

茨城農総七
農研研報
Bull.Ibaraki
Agric.Res.Inst
No. 8 2005

ISSN 1340-7589

BULLETIN
OF THE
AGRICULTURAL RESEARCH INSTITUTE
IBARAKI AGRICULTURAL CENTER

NO. 8
March 2005

茨城県農業総合センター
農業研究所研究報告

第8号
平成17年3月

茨城県農業総合センター
農業研究所

茨城県水戸市上国井町3402
Kamikunii,Mito,Ibaraki,311-4203 Japan

茨城県農業総合センター
農業研究所研究報告 第8号

目次

〈論文〉

サツマイモつる割病防除に有効な非病原性フザリウム菌の実用化に関する研究

第1報 土壌中、植物体内における非病原性フザリウム菌の動態

…… 渡邊 健・竹原 利明・國安 克人・小川 奎 …………… 1

サツマイモつる割病防除に有効な非病原性フザリウム菌の実用化に関する研究

第2報 非病原性フザリウム菌の各種土壌病害に対する防除効果

…… 渡邊 健・小田 正文・孫工彌壽雄・小川 奎 …………… 11

〈短報〉

甘しょ準奨励品種「タマオトメ」について

…… 檜村 英一・須賀 立夫 …………… 29

加工用かんしょ認定品種「ムラサキマサリ」について

…… 檜村 英一・米山 一海・須賀 立夫・中川 悦男 …………… 35

〈研究ノート〉

線虫対抗植物クロタリアの輪作によるダイズシストセンチュウの耕種的防除

…… 諏訪 順子・上田 康郎・串田 篤彦 …………… 43

サツマイモつる割病防除に有効な非病原性フザリウム菌の実用化に関する研究

第1報 土壤中、植物体内における非病原性フザリウム菌の動態

渡邊 健・竹原利明*・國安克人**・小川 奎***

Studies on practical use of non-pathogenic *Fusarium oxysporum* 101-2 strain inhibiting *Fusarium* wilt of sweet potato

1. Fate of non-pathogenic *Fusarium oxysporum* 101-2 strain in soil and plant

Ken WATANABE, Toshiaki TAKEHARA, Katsuto KUNIYASU and Kei OGAWA

キーワード：非病原性 *Fusarium oxysporum*, *nit* 変異株, 生物防除

サツマイモつる割病の生物防除素材である非病原性 *Fusarium oxysporum* 101-2 株の実用化を図るため、本菌の植物体内や環境中における動態を調べた。接種処理した非病原性 *F. oxysporum* を特異的に検出するため、101-2 株の硝酸塩利用能欠損変異株 (*nit* 変異株) を作出した。得られた *nit* 変異株 N-6 株は、PSA 培地上の生育、サツマイモつる割病発病抑制能において野生株と同等の性質を有していた。*nit* 変異株 N-6 株の PS 振盪培養菌体をゼオライトに吸着させて自然乾燥製剤とし、1 m² 当たり 12.5 g (菌濃度 10⁷ bud-cells/ml の培養菌懸濁液 100 ml 分相当) を土壌混和接種後、*nit* 変異株の選択分離培地 (MMCPA 培地) を用いて土壌中ならびにサツマイモ塊根内における動態を調べた。その結果、土壌中の菌数は、接種 21 日後では 6.0×10⁵ CFU/g 土壌であったが、接種 155 日後には 5.0×10² CFU/g 土壌と徐々に減少した。また、サツマイモ塊根からは、全く検出されなかった。

目 次

I 緒 言	2	(1) サツマイモ塊根内における N-6 株の動態	
II 非病原性フザリウム菌の動態調査	2	に及ぼす苗前接種処理の影響	5
1. 非病原性 <i>F. oxysporum</i> 101-2 株 <i>nit</i> 変異株		(2) 土壌中とサツマイモ体内における N-6 株	
の作出とサツマイモつる割病発病抑制効果	2	の動態に及ぼす土壌混和処理の影響	5
2. 人工接種した N-6 株の植物体内および土		III 考 察	7
中の動態	4	IV 摘 要	8
1) N-6 株の植物体内における動態 (ポット試験)		V 引用文献	8
.....	4	Summary	9
2) N-6 株のサツマイモ植物体内および土壌中			
における動態 (圃場試験)	5		

* (独)近畿中国四国農業研究センター

** 元農林水産省農業研究センター

*** (独)農業・生物系特定産業技術研究機構

I 緒 言

サツマイモつる割病は *Fusarium oxysporum* f. sp. *batatas* によって引き起こされる土壌伝染性病害で、発病株はつる割症状を呈し、黄化・萎凋して枯死するため減収の大きな要因となる。1975年に登場した新品種「ベニコマチ」は、食味の極めて優れた青果用品種として全国に普及されたが、本品種は本病に対して感受性が高く、千葉県や茨城県などサツマイモの主要産地において被害が顕在化するようになった²⁾。

小川ら^{2,3)}は、本病の生態と防除に関する研究を実施し、健全なサツマイモの植物体内から見いだした非病原性 *Fusarium oxysporum* の培養菌懸濁液にサツマイモ苗を浸漬してから定植すると化学薬剤のベノミル剤と同等の高い防除効果が得られることを明らかにし、非病原性 *F. oxysporum* を用いた本病の生物防除技術を開発した。

本県ではサツマイモつる割病防除に有効な非病原性 *F. oxysporum* 101-2株の実用化を図るため、1991年よりエーザイ生科研株式会社と共同研究を実施し、本菌の農薬登録推進を目指した。微生物を農薬登録するためには、薬効・薬害、毒性、残留性に関する試験データのみならず各種生物に対する影響に関する試験データなど、微生物農薬の安全性評価に関する基準（ガイドライン）にしたがって安全性評価を行わなければならない¹⁰⁾。これらの農薬登録に関する必要項目については、エーザイ

生科研株式会社が担当して各種試験を実施した。一方、山田¹³⁾は、微生物農薬の安全性評価について、微生物農薬として用いられる微生物は、ヒトに対してはもちろん、施用される作物や圃場周辺の作物、また環境中の他の生物にも有害な作用があってはならず、農薬として野外に放出された微生物の命運についても明らかにされなければならないとしている。しかし、これらの評価を行うためには、微生物農薬の環境中での動態解析法の確立とそれによる動態解明が必須である。

本研究では、非病原性 *F. oxysporum* 101-2株が生物農薬として使用された場合、本菌が土壌中や植物体内においてどのような動態を示すのかを明らかにするため、1) 101-2株の *nit* 変異株の作出とその検出技術の開発、2) *nit* 変異株を用いた導入菌の植物体・土壌中の動態を明らかにすることを目的として実施した。本研究の一部は既に報告した^{11, 12)}が、ここにとりまとめて報告する。

本研究を進めるにあたり、元農業試験場山崎郁子氏には共同研究者として多くのご協力をいただいた。また、農業環境技術研究所對馬誠也博士には本論文の御校閲を賜った。ここに記して厚く御礼申し上げます。

なお、本研究は農林水産省農業研究センターにおける依頼研修（平成3年度）ならびに県単バイテク研究課題「自然生態系の生物相互間の反応の有効利用に関する試験」（1985～1995年）のなかで行われたものである。

II 非病原性フザリウム菌の動態調査

サツマイモつる割病防除に有効な非病原性 *F. oxysporum* を生物農薬として用いるにあたり、本菌の環境中での動態を明らかにする必要がある。しかし、サツマイモ植物体内や土壌中には潜在的に多くの非病原性 *F. oxysporum* が生存しており、接種した非病原性 *F. oxysporum* を特異的に追跡することは困難である。

近年、*F. oxysporum* 等の糸状菌では、菌株間における菌糸和合性や遺伝的類縁関係、病原菌の分化型およびレースの研究において硝酸塩利用能欠損変異株（以下、*nit* 変異株）が活用されている^{1, 5, 6)}。そこで、本研究では、サツマイモつる割病防除に有効な非病原性 *F. oxysporum* 101-2株の *nit* 変異株を作出することに

より、本菌の環境中での動態を明らかにすることを試みた。

1. 非病原性 *F. oxysporum* 101-2株 *nit* 変異株の作出とサツマイモつる割病発病抑制効果

サツマイモつる割病防除に有効な非病原性 *F. oxysporum* 101-2株の *nit* 変異株を生態研究のマーカーとして使用するには、病原性、増殖能およびつる割病発病抑制効果を確認する必要がある。そこで、101-2株 *nit* 変異株を作出するとともに、これら変異株の培地上での増殖能、サツマイモに対する病原性およびつる割病発病抑制効果を野生株と比較した。

材 料 お よ び 方 法

試験は1991年8～10月にかけて、つくば市観音台の農林水産省農業研究センター（現独立行政法人農業・生物系特定産業技術研究機構 中央農業総合研究センター）実験室で実施した。*nit* 変異株は、Puhalla⁵⁾の方法に準じて作出した。非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株を予めシヨ糖加用ジャガイモ煎汁寒天培地 (PSA) で培養し、約3mm角の菌そうブロックとして切り出した。*nit* 変異株の出現率は、菌株や培地の種類によって異なるため、塩素酸カリ1.5%を含むMMC培地¹⁾ (MM培地1ℓ当たり15gのKClO₃を添加)ならびに2.5%PSC培地 (PSA培地1ℓ当たり25gのKClO₃を添加)を用い、1平板当たり4個の菌そうブロックを置床した。培地はそれぞれ10平板を供試し、培地上で菌糸の伸長が認められた菌株を *nit* 変異株として釣り上げた。*nit* 変異株には、窒素源の利用能が異なる3種の表現型 (phenotype) が報告されている。そこで、得られた *nit* 変異株を、第1表に示す硝酸ナトリウム、亜硝酸ナトリウム、ヒポキサンチン、酒石酸アンモニウム、尿素の5種類の異なる窒素源のいずれかを含む培地で培養し、その培地上における生育によって *nit* 変異株の表現型を決定した。
nit 変異株は、シヨ糖加用ジャガイモ煎汁培地 (PS) で27℃、7日間振盪培養し、各変異株の培養菌懸濁液 (10⁶ bud-cells/ml) にサツマイモ苗 (品種ベニコマチ) を一晩浸漬した。翌日、サツマイモつる割病菌 *F. oxysporum* f. sp. *batatas* O-17 株をPS液体培地で27℃、7日間振盪培養して蒸留水で希釈した培養菌懸濁

液 (10⁴ bud-cells/ml) を三角フラスコに入れ、その中で *nit* 変異株を前接種したサツマイモ苗を水耕栽培した。1フラスコに5本の苗を挿し、1区2フラスコを供試した。*nit* 変異株処理区の対照として、野生株 (101-2株) の培養菌懸濁液 (10⁶ bud-cells/ml) にサツマイモ苗を一晩浸漬した野生株処理区、ベノミル剤1000倍液にサツマイモ苗を一晩浸漬したベノミル剤処理区および無処理区を設けた。

また、別にサツマイモつる割病菌 O-17 株接種により作成した汚染土壌 (病原密度; 10⁷ CFU/g 土壌) を直径15cmのポリポットに詰め、*nit* 変異株 N-6 株の培養菌懸濁液 (10⁶ bud-cells/ml) にサツマイモ苗を一晩浸漬したサツマイモ苗を移植後、ガラス室で栽培した。1ポット当たり5本の苗を定植し、1区2ポットを供試した。対照として、野生株処理区と無処理区を設けた。発病調査は、水耕試験では菌接種11日後に、ポット試験では定植25、33日後に実施し、茎を切断して導管褐変の有無から発病苗率を算出した。

結 果

非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の *nit* 変異株出現率はPSC培地で5%、MMC培地で20%となり、MMC培地で高かった。得られた *nit* 変異株10株は、すべての株が硝酸塩を除く4種類の異なる窒素源を含む培地上で生育したことから、表現型 *nit* 1 であることが明らかとなった (第2表)。また、これらの菌株はPSA培地、PS液体培地における増殖能は野生株と同等であった (データ省略)。

