

# 植物生育促進菌類 *Fusarium equiseti* を用いたトマト およびホウレンソウのフザリウム病の生物防除

岐阜県農業技術センター 堀之内 勇 人

## はじめに

岐阜県においては、岐阜平土地域で冬春トマトと冬作ホウレンソウ、飛騨高冷地域では標高 400 ~ 1,200 m の夏期の冷涼な気候を活かした夏秋トマトおよび夏作ホウレンソウの生産が盛んである。しかし、これらの産地ではトマト根腐萎凋病（病原菌：*Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*）、ホウレンソウ萎凋病（病原菌：*F. oxysporum* f. sp. *spinaciae*）の発生が問題となっている。土壌病害に対して化学農薬による土壌消毒が有効な手段であるが、環境保全型農業が推進される中で新しい防除技術の開発が急務となっている。また、近年、連作障害や土壌病害の回避等を目的にトマトでは養液栽培が普及しつつあるが、1997 年に県内の養液栽培温室で根腐萎凋病が大発生した（加藤ら、1998）。当時、養液栽培では本病の対策として使用できる農薬がなかったため、大きな問題となった。これらの状況から拮抗微生物による生物防除技術の研究を行うこととした。

研究を始めるにあたって、最初に有望な拮抗微生物の探索が必要となった。岐阜大学植物病理学研究室では各種土壌病害に対する生物防除研究が活発に行われ、植物生育促進菌類がコムギ、キュウリ等植物の生育を促進するとともに各種土壌病害に対して発病抑制効果を示すことが報告されていた（HYAKUMACHI, 1994）。そこで植物生育促進菌類を用いてトマト根腐萎凋病に対して高い発病抑制効果を示す拮抗微生物を養液栽培において探索するとともに、選抜された *Fusarium equiseti* を用いて土耕栽培におけるトマト根腐萎凋病およびホウレンソウ萎凋病に対する生物防除研究を行ったのでその内容を紹介したい。

## I トマト根腐萎凋病に対する拮抗微生物 *Fusarium equiseti* の選抜および養液栽培での発病抑制効果

最初に 5 種類の植物生育促進菌類 (*Trichoderma*

Biocontrol of *Fusarium* diseases of Tomato and Spinach by Plant Growth Promoting Fungus, *Fusarium equiseti*. By Hayato HORINOUCHI

(キーワード：トマト、ホウレンソウ、フザリウム病、*Fusarium equiseti*, 生物防除)

*harzianum*, *Phoma* sp., *Penicillium simplicissimum*, *Fusarium equiseti*), 1 種類の非病原性 *Fusarium* 菌, 5 種類の有用細菌を用い、養液栽培におけるトマト根腐萎凋病に対する発病抑制効果を調べ、有用な拮抗微生物の選抜を行った。試験は播種時および移植時に *T. harzianum*, *P. simplicissimum*, *F. equiseti* および非病原性 *Fusarium* は孢子懸濁液（濃度  $10^7$  個/ml）を、*Phoma* sp. は菌糸磨砕液を、有用細菌は細菌懸濁液（濃度  $10^8$  cells/ml）をそれぞれ 20 ml, 200 ml（処理量はロックウールの保水量を考慮して決定）灌注処理した。その後、ロックウールスラブ定植 7 日後に根腐萎凋病菌の孢子懸濁液（濃度  $10^7$  個/ml）を大ロックウールに灌注接種し、発病抑制効果を調査した（図-1）。その結果、植物生育促進菌類の *F. equiseti* は短期間の試験（病原菌接種 71 日後に調査）において防除価 100 と最も高い発病抑制効果を示した（表-1）。

