

微生物利用によるサツマイモつる割病の防除

誌名	農業技術
ISSN	03888479
著者	小川, 奎
巻/号	44巻4号
掲載ページ	p. 145-149
発行年月	1989年4月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



微生物利用によるサツマイモつる割病の防除

小川 奎

はじめに

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壤伝染性の導管病で、土壤伝染のみならず罹病親株から種いも、さらには苗へと伝染するため、被害の大きな病害である。

筆者は1975年に育成された高品質の食用サツマイモ「ベニコマチ」の普及に伴って問題となった本病の発生生態と品種抵抗性について研究しているなかで、サツマイモ体内に病原菌とは異なる *F. oxysporum* の非病原性の菌株が広く生息することを見出した。これが本病に高度の交叉防御能を有することを発見し、本菌を用いた新しい防除法を開発し、実用化を図った。

病原菌の弱毒あるいは非病原性系統を予め宿主に接種しておく、後から起こる強毒系統の感染あるいは発病が抑制される現象は交叉防御(Cross protection)などと呼ばれている。ウイルス病では弱毒ウイルスの干渉作用を利用した防除法がいくつか実用化されている。土壤伝染性の病害でも、交叉防御は多くのフザリウム病^{1,2,3)}、パーティシリウム病⁴⁾および細菌病⁵⁾などで報告されているが、実用化に至ったものはない。したがって、本交叉防御の実用化の意義は極めて大きい。

1. 非病原性フザリウム菌による交叉防御

(1) 導管内に潜する非病原性フザリウム菌

*Fusarium oxysporum*の一部はキュウリなどのウリ類のつる割病、トマト、ネギ、ゴボウ、ホウレンソウ、シクラメンなどの萎ちょう病、ダイコン、キャベツ、イチゴなどの萎黄病の病原となるが、その病原性は作物ごとに細かく分化しており、分化型によってそれぞれ侵すことのできる作物が限られている。しかし、病原性のあるものは自然界では極く少数であり、その大半は土壤微生物の一員として、植物を侵すことなく、新鮮な有機物を利用しながら生活を営む非病原性のグループである。

つる割病菌と異なる *F. oxysporum* がサツマイモ体から高頻度で分離された。すなわち、種いもからは100%近い頻度で、また生育中の健全な植物体からは50%以上

の高い頻度で分離された。これらの *F. oxysporum* はサツマイモに病原性がなく、サツマイモの茎導管内に菌糸の状態で生息しているのが観察された。このような現象は他の作物では余りみられないが、サツマイモでは一般的に非病原性 *F. oxysporum* (以下フザリウム菌と記す) が導管内に潜在しているものと思われる。

(2) 非病原性フザリウム菌による発病抑制

そこで、サツマイモ苗における非病原性フザリウム菌の保菌の有無と本病罹病との関係を調査した。植付24日後では、植付前に本菌が検出された苗の発病が15.8%と非検出苗の36.0%に比べてやや少なかったものの、植付54日後では検出苗81.6%に対し非検出苗89.6%とその差は認められなかった。したがって、本菌が導管のなかに生息している通常の状態では本病の発生をとくに抑制することはないと考える。

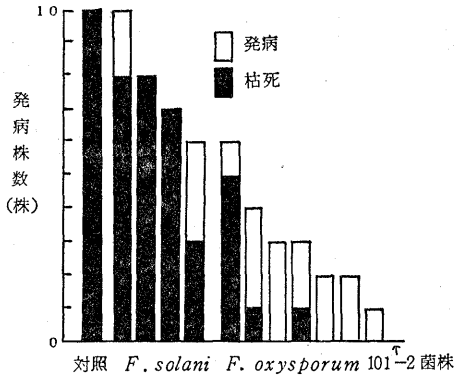
ところが、本菌をサツマイモの苗の基部切口に大量に接種すると、本病の発生が顕著に抑えられた。本菌をつる割病菌汚染土に混入接種する方法に比べて、本菌の懸濁液中に苗を浸漬するか、その濃縮菌体を切口に塗布するかなど苗の基部切口に直接接種する方法は極めて高い発病抑制効果を発揮し、ほぼ完全に発病を抑えた。

