

西南暖地のジャガイモ産地におけるそうか病菌の分布と 低 pH 土壌中での菌の動態

鹿児島県大隅地域振興局曾於畑地かんがい農業推進センター ^{にし} 西 ^や 八 ^{つか} 東

はじめに

1980年代以降、国内のジャガイモ産地ではそうか病の発生が拡大し、大きな問題となっている（木村, 1981; 田代ら, 1999）。これまで、国内では、*Streptomyces scabiei*（田中, 2000; 2003; 田代ら, 2002; TASHIRO et al., 2012）、*S. turgidiscabies*（MIYAJIMA et al., 1998; 田中, 2000; 2003）、*S. acidiscabies*（TÓTH et al., 2001; TASHIRO et al., 2012）が病原菌として報告されている。特に、佐賀県の強酸性化土壌では、*S. acidiscabies* がそうか病の多発に関与していることが明らかにされている（田代ら, 2002; 2003; TASHIRO et al., 2012）。

鹿児島県および長崎県は北海道の端境期にあたる2～7月にかけてジャガイモを生産し、国産ジャガイモの安定供給を担う全国有数の産地であるが、同一圃場での連作が多いためそうか病が大発生し、本病の防除対策として土壌 pH を酸性に維持している（田代ら, 1985; 植松・片山, 1990）。その結果、鹿児島県のジャガイモ産地では、1986年の定点調査の土壌 pH の平均値が 5.3 であったが、2007年には pH4.3 となった。さらに、2007年の鹿児島県長島町での詳細な調査では、土壌 pH が 4.8 以下の割合が 92.0% に達した（森, 2012）。同様に、2007年の長崎県島原半島内の圃場調査では、土壌 pH4.8 以下が 78.4% を占め（長崎県農林技術開発センター, 2009）、土壌の強酸性化が九州の主要産地の多くの圃場で進んでいる実態が明らかとなった。この結果土壌の強酸性化に帰因すると思われるジャガイモの萌芽障害や生育不良、さらに、後作サツマイモの発根不良等の生理障害を引き起こす事例が多く認められるようになり、従来のそうか病防除対策の見直しを図る必要性が生じている。今後とも、そうか病への対策は農業生産上大きな課題であり、効果的な防除対策のために、そうか病菌菌種や動態の解明が不可欠となっている。

そこで、本稿では、両県の主要産地のそうか病菌種とその特徴について述べるとともに、主要なそうか病対策である低 pH 土壌中での *S. scabiei* と *S. turgidiscabies* の動態について調査したので紹介する（西ら, 2015 a; 2015 b）。

I 鹿児島県と長崎県のそうか病菌種の調査

本調査には鹿児島県の 23 圃場（1999, 2004, 2006, 2007, 2010, 2011 年）と長崎県の 16 圃場（2005～07 年）の罹病塊茎から分離したそうか病菌を供試した。分離菌は、病原性、培養的性質、菌種および Pathogenicity island (PAI) 遺伝子内のサクストミン合成遺伝子 (*txtAB*)、necrosis-inducing protein 遺伝子 (*nec1*)、トマチナーゼ遺伝子 (*tomA*)（BUKHALID et al., 1998; 2002）の有無について調査した。なお、16S-23S rRNA Internal transcribed spacer (ITS) 領域によるそうか病菌種の判別、*S. scabiei* の類別および PAI 関連遺伝子の有無については、標的遺伝子に特異的なプライマーを用いて PCR 法により判別した（西, 2015 a）。

1 菌種構成、病原性、PAI および細菌学的性質との関係

分離されたそうか病菌の菌種構成は、鹿児島県では *S. turgidiscabies* が約 5 割で、次いで *S. scabiei* が約 4 割であったのに対し、長崎県では *S. scabiei* が約 8 割と多数を占め、菌種の構成が大きく異なった。また、両県ともに *S. acidiscabies* は 1 割未満の発生であった（表-1）。このことから、現在のところ *S. acidiscabies* の両県での生息地域は限定的であり、今後とも種いも伝染などでの本菌の拡大を防ぐ対策が重要である。鹿児島県と長崎県の菌種の構成比が異なる原因は不明であるが、両県の種いも生産体制などが影響しているかもしれない。

