

キャベツ根こぶ病 診断・対策支援マニュアル

三重県農業研究所

1.背景

土壌病害であるキャベツ根こぶ病は、発病後の防除対策ができないため、定植前に殺菌剤を処理する予防対策が主に行われています。そのため発病の有無にかかわらず「とりあえず」防除を行うことが多くなってしまいます。

そこで、「過剰な防除」を減らすため、定植前に圃場の根こぶ病の発病ポテンシャルを診断し、その発病ポテンシャルから防除対策メニューを選択できる診断・対策支援マニュアルにより、ムダやムリを省き、環境負荷を最小化した低投入の農業・食料生産を目指します。

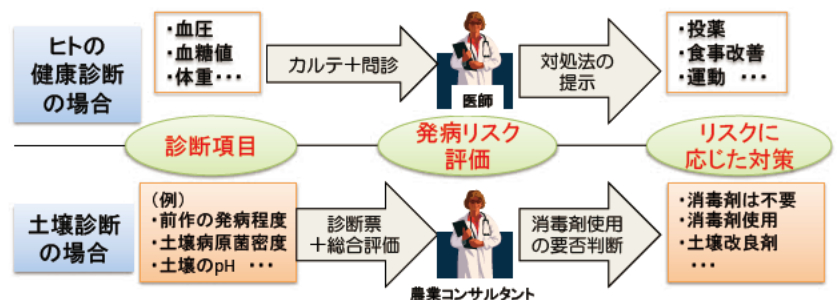
2.防除の考え方

『健康診断を基にした土壌病害管理技術(HeSoDiM: Health-checkup based soil-borne disease management)』

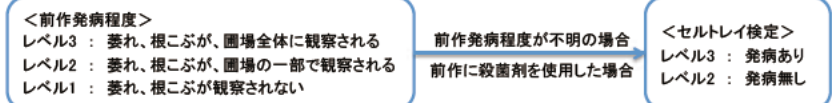
ヘソディムは健康診断を基にした土壌病害管理の略称です。ヒトの健康診断では、医師が、血液検査等の**診断項目の基準値**を基に、投薬、健康管理方法等を指導します。これらの検査では、「いつ」「どの程度」の病気が発生するかは必ずしもわかりません。しかし、異常値を減らす努力を行うことで健康を維持しようとしています。農業におけるヘソディムは、これと同様に、「土壌病害診断票」を作成し、**診断項目の基準値**を基に、圃場の「発病ポテンシャル」を評価し、発病ポテンシャルに応じた防除対策の意思決定を支援することを目的としています。

前作の診断結果と発病結果を踏まえて、診断します。経験値を蓄積することで、年々診断精度の向上が期待できます。

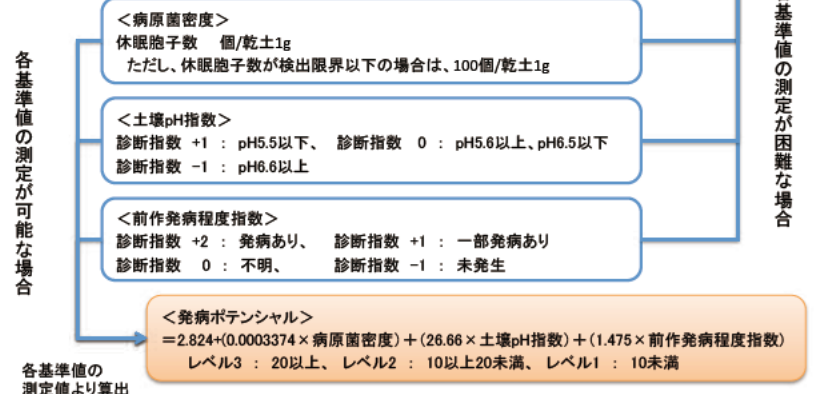
ヒトの簡易健康診断（発病リスク評価）の発想で、消毒の要否を診断



前作発病程度からの発病ポテンシャルの診断



基準値からの発病ポテンシャルの診断



3. 診断・対策支援システム

(1) 診断項目の調査法

1. 発病診断

診断項目	調査方法	留意点等
前作発病程度	アブラナ科野菜を作付けした際、晴天の日中に全株の萎れを観察し、収穫後には、ランダムに30株の根こぶ着生の有無を観察します	萎れが観察された場合、萎れ株の根こぶ着生を確認します



