

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

群馬県農業技術センター 池田 健太郎・酒井 宏・田中 一史・柴田 聡
 東洋大学生命科学部 坂野 真平*・藤村 真
 茨城県農業総合センター農業研究所 渡 邊 健**
 長野県野菜花き試験場 山岸 菜穂・藤永 真史・小木曾 秀紀
 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 北海道農業研究センター 串 田 篤 彦
 独立行政法人 農業環境技術研究所 吉田 重信・對馬 誠也

はじめに

ハクサイ (*Brassica rapa* var. *pekinensis*) はアブラナ科に属し、中国においてアブラナ科作物同士の交雑によって発生したと考えられており (崎山ら, 1985), 我が国では品種改良によって品質, 収量は飛躍的に向上し, 冬の食卓に欠かせない重要野菜として普及してきた。ハクサイには多くの病害が報告されているが, なかでも, 土壌病害である黄化病は被害が大きく, 安定生産の阻害要因となっている。本病は渡辺ら (1973) によって長野県で初めて確認され, それ以降, 茨城県 (山岸ら, 1987; 渡邊ら, 2003), 愛知県 (廣田・加藤, 1980), 群馬県 (白石, 1998), 等の主要なハクサイ産地で発生するに至った。黄化病の病原菌である *Verticillium* 属菌は, 耐久体である微小菌核を作って土壌中に長く生存するため, 根絶が困難である (PEGG and BRADY, 2002)。加えて, アブラナ科植物に特に強い病原性を持つ種や宿主範囲が広い種もあるため, 他の土壌病害では有効な防除対策である輪作の抑制効果が限定的であり, 防除が大変難しい病害である。

これまで, *Verticillium* 属菌の分類体系に関しては, いくつかの変遷があった (飯嶋, 1981; KARAPAPA et al., 1997)。しかし, それらの変遷をふまえて, ハクサイ黄

化病菌を整理した報告はない。筆者らは, 関東東山地域の主要なハクサイ産地から黄化病菌を分離し, 形態および遺伝子解析によって種を同定し, 病原性の検討を行った (IKEDA et al., 2012)。本稿では, その報告を基にハクサイ黄化病菌の種の変遷とその病原性および関東東山地域における種の分布について紹介したい。また, 近年研究が進んでいる土壌 DNA を用いたハクサイ黄化病の診断の可能性と, そこから得られる情報を活用した防除対策等についてもふれたいと思う。本稿で紹介する研究成果は, 平成 20 ~ 24 年度文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業および平成 22 ~ 24 年度農林水産省レギュラトリーサイエンス新技術開発事業によって得られたものである。

I 病原菌の変遷

現在, ハクサイ黄化病菌は *V. dahliae* と *V. longisporum* の 2 種が知られている (IKEDA et al., 2012)。しかし, これまで *Verticillium* 属菌の分類体系の変更に伴って, ハクサイ黄化病菌に関しても, 種の変遷があったので, ここで紹介したい。

まずハクサイ黄化病は, 1973 年に渡辺らによって *V. albo-atrum* が引き起こすハクサイの土壌病害として, 国内で最初に報告された (渡辺ら, 1973)。その後, このハクサイ黄化病菌は 1981 年, 飯嶋によって *V. dahliae* と再同定された (飯嶋, 1981)。一方で *V. dahliae* は各種植物に対する病原性に基づき, A ~ D 群菌に類別されたが (HORIUCHI et al., 1990), その中でアブラナ科に強い病原性を示す D 群菌は, 他の菌群とは形態が異なるため, 後に新種の *V. longisporum* として提案された (KARAPAPA et al., 1997)。その論文の中で使われている菌株にも, 日本のハクサイから分離されていたものも含まれており, 国内でも *V. longisporum* の使用が提案された

