

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4310466号
(P4310466)

(45) 発行日 平成21年8月12日(2009.8.12)

(24) 登録日 平成21年5月22日(2009.5.22)

(51) Int.Cl.	F I
AO1N 63/00 (2006.01)	AO1N 63/00 F
AO1P 3/00 (2006.01)	AO1P 3/00
C12N 1/14 (2006.01)	C12N 1/14 A
C12R 1/885 (2006.01)	C12N 1/14 A
	C12R 1:885

請求項の数 6 (全 11 頁)

(21) 出願番号 特願2004-346741 (P2004-346741)	(73) 特許権者 501203344
(22) 出願日 平成16年11月30日(2004.11.30)	独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構
(65) 公開番号 特開2006-151898 (P2006-151898A)	茨城県つくば市観音台3-1-1
(43) 公開日 平成18年6月15日(2006.6.15)	(74) 代理人 100091096
審査請求日 平成16年11月30日(2004.11.30)	弁理士 平木 祐輔
特許法第30条第1項適用 刊行物名：2004年度(50周年記念大会)日本土壤微生物学会講演要旨集 講演日：平成16年6月4日 講演場所：エポカルつくば 発行日：2004年6月3日 発行者：日本土壤微生物学会 会長 木村 真人 講演番号：0-18	(74) 代理人 100096183
微生物の受託番号 NITE P-40	弁理士 石井 貞次
	(74) 代理人 100118773
	弁理士 藤田 節
	(74) 代理人 100101904
	弁理士 島村 直己
	(72) 発明者 仲川 晃生
	茨城県つくば市並木4-11-922-103
	最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ダイズ黒根腐病を生物的に防除するための組成物及び方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

植物における黒根腐病を防除する能力を有するトリコデルマ属に属する微生物を有効成分として含有する、植物における黒根腐病の防除用組成物。

【請求項2】

植物がダイズである請求項1に記載の組成物。

【請求項3】

トリコデルマ属に属する微生物がトリコデルマ・ハルジアナム T-29 株(受領番号 N I T E A P - 4 0) 又はその変異株である請求項1又は2に記載の組成物。

【請求項4】

請求項1～3のいずれか1項に記載の組成物を植物に施用することを含む、植物における黒根腐病の防除方法。

【請求項5】

植物がダイズである請求項4に記載の方法。

【請求項6】

トリコデルマ・ハルジアナム T-29 株(受領番号 N I T E A P - 4 0) 。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は植物病害、特にダイズ黒根腐病の生物的防除用の組成物及びそれを用いた植物

病害の防除方法に関する。

【背景技術】

【0002】

ダイズは、古来よりわが国において生産される重要な作物の一つであるが、近年になり水田転換畑を利用した栽培が主体となったことから、連作により黒根腐病が発生・蔓延し大きな被害を生じている。

【0003】

ダイズ黒根腐病を引き起こすダイズ黒根腐病菌は糸状菌の一種で子のう菌類に属す多犯性の病原菌であり、ダイズのほか、アズキ、ラッカセイ、インゲンマメ、エンドウ、ルーピン等の多くのマメ科植物やチャなどを侵す。罹病組織中に形成される微小菌核が第一の伝染源であり、土壤中数年間生存が可能な土壤伝染性の難防除病害である。

【0004】

ダイズ黒根腐病の防除に有効な農薬はなく、薬剤を用いた防除法は確立されておらず、耕種的な対策により防除が行われているのが現状である。本病の発生は土壤水分が高い場所が多いことから、圃場の排水能を高めるための高畝のほか明渠の設置や発病株の抜き取りおよび田畑輪換などの栽培技術で対応しているが効果は十分ではない。また、ダイズ黒根腐病の防除に有効な農薬が開発されたとしても、国民の環境に対する関心の高まりから低環境負荷型の病害防除技術として生物的防除技術開発への要望は大きい。

【0005】

なお、ダイズ黒根腐病の生物的防除技術としては、フザリウム菌に属する生命研条寄第6536 (FERM BP - 6536) またはその変異株を含有する土壤で栽培する工程を含む、カロネクトリア・クロタラリエ (*Calonectria crotalariae*) の該植物への感染を予防する方法 (特許文献1) があるが、有効成分である微生物が本発明で用いられるものとは全く異なる。

