



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Fusarium属菌および
Trichoderma属菌によるイネ種子伝染性病害の生物
防除に関する研究

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 熊倉, 和夫 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/3121

氏名(本国籍)	熊倉和夫(愛知県)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	農博乙第104号
学位授与年月日	平成18年3月13日
学位授与の要件	学位規則第3条第2項該当
学位論文題目	<i>Fusarium</i> 属菌および <i>Trichoderma</i> 属菌によるイネ種子伝染性病害の生物防除に関する研究
審査委員会	主査 岐阜大学 教授 百町満朗 副査 静岡大学 教授 瀧川雄一 副査 信州大学 助教授 久我ゆかり 副査 岐阜大学 助教授 松原陽一

論文の内容の要旨

本学位論文は、各種植物の根圏および栽培土壌より分離した *Fusarium* 属菌および *Trichoderma* 属菌からイネばか苗病および立枯病に顕著な発病抑制効果をもたらす菌株を選抜し、さらにはそれらを用いたイネ種子伝染性病害の生物防除の可能性を調べたものである。まず、第1章で全体の結論を記述した後、第2章ではイネ種子伝染性病害防除に有効な *Fusarium* 属菌と *Trichoderma* 属菌の選抜を行った。各種植物の根圏および栽培土壌から分離した *Fusarium* 属菌と *Trichoderma* 属菌について、イネの重要な種子伝染性病害であるばか苗病および苗立枯細菌病に対する発病抑制能を検討した。*Fusarium* 属菌350菌株、*Trichoderma* 属菌66菌株について、培養菌液または分生子懸濁液のイネ種子浸漬処理によるイネばか苗病発病抑制効果を検討したところ、両属とも高い発病抑制効果を示す菌株が高い割合で存在することが明らかとなった。また、ばか苗病に対して比較的低菌量処理で高い発病抑制効果を示すものの中には、イネ苗立枯細菌病に対しても高い発病抑制効果を示す菌株が多数認められた。高い発病抑制効果を示す菌株として、トマト根圏より分離した *F. oxysporum* SNF-356株、ノシバ根圏より分離した *Trichoderma* sp. SKT-1株を選抜し、ばか苗病および苗立枯細菌病に対する発病抑制効果を調べたところ、SNF-356株では、 1.0×10^7 個/ml以上、SKT-1株は 1.0×10^5 個/ml以上の分生子懸濁液処理で、両病害に対して対照の化学薬剤であるイプコナゾール・銅フロアブル剤またはオキソリニック酸水和剤に匹敵する高い発病抑制効果を示した。特にSKT-1株のばか苗病発病抑制効果は、種子の罹病程度に関わらず安定していた。両菌株を種子処理し、育苗期のばか苗病の発病を抑制した苗を本田に移植したところ、出穂期におけるばか苗病の発病頻度は無処理区に比べて明らかに少なかった。

第3章では *Trichoderma* sp. SKT-1株による6種のイネ種子伝染性病害の発病抑制機構を調べた。*Trichoderma* sp. SKT-1株は、分生子懸濁液の種子浸漬処理により、ばか苗病に対して $4 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ 個/mlの処理菌量で対照のイプコナゾール・銅フロアブルの種子消毒とほぼ同等の、

苗立枯細菌病、もみ枯細菌病および褐条病に対して $2 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 個/ml の処理菌量でオキシリニック酸水和剤の種子消毒とほぼ同等の高い発病抑制効果が認められた。また、育苗期に発生するいもち病およびごま葉枯病に対しては、 1×10^7 個/ml 処理で、対照のイプコナゾール・銅フロアブルの種子消毒とほぼ同等の発病抑制効果が認められた。SKT-1 株をイネ種子または育苗培土に処理しても、出芽不良、生育抑制および立枯症状などの病徴は認められなかった。SKT-1 株のほか苗病および苗立枯細菌病防除活性は分生子処理および遠心分離により洗浄した分生子処理で明らかに認められたが、オートクレーブにより死滅させた分生子および分生子懸濁液の上清液では認められなかった。SKT-1 株は、浸種期および催芽時の処理で、ほか苗病および苗立枯細菌病に対して高い発病抑制効果が認められた。播種後の処理では、ほか苗病に対しては低菌量処理区で発病抑制効果が低下し、苗立枯細菌病では殆ど発病抑制効果が認められなかった。ベノミル併用による SKT-1 株の発病抑制効果消失時期を調べたところ、ほか苗病では播種1日後までの併用処理、苗立枯細菌病では播種時処理までの併用処理で発病抑制効果が消失したものの、それ以降の併用処理では発病抑制効果が発現された。