*F. equiseti* は Section *Gibbosum* に属するフザリウム菌で、大型分生子のみを形成する。大型分生子はフィアライド型の分生子形成細胞から形成され、3 ~ 5 隔膜、先端の細胞が細長い特徴を有する（口絵①）。*F. equiseti* はコムギ赤かび病、ウリ科果実に腐敗を引き起こす病原菌として知られているが、どちらかといえば日和見感染をする病原菌である。また、トマト、ホウレンソウ、キュウリ等主要な農作物に病原性を示さなかったことから、*F. equiseti* をトマト根腐萎凋病に対して高い発病抑制効果を示す拮抗微生物として選抜した。そこで、実際の施設での利用を考慮し長期間にわたり養液栽培の試験を行った結果（病原菌接種 97 ~ 140 日後に調査）、*F. equiseti* の発病抑制効果は安定して高く、防除価 63 ~ 85 であった（口絵②）（HORINOUCHI et al., 2007）。

## II 土耕栽培におけるトマト根腐萎凋病に対する *F. equiseti* の発病抑制効果

トマトは一般的に土耕で栽培されることが多いため、*F. equiseti* (GF191 菌株) による土耕栽培での根腐萎凋病の発病抑制効果を調査した。農家ではビニールポットを用いて育苗した苗を圃場に定植する方式で栽培されている。現在、廃棄物の削減を目的にビニール資材の代替えとして生分解性資材を用いる動きが見られ、農業分野

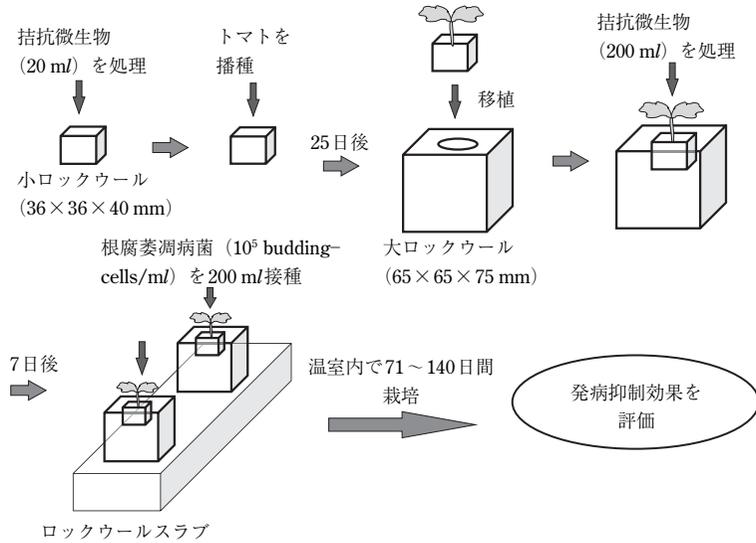


図-1 トマト根腐萎凋病に対する拮抗微生物の選抜方法 (養液栽培)

表-1 各種拮抗微生物によるトマト根腐萎凋病の発病抑制効果 (養液栽培)

処理区	菌株名	発病度 <sup>1)</sup>	防除価 <sup>2)</sup>
<i>Trichoderma harzianum</i>	GT31	14.8	75.0
<i>Phoma</i> sp.	GS81	3.7	93.8
<i>Phoma</i> sp.	GS122	3.7	93.8
<i>Penicillium simplicissimum</i>	GP172	40.7	31.4
<i>Fusarium equiseti</i>	GF191	0.0	100
非病原性 <i>Fusarium oxysporum</i>	F13	7.4	87.5
<i>Bacillus subtilis</i>	B-1	29.6	50.1
<i>Bacillus subtilis</i>	B-2	7.4	87.5
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	B-3	7.4	87.5
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	F-2	37.0	37.6
<i>Xanthomonas campestris</i>	K-3	29.6	50.1
病原菌のみ接種		59.3	
無処理		0.0	

<sup>1)</sup> 発病度 =  $\Sigma(\text{発病指数} \times \text{同株数}) / (\text{調査株数} \times 4) \times 100$   
 指数 0: 健全, 1: 下葉が黄化, 2: 株が軽く萎凋, 3: 株が激しく萎凋, 4: 枯死.

<sup>2)</sup> 防除価 =  $(1 - (\text{処理区の発病度} / \text{病原菌のみ接種区の発病度})) \times 100$ .

病原菌接種 71 日後に調査.