【0006】

【特許文献1】国際公開WO99/16317号パンフレット

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

植物における黒根腐病に対する低環境負荷型の防除技術として、微生物の有する拮抗作用を利用した生物的防除技術を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明者らは、微生物の有する拮抗作用を利用した生物的防除技術に利用できる有望な拮抗菌を土壤中から選抜することを試み、本発明を完成させるに至った。

【0009】

本発明は以下の発明を包含する。

(1) 植物における黒根腐病を防除する能力を有するトリコデルマ属に属する微生物を有効成分として含有する、植物における黒根腐病の防除用組成物。なお本発明において「防除用組成物」とは、「防除剤」や、「防除資材」を包含する概念である。

(2) 植物がダイズである(1)に記載の組成物。

(3) トリコデルマ属に属する微生物がトリコデルマ・ハルジアナム T - 29 株 (受領番号 N I T E A P - 40) 又はその変異株である(1)又は(2)に記載の組成物。

(4) (1) ~ (3) のいずれかに記載の組成物を植物に施用することを含む、植物における黒根腐病の防除方法。

(5) 植物がダイズである(4)に記載の方法。

(6) トリコデルマ・ハルジアナム T - 29 株 (受領番号 N I T E A P - 40)。

【発明の効果】

【0010】

本発明によれば、植物による黒根腐病を生物的に防除することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0011】

本発明による防除の対象となる黒根腐病は糸状菌カロネクトリア・イリシコーラ (*Calonectria ilicicola*、(同義:カロネクトリア・クロタリエ *syn. Calonectria crotalariae*) (本明細書ではこれを「黒根腐病菌」と称することがある)の感染により引き起こされるものである。

【0012】

黒根腐病菌は、ダイズ、アズキ、ラッカセイ、インゲンマメ、エンドウ、ルーピン等の多くのマメ科植物やチャなどを侵し、黒根腐病を引き起こす。本発明の組成物はこれらの植物における黒根腐病の防除、なかでもダイズにおける黒根腐病の防除に適する。

10

【0013】

本発明に使用することができるトリコデルマ属に属する微生物としては、黒根腐病を防除することができるものであれば特に限定されないが、典型的にはトリコデルマ・ハルジアナム (*Trichoderma harzianum*)、トリコデルマ・ハマタム (*Trichoderma hamatum*)、トリコデルマ・ビレンス (*Trichoderma virens* (同義:グリオクラディウム・ビレンス *syn. Gliocladium virens*))、トリコデルマ・ポリスポラム (*Trichoderma polysporum*) に属するものが挙げられ、トリコデルマ・ハルジアナム又はトリコデルマ・ハマタムに属するものが好ましい。なかでも、独立行政法人製品評価技術基盤機構特許微生物寄託センターに寄託申請されたトリコデルマ・ハルジアナム T-29 株 (受領番号 NITE AP-40、受領日平成16年11月25日) が特に好ましい。本発明にはまた上記トリコデルマ・ハルジアナム T-29 株の変異誘発処理された変異株を用いることもできる。変異誘発処理は任意の適当な変異原を用いて行なうことができる。ここで、「変異原」なる語は、その広義において、例えば変異原効果を有する薬剤のみならず UV 照射のごとき変異原効果を有する処理をも含むものと理解すべきである。適当な変異原の例としてエチルメタンスルホネート、UV 照射、N-メチル-N-ニトロ-N-ニトロソグアニジン、プロモウラシルのようなヌクレオチド塩基類似体及びアクリジン類が挙げられるが、他の任意の効果的な変異原もまた使用することができる。

20

【0014】

本発明に使用されるトリコデルマ属菌は、往復振とう培養、ジャーファメンター培養、培養タンク培養等の液体培養 (固形物含有液体の流動培養を含む)、棚段培養等の固体培養等の通常の培養法によって培養することができる。トリコデルマ属菌の培養のための培地は、該菌が効率的に繁殖し孢子形成し得るものであれば特に限定されない。かかる培地としては例えば、天然物を利用したものであるオオムギ粒培地 (6条カワムギ 20g, 水 20g) やジャガイモ煎汁培地 (PSA 培地または PDA 培地: ジャガイモ 200g, サッカロースまたはデキストロース 15~20g, 寒天 15~20g) のほか、炭素源としてグルコース、シュークロース、デンプン、デキストリン、黒砂糖、フスマ、コメヌカなどの糖類を、窒素源として硫酸アンモニウム、塩化アンモニウム、硝酸アンモニウム等のアンモニウム塩、硝酸塩等の無機窒素源、または、酵母エキス、コーン・スティーブ・リーカー、肉エキス、小麦胚芽、ポリペプトン、サトウキビ絞り粕、ビール粕、大豆粕、コメヌカ、魚粉等の有機窒素源を、無機塩としてリン酸一カリ、硫酸マグネシウム、硫酸マンガ、硫酸第一鉄等の、リン、カリウム、マンガ、マグネシウム、鉄等を含む塩類を、それぞれ含有する合成または天然の培地が挙げられる。

