No. 31 October, 2024

土壌伝染病談話会レポート

(第31回土壤伝染病談話会講演要旨)

31th PSJ Soil-Borne Disease Workshop Report

主催:日本植物病理学会 土壤伝染病談話会 PSJ Soil-Borne Disease Workshop



土壌伝染病談話会レポート No. 31

目次

第 31 回土壌伝染病談話会プログラム	1
「改めて、土壌伝染病の発生要因を知る」	
土壌伝染性フザリウム病のパンデミック -病原性や宿主特異性の分化・進化、感染拡大はどう起こるのか?- 有江 力	3
静岡県におけるネギ類黒腐菌核病の発生要因を探る 伊代住 浩幸	11
群馬県におけるハクサイ黄化病の防除対策 星野 啓佑	20
モモ胴枯細菌病 (急性枯死症) の発生要因の解明と対策技術開発の試 桐野 菜美子・苧坂 大樹・川上 敦子・髙田 真里・佐々木 郁哉 ・吉村 諒介・水田 有亮・大家 理哉・森次 真一	ン 29
白紋羽病の発生要因と土壌微生物の相互作用 郭 永・兼松 聡子	37
サツマイモ基腐病を防除して健全苗生産に貢献する苗床土壌還元消毒 の開発	技術
野見山 孝司	47
ダイズ黒根腐病の発生に関与する栽培および気象要因の解析 越智 直	55

積雪地帯におけるブドウ根頭がんしゅ病の発生拡大の原因に迫る		
	川口 章	64
土壌病害の発生抑制をもたらす土壌微生物叢改変	西岡 友樹	73
土壌微生物叢の構造と作物病害リスク	東樹 宏和	81
本会記事		86

第31回土壌伝染病談話会プログラム

1. 開催日時:令和6年(2024年)10月17日(木)13:10

~10月18日(金)12:00

2. 会場: 文部科学省 研究交流センター 国際会議場

(茨城県つくば市竹園 2 丁目 20-5)

3. プログラム

10月17日(木)

13:10-13:15

開会の辞 「改めて、土壌伝染病の発生要因を知る」

農研機構植物防疫研究部門 兼松 聡子

13:15-14:05

「土壌伝染性フザリウム病のパンデミック -病原性や宿主特異性の分化・進化、感染拡大はどう起こるのか?-」

東京農工大学大学院農学研究院 有江 力

14:05-14:35

「静岡県におけるネギ類黒腐菌核病の発生要因を探る」

静岡県農林技術研究所 伊代住 浩幸

14:35-15:05

「群馬県におけるハクサイ黄化病の防除対策」

群馬県農業技術センター 星野 啓佑

15:15-15:45

「モモ胴枯細菌病(急性枯死症)の発生要因の解明と対策技術開発の試み」 岡山県農林水産総合センター農業研究所・*井笠農業普及指導センター 桐野 菜美子・苧坂 大樹・川上 敦子・髙田 真里*・佐々木 郁哉 ・吉村 諒介・水田 有亮・大家 理哉・森次 真一

15:45-16:15

「白紋羽病の発生要因と土壌微生物の相互作用」

農研機構植物防疫研究部門 郭 永・兼松 聡子

16:15-16:45

「サツマイモ基腐病を防除して健全苗生産に貢献する苗床土壌還元消毒技術の 開発」

農研機構植物防疫研究部門 野見山 孝司

10月18日(金)

9:15-9:45

「ダイズ黒根腐病の発生に関与する栽培および気象要因の解析」

農研機構植物防疫研究部門 越智 直

9:45-10:15

「積雪地帯におけるブドウ根頭がんしゅ病の発生拡大の原因に迫る」

農研機構西日本農業研究センター 川口 章

10:25-11:00

「土壌病害の発生抑制をもたらす土壌微生物叢改変」

産業技術総合研究所生物プロセス研究部門 西岡 友樹

11:00-11:50

「土壌微生物叢の構造と作物病害リスク」

京都大学大学院生命科学研究科 東樹 宏和

11:50 閉会の辞

土壌伝染性フザリウム病のパンデミック -病原性や宿主特異性の分化・進化、感染拡大はどう起こるのか?-

有江 力

Tsutomu Arie: Pandemic of Soilborne Fusarium diseases

摘要

土壌病原性フザリウム病菌は多様に分化しており、なお分化の途上にあると考えられる。Fusarium oxysporum では、分化型(form)やレース(race)がこれに相当する。例えば、バナナ萎凋病菌(f. sp. cubense)はバナナに感染する分化型であり、その下位に、宿主とし得る品種に基づいてレース 1、2、SR4、TR4 がさらに分化している。このような分化がどのように生じているのか、また、どのように分化したフザリウム菌の感染拡大・爆発が生じているのか、について本稿では考察したい。

Summary

Soilborne Fusarium pathogens have differentiated into diverse types, and are thought to still be in the process of differentiation. In the case of *Fusarium oxysporum*, these correspond to forms (forma specialis) and races. For example, the banana wilt fungus (f. sp. *cubense*) is a form that infects bananas, and in the form are races 1, 2, SR4, and TR4. In this paper, I will consider how such differentiation occurs and how epidemics and pandemics of differentiated Fusarium fungi are occurring.

Key words: wilt, tomato, banana, accessory chromosome, evolution

東京農工大学大学院 農学研究院 Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology (TUAT)

はじめに

土壌病原性フザリウム菌は多様に分化しており、なお分化の途上にあると考えられる。

種複合体 Fusarium oxysporum には多数の分化型 (forms; forma specialis) が知られている。表 1 にその一部をまとめた。例えば、トマト萎凋病菌 (f. sp. lycopersici) はトマトのみを宿主とし、バナナやキャベツには感染できない。バナナ萎凋病菌 (パナマ病菌; f. sp. cubense) はバナナのみを宿主とし、トマトやキャベツには感染できない (Arie 2019)。

分化型(f. sp.)	主な宿主植物と病名
apii	セルリー萎黄病
cepae	タマネギ乾腐病,ネギ萎凋病
conglutinans	キャベツ萎黄病,キョウナ萎凋病
coriandrii	コリアンダー株枯病
cripti	ミツバ株枯病
cucumerinum	キュウリつる割病
cubense	バナナ萎凋病(パナマ病)
lactucae	レタス根腐病
lagenariae	ユウガオつる割病, スイカつる割病
lycopersici	トマト萎凋病
matthiolae	ストック萎凋病
melongena	ナス半枯病
melonis	メロンつる割病, マクワウリつる割病
niveum	スイカつる割病
radicis-lycopersici	トマト根腐萎凋病
raphani	ダイコン萎黄病
rapae	カブ萎黄病、コマツナ萎黄病、キョウナ萎凋病
spinaceae	ホウレンソウ萎凋病

一方、分化型の下位に、感染できる品種の違いによってレース (race) が分化 している場合がある。例えば、トマト萎凋病菌では、育成される抵抗性品種との イタチごっこのように、レース 1、レース 2、レース 3 が生じた (表 2)。

萎凋病菌 レース	トマト品種の例 (抵抗性遺伝子遺伝型)			
(非病原力遺伝子遺伝 [*] 型)	ポンデローザ	桃太郎	桃太郎ファイト	ブロック
π,	(<u>i</u> i2 i3)	(I i2 i3)	(I I2 i3)	(I I2 I3)
1 (AVR1 AVR2 AVR3)	S	R	R	R
2 (avr1 AVR2 AVR3)	S	S	R	R
3 (avr1 avr2 AVR3)	S	S	S	R

バナナ萎凋病菌でも同様で、バナナ(Musa spp.)の栽培品種に対する病原性に 基づいて、レース 1、2、4の 3つのレースが報告されている (Ploetz 1990; 1994; 2006)。1950 年代には、M. acuminata 'Gros Michel' (AAA 三倍体ゲノム型) の 中米から北米やヨーロッパへの輸出が、f. sp. cubense レース 1 の流行によって劇 的に減少した。パナマでの被害が多かったため「パナマ病」とも呼ばれる所以で ある。レース 1 は、フルーツバナナである 'Gros Michel' だけでなく 'Silk' (AAB) や 'Pome' (AAB) にも感染する。レース 2 は、'Bluggoe' (ABB) な どのいくつかの調理用バナナ栽培品種に萎凋病を起こす中米の風土病で、他の 地域では見られていない (Su et al. 1986)。レース 1 が 'Gros Michel' に深刻な影 響を及ぼしたため、プランテーションの大部分ではレース 1 と 2 に抵抗性のあ る 'Cavendish' (AAA) に置き換えられ (Su et al. 1986; Dita et al. 2010)、近年で は 'Cavendish' が貿易バナナの多くを占めている (Perez-Vicente et at. 2014)。 一 方、1960 年代には、'Cavendish' およびレース 1 と 2 に感受性の品種に病原性を 示すレース 4 が、台湾(Su et al. 1986; Zhang et al. 2013)、フィリピン、カナリア 諸島などの亜熱帯地域から報告され、現在では亜熱帯レース 4 (レース SR4) と されている (Hwang and Ko 2004)。さらに、1980 年代後半から、インドネシアや マレーシアなどの熱帯地域で'Cavendish'の壊滅的な被害が報告された。この 深刻な被害の原因となった f. sp. cubense は、既知のレース SR4 と遺伝的に異な る上、病原性が強いため、新たに熱帯レース 4 (レース TR4) とされた (Smith et al. 2014)。TR4 は f. sp. cubense の中で最も壊滅的なレースであり、「新パナマ病」 とも呼ばれるそのパンデミックによって、フィリピンを含むアジア、インド、オ ーストラリア、東アフリカのバナナ農園が被害を受けている。輸出用フルーツバ ナナの世界最大の生産地であるエクアドルをはじめ中南米には、レース TR4 が 侵入していなかったため、最後の聖地とされ、レース TR4 の侵入が警戒されて いた。しかしながら、2019年にコロンビア、2021年にペルー、2023年にベネズ エラからレース TR4 確認の報告があり、レース TR4 のパンデミックは止められ ていない。

どのように新たな病原性や宿主特異性などの分化が生じているのか、また、どのようにフザリウム菌のパンデミックが生じているのか、について本稿では考察したい。

病原性や宿主特異性などの分化

アムステルダム大の Rep らのグループは、トマト萎凋病菌が産生する小型の分泌タンパク質(Six)がいわゆるエフェクターであることを報告した(Houterman 2008, 2009; Rep 2005)。一方、Fusarium 菌の比較ゲノム解析によって、トマト萎凋病菌が生命活動に必要なコア染色体領域に加え、生命活動には不必要なアクセサリー染色体領域を持つことが報告された(Ma 2010)。トマト萎凋病菌 4287株が持つアクセサリー染色体領域の1つが14番染色体であり、4287がこれを喪失しても生育に影響はないもののトマトへの病原性を失う。一方、トマトに定着することが可能な非病原性菌 Fo-47が14番染色体を獲得するとトマトに病原性を示すようになる(Ma 2010)。さらに、上述のSix をコードする SIX 遺伝子がアクセサリー染色体に乗っていることも報告されている。このように、アクセサリー染色体の一部は病原性や宿主特異性の決定に関与する。

私たちは、バナナ萎凋病菌、ミツバ株枯病菌、キャベツ萎黄病菌などのゲノム解析を行い、アクセサリー染色体領域を同定してきた(図1; Asai 2019; Ayukawa 2021; 戸畑 2024)。

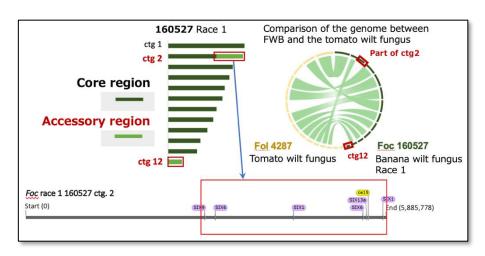


図1 バナナ萎凋病菌レース1、160527株のアクセサリー染色体領域の例

これらの菌のベノミル処理によってアクセサリー染色体領域欠失株の作出を 試み、キャベツ萎黄病菌ではアクセサリー染色体領域欠失株が宿主植物(キャ ベツおよびシロイヌナズナ)に対する病原性が変化すること(Ayukawa 2021)、バナナ萎凋病菌やミツバ株枯病菌では欠失株が宿主植物に対する病原 性を喪失すること(図 2; 芦川 2024; 戸畑 2024)、その結果、病原性を司るア クセサリー染色体領域の特定に成功、現在、CRISPR/Cas9 システム(Shinkado 2021) も利用しながら病原性に関わる遺伝子の特定を行っている。

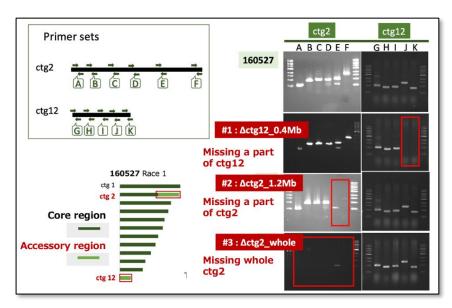


図2 バナナ萎凋病菌 160527 株のアクセサリー染色体欠失株

#1 株は ctg12 の一部、#2 株は ctg2 の一部、#3 株は ctg2 を全部欠失している

アクセサリー染色体上の SIX 遺伝子上や周辺領域には、転移因子が多く存在 しており (Inami 2012)、これが新たな病原性や宿主特異性分化の原動力のひと つになっているものと推察している。

一方、それぞれの菌のアクセサリー染色体領域上の SIX 遺伝子の特異的な保持パターンは、分化型やレースの特異識別に応用可能であり、例えば、バナナ萎凋

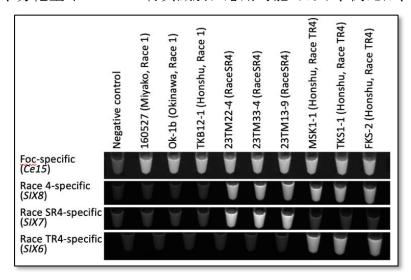


図 3 特異識別用 LAMP プライマーセットを用いたレース識別結果 MSK1-1, TKS1-1、FKS-2 は国内本州圃場由来株

病菌の3つのレース(レース1、SR4、TR4)の特異識別用 LAMP プライマーセットは最近上市に至った(図 3; https://nippongene-analysis.com/special-feature/direct-sales/)。

フザリウム病のパンデミックはなぜ起こるか?

