微生物処理誘導抵抗性によるナス科果菜類のネコブセンチュウ防除技術

農研機構 中央農業総合研究センター　水久保　隆之（みずくぼ　たかゆき）

はじめに

トマト，ピーマン等ナス科の果菜類の栽培では多発するネコブセンチュウの防除のため多量の化学農薬が投与される。化学農薬は安価で確実な防除手段であるが，時代のもうひとつのニーズである有機農業では使用が大きく規制されている。そこで，有機農業にも利用可能な微生物利用型防除技術の開発をめざした。本稿では，研究開発の経緯と経過，実証試験等の結果について概略を紹介する。この研究は，「新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業，課題番号：2020」（H20–23 農林水産省）の助成を得て実施されたものである。

I　非病原性フザリウム菌のネコブセンチュウ抑制効果

1　ネコブセンチュウの抑制効果の発見

非病原性のフザリウム菌（以下 NPF）にはフザリウム菌による萎凋病の防除資材として選抜された系統があり，その代表が島根大学選抜の非病原性系統 F13 菌株である（駒田，1997）。この菌株をサツマイモネコブセンチュウ汚染土壌に混和してトマトを植えると線虫の被害（根こぶ指数）や線虫密度が増加した。しかし，F13 菌株を線虫より 2 日遅れて接種させる条件で試験すると，線虫害の軽減傾向が認められ，幼虫数は無処理対照区より有意に減少した（図–1）。

このことから，適切な接種条件の下では F13 菌株がネコブセンチュウの防除に利用できる可能性が示された（水久保・津田，2013）。

2　フザリウム菌処理の方法

（1）　茎接種法の着想

NPF を土壌混和する従来法では，培養物の多量投入が必要なためコストがかさみ効果も安定しない。そこで，トマトの茎へ PSB 液体培地で培養した F13 菌株の分生子 10^5 個/3 μl を注射針で直接接種する試験をポットで実施し，茎への接種で線虫防除効果が現れることを明らかにした（図–2）（水久保ら，2011）。この場合も，NPF が線虫の処理より 2 日遅れて処理された場合に線虫密度が最も低く，根こぶの着生程度は線虫より 2 日遅い茎接種で最も低かった。

（2）　接種法

NPF の小型分生子の茎接種法は，当初 PSB で振盪培養して得た小型分生子のペーストを注射針にすくい取ってトマトの茎に突き刺していた。この方法に代わって，爪楊枝を削って細い先端に加工した接種具（ペグ）の先端に小型分生子のペーストを塗布し，トマトの茎に突き刺す簡便な接種方法を開発した（図–3）。分生子を塗布したペグは 4℃で保存できるが，1 か月保存したものでは防除効果が低下したことから，ペグの分生子の活性は 1 週間程度であると考えられた。

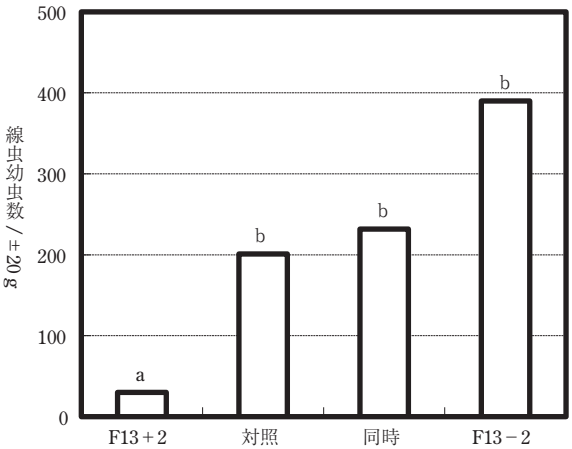


図-1　非病原性フザリウム菌 F13 菌株の接種時期と線虫密度の関係
F13 ＋ 2：線虫土壌接種→定植→ F13 菌株土壌接種（2 日後）.
対照：線虫のみ接種.
同時：フザリウム菌 F13 菌株と線虫を土壌接種→定植.
F13 － 2：F13 菌株土壌接種（2 日前）→定植→線虫接種.
線虫接種 500 頭/ポット，35 日後調査，反復 3.

