

非病原性フザリウム菌によるトマト 根腐萎凋病の生物防除

黒田克利・富川 章

要 旨

非病原性フザリウム菌を用いたトマト根腐萎凋病の生物防除について検討し、以下の結果を得た。

1. 土壌から分離したフザリウム菌のトマト根腐萎凋病に対する防除効果をトマト幼植物を用いる方法により検定し、さらに作物に対する病原性を検定した。その結果、高い防除効果を示し、作物に病原性を示さない非病原性フザリウム菌 (MFM3 菌) が得られた。
2. MFM3 菌と参考とした非病原性フザリウム菌として F13 菌を供試し、実際のロックウール栽培で根腐萎凋病の防除効果を検討した結果、育苗期である播種時と仮植時に非病原性フザリウムを 10^8 bud-cells/cm³ の菌密度になるように接種すると、本圃での発病が遅延、軽減され、高い防除効果が確認された。
3. ポット試験による土耕栽培試験では、非病原性フザリウム菌 (MFM3 菌, F13 菌) による根腐萎凋病の防除効果が認められた。
4. 非病原性フザリウム菌は、トマト苗の茎に注入接種すると接種部の上下に移行し、接種部から離れた茎先端部でも高率の生存が、さらにまた、幼苗期に根圏に灌注接種すると、根からトマト体内に侵入し、根圏にとどまらず全体に移行し生存することなどが明かになった。

キーワード：非病原性フザリウム菌、トマト、トマト根腐萎凋病、ロックウール栽培

緒 言

本県のトマト栽培が本格的に行われるようになったのは昭和 30 年代の中頃からで、現在では北勢地域を中心に県内各地で栽培されている。特に施設栽培トマトにおいては連作が続くに従って、土壌病害を中心とした各種の連作障害が発生している。特に昭和 40 年代頃から現在の木曾岬町で発生しはじめた根腐萎凋病 (当時は萎凋病 J3) は、その後県下全域のトマト施設に蔓延し、最も重要な病害となっている。

また、これらの連作障害の回避を目的の一つとして、本県では北勢地域を中心に土耕栽培から養液栽培に転換するトマト農家が増加している。しかし、養液栽培は、一旦病原菌が培養液中に混入すると、培養液の循環に伴い急速に移動し、作物の根から浸入して根部に病害を引き起こし、被害は土耕栽培以上に甚大になることが多い。トマトの養液栽培でも土耕栽培と同様に、根腐萎凋病、萎凋病、根腐病、黒点根腐病、青枯病、かいよう病等の根部病害の発生することが確認されている^{3,4)}。

トマトの養液栽培の栽培方式は、水耕と固形培地耕に

大別できるが、固形培地耕の一つであるロックウール栽培が大半を占めており、本県ではこのロックウール栽培の占める割合が他県より多い状況にある⁵⁾。また、筆者らがトマトの養液栽培における根腐萎凋病の発生実態について、県内の養液栽培施設を対象に調査したところ、ロックウール栽培において本病の発生が多い結果を得ている^{6,7)}。したがって、本県のトマトの養液栽培において根腐萎凋病は、重要な病害として位置づけることができる。

そこで、トマト栽培で問題となる根腐萎凋病の新たな防除対策として、非病原性フザリウム菌を利用した生物防除の可能性を検討した。試験に当たり、根腐萎凋病の防除効果が認められる非病原性フザリウム菌をトマトの幼植物体を用いて選抜した。次に有望菌株を用いたトマト根腐萎凋病に対する防除効果を、ロックウール栽培を主体に検討し、さらに土耕栽培による試験を行った。一連の試験により若干の成果が得られたので紹介する。

材料および方法

1. 非病原性フザリウム菌の選抜

トマト根腐萎凋病の防除効果が期待される有用微生物として非病原性フザリウム菌を対象に菌株の選抜を行った。フザリウム菌の採取は、三重県内のイチゴ、ナシ、カキ、ブドウ、ミカン、サツキ、チャの栽培圃場から土壌を採取し、土壌を駒田培地に分注し繁殖したフザリウム菌のコロニーのうち、菌そうの色から *Fusarium oxysporum* 菌と判断される菌を選び、74 菌株を保存し供試した。さらに、トマト根腐萎凋病に対して圃場レベルで防除効果の認められる非病原性フザリウム菌として F13 菌⁹⁾ (島根大学よりの分譲菌) を参考菌として加えた。病原菌は現地の養液栽培施設で発生したトマト根腐萎凋病の発病株から分離した病原菌 (91121201 菌) を用いた。

トマト根腐萎凋病に防除効果の高いフザリウム菌 (この段階では、トマトをはじめ主要作物への病原性は未検討) を検索するため、実験室内での検定とともに、植物 (トマト) に対する発病抑制効果も観察できる方法として、フザリウム菌の病原性検定に用いられるサンチェス法¹⁰⁾ を参考に考案した検定方法により行った⁹⁾ (図1)。

検定方法は以下のとおりである。①PDA に7日間培養した各供試菌株の菌そうを4mm径のコルクボーラーで打ち抜き、1.75%の素寒天を入れた9cm径のシャーレに4個置床する。②そこにトマト種子 (品種：桃太郎) を

シャーレ当たり10粒置床し、25℃で5日間、散光下で培養することにより供試菌と発芽したトマト幼植物を接触させる。③トマトの幼植物を病原菌を培養した素寒天上に移植し、25℃で2週間散光下に置き、幼植物と病原菌を接触させる。④根腐萎凋病菌がトマトの根に感染し、発病すると幼植物の胚軸部および根部分が褐変するので、その褐変程度を程度別に肉眼観察し、発病抑制効果を判定する。なお、発病程度は0：胚軸部に褐変なし、1：胚軸部にわずかな褐変あり、2：胚軸部に明瞭な褐変あり、3：胚軸部の上下部分に褐変あり、4：枯死とした。発病度は Σ (発病程度別幼植物体数 × 指数) ÷ (調査幼植物体数 × 4) × 100 により算出した。防除値は $100 - (\text{供試菌株の発病度} \div \text{無処理の発病度}) \times 100$ により算出した。

2. 選抜した拮抗微生物の作物に対する病原性

MF3 菌および F13 菌の作物に対する病原性を検討した。

供試した作物 (品種) は、トマト (ハウス桃太郎)、ミニトマト (ミニキャロル)、キュウリ (シャープ1)、メロン (プリンスメロン)、ナス (千両)、ホウレンソウ (アクティブ) を供試した。試験は1997年の7~8月に実施した。クロロピクリン燻蒸剤で予め殺菌した土壌 (山砂：堆肥=3：1) をプランターに入れた。土壌にジャガイモ液体培地で25℃、7日間振とう培養した各菌株を