次に、発病抑制効果に及ぼす本菌と病原菌の相互の菌濃度の関係をみた。発病抑制効果は、それぞれの菌の絶対的な菌濃度の高低よりも、両者の相対的な比率の多少に左右された。すなわち、本菌とつる割病菌の比率が1:1では、発病抑制効果は60~70%に過ぎなかったが、4:1以上ではほぼ100%の効果が得られた。このように、交叉防御が生じるには病原菌に比し、より多量の非病原性フザリウム菌がサツマイモ苗の切口に接種される必要がある。

(3) フザリウム菌の種類と発病抑制効果

サツマイモ根部から分離した *F. oxysporum* と *F. solani* の発病抑制効果を比較した。第1図に示すように、無処理苗に比べて両菌を接種した苗の方が発病が少なかったが、両菌グループの間では *F. oxysporum* グループの方が *F. solani* グループに比べて発病抑制効果が高かった。*Fusarium* 属菌は Snyder and Hansen の分類では9種に分けられている。そのうちの7種についてサツマイモつる割病に対する発病抑制効果をみた。*F. oxysporum* の効果が最も高く、*F. elisphaeria*, *F. tri-*

Kei OGAWA: Practical Biocontrol of *Fusarium* wilt of Sweet Potato with Nonpathogenic *Fusarium oxysporum*. 農業技術 44 (4), 1989.



第1図 サツマイモ根内から分離したフザリウム菌株のサツマイモつる割病抑制効果

cinctum, *F. rigidiuscula*, *F. moniliforme*, *F. roseum* および *F. solani* の効果は低かった。これらのことから、交叉防御能は病原菌に近縁な(同種の)系統の方が高いと思われる。

しかし、*F. oxysporum* のすべてが交叉防御能を有しているのではなく、サツマイモ各品種の健全株および数種畑土壌から分離した *F. oxysporum* 菌株のうち約 1/3 程度が高い交叉防御能を有していた。交叉防御を有する菌は広く自然界に分布しているものと考えられる。

2. 全身的な誘導抵抗性

(1) 抗生作用と物理的閉鎖

つる割病菌と非病原性フザリウム菌を対峙培養したが、両菌の間に生育阻止帯は形成されなかった。また、両菌の菌そうの境界部を顕微鏡観察したが、両菌の菌糸が相互に交錯し、小型分生胞子の形成もみられ、とくに異常は認められなかった。したがって、本菌はつる割病菌の活動を直接的に抑制することはないと考える。

フザリウム病の抵抗性の機作の一つに導管内に発達するゴム物質やチロシスなどによる物理的な障壁が病原菌の広範囲なまん延を防いでいるという見解がある。しかし、サツマイモの交叉防御の場合、導管内におけるチロシスの形成は顕著でなかった。苗の基部切口に接種された本菌は、切口に多量に付着し、あたかも切口を保護しているようであったが、本菌の代りに切口をパラフィンや死菌体で覆っても、発病は抑制されなかった。したがって、本交叉防御は切口の物理的な保護作用に基づいているものでないことは明らかである。

(2) 全身的な誘導抵抗性

非病原性フザリウム菌を接種したサツマイモの茎組織につる割病抵抗性が誘導されているかどうかを検討した。接種された本菌のサツマイモ導管内の分布を染色した菌体を用いて観察したところ、接種された本菌は、接

第1表 サツマイモつる割病菌の茎注射針接種に対する非病原性 *F. oxysporum* 接種苗の発病抑制効果

処 理	供試株数	全葉数	黄化葉率(%)		つる割れ長(mm)		枯死株数	
			6日後	9日後	6日後	9日後	12日後	15日後
菌接種*	10	74	20.3	19.7	4.8	16.7	3	5
無処理	10	84	45.2	76.5	9.7	66.7	8	10

注) * 非病原性 *F. oxysporum*.

種24時間後でも苗の基部切口から 2~3 cm 上方の導管内に限られ、接種部位近傍に局在していた。

そこで、苗基部に本菌を接種するかたわら、苗基部から離れた上部茎組織に病原菌を強制的に針接種を行った。その結果は第1表に示したが、無処理苗に比べて明らかに発病が抑制された。このことは、抵抗性は局所的でなく、全身的に誘導されていることを示している。

(3) 抵抗性の持続期間

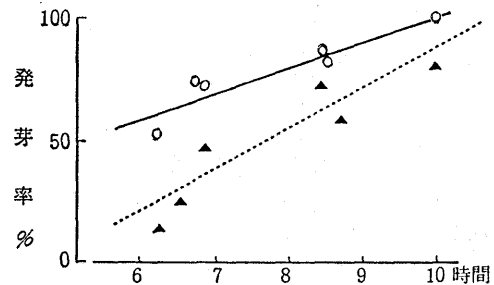
微生物によって誘導される抵抗性の持続期間は非常に短く、通常、抵抗性が最も強い時期は接種 1~3 日後という例が多い。本交叉防御の場合も接種 3 日後までが発病抑制効果が最も高く、5 日後までがその限度と思われた。