Use of Microbe Induced Resistance for the Control of Root-knot Nematode on Solanaceae Plants.　By Takayuki Mizukubo

（キーワード：ネコブセンチュウ，非病原性フザリウム菌，弱毒ウイルス）

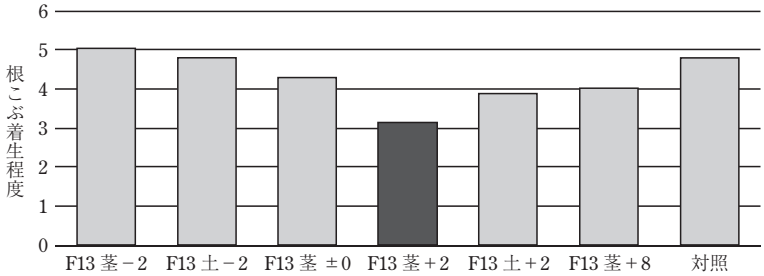


図-2　非病原性フザリウム菌F13菌株の処理時期が根こぶ着生程度に及ぼす影響
F13菌株の土壌混和と茎接種の比較試験．数字はネコブセンチュウの接種を基準にしたF13菌株の処理日の差を示す．－2は2日前，＋2は2日後を指している．
抵抗性遺伝子Tm-1を持つトマトの桃太郎にToMVのL11A237，500頭/ポットの線虫接種，42日間栽培，反復4.
根こぶ着生程度はZeck（1971）の根こぶ階級値で判定した．

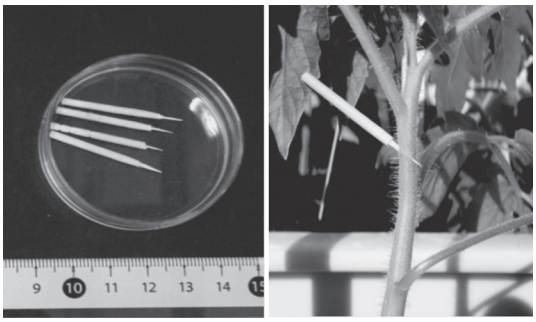


図-3　接種具（ペグ）によるフザリウム菌の茎接種法
接種具は爪楊枝（長さ65 mm，ϕ2 mm）を2分し，各端末の8 mm長をϕ0.8 mm程度に細く削ったものである．この先端に小型分生子のペーストを塗って植物の茎に突き刺す．
小型分生子のペーストは，PDBで25℃ 6日程度振盪培養した培養物からろ過・遠心により得られる．

（3）　接種条件

1）葉位

F13菌株から作出した栄養要求変異株（*nit*株）を用い，トマト苗への接種位置の高さ（葉位）による防除効果（根こぶ数）を評価した。F13菌株の*nit*変異株をウイルス接種苗の上位葉位に接種したとき根こぶ数は少なかった（図-4）。このとき上位に接種したF13の*nit*菌株が植物体の下位から検出され移動が確認されたが，根からは検出されなかった。

2）菌量

分生子10^5, 10^6, 10^7個の3水準の接種効果をF13 *nit*菌株とMFP3 *nit*菌株（後出）間で比較検討した。根こぶ数はF13菌株の10^6接種で無処理より77％低下したが，10^5個接種と10^7個接種の減少率は低かった（それぞれ38％，26％）。卵のう数はF13菌株10^6個，MFP3菌株10^6個，10^7個接種で無処理より70％抑制された（図-5）。このとき，菌はトマト茎内からほとんど検出されず，茎内部での移動や増殖はなかったと考えられた。根こぶ数の大きな減少にもかかわらず，F13 *nit*菌株，MFP3 *nit*菌株ともにトマトの茎から未検出だったことは，菌のトマト体内移行（感染拡大）が線虫抑制効果発現の条件ではないことを示す。