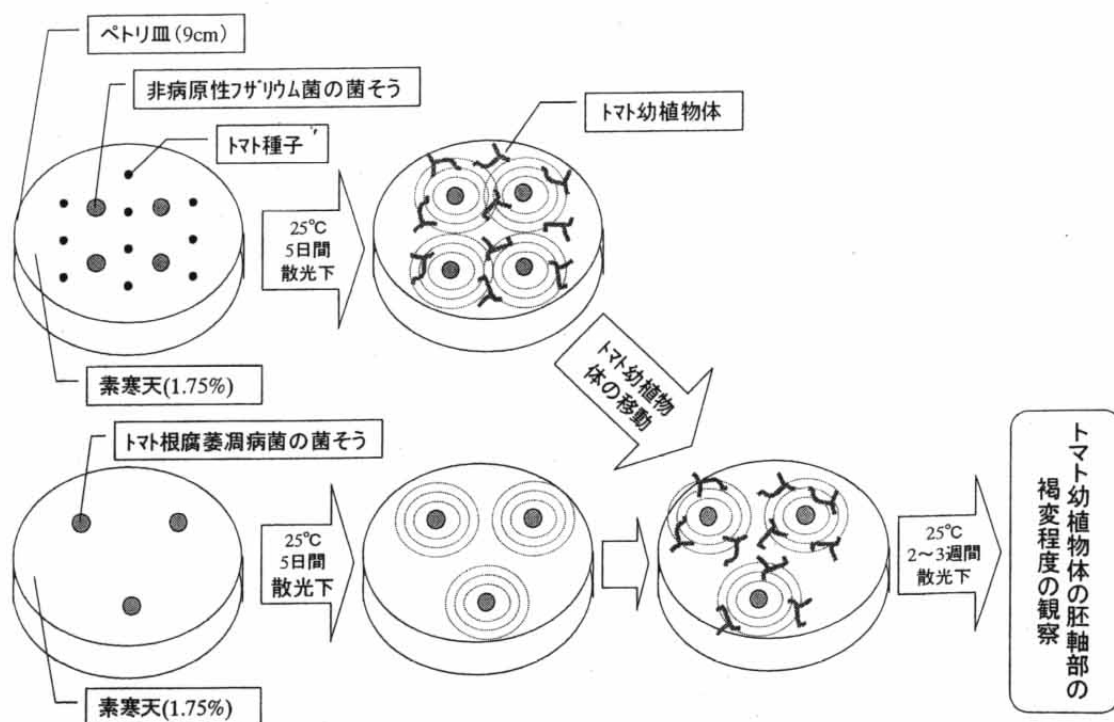


図1 トマトの幼植物体を用いた非病原性フザリウム菌による根腐萎凋病の発病抑制効果の検定方法

10⁸bud-cells/mlの菌密度でプランター当たり2リットル混和接種した。接種2日後に各作物の種子を播種し、播種22~33日後に各作物の根部および地際部の茎の褐変程度を観察した。

3. ロックウール栽培トマトにおける根腐萎凋病の防除

トマトのロックウール栽培において、非病原性フザリウム菌による根腐萎凋病の防除効果を調べるに当たり、非病原性フザリウム菌の接種時期は育苗期が適当であると考えた。その理由は、①育苗期に根腐萎凋病に感染する場合や、本圃が病原菌にすでに汚染されている場合がある^{6,7)}ことから、できるだけ早い段階に非病原性フザリウム菌を接種し、根腐萎凋病の感染に備える必要がある。②育苗期の接種は、接種作業を効率的に行い、接種菌量を均一にすることができる。さらに、接種方法として、育苗培土(ロックウール)へ菌液を直接灌注する方法を基本とし、種子に菌を付着させた場合や本圃定植後の追加接種の効果についても検討を加えた。

試験1. 非病原性フザリウム菌の接種菌密度と防除効果

試験は1996~1997年にかけて農業研究部内のガラス温室で実施した。品種は「ハウス桃太郎」を供試し、8月27日に播種用ロックウールキューブ(3.6cm×4cm×4cm)に播種し、9月4日に仮植用ロックウールキューブ(7.5cm×7.5cm×7.5cm)に移植し、9月18日に定植した。試験規模は1区8株植えの2反復とした。非病原性フザリウム菌はF13菌、病原菌はトマト根腐萎凋病菌(92052101菌, nit変異菌株^{12, 14, 15, 16)})を供試し、いずれもジャガイモ液体培地で25℃, 7日間振とうした菌液を用いた。非病原性フザリウム菌は、播種時に播種用ロックウールキューブ当たり10⁵bud-cells/cm³の菌密度になるように灌注接種し、仮植時には仮植用ロックウールキューブ当たり10⁴, 10⁵, 10⁶bud-cells/cm³の菌密度にそれぞれなるように灌注接種した。病原菌は、9月20日(定植2日後)に仮植用ロックウールキューブに灌注接種し、菌密度は10⁵bud-cells/cm³になるようにした。根腐萎凋病の発病は、地上部の発病を経時的に調査し、その発病を程度別に指数化した。発病指数は、0:萎れなし、1:茎頂に萎れが認められる、2:葉に萎れが認められる、3:株全体が青枯状に萎れる、4:枯死とした。発病度をΣ(発病程度別株数×指数)÷(調査株数×4)×100により算出した。また、ロックウールキューブ内の病原菌およびF13菌の菌密度の推移を調査し、病原菌はCGMBP培地¹⁷⁾で、F13菌は駒田培地を用いた。さらに、第1~6果房の成熟果の果実数および重量を調査した。

試験2. 非病原性フザリウム菌の種子接種による防除効果

試験は1998~1999年にかけて農業研究部内のガラス温室で実施した。品種は「ハウス桃太郎」を供試した。非病原性フザリウム菌として、MFM3菌とF13菌を供試し、ジャガイモ液体培地で25℃, 7日間振とう培養した菌液を用いた。非病原性フザリウム菌の種子接種は、10⁸bud-cells/mlに調製した各菌液100mlにつき種子100粒を5時間浸漬し、播種用ロックウールキューブに播種(8月31日)した。播種9日後に仮植用ロックウールキューブに移植した際、仮植時に非病原性フザリウム菌を追加接種しない区と、MFM3菌およびF13菌を10⁵bud-cells/cm³の密度になるように追加接種する区を設けた。病原菌は9月16日(定植9日前)に仮植用ロックウールキューブにそれぞれ10⁵bud-cells/cm³の密度になるように接種し、9月9日に定植した。試験規模は1区8株植えて2反復とした。根腐萎凋病の調査は、試験1に準じた。