第4章では *Trichoderma* sp. SKT-1 株からのベノミル耐性変異菌株の作出と変異株 SKT-3 株のイネ種子伝染性病害防除における実用性を調べた。環境中での動態調査並びに病害防除作用検討のため、*Trichoderma* sp. SKT-1 株からのベノミル耐性変異菌株の作出を検討した。SKT-1 株から、紫外線 (UV) 照射またはニトロソグアニジン処理により、ベノミルに対し高い耐性を獲得した菌株が容易に得られた。UV照射処理により作出した SKT-3 株は、ベノミルに対して MIC 値が 1000ppm と高度な耐性を有しており、ベノミルを含有する培地での再分離が可能ことから、土壌や水系など環境中における動態調査に利用可能であった。更に、SKT-3 株は、イネほか苗病および苗立枯細菌病発病抑制能を親株である SKT-1 株と同様に有しており、かつ、ベノミルを含有する薬剤との併用使用が可能であった。

最後に第5章で、これらを総合的に考察している。全体として本論文は、ノシバ根圏より分離した *Trichoderma* sp. SKT-1 株がイネ種子伝染性病害に対し、対照の化学薬剤に匹敵する高い発病抑制効果を示すことを明らかにした。また、SKT-1 株は浸種時と催芽時の非常に短期間の種子処理が有効なことを明らかにした。本研究の結果、SKT-1 株を用いた防除法を現行のイネ栽培体系の中に組み込むことができることを明らかにしており、SKT-1 株が実用的な生物農薬となりうることを示した内容となっている。

審 査 結 果 の 要 旨

本論文は、イネ種子伝染性病害の生物防除を目的とし、各種植物の根圏および栽培土壌から分離した *Fusarium* 属菌と *Trichoderma* 属菌から、イネほか苗病および立枯病に顕著な発病抑制効果をもたらす菌株を選抜し、さらには実用性への可能性を調べたものである。

本論文の公開学位論文発表会は、審査委員全員を含む関連教員や学生の出席のもと、平成17年12月12日(月)午後3時より岐阜大学大学院連合農学研究科において実施された。発表の内容は充実しており、本申請者は質問に対

してほぼ的確に応答した。終了後引き続き、論文内容を中心に審査委員会を開催した。

各種植物の根圏および栽培土壌から *Fusarium* 属菌 350 菌株と *Trichoderma* 属菌 66 菌株を分離し、イネの重要な種子伝染性病害であるばか苗病および苗立枯細菌病に対する発病抑制能を検討した。その結果、これらの菌株の培養菌液または分生子懸濁液のイネ種子浸漬処理により、両属とも高い発病抑制効果を示す菌株が高い割合で存在することが明らかとなった。次に、高い発病抑制効果を示す菌株として、トマト根圏より分離した *F. oxysporum* SNF-356 株、ノシバ根圏より分離した *Trichoderma* sp. SKT-1 株を選抜し、ばか苗病および苗立枯細菌病に対する発病抑制効果を調べた。その結果、SNF-356 株では、 1.0×10^7 個/ml 以上、SKT-1 株は 1.0×10^5 個/ml 以上の分生子懸濁液処理で、両病害に対して対照の化学薬剤であるイブコナゾール・銅フロアブル剤またはオキシリニック酸水和剤に匹敵する高い発病抑制効果を示すことが明らかになった。特に SKT-1 株のばか苗病発病抑制効果は、種子の罹病程度に関わらず安定していた。両菌株を種子処理し、育苗期のばか苗病の発病を抑制した苗を本田に移植したところ、出穂期におけるばか苗病の発病頻度は無処理区に比べて明らかに少なかった。

Trichoderma sp. SKT-1 株は、分生子懸濁液の種子浸漬処理により、ばか苗病に対して $4 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ 個/ml の処理菌量で対照のイブコナゾール・銅フロアブルの種子消毒とほぼ同等の、苗立枯細菌病、もみ枯細菌病および褐条病に対して $2 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 個/ml の処理菌量でオキシリニック酸水和剤の種子消毒とほぼ同等の高い発病抑制効果が認められた。また、育苗期に発生するいもち病およびごま葉枯病に対しては、 1×10^7 個/ml 処理で、対照のイブコナゾール・銅フロアブルの種子消毒とほぼ同等の発病抑制効果が認められた。このように、SKT-1 株は、浸種期と催芽時の種子処理で、ばか苗病および苗立枯細菌病に対して高い発病抑制効果が認められたが、一方、播種後の処理では、ばか苗病に対しては低菌量処理区で発病抑制効果が低下し、苗立枯細菌病に対しては殆ど発病抑制効果が認められなかった。

環境中での動態調査並びに病害防除作用検討のため、*Trichoderma* sp. SKT-1 株からのベノミル耐性変異株の作出を検討した。SKT-1 株から、紫外線 (UV) 照射またはニトロソグアニジン処理により、ベノミルに対し高い耐性を獲得した菌株が容易に得られた。UV照射処理により作出した SKT-3 株は、ベノミルに対して MIC 値が 1000ppm と高度な耐性を有しており、ベノミルを含有する培地での再分離が可能なることから、土壌や水系など環境中における動態調査に利用可能であった。更に、SKT-3 株は、イネばか苗病および苗立枯細菌病発病抑制能を親株である SKT-1 株と同様に有しており、かつ、ベノミルを含有する薬剤との併用使用が可能であった。

以上のように本論文は、ノシバ根圏より分離した *Trichoderma* sp. SKT-1 株がイネ種子伝染性病害に対し、対照の化学薬剤に匹敵する高い発病抑制効果を示すことを明らかにした。また、SKT-1 株は浸種時と催芽時の非常に短期間の種子処理が有効なことから、SKT-1 株を用いた防除法を現行のイネ栽培体系の中に組み込むことができることを明らかにした。このように、SKT-1 株が実用的な生物農薬となりうることを示しており、学術的に高い価値があるものと判定された。論文の構成は論理的であり、内容は独創性に富み、結果に対する科学的考察も十分なされていると判断された。慎重に審議した結果、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の博士(農学)の学位論文として十分価値があるものと認めた。

なお、学位論文の基礎となる学術論文および既発表学術論文は以下のとおりである。

学位論文の基礎となる学術論文

- 熊倉和夫・渡辺哲・豊島淳・牧野孝宏・市川健・伊代住浩幸・永山孝三. イネ種子伝染性病害防除に有効な *Fusarium* 属菌と *Trichoderma* 属菌の選抜. 日植病報 69: 384-392. 2003.
- 熊倉和夫・渡辺哲・豊島淳・牧野孝宏・市川健・伊代住浩幸・永山孝三. *Trichoderma* sp. SKT-1 株による6種のイネ種子伝染性病害の発病抑制効果. 日植病報 69: 393-402. 2003.
- 熊倉和夫・渡辺哲・豊島淳・牧野孝宏・市川健・伊代住浩幸・永山孝三. *Trichoderma* sp. SKT-1 株からのベノミル耐性変異株の作出と変異株 SKT-3 株のイネ種子伝染性防除における実用性. 日植病報 69: 415-419. 2003.

既発表学術論文

- M. Takagi, K. Kaku, S. Watanabe, K. Kawai, T. Shimizu, H. Sawada, K. Kumakura and K. Nagayama. Mechanism of resistance to carpropamid in *Magnaporthe grisea*. Pest Manag. Sci. 60: 921-926. 2004.
- Y. Miyake, J. Sakai, M. Shibata, N. Yonekura, I. Miura, K. Kumakura and K. Nagayama. Fungicidal activity of benthiavalicarb-isopropyl against *Phytophthora infestans* and its controlling activity against late blight diseases. J. Pestic. Sci. 30 (4): 390-396. 2005.
- S. Watanabe, K. Kumakura, H. Kato, H. Iyozumi, M. Togawa and K. Nagayama. Identification of *Trichoderma* SKT-1, a biological control agent against seedborne pathogens of rice. J. Gen. Plant Pathol. 71: 351-356. 2005.