

前作物によるイチゴ萎黄病の軽減機構 (第2報)

イチゴから分離される *Fusarium oxysporum* の病原力と菌叢形態

堀本圭一・岡山健夫・小島博文・小玉孝司

Studies on the Control of Fusarium Wilt of
Strawberry by Preceding Crops. II
Variation in pathogenicity and cultural characteristics of
Fusarium oxysporum isolated from strawberries

Keiichi HORIMOTO, Ken-o OKAYAMA, Hirofumi KOBATAKE and Takashi KODAMA

Summary

In this study, we elucidated the mechanisms of control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* by short crop rotation in which strawberry was the main crop.

1. The isolates from rotation and monocropping plots showed a wide range of pathogenicity. The ratio of aggressive strains tended to diminish in the rotation plots, but in contrast increased in the monocropping plots.
2. Some of the resistance mechanisms expressed by the host appeared to be compatible with a host-parasite interaction.
3. The cultural characteristics were consistently associated with pathogenicity. Most of the aggressive isolates produced a white and thick mycelium, while less aggressive ones produced a light brown aerial mycelium on *Fusarium*-selective medium.
4. Less aggressive strains diminished the severity of symptoms caused by other aggressive types in double-infected strawberry.

Key Words:

Fusarium oxysporum f. sp. *fragariae*, crop rotation, pathogenicity, cultural characteristics

緒

言

実験材料および方法

前報では、主幹作物 (イチゴ) の連年栽培体系において、後作に他作物 (メロン・トマト等) を導入することにより、連作障害の主要因であるイチゴ萎黄病が大幅に軽減されることを報告した。本報告ではその機構解明として、短期輪作圃場におけるイチゴ株から *F. oxysporum* を分離し、病原力・菌叢形態を中心に検討を加えたのでその結果を報告する。

1. 試験区の設定

イチゴ萎黄病菌汚染土壌 10 kg をビニルハウス (過去 10 年間水稲単作の水田転換畑) 100 m² の土壌中に混和し、病土圃場として供試した。試験区は第 1 表のように、1982 年 9 月から翌年 2 月まで促成イチゴを栽培し、3 月から 7 月までトマト・メロン・トウモロコシを栽培する短期輪作区、また 3 月以降 7 月までイチゴを引き続き

第1表 短期輪作ならびに連作付様式

試験区 ¹⁾	作付様式および栽培期間 ²⁾	
	前作 (9/中-2/下)	後作 (3/上-6/下)
イチゴ	イチゴ	イチゴ
トマト	イチゴ	トマト
メロン	イチゴ	メロン
トウモロコシ	イチゴ	トウモロコシ

1) 1区 20m² 2) 1982年9月から1986年4月

栽培する連作区を設け、1986年3月まで3回短期輪作・連作を行った。

2. *Fusarium oxysporum* 菌の分離

1986年4月に各試験区から萎黄病発病程度別にイチゴ株を採取し、クラウン内部から *F. oxysporum* を分離した。発病程度は0-1:健全~生育不良, 2-3:奇形葉~奇形黄変葉, 3-4:奇形黄変葉~枯死, の3段階に分類した。

菌の分離方法は、クラウン部から葉柄・根を取り除いた後、附着した土壌を流水で十分洗浄し、80%メタノールに浸漬後、さらにガスバーナーでメタノールを燃焼させ表面殺菌をほどこした。その後殺菌メスでクラウンを厚さ約1~2mmに輪切にし、外皮を切り取った後さらに

アンチホルミン原液に浸漬し、フザリウム選択培地上に置床した。25℃条件下で7日間培養し、伸長した菌糸先端部を培地ごと切り取りP S A斜面培地に分離した。

3. 分離菌の病原力および菌叢調査

1986年7月に、分離した *F. oxysporum* をフスマ培地 (フスマ:モミガラ=1:2) 10mlで2か月間培養し、病原力調査のため9月に直径12cmの黒ポリポットに鉢上げしたイチゴ苗 (宝交早生) に接種した。発病調査は1986年10月から1987年4月まで計6回行った。1987年5月接種したイチゴ苗から同様の方法で菌の再分離を行い、接種菌株のクラウン内部への侵入を確認し、同時に菌叢形態の観察を行った。

