

Trichoderma 属菌によるイネ種子伝染性病害の防除

クミアイ化学工業株式会社 熊倉和夫

はじめに

機械移植のための育苗の普及とともに、イネ幼苗の病害による被害は著しくなり、水稻栽培において種子消毒は重要な作業の一つとなっている。イネ育苗中に発生する種子伝染性病害として、糸状菌病ではばか苗病、いもち病およびごま葉枯病が、細菌病ではもみ枯細菌病、苗立枯細菌病および褐条病が知られており、これらはいずれも種子消毒による防除対象病害になっている。イネの種子消毒に使われる薬剤のうち、糸状菌病に対しては、ベンゾイミダゾール系薬剤、イミダゾールおよびトリアゾール系化合物のエルゴステロール生合成阻害剤 (DMI 剤) が、細菌病に対しては、オキシリニック酸剤や水酸化第二銅、塩基性塩化銅が主要な防除剤であり、これらを用いた種子消毒の普及率は極めて高い。しかし、今日、ベンゾイミダゾール系薬剤耐性イネばか苗病菌 (北村ら, 1982 ; 小川ら, 1982) の存在や、オキシリニック酸に対して感受性の低下したイネもみ枯細菌やイネ褐条病菌 (守川ら, 1997) の存在が明らかになっており、薬剤の選択に苦慮する場面も出てきている。さらに、近年、それら種子消毒剤の使用済廃液の処理が問題化し、環境汚染の少ない防除方法や防除資材の開発が望まれている。

このような背景から、筆者らは拮抗微生物を用いるイネ種子伝染性病害防除剤の開発に着手し、静岡県農業試験場が各種作物根圏・土壌から分離した糸状菌 872 株の懸濁液にばか苗病および苗立枯細菌病感染種子を浸漬処理し、育苗時の発病抑制効果について検討した。

その結果、*Fusarium* 属菌および *Trichoderma* 属菌がイネ種子伝染性病害の生物防除において有望なバイオコントロールエージェントであることを確認するとともに、芝根圏より分離した *Trichoderma* sp. SKT-1 株に高い実用性を見出した (熊倉ら, 2003 a ; 2003 b)。本稿では、SKT-1 株の各種イネ種子伝染性病害に対する実用性および発病抑制機構について紹介する。

I SKT-1 株のイネ種子伝染性病害防除

微生物としての実用性

SKT-1 株について、浸種時のイネ種子処理により上記 6 病害に対する発病抑制効果を調べたところ、本菌株

はいずれの病害に対しても明らかな効果を示した (図-1)。また、SKT-1 株の化学薬剤同等の発病抑制効果を示す有効処理菌量を各病害について検討したところ、本菌量は、ばか苗病で $10^4 \sim 10^6$ 個/ml、いもち病およびごま葉枯病で $10^6 \sim 10^7$ 個/ml、もみ枯細菌病、苗立枯細菌病および褐条病で $10^5 \sim 10^7$ 個/ml であった。これらから、SKT-1 株は浸種時処理では $10^6 \sim 10^7$ 個/ml の菌量で、問題となるイネ種子伝染性病害すべての防除が可能で、生物防除用拮抗微生物として有用であることがわかった。

なお、本菌株のばか苗病菌の保菌程度の異なる種子に対する発病抑制効果を調べた結果、 1.0×10^4 個/ml 菌液処理では保菌程度の高い感染種子での発病抑制効果がやや低かったものの、 $1.0 \times 10^5 \sim 1.0 \times 10^6$ 個/ml 菌液処理は感染程度にかかわらず高い発病抑制効果があった (図-2)。これは、SKT-1 株がイネばか苗病に対し、初感染程度に大きく依存せず安定した防除効果があることを示している。

さらに、育苗箱規模でばか苗病の発病抑制効果を評価したところ、本菌株の処理は対照の化学薬剤の種子消毒とほぼ同等の効果があり、種子処理により発病抑制した苗を本田に移植しても、化学薬剤による種子消毒後に育苗したもの同様、出穂期までの間に本病が発病することはなかった (表-1)。