試験3. 非病原性フザリウム菌の生育期の追加接種による防除効果

試験は1999~2000年にかけて農業研究部内のガラス温室で実施した。品種は「ハウス桃太郎」を供試し、9月8日に播種用ロックウールキューブに播種し、9月16日に仮植用ロックウールキューブに移植し、10月5日に定植した。試験規模は1区8株植えて2反復とした。非病原性フザリウム菌はMFM3菌とF13菌、病原菌はトマト根腐萎凋病菌(92052101菌, nit変異菌株)を供試し、いずれもジャガイモ液体培地で25℃, 7日間振とうした菌液を用いた。非病原性フザリウム菌は、播種時に播種用ロックウールキューブ当たり10⁵bud-cells/cm³の菌密度になるように灌注接種し、仮植時に仮植用ロックウールキューブ当たり10⁵bud-cells/cm³の菌密度にそれぞれなるように灌注接種した。さらに、一部の試験区において11月12日(定植38日後)に仮植用ロックウールキューブ当たり10⁵bud-cells/cm³の菌密度で灌注接種した。病原菌は、10月6日(定植1日前)に仮植用ロックウールキューブに灌注接種し、10⁵bud-cells/cm³の菌密度になるようにした。根腐萎凋病の調査は、試験1に準じた。また、第1, 2果房の成熟果の果実重量を調査した。

4. 土耕栽培トマトにおける根腐萎凋病の防除

試験は1998~1999年にかけて農業研究部内のガラス温室内でポット栽培で行った。1/2, 000aのワグネルポットを使用し、土壌(山砂:パーク=3:1)を充填後、クローピクリン燻蒸剤で消毒後使用した。品種は「ハウス桃太郎」を用い、育苗培土としてロックウールおよび市

販育苗培土（コンバル：住友林業）を供試した。非病原性フザリウム菌はMFM3菌とF13菌、病原菌はトマト根腐萎凋病菌（92052101菌，nit変異菌株）を供試し、いずれもジャガイモ液体培地で25℃、7日間振とうした菌液を用いた。

ロックウールを育苗培土に使用した試験は、8月31日に播種用ロックウールキューブに播種し、9月9日に仮植用ロックウールキューブに移植し、9月25日に定植した。試験規模は1区2株植え、9ポット1反復とした。非病原性フザリウム菌は、仮植時および定植当日に仮植用ロックウールキューブ当たり 10^5 bud-cells/cm³の菌密度になるように灌注接種した。病原菌は9月16日（定植21日後）に 10^5 bud-cells/mlの菌密度で各ポットに1リットルの割合で灌注接種した。

市販育苗培土を使用した試験では、コンバルをポリポット（径7.5cm，深さ6.5cm）に充填して行った。9月4日に播種し、9月30日に定植した。試験規模は1区1株植え、6ポット1反復とした。非病原性フザリウム菌は、播種時および定植当日に育苗培土が 10^5 bud-cells/cm³の菌密度になるように灌注接種した。病原菌は9月16日（定植14日後）に 10^5 bud-cells/mlの菌密度で各ポットに1リットルの割合で灌注接種した。根腐萎凋病の発病の調査は、ロックウール栽培試験のときと同様の方法で行った。

5. 非病原性フザリウム菌のトマト体内への移行性

非病原性フザリウム菌をトマト苗に接種した場合、菌がトマトの体内に侵入するかどうか、さらに侵入した場合どの部位にまで移行するかについて検討した。

試験は1997年に実施し、栽培は農業研究部内の屋外型人口気象室内で行った。品種は「ハウス桃太郎」を供

試し、5月29日に播種用ロックウールキューブに播種し、6月10日に仮植用ロックウールキューブに移植した。非病原性フザリウム菌は、F13菌を供試し、ジャガイモ液体培地で25℃、7日間振とうした菌液を用いた。

F13菌の接種は、播種12日後に仮植用ロックウールキューブ当たり 10^5 bud-cells/cm³の菌密度になるように灌注接種する方法と、播種39日後に第1葉節下2cmの主茎内部に 10^8 bud-cells/mlの菌密度で株当たり0.1mlを1.2mm径の注射器により注入接種する方法により行った。非病原性フザリウム菌のトマト体内の分布の調査は、トマトを部位別に切断し、切断部を駒田培地に分離し、F13菌の繁殖を調べた。なお、ロックウールキューブをトレイに並べ、キューブ表面をポリフィルムで覆い、外部からの菌の侵入を防止した。

結果および考察

1. トマト根腐萎凋病に対する拮抗微生物の選抜

供試したフザリウム菌の74菌株は、菌株により発病抑制効果が異なり、菌株により根腐萎凋病の発病を著しく抑制する菌株が認められることが明らかとなった。このことから、考案した検定方法は、フザリウム菌による根腐萎凋病の発病抑制効果の強弱を、実験室内で植物体の観察により判定できる方法と考えられた。供試した74菌株のうち、防除価が81以上を示した菌株は21.6%（16菌株）、91以上を示した菌株は12.1%（9菌株）であった（表1）。防除価が91以上を示した9菌株のうち、防除価96.4を示したMFM3菌を防除効果の高い菌株として選抜し、防除試験に供試した。また、参考菌として供試したF13菌は、防除価が92.8と本検定により高い発病抑制効果を示した（表2）。

表1 土壌から採取したフザリウム菌のトマト幼植物体における根腐萎凋病に対する発病抑制効果

採取圃場	供試菌株数	防除価別菌株数						
		50以下	51~60	61~70	71~80	81~90	91~100	
イ チ ゴ	8	1	1	2	2	1	1	
カ キ	10	2	2	1	1	2	2	
ナ シ	9	2	1	2	2	0	2	
ク ワ	10	2	2	2	2	0	2	
サ ツ キ	10	4	4	0	1	1	0	
ブ ド ウ	9	2	0	0	4	2	1	
ミ カ ン	10	9	0	0	0	0	1	
チャ	8	4	1	1	1	1	0	
合計	74	26	11	8	13	7	9	
(%)	(100)	(35.1)	(14.9)	(10.8)	(17.6)	(9.5)	(12.1)	

無処理の発病度：92.5

表2 防除価91以上を示した菌株

菌株名	採取圃場	防除価
MFS9	イチゴ	95.5
MFK1	カキ	91.0
MFK3	カキ	91.0
MFP3	ナシ	97.3
MFP7	ナシ	93.7
MFM3	クワ	96.4
MFM6	クワ	92.8
MFG6	ブドウ	92.5
MFO1	ミカン	92.8
F13	島根大分譲	92.8

