

## 平成29年度 成績概要書

課題コード（研究区分）：6101-626271（公募型研究）

6101-696273（公募型研究）

### 1. 研究課題名と成果の要点

- 1) 研究成果名：ジャガイモ黒あし病の診断マニュアルと種ばれいしょ生産工程における保菌リスク  
(研究課題名：健全種ばれいしょ生産のためのジャガイモ黒あし病の発生要因の解明と高度診断法の開発、健全種苗生産のためのジャガイモ黒あし病の発生要因の解明と種いも汚染リスク低減対策)
- 2) キーワード：ばれいしょ、黒あし病、診断マニュアル、保菌リスク、保菌低減
- 3) 成果の要約：黒あし病の病原細菌は4菌種と同定され、近年の発生は *Pectobacterium wasabiae* ほか2菌種である。塊茎や土壌から黒あし病菌を検出できる高精度な診断法を開発しマニュアル化した。種ばれいしょ生産工程における保菌リスクとその対応の考え方を提示した。種塊茎の通風乾燥処理は保菌低減に有効であった。

### 2. 研究機関名

- 1) 担当機関・部・グループ・担当者名：十勝農試・研究部・生産環境G・主任主査 安岡眞二、北農研、種苗管理センター、十勝農業協同組合連合会
- 2) 共同研究機関（協力機関）：

3. 研究期間：平成27～29年度（2015～2017年度）

### 4. 研究概要

#### 1) 研究の背景

近年、種ばれいしょほ場で黒あし病の発生が目立っている。本病は種塊茎で伝搬するため、ばれいしょ栽培において大きな問題となる。そのため生産現場からは、高精度な診断法の開発、発生生態や発生条件のさらなる解明や低減対策構築の要望があげられてきた。

#### 2) 研究の目的

ジャガイモ黒あし病の病原菌の同定、診断法の開発、種ばれいしょの生産工程における保菌リスクを整理し、種塊茎の保菌低減方法を提示することを目的とした。

### 5. 研究内容

#### 1) 病原菌の同定と近年の発生菌種調査

- ・ねらい：分離保存菌の同定と近年の発生菌種を明らかにする。
- ・試験項目等：分子系統解析および細菌学的性状試験による病原菌の同定、病原性の検討、発生菌種調査

#### 2) ジャガイモ黒あし病の診断法の開発

- ・ねらい：塊茎および土壌からの高感度で高精度な診断法を開発する。
- ・試験項目等：前処理(増菌培養)条件、マルチプレックスPCR法の採用による効率化の検討

#### 3) 塊茎・土壌等からの病原菌の検出と各生産工程における保菌リスク調査

- ・ねらい：塊茎の保菌部位、土壌での越冬、植付から貯蔵までの各工程における保菌リスクを明らかにする。
- ・試験項目等：塊茎の各部位や発病株の株元土壌等からの病原菌の検出、各生産工程の保菌リスクの評価

#### 4) 種塊茎の乾燥処理による保菌低減効果の検討

- ・ねらい：通風乾燥装置処理による種塊茎の保菌低減効果を明らかにする。
- ・試験項目等：処理後の乾燥程度の調査、湿度の推移調査および塊茎表面の保菌検定

### 6. 成果概要

- 1) 我が国で発生が確認されている病原細菌は、新たに *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* (Pcb)を加え、*P. atrosepticum* (Pa)、*P. wasabiae* (Pw)、ならびに *Dickeya dianthicola* (Ddi)の4菌種と同定された。これら4菌種のうちDdiの病原力が最も高かった。道内で2000年以降に発生した病原菌は、Pwが43%、Pcbが45%と両者で大半を占め、Ddiは12%と少なく、Paの発生は認められなかった(図1)。
- 2) 土壌、塊茎、茎等の試料を増菌液(半選択性液体培地LEM)中、25℃で静置培養し、増菌液からDNAを抽出しPCR法に供試することで、感染している4菌種(Pa、Pw、Pcb、Ddi)を高感度(塊茎:10<sup>9</sup>cfu/10塊茎片、土壌:10<sup>2</sup>cfu乾土程度)に検出することができる。これらの手順(図2)をとりまとめ、「ジャガイモ黒あし病診断マニュアル」を作成した。
- 3) 病原菌は発病株塊茎の表面、芽、皮目および内部の各部位から検出され、Ddiに加え新たにPwとPcbが内部保菌すること、また種塊茎に生じた傷部位は保菌に好適であることが明らかになった。
- 4) 発生ほ場の翌年春の土壌からは病原菌は検出されなかった。また、本病菌の腐敗塊茎が土壌中に多く残存した場合、翌年春の残渣や土壌から病原菌が検出され越冬することが確認されたが、それ以降の土壌からは検出されなかった。また、発病株の株元の雑草からは病原菌は検出されなかった。以上本試験において、種塊茎以外の伝染経路を明らかにすることはできなかった。
- 5) 本病菌の腐敗塊茎が混入した場合の過度の催芽処理による芽の脱落・損傷、発病株が残存したほ場でのリーフチョッパー茎葉処理、腐敗塊茎が混入した場合の貯蔵は保菌リスクを高めると考えられた。
- 6) 収穫後の塊茎に対する通風乾燥処理は、速やかな乾燥効果が得られ保菌低減に有効であった(図3)。
- 7) 本試験で得られた成果と既往の知見から、種ばれいしょの生産工程における保菌リスクとその対応についての考え方を取りまとめた(表)。

