

ハーブの混植が水耕トマトの 青枯病発病に及ぼす影響

竹井かおり*・星野大地**・市村匡史**

(平成 24 年 2 月 2 日受付/平成 24 年 6 月 8 日受理)

要約: 本試験では養液栽培において、青枯病の発病抑制効果が期待できるスイートバジル、オレガノ、ローマンカモミールを用いて、ハーブの栽植密度を変えてトマトとの混植試験を行い、ハーブの混植が青枯病発病ならびに培養液中の青枯病菌密度に及ぼす影響を調査した。その結果、対照区と比べて、スイートバジル混植区では青枯病発病が4日遅れ、オレガノ、ローマンカモミール混植区では、青枯病の進行が5~8日抑制された。さらに、スイートバジル、オレガノ混植区では培養液中の青枯病菌密度が検出限界以下(約 10^2 cfu/mL以下)に減少した。以上のことから、ハーブの混植により、青枯病発病抑制、青枯病進行抑制、培養液内の青枯病菌密度低下効果などが得られる可能性が示唆された。

キーワード: 青枯病, 混植, ハーブ, アレロパシー

緒言

青枯病は、農薬の利用以外での防除法が確立されていない難防除土壌伝染性病害の一つである。これまで本病の防除には臭化メチルによる土壌消毒が一般的であったが、臭化メチルが強力なオゾン層破壊物質であることから2005年に全廃され、代わりにクロルピクリン剤や抵抗性台木が主として利用されるようになった。しかし、クロルピクリン剤は深層土壌まで届かず、さらに全ての系統の青枯病菌に抵抗性を示す台木品種がない、といった問題点が残されており、本病に対しては化学的、物理的、生物的な様々な防除法が現在も検討されている。

生物的防除法の一つとして、土耕によるハーブの抗菌性を利用した青枯病発病抑制が検討されてきたが、その発病抑制効果は不安定であった(未発表)。中林(1999)は、メロンと数種ハーブ類を水耕で混植して、フザリウム菌の増殖抑制効果を観察しているが、水耕は土耕に比べて根域環境が制御しやすいことから、青枯病においても水耕でハーブと混植することによって、安定した発病抑制効果が得られる可能性がある。

本試験では、水耕で青枯病の発病抑制効果が期待できるスイートバジル、オレガノ、ローマンカモミールを用いて、ハーブの栽植密度を変えてトマトとの混植試験を行い、ハーブの混植が青枯病発病、培養液中の青枯病菌密度に及ぼす影響を調査した。

材料および方法

1. 供試作物

トマト (*Lycopersicon esculentum* Mill.)
品種: 大型福寿(青枯病罹病性品種)

2. 供試ハーブ

シソ科のスイートバジル (*Ocimum basilicum*, 以下バジル), オレガノ (*Origanum vulgare*), キク科のローマンカモミール (*Anthemis nobilis*, 以下ローマン) の2科3種を用い、対照作物として、水耕での栽培が普及しているアブラナ科のコマツナ (*Brassica rapa* var. *perviridis*) を供試した。

3. 供試病原菌

青枯病菌 *Ralstonia solanacearum* (MAFF302745)
(東京農業大学農学部農学科植物病理学研究室より分譲)

実験1 青枯病菌接種密度の決定

トマト種子を1昼夜流水に浸漬し、純水を染み込ませたろ紙上に並べてインキュベーター(25°C, 暗黒条件)で48時間催芽処理を行った。処理後、水道水を吸水させたロックウールマットに1粒ずつ播種し、発芽後は大塚A処方1/4培養液(pH5.0~6.0, EC0.60~0.80 dS/m)による湛液水耕育苗に移行した。本葉5~6枚展開のトマト苗を、接種3~5日前に1反復につき5株、株間15cmで定植し、非循環式湛液水耕(大塚A処方1/2培養液, pH5.0~6.0, EC1.30~1.60 dS/m), 連続通気で栽培した。1コンテナ1反復とした。

* 東京農業大学大学院農学研究科農学専攻

** 東京農業大学農学部農学科

青枯病菌は、あらかじめ TZC 培地を用いて強病原性を示すコロニーを選抜した後、このコロニーを脇本斜面培地で培養して用いた。試験区は、それぞれの培養液内の青枯病菌密度が、約 10^3 cfu/mL、約 10^5 cfu/mL、約 10^7 cfu/mL となるように調整した 3 区を設けた（以下 10^3 区、 10^5 区、 10^7 区）。

栽培終了時に、トマトの茎を地際部から 15 cm まで切り取り、地際部側を 10 mL の滅菌水に 30 分間浸漬して、導管溢液を採取した。この導管溢液を、段階希釈してそれぞれの 0.1 mL を原・小野培地に塗抹後、28°C、72 時間培養してコロニー形成数を計測した。