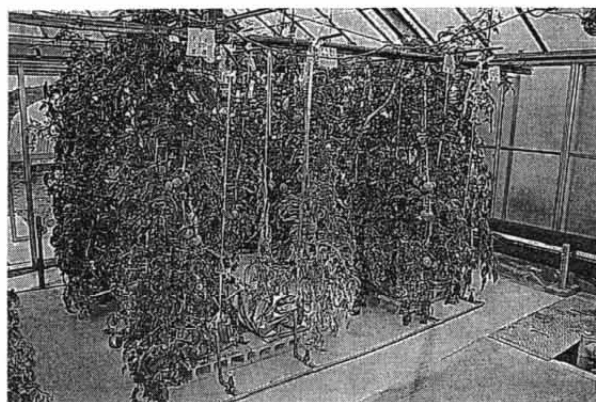


写真1 非病原性フザリウム菌 (F13 菌) を利用したロックウール栽培トマトの根腐萎凋病の防除
左からF13菌接種, F13菌無接種, F13菌接種, F13菌接種, 定植118日後の状態

2. 選抜した拮抗微生物の作物に対する病原性

MFM3菌はトマト, ナス, キュウリ, メロン, ホウレンソウの供試した品種に対して病原性を示さなかったことから, 非病原性フザリウム菌として扱うことに問題がないと考えられた。また, 参考菌として供試したF13菌も同様に病原性を示した作物は認められなかった (表3)。

3. ロックウール栽培トマトにおける根腐萎凋病の防除

試験1. 非病原性フザリウム菌の接種菌密度と防除効果

根腐萎凋病の地上部の発病は, F13菌無接種区では定植85日後から萎凋症状が認められ, その後発病が進展

し, 165日後には発病度75.0と多発した。一方, F13菌接種区では, 仮植時に 10^4 および 10^5 bud-cells/cm³の菌密度で接種した区では定植118日後に発病が認められ, 10^6 bud-cells/cm³の菌密度で接種した区では134日後に発病が認められた。F13菌の接種区ではいずれの区においても発病の進展は緩慢で, 無接種区に比較し発病程度は軽かった。定植181日後には, 10^4 bud-cells/cm³接種区で発病度39.6, 10^5 bud-cells/cm³接種区で発病度41.7, 10^6 bud-cells/cm³接種区で最も高い防除効果が得られた (図2, 写真1)。

表3 MFM3菌とF13菌の数種作物に対する病原性

供試菌株	供試株数	根部および地際部の維管束の褐変が認められた株数				
		トマト (ハウス桃太郎) × (ミニキャロル)	ナス (千両)	キュウリ (シャープ1)	メロン (プリンス)	ホウレンソウ (アクティブ)
MFM3菌	12	0	0	0	0	0
F13菌	12	0	0	0	0	0

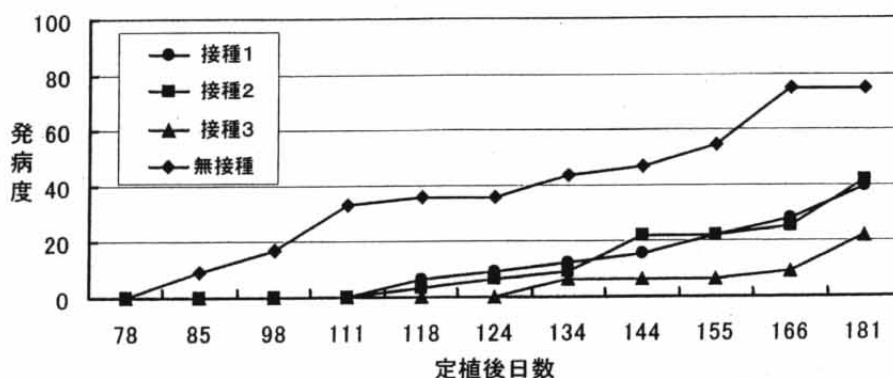


図2 非病原性フザリウム菌 (F13 菌) によるロックウール栽培トマトの根腐萎凋病の防除効果

仮植用ロックウールキューブあたりの接種菌密度は接種1: 10^4 , 接種2: 10^5 , 接種3: 10^6 bud-cells/cm³に調整した。

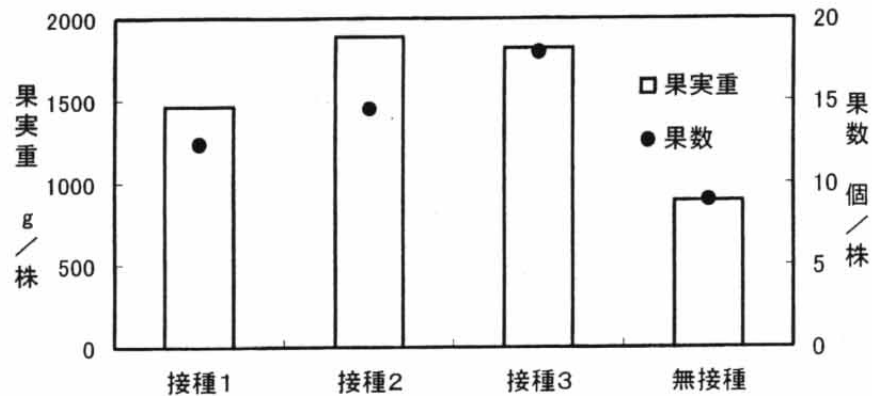


図3 仮植用ロックウールキューブあたりのF13菌の接種菌密度の違いがロックウール栽培トマトの収量に及ぼす影響

仮植用ロックウールキューブあたりのF13菌の接種菌密度は接種1: 10^4 、接種2: 10^5 、接種3: 10^6 bud-cells/cm³に調整した。第1~6果房について調査した。

