14:30							

2 LAMP 反応

LAMP 反応は、等温増幅蛍光測定装置「Genie® II」を用いて測定した。

休眠孢子土壌懸濁液（土：蒸留水 = 1：52.5）を 10⁷ 個/ml に調整し、各懸濁液から改変塩化ベンジル法（Li et al., 2013）で抽出・純化した DNA を鋳型として、65℃で 30 分の LAMP 反応を行った。その結果、10² 個/ml 以上の孢子密度で反応が認められた（図-3）。反応時間は 10⁵ 個/ml で 11 分 10 秒、10² 個/ml で 20 分 40 秒であった。

孢子密度によって反応時間が異なるので、反応時間から定量できる可能性が示唆された。この点については、今後、検体数を増やして検証する予定である。

3 現地土壌を用いた検討

先に採取した 36 地点の現地土壌のうち、2013 年に採取した 19 地点について検討した。このうち、9 地点で LAMP 法によって根こぶ病菌が検出された。セルトレイ検定の発病度が 21.7 以上のすべての地点で検出可能であった（表-4）。

一方、土壌から DNA 抽出を 3 回行った結果、採取した地点によって根こぶ病菌の検出頻度が異なった。DNA 抽出に用いた土壌が 0.4 g とわずかなため、DNA 抽出回数を増やすことで、安定した検出ができると考える。

以上の結果から、圃場の発病ポテンシャルを代表する土壌をどのように採取するかは課題はあるが、根こぶ病菌の菌密度を LAMP 法により簡易に、感度高く測定できる可能性がある。

III キャベツ根こぶ病の発病ポテンシャルの異なる圃場における殺菌剤の防除効果

試験は、2011 年と 12 年に実施し、発病ポテンシャルが 10 以上 20 未満の圃場（レベル 2：レベル分けについては後述する）と発病ポテンシャル 20 以上の圃場（レベル 3）を用いた。殺菌剤の処理は、育苗箱灌注剤（アミスブルプロム水和剤）と土壌混和剤（アミスブルプロム粉剤）のそれぞれの単独処理および育苗箱灌注剤と土壌混和剤の体系処理を行った。2 か年とも 9 月上旬にキャベツ「松波」を定植し、収穫期に根こぶの着生程度から発病度調査し比較した。その結果、発病ポテンシャルレベル 2 の圃場では、育苗箱灌注処理したアミスブルプロム水和剤が十分な防除効果を示した（表-5）。また、発病ポテンシャルレベル 3 の圃場では、アミスブルプロム水和剤とアミスブルプロム粉剤の体系処理が最も発病を抑制した。

発病ポテンシャルを作付け前に診断し殺菌剤を選択す

表-5 異なる発病ポテンシャルの圃場におけるキャベツ根こぶ病の防除効果

育苗箱灌注 (アミスブルプロム水和剤)	土壌混和 (アミスブルプロム粉剤)	試験年度	各発病ポテンシャルにおける発病度		10 a 当たりコスト (円)
			レベル 2	レベル 3	
○	—	2011	6.5	40.1	3,300
		2012	6.5	31.7	
—	○	2011	0.9	54.7	15,000
		2012	0	24.1	
○	○	2011	0	7.8	18,300
		2012	2.2	4.8	
—	—	2011	33.3	86.1	—
		2012	20.8	64	

ることで、発病ポテンシャルレベル 2 の場合、殺菌剤の使用量を削減できる。また、殺菌剤のコストおよび処理の労力が軽減される。

発病ポテンシャルレベル 3 の場合、育苗箱灌注処理あるいは土壌混和処理のそれぞれ単独処理では防除効果が低いので、育苗箱灌注処理と土壌混和処理の体系処理という効果が十分得られる防除対策を選択できる。

ただし、育苗箱灌注処理と土壌混和処理の体系処理でも防除効果が得られなかった場合は、レベル 3 以上と考え、薬剤による防除対策のみでなく、おとり植物を用いた輪作などの病原菌密度低減対策に取り組む必要がある。

一方、根こぶ病の基本となる対策は病原菌密度を高めることである。よって、発病ポテンシャルがレベル 1 と判定された場合でも、予防対策として殺菌剤コストおよび処理労力の低い育苗箱灌注処理を行うことで、根こぶ病菌の感染・拡大を許さない予防対策の実施が、アブラナ科野菜の産地における長期的な安定生産には重要と考える。