実験 2 ハーブの混植がトマト青枯病発病に及ぼす影響

供試ハーブ、コマツナは、パーミキュライトに播種した。発芽後は大塚 A 処方 1/4 培養液を灌水に用い、十分な発根を確認したところで根部のパーミキュライトを洗い流して、ウレタンマットに植え替え、大塚 A 処方 1/4 培養液での湛液水耕育苗に移行した。

トマトは実験 1 と同様に育苗した。

バジルは本葉 6~8 枚展開苗、オレガノは側枝が伸長を始めた苗、ローマンはキャノピー径 10~15 cm 程度となった苗を、本葉 5~6 枚展開のトマト苗とトマト：ハーブ=3:6、3:4 の 2 段階の混植比率で定植した。無混植区ではトマト 3 株のみを定植した。定植コンテナには 8 L 容コンテナを用い、1/2 培養液を 5 L 貯液、湛液水耕とし、エアープンプを用いて連続通気した。1 コンテナ 1 反復とした。

1) 青枯病菌接種方法ならびに接種後培養液の管理

供試青枯病菌は実験 1 と同様に強病原性を示したコロニーを選抜後、その青枯病菌を分光光度計 (610 nm) を用いて、約 10^8 cfu/mL となるように懸濁した菌液を作成し、各コンテナごとに約 10^5 cfu/mL となるように添加した。

接種後は、毎日 pH と EC を計測し、pH 5.0~6.0、EC 1.30~1.60 dS/m となるように培養液を調整した。pH 調整には 1 N 硫酸と 1 N 水酸化ナトリウムを用いた。

2) 生育調査ならびに発病調査

生育調査は、定植時から毎週、栽培打ち切り時まで行った。バジルについては、主枝長、側枝数、主枝葉数、全葉数を、オレガノでは主枝長、最大側枝長、側枝数を、ローマンではキャノピー径、キャノピー高を、コマツナでは最大葉長、葉数を測定した。トマトについては、草丈、葉数、第一葉直下茎径、最大葉長、葉幅を測定した。

発病調査は、接種後毎日 12 時~14 時の間に発病状況を調査し、6 段階で評価した (表 1)。各発病段階に 1~6 の発

表 1 青枯病発病点数

発病点数	発病状況
0	健全
1	小葉の萎凋
2	1 葉萎凋
3	2~3 葉萎凋
4	4 葉~50% 萎凋
5	ほとんどが萎凋
6	枯死寸前~枯死

病点数をつけ、以下の式で発病指数を算出した。

$$\text{発病指数} = \frac{(1 \times n_1 + 2 \times n_2 + 3 \times n_3 + 4 \times n_4 + 5 \times n_5 + 6 \times n_6) / N \times 100}{(n = \text{各発病段階の株数}, N = \text{全株数})}$$

また栽培終了時に、実験 1 と同様に培養液中、トマト導管溢液中の青枯病菌密度を計測した。

結果および考察

実験 1 青枯病菌接種密度の決定

発病指数の変化を図 1 に示した。 10^3 区においては、栽培期間を通してほとんど発病が見られなかったが、 10^5 区、 10^7 区では共に試験開始 4 日目から病徴が現れ始めた。 10^5 区では、7 日目から萎凋の進行がやや緩やかになり、試験終了時での発病指数は 60 程度であった。 10^7 区では、病徴の発現直後から急激に萎凋が進行し、10 日目頃にはほぼすべての株が枯死寸前ないし枯死に至った。同区における試験終了時の発病指数は 80 程度であった。

試験終了時のトマト導管部の褐変の有無を表 2 に示した。病徴を呈したトマトは、いずれも導管部に褐変が観察された。特に、枯死寸前ないし枯死に至っていた株では、導管部全体が濃い褐色 (表内++) を、発病点数 2~4 程度の株では導管部全体が薄い褐色、または一部の導管が濃い褐色を呈していた (表内+)。また、一部の無病徴株、発病点数 1 程度の株では、導管部は健全株とほぼ同様の緑色であったが、一部の導管が薄い褐色を呈していた (表内±)。

導管溢液の菌密度を表 3 に示した。 10^3 区では、反復 2、3 で無病徴株の導管溢液からも青枯病菌が検出された。反復 3 では、発病点数 1 程度の病徴が観察された No. 2、4、5 株で 10^3 ~ 10^4 cfu/mL 程度の青枯病菌が検出された。 10^5 区では、反復 3 で他の反復よりも発病指数が低く、検出された青枯病菌密度も検出限界以下 $\sim 10^2$ cfu/mL と他の反復より低い値を示した。 10^7 区では、全反復、全株の溢液