3）温度

NPFのF13株を接種したトマトを23℃，25℃，28℃に設定したファイトトロンで栽培し，無処理と比較した。根こぶ数および卵のう形成数に及ぼす防除の効果は栽培温度間で有意差がなかったが，防除価は23℃で低かったことから，23℃以下の低温期の利用では防除効果が得られにくいことが示唆された（図-6）。

II　非病原性フザリウム菌と弱毒ウイルスの供接種の線虫防除効果

1　トマトモザイクウイルスとの組合せ効果の発見

トバモウイルス属のトマトモザイクウイルス（ToMV）では，野生ウイルスによる植物の発病を緩和・隠蔽する弱毒株のL11A237株が選抜されていた（大島ら，1978）。このToMV弱毒株は単独では線虫害を抑制できないが，ここにNPFを追加接種すると，NPFのF13菌株を線虫より1日前に接種する本来不適当な条件でも，植物の線虫被害と線虫密度を対照区やNPF単独接種の場合より低く抑制した（図-7）。

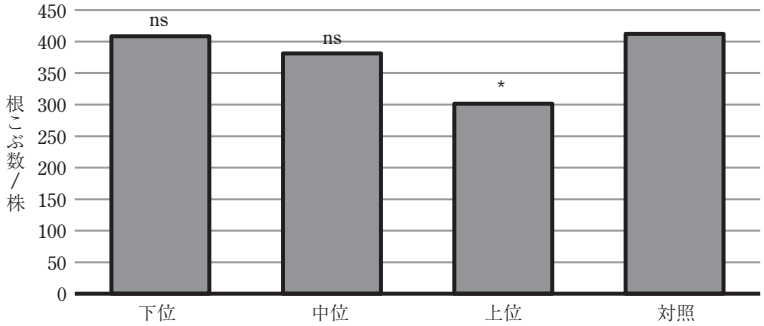


図-4　接種葉位がネコブセンチュウの侵入に及ぼす影響
ポット試験．供試糸状菌：NPF の F13 *nit* 菌株，小型分生子 10^6 個/株．接種法：注射，28 日間栽培，線虫と NPF の接種ラグ：48 時間．処理区：無処理＝子葉下の茎に針で蒸留水接種，下位接種＝子葉下の茎に NPF を接種，中位接種＝第 2 葉と第 3 葉の間に NPF 接種，上位接種＝第 3 葉と第 4 葉の間に NPF 接種．*は対照との有意差（Tukey 法 5%）があることを示す．

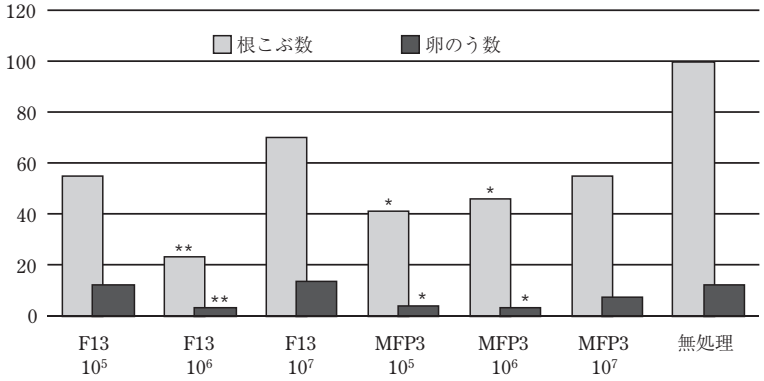


図-5　分生子接種数が根こぶ数に及ぼす影響
9 cm ビニル黒ポット試験．供試トマト品種：桃太郎，接種線虫密度：200 頭/ポット，反復：5反復，接種法：ペグの地上部接種（接種位置4 ～ 5葉），試験温度：28℃昼夜一定，栽培期間：線虫接種後 21 日間．*と**は無処理との有意差（Tukey 法 5%）があることを示す．