さらに、分離菌株の菌種、病原性およびそうか病の PAI 関連遺伝子との関係について調査した結果、病原性のある菌株は地域や菌種に関係なく、必ず *txtAB* を保有し、米国などでの報告（WANNER, 2006; 2007; ST-ONGE et al., 2008）と一致した。また、病原性のある菌株のほとんどが PAI 関連の 3 種類の遺伝子 (*txtAB*, *nec1* および *tomA*) を保有していたが、長崎県分離菌株および佐賀県分離菌株の *S. acidiscabies* は *txtAB* のみで *nec1* と

Distribution of Streptomyces Species of Potato Scab Disease in South Western Region of Japan and its Population Dynamics in Acidic Soils. By Yatsuka NISHI

(キーワード: そうか病, *S. scabiei*, *S. turgidiscabies*, *S. acidiscabies*, ITS, PAI, 定量)

表-1 PCRによりそうか病菌と判別された鹿児島県分離株および長崎県分離株の病原性および Pathogenicity island (PAI) 遺伝子マーカーによる分類

遺伝子型 (菌種 判別)	病原 性	PAIの判別			分離菌株数								
		<i>txAB</i> ^{a)}	<i>necI</i> ^{b)}	<i>tomA</i> ^{c)}	鹿児島県				長崎県				他県 ^{d)}
					長島町	徳之島	その他	合計	雲仙 市	南島 原市	その他	合計	
<i>S. scabiei</i>	+	+	+	+	18	40	4	62 (41.0) ^{e)}	25	17	7	49 (76.6)	4
	-	-	+	+	0	0	0	0 (0.0)	3	0	1	4 (6.3)	0
	-	-	-	-	0	1	0	1 (0.7)	0	0	0	0 (0.0)	0
<i>S. turgidiscabies</i>	+	+	+	+	36	30	11	77 (51.0)	6	0	1	7 (10.9)	1
	-	-	+	+	0	0	0	0 (0.0)	0	0	1	1 (1.6)	0
	-	-	-	-	0	1	0	1 (0.7)	0	0	0	0 (0.0)	0
<i>S. acidiscabies</i>	+	+	+	+	8	0	0	8 (5.3)	0	0	0	0 (0.0)	0
	+	+	-	-	0	0	0	0 (0.0)	2	1	0	3 (4.7)	1
	-	-	-	-	1	1	0	2 (1.3)	0	0	0	0 (0.0)	0
<i>Streptomyces</i> spp.					63	73	15	151 (100.0)	36	18	10	64 (100.0)	6

a) サクストミン合成オペロン (*txtAB*) の PCR 検定で陽性を+, 陰性を-とした。

b) necrosis-inducing protein (*necI*) 遺伝子の PCR 検定で陽性を+, 陰性を-とした。

c) トマチナーゼ (*tomA*) 遺伝子の PCR 検定で陽性を+, 陰性を-とした。

d) 佐賀県2菌株 (*S.scabiei* 1菌株, *S.acidiscabies* 1菌株), 北海道4菌株 (*S.scabiei* 3菌株, *S.turgidiscabies* 1菌株)。

e) パーセンテージ (%)。

tomA を欠いており, 鹿児島県分離菌株の *S. acidiscabies* とは異なった (表-1)。

また, PCR による菌種判別と同時に菌種別に形態的および生理学的性質について調査したが, いずれの菌種も対照として用いた基準菌株および既報 (田中, 2000; 田代ら, 2002) とほぼ一致した。なお, pH 耐性と最高生育温度は菌種間で安定している性状であった (データ略)。

2 *S. scabiei* の ITS 領域における類別

S. scabiei は種内で幅広い遺伝的多様性を示すことが報告されているが (HEALY et al., 1999), *S. scabiei* の基準菌株である ATCC49173 と S58 菌株 (鹿児島県) の ITS 領域を比較した結果, 塩基配列に違いが認められた (図-1)。そこで, それぞれの菌株の塩基配列に特異的なプライマーセットを作製し, 供試した病原性 *S. scabiei* を各遺伝子型に基づいて類別した。鹿児島県分離 62 菌株のうち ATCC49173 株由来プライマーセットのみで検出される T タイプが 8.1%, S58 株由来のプライマーのみで検出される JK タイプが 87.1%, 両方ともに検出される B タイプが 4.8% であった。長崎県分離 49 菌株の