Distribution of *Verticillium dahliae* and *V. longisporum* Associated with Chinese Cabbage Yellows and its Control Based on Field Diagnosis. By Kentaro IKEDA, Hiroshi SAKAI, Hitoshi TANAKA, Satoshi SHIBATA, Shinpei BANNO, Makoto FUJIMURA, Ken WATANABE, Naho YAMAGISHI, Masashi FUJINAGA, Hideki OGISO, Atsuhiko KUSHIDA, Shigenobu YOSHIDA and Seiya TSUSHIMA

(キーワード: ハクサイ, *Verticillium dahliae*, *Verticillium longisporum*, 黄化病, HeSoDim)

現所属: * 一般社団法人 日本植物防疫協会

** 茨城県病害虫防除所

(小池, 1998)。以降は国内のハクサイでも *V. longisporum* による病害として報告されていた (白石, 1998; 渡邊ら, 2003)。これらの状況から, *V. longisporum* がハクサイ黄化病を引き起こす菌種であることは明らかであった。一方で, これまでハクサイ黄化病菌として扱われてきた *V. dahliae* がすべて *V. longisporum* に移行するのかが, ハクサイ黄化病菌としての *V. dahliae* も存在するのかが明らかでない状況が続いていた。実際のところ, 当時ハクサイ黄化病菌には, 形態や病原性が異なる系統が存在する可能性も示唆されていた (廣田・加藤, 1980; 山岸ら, 1987; 堀内ら, 1990)。

そこで筆者らは, ハクサイの主要産地から黄化病菌を分離・収集し, 詳細に同定した。その結果, *V. dahliae* と *V. longisporum* の両菌種を確認した (表-1)。この結果から, *V. dahliae* と *V. longisporum* は両菌種ともハクサイ黄化病菌であることが明らかとなった。この研究は, KARAPAPA et al. (1997) より *V. dahliae* の D 群を *V. longisporum* とする提案があった後, 両菌種が同時にハクサイ黄化病菌と確認された最初の報告例である。*V. dahliae* と *V. longisporum* は宿主範囲や病原性が異なり, 病原菌がどちらかによって, 輪作作物の選定などの防除対策が変わってくる (KARAPAPA et al., 1997; 剣持ら, 1999; PEGG and BRADY, 2002)。そのため, これらの研究で両菌種を病原菌として確認したことはハクサイ生産上, 非常に重要な情報である。

II 病原性

V. longisporum は *V. dahliae* と比較してアブラナ科植物にはより強い病原性を示すとされている (KARAPAPA et al., 1997; 剣持ら, 1999)。そこで, こうした傾向がハクサイにおいても同様なのか確認するため, *V. dahliae* C-7 菌株および *V. longisporum* C-26 菌株, ハクサイ品種 '黄

楽 60' (トーホク交配) を用いて, 圃場での接種試験を実施した (表-2)。両菌株で黄化病の特徴である外葉の黄化・萎凋と主根の維管束の褐変は, C-7 および C-26 菌株いずれを接種した場合も, 両菌株で同様に確認された。すなわち, 発病株の外葉は黄化して外側に萎凋し, 病徴が進展するとハクサイはハボタン状を呈し, 外部病徴では差は見られなかった。一方, 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-26 菌株のほうが C-7 菌株と比較して有意に高かった。維管束の褐変に基づいた発病株率では C-26 菌株が有意に高率でハクサイ黄化病の症状を引き起こした。ここでは品種 '黄楽 60' のデータのみを紹介しているが, 他の品種でも同様の傾向が見られた。これらのことから, ハクサイにおいて *V. longisporum* は *V. dahliae* に比較して激しい維管束の褐変を示すことが示唆され, KARAPAPA et al. の報告 (1997) がハクサイにも当てはまることを確認した。しかし, 今回はそれぞれ 1 菌株を供試したのみであるため, 今後はさらに多くの菌株を用いて, 検証する必要がある。