でも生分解性マルチ, 生分解性ポットが販売されている。生分解性ポットはトウモロコシなどの穀物を原料としており, 土壤中の微生物の働きで水と二酸化炭素に分解される。ペーパーポットを用いた移植栽培技術はハウレンソウ萎凋病, ジャガイモそうか病等の土壌病害を抑制することが報告されており (勝部・赤坂, 1997; 内藤ら, 1998), 本研究でもペーパーポットと同様の病害抑

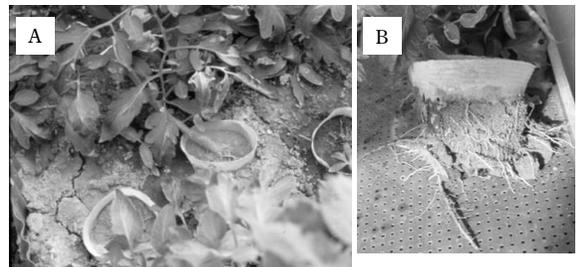


図-2 土耕栽培におけるトマト根腐萎凋病の防除試験に用いた生分解性ポット  
 (A) 病原菌汚染土への定植。  
 (B) 試験終了時の生分解性ポットの分解。

制効果を期待して生分解性ポットを試験に用いた。

試験は *F. equiseti* の孢子懸濁液 (濃度  $10^7$  個/ml) を 128 穴セルトレイ播種時に 10 ml, 径 10.5 cm ポット移植時に 100 ml 処理したトマト苗と生分解性ポットを共に病原菌汚染土 (試験 1: 密度  $5 \times 10^2$  cfu/g, 試験 2 および 3: 密度  $10^4$  cfu/g) に定植することで行った (図-2)。試験 1 では *F. equiseti* と生分解性ポットを組み合わせることにより発病抑制効果が認められたものの, 防除価 58 とやや低い効果であった (表-2)。この試験では生分解性ポットを鉢上げ時に使用したため, 汚染土に定植した初期からポットの分解が進んでいた。そこで, 試験 2 および 3 では生分解性ポットを汚染土定植直前に用い, トマト根と土壤中の病原菌との物理的遮断期間を長くなるようにした結果, *F. equiseti* と生分解性ポットの組合せ処理は, *F. equiseti* 単独処理, 生分解性ポット単

表-2 *Fusarium equiseti* (GF191) と生分解性ポット (BP) を組合せた土耕栽培トマトの根腐萎凋病に対する発病抑制効果

処理区	試験 1 (131 日後 <sup>1)</sup> )		試験 2 (149 日後)		試験 3 (135 日後)	
	導管褐変度	防除価	導管褐変度	防除価	導管褐変度	防除価
GF191 + BP	18.5	58	3.7	87	13.7	81
GF191	未試験		11.1	62	34.8	53
BP	48.1	8	16.7	44	26.7	64
無処理	44.4		29.6		73.3	

<sup>1)</sup> 病原菌汚染土定植後の日数を示す。

試験 1, 2, 3 はそれぞれ 2001 年 9 月～2002 年 1 月, 2002 年 1～4 月, 2002 年 10 月～2003 年 3 月に実施した。

生分解性ポットは試験 1 では移植時に, 試験 2 と 3 は病原菌汚染土定植時に用いた。

独処理と比較して高い防除効果が得られた (防除価 81～87)。

試験 3 において生分解性ポット内側の土壌を採取して (生分解性ポット未使用区は同様の位置から採取), 土壌中の病原菌と *F. equiseti* 菌量を調査した。その結果, *F. equiseti* と生分解性ポットの組合せ処理区の病原菌量は, 無処理区と比較して約 1/25～1/6 と少なく推移し, *F. equiseti* 菌量は生分解性ポットを使用しない場合と比較して 1.7～19.1 倍高く推移した。これらのことから, 生分解性ポットはその物理的遮断効果によってトマト根圏における病原菌の増殖を抑制し, *F. equiseti* の菌量を高く維持する働きがあることが明らかになった (HORINOUCHI et al., 2008)。