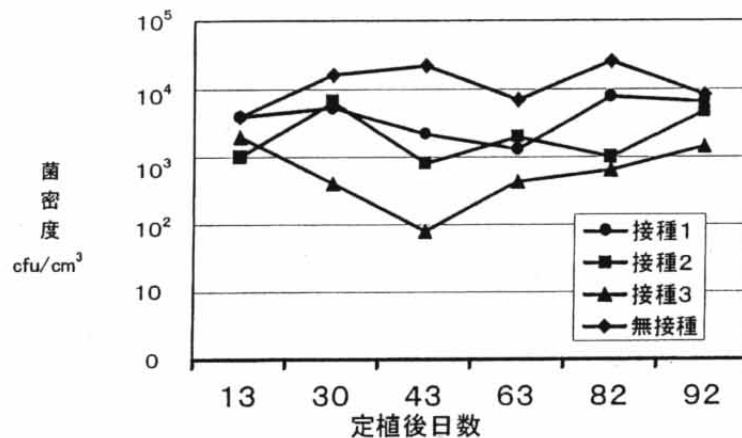


図4 仮植用ロックウールキューブ内の病原菌密度の推移

仮植用ロックウールキューブあたりのF13菌の接種菌密度は接種1: 10^4 、接種2: 10^5 、接種3: 10^6 bud-cells/cm³に調整した。

また、トマトの収量は、F13菌無接種区では根腐萎凋病の多発により減収したが、F13菌接種区のいずれも果実重、果数とも無接種区に比較し多かった(図3)。

病原菌の密度は、F13菌の接種菌量および無接種の間に、また定植後の日数によって若干差が認められたが、菌無接種区では $10^3 \sim 10^4$ cfu/cm³ で検出された。また、仮植時に 10^4 および 10^5 bud-cells/ml の密度で接種した区では、病原菌は 10^3 cfu/cm³ で検出されたが、仮植時に 10^6 bud-cells/ml の密度で接種した区では、病原菌は $10^2 \sim 10^3$ cfu/cm³ で検出された。F13菌の接種区では、接種した病原菌の菌密度が無接種区に比較し一時的に菌密度が低下したが、特に接種菌密度が多い 10^6 bud-cells/ml 接種区でその傾向が顕著であった(図4)。F13菌の密度は仮植時に 10^4 bud-cells/ml の密度で接種した区では $10^3 \sim 10^3$ cfu/cm³ で、 10^5 bud-cells/ml の密度で接種した区

では $10^3 \sim 10^4$ cfu/cm³ で、 10^6 bud-cells/ml の密度で接種した区では、 $10^4 \sim 10^5$ cfu/cm³ で検出された。ロックウールキューブに仮植時に接種したF13菌は、接種した当初より若干密度の低下が認められたが、各区とも長期間(定植後92日間)にわたり比較的安定した菌密度が維持された(図5)¹⁰⁾。

試験2. 非病原性フザリウム菌の種子接種による防除効果

地上部の根腐萎凋病の発病は、非病原菌無接種区およびF13菌種子接種区で定植73日後に、MFM3菌種子接種区で定植80日後に、F13菌およびMFM3菌の種子・仮植接種区で定植84日後に認められた。非病原菌無接種区、F13菌およびMFM3菌の種子接種区では発病の進展は早かったが、F13菌およびMFM3菌の種子・仮

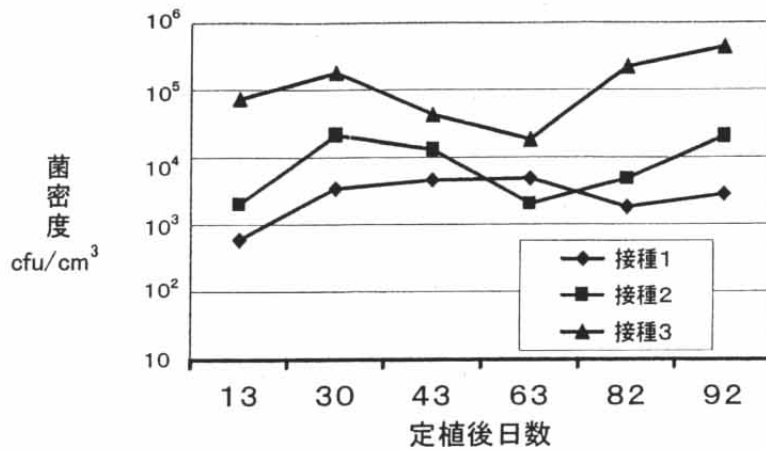


図5 仮植用ロックウールキューブ内の非病原性フザリウム菌 (F13 菌) 密度の推移
仮植用ロックウールキューブあたりの F13 菌の接種菌密度は接種 1 : 10⁴, 接種 2 : 10⁵, 接種 3 : 10⁶ bud-cells/cm³ に調整した.

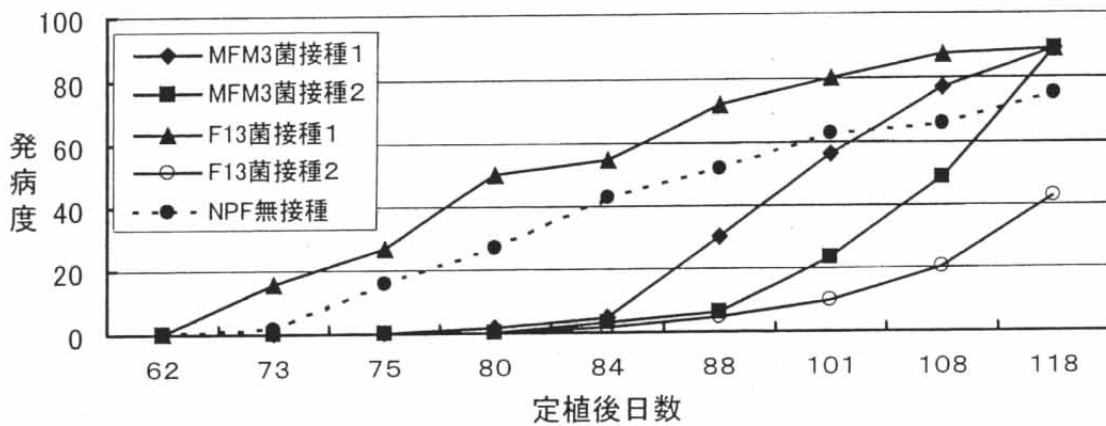


図6 非病原性フザリウム菌の種子接種によるロックウール栽培トマトの根腐萎凋病の防除効果
非病原性フザリウム菌の接種方法は MFM3 菌接種 1 : 種子接種, MFM3 菌接種 2 : 種子接種+仮植時接種, F13 菌接種 1 : 種子接種, F13 菌接種 2 : 種子接種+仮植時接種とした。
NPF : 非病原性フザリウム菌

植接種区は比較的緩やかであり、特に F13 菌接種区の発病程度は軽かった (図 6)。非病原性フザリウム菌の接種方法として、種子接種単独の防除効果が劣り、種子接種に仮植時の追加接種を行う方法において防除効果が認められた。ロックウール栽培トマトにおいて非病原性フザリウム菌を利用した根腐萎凋病の防除を行うには、ロックウールキューブなどの培土に高密度の非病原性フザリウム菌を保持した状態で本圃に苗を定植する必要があると考えられた。

