

糸状菌を利用した植物病害防除について

上野 誠

目 的

イネいもち病は、紋枯病及び白葉枯病と共に、イネの重要病害の一つである。本病は糸状菌の子囊菌類に属する *Magnaporthe grisea* (Herbert) Barr (不完全世代, *Pyricularia oryzae* Cavara) によって引き起こされ、イネの収量や商品価値に多大な影響を与えることが知られている。本病の防除には化学農薬や抵抗性品種が効果的に使用されている。しかし、これらの防除方法については、化学農薬の連続的な使用による耐性菌の出現や環境への影響及び抵抗性品種の導入による新規の病原性レースの出現を引き起こす可能性が指摘されている。そのため、近年の農業における病害虫・雑草防除には化学農薬や抵抗性品種のみに依存しない総合的な防除（耕種的防除、生物的防除、物理的防除、化学的防除など）が推奨されている。

微生物を利用した生物防除は総合的な防除における重要な資材のひとつである。近年、微生物を用いた防除に関する研究が盛んに行われており、*Bacillus subtilis* によるトマト青枯病・根腐萎凋病、赤唐辛子の病害の防除や非病原性 *Fusarium* 菌によるサツマイモつる割病、ハウレンソウ萎凋病の防除、*Pyricularia* spp. によるソラマメ赤色斑点病の防除、*Streptomyces platensis* F-1 の生産する抗生物質によるイネ紋枯病・イチゴ灰色かび病・アブラナ菌核病の防除など多くの防除法について報告されている（荒瀬ら：1990、百町ら：2003、2009）。また、*B. subtilis* や非病原性 *Fusarium* 菌などの微生物は農薬登録され、それぞれボトキラー水和剤、マルカライトとして商業的に利用されている（田口ら：2003）。

イネいもち病についても、非病原性 *Bipolaris sorokiniana* や非病原性 *Pyricularia oryzae*, *Bacillus subtilis* IK-1080 などがイネいもち病に対して抑制効果があることが報告されている。イネ葉面菌を用いた研究では、イネ葉面菌と病原菌の対峙培養や孢子又は菌糸の混合接種において、阻止円の形成や病気の抑制が観察され、圃場試験においてもイネいもち病が抑制されている。

そこで本研究では、最近分離した糸状菌（IF1）を用いて、イネいもち病に対する IF1 の防除効果を調査した。

材料と方法

供試菌及び供試植物

供試菌としてイネいもち病菌及び糸状菌（IF1）を用いた。供試植物としてイネ品種コシヒカリを用いた。イネいもち病菌は米ぬか培地（米ぬか 40g, スクロース 16g, 粉末寒天 16g, 水道水 800ml）で 2 週間培養後、気中菌糸を除去し、インキュベーター（LP-200-D, 日本医化器械製作所）内で 2 日間 BLB 蛍光灯（FL20S, BLB National, Osaka, Japan : 300-420nm）を照射して孢子を形成させた。その後、シャーレに蒸留水を入れ、孢子を筆で懸濁し、ティッシュでろ過した後、血球計算盤を用いて 2×10^5 spores/ml に調整した。

IF1 はジャガイモ煎汁寒天培地で 1 週間培養後、シャーレに蒸留水を約 10ml 加えて、培地表面を筆でこすり、ティッシュでろ過した。血球計算盤を用いて 2×10^7 spores/ml に調整した後、必要な濃度に希釈して実験に用いた。

スライドガラス及びタマネギ鱗片への滴下接種

イネいもち病菌孢子懸濁液と IF1 孢子懸濁液を混合し、イネいもち病菌孢子（ 1×10^6 spores/ml）と IF1 の孢子数がそれぞれ 1×10^6 , 5×10^6 及び 1×10^7 spores/ml となる孢子混合懸濁液を作成した（以下 1×10^6 , 5×10^6 及び 1×10^7 ）。対照区として、 1×10^5 spores/ml に調整したイネいもち病菌孢子懸濁液を実験に使用した。調整した孢子懸濁液をスライドガラス及びタマネギ鱗片へ滴下接種し、24 又は 48 時間後に孢子の感染行動を光学顕微鏡を用いて調査した。

イネ体への IF1 の処理

混合接種試験ではイネいもち病菌孢子（ 1×10^5 spores/ml）と IF1 孢子（ 5×10^6 spores/ml）を混合し、イネ体に噴霧接種後、24 時間暗黒下・湿室条件に保った。その後、ガラス室内に保ち、接種 7 日後に病斑数を調査した。また、前接種試験では、IF1 孢子（ 5×10^6 spores/ml）をイネ体に前接種し、接種 7 日後にイネいもち病菌孢子（ 1×10^5 spores/ml）を後接種した。噴霧接種後、24 時間暗黒下・湿室条件に保ち、接種 7 日後に病斑数を調査した。