萎れ無し

萎れ有り



根こぶ無し



根こぶ有り

<発病ポテンシャル>

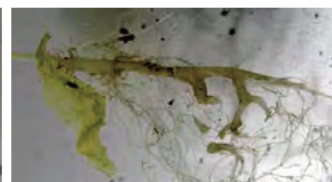
- レベル3 : 萎れ、根こぶが観察される
- レベル2 : 萎れ、根こぶが一部で観察される
- レベル1 : 萎れ、根こぶが観察されない

農地の作付け状況を記録する圃場台帳を作成し、そこに病害虫の発病程度について、メモすることをお奨めします。しかし、初めての借地や作付けの場合、前作発病程度が分からないことがあります。その場合、セルトレイ検定法を行い、おおよその発病程度を検定します。また、前作で殺菌剤を使用して作付けした場合、前作発病程度からその圃場の発病ポテンシャルを評価できません。この場合も、セルトレイ検定法を行い、殺菌剤を使用しない条件での発病ポテンシャルを評価します。

診断項目	調査方法	留意点等
セルトレイ検定 (吉本均,2001)	50穴セルトレイに検定土壌60g×5セルに入れ、ハクサイ「大福75」を1セル当たり5粒播種。不織布をセルの穴から垂らすことで底面給水。4-5週間後に根こぶの着生程度を観察	セルトレイを支持棒で支え水受用バットの上に置き、バットに水を溜めます。底面給水のみで頭上かん水は行わない



根こぶ無し



根こぶ有り

<発病ポテンシャル>

- レベル3 : 発病あり
- レベル2 : 発病無し

<検定用の土壌採取について>

圃場の4隅と真ん中の5地点以上から採取します。表層を1cm程度取り払い、深さ10cm程度の土壌を採取します。5地点の土壌をまとめて(1kg程度)ビニール袋に入れます。後日、2mmの篩で篩いがけし、篩下をビニール袋の中でよく混ぜます。各検定ではこの土壌を用います。

II. 土壌微生物性診断

診断項目	根こぶ病菌休眠孢子回収法、蛍光染色液の調整	染色・検鏡・密度の計算法
病原菌密度 (直接検鏡法) 東北農業研究 センター, 2002	<ol style="list-style-type: none"> 1) 500ml三角フラスコに土壌20g入れ、0.2%ヘキサメタリン酸ナトリウム液を400ml加えます 2) アルミ箔でふたをして振とう機で1分間強振 3) 1N水酸化ナトリウム液を滴下し、pHメーターを用いて、pHを10にします 4) 超音波洗浄機(180W)で5分間処理します 5) pHを再測定し、pH9以上に再調整します 6) 再度、振とう機で1分間強振します 7) 懸濁液40mlをメスシリンダーに入れ、ロート(直径約10cm)にセットした38μmの篩(直径75mm)に通します。さらに、蒸留水60mlでメスシリンダーや篩上を洗い、100ml三角フラスコで受けます 8) 濾液を被検液とし、冷蔵保存(4°C)します 9) Fluorescent brightener 28を0.02g計量し、100ml蒸留水に溶かします 10) ろ紙(Advantec No.6)で濾過し、4ml程度ずつ小分けして冷凍保存します(蛍光染色液) 	<ol style="list-style-type: none"> 1) 被検液0.5mlと、蛍光染色液0.5mlを良く混合します 2) フックス・ローゼンタール血球計算盤に滴下し、カバーガラスを密着させて、プレパラートを作成します 3) 蛍光顕微鏡200倍を用いて、青く発色した休眠孢子数を球形で大きさ約3μmを目安に識別し、計数します。適宜400倍で形を確認します 4) 休眠孢子密度の計算 休眠孢子密度(個/g乾土) = 計測数 × 3.28 × 10⁴ × 水分係数 (計測数 / (1 × 1 × 0.2 × 16 × 10⁻³ ml)) × 420 / 20 × 100 / 40 × 2 × 水分係数)



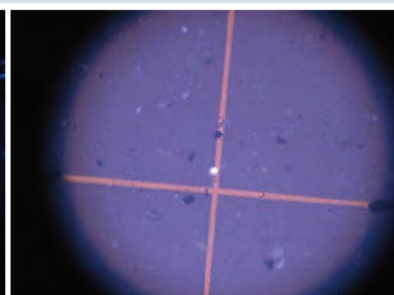
ロートにセットした篩



メスシリンダーと三角フラスコ



蛍光染色液で発光した休眠孢子



被検液中の休眠孢子

<診断項目の基準値>

休眠孢子数 個/乾土1g

ただし、休眠孢子数が検出限界以下の場合、100個/乾土1g

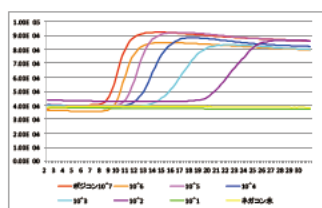
直接検鏡法は、手法が煩雑であり、診断検体を多数処理するには不向きです。また、検出限界が10⁴個/g乾土以上であることから、より感度が高く、簡易に迅速に検出できる方法を検討しています。