拮抗微生物による土壌病害の生物防除では, その防除効果が不安定になる場合がある。特に土壌中の病原菌密度が高い場合や, 拮抗微生物が土壌中の微生物の働きにより植物に十分定着しない場合等に発病抑制効果が低下しやすい。そのため高い発病抑制効果を得るために拮抗微生物と化学農薬による土壌消毒を組合せる処理方法が報告されている (SIVAN et al., 1987)。今回, 土壌中の病原菌密度が  $10^4$  cfu/g と高い場合においても *F. equiseti* はトマト根腐萎凋病の発病を抑制し, さらに生分解性ポットと組合せることで高い防除効果が得られた。

### III ホウレンソウ萎凋病に対する *F. equiseti* の発病抑制効果

ホウレンソウ萎凋病に対しては, ホウレンソウ根での定着が高い *F. equiseti* GF183 菌株を用いた。試験は, ペーパーポット (日本甜菜製糖 (株), V-4) への播種時に *F. equiseti* の孢子懸濁液 ( $10^7$  個/ml) を 10 ml 灌注した後, ペーパーポットで育苗した苗を萎凋病菌汚染土 (密度  $10^4$  cfu/g) に移植し行った。汚染土定植 22～27 日後の *F. equiseti* 処理の防除価は 51.5～91.8 と高か

った (口絵②)。また, *F. equiseti* の処理方法 (播種時 1 回, 移植前日 1 回, 播種時および移植前日の 2 回) の違いによる発病抑制効果を検討した。萎凋病が多発生条件下で試験を行った結果, 播種時 1 回と播種時および移植前日の 2 回処理では防除価がそれぞれ 52.8, 58.1 と発病抑制効果が認められた。一方, 移植前日処理では防除価が 18.1 と発病抑制効果は認められなかった。また萎凋病が中発生の試験では, *F. equiseti* の播種時および移植前日の 2 回処理は, 播種時 1 回処理の防除価 43.5 と比べ防除価 87.3 と高かった。以上のことから, *F. equiseti* はホウレンソウ萎凋病に対しても発病抑制効果を示し, 処理回数を増やすことにより発病抑制効果が安定することが明らかになった (HORINOUCHI et al., 2010)。

### IV *F. equiseti* の発病抑制機構

養液栽培トマトの試験において, 根腐萎凋病菌接種 117 日後にトマト茎内の病原菌の菌量を調査した結果, *F. equiseti* を処理したトマト茎内の病原菌量は, 無処理と比較して約 1/700 と少なかった (HORINOUCHI et al., 2007)。この現象は他の養液栽培および土耕栽培トマトの試験でも同様に見られ (HORINOUCHI et al., 2008), *F. equiseti* を処理したホウレンソウ根内の病原菌量も無処理区と比較して約 1/70 と同様に少なかった (HORINOUCHI et al., 2010)。さらに, *F. equiseti* を処理したトマト茎, ホウレンソウ根の磨砕液中では病原菌の増殖が抑制された (図-3)。これらのことから, *F. equiseti* を処理することで植物体内において病原菌の発芽や増殖を抑える何らかの抗菌成分が生産されていることが示唆された。*F. equiseti* はそれぞれの病原菌に対して抗菌, 菌寄生等の直接的な働きは見られないため, その病害抑制メカニズムとして抵抗性誘導が示唆されている。今後は, *F. equiseti* の詳細な発病抑制メカニズム研究が必要となっている。