第1表 *nit* 変異株の表現型を決定する窒素源の利用能

<i>nit</i> 変異株の表現型	窒 素 源				
	硝 酸 塩	亜硝酸塩	アンモニウム塩	ヒポキサンチン	尿 酸
<i>nit</i> 1	—	+	+	+	+
<i>nit</i> 3	—	—	+	+	+
Nit M	—	+	+	—	+
野 生 株	+	+	+	+	+

注) + : 窒素源として利用できる。— : 窒素源として利用できない。

第2表 非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の *nit* 変異株出現率

培 地	置 床 数	<i>nit</i> 変異株出現数			変異株出現率 (%) (出現数/置床数)
		<i>nit</i> 1	<i>nit</i> 3	Nit M	
P S C	40	2	0	0	5
MMC	40	8	0	0	20
	合計 80	10	0	0	12.5

水耕試験では、*nit* 変異株処理区の発病苗率は、N-28株区を除き、0～30%と無処理区の発病苗率89.9%に比較して低かった。また、野生株処理区の発病苗率も22.2%と低かった(第3表)。本試験の結果から、野生株と同等の発病苗率を示した *nit* 変異株 N-6 株(以下、N-6 株)、N-31 株、N-41 株の3菌株のうち、N-6 株をポット試験に供した。その結果、無処理区の発病苗率は定植33日後には100%に達したが、N-6 株処理区の発病苗率は0%で、野生株と同等の高い発病抑制効果を示した(第4表)。以上から、以降の研究にN-6 株を供試することにした。

第3表 非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株 *nit* 変異株の前接種によるサツマイモつる割病発病抑制効果(水耕試験)

処 理	発病苗率 (%)
<i>nit</i> 変異株 N-30 株	0
<i>nit</i> 変異株 N-11 株	10
<i>nit</i> 変異株 N-33 株	10
<i>nit</i> 変異株 N-39 株	10
<i>nit</i> 変異株 N-6 株	20
<i>nit</i> 変異株 N-31 株	20
<i>nit</i> 変異株 N-41 株	20
<i>nit</i> 変異株 N-29 株	30
<i>nit</i> 変異株 N-23 株	33.3
<i>nit</i> 変異株 N-28 株	60
野 生 株	22.2
ベノミル	30
無 処 理	89.9

第4表 *nit* 変異株 N-6 株の前接種によるサツマイモつる割病発病抑制効果(ポット試験)

処 理	発病苗率 (%)		枯死苗率 (%) (定植33日後)
	定植25日後	定植33日後	
<i>nit</i> 変異株 N-6 株	0	0	0
野 生 株	0	10.0	0
無 処 理	50.0	100	50.0

注) 調査苗数は各区10苗

2. 人工接種した N-6 株の植物体内および土壤中の動態

1) N-6 株の植物体内における動態(ポット試験)

ポット試験において N-6 株の前接種により、サツマイモつる割病発病抑制効果が認められた植物体内における菌の動態を調査した。

材 料 お よ び 方 法

試験は農業研究センター実験室およびガラス温室で実施した。非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の野生株と N-6 株の PS 培養菌懸濁液(27°C, 7日間培養, 10⁶ bud-cells/ml) にサツマイモ苗を一晩浸漬接種し、サツマイモつる割病菌 O-17 株の PS 培養菌懸濁液(27°C, 7日間培養, 10⁶ bud-cells/ml) を接種して作成した汚染土壌(病原密度 10⁵ bud-cells/g 土壌) を詰めた直径 15 cm のポリポットに定植した。1ポット当たり5本の苗を定植し、1区2ポットを供試した。定植24日後に竹原・國安⁸⁾の方法に準じて野生株と *nit* 変異株の再分離を試みた。

nit 変異株の再分離は、MMCPA 培地(MM 培地 1 ℓ 当たり 10 g の KClO₃ および PCNB 0.25 g を添加, pH 3.0) を、野生株の再分離には MMPA 培地(MM 培地 1 ℓ 当たり PCNB 0.25 g を添加, pH 3.0) を用いた。つる割病発病抑制効果の認められた苗の茎より切片を作成して組織分離を行う(以下、組織分離法)とともに、茎 5 cm を 0.05% 水寒天 20 ml に加え、ホモジナイザーで磨砕して液から希釈平板法で菌を分離した(以下、ホモジナイザー法)。

結 果

健全なサツマイモの植物体には非病原性 *F. oxysporum* が潜在しているため、MMPA 培地上で分離された菌が、接種した野生株か否かの判断は困難であったが、MMCPA 培地では、*nit* 変異株が選択的に分離され、雑菌との区別も容易であった。

組織分離法により苗の切り口に近い基部から N-6 株が再分離されたが、苗の中央部および先端部からは分離されなかった(第5表)。一方、ホモジナイザー法においては、N-6 株は苗基部以外に先端部からもごく僅かではあるが再分離され、苗の切り口に接種した N-6 株が苗の先端部まで伸展していることが明らかになった。(第6表)。

第5表 サツマイモ苗に前接種した *nit* 変異株 N-6 株の再分離 (組織分離法)

接種菌株	分離部位	各培地における菌の再分離率 (%)	
		MMCPA (変異株用)	MMPA (野生株用)
<i>nit</i> 変異株 N-6 株	苗先端部	0	0
	苗中央部	0	0
	苗基部	60	0
野生株	苗先端部	0	50
	苗中央部	0	60
	苗基部	0	66.7
無接種	苗先端部	0	0
	苗中央部	0	20
	苗基部	0	80

第6表 サツマイモ苗に前接種した *nit* 変異株 N-6 株の再分離 (ホモジナイザー法)

接種菌株	分離部位	各培地における菌の再分離数 (コロニー数/平板)			
		MMCPA (変異株用)		MMPA (野生株用)	
		原液	10倍希釈液	原液	10倍希釈液
<i>nit</i> 変異株 N-6 株	苗先端部	4	0	0.5	0
	苗中央部	0	0	0	0
	苗基部	3	0.5	0	0
野生株	苗先端部	0	0	0	0
	苗中央部	0	0	0	0
	苗基部	0	0	9	4

注) 数字は2平板の平均値。

2) N-6株のサツマイモ植物体内および土壌中における動態 (圃場試験)

サツマイモ苗や土壌に人工接種した非病原性 *F. oxysporum* の動態を明らかにするために、N-6株をサツマイモ苗に接種して栽培したサツマイモ塊根からの再分離を試みた。また、N-6株を土壌に接種して土壌中の本菌の動態を調査するとともにサツマイモ地上部および塊根からの再分離を試みた。

材料および方法

(1) サツマイモ塊根内における N-6株の動態に及ぼす苗前接種処理の影響

試験は、1992年に水戸市上国井町の農業研究所内圃場で実施した。N-6株のPS培養菌懸濁液(27°C, 10日間培養, 10^7 bud-cells/ml)にサツマイモ苗(品種ベニコマチ)を一晩浸漬処理し、6月9日に定植した。栽

植密度は株間30cm×畦間100cmで、畦立てマルチ栽培を行った。対照として無処理区を設け、それぞれ、1区当たり20株を供試し、2連制で実施した。定植142日後に塊根を収穫後、N-6株処理区からは無作為に5本、無処理区からは無作為に3本の塊根を選んだ。収穫した塊根は表面を水洗後、次亜塩素酸ナトリウム20倍希釈液中で1分間浸漬処理した。塊根を切断して維管束部分を中心に切片を作成し、MMCPA培地で組織分離した。

(2) 土壌中とサツマイモ体内における N-6株の動態に及ぼす土壌混和処理の影響

N-6株のPS培養菌懸濁液をゼオライトに吸着して自然乾燥製剤¹⁾として供試した。圃場に埋め込んだ1m×1mの無底の木枠内に製剤12.5g(菌濃度 10^7 bud-cells/mlの培養菌懸濁液100ml分相当)を加え、土壌混和した。サツマイモ栽培の有無が土壌中のN-6株の増

殖に影響するかどうかを調べるため、サツマイモ栽培区と休閑区(サツマイモ無栽培)を設けた。対照としてサツマイモ栽培区(N-6株無接種)を設けた。各区1㎡、2連制で行った。サツマイモ苗は1992年7月1日に1区当たり10株定植した。接種21, 40, 155日後に無作為に土壌(約100g/区)を採取し、MMCPA培地を用いて、希釈平板法で土壌中のN-6株の菌量を調べた。同時に、サツマイモの地上部植物体および塊根から *nit* 変異株の再分離を試みた。定植40日後に組織分離法により地上部茎から、定植155日後にはホモジナイザー法で塊根から再分離を行った。

結 果

(1) サツマイモ塊根内における N-6 株の動態に及ぼす 苗前接種処理の影響

N-6株を苗に接種して栽培したサツマイモ塊根からはN-6株は全く検出されなかった(第7表)。

第7表 *nit* 変異株 N-6 株を苗に前接種して栽培したサツマイモ塊根からの再分離(組織分離法)

接種菌株	調査塊根	N-6株の再分離数 (分離数/置床数)	
		塊根上半部	塊根下半部
<i>nit</i> 変異株 N-6 株	A	0/20	0/20
	B	0/20	0/20
	C	0/20	0/20
	D	0/20	0/20
	E	0/20	0/20
無 接 種	A	0/20	0/20
	B	0/20	0/20
	C	0/20	0/20

(2) 土壌中とサツマイモ体内における N-6 株の動態に 及ぼす土壌混和処理の影響

土壌に接種したN-6株の菌密度は、サツマイモ栽培区では接種21日後は 6.0×10^5 CFU/g乾土であったが、40日後には 1.5×10^4 CFU/g乾土、155日後には 5.0×10^2 CFU/g乾土と徐々に減少した。休閑区でも同様な傾向が認められたが、菌密度はサツマイモ栽培区より少なかった。また、対照としたサツマイモ栽培区(N-6株無接種)の土壌からは、N-6株は全く検出されなかった(第8表)。

N-6株土壌接種区におけるサツマイモの地上部からは、主茎の基部からわずかにN-6株が再分離されたが、茎中間部ならびに先端部からは検出されなかった(第9表)。このことから、少なくともサツマイモの苗に土壌中のN-6株が感染することが明らかになった。しかし、塊根からは、N-6株は全く検出されなかった(第10表)。

第8表 *nit* 変異株 N-6 株の土壌中における消長

処 理	N-6株の菌数(CFU/g乾土)		
	接種21日後	接種40日後	接種155日後
サツマイモ栽培	6.0×10^5	1.5×10^4	5.0×10^2
休 閑	—	9.2×10^3	2.1×10^2
無 接 種	—	0	0

注) *nit* 変異株 N-6 株は土壌に接種された。
—: 試験なし。菌数は5平板の平均値。

第9表 *nit* 変異株 N-6 株の接種土壌で栽培したサツマイモ地上部からの再分離(離組織分離法)

処 理	調査塊根	N-6株の再分離数(分離数/置床数)			
		茎 基 部	茎 中 間 部	茎 先 端 部	微 小 塊 根 部
接 種 土 壌	A	5/21	0/19	0/17	0/21
	B	1/21	0/21	0/21	0/21
	C	1/17	0/20	0/19	0/21
	合 計	7/59(11.9)	0/60(0)	0/57(0)	0/63(0)
無 接 種	A	0/7	0/7	0/7	—
	B	0/7	0/7	0/7	—
	C	0/7	0/7	0/7	—
	合 計	0/21(0)	0/21(0)	0/21(0)	—

注) 定植40日後に調査。合計の()内数字は%

第10表 *nit* 変異株 N-6 株の接種土壌で栽培したサツマイモ塊根部からの再分離 (ホモジナイザー法)

接種菌株	分離部位	N-6 株の再分離数 (コロニー数/平板)		
		原液	10 培希积液	100 培希积液
<i>nit</i> 変異株 N-6 株	塊根上半部	0	0	0
	塊根下半部	0	0	0
無接種	塊根上半部	0	0	0
	塊根下半部	0	0	0

注) 数字は5平板の平均値。

III 考 察

微生物農薬は、ヒトに対してはもちろん、施用される作物や圃場周辺の作物、また環境中の他の生物にも有害な作用があってはならず、農薬として野外に放出された微生物の命運についても明らかにされなければならない¹³⁾。本研究では、サツマイモつる割病防除に有効な非病原性 *Fusarium oxysporum* 101-2 株を微生物農薬として野外に放出した場合の土壌中や植物体内における本菌の動態を明らかにしようとした。しかし、野外においては *Fusarium* 属菌の野生株が多く存在しているので、放出菌を特定し、追跡することは困難である。そこで、その *nit* 変異株を用いることにより土壌中や植物体内における動態調査を行い、放出菌の消長を明らかにすることとした。

植物病原菌の *nit* 変異株は、糸状菌の菌株間における菌糸和合性、遺伝的類縁関係、病原菌の分化型およびレースの研究に活用されている一方で、マーカーとして糸状菌の生態的研究にも有用である^{7, 8, 9)}。しかし、非病原性 *F. oxysporum* の動態調査に *nit* 変異株を利用したのは本研究が初めてである。

非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の *nit* 変異株は、Puhalla⁵⁾ の方法に準じて作出することができた。*nit* 変異株を生態的研究に用いる場合、病原性等の性質が野生株と同等であることが必要である⁶⁾ が、得られた *nit* 変異株 N-6 株 (以下、N-6 株) は、PSA 培地上での増殖能、サツマイモつる割病発病抑制能において野生株と同等であった。また、*nit* 変異株の選択分離培地である

MMCPA 培地⁷⁾ を用いることで、接種した N-6 株を土壌ならびにサツマイモ体内から選択的に分離することができた。以上の結果から、*nit* 変異株は、植物病原菌の生態的研究のみならず、生物防除素材である非病原性フザリウム菌の生態的研究にも利用できる重要なマーカーとなり得るとともに、MMCPA 培地も土壌からの *nit* 変異株分離に有効であることが確認された。

サツマイモ苗に接種した N-6 株は、接種した苗の切り口に近い基部や先端部から再分離されたが、分離頻度は低かった。一方、本菌を土壌に接種した場合、土壌中の菌密度は、接種 21 日と 155 日後の間で漸減した。また、土壌接種して栽培したサツマイモの地上部では、主茎の基部からわずかに N-6 株が分離されたが、茎の中間部や先端部、塊根からは全く分離されなかった。これらのことから、土壌中の N-6 株はサツマイモの苗に感染するが、植物体内で著しく増殖することはないと考えられた。

本結果は、*nit* 変異株を用いた土壌中および植物体内における動態調査結果であるが、*nit* 変異株は植物病原菌の生態的研究にも利用され、かつ、供試した N-6 株は増殖能ならびにサツマイモつる割病発病抑制能において野生株と同等であることから、本菌野生株の高濃度の菌体を接種してもサツマイモ植物体内や土壌中で著しい増殖は認められられず、徐々に減少することが示唆された。したがって、野生株を微生物農薬として使用しても自然生態系をかく乱する可能性は低いと推察された。

IV 摘 要

- 1) 非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の植物体内や土壌中における動態を明らかにするため、*nit* 変異株 N-6 株 (以下、N-6 株) を作出した。N-6 株は PSA 培地上での増殖能、サツマイモつる割病発病抑制能において野生株と同等であった。また、N-6 株は、選択分離培地 (MMCPA 培地) を用いることで、接種した植物体内や土壌から選択的に分離された。
- 2) サツマイモ苗 (品種ベニコマチ) に接種した N-6 株は、接種苗の切り口に近い基部および先端部から再分離されたが、分離頻度は低かった。
- 3) N-6 株を土壌接種した場合、土壌中の菌密度は、接種 21 日後では 10^5 CFU/g 乾土のレベルであったのが、155 日後には 10^2 CFU/g 乾土と漸減した。
- 4) N-6 株の接種土壌にサツマイモを栽培した時、サツマイモの主茎基部からもわずかに N-6 株が再分離されたことから、サツマイモ苗に土壌中の N-6 株が感染することが明らかになった。しかし、N-6 株は茎の中間部や先端部、塊根からは全く検出されなかった。
- 5) これらの結果から、野生株である非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株は土壌中や植物体内で著しく増殖しないことが示唆され、本菌を微生物農薬として使用しても環境への影響が非常に低いことが推察された。

V 引 用 文 献

- 1) Correll, J. C., Klittich, C. J. R. and leslie, J. F. (1987). Nitrate nonutilizing mutants of *Fusarium oxysporum* and their use in vegetative compatibility tests. *Phytopathology* 77 : 1640 - 1646.
- 2) 小川 奎 (1988). サツマイモつる割病に関する研究. 農研センター報告 10 : 1 - 127.
- 3) 小川 奎・駒田 且 (1984). 非病原性 *Fusarium oxysporum* によるサツマイモつる割病の生物的防除. 日植病報 50 : 1 - 9.
- 4) 小川 奎・渡辺 健 (1992). 有用フザリウム菌の製剤化. 植物防疫 46 : 378 - 381.
- 5) Puhalla, J. E. (1985) Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. *Can. J. Bot.* 63 : 179 - 183.
- 6) 竹原利明 (1992). 糸状菌における *nit* 変異株の作出と利用. 植物防疫 46 : 395 - 399.
- 7) 竹原利明・國安克人 (1994 a). *nit* 変異株を用いたフザリウム病の発生生態の解明 I. *Fusarium oxysporum* の各分化型の *nit* 変異株の作成. 日植病報 60 : 699 - 704.
- 8) 竹原利明・國安克人 (1994 b). *nit* 変異株を用いたフザリウム病の発生生態の解明 II. *Fusarium oxysporum* の *nit* 変異株の選択分離培地を用いた分離. 日植病報 60 : 705 - 710.
- 9) Takehara, T. and Kuniyasu, K. (1995). Use of nitrate nonutilizing mutants in ecological studies of *Fusarium* diseases. III. Growth, benomyl sensitivity, pathogenicity, and stability of *nit* mutants of *Fusarium oxysporum* compared to wild-type strains. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 61 : 541 - 548.
- 10) 辻野泰子 (2000). 微生物農薬のできるまで(5)農薬登録. 微生物農薬 - 環境保全型農業をめざして - 全農教 38 - 43.
- 11) 渡辺 健・竹原利明・國安克人 (1992). サツマイモつる割病菌と非病原性フザリウム菌の *nit* 変異株の作出およびその病原性と交差防御機能の確認. 日植病報 58 : 159 - 160 (講要).
- 12) 渡辺 健・小川 奎 (1993). サツマイモつる割病防除に用いた非病原性 *Fusarium oxysporum* の植物体内および土壌中におけるモニタリング. 日植病報 59 : 278 - 279 (講要).
- 13) 山田昌雄 (2000). 微生物農薬とは. 微生物農薬 - 環境保全型農業をめざして - 全農教 2 - 7.

Studies on practical use of non-pathogenic *Fusarium oxysporum* 101-2 strain
inhibiting *Fusarium* wilt of sweet potato

1. Fate of non-pathogenic *Fusarium oxysporum* 101-2 strain in soil and plant

Ken WATANABE, Toshiaki TAKEHARA, Katsuto KUNIYASU and Kei OGAWA

Key words ; non-pathogenic *Fusarium oxysporum*, *nit* mutant, biocontrol

Summary

Non-pathogenic *Fusarium oxysporum* 101-2 strain has been reported to show the strongly inhibitory effect on wilt of sweet potato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. batatas. In this study, the fate of non-pathogenic *Fusarium oxysporum* 101-2 strain in soil and plant was examined using the *nit* mutant of 101-2 strain to investigate its impact on ambient environment.

Firstly, the *nit* mutant of 101-2 strain, i. e. , N-6 strain, was selected for monitoring its populations in soil and plant because it was similar to the wild type, in hyphal growth on PSA medium and pathogenicity to sweet potato cultivar Benikomachi. N-6 strain could be specifically detected in soil with a selective medium for *nit* mutant (MMCPA), indicating the usefulness of MMCPA for monitoring N-6 strain in environments.

When the dehydrated product of N-6 strain that was mixed with zeolite was inoculated into soil in field experiment, the number of their colonies recovered from soil 155 days after inoculation decreased by 1/1000 of that 21 days after inoculation.

When the sweet potato cultivar Benikomachi, furthermore, was cultivated in a field where N-6 strain was inoculated into soil, the mutant was isolated from the base of the stem, though it was not detected on the middle and top of the stem, and the tuberous root. This result indicated the infection of sweet potato by the mutant inoculated into soil.

These results suggest that non-pathogenic *Fusarium oxysporum* 101-2 isolate has little fitness in soil and in plant, implying that the impact of the soil and plant treatment by this agent on ambient environment is very low.

サツマイモつる割病防除に有効な非病原性フザリウム菌の実用化に関する研究

第2報 非病原性フザリウム菌の各種土壌病害に対する防除効果

渡邊 健・小田正文*・孫工彌壽雄*・小川 奎**

Studies on practical use of non-pathogenic *Fusarium oxysporum* 101-2 strain inhibiting Fusarium wilt of sweet potato

2. The control effect of non-pathogenic *Fusarium oxysporum* 101-2 strain on various soil-borne diseases

Ken WATANABE, Masafumi ODA, Yasuo SONKU, and Kei OGAWA

キーワード：非病原性 *Fusarium oxysporum*, 生物防除, 土壌病害

サツマイモつる割病防除に有効な非病原性 *Fusarium oxysporum* 101-2 株は、生物農薬「マルカライト水和剤」として登録された。本菌の適用拡大を図るため、パーティシリウム菌やフザリウム菌を病原体とする12種の土壌病害に対する本菌の防除効果を検討した。本菌は、ダイズ萎凋病、ストック萎凋病、アスター萎凋病、カーネーション萎凋病、シュンギク萎凋病、コマツナ萎黄病、ハウレンソウ萎凋病に対して、実用的な防除効果を示した。本菌の処理法としては、培養菌懸濁液を用いたセル苗およびペーパーポット苗の根部浸漬処理や灌注処理、あるいは自然乾燥製剤の育苗土壌への混和処理が有効であった。このことから、移植栽培を行う作物に適用可能と考えられた。ハウレンソウ萎凋病、ストック萎凋病、アスター萎凋病を対象として、生物防除体系を提案した。

目 次

I 緒 言	12	6) シュンギク萎凋病	19
II 非病原性フザリウム菌の各種病害に対する防除効果	13	7) ハウレンソウ萎凋病	20
1. パーティシリウム病に対する防除効果	13	(1) 試験1：1998年	20
1) ダイズ萎凋病	13	(2) 試験2：2001年	20
2) ハクサイ黄化病	14	8) キュウリつる割病	21
2. フザリウム病に対する防除効果	15	9) メロンつる割病	22
1) カーネーション萎凋病	15	10) スイカつる割病	23
2) ストック萎凋病	16	III 考 察	24
3) アスター萎凋病	17	IV 摘 要	26
4) ダイコン萎黄病	18	V 引用文献	27
5) コマツナ萎黄病	18	Summary	28

* エーザイ生科研株式会社

** (独) 農業・生物系特定産業技術研究機構

I 緒 言

我が国における非病原性 *Fusarium oxysporum* を用いた生物防除に関する研究は、小川ら^{12, 13)}のサツマイモつる割病での研究以降、各種土壌病害を対象として数多く行われ、トマト半身萎凋病¹⁾、トマト萎凋病²⁾、イチゴ萎黄病¹⁸⁾、チューリップ球根腐敗病²¹⁾、カーネーション萎凋病¹¹⁾、ラッキョウ乾腐病⁵⁾、ハウレンソウ萎凋病⁶⁾等、多くの成功事例が報告されている。また、近年では、養液栽培に発生するサラダナ根腐病¹⁰⁾、トマト萎凋病⁸⁾、トマト根腐萎凋病^{8, 9)}に対しても非病原性 *F. oxysporum* を用いた生物防除が検討され、非病原性 *F. oxysporum* の生物防除素材としての可能性の広がりを見せている。一方、渡辺ら¹⁹⁾は、サツマイモつる割病防除に有効な非病原性 *F. oxysporum* 101-2株が、トマト萎凋病 (race J1) に対しても防除効果があることを認め、本菌が他病害に対しても適用できる可能性を示唆した。

本県ではサツマイモつる割病防除に有効な非病原性 *F. oxysporum* 101-2株の実用化を目的として1991年よりエーザイ生科研株式会社と共同研究「非病原性フザリウム菌を利用した作物病害虫の防除法の開発への適用拡大」を開始し、本菌の農薬登録推進と他病害への適用拡大を目指した。エーザイ生科研株式会社は、非病原性 *F. oxysporum* 101-2株の製剤を日本植物防疫協会の新農薬実用化試験に供するとともに、微生物農薬の安全性評価に関する基準 (ガイドライン) に従って、①ヒトに

対する安全性に関する資料、②環境生物に対する影響に関する資料、③農薬の規格性状や使用方法に関する資料等を作成し、農薬登録の申請を行った。その結果、本菌は2002年6月に我が国における初めての非病原性 *F. oxysporum* の生物農薬 (農薬名: マルカライト水和剤) として、農薬登録 (登録番号第20848) され、2003年から販売が開始された¹⁵⁾ (第1図)。

本研究では、多くの土壌病害を対象に非病原性 *F. oxysporum* 101-2株の防除効果の検討を行い、本菌を用いた生物防除が適用可能な作物および土壌病害を明らかにした。本研究の一部は既に報告した^{19, 20)}が、ここにとりまとめて報告する。

本研究を進めるにあたり、元農業試験場山崎郁子氏、病害虫防除所主任米山一海氏、園芸研究所技師藤田裕氏には共同研究者として多くのご協力をいただいた。また、群馬県病害虫防除所の諏訪澄長氏、千葉県農業総合研究センター暖地園芸研究所の植松清次氏、静岡県農業試験場の外側正之博士からは各種病原菌を分譲いただいた。農業環境技術研究所對馬誠也博士には本論文の御校閲を賜った。ここに記して厚く御礼申し上げます。

なお、本研究は県単バイオテク研究課題「自然生態系の生物相互間の反応の有効利用に関する試験」(1985～1995年) および同「農業生態系における有用微生物および生理活性物質の利活用技術の開発」(1996～2001年) の中で行われたものである。



第1図 商品化された非病原性 *F. oxysporum* 101-2株製剤, マルカライト水和剤 (左: 製剤の包装, 右: 製剤)

II 非病原性フザリウム菌の各種病害に対する防除効果

サツマイモつる割病防除に有効な非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の農業登録取得後に、本剤の適用拡大を図るために、各種作物の土壌伝染性病害、特にパーティシリウム菌やフザリウム菌による導管病に対する防除効果を検討した。また、植物発根促進効果を有する非病原性 *F. oxysporum* ES-305 株¹⁶⁾ (エーザイ生科研保存菌) を用いて、非病原性 *F. oxysporum* 菌株間の防除効果を比較するとともに、両者を併用した効果的な接種法を明らかにしようとした。

1. パーティシリウム病に対する防除効果

ダイズとハクサイの主要な土壌病害であるダイズ萎凋病およびハクサイ黄化病に対する非病原性フザリウム菌の防除効果を検討した。

1) ダイズ萎凋病

ダイズ萎凋病 (*Verticillium dahliae*) に対する非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の苗根部浸漬処理と自然乾燥製剤の土壌混和処理および両者の併用による防除効果をポット試験で検討した。

材料および方法

試験は水戸市上国井町の農業研究所内ガラス室で行った。ダイズ萎凋病菌としてE-6株を供試した。本菌は、土壌フスマ培地で培養し、園芸培土(クレハ製)を詰めた1/5000ワグネルポットに土壌混和(20g/ポット)した。供試ダイズとして、エダマメ用品種ユキムスメを用い、1991年4月25日に園芸培土に播種して苗を育成した。非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株をショ糖加用ジャガイモ煎汁培地(PSB)で27°C、10日間振盪培養し、培養菌懸濁液(10⁷ bud-cells/ml)を作成した。また、

培養菌懸濁液を遠心分離して得られた菌体をゼオライトに吸着させた自然乾燥製剤¹⁴⁾(5×10⁸ CFU/g)も作成した。定植前日(5月16日)に、苗の根部を培養菌懸濁液に一晩浸漬処理する方法(生菌浸根処理法)と、定植前に自然乾燥製剤を1ポット当たり15gを植穴に混和する方法(製剤土壌混和処理法)を用い、それぞれの単独処理区と両者の併用処理区を設けた。5月17日にポットに定植し、ポット定植26日後から外観による発病調査を2週間ごとに3回実施し、外観発病株率を求めた。また、7月10日(定植54日後)の最終調査時には下胚軸を切断して褐変の有無を調査し、維管束褐変株率を求めた。また、次式により防除価を算出した。防除価=100-(処理区の維管束褐変株率/無処理区の維管束褐変株率)×100。試験規模は、1区1ポット(4~5株)、3連制とした。

結 果

無処理区は、定植26日後より地上部の病徴が認められ、最終調査日の7月10日(定植54日後)には外観発病株率71.7%となった。これに対して非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の生菌浸根処理単独区、生菌浸根処理と製剤土壌混和処理の併用処理区では外観病徴はみられず、高い発病抑制効果が認められた(第2図)。一方、製剤土壌混和処理単独区の外観発病株率は28.3%と無処理区より低かった。維管束褐変株率においても外観発病株率と同様な傾向が認められた(第1表)。

以上から、非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の生菌浸根処理と製剤土壌混和処理はダイズ萎凋病に対して高い防除効果が認められた。

第1表 非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株のダイズ萎凋病防除効果

処 理	外 観 発 病 株 率 (%)			維管束褐変株率 (%)	防 除 価
	定植後 26 日	39 日	54 日		
生菌浸根処理	0	0	0	6.7	90.8
生菌浸根処理+製剤土壌混和処理	0	0	0	8.3	87.3
製剤土壌混和処理	0	6.7	28.3	35.0	52.3
無処理(病原菌接種)	25.0	65.0	71.7	73.3	
無処理(病原菌無接種)	0	0	0	0	

注) 維管束褐変株率は下胚軸を切断して調査した。



非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の根部浸漬処理



無処理

第2図 非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株のダイズ萎凋病防除効果

2) ハクサイ黄化病

ハクサイ黄化病 (*Verticillium longisporum*) に対する非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の野菜養土混和处理とセル苗根部浸漬処理の併用および耐病性品種との組み合わせによる防除効果を現地自然発病圃場で検討した。

材料および方法

試験は結城郡千代川町皆葉の現地自然発病圃場で行った。ハクサイ品種は感受性品種の新理想、耐病性品種のW-4107の2品種を用いた。施肥は農家の慣行栽培に準じた。オオムギ子実を水を加えて滅菌したものを培養基として、非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株を 27°C、7 日間培養した後、粉碎して粉末にした穀粒培養粉砕菌体 (10^8 CFU/g) を作成した。1996年8月19日に市販の野菜養土「与作N100」に穀粒培養粉砕菌体を重量比で0.5%混和し、セルトレイに詰めて、ハクサイ種子を播種した(野菜養土混和处理)。また、9月6日には本菌をPSB培地で27°C、10日間振盪培養して作成した培養菌懸濁液 (10^8 bud-cells/ml) にセル苗の根部を一晩

浸漬処理(セル苗根部浸漬処理)した。これらの処理を併用して非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株接種処理区とした。定植は、9月11日(標準植え区)および9月19日(遅植え区)に定植した。栽植密度は畦間60cm×株間45cmで、1処理16株、1連制とした。発病調査は、11月19日(標準植え区)および11月28日(遅植え区)に行い、外観発病度と維管束発病度をそれぞれ以下の基準を設け、次式により算出した。外観発病指数0:健全; 1:外葉がわずかに黄化し、外葉および結球葉の一部が萎凋する; 2:結球葉の一部が外側に展開するようになり、外観的に黄白に見える; 3:株全体が黄化し、葉が結球せずにハボタン状を呈する。維管束発病指数0:健全; 1:主根の一部に維管束褐変を認める; 2:維管束褐変が主根の大部分に認められ、心部に及ぶ; 3:維管束褐変が葉柄基部に及ぶ。発病度 = $\{\sum(\text{発病指数} \times \text{各指数の個体数}) / (3 \times \text{調査株数})\} \times 100$ 。また、防除価は、次式により算出した。防除価 = $100 - (\text{処理区の維管束発病度} / \text{無処理区の維管束発病度}) \times 100$ 。

第2表 非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株処理と品種および移植時期の組み合わせが
ハクサイ黄化病の発病に及ぼす影響

品 種	処 理	標 準 植 え		遅 植 え		防 除 価
		外観発病度	維管束発病度	外観発病度	維管束発病度	
新理想 (感受性)	接種処理	21.0	37.0	15.8	20.8	14.0
	無 処 理	45.0	46.7	21.7	24.2	
W-4107 (耐病性)	接種処理	—	—	0.8	8.3	29.0
	無 処 理	11.7	46.7	0.8	11.7	

注) — : 試験なし

結 果

結果は第2表に示した。品種新理想の無処理区の維管束発病度は、標準植え区で46.7、遅植え区で24.2となり、定植時期を遅らせることによって発病の減少傾向が認められた。これに対し、非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株接種処理区では、標準植え区で37.0、遅植え区で20.8となり、発病の軽減がみられたが、その効果は顕著ではなかった。品種 W-4107 では、遅植え区の非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株接種処理区の維管束発病度は8.3となり、無処理区(11.7)に比較して低かったが顕著な防除効果は認められなかった。

標準植え区における品種新理想の無処理区の外観発病度(45.0)は、品種 W-4107(11.7)より顕著に高かったが、品種 W-4107 の維管束発病度(46.7)は、品種新理想(46.7)と同等であった。以上から、品種 W-4107 は、根部に罹病しても品種新理想に比較して外観に病徴が現れにくい耐病性品種であると考えられた。

以上の結果、非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の野菜養土混和とセル苗根部浸漬の併用処理はハクサイ黄化病に対して発病を軽減する傾向は認められたが、その効果は低かった。

2. フザリウム病に対する防除効果

カーネーション萎凋病、ストック萎凋病、アスター萎凋病、ダイコン萎黄病、コマツナ萎黄病、シュンギク萎凋病、ハウレンソウ萎凋病、キュウリつる割病、メロンつる割病、スイカつる割病に対する非病原性フザリウム菌の防除効果を検討した。

1) カーネーション萎凋病

カーネーション萎凋病 (*Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*) に対する非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の苗根部浸漬処理による防除効果をポット試験で検討した。

材料及び方法

試験は農業研究所内ガラス温室で行った。品種はピコティーを用い、1994年10月11日に野菜養土を詰めたセルトレイに播種してセル苗を育成した。1995年1月9日にハサミでセル苗の先端側根部を1/3程度切断したのち、非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株を PSB 培地で27℃、10日間振盪培養して作成した培養菌懸濁液(10⁷ bud-cells/ml)に一晩浸漬した(苗根部浸漬処理)。カーネーション萎凋病菌(*F.o-d-24*株)を PSB 培地で27℃、12日間振盪培養した後、培養菌懸濁液を市販の園芸培土に接種して汚染土壌(5 ml/kg土壌)を作成した。1月10日に汚染土壌を充填した径18 cmの素焼き鉢にセル苗を2株ずつ定植した。1区1ポット(2株植え)7連制とした。5月10日に外観の発病程度(外観発病株率)と最大茎長を調査するとともに、地際部の茎を切断して維管束の褐変程度(発病指数)から維管束発病度を算出した。維管束発病指数0:維管束褐変無し;1:維管束の一部が褐変;2:維管束の大部分が褐変;3:枯死。維管束発病度 = {Σ(発病指数×各指数の個体数) / (3×調査株数)} × 100。また、防除価は、次式により算出した。防除価 = 100 - (処理区の維管束発病度 / 無処理区の維管束発病度) × 100。

結 果

結果は第3表に示した。無処理区では、外観発病株率64.3%、枯死株率14.3%および維管束発病度42.9と萎凋病の発病は多かった。これに対して非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の苗根部浸漬処理区では、外観発病株率35.7%、枯死株率0%、維管束発病度は21.4と萎凋病の発病は半減した。

以上から、非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の苗根部浸漬処理はカーネーション萎凋病に対する高い防除効果を有していた。

第3表 非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株のセル苗根部浸漬処理によるカーネーション萎凋病防除効果

処 理	外観発病株率 (%)	枯死株率 (%)	維管束発病度	防 除 価
苗根部浸漬処理	35.7	0	21.4	50.1
無 処 理	64.3	14.3	42.9	

2) ストック萎凋病

ストック萎凋病 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans*) に対する非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の野菜養土混和処理とセル苗根部浸漬処理および両者の併用処理による防除効果を人工汚染圃場で検討した。

材料および方法

試験は農業研究所内パイプハウス圃場で行った。施肥、栽培法は栽培基準に従った。ストック品種は祝赤2号を用い、1996年8月28日にセルトレイに播種して育苗した。ストック萎凋病菌(小沼1株)を土壌フスマ培地で27°C、約1ヶ月間培養し、定植6日前の9月26日に培養菌体をm²当たり170g土壌混和した。非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の穀粒培養粉碎菌体 (10⁸ CFU/g : エーザイ生科研作成, 作成法は前述。) を市販の野菜養土に容量比で2%混和した(養土混和処理)。また、本菌をPSB培地で27°C、10日間振盪培養して作成した培養菌懸濁液 (10⁷ bud-cells/ml) にセル苗の先端側根

部をハサミで1/3程度切断し、定植前日に一晚浸漬した(根部浸漬処理)。また、両者の併用区を設けた。1区4.5m²、2連制とした。10月2日に定植し、12月25日(定植84日後)に発病調査を行い、次の維管束発病指数から維管束発病度を算出し、維管束発病度から防除価を算出した。維管束発病指数0: 維管束褐変無し; 1: 維管束の1/3以下が褐変; 2: 維管束の2/3程度褐変; 3: 維管束の大部分が褐変; 4: 枯死。発病度 = {Σ(発病指数×各指数の個体数) / (4×調査株数)} × 100。防除価 = 100 - (処理区の維管束発病度 / 無処理区の維管束発病度) × 100。

結 果

結果は第4表に示した。無処理区の維管束発病度が43.1であるのに対して、非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の養土混和処理と根部浸漬処理の併用区では維管束発病度が18.8と最も低く、高い防除価(56.4)を示した。養土混和処理区でも維管束発病度22.8、根部浸漬処理



非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の根部浸漬処理



無 処 理

第3図 非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株のストック萎凋病防除効果

第4表 非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の養土混和, セル苗根部浸漬処理によるストック萎凋病防除効果

処 理	草 丈 (cm)	発病株率 (%)	維管束発病度	防 除 価
養土混和処理+根部浸漬処理	58.6 (114)	42.5	18.8	56.4
養 土 混 和 処 理	50.3 (98)	55.7	22.8	47.0
根 部 浸 漬 処 理	61.1 (119)	70.3	29.5	31.6
無 処 理	51.2 (100)	80.6	43.1	

注) ()内数字は無処理区を100とした指数。

区は発病度 29.5 といずれも無処理区に比較して低く、発病抑制効果が認められた (第3図)。一方、草丈は養土混和処理と根部浸漬処理の併用区および根部浸漬処理区が無処理区より高く生育が良好であった。

以上のように、ストック萎凋病に対しては非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の養土混和と根部浸漬の併用処理の防除効果が高かった。

3) アスター萎凋病

アスター萎凋病 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *callistephi*) に対して非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の根部浸漬処理の防除効果を検討するとともに、苗の根部へ付着させることによって植物の発根促進効果を有する非病原性 *F. oxysporum* ES 305 株¹⁶⁾ が本病に対して防除効果を併せ持つかどうかを検討した。

材料および方法

試験は農業研究所内露地圃場で行った。施肥、栽培法は栽培基準に従った。品種はミヨシコマシリーズのピンクを用い、1998年4月27日に野菜養土を充填したセルトレイに播種し、育苗した。アスター萎凋病菌 (CH 97 As 2 株) を PSB 培地を用いて 27°C で 10 日間ジャーフェンターで攪拌培養 (400 rpm/min) して培養菌懸濁液 (10⁷ bud-cells/ml) を作成した。病原菌の培養菌懸濁液 6 l をパーミキュライト 20 l に混和し、6月23日に試験圃場 (38 m²) に散布、土壌混和した。非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株を PSB 培地で 27°C、10 日間振盪

培養して得た培養菌懸濁液 (10⁷ bud-cells/ml) に、ハサミでセル苗の根部先端側の 1/3 程度を切断した苗を一晩浸漬 (根部浸漬処理) し、6月24日に定植した。また、非病原性 *F. oxysporum* ES-305 株の穀粒培養粉砕菌体 (10⁸ CFU/g : エーザイ生科研作成、作成法は前述。) をセル苗の根部底面に付着させた (根部付着処理) のち定植した。栽植密度は株間 15 cm の 2 条植えて、1 区 1.8 m² (約 40 株)、1 連制とした。8月27日 (定植 64 日後) に外観の発病程度 (外観発病指数) を調査するとともに、地際部の茎を切断して維管束の褐変程度 (維管束発病指数) から次式に従ってそれぞれの発病度を算出した。外観発病指数 0 : 健全 ; 1 : 葉の黄化, 萎凋がみられる ; 2 : 葉の黄化, 萎凋が著しい ; 3 : 枯死。維管束発病指数 0 : 維管束褐変なし ; 1 : 維管束の 1/2 以下が褐変 ; 2 : 維管束の大部分が褐変 ; 3 : 枯死。発病度 = {Σ (発病指数 × 各指数の個体数) / (3 × 調査株数)} × 100。また、維管束発病度から次式により防除価を算出した。防除価 = 100 - (処理区の維管束発病度 / 無処理区の維管束発病度) × 100。

結 果

結果は第5表に示した。無処理区の外観発病度および維管束発病度はそれぞれ 12.2 であったのに対し、非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の根部浸漬処理区では、全く発病が認められなかった。一方、非病原性 *F. oxysporum* ES-305 株の根部付着処理区では発病度 5.1 とわずかに発病が認められた。

第5表 非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の苗根部浸漬処理と非病原性 *F. oxysporum* ES-305 株の苗根部付着処理によるアスター萎凋病防除効果

処 理	外 観 調 査		維 管 束 調 査		防 除 価
	発病株率 (%)	発 病 度	発病株率 (%)	発 病 度	
101-2 株根部浸漬処理	0	0	0	0	100
ES-305 株根部付着処理	5.1	5.1	5.1	5.1	58.2
無 処 理	15.7	12.2	15.7	12.2	

以上のように、アスター萎凋病に対しては非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の根部浸漬処理および ES-305 株の根部附着処理ともに防除効果が認められたが、その効果は 101-2 株の方が優れていた。

4) ダイコン萎黄病

ダイコン萎黄病 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*) に対する非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の種子浸漬処理と土壌混和処理による防除効果をポット試験で検討した。

材料および方法

試験は熊本県阿蘇郡西原村のエーザイ生科研熊本事業所内ガラス温室で行い、品種は時無大根を用いた。ダイコン萎黄病菌 (FOR-1 株) を土壌フスマ培地で 27°C で 20 日間培養し、市販の野菜培土に重量比で 1% になるように土壌混和することにより汚染土壌を作成した。非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株については、PSB 培地で 27°C で 10 日間振盪培養して作成した培養菌懸濁液を遠心分離して得た菌体をゼオライトに吸着した自然乾燥製剤¹⁾ (5×10^8 CFU/g) を作成し、重量比で 1% になるように汚染土壌に混和して 7 日間放置した (土壌混和処理区)。また、非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株を PSB 培地で 27°C、10 日間振盪培養した培養菌懸濁液 (10^7 bud-cells/ml) にダイコン種子を室温で一晩浸漬した区 (種子浸漬処理区) を設け、本処理の単独処理と、土壌混和処理との併用処理の防除効果を比較した。一方、無処理区には、蒸留水に室温で一晩浸漬した種子を播種した。試験は、直径 13cm のポリポットを用い、ポット当たり種子を 10 粒播種し、1 区につき 5 ポットを供試した。1992 年 10 月 26 日に播種し、播種後 30 日まで経時的に発病の有無を調査し、発病苗率を算出した。発病苗率から次式により防除価を算出した。防除価 = $100 - (\text{処理区の発病苗率} / \text{無処理区の発病苗率}) \times 100$ 。

結 果

結果は第 6 表に示した。無処理区におけるダイコン萎黄病の発病は、播種後 21 日目に認められ、30 日目には発病苗率で 16.3% となった。これに対して種子浸漬処理区では、無処理区と同様に播種後 21 日目で発病が認められ、30 日目には発病苗率 12.5% となった。一方、種子浸漬処理と土壌混和処理の併用区では、播種後 24 日目に発病が認められ、30 日目には発病苗率 12.8% となった。以上から、非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の種子浸漬処理と土壌混和処理の併用区でダイコン萎黄病の発病がやや遅延したが、その防除効果は低かった。

5) コマツナ萎黄病

コマツナ萎黄病 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans*) に対する非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の土壌混和処理と種子浸漬処理による防除効果をポット試験で検討した。

材料および方法

試験はエーザイ生科研熊本事業所内ガラス温室で行い、品種は安藤早生を用いた。コマツナ萎黄病菌 (F5-2 株) を土壌フスマ培地で 27°C、20 日間培養し、市販の野菜培土に重量比で 1% になるように土壌混和することにより汚染土壌を作成した。非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の穀粒培養粉砕菌体 (10^8 CFU/g : エーザイ生科研作成、作成法は前述。) を重量比 1% で汚染土壌に混和して 7 日間放置した区 (土壌混和処理区) を設けた。さらに、非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株を PSB 培地で 27°C、10 日間振盪培養して作成した培養菌懸濁液 (10^7 bud-cells/ml) にコマツナ種子を 25°C で 3 時間浸漬して播種した種子浸漬処理を加え両者の併用処理区を設けた。一方、無処理区には、蒸留水に 25°C で 3 時間浸漬した種子を播種した。直径 13 cm のポリポットにポット当たり種子を 10 粒播種し、1 区につき 5 ポットを供試

第 6 表 非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の種子浸漬処理および土壌混和処理によるダイコン萎黄病防除効果

処 理	ダイコン萎黄病発病苗率 (%)			防 除 価
	播種後 21 日	播種後 24 日	播種後 30 日	
種子浸漬処理 + 土壌混和処理	0	6.4	12.8	21.5
種 子 浸 漬 処 理	2.1	4.2	12.5	23.3
無 処 理	4.1	6.1	16.3	

注) 防除価は播種後 30 日の発病苗率より算出。

第7表 非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の土壤混和处理および種子浸漬処理によるコマツナ萎黄病防除効果

処 理	コマツナ萎黄病発病苗率 (%)				防 除 価
	播種後 15 日	播種後 25 日	播種後 30 日	播種後 40 日	
土壤混和处理+種子浸漬処理	6.5	15.2	20.0	33.3	44.5
土 壤 混 和 処 理	6.5	23.9	26.7	42.2	29.7
無 処 理	10.9	34.8	48.9	60.0	

注) 防除価は播種後 40 日の発病苗率より算出。

した。1995年5月27日に播種し、播種後40日まで経時的に発病の有無を調査し、発病苗率を算出した。発病苗率から次式により防除価を算出した。防除価 = 100 - (処理区の発病苗率/無処理区の発病苗率) × 100。

結 果

結果は第7表に示した。無処理区におけるコマツナ萎黄病の発病は、播種後15日目に認められ、40日目には発病苗率で60%に増加した。これに対して土壤混和区の発病苗率は、播種後15日目に6.5%、40日目には42.2%となり、無処理区に比較してやや低かった。一方、土壤混和と種子浸漬処理の併用区の発病苗率は、播種後15日目で6.5%、40日目には33.3%と最も低く推移した(防除価は44.5)。以上から、非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の土壤混和と種子浸漬処理の併用は、コマツナ萎黄病に対する発病抑制効果を有することが明らかとなった。

6) シュンギク萎凋病

シュンギク萎凋病 (*Fusarium oxysporum*) に対する非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の土壤混和处理と種子浸漬処理による防除効果をポット試験で検討した。

材 料 お よ び 方 法

試験は品種中葉春菊を用いて、エーザイ生科研熊本事

業所内ガラス温室で行った。シュンギク萎凋病菌(シ63-10株)を土壤フスマ培地で27°C、20日間培養し、市販の野菜培土に重量比で1%になるように土壤混和することにより汚染土壤を作成した。非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の穀粒培養粉砕菌体(10⁸ CFU/g:エーザイ生科研作成,作成法は前述。)を重量比1%で汚染土壤に混和して7日間放置した(土壤混和处理区)。さらに、非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株をPSB培地で27°C、10日間振盪培養して作成した培養菌懸濁液(10⁷ bud-cells/ml)にシュンギク種子を25°Cで3時間浸漬して播種した種子浸漬処理を加えた両者の併用処理区も設けた。一方、無処理区には、蒸留水に3時間浸漬した種子を播種した。直径13cmのポリポットにポット当たり種子を10粒播種し、1区につき5ポットを試した。1995年7月10日に播種し、播種後34日まで経時的に発病の有無を調査し、発病苗率を算出した。発病苗率から次式により防除価を算出した。防除価 = 100 - (処理区の発病苗率/無処理区の発病苗率) × 100。

結 果

結果は第8表に示した。無処理区におけるシュンギク萎凋病の発病は、播種後3日目頃から散見され、播種後7日目には発病苗率で10.6%、同34日目には62%に増加した。これに対して土壤混和区の発病苗率は、播種後7日目で4.3%、同34日目には37.5%となり、発病抑制効果が認められた。一方、土壤混和と種子浸漬処理

第8表 非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の土壤混和处理および種子浸漬処理によるシュンギク萎凋病防除効果

処 理	シュンギク萎黄病発病苗率 (%)				防 除 価
	播種後 7 日	播種後 14 日	播種後 25 日	播種後 34 日	
土壤混和处理+種子浸漬処理	4.3	4.3	12.5	32.5	47.6
土 壤 混 和 処 理	4.3	4.3	20.0	37.5	39.5
無 処 理	10.6	19.1	30.0	62.0	

注) 防除価は播種後 34 日の発病苗率より算出。

の併用区の発病苗率は、播種後7日目で4.3%、同34日目には32.5%（防除価約48）と最も低く推移した。

以上から、非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の土壤混和と種子浸漬処理の併用は、シュンギク萎凋病の発病を抑制した。

7) ホウレンソウ萎凋病

ホウレンソウ萎凋病 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *spinaciae*) に対するペーパーポット移植栽培と非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株ならびに植物の発根促進効果を有する非病原性 *F. oxysporum* ES305 株¹⁰⁾ の組み合わせによる防除効果を人工汚染圃場で検討する。

(1) 試験1：1998年

材料および方法

試験は農業研究所内のパイプハウス圃場で行い、品種はおかめを用いた。ホウレンソウ萎凋病菌（小国1株）を、PSB培地で27℃、10日間ジャーフェーマンターで攪拌培養（400 rpm/min）して菌懸濁液（ 10^7 bud-cells/ml）を作成した。1998年8月2日に、病原菌の培養菌懸濁液3ℓを水で10倍に希釈してじょうろで試験区全面（7㎡）に散布し、小型管理機で土壤混和して人工汚染圃場を設置した。施肥は、栽培基準に従った。試験は移植栽培と直種栽培で行った。移植栽培では、8月12日に連結式ペーパーポットに市販の野菜養土を充填し、ネーキッド種子を1粒ずつ播種して育苗し、8月27日に定植した。直播栽培では、8月12日に圃場に種子を1穴当たり2～3粒ずつ60穴に播種した。非病原性 *F. oxysporum* ES305 株の穀粒培養粉砕菌体（ 10^8 CFU/g：エーザイ生科研作成、作成法は前述。）を水で200倍に希釈した。非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株は、PSB培地で27℃、10日間振盪培養して作成した培

養菌懸濁液（ 10^7 bud-cells/ml）を水で10倍に希釈した。それぞれの希釈液1ℓを播種時と定植前の2回、ペーパーポット苗（30×60cm）にじょうろで灌注した。ES305株2回処理区と101-2株2回処理区の外、播種時にES305株を接種し、定植前に101-2株を接種する併用処理区を設けた。10月12日に供試したすべての株について根部を切断して発病株を調査し、維管束の褐変程度から以下の式で発病度を算出した。発病指数0：健全、1：主根維管束に褐変を認める、2：維管束褐変が著しい、3：枯死。発病度 = {Σ（発病指数×各指数の個体数）/（3×調査株数）} × 100。さらに発病度から次式により防除価を算出した。防除価 = 100（処理区の発病度/無処理（直播）区の発病度）× 100。

結 果

結果は第9表に示した。無処理（直播）区の萎凋病の発病は著しく、ほとんどの種子は発芽せず、発病度は97.2と高かった。これに対して、無処理（移植）区の発病度は21（防除価78.1）となった。以上からペーパーポット移植栽培は直播栽培に比べて高い防除効果を示した。一方、非病原性 *F. oxysporum* ES305 株2回処理区では、発病度10.7（防除価88.9）、101-2株2回処理区では、発病度8.1（防除価91.6）となり、無処理（移植）区に比較して高い防除効果が認められた。ES305株と101-2株の併用処理区においては、発病度3.2（防除価96.7）で枯死株も認められず、防除効果は最も高かった。

(2) 試験2：2001年

材料および方法

試験は農業研究所内パイプハウス内人工汚染圃場で行い、品種はおかめ（ネーキッド種子）を供試した。施肥

第9表 ペーパーポット苗移植栽培と非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株および ES305 株接種処理との組み合わせによるホウレンソウ萎凋病防除効果

処 理	供試株数 (株)	ホウレンソウ萎凋病			防除価	地上部重量 (g)/株
		枯死株率 (%)	発病株率 (%)	発病度		
ES 305 株, 101-2 株併用処理	42	0	9.5	3.2	96.7	50.3
101-2 株 2 回 処 理	37	0.7	10.8	8.1	91.6	37.9
ES 305 株 2 回 処 理	28	10.7	10.7	10.7	88.9	52.0
無 処 理 (移 植)	33	15.2	30.3	21.2	78.1	45.2
無 処 理 (直 播)	60	96.7	98.3	97.2	-*	-*

注) 防除価は直播の無処理区の発病度より算出した。* 生残株数が少なく、算出不能。

は、栽培基準に従った。非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株を、PSB 培地で 27°C、10 日間振盪培養した後、遠心分離して菌体を回収し、ゼオライトに混合して自然乾燥製剤¹⁴⁾ (5×10^8 CFU/g) を作成した。製剤を重量比で 10% になるように市販の野菜養土に混和して連結式ペーパーポットに充填し、2001 年 7 月 31 日に播種した (培養土混和处理区)。また、自然乾燥製剤を用いて、菌濃度 10^6 , 10^7 , 10^8 bud-cells/ml になるように調整した水溶液を作成し、それを菌無接種の野菜養土で育苗したペーパーポット苗に移植当日に灌注 (1 ℓ/区) した (以降、各々 10^6 灌注処理区、 10^7 灌注処理区、 10^8 灌注処理区と称す)。また、培養土混和处理と菌濃度 10^7 bud-cells/ml 灌注処理の併用処理区 (培養土混和・ 10^7 灌注併用処理区) を設けた。8 月 17 日に直播栽培とペーパーポットの発芽調査を行うとともに、当日苗を移植した。直播栽培の播種数は 659、ペーパーポット移植栽培の移植株数は各区 55 で、1 連制とした。9 月 25 日に地際部を切断し、維管束の褐変の有無から発病株率を算出し、次式により防除価を算出した。防除価 = $100 - (\text{処理区} の 発病株率 / \text{無処理 (直播) 区} の 発病株率) \times 100$ 。

結 果

ペーパーポットに播種したハウレンソウ種子 (ネーキッ

第 10 表 直播およびペーパーポットに播種したハウレンソウ種子の発芽率

処 理	発芽率 (%)
ペーパーポット 101-2 株培養土混和	98.4
ペーパーポット 無 処 理	97.2
直 播	13.3

第 11 表 ペーパーポット苗移植栽培と非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株併用処理によるハウレンソウ萎凋病防除効果

処 理	ハウレンソウ萎凋病		
	調査株数 (株)	発病株率 (%)	防 除 価
培養土混和 + 菌濃度 10^7 灌注処理 (移植)	53	0	100
培養土混和处理 (移植)	55	1.8	91.4
菌濃度 10^8 灌注処理 (移植)	47	2.8	86.7
菌濃度 10^7 灌注処理 (移植)	51	5.9	72.0
菌濃度 10^6 灌注処理 (移植)	51	11.8	44.0
無 処 理 (移植)	55	14.8	29.8
無 処 理 (直播)	90 (生残株)	21.1	

注) 菌濃度 $10^8 \sim 10^6$ は灌注菌液 ml 当たりの菌数。
防除価は無処理区 (直播) の発病株率より算出。

ド種子) の発芽率は、非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の培養土混和处理区が 98.4%、無処理区が 97.2% と、両者ともほぼ同等で、高い発芽率が確認された。一方、直播における発芽率は 13.3% と低かった (第 10 表)。

無処理 (直播) 区の生残株の萎凋病発病株率は 21.1% であった。一方、無処理 (移植) 区と同発病株率は 14.8% (防除価 29.8) であった。これに対し、培養土混和・ 10^7 灌注併用処理区では、発病は認められず、高い防除効果が得られた。次いで培養土混和处理区が発病株率は 1.8% (防除価 91.4) と低かった。他方、101-2 株の灌注処理では、 10^8 灌注処理区では発病株率 2.8% (防除価 86.7)、 10^7 灌注処理区では発病株率 5.9% (防除価 72.0)、 10^6 灌注処理区では、発病株率 11.8% (防除価 44.0) となり、菌濃度が高いほど萎凋病の発病が軽減される傾向にあったが、培養土混和处理区より防除効果は低かった (第 11 表)。

以上から、ハウレンソウ萎凋病防除では非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の培養土混和处理・苗灌注処理 (菌濃度 10^7 個/ml 以上) との併用が最も適当と考えられた。

8) キュウリつる割病

キュウリつる割病 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*) に対する非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の胚軸切断浸漬処理と根部浸漬処理による防除効果をポット試験で検討した。

材料および方法

キュウリ品種四葉を用い、エーザイ生科研熊本事業所内ガラス温室で行った。キュウリつる割病菌 (F.o. 5

第12表 非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の胚軸切断浸漬処理と根部浸漬処理によるキュウリつる割防除効果

処 理	キュウリつる割病発病株率 (%)			防 除 価
	播種後 9 日	播種後 21 日	播種後 30 日	
胚 軸 切 断 浸 漬 処 理	9.9	42.9	56.1	26.1
根 部 浸 漬 処 理	16.5	42.9	59.4	21.7
無 処 理	19.8	42.9	75.9	

注) 防除価は播種後 34 日の発病苗率より算出。

No. 3 株) を土壌フスマ培地で 27°C で 20 日間培養し、重量比で 1% になるように市販の園芸培土に土壌混和して汚染土壌を作成した。本葉 2 枚が展開するまで育苗したキュウリ苗は、根部に付着した土壌を流水で除去したのち、根の先端部をハサミで 1/3 程度切断するとともに胚軸を切断して供試苗を作成した。非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株を PSB 培地で 27°C、10 日間振盪培養して培養菌懸濁液 (10^7 bud-cells/ml) を作成し、1993 年 7 月 17 日に根部を切断した苗を 15 時間浸漬 (根部浸漬処理) するとともに、胚軸を切断した苗を 2 時間浸漬 (胚軸切断浸漬処理) した。浸漬後、苗を床土に移植し 10 日間育苗して発根させた後、7 月 28 日に病土を充填した直径 13cm のポリポットに定植した。1 ポット当たり 2 株の苗を定植し、1 処理につき 15 ポットを供試した。定植後 30 日まで経時的に発病の有無を調査して発病株率を算出し、次式により防除価を算出した。防除価 = $100 - (\text{処理区の発病株率} / \text{無処理区の発病株率}) \times 100$ 。

結 果

結果を第 12 表に示した。無処理区におけるキュウリつる割病の発病は、定植後 6 日目頃から認められ、9 日目には発病株率で 19.8%、30 日目には 75.9% に増加した。これに対して非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株根部浸漬処理区の発病株率は、9 日目に 16.5%、30 日目には 59.4% と無処理区に比べやや低く推移した。また胚軸切断浸漬処理区においても、9 日目の発病株率は 9.9%、30 日目で 56.1% となり、発病は無処理区、根部浸漬処理区に比較してやや低く推移したものの、防除価は 26.1 と低かった。

9) メロンつる割病

メロンつる割病 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*) に対する非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の根部浸漬処

理と胚軸切断浸漬処理による防除効果をポット試験で検討した。

材料および方法

メロン品種アールスを用い、エーザイ生科研熊本事業所内ガラス温室で行った。メロンつる割病 (ES メロン株) を土壌フスマ培地で 27°C、20 日間培養し、重量比で 1% になるように市販の園芸培土に土壌混和して汚染土壌を作成した。本葉 2 枚が展開するまで育苗したメロン苗は、根部に付着した土壌を流水で除去したのち、根の先端部をハサミで 1/3 程度切断するとともに胚軸を切断して供試苗を作成した。非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株を PSB 培地で 27°C、10 日間振盪培養して培養菌懸濁液 (10^7 bud-cells/ml) を作成し、1993 年 7 月 17 日に根部を切断した苗を 15 時間浸漬 (根部浸漬処理) する一方で、胚軸を切断した後 2 時間浸漬 (胚軸切断浸漬処理) した。浸漬後、苗を床土に移植し 10 日間育苗して発根させた後、7 月 28 日に病土を充填した直径 13 cm ポリポットに定植した。ポット当たり 2 株の苗を定植し、1 処理につき 15 ポットを供試した。定植後 30 日まで経時的に発病の有無を調査して発病株率を算出し、次式により防除価を算出した。防除価 = $100 - (\text{処理区の発病株率} / \text{無処理区の発病株率}) \times 100$ 。

結 果

結果を第 13 表に示した。無処理区におけるメロンつる割病の発病は、定植後 6 日目頃から認められ、9 日目には発病株率で 16.5%、30 日目には 79.2% に増加した。これに対して非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株根部浸漬処理区の発病株率は、9 日目で 6.6%、30 日目で 62.7% と無処理区に比較してやや低く推移した。また、胚軸切断浸漬処理区においても、発病株率は 9 日目で 6.6%、30 日目で 59.4% と無処理区、根部浸漬処理区に比較してやや低く推移したものの、防除価は約 25 と低かった。

第13表 非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の胚軸切断浸漬処理と根部切断浸漬処理によるメロンつる割病防除効果

処 理	メロンつる割病発病株率 (%)			防 除 価
	播種後 9 日	播種後 21 日	播種後 30 日	
胚 軸 切 断 浸 漬 処 理	6.6	39.6	59.4	25.0
根 部 浸 漬 処 理	6.6	46.2	62.7	20.8
無 処 理	16.5	49.5	79.2	

注) 防除価は播種後 30 日の発病苗率より算出。

10) スイカつる割病

スイカつる割病 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*) に対する非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の根部浸漬処理と胚軸切断浸漬処理による防除効果をポット試験で検討した。

材 料 お よ び 方 法

スイカ品種富士光を用い、エーザイ生科研熊本事業所内ガラス温室で行った。スイカつる割病菌 (ES スイカ株) を土壌フスマ培地で 27°C, 20 日間培養し、重量比で 1% になるように市販の園芸培土に土壌混和して汚染土壌を作成した。本葉 2 枚が展開するまで育苗したスイカ苗は、根部に付着した土壌を流水で除去したのち、根の先端部をハサミで 1/3 程度切断するとともに胚軸を切断してそれぞれ供試苗を作成した。非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株を PSB 培地で 27°C, 10 日間振盪培養して培養菌懸濁液 (10⁷ bud-cells/ml) を作成し、1993 年 8 月 20 日に根部を切断した苗を 15 時間浸漬 (根部浸漬処理) するとともに、胚軸を切断した苗を 2

時間浸漬 (胚軸切断浸漬処理) した。浸漬後、苗は床土に移植し 10 日間育苗して発根させた後、8 月 31 日に病土を充填した直径 13 cm のポリポットに定植した。ポット当たり 2 株の苗を定植し、1 処理につき 15 ポットを供試した。定植後 30 日まで経時的に発病の有無を調査して発病株率を算出し、次式により防除価を算出した。
防除価 = 100 - (処理区の発病株率 / 無処理区の発病株率) × 100。

結 果

結果は第 14 表に示した。無処理区におけるスイカつる割病の発病は、定植後 3 日目頃から認められ、9 日目には発病株率で 26.4%、30 日目には 66.6% に増加した。これに対して非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株根部浸漬処理区の発病株率は、9 日目で 23.1%、30 日目で 59.4%、胚軸切断浸漬処理区の発病株率は、9 日目で 19.8%、30 日目で 59.4% となり、無処理区に比較してやや低い発病推移を示した。

第14表 非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の胚軸切断浸漬処理と根部切断浸漬処理によるスイカつる割病防除効果

処 理	スイカつる割病発病株率 (%)			防 除 価
	播種後 9 日	播種後 21 日	播種後 30 日	
胚 軸 切 断 浸 漬 処 理	19.8	49.5	59.4	10.0
根 部 浸 漬 処 理	23.1	49.5	59.4	10.0
無 処 理	26.4	52.8	66.0	

注) 防除価は播種後 30 日の発病苗率より算出。

III 考 察

サツマイモつる割病防除に有効な非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株 (以下, 101-2 株) の各種作物の土壤伝染性病害のうち, 特にパーティシリウム菌やフザリウム菌による 12 種の導管病に対する防除効果を検討した。

各種野菜, 花卉類の 12 種の病害を対象に試験を行った結果を第 15 表に示した。101-2 株の各種処理は, ダイズ萎凋病, ストック萎凋病, アスター萎凋病, カーネーション萎凋病, シュンギク萎凋病, コマツナ萎黄病, ホウレンソウ萎凋病の 7 種の病害に対して高い防除効果を示したが, ハクサイ黄化病, ダイコン萎黄病, キュウリつる割病, メロンつる割病, スイカつる割病の 5 種類の病害に対しては, 発病を軽減したものの, 明瞭な効果を表さなかった。

101-2 株の植物体への処理法を検討したところ, 培養菌懸濁液への苗の根部浸漬処理, 培養菌懸濁液の土壤灌注処理, 生菌製剤の野菜養土への混和処理およびそれらの併用処理の防除効果が高い傾向を示した。一方, 種子

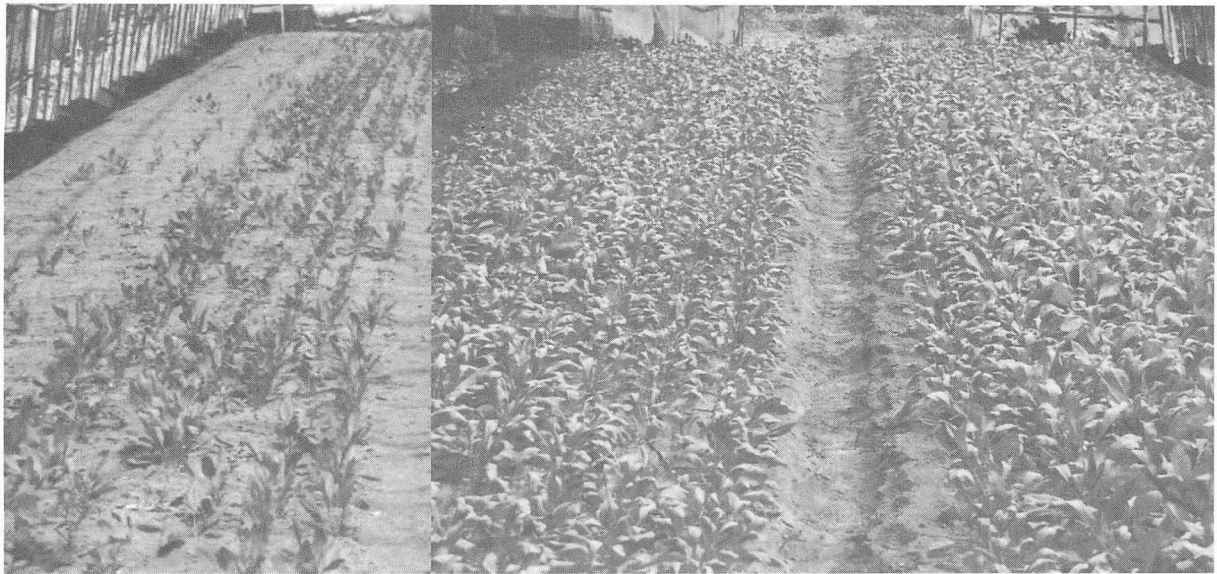
とウリ類の胚軸切断苗の培養菌懸濁液中での浸漬処理の防除効果は低かった (第 15 表)。したがって, 本菌を用いた生物防除の場合, 野菜養土混和処理, 苗根部浸漬処理および野菜養土灌注処理を実施することが可能な「苗移植栽培」を行う作物に適用することが最も有効と考えられた。しかし, 本試験結果は, 対象病害すべてに対し同時に処理効果を検討したものではない。また, 1 病害に対する試験事例数も少ないので, 作物の種類に応じた最適な処理方法や防除効果の安定性を明らかにするにはさらに検討が必要である。

ホウレンソウの苗移植栽培は, ソイルブロック苗移植が奈良県³⁾で, セル成型苗の移植が広島県⁴⁾で, 連結パーポット苗移植が大分県¹⁷⁾や新潟県⁷⁾等で検討され, いずれの移植方法でも夏期の高温乾燥による発芽障害からの回避, 栽培期間の短縮, 栽培回数増加を目的とした場合に有効であることが確認されている。なかでも連結パーポット苗は, 専用の移植機が開発されており, 容易に移植することが可能である⁷⁾。勝部⁶⁾は, ホウレ

第 15 表 各種土壤病害に対する非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の接種処理法とその防除効果

対 象 病 害	非病原性 <i>F. oxysporum</i> 101-2 株の接種処理法						試 験 法		防除効果が認められた接種法		
	種子への接種	育苗時接種	苗への接種			汚染土壌への接種	⑦	ポット試験			圃場試験
	① 種子浸漬処理	② 野菜養土混和処理	③ 苗根部浸漬処理	④ 胚軸切断浸漬処理	⑤ 灌注処理	⑥ 土壌混和処理	併用処理		防除価 50以上	防除価 40~50 未 満	
1. パーティシリウム病											
ダイズ萎凋病	—	—	○	—	—	○	③⑥	○	—	③⑥⑦	—
ハクサイ黄化病	—	○(併)	○(併)	—	—	—	②③	—	○	—	—
2. フザリウム病											
ストック萎凋病	—	○	○	—	—	—	②③	—	○	⑦	②
アスター萎凋病	—	—	○	—	—	—	—	—	○	③	—
カーネーション萎凋病	—	—	○	—	—	—	—	○	—	③	—
シュンギク萎凋病	○(併)*	—	—	—	—	○	①⑥	○	—	—	⑦
コマツナ萎黄病	○(併)	—	—	—	—	○	①⑥	○	—	—	⑦
ホウレンソウ萎凋病	—	○	—	—	○	—	②⑤	—	○	②⑤⑦	⑤
ダイコン萎凋病	○	—	—	—	—	○(併)	①⑥	○	—	—	—
キュウリつる割病	—	—	○	○	—	—	—	○	—	—	—
メロンつる割病	—	—	○	○	—	—	—	○	—	—	—
スイカつる割病	—	—	○	○	—	—	—	○	—	—	—

注) *(併) : 併用処理のみの試験



直播区 (左)

移植栽培区 (中)

移植, 101-2 株併用処理 (右)

第4図 移植栽培と非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の苗灌注処理併用による
ホウレンソウ萎凋病の防除効果 (現地発病圃場)

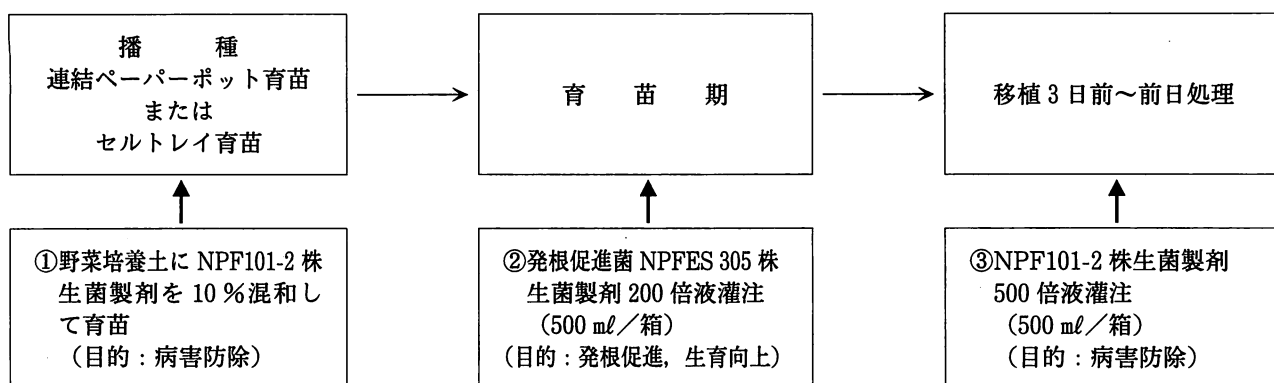
ンソウ萎凋病に対してペーパーポット苗の移植栽培と非病原性 *F. oxysporum* の苗接種処理との併用に高い防除効果が得られることを明らかにしている。本研究でもホウレンソウ萎凋病人工汚染圃場を用いて、ペーパーポット苗移植栽培と101-2株の培養土混和や苗灌注処理との併用について防除効果を検討したところ、高い防除効果が確認された。

また、熊本県の現地発病圃場を用いてペーパーポット苗移植栽培と101-2株の苗灌注処理との併用について試験を行い、高いホウレンソウ萎凋病防除効果が確認されている (第4図)。ホウレンソウのペーパーポット苗の移植にあたっては、老化苗は活着が悪くなるので、本葉2~3枚程度の苗を用いることが重要であることが本試験で認められた。

さらに、根部接種において植物発根促進効果を有する非病原性 *F. oxysporum* ES305株⁶⁾と101-2株の防除効果をアスター萎凋病とホウレンソウ萎凋病で比較したところ、防除効果は101-2株の方が高かった。このこと

から、両作物においてはES305株は発根や生育促進を、101-2株は病害防除を目的として使い分けることが効果的と考えられた。

以上の結果を基に、移植栽培を主としたホウレンソウ萎凋病、ストック萎凋病、アスター萎凋病を対象として非病原性フザリウム菌の生菌製剤を用いた生物防除体系 (第5図) を提案する。本生物防除体系では、ホウレンソウは連結ペーパーポット育苗を、ストックおよびアスターはセルトレイ育苗を基本とする。安定した病害防除効果を得るためには、① (野菜養土に101-2株生菌製剤を混和して育苗) および③ (101-2株生菌製剤の500倍液を灌注処理して移植) の組み合わせが実用的である。また、発根促進による生育の向上と病害防除効果をねらう場合には、② (発根促進菌 ES305株生菌製剤の200倍液を灌注処理) と③ (101-2株生菌製剤の500倍液を灌注処理して移植) の組み合わせが効果的と考えられる。今後、本生物防除体系の有効性を明らかにするためには、多くの実証試験が必要である。



体系1 (①+③体系) : 病害防除効果の安定化を目的とする。

体系2 (②+③体系) : 発根促進, 生育向上および防除効果を目的とする。

- 1) NPFES 305 生菌製剤を, バケツに入れ少量の水で十分混和して所定量に希釈し, 発芽した苗にじょうろで灌注する。
- 2) NPF 101-2 生菌製剤を水で希釈したのち, 十分攪拌してからガーゼでろ過し, 吸着剤のゼオライトを取り除いてからじょうろで灌注する。あるいは, 大きな容器に希釈液を作成しておき, 育苗箱ごと浸漬処理する。この場合, ゼオライトを取り除く必要はないが, 苗地上部まで浸漬しないようにする。
- 3) 最初に NPF 101-2 生菌製剤を用いた場合, 発根促進菌が植物体に定着しにくいので, ①の処理と②の処理は併用しない。①と③あるいは②と③の組み合わせで処理を行う。

第5図 非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株および ES305 株の生菌製剤を利用した
ホウレンソウ萎凋病, ストック萎凋病, アスター萎凋病防除体系

IV 摘 要

- 1) 非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株処理は, ダイズ萎凋病, ストック萎凋病, アスター萎凋病, カーネーション萎凋病, シュンギク萎凋病, コマツナ萎黄病, ホウレンソウ萎凋病に対して, 実用的な防除効果が認められた。
- 2) 非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株処理は, ハクサイ黄化病, ダイコン萎黄病, キュウリつる割病, メロンつる割病, スイカつる割病に対する防除効果は低かった。
- 3) 非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の生菌製剤の野菜養土への混和处理, 培養菌懸濁液中での苗根部浸漬処理および培養菌懸濁液の土壌灌注処理の防除効果は高かったが, 培養菌懸濁液中での種子や胚軸切断苗の浸漬処理の効果は低かった。
- 4) 非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株と発根促進効果を有する同 ES305 株のアスター萎凋病とホウレンソウ萎凋病防除効果には有意な差が見られ, 101-2 株の方が高かった。
- 5) 以上の結果を基にホウレンソウ萎凋病, ストック萎凋病, アスター萎凋病を対象として, 移植栽培と非病原性 *F. oxysporum* 101-2 株の使用を基本とした生菌製剤を用いた生物防除体系を提案した。

V 引 用 文 献

- 1) 雨宮良幹・平野和弥・飯田 格 (1985). トマト半身萎ちょう病に対する抵抗性の誘導. 千葉大園学報 36 : 135 - 139.
- 2) 雨宮良幹・山口健一・平野和弥・飯田 格 (1986). 交叉防御によるトマト萎ちょう病の発病抑制. 千葉大園学報 37 : 79 - 83.
- 3) 荒井 滋・岡山健夫 (1982). ホウレンソウの移植栽培法に関する研究 (第1報) 栽植密度および定植時期が生育・収量に及ぼす影響について. 奈良農試研報 13 : 31 - 37.
- 4) 広島県立農業技術センター・園芸研究部・環境研究部 (1996) 少量培地とセル成型苗によるホウレンソウの不耕起連続栽培. 平成8年度近畿中国農業研究成果情報 : 273 - 274.
- 5) 本多範行 (2000). ラッキョウ乾腐病とその生物防除に関する研究. 福井農試特別報告 12 : 1 - 63.
- 6) 勝部和則 (2001). ホウレンソウ萎ちょう病に関する研究. 岩手農研センター報 2 : 1 - 60.
- 7) 小林繁義 (1998). 連結ペーパーポットを利用したホウレンソウの移植栽培. 今月の農業 42 (8) : 25 - 27.
- 8) 駒田 旦 (1997). 養液栽培におけるトマト萎ちょう病・根腐萎ちょう病の非病原性 *Fusarium oxysporum* 前接種による防除. バイオコントロール研究会レポート 5 : 16 - 24.
- 9) 黒田克利・富川 章・駒田 旦 (1998). 非病原性フザリウム菌によるロックウール栽培トマトの根腐萎凋病の生物防除 (1) ロックウール中の菌密度の推移. 日植病報 64 : 339 (講要).
- 10) 牧野孝宏・柴田昌紀・川島孝宏・小嶋芳幸 (1994). 養液栽培における非病原性フザリウム菌による病害防除 (2) 非病原性フザリウム菌による接種方法とサラダナ根腐病に対する防除効果及び数種作物に対する生育促進効果. 日植病報 60 : 334 (講要).
- 11) 森 充隆・十河和博・鐘江保忠 (1998). 非病原性 *Fusarium oxysporum* 菌によるカーネーション萎ちょう病発病抑制効果. 日植病報 64 : 339 (講要).
- 12) 小川 奎 (1988). サツマイモつる割病に関する研究. 農研センター報告 10 : 1 - 127.
- 13) 小川 奎・駒田 旦 (1984). 非病原性 *Fusarium oxysporum* によるサツマイモつる割病の生物的防除. 日植病報 50 : 1 - 9.
- 14) 小川 奎・渡辺 健 (1992). 有用フザリウム菌の製剤化. 植物防疫 46 : 378 - 381.
- 15) 小田正文 (2003). 新微生物殺菌剤 : 非病原性フザリウム・オキシスポラム菌剤の使い方. 植物防疫 57 : 119 - 122.
- 16) 小田正文・孫工彌壽雄・渡辺 健・小川 奎 (1997). 健全なシンビジウム根内組織より分離された共生フザリウム菌の作物発根促進効果. 日植病報 63 : 237 (講要).
- 17) 大分県農業技術センター・高原農業部 (1996). チェーンポットを用いたホウレンソウ, チンゲンサイの移植栽培法. 九州農業研究成果情報 12 : 273 - 274.
- 18) 手塚信夫・牧野孝宏 (1991). 非病原性 *Fusarium oxysporum* によるイチゴ萎黄病の生物的防除. 日植病報 57 : 506 - 511.
- 19) 渡辺 健・戸嶋郁子・小川 奎 (1991). トマト萎ちょう病に対する非病原性フザリウム菌の定植前接種方法の検討. 関東病虫研報 38 : 85 - 87.
- 20) 渡辺 健・小田正文・孫工彌壽雄・小川 奎 (1997). 非病原性フザリウム菌のフザリウムまたはパーティシリウム萎ちょう病害に対する防除効果. 日植病報 63 : 219 (講要).
- 21) 横山泰裕・堀 武志・宮川正通 (1993). 非病原性フザリウム菌によるチューリップ球根腐敗病の生物防除. 日植病報 59 : 279 (講要).

Studies on practical use of non-pathogenic *Fusarium oxysporum* 101-2 strain
inhibiting Fusarium wilt of sweet potato .

2. The control effect of 101-2 strain on 12 soil-borne diseases

Ken WATANABE, Masafumi ODA, Yasuo SONKU, and Kei OGAWA

Key words ; non-pathogenic *Fusarium oxysporum*, biocontrol, soil-borne disease

Summary

The control effects of non-pathogenic *Fusarium oxysporum* 101-2 strain commercialized as a bio-pesticide 'Marukalite' on 12 soil-borne diseases were examined. The results indicated that the 101-2 strain strongly suppressed the disease development of Verticillium wilt of Soy bean and Fusarium wilt of Carnation, Stock, China aster, Garland chrysanthemum, Spinach and Yellows of Komatsuna (a kind of Chinese cabbage) .

When some inoculation methods were examined, the root soaking method in which the roots were soaked in the bud-cell suspension of 101-2 strain was most effective, followed by the soil-mixing method, in which the dehydrated product of the 101-2 strain was mixed with the soil before seeding. However, the other soaking methods using seed on hypocotyl-cut seedling did not show effectivity.

This result suggests that 101-2 strain is more applicable for transplanting system of vegetables and flowers because root soaking method is suitable for treatment of transplanting plant.

The integrated control systems of Fusarium wilt of Spinach, Stock and China aster were constructed using a combination of the transplanting system and the use of 101-2 strain.