

カルシウム施用によるダイズ茎疫病の発病低減効果

兵庫県立農林水産技術総合センター ^{すぎ}杉 ^{もと}本 ^{たく}琢 ^ま真

はじめに

ダイズ茎疫病は *Phytophthora sojae* (KAUFMANN and GERDEMANN) を病原とする土壌伝染性の難防除病害で、1977年に北海道で初発が確認されて以来(土屋ら, 1978)、全国各地の水田転換畑を中心に発生が見られる(SUGIMOTO et al., 2006)。本病に感染したダイズは生育初期では苗立枯症状を示し、生育中後期においては主茎の地際部に褐色で水浸状の病斑を形成するとともに茎枯症状を示し、感染後約1週間程度で枯死する。茎疫病の発生拡大の要因としては、降雨や水入れ後に土壤中の卵胞子が短期間に発芽すること、また罹病株から多量の遊走子が放出されることが主と考えられている(SCHMITTHENNER, 1985)。兵庫県では「丹波黒ダイズ」において発生が顕著であり、防除費用は年間3.9億円、被害額は6.8億円といわれており、ダイズ安定生産の大きな障害となっている。また、本病はダイズ生産量世界第1位の米国においても重要病害の一つであり、被害額は280億円/年と試算されている(WRATHER and KOENNING, 2006)。以上のことから、本病に対する対策が急務となっている。

筆者が茎疫病に関する研究を始めた当初の対策としては、①抵抗性品種の育成(白井, 2002; DORRANCE et al., 2003; 山下, 2008 a; 2008 b)、②排水対策(WORKNEH et al., 1998)、③殺菌剤の利用(柳田・石坂, 1983; 白井, 2002; NELSON et al., 2008)などがあげられる。しかし、品種育成には長期間を要すことから早期対策にはつながりにくく、真性抵抗性に関しては新レースによる抵抗性打破の例もある(SCHMITTHENNER, 1985; 山下, 2008 a)。また、排水対策については前述の通り、田畑輪換地でのダイズ栽培では根本的な解決にはなりにくい。殺菌剤の使用については耐性菌の出現の回避だけでなく、最近では地球環境に配慮した持続的な農業が推進され、全国各地で農薬の使用率を減らす取り組みがなされている。

こうした現状において、近年では農村環境の保全を考

慮した防除手段として、海外を中心に「無機元素処理による各種病害の抑制効果」が報告されている(DATNOFF et al., 2007)。しかしながら、ダイズ茎疫病に関してはこれまで知見がなかった。そこで、筆者は種々の無機元素の中から茎疫病に対する「カルシウム」の発病低減効果を見だし、研究に着手した。本稿では「カルシウム」の効果を確認した経緯、圃場で利用しやすいカルシウム資材の選抜と圃場での効果、今後の課題について紹介する。

I カルシウム施用による発病低減効果の例とメカニズム

これまでに報告されている、カルシウムによる発病低減効果の例を表-1に示す。このように、カルシウムは様々な仕組みで種々の病害抑制に関与している(渡辺ら, 2002)。まず、①土壤中のカルシウム濃度の上昇による病原菌自体への直接的な生育阻害による効果が挙げられる。例えば、白絹病菌の伝染源である菌核にカルシウムが直接作用して死滅させるケースや、ピンカの疫病については遊走子の放出、游泳速度を抑制することで発病が低下する場合がある(VON BROEMSEN and DEACON, 1997)。次に、②カルシウム資材の施用に伴う土壌中のpHの上昇による効果が挙げられる。高pH条件では土壌細菌密度が増加し、有機物の分解量が増加することで、可溶性窒素量が増加する。これにより、ゴボウ萎凋病などの病原菌の厚膜胞子が刺激されて発芽するが、この発芽管はアルカリ条件においては溶解する場合が多く、最終的に胞子が死滅して菌密度が低下し、結果として発病が低減される。また、③カルシウム資材の施用による植物体のカルシウム含有率の増加による影響も考えられる(BIGGS, 2004)。例としてはトマト青枯病、萎凋病、かいよう病、ジャガイモ軟腐病、レタス灰色かび病等がある。この場合、カルシウムは植物細胞壁のペクチンを主成分とする中層に多く存在し、ホウ素と共にペクチンを架橋して細胞壁の構造が強固となり、病原菌の産生する病原因子である各種ペクチン分解酵素(ポリガラクトクロナーゼなど)に対して阻害要因となる。その他の仕組みについては、④カルシウムイオンシグナルによる感染初期の病害抵抗性応答の活性化、シグナル伝達に寄与する例がある。すなわち、カルシウムは細胞内シグナル伝達の2次メッセンジャーとしての機能を持ち、