30

40

【0015】

また本発明に使用されるトリコデルマ属菌は、フスマ、ムギワラ、コメヌカ、イナワラ、トウモロコシガラ、オートミール、ムギ粒、大豆粕、コーンミール、食品残渣等の有機物粉末に菌体を接種し、適当な条件、例えば 24~26 暗黒条件下で培養することもできる。またこれらの有機物粉末にベントナイト、珪藻土、タルク類、パーライト、パーミキュライト等の無機物を適宜添加したのもまた培地として使用することができる。こうして得られた培養物又はそれを適宜乾燥させたものはそれ自体が植物病害の防除資材とし

50

て好適に使用できるため好ましい。トリコデルマ属菌が上記有機物粉末を培地として用いた場合に優れた孢子形成能を示すことから、かかる防除資材は大量生産が容易である。

【0016】

本発明の防除用組成物としては、上記トリコデルマ属菌の培養物をそのまま使用することができる。培養物中には、分生孢子、子のう孢子、厚膜孢子等の各種孢子（本明細書ではこれらを総称して単に「孢子」と称することがある）が含まれていることが好ましいが、菌糸体又はその断片が更に含まれていてもよい。かかる培養物は適宜乾燥して使用することもできる。

【0017】

本発明の防除用組成物としてはまた、上記培養物から、形成された孢子を常法により分離または高濃度化したもの又はその乾燥物を使用することができる。この場合もまた菌糸体又はその断片が含まれていてもよい。分離または高濃度化の方法としては、ろ過、遠心分離等の方法によりペレット状又は懸濁液状の組成物を得る方法のほか、例えば次の方法が挙げられる。すなわち、固形物含有液体の流動培養では、菌糸体を先ず生育させ、液体をろ過により除去し、残固形物ごと乾燥させ、孢子形成を促し、十分に孢子形成させたのちに、解砕し篩分けする方法や、この工程の孢子形成後に、界面活性剤を含む水にて処理し、孢子懸濁液をろ過により回収し乾燥して孢子を得る方法も可能である。固体培養では、固体表面に孢子形成後に培地ごと篩分けしたり、もしくは培地を乾燥後、解砕し篩分けすることより孢子を回収できる。

【0018】

本発明の防除用組成物としてはまた、上記トリコデルマ属菌を液体培養（固形物含有液体の流動培養を含む）により培養した場合の培養液を活性炭粉末、珪藻土、タルク等の多孔吸着体に吸着させ乾燥させたものを使用することもできる。

【0019】

なお上記のいずれにおいても乾燥方法は通常の方法でよく、例えば自然乾燥や低温での通風乾燥の他、凍結乾燥、減圧乾燥でよい。これらの乾燥物は乾燥後さらにボールミル等の粉碎手段で適宜粉碎してもよい。

【0020】

これまでに説明したトリコデルマ属菌の培養物、分離もしくは高濃度化された孢子、培養液の吸着物又はそれらの乾燥物（以下、「培養物等」という）は、単独で又は適宜組み合わせ本発明の防除用組成物として使用することができる。培養物等は、各種土壌や麦粒、木材片、サトウキビ絞り粕、ビール粕、大豆粕、コメヌカ、魚粉、各種堆肥、食品残渣等の有機物と組み合わせた堆肥状資材の形態で使用することもできる。培養物等はまた、他の任意成分と組み合わせ通常微生物製剤と同様の形態（例えば粉剤、水和剤、乳剤、液剤、フロアブル剤、塗布剤等の形態）に製剤化することもできる。水和剤の形態が特に好ましい。水和剤化することにより植物の播種時や生育時での土壌灌注や散布による施用が可能になり施設内だけでなく露地での広範な用途に対応可能となるからである。これらの資材や製剤中において組み合わせ使用される任意成分としては例えば固体担体、補助剤が挙げられる。固体担体としては例えばベントナイト、珪藻土、タルク類、パーライト、パーミキュライト、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ビール粕、サトウキビ絞り粕、オカラ、フスマ、キチン、コメヌカ、小麦粉等が挙げられ、補助剤としては例えばゼラチン、アラビアガム、糖類、ジェランガム等の固着剤や増粘剤が挙げられる。