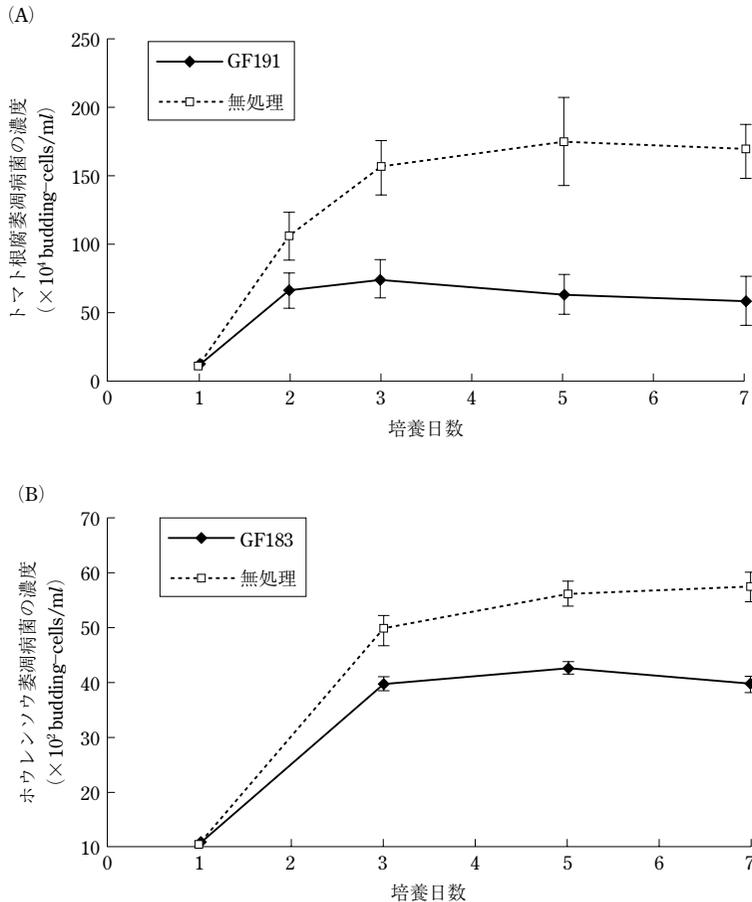


図-3 *Fusarium equiseti* (GF191, GF183) を処理したトマト茎 (A) およびホウレンソウ根 (B) の抽出液中での病原菌の増殖抑制効果

## おわりに

本研究において、植物生育促進菌類の *F. equiseti* は長期間にわたり養液栽培トマトの根腐萎凋病の発病を抑制した。さらに、*F. equiseti* と生分解性ポットやペーパーポットを組合せることで土耕栽培のトマト根腐萎凋病とホウレンソウ萎凋病に対して高い防除効果を示した。これらのことから、*F. equiseti* は拮抗微生物として有望であるとともに、*F. equiseti* を用いた生物防除法と病原菌の遮断を目的とした生分解性ポットやペーパーポットを用いた物理的防除法を組合せた技術はトマトおよびホウレンソウの栽培現場で有望な防除技術となることが示された。

*F. equiseti* を用いた生物防除法の実用化には様々な課題（微生物の資材化、生分解性ポットの利用方法、ホウレンソウ移植栽培の問題等）が残されている。課題の一

つである資材化については、乾燥したビール粕（大麦穀皮）を圧縮成型し、高温で焼成した炭化物に *F. equiseti* を担持させたものが試作された。この微生物資材はトマト萎凋病およびホウレンソウ萎凋病に対して防除効果を示し、有望な生物防除資材の可能性が示されたものの（堀之内ら, 2008）、資材化コストなどの問題から市販化には至っていない。この資材・製剤化コスト削減のためには、*F. equiseti* の胞子生産性を高める培養法の研究が必要である。

## 引用文献

- 堀之内勇人ら (2008) : 日植病報 74 : 189 ~ 190 (講要)。
- HORINOCHI, H. et al. (2007) : Crop Prot. 26 : 1514 ~ 1523.
- et al. (2008) : ibid. 27 : 859 ~ 864.
- et al. (2010) : J. Plant Pathol. 92 : 251 ~ 256.
- HYAKUMACHI, M. (1994) : Soil Microorg. 44 : 53 ~ 68.
- 加藤昌亮ら (1998) : 関西病虫研報 40 : 97 ~ 98.
- 勝部和則・赤坂安盛 (1997) : 日植病報 63 : 389 ~ 394.
- 内藤繁男ら (1998) : 日植病報 64 : 580 (講要)。
- SIVAN, A. et al. (1987) : Plant Dis. 71 : 587 ~ 592.