

アメリカフウロの土壌混和処理がもたらす土壌病害防除効果の作用メカニズム

○大城篤・河野伸二¹⁾・澤岷哲也¹⁾・渡慶次美歌¹⁾・照屋亮¹⁾・
平舘俊太郎²⁾・藤井義晴²⁾・夏目雅裕³⁾・安部浩³⁾

(¹⁾県農研センター名護支所, ¹⁾県農研センター, ²⁾(独)農環研, ³⁾東京農工大農)

はじめに

これまでに、著者らはアメリカフウロ(*Geranium carolinianum* L.; 以後 Gc)の乾燥物や生草の土壌混和処理が青枯病や植物放線菌病の防除に有効であることを明らかにした^{1)~5)}。さらに本植物に含有される抗菌成分の一つをポリフェノール的一种である没食子酸エチル(Ethyl gallate; 以後 EG)と同定した⁶⁾。そこで、EGの青枯病菌や植物病原放線菌に対する抗菌性およびEGの土壌中における青枯病菌に対する効果を検証することを目的として研究を行った。

材料および方法

1)EGの抗菌活性

EGとStreptomycin(St)をメタノールに溶解させ、所定濃度(表1)に調整し、その溶液をペーパーディスクに含ませた。それらペーパーディスクは、真空デシケーター内で溶媒を留去した後に、被検菌を接種したジャガイモ半合成培地の中心部においた。シャーレは25℃で5日間培養した。試験は5反復で行った。

(供試菌株)

ジャガイモ青枯病菌〔沖縄県農業研究センター保存株: biovar N2, III, IV(10^5 cfu/ml)の等量混合液〕
ジャガイモそうか病菌: *Streptomyces scabies* JCM 7914, *S. acidiscabies* JCM 7913,
S. turgidiscabies IFO 16080

2)EGの土壌中における青枯病菌殺菌効果

シャーレ試験では、EGを1mg/mL量で培地に添加した場合に抗菌活性が得られたため、EGを0.5~5.0mg/g乾土(国頭マージ)量で混和処理して青枯病菌に対する効果を検討したが、いずれの量でも抗菌活性は認められなかった。そこで、Hiradate *et al.* (2005)の方法を一部改変した手法を用いて検討した。

試験区は① Gc 乾燥物 15mg/乾土 1g(1.5ton/10a 相当量), ② Gc 乾燥物 15mg 抽出液/乾土 1g, ③ Gc 乾燥物抽出残渣 15mg 分/乾土 1g, ④ EG【1.0, 2.5, 5.0mg】/乾土 1g, ⑤ コントロールの計5区を設け、1区2反復で行った。方法は下記の手順に従った。

(1)乾土 10g(国頭マージ)を平底試験管(直径:2.5cm, 高さ 10cm)に入れ、青枯病菌液 100 μ L ($10^4 \sim 5$ cfu/mL)を添加して良く混和した。

(2)混和後、乾燥物と抽出残渣の処理区は乾燥物を土と良く混和させた。抽出液の処理区は乾燥物抽出液を三角フラスコに入れ、30℃の乾燥機内で溶媒を留去した後に滅菌した0.75%含寒天液(40℃)に溶解させた。また、EGの処理区は、滅菌した0.75%含寒天溶液に所定量のEGを溶解させた。

(3)平底試験管に0.75%含寒天液 20mL(40℃)を分注して、良く混合させた後、アルミホイルで口を閉じた。

(4)28℃で7日間静置培養した後、希釈平板法により青枯病菌密度を調査した。

結 果

1) EGの抗菌活性をペーパーディスク法によりStreptomycinと比較したところ、青枯病菌に対する活性はStreptomycinの約1/40であった。また、そうか病菌に対する活性は菌種間で異なり、*S. scabies*に対する活性は約1/300で、*S. acidiscabies*に対する活性は約1/30であった。EGの*S. turgidiscabies*に対する抗菌活性は5日後には消失した(表1)。

2) EGを5mg/乾土1gで添加した土壌からは青枯病菌は検出されなかった。また、乾燥物および乾燥物抽出液で処理された土壌からは青枯病菌は検出されなかったが、抽出残渣を処理した土壌からは青枯病菌が検出された(表2)。

3) Gcに含まれるポリフェノール含量をFolin-Denis法により定量した結果、2.4g/Gc乾燥物100g(没食子酸換算)であった。この結果とGc乾燥物15mg/乾土1gで青枯病菌に対する殺菌効果が得られたことを考えあわせると、0.36mgのポリフェノールで殺菌効果が得られたことになるが、実際には5.0mgのEGが必要であった。

