

トリコデルマ菌の土壤病原菌に対する拮抗現象とその防除効果

松本 卓生・孫工弥寿雄・中嶋 大地 (株式会社 生科研 研究開発部)

The antibiotic mechanism and effect of control on soil-borne disease by *Trichoderma* sp. Takuo MATSUMOTO, Yasuo SONKU and Daichi NAKAZIMA (Seikaken, CO., LTD., Nishihara-mura, Aso-gun, Kumamoto 861-24)

土壤病害の防除対策は、生態的防除法を基幹とし、それに物理的又は化学的な防除法を組み合わせた総合防除が必要とされる。生態的防除法には生物的又は耕種の防除法、抵抗性利用等が含まれるが、生物的防除は病原菌に拮抗的に働く微生物を利用して病害を防除しようとする試みであり、自然界における生態系を極端に破壊することなく防除することが可能で、今後、生態的な防除法の一環として総合防除の重要な一翼をになうものと考えられている。

今回は、拮抗菌の一種である *Trichoderma* 菌を用いて土壤病原菌に対する拮抗現象の解明及び防除試験を試みたので報告する。

試験にご協力いただいた熊本農試の古賀成司参事に対し感謝の意を表する。

1. トリコデルマ菌の拮抗性に関する研究史

生物的防除に関する研究は1935年 ALLEN ら¹⁾がキュウリとエンドウの *Pythium* spp. と *Rhizoctonia solani* の病原菌に対して *Trichoderma* spp. を使った研究が最初であり、それ以来多くの研究が行われて来た^{6, 8)}。又、対象作物と病害についてはナス科の *Sclerotium rolfsii* と *Rhizoctonia solani* が最も多く供試されてきた⁸⁾。日本では1966年に大島³⁾がタバコ白絹病防除に *Trichoderma lignorum* を使ったのが *Trichoderma* 菌による病害防除試験の最初で、この種の論文数は外国に比べると少ない。*Trichoderma* 菌の拮抗機構について BRIAN ら²⁾は *T. viride* の生産する拮抗性毒素である gliotoxin を抽出し、これは細菌、放線菌、糸状菌などに抗菌性があることを報告した。HADAR ら⁴⁾は *T. harzianum* が *R. solani* の菌糸に対して glucanase 及び chitinase を産生し、インゲン、トマト、ナスの苗立枯病を効果的に防除することを報告した。また、ELAD ら⁵⁾は *T. harzianum* が *Sclerotium rolfsii* や *R. solani* の菌糸に寄生して溶解し、インゲンの病害

の発生を減少させたこと、大島³⁾は、*T. lignorum* のタバコ白絹病菌に対する拮抗作用として寄主の菌糸がじゅず玉状に肥大し、先端がふくらみ生長が阻止されている状態を観察している。

2. トリコデルマ菌の拮抗現象と拮抗性の評価

1) *Trichoderma* 菌による拮抗現象

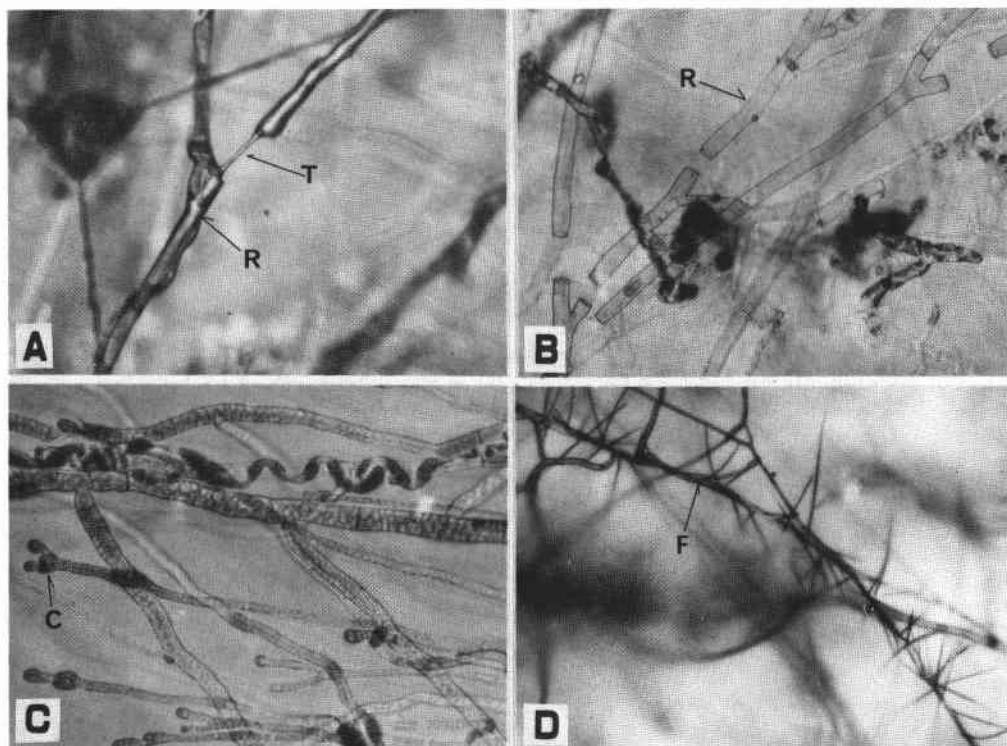
Trichoderma 菌群は不完全菌類の一群とされているだけで、明確な種レベルの分類は少数の種を除いては行われていない。現在は RIFAI⁷⁾ が設けた *Trichoderma viride* など9類型区分名が一般化している。さらに、*Trichoderma* 属菌には多くの種があり、また種の中にも数えきれないほどの多くの生態種があると推定される。その中から強拮抗性の菌株を選択することが重要であると考えられる。そこで今回は、日本の南北を代表して関東の山梨県(モモ白紋羽病)、九州の鹿児島県(キク白絹病)、熊本県(ホウレンソウ苗立枯病)などから病土を採取し検討した。まず、ストレプトマイシンを含んだ糸状菌分離選択培地で単一種の *Trichoderma* 菌の分離を行った。