IV 発病ポテンシャルのレベルに応じた防除対策の選択

発病ポテンシャルのレベル分けについて図-4 にまとめた。

1 前作発病程度からの発病ポテンシャルのレベル分け

前作発病程度を記録しておくことが有効である。前作では、発病ポテンシャルが圃場全体で評価できる。圃場全体に萎れが観察されるようなら、次年度の対策はレベ

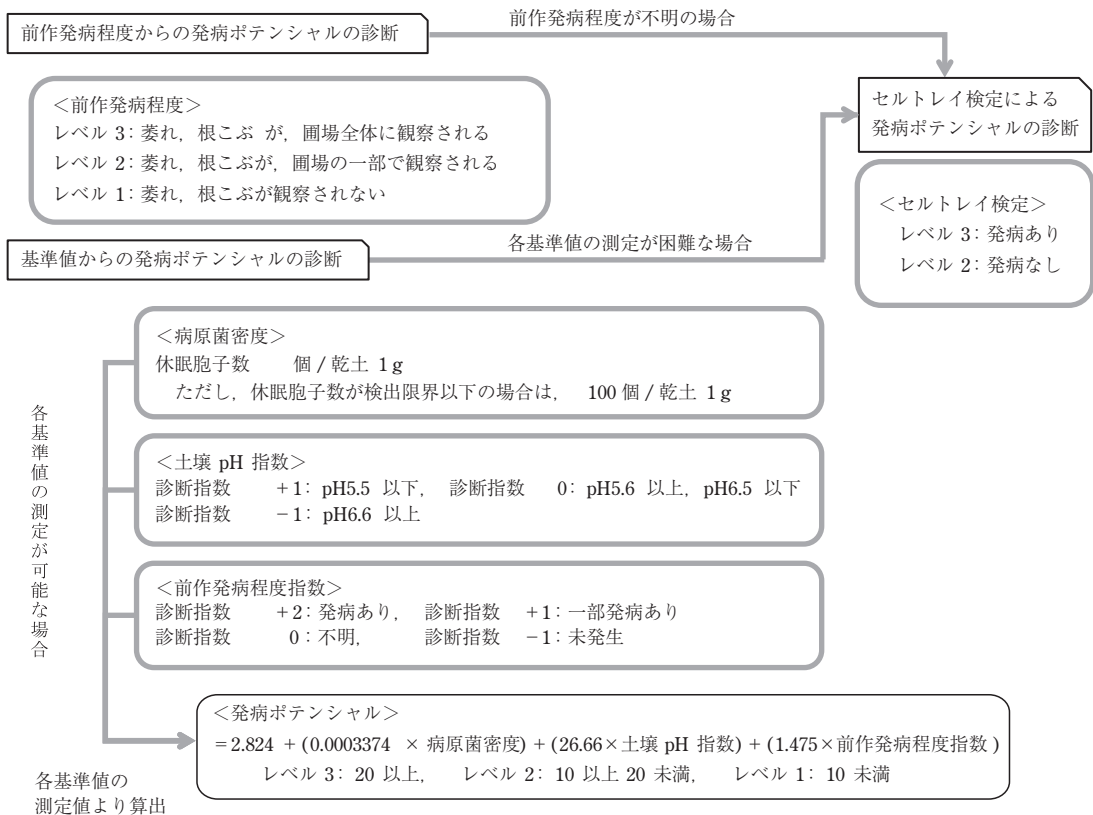


図-4 前作発病程度と土壤病害診断の基準値からの発病ポテンシャル診断

ル3で、一部に限られるようならレベル2で様子を見つめる。全く観察されなければ、レベル1という判断になる。

2 セルトレイ検定からの発病ポテンシャルのレベル分け

前作発病程度は、殺菌剤を使用した場合には圃場の発病ポテンシャルとは言えない。したがって作付け前の土壤でセルトレイ検定を行い、発病の有無を確認し、真の発病ポテンシャルを確認する必要がある。また、借地であったり、前作発病程度が記録されていなかったりする場合も、セルトレイ検定によって発病ポテンシャルを評価できる。