3. 交叉防御機構

植物が糸状菌の侵入を受けると、感染組織の木化、被侵入細胞の過敏感死、ファイトアレキシンの産生および宿主代謝の変化にともなうフェノール性成分の増加など形態的、生理的な反応を起こすことが知られている。

(1) つる割病菌胞子の発芽抑制

非病原性フザリウム菌を接種したサツマイモ茎組織におけるつる割病菌の発芽状況を調査した。この実験には一節苗の葉身を取除いた厚さ 6~7 mm の茎切片を用いた。茎切片の下部切口に本菌を接種し、茎の先端部切口につる割病菌を付着させた素寒天あるいはミリポアフィルター片を密着させ、一定時間後にそれぞれを剥ぎ取



▲ *F. oxysporum* 101-2 菌株接種苗

○ 無接種苗

第2図 非病原性 *F. oxysporum* 接種サツマイモ苗の茎組織上でのつる割病菌体の発芽

り、顕微鏡下でつる割病菌胞子の発芽状況を調べた。その結果の一部は第2図に示したが、本菌を接種したサツマイモ組織ではつる割病菌の胞子発芽および発芽管伸長が抑制された。

この発芽抑制作用は素寒天を通じて移行すること、また本菌接種苗のアセトン抽出物中に認められることから、サツマイモ体内に抗菌性物質が産生されていることが示唆される。

一般に植物が病原体の感染を受けると、健全な時には組織内に存在しなかった抗菌性物質（ファイトアレキシン）が産生されることが知られている。サツマイモでは、黒斑病抵抗性の塊根切片に黒斑病菌を接種すると、その周辺に抗菌性のイポメアマロン(テルペン類)が蓄積される。しかし、ファイトアレキシンは感染部位の極く周辺組織で産生、蓄積されることから、本交叉防御のような全身的な抵抗性に関与しているかどうかは今後の問題として残され、物質的な解明が待たれる。

(2) フザリウム毒素に対する耐性

導管病を引き起す *F. oxysporum* は代謝産物としてフザリ酸などの萎ちょう性毒素を産生する。毒素はつる割病菌培養濾液中にも含まれ、その濾液中にサツマイモ苗を浸漬すると、葉の黄変、落葉、萎ちょうなどの中毒症状が生じる。ところが、第2表に示すように本菌を接種した苗では、この毒素症状が軽微になり、発病抑制機構の一つとしてこのようなフザリウム毒素の分解あるいは中和機能の働きが示唆される。

(3) 抵抗性の誘導

サツマイモつる割病の交叉防御では、つる割病菌の胞子発芽を抑制し感染を阻止する作用と、つる割病菌の代

第2表 非病原性 *F. oxysporum* 処理苗のサツマイモつる割病菌培養濾液に対する毒素反応

苗 処 理	つる割病菌 培養濾液	毒 素 症 状				枯死株数 (15日後)
		+	+	±	-	
無 処 理	生 菌 体	0	4	1	0	4
	濾液原液	5	0	0	0	5
	” 5倍希釈	1	3	1	0	5
	” 10 ”	2	3	0	0	4
	” 20 ”	0	1	2	2	0
	無 添 加	0	0	0	5	0
非病原性 <i>F. oxysporum</i>	生 菌 体	0	0	0	5	0
	濾液原液	5	0	0	0	5
	” 5倍希釈	3	2	0	0	2
	” 10 ”	0	1	1	3	0
	” 20 ”	0	0	0	5	0
	無 添 加	0	0	0	5	0