茨城県鹿行地域は古くからミツバ (Cryptotaenia japonica) の産地である。特に、 同地域では '根三つ葉' としての露地栽培が盛んで、そのため株枯病が発生しや すかった。ミツバの生産が減少するにつれ、他作目の転換が進んだ。近年は、同 地域では、サツマイモ (Ipomoea batatas) に加え、シソ (Perilla frutescens var. crispa)、 コリアンダー (Coriandrum sativum)、ミズナ (Brassica rapa var. nipposinica)、コ マツナ (Brassica rapa var. perviridis) などを生産する農家が多くなっている。こ れに伴ってこれらの植物でも F. oxysporum をはじめとする土壌病害の発生が問 題になっていた。コリアンダーにも株枯病による被害がみられた。もともと、コ リアンダーと同じセリ科のミツバを栽培していた地域であるため、ミツバ株枯 病菌がコリアンダーにも感染しているのはないかと推察、両者の病原菌を比較 した。その結果、どちらも F. oxysporum による病害であったが、ミツバ株枯病は 1980 年代から変わらず rDNA-IGS 領域に約 300 bp の特徴的な欠失を持つミツバ 株枯病菌 (F. oxvsporum f. sp. crvpti) によって、コリアンダー株枯病は、インド などで報告されている F. oxysporum f. sp. coriandri と同じ系統の菌によって引き 起こされていた。コリアンダーの栽培が行われるようになったのはこの 10 年程 度であるため、種子などに付着してコリアンダー株枯病菌が持ち込まれたもの と考えられた(以上、論文作成中)。F. oxysporum は土壌伝染性の病原菌として 知られているが、種子などによってダイナミックに世界中に拡大する可能性が あると考えられる。同様な種子による伝搬については、過去にトマト萎凋病菌で も示唆している (Inami 2012)。

さて、「はじめに」でバナナ萎凋病菌レース TR4 のパンデミックについて述べたが、実はこの数年、国内本州の数圃場でレース TR4 と考えられる菌が得られている(未発表データ;図 3)。バナナベルト(バナナが主に栽培される南北の緯度 30 度の間の熱帯~亜熱帯の地域)からも外れ、あまりバナナ栽培が盛んとは言えない本州になぜレース TR4 が侵入したのであろうか?バナナ萎凋病はこれまでも沖縄県、鹿児島県奄美諸島などでは確認されていたが、全てレース 1 による病害であった。本州圃場から分離された菌は、分子系統学的にも沖縄県など

のレース1とは異なり、世界的に広がっているレース TR4 と同一クラスターに属し、かつ、'Cavendish'に病原を示した。世界的なパンデミックと同様に、苗を通して国内に侵入したとしか考えられない。

まとめると、F. oxysporum の病原性や宿主特異性の分化はそれぞれの地域で起きているわけではない。どこかで分化したものが、種苗や農業機械、ヒトを通じて伝搬している。これまでも注意を払ってきたところではあるが、より一層の注意 が 必 要 で あ る 。 2023 年 の 植 物 防 疫 法 の 一 部 改 正 (https://www.maff.go.jp/j/syouan/shokukaisei.html) で、輸入検疫の強化 (農業機械などへの対象拡大や植物検疫官の権限強化など) が図られたのは、タイムリーであると考えられる。

References

Arie T (2019) Fusarium diseases of cultivated plants, control, diagnosis, and molecular and genetic studies. *J Pestic Sci* **44**:275–281

芦川春華・谷地中未来・松井美樹・戸畑幸治・浅井秀太・小松健・有江力(2024) バナナパナマ病菌のアクセサリー染色体欠損株における病原性の低下. *日植* 病報 90: 印刷中

Asai S, Ayukawa Y, Gan P, Masuda S, Komatsu K, Shirasu K, Arie T (2019) High-quality draft genome sequence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* strain 160527, a causal agent of Panama disease. *Microbiol Resource Announce* **8**:e00654-19

Ayukawa Y, Asai S, Gan P, Tsushima A, Ichihashi Y, Shibata A, Komatsu K, Houterman PM, Rep M, Shirasu K, Arie T (2021) A pair of effectors encoded on a conditionally dispensable chromosome of *Fusarium oxysporum* suppress host-specific immunity. *Commun Biol* 4:707

Houterman PM, Cornelissen BJC, Rep M (2008) Suppression of plant resistance genebased immunity by a fungal effector. *PLoS Pathog* **4**: e1000061

Houterman PM, Ma L, van Ooijen G, de Vroomen MJ, Cornelissen BJC, Takken FLW, Rep M (2009) The effector protein Avr2 of the xylem-colonizing fungus *Fusarium oxysporum* activates the tomato resistance protein I-2 intracellularly. *Plant J* **58**:970–978

Inami K, Yoshioka-Akiyama C, Morita Y, Yamasaki M, Teraoka T, Arie T (2012) A genetic mechanism for emergence of races in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*:

Inactivation of avirulence gene AVR1 by transposon insertion. PLoS One 7: e44101

Ma LJ, van der Does H, Borkovich K, et al. (2010) Comparative genomics reveals mobile pathogenicity chromosomes in *Fusarium*. *Nature* **464**:367–373

Rep M (2005) Small proteins of plant-pathogenic fungi secreted during host colonization. *FEMS Microbiol Lett* **253**:19–27

Shinkado S, Saito H, Yamazaki M, Kotera S, Arazoe T, Arie T, Kamakura T (2022) Genome editing using a versatile vector-based CRISPR/Cas9 system in *Fusarium* species. *Sci Rep* **12**:16243

戸畑幸治・加藤有紀子・小寺俊丞・齊藤大幹・山崎真也・浅井秀太・荒添貴之・ 鎌倉高志・小松 健・有江 力 (2024) ミツバ株枯病菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *crypti* の病原性を司るアクセサリー染色体. *日植病報* **90**: 印刷中 静岡県におけるネギ類黒腐菌核病の発生要因を探る

伊代住浩幸

Hiroyuki Iyozumi: Findings on the Emergence and Epidemic of Allium

White Rot in Shizuoka Prefecture

Summary

Allium white rot (AWR) started to be epidemically spread in 21st century around the main

growing area of welsh onion in the western area of Shizuoka prefecture. Since 2012, we

started to investigate the way to control AWR. Although in a few years, we offered an

integrated control procedure of ARW to growers, the threats of ARW are still there and

spreading toward new growing areas in Shizuoka prefecture. Here we reconsider the

cause of emergence and epidemic of ARW in respect of pathogen, host and cultural

environments. We wish to give the point of views for the robust management of ARW.

Key words: Allium White Rot, Sclerotium cepivorum

静岡県農林技術研究所

11

1. はじめに

ネギ類の黒腐菌核病(黒菌)の病原糸状菌 Sclerotium cepivorum Berkley(無性世代)は、形態的類似性から子嚢菌門キンカクキン科の Stromatinia cepivora (Berkeley) Whetzel とされることもあるが、有性世代は未確認であり、無性的に形成する菌核によって分散・耐久する。分子系統解析から Sclerotinia 属に近いとされている。欧州、北中南米、アジア、中近東、アフリカ、ニュージーランドなど世界中で発生が確認され、ネギ属作物を特異的に侵し、ネギ属の糸状菌病害として、最も広範に発生し最も破壊的とされている(Crow、2008)。国内では、一説には 1939 年に広島のワケギに発生していたようであるが、その後報告は絶え、おそらくは大戦後に再侵入してから 1957 年に栃木県ほか関東の複数都県の根深ネギでの発生が正式に報告されて以来、各地のネギ属作物で相次いで発生し、1990 年代には九州(大分県、ニラ)、2010 年代には北海道(ネギ)まで発生地域が拡大している。世界的に菌核直径が 0.5 mm程度で類球形・小型のグループが主流であるが、より大きく不定形の菌核を作るグループも知られている。国内菌株では大型は東日本のみ、小型は全国に分布し、小型の生育適温域が高温側にやや広いこと等が報告されている。

静岡県西部の天竜川東岸に広がる砂壌土の一帯(磐田市及び袋井市)では明治 4年から根深ネギ栽培が始められ、昭和42年から秋冬ネギの指定産地として「磐 田白葱」のブランドのもと秋冬作を主力に根深ネギを生産している. この地域で 黒菌が初めて確認された時期は定かではない. 米寿となった演者の父親が兼業 農家をしていた 40 年程前には認識されていたが,大きな問題にはなっていなか った.しかしながら、演者が本病害の防除対策に取り組み始めた 2012 年には、 既に主産地で2割程度の減収が確認され, 殆どの生産者が発生を経験している 状況であった. 2017 年に被覆土壌消毒による菌核密度低減と、当時上市後間もな いペンチオピラド水和剤 (アフェットフロアブル) の土寄せ前からの予防的灌注 処理、土寄せ時の石灰追加施用からなる急性期の総合防除対策を現地に提案し た(斉藤ら、2019).後に、定植時の施用で本病に達効を示すピラジフルミド水和 剤(パレードフロアブル 20)が上市されてからは、より省力的な対策(井上ら、 2022, 2023, Ikeda et al. 2024) へ移行し、主産地では喉元を過ぎた感があったが、 2023-2024 年作では防除対策の不備や気象の影響と考えられる再発や、県内他所 の新たにネギ生産拡大を目指す地域での発生など, 本病の脅威は変わらず高い ことを感じている. 本稿では、改めて黒菌の発生とまん延の要因を見つめなお

し、堅牢な黒菌マネジメントにつながる視点を提供したい.

2. 発生とまん延の要因

2.1 主因

菌核は、宿主不在では土壌中で休眠しており、寄生されたり、物理的刺激等で 誤って発芽して餓死したりしなければ、10年以上生残する. 地表面に露出した状 態では 1 か月程度で比較的速やかに不活性化するものの. わずかでも土壌が被 っていれば比較的乾燥した条件でも殆ど活性は低下しない. 既報にあるように 河川の氾濫後のような温暖かつ嫌気的条件に置かれると不活性化しやすいが (Crow et al., 2005、黒田ら, 2013 の野菜類菌核病の報告とも類似),水道水や蒸 留水中に沈めた状態で5℃程度に保つと少なくとも2年間は活性低下しない(伊 代住ら未発表). 比重は 1.2 程度で、水には沈むものの、罹病植物や土壌への混 入だけでなく風雨によっても容易に移動する. 菌核はネギ類の「におい」で発芽 が促進される. 菌糸が根表面に達すると付着器様構造や感染クッションを形成 し、10-12 時間で侵入したのちは、皮層組織内を伸長し(Steentjes et al. 2021)、 周辺の根へも拡大しながら茎盤部・葉鞘部に達する(図 1A). タマネギ葉での 観察例では根の場合と異なり、周辺組織全体に速やかに充満する様子が観察さ れており (Steentjes et al. 2021), 腐敗部上に白色菌糸が蔓延する (White rot 症 状)と、速やかに腐敗部上に黒い菌核がカサブタ状に形成される(黒腐症状:図 2B, C バーは $100 \mu m$). 地下部が侵されてから地上部では外葉の先から枯れはじ め、成育が遅延・停止し、枯死・消失する(図 1D 春どり).

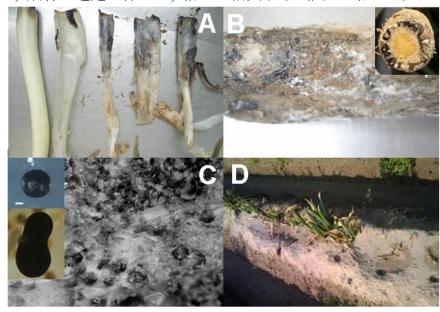


図1 黒菌発病 の様子(小型菌 核グループ)

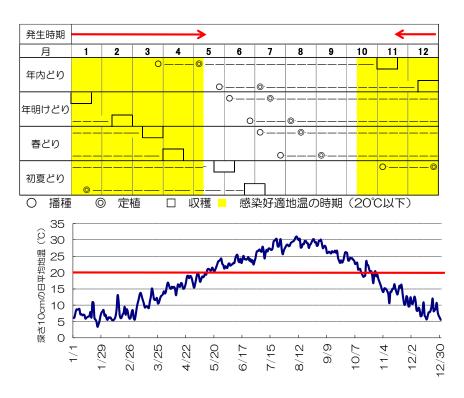


図2 ネギ栽培と黒菌発生時期・地温の関係

小型菌核グループの発芽は土壌中では 9~21℃(培地上では 5~24℃,最適 14~18℃)で確認されており,菌糸生育は 0~28℃程度で確認されている.被害は発病好適地温の期間に比例して酷くなり,静岡県西部の根深ネギ作型を例にとると(図 2),年内どり<年明け<初夏どり≦春どりとなる.年内どりでは定植後に感染するものの,適温以上の地温で病勢が停滞し,再び地温が下がる 9 月下旬~10 月以降に進展する.この作型では地上部症状は軽く,収穫して初めて地下部の被害に気づくケースが多い.年明け~春どりでは,9 月下旬~10 月以降収穫期まで感染好適期であり,その間に軟白部伸長のために繰り返される土寄せによって,葉鞘部がいきなり侵されるケースも増え,最も被害が大きい作型となる.初夏どりの場合には,定植時から春にかけて急速に被害が拡大し欠株が目立つが,地温上昇により収穫期前に終息する.

静岡県で 40 年程前に発生していたという菌株は保存されていないが、標徴 (菌核の大きさ) から現在発生している黒菌株と同じ、欧米ほか世界中で主流の グループと同じ小型菌核で 片岡ら (2018) による B 群菌だと考えられる. 2019 年までの約 10 年間に県西部地域のネギ、タマネギ、ニンニク等から分離・保存 されていた菌株 (いずれも B 群の 20 菌株) については、菌糸伸長速度や菌核形 成量 $(10 \circ PDA$ 培地) などでバラツキが認められたものの、PSP60、PSP60、PSP60 PSP60 PSP

などのハウスキーピング遺伝子配列を比較した範囲では違いが認められない程度であった(伊代住ら未発表). 十分な解析はできていないが、過去に域内に持ち込まれた病原が徐々に生息域を拡大しているものと思われる. ネギに登録のある各種殺菌剤に対する感受性の比較では、いずれも防除効果に影響する感受性の低下はなく、菌株間での明瞭な差はなかった(寺田ら、2022). 本病害以外では、白絹病で灌注処理の登録がある程度で、散布登録であっても茎盤部を目標に登録施用量の上限(300L/10a)まで施用することを推奨されるようなケースはこれまで他にはなかったことから、選択圧が低かったと考えられるが、特に現在達効が認められ、頻用されている SDHI 剤について、必要最小限の使用の徹底とモニタリングが必要である(井上ら、2022、2023、Ikeda et al. 2024). 以上から、本県における本病発生の顕在化に新系統の発生・侵入や薬剤感受性の低下が強く影響しているとは考えにくく、海外での過去の事例からも、黒菌(B群)本来の破壊力と伝搬性、耐久性が他の要因とかみ合って、蔓延に至ったと考えられる.

2.2 素因

海外で古くから本病害が問題となっているタマネギやニンニクでは、感受性が低い品種の選抜や、耐病性品種に関する報告があり(Utkhede and Rahe, 1978, Al-Safadi *et al.* 2000, Mohamed *et al.* 2020),ネギ臭の少ないことで感受性が低めになることなども報告されているが、ネギでは少なくとも実用的な耐病性品種は知られていない.

残念ながら、抵抗性あるいは耐病性品種による発病回避は実現していないが、小河原ら(2014)は、非宿主植物としてアブラナ科(カラシナ、ブロッコリー)やイネ科(ソルゴー、トウモロコシ)、キク科(レタス)などの輪作で、ただ体作するよりも次作の発病が低減することを報告している。Steentjes et al. (2021)は、GFP 導入菌株を用いた観察において、非宿主であるキャベツとトマトの根に発芽処理済みの黒菌菌核を接種した際に、キャベツでは菌糸が根の周りに伸びても付着器様構造など全く形成しなかった一方で、トマトでは付着器様構造や感染クッションを形成するものの侵入せず、10-24 時間の間にトマト根の表皮や根毛に接した細胞のみ GFP 蛍光が消失し、トマト細胞との相互作用において細胞の不活性化が起きたことを報告し、黒菌非宿主間での反応の違いを示唆している。演者らはトウモロコシ、トウガラシ、ダイズなどを栽培している根圏に黒菌菌核を接種すると、栽培なしに比べて菌核生残率が低下するとともに、後

作土壌での黒菌の発病進展が遅延したことを報告している(伊代住ら,2021). 輪作による次作の発病低減メカニズムは未だ十分に解明されず,根圏微生物の関与など推定しているが,各種作物根圏での菌核生残率の低減に関する知見は,輪作作目によっては,根圏で何らかの形での黒菌菌核発芽促進の後の宿主不在による単純な餓死ではなく,動的な非宿主抵抗性による感染阻害なども起きている可能性が示唆される.

2.3 誘因

2.3.1 温度(地温)

上述のように黒菌 (小型菌核グループ) は 20℃以下で活発に活動し、菌核発芽を含めた最低活動温度は 5℃前後、最高は菌糸伸長のみであれば 25℃を超える. 関東地方のネギ産地で黒腐菌核病が初めて報告されたのは、苗代で越冬したネギ苗であったが、発生のタイミングは、まず 8-9 月の播種後幼苗の状態で迎える 12 月初旬、その後低温で停滞し、翌年 4-5 月の 2 回目により激しく発生し、初夏にかけて地温上昇により発生は収束したとされている(若井田、1968). 基本的には現在も発生しやすい条件は変わらないが、年内の気温低下以降、翌年の初夏まで発症が途切れることはない. 以前の国内でネギ育種を手掛ける会社の話では、生産者の印象として、黒菌は昔は春の病気だと思っていたのが、最近では年内から発病が途切れなくなったという. 気温とネギ茎盤部付近地温の日平均はほぼ変わらないことから、図 3 に白ネギ主産地がある静岡県磐田市の1978 年から 2024 年までの月別日平均気温の 10 年平均(直近は 6 年平均)を示した. 夏と冬の高温化が顕著で、特に本来黒菌の発病が停滞する厳冬期(1~2月)

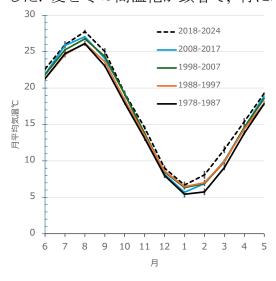


図3 磐田市の気温の長期的な上昇

とその前後の気温が 1978~87 年の平均 に比べて 1988~2017 年には 1℃前後, 2018~2024 年に至っては 2℃前後高くなっている. 2023 年 12~24 年 2 月でみれば, 9. 4, 7. 6, 9. 9℃であり,演者が通常接種試験用に菌核を増殖する 10℃と大して変わらない温度である. ピラジフルミド水和剤のセルトレイ灌注処理は 150 日後でも十分な濃度でネギ茎盤部での有効成分濃度を維持するとされるが (井上ら, 2022), この温度で土寄せ前の予防的な追加防除を適切に実施しないと、土壌消毒をしていない汚染ほ場であれば感染リスクは非常に高くなる.