ところで *Trichoderma* 属菌のイネの病害として、茨木 (1974) は苗立枯病を報告し、*T. viride* をその病原菌として記載している。そこで、イネ 11 品種 (コシヒカリ、キヌヒカリ、ひとめぼれ、ニホンマサリ、シズヒカリ、アキニシキ、あきたこまち、黄金晴、金南風、関東 90 号、短銀坊主) を供試し、SKT-1 株を種子処理および土壌接種し、本菌株のイネ育苗期の生育に及ぼす影響を調べたところ、育苗期間中に種子や根のまわりに SKT-1 株と思われる菌塊の発生は認められたものの、本菌株はいずれの品種に対しても出芽不良、生育抑制および立枯症状といった病徴を示さなかった。また、土壌処理で 12 科 28 作物、茎葉処理で 10 科 17 作物に対する影響を調べた結果、SKT-1 株はいずれの作物に対しても感染性や病原性を示さなかった。これらの試験結果から、SKT-1 株はイネに対して通常の育苗では病原性を示さず、また、主要な作物に対しても病原菌とならないことがわかり、生物防除資材として使用しても問題がないものと考えられた。

日本植物防疫協会を通じ各試験研究機関が SKT-1 株の胞子を水 1 ml に 1 億個懸濁した製剤の、各種イネ種子伝染性病害に対する防除効果を検討した結果では、本製剤の 200 倍、24 ~ 48 時間イネ種子浸漬処理は、ばか

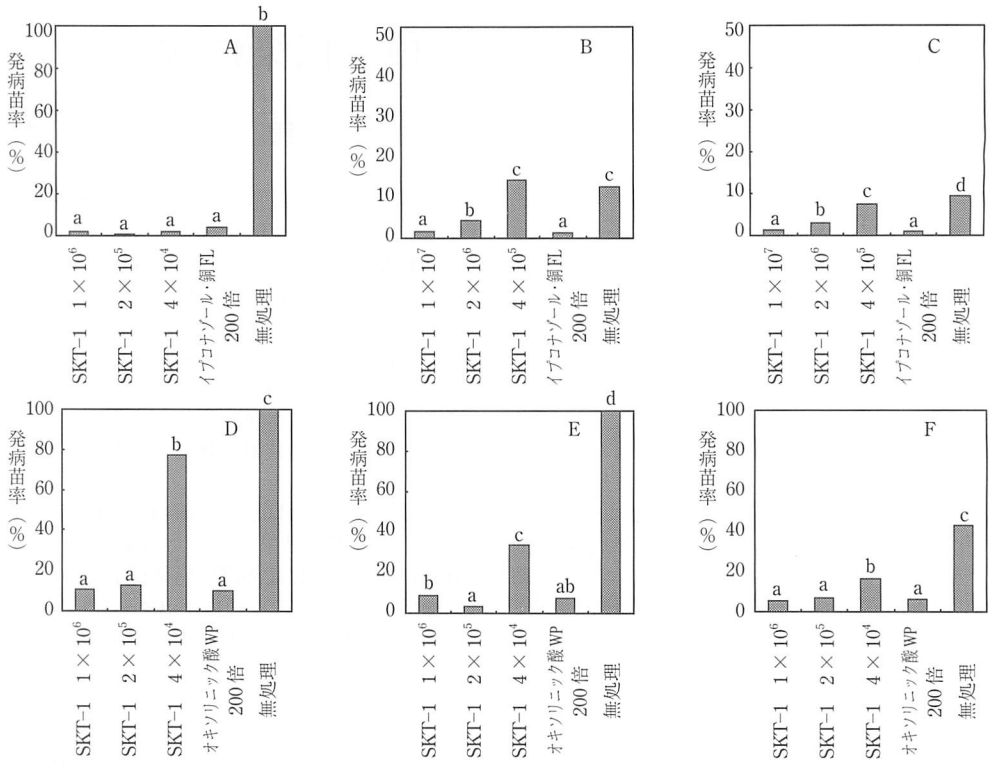


図-1 SKT-1 株の各種イネ種子伝染性病害に対する発病抑制効果

A : ばか苗病, B : いもち病, C : ごま葉枯病, D : 苗立枯細菌病, E : もみ枯細菌病, F : 褐条病.
同一英小文字を付した値間には, Tukey の多重比較検定 ($p = 0.05$) による有意差がないことを示す.
統計処理は $\text{Arcsin } \sqrt{\%}$ 変換して行った.

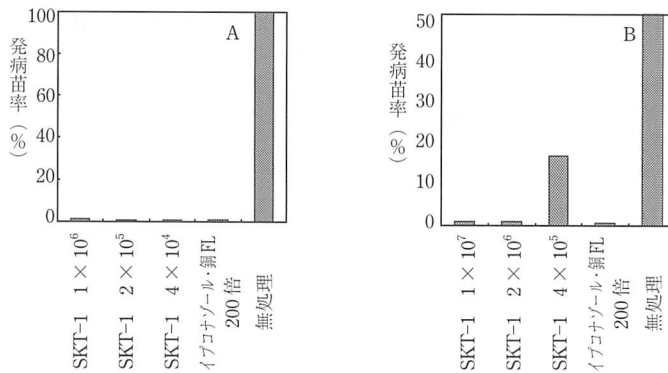


図-2 保菌程度の異なる種子における SKT-1 株の分生胞子懸濁液 24 時間イネ種子処理によるばか苗病発病抑制効果

1 種子当たり保菌数 A : 4.2 cfu, B : 267.4 cfu. 保菌数は, 駒田培地を用いて希釈平板法により調査.
SKT-1 株は, PDA 培地で 27℃, 9 日間培養により得られた分生胞子を蒸留水に懸濁した分生胞子懸濁液を処理. 処理量単位は分生胞子数 (個/ml).