【0021】

本発明の防除用組成物の植物への施用方法は、植物病害の発生状況、施用対象である植物の種類、トリコデルマ属菌の剤形などの諸条件に応じて適宜選択され、例えば、地上部散布、施設内施用、土壌混和施用、土壌灌注施用、表面処理（種子粉衣処理、種子塗布処理）等の各処理により行われ得る。より具体的な施用方法としては、各種形状のトリコデルマ属菌含有組成物を植物の種子に粉衣・塗布する処理、植物の育苗培土や栽培土壌に灌注する処理、植物の育苗培土や栽培土壌に混和する処理、植物の茎葉に散布する処理、および、植物の付傷部に接触させる処理が挙げられる。これらの処理は単独または複数組

10

20

30

40

50

み合わされて行われてよい。また施用時期は播種時、生育時等いずれの時期であってもよい。丹波黒大豆のような苗移植栽培を行なうダイズでは、育苗培土に本発明の防除用組成物を混和するか、トリコデルマ属菌を繁殖させた育苗土（すなわち育苗土資材）を用いて育苗を行なうことにより、出芽直後の幼苗を黒根腐病菌の感染から保護することができ、初期生育の健全化が図れる。

【0022】

更にまた、上記トリコデルマ属菌の植物への施用に際しては、必要に応じて通常使用される他の有効成分、例えば殺虫剤、殺線虫剤、殺ダニ剤、除草剤、殺真菌剤、殺細菌剤、抗ウイルス剤、肥料、土壌改良剤等を混合施用するか、または、混合せずに交互施用もしくは同時施用することも可能である。

10

【0023】

本発明の防除用組成物の植物への施用量は、植物病害の発生状況、施用対象である植物の種類、トリコデルマ属菌の剤形などの諸条件に応じて適宜決定される。例えば、ふすま・パーミキュライト培地培養物では10a当たり約1tを全面土壌混和することで高い黒根腐病防除効果が生まれる。

【0024】

以下本発明を実施例に基づいて説明するが本発明はこれらの実施例によっては限定されない。

【実施例1】

【0025】

20

トリコデルマ属菌の分離法

各地圃場のダイズ根域やダイズ栽培経歴のある圃場またはダイズ黒根腐病発生圃場から得た土壌からトリコデルマ属菌を分離した。各圃場の土壌10gを殺菌水90mlの入った300mlコルベンに入れ、振とう培養器で20分間往復振とう（124往復/分）して得た懸濁液を殺菌水で希釈段階希釈後、1000倍希釈液1mlを、溶解し40に保ったMartinのローズベンガル培地（Martin, J. P. (1950) Use of acid rose bengal and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. Soil. Science. 69: 215-232.）9mlと混和して25 暗黒条件下で3～5日間培養し、生じたトリコデルマ属菌の菌叢を釣菌・分離した。分離した菌株はいずれも素寒天培地で培養後、常法により単菌系分離株とした。トリコデルマ属菌の菌叢はローズベンガル培地において生育が早くかつ、特徴的な菌糸塊を有した菌叢を作り、白色から青緑色の孢子塊ができるので、区別は容易である。

30

【0026】

分離トリコデルマ属菌の培地上での対峙培養

PDA培地で3日間25 暗黒下で培養したトリコデルマ属菌の菌叢と、オ-トミ-ル培地で5日間25 暗黒下で培養した黒根腐病菌の菌叢周辺部から菌叢ディスク（径6mm）を切り出し、PDA平板培地上で4.5cm離して置床して25 暗黒条件下で対峙培養させた。培養3および7日後に対峙様相を観察した。この結果、トリコデルマ属菌と黒根腐病菌を対峙培養させた結果、黒根腐病菌菌叢の生育をトリコデルマ属菌が抑制する型、黒根腐病菌の菌叢の中にトリコデルマ属菌が侵入する型およびトリコデルマ属菌の菌叢の中に黒根腐病菌が侵入する型の3種の拮抗型が観察された。

