

拮抗微生物 *Pseudomonas gladioli* によるイチゴ萎黄病の防除

萩原敏弘・岡山健夫・中野智彦\*

Control of Fusarium Wilt of Strawberry by Antagonistic  
Microorganism, *Pseudomonas gladioli*.

Toshihiro HAGIHARA, Ken'o OKAYAMA and Tomohiko NAKANO

## Summary

Examination was made of protection against re-contamination by *Fusarium oxysporum* f.sp. *fragariae* by mix-cropping with welsh onion inoculated with *Pseudomonas gladioli* V-0563 showing antifungal activity to various *Fusarium* spp. and good affinity to *Allium* spp. Disease development was suppressed when density of mix-cropping with welsh onion inoculated with *P. gladioli* V-0563 was high in provisional planting beds. Disease development of daughter plants was suppressed by mix-cropping with welsh onion inoculated with *P. gladioli* V-0563 in mother plant beds. The control effect was increased when density of mix-cropping with welsh onion inoculated with *P. gladioli* V-0563 was high in provisional planting beds. The disease was suppressed in the field cultivated and mixed welsh onion without inoculation. In provisional planting beds of production field the disease was suppressed by mix-cropping with welsh onion inoculated with *P. gladioli* V-0563. However, the effect of *P. gladioli* V-0563 was not clearly effective for controlling the disease in infested soil and not disinfected soil.

**Key words :** *Fusarium oxysporum* f.sp. *fragariae*, antifungal activity, *Pseudomonas gladioli*, mix-cropping

## 緒 言

減農薬、環境保全型農業など環境に優しい農業が求められている今日、園芸作物で問題となっている土壌病害は防除が難しく、くん蒸剤はじめ薬剤に依存することが多い。奈良県のイチゴ栽培の主要品種のひとつである宝交早生は萎黄病に弱く、この防除対策として優良親苗増殖事業による無病苗の供給や太陽熱利用によるハウス内の土壌消毒が行われている。しかし、産地の病原菌密度が高いために、優良親苗増殖事業によって育成された親株は、現地の増殖圃から本圃に植え付けられるまでの間に、絶えず再汚染の危険にさらされている。太陽熱利用による土壌消毒は、施設では安定した効果が得られるが露地では効果が低く、育苗圃ではガスくん蒸剤による土壌消毒に頼らざるを得ない状態が続いている。しかし、住宅地に近接した産地が増加し、また、臭化メチルの生産・消費の規制が予定されており<sup>1)</sup>、これに替わる防除技術の開発が求められている。

近年、環境への悪影響が少ないと考えられる土壌病害

の防除法として微生物の利用が検討され、実用化が期待されている。*Pseudomonas gladioli* を接種したネギの混植は、ユウガオつる割病やトマト萎ちょう病の防除に有効であり<sup>1,2)</sup>、他のフザリウム病にも効果が期待されている。そこで、イチゴ無病株の再汚染を防止するためにこの方法を用い、親株床、仮植床においてイチゴ萎黄病に対する防除効果を検討した。

なお本研究は、農林水産省高度防除技術推進特別対策事業「フザリウム病に対する拮抗微生物の利用」(昭和63~平成4年)で行った。

## 材料および方法

## 供試菌株

*P. gladioli* は、栃木県のユウガオ連作圃場で慣行的に混植されているネギの地下部から分離された細菌で、ユウガオつる割病 (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lagenariae*) に対して高い抗菌活性を示す<sup>3)</sup>。

本実験では、ラン類 (ビルステケラ) から分離され、

\*現 宇陀農業改良普及所

本研究の一部は1992年の関西病虫害研究会で発表した。

ネギに対して親和性があり、各種フザリウム菌に対して抗菌活性のある細菌 *P. gladioli* V-0563 (栃木農試より分譲)<sup>3)</sup>を用いた。