第2表 短期輪作・連作圃場におけるイチゴから分離された *F. oxysporum* 数と接種後再分離された *F. oxysporum* 数

試験区	発病程度 ¹⁾	分離イチゴ株数	総 <i>F. oxy</i> 数	再分離 <i>F. oxy</i> 数	再分離 <i>F. oxy</i> /イチゴ株数
イチゴ	0-1	15	21	19	1.3
	2-3	25	38	34	1.4
	3-4	20	34	30	1.5
トマト	0-1	20	31	26	1.3
	2-3	20	29	26	1.3
	3-4	20	31	28	1.4
メロン	0-1	15	23	20	1.3
	2-3	15	21	20	1.3
	3-4	15	23	21	1.4
トウモロコシ	0-1	20	26	23	1.2
	2-3	20	26	24	1.2
	3-4	25	36	33	1.3
合計		230	339	304	1.32

1) 0:健全, 1:生育不良, 2:奇形葉, 3:奇形黄変葉, 4:枯死

実験結果

1. 分離された *F. oxysporum* の再分離率

短期輪作，連作圃場において，作付けられた4作目のイチゴクラウン内部から分離された *F. oxysporum* 数，ならびにイチゴ苗に接種後分離された *F. oxysporum* 数を第2表に示した。供試したイチゴ230株からは339菌株の *F. oxysporum* が分離され，接種試験の結果304菌株が再分離された。したがってイチゴクラウン内部に侵入可能な *F. oxysporum* は，イチゴ1株から平均して1.32菌株分離されたことになる。イチゴ1株か

ら分離される菌株数は，発病程度の高い株で多くまたイチゴ連作区で多い傾向であった。

2. 病原力

再分離に供したイチゴ株の経時的な発病度を第3表に示した。各試験区の発病程度が同等のイチゴ株から分離された菌株の病原力はほぼ同じで，連作（イチゴ）区が特に高い傾向は認められなかった。各試験区とも，発病程度2～4のイチゴ株から分離された菌株は，0～1の菌株に比較して強い病原力を示した。しかしながら発病程度2～3と3～4のイチゴから分離された菌株間には病原力の差は認められなかった。

第3表 再接種したイチゴ株の経時的な発病度

試験区	発病程度 ¹⁾	発病度 ²⁾					
		9	10	11	12	3	4月
イチゴ	0-1	3	5	9	16	37	30
	2-3	12	14	28	37	39	44
	3-4	6	8	20	36	38	44
トマト	0-1	4	4	21	29	19	28
	2-3	17	22	40	48	48	51
	3-4	9	16	29	33	36	50
メロン	0-1	15	15	18	21	21	16
	2-3	15	23	35	46	48	55
	3-4	19	27	48	51	49	55
トウモロコシ	0-1	0	3	5	13	33	22
	2-3	11	18	20	27	30	42
	3-4	2	11	25	35	44	50