うち T タイプが 34.7%, JK タイプが 57.1%, B タイプが 8.2% であった。佐賀県と北海道を含めると, 115 菌株のうち T タイプが 20.0%, JK タイプが 72.2%, B タイプが 7.8% であった (表-2)。なお, B タイプの菌株は, 再度, シークエンス解析を行った結果, ATCC49173 株由来と S58 株由来の両方の ITS 領域を持っていることが確認できた。

今回, 病原性 *S. scabiei* については ITS 領域で大きく二つの遺伝子型 (T タイプと JK タイプ) に分けられた。また, 一部の菌株では 2 種類の ITS を保有する B タイプが存在することが明らかとなった。さらに, *S. scabiei* はメラニン産生菌株と非産生菌株が存在しているが (田中, 2003), 今回供試した *S. scabiei* のメラニン非産生菌株はすべて T タイプに属していた (データ略)。

また, 鹿児島県と長崎県では, *S. scabiei* 内での ITS の遺伝子型の構成比だけでなく, 前項のそうか病の菌種の構成比および *S. acidiscabies* の PAI 遺伝子型が異なり, 両県のそうか病菌の来歴の違いがあることを改めて示唆している。

```

ATCC49173      GAGGGAGCTGTGCGAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAC
S58            GAGGGAGCTGTGCGAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAC
*****

ATCC49173      CGGAAGGTGCGGCTGGATCACCTCCTTTCTAAGGAGCA--TCTAGC----TGCCGCAAG
S58            CGGAAGGTGCGGCTGGATCACCTCCTTTCTAAGGAGCACTTCTACCGATCCTTTGCGGGT
*****      **** *      * **

ATCC49173      GCAGCCAG-GGCCACAACGTGGCGAATGTTGCGACGGTGGTT-GCTCATGGGTGGAACGT
S58            GAGGTGAGAGGCCAGATCATCAGCGAACGTCTGATGCTGGTTAGCTCATGGGTGGAACGT
* * ** * ** * * ** * ** * ** * ** * ** * ** * ** * ** * ** * ** * ** * **

ATCC49173      TGATTATTCGGCCGGTTCGTGGGCGGGAGGCTGTGAGTACTACCCCTTGTGGGTGTGGA
S58            TGATTATTCAGCCGGTTCGTGGGCGGGAGGCTGTGAGTACTACCCCTTGTGGGTGTGGA
*****      *****
    
```

図-1 病原性 *Streptomyces scabiei* である S58 菌株（鹿児島県分離株）と ATCC49173 菌株（米国基準菌株）との 16S-23S rRNA Internal transcribed spacer (ITS) の塩基配列の比較
ATCC49173 塩基配列のデータは DDBJ から取得した。

表-2 鹿児島県および長崎県から分離された病原性 *Streptomyces scabiei* 菌株の 16S-23S rRNA Internal transcribed spacer (ITS) 領域に基づく遺伝子型による類別

rDNA タイプ	各プライマーセットによる PCR での検出		分離菌株数			合計
	S.sF01/R01 ^{a)}	S.sF03/R01 ^{b)}	鹿児島県	長崎県	他県 ^{c)}	
T	+	-	5 (8.1) ^{d)}	17 (34.7)	1 (25.0)	23 (20.0)
JK	-	+	54 (87.1)	28 (57.1)	1 (25.0)	83 (72.2)
B	+	+	3 (4.8)	4 (8.2)	2 (50.0)	9 (7.8)
合計			62 (100.0)	49 (100.0)	4 (100.0)	115 (100.0)

a) ATCC49173 菌株特異的プライマーセット (S.s-qPCR-F01/R01) を利用した PCR で陽性を+, 陰性を-とした。
 b) S58 菌株 (鹿児島県) 特異的プライマーセット (S.s-qPCR-F03/R01) を利用した PCR で陽性を+, 陰性を-とした。
 c) 佐賀県 1 菌株および北海道 3 菌株。
 d) パーセンテージ (%)。

II 低 pH 土壌中での *S. scabiei* と *S. turgidiscabies* の動態

国内で主要な菌種である *S. scabiei* と *S. turgidiscabies* について、ITS 領域を標的としたリアルタイム PCR 法 (SYBER Green) による定量技術を開発した (西ら, 2015 b)。SYBER Green 法については特異性の問題は残るものの (澤田ら, 2008), 他の定量 PCR 法と比較し、コストが安く最低限の機能の機器で定量が可能であり、魅力的である。

