

養液栽培における土壌伝染病の生物防除, その戦略と展望

島根大学農学部環境生物学講座 小 駒 だ 田 はじむ 旦

はじめに

養液栽培は、栽培環境の清浄化による土壌病害の回避、高品質化、装置化・システム化による生産性向上によるいわゆる3K農業からの脱却などをねらって、野菜・花き、花木を中心に各地で普及してきた。ところが培養液中は、土壌中のような病原菌に対する他の微生物の抑制力が弱く、その上、いったん病原菌が養液栽培システムに侵入すると培養液の循環により速やかに全体に広がるため、せっかく回避を望んだ土壌病原菌に激しく侵され、深刻な被害を招く例が少なくない。その防除対策として、紫外線照射、オゾン曝気、加熱、pH調節、溶液の濃度調節など、物理的あるいは化学的方法が検討されたが、一般に普及するには至っていない。

養液栽培では、作物根が露出し、培養液が循環しているため、拮抗微生物の人為的な接種には好都合である。その上、効果を維持するために必要とあれば追加接種も可能であり、また拮抗微生物の定着にとって障害になると考えられるほかの微生物相が貧困であることなど、土耕の場合に比べ、拮抗微生物による防除にとってきわめて有利な点が多い。

土壌病害を対象とした生物防除の研究は、世界的にもまた我が国でも、隆盛をほこっているが、なぜか養液栽培における土壌病原菌を対象とした生物防除の研究は顧みられることが少なかった。

筆者らは近年、上記のような養液栽培における生物防除の有利性に着目し、トマト萎ちょう病、根腐萎ちょう病、青枯病を対象に、微生物による生物防除の研究を行い一応の成果を得たので、その概略を紹介するとともに、フランスならびに我が国で行われたほかの研究者の成果をも併せて紹介して、その戦略と今後の展望について述べる。

I 非病原性 *Fusarium oxysporum* と蛍光性 *Pseudomonas* によるトマト根腐萎ちょう病の防除

フランスの LEMANCEAU and ALABOUVETTE (1991) は、非病原性 *Fusarium oxysporum* と蛍光性 *Pseudomonas* を

Strategies and Prospects on Biocontrol of Soilborne Diseases in Soilless Culture. By Hajimu KOMADA

用いて、ロックウール栽培のトマトの根腐萎ちょう病 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* による) の防除に成功したが、これは養液栽培における土壌病原菌に対する生物防除の世界で最初の報告である。

実用規模の試験が春、秋二度行われ、病原菌密度が高くかつ温度条件が好適(低温)であった秋の試験のほうが発病程度は高かったが、春秋いずれの試験においても、非病原性 *F. oxysporum* (Fo 47 株) と蛍光性 *Pseudomonas* (C7 株) とを併せて接種(接種菌密度: Fo47 株は 1×10^7 CFU, C7 株は 1×10^8 CFU) すると、両菌株をそれぞれ別個に接種したときよりも高い防除効果が得られた(図-1)。Fo47 株、C7 株ともにロックウール中で、植物の有無にかかわらず、またそれぞれ単独で接種しても、併せて接種しても、よく生存し続けることが確認された(図-2) (EPARVIER et al., 1991)。

彼らの研究のアイディアのよって立つところは、抑止土壌研究にある。非病原性 *F. oxysporum* は、彼らが長年研究対象として扱ってきた、フランスの Châteaurenard

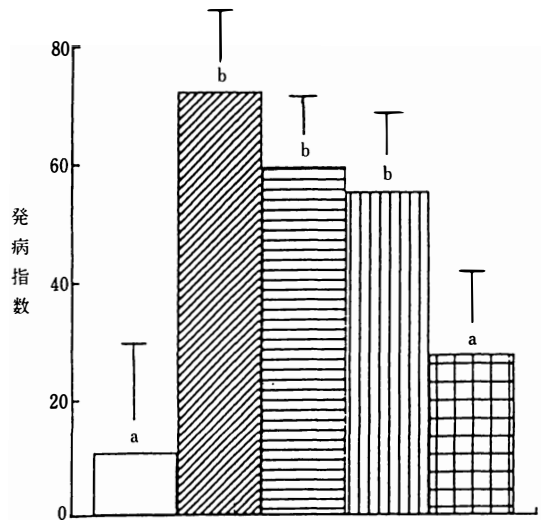


図-1 蛍光性 *Pseudomonas* と非病原性 *F. oxysporum* を接種したロックウール栽培トマト(定植14週後)の根腐萎ちょう病の発病程度の比較 (LEMANCEAU and ALABOUVETTE, 1991).