苗病, 苗立枯細菌病およびもみ枯細菌病に対して対照の化学薬剤にほぼ匹敵する効果があり, 実用性があった. さらに, いもち病, ごま葉枯病および育苗中に発生する *Rhizopus* 菌による苗立枯病に対しても, 近年の委託試

験によりその有効性が実証されつつある.

上記製剤を用いて, イネ種子の予措作業における使用時期の検討を行ったところ, 浸種の前半, 後半および催芽時のいずれの処理とも本製剤はばか苗病, 苗立枯細菌

表-1 育苗箱規模でのばか苗病発病抑制効果と、本田移植後のばか苗病発生状況

種子処理 ^{a)}	処理量 ^{b)}	育苗時の発病		本田移植後の発病	
		発病苗率 (%)	同左 防除価	調査 株数	発病 株数
SKT-1	1 × 10 ⁶	0.02	99.9	1,554	5
イブコナゾール・ 銅フロアブル	200 倍	0.06	99.5	1,570	8
無処理	—	13.14	—	1,588	267

^{a)} SKT-1 株は、PDA 培地で 27℃、8 日間培養により得られた分生子を蒸留水に懸濁した分生子懸濁液を処理。^{b)} SKT-1 株の処理量単位は分生子数 (個/ml)。

病およびもみ枯細菌病に対して有効であった。また、これら病害防除において、浸種温度や育苗温度による防除効果の変動は少なく、激しいかくはんを伴わない限り水換えによる効果低下はみられなかった。さらに本剤と各種薬剤との混用、体系使用について検討した結果、ベノミル剤、チオファネートメチル剤および DMI 剤を含む薬剤との混用使用、ベノミル剤、チオファネートメチル剤およびメタスルホカルブ剤を含む薬剤との播種前または播種時処理との体系使用は効果を低下させるため使用できないが、MEP 剤、MPP 剤、カルタップ塩酸塩剤、オキシロニック酸剤、カスガマイシン塩酸塩剤およびシュードモナス CAB-02 剤との混用使用、カルタップ塩酸塩剤、フィプロニル剤、TPN 剤、ヒドロキサゾール剤、ヒドロキサゾール・メタラキシル剤、カスガマイシン塩酸塩剤、トリシクラゾール剤、カルプロパミド剤、イソプロチオラン剤およびシュードモナス CAB-02 剤との播種前、播種時または緑化期処理との体系使用は可能であった。

II SKT-1 株の形態および性質

1 形態的性質

分生子柄は気中菌糸より生じ、輪生あるいは不規則に分枝、各分枝は下方のもの程伸びて分枝を繰り返す、全体としては円錐形を呈していた。各分枝はほぼ直角に分かれ、その先端に 2～4 個の規則正しく輪生または対生するフィアライド上に分生子が塊状に形成された。分生子は球形から亜球形で表面は光学顕微鏡下 (1,500 倍) で平滑、走査型電子顕微鏡下 (10,000 倍) でわずかな小突起が観察され、大きさは 3.0～4.0 × 2.8～4.0 μm であった。

2 培養所見

PDA 培地上では、初め気中菌糸は少なく白色、次第に綿毛状の気中菌糸を生じ、分生子形成が進むに従って緑色～暗緑色となり、分生子の形成は極めて旺盛であった。

表-2 SKT-1 株の生死がイネばか苗病および苗立枯細菌病の発病抑制に及ぼす影響

種子処理 ^{a)}	ばか苗病		苗立枯細菌病	
	発病苗率 (%) ^{b)}	同左 防除価	発病苗率 (%) ^{b)}	同左 防除価
生菌体 (分生子)	0.0 a	100.0	1.0 a	99.0
洗浄胞子	1.1 a	98.9	5.1 a	94.9
熱処理による死滅胞子	100.0 b	0.0	94.4 b	5.6
遠心上清液	100.0 b	0.0	100.0 b	0.0
無処理	100.0 b	—	100.0 b	—