2.3.2 栽培体系

磐田の白ネギは2004年から育苗・定植、収穫・調整をJAが受託する機械化一貫生産体系を進め、新規参入(茶や水稲との複合経営含む)、規模拡大を促進している。軽労化の促進と収益性の高さから、従来多かった海老芋など他作物との輪作が減り、ネギの連作が増えた。併せて、機械化一貫により「ワンオペ」生産も目立つようになり、海老芋との輪作で必ず被覆土壌消毒を行うような事例を除いて、産地では被覆土壌消毒がほとんど行われなくなっており、一度、黒菌を多発させてしまうと、ほ場全体に菌核が生残している状況が形成される(斉藤ら、2019)。上述のように緑肥植物や輪作による被害軽減や菌核密度の低減は確かに認められる。また、黒菌はアンモニアが介在するような(嫌気的)腐熟条件で不活性化しやすいため(Bollen and Volker, 1996、伊代住ら、2022)、緑肥のすき込み・石灰窒素添加による腐熟促進と組み合わせた太陽熱土壌消毒は一定の効果をあげている(伊代住ら、2014)。複数年次にわたるネギ属以外の輪作あるいは、一部で試みられている他作物生産者とのほ場交換なども含めて、産地レベルで黒菌を(他の作物の土壌病害も)増やさないほ場利用体系を計画的に構築する必要がある。

3. おわりに~堅牢な黒菌管理体系を目指して

本年度の土壌伝染病談話会では、発病抑止土壌に関する話題も取り上げられているため、少しだけ触れてみる。演者らが生産者から借りて新農薬開発のための現地試験を実施していたほ場は、ネギを敢えて連作し、残渣のすき込みは行わないものの、緑肥や輪作は行わなかった。そのほ場では、他のほ場と異なり、土壌中の生残菌核密度の低下が早く、栽培終了後、次作までの4~5か月で検出限界未満(Wet Sieving 法)になることが多いものの、ほ場全面で無処理区は廃棄株率50%を軽く超える甚発生ほ場であった。しかしながら、ペンチオピラド以降、対照区を含め効果の高い生育期防除剤の試験が続くにつれて、ほ場内で無処理の廃棄株率が反復によって10%を切るところまで低下したため、使用開始から11年、ペンチオピラドを対照剤に用い初めてから5年で試験ほ場としての使用を止めた。生存菌核が速やかに減衰する原因は腐植不足により菌核が物理的に傷つきやすくなって、ネギ不在で誤発芽してしまうことなど憶測している

が未検証であり、このほ場履歴から読み取れることは、残渣除去の効果、菌核を作らせない生育期防除の効果、有機物施用がないことによる発病抑止効果の欠如などであろうか.今後、短期的には、他の土壌病害との兼ね合いもある中で、土づくりを進めながら、可能な範囲で輪作し、最小限かつ適期の化学防除の継続で菌核を形成させないこと、中・長期的には耐病性育種に期待して、緊急防除の必要が少ない堅牢な黒菌防除体系を構築できると考えられる.

4. 参考文献

- Crowe, F. J. (2008) Compendium of Onion and Garlic Disease and Pests 2nd Edition, APS Press:22-26.
- 斉藤千温ら(2019) ネギ黒腐菌核病のネギ作付け前の生存菌核の低減と生育期感 染抑制による総合防除. 日植病報 85:325-333.
- 井上浩ら(2022) 夏どり作型のネギ黒腐菌核病に対するピラジフルミド水和剤のセル成型育苗トレイ灌注処理を活用した効果的な防除技術. 関東病虫研報70:26-32.
- 井上浩ら(2023) 春どり作型のネギ黒腐菌核病に対する各種殺菌剤のセル成型育苗トレイ灌注処理の防除効果. 関西病虫研報 65:53-61
- Ikeda, K. *et al.* (2024) Suppression of White Rot of Welsh Onion by a Preplant Transplant Drench Using Pyraziflumid. PHP. 25(3) https://doi.org/10.1094/PHP-12-23-0104-RS.
- Crow, F. J. *et al.* (2005): Effect of Flooding on Sclerotia of the Allium White rot Fungus (*Sclerotium cepivorum*). Central Oregon Agricultural Research Center 2005 Annual Report, 23-34.
- 黒田克利ら(2014) 菌核病菌の子のう盤形成能を消失する湛水処理の条件. 関西病虫研報 56:83-84.
- Steentjes *et al.* (2021) Visualization of Three Sclerotiniaceae Species Pathogenic on Onion Reveals Distinct Biology and Infection Strategies. Int. J. Mol. Sci.: 22, 1865. https://doi. org/10. 3390/ijms22041865.
- 片岡善仁ら(2018) 日本国内におけるネギ黒腐菌核病菌の新たな菌糸和合群と分子系統解析. 日植病報 84:257.
- 寺田彩華ら(2022) 静岡県で分離されたネギ黒腐菌核病菌における 薬剤感受性 の調査および評価. 関東病虫研報 69:100.

- Utkhede, R.S. and Rahe, J. E. (1977) Screening Commercial Onion Cultivars for Resistance to White Rot.Phytopathol.68:1080-1083.
- Al-Safadi *et al.* (2000) Improvement of garlic (Allium sativum L.) resistance to white rot and storability using gamma irradiation induced mutations. J.Genet. Breed.54:175-181.
- Mohamed, A.G. *et al.* (2020) Resistance to white rot disease and enhancement of yield and its components by selection in mutants of two garlic cultivars. Journal of Applied Horticulture, 22: 97-109.
- 小河原ら(2013) ネギ黒腐菌核病の総合防除法. 茨城園研報 20:27-34.
- 伊代住浩幸ら(2021) 作物の栽培がネギ類黒腐菌核病菌の菌核生存率を低下させ 黒腐菌核病被害も軽減させる. 関西病虫研報 63:1-7.
- 若井田正義(1968) ネギ黒腐菌核病に関する研究. 宇都宮大学農学部学術報告特輯 23:1-87.
- Bollen, G. J. and Volker, D. (1996) Phytohygienic aspects of composting. The Science of Composting. Springer, Dordrecht, 233-246.
- 伊代住浩幸ら(2022) ネギ黒腐菌核病罹病残渣処理における菌核の不活性化促進 に関わる要因の解析. 日本植物病理学会報 88:214.
- 伊代住浩幸ら(2014) 生存菌核定量法を用いたネギ黒腐菌核病防除方法の評価. 日本植物病理学会報 79:229.

群馬県におけるハクサイ黄化病の発生要因の解明 および防除技術開発

星野啓佑

Hoshino Keisuke: Etiology of *Verticillium* wilt in Chinese cabbage and development of control technology in Gunma Prefecture, Japan

Summary

Gunma Prefecture has been engaged in studying the causes and influencing factors of *Verticillium* wilt, a disease affecting Chinese cabbage cultivation, as well as in the development of a soil disease control method (HeSoDiM) for diagnosing and evaluating morbidity (susceptibility to disease) in the field and for implementing control measures. Findings have revealed that pathogen distribution varies by region and that disease outbreaks can be suppressed by controlling *Pratylenchus penetrans* in fields where the disease occurs naturally. Additionally, as part of the HeSoDiM introduction, an artificial intelligence model (predictor) was created through machine learning to assess disease potential based on field conditions. This model utilized data on standing blight occurrences from 209 Chinese cabbage field sites surveyed in Gunma Prefecture, along with variety profile data for each field. The predictor was found to be applicable to over 70% of the surveyed fields. This paper provides an overview of the research results.

Key words: Chinese cabbage, HeSoDiM, *Pratylenchus penetrans*, *Verticillium dahliae*, *Verticillium longisporum*, Verticillium wilt

群馬県農業技術センター

1. はじめに

群馬県のハクサイ栽培には、北西部の中山間地域において夏の冷涼な気候を 利用して栽培される夏秋どり(5月~10月収穫)と、東部の平坦地域で秋から 冬にかけて栽培される秋冬どり(11月~2月収穫)の作型がある。本県のハク サイ栽培面積は両作型をあわせて 466ha (全国第6位)、出荷量は 20,800t (全 国第 4 位)で全国でも上位に位置する産地である。群馬県のハクサイ栽培で は、黄化病の発生が深刻な問題となっており、その対策に苦慮している。本稿 では、本病の効果的な対策に向け、これまでに取り組んできた黄化病の発生要 因や助長要因の解明に関する試験研究の概要を紹介する。また、群馬県では本 病に対して圃場の発生しやすさを診断・評価して対策を講じる土壌病害管理 法:ヘソディム (Health-checkup based Soil-borne Disease Management: HeSoDiM) (Tsushima and Yoshida, 2012) の導入の検討を進めているが、その中で、農林 水産省の委託プロジェクト研究「AI を活用した土壌病害診断技術の開発」 (2017~2021 年度) の支援を受けて、県内の圃場条件に応じて本病の発病ポ テンシャルを診断できる AI モデルおよび本モデルを搭載した土壌病害対策支 援アプリ「HeSo+」(吉田, 2023)を共同で開発したので、その概要について も紹介したい。

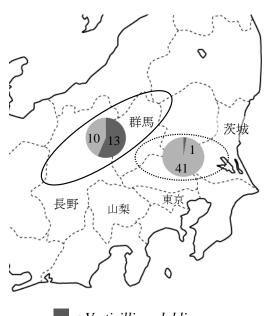
2. ハクサイ黄化病の特徴と群馬県の発生状況

ハクサイ黄化病は Verticillium dahliae と V. longisporum によって引き起こされる難防除土壌病害の1つである(Ikeda et al., 2012)。症状は結球期以降に急激に表れることが多く、外葉から黄化が進む。病徴が進行すると、結球葉の黄化・枯死が進み、やがて外葉が展開してハボタン状を呈し、出荷量が大幅に減少することが問題となる。また、罹病株の根や茎では維管束の褐変(Watanabe et al., 1973)が確認される。さらに、罹病株は耐久体である微小菌核を作り土壌中に長く生存するため、根絶が困難となる(Pegg and Brady, 2002)。

県内では、夏秋どりが行われている北西部地域で本病が問題となっている。 当該地域では、春から秋にかけてハクサイの2期作を行う生産者が多く、連作 が続くことによって、被害が深刻な状態となる圃場が散見される。本病害の主 要な防除手段として、クロルピクリンのマルチ畝内処理やカーバムナトリウム 塩液剤によるマルチ内散布混和等が有効とされる(清水ら、1983;藤永ら、 1999)。しかし、当該地域の生産者は時間的制約、労力、費用の点から土壌く ん蒸剤の使用を敬遠する傾向にあり、その対策に苦慮しているのが現状である。

3. V. dahliae と V. longisporum の分布 (Ikeda et al., 2012; 池田ら, 2014b)

本病の病原菌である V. dahliae と V. longisporum は、宿主範囲や病原性が異なり、どちらが優占するかによって防除対策が異なる。そこで、群馬県を含む関東東山地域の両菌種の分布を調査した(Ikeda et al., 2012; 池田ら, 2014b)。関東東山地域の夏秋どり作および秋冬どり作のハクサイから 67 菌株を分離し、菌種の同定を行い、地理的な分布を調査した(図 1)。秋冬どり地域(茨城県、群馬県東部地域)の 42 菌株中 41 菌株が V. longisporum であり、V. longisporum が優占的であった。また、夏秋どり地域(長野県、群馬県北西部地域)の 23 菌株のうち 10 菌株が V. longisporum であった。そのうち、群馬県北西部地域は 13 菌株中 10 菌株が V. dahliae であり、V. dahliae が優占的であることが明らかとなった。



: Verticillium dahliae: : Verticillium longisporum

図1 ハクサイ主要産地から分離した黄化病菌Verticillium dahliaeおよびV. longisporumの地理的分布 (Ikeda et al., 2012; 池田ら, 2014b) 地図中の円グラフはV. dahliaeおよびV. longisporumの分離頻度を示す。グラフ中の数字は分離菌株数。 実線(長野・群馬北西部) および破線(茨城・群馬東部)で囲まれたエリアはそれぞれ夏ハクサイ、秋冬 ハクサイを主に作付している。東京および山梨からは、V. longisporumがそれぞれ1菌株ずつ分離された。

4. ハクサイに対する病原性(Ikeda et al., 2012; 池田ら, 2014b)

V. dahliae 2 菌株と V. longisporum 3 菌株について、ポット試験で病原性を調査したところ、ハクサイに対して強い病原性を示した(表 1)。いずれの分離菌株も、株全体の黄化が確認された。維管束の褐変は、根の先端だけでなく、地際部でも認められ、圃場における症状と一致した。さらに、V. dahliae (C-7 菌株) と V. longisporum (C-26 菌株) について、圃場での接種試験を実施した。外葉の黄化・萎凋と主根の維管束褐変は両菌株で確認され、外部病徴の差は認められなかった。維管束の褐変をもとに算出した発病株率および維管束の褐変指数は、C-7 菌株と比べて C-26 菌株で有意に高率で発病を引き起こした(表 2)。このことから、V. longisporum は V. dahliae と比べて維管束に褐変が現れやすいことが示唆された。

表 1 ポット試験によるVerticillium dahliae とVerticillium longisporum の病原性調査 (Ikeda et al., 2012より改変)

(210000 00 001)				
	2010		2011	
	発病株数/供試株数	維管束褐変程度 ^{a)}	発病株数/供試株数	維管束褐変程度 ^{a)}
V. dahliae				
C-7	11/12	3.33	12/12	3.75
Hv202	12/12	3.42	12/12	3.33
V. longisporum				
01-K1-1	12/12	3.83	12/12	4.00
C-26	12/12	3.58	12/12	4.00
CCV-01-V1	12/12	3.92	12/12	4.00

a) 維管束褐変程度 0:褐変なし、1:根の先端が褐変、2:根の全体が褐変、3:地際部の維管束の一部が褐変、4:地際部の維管束全体が褐変

表 2 接種圃場でのハクサイ黄化病菌*Verticillium dahliae* および*V. longisporum* の病原性 (Ikeda et al., 2012より改変)

	発病株数/供試株数 ^{a)}	維管束褐変程度 ^{b)}
V. dahliae C-7	1/18	0.17
V. longisporum C-26	9/16*	1.19*

a) アスタリスクはC-7株との間にFisherの正確確率検定で有意差があることを示す (p<0.05)

5. 群馬県におけるネグサレセンチュウ種の同定と殺センチュウ剤による黄化 病抑制効果の確認(池田ら, 2014a)

キタネグサレセンチュウ(Pratylenchus penetrans)は、一般に黄化病の発病を助長することが報告されている(百田ら,1989)が、群馬県内の本病が発生

b) 維管束褐変程度 0 : 褐変なし、1 : 主根の一部が褐変、2 : 主根の全体が褐変、3 : 結球部下の切り口の褐変が 1/2以下、4 : 結球部下の切り口の褐変が1/2以上

アスタリスクはC-7株との間にWilcoxonの順位和検定で有意差があることを示す (p<0.05)

する圃場に生息するネグサレセンチュウ種は未確認であり、本病に対する関与 についての調査は行われていなかった。そこで、群馬県のハクサイ黄化病自然 発生圃場におけるネグサレセンチュウ種を明らかにし、発病の助長要因となる か検討した。

(1) 病原菌とネグサレセンチュウの同定

ハクサイ黄化病が自然発生した 2 圃場(G1 圃場、G2 圃場)における病原菌種の同定を行うとともに、圃場に生息するネグサレセンチュウ類を分離し、Polymerase chain reaction denaturing gradient gel electophoresis (PCR-DGGE) 法によるセンチュウ種の同定に供試した(Kushida, 2013)。その結果、いずれの圃場から分離された菌株は V. longisporum であった。また、分離されたネグサレセンチュウ類の全てはキタネグサレセンチュウと同定された。