親株床における拮抗微生物 *P. gladioli* の処理方法

供試圃場は試験前に臭化メチルで土壤消毒を行った。

*P. gladioli* V-0563は、真空凍結乾燥菌株をPPG (ジャガイモ煎汁ペプトン・グルコース) 液体培地で25℃、7日間静置培養した。イチゴは宝交早生、ネギは博多黒ネギを用い、6月初めに *P. gladioli* のPPG液体培地培養菌の10倍希釈液にネギまたはイチゴの根部を30分間浸漬し、両者の根を絡み合わせて植え付けた。栽植方法および区の設定は、第1表に示す通りである。ランナー発生後に、イチゴ萎黄病菌のPD (ジャガイモ煎汁シヨ糖) 液体培地培養菌を10<sup>9</sup>孢子/ml に調製した分生孢子懸濁液を1区当たり1ℓ 散布接種した。

仮植床における拮抗微生物 *P. gladioli* の処理方法

仮植床での試験は、イチゴ萎黄病汚染圃場における *P. gladioli* 接種ネギの混植密度と防除効果の関係、ネギ栽培跡地および現地栽培圃場における防除効果を調査した。

第1表 *Pseudomonas gladioli* を接種したネギの混植によるイチゴ萎黄病の再汚染防止効果

Table 1. Effect of mix-cropping with welsh onion inoculated with *Pseudomonas gladioli* against re-contamination by *Fusarium oxysporum* f.sp. *fragariae*.

処理方法	発病株率%	発病度	防除価
<b>親株</b>			
<i>P. gladioli</i> 接種ネギ混植 + 接種ネギ2条植え付け	89	70	4
<i>P. gladioli</i> 接種ネギ混植	67	50	31
<i>P. gladioli</i> 接種イチゴ	100	75	0
無処理	89	72	-
<b>子苗</b>			
<i>P. gladioli</i> 接種ネギ混植 + 接種ネギ2条植え付け	13	7	69
<i>P. gladioli</i> 接種ネギ混植	15	9	62
<i>P. gladioli</i> 接種イチゴ	43	26	0
無処理	39	23	-

1) 調査株数：各処理区親株9株、子苗90株  
混植は、イチゴ親株1株に対して2株のネギを両側に植え付けた。

混植密度と防除効果の関係を調査した試験では、処理前に臭化メチルで土壤消毒した圃場を使用し、イチゴ萎黄病の汚染土壌 (駒田培地を用いた *Fusarium oxysporum* 検出濃度10<sup>3</sup>/mg乾土) をm<sup>2</sup>当り500g土壌混和し汚染圃場とした。ネギは *P. gladioli* のPPG液体培地培養菌液に種子を浸漬し播種した。ネギとイチゴは9月中旬に混植し、さらに定植時に *P. gladioli* のPPG液体培地培養菌の40倍希釈液にネギの根部を1時間浸漬し、イチゴとともに植え付けた。混植密度はイチゴ：ネギを1：1ないし1：2とした。ネギは細ネギおよび下仁田ネギを用いた。

ネギ栽培跡地における防除効果試験は、前年に萎黄病が発生した汚染圃場において、7月初めに *P. gladioli* 接種ネギを植え付け、9月中旬まで栽培した。その後、ネギ根部を抜き取った区と畝き込んだ区を設け、イチゴ苗を植え付けた。

現地試験は1989年～91年に天理市、橿原市などのイチゴ生産農家において行った。橿原市では7月中旬に、仮植苗に対し1ないし2株の *P. gladioli* を接種したネギを混植した。処理圃場はあらかじめ臭化メチルで土壤消毒した。

発病調査

下記の発病調査基準に基づいて発病度、防除価を算出した。

- 発病程度 0：健全  
1：生育不良 (D)  
2：小葉が奇形 (C)  
3：2小葉以上の奇形・黄化 (B)  
4：枯死 (A)