^{a)} いずれの処理とも処理の浴比は 1 : 1 (体積比) で、1 × 10⁷ 個/ml 分生子懸濁液より調製した。^{b)} 同一英小文字を付した数値間には、Tukey の多重比較検定 ($p = 0.05$) による有意差がないことを示す。統計処理は数値を Arcsin √% 変換して行った。

3 生理的性質

pH 3～8 の間で生育可能であり、pH 4～7 で良好に生育した。生育温度は 15～33℃、至適温度は 25～30℃であった。

以上の性質および形態観察結果について BISSETT (1991) の提唱した分類体系と照合したところ、SKT-1 株は表面小突起構造を有する分生子を形成するという点から、section *Trichoderma* に属する *T. viride* Pres. ex Gray に該当すると考えられた。しかしながら、分生子の大きさが *T. viride* の記載との比較ではやや小さく *T. atroviride* KARSTEN の記載とほぼ合致すること (BISSETT, 1991; 1992)、また、表面突起構造が走査型電子顕微鏡下 (10,000 倍) でわずかに観察されるものの光学顕微鏡下 (1,500 倍) では識別できないことから、本菌株は *T. viride* と *T. atroviride* の両者の形態的特徴を併せもつ中間的な種であると考えられた。

III SKT-1 株の発病抑制効果発現機構

SKT-1 株のばか苗および苗立枯細菌病に対する発病抑制効果の発現機序について検討を行ったところ、(1) 発病抑制効果は生菌体処理で認められ、死菌体および培養上清では認められない (表-2)、(2) 浸種期から催芽時までの期間の処理では高い発病抑制効果が得られるが、播種後の処理では発病抑制効果が低下または消失する (表-3)、(3) 浸種期から播種時までのベノミル剤との併用処理で発病抑制効果が消失するが、ばか苗病では播種 3 日後以降、苗立枯細菌病では播種翌日以降の併用処理では効果が発現される (表-4、5) ことがわかった (熊倉ら, 2003 b)。一方、SKT-1 株は、ばか苗病菌と対峙培養すると菌糸の接触部でばか苗病菌の菌糸を溶菌すること、液体培地での共存培養によりばか苗病菌を死滅させ、もみ枯細菌病菌の増殖を抑制することが確認された (渡辺ら, 2002)。これら一連の検討結果より、SKT-1 株は加温条件下にある催芽～播種後の出芽までの過程でイネの種子周辺、幼芽あるいは根圏で生育域を

表-3 SKT-1 株の処理時期別のイネばか苗病および苗立枯細菌病発病抑制効果

処理時期・ 方法 ^{a)}	処理菌量 (個/ml)	ばか苗病		苗立枯細菌病	
		発病苗率 (%) ^{b)}	同左 防除価	発病苗率 (%) ^{b)}	同左 防除価
浸種前半	1 × 10 ⁶	0.0 a	100.0	8.0 b	92.0
24 時間処理	1 × 10 ⁵	0.0 a	100.0	45.6 d	54.4
浸種全期間処理	1 × 10 ⁶	0.0 a	100.0	0.0 a	100.0
	1 × 10 ⁵	0.0 a	100.0	16.6 c	83.4
浸種後半	1 × 10 ⁶	0.0 a	100.0	0.0 a	100.0
24 時間処理	1 × 10 ⁵	0.5 a	99.5	7.3 b	92.7
催芽時処理	1 × 10 ⁶	0.0 a	100.0	1.0 a	99.5
	1 × 10 ⁵	0.4 a	99.6	9.2 b	90.8
播種時処理	1 × 10 ⁶	0.6 a	99.4	99.4 f	0.1
	1 × 10 ⁵	26.6 b	73.4	89.1 e	10.9
無処理	—	100.0 c	—	100.0 f	—

^{a)} 種子処理は浴比 1 : 1 (体積比). 播種時処理では育苗箱 (30 cm × 60 cm) 換算で 500 ml 相当量を播種時に灌注. ^{b)} 表-2 参照.