結 果

IF1 がスライドガラス及びタマネギ鱗片上でのイネいもち病の孢子発芽及び付着器形成に及ぼす影響

IF1 及びイネいもち病菌の孢子混合懸濁液をスライドガ

ラスに滴下してイネいもち病菌の胞子発芽と付着器形成を調査した。胞子発芽率は蒸留水区では $89.2 \pm 6.1\%$ 、IF1 処理区の 1×10^6 では $86.1 \pm 8.5\%$ 、 5×10^6 では $88.9 \pm 6.6\%$ 、及び 1×10^7 では $85.7 \pm 6.8\%$ であった。蒸留水区と比較して IF1 処理による胞子発芽への影響は観察されなかった。しかし、付着器形成率においては、蒸留水区では $71.2 \pm 27.1\%$ 、IF1 処理区 1×10^6 では $11.0 \pm 17.5\%$ 、 5×10^6 では $4.4 \pm 7.2\%$ 、及び 1×10^7 では $1.3 \pm 3.4\%$ であった。以上のように、蒸留水区では付着器形成率が 70% 以上であったが、IF1 処理では約 10% 以下にまで低下していた。さらに、IF1 及びイネいもち病菌の胞子混合懸濁液をタマネギ鱗片に滴下接種し、イネいもち病菌の侵入菌糸形成率を調査した。その結果、蒸留水区では $61.7 \pm 15.6\%$ であったのに対して、IF1 処理区の 1×10^6 では $30.4 \pm 19.6\%$ 、 5×10^6 では $14.2 \pm 10.0\%$ 及び 1×10^7 では $16.8 \pm 15.4\%$ となり、著しく侵入が抑制された。

IF1 の混合接種がイネいもち病菌の病斑形成に及ぼす影響

IF1 とイネいもち病菌の胞子混合懸濁液をイネに接種した時の病斑形成について調査した。その結果、1 個体あたりの病斑数は、蒸留水区では 31.4 ± 21.7 となり、IF1 (5×10^6 spores/ml) 処理区では 10.5 ± 9.6 であった。対照区と比較して、IF1 とイネいもち病菌を混合接種した区では病斑数が約 70% 抑制された。

IF1 の前接種がイネいもち病菌の病斑形成に及ぼす影響

IF1 (5×10^6 spores/ml) を予めイネ体に前接種し、菌接種 7 日後にイネいもち病菌を接種して病斑数を 7 日後に調査した。その結果、蒸留水区の病斑数は 28.0 ± 19.7 個であったのに対して IF1 処理区では 12.8 ± 10.3 個となり、蒸留水処理区と比較して IF1 処理区では、約 50% 病斑数

が減少した。

考 察

今回、分離した糸状菌 (IF1) のイネいもち病菌に対する抑制効果を調査した。その結果、IF1 はスライドガラス上においては混合接種したイネいもち病菌の胞子発芽に影響を与えなかったが、発芽管の周りに付着し、イネいもち病菌の付着器形成を抑制した。さらに、タマネギ鱗片を用いた実験により、侵入菌糸の形成も抑制することが明らかになった。このことは IF1 がイネいもち病菌に直接作用しているもしくは抗菌物質などの物質を放出して抑制している可能性を示した。さらに、イネ体を用いた実験により IF1 の存在によりイネいもち病菌による病斑形成が著しく抑制されることが明らかになった。今後、詳しく抑制機構を明らかにする必要があるが、今回分離した IF1 がイネいもち病菌に対する防除資材となりうる可能性が示された。

引用文献

- 荒瀬栄・藤田和代・近藤一美 (1990) いもち病菌によるソラマメ赤色斑点病の交叉防御。島根大学農学部研究報告, 24: 47-51.
- 百町満朗 (2003) 拮抗微生物による作物病害の生物防除—我が国における研究事例・実用化事例。245pp. 全国農村教育協会, 東京。
- 百町満朗・對馬誠也 (2009) 微生物と植物の相互作用—病害と生物防除—。240pp. ソフトサイエンス社, 東京。
- 田口義広・百町満朗・堀之内勇人・川根太 (2003) *Bacillus subtilis* IK-1080 によるイネいもち病の生物防除。日植病報, 69: 85-93.