注) +: 枯死寸前, ++: 萎ちょう, ±: 葉緑わずかに壊死, -: 健全

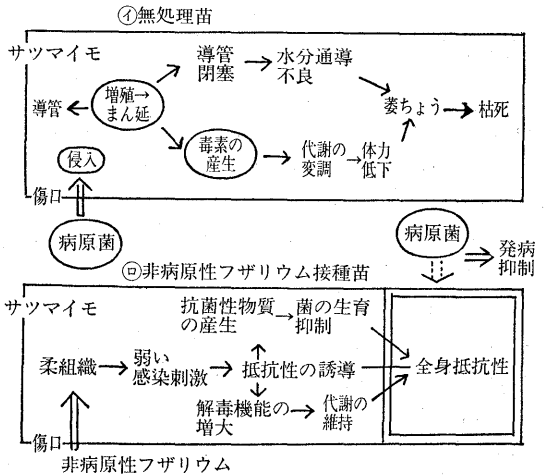
謝毒素を分解あるいは中和し体力の消耗を防ぐ作用などが複合的に機能し合って、抵抗性が発現するものと思われる。

この抵抗性は、本菌がサツマイモの導管内に潜在している状態や死菌体の接種では誘導されず、生菌体が苗の傷組織に大量接種されてはじめて誘導される。接種された本菌は苗基部切口で活発に発芽し、菌糸が伸長し、そのうちの一部は切口の柔組織に侵入し、菌糸が伸びているのが観察された。そのため、苗基部の極く一部組織が部分的に壊死した。

したがって、抵抗性の誘導には接種組織の役割が大きいと推察される。抵抗性の誘導は、①つる割病菌の接種を2日前に行い、後から本菌を接種した場合、ならびに②苗の本菌接種部位を接種直後に切除した場合には起こらないのに対して、①つる割病菌と本菌を同時接種した場合、ならびに②本菌接種2日後に接種部位を切除した場合には誘導された。

そこで、抵抗性が誘導されるまでの期間を調べるため、本菌接種苗のアセトン抽出液でのつる割病菌の発芽抑制作用を接種6および24時間後苗について検討した。その結果、接種6時間後苗ではつる割病菌胞子の発芽は抑制されなかったが、24時間後苗では発芽が抑制された。したがって、抵抗性の誘導は接種24時間以内の比較的短時間で生じることが明らかとなった。このため、つる割病菌との同時接種でも発病が抑制されるのである。また、本菌接種部位を接種直後に薄く切除すると抵抗性が誘導される以前のため、発病は抑制されなかったが、接種2日後ではすでにサツマイモ各組織に誘導されているため、全身的な抵抗性が発揮されるのである。

以上のように、抵抗性が誘導されるためにはつる割病菌の感染と同時にそれ以前に本菌がサツマイモ組織に弱



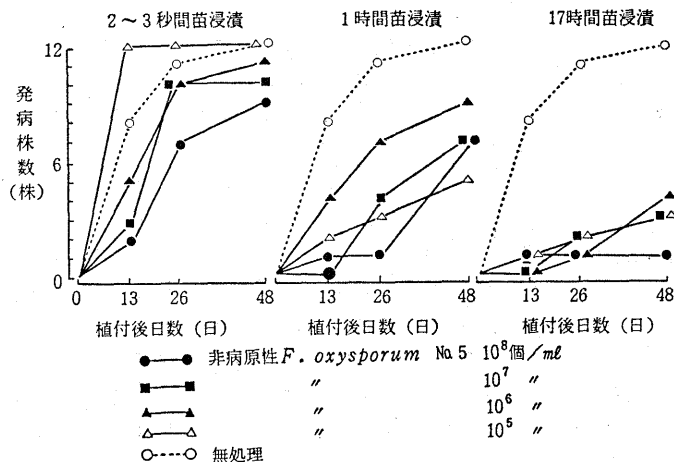
第3図 サツマイモつる割病における交叉防御機構

い感染刺激を与えることが必要である。病原性のほとんどない本菌であっても、サツマイモの傷痕組織に大量に接種されることにより弱い感染状態を引き起こすことが可能となり、この刺激に反応して抵抗性が誘導されるものと考えられる(第3図)。この抵抗性の誘導は、本菌の菌体発芽液によってもわずかに生じ、発芽時の代謝産物中に抵抗性誘導物質が存在していることが示唆される。

4. 非病原性フザリウム菌を用いた防除法

(1) 非病原性フザリウム菌の有効な使用条件

浸漬接種における非病原性フザリウム菌懸濁液の菌体濃度および浸漬時間と発病抑制効果との関係を見た。その結果は第4図に示した。発病抑制効果は菌体濃度よりも苗浸漬時間の影響を強く受け、浸漬時間が長いほど菌体濃度が低くても発病抑制効果が高かった。すなわち、数秒間浸漬では全般的に効果は劣り、1時間浸漬では菌