1) 0:健全，1:生育不良，2:奇形葉，3:奇形黄変葉，4:枯死

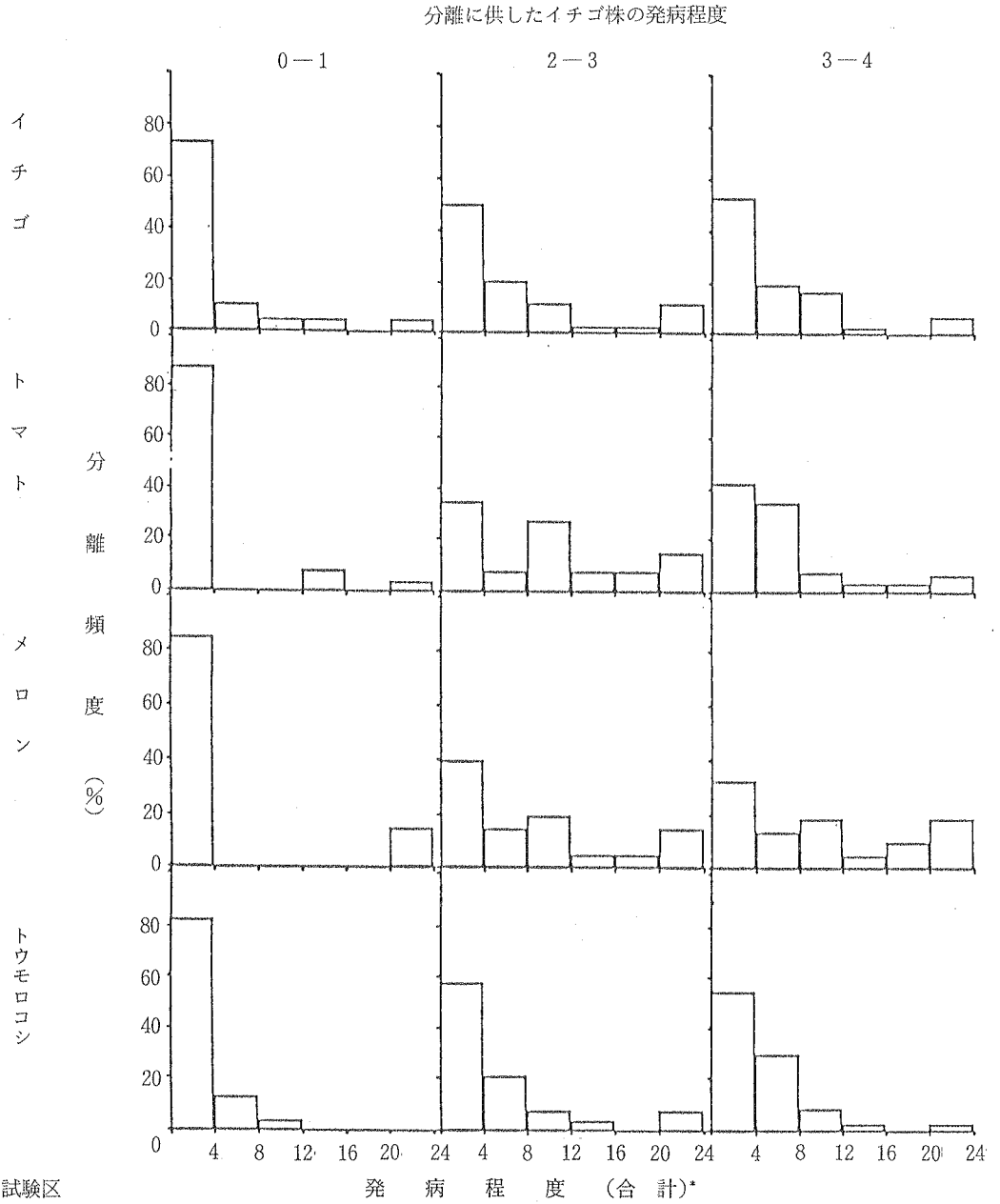
$$2) \text{発病度} = \frac{\Sigma(\text{発病程度})}{\text{調査株数} \times 4} \times 100$$

再分離された菌株各々について病原力の分布を，分離に供したイチゴ株の発病程度，試験区別に第1図に示した。病原力は1985年10月から1986年4月まで計6回調査した発病度を合計し，便宜的に6段階に分類した。その結果分離菌株は広い病原力を示した。発病程度0～1のイチゴ株から分離されたにもかかわらず，強い病原力を示す菌株がイチゴ・トマト・メロン区に認められ，また発病程度3～4のイチゴ株からは弱い病原力の菌株も分離されている。しかしながら一般に発病程度0～1のイチゴ株からは弱病原力の菌株が，また発病程度2～4のイチゴ株からは中～強病原力の菌株が分離される比率が高い傾向にあった。発病程度2～3と3～4のイチ