(2) 殺センチュウ剤による黄化病抑制効果

ワグネルポット (1/5000a) に充填した G1 圃場および G2 圃場の土壌に、カズサホス粒剤を処理し、キタネグサレセンチュウ防除した時の黄化病発生への影響を確認したところ、カズサホス粒剤を処理しない無処理区と比べて有意に発病株率が減少した (表3、図2)。すなわち、県内で発生する本病においても、土壌中に生息するキタネグサレセンチュウが発生助長に関与していることが示され、本病の効果的な対策には、キタネグサレセンチュウ対策も必要であることが明らかとなった。

表 3 殺線虫剤処理試験におけるキタネグサレセンチュウ密度推移 (池田ら, 2014a)

	土壌採取時	定植時	栽培終了後
2011年			,
G1圃場	240 2a) 無処理	₫ 46.0	197.0
GI曲場	248.3 ^{a)} 殺線虫	9.7	0
G2圃場	5.0 無処理	里 3.2	8.0
G2曲物	3.0 殺線虫	2 剤 0	0
2012年			
G1圃場	17.2 無処理	₹ 8.3	13.3
OI 画物	27.2 殺線5	9.3	0
G2圃場	2.2 無処理	₫ 0.3	1.5
	2:2 殺線5	9 到 0	0

a) 生土20g中のキタネグサレセンチュウ数 (ベルマン法、2~3 反復調査平均値)

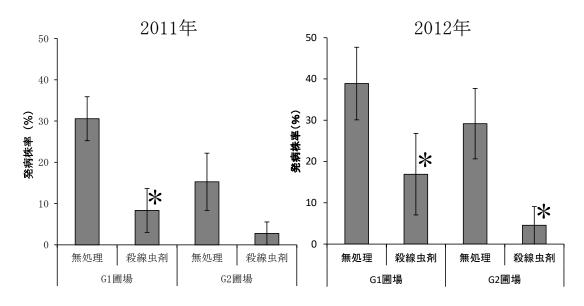


図2 ハクサイ黄化病自然発生土壌での発病に及ぼす殺線虫剤処理の影響(池田ら,2014a) 無処理:土壌にそのままハクサイを定植 殺線虫剤:土壌にカズサホス粒剤0.2g/kgを処理 エラーバーは標準誤差を示す アスタリスクは無処理区との間に有意差があることを示す(Fisherの正確確率検定、p<0.05)

6. AI によるハクサイ黄化病の発病ポテンシャルの診断・対策支援

圃場における本病の発生しやすさ (発病ポテンシャル)を栽培前にあらかじめ診断・評価し、評価結果に応じて対策を講じる病害管理法 (ヘソディム)の導入は、本病を予防的かつ効率的に管理する上で有効である。筆者らは、農林水産省の委託プロジェクト研究「AI を活用した土壌病害診断技術の開発」 (2017~2021 年度) に参画し、圃場の条件に応じて本病の発病ポテンシャルを診断する AI の開発に向け、ヘソディムの実証試験データの収集・整理を行った。すなわち、既存のヘソディムマニュアル (長野県で開発)をベースに、県内の圃場に対応したヘソディム (マニュアル案)を設定し、現地圃場でその実証を行い、その過程で得られた圃場および病害発生等のデータを収集整理し、機械学習用データとして活用した。

(1) 群馬県北西部のハクサイ圃場における黄化病発生調査

2017~2021 年に群馬県北西部地域のハクサイ生産圃場に設定した計 209 の 圃場調査区における黄化病の発生状況、各区の耕種概要、周辺圃場の栽培状況、 土壌理化学性分析、ネグサレセンチュウ密度等を調査・収集し、収集データの整理・蓄積を行った。これらの調査試験区での本病の発生状況(発病株率:目的変数)は、無発生~甚発生までの範囲にあり、極端な発生状況の偏りがない条件下で各種データの収集を行った。

(2)診断項目と適合率

収集整理されたデータを用い、PLS(部分的最小二乗回帰)による機械学習 を行った結果、本病の発生状況に関連性のある重要度の高い変数として、「前 作の発病株率」や「周辺圃場での栽培状況」などが選択された。その一方で、 キタネグサレセンチュウや病原菌の検出の有無といった変数の重要度はあま り高くはなかったことから、今回の収集データに基づく解析では、周辺圃場の 栽培状況や自圃場における発病状況などの栽培環境的な要因の影響の方がよ り発病に関係していたことが示唆された。これらの結果から、現場で生産者で も診断できる項目という利用的観点も踏まえ、「前作の発病株率」をはじめと する計8つの診断項目(表4)からなる県内の圃場に対応した発病ポテンシャ ルを推定する AI モデル(予測器)を構築した。構築した予測器による発病ポ テンシャルレベル(1~3の3段階)診断の当てはまりの程度を検証した結果 では、7割以上の圃場調査区で適合していたことから、構築した AI モデルは 実用可能な水準であることが確認された。以上の構築した予測器は、土壌病害 対策支援のための AI アプリ「HeSo+」に搭載されており、その利用は県内の 多くの圃場における本病の効率的かつ予防的な管理に役立てられることが期 待できる。

表4 収集データに基づき構築されたハクサイ黄化病に対する 発病ポテンシャル診断用予測器の診断項目

診断項目

前作の栽培

- 1 前作の発病株率(%)
- 2 前作に使用した薬剤
- 3 前作から遡った連作の回数
- 4 前作の病害抵抗性程度

栽培環境

- 5 周辺圃場でのハクサイの栽培状況
- 6 周辺圃場でのハクサイの病害発生状況
- 7 近隣の自圃場での発病状況

圃場の排水性

8 30mm以上の降水時に停滞水がほぼ消失されるまでの日数

7. 今後の課題

県内のハクサイ栽培地域では、土壌くん蒸剤の処理は時間的制約、労力、費用の点から本県の栽培体系にあわず、使用されにくい状況にあるため、耕種的

防除の開発を中心に対策案を検討していく必要がある。抵抗性品種の導入は生産者の負担が少なく、導入しやすい対策の1つである。黄化病に対する抵抗性品種は「秋理想」や「あきめき」が普及しているが、本県ではこれら品種は秋どり(9~10月)を推奨しており、夏どり(5~7月)に適した抵抗性品種は未検討である。そこで、筆者らは本県で春から夏にかけて栽培される品種を対象に、黄化病に対する抵抗性の強弱を調査している。さらに、持続的な栽培実現のための新たな対策技術として、有機質資材を活用した土壌改良による対策技術の開発にも取り組んでいる。また、「HeSo+」の利用は、各種対策実施の意思決定や効果的な対策手段の選択に有用であることから、「HeSo+」を使った圃場診断・対策支援技術について JA、生産者および普及指導員に向けて提案中であり、今後も生産現場での理解増進と普及を促していきたい。

8. おわりに

群馬県のハクサイ栽培地域では、黄化病の病原菌である V. dahliae と V. longisporum の分布が地域によって異なる。北西部地域では V. dahliae が優占的であることが明らかとなったが、一部の圃場では V. longisporum が単独または混在しており、今後、病原力が強い V. longisporum が優占したとき、さらに被害の深刻化が懸念される。また、当該地域では、同一圃場でハクサイの長期連作が行われ、さらに土壌くん蒸剤が使用されにくい地域であるために十分な対策がとれていない圃場も散見される。このような状況下において、群馬県ではキタネグサレセンチュウの防除によって黄化病の発生を軽減できることを明らかにし、土壌くん蒸剤に頼らない防除技術を提案した。2018 年にはハクサイのネグサレセンチュウに対してイミシアホス粒剤が新規登録となり、普及はまだ進んでいないが、今後の活用が期待される。また、生産現場においてHeSoDiM に基づく病害管理の考え方は重要と認識されながらもハクサイ栽培に浸透しているわけではない。「HeSo+」を活用した診断・評価を通じて生産者やJAに対して予防的病害管理の重要性の理解増進・普及を図り、持続的なハクサイの生産活動が行えるよう指導に努めていきたい。

引用文献

藤永真史・竹花祐二・関口秀博・和田健夫・荒井好郎 (1999). カーバムナトリウム塩液剤のマルチ畦内処理および散布土壌混和処理によるハクサイ黄化

- 病の防除効果. 関東東山病害虫研究会報 46: 23-26.
- Ikeda, K., Banno, S., Watanabe, K., Fujinaga, M., Ogiso, H., Sakai, H., Tanaka, H., Miki, S., Shibata, S., Shiraishi, T., Fujimura, M. (2012). Association of *Verticillium dahliae* and *Verticillium longisporum* with Chinese cabbage yellows and their distribution in the main production areas of Japan. J Gen Plant Pathol 78: 331–337.
- 池田健太郎・串田篤彦・桑原克也・藤村 真・吉田重信・對馬誠也 (2014a). 群馬県のハクサイ黄化病発生圃場におけるキタネグサレセンチュウの確認と 黄化病発病助長. 関東東山病害虫研究会報 61: 145-148.
- 池田健太郎・酒井宏・田中一史・柴田 聡・坂野真平・藤村 真・渡邊 健・山岸菜穂・藤永真史・小木曽秀紀・串田篤彦・吉田重信・對馬誠也 (2014b). ハクサイ黄化病菌 Verticillium dahliae と V. longisporum の分布と圃場診断に基づいた防除. 植物防疫 68:30-33.
- Kushida, A. (2013). Design and evaluation of PCR primers for denaturing gradient gel electrophoresis analysis of plant parasitic and fungivorous nematode communities. Microbes Environ. 28: 269–274.
- 百田洋二・河本征臣・国安克人 (1989). 自然汚染土壌 ハクサイ黄化病 発病助 長要因 キタネグサレセンチュウ. 関東東山病害虫研究会年報 36:71-72.
- Pegg, G. F., and B. L. Brady. (2002). Verticillium wilts. CABI Publishing, Wallingford, 553 pp.
- 清水節夫・和田健夫・赤沼礼一・矢ノ口幸夫 (1983). クロルピクリン剤のマルチ畦内処理法によるハクサイ黄化病の防除に関する研究. 長野県野菜花き試験場報告 3:45-60.
- Tsushima, S. and Yoshida, S. (2012). 2012 年度 TUA FFTC 合同シンポジウム p.13.
- Watanabe, T., Ozawa, M., Sakai, R. (1973). A New Disease of Chinese Cabbage Caused by *Verticillium albo-atrum* and Some Factors Related to the Incidence of the Disease. Japanese Journal of Phytopathology 39: 344-350.
- 吉田重信 (2023). 圃場毎の土壌病害の発病ポテンシャルを診断する AI アプリ 「HeSo+」の開発. 植物防疫 77: 31-34.

白紋羽病の発生要因と土壌微生物の相互作用

郭 永•兼松聡子

Yong Guo, Satoko Kanematsu: Factors affecting the growth and development of white root rot fungus *Rosellinia necatrix*, including its interactions with soil microorganisms

Summary

White root rot is a soil-borne disease caused by the ascomycete fungus *Rosellinia necatrix*, which threatens more than 400 plant species including major fruit trees such as apples, pears, grapes, and avocadoes, as well as the herbaceous plants of soybean, cotton, narcissus, etc. Roots infected with *R. necatrix* gradually rot, subsequently inducing the aboveground symptoms such as poor growth, chlorosis, withered and fallen leaves, and death in the final. Thus, this disease extremely reduces the crop production. Moreover, the fungal pathogen forms pseudo-sclerotia on diseased roots that can be alive for a long time in soils, and the fresh hypha will grow from the pseudo-sclerotia and infect new host when the environmental conditions become favorable. Therefore, it is very difficult to control this disease. To identify the factors driving the occurrence of soil-borne disease, it is needed to clarify the associated conditions of soil physicochemical properties and biological features of both pathogen and host plant. In this presentation, I would like to summary the environmental, cultivational, and biological factors causing the white root rot, and further discuss the suppressive strategy by enhancing antagonistic potential of soil microbiome.

Key words: Causal factor, Fruit tree, Microbial interaction, *Rosellinia necatrix*, Soil microbiome, White root rot

⁽国) 農研機構 植物防疫研究部門

白紋羽病は、子嚢菌類の一種である Rosellinia necatrix によって引き起こされる土壌伝染性の植物根部病害で、主にリンゴ、ナシ、ブドウ、アボカドなどの果樹、さらにダイズ、ワタ、スイセンなどの草本植物を含む 400 種以上の植物を侵す多犯性病害である (Pliego et al., 2012)。本病は、根部の感染部位が徐々に腐敗していくことで、生育不良、黄化、萎凋、早期落葉などをひき起こし、最終的に植物を枯死させる。特に永年性作物である果樹においては1樹の価値が高いため、経済的被害が大きい重要病害である。土壌中に残存する罹病植物根内において本病菌の擬似菌核は長期的に生存し、各種方法による完全な殺菌は難しいため、防除困難とされている(荒木、1965)。土壌伝染性病害の発生要因を把握するには、それを支えている土壌の物理性、化学性ならびに生物性を明らかにする必要がある。本稿は、白紋羽病の発生について、これまでの研究で示された環境要因、栽培管理要因、生物学的要因を紹介し、また本病原菌と土壌微生物との相互作用の視点から今後の予防・管理戦略を考察することを目的とする。

1. 環境要因

温度、湿度、pH、有機質や酸素濃度などの土壌条件は、白紋羽病菌の感染・増 殖から圃場内の分布拡大に影響する。本菌の最適生育適温は 22~24℃で、4~ 32℃でもわずかに増殖可能とされるが (Abe and Kono, 1953; Araki, 1967)、高温 耐性は低く、33.7℃で 8 時間,あるいは 38.8℃では 3 時間が継続すると死滅する ため、温水を利用した罹病樹の治療法が開発された (江口, 2005)。多くの糸状 菌とは異なり、本菌は高 pH においても菌糸生育は阻害されず、土壌中の pH6~ 8の範囲で増殖可能である(Anselmi and Giorcelli, 1990; Gupta and Gupta, 1992)。 土壌水分は本菌の生育に最も影響を与える要因であり、砂質シルト土壌では、圃 場と同程度の土壌容水量(13~20%程度)で最適な菌糸生育が見られる。一方、 最大容水量(43%)、および、植物が萎凋する条件(9%)では、本菌は生育しな い (Anselmi and Giorcelli, 1990)。本菌の生育は光によって強く抑制され (Anselmi and Giorcelli, 1990)、また、空気中の酸素濃度が 10%以下になると抑制される (Araki, 1967)。そのため、本菌の分布は表層土 (0~30cm) に限られることが 多く、排水性の高い軽しょう土、火山灰土、沖積土などで発病が多い(Abe and Kono, 1955; 荒木, 1982)。なお、本菌の増殖には未分解有機物が必要である (Carlucci et al., 2013)。過去には園地を造成する際に、暗渠として雑木(そだ) を土壌中に大量に埋設した上に覆土してクワや果樹を植えることあったが、白

紋羽病が大発生し(糸井, 1965)、現在でも本病が継続して発生していること多い。

2. 栽培管理要因

白紋羽病の発生には、灌漑や施肥、植栽密度などの栽培管理要因が大きく影響する。乾燥地帯においての過剰な灌漑は、根部が長時間湿潤状態に置かれるため、感染が広がりやすくなる(Sun et al., 2007)。また、栄養不足や過剰な施肥も植物の抵抗力を弱め、病害への感受性を高める要因になる(Dordas, 2008)。しかし、施肥管理と白紋羽病の発生の関連性はまだ解明されていない。

白紋羽病の発病は罹病根から近くにある健全根に同一個体の菌糸が進展して 広がっていくことから (Kondo et al., 2013; Pliego et al., 2009)。密植栽培において は、病原菌の伝播が容易になる (新田, 1998)。適切な植栽密度を維持すること で、白紋羽病の発生リスクを低減することができる。また、罹病根中では疑似菌 核を形成して根の太さに応じて長期に生存するので、改植時には徹底的に罹病 残渣根を取り除くことが肝要である。