また、無底ポットを利用したジャガイモ栽培によるそうか病の試験法 (坂本ら, 2011) を用い、現地圃場で多く見られる酸性土壌を再現するため、ポット内の土壌 pH を 4.4, 4.7, 4.9, 5.2 の 4 段階に調整し、*S. turgidiscabies* 単独接種区、*S. scabiei* 単独接種区、および両菌混合

接種区を設けた。その結果、*S. turgidiscabies* は、*S. scabiei* よりもすべての pH 条件下で菌量が高く、pH 4.7 以上の中性域で顕著な菌量の増加が見られたことから、低 pH 土壌でも適応性が高いことが確認された (データ略)。

また、両菌種混合区の *S. scabiei* と *S. turgidiscabies* の菌量の増減をそれぞれの ITS 定量値で比較したものを図-2 に示す。植付け約 1 か月後の土壌 1 g 中当たりの *S. scabiei* の ITS 定量値はすべての pH で $10^4 \sim 10^5$ fg となった。*S. turgidiscabies* の ITS 定量値は pH 4.7 以下では *S. scabiei* と同等であったが、pH 4.9 以上では高くなった (図-2 A)。収穫時では、*S. scabiei* の ITS 定量値はすべての pH でおおよそ $10^4 \sim 10^5$ fg となり、植付け約 1 か月後と比べて大きな増加はなかった。一方、*S. turgidiscabies* の ITS 定量値はすべての pH で増加し、その程度は pH 4.7 以上で大きかった (図-2 B)。なお、土壌では両時期と

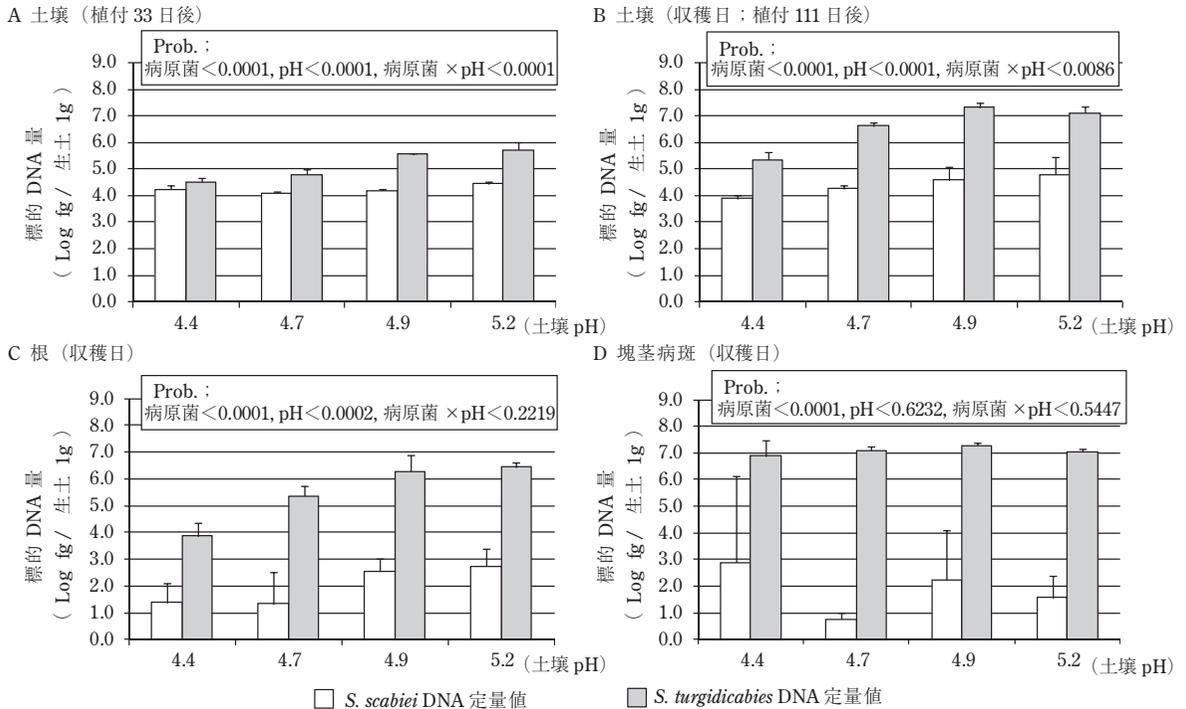


図-2 異なる土壌 pH 条件下での *Streptomyces scabiei* および *S. turgidiscabies* 接種区での両菌の増減 (無底ポット栽培)

接種条件 ; *S. scabiei* S58 菌株 2×10^7 CFU/ポット + *S. turgidiscabies* T45 菌株 2×10^7 CFU/ポット. リアルタイム PCR プライマーセット ; S.s-qPCR-F03/R01 (*S. scabiei*-JK 用), S.t-qPCR-F01/R01 (*S. turgidiscabies* 用). データは 3 試料 (ポット) の平均値. 統計解析は JMP software version 5.1. で行った.