□: 無処理, ▨: 病原菌のみ接種, ▤: 非病原性 *F. oxysporum* と病原菌接種, ▥: 蛍光性 *Pseudomonas* と病原菌接種, ▧: 非病原性 *F. oxysporum*, 蛍光性 *Pseudomonas* と病原菌接種。

地方の土壌のフザリウム抑止性にかかわる微生物である。また蛍光性 *Pseudomonas* は, KLOPPER et al.(1980) や SHER and BAKER (1982) によって, アメリカ・カリフォルニアの Salinas Valley の土壌のフザリウム抑止性にかかわる微生物とされた。さらにこの両者の併用処理が単独処理よりもフザリウム病 (キュウリ) 防除効果が高いことが PARK et al.(1988) によって報告されている。

防除機作については, 様々な仮説 (いずれも土壌を対象) が提案されているが, 主として栄養に対する競合であろうとされている。種々の要因が関与していると推察されるが, 抵抗性の誘導を重視していないのはむしろ奇異に感じられる。

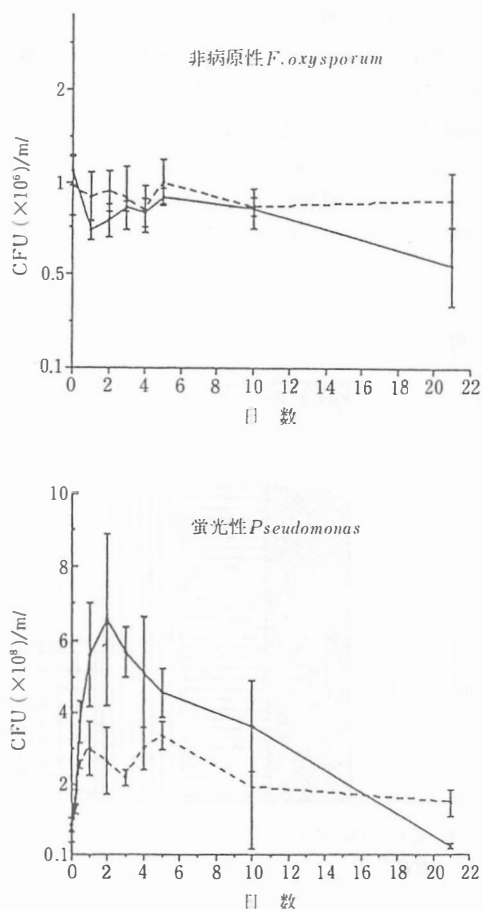


図-2 ロックウール (無作付) に接種した非病原性 *F. oxysporum* と蛍光性 *Pseudomonas* の密度変動 (EPARVIERら, 1991). 実線は単独接種, 破線は混合接種

II 非病原性 *F. oxysporum* によるサラダナ根腐病の防除

牧野・熊倉 (1993) はサラダナの水耕栽培で問題になっている, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* による根腐病に対して, 土耕サラダナから分離した非病原性 *F. oxysporum* (SK-102 株) の培養液への接種によって高い防除効果と生育促進効果とを認めた。本菌は 10^5 個/ml 以上水耕液に加えることにより, また病原菌接種の 4~1 日前の添加で高い防除効果が認められ (川島ら, 1994), 5 日間隔で数回処理することにより防除効果が向上した (牧野ら, 1994)。SK-102 株の接種により, 水耕栽培のサラダナ, 葉ネギ, ミツバ, トマトで根量が増加し褐色根が減少して, 生育促進効果が認められた。防除機作については検討中であるが, 誘導抵抗の可能性が示唆される結果を得ている。