3. 生物学的要因

Rosellinia necatrix (sym. Dematophora necatrix)による白紋羽病は、果樹栽培において大きな生産阻害要因となっている。自然界では、腐敗が進んだ罹病組織に光があたるとシンネマ上にシンポジオ型の分生子が、その後、有性生殖によって子嚢胞子が形成される(Pérez-Jiménez et al., 2003)。ナシ、リンゴ、ビワ、アボカドなどの罹病根において本菌の子嚢胞子形成が観察されているが(Nakamura et al., 2000; Pliego et al., 2012)、通常の果樹栽培においては、罹病組織を圃場内に残置しないため、子のう殻が観察されることは稀である。また、分生子からの菌糸生育はほぼ見られないため(Nakamura et al., 2000)感染源として寄与するとは想定されていない。そのため、菌糸が主たる感染源となる。罹病根や残渣にメラニン化された擬似菌核を形成し、土壌中で長期間生存することができ(Shimizu et al., 2014)、好適な環境条件下で根などの未分解有機質から養分を吸収すると活発に増殖し、細根ではなく、木質化した健全根の表面から菌糸塊を形成して根に侵入する(渡辺、1964; Pliego et al., 2009)。本菌が感染して植物の根内に侵入後、エフェクタータンパク質や二次代謝産物などの生理活性物質を分泌することで宿主植物の免疫応答を弱め(Kanematsu et al., 1997; Kim et al., 2017; Arjona-Girona et

al., 2017)、さらにセルロースなどの植物細胞壁成分を分解し、根の組織を腐敗させる(Shimizu et al., 2018; Zumaquero et al., 2019)。また、最新の研究では、本菌のゲノムに 100 種以上のエフェクタータンパク質遺伝子が保存されており、これらのタンパク質は植物の免疫を抑えるだけではなく、微生物に対して選択的抗菌作用をもたらしている可能性も示された(Chavarro-Carrero et al., 2024)。本菌は、多様な抗菌性タンパク質を利用して土壌中及び根圏に生息している拮抗微生物や植物共生菌などの生育を阻害し、宿主植物への感染を容易にしているのかもしれない。

白紋羽病の発生は、宿主植物の感受性にも依存しているが、特に感受性の高い植物として、ナシ、リンゴ、アボカド、オリーブなどの木本作物があげられる(Arakawa et al., 2002; Carlucci et al., 2013; Arjona-López et al., 2024)。植物の健康状態も本病の発生に関与している。栄養不足、乾燥、過湿などのストレスを受けている植物は免疫力が低下し、特に長期間のストレスがあると本病の発病リスクは高まる。また、樹齢の若い木や根が損傷を受けていると感染しやすくなる(Takemoto et al., 2012)。果樹においては、着果過多、強剪定も発病リスクを助長するとされる。さらに、白紋羽病菌は双子葉の草本植物にも広く感染することから、圃場に生息する雑草の根に介して感染が広がる可能性も指摘されている(Shiragane et al., 2019)。

4. R. necatrix と土壌微生物の相互作用

自紋羽病発生のもう一つの重要因子は土壌微生物であり、健全な土壌には豊富かつ多様な微生物が生息し、その中に白紋羽病の発生を抑制する有益な微生物も含まれている。これまでには、拮抗作用を持つ糸状菌及び細菌(Takahashi et al., 2020; Sawant et al., 2023)、アーバスキュラー菌根菌(AMF)や根部エンドファイトなどの植物共生菌(Cruz et al., 2014; Pal et al., 2020)、または真菌類に感染するマイコウイルス(Kondo et al, 2013)が白紋羽病の発生を抑制することが報告されている。

本病原菌の拮抗微生物として、トリコデルマ属糸状菌及び Pseudomonas 属や Bacillus 属などの細菌がよく知られている。これらの微生物は、抗生物質やシデロフォアなどの分泌、または直接の競合を通じて、本病原菌の生育を阻害する (Sawant et al., 2021)。また、AMF は窒素やリンなどの栄養吸収の向上だけではなく、根と共生することで、白紋羽病の発病率を減少させることも報告されてい

る(Cruz et al., 2014)。AMF 以外に、Crinipellis tabtim や Fusarium equiseti などの根部エンドファイトも本病の発病を抑制する効果を示した(Pal et al., 2020)。しかし、外部からの有益微生物の投入は、野外試験で土壌への定着率が低くなり、多様な土着微生物の競合によって発病抑制効果が認められないことも多い。

近年では、日本やスペイン、韓国、オーストラリアなど分離された R. necatrix 株において、複数の二本鎖 RNA ウイルスが菌の病原力を低下させることが確認された。具体的には、レオウイルス科の Mycoreovirus 3 (MyRV3) (Kanematsu et al., 2004)、メガビルナウイルス科の Rosellinia necatrix megabirnavirus 1 (RnMBV1; Chiba et al., 2009) が宿主の菌糸ネットワーク内で広がることで、宿主の病原力を低下させる。特に RnMBV1 は菌体間の移行と菌体内の安定性に優れる (Yaegashi et al., 2011)。最近では、Rosellinia necatrix hypovirus2 (RnHV2)や、RnMBV2 と Rosellinia necatrix partitivirus1 (RnPV1)の共感染においても、白紋羽病菌の中程度の病原力低下効果が確認された (Arjona-López et. al, 2021; Sasaki et al., 2016)。マイコウイルスは有望な白紋羽病防除方法として注目されているが、病原性を低下させるメカニズムの解明は未だ不十分である。また、異なる病原菌株間の不和合性 (Ikeda et al., 2011) によって野外でのウイルス伝播が阻害されるため、実用化に至るまでより高度の研究が必要となっている。

5. 土壌微生物叢の改良による白紋羽病の防除

烈及び温水処理による土壌消毒が使用されてきた(Sawant et al., 2021)。しかし、環境負荷や防除効果の長期的維持などの課題があり、新たな防除戦略が必要とされている。近年では、土壌微生物叢の改良による土壌病害の防除技術の開発が注目されている。白紋羽病の防除において、農研機構により非病原性 R. necatrix 菌を含有する土壌改良剤(特許 4936444 号)が開発されている。本技術は、固形有機質を用いて病原性を失った R. necatrix 株を培養し、この資材を土壌に投入することで、土壌に生息している拮抗微生物を優占させ、病原菌が増殖困難な環境を作り上げる(高橋・中村、2019)。日本では、ナシ、リンゴ、モモなどの果樹において、この技術を実施したところ、白紋羽病の防除効果が示された。また、アボカドの根圏から分離された拮抗細菌 Pseudomonas chlororaphis PCL1606 株の発酵液と菌体とともに土壌に施用することで、菌類食性の Chitinophagaceae 科及び Cytophagaceae 科に属する細菌の存在率を増加させ、白紋羽病の防除効果に関

与している可能性を示した(Tienda et al., 2020)。

以上のことから、土壌微生物叢の改良による白紋羽病の防除は、環境負荷の低減を可能とする病害抑制戦略である。この技術の実用化には、労力及び経済的コストの削減などの課題も残っている。今後の研究には、これらの課題を取り込み、本技術の改善により社会実装することが期待される。

6. おわりに

本来は、長い地球歴史の中で植物と微生物と助け合って海から陸に進出し、緑が溢れる大地を生み出した。しかし、人類の活動により土壌生態系のバランスを大きく変化させ、白紋羽病の発生もその一つである。1883 年にフランスのブドウ園に発生する白紋羽病菌が初記載されて以来、南極大陸以外全ての大陸の温帯及び亜熱帯地域の耕作地に続々と確認された。また、植物に対する多犯性や初期感染時に地上部に症状が現れないこと、また、土壌中の耐久性から、本病菌の防除が困難となり、多大な経済的被害を与え続けてきた。世界中の研究者らは、100年以上にわたって、本病の発生要因や防除方法など様々な研究を行ってきた。これらの研究から得られた知見は今後の果樹生産活動に重要な情報となる。今後の白紋羽病との戦いでは、土壌微生物の相互作用を生かし、病害が発生しない健全な土壌生態系を取り戻す技術が強く望まれる。

引用文献

Abe, T., and Kono, M. 1953. Studies on the white root rot of tea bush I. *Sci. Rep. Saikyo Univ. Agric.* 5, 93–105.

Abe, T., and Kono, M. 1955. Studies on the white root rot of tea bush. III: on the effect on composants of culture media to the fungal growth, and the phytotoxicity of the filtrate of liquid media used by the fungus. *Sci. Rep. Saikyo Univ. Agric.* 7, 49–56.

Araki, T. 1967. Soil conditions and the violet and white root rot diseases of fruit trees. *Bull. Nati. Inst. Agric. Sci.* 21, 1–109.

Arakawa, M., Nakamura, H., Uetake, Y., and Matsumoto, N. (2002) Presence and distribution of double stranded RNA elements in the white root rot fungus *Rosellinia necatrix*. *Mycoscience* 43, 21–26.

Arjona-Girona, I., Ariza-Fernández, T., and López-Herrera, C.J. 2017. Contribution of *Rosellinia necatrix* toxins to avocado white root rot. *Eur. J. Plant Pathol.* 148, 109–117.

Arjona-López, J.M., Telengech, P., Suzuki, N., and López-Herrera, C.J. 2021. A moderate level of hypovirulence conferred by a hypovirus in the avocado white root rot fungus, *Rosellinia necatrix*. *Fungal Biol*. 125, 69–76.

Arjona-López, J.M., Monferrer-Salinas, J.A., Cantero-Sánchez, J.L., Romero-Rodríguez, E., López-Herrera, C.J., and Arenas-Arenas, F.J. 2024. Evaluation of susceptibility of commercial citrus rootstocks to white root rot incited by *Rosellinia necatrix*. *J. Plant Pathol*. 106, 633–643. Anselmi, N., and Giorcelli, A. 1990. Factors influencing the incidence of *Rosellinia necatrix* Prill in poplars. *Eur. J. Foreset Pathol*. 20, 175–183.

Carlucci, A., Manici, L.M., Colatruglio, L., Caputo, A., and Frisullo, S. 2013. *Rosellinia necatrix* attack according to soil features in the Mediterranean environment. *Forest Pathol.* 43, 12–18.

Chavarro-Carrero, E.A., Snelders, N.C., Torres, D.E., Kraege, A., López-Moral, A., Petti, G.C., Punt, W., Wieneke, J., García-Velasco, R., López-Herrera, C.J., Seidl, M.F., and Thomma, B.P.H.J. 2024. The soil-borne white root rot pathogen *Rosellinia necatrix* expresses antimicrobial proteins during host colonization. *PLoS Pathog.* 20, e1011866.

Chiba, S., Salaipeth, L., Lin, Y.H., Sasaki, A., Kanematsu, S., and Suzuki, N. 2009. A novel bipartite double-stranded RNA Mycovirus from the white root rot fungus *Rosellinia necatrix*: molecular and biological characterization, taxonomic considerations, and potential for biological control. *J. Virol.* 83, 12801–12812.

Cruz, A.F., de Oliveira Soares, W.R., and Blum, L.E.B. 2014. Impact of the arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria on biocontrol of white root rot in fruit seedlings. *J. Plant Physiol. Pathol.* 2, 1.

Dordas, C. 2008. Role of nutrients in controlling plant diseases in sustainable agriculture. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 28, 33–46.

Gupta, V.K., and Gupta, S.K. 1992. Management of white root rot of apple with fungicide drenching. *Indian Phytopathol.* 45, 239–240.

Ikeda, K., Inoue, K., Nakamura, H., Hamanaka, T., Ohta, T., Kitazawa, H., Kida, C., Kanematsu, S., and Park, P. 2011. Genetic analysis of barrage line formation during mycelial incompatibility in *Rosellinia necatrix*. *Fungal Biol.* 115, 80–86.

Kanematsu, S., Hayashi, T., and Kudo, A. 1997. Isolation of *Rosellinia necatrix* mutants with impaied cytochalasin E production and its pathogenicity. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 63, 425–431.

Kanematsu, S., Arakawa, M., Oikawa, Y., Onoue, M., Osaki, H., Nakamura, H., Ikeda, K., Kuga-

Uetake, Y., Nitta, H., Sasaki, A., Suzaki, K., Yoshida, K., and Matsumoto, N. 2004. A reovirus causes hypovirulence of *Rosellinia necatrix*. *Phytopathology* 94, 561–568.

Kanematsu, S., Sasaki, A., Onoue, M., Oikawa, Y., and Ito, T. 2010. Extending the fungal host range of a partitivirus and a mycoreovirus from *Rosellinia necatrix* by inoculation of protoplasts with virus particles. *Phytopathology*, 100, 922–930.

Kim, H., Lee, S.J., Jo, I.H., Lee, J., Bae, W., Kim, H., Won, K., Hyun, T.K., and Ryu, H. 2017. Characterization of the *Rosellinia necatrix* transcriptome and genes related to pathogenesis by single-molecule mRNA sequencing. *Plant Pathol. J.* 33, 362–369.

Kondo, H., Kanematsu, S., and Suzuki, N. 2013. Viruses of the white root rot fungus, *Rosellinia necatrix*. Advances in virus research, 86, 177–214.

Nakamura, H., Uetake, Y., Arakawa, M., Okabe, I., and Matsumoto, N. 2000. Observations on the teleornorph of the white root rot fungus, *Rosellinia necatrix*, and a related fungus, *Rosellinia aquila*. *Mycosicence* 41, 504–507.

Pal, J., Sharma, S. K., Devi, S. Sharma, R., Raj, H., Karn, M., Verma, S., Vedukola, P.R., and Sharma, A. 2020. Screening, identification, and colonization of fungal root endophytes against *Dematophora necatrix*: a ubiquitous pathogen of fruit trees. *Egypt. J. Biol. Pest Control* 30, 112. Pérez-Jiménez, R.M., Zea-Bonilla, T., and López-Herrera, C.J. (2003) Studies of *Rosellinia necatrix* perithecia found in nature on avocado roots. *J. Phytopathol.* 151, 660–664.

Pliego, C., Kanematus, S., Ruano-Rosa, D., de Vicente, A., López-Herrera, C., Cazorla, F.M., and Ramos, C. 2009. GFP sheds light on the infection process of avocado roots by *Rosellinia necatrix*. *Fungal Genet. Biol.* 46, 137–145.

Pliego, C., López-Herrera, C., Ramos, C., and Cazorla, F.M. 2012. Developing tools to unravel the biological secrets of *Rosellinia necatrix*, an emergent threat to woody crops. *Mol. Plant Pathol.* 13, 226–239.

Sawant, S.S., Choi, E.D., Song, J., and Seo, H.J. 2021. Current status and future prospects of white root rot management in pear orchards: a review. *Res. Plant Dis.* 27, 91–98.

Sawant, S.S., Song, J., and Seo, H. 2023. Study of new biocontrol bacterial agent *Bacillus velezensis* S41L against *Rosellinia necatrix*. *Biol. Control*. 185, 105305.

Sasaki, A., Nakamura, H., Suzuki, N., and Kanematsu, S. 2016. Characterization of a new megabirnavirus that confers hypovirulence with the aid of a co-infecting partitivirus to the host fungus, *Rosellinia necatrix. Virus Res.* 219, 73–82.

Shimizu, T., Ito, T., and Kanematsu, S. 2014. Functional analysis of a melanin biosynthetic gene

using RNAi-mediated gene silencing in Rosellinia necatrix. Fungal Biol. 118, 413–421.

Shimizu, T., Kanematsu, S., and Yaegashi, H. 2018. Draft genome sequence and transcriptional analysis of *Rosellinia necatrix* infected with a virulent mycovirus. *Phytopathology* 108, 1206–1211.

Shiragane, H., Usami, T., and Shishido, M. 2019. Weed roots facilitate the spread of *Rosellinia necatrix*, the causal agent of white root rot. *Microbes Environ*. 34, 340–343.

Sun, E.J., Lin, H.S., and Hsieh, H.J. 2007. Study on *Rosellinia necatrix* isolates causing white root rot disease in Taiwan. *J. Phytopathology* 156, 104–111.

Takahashi, M., Tsutaki, Y., and Nakamura, H. 2020. Selection of *Trichoderma* products to enhance the control of loquat white root rot by hot water drip irrigation. *J. Gen. Plant Pathol.* 86, 419–422.

Takemoto, S., Nakamura, H., Tabata, M., Sasaki, A., Ichihara, Y., Aikawa, T., and Koiwa, T. 2012. White root rot disease of the lacquer tree *Toxicodendron vernicifluum* caused by *Rosellinia necatrix*. *J. Gen. Plant Pathol.* 78, 77–79.

Tienda, S., Vida, C., Lagendijk, E., de Weert, S., Linares, I., González-Fernández, J., Guirado, E., de Vicente, A., and Cazorla, F.M. 2020. Soil application of a formulated biocontrol rhizobacterium, *Pseudomonas chlororaphis* PCL1606, induces soil suppressiveness by impacting specific microbial communities. *Front. Microbiol.* 11, 1874.

Yaegashi, H., Sawahara, T., Ito, T., and Kanematsu, S. 2011. A novel colony-print immunoassay reveals differential patterns of distribution and horizontal transmission of four unrelated mycovirus in *Rosellinia necatrix*. *Virology* 409, 280–289.