<新たな検出法の開発—LAMP法—について>

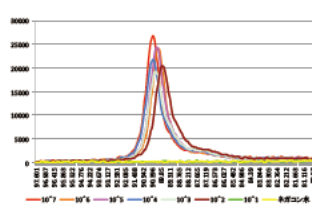
改変塩化ベンジル法(Li et al., 2013)で、抽出・純化したDNAを鋳型とし、Isothermal Master Mix (ポリメラーゼ、dNTPs、蛍光物質など)と、Primers Mixを混合し、等温増幅蛍光測定装置「Genie® II」を用いて、65°C、30分反応を行い、DNAの増幅の有無で、根こぶ病菌の検出を行う方法を検討中です。



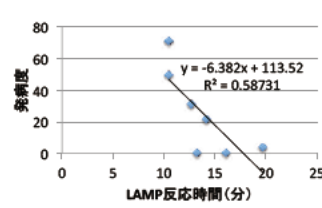
Genie® II



LAMP法の増幅結果



会合曲線解析の結果



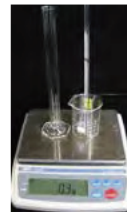
イメージ図

III. 土壤理化学性診断

診断項目	調査方法	留意点等
土壤pH	1) 湿潤土(生土)で測定します 2) <u>50mlビーカー</u> に、土壤試料を10g計量 3) <u>メスシリンダー</u> で蒸留水を25mlばかり、ビーカーに加えます 4) <u>ガラス棒</u> で20分ごとに攪拌しながら、1時間以上静置します 5) <u>pH測定</u> に際し、土壤試料をよく攪拌し、懸濁液にします 6) pH測定するときには、電極がビーカー底面に接触しないように、かつ球状部が液中に十分浸かるようにします	現地での状況を判断するには湿潤土の方が適していますが、同時に風乾土についても測定しておくとい良いでしょう



pHメーターと50mlビーカー



はかり、メスシリンダー、ガラス棒

<診断項目の基準値>

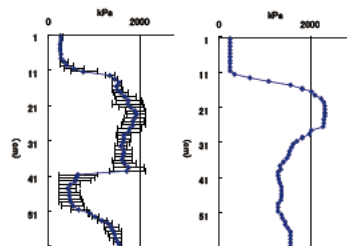
診断指数 +1 : pH5.5以下、
 診断指数 0 : pH5.6以上、pH6.5以下
 診断指数 -1 : pH6.6以上

<参考>

診断項目	調査方法	留意点等
圃場の排水性 (貫入抵抗値)	1) <u>デジタル貫入式土壤硬度計</u> (大起理化工業: DIK-5531)を用いて、圃場の手前、中央、奥の3か所を計測します 2) 硬度計を <u>パソコン</u> に繋ぎ、データを読み込み、貫入抵抗値が2,000kg/cm以上になる深さを読み取ります	根こぶ病の発病は、土壤水分が発病に影響します。畑の排水性は、明きよの次に、垂直方向の排水性が要因です。そこで、 <u>排水性が悪くなる土壤硬度が表層の何cm下にあるかで、圃場排水性を評価</u> します



デジタル貫入式土壤硬度計の圃場での使用風景



深さ別土壤貫入硬度の分布

<診断項目の基準値>

診断指数 = 貫入抵抗値が2,000kg/cm以上になる最初の深さ(cm)

(2) 評価票の作成

各診断項目を調査し、下記評価票に○を付けます。診断圃場における発病ポテンシャルを判断します。ヘソディムは、人の健康診断のように、圃場の発病しやすさ(発病ポテンシャル)を診断して、対策を考えるものです。診断内容と発病結果を蓄積し、精度を高めていきましょう。また、栽培作物・品種や、定植日、農薬の使用履歴なども考慮して診断を行うことが重要であり、これらの記録も重要です。

診断項目 発病に影響する要因	発病ポテンシャル	少発生以下	中発生	多発生
	評価結果A	レベル1	レベル2	レベル3
A-1 前作発病程度		未発生	一部発病あり	発病あり
A-2 セルトレイ検定 ※1 (ハクサイ幼植物)			発病なし	発病あり