III 非病原性 *F. oxysporum* によるトマト萎ちょう病の防除

筆者ら (1993a, 1994a) は水耕栽培のトマト萎ちょう病に対して, 土壌から分離した非病原性 *Fusarium oxysporum* の前接種により, 高い防除効果を認めた。最も高い防除効果を示した菌株 (F13) を用いて検討した結果, 病原菌の培養液中の密度 (10^4 CFU/ml) に対して, F13 菌株の密度が 1:1 のとき最も効果が高く, 以下 0.1:1, 0.01:1 と効果は低下した (図-3)。防除効果は F13 菌株の前接種後 2 日, 7 日, 14 日まで持続した (図-4)。

次に防除機作を検討した。培地上での対峙培養では, 病原菌と F13 菌株との間の干渉は認められなかった。

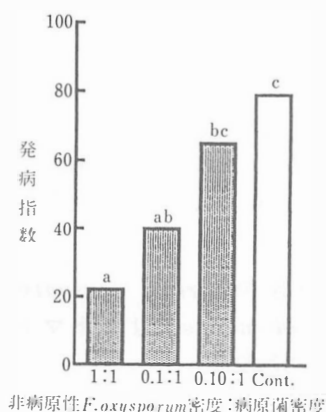


図-3 水耕栽培のトマト萎ちょう病に対する非病原性 *F. oxysporum* の接種菌密度の影響 (駒田ら, 1993). 病原菌の接種菌密度は 10^4 CFU/ml.

F13 菌株の硝酸塩利用能欠損変異株を用いて、根での病原菌と F13 菌株の菌数変動を調査したが、病原菌数の変動は非病原菌の有無に関係なかった。トマトの根系を 2 分割し、病原菌と F13 菌株とを個別にそれぞれの根系に接種しても、根系全体に病原菌と F13 菌株を接種した場合と同等の防除効果が得られた (図-5)。また根系に F13 菌株を接種し、病原菌を子葉節直下の茎に針接種すると、茎長、地上部生重量で F13 菌株接種区が無接種区を上回り、発病程度は逆に無接種区が接種区を上回った (表-1)。これらの結果から、防除機作は根面での栄養

表-1 トマト萎ちょう病菌を子葉節に針接種したときの非病原性 *F. oxysporum* の防除効果

非病原性 <i>F. oxysporum</i>	発病指数	発病率(%)	地上部生重量	草丈
非接種	38.2	82.4	14.41g	48.8 cm
接種	20.8	43.3	21.33g	51.9 cm

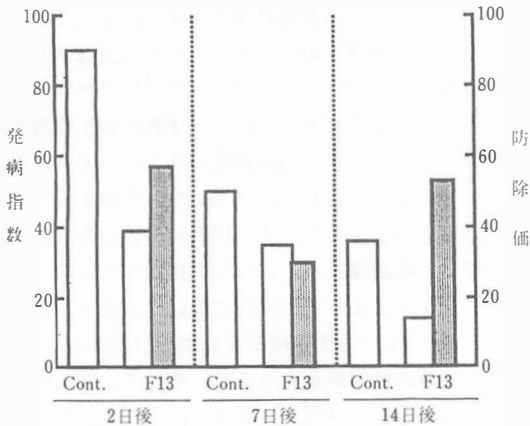
分、生息場所などに対する競合ではなく、主として非病原性 *F. oxysporum* によりトマト植物体に抵抗性が誘導されることによると考えられる。

IV トマト根面細菌によるトマト青枯病の防除

筆者ら (1993b, 1994b) は水耕栽培のトマト青枯病に対して、水耕栽培したトマト根面から分離した細菌の前接種により、高い防除効果を認めた。最も高い防除効果を示した菌株 (R-2, *Arthrobacter* sp.) を用いて検討した結果、病原細菌の培養液中の密度 (10^7 CFU/ml) に対して、R-2 菌株の濃度は同等の 10^7 CFU/ml ないし $1/10$ の 10^6 CFU/ml で高い効果を示した (図-6)。防除効果は R-2 菌株の前接種 7 日後に病原細菌を接種したとき極めて高い防除効果が得られたが 14 日後ではその効果は減退した (図-7)。

R-2 菌株の病原細菌に対する培地上での生育阻止 (抗生) は認められなかった。R-2 菌株と病原細菌のトマト根面での菌数変動を調査したところ、病原細菌の菌数変動は R-2 菌株の有無に関係なく、競合は否定的である。