Zumaquero, A., Kanematsu, S., Nakayashiki, H., Matas, A., Martínez-Ferri, E., Barceló-Muñóz, A., Pliego-Alfaro, F., López-Herrera, C., Cazorla, F.M., and Pliego, C. 2019. Transcriptome analysis of the fungal pathogen *Rosellinia necatrix* during infection of a susceptible avocado rootstock identifies potential mechanisms of pathogenesis. *BMC Genomics* 20, 1016.

荒木隆男. 1965. 紋羽病. 日植病報 31, 227-234.

荒木隆男. 1982. 紫紋羽病および白紋羽病の発生と土壌条件に関する研究. 日植病報 48, 255-257.

糸井節美. 1965. 山地開発桑園における白紋羽病について. 日本蚕糸学雑誌 34,275-280.

江口直樹. 2005. 温水処理によるナシ白紋羽病罹病樹の治療. 日植病報 71, 281. 高橋真秀, 中村仁. 2019. 白紋羽病発病抑止土壌の作製と抑止機構に関与する複数糸状 菌種の特定. 日本土壌微生物学会講演要旨集.

新田浩通. 1998. ナシ白紋羽病に対する根圏土壌の入れ替えとビニル遮断の併用効果. 関西病虫研報 40, 107-108.

渡辺文吉郎. 1964. 白紋羽病の生態ならびに防除に関する研究. 茨城県病虫研報 2, 1-2.

サツマイモ基腐病を防除して健全苗生産に貢献する 苗床での土壌環元消毒技術の開発

野見山孝司

Koji Nomiyama: Development of anaerobic soil disinfestation method against foot rot of sweet potato in seedbeds to contribute to production of health seedlings

摘要

サツマイモ基腐病の防除において重要な健全苗の生産手法として、化学農薬を用いない苗床での土壌還元消毒技術を開発した。基腐病菌 nit 変異株を用いた室内試験により土壌還元消毒の処理条件を地温 30℃以上、3 週間以上と定めた。南九州地域で実施した実証試験により土壌還元消毒後の育苗期に基腐病を防除できることを確認し、現地の苗床で取り組みやすい作業工程を考案した。標準的な作業は、①苗床全面に土壌還元消毒資材として米ぬかや糖含有珪藻土を 1 m² あたり 1 kg 散布する、②ロータリー耕で資材をすき込んだ後に水持ちをよくするために鎮圧する、③スプリンクラーで全面がぬかるむまで 1 m² あたり 100~150 L 灌水する、④農業用フィルムで全面被覆して湿潤状態を 3 週間維持するとなり、梅雨明け後の 7 月上旬から 9 月上旬までに開始する。環境負荷を軽減する持続可能な基腐病に対する苗床消毒技術として、さらなる普及が期待される。

Key words: Anaerobic soil disinfestation, Foot rot, Seedbed, Sweet potato

⁽国) 農研機構 植物防疫研究部門

はじめに

サツマイモ基腐病は、サツマイモ基腐病菌 Diaporthe destruens によって引き起こされるかんしょの重要土壌伝染性病害である。かんしょが病原菌に感染すると、初めに地際部の茎基部に暗褐色の病斑を生じる(図1左)。この病斑は次第に上下方向へと進展し、地上部では茎葉が枯れ上がるとともに、地下部では藷梗(茎と塊根をつなぐ部分)を経由して、塊根のなり首側から褐変して腐敗する

(図1右)。病原菌は罹病組 織上に黒褐色の柄子殻を多 数形成する (図2左)。柄子 殻の中では大量の胞子が形 成され (図2右)、雨水に当 たると膨大な数の胞子が漏 出して周辺の株へと拡散し、 感染が拡大する。症状がひど くなると圃場全体にまん延 して枯死してしまい、収穫が できなくなる。基腐病は、か んしょの主産地である宮崎 県、鹿児島県、沖縄地域で 2018 年に国内で初めて発生 が確認され、青果、焼酎、加 工、でん粉など用途にかかわ らず様々な品種が罹病して 収量が減少し、地域産業に深 刻な被害を及ぼした。そのた め、基腐病の発生生態の解明 や早急な防除技術の策定を 目的として、関係機関が連携 したプロジェクト研究が立 ち上げられた。

基腐病の主要な伝染源の 一つは土壌中の罹病残渣で



図1 サツマイモ基腐病の病徴. 苗地際部(左)、塊根(右).

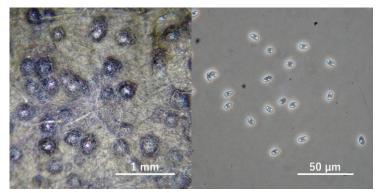


図 2 サツマイモ基腐病菌. 柄子殻 (左)、 α 胞子 (右). 農研機構 (2022) を改変.

あり、残渣内に生息する病原菌が新たに定植された健全苗等に侵入して発症する土壌病害である。そのため、いったん発病が見られた圃場では罹病残渣を取り除く適切な防除を行わなければ、次作以降で土壌の汚染程度が高まり、油断すると壊滅的な被害を受けかねない。そのほかの主要伝染源には感染した苗や種イモがあり、これらを介して圃場内へと病原菌が侵入する。

本病の基本的な防除対策は、病原菌を「持ち込まない」、「増やさない」、「残さない」ことである。特に、感染苗による本圃の汚染を防ぐために、健全な苗床で健全な苗を育成する「持ち込まない」対策が非常に重要である。基腐病の総合的な防除対策に関しては、プロジェクトの成果マニュアル(農研機構 2023a)に詳しく紹介されている。

環境保全型の土壌還元消毒技術

土壌還元消毒は、土壌に有機物を混和して湛水、被覆し、30 ℃以上に地温を上昇させて酸素濃度が低い還元状態(嫌気状態)を形成し、約3週間維持させることにより、土壌中の病原菌や害虫を死滅させる環境保全型の物理的な防除技術である(農研機構 2021)。土壌病害対策として古くから実施されている湛水処理や太陽熱土壌消毒を応用して開発され、化学農薬を用いない土壌消毒技術として注目されている。

土壌還元消毒の模式図を図3に示す。まず初めに、易分解性の有機物を圃場に 均一に混和する。小麦フスマ、米ぬかや糖蜜など土壌微生物によって分解されや すい有機物が土壌還元消毒資材として用いられる。次に、圃場全体がぬかるんだ 湛水状態になるまで大量に灌水を行う。通常の灌水量は1 m² 当たり 100~150 L 程度を必要とし、土壌間隙を水で満たして空気を追い出す。さらに、農業用フィルムで圃場全面を被覆し、空気が流入しないように端を固定して密封する。湿潤 状態を維持したまま太陽熱を利用して地温を上昇させると、土壌中では最初に 好気性微生物が有機物を餌にして急激に増殖する。その際に土壌中に存在する 酸素を消費するが、湛水によって土壌は水で飽和している上に、被覆によって新たな空気の供給が遮断されているために、次第に酸素濃度は減少し、好気的な状態から嫌気的な状態(還元状態)へと変化する。嫌気的条件下では好気性微生物は生育を妨げられ、嫌気性微生物の活動が優勢になる。土壌の酸化還元電位は、処理開始 2~3 日で畑地土壌で観測される+600 mV 程度から湛水水田土壌に匹敵する-200 mV 程度まで急速に低下する。嫌気的土壌での化学的変化としては、

有機物は酸素が供給されないために二酸化炭素と水にまで分解されず、酢酸や酪酸などの有機酸を生成して蓄積する。また、不溶性の酸化物として存在していた鉄やマンガンは二価イオンに還元されて溶出される。還元状態で生成されたこれらの有機酸や二価金属イオンは、病原菌に対して殺菌効果を示す。多くの土壌病原菌は好気性であり、土壌還元消毒により菌密度が低下する。土壌還元消毒による消毒メカニズムとしては、1)土壌中の酸素濃度の減少、2)太陽熱による高地温、3)還元状態で生成する有機酸や金属イオンによる抗菌作用、また、4)土壌微生物の競合による微生物叢の変化などが関与している。

土壌還元消毒は湛水・被覆処理や太陽熱処理を行うために管理しやすい野菜や 花きの施設栽培で主に実施されており、青枯病など細菌性病害、フザリウム病害 などの糸状菌病害、線虫害などの様々な土壌病虫害の防除に用いられている。

土壌還元消毒では有機物が混和された深さまで還元化が形成される。そのため、小麦フスマのような不溶性の固形資材は深さ 20 cm 程度までしか還元化されないのに対し、糖蜜のような可溶性資材は深さ 60 cm 程度まで浸透して還元形成でき、地中深くに生息する青枯病菌や線虫にも高い防除効果を示す。近年では、固形で扱いやすく、含有する糖が灌水時に溶け出して土壌深くまで還元化できる、従来の資材にはない優れた特徴を有する糖含有珪藻土などの新しい土壌還元消毒資材も開発されている(農研機構 2021)。

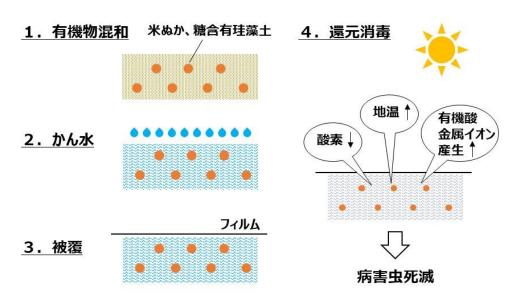


図3 土壌還元消毒の模式図.農研機構(2022)より転載.

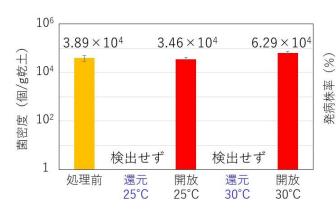
サツマイモ基腐病の防除法としての苗床での土壌還元消毒技術の開発

健全苗を育成するためには汚染苗床の清浄化が不可欠であり、基腐病に対する苗床での慣行防除としては土壌くん蒸剤(ダゾメットやクロルピクリン)が用いられているものの、作業者への負担や人家や畜舎が隣接した苗床での使用制限などを考慮すると全ての苗床で実施できるものではない。また、環境負荷の軽減と持続可能な生産体系の構築の両立を目指す SDGs やみどりの食料システム戦略の重要性が認識され、化学農薬に頼らない土壌消毒に関心が持たれていることから、プロジェクト研究の一課題として、「持ち込まない」対策の健全苗の育成に貢献できる苗床での土壌還元消毒技術の開発に取り組んできた(農研機構 2023、野見山ら 2024)。一定の成果が得られて生産現場への普及が進んでおり、ここにその概要を紹介する。

土壌還元消毒の処理条件および効果の検証

まず初めに、室内試験において土壌還元消毒による基腐病への効果を検証し、処理における最適な温度および時間を決定するために、環境中でのマーカー菌株として活用できる基腐病菌の nit 変異株を作出して条件検討を行った(Nomiyama et al. 2022)。塩素酸カリウムを含有した nit 変異株作出培地に宮崎県で分離された野生菌株の菌叢寒天片を置床すると、80%以上の高い割合で変異株が得られ、その中から野生株と同等の病原力を示す菌株を選抜した。さらに土壌からの nit 変異株検出培地も作製した。nit 変異株の培養菌体を接種した土壌に土壌還元消毒資材として米ぬかを標準処理量となる 1 m² あたり 1 kg 相当量を混和して、アルミ蒸着袋に詰めて湛水・密封して 3 週間静置し、処理後の土壌を 土壌検出培地上での希釈平板法に供試したところ、還元条件では 25 ℃以上で病原菌は検出されなくなった(図4)。米ぬかの代わりに糖含有珪藻土を資材に用いた場合にも同様の結果が得られた。実際の苗床で処理する際には気象条件が変動するために安全性を考慮し、地温 30 ℃以上、3 週間以上を基腐病に対して 防除効果を示す土壌還元消毒の処理条件とした。

次に、野生株の罹病残渣をすき込んだ人工汚染苗床を作製して土壌還元消毒を実施し、消毒処理後に挿し苗および種イモから育苗して発病試験を行った。その結果、還元消毒区では無処理区とは対照的に基腐病は発生せず、温室試験においても防除効果を確認した(図 5)。



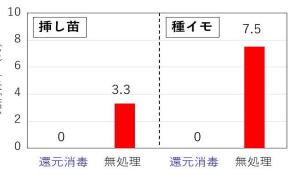


図4 室内試験による基腐病菌に対する土壌還元消毒効果.

基腐病菌の nit 変異株を混和した土壌に 米ぬかを添加後、アルミ蒸着袋内で加水・ 密封して3週間静置し、希釈平板により 病原菌密度を測定.

農研機構(2022)より転載.

図 5 人工汚染苗床での基腐病菌に対する土壌還元消毒効果.

罹病残渣を混和した人工汚染苗床で土壌 還元消毒を実施後、挿苗および種イモ伏 せ込みにより栽培し、茎基部の暗褐色病 斑より発病の有無を判定.

農研機構(2022)より転載.

現地実証試験

南九州の生産者苗床を用いて土壌還元消毒の現地試験を行う際には、当該地域の苗床の状況を考慮し、現地に導入しやすい土壌還元消毒法を考案した。作業手順を図6に示す。資材には現地で入手しやすい米ぬかまたは糖含有珪藻土を1m²あたり1kg散布した。各種の散布機を用いることで効率よく散布できる。現地では灌水用に頭上スプリンクラーが設置されている苗床が多いため、通常の土壌還元消毒で用いられる灌水チューブを新たに敷設せずに、既設のスプリンクラーを灌水に活用した。一昼夜散水することで十分量を灌水できる。スプリンクラー灌水では処理中に土壌が乾燥しかけても追加灌水ができないため、土壌の保水性を高めて処理期間中に湿潤状態を維持しやすくなるよう、資材混和後の鎮圧を標準作業とした。また、鎮圧により灌水後のぬかるみが軽減されるため、苗床に入ってフィルム被覆する際に足を取られず作業の軽労化にも寄与した。現地では台風の襲来等に備えて、育苗後に施設の外張りを外すため、消毒期間中に施設を閉め切れずに地温が安定的に上がらないことが懸念されたが、梅雨明け後の7月上旬から9月上旬までの気温が高い時期に処理を開始できれば、処理期間中の平均地温(15 cm 深)は30℃を超え、消毒に支障はなかった。

2022 年春に基腐病の発病株率が 10%以上の生産者苗床で夏期に土壌還元消毒を実施したところ、2023 年春の育苗期には発病が認められず、基腐病の防除対

策として有効であることを実証した。



図6 現地生産者の苗床での土壌還元消毒の実施.