わずかな土壤を用いたセルトレイ検定で発病するようであれば、レベル3の防除対策を行い、発病がなくてもレベル2の防除対策を行うと安心である。

このセルトレイ検定は、特別な機器を必要としないので、生産者にとって取り組みやすい診断である。

3 基準値からの発病ポテンシャルの計算とレベル分け

三つの基準値を測定し、下記の重回帰式から発病ポテ

ンシャルを算出した。

＜重回帰式＞

発病ポテンシャル = 2.824 + (0.0003374 × 病原菌密度) + (26.66 × 土壌 pH 指数*1) + (1.475 × 前作発病程度指数*2)

また、発病ポテンシャルのレベル分けは、殺菌剤の防除効果試験(2012)において、無処理区の発病度20.8の圃場で、アミスルプロム水和剤の育苗箱灌注処理の防除効果を確認していることから、発病ポテンシャル20を、一つの区切りとして、発病ポテンシャルが20以上はレベル3、10以上がレベル2、10未満でレベル1としている。

今回の発病ポテンシャルのレベル分けは、試験圃場における殺菌剤の防除効果から設定した。発病ポテンシャルの区切りについては参考として、作付けする地域や作

*1: 土壌 pH 指数: pH5.5 以下は +1, pH5.6 以上 6.5 以下は 0, pH6.6 以上は -1

*2: 前作発病程度指数: 発病ありは +2, 一部発病ありは +1, 不明は 0, 未発生は -1

表-6 根こぶ病に対する各種防除対策とそれに対応する発病ポテンシャルのレベル

項目	処理方法	10 a 当たりの コスト (円)	対応する発病ポテンシャル		
			レベル 1	レベル 2	レベル 3
I. 化学的防除	アミスルブロム水和剤	育苗箱灌注	3,300	○	
	アミスルブロム水和剤 + アミスルブロム粉剤 等	育苗箱灌注 + 土壌混和	18,300		○
II. 生物的防除	バリオボラックス パラドクス水和剤	育苗箱灌注		○	
	土壌 pH の矯正	苦土石灰 60 kg + 微量要素 3 kg	3,060	○	○
III. 耕種の防除	排水処理			○	○
	転炉スラグの施用 ^{a)}	5 t 処理の場合	約 170,000		○
	抵抗性品種			品種または作期の変更が可能であれば、 発病ポテンシャルの低減が可能	
	作期の変更				
	輪作			病原菌密度低減に有効、実施することで 発病ポテンシャルの低減が期待できる	
IV. 圃場衛生	おとり植物の作付け	葉ダイコン CR-1 6 L/10 a	10,000		
	長靴の洗浄			○	○
	農機具の洗浄			○	○
	罹病根の持ち出し			局所的な発生であれば可能か	

^{a)} 転炉スラグの施用により適切な pH が維持できていれば化学的防除は省略できる。

物、品種に応じて調整が必要と考えている。

4 防除対策の選択

発病ポテンシャルに応じた防除対策を整理した(表-6)。ここまで化学的防除手段について紹介してきたが、土壌 pH の矯正や、排水対策等耕種の防除との組合せが重要なことは当然である。

また、既発生圃場から未発生圃場へ土壌を移動させない圃場衛生も重要な管理項目である。

おわりに

ヘソディムでは、発病してからの対策ではなく、発病する前にその発病ポテンシャルを低く抑えることで、病害を予防しようと考えている。人は健康診断の結果を見

て、健康を維持するために基準値に近づける努力をしている。同様に、キャベツ根こぶ病の対策についても、病原菌密度および土壌 pH 指数、前作発病程度指数を調べ、その調査結果を見て、発病ポテンシャルに応じた対策を実行し、圃場を健全な基準値に近づけたいと考えている。

引用文献

- 1) Cao, T. et al. (2007): Plant Dis. 91: 80 ~ 87.
- 2) Li, M. et al. (2013): Microbes Environ 28: 195 ~ 203.
- 3) 村上弘治 (2002): アブラナ科野菜根こぶ病総合防除マニュアル, 東北農業研究センター, 福島, p.34.
- 4) Tsushima, S. and S. Yoshida (2012): TUA-FFTC International Seminar on Emerging Infectious Diseases of Food Crops in Asia, Abstract: p.204.
- 5) 吉本 均・前田和也 (2001): 和歌山農林水技セ研報 2: 143 ~ 148.