2　高い線虫抑制効果を持つ NPF の選抜とウイルス系統の探索

（1）　高い線虫害抑制力を発揮する NPF の選抜

NPF では，三重県が保有する 11 株の NPF の中からネコブセンチュウ接種後に NPF を接種する条件（後接種）で根こぶ形成抑制効果が優れた 4 系統を選抜し，そのうち抑制効果が安定していた MFP3 菌株を基準株に選定した。ポット試験では MFP3 菌株の単独の防除効果は，根こぶ数から求めた防除価で評価したとき 20 から 60 の範囲であった（図–8）。一方，圃場試験では根こぶ階級値から求めた防除価で 8 および 36 となり，ポット試験より低い値であった（図–9）。

（2）　線虫害抑制効果が高いウイルス MMMoV の発見

現行の市販のトマト品種は ToMV 抵抗性遺伝子 Tm–2 または Tm–2 a を組み込んだものが多く，この場合は既存の ToMV 弱毒系統が利用できなかった。そこで，トマトには非病原性でネコブセンチュウの防除効果が高いメロン微斑ウイルス（MMMoV）を選定した。MMMoV はネポウイルス（Nepovirus）属に分類される球状のウイルスで，ウリ科，ナス科等の 19 種の植物に感染する。トマトに感染した場合は病徴や被害が現れない。ToMV と異なり，MMMoV はその単独接種でもネコブセンチュウ害を抑制する作用を示した。MFP3 菌には ToMV と MMMoV のどちらのウイルスと組合せても無処理の

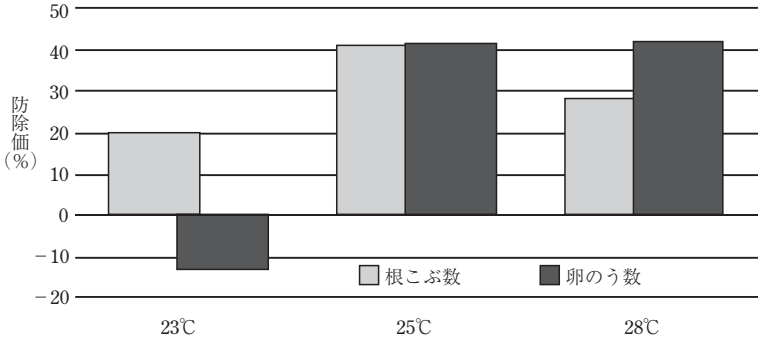


図-6　接種温度が根こぶ数および卵のう数に及ぼす影響
9 cm ビニル黒ポット試験．供試トマト品種：桃太郎，接種線虫密度：200頭/ポット，反復：6反復，接種法：ペグの地上部にF13菌株を10^6個接種（接種位置4～5葉），栽培期間：線虫接種後21日間．

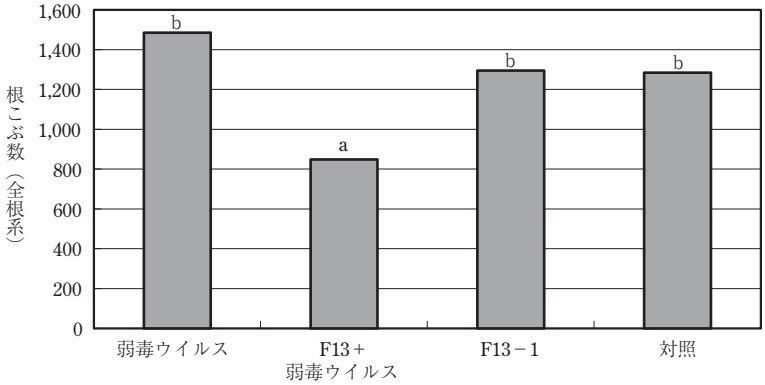
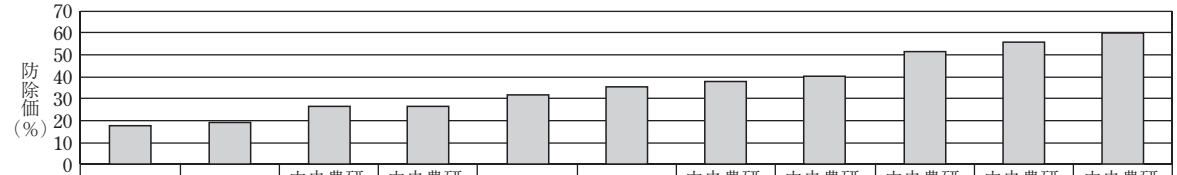