発病度 = (4A + 3B + 2C + D) × 100 / 4 × 調査株数  
防除価 = 100 - 処理区の発病度 / 無処理区の発病度 × 100

結 果

親株床における拮抗微生物 *P. gladioli* の防除効果

*P. gladioli* を接種したネギとイチゴの混植区は、親株に対しては発病株率が67%および89%、発病度が50および69となり、無処理区に比較してやや低いか同等の発病となった。一方、子苗に対しては、無処理区の発病株率が39%、発病度が23に対して、混植区はそれぞれ発病株率が13%および15%、発病度が7および9となり、発病抑制効果は親株に比べて子苗に顕著に認められた。*P. gladioli* 接種ネギをイチゴ親株と混植し、さらに子苗の着生位置に *P. gladioli* 接種ネギを植え付けた区の発病は、親

株のみの混植と同等であり、ネギの栽植密度を高めても効果は変わらなかった。なお、*P. gladioli* を直接接種したイチゴでは効果が認められなかった (第1表)。

仮植床における拮抗微生物 *P. gladioli* の防除効果

萎黄病汚染圃場において *P. gladioli* 接種ネギの混植密度と防除効果の関係を調査した結果、*P. gladioli* を接種したネギとイチゴの混植区は、無処理区に比べて発病株率、発病度ともに低く、防除効果が認められた。ネギの混植密度は高い方が発病を抑え、効果が高まる傾向があった (第2表)。しかし、高密植にするとイチゴの生育が抑えられ、葉身長が低く、葉数も減少する傾向が見られた。

ネギ栽培跡地における防除効果試験の結果、11月20日の発病調査では、発病株率は無処理区42%に対し、*P. gladioli* 接種ネギ鍍き込み区25%、無接種ネギ鍍き込み区22%、*P. gladioli* 接種ネギ持ち出し区35%、無接種ネギ持ち出し区40%となり、鍍き込み区は *P. gladioli* 接種の有無に関わらず発病を抑制した (第3表)。

現地試験では、混植区は発病株率 1.7%、発病度0.8、

第2表 仮植床における *P. gladioli* 接種ネギの混植密度と防除効果

Table 2. Relationship between control and density of mix-cropping with welsh onion inoculated with *P. gladioli* on Fusarium wilt of strawberry at provisional planting beds.

<i>P. gladioli</i> 処理方法		発病株率%	発病度	防除価
接種	種子接種	19	10	38
接種	ネギ:イチゴ=1:1	18	11	31
接種	ネギ:イチゴ=2:1	11	6	63
接種	細ネギ:イチゴ=1:1	23	15	6
無接種	ネギ:イチゴ=1:1	39	27	0
ベノミルwp.500倍灌注		12	5	69
無処理		32	16	-

第3表 ネギ栽培跡地におけるイチゴ萎黄病の防除効果<sup>1)</sup>

Table 3. Effect of control on Fusarium wilt of strawberry in the field after cultivating welsh onion.

処理方法	10月15日			11月20日		
	発病株率(%)	発病度	防除価	発病株率(%)	発病度	防除価
<i>P. gladioli</i> 接種ネギ持ち出し	8	4	56	35	24	17
無接種ネギ持ち出し	20	11	0	40	28	4
<i>P. gladioli</i> 接種ネギ地下部鍍き込み	9	5	45	25	17	41
無接種ネギ地下部鍍き込み	12	6	33	22	17	41
無処理	13	9	-	42	29	-

1) ネギは7月22日に1区30本を植え付け、9月18日にイチゴを1区20株を植え付けた。試験は3反復で行った。

第4表 現地圃場における *P. gladioli* によるイチゴ萎黄病の防除効果<sup>1)</sup>

Table 4. Effect of *P. gladioli* on Fusarium wilt of strawberry at production field.

