

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

岡山健夫・小島博文・小玉孝司

Selection and Effect of Antagonistics on Fusarium wilt of Strawberries

Ken'ō OKAYAMA, Hirofumi KOBATAKE and Takashi KODAMA

Summary

1. Micro-propagated nurseries were used to test for antagonism for *Fusarium oxysporum* f.sp.*fragariae*. In this method, antagonism was able to select in narrow place all the year round.
 2. Bacteria, fungi and actinomycetes isolated from the roots and soil of strawberries, melons, corn and wheat, and tested for antagonism for *Fusarium oxysporum* f. sp.*fragariae*. Sixty-six isolates proved to be antagonistic to pathogen during culturing. These organisms were mixed in the soil planted with strawberries for testing and then, inoculated with conidia of *Fusarium oxysporum* f.sp.*fragariae*. *Bacillus subtilis*, actinomyces were significantly better than with no treatment during juvenile nurseries test, and effective as benomyl in nursery plants planted in pots.
 3. Non pathogenic *Fusarium* isolated from the infested soil and mixed in the sterilized soil before inoculation were also better than in the soil not treated.
- These isolates were able to be applied to strawberry clean nursery programs and protect against re-contamination by *Fusarium oxysporum* f.sp.*fragariae*.

Key words: *Fusarium oxysporum* f. sp.*fragariae*, biological control, *Bacillus subtilis*, non-pathogenic *Fusarium*.

緒 言

イチゴ萎黄病の防除対策として、これまでに奈良県では優良親苗増殖事業による無病苗の配布、太陽熱利用によるハウス内の土壌消毒法の開発等が行われた結果、発病株率が毎年低下し一応の成果を納めてきた。とくに、本圃では太陽熱利用による土壌消毒や異種作物との短期輪作によって本病の被害は顕著に低減した。しかしながら、育苗圃では農家の一戸当たり保有面積が小さいために、十分な輪作期間をとることが難しく、萎黄病の広域的な汚染状態が続いている。このため、産地の病原菌密度が高く、優良親苗増殖事業によって作られた親株は、本圃に植え付けるまでの間に、絶えず再汚染の危険にさらされている。現在、育苗圃ではガスくん蒸剤による土壌消毒が行われているが、住宅地に近接した産地が増加しており、これに替わる防除技術の開発が求められている。

近年、土壌病害の防除法として微生物の利用が検討され、サツマイモつる割病⁴⁾やイチゴ萎黄病などのフザリウム病に対する非病原性フザリウムの前接種⁸⁾、*Pseudomonas gladioli* を接種したネギとの混植によるユウガオつる割病の防除³⁾等の研究が行われ、有用微生物を使った防除法の実用化が期待されている。

ここではイチゴ無病株の再汚染を防止するために、萎黄病に対して拮抗性をもつ微生物を探索し、これをあらかじめ無病株に接種して再汚染防止効果を得たので、その結果を報告する。

材料および方法

1. 培養苗を利用したイチゴ萎黄病の幼植物検定
現行のイチゴ萎黄病に対する有効薬剤の検索や有用微生物のスクリーニング法では、検定に用いる子苗の大量

確保が難しく、しかも発病時期が高温期に限定されるために、迅速な検定が困難である。そこで、周年的で、より簡易な早期検定方法を検討した。検定用のイチゴ苗は組織培養によって大量増殖し、60ml容量の容器にパーミキュライトを入れて2週間順化した培養苗(宝交早生種)を用いた⁵⁾。

接種に用いた萎黄病菌の調整は、フザリウム用液体培地で25°C、10日間振とう培養した菌液をガーゼで濾過し、滅菌水で所定の孢子濃度に希釈した。イチゴ培養苗への接種は、1987年6月12日に株当たり10mlの菌液を灌注処理した。接種後はその苗をガラス室内に置き、接種15日後、20日後、30日後、90日後に発病程度別に発病株数を調査し、下記の発病調査基準で発病度を算出した。

