

Short Report

アスパラガスの土壤伝染性病害に関する研究

県内における立枯病, 株腐病, 疫病の発生

古屋廣光¹, 村田彬城¹, 福田秀樹², 五十嵐裕平¹, 藤井直哉³, 奈良知春¹,
戸沢清徳⁴, 戸田武¹, 藤晋一¹

¹ 秋田県立大学生物資源科学部生物生産科学科

² 秋田県平鹿地域振興局

³ 秋田県農業試験場

⁴ 秋田県病害虫防除所

秋田県におけるアスパラガスの土壤伝染性病害の発生実態を知るため, アスパラガス立枯病と同株腐病の発生診断および疫病の発生分布棟を調査した. 疫病の発生がみられていない秋田県中央部の圃場において, 生育不良となったアスパラガス株の地下茎から常法に従って *Fusarium* spp. を分離した. 分離菌は形態的特徴等によって *F. oxysporum* あるいは *F. proliferatum* と同定された. 孢子懸濁液を用いた浸根接種により両種菌株のアスパラガスに対する病原性を調査したところ, 地上部茎葉の生育不良, 地際部 (クラウン) の腐敗, 根の一部の褐変と腐敗および本数の減少がみられた. *F. oxysporum* 接種土壌では移植してから 40 日後に枯死した株もみられた. 罹病した組織からは接種菌が再分離された. 以上のことから, 供試した菌株はアスパラガスに病原性を有すると考えられ, 本県においてもアスパラガス立枯病と同株腐病が発生しているものと考えられた. さらに, 県内 18 地点で採取した生育不良のアスパラガス株について, *Phytophthora* 属特異的プライマーを用いた PCR 法により疫病菌の検出を試みたところ, 9 地点の試料から増幅産物が検出された. このなかにはこれまで発生が知られていなかった地域で採取された試料も含まれていた. また, H27 年度に観察された同疫病の症状を記載した.

キーワード: アスパラガス, 土壤伝染性病害, *Fusarium oxysporum*, *F. proliferatum*, 疫病症状, 発生分布

平成 25 年度から行った県内で発生するアスパラガス生育不良の原因に関する調査研究において, アスパラガス疫病 (病原菌 *Phytophthora* sp.) が発生していることが明らかとなった (Kodama et. al. 2016). この研究過程で, 疫病菌が検出されない一圃場で採取した株の地下茎から *F. oxysporum* と *F. proliferatum* が分離され, 簡易病原性試験によって, これらの一部がアスパラガスに病原性を有することが明らかとなった (五十嵐ら, 2015). 両者はそれぞれアスパラガス立枯病および株腐病を起こす菌として知られている. さらに, 疫病菌が検出されなかった多くの圃場において分子生物学的な手法 (ARISA 法, 後述) によって両菌と推定される菌が検出された (古屋ら,

2015). 新たに発生が知られた疫病を含め, アスパラガスの土壤伝染性病害の対策技術を考えていく上でこれらの病気を正確に診断することが必要である. そこで本研究では *Fusarium* spp. による病気の科学的診断を行うとともに疫病の発生分布を調査した.

アスパラガス立枯病と同株腐病の科学的診断

本県秋田地域振興局管内 (秋田市郊外) の一圃場において, アスパラガスの生育が著しく不良となった圃場が見られた (平成 26 年 9 月, 図 1). 本圃場から生育不良株を採取し, 病斑部組織から疫病菌属

特異的プライマーを用いた PCR 法により地下茎や根から疫病菌の検出を試みたが同菌は全く検出されなかった。症状および糸状菌の分離状況等から *Fusarium* 属菌による立枯病あるいは株腐病の可能性が考えられたことから、コッホの原則（病原解明の基本原則）に基づいた診断を行うこととした。



図 1 生育不良あるいは枯死株がみられるアスパラガス圃場 (H26 年 9 月 2 日, 秋田市郊外)