第4図 非病原性 *F. oxysporum* 菌体濃度および苗浸漬時間を異にした場合のサツマイモの割病抑制効果

体高濃度では効果が認められた。これに対して、17時間の1晩浸漬処理の効果は低い菌体濃度でも安定して高かった。圃場試験においても1晩浸漬処理では菌体懸濁液が透明にみえるほどの低菌体濃度すなわち培養原液を1万倍に希釈した 10^4 個/ml でも高い発病抑制効果が発揮された。実用に供する場合には、効果の安定性を見込んで 10^6 個/ml が望ましいと考える。

この本菌懸濁液の残液は再利用が可能で、3回使用後の残液でも1回目と変らない高い防除効果が得られた。しかし、5日以上経過した残液の効果は減退した。したがって、本菌懸濁液は2~3回の繰り返し使用は可能と考えてよい。

また、接種前日以内に採苗したものであれば、接種時

に再度苗の基部を切り落とす必要はない。一方、接種した苗を5日以上放置しておく、抵抗性が低下するので、接種後なるべく早く植付けることが肝要である。

(2) 発病抑制効果の実用性

サツマイモの割病の伝染経路は土壌伝染と種苗伝染の二つがあるため、植付後の土壌伝染および保菌苗の双方に対して防除効果がないと実用性を欠くことになる。

そこで、まず圃場における土壌伝染に対する発病抑制効果を検討した。無処理区の発病株率46.0%に、ベノミル剤消毒区の2.0%に対して、本菌接種区では、ベノミル剤区とほぼ同等の6.0%と高い防除効果を発揮した。これまでみてきたように本交叉防御による誘導抵抗性は約1週間程度までしか発揮されないにもかかわらず、その防除効果は収穫期まで及ぶのであろうか。それは、本病の被害は植付直後の感染によるものが大半で、初期感染の阻止が本病防除にとって重要な点になっており、本

法のつる割病の初期感染阻止作用が極めて高いために、大きな防除効果を発揮するのである。

次に、苗伝染に対する発病抑制効果であるが、殺菌土に植付けられた無処理苗の発病株率64%に対して、本菌接種苗では4%と発病が少なく、苗伝染に対しても有効な防除効果を発揮した。この効果はクロロピクリン剤を処理した農家圃場試験でも確認され、ベノミル剤と同等の効果であった。ただし、苗伝染率が90%以上と苗の汚染の激しい場合には、発病抑制効果は認められても完全でなく、苗伝染率50%以下の場合であれば、その発病を数%以下に抑えることができた。したがって、本法の適用に当たっても、つる割病防除の基本である罹病種いもの除去など無病種いもの選別、確保を行うことが、安定した効果を得るために重要である。

以上のように、本法は土壌、苗伝染の双方に対して、ベノミル剤による苗消毒効果に全く遜色がなく、極めて実用性の高い生物防除法と言える。

5. 非病原性フザリウム菌の大量培養と製剤化

実用的な生物防除素材である非病原性フザリウム菌を広く普及するためには、農家が微生物を手軽に扱えることができるよう製剤化する必要がある。そこで、本菌の大量培養法、培養菌の乾燥粉末化について検討し、本菌の製剤化技術を開発した。

(1) 大量培養法

非病原性フザリウム菌の大量培養にはショ糖およびドウ糖加用ジャガイモ煎汁培地による液体培養が適し、

振とう培養では bud-cell 形成量は最大 4×10^8 個/ml に達した。さらに、ジャーフェーメンタ培養によって一層大量に培養できた。培養条件は、培養温度 $28 \sim 29^\circ\text{C}$ 、攪拌回転数 $300 \sim 400\text{rpm}$ 、通気 $750\text{ml}/\text{min}$ が良好であった。培養時の発泡防止には消泡剤の添加が必要である。また、連続培養は培養効率を一層高め、種菌として前培養液が 0.6% 程度残存していれば、3日間培養で 10^8 個/ml の bud-cell が得られる。

(2) 真空凍結乾燥菌体制剤

非病原性フザリウム菌の真空凍結乾燥には D-ソルビトールを基本にした分散媒が適していた。これの 10% または 5% にスキムミルク 10% を加えたものや、さらにグルタミン酸ナトリウムを 1% 加えた分散媒での生残率が高かった。バイアル瓶試料の真空打栓およびシリカゲルなどの吸湿剤の封入は、乾燥菌体の保存性を高めた。