図-7　ToMv 弱毒ウイルス L_{11}A237 と非病原性フザリウム菌 F13 の組合せによる根こぶ数の抑制
9 cm ビニル黒ポット試験．供試トマト品種：強力米寿，接種線虫密度：3,000頭/ポット，反復：4反復，接種法：F13菌株土壌混和，栽培期間：線虫接種後35日間．
弱毒ウイルス：ToMV 接種苗定植→線虫接種（1日後）．
F13＋弱毒：F13菌株混和→ウイルス接種苗定植（1日後）．
F13－1：F13菌株混和（1日前）→定植→線虫接種（1日後）．
対照：無処理苗定植→線虫接種（同日）．
異なるアルファベットは処理間に有意差があることを示す．



	三重 2011 25℃定温 根こぶ数	三重 2008 (c) 根こぶ数	中央農研 2010(b) 10^6個 根こぶ数	中央農研 2010(c) 10^6個 根こぶ数	三重 2008 (a) 根こぶ数	三重 2008 (b) 根こぶ数	中央農研 2010(b) 10^7個 根こぶ数	中央農研 2010(b) 10^5個 根こぶ数	中央農研 2010(a) 10^7個 根こぶ数	中央農研 2010(a) 10^5個 根こぶ数	中央農研 2010(a) 10^6個 根こぶ数
□防除価	19%	20%	28%	28%	33%	37%	39%	41%	53%	57%	61%

図-8　ポット試験における非病原性フザリウム菌 MFP3 菌株の単独接種によるネコブセンチュウ防除価
（無処理を基準とした根こぶの防除価で表示）

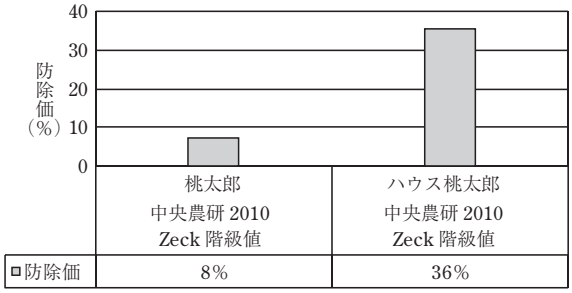


図-9　MFP3の単独のネコブセンチュウ防除価（圃場試験）

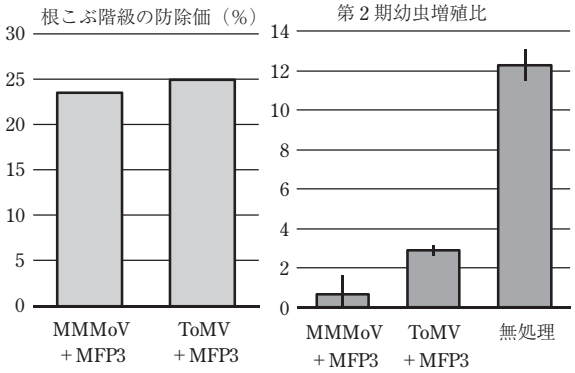


図-10　非病原性フザリウム菌 MFP3 菌株と弱毒ウイルス等との和合性検定結果
フザリウム菌 MFP3-*nit* 変異株と弱毒ウイルス MMMoV または ToMV-L_{11}A237 の組合せ．大型隔離ベッドで 103 日間栽培．反復 3.