ゴ株から分離された菌株の病原力の差は，各試験区とも明確でなかった。

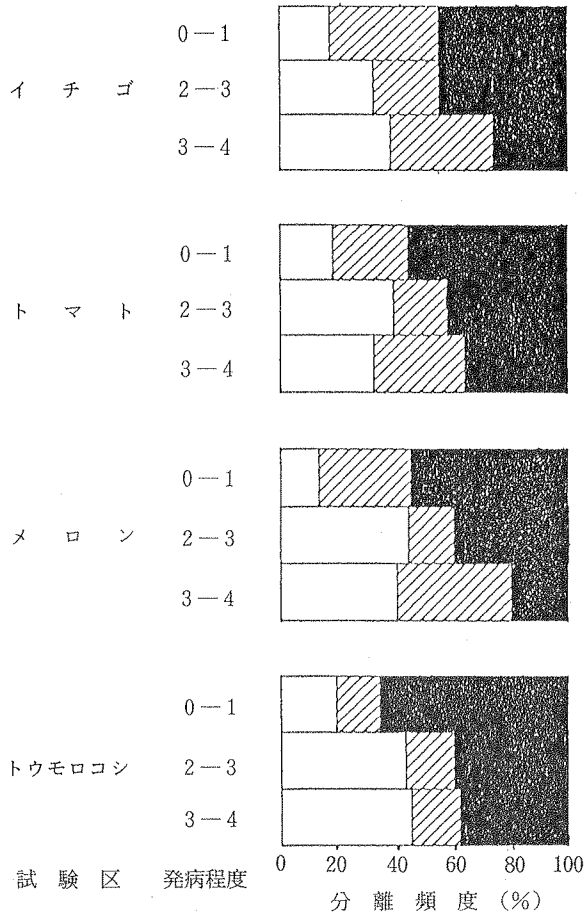
3. 菌叢形態と病原力

1987年5月に再分離された萎黄病菌株の菌叢形態を3種類に分類し，その比率を第2図に示した。菌叢形態は，A型（第3図）：菌叢は密で菌糸は白，ややもり上がったコロニー形態を示すもの，C型（第4図）：菌叢は粗で菌糸は淡褐色，気中菌糸の多いコロニー形態を示すもの，B型：A型とC型の中間のコロニー形態を示すもの，に分類した。各試験区とも，発病程度の低いイチゴ株から分離された菌株はC型が多くてA型が少く，反対に発



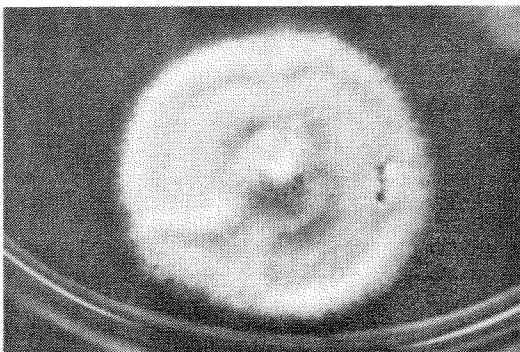
第1図 短期輪作，連作圃場における発病程度別イチゴ株から分離された萎黄病菌株の病原力