も pH と菌種間に交互作用が認められた。これは、土壌 pH 4.4 ~ 5.2 の範囲において両菌は異なる反応を示すことを意味し、*S. scabiei* は土壌 pH が上昇しても菌量の増加はわずかであるのに対し、*S. turgidiscabies* は土壌 pH の上昇に伴い菌量が有意に増加する傾向を示している。次に、収穫時の根で比較すると、菌種間と pH 間に有意差が認められ、*S. turgidiscabies* の ITS 定量値は *S. scabiei* の ITS 定量値よりも常に高く、pH の上昇に伴い増加した (図-2 C)。最後に、収穫時の塊茎病斑で比較すると、菌種間に有意差が認められ、pH 間では有意差が認められなかった (図-2 D)。

これまで、そうか病菌の菌種間の競合についての報告は少ない。田代ら (2002) は、異なる土壌 pH における *S. scabiei* 接種土壌と *S. acidiscabies* 接種土壌での継続的なジャガイモそうか病の発病調査の結果から、*S. acidiscabies* は時間の経過とともに発病度が減少し、*S. scabiei* よりも土壌微生物の影響を受けやすい菌種であることを示唆している。一方、*S. scabiei* と *S. turgidiscabies* の競合関係について、LEHTONEN et al. (2004) は貯蔵中の塊茎では *S. scabiei* よりも *S. turgidiscabies* が優先すること、

HILTUNEN et al. (2009) は培地上で *S. turgidiscabies* が *S. scabiei* の生育を抑制することなどから、スカンジナビアでは *S. turgidiscabies* が *S. scabiei* に置き換わる可能性を示唆しているが、両菌種の定量的な報告はこれまでなかった。上記の試験結果は、低 pH 条件下の土壌、根および塊茎の病斑中において、*S. turgidiscabies* が *S. scabiei* よりも常に優先していることから、これまでの報告を強く支持している。さらに、国内においても *S. turgidiscabies* に罹病した種いもなどの移動により未発生地帯に侵入した場合、*S. scabiei* よりも *S. turgidiscabies* が優勢し定着する可能性を示唆している。ただし、そうか病の発病と土壌理化学性との関係は土壌ごとに複雑であり (LAZAROVITS et al., 2007), さらに、土壌の理化学性以外にそうか病菌の菌種、肥培管理、作物生育時期や土壌水分等の影響を強く受けるものと考えられる (田中, 2000 ; 田代ら, 2002)。また、今回はハウス内の黒ぼく土壌を供試しており、カルシウム含量などが高く、今後ともさらに異なった土質や土壌条件での事例を重ねる必要がある。

謝辞 本稿の内容は、鹿児島大学学位論文の内容の一部であり、農学部長 岩井 久博士、佐賀大学農学部教

授 大島一里博士, 鹿児島大学教授 津田勝男博士, 准教授 中村正幸博士ならびに佐賀大学准教授 草場基章博士には, ご指導を賜り心より感謝の意を表す。また, 田代暢哉博士, 竹内 徹博士, 田中文夫博士, 鈴木文彦博士, 仲川晃生博士, 菅 康弘博士ならびに小川 哲博士には多大なるご助言をいただき感謝の意を表す。