(3) 自然乾燥菌体制剤

培養菌体をゼオライトなどの各種鉱質系資料に吸着させ、 $15 \sim 20^\circ\text{C}$ で自然乾燥した菌体の生残率は極めて高く、復水時の懸濁性も良好であった。

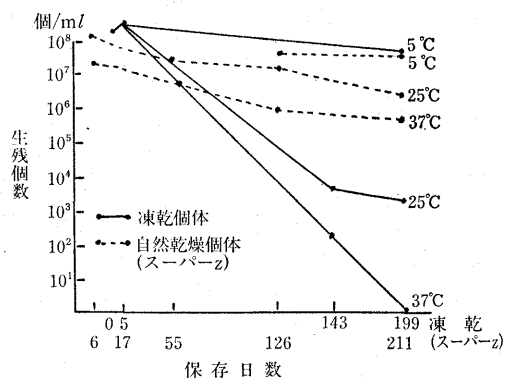
(4) 保存性

真空凍結および自然乾燥菌体制剤ともに 5°C 保存では、300日間にわたって生残率は低下せず、活性は安定していた。しかし、 25 および 37°C の高温では生存率の低下がみられ、とくに真空凍結乾燥菌体の方が生存率の低下が著しかった。これに比べて、自然乾燥菌体は高温耐性が強かった(第5図)。

(5) 乾燥菌体制剤を用いた現地実証防除試験

非病原性フザリウム菌体制剤を用いた本病防除試験を農家圃場で実施した。その結果は第3表に示すように、自然および真空凍結乾燥菌体制剤ともにベノミル剤と同等の非常に高い防除効果と収量が得られた(第3表)。

このように、本研究のなかで菌体の製剤化にも成功



第5図 各保存温度における自然乾燥菌体および凍乾菌体の生残菌数の推移

第3表 現地における非病原性フザリウム菌体制剤のサツマイモつる割病に対する防除効果

現地	処理	濃度 個/ml	供試 株数	発病株率 %	収量 kg/100株
出島	無処理		100	75.0	5.0
	A菌体制剤	10^6	402	3.0	23.2
	B菌体制剤	10^6	201	3.0	29.4
	"	10^6 (2回目)	100	5.0	27.0
	"	10^5	406	2.0	26.1
	ベノミル剤(慣行)		200	0.5	30.0

A: 真空凍結乾燥菌体制剤 B: 自然乾燥菌体制剤

し、非病原性フザリウム菌を用いたサツマイモつる割病の生物防除の実用化の道が大きく前進した。そこで、次に微生物農薬として他作物に対する病原性や環境への影響などの安全性が問題となる。これまで多くの他の交叉防御の研究に用いられた微生物は、病原菌と同種の他分化型病原菌であり、他の作物に病原性を有しているため、実用的に使うことはできなかった。これに対して、本菌はサツマイモ、キュウリ、ユウガオ、マクワウリ、ダイコン、キャベツ、トマト、ゴボウ、ネギ、レタス、ホウレンソウ、イチゴおよびカーネーションなどフザリウム菌に侵される主要作物に病原性を示さない。また、本菌は健全なサツマイモ体や広く土壤中にも分布しており、その安全性は高いと言える。苗に接種された本菌は短期間のうちに大半が自然消滅し、もとの平衡状態に戻り、異常繁殖や拡散などの危険性も少なく、優れた微生物防除素材である。

本菌はポット試験では、キュウリ・ユウガオつる割病およびトマト萎ちょう病に対しても防除効果を発揮した。しかし、その効果は初期に限られ、40~50日後では無処理と変らなかった。本菌によって誘導される抵抗性はその発現期間が短く、生育中期以降、全く無効となるため、生育後半の被害の大きいフザリウム導管病に対しては実用的な効果が現れにくい。したがって、今後、抵抗性の持続ならびに二次接種法などが開発され、広くフザリウム病にも活用されることが望まれる。

(農林水産技術会議事務局研究調整官)

引用文献

- 1) 本間善久・大畑一 (1977) 四国農試報 30: 103~114.
- 2) 小川 奎 (1988) 農研センター研報 10: 1~127.
- 3) 手塚信夫・牧野孝宏 (1988) 植物防疫 42: 251~254.
- 4) 雨宮良幹・平野和弥・飯田 格 (1985) 千葉大園芸学報 36: 135~139.
- 5) 田中 博 (1985) 宇都宮たばこ試報 21: 1~6.