この圃場の生育不良株から純粋分離された 48 菌株についてアスパラガスに対する病原性を検討した。分離は主として貯蔵根の褐変した組織から行った。最初に苗を用いた簡易土壌接種試験を行い、比較的激しい症状を起こした 2 菌株 (IW-14 および IW-37) を選び、これを用いて浸根接種による病原性試験を行った。PDA 平板培地で 7 日間 (25℃) 培養して生育した菌叢から得た胞子を用いて、 1.0×10^5 - 10^6 個/ml の密度とした胞子懸濁液 300ml を作製し接種源とした。これに約 8 週間栽培したアスパラガス苗の根を、各菌株でそれぞれ 6 個体ずつ 2 時間浸漬した。その後、市販の乾燥ケイ砂 (東北珪砂株式会社) とサカタスーパーミックス (株式会社サカタのタネ) を混合 (1:2, v/v) した土壌に移植し、90 日間、温室で栽培した。菌を加えない滅菌水に浸漬した株を同様に栽培し、無接種区とした (村田 2016)。その結果、IW-14 株区では 40 日後には 1 株が枯死し、この株の根の生育は著しく不良で一部が腐敗していた (図 2)。さらに 90 日後には対照区に比べて茎数と根数が劣っていた ($p < 0.05$) (村田, 2016)。IW-37 区でも移植 40 日後に、一部の茎葉が黄化し、地際部で腐敗が見られた。90 日後には根数が無接種区と比べて劣っていた ($p < 0.05$)。以上のことから供試菌 IW-14 と

IW-37 はいずれもアスパラガスに病原性を有すると考えられた。

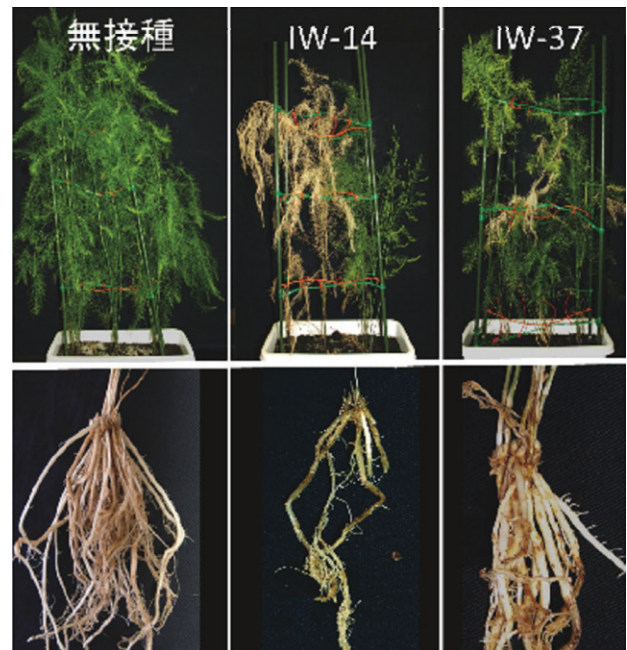


図 2 アスパラガスから分離された *F. oxysporum* (IW-14) と *F. proliferatum* (IW-37) 接種土壌におけるアスパラガス地下部の生育 (移植 40 日後)

供試した IW-14, IW-37 とともに、SNA 平板培地で脚胞を有する大型分子を形成し、前者は擬頭状の小型分子を、また後者は擬頭状と連鎖状の分子を形成した。その他の形態的特徴も含めて両菌はそれぞれ既報の *F. oxysporum* および *F. proliferatum* とほぼ一致した。さらに、両菌の Elongation factor 領域の塩基配列もそれぞれの種の領域とほぼ 100% 一致した (未発表)。

以上のことから、秋田市郊外でみられたアスパラガスの生育不良には *F. oxysporum* と *F. proliferatum* が関与すると考えられた。前者はアスパラガス立枯病、後者は同株腐病の病原体であり、本県においても両病害が発生していることが明らかとなった。

アスパラガス疫病の症状

秋田県で発生する *Phytophthora* sp. によるアスパラガス疫病は、我が国における発生が知られてから間もないことから、症状についての知見が少なく、肉



図3 平成 27 年度に観察されたアスパラガス疫病症状(福田秀樹原図)

A: 1 年生株圃場(9. 24), 枯死茎の多くは疫病による。

B: 2 年生株圃場の罹病株(6. 25), 茎地際部に明瞭な病斑はみられないが, 同様の枯死茎で病原菌が検出されており, 疫病による症状と考えられる。

C, D, E: 1 年生株で見られた地際部の症状(9. 1)。8 月頃から白い斑紋状病斑が見られるようになり, 9 月になる頃から赤褐色に縁取られた明瞭な病斑が見られるようになった。ただしこのような(明快な赤褐変をともなう)病斑は常に見られるわけではない。

F: 地際部から離れた茎上部でもみられた病斑(9. 24, 5 年生株圃場)。

眼診断も困難なことが多い。そこで H27 年度に観察された茎の症状を記録した。わかりやすい症状と

しては, まず白色斑紋状の病斑が生じ, その後その辺縁部が赤褐色となり, 次第に病斑全体が赤褐色と

なるものがあった(図3)。同年度平鹿管内における観察によるとこのような症状は8月末から9月初旬にかけてみられた。なお、H26年度は全体としてH27年度に比べて疫病の発生が少なく、本病の発病には年次間差がかなりあることが伺われた(福田, 秋田植物保護談話会講演資料)。

アスパラガス疫病の県内発生調査

表1 秋田県内アスパラガス圃場における疫病菌検出結果

No.	採取地 (採取月日)	被験組織	被験組織 組織片数	遺伝子診断 ¹⁾	備考
1	仙北A (5.12)	地下茎	12	-, +, ++	陽性9片, 疫病菌分離
		根	2	++	
2	鹿角A (7.13)	茎	10	-	
3	平鹿A (8.3)	地下茎	5	-	
		茎	1	-	
		根	1	++	
4	仙北B (9.11)	地下茎	5	-, +, ++	陽性3片 ²⁾
		根	3	+	
5	由利A (9.11)	茎	3	-	
		地下茎	2	-	
6	由利B (9.11)	根	2	-	
		茎	4	-	
		地下茎	2	-	
7	由利C (9.11)	根	1	-	
		地下茎	3	-	
8	平鹿B (9.11)	根	2	-	
		茎	8	-	
9	由利D	地下茎	3	-	
		根	3	+, ++	
10	由利E (9.16)	地下茎	4	-, +	陽性1片
		根	2	-, ++	
11	由利F (9.16)	茎	1	-	
		地下茎	3	-	
		根	3	-, +	陽性1片
12	平鹿C	茎	4	++	
13	平鹿D (9.30)	茎	4	++	
14	仙北C(9.30)	地下茎	3	-, ++	陽性2片
		根	3	-	
15	由利G (10.6)	地下茎	3	-	
		根	3	-	
16	由利H (10.6)	クラウン	2	-	
		地下茎	2	-	
		根	2	-	
17	由利I (10.16)	クラウン	1	-	
		地下茎	2	-	
		茎	1	-	
		根	2	-	
18	由利J (10.16)	クラウン	2	-	
		地下茎	1	-	
		根	3	-	

1) 疫病菌属特異的プライマー PhytF/PhytoLR により検査した。-:陰性, +: 薄いバンド検出, ++:濃いバンド検出。当該の被験組織で得られた結果をすべて表示した。

2) 検出されたピークの増幅産物をダイレクトシーケンスして分子同定を行った。

平成 26 年度の調査において県内では平鹿地域において本病が発生していることが明らかとなった。平成 27 年度はこのほか鹿角地域, 仙北地域および

由利地域において本菌の調査を行った。5月12日から10月16日までに18地点で, 生育不良のアスパラガス株を採取した。主に地下茎内部の褐変組織を対象とし, 必要に応じて貯蔵根や茎の病斑部を用いて遺伝子検査を行った。DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN 社製) によってDNAを抽出した後, 疫病菌のDNA断片を *Phytophthora* 属特異的プライマー PhytF/PhytoLR (戸田ら, 2014) によって検出した。その結果, 9 地点で採取した株において陽性反応がみられた。増幅産物が見られた試料のなかには仙北地域の1地点および由利地域の3地点で採取されたものが含まれていた。これらの地域で陽性反応が見られたのはこれが初めてであった。仙北地域で陽性反応が見られた圃場からはその後, *Phytophthora* sp. が分離された(データ省略)。