III ハクサイ黄化病菌の分布

ハクサイの作型は, 高冷地において夏の冷涼な気候を利用して作られる夏作と, 平坦地で秋から冬にかけて作られる秋冬作に分けられる。関東東山地域の夏作および秋冬作のハクサイから 67 菌株を分離した。これらの菌株の形態的特徴および 18S rDNA のグループ 1 イントロン, mt SSU rDNA およびチトクローム *b* (*cob*) 遺伝子の genotyping によってハクサイ黄化病菌の菌種の同定を行い, 地理的な分布を調査した (図-1)。作型が秋冬作の地域では, 茨城県から分離された 32 菌株すべてと群馬県東部で分離された 10 菌株中 9 菌株が *V. longisporum* であった。この地域では分離された *V. dahliae* は 1

表-1 ハクサイ分離菌株および *Verticillium dahliae*, *V. longisporum* の形態的特徴

菌株	分離地	分生子長 ^{a)}	微小菌核の形態 ^{b)}	フィアライド数	ポリフェノール オキシダーゼ活性 ^{c)}	病原菌の種
C-7	群馬県	3.8 ± 0.8	小型・球形	2 ~ 5	+	<i>V. dahliae</i>
Hv202	長野県	4.5 ± 0.7	小型・球形	3 ~ 6	+	<i>V. dahliae</i>
01-K1-1	茨城県	7.8 ± 1.1	長い・不定形	2 ~ 4	-	<i>V. longisporum</i>
C-26	群馬県	6.6 ± 1.1	長い・不定形	2 ~ 3	-	<i>V. longisporum</i>
CCV-01-V1	長野県	6.9 ± 0.9	長い・不定形	2 ~ 3	-	<i>V. longisporum</i>
<i>V. dahliae</i> ^{d)}		4.4 ± 0.2	小型・球形	4 ~ 5	+	—
<i>V. longisporum</i> ^{d)}		7.9 ± 0.1	長い・不定形	3 ~ 4	-	—

^{a)} 平均値 ± 標準偏差 (μm)。

^{b)} PDA 平板培地で 25℃, 40 日培養後のコロニー周辺に形成した微小菌核の形態を観察した。

^{c)} ECKERT, 1962; HOWELL, 1970。

^{d)} KARAPAPA et al., 1997。

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

	発病株数/供試株数 ^{a)}	維管束褐変程度 ^{b)}
<i>V. dahliae</i> C-7	1/18	0.17
<i>V. longisporum</i> 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 ($p < 0.05$).

^{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 ($p < 0.05$).

菌株のみであった。一方、夏作の地域における *V. longisporum* の分離数は長野県では10菌株中7菌株、群馬県北西部では13菌株中3菌株であった。夏作地域から分離された *V. dahliae* は13菌株であった。また作型は不明であるが、東京都と山梨県から分離された各1菌株は *V. longisporum* と同定された。このように、関東東山地域のハクサイ主要産地では、*V. longisporum* が67菌株中53菌株(79%)と優占的であった。興味深いことに、*V. longisporum* は、夏作地域より秋冬作地域で優占的であった。この調査では67菌株のみしか供試していないため、ハクサイ黄化病菌の菌種の分布について結論づけることは難しい。しかし、*V. longisporum* が優占的に分離された茨城県や群馬県東部の秋冬作地域は長野県や群馬県北西部の夏作地域よりも平野部に位置し、温暖な気候である。これまでにそのような報告はないが、*V. longisporum* は *V. dahliae* と比較してより温暖な気候を好むのかもしれない。それに加えて、秋冬作地域と夏作地域では作付けされているハクサイの品種も大きく異なる。また、ハクサイの前後に作付けされる輪作作物の種類も平野部である秋冬作地域と高冷地である夏作地域で異なっていることから、これらの違いも菌種の分布に影響しているかもしれない。今後、詳細な検討が待たれる。

IV 圃場診断から防除へ

ハクサイ黄化病は、発病予測や予察が困難な土壤病害であり、スケジュール的にくん蒸剤による土壤消毒が行われることが多かった。一方でくん蒸剤による土壤消毒は、環境負荷や作業者の健康への影響、生産コスト面から、可能な限り行わないことが望ましい。そのため、過度の依存を回避し、適切なタイミングでの使用を判断することが重要である。近年、圃場の診断を基にした土壤病害管理技術 (health-checkup based soil-borne disease management: HeSoDim) の開発が進められている