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

2. イチゴ萎黄病に対する拮抗微生物の探索方法

1985年から1986年に萎黄病汚染圃場に植えたイチゴ、メロン、トウモロコシ、コムギの根面、根圏土壌、カニガラ連用土壌から、三層寒天法によって萎黄病菌に抗菌活性を示す糸状菌、細菌、放線菌を分離し、対峙培養で拮抗程度の高い菌株を獲得した。これらの菌株は糸状菌をPSA、細菌をKing B、放線菌をグルコース・アスパラギン寒天培地で培養し、蒸留水に懸濁した。この菌液にイチゴ苗の根を1時間浸漬した後、萎黄病汚染土壌に植え、残液を株元に灌注した。高温期にはハウス内の汚染土壌に直接植え、低温期には汚染土壌を入れた鉢に植えて気温22°C~35°Cの人工気象室内に置き、前項の発病基準に基づいて発病を程度別に調査し、発病株率、発病度を算出した。対照としてペノシル水和剤500倍液を用い、2回の試験によって防除効果の高い菌株を選抜した。

3. 培養苗に対する拮抗微生物の効果

順化中のイチゴ培養苗に拮抗微生物を処理し、萎黄病に対する防除効果を検討した。拮抗微生物は前項で選抜した細菌2菌株(*Bacillus* sp. A, *Bacillus* sp. B)、放線菌(AC-2-3)、*Trichoderma* sp. (TR-2)を供した。細菌はイチゴ、メロンの根面、根圏土壌から分離し、放線菌はカニガラ土壌から、*Trichoderma* 属菌はトウモロコシの根圏からそれぞれ分離した。

1988年9月3日に拮抗微生物を培養苗に処理し、1日後にイチゴ萎黄病菌を接種した。拮抗微生物の処理には細菌、放線菌は60ml容量のポット当たり5mlの液体培養

菌を、*Trichoderma* sp.は2gのふすま培養菌を用いた。萎黄病菌は 10^4 、 10^5 、 10^6 孢子/ml濃度の菌液をポット当たり10ml接種した。1処理当たり10株の培養苗を供試し、病原菌接種後3.5.9週間目に前項の発病基準に基づいて発病程度別に発病株数を調査し、発病株率、発病度を算出した。

4. 拮抗性細菌の同定

培地上で抗菌活性を示し、イチゴ萎黄病の防除効果が認められた細菌のうち*Bacillus* sp. Aについて細菌学的性質を調査し、所属を簡易同定した。調査はグラム染色、芽胞形成の有無、芽胞の形状及び位置、55°C及び45°Cでの生育、Sabouraud dextrose寒天培地での生育、澱粉の分解、嫌気培養における生育等について行った。併せてイチゴに対する病原性、ピートモス培地での細菌の保存性を調査した。

5. 鉢育成苗に対する拮抗微生物のイチゴ萎黄病防除効果

1986年、1987年に萎黄病汚染圃場から選抜した菌株について、1988年6月10日に鉢育苗したイチゴ苗にあらかじめ処理し、萎黄病に対する再汚染防止効果を評価した。

拮抗微生物として、細菌3菌株(*Bacillus subtilis*, *Bacillus* sp. B, *Pseudomonas* sp.), 放線菌2菌株(AC-2-3)はPS液体培地及びピートモス培養菌を、*Trichoderma* sp. (Tr-2)はふすま培養菌を供試した。液体培養菌は25°Cで10日間振とう培養し、ピートモス培養菌、ふすま培養菌は1カ月間培養した。殺菌土壌を入れた容量800mlのポリ鉢で育苗したイチゴ苗に、培養菌液は20mlを株元灌注し、ピートモス及びふすま培養菌は3gを株元施用した。

拮抗微生物を処理した苗はガラス室内におき、10日後にイチゴ萎黄病菌の液体培養菌(10^6 孢子/mlを鉢当たり10ml)を接種した。接種30日、60日後に発病程度別に病株数を調査し、発病株率、発病度を算出した。なお、対照としてペノシル水和剤の500倍液を鉢当たり10ml灌注した。

6. イチゴ萎黄病に対する非病原性フザリウム菌の防除効果

1986年4月に萎黄病汚染圃場に植えたイチゴから無病徴株を選び、その根冠部から*Fusarium* 属菌102菌株を分離し、ショ糖加用ポテト煎汁液体培地で培養した。9月27日にこれらの菌液にイチゴ苗の根を17時間浸漬した後、汚染圃場に植え付けた。イチゴ苗は1菌株当たり4

株を供試し、植え付け50日後に発病を調査して防除効果が認められる非病原性フザリウム菌株を選抜した。

1) 土壌混和による防除効果

選抜した菌株のうち防除効果の高かった3菌株(FS-S-9, FS-S-10, FS-S-14)を1カ月間ふすま培養したもの、臭化メチル殺菌土壌に10% (容量比) 混和し、イチゴ子苗を植え付けた。植え付け3週間後(1986年9月5日)に萎黄病菌(10⁵孢子/ml)を容器(容量8ℓ)当たり500ml接種した。接種45日後に発病株を程度別に調査し、発病株率、発病度を算出した。

2) 株元灌注による防除効果

前項の非病原性フザリウム菌株をショ糖加用ポテト煎汁液体培地で10日間培養し、ブレンダーで粉碎した菌液25mlをイチゴ苗に灌注して3日後に萎黄病菌(10⁵孢子/mlを鉢当たり20ml)を接種した。接種60日後に発病株を程度別に調査し、発病株率、発病度を算出した。

結果および考察

1. 培養苗を利用した検定法

順化中の培養苗は、パーミキュライト60ml当たり1.5×10⁵孢子/ml以上の萎黄病菌菌液を10ml接種すると30日後には供試した全株が発病した。接種菌量1.5×10⁴以下では発病が不安定であり、安定した発病には10⁵孢子/ml以上の接種菌量が必要である。病徴は接種15日後から認められ、30日後には接種菌密度に対応した病徴を示した。10⁷孢子/ml濃度接種では培養苗が急激に枯死したが、10⁵

第1表 イチゴ萎黄病菌の接種菌密度とイチゴ幼植物の発病

Table 1. Relationship of inoculum density of *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* in soil to the incidence of strawberry wilt.

萎黄病 菌密度 (孢子/ml) 株数	供試				発病株数				発病度			
	15	20	30	90日後	15	20	30	90日後				
1.5×10 ⁷	5	5	5	5	85	95	100	100				
1.5×10 ⁶	5	1	3	5	10	35	95	100				
1.5×10 ⁵	5	3	4	5	35	45	75	100				
1.5×10 ⁴	5	0	0	2	0	0	20	40				
1.5×10 ³	5	0	0	0	0	0	0	0				
1.5×10 ²	5	0	0	0	0	0	0	0				
0.0	5	0	0	0	0	0	0	0				

注) 供試株は大量増殖の順化苗を用いた。順化はパーミキュライトを培養土として2週間育苗した。

10⁵、10⁶ 孢子/ml 濃度では日数経過と共に病徴が進み、病徴や接種から発病に至る期間は成苗による検定法と変わらなかった。

以上の結果から、培養苗を利用した検定法の萎黄病菌接種菌量は、用土60ml当たり10⁵/mlの孢子液10mlを接種するのが適し、発病適温条件の28℃に置くことにより、3週間後に発病調査を行うことができることが明らかになった(第1表)。

現行のイチゴ病害に対する検定法は、検定苗の確保に多大の時間と労力を要するうえに、萎黄病は発病適期が高温期に限定されるために、検定可能な期間が6~9月に制約されていた。ところが、イチゴの試験管内大量増殖法によるとイチゴ無病菌を容易に周年かつ画的に増殖することができることから、この苗を利用することで、イチゴ萎黄病の検定可能な期間が従来よりも大幅に拡大できる。また、この検定方法は小面積の場所で行える利点があり、拮抗微生物の探索だけでなく、薬剤の効果試験や耐病性検定等のスクリーニングにも十分に利用できると思われる。

2. イチゴ萎黄病に対する拮抗微生物の防除効果

1) 培養苗に対する拮抗微生物の防除効果

培地上で拮抗性を示した菌株のなかから汚染土壌に植え付ける一次選抜によって細菌23菌株、放線菌23菌株、糸状菌20菌株を選んだ。この中から抗菌活性、防除効果の高かった細菌3菌株(*Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp. A, *Bacillus* sp. B)、放線菌1菌株(AC2-3)、*Trichoderma* sp. (TR-2)を選抜し、順化中の培養苗を使って防除効果を検討した。その結果、10⁴孢子/mlの萎黄病菌接種区では、接種3週間後において拮抗微生物を処理しない苗は40%の株が発病したのに対し、拮抗微生物を処理した培養苗は発病しなかった。萎黄病菌の10⁵孢子/mlを接種した株においても防除効果は明確に現れ、10⁶孢子/mlではやや効果が低下する傾向が認められた。供試微生物の中で、*Bacillus* sp. Aは10⁵孢子/ml以下の接種量で9週間後になっても発病株が現れず、高い防除効果が認められた。*Bacillus* sp. Bおよび放線菌AC2-3接種株も5週間後まで有意に防除効果が認められた。*Trichoderma* 属菌は他の拮抗微生物に比べて防除効果が劣ったが、10⁵孢子/ml以下の接種量では明らかに発病が抑えられた(第2表)。

細菌の生理的性質をBERGEY'S Manual 第8巻の記載に従って調査した結果、拮抗性細菌*Bacillus* sp. Aは培養的性質並びにグラム染色、芽胞形成等の特徴、細菌学的性質から*Bacillus subtilis*と同一した(第3表)。

第2表 培養苗に対する拮抗微生物のイチゴ萎黄病防除効果

Table 2. Effect of antagonists on *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* in preventing *Fusarium* wilt of strawberry nursery plants.

拮抗微生物	萎黄病菌接種菌密度(孢子/ml)					
	発病株率(%)		発病度			
	$\times 10^3$	$\times 10^5$	$\times 10^6$	$\times 10^4$	$\times 10^5$	$\times 10^6$
接種3週間後						
<i>Bacillus</i> sp. A	0	0	0	0	0	0 c
<i>Bacillus</i> sp. B	0	20	40	0	18	20 bc
放線菌(AC-2-3)	0	0	30	0	0	20 bc
<i>Trichoderma</i> sp. (TR-2)	-	10	50	-	10	40 ab
無接種	40	40	70	35	20	58 a
接種5週間後						
<i>Bacillus</i> sp. A	0	0	0	0	0b	0 c
<i>Bacillus</i> sp. B	0	20	40	0	18ab	20 bc
放線菌(AC-2-3)	0	0	60	0	0b	35 b
<i>Trichoderma</i> sp. (TR-2)	-	10	60	-	10ab	40 ab
無接種	40	60	90	35	30a	68 a
接種9週間後						
<i>Bacillus</i>	0	0	10	0	0	5 b
<i>Bacillus</i> sp. B	0	20	60	0	10	40 ab
放線菌(AC-2-3)	0	30	50	5	15	38 ab
<i>Trichoderma</i> sp. (TR-2)	-	10	60	-	10	43 a
無接種	50	50	80	45	30	68 a

注1) 供試株は大量増殖の順化苗を用いた。順化はパーミキュライトを培養土として育苗した。

注2) 同一英小文字間には Duncan's multiple range test による5%有意差がないことを示す。

第3表 拮抗性細菌の細菌学的性質

Table 3. Characteristics of antagonistic bacteria.

性質	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus</i> sp. A
1 グラム染色	+	+
2 芽胞形成	+	+
3 胞子の形態	楕円形	楕円形
4 Dominant position	中心	中心
5 sporangium の膨れ	-	-
6 50°Cでの生育	+	+
7 45°Cでの生育	+	+
8 7% NaClでの生育	+	+
9 pH 5.7での生育	+	+
10 濃分の加水分解	+	+
11 嫌気培養	-	-

また、本細菌はイチゴに病原性はなく、ピートモス培地で10カ月以上保存維持することができ、その間に抗菌活性に変化は認められなかった。

2) 鉢育苗に対する拮抗微生物の防除効果

イチゴ萎黄病に対して拮抗性を持つ *Bacillus*, *Pseudomonas*, 放線菌並びに *Trichoderma* 属菌を鉢育苗中のイチゴ苗に土壌混和処理した結果、イチゴ萎黄病菌接種30日後において無接種区よりも発病株が少なく防除効果が認められた。とくに、*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas* sp. および放線菌(AC-2-3)はペノミル水和剤の500倍液灌注と同程度の防除効果が認められた。接種60日後には防除効果が低下したが、*Bacillus subtilis* や *Bacillus* sp. B は無処理区より発病が少なく防除効果を持続した。*Trichoderma* sp. (TR-2) は接種30日後後に防除効果が認められたが、接種60日後にはほとんど効果が見られなかった。なお、拮抗微生物は培養方法によって防除効果が異なり、*Bacillus* 属菌は液体培養菌、*Pseudomonas* sp. はピートモス培養菌の効果が高かった(第4表)。

本実験で分離したイチゴ萎黄病に対する拮抗微生物の *Bacillus* 属菌、*Pseudomonas* 属、放線菌および *Trichoderma* 属菌は、いずれも萎黄病菌に対して拮抗性が強く、これらの菌株を培養苗や鉢育苗にあらかじめ処理すると萎黄病に対して高い防除効果が付与できることが明らかになった。供試した *Bacillus* 属菌のうち *Bacillus subtilis* はフザリウム病であるキマメの立枯病⁷⁾ やカーネーション立枯病¹⁾ の発病を抑制することが知られ、キマメの種子にこの細菌をコーティングして播種すると、種子圏及び根圏から抗菌性物質 bulbinformin の産生が確認されている²⁾。しかし、本実験では *Bacillus subtilis* の菌液にイチゴ苗を浸根して汚染圃場に植えたり、菌液を汚染圃場に灌注しても効果は認められなかった。このことは本菌が芽胞形成菌であることが影響し、土壌中では抗菌性物質の産生が低下するために防除効果が不安定になったと推察される。したがって、本菌をイチゴ萎黄病の防除に用いる場合には、汚染土壌に直接利用するよりも、あらかじめ殺菌した土壌に接種して優先微生物として定着させ、再汚染防止効果を目的に利用することが望ましいと考えられる。本菌は他の病原菌に対しても強い抗菌活性を持ち、土壌の静菌作用との関係も深いと考えられている。今後は自然土壌や汚染土壌における本菌の動態を明らかにし、土壌中でより増殖しやすい条件を解明する必要がある。

Pseudomonas 属菌については蛍光性 *Pseudomonas* が小麦立枯病に有効であり、種子コーティングして汚

第4表 鉢育苗に対する拮抗微生物のイチゴ萎黄病防除効果

Table 3. Effect of antagonists on *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* in preventing Fusarium wilt of strawberry.

拮抗微生物	接種 30 日後			接種 60 日後	
	培地	発病株率%	発病度	発病株率%	発病度
<i>Bacillus subtilis</i>	液体	10	5 b	60	43 bcd
<i>Bacillus</i> sp.	液体	20	13 ab	30	25 cd
<i>Pseudomonas</i> sp.	液体	40	20 ab	90	60 abc
放線菌 (AC-2-3)	液体	60	33 a	60	45 bcd
<i>Bacillus subtilis</i>	ビートモス	30	15 ab	70	55 abc
<i>Bacillus</i> sp.	ビートモス	30	15 ab	70	58 ab
<i>Pseudomonas</i> sp.	ビートモス	10	5 b	80	55 abc
放線菌 (AC-2-3)	ビートモス	0	0 b	70	65 ab
<i>Trichoderma</i> sp. (TR-2)	ふすま	10	5 b	90	58 abc
<i>Trichoderma</i> sp. (TR-7)	ふすま	30	15 ab	100	83 a
ペノミル		10	5 b	20	13 d
無処理		40	23 ab	100	78 ab

注1) ペノミル水和剤は500培液を鉢当り10ml灌注。

注2) 液体培地はPPG液体培地を用いた。

注3) 同一英小文字間にはDuncan's multiple range testによる5%有意差がないことを示す。

染圃場に播種され効果を発揮したことが報告されている⁹⁾。本実験で分離した *Pseudomonas* 属菌は蛍光を発しないが、萎黄病菌に対して拮抗性を持っており、その所属を同定し、安定的に効果を発揮させる条件を明らかにする必要がある。

Trichoderma 属菌については、病原菌の生育を抑制し発病を減少させた例は多数報告されており、その機作は主として病原菌への寄生であり、*Trichoderma harzianum* は *Sclerotinia rolfisii* や *Rhizoctonia solani* の菌糸に侵入して菌糸を溶解し、インゲン、トマト、ナスの苗立枯病を減少させる⁶⁾。これまでフザリウム菌に対する効果は明らかでなかったが、本実験によりイチゴ萎黄病に対して有効な菌株が分離された。今後は作用機作を解明するとともに、培養方法、製剤化等の利用方法を検討したい。

放線菌は抗生物質を生産する微生物として土壤中から多数分離されるが、抗生作用を示す放線菌を土壤に接種して病害防除に成功した例は少ない。本試験ではカニガラ連用土壤から分離した放線菌を殺菌土壤に前接種したところ、再汚染防止に有効と考えられた。培養土にカニガラを利用することによって定着密度が増加する可能性もあり、汚染土壤での利用も併せて検討したい。

3. 非病原性フザリウム菌の土壤混和によるイチゴ萎黄病の防除効果

非病原性フザリウム62菌株のそれぞれをあらかじめイ

チゴ苗に接種した後、汚染圃場に植えた場合、平均発病株率が47%、平均発病度は29.5であり、非病原性フザリウムを接種しなかった場合の67%、40に比べて発病が抑制された。これらの菌株の中で効果の高いFS-S-9、FS-S-10、FS-S-14を選抜し、殺菌土壤に処理してイチゴ子苗を植え付けた後、イチゴ萎黄病菌を接種したところ、無処理に比べ発病株率、発病度が低く防除効果が認められた。非病原性フザリウム菌の処理方法はふすま培養液の土壤混和、ショ糖加用ポテト煎汁液体培地の振とう培養液の灌注のいずれも有効であり、ペノミル水和剤とほぼ同程度の防除効果が認められた(第5表)。

非病原性フザリウム菌は植え付け前の苗を菌液に浸漬することによって、サツマイモつる割病の防除に有効なことが明らかにされ、実用化のために菌株の製剤化実験が進められている⁴⁾。イチゴ萎黄病に対しても同様の方法により、有効であることが明らかにされているが⁸⁾、くん蒸剤や薬剤に比べて防除効果が低く実用化が進みにくい原因になっている。本実験の結果から、非病原性フザリウム菌はこれまでの報告にある浸根処理だけでなく、殺菌した培養土にあらかじめ接種することによって、安定した発病抑制効果を得られることが明らかになった。現在、イチゴ苗の増殖用土には、主に山土や土壤くん蒸剤による土壤消毒を行った殺菌土壤を使用しており、このような用土に有効な非病原性フザリウムをあらかじめ接種することによって、イチゴに再汚染防止効果が付与できると考えられる。

第5表 非病原性フザリウム菌のイチゴ萎黄病発病抑制効果

Table 4. Effect of non-pathogenic *Fusarium oxysporum* on the incidence of strawberry wilt by *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*.

非病原性 <i>F. oxysporum</i>	発病株率%	発病度
土壌混和処理		
FS-S-9	35	21
FS-S-10	27	15
FS-S-14	20	15
ベノミル水和剤	20	10
無処理	47	27
株元灌注処理		
FS-S-9	20	22
FS-S-10	20	25
FS-S-14	30	31
ベノミル水和剤	20	16
無処理	40	38

注1) 土壌混和処理は1区15株、株元灌注処理は1区8株を供試。

注2) 土壌混和処理は非病原性 *F. oxysporum* 菌をふすま培地で30日間培養し、土壌に混和 (10% vol.) した。土壌灌注処理はPD培地で10日間振とう培養し、希釈した菌液を鉢当り (鉢容量 800 ml) 25ml 灌注した。

以上のように、選抜した *Bacillus* 属細菌や *Pseudomonas* 属細菌、*Trichoderma* 属菌、放線菌、非病原性フザリウムは、培養によるイチゴ苗増殖の順化過程、あるいは現行のランナー増殖の育苗段階において、殺菌土壌へ植え付け前に処理したり、育苗培養土に混和することによって、育苗中の萎黄病による再汚染防止効果が期待できると考えられる。しかしながら、菌株によっては培地の種類が異なると効果が大きく変動する傾向も認められており、今後はこれらの有用微生物がイチゴの根圏でより安定的に定着し、増殖できる条件を明らかにし、再汚染防止効果の持続性を高める必要がある。

謝 辞

Bacillus subtilis の同定にあたり、農林水産省草地試験場、加藤邦彦博士にご指導を賜った。深謝の意を表する。

摘 要

イチゴ産地では連作により病原菌密度が高まっており、無病株の再汚染の危険に絶えずさらされている。そこで、再汚染を防止するためにイチゴ萎黄病に対する拮抗微生物を探索し、その防止効果を検討した。

1. 組織培養によるイチゴ培養苗を利用した検定法によって、イチゴ萎黄病に対する拮抗微生物の効果検定が小面積で周年的に可能になった。

2. 萎黄病汚染圃場のイチゴ、メロン株の根面、根圏土壌から細菌3菌株、カニガラ連用土壌から放線菌、トウモロコシの根圏から *Trichoderma* 属菌をそれぞれ選抜した。これらの菌株はいずれも培養基上でイチゴ萎黄病菌に対して拮抗性を示し、細菌及び放線菌の液体培養菌、*Trichoderma* 属菌のふすま培養菌を順化中のイチゴ幼植物に接種したところ、萎黄病に対する防除効果を認めた。

3. 鉢育苗 (容量 800 ml) のイチゴ苗への細菌 (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas* 属菌の鉢当たり 20ml) または *Trichoderma* 属菌 (ふすま培養菌を鉢当たり 3g) の処理はイチゴ萎黄病接種30日後においてベノミル水和剤の500倍液灌注と同程度の防除効果を認めた。防除効果は拮抗微生物の培養方法によって異なった。

4. 非病原性フザリウム菌の土壌混和もまたイチゴ萎黄病に対する再汚染防止効果を認めた。

引 用 文 献

- ALDRICH, J. and R. BAKER. (1970) Biological Control of *Fusarium roseum* f. sp. *dianthi* by *Bacillus subtilis*. Pl. Dis. Repr. 54: 446-448
- FILIPPI, C. BAGNOLI G. VOLTERRANI M. and PICCI G. (1987) Antagonistic Effect of Soil Bacteria on *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *dianthi* (Prill and Del.) Snyd. and Hans
- 木嶋利男・有江 力 (1987) 抗菌微生物を用いた土壌病害の生物防除、植物防疫 41 (3): 129-133
- 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防除 日植病報. 50, 1~9.
- 岡山健夫・大澤勝次 (1984) 組織培養によるイチゴ・サトイモの大量増殖. 奈良農試研報 15 (1984) 1-9.
- 大島俊市 (1966) *Trichoderma lignorum* (Tode) Harz のタバコ白絹病菌に対する拮抗作用とその作用. 岡山たばこ試報 27: 1-43.
- SINGH, P., R.S. VASIDEVA and B.S. BAIJI (1965), Seed bacterization and biological activity of bulbiformin. Ann. Appl. Biol. 55: 89-97
- 手塚信男・牧野孝宏 (1988) イチゴ萎黄病に対する非病原性フザリウム菌の利用. 植物防疫 42: 251-254.
- WELLER D.M. (1983) Colonization of wheat roots by a fluorescent pseudomonad suppressive to take-all. Phytopathol. 73: 1548-1553