表-4 SKT-1 株とベノミル剤の同時種子処理および灌注処理との体系によるイネばか苗病発病抑制効果

処 理 ^{a)}	発病苗率 (%) ^{b)}
SKT-1 (種子浸漬処理)	0.2 a
SKT-1 (種子浸漬処理) +ベノミル水和剤 500 倍 (同時種子浸漬処理)	18.7 d
SKT-1 (種子浸漬処理) +ベノミル水和剤 500 倍 (播種時灌注処理)	20.2 d
SKT-1 (種子浸漬処理) +ベノミル水和剤 500 倍 (播種 1 日後灌注処理)	15.7 c
SKT-1 (種子浸漬処理) +ベノミル水和剤 500 倍 (播種 3 日後灌注処理)	1.7 b
SKT-1 (種子浸漬処理) +ベノミル水和剤 500 倍 (播種 5 日後灌注処理)	0.6 a
SKT-1 (種子浸漬処理) +ベノミル水和剤 500 倍 (播種 7 日後灌注処理)	0.6 a
イブコナゾール・銅 FL200 倍 (種子浸漬処理)	0.8 a
無処理	53.2 e

^{a)} 種子処理は浸種前 24 時間浸漬処理 (処理の浴比は体積比 1 : 1). SKT-1 株の処理量は 1 × 10⁶ 個/ml. 灌注処理では育苗箱 (30 cm × 60 cm) 換算で 500 ml 相当量を処理. ^{b)} 表-2 参照.

拡大し、病原菌と拮抗や競合することにより病害の発病を抑制しているものと考えられた。

お わ り に

SKT-1 株は、イネ種子伝染性病害防除に対し高い実用性が期待されたため、クミアイ化学工業株式会社において実用化を進め、大量培養技術並びに製剤を確立した。

表-5 SKT-1 株とベノミル剤の同時種子処理および灌注処理との体系によるイネ苗立枯細菌病発病抑制効果

処 理 ^{a)}	発病苗率 (%) ^{b)}
SKT-1 (種子浸漬処理)	27.5 a
SKT-1 (種子浸漬処理) +ベノミル水和剤 500 倍 (同時種子浸漬処理)	74.0 b
SKT-1 (種子浸漬処理) +ベノミル水和剤 500 倍 (播種時灌注処理)	79.9 c
SKT-1 (種子浸漬処理) +ベノミル水和剤 500 倍 (播種 1 日後灌注処理)	30.4 a
SKT-1 (種子浸漬処理) +ベノミル水和剤 500 倍 (播種 3 日後灌注処理)	30.2 a
オキシロニック酸水和剤 200 倍 (種子浸漬処理)	29.0 a
無処理	70.2 b

^{a)} 表-4 参照. ^{b)} 表-2 参照.

そして、2000 年より日本植物防疫協会を通じて KUF-1203 のコード名で、各種イネ種子伝染性病害に対して委託試験が実施され実用性が確認された。さらに、安全性評価も同時に実施され、2003 年 1 月 28 日付けでトリコデルマ・アトロビリデ SKT-1 水和剤 (商品名：エコホープ) として農薬登録された。

我が国では、稲作は北海道から沖縄までの平野部から山間地まであらゆる地域で行われており、ほとんどが箱育苗による移植栽培を行っている。しかしながら、育苗の段階では、種子の浸種条件 (温度、期間等)、催芽条件 (温度、期間、方法等)、播種量、育苗条件等は地域間差が大きい。本剤の詳細な病害防除メカニズムは十分解明されてないが、先に述べた通り、催芽から出芽の段階で菌が種子周辺、幼芽あるいは根圏上で生存、増殖し、何らかの作用をしていることは明らかである。したがって、本剤の発病抑制効果は、育苗時の諸条件、特に催芽から出芽期の条件により大きく変動することが考えられる。現時点では、催芽温度が通常よりかなり高温に推移した場合、防除効果が低下することが明らかにされている (豊島ら, 2002)。また、その後の実用化試験において、覆土条件、播種量、種子の罹病程度、培土の種類等も特に細菌病害では効果の変動要因となることが示唆されている。今後、本剤による防除の普及に当たっては、あらゆる地域における育苗実態に合った条件での試験を積むことが肝要である。

引 用 文 献

1) BISSETT, J. (1991) : Can. J. Bot. 69 : 2357 ~ 2372.
2) ——— (1991) : ibid. 70 : 639 ~ 641.
3) 茨木忠雄 (1974) : 日植病報 40 : 189 ~ 190 (講要).
4) 岸 國平編 (1998) : 日本植物病害大辞典, 全国農村教育協会, 東京, p. 54 ~ 55.
5) 北村義男ら (1982) : 日植病報 48 : 380 (講要).
6) 熊倉和夫ら (2003 a) : 同上 69 : 384 ~ 392.
7) ——— (2003 b) : 同上 69 : 393 ~ 402.
8) 守川俊幸ら (1997) : 同上 56 : 516 (講要).
9) 小川勝美ら (1982) : 同上 48 : 379 ~ 380 (講要).
10) 豊島 淳ら (2002) : 同上 68 : 205 (講要).
11) 渡辺 哲ら (2002) : 同上 68 : 205 ~ 206 (講要).