根系に R-2 菌株を接種し、病原細菌を子葉節直下の茎



非病原性 *F. oxysporum* (F13) 接種後、病原菌接種までの日数

図-4 非病原性 *F. oxysporum* の水耕栽培トマトの萎ちょう病防除効果持続期間 (駒田ら, 1993)。

■: 非病原性 *F. oxysporum* の防除値, □: 発病指数

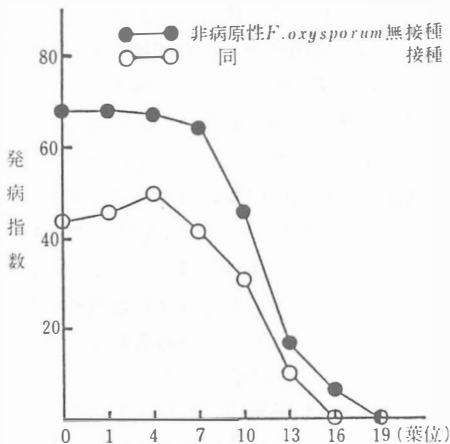


図-5 水耕栽培のトマトの根系を 2 分割し、トマト萎ちょう病菌と非病原性 *F. oxysporum* とを独立してそれぞれの根系に接種したときの葉位別発病程度 (駒田ら, 1994)。

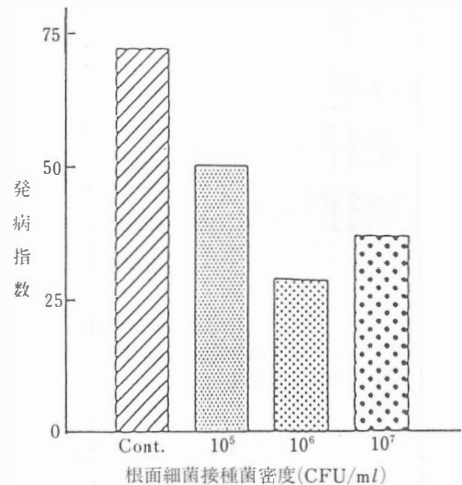


図-6 水耕栽培におけるトマト青枯病に対する、トマト根面細菌の接種菌密度の影響。
病原細菌の接種菌密度は 10^7 CFU/ml。

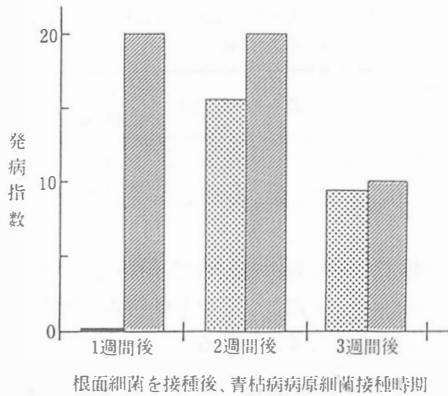


図-7 水耕栽培トマト青枯病に対する、トマト根面細菌接種による防除効果持続期間
 ■：根面細菌無接種，▨：接種。

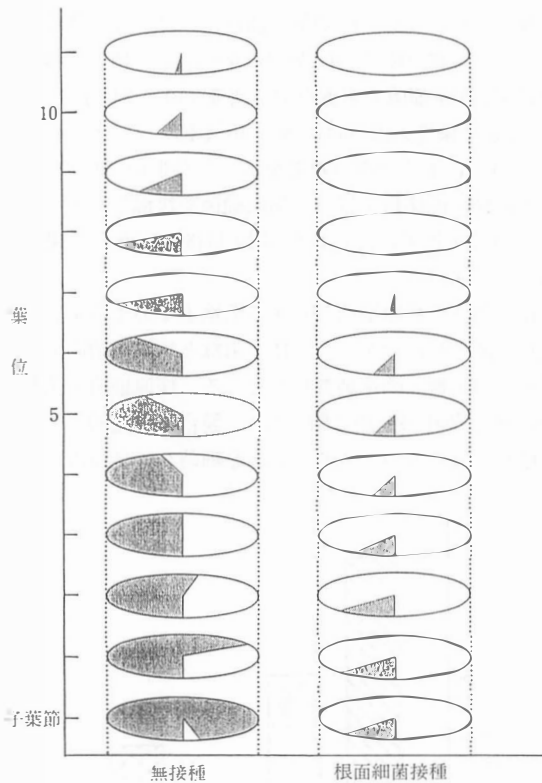


図-8 水耕栽培トマトの茎に青枯病原細菌を針接種した場合の、トマト根面細菌接種の影響
 ▨は葉位ごとの維管束褐変程度を表す。

に針接種したところ、R-2 菌株無接種区では接種部位にえ死がみられた。また導管褐変程度 (図-8)、菌泥噴出、罹病指数などすべてにおいて R-2 菌株接種区では有意に低く、地上部生体重は勝っていた。これらの結果か