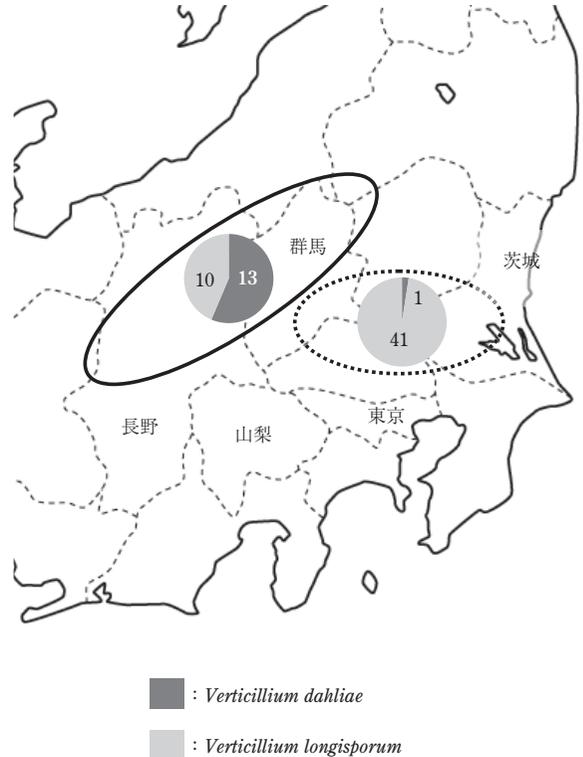


図-1 ハクサイ主要産地から分離した黄化病菌 *Verticillium dahliae* および *V. longisporum* の地理的分布

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。

(TSUSHIMA and YOSHIDA, 2012)。土壤病害では防除対策を実施する作付前に収穫時の発病を予測することが困難なことから、複数の診断項目を設定して土壤診断により大まかに発病可能性(発病ポテンシャル)を評価して、そのレベルに応じて対策を講じようとするのが本システムである。すなわち、「診断」-「発病ポテンシャルの評価」-「レベルに応じた対策」を基本とした総合的病害管理(Integrated Pest Management: IPM)の一部とすることができる。ここでは、ハクサイ黄化病発生圃場において、前作の発病株率や本病の発生を助長するキタネグサレセンチュウの密度、Polymerase chain reaction denaturing gradient gel electrophoresis (以下 PCR-DGGE) によるハクサイ黄化病菌検出に基づく圃場診断から、発病ポテンシャルを評価し、防除メニューを選択するシミ

表-3 圃場診断から発病ポテンシャルに応じた防除メニュー選択のシミュレーション

		圃場診断						防除対策と結果					
		2011年		バンド出現率 ^{a)}		ベルマン法 ^{b)}		発病		2012年			
圃場	発生状況	可販株率	発病株率	病原菌	PP ^{c)}	PP数	ポテンシャル	防除対策	発生状況	可販株率	発病株率		
G1	甚発生	5	100	89	100	248	高	無処理	中発生	54	66		
								土壤消毒 ^{d)}				70	38
G2	多発生	79	26	28	100	5	中	無処理	少発生	100	17		
								エンバク野生種				97	14
x													