40

【0027】

ガラス室条件下での有望菌株の選抜

ダイズ黒根腐病菌の生物防除に有望なトリコデルマ属菌を得るため、小型ポットを使いガラス室条件下でスクリーニングを行った。高圧滅菌器で殺菌した土壌（クロボク土）にトリコデルマ属菌および黒根腐病菌を培地ごと同時に混和し、プラスチック製ポット（280ml）に詰めした後、ダイズ品種タチナガハをポット当たり5粒播種した。この際に、トリコデルマ属菌はふすま・パーミキュライト培地で25 暗黒下10日間培養し、同様にダイズ黒根腐病菌（農研センター分離株S-14菌株）は、ふすま・パーミキュライト

50

培地で25 暗黒下20日間培養したものをを用いた。混和したトリコデルマ属菌および黒根腐病菌はポット当たりそれぞれ2gとした。試験は1菌株当たり6ポットを供試し、3反復で行った。ポットはガラス温室に保ち播種20日後に出芽前苗立枯率を調べると共に、ダイズを引き抜き、出芽後の発病茎率を調べ、以下の基準に基づいて発病率を求めた。

【0028】

【数1】

発病率＝出芽前苗立枯率＋出芽後立枯率

10

【0029】

そして、発病率に基づき下記式により発病率に基づく防除価を算出した。

【0030】

【数2】

発病率に基づく防除価＝100×（無処理区の発病率－処理区の発病率）／（無処理区の発病率）

【0031】

また播種20日後には抜根して根部を観察し、発病度を求めた。発病度は、根部の発病程度を次の5段階に分け、各発病程度を示す株数を数え、下記式を用いて算出した。

20

0：無発病（健全），1：根部あるいは地際部に褐変が認められる，2：褐変が主根または地際部全体を取り巻く，3：褐変が地際部を中心に長く進展する，4：主根が腐朽し根量減少，5：枯死。

【0032】

【数3】

発病度＝100×（1n₁＋2n₂＋3n₃＋4n₄＋5n₅）／5（n₀＋n₁＋n₂＋n₃＋n₄＋n₅）

n₁～n₅はそれぞれの発病程度を示す株数

【0033】

また発病度に基づき下記式により発病度に基づく防除価を算出した。

30

【0034】

【数4】

発病度に基づく防除価＝100×（無処理区の発病度－処理区の発病度）／（無処理区の発病度）

【0035】

結果を表1に示す。試験回時が異なる結果を含む表記のため、数値は防除価で示した。

【0036】

40

【表1】

表1 ダイズ黒根腐病に対するトリコデルマ属菌の生物防除効果

菌株名	発病率に基づく防除価	発病度に基づく防除価	菌株名	発病率に基づく防除価	発病度に基づく防除価
T-5	93.3	92.1	T-29	63.3	56.4
T-13	95.6	98.5	T-30	25.6	13.5
T-21	78.9	72.3	T-31	63.3	27.0
T-23	56.7	52.0	T-01003	0.0	26.7
T-24	52.2	45.3	T-01010	0.0	17.9
T-25	46.7	51.4	T-01011	0.0	29.8
T-26	61.1	60.1	T-01012	0.0	33.9
T-27	46.7	41.6	T-01037	0.0	17.8
T-28	76.7	81.1			

注. 発病率＝出芽前立枯率＋出芽後立枯率.

【0037】

幼苗検定の結果、菌株T-5、T-13およびT-28等で高い防除価を示す菌株が見つかった。多くの菌株を用いた幼苗検定により、表1に示す17種類の菌株を得た。

【0038】

上記17株のうちT-29株の菌学的性質は以下の通りである。

(顕微鏡による観察)

2%マルツ培地上における分生子柄の分岐様式およびフィアライドの着生様式はともに規則的でフィアライドは分岐に単生する。分生胞子は濃緑色球形～亜球形を呈し、大きさは2.1～2.4×2.4～2.6μmである等の特徴により、本菌はリファイの分類(Rifai, M. A. (1969) A reversion of the genus of *Trichoderma*. *Mycological Papers* No. 116: 1-56.)に従いトリコデルマ・ハルジアナム(*Trichoderma harzianum*)と同定された。