ら、防除機作は主として根面細菌 (R-2 菌株) により、トマト植物体に抵抗性が誘導されたことによると考えられる (駒田ら, 1994)。

V 戦略と展望

土壌病害の防除を困難にしている最大の理由は、土壌の存在である。土壌病害防除の目的で土壌に施用された化学物質はことごとく土壌中の粘土粒子や有機物に吸着され、そこに生息する微生物によって分解されて、土壌中にくまなく分布する土壌病原菌との接触を果たせない。拮抗微生物による生物防除にあっても、土壌粒子による吸着、土壌微生物との争いによる定着不良、そのうえ貧栄養条件下での抗生物質産生の不良、産生された抗生物質の吸着と分解等の理由から、その前途は決して楽観視できない。

ひるがえって養液栽培における土壌病害の生物防除について考えてみよう。一口に養液栽培といっても、培養液のみで栽培する水耕から、ロックウールのような支持体を用いるものまであり、また培養液の供給方式についても循環式と非循環式があるなど実に様々なシステムがある。システムにより若干状況に違いはあるが、共通していえることは、①作物根が比較的露出状態にあること、②培養液の供給系があること、そして、③土壌に比し微生物相の発達が貧弱であること、である。根が露出状態にあつて培養液の供給系をもつということは、拮抗微生物の接種が容易なことを意味し、必要あれば毎日でも追加接種が可能なことを意味する。土壌微生物相の発達が貧弱ということは、接種した拮抗微生物の定着が比較的容易なことを意味する。このように養液栽培の場合、土壌病害の生物防除に際して常にその解決を求められる接種と定着の問題について有利性をもっているわけで、その前途は有望ということができよう。

次に有効な菌株の選抜の問題について考えてみよう。筆者らは上に紹介した研究に着手するに当たり、まず一般に土壌病害の生物防除の際に行われているように、*in vitro* スクリーニングすなわち平板培地上で拮抗を示す菌株の選抜を行い若干の菌株を得た。しかしやがてこの砂の中から砂金を探すにも似た作業に疑問を感じるようになった。すなわち、「きわめて栄養豊富な培地上で拮抗 (ほとんどの場合抗生物質産生による) を示した微生物が、極めて貧栄養な培養液中でも拮抗を示す保証がどこにあるのか、もしかりに抗生物質が産生されても、きわめて速やかに培養液中に拡散してしまうのではないか」、「かりに *in vitro* で拮抗能を示した微生物の一部に *in vivo* (*in situ*, 培養液, 植物, 病原菌, 被検菌のすべ

てが存在する検定系)で有効な微生物が得られたとしても、それはその微生物がたまたま豊栄養条件下でも、また貧栄養条件下でも抗生物質を産生する能力を併せ持ち合わせていたか、それとも抗生物質産生以外の何らかの(例えば抵抗性誘導)能力をも併せ持っていたに過ぎないのではないか」という疑問である。

そこで、萎ちょう病菌に対しては土壌中から分離した非病原性 *F. oxysporum*、青枯病菌に対しては水耕栽培トマトの根面と培養液から分離した細菌のすべてについて、小規模な *in vivo* スクリーニング系、すなわちいわゆるブッカケ試験系で生物防除能の検定を行い、有効な菌株の選抜を行った。この系による選抜は、一般にばう大な時間と労力を要するとされる。ところが、意外にも比較的少数の菌株を扱う中から、高い歩留まりで高度の防除効果を示す菌株が得られ、上に紹介したような成果が得られた。なお、念のために *in vitro* 検定で選抜された菌株を *in vivo* 検定系で効果を検討したがすべて無効であった。また逆に *in vivo* 検定で高い生物防除効果を認めた菌株の *in vitro* 検定系での拮抗能の有無を検討したが、すべて陰性であった。なお、青枯病菌を対象とした場合、高い生物防除効果を認めた菌株はすべて水耕栽培トマトの根面から分離した細菌であり、培養液から分離した細菌の中には有効なものではなかった。