試験 3. 非病原性フザリウム菌の生育期の追加接種による防除効果

地上部の根腐萎凋病の発病は、非病原性フザリウム菌無接種区で定植 65 日後に萎凋症状が認められ、その後急速に進展し、多発した。一方、MFM3 菌、F13 菌の

播種時・仮植時接種区および播種時・仮植時・生育期追加接種区のいずれでも、無接種区と比較して発病の顕著な遅延と軽減効果が認められた。また、生育期の追加接種は、追加接種を実施しない場合に比べ、F13 菌で防除効果が若干高まる傾向が見られたが、MFM3 菌では効果に差が認められなかった (図 7)。

トマトの収量は、MFM3 菌および F13 菌の接種区では、播種時・仮植時接種区および播種時・仮植時・生育期追加接種区のいずれにおいても非病原性フザリウム菌無接種区に比べ収量が増加したが、いずれの菌株も生育期追加接種区による収量増が顕著であった (図 8)。

非病原性フザリウム菌の播種時・仮植時接種による本圃での根腐萎凋病発病の軽減・遅延効果は期待できるが、効果の持続性を高めるために生育期の追加接種は、効果を一層増大させる可能性があると考えられた。

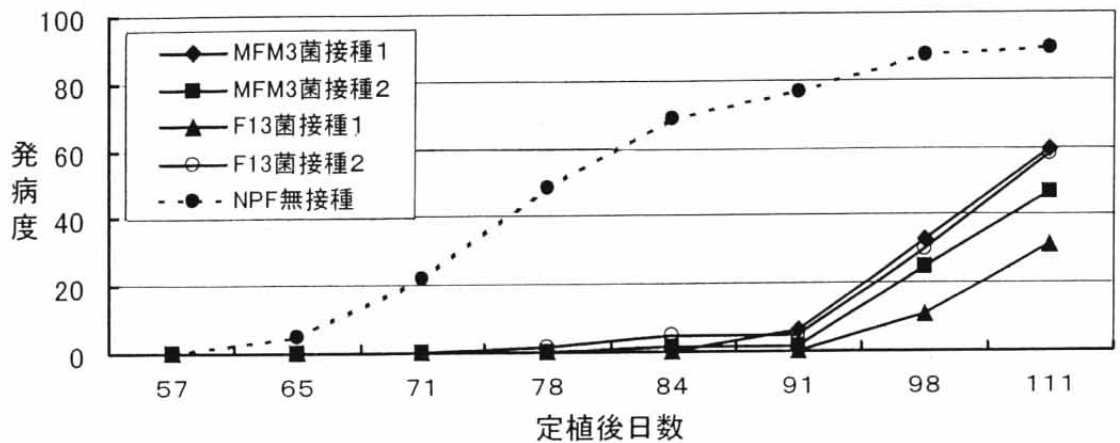


図7 非病原性フザリウム菌の生育期接種によるロックウール栽培トマトの根腐萎凋病の防除効果

非病原性フザリウム菌の接種方法はMFM3菌接種1：播種時接種＋仮植時接種＋生育期追加接種，MFM3菌接種2：播種時接種＋仮植時接種，F13菌接種1：播種時接種＋仮植時接種＋生育期追加接種，F13菌接種2：播種時接種＋仮植時接種とした。

NPF：非病原性フザリウム菌

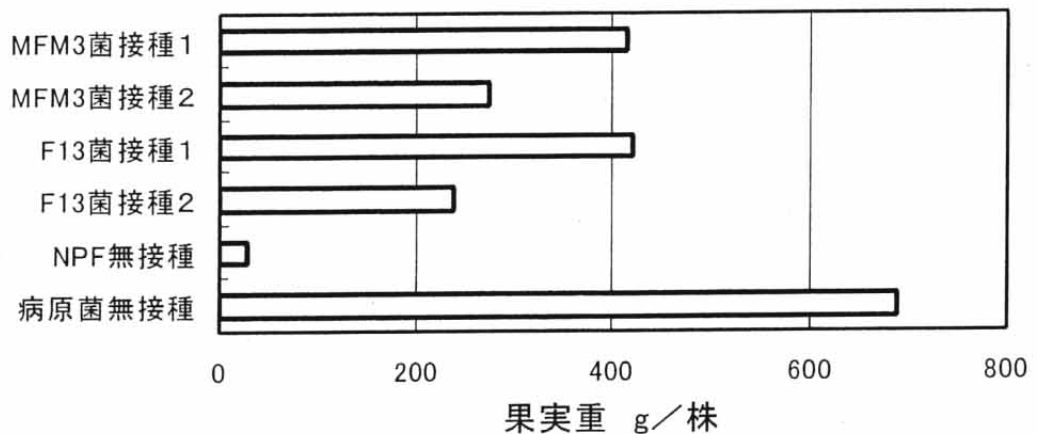


図8 非病原性フザリウム菌による用いたロックウール栽培トマトの収量

非病原性フザリウム菌の接種方法はMFM3菌接種1：播種時接種＋仮植時接種＋生育期追加接種，MFM3菌接種2：播種時接種＋仮植時接種，F13菌接種1：播種時接種＋仮植時接種＋生育期追加接種，F13菌接種2：播種時接種＋仮植時接種とした。

NPF：非病原性フザリウム菌

第1, 2果房について調査した。

4. 土耕栽培トマトにおける根腐萎凋病の防除

土壌中の病原菌数は、接種1日後 10^4 cfu/乾土1gであった。育苗培土にロックウールを使用した試験では、非病原性フザリウム菌無接種区で、定植27日後に発病が認められ、その後発病の進展が認められた。MFM3菌は、定植27日後に無接種区同様発病が認められたが、その程度は軽く、その後の発病の進展は極めて僅かであった。F13菌は定植88日後まで発病が認められず、124日後に発病が認められたが、その程度は軽かった。培土にロックウールを供試した場合、MFM3菌およびF13菌のいずれも防除効果が認められた（図9）。

また、育苗培土にコンバルを用いた試験では、MFM3

菌は定植124日後まで発病が認められず高い防除効果を示したが、F13菌は定植22日に発病が認められ、その後発病の進展は認められなかったもの、非病原性フザリウム菌無接種区と同等の発病度を示し、防除効果が全く認められなかった。コンバルでは、防除効果が供試菌株により大きく異なる結果となった（図10）。

育苗培土の種類と育苗中に接種する非病原性フザリウム菌の定着性を考えた場合、播種用ロックウールキューブは無菌状態で使用を開始するため、接種した非病原性フザリウム菌は他の微生物の影響を受けることは殆どなく、定着できると考えられる。一方、コンバルは予め微生物を豊富に保持した状態の培土であり、非病原性フザ