おわりに

今回、苗床での基腐病防除において土壌還元消毒が有効であることを明らかにした。化学農薬に頼らなくても防除できるため、現地試験で効果を実感すると慣行防除から切り替えて継続的に実施される生産者が多い。

かんしょは、苗床への種イモの伏せ込みや挿し苗の定植によって育苗するため、土壌還元消毒等により土壌を清浄化したとしても種苗が基腐病菌に汚染されていれば健全苗の育成は不可能である。そのため、苗床と種苗の両方を消毒しなくてはならない。種イモの消毒に関しては蒸熱処理により基腐病を物理的に防除できるため(農研機構 2023b)、土壌還元消毒と併用すれば化学農薬に頼らない育苗期の防除体系の構築につながる。

土壌還元消毒の主な失敗要因としては灌水量の不足や被覆の剥がれが挙げられ、フォローアップを通じてさらなる普及拡大に努めるとともに、他の病害への適用や簡便な手法への改良などの課題にも取り組みたい。

謝辞

本研究は、生研支援センターの下記競争的資金の支援を受けて実施したものである。サツマイモ基腐病の防除に向けて、プロジェクト遂行にご協力、ご尽力いただいた関係者ならびに現地生産者に深く感謝する。

- (1)イノベーション創出強化研究推進事業(JPJ007097)「産地崩壊の危機を回避するためのかんしょ病害防除技術の開発 (01020C)」(2019~2021 年度、実施機関: 農研機構野菜花き研究部門、同植物防疫研究部門、宮崎県総合農業試験場)
- (2)戦略的スマート農業技術等の開発・改良(JPJ011397)「輸出拡大のための新技術開発」「かんしょ輸出産地を支えるサツマイモ基腐病総合的防除体系の開発」(2022~2024年度、実施機関:農研機構植物防疫研究部門、同九州沖縄農業研究センター、株式会社サナス、三和物産株式会社)

参考文献

- 1)農研機構 (2021) 新規土壌還元消毒を主体としたトマト地下部病害虫防 除体系標準作業手順書 Version 1.1. https://sop.naro.go.jp/document/detail/12
- 2)農研機構 (2022) サツマイモ基腐病を防除する苗床の土壌還元消毒技術標準作業手順書. https://sop.naro.go.jp/document/detail/72
- 3)農研機構 (2023a) サツマイモ基腐病の発生生態と防除対策(令和 4 年度 版). https://www.naro.go.jp/publicity_report/publication/pamphlet/tech-pamph/158250.html
- 4) 農研機構 (2023b) サツマイモ基腐病に対する蒸熱処理による種イモ消毒技術標準作業手順書. https://sop.naro.go.jp/document/detail/100
- 5) Nomiyama, K., Tomioka, K. and Nakaho, K. (2022) Generation and soil detection of nitrate-nonutilizing mutants of *Diaporthe destruens* causing foot rot of sweet potato. Journal of General Plant Pathology 88:128–133
- 6) 野見山孝司、齊藤晶、荒川祐介、野口(辻本)雅子、加治佐博、平田晃誠、瀬戸山亮、吉元寧、和田彰、中村晃紳、橋本秀一、佐藤恵利華、関口博之、吉田重信 (2024) 糖含有珪藻土を用いたかんしょ苗床での土壌還元消毒技術の開発.令和6年度日本植物病理学会大会プログラム・講演要旨集、56

積雪地帯におけるブドウ根頭がんしゅ病の発生拡大の原因に迫る

川口 章

Akira Kawaguchi: Investigating the causes of grapevine crown gall outbreaks in snowfall regions

Summary

Grapevine crown gall (GCG) is a significant bacterial disease caused by tumorigenic Allorhizobium vitis (TAV) and is prevalent worldwide. TAV infects grapevines through wounds such as freezing injuries. Although grapevines typically avoid being wounded under snow cover, GCG occurs in a lot of commercial vineyards in snowy regions. This study investigated the TAV population in GCG gall tissues, grapevine skins, and snow on grapevine skins from some infected vineyards located in snowy regions. TAV was isolated not only from gall tissues but also from skins and snow on skins throughout the year. Hierarchical Bayesian model (HBM) analysis revealed that the number of TAV cells in gall tissues was affected by cultivar and low temperature, while those in skins were affected by location and low temperature. Additionally, Bayesian changepoint detection (BCD) showed that the number of TAV cells in gall and skin tissues increased during winter, including the snowfall season. In addition, the TAV population in grapevine skins under the snow was significantly higher than those above the snow, indicating that TAV under the snow is protected by the snow and can survive well during the snowfall season. This study highlights the ability of TAV to overwinter on/in galls and skins under the snow and act as inoculum for the next season.

Key words: Bayesian changepoint detection, Epidemiology, Grapevine crown gall, Hierarchical Bayesian model

⁽国) 農研機構 西日本農業研究センター

1. はじめに

ブドウ根頭がんしゅ病は、ブドウ樹に大きなこぶ(がんしゅ:癌腫)が形成されて生育を阻害し、枯死を引き起こす土壌伝染性の難防除病害である(図 1). 本病は病原細菌 tumorigenic Allorhizobium vitis(以後、TAV と表記する. 異名:tumorigenic Rhizobium vitis, tumorigenic Agrobacterium vitis, Agrobacterium tumefaciens biovar 3)によって起こるが、発病するとブドウ樹が生育不良や枯死になることから、ブドウ栽培において脅威となる病害の一つである. これまで本病は、凍害等によりブドウ樹に傷が付くことで発病が誘発されることが知られていた(Burr et al., 1998). その定説に従うと、冬にブドウ樹が雪で覆われると、極端な低温にならず凍害を回避できることから、積雪地帯では本病の発生は少ないと考えられてきた. しかし、近年、世界でも有数の積雪地帯である北海道のワイン醸造用ブドウ栽培で本病の発生が目立ち、大きな問題になっている(Kawaguchi et al., 2017, 2021). このことから、これまで推測されていたものとは違う本病の発生メカニズムが存在する可能性が考えられた. 積雪地帯における本病の多発要因を解明することを目的として、現地での病原菌の生態を調査し、解析した結果を報告する. 本総説は著者らの既報の内容をまとめたものである(Kawaguchi, 2022; Kawaguchi et al., 2023a). 研究内容の詳細はそれらも併せて参照していただきたい.



図1 ブドウ根頭がんしゅ病の症状

2. ブドウ根頭がんしゅ病が樹の生育不良や枯死へ与える影響のリスク評価

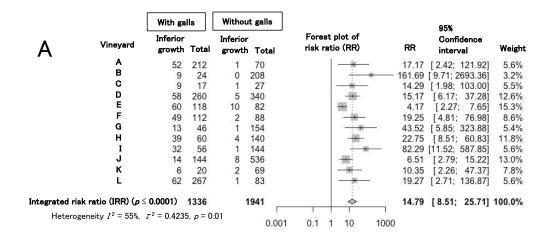
根頭がんしゅ病の症状は非常に特徴的(図1)であり、大きな癌種の形成はブドウ生

産者に与えるインパクトは強い.また、本病の総説や解説記事のほとんどが「本病は生育不良や枯死の原因となる」としている.しかしながら、本病の発生により生育不良や枯死が実際にどれだけ増加するのか、つまり本病が原因となる生育不良や枯死リスクがどれだけ増加するのかについてはデータがなく、これまで不明であった.そこで、本病の発生がブドウ樹体の生育不良や枯死へ与える影響のリスク評価を行った.

本病の発生を認めた現地 12 圃場計 3,277 樹において 1,336 樹が発病(平均発病割合 40.8%)しており、そのうち 403 樹が生育不良(30.2%)、286 樹が枯死(21.4%)していた。まず、生育不良または枯死の発生に関連する要因について、「発病の有無」、「ブドウの品種」、「樹齢」、「調査年」、「場所」との関係を一般化線形混合モデル(GLMM)で解析した。その結果、生育不良の発生に対して有意に関連する要因として「場所」(回帰係数 = 0.155、p = 0.035)、「発病の有無」(回帰係数 = 2.764、p < 2.0×10⁻¹⁶)が選抜された。また、枯死の発生に対して有意に関連する要因は「発病の有無」(回帰係数 3.467、p < 2.0×10⁻¹⁶)のみであった。

次に、発病の有無が生育不良樹や枯死樹の発生割合に与える影響をメタアナリシスで解析し、リスク比を算出した結果、発病により生育不良になるリスクは 14.79 倍(95% 信頼区間 =8.51~25.71)、枯死するリスクは 17.95 倍(95%信頼区間 =10.23~31.50)に増加することが示された(図 2).発病により生育不良になるリスク評価におけるメタアナリシスでデータの異質性が認められたが(f=55%、 $t^2=0.4235$, p=0.01),これは前述の GLMM の結果から、場所の違いによる影響が関係していると考えられた.しかしながら、GLMM の回帰係数の値は、場所の違いよりも発病の有無の方が非常に高いことから、場所の違いがメタアナリシスの結果に与える影響は小さいと判断した.

本研究結果により、本病が実際にブドウ樹の生育不良や枯死に与える影響について、そのリスクをリスク比として数値化することができた。本病のように発病してから生育不良や枯死に至るまで 2~3 年かかるような土壌病害の場合、ブドウ生産者にとって、生育不良や枯死が本当に本病の影響で発生しているのか直感的に判断できない場合もある。病害が農業生産上の被害にどれだけ影響を与えるかについてリスク評価を行い、その結果を生産者に提示することは、生産者の防除の意思決定における判断材料の一つとして重要である。



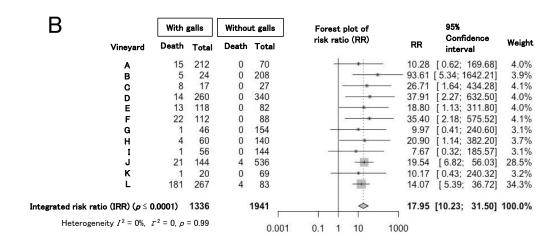


図 2 メタアナリシスによるブドウ根頭がんしゅ病発生による生育不良(A)と枯死(B) のリスク評価(Kawaguchi, 2022)

3. 発病樹における TAV の菌密度の変化

前述のとおり、本病がブドウ生産に与える影響が改めて認識され、本病の多発生はブドウ生産圃場に大きな脅威となることから、多発要因の解明は急務である.特に積雪地帯である北海道において本病の発生は多く、現地では対策に苦慮している.また、凍害が起こりにくい地域では本病の発生は少ないとする定説と矛盾する (Burr et al., 1998).そこで、発生拡大要因を知るためのアプローチの一つとして、発病樹における TAV の菌密度に着目した.2021~2023 年にかけて北海道余市町、札幌市、浦臼町、富良野市のブドウ栽培圃場を定期的に調査し、発病樹の癌種組織、表皮および積雪時の表皮に付着した雪から、TAV の分離を行い、菌数の変動を確認した.その結果、全ての調査圃場で、そして調査期間を通じて、癌腫組織から 106~108 Colony Forming Unit (CFU)/g、表皮お

よび表皮に付着した雪から $10^2 \sim 10^4$ CFU/g の TAV が安定的に検出された (図 3).

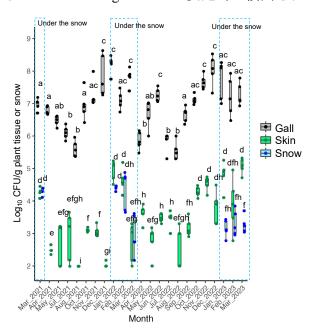


図 3 発病樹における TAV 密度の変動(北海道余市町現地圃場)(Kawaguchi et al., 2023a)

以上より、癌種、表皮の両組織から TAV が継続的に検出され、また TAV の密度は年間を通じて大きく変動することが明らかになった(図 3). そこで、TAV 密度の推移と関連する環境要因を調べるため、「ブドウの品種」、「場所」、「降水量」、「気温」、「積雪の深さ」との関連について、統計学の一手法であるベイズ推定を応用した階層ベイズモデルを用いて要因分析を行った。階層ベイズモデルとは、ベイズ推定の理論に基づき、一つのパラメータに影響を与える別のパラメータの影響を考慮した統計モデルである。この方法は、不確実性を含む複雑な構造を持つ事象において、ある結果に関連する要因がどのくらい影響を及ぼしているのかを明らかにするメリットがある。TAV 密度に有意に影響を与えている要因の選抜には、95%ベイズ信用区間の下限値と上限値が0を含まないことを条件とした。その結果、ブドウ樹の癌種組織内の病原菌密度に影響を与える要因として「品種」と「気温」が選抜され、ブドウ樹の表皮に生息している病原菌密度に影響を与える要因としては「気温」が選抜された。以上より、病原菌密度に影響を与える要因としては「気温」が選抜された。以上より、病原菌密度に影響を与える要因として、特に共通して気温の変動が関連することが明らかとなった。

病原菌密度の変動が気温に影響されることがわかったので、次に、病原菌の密度が季節によっても変わることを明らかにするため、ベイジアン・チェンジポイント・ディテクション(Bayesian Changepoint Detection、以後、BCD と表記)で解析した。 BCD は、

時系列データが与えられたとき、データ列の傾向が変化するような点を検知するアルゴリズムである。年を通して TAV 密度の変化を BCD で解析した結果、秋から冬にかけて TAV 密度が増加することが示された(図 4)。併せて、積雪のある冬の間は高い TAV 密度が保たれていることも示された(図 4)。このことから、積雪により、病原菌密度が高く維持されると考えられた。

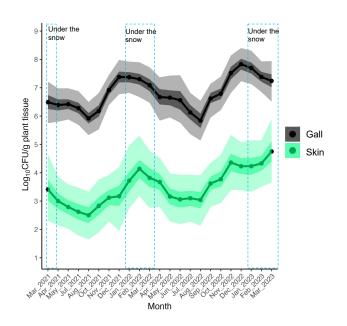


図 4 BCG による発病樹における TAV 密度の季節変動(北海道余市町現地圃場) (Kawaguchi et al., 2023a)

グラフの濃い色の帯はベイズ 50%信用区間,薄い色の帯はベイズ 95%信用区間.

4. 積雪の有無が TAV 密度に与える影響

積雪の有無が病原菌密度に与える影響を調べるため、同一のブドウ樹で、雪に覆われている部分と覆われていない部分に分けて、TAV 密度を比較した。その結果、雪に覆われている部分からは、覆われていない部分に比べて約 100 倍高い密度で TAV が検出された(Kawaguchi et al., 2023a).一般的に、植物病原菌は 0℃以下で活動を休止すると考えられるが、雪に覆われることによって病原菌が冬眠状態となり、高い病原菌密度が維持される環境条件では、凍害等による大きな傷がなくても本病が発生しやすくなると考えられた.さらに、春には雪溶けと共に発病樹の表皮や癌種で越冬した TAV が土壌に流れて翌年の伝染源になる可能性も考えられた.ブドウ根頭がんしゅ病の病原細菌 TAVは、土壌伝染によりブドウ樹体内に侵入・感染して根頭がんしゅ病を発病させると、TAVは発病樹の癌種組織内だけに留まらず表皮にも移動して生存し、冬は積雪に守られて越

冬することで、年間を通して生存して病原細菌として活動していると考えられた.

北海道の積雪地帯では深さ 1~2 m の積雪が 3 か月以上ブドウ樹を覆っている場合もあるが、積雪の重さによりブドウ樹に強い物理的な負荷がかかることで樹に傷ができる可能性を指摘している (Jitsuyama et al., 2022). 積雪下で高密度に保たれた TAV が、雪解け後に積雪の重さによるブドウ樹の物理的な傷に感染することも十分に考えられる.

5. おわりに

本研究により、積雪地帯でブドウ根頭がんしゅ病が発生する原因の一つが、積雪下で保存された高い TAV 密度であることが示された. 今後は、TAV 密度を低下させて感染を防ぐような防除技術の開発が期待される. これまで著者らは、本病の発病を強く抑制する拮抗細菌を発見し、その防除効果を圃場レベルで実証することに成功しており(Kawaguchi, 2013; Kawaguchi et al.,2005, 2007, 2008, 2012, 2015, 2023b; Kawaguchi and Inoue, 2012; Wong et al., 2021)、拮抗作用メカニズムの解明も同時に進めているところである(Ishii et al., 2024; Kawaguchi 2014, 2015, 2022b; Kawaguchi et al.,2017, 2019; Kawaguchi and Noutoshi, 2022a, 2022b; Noutoshi et al., 2020; Saito et al., 2018). 現在、新しい生物農薬として開発が進められていることから、このような新しい防除技術の導入により、本病の発生拡大の阻止および安定したブドウ生産の拡大が強く望まれる.

謝辞

本研究は JSPS 科研費 JP17H03778, JP20K20572, JP21K05606 の助成を受けたものです.