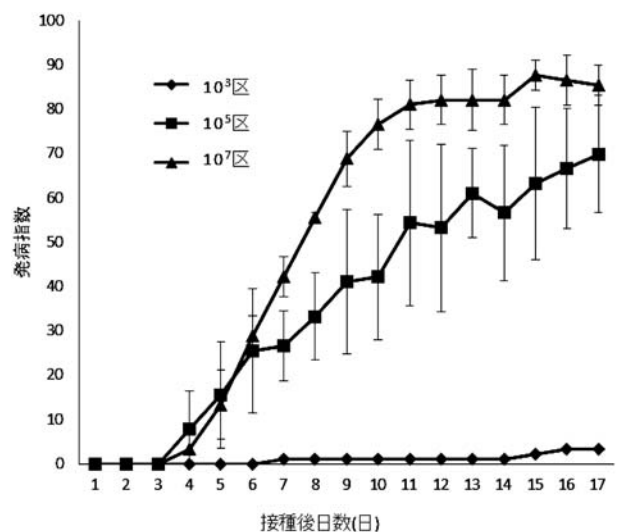


図 1 青枯病菌の接種密度の相違が青枯病の発病推移に及ぼす影響 (n=5, I: 標準誤差)

表 2 青枯病菌の接種密度の相違がトマト導管部褐変に及ぼす影響^z

試験区	反復	株No.				
		1	2	3	4	5
対照区	反復1	—	—	—	—	—
	反復2	—	—	—	—	—
	反復3	—	—	—	—	—
10 ³ 区	反復1	—	—	—	—	—
	反復2	—	±	—	—	±
	反復3	—	+	—	+	±
10 ⁵ 区	反復1	—	+	+	+	+
	反復2	—	+	+	+	++
	反復3	—	+	±	±	+
10 ⁷ 区	反復1	+	+	+	+	+
	反復2	++	++	++	+	+
	反復3	++	+	++	++	+

z: —=褐変なし、±=一部の導管が薄い褐色、+=導管部全体が褐色、または一部の導管が濃い褐色、++=導管部全体が濃い褐色

表 3 青枯病菌の接種密度の相違がトマト導管部溢液中の青枯病菌密度に及ぼす影響^z

試験区	反復	株No.				
		1	2	3	4	5
対照区	反復1	— ^y	—	—	—	—
	反復2	—	—	—	—	—
	反復3	—	—	—	—	—
10 ³ 区	反復1	—	—	—	—	—
	反復2	—	1.00 × 10 ²	—	—	7.00 × 10 ²
	反復3	—	4.35 × 10 ³	—	8.89 × 10 ⁴	6.44 × 10 ³
10 ⁵ 区	反復1	5.33 × 10 ⁴	1.00 × 10 ⁴	2.00 × 10 ⁴	2.60 × 10 ³	5.80 × 10 ⁵
	反復2	2.60 × 10 ⁴	2.83 × 10 ²	—	1.00 × 10 ⁴	0.90 × 10 ²
	反復3	—	1.00 × 10 ²	—	7.33 × 10 ²	2.75 × 10 ³
10 ⁷ 区	反復1	3.30 × 10 ³	6.33 × 10 ⁴	2.33 × 10 ⁴	2.33 × 10 ⁴	4.33 × 10 ⁵
	反復2	1.90 × 10 ²	3.83 × 10 ²	1.68 × 10 ³	0.70 × 10 ²	5.67 × 10 ²
	反復3	2.67 × 10 ⁴	0.94 × 10 ⁴	5.85 × 10 ⁴	6.74 × 10 ³	2.54 × 10 ⁵

z: 単位はcfu/mL

y: 検出限界(10²cfu/mL)以下

で他区より高い濁度値、青枯病菌密度を示した。もっとも高い値を示したのは反復1のNo.5株で4.33 × 10⁵ cfu/mLであった。また、もっとも低い値を示したのは、反復2のNo.4株で0.70 × 10² cfu/mLであった。

以上のことから、培養液に青枯病菌を約10⁵ cfu/mL以上の密度となるように接種すれば、根に傷付け処理等を行わなくても青枯病に罹病することが明らかとなった。しかし、実際の青枯病発生圃場の青枯病菌密度は10²~10⁶ cfu/g(乾土)と言われており、約10⁷ cfu/mLの接種では急激な症状の進行が起こるため、ハーブ混植による発病抑制効果が得られにくい可能性が高い。そこで、培養液に約10⁵ cfu/mLとなるように青枯病菌を添加し、毎日pH、EC、液温を適正值に調整することで、安定して実際の青枯病発生圃場と同等程度の青枯病菌密度、発病が得られると考えられた。