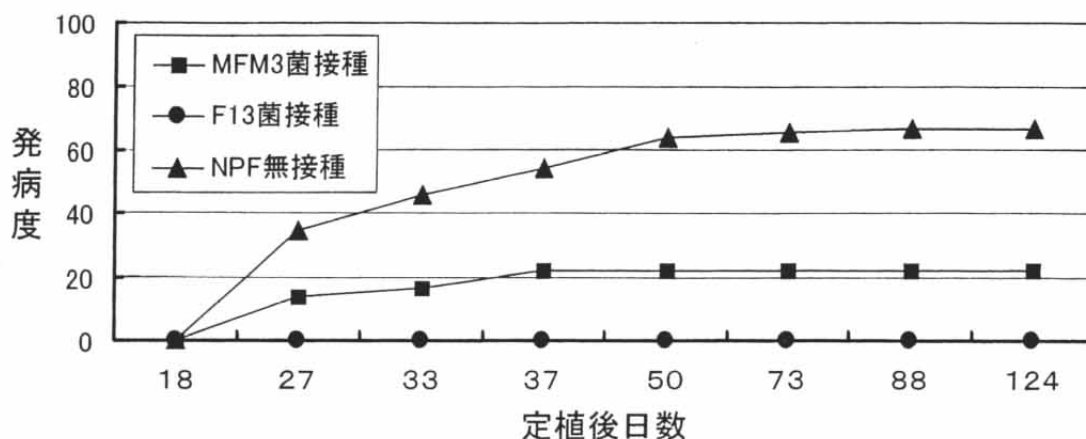


図9 育苗培土にロックウールを使用したときの非病原性フザリウム菌による土耕栽培トマトの根腐萎凋病の防除効果
NPF：非病原性フザリウム菌

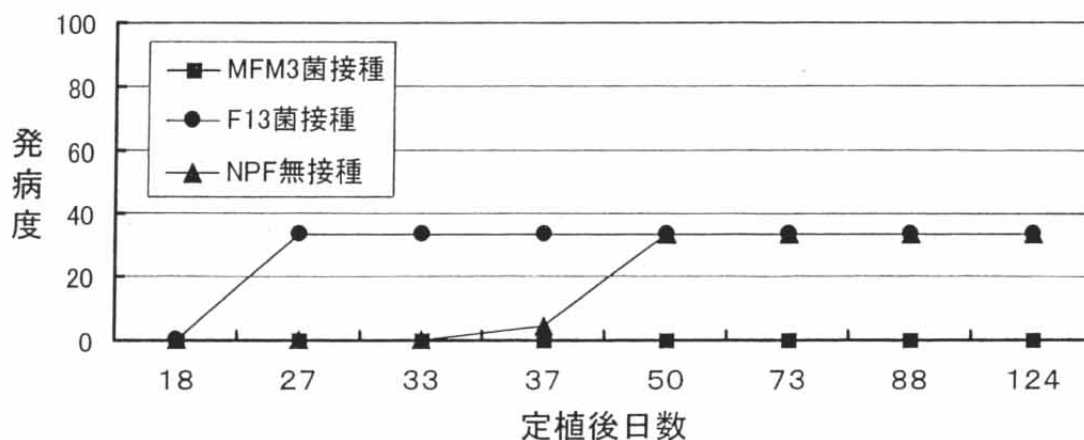


図10 育苗培土にコンパルを使用したときの非病原性フザリウム菌による土耕栽培トマトの根腐萎凋病の防除効果
NPF：非病原性フザリウム菌

リウム菌を接種した段階で他の微生物との競合が起こっていると考えられる。したがって、コンパルはロックウールに比べ非病原性フザリウム菌の定着性が劣ると考えられる。

以上のことから、ロックウール栽培で根腐萎凋病に対して高い防除効果を示す非病原性フザリウム菌は、ポットを用いた土耕栽培においても防除効果が見られることが確認できた。土耕栽培においても、ロックウール栽培と同様、育苗期に非病原性フザリウム菌を接種するのが防除効果の発現に有効と考えられ、また、非病原性フザリウム菌の定着性に優れた育苗培土を使用することが重要であると考えられる。

5. 非病原性フザリウム菌のトマト体内への侵入と移動

播種12日後のトマト苗へのF13菌灌注接種により、その15日後には主根、地際部、子葉節からF13菌が10株中9株で高率に分離され、そのうち3株では茎先端か

らも分離された。さらに接種25日、35日、48日後にも各部位について菌の分離をしたところ、地際部、主根から9株以上かすべての株で分離された。そして、子葉節、下位から上位の葉節間や茎先端からも一部の株で分離され、先端部ほど分離できる株は低くなる傾向が見られた(表4)。

また、F13菌のトマト苗の第1葉節下2cm位置の茎内部への注入接種では、接種11日後には主根から茎先端まですべての部位からF13菌が分離された(表5)。

このように、非病原性フザリウム菌(F13菌)は、トマト苗の茎に注入接種すると接種部位の上下に移行し、接種部位から離れた部位(茎先端)においても生存することから、幼苗期の根圏への灌注接種で、根からトマト体内に侵入し、根圏にとどまらず全身に移行し生存すると考えられた。

表4 トマト苗の灌注接種された非病原性フザリウム菌の体内分布

非病原性 フザリウム 接種後日数	草丈 (cm)	供試 苗数	非病原性フザリウム菌の繁殖が認められた個体数						
			主根	地際	子葉節	第1~2 葉節間	第3~4 葉節間	第6~7 葉節間	茎先端
15	6.4	10	9	9	9				3
25	15.3	10	5	10	9	5			2
35	55	10	9	10	6	3	1		2
48	75	10	9	9	6		4	3	4
無接種	55	3	0	0	0	0	0		0

非病原性フザリウム菌：F13菌

無接種苗の調査時期：播種47日後

表5 トマト苗の茎内注入接種された非病原性フザリウム菌の体内分布

供試苗数	調査部位別の非病原性フザリウム菌の分離個体数							
	主根	地際	子葉節	接種 部位	第2~3 葉節間	第4~5 葉節間	第6~7 葉節間	茎先端
7	6	7	7	7	7	6	6	6

非病原性フザリウム菌：F13菌

総括

土壌から分離したフザリウム菌について、トマト根腐萎凋病に対する防除効果をトマトの幼植物を用いた方法により検定した。その結果、比較的少数の菌株の中から高い防除効果を示す菌株が得られ、その菌株について圃場レベルのロックウール栽培で高い防除効果を確認することができた。

養液栽培の中でも固形培地耕であるロックウール栽培は、ロックウールの特性上フザリウム菌の定着性に優れ、非病原性フザリウム菌を用いた生物防除効果が発現されやすい栽培方法であると思われる。しかし、病原菌（フザリウム菌）の定着・繁殖が容易な資材でもあることから、ロックウール内に病原菌が優占する前に、非病原性フザリウム菌を定着させることが防除効果を発揮する上で重要と思われる。