【0039】

(培養性質)

PSA培地において10～35の範囲で生育し、30で最適生育温度(菌糸生育速度20.1mm/日)であった。PSA培地25培養2日後の菌叢は、培地中央部が淡黄色に着色し、菌糸は白く平滑に伸長し、気中菌糸は少なかった。菌糸細胞には平均2.2個の核を有した。また、分生胞子形成が良好であった。

【0040】

以上の性質から、T-29菌株は新規株と特定された。本株は*Trichoderma harzianum* T-29(トリコデルマ・ハルジアナムT-29)として独立行政法人製品評価技術基盤機構特許微生物寄託センターに寄託申請された(受領番号NITE AP-40)。

【0041】

また、T-27株の菌学的性質は以下の通りである。

(顕微鏡による観察)

2%マルツ培地上において典型的に分生子柄やフィアライドの形成のない菌糸の伸長(ステライル・ハイファル・エロンゲーション、Sterile hyphal elongations)を呈す。分生子柄やフィアライドの形成のないステライル菌糸の基部には短い分生子柄と洋なし型のフィアライドが密生する。分生胞子は濃緑色倒卵形～俵型を呈

10

20

30

40

50

し、大きさは $3.6 \sim 4.6 \times 2.4 \sim 3.0 \mu\text{m}$ である等の特徴により、本菌はリファイの分類 (Rifai, M. A. (1969) A reversion of the genus of *Trichoderma*. *Mycological Papers* No. 116: 1-56.) に従いトリコデルマ・ハマタム (*Trichoderma hamatum*) と同定された。

【0042】

(培養性質)

PSA培地において10～35の範囲で生育し、30で最適生育温度(菌糸生育速度19.9mm/日)であった。PSA培地25培養2日後の菌叢は、菌糸は白く平滑に伸長し、空中菌糸は少なく培地の着色は認められなかった。菌糸細胞には平均3.8個の核を有した。

10

【0043】

なお、表1の菌株のうち次のものについては種が特定された。T-5:トリコデルマ・ハルジアナム, T-13:トリコデルマ・ハルジアナム, T-21:トリコデルマ・ピレンス, T-26:トリコデルマ・ハルジアナム, T-27:トリコデルマ・ハマタム, T-28:トリコデルマ・ハルジアナム, T-29:トリコデルマ・ハルジアナム, :トリコデルマ・ハルジアナム, T-30:トリコデルマ・ハマタム, T-31:トリコデルマ・ポリスポラム。

【実施例2】

【0044】

20

実施例1で選抜されたトリコデルマ・ハルジアナムT-29株を含む17種類のトリコデルマ属菌を用い、野外設置ポット条件下でダイズ黒根腐病に対する生物防除効果を調べた。なお本実施例で用いたふすま・バーミキュライト培地は、ふすま200g、バーミキュライト200gおよび水600gを、たらい等を使い均一に混和後、1Lビーカー当たり500gを分注しオートクレーヴ滅菌(120, 15分)を行って作成した。クロボク土を充填した野外設置のコンクリート製ポット(50cm×50cm×50cm)を1処理当たり3ポット使い、クロルピクリン剤により土壌消毒(30L/10a)し使用時までポリフィルムマルチのまま放置した。3ヶ月後(5月27日)に、黒根腐病菌(カロネクトリア・イリシコーラ、農研センター分離S-14菌株)をふすま・バーミキュライト培地にて25暗黒下で40日間培養した培養物140gを各ポット表層土壌(0~10cm間)に混和して、黒根腐病菌を接種した。接種後トリコデルマ属菌を処理するまでポットは特に何もしなかった。8日後の6月4日に、各トリコデルマ属菌をふすま・バーミキュライト培地で25暗黒条件下にて10日間培養した培養物140gを各ポットの表層土壌(0~10cm間)に混和处理した。無処理の対照区として、何も培養していないふすま・バーミキュライト培地だけ140gを同様にポットの表層土壌に混和处理した。そして、ダイズ品種タチナガハの種子を1カ所2粒、ポット当たり9カ所点播した。播種後、各ポットには水道水で給水した。播種20日目に出芽前苗立枯率を調べた。また収穫時(12月2日)に出芽後立枯率を調べた。