* 1986年10月から1987年4月まで6回の発病調査における発病程度の合計

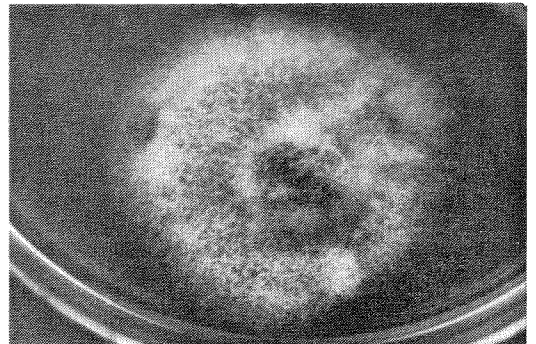


第2図 短期輪作・連作圃場におけるイチゴ株から分離された萎黄病菌株の菌叢形態別頻度

菌叢形態 A型 B型 C型



第3図 菌叢形態 A型

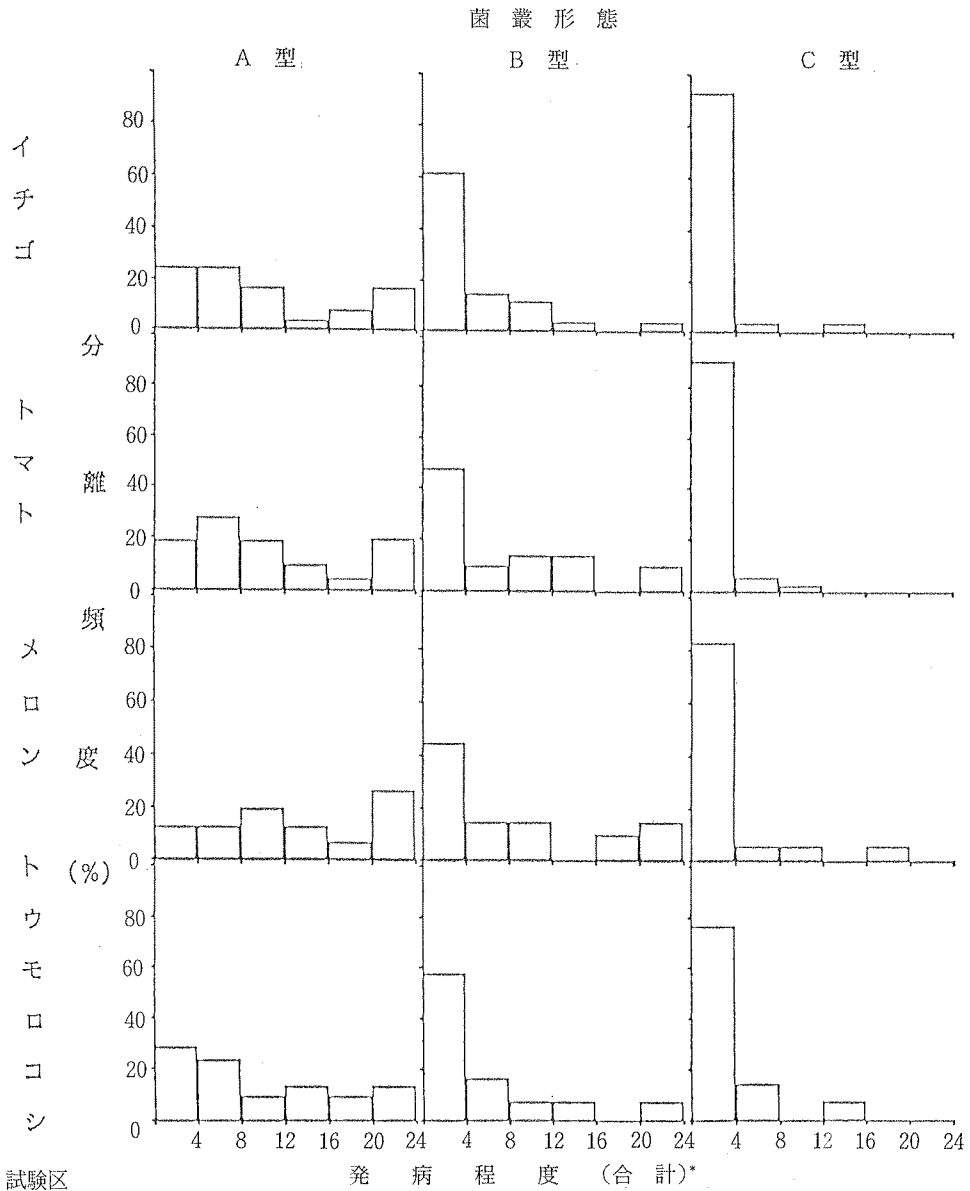


第4図 菌叢形態 C型

病程度の高いイチゴ株から分離された菌株はA型が多くC型が少い傾向にあった。

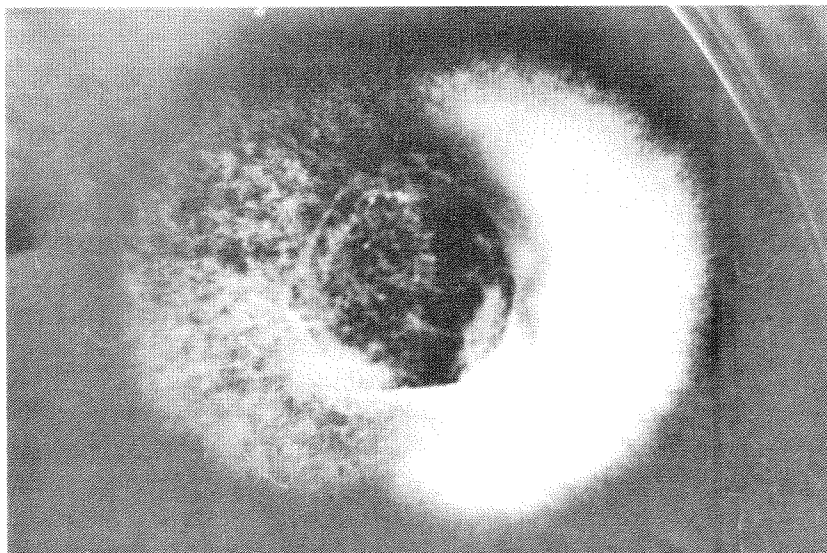
菌叢形態別菌株の病原力(病原力は第1図と同様に、6回の発病調査における発病程度を合計し6段階に分類した)は各試験区とも第5図に示したように、菌叢形態A型の菌株は病原力が強～弱のものまで存在していたが、B型は弱病原力菌株の比率が高まり、C型は弱病原力菌

株がほとんどであった。6回の発病調査で発病程度2(奇形葉)以上を示した菌株率は、A型で82.3%、B型で59.7%、C型で11.8%であった。またイチゴ1株から2種の菌叢形態の異なる菌株が分離されるものがあったが(第6図)、発病程度はAB型が高く、AC型がこれに次ぎ、BC型が最も低くなった(第7図)。