場合より根こぶ形成程度を抑制する傾向が認められ，ウイルス株間での抑制は同等であった。土壌から検出した線虫数も両微生物を組合せ処理したほうが無処理より少なく，ウイルス株間では MMMoV のほうで少ない傾向があった（図-10）。

（3）　MMMoV の圃場検定

ウイルスの MMMoV を NPF の F13 菌株と MFP3 菌株に組合せ，雨よけハウス（サツマイモネコブセンチュウ初期密度，各区平均 12 ～ 19 頭/20 g 土）で約 3 か月間栽培し，根こぶ被害程度（Zeck の 11 段階階級値）（Zeck，1971），根こぶ着生数，最終幼虫数を調査した。その結果から算出した線虫増殖比と根こぶ数に基づく防除価を図-11 に示す。線虫増殖率は MFP3 菌株との組合せ，F13 菌株と組合せともに無処理と同等であったが，根こぶ数は無処理より大きく減少していたことから，MMMoV と MFP3 菌株の組合せも線虫害抑制に有効であることが示された。

III　ウイルス MMMoV と非病原性フザリウム菌 MFP3 菌株をベースにした実証

メロン微斑ウイルス MMMoV を接種したトマト苗を定植し，その 2 日後に非病原性フザリウム菌 MFP3 菌株を茎に接種する処理の効果を中央農業総合研究センター，広島県農業技術センター，広島県の農家圃場，三重県農業研究所で検定した。それらの防除価（根こぶ指数，根こぶ数基準）には大きなばらつきがあり，例外はあるが，おおむね 20 ～ 60 の範囲で変動し，平均値は 49 であった（図-12）。なお，一部の圃場試験は晩秋や冬期にも実施したが，本資材の組合せは，低温条件ではほとんど効果がないことが明らかになったため，それらのデータは除外している。

お　わ　り　に

本研究グループは非病原性の糸状菌とウイルスの組合せが線虫防除効果を発現する現象を共振現象と呼んで研究を進めてきた。現象は誘導抵抗性の一種だと考えられ，トマトのマイクロアレイ解析では，2 種微生物（MMMoV と NPF）の共接種とネコブセンチュウの感染下で特に強く発現する遺伝子群が見いだされており，機作の詳細は今後の課題である。

この資材の防除価を低いと見るか十分だと見るかは判断が分かれるところであろう。近年の農薬登録委託試験の成績を見ると，粒剤・くん蒸剤を問わず既登録の殺線虫剤の防除価も 40 程度を示す事例が少なくない。これを考慮にいれると，化学農薬同等の線虫防除効果が得られたとも言えるが，それは安易な正当化であろう。日本植物防疫協会の委託試験で A 判定となる防除価 75 程度の安定した効果が常に期待できることが，生産現場の絶対的要求と考えられるからである。残念ながら，本資材を用いた防除技術は効果が不安定なことなどから資材供給の目処が立たず，実用化には至らなかった。また，本研究のキーテクとなった MMMoV は稀有な素材ではあるものの弱毒ウイルスではなく，野生型の病原微生物である。その利用技術確立にはなお多くのハードルがある。一方，2 種の微生物が活性化する誘導抵抗性はその機作が完全に解明され，活性化の因子となる物質が特定できるなら，それを用いた線虫防除法の開発に発展する可能性もある。

本稿では紹介できなかったが，研究グループはトリコデルマ属から高い線虫防除価を持つ株も選抜した（仲川ら，2012 a；仲川ら，2012 b）。これらの菌株の紹介は別の機会に譲りたい。