B-1 病原菌密度 (個/g乾土)	実測値		回帰係数	指標		
	実測値	指数	回帰係数	-1	0	1
	30,000		0.000337	休眠孢子数 個/乾土1g ただし、休眠孢子数が検出限界以下の場合は、100個/乾土1g		
B-2 土壌 pH (H ₂ O)	6.0	0	26.7	pH6.6以上	pH6.5以下、pH5.6以上	pH5.5以下
				-1	0	1
B-3 前作発病程度指数	一部発病あり	1	1.475	未発生	不明	一部発生あり
				-1	0	1

評価結果B	発病ポテンシャル	少発生以下	中発生	多発生
	14.4 ※2	レベル1	< 10 ≤ レベル2 < 20 ≤	レベル3

※1 指標作物による検出: 前作発病程度がわからない場合に実施

※2 発病ポテンシャル=2.824+(0.0003374×病原菌密度個数)+(26.66×土壌pH指数)+(1.475×前作発病度指数)

※3 評価結果Aと、評価結果Bが異なった場合は、評価結果Aを優先するが、殺菌剤使用により前作が「一部発生あり」「未発生」の場合は注意が必要

(3) 対策技術の選定

発病ポテンシャルに応じた対策技術を選択し、実行します。

項目	処理方法	10a当たりのコスト(円)	対応する発病ポテンシャル		
			レベル1	レベル2	レベル3
I.化学的防除	アミスブルロム水和剤	育苗箱灌注	3,300	○	
	アミスブルロム水和剤 +アミスブルロム粉剤 等	育苗箱灌注 +土壌混和	18,300		○
II.生物的防除	バリオボラックスパラドクス水和剤	育苗箱灌注		○	
	土壌pHの矯正	苦土石灰60kg+ 微量要素3kg	3,060	○	○
	排水処理			○	○
	転炉スラグの施用	5t処理の場合	約170,000		○
III.耕種的防除	抵抗性品種			品種または作期の変更が可能であれば、 発病ポテンシャルの低減が可能	
	作期の変更				
	輪作			病原菌密度低減に有効、実施することで、 発病ポテンシャルの低減が期待できる	
	おとり植物の作付け	葉ダイコン CR-1 6L/10a	10,000		
IV.圃場衛生	長靴の洗浄			○	○
	農機具の洗浄			○	○
	罹病根の持ち出し			局所的な発生であれば可能か	

※ 転炉スラグの施用により適切なpHが維持できれば、化学的防除は省略できます。

4.診断票の様式

調査年月日		調査圃場名	
調査圃場の住所		緯度 経度	
土壌群(GISから判断)		調査圃場の面積	
調査圃場の耕作者		調査圃場の所有者	
水田か畑地か			
調査圃場の栽培履歴			
農薬の使用履歴			
今作の作物名(品種名)		播種日、定植日	
使用予定農薬名と量		施用予定pH矯正 剤名と量	
収穫日		その他	

診断項目 発病に影響する要因		発病ポテンシャル	少発生以下	中発生	多発生
		評価結果A	レベル1	レベル2	レベル3
A-1	前作発病程度		未発生	一部発病あり	発病あり
A-2	セルトレイ検定 ※1 (ハクサイ幼植物)			発病なし	発病あり
		実測値	回帰 係数	指 標	
B-1	病原菌密度 (個/g乾土)		0.000337	休眠孢子数 個/乾土1g ただし、休眠孢子数が検出限界以下の場合は、100個/乾土1g	
		実測値	指数	回帰 係数	
				-1	0
B-2	土壌 pH (H ₂ O)		26.7	pH6.6以上	pH6.5以下、pH5.6以上
		実測値	指数	回帰 係数	
				-1	0
B-3	前作発病程度指数		1.475	未発生	不明
				一部発生あり	発病あり
		発病ポテンシャル	少発生以下	中発生	多発生
評価結果B		※2	レベル1	< 10 ≤ レベル2	< 20 ≤ レベル3

※1 指標作物による検出:前作発病程度がわからない場合に実施

※2 発病ポテンシャル=2.824+(0.0003374×病原菌密度個数)+(26.66×土壌pH指数)+(1.475×前作発病度指数)

※3 評価結果Aと、評価結果Bが異なった場合は、評価結果Aを優先するが、殺菌剤使用により前作が「一部発生あり」「未発生」の場合は注意が必要

5.診断票の記載例

調査年月日	2013/5/15	調査圃場名	MS18
調査圃場の住所	三重県伊勢市伊勢町伊勢	緯度 経度	99.99.99.9 999.99.99.9
土壌群(GISから判断)	表層多腐植質黒ボク土	調査圃場の面積	30a
調査圃場の耕作者	三重 太郎	調査圃場の所有者	三重 花子
水田か畑地か	水田		
調査圃場の栽培履歴	キャベツ → 水稻 → コムギ		
農薬の使用履歴	前作キャベツの時に、フルアジナム粉剤 40kg/10a土壌混和で使用		
今作の作物名(品種名)	キャベツ (松波)	播種日、定植日	7/30播種、8/20定植
使用予定農薬名と量	アミスルブロム水和剤 育苗箱灌注	施用予定pH矯正 剤名と量	苦土石灰 80kg/10a
収穫日	12月	その他	

診断項目 発病に影響する要因		発病ポテンシャル	少発生以下	中発生	多発生
		評価結果A	レベル1	レベル2	レベル3
A-1	前作発病程度		未発生	一部発病あり	発病あり
A-2	セルトレイ検定 ※1 (ハクサイ幼植物)			発病なし	発病あり
		実測値	回帰係数	指標	
B-1	病原菌密度 (個/g乾土)	30,000	0.000337	休眠孢子数 個/乾土1g ただし、休眠孢子数が検出限界以下の場合は、100個/乾土1g	
		実測値	指数	回帰係数	
B-2	土壌 pH (H ₂ O)	6.0	0	26.7	
		実測値	指数	回帰係数	
B-3	前作発病程度指数	一部発病あり	1	1.475	
		発病ポテンシャル	少発生以下	中発生	多発生
評価結果B		14.4	※2	レベル1 < 10 ≤ レベル2 < 20 ≤	レベル3

※1 指標作物による検出:前作発病程度がわからない場合に実施

※2 発病ポテンシャル=2.824+(0.0003374×病原菌密度個数)+(26.66×土壌pH指数)+(1.475×前作発病度指数)

※3 評価結果Aと、評価結果Bが異なった場合は、評価結果Aを優先するが、殺菌剤使用により前作が「一部発生あり」「未発生」の場合は注意が必要

6.留意点

1)前作発病程度

土壤病害診断を行う圃場の状況を知るために、前作のアブラナ科野菜を作付けした際の発病程度は貴重な情報です。植物の萎れ程度を記録しておくことで、この圃場における次作の発病ポテンシャル予測に利用できます。なお、萎れを確認した際は、根部に根こぶが着生していることを観察し、萎れの原因が根こぶ病であることを確認してください。

2)セルトレイ検定(ハクサイ幼植物)

根こぶ病の前作発病程度がわからない場合、圃場の土壤をセルトレイに入れハクサイを播種し、その発病度から発病ポテンシャルを予測できます(吉本均ら2001)。

3)病原菌密度

休眠孢子密度が土壤1gあたり1万個以上なら注意報、10万個以上では警戒警報発令と判断できます(後藤逸男ら2006)。

4)土壤pH

根こぶ病はpH6.5以下で発病が助長されます(村上弘治ら2007)。

休眠孢子密度が高い圃場では土壤のpHを7.0以上とすることが、根こぶ病対策として推奨されています(村上圭一ら2003)。

5)圃場の排水性(貫入抵抗2,000kg/cm以上になる深さ)

根こぶ病は、遊走子が土壤中を泳いで感染するため、土壤水分の高低が発病の多少に影響します。そこで、排水性が悪くなる土壤硬度が表層から何cm下にあるかで、圃場排水性を評価し、発病ポテンシャルの参考とします。

○成果の慣行技術への適合性と経済効果

- (1)キャベツ根こぶ病の発病ポテンシャルが基準値化されることで、どの項目の改善に取り組むべきか明確となり、診断項目ごとに抑止的な管理を行うことで、発病ポテンシャルの低い圃場に改善することが期待できます。
- (2)発病ポテンシャル「レベル2」では、育苗箱灌注剤で防除効果が期待され、この場合、土壤混和剤と比較して、殺菌剤購入費を約8割(3,300円/15,000円)削減でき、また、作業時間を約8割(10分/60分)減らすことができます。

○普及上の留意点

- (1)診断項目の診断指標は基準であり、地域の実情に応じて調整する必要があります。
- (2)個別防除技術メニューの殺菌剤について、同一圃場の2ヶ年の結果から作成しています。圃場によって、根こぶ病菌の系統の違いなどにより、効果が異なる可能性があります。
- (3)採取した土壤が診断したい圃場を代表する土壤でない場合、診断結果と圃場の発病ポテンシャルが異なることがあります。
- (4)発病ポテンシャルの式の寄与率は58%です。