引用文献

- 1) BUKHALID, R. A. et al. (1998): Mol. Plant-Microbe Interact. 11: 960 ~ 967.
- 2) ——— et al. (2002): Appl. Environ. Microbiol. 68: 738 ~ 744.
- 3) HEALY, F. G. et al. (1999): J. Bacteriol. 181: 1562 ~ 1568.
- 4) HILTUNEN, L. H. et al. (2009): J. Appl. Microbiol. 106: 199 ~ 212.
- 5) 木村貞夫 (1981): 植物防疫 35: 115 ~ 118.
- 6) LAZAROVITS, G. et al. (2007): Phytopathology. 97: 1071 ~ 1082.
- 7) LEHTONEN, M. J. et al. (2004): Plant Pathol. 53: 280 ~ 287.
- 8) MINAJIMA, K. et al. (1998): Int.J.Syst. Bacteriol. 48: 495 ~ 502.
- 9) 森 清文 (2012): グリーンレポート 54: 12 ~ 13.
- 10) 長崎県農林技術開発センター (2009): 2008 年度普及技術情報.
- 11) 西 八東ら (2015 a): 日植病報 81: 22 ~ 31.
- 12) ———ら (2015 b): 同上 81: 32 ~ 42
- 13) 澤田宏之ら (2008): 植物防疫 62: 611 ~ 617.
- 14) ST-ONGE, R. et al. (2008): Syst. App. Microbiol. 31: 474 ~ 484.
- 15) 坂本 悠ら (2011): 九病虫研会報 57: 14 ~ 18.
- 16) 田中文夫 (2000): 北海道立農業試験場報告 96: 1 ~ 62.
- 17) ——— (2003): 土と微生物 57: 69 ~ 77.
- 18) 田代暢哉ら (1985): 九病虫研会報 31: 27 ~ 29.
- 19) ———ら (1999): 日植病報 65: 197 ~ 203.
- 20) ———ら (2002): 佐賀県上場管農センター研究報告 2: 3 ~ 76.
- 21) ———ら (2003): 土と微生物 57: 79 ~ 86.
- 22) TASHIRO, et al. (2012): J Gen Plant Pathol 78: 353 ~ 359.
- 23) TÖTH, et al. (2001): Acta Microbiol. Immuno. Hung. 48: 575 ~ 585.
- 24) 植松 勉・片山克己 (1990): 長崎総農林試研報 18: 61 ~ 115.
- 25) WANNER, L. A. (2006): Phytopathology 96: 1363 ~ 1371.
- 26) ——— (2007): Plant Dis. 91: 352 ~ 359.

新しく登録された農薬 (28.4.1 ~ 4.30)

掲載は, 種類名, 登録番号: 商品名 (製造者又は輸入者) 登録年月日, 有効成分: 含有量, 対象作物: 対象病害虫: 使用時期等。ただし, 除草剤・植物成長調整剤については, 適用作物, 適用雑草等を記載。

〔殺虫剤〕

- フェンプロパトリン乳剤
23798: ベニカ R スプレー (住友化学園芸) 16/4/20
フェンプロパトリン: 0.010%
もも: アブラムシ類, シンクイムシ類, モモハモグリガ: 収穫前日まで
マンゴー: チャノキイロアザミウマ: 収穫 14 日前まで
あずき: ハダニ類: 収穫 7 日前まで
きゅうり, なす: アブラムシ類, オンシツコナジラミ, ハダニ類: 収穫前日まで
すいか, メロン, いちご: アブラムシ類, ハダニ類: 収穫前日まで
かぼちゃ: アブラムシ類: 収穫 3 日前まで
トマト: アブラムシ類, オンシツコナジラミ: 収穫前日まで
ばら: アブラムシ類, ハダニ類, チュウレンジハバチ, ハスモンヨトウ, クロケシツブチョッキリ, コガネムシ類成虫, ヒラズハナアザミウマ
花き類・観葉植物 (ばらを除く): アブラムシ類, ハダニ類

- 23789: デュボン ゴーベック エニケード (デュボン) 16/4/13
オキサチアピプロリン: 10.2%
ばれいしょ: 疫病: 収穫 7 日前まで
トマト: 疫病: 収穫前日まで
きゅうり, はくさい, レタス: べと病: 収穫前日まで
ぶどう: べと病: 収穫 14 日前まで

〔除草剤〕

- イマズスルフロン・ピリミノバックメチル・プロモブチド粒剤
23786: オテゴロ 1 キロ粒剤 (住化アグロソリューションズ) 16/4/6
イマズスルフロン: 0.90%
ピリミノバックメチル: 0.60%
プロモブチド: 9.0%
移植水稲: 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ヘラオモダカ, ウリカワ, ミズガヤツリ, ヒルムシロ, セリ
直播水稲: 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ウリカワ, ミズガヤツリ, ヒルムシロ, セリ

(24 頁に続く)

〔殺菌剤〕

- オキサチアピプロリン水和剤