実験2 ハーブの混植がトマト青枯病発病に及ぼす影響

結果を図2、表4に示した。対照区では5日目に発病し、その15日後に枯死に至った。ローマン4株、6株混植区、

オレガノ4株混植区では、発病までの日数に対照区との差は見られなかったが、発病から枯死までの日数が対照区に比べて5~8日遅れた。また、バジル4株、6株混植区では発病から枯死までの日数は対照区と大きな差がなかったが、発病までの日数が9日と、全処理区の中で最長となった。

さらに、ローマン4株、6株混植区、バジル4株混植区においては、発病初期に一時的に病徴の回復が見られるなど、発病進行が遅れた。

各処理区の培養液中と導管溢液中の青枯病菌密度を表5に示した。いずれの試験区とも、培養液中の青枯病菌密度は接種時の約10⁵ cfu/mLに比べて、約10³ cfu/mL程度まで低下していた。しかし、オレガノ4株混植区、バジル4株混植区、コマツナ4、6株混植区では、培養液中の青枯病菌密度が検出限界以下に抑制されていた。また、ローマン6株混植区では、トマト3株中2株の導管溢液中の青枯病菌密度が10³ cfu/mL程度と、全試験区中でもっと

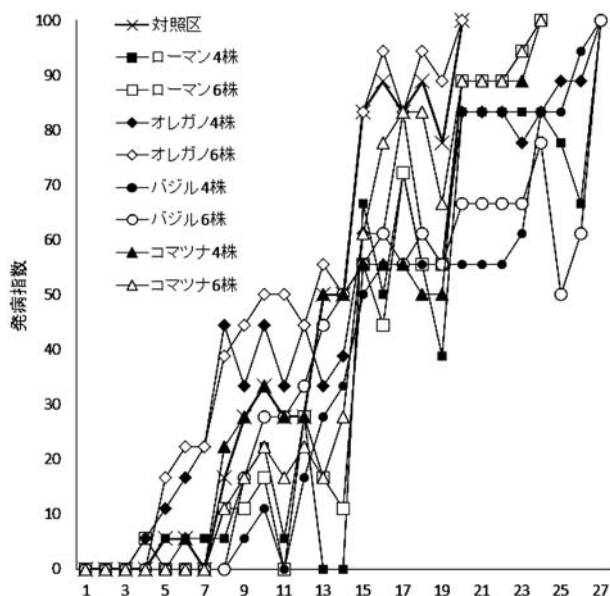


図 2 ハーブの混植が青枯病の発病推移に及ぼす影響

表 4 ハーブ混植時の青枯病発病進行状況

試験区	発病までの日数	発病から枯死までの日数	備考
対照	5	15	
ローマン4株	5	22	一時回復も見られた
ローマン6株	4	20	一時回復も見られた
オレガノ4株	4	23	
オレガノ6株	5	15	
バジル4株	9	18	一時回復も見られた
バジル6株	9	18	
コマツナ4株	6	18	
コマツナ6株	8	16	

表 5 ハーブの混植が培養液とトマト導管分泌液中の青枯病菌密度に及ぼす影響

試験区	培養液	株No.		
		1	2	3
対照区	4.5×10^3	1.2×10^6	7.1×10^5	1.2×10^5
ローマン4株	9.2×10^3	2.9×10^5	1.4×10^5	2.9×10^4
ローマン6株	4.3×10^2	5.7×10^3	2.8×10^5	7.9×10^3
オレガノ4株	- ^z	1.4×10^5	4.9×10^4	1.2×10^6
オレガノ6株	4.3×10^3	3.9×10^5	4.3×10^5	1.5×10^5
バジル 4株	-	9.4×10^5	2.8×10^7	9.6×10^4
バジル 6株	4.2×10^3	1.2×10^4	5.0×10^4	2.7×10^4
コマツナ4株	-	1.7×10^5	2.1×10^6	1.9×10^4
コマツナ6株	-	1.7×10^4	2.1×10^5	1.9×10^4

z: 検出限界(10^2 cfu/mL)以下

も青枯病菌密度が低かった。

以上のことから、ハーブの混植により、青枯病発病抑制、青枯病進行抑制、培養液内の青枯病菌密度低下効果などが得られる可能性が示唆された。

中林 (1999) は、メロンと数種ハーブ類を混植して、フザリウム菌の増殖抑制効果を観察しており、またタイム混植区の培養液からタイムの主要精油成分であるチモールを、フェネル混植区の培養液から同じくフェネルの主要精油成分であるアネトールを、それぞれ検出している。本試験では栽培後の培養液の分析は行っていないが、竹井ら (2011) はバジル、オレガノ、ローマン他を水耕した培養液をガスクロマトグラフを用いて分析し、バジル培養液からオイゲノール、ゲラニオール、リナロールを、オレガノ培養液からチモール、リナロールを検出し、ローマン培養液からも同定はできなかったものの、ハーブ分泌物と思われるピークを確認している。こうしたことから、本試験においてもハーブ根から精油成分等が分泌され、培養液中の青枯病菌に対して抗菌効果を示した結果、ハーブ混植区