上に紹介した4例のうち3例は、主として接種した微生物による抵抗性誘導によるものであった。LEMANCEAU and ALABOUVETTEの場合、この研究は彼らが今まで歩んで来た抑止土壌研究にかかわって構築した理論の実証のためのいわばモデル実験としての性格のものであり、その機作を抵抗性誘導によって説明したくないのは心情的には理解できるが、少なくとも非病原性 *F. oxysporum* については抵抗性誘導によって説明するのが無理のないところと考えられる。抵抗性誘導による生物防除は、効果の持続期間がたかだか1週間程度と短いため、追加接種の不可能な土耕の場合は実用性に難があった。しかし養液栽培では、上述のように追加接種が容易であり、この

問題は解消されるので、土耕の場合に一般に有望視される抗生物質産生微生物よりもむしろ有望と考えられる。今後は、様々な土壌病原菌を対象として、*in vivo* スクリーニング系によった抵抗性誘導微生物に焦点を当てた選抜により、有効な生物防除技術が開発されることに期待したい。

おわりに

野菜・花き生産の最大の阻害要因である土壌病害の回避を最大の動機として始めることの多い養液栽培も、やはり土壌病害に悩まされるのは皮肉である。ところが、養液栽培における土壌病害の生物防除は、上述のように土耕に比し種々有利な点があるにもかかわらずなぜか研究例は乏しい。それは多分、土壌を対象とした生物防除研究の困難さに恐れをなしたものであろう。Ecology of Soil-borne Plant Pathogens, Prelude to Biological Control (1963年の第1回国際土壌病害シンポジウムのテーマ)を念頭に、40年間土壌病害の生態・生物防除の研究を続けてきた筆者にとって、本稿で紹介した二つの成功例は、土からの逃避ではないのかと内心じくじたるものを感じつつ筆をおく。

引用文献

- 1) EPARVIER, A. et al. (1991): Microbial Ecology 86: 177~184.
- 2) KLOEPFER, J. W. et al. (1980): Curr. Microbiol. 4: 317~320.
- 3) 川島隆弘ら (1994): 日植病報 (講要) 60: 334.
- 4) 駒田 旦ら (1993a): 島根病虫研報 18: 27~30.
- 5) ———ら (1993b): 日植病報 (講要) 59: 315.
- 6) ———ら (1994a): 島根病虫研報 19: (印刷中).
- 7) ———ら (1994b): 日植病報 (講要) 60: 372.
- 8) LEMANCEAU, P. and C. ALABOUVETTE (1991): Crop Protection 10: 279~286.
- 9) 牧野孝宏・熊倉和夫 (1993): 日植病報 (講要) 59: 43.
- 10) ———ら (1994): 同上 (講要) 60: 334.
- 11) PARK, C-S. et al. (1988): Phytopathology 78: 190~194.
- 12) SHER, F. M. and R. BAKER (1982): ibid. 72: 1567~1573.

主な次号予告

次11月号は「害虫の微生物的防除」の特集号です。予定されている原稿は、下記のとおりです。

- | | |
|-----------------|-------|
| 1. 微生物的防除の現状と展望 | 岡田 齊夫 |
| 2. イネ害虫の微生物的防除 | 松井 武彦 |
| 3. 畑作害虫の微生物的防除 | 田中 章 |
| 4. 施設害虫の微生物的防除 | 西東 力 |

- | | |
|----------------|-----------|
| 5. 果樹害虫の微生物的防除 | 柏尾 具俊 |
| 6. チャ害虫の微生物的防除 | 西 八東・野中寿之 |
| 7. クワ害虫の微生物的防除 | 山下 早苗 |
| 8. 芝草害虫の微生物的防除 | 藤家 梓 |
| 9. 森林害虫の微生物的防除 | 島津 光明 |
- (リレー随筆) 植物検疫の現場から
定期購読者以外のお申込みは至急前金にて本会へ
定価 1部 800 円 送料 76 円