ロックウール栽培の防除試験は、いずれも根腐萎凋病菌をロックウールキューブ内に 10^5 bud-cells/cm³ の菌密度で接種した厳しい試験にもかかわらず、供試した非病原性フザリウム菌（MFM3菌、F13菌）は、明らかに根腐萎凋病の発病を遅延させ軽減させる効果が認められた。生育後期には効果は衰える傾向が観察されたが、多発条件下での試験であることを考えると、非病原性フザリウム菌の防除効果は評価できるとと思われる。また、非病原性フザリウム菌の接種方法として、種子接種のみの効果は劣り、播種時および仮植時の灌注接種の効果は大きい。生育期の追加接種は防除効果の持続性の向上が

期待できる。追加接種は、培養液への非病原性フザリウム菌の混入も一方法である。

土耕栽培の防除効果の発現を期待するには、非病原性フザリウム菌の定着性の優れた育苗培土を用いることが重要である。ロックウールは非病原性フザリウム菌の定着性に優れた資材であるが、土耕栽培に適した育苗培土ではないので、土耕栽培の育苗に適した、そして、非病原性フザリウム菌の定着性に優れた培土の検索が必要である。

また、非病原性フザリウム菌のトマト体内での移行・分布を調べた結果、広範囲の部位で菌の生存を確認した。このことは、非病原性フザリウム菌による全身的な誘導抵抗性の作用機作と何らかの関係があるかもしれない。

今回の報告は、トマト根腐萎凋病を対象とした防除事例にとどまるものである。他の作物の *Fusarium oxysporum* 菌に起因する土壌病害に対する非病原性フザリウム菌の防除効果も期待されるので、非病原性フザリウム菌の利用については、なお、検討中である。しかし、非病原性フザリウム菌の1菌株が複数の土壌病害に対して高い防除効果を示す事例は現在得られておらず、対象病害ごとに優秀な菌株を選抜する必要があると考えている⁹⁾。また、非病原性フザリウム菌を利用した生物防除をトマト栽培の実践的な技術とするには、根腐萎凋病以外の根部病害に対する適応性や、土耕栽培で安定した防除効果が発揮される処理方法の検討などがさらに必要と思われる。

引用文献

- 1) Hardar, E. and J. Katan (1989) The use of Nitrate Nonutilizing Mutants and Selective Medium for Studies of Pathogenic Strains of *Fusarium oxysporum*. *Plant Dis.* 73: 800-803
- 2) 磯崎真英 (2001) 統計からみた養液栽培の動き. *ハイドロポニックス* 14 (2) : 72-73
- 3) Jenkins, Jr. S. F. and C. W. Averre (1983) Root disease of vegetables in hydroponic culture systems in North Carolina greenhouse. *Plant Dis.* 67: 968-970
- 4) 加藤昌亮・天野昭子・田口義広 (1998) 養液栽培トマトの根部病害発生状況調査. *関西病虫研報* 40 : 97-98
- 5) 駒田旦・新宅由美枝・黒田克利・山本廣基・田上征夫 (1996) 非病原性 *Fusarium oxysporum* によるロックウール栽培トマトの根腐萎ちょう病の生物防除. *日植病報* 63 : 278
- 6) 黒田克利・河野満・富川章 (1994) 紫外線・セラミックス併用殺菌装置によるトマト根腐萎ちょう病菌の制御第2報 養液栽培におけるトマト根腐萎ちょう病菌の動態. *関西病虫研報* 36 : 77-78
- 7) 黒田克利・河野満・富川章 (1995) 養液栽培におけるトマト根腐萎ちょう病菌の生態. *三重農技セ研報* 23 : 21-28
- 8) 黒田克利・竹原利明・萩原廣 (1996) 非病原性フザリウム菌のトマト 根腐萎ちょう病発病抑制効果の判定のための室内検定法. *日植病報* 63 : 278
- 9) 黒田克利・富川章 (2000) *Fusarium oxysporum* に起因する土壌病害の非病原性フザリウム菌による選択的防除効果. *関西病虫研報* 42 : 55-56
- 10) 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
- 11) 森田備・手塚信夫 (1986) 養液栽培における病害と対策. *農業および園芸* 61 : 229-235
- 12) Puhalla, J. E (1985) Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. *Can. J. Bot.* 63: 179-183
- 13) Sanchez, L. E, M. Endo and J. V. Leary (1975) Rapid Technique for Identifying the Colonies of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Causing Crown and Root-rot of Tomato. *Phytopathology* 65: 726-727
- 14) 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(10) : 395-399
- 15) 竹原利明・國安克人 (1994) 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 nit 変異菌株の作成. *日植病報* 60 : 699-704
- 16) 竹原利明・國安克人 (1994) 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 変異菌株の選択分離培地を用いた分離. *日植病報* 60 : 705-710
- 17) 竹原利明・萩原廣・國安克人 (1995) *Fusarium oxysporum* の nit 変異菌株と野生菌株の土壌からの分離. *日植病報* 61 : 606

Biological Control of Crown and Root Rot of Tomato by Nonpathogenic *Fusarium oxysporum*

Katsutoshi KURODA and Akira TOMIKAWA

Abstract

Biocontrol of crown and root rot of tomato using a nonpathogenic *Fusarium oxysporum* was examined, and following results were obtained.

1. Antagonistic effect of *Fusarium* isolates from multiple soils was examined for crown and root rot of tomato by the method using tomato infant plant. In addition, pathogenicity on crops was examined. As a result, high antagonistic effect was shown, and the nonpathogenic *Fusarium oxysporum* isolate MFM3 showing no pathogenicity to crops was selected.
2. MFM3 and F13 isolates were used for the following investigations. Antagonistic effect of crown and root rot of tomato was examined in actual rockwool culture. The nonpathogenic *Fusarium oxysporum* isolates were inoculated with the inoculum density of 10^5 bud-cells/cm³ in seeding and temporary planting. As a result, the disease occurrence was delayed and alleviated. There was a high antagonistic effect.
3. The soil culture and cultivation using pots were tested. There was the antagonistic effect of the nonpathogenic *Fusarium oxysporum* MFM3 and F13 isolates.
4. The nonpathogenic *Fusarium oxysporum* extended into top and bottom from the inoculated part, when it is injected and inoculated to the stem of seedling of tomato. The survival was confirmed of high rate in stem tip away from the inoculation part. It invaded to the tomato internal from root, when it was inoculated to the root of seedling. Then, it became clear to extend into the whole plant from root.

Key words : Nonpathogenic *Fusarium oxysporum*, Tomato, Crown and Root Rot of Tomato, Rockwool culture