第1表 各地の病土から分離したトリコデルマ菌株数

採集地	採集年月日	分離源	菌株数
鹿児島県	1987.08.25	マメ類の白絹病	7
鹿児島県	1988.08.25	キク白絹病	30
山梨県	1988.11.20	モモ白紋羽病	30
熊本県	1987.06.13	ホウレンソウ苗立枯病	4
熊本県	1987.06.02	メロンつる割病	5
熊本県	1986.11.04	ナシ白紋羽病	3
福岡県	1988.10.03	ウメ白紋羽病	6
和歌山県	1988.06.20	ウメ白紋羽病	6
栃木県	1987.06.10	ホウレンソウ苗立枯病	3

昭和61年から昭和63年の3年間に約100菌株の *Trichoderma* 菌を分離収集した。

収集したトリコデルマ菌株を用いて *Rhizoctonia solani*,



第1図 トリコデルマ菌株による各病原菌の形態異常の観察

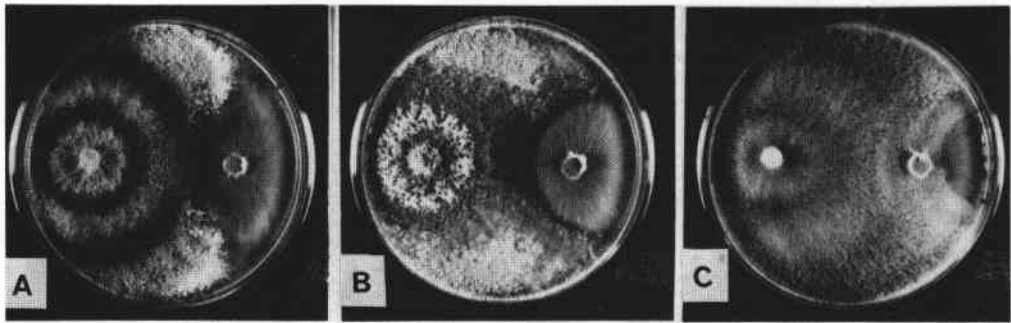
A てん絡及び切断を起こした *R. solani* の菌糸 C 先端細胞が肥大した *C. rolfsii* の菌糸
 B 切断された *R. solani* の菌糸細胞断片 D *F. oxysporum* の菌糸周囲に析出した針状結晶
 T: *Trichoderma* sp., R: *Rhizoctonia solani*, C: *Corticium rolfsii*, F: *Fusarium oxysporum* の菌糸を示す。

Fusarium oxysporum などの土壌病原菌と対峙培養を行い、接触部分の菌糸の形態変化を光学顕微鏡および走査型電子顕微鏡（以下 SEM と略）で観察した。まず、*Rhizoctonia solani* の気中菌糸に対しては *Trichoderma* 菌がコイル状の菌糸を出して密着し、宿主の菌糸を褐変させるタイプや *Trichoderma* 菌がコイル状に巻き付き細胞隔壁を切断溶解するタイプが観察された（第1図A）。これを SEM で観察すると、切断された所に溶菌現象で起きたと考えられる細胞の一部が糸状に残っているのが観察された。これらの観察は ELAD ら³⁾の結果とほぼ同じであった。その他では、培地中菌糸に対してはてん絡タイプのもは観察されなかったが細胞隔壁で切断された多くの細胞断片が観察された（第1図B）。一方、*Corticium rolfsii* に対しては大島³⁾が観察したのと同様な宿主の菌糸がじゅず玉状に肥大している像や、コイル状にからんでいる像が観察された（第1図C）。また、*Fusarium oxysporum* に対しては直接寄生している像は観察できなかったが、宿主の菌糸周囲に針状結晶の析出しているのが観察された（第1図D）。このように *Trichoderma* 菌