謝辞　本稿で紹介したデータは，研究グループの以下の方々（所属は試験当時）の尽力に負った。すなわち，

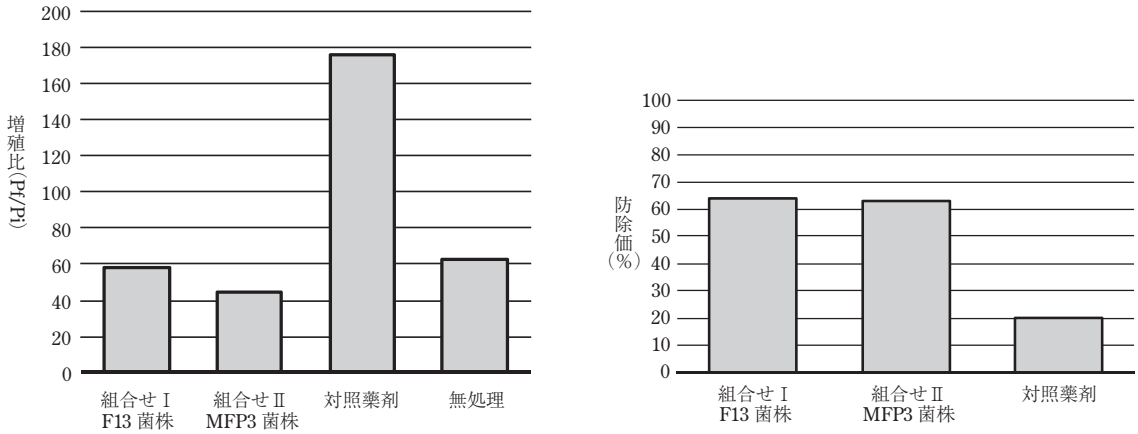


図-11　F13菌株とMFP3菌株の線虫抑制効果検定
ウイルスをMMMoVに固定した．雨よけハウス試験．供試トマト品種：ハウス桃太郎，初期線虫密度：12–19/20 g土，1区4 m²3連制，NPF接種法：注射針茎接種（接種位置3–4葉），栽培期間：2009年7月1日～10月2日
組合せⅠ：MMMoVとF13菌株，組合せⅡ：MMMoVとMFP3菌株

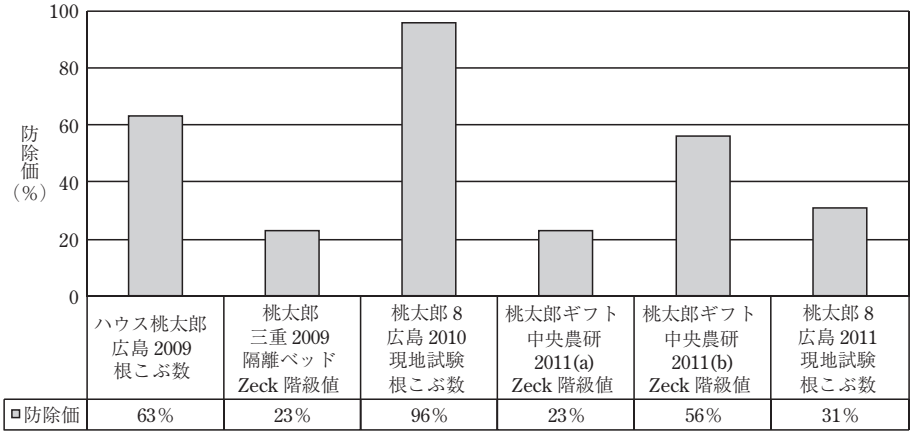


図-12　微生物資材処理のネコブセンチュウ防除価
ウイルスMMMoVとフザリウム菌MFP3の処理．
トマトの品種，試験地，試験年度．根こぶ数またはZeck階級値から防除価を算出．

三重県農業研究所の北上　達氏，鈴木　賢氏，西野　実氏，広島県立総合技術研究所農業技術センターの星野滋氏，栗久宏昭氏，瀧村勇二氏，松浦昌平氏，出光興産株式会社先進技術研究所の故望月正己氏，中央農業総合研究センターの仲川晃生氏，冨高保弘氏，大場広輔氏，梅林利弘氏，藤本岳人氏。これらの方々に深く感謝申し上げる。

引　用　文　献

1）大島信行ら（1978）：日植病報 **44**：504～508.
2）駒田　旦（1997）：バイオコントロール研究会レポート 5:16～24.
3）水久保隆之・津田新哉（2013）：特許第5168687号.
4）――――ら（2011）：特開2011–51925.
5）仲川晃生ら（2012 a）：関東東山病虫研報 **59**:157.
6）――――ら（2012 b）：日植病報 **78**：248.
7）Zeck, W. M.（1971）：Pflanzenschutz–Nachichten Bayer AG, 24:141～144.