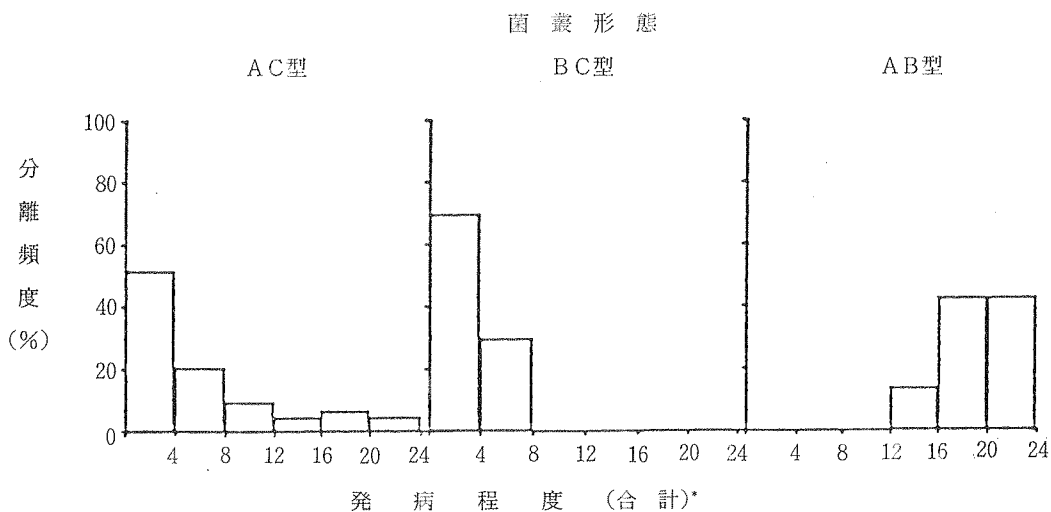


第5図 短期輪作，連作圃場におけるイチゴ株から分離された萎黄病菌株の菌叢形態別病原力

* 1986年10月から1987年4月まで6回の発病調査における発病程度の合計



第6図 イチゴクラウン部からの菌叢形態の異なる2菌株の分離状況



第7図 菌叢形態の異なる菌株に重複感染したイチゴ株の発病度分布

* 1986年10月から1987年4月まで6回の発病調査における発病程度の合計

4. 病徴の回復現象

1986年10～12月の発病調査において、明らかに奇形葉等の萎黄病特有の病徴が認められたにもかかわらず、1987年3～4月にそれらの発病程度が軽くなる現象が認められた(第4表)。病徴の回復現象は、供試した304

菌株の内37菌株(12.2%)に認められた。これらの菌株の内、発病程度2から1～0に軽減されたものが32菌株、発病程度3から2～1に軽減されたものが5菌株であった。その中で1987年3月まで5回の発病調査において、奇形葉等の発病が認められたにもかかわらず、4月の調査では病徴が全く認められなくなった菌株は6

第4表 発病程度の回復現象

供試菌数	回復菌株数	回復株数				
		発病程度	3→2	3→1	2→1	2→0
304	37		4	1	26	6

菌株あった。さらに接種したが再分離されなかった35菌株の中には、1986年10～12月の発病調査で奇形葉を発現したものが3菌株あった。

考 察

筆者らは1982年から1986年までイチゴを主幹作物とする短期輪作を行い、イチゴの後作にメロン等を4か月間栽培することにより次作のイチゴ萎黄病が大幅に減少することを先に報告した⁶⁾。ここではその機構を解明するため、短期輪作および連作4作目のイチゴクラウン内部から *F. oxysporum* を分離し、再接種することによりその病原性について検討した。分離菌の病原性はいずれの作付体系においても、弱いものから強いものまで様々であったが、発病程度の高いイチゴ株から分離される菌株は強い病原性を持つものが多く、反対に低い株から分離される菌株は弱い病原性のもので多い傾向であった。1982年から1986年の短期輪作および連作圃場でのイチゴ萎黄病発病度は、常に輪作区で低く、連作区で高かったことから、輪作土壌では弱病原性菌株・連作土壌では強病原性菌株の比率が高まったと推察された。このような弱病原性菌株の増加は、輪作によるイチゴ萎黄病抑制機構の一要因と考えられる。