謝辞

本研究を遂行するにあたって, 秋田県病害虫防除所から種々ご協力とご教示をいただいた。また平鹿地域振興局管内の農業協同組合並びにアスパラガス生産者の方々には観察や試料採取にあたってご協力を賜った。記して謝意を表する。

文献

- 五十嵐裕平, 奈良知春, 藤井直哉, 福田秀樹, 戸田武, 藤 晋一, 古屋廣光 (2015)。「秋田県のアスパラガスに発生する数種土壌病害について」『北日本病害虫研究会報』66, 168.
- 五十嵐裕平 (2015)。「秋田県のアスパラガス生産における土壌微生物を中心として連作障害の原因究明」『秋田県立大学生物資源科学部 平成 26 年度卒業論文』50pp.
- Kodama, F., Sonoda, T., Okada, Nara, C., T., Fujii, N., Kawamura, T., Igarashi, Y., Toda, T., Fuji, S., and Furuya, H. (2015). First report of blight disease of asparagus by *Phytophthora* sp. in Clade 6 in Japan. *Plant Disease*, 99, 1857.
- 村田彬城 (2016)。「秋田県のアスパラガスから分離された *Fusarium* 属菌の病原性」『秋田県立大学

生物資源科学部 平成 26 年度卒業論文』 54pp.

福田秀樹 (2016) . 『秋田植物保護談話会講演資料
H28 3.18』 秋田市第一会館.

古屋廣光, 藤井直哉, 福田秀樹, 奈良知春, 戸田 武,
篠田光江, 佐山 玲, 藤 晋一, 齋藤隆明

(2015) . 「秋田県でみられるアスパラガス生
育不良の原因究明」『秋田県立大学ウェブジャー
ナル B』, 2, 176-180.

戸田 武, 奈良知春, 藤 晋一, 古屋廣光 (2014) .

「属特異的プライマーを使用した Ribosomal
Intergenic Spacer Analysis (RISA) 法による
Phytophthora 属菌の検出」『土と微生物』68 : 113.

〔平成 28 年 7 月 20 日受付〕

〔平成 28 年 7 月 31 日受理〕

Causal agents of asparagus decline and replant problems in Akita Prefecture, Japan

Hiromitsu Furuya¹, Yoshiki Murata¹, Hideki Fukuda², Yu-hei Igarashi¹, Naoya Fujii³,
Chiharu Nara¹, Seitoku Tozawa⁴, Takeshi Toda¹, Shin-ich Fuji¹

¹ Department of Biological Production, Faculty of Bioresource Sciences, Akita Prefectural University

² Hiraka Regional Office of Development, Akita Prefecture

³ Agricultural Experiment Station, Akita Prefecture

⁴ Crop Protection & Pest Control Office, Akita Prefecture

Asparagus (*Asparagus officinalis* L.) decline and replant problems have been observed for the last decade in Akita prefecture. However, no detailed information was available until our recent report in 2015 that showed that the *Phytophthora* sp. was a causal agent of the problem. Here we conducted studies on other causal agent(s). *Fusarium* spp. were easily isolated from the crown, rhizome, and roots of asparagus plants collected in 2015 from a commercial field in Akita that showed the typical symptoms and damages pertaining to the asparagus decline. Based on morphological characteristics and DNA sequence analysis of the elongation factor region, these isolates were identified as either *F. oxysporum* or *F. proliferatum*. Seedlings of asparagus (var. *Welcome*) were inoculated with these isolates by soaking in a conidial suspension. After 13 weeks of growth in a greenhouse, the plants showed growth retardation and root rot, which are similar to the symptoms observed in commercial fields. The inoculated isolates were easily re-isolated from the diseased plants. Based on these results, we conclude that the growth inhibition observed in the field was caused by these pathogenic fungi. Thus, *Fusarium* crown and root rot contributed to the asparagus decline and possibly to the replant problems in this region. In addition, we observed *Phytophthora* blight. Using PCR with genus specific primers, *Phytophthora* sp. was detected in the rhizomes of asparagus collected in two regions of the prefecture where the pathogen had not been reported.

Keywords: asparagus soil-borne diseases, *Fusarium oxysporum*, *F. proliferatum*, *Phytophthora* sp.