において対照区より青枯病菌密度の低下が大きかった可能性が考えられた。

また竹井ら (2011) は、ハーブ根圏に青枯病拮抗微生物が生息していることを観察しており、これらの微生物の抗菌作用もハーブ分泌成分の抗菌性と合わせて、培養液中の青枯病菌密度の低下や、青枯病発病抑制に寄与した可能性がある。

しかし、水耕においても土耕と同様に安定的に青枯病発病を抑制することは困難であった。本試験は、8L容コンテナに5L貯液という小規模の栽培であったため、トマト根にストレスがかかった可能性がある。また、市村 (2008) はバジルが生育ステージによって精油含有量が増減することを明らかにしており、竹井ら (2011) は青枯病菌に作用する可能性がある培養液中の精油成分等もハーブの生育ステージにより増減する可能性を示唆している。このことから、本試験で使用したハーブ類の生育ステージでは、青枯病菌に作用するために十分な精油成分等を分泌できなかった可能性が考えられた。

今後は、栽培中の培養液の分析や、ハーブ、トマトの根圏微生物についての調査を行うなど、ハーブの混植による発病抑制の作用機構を明らかにすると共に、ハーブの栽植密度の更なる検討や、発病抑制効果の高いハーブの生育ステージを探索するなど、より発病抑制効果を高めることができる混植方法を検討する必要がある。

謝辞：本研究を行うに当たり、ご指導・ご鞭撻いただきました本学植物病理学研究室、篠原弘亮准教授ならびに室員の皆様に厚く御礼申し上げます。

引用文献

- 1) 安藤昭一 (2003) 微生物実験マニュアル (第2版). 技報堂出版, 東京, pp.27.
- 2) 堀田光生・土屋健一 (2002) 微生物遺伝資源利用マニュアル (12). 農業生物資源研究所.
- 3) 百町満朗・對馬誠也 (2009) 微生物と植物の相互作用. ソフトサイエンス社.
- 4) 市村匡史. 2008. スイートバジルの生育ステージならびに器官別の精油含量と精油成分. 東京農業大学集報. 52 (4): 167-172.
- 5) 中林和重・福田琢也 (1999) ハーブ根からの分泌成分が養液栽培におけるフザリウム菌増殖に及ぼす影響. 明治大学農学部研究報告. 119: 9-20.
- 6) 竹内妙子・宇田川雄二 (1994) 養液栽培におけるトマト青枯病の発生生態と防除. 千葉県農業試験場研究報告. 35. 89-99.
- 7) 竹井かおり・篠原弘亮・市村匡史. 2011. ハーブの根とその分泌精油成分が青枯病菌に及ぼす影響. 園芸学研究, 10 (2): 500.

Effect of the Mixed Planting of Herbs on Bacterial Wilt of Tomatoes in Hydroponics

By

Kaori TAKEI*, Daichi HOSHINO** and Masashi ICHIMURA**

(Received February 2, 2012/Accepted June 8, 2012)

Summary : The effect of the mixed planting of herbs and tomatoes at different planting density on the incidence of bacterial wilt of tomatoes was investigated in hydroponics. The herbs used in this study were sweet basil, oregano and roman chamomile, all of which are known to have antibacterial activities against *Ralstonia solanacearum*. The mixed planting with sweet basil delayed the incidence of bacterial wilt disease by four days compared with the control treatment, while the mixed planting with oregano and roman chamomile delayed the development of bacterial wilt disease in tomato plants by five to eight days. Furthermore, the mixed planting with sweet basil and oregano reduced the population density of *Ralstonia solanacearum* to less than 10^2 cfu/mL in nutrient solutions. These results suggested the effectiveness of mixed planting of herbs and tomatoes for the avoidance of severe damage by bacterial wilt disease.

Key words : bacterial wilt, *Ralstonia solanacearum*, mixed planting, herb, allelopathy

* Department of Agriculture, Graduate school of Agriculture, Tokyo University of Agriculture

** Department of Agriculture, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture