

# PCR-DGGE 法による土壤微生物相の解析に基づく ハクサイ黄化病発生の評価

国立研究開発法人 農業環境技術研究所 <sup>ながせ</sup>長瀬 <sup>はるか</sup>陽香・<sup>よしだ</sup>吉田 <sup>しげのぶ</sup>重信

## はじめに

農作物の土壤病害の発生には、病原微生物の圃場内における存在や気象条件以外に、土壤の物理性、化学性、生物性が環境要因として関与していることが知られている。土壤病害の発生と土壤の理化学性との関連については、多くの病害で古くから報告がある一方で、近年開発された変性剤濃度勾配ゲル電気泳動 (PCR-DGGE) 法による土壤微生物相の標準的解析法により、土壤病害の発生と土壤の生物性との関連についての知見も得られ始めてきている。今回筆者らは、ハクサイの重要病害である黄化病の発生圃場を対象に、PCR-DGGE 法による土壤微生物相の多様性、さらに本病の病原菌および発病助長因子のキタネグサレセンチュウの土壤中の存在程度を経時的に解析し、それらと本病の発生程度との関連性を調べた。本稿では、その概要およびその関連性に基づく病害の診断や管理への展開の可能性について解説する。

## I PCR-DGGE 法による土壤微生物相評価と 土壤病害発生との関連

土壤病害の発生は、その主因である病原体の有無やその存在形態等に加え、土壤の物理性、化学性、生物性に影響を受けるとされている。このうち、物理性や化学性と発病の関連については複数の土壤病害で明らかにされているが、生物性については、土壤微生物の多くが培養困難であるという背景から、その関係解明が遅れていた。しかし、PCR-DGGE 法による土壤微生物相の標準的解析法 (森本・星野 (高田), 2008; 大場・岡田, 2008) の開発により、土壤病害の発生と土壤の生物性との関連を解析することが可能となり、これまでに、セルリー萎黄病 (藤永ら, 2012)、トマト褐色根腐病 (関口, 2011)、ハウレンソウ萎凋病 (浦嶋ら, 2011) 等の病害発生に土壤生物性が関連していることが明らかにされて

きている。例えば、藤永ら (2012) は、セルリー萎黄病多発圃場では、少発圃場に比べて糸状菌相の多様性指数が土壤消毒処理後に激減し、土壤消毒後の多様性低下による感染閾値の低下が病害の多発生につながることを明らかにしている。また、関口 (2011) は、トマト褐色根腐病の発生履歴のない土壤に特徴的な糸状菌を見いだすとともに、病害発生履歴のない土壤では、発生履歴のある土壤と比べて糸状菌相の多様性が維持されていることを明らかにしている。浦嶋ら (2011) は、ハウレンソウ連作圃場において、糸状菌の多様性指数と病原菌の小型分生胞子の発芽率との間に負の相関関係があることを見いだしている。このように、病害発生に与える土壤の生物性のインパクトは様々な形で存在しうると考えられるが、その知見はまだ限られている。そこで筆者らは、ハクサイの重要土壤病害として知られる黄化病を対象に PCR-DGGE 法による土壤微生物相の解析を行い、その解析結果について本病発生との関連性の有無を調べることにした。

## II ハクサイ黄化病発生圃場における 土壤微生物相の解析

ハクサイ黄化病は、糸状菌 *Verticillium dahliae* および *V. longisporum* によって引き起こされる土壤伝染性の重要病害であり、発病すると結球期より外葉が黄化し、重症株では葉ボタン状となり、商品価値が著しく損なわれる。また、本病原菌は耐久体である微小菌核の形態で土壤中に長期間生存し、次作にも影響を及ぼすことから、全国各地のハクサイ生産現場において大きな問題となっている。さらに、キタネグサレセンチュウ (*Pratylenchus penetrans*) が本病の発生を助長することが知られており (百田ら, 1985; 1988; 池田ら, 2013)、本センチュウも含めた防除対策が必要となってくる。こうした観点から、筆者らは、群馬県内のハクサイ黄化病発生程度の異なる圃場を対象に、細菌相・糸状菌相・一般線虫相の多様性ととも、本病原菌およびキタネグサレセンチュウの土壤中の存在程度を PCR-DGGE 法により解析し、それぞれの特徴と黄化病発生程度との関連性を調査した。

調査圃場は、2010～12年の群馬県内の四つのハクサイ栽培圃場 (A・B: 吾妻郡長野原町, C・D: 伊勢崎市

Assessment of Chinese Cabbage Yellows Based on Analysis of Soil Microbial Community by PCR-DGGE. By Haruka NAGASE and Shigenobu YOSHIDA

(キーワード: 土壤病害, ハクサイ黄化病, キタネグサレセンチュウ, PCR-DGGE 法, 多様性指数, 評価)