< 具体的データ >

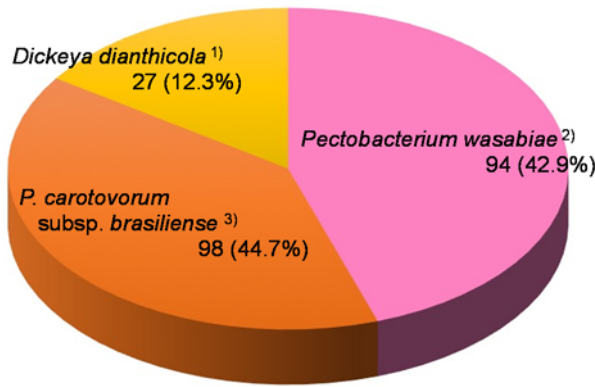


図1 北海道内で2000年以降に確認された発生菌種  
 1) = *Erwinia chrysanthemi*、2) = *E. carotovora* subsp. *carotovora*、3) 新発生菌種  
 注1) *P. atrosepticum* (= *E. c.* subsp. *atroseptica*) の発生は認められない。注2) 数字は菌株数、括弧内は発生菌種割合(%)。

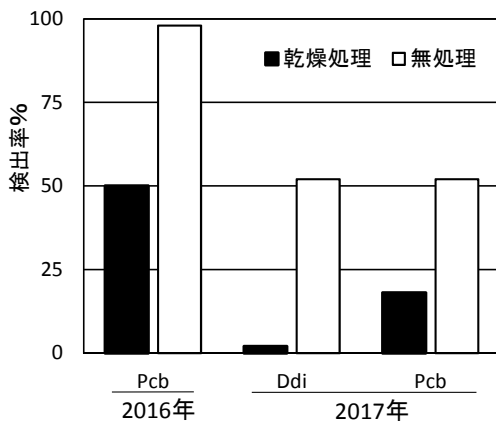


図3 通風乾燥処理による塊茎表面の保菌低減効果  
 注1) 処理時間は48 hr。注2) 病原菌浸漬接種塊茎を供試。

表 種ばれいしょ生産工程におけるジャガイモ黒あし病の保菌リスクと対応の考え方

項目	知見	対応の考え方
種塊茎の消毒	種塊茎の表面保菌を低減 内部保菌・傷塊茎には効果不十分	必ず実施する
切断刀の消毒	接触伝染を低減	必ず実施する
催芽処理	発生ほ場産では過度の催芽による芽の脱落・ 損傷で保菌リスクが高まる	芽の損傷を避けるため過度に催芽 しない
発病株の抜き取り	発病株が残存すると保菌リスクを高める	新塊茎を含めた抜き取り・搬出を行う
茎葉処理	リーフチョッパー処理は保菌リスクを高める	発生ほ場では避けることが望ましい
収穫・選別	傷部位は保菌に好適 腐敗塊茎の混入は保菌リスクを高める	種塊茎は丁寧に扱う 傷・腐敗塊茎は選別・除去する
収穫塊茎の乾燥処理	表面保菌を低減	通風乾燥装置を活用し乾燥を徹底する

注) 下線は本試験で明らかになったことを示す。

7. 成果の活用策

1) 成果の活用面と留意点

- 本成果は、ジャガイモ黒あし病の診断と種ばれいしょ生産現場における低減対策として活用する。
- 診断マニュアルは、関係機関・団体に印刷配布するとともに農研機構北海道農業研究センターのホームページで公開する予定である。
- 塊茎の乾燥処理試験は、TOMTEN社製の急速乾燥装置「空っ風君」で行った。

2) 残された問題とその対応

- 種塊茎以外の伝染経路の解明

8. 研究成果の発表等

- Fujimoto T. et al. (2016) Plant Disease. 101:241、2) 青野桂之ら. (2016) 北日本病虫研報. 67:85-89
- Fujimoto T. et al. (2018) J Gen Plant Pathol.

塊茎	土壌
塊茎+増菌液 <sup>1)</sup> (10倍量(V/W))	土壌10g+増菌液100ml
↓ 静置培養 (25℃、3日間)	↓ 静置培養 (25℃、5日間)
増菌液1ml	増菌液1ml
↓ 遠心分離 (9,000×g、5分間)	↓ 遠心分離 (90×g、5分間)
沈殿	上清800μl
懸濁(滅菌超純水1ml)	↓ 遠心分離 (6,000×g、10分間)
↓ 遠心分離 (9,000×g、5分間)	沈殿
沈殿	懸濁(TE緩衝液800μl)
懸濁(TE緩衝液100μl)	↓ 遠心分離 (6,000×g、10分間)
↓ 加熱後(100℃、10分間)急冷	沈殿
↓ 遠心分離 (9,000×g、5分間)	懸濁(TE緩衝液80μl)
DNA溶液(上清)	↓ 加熱後(100℃、10分間)急冷
↓	↓ 遠心分離 (6,000×g、10分間)
PCR <sup>2)</sup> ・電気泳動	DNA溶液(上清)
	↓
	PCR・電気泳動

図2 塊茎と土壌からの黒あし病菌の検出手順

- 半選択性液体培地 LEM
  - PCRは、トリプレックス(Pw, Pa, Ddi)とシンプレックス(Pcb)の組合せ、またはテトラプレックス(4菌種)で実施する。
- 注) セーフロックタイプのマイクロチューブの使用を推奨。  
 検出限界は、塊茎では10<sup>0</sup> cfu/10塊茎片、土壌では10<sup>2</sup> cfu/g乾土程度である。