処理方法	調査株数	8月5日	9月20日		防除価
		発病株率(%)	発病株率(%)	発病度	
<i>P. gladioli</i> 接種ネギ2株混植	60	0	1.7	0.8	68
<i>P. gladioli</i> 接種ネギ1株混植	60	0	1.7	0.8	68
無処理	20	11	5.0	2.5	-

1) 供試圃場は檜原市鳥屋町

無処理区はそれぞれ 5.0%、2.5となり防除効果が認められた (第4表)。しかし、処理時にすでに萎黄病の発生が認められていた圃場や、土壌消毒が行われていない圃場では効果が判然としなかった。

## 考 察

拮抗微生物 *P. gladioli* V-0563を接種したネギとイチゴとの混植は、処理方法、時期および圃場条件によって効果が変動した。すなわち、萎黄病が激しく発生する高温期や発病した汚染圃場では効果が劣り、初秋期になると効果が比較的安定した。効果が最も安定的に現れたのは、あらかじめ土壌消毒を行った圃場にイチゴおよびネギを植え付け、後に病原菌で汚染させた場合であり、いわば再汚染防止効果と言うべきものと考えられる。

当场では、これまでに土壌中やカニガラ連用圃場あるいは作物根圏から拮抗微生物を分離し、萎黄病に対する防除効果を検討してきた<sup>4)</sup>。その多くは培地上で萎黄病菌に強い拮抗性を示したが、汚染圃場に直接利用すると効果が低く、実用的には不十分なものが多かった。しかし、あらかじめ土壌消毒を行った土壌に優先させると、安定した再汚染防止効果があり、拮抗微生物の利用には根圏での速やかな定着が重要と考えてきた。

*P. gladioli* は抗生物質であるピロールニトルリンを産生する抗菌微生物であることが明らかにされている<sup>1)</sup>。また、アリウム属の植物に親和性があり<sup>2,3)</sup>、処理したネギから容易に再分離されており、ネギ、ニラなど多くの野菜根での定着が期待できる。ネギは、*P. gladioli*の接種の有無に関わらず、地下部の鍬き込みによって萎黄病の発生を抑制した。ネギの根は抗菌物質であるアリシンを産出することが知られることから<sup>4)</sup>、その影響とも考えられる現象であり、アリウム属作物との輪作による萎黄病抑制効果も期待される。

イチゴは鉢育苗やベッド育苗などの育苗法が実用化さ

れており、微生物防除はこれらの隔離育苗法の培地に利用できると考えられる。

## 摘 要

各種フザリウム菌に対して抗菌活性をもち、アリウム属植物に対して親和性のある細菌 *P. gladioli* V-0563 をネギに接種し、イチゴと混植して萎黄病の再汚染防止効果を検討した。

親株床において、*P. gladioli* を接種したネギと混植すると、子苗に対して発病抑制効果が現れた。仮植床においては、ネギの混植比率を高くすると防除効果が上がった。また、ネギを栽培して鍬き込んだ後にイチゴを植え付けると、*P. gladioli* の接種の有無に関わらず発病を抑制した。現地試験においても、*P. gladioli* を接種したネギとの混植は、仮植床で発病抑制効果が認められた。しかし、処理時にすでに萎黄病が発生していた圃場や土壌消毒が行われていない圃場では、効果が判然としなかった。

## 引用文献

- 1) 有江力・難波成任・山下修一・土居養二・木嶋利男. 1987. *Pseudomonas gladioli* を定着させたネギまたはニラの混植によるユウガオつる割病の生物的防除. 日植病報 53:531-539
- 2) 木嶋利男・有江力. 1987. 抗菌微生物を用いた土壌病害の生物的防除. 植物防疫 41 (3):129-133
- 3) ————・—————・木村栄・峯岸長利・手塚紳浩・橋田弘一・福田充. 1988. 抗菌微生物の利用に関する研究. 栃木農試研報 35:95-128
- 4) 岡山健夫・小島博文・小玉孝司. 1991. イチゴ萎黄病に対する拮抗微生物の選抜とその防除効果. 奈良農試研報 22:17-22
- 5) 楯谷昭夫. 1993. 臭化メチルとオゾンについて. 植物防疫 47 (4):193-195