また分離菌株には菌叢形態に違いがみられ、菌叢形態と病原性との間には相関関係が認められた。菌叢形態A型を示す菌株は82.3%がイチゴ萎黄病菌であったが、C型の菌株は11.8%が萎黄病菌で、残りはイチゴのクラウン内に侵入するが病徴を示さない菌株であった。菌叢形態と病原性の関係は、*F. oxysporum*^{1), 5)}, *Ceratocystis ulmi*⁴⁾ 等で報告されており、本報と同様高い相関関係が認められている。

ところで1株のイチゴクラウン内部から菌叢形態の異なる2菌株が分離される現象が、ほぼイチゴ3株に1株の割合で認められた。この場合2菌株の内一方がC型の菌叢形態を示すものは、他方の菌株A型・B型の病原性を低下させる傾向にあった。このことは弱病原性菌のイチゴ体内での干渉作用の結果と推察された。手塚ら⁷⁾は、イチゴクラウンから分離した非病原 *Fusarium* を土壌・浸根接種して、イチゴ萎黄病が軽減されることを報告し

ている。また小川ら²⁾は非病原性 *Fusarium oxysporum* を植付時サツマイモ苗に接種することにより、サツマイモの割病の生物防除に成功している。輪作土壌では弱病原性菌の比率が増加するところから、輪作によるイチゴ萎黄病発病軽減の一要因として、弱病原性菌による干渉作用が推察された。

3～4月にかけてイチゴ萎黄病の病徴が軽減する現象が、供試した12.2%の菌株に認められた。この現象は農家の栽培圃場においても、経験的に観察されている。また無病徴のイチゴ株から分離されたにもかかわらず、強い病原性を有する菌株が供試した5.7%の菌株に認められた。牧野ら³⁾も同様に無病徴のイチゴからイチゴ萎黄病菌を分離している。これらのことから、イチゴ(宝交早生)―萎黄病菌という親和性関係においても、感染から発病・病徴の進展に到るまでには、植物体に何らかの発病を軽減する機構が働いているものと思われた。

以上の結果から、輪作によるイチゴ萎黄病の軽減機構として、弱病原性菌の増加ならびに干渉作用が推察されたが、今後引き続き病原菌の病原性変化を中心に検討してゆきたい。

摘 要

イチゴを主幹作物とした短期輪作において、イチゴ萎黄病軽減機構の解明を行った。

1. 短期輪作区および連作区のイチゴから分離される菌株の病原性は、いずれの区でも強いものから弱いものまで様々であった。強い病原性を有する菌株の比率は連作区で高く、反対に短期輪作区で低くなる傾向であった。
2. 親和性の寄主-寄生菌の関係においても、寄主側の発病抑制機構の発現が認められた。
3. 菌叢形態と病原性との間には相関が認められた。フザリウム選択培地上で、強い病原性を有する菌株の菌叢は密で菌糸は白であり、弱い病原性の菌株の菌叢は粗で菌糸は淡褐色であった。
4. 菌叢形態の異なる2種の菌株に複合感染したイチゴ株において、弱病原性菌が強病原性菌による発病を軽減させる現象が認められた。

引用文献

1. ARMSTRONG, G. M., J. D. MACLACHLAN and R. WELNDLING Variation in pathogenicity and cultural characteristics of the cotton wilt organism, *Fusarium vasinfectum*. 1940. *Phytopathology* 30:515—520.
2. 小川 奎・駒田 且 非病原性 *Fusarium oxysporum* によるサツマイモつる割病の生物的防除. 1984. *日植病報* 50:1—9.
3. 牧野秋雄・中村秀雄・鈴木考仁 イチゴ萎黄病の発病経過および病徴発現と無病徴感染. 1982. *日植病報* 48:354 (講要).
4. SCHREIBER, L. R. and A. M. TOWNSEND, Variability in aggressiveness, recovery and cultural characteristics of isolates of *Ceratocystis ulmi*. 1976. *Phytopathology* 66:239—244.
5. SHOU-KUNG SUN and JENN-WEN HUANG Variation in the watermelon wilt pathogen, *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. 1979. *Plant Protection Bulletin* 21(3):313—322.
6. 総合助成試験中核研究成果 1986. 異種作物の導入による基幹作物（イチゴ・ナス）の安定連作技術の確立 6—69.
7. 手塚信夫・牧野孝宏・森田 儒 非病原 *Fusarium* 菌によるイチゴ萎黄病の防除 1986. *日植病報* (講要) 52:542.