30

出芽前苗立枯率(%)と出芽後立枯率(%)との和を発病率(%)とした。

【0045】

40

【数5】

発病率 = 出芽前苗立枯率 + 出芽後立枯率

そして、発病率に基づき下記式により防除価(1)を算出した。

【0046】

【数6】

防除価(1) = $100 \times (\text{無処理区の発病率} - \text{処理区の発病率}) / (\text{無処理区の発病率})$

50

【 0 0 4 7 】

また収穫時（12月2日）には抜根して根部を観察し、発病度を求めた。発病度は、根部の発病程度を次の5段階に分け、各発病程度を示す株数を数え、下記式を用いて算出した。

0：健全。1：主根を含む根の一部（1/4程度）に褐変や腐朽が認められる。2：主根を含む根の半分程度が褐変や腐朽している。3：側根の多が腐朽・脱落し、主根の腐朽も著しい。4：収穫時まで枯死し、多くの場合側根は全部腐朽脱落するとともに主根だけがゴボウ根状となる。発病程度については図1も参照されたい。

【 0 0 4 8 】

【数7】

$$\text{発病度} = 100 \times (1n_1 + 2n_2 + 3n_3 + 4n_4) / 4 (n_0 + n_1 + n_2 + n_3 + n_4)$$

$n_1 \sim n_4$ はそれぞれの発病程度を示す株数

10

【 0 0 4 9 】

また発病度に基づき下記式により防除価（2）を算出した。

【 0 0 5 0 】

【数8】

$$\text{防除価} (2) = 100 \times (\text{無処理区の発病度} - \text{処理区の発病度}) / (\text{無処理区の発病度})$$

20

【 0 0 5 1 】

結果を表1に示す。T-29は防除価（1）及び（2）の両方について特に高い値を示した。

【 0 0 5 2 】

【表2】

表2 ダイズ黒根腐病に対するトリコデルマ属菌の生物防除効果

菌株名	発病率 (%)	防除価 (1)	発病度	防除価 (2)	菌株名	発病率 (%)	防除価 (1)	発病度	防除価 (2)
T-5	22.3	51.8	15.3	15.5	T-29	9.3	79.9	3.7	79.6
T-13	21.6	53.3	9.6	47.0	T-30	27.8	40.0	10.6	41.4
T-21	29.6	36.1	18.0	0.6	T-31	38.9	16.0	5.7	17.5
T-23	42.6	8.0	27.8	0	T-01003	11.2	75.8	5.1	71.8
T-24	18.5	60.0	11.1	38.7	T-01010	7.4	84.0	6.0	66.9
T-25	37.1	19.9	25.0	0	T-01011	16.7	63.9	9.7	46.4
T-26	33.4	27.9	18.0	0.6	T-01012	31.5	32.0	9.2	49.2
T-27	11.1	76.0	8.8	51.4	T-01037	11.1	76.0	6.9	61.9
T-28	7.4	84.0	5.6	69.1	無処理	46.3	0	18.1	0

30

注. 発病率＝出芽前立枯率＋出芽後立枯率。
防除価(1)および(2)は、発病率および発病度からそれぞれ算出した。

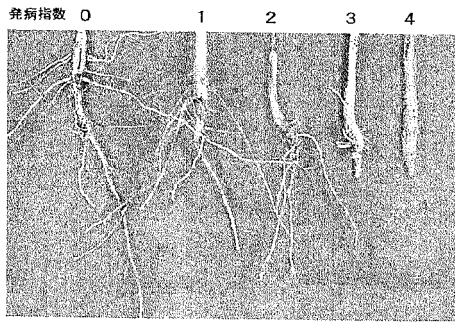
【 図面の簡単な説明 】

40

【 0 0 5 3 】

【 図 1 】 発病程度の分類を示す写真である。

【図 1】



フロントページの続き

審査官 富永 保

(56)参考文献 Transplant root dips with biocontrol agents reduce strawberry black root rot. , Phytopathology, (2002),92(6),suppl.,p.S61

Trichoderma stromaticum:A potential biological control agent for black root rot in strawberries. , Phytopathology, (2004),94(6),suppl.,p.S78

(58)調査した分野(Int.Cl. , DB名)

A 0 1 N 6 3 / 0 0

B I O S I S (S T N)