考 察

EGのジャガイモそうか病菌への活性について調査した結果、EGは*S. turgidiscabies*に対して抗菌活性を示さなかった。また、Hiradate *et al.*(2005)の改変手法を用いて、EGの土壌中における青枯病菌の殺菌効果について検討した結果、EGのみでは、Gc地上部の土壌混和処理による青枯病殺菌効果について説明することができなかった。以上の結果から、Gc地上部の土壌混和処理による青枯病や放線菌病の防除効果は、EG単独によるものではなく、複数のポリフェノール系抗菌成分の相互作用によって得られるものと推察された。今後、他の抗菌成分を同定・定量し、さらに、Gcに含有される抗菌成分の定量結果に基づき、Hiradate *et al.*(2005)の改変手法による青枯病菌殺菌効果を検討することによって、その病害防除作用メカニズムの詳細が解明されるものと考えられた。また、Blum *et al.*(1985)は、個々のフェノール性酸は単独では植物生育阻害活性は低いが、混合物となることで相乗効果を現すという仮説を提唱していることから、上記件が解明されることによってフェノール性化合物のアレロケミカルとしての意義が証明されるものと考えられた。

また、Furubayashi *et al.*(2007)は、マメ科植物のムクナ (*Mucuna pruriens*) に含有され、植物に対して強い生育阻害活性を示すL-DOPAは、土壌中では吸着反応や変換反応などによってその生理活性を失うことを明らかにした。EGはL-DOPAと同様なカテコール構造を有していることから、上記作用により土壌に直接混和処理した場合、不活性化されるものと推察された。さらに、Hiradate *et al.*(2005)の改変手法によりEGを処理することによって青枯病菌への殺菌効果が得られたことや乾燥物抽出液の土壌処理によって青枯病の防除効果がポット試験で確認された³⁾ことなどから、アメリカフウロに含有される成分には、寒天と同様にEGの土壌中での吸着反応や変換反応を抑制させるような成分が存在することが示唆された。

植物のアレロパシーを利用した土壌病害防除技術に関する報告は少ない。そのため、今後、本作用を活用した土壌病害防除法に関する報告が増えてくることが考えられるが、本技術に該当する名称が世界的にも見当たらないため、本技術の名称を **Allelofumigation** (アレロフミゲーション) という新たな概念の土壌病害防除技術として提案していきたい。

表1 Ethyl gallate (EG)とStreptomycin(St)の抗菌活性の比較

供試量	<i>R. solanacearum</i>		<i>S. scabies</i>		<i>S. acidiscabies</i>		<i>S. turgidiscabies</i>	
	EG	St	EG	St	EG	St	EG	St
1μg	-	-	-	2.6	-	-	-	2.2
10μg	-	2.5	-	3.7	-	1.7	-	4.0
100μg	-	3.5	-	4.6	-	3.0	2.3* ²⁾	5.0
200μg	1.8 ¹⁾		-		-		3.1*	
300μg	2.0		2.9		2.3		3.4*	
400μg	2.4		3.2		2.5		3.6*	
500μg	2.8		3.4		2.7		3.8*	
1000μg	3.5	4.0	3.6	5.6	3.2	4.5	4.1*	6.2

1)数値はペーパーディスク周辺部に見られる阻止円直径(cm)を示す。

2)5日後には活性が消失したことを示す。

表2 Hiradate *et al.*(2005)の改変手法によるEthyl gallateの土壌中における青枯病菌殺菌効果

処理	量	cfu/lg dry soil
乾燥物	1.5ton/10a換算量	0
抽出液	1.5ton/10a換算量	0
抽出残渣	1.5ton/10a換算量	3.9×10 ³
Ethyl gallate	1.0mg/lg dry soil	1.1×10 ³
	2.5mg/lg dry soil	1.7×10 ³
	5.0mg/lg dry soil	0
コントロール		5.7×10 ³

5. 引用文献

- 1) Ooshiro *et al.* 2004. *Weed Biol. Manage.* 4, 187-194, 2) Ooshiro *et al.* 2006. *J. Weed Sci. Tech.* 51, 28-30, 3) Ooshiro *et al.* 2006. *Weed Biol. Manage.* 6, 241-244, 4) Ooshiro and Natsume. 2007. *Weed Biol. Manage.* 7, 124-127, 5) 大城ら. 2006. 南方資源利用技術研究会誌 22, 9-12, 6) Ooshiro *et al.* 2004. *Proceedings of the International Potato Scab Symposium*, 351-354, 7) Hiradate *et al.* 2005. *J. Chem. Ecol.* 31, 591-601, 8) Bulum *et al.* 1985. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 51, 1515-1521, 9) Furubayashi *et al.* 2007. *J. Chem. Ecol.* 33, 239-250