The Effect of Calcium Applications on the Reduction of *Phytophthora* Stem Rot Disease of Soybeans. By Takuma SUGIMOTO

(キーワード: ダイズ茎疫病, カルシウム, ダイズ, 抵抗性増強, 無機元素)

表-1 カルシウム施用による発病低減効果の例

| カルシウムの作用機作 | 作物 | 病名 | 出展 ^{a)} | |
|--------------|-----------|---------|--------------------------------|--------------------------|
| 菌への直接効果 | ジャガイモ | 疫病 | KATO et al. (1994) | |
| | ピンカ | 疫病 | VON BROEMSEN and DEACON (1997) | |
| 高 pH による効果 | ハクサイ | 根こぶ病 | WEBSTER and DIXON (1991) | |
| | ピーマン | 白絹病 | 松田 (1977) | |
| 植物体の Ca 濃度上昇 | トマト | 青枯病 | YAMASAKI et al. (1993) | |
| | | 萎凋病 | CORDON (1965) | |
| | | かいよう病 | BERRY et al. (1989) | |
| | ジャガイモ | 軟腐病 | KELMAN et al. (1989) | |
| | レタス | 灰色かび病 | KRAUSS (1971) | |
| | タマネギ | 黒かび病 | 田中・野中 (1990) | |
| | リンゴ | 貯蔵病害 | CONWAY et al. (1992) | |
| | | 炭疽病 | BIGGS (1999) | |
| | Ca シグナル伝達 | イネ | いもち病 | KUTTA et al. (2004) |
| | | レッドベッパー | 炭疽病 | KWANG-HEUM et al. (2002) |

^{a)} DATNOFF et al. (2007) ; 渡辺ら (2002) から引用.

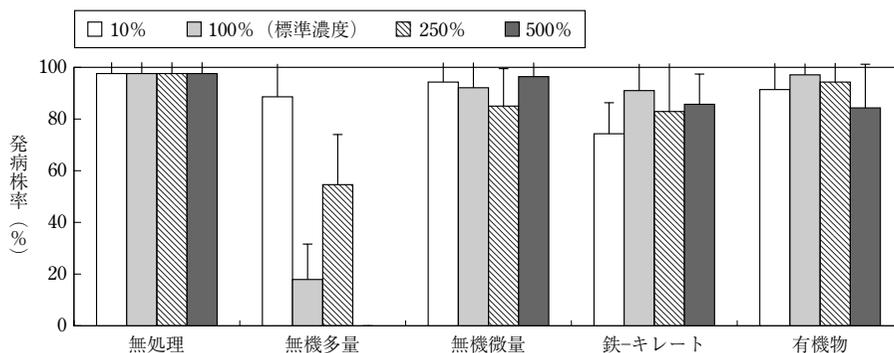


図-1 B5 培地を構成する 4 成分が茎疫病の発病に及ぼす影響

図中のバーは標準誤差を示す。無機多量要素 500% は濃度障害のため検定不能であった。

抗菌物質 (ファイトアレキシン) の生合成, 病害抵抗性関連遺伝子や過敏感反応死の誘導といった植物病害抵抗応答の活性化に一役を担っている (KNIGHT et al., 1991)。

II 茎疫病の発病低減にかかわる無期元素の選抜

茎疫病に対して発病抑制効果を示す物質を探索するため, 様々な無機元素を含む植物組織培養用の B5 培地 (GAMBORG et al., 1968) を用いて寒天培地接種法により接種検定を行った。すなわち, マヨネーズ瓶内 (容積約 900 ml) に B5 成分を含む寒天培地を入れて高压滅菌した後, アンチホルミンで表面滅菌したダイズ (中生光黒) 8 粒を無菌播種した。播種後約 10 日目に茎疫病菌の菌そう断片 (直径約 3 mm) 二つをダイズ幼苗の胚軸最下部 (地際部) に接種し, 恒温培養室内で管理し, 接種 16 日目まで発病株率を調査した。その結果, B5 培地上

で生育させたダイズの発病株率は 40% となり, 無処理区 (蒸留水処理) の 97.6% に比べて有意な発病低減効果が認められた。B5 培地は無機多量要素 (A), 無機微量元素 (B), 鉄-キレート (C), 有機物 (D) の 4 成分から構成されるが, それらを標準濃度 (100%) とその 10%, 250%, 500% に設定し, 発病株率を調査した。その結果, 図-1 のように無機多量要素 (A) の標準濃度で 17.9% となり, 無処理区と比較して顕著な発病低減効果が見られた。次に B5 培地を構成する 4 成分をそれぞれ標準濃度で混合して寒天培地に添加し, 組み合わせ試験を実施した。その結果, B5 (A + B + C + D), A + B + C, A + B + D, A + C + D 培地における発病株率はそれぞれ 40%, 25.7%, 34.9%, 34.6% となり, A 成分すなわち無機多量要素が存在する場合でのみ無処理区 (97.6%) に比べて有意な発病低減効果が見られた。一方, A 成分を含まない B + C + D 培地では発病株率

が95.1%となり、無処理区に近い値となった。以上の結果から、無機多量要素の中に茎疫病の発病抑制にかかわる物質があると考えられた。この物質を探索するため、無機多量要素を構成する5成分(KNO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, MgSO_4 , CaCl_2 , NaH_2PO_4)を個別に培地に添加して同様の試験を実施した。その結果、標準濃度の KNO_3 処理区(24.7 mM)および、標準濃度比500%の CaCl_2 処理区(5.1 mM)における発病株率はそれぞれ9.7%と5.6%となり、両者は茎疫病に対して発病低減効果を示す物質であると考えられた(図-2)(SUGIMOTO et al., 2007)。筆者は両者のうち、より現場に利用しやすく、その効果が高い物質としてカルシウムに着目した。

III 茎疫病の発病低減に有効なカルシウム化合物の選抜

カルシウム含有率の高い市販資材を探索し、表-2に

示す五つ(3種類のギ酸カルシウム($\text{Ca}(\text{COOH})_2\text{-A}$, B , C), 硫酸カルシウム($\text{CaSO}_4\text{-A}$), 塩化カルシウム($\text{CaCl}_2\text{-A}$)を選んだ。また、検定には市販の試薬である2種類のカルシウム(硝酸カルシウム($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$)と塩化カルシウム(CaCl_2))を加え、合計7種類の化合物のカルシウム濃度を0.4~20 mMに設定し、この中で発病低減効果が高いものを寒天培地接種法により評価した。その結果、すべてのカルシウム化合物は茎疫病に対して高い発病低減効果を示した(SUGIMOTO et al., 2005; 2008 b)。その中でも、4~20 mMのギ酸カルシウム($\text{Ca}(\text{COOH})_2\text{-A}$, $\text{Ca}(\text{COOH})_2\text{-B}$)および硝酸カルシウム処理区で特に高い効果を確認した(図-3)。ギ酸カルシウムに0.5%のホウ素が添加された $\text{Ca}(\text{COOH})_2\text{-C}$ も一定の効果は確認できたが、薬にホウ素の過剰障害が発生し、生長量とも抑制された。また、塩化カルシウム(試薬)は、培地中のカルシウム濃度が20 mM以上で

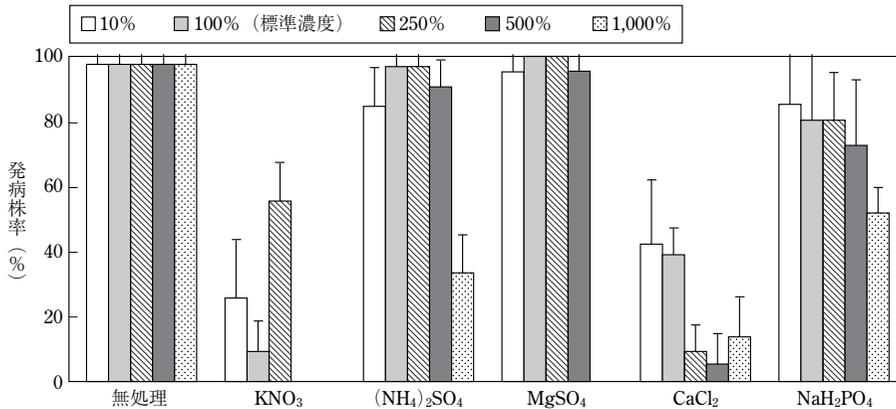


図-2 無機多量要素を構成する5成分が茎疫病の発病に及ぼす影響
図中のバーは標準誤差を示す。

表-2 試験に使用した各種カルシウム化合物

| カルシウム形態 (商品名) | 製造元 | カルシウム資材に 含まれる化合物 | カルシウム 含有率 (%) | 最適なカルシウム 施用濃度 (mg/l) |
|---|------------|--|------------------|-------------------------|
| $\text{Ca}(\text{COOH})_2\text{-A}$ (スイカル) | 見栄化学工業(株) | 99.8% of $\text{Ca}(\text{COOH})_2$ + 0.2% of water | 30.0 | 1,000 ~ 2,000 |
| $\text{Ca}(\text{COOH})_2\text{-B}$ (バイカルティール) | 見栄化学工業(株) | 90% of $\text{Ca}(\text{COOH})_2$ + 10% of calcium lignine sulfonate | 24.3 | 1,000 |
| $\text{Ca}(\text{COOH})_2\text{-C}$ (ハイカルック) | 見栄化学工業(株) | 90% of $\text{Ca}(\text{COOH})_2$ + 10% of B_2O_5 | 26.4 | 1,000 |
| $\text{CaSO}_4\text{-A}$ (セルバイン) | 白石カルシウム | 57% of CaSO_4 + 27% of CaO | 32.5 | 1,250 ~ 2,500 |
| $\text{CaCl}_2\text{-A}$ (カルクロン) | ニッソーグリーン | 72% of CaCl_2 | 26.0 | 1,429 ~ 5,000 |
| CaCl_2 | ナカライテスク(株) | $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 27.2 | — |
| $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ | ナカライテスク(株) | $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | 16.9 | — |

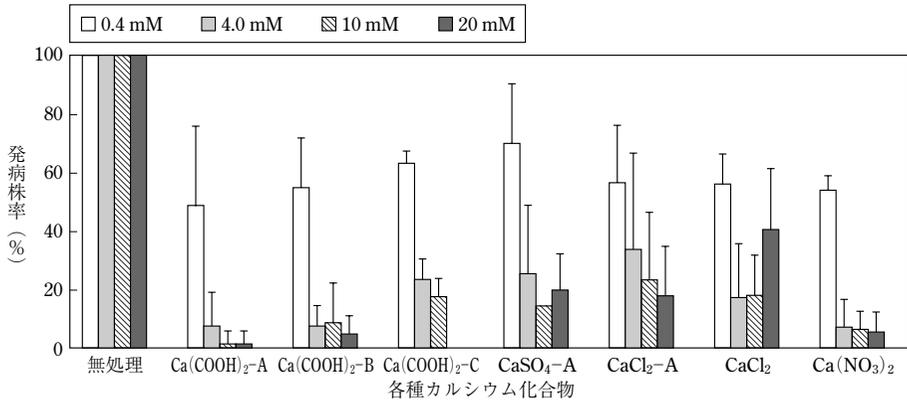


図-3 各種カルシウム化合物による茎疫病発病低減効果
 図中のバーは標準誤差を示す。

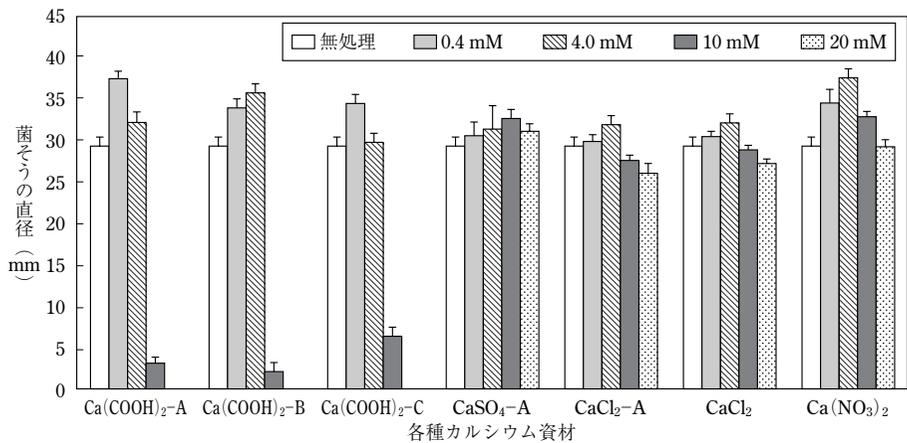


図-4 各種カルシウム化合物が茎疫病菌の菌糸成長に及ぼす影響
 図中のバーは標準誤差を示す。

は発病株率は低下しなかった。これは、培地中のカルシウム濃度の上昇とともに塩素濃度も高くなるためと考えられた。

IV カルシウム処理による茎疫病発病低減のメカニズム

発病低減効果の要因を解析するため、カルシウム化合物が茎疫病菌の菌糸成長に及ぼす直接的な影響について調査を行った。ポテトデキストロース (PDA) 培地に各種カルシウム (0.4 ~ 20 mM) を添加し、3 mm 角の菌そうを培地の中心に置床して 1 週間後に菌そうの直径を測定した。その結果、0.4 ~ 4 mM のすべてのカルシウム化合物は菌糸伸長を促進した (図-4)。しかし、図-3 に示すように実際はこの濃度域で発病を低減していることから、発病株率の低下と菌糸伸長の間には明

確な関係は見られなかった。すなわち、低濃度のカルシウムによる発病低減効果は菌への直接的な生育阻害に起因するのではなく、植物側の要因であると考えられた。一方、10 ~ 20 mM のギ酸カルシウムは、他のカルシウム化合物に比べて、菌糸伸長を強く抑制することが判明した。すなわち、高濃度のギ酸カルシウムによる発病低減効果は植物体への影響に加えて、菌糸の伸長の抑制も一要因であると考えられた。

カルシウムが植物に及ぼす影響を調べるため、7 種類の化合物を施用した時の植物体中のカルシウム含有率を定量し、発病株率との関係を調査した。その結果、ダイズのカルシウム含有率が高いほど発病株率は低下する傾向にあった (図-5)。特に 30 mM 硝酸カルシウム処理区で最もカルシウム吸収率が高く、発病抑制効果も高かった。以上のことから、カルシウム施用による茎疫病の

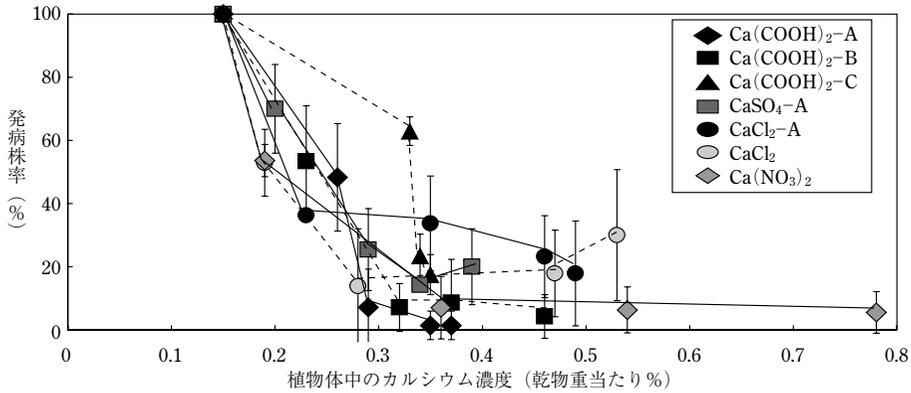


図-5 植物体中のカルシウム濃度と発病株率との関係
 図中のバーは標準誤差を示す。

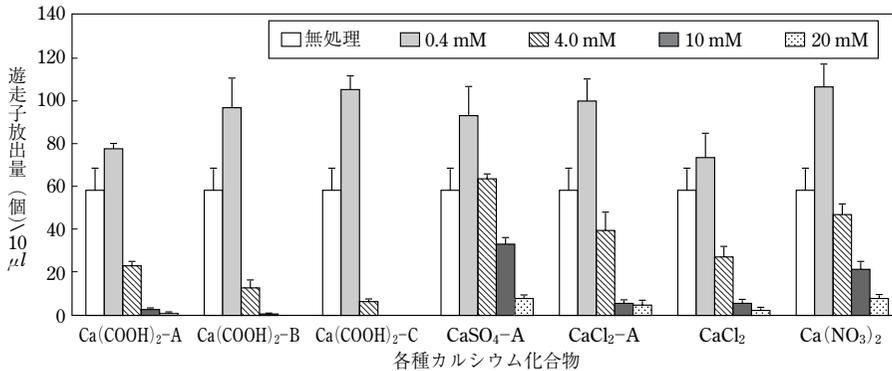


図-6 各種カルシウム化合物が遊走子放出に及ぼす影響
 図中のバーは標準誤差を示す。

発病低減効果は「植物体中のカルシウム含有量の上昇」により、細胞壁の強化など、ダイズ自体の抵抗性が增強された結果であると考えられた。

V カルシウム資材を用いた圃場試験

1 圃場で利用しやすいカルシウム資材の選定

「はじめに」で述べたように、圃場での茎疫病の発生には遊走子が強く関与する。そこで、各種カルシウム化合物が遊走子放出に及ぼす影響について検討した結果、低濃度 (0.4 mM) のカルシウム処理ではすべての区において遊走子放出を促進する結果となった (図-6)。このことから、カルシウム欠乏土壌においてはその放出が活発になり、発病が上昇する可能性がある。一方、4 mM 以上のカルシウム処理においてはほとんどの化合物で遊走子の放出を抑制し、さらに遊走子の運動性 (遊泳能力) も低下した。中でも 10 mM 以上のギ酸カルシウムでは遊走子放出数は 0 ~ 2.5 個/10 μ l となり、無処

理区の 58 個/10 μ l に比べて高い放出抑制効果が見られた。このことから、圃場でカルシウム資材を施用する場合、植物体中のカルシウム吸収量の増加の観点だけでなく、遊走子の放出や運動能力を抑制できるだけの施用量が必要と考えられた。一方、ギ酸カルシウムに次いで発病抑制効果が高かった硝酸カルシウムは、他の化合物に比べて遊走子の放出抑制効果はそれほど高くはなかった。また、窒素を含むため、実用上の圃場施用には不適な場合もあると考えた。以上のことから、圃場で利用しやすいカルシウム化合物としてギ酸カルシウムが適当であると判断した。

2 カルシウム資材の処理濃度

ギ酸カルシウム A を用いて圃場での発病条件に近い、遊走子接種によるセル苗試験を実施した。セルトレイにパーミュキュライトを敷き詰め、ダイズ (中生光黒) を播種し、発芽後から約 10 日間ギ酸カルシウムを吸収させた後、遊走子 (10³ 個/ μ l) を接種した。その結果、無

処理区の発病株率は68%であったが、10 mM区で6%、20 mM区で7%となり、高い発病低減効果が見られた。この効果の要因としては、植物体中のカルシウム吸収量の増加に加え、菌糸伸長と遊走子放出の抑制が考えられた。ギ酸カルシウムAが植物体の成長に及ぼす影響について調べた結果、0.4～10 mMでは植物の生育を促進したが、20 mMではわずかに成長を抑制した。以上のことから、圃場において本資材を使用する場合は、10 mM程度が適当な濃度であると考えられた(SUGIMOTO et al., 2008 b)。

3 圃場試験

2005年6月13日に、'丹波黒'を現地の黒ダイズ栽培で利用されている128穴セルに播種した。試験区は無処理区(蒸留水)、ギ酸カルシウム4 mM区(1,875倍希釈液)、10 mM区(750倍希釈液)の3区とし、発芽確認後それぞれの区に対して供試株数が20株になるようにセルトレイを切断した。各セルトレイの下にビニールシートを敷き、処理溶液がこぼれないようにしたうえで、各区1lの溶液をセル苗に処理し、約10日間十分な湛水条件にした。溶液処理後、これらを兵庫県K地区の圃場に定植した。定植後、2週間目にダイズ株元に各区1lの各処理濃度のギ酸カルシウム溶液を灌注し、最終処理とした。施肥は現地の栽培暦に準じ、茎疫病に対する防除は一切実施しなかった。発生調査は定植直後から10月下旬まで行い、ダイズ地際部の褐変株数および枯死株数より発病株率を算出した。その結果、茎疫病は無処理区の発病株率が29%となり多発生であった。一方、4 mMのギ酸カルシウム処理区では10%、10 mM処理区では5%となり、発病低減効果が確認された。また、カルシウム処理がダイズ品質と収量へ及ぼす影響について調べた結果、無処理区に比べて、規格外品の量が減り、莢数、収量がわずかに増加した(杉本、未発表)。以上のことから、カルシウム処理は茎疫病の発病低減効果に加えて、ダイズ品質の向上と増収にもつながると考えられる。今後も様々な圃場において試験を実施し、カルシウム資材の有効性を確認したい。

VI 今後の課題

今回の試験で、ダイズがカルシウムを多く吸収すれば、茎疫病の発生を低減できることがわかった。一方、圃場試験の結果は、室内検定の結果と比べるとその効果がやや低くなった。この原因は土壌による緩衝作用、カルシウムと土壌中の他の無機元素や微生物との競合作用によると考えられる(KOONAKAN et al., 2002)。しかしな

がら、カルシウム処理によって発病が低減できた分は殺菌剤の使用を減らすことができるため、有用な技術であると考えられる。さらに、カルシウムの効果を十分に発揮させるには、菌に感染する以前にダイズがより多くのカルシウムを吸収できる環境条件の解明と技術開発が必要である。

おわりに

現在、兵庫県では茎疫病対策として国庫受託研究「新農業展開ゲノムプロジェクト」においてDNAマーカーを利用した黒ダイズおよび黄ダイズの抵抗性品種の育成を行っている(SUGIMOTO et al., 2008 a)。しかしながら、生産者がこれらを利用するには事実上5年以上の歳月が必要である。「はじめに」でも述べた通り、これまで育成されてきた抵抗性品種は新レースにより打破された例が多いため、真性抵抗性のみで解決するにはやや問題がある。そのため、今回紹介したカルシウム処理による発病低減効果など、抵抗性品種に対する補完対策が重要である。近年、亜リン酸液肥の処理が茎疫病の発病抑制に効果を発揮することが報告された(前川, 2007)。以上のことを総合的に判断し、耕種的な防除手段の一つとしてカルシウム資材などを併用することで、地球環境に配慮した茎疫病に対する防除体系の確立が可能であると考えられる。

引用文献

- 1) BIGGS, A. R. (2004): *Plant Dis.* **88**: 147 ~ 151.
- 2) DATNOFF, L. E. et al. (2007): *Mineral Nutrition and Plant Disease*: 79 ~ 83.
- 3) DORRANCE, A. E. et al. (2003): *Plant Dis.* **87**: 308 ~ 312.
- 4) GAMBORG, O. L. et al. (1968): *Exp. Cell Res.* **50**: 151 ~ 158.
- 5) KNIGHT, M. R. et al. (1991): *Nature* **352**: 524 ~ 526.
- 6) KOONAKAN, P. et al. (2002): *Microbes Environ.* **17**: 91 ~ 97.
- 7) 前川和正 (2007): *植物防疫* **61**: 21 ~ 24.
- 8) NELSON, B. D. et al. (2008): *Plant Dis.* **92**: 1062 ~ 1066.
- 9) SCHMITTHENNER, A. F. (1985): *ibid.* **69**: 362 ~ 368.
- 10) 白井和栄 (2002): 大豆 自給率向上に向けた技術開発, 農林統計協会, 東京, p. 65 ~ 71.
- 11) SUGIMOTO, T. et al. (2005): *J. Phytopathol.* **153**: 536 ~ 543.
- 12) ——— (2006): *J. Gen. Plant Pathol.* **72**: 92 ~ 97.
- 13) ——— (2007): *J. Phytopathol.* **155**: 97 ~ 107.
- 14) ——— (2008 a): *Plant Breed.* **127**: 154 ~ 159.
- 15) ——— (2008 b): *Plant Dis.* **92**: 1559 ~ 1565.
- 16) 土屋貞夫ら (1978): *日植病報* **44**: 351.
- 17) 柳田麒策・石坂信之 (1983): *北日本病虫研報* **34**: 124 ~ 125.
- 18) 山下陽子 (2008 a): 第2回大豆茎疫病に関する研究会資料: 1 ~ 3.
- 19) ——— (2008 b): *植物防疫* **62**: 457 ~ 460.
- 20) VON BROEMSEN, S. L. and J. W. DEACON (1997): *Phytopathology* **87**: 522 ~ 528.
- 21) 渡辺和彦ら (2002): *季刊肥料* **91**: 11 ~ 27.
- 22) WORKNEH, F. et al. (1998): *Plant Dis.* **82**: 1258 ~ 1263.
- 23) WRATHER, J. A. and S. R. KOENNING (2006): *J. Nematol.* **38**: 173 ~ 180.