引用文献

- Burr, T.J., Bazzi, C., Süle, S. and Otten, L. (1998) Crown gall of grape: Biology of *Agrobacterium* vitis and the development of disease control strategies. *Plant Dis.* **82**:1288-129
- Ishii, T., Tsuchida, N., Hemelda, N. M., Saito, K., Bao, J., Watanabe, M., Toyoda, A., Matsubara, T., Sato, M., Toyooka, K., Ishihama, N., Shirasu, K., Matsui, H., Toyoda, K., Ichinose, Y., Hayashi, T., Kawaguchi, A., Noutoshi, Y. (2024) Rhizoviticin is an alphaproteobacterial tailocin that mediates biocontrol of grapevine crown gall disease. *ISME J.* 18:1–12. https://doi.org/10.1093/ismejo/wrad003
- Jitsuyama, Y., Kita, Y., Arakawa, K., and Suzuki, T. (2022) A possibility of influence factors on winter physical damage of grapevines in a snowy vineyard. *Vitis* **61**: 125–132.
- Kawaguchi, A., Inoue, K. and Nasu, H. (2005) Inhibition of crown gall formation by

- Agrobacterium radiobacter biovar 3 strains isolated from grapevine. J. Gen. Plant Pathol. 71:422-430.
- Kawaguchi, A., Inoue, K. and Nasu, H. (2007) Biological control of grapevine crown gall by nonpathogenic *Agrobacterium vitis* strain VAR03-1. *J. Gen. Plant Pathol.* **73**:133-138.
- Kawaguchi, A., Inoue, K., and Ichinose, Y. (2008) Biological control of crown gall of grapevine, rose, and tomato by nonpathogenic *Agrobacterium vitis* strain VAR03-1. *Phytopathology* **98**: 1218–1225. https://doi.org/10.1094/PHYTO-98-11-1218
- Kawaguchi, A., and Inoue, K. (2012). New antagonistic strains of non-pathogenic *Agrobacterium* vitis to control grapevine crown gall. *J. Phytopathol.* **160**:509–518. https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2012.01939.x
- Kawaguchi, A., Kondo, K., and Inoue, K. (2012). Biological control of apple crown gall by nonpathogenic *Rhizobium vitis* strain VAR03-1. *J. Gen. Plant Pathol.* **78**:287–293.
- Kawaguchi, A. (2013) Biological control of crown gall on grapevine and root colonization by nonpathogenic *Rhizobium vitis* strain ARK-1. *Microbes Environ.* **28**:306–311. https://doi.org/10.1264/jsme2.ME13014
- Kawaguchi, A. (2014) Reduction in pathogen populations at grapevine wound sites is associated with the mechanism underlying the biological control of crown gall by Rhizobium vitis strain ARK-1. *Microbes Environ.* **29**:296–302. https://doi.org/10.1264/jsme2.ME14059
- Kawaguchi, A. (2015) Biological control agent *Agrobacterium vitis* strain ARK-1 suppresses expression of the *virD2* and *virE2* genes in tumorigenic *A. vitis. Eur. J. Plant Pathol.* **143**: 789–799. https://doi.org/10.1007/s10658-015-0730-8
- Kawaguchi, A., Inoue, K., and Tanina, K. (2015). Evaluation of the nonpathogenic Agrobacterium vitis strain ARK-1 for crown gall control in diverse plant species. *Plant Dis.* **99**:409–414. https://doi.org/10.1094/PDIS-06-14-0588-RE
- Kawaguchi, A., Inoue, K., Tanina, K., and Nita, M. (2017) Biological control for grapevine crown gall using nonpathogenic *Rhizobium vitis* strain ARK-1. *Proc. Japan Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.* **93**:547–560. https://doi.org/10.2183/pjab.93.035
- Kawaguchi, A., Nita, M., Ishii, T., Watanabe, M., and Noutoshi, Y. (2019) Biological control agent *Rhizobium* (=*Agrobacterium*) *vitis* strain ARK-1 suppresses expression of the essential and non-essential *vir* genes of tumorigenic *R. vitis. BMC Res. Notes* **12**:1– 6. https://doi.org/10.1186/s13104-018-4038-6
- Kawaguchi, A., Sone, T., Ochi, S., Matsushita, T., Noutoshi, Y., and Nita, N. (2021) Origin of

- pathogens of grapevine crown gall disease in Hokkaido in Japan as characterized by molecular epidemiology of *Allorhizobium vitis* strains. *Life* **11**:1265. https://doi.org/10.3390/life11111265
- Kawaguchi, A. (2022a) Risk assessment of inferior growth and death of grapevines due to crown gall. *Eur. J. Plant Pathol.* **164**:613–618. https://doi.org/10.1007/s10658-022-02577-9
- Kawaguchi, A. (2022b) Biocontrol of grapevine crown gall performed using *Allorhizobium vitis* strain ARK-1. *Appl. Microbiol.* **2**:981–991. https://doi.org/10.3390/applmicrobiol2040075
- Kawaguchi, A., and Noutoshi, Y. (2022a) Characterization of migration and inhibiting gall formation of *Rhizobium vitis* strain ARK-1, a biological control agent against grapevine crown gall disease. *J. Gen. Plant Pathol.* 88:63–68. https://doi.org/10.1007/s10327-021-01043-4
- Kawaguchi, A., and Noutoshi, Y. (2022b) Insight into inducing disease resistance with *Allorhizobium vitis* strain ARK-1, a biological control agent against grapevine crown gall disease. *Eur. J. Plant Pathol.* **162**:981–987. https://doi.org/10.1007/s10658-021-02440-3
- Kawaguchi, A., Nemoto, M., Ochi, S., Matsushita, Y., Sato, T. and Sone, T. (2023a) Insight into the population dynamics of pathogenic bacteria causing grapevine crown gall in snowfall areas: snow cover protects the proliferation of pathogenic bacteria. *Front. Plant Sci.* 14:1198710. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1198710
- Kawaguchi, A., Kirino, N., and Inoue, K. (2023b) Biological control for grapevine crown gall evaluated by a network meta-analysis. *Plants* **12**:572. doi: 10.3390/plants12030572
- Noutoshi, Y., Toyoda, A., Ishii, T., Saito, K., Watanabe, M., and Kawaguchi, A. (2020) Complete genome sequence data of nonpathogenic *Rhizobium vitis* strain VAT03-1, a biological control agent for grapevine crown gall disease. *Mol. Plant-Microbe Interact.* **33**:1451–1453. https://doi.org/10.1094/MPMI-07-20-0181-A
- Saito, K., Watanabe, M., Matsui, H., Yamamoto, M., Ichinose, Y., Toyoda, K., Kawaguchi, A., and Noutoshi, Y. (2018) Characterization of the suppressive effects of the biological control strain VAR03-1 of *Rhizobium vitis* on the virulence of tumorigenic *R. vitis. J. Gen. Plant Pathol.* **84**:58–64. https://doi.org/10.1007/s10327-017-0756-1
- Wong, A. T., Kawaguchi, A., and Nita, M. (2021) Efficacy of a biological control agent *Rhizobium* vitis ARK-1 against Virginia *R. vitis* isolates, and relative relationship among Japanese and Virginia *R. vitis* isolates. *Crop Protect.* **146**:105685. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105685

土壌微生物叢の構造と作物病害リスク

東樹宏和

Hirokazu Toju: Soil microbiome structure and crop disease risk

摘要

農地土壌を診断する際、その物理的・科学的性質にこれまで重点が置かれてきたが、DNA分析技術が急速に進歩した現在、土壌の生物性を評価することが可能となりつつある。窒素循環過程に関わる細菌やアーバスキュラー菌根菌に関する知見はこれまでにも蓄積されてきているが、農地土壌微生物叢に関する理解は、未だに細菌・真菌類の圧倒的多様性によって阻まれている。本稿では、DNA情報によって土壌微生物叢の全体像をいかに把握できるのか、その概要を説明する。土壌微生物叢をひとつのシステムとして捉えることで、病害発生リスクの低い農地生態系を維持する道筋が見えてくると期待される。

Key words: biodiversity, community stability, soil microbiomes

京都大学 生命科学研究科

土壌の中には、無数の生物種が人知れず息づき、複雑なシステムを形成している。特に細菌・アーキア・真菌といった微生物たちは、生態系レベルの養分循環や温室効果ガスの蓄積/放出に深く関わっており、その役割の重要性がしばしば議論されてきた。しかし、土壌微生物たちが構成する微生物叢の構造は極めて複雑であり、「ブラックボックス」として扱われるのが通例とされてきた。

ハイスループット DNA シーケンサーによる生物多様性の効率的探索ができるようになった今、この状況は大きく変わりつつある。本発表では、DNA メタバーコーディングという技術を基にして、農地土壌の微生物叢をプロファイリングする手法について概説する。

土壌中には、植物にリンや窒素を供給する真菌類や植物に寄生する細菌・真菌類等、様々な微生物がひしめいている。こうした微生物たちの組成を特定の遺伝マーカー領域(細菌・アーキアでは 16SrRNA 領域、真菌では ITS 領域) のシーケンシングによって解明する DNA メタバーコーディングは、農地土壌の状態を膨大な情報量で解明する土台を提供する。

過去に農業・食品産業技術総合研究機構で実施された農地土壌に関するプロジェクトで採集された 2,000 超の土壌サンプルを対象としたところ(図1)、合計で 26,868 種/系統の細菌、632 種/系統のアーキア、4,889 種/系統の真菌を検出した(Fujita et al. 2024)。対象となった農地に生育していた合計 19 の作物種のうち、ナスやトマトといった作物種については、病害の発生状況に関する付加情報が得られていたことから、微生物叢の構造と作物病害の関連性について統計分析を実施した(図2)。その結果、土壌微生物叢の構造と病害リスクとの間には有意な関連性があり、また、病害リスクの指標生物として重点的にモニタリングすべき細菌種および真菌種のリストを作成することがでた(図3)。

さらに、微生物種間の関係性に関する分析を行ったところ、結びつきの強い (共存する傾向が強い)微生物種のグループが複数検出された。これらのグループの間で、作物病害の発生リスクとの関連性が大きく異なっており (図4)、微生物種のセットをターゲットとして、農地土壌の管理を行う必要性が示唆された。このような DNA メタバーコーディング分析がもたらす情報によって、農地土壌の管理が精緻化し、微生物がもつ潜在能力を最大限に活かした持続可能型農業が拡大していくと期待される。

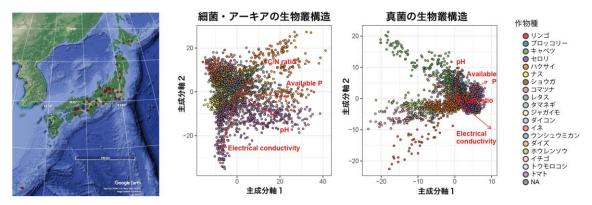


図 1. 調査地と微生物叢解析の結果。各土壌サンプルの微生物叢の構造を原核生物叢(細菌・アーキア)と真菌叢に分けて表示。点の色は、調査地点において栽培されていた作物種を示す。Fujita et al. (2024)を基に作成。

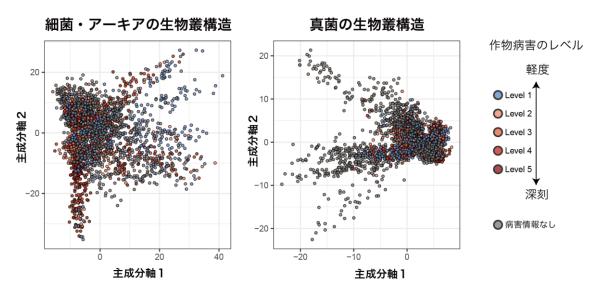


図 2. 微生物叢の構造と作物病害レベルの関係性。Fujita et al. (2024)を基に作成。

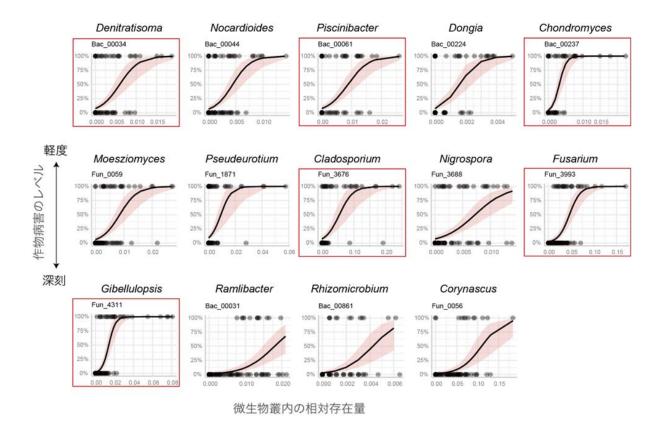


図 3. 作物病害リスクの指標として検出された微生物。横軸に存在量、縦軸に作物病害のレベルを示す。赤枠で囲まれた微生物は、補完的な統計分析でも作物病害レベルとの有意な関連性が示唆されたもの。Fujita et al. (2024)を基に作成。

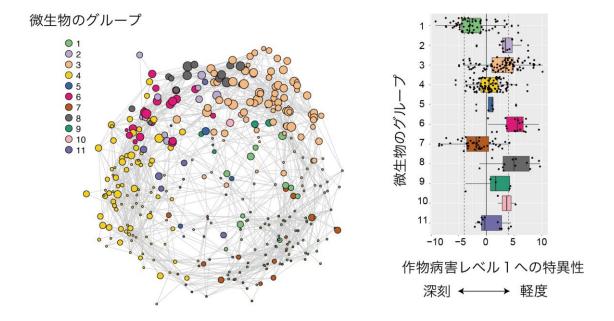


図 4. 微生物間の関係性ネットワーク。ネットワークの構造から、11 のグループに分類された(左)。作物病害レベルとの関連性が近い微生物種が、同じグループに所属する傾向がみられた。Fujita et al. (2024)を基に作成。

参考文献

1) Fujita H, Yoshida S, Suzuki S, Toju H (2024) Soil prokaryotic and fungal biome structures associated with crop disease status across the Japan Archipelago. *mSphere* https://doi.org/10.1128/msphere.00803-23

本会記事

1. 土壌伝染病談話会の開催記録

	年月日	開催地	開催場所
第1回	1963年9月26-27日	札幌市	北海道大学農学部
第2回	1964年11月27-28日	京都市	京都府総合資料館
第3回	1966年10月21-22日	盛岡市	つなぎ温泉清温荘
第4回	1968年10月13-15日	鹿児島市	鹿児島大学農学部
第5回	1970年11月27-29日	高知市	高知電気ビル
第6回	1972年11月21-22日	静岡市	静岡県農業会館
第7回	1974年11月19-21日	水戸市	茨城県農協会館
第8回	1976年9月2-4日	帯広市	帯広市十勝協連会館
第9回	1978年10月17-18日	岩手県松尾村	八幡平温泉郷八幡平ハイツ
第10回	1980年10月1-3日	小諸市	小諸市農協会館
第11回	1982年11月4-5日	名古屋市	愛知県婦人文化会館
第12回	1984年10月8-10日	京都市	京都府立大学
第13回	1986年10月2-3日	山口市	山口県教育会館
第14回	1989年10月20-21日	高知市	高知電気ビル
第15回	1990年11月1-2日	那覇市	沖縄県自治会館
第16回	1992年7月15-17日	網走市	東京農業大学生物産業学部
第17回	1994年11月10-11日	堺市	大阪府立大学学術交流会館
第18回	1996年11月14-15日	千葉市	千葉大学けやき会館
第19回	1998年10月21-22日	仙台市	東北大学医学部艮陵会館
第20回	2000年10月24-26日	熊本市	熊本市国際交流会館
第21回	2002年8月21-23日	高山市	高山市民文化会館
第22回	2004年9月8-10日	札幌市	かでる2・7
第23回	2006年9月7-8日	草津市	草津音楽の森国際コンサートホール
第24回	2008年9月11-12日	南国市	高知大学農学部
第25回	2010年9月16-17日	大阪市	新梅田研修センター
第26回	2012年9月20日	柏市	東葛テクノプラザ
第27回	2014年9月24-25日	盛岡市	いわて県民交流センター(アイーナ)
第28回	2016年11月8日	佐賀市	グランデはがくれ
第29回	2018年10月17日	札幌市	北海道大学農学部
	2020年9月17日	つくば市	ACPP(アジア植物病理学会)内のコンカレントセッションとして 開催予定であったが、新型コロナウイルス蔓延のため中止
第30回	2022年11月11日	WEB開催	Zoomウェビナー(千葉大学園芸学部)
第31回	2024年10月17-18日	つくば市	文部科学省 研究交流センター

2. 講演要旨集の体裁

- 1) 誌名は、「土壌伝染病談話会レポート」(英文誌名「PSJ Soilborne Disease Workshop Report」)とする。
- 2) 冊子体で発行する場合は、国会図書館の指導に従い、ISDS (国際逐次刊行物データ・システム)登録を行い、ISSN (国際標準逐次刊行物番号 ISSN0918-2764) を付して発行する。ただし、PDF 等の電子ファイルで発行する場合はこの限りではない。

3. 第31回土壤伝染病談話会運営委員(◎委員長、○幹事)

◎兼松聡子、○吉田重信、○染谷信孝

4. 第32回土壌伝染病談話会について

第32回土壌伝染病談話会は、2026年に名城大学 荒川征夫氏を実行委員 長として開催する予定である。

土壌伝染病談話会レポート 31号

印刷 2024年10月

発 行 2024年10月17日

発行所 一般社団法人 日本植物病理学会

東京都北区中里 2-28-10 日本植物防疫協会内

発行者 一般社団法人 日本植物病理学会長

編集者 一般社団法人 日本植物病理学会土壤伝染病談話会

運営委員長 兼松聡子

出版幹事兼松聡子・吉田重信・野口雅子

印刷所 株式会社プリントパック

京都府向日市森本町野田 3-1