a) PCR-DGGE による栽培期間中のバンドの出現率 (黄化病菌および PP バンド出現数/供試数)。

b) 土壌 20 g 当たり, 前作終了後。

c) PP: キタネグサレセンチュウ。

d) クロルピクリン錠剤によるマルチ畦内処理。

シミュレーションを行った。

群馬県長野原町の2箇所のハクサイ黄化病発生圃場において、2011～2012年にかけて本システムの検討を行った結果を示す(表-3)。2011年のG1圃場は発病株率が100%の甚発生、キタネグサレセンチュウの密度が248頭/20g生土、PCR-DGGEによるハクサイ黄化病菌とキタネグサレセンチュウのバンドがともに高頻度で出現していた。これらの情報から、次年度のこの圃場の発病ポテンシャルが非常に高いと評価し、クロルピクリンによる土壤消毒を実施した。その結果、無処理区では、発病株率66%、可販株率54%であったのに対し、クロルピクリンによる土壤消毒区は発病株率が38%、可販株率が70%であった。このことから無処理区と比較して、これらの防除手段の選択が効果的であったことがわかった。また、2011年のG2圃場は発病株率が26%の中発生で、キタネグサレセンチュウの密度は5頭/20g生土、PCR-DGGEによるハクサイ黄化病菌とキタネグサレセンチュウのバンドの出現頻度がそれぞれ中および高頻度で出現していた。これらの情報から、次年度のこの圃場の発病ポテンシャルは中程度と診断した。特に、PCR-DGGEの解析結果から土壌中の菌密度があまり高くないことが想定された。そこで、この圃場はキタネグサレセンチュウを減少させる効果のあるエンバク野生種(*Avena strigosa*: 品種名「ニューオーツ」、カネコ種苗)の間作、すき込みを行った。その結果、無処理区とエンバク野生種区での発病株率はそれぞれ17%と14%であり、可販株率は100%および97%と差はなかった。無処理区でも発病が少なかったため、エンバク野生種処理の効果は確認できなかったが、圃場診断から土壤消毒を回避したうえで、十分な収量を確保することができた。このことは、発病圃場を診断し、発病ポテンシャルに対し

適切な防除メニューを選択することの有効性を示している。このようにHeSoDimにより、スケジュール的に実施してきた土壤消毒の回数を軽減できることが示唆された。今後は圃場診断から防除メニューの選択、その効果の検証に到るまでのデータを蓄積して、さらに精度の高い土壤病害診断・対策支援技術を構築していく必要があるだろう。

おわりに

ここでは、ハクサイ黄化病菌の分類の変遷と分布、病原性に加えて、HeSoDimに基づいた診断から防除対策について紹介してきた。多くの土壤病害と同様に、ハクサイ黄化病の防除対策においても、これだけやっておけば完全に防除できるという特效薬的な技術はない。今後は、新たな技術の開発に加え、これまで作られてきた防除技術や生態的な知見を取り入れた総合的な防除が非常に重要である。

引用文献

- 1) ECKERT, J. W. (1962): *Phytopathology* 52: 642～649.
- 2) 廣田耕作・加藤喜重郎 (1980): 日植病報 46: 395 (講要)。
- 3) 堀内誠三ら (1990): 同上 56: 391 (講要)。
- 4) HORIUCHI, S. et al. (1990): *Biological control of soil-borne plant pathogens*, CABI publishing, Wallingford, p. 285～298.
- 5) HOWELL, C. R. (1970): *Phytopathology* 60: 488～490.
- 6) 飯嶋 勉 (1981): 日植病報 47: 131 (講要)。
- 7) IKEDA, K. et al. (2012): *J. Gen. Plant Pathol.* 78: 331～337.
- 8) KARAPAPA, V. K. et al. (1997): *Mycol. Res.* 101: 1281～1294.
- 9) 剣持伊佐男ら (1999): 関東病虫研報 46: 31～34.
- 10) 小池正徳 (1998): 植物防疫 52: 286～289.
- 11) PEGG, G. F. and B. L. BRADY (2002): *Verticillium wilts*, CABI publishing, Wallingford, 553 pp.
- 12) 白石俊昌 (1998): 植物防疫 52: 341～343.
- 13) 崎山亮三ら (1985): 世界の野菜, 養賢堂, 東京, p. 221.
- 14) TSUSHIMA, S. and S. YOSHIDA (2012): 2012年度 TUA-FFTC 合同シンポジウム, p. 13.
- 15) 渡邊 健ら (2003): 関東病虫研報 50: 25～28.
- 16) 渡辺恒雄ら (1973): 日植病報 39: 344～349.
- 17) 山岸久芳ら (1987): 同上 53: 380 (講要)。