が対象病原菌により宿主の菌糸を切断したり、じゅず玉状に肥大させたりすることは、拮抗性の細菌や放線菌が対象病原菌に対して阻止帯を作るのと異なる現象であり、強拮抗性の *Trichoderma* 菌を選抜するときの指標になるものと考えられる。

2) *Trichoderma* 菌の拮抗性の評価

収集した *Trichoderma* 菌50菌株と *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Corticium rolfsii* など9種類の主要な土壌病原菌に対する対峙培養にて拮抗性を観察しそれらの阻止円の形態をⅠ（A）、Ⅱ（B）、Ⅲ（C）及びⅣ（O）の4タイプに分類し、拮抗性の評価を行った。タイプⅠ（A）：病原菌の伸長を阻止する。タイプⅡ（B）：病原菌の伸長を阻止し、接触部分で褐変を起こす。タイプⅢ（C）：病原菌のコロニーへ抵抗を受けずに簡単に侵入する。タイプⅣ（O）：病原菌が *Trichoderma* 菌に侵入する。以上の中から強拮抗菌としてタイプⅠ、Ⅱ、Ⅲを選抜した。*Corticium rolfsii* に対する *Trichoderma* 菌の選抜結果では、強拮抗菌として T-16, 30, 34, 37, 40, 41, 43, 44, 46, 47, 48, 50の12菌株



第2図 トリコデルマ菌の病原菌に対する抵抗力評価の分類

- A 病原菌の伸長を阻止する(タイプI) B 接触部分で複変を起こす(タイプII)
- C 病原菌のコロニーへ抵抗を受けず侵入する(タイプIII)

注)各対峙培養の左のコロニー: *Trichoderma* sp., 右のコロニー: *Fusarium oxysporum*

第2表 白絹病菌に対するトリコデルマ菌株の拮抗性

菌株番号	拮抗性 ¹⁾	菌株番号	拮抗性 ¹⁾
T01	O	T26	O
02	O	27	O
03	O	28	none
04	O	29	O
05	O	30	II
06	O	31	O
07	O	32	O
08	O	33	O
09	O	34	III
10	O	35	O
11	O	36	O
12	O	37	III
13	O	38	O
14	O	39	O
15	O	40	I
16	II	41	III
17	O	42	O
18	O	43	III
19	O	44	I
20	O	45	O
21	O	46	III
22	O	47	III
23	O	48	III
24	O	49	O
25	O	50	III

1) PSA 培養上で25℃, 7日間の対峙培養を行い拮抗性を調査した。

- I : 白絹病菌の伸長を阻止する。
- II : 白絹病菌の伸長を阻止し、接触部分が着色する。
- III : トリコデルマ菌が白絹病菌に侵入する。
- O : 白絹病菌がトリコデルマ菌に侵入する。

が選抜された。供試した9種類の土壌病原菌に対する生育阻害はどの病原菌に対しても生育阻害のないものから、5種類の病原菌に対して阻止効果のあるものなど *Trichoderma* 菌株の拮抗能力はスペクトラムが広い菌株から狭い菌株までであることが認められた。

3. トリコデルマ菌による土壌病害防除効果試験

対峙培養で選抜した *Trichoderma* 菌製剤 (アルギン酸カルシウムで固定) を用いてメロンつる割病に対する防除試験を行った。まず、無殺菌の供試土壌にフスマ培養したメロンつる割病菌を2.5%になるように土壌混和して病土とした。次に *Trichoderma* 菌製剤を病土に対して0.5%となるよう土壌混和し1週間後に、本葉4~5葉期のアールスメロン '丸池3号' を定植した。試験は4本のメロン苗を定植した7寸のポリポットを用い、1試験区当たり4ポットを使用した。

メロンの発病株率の推移を数日間隔で調査した結果、定植後19日目で *Trichoderma* 菌を処理しない対照区は発病株率が88%に対して *Trichoderma* 菌混和区はT-12で31%, T-30で38%を示し、メロンつる割病に対する *Trichoderma* 菌製剤の防除効果が認められた (第3図)。

摘 要

1) 日本の南北を代表して関東の山梨県 (モモ白紋羽病)、九州の鹿児島県 (キク白絹病) などから病土を採取し約100菌株の *Trichoderma* 菌を分離、収集した。

2) *Trichoderma* 菌による土壌病原菌の菌糸の形態変化を光学顕微鏡、走査型電子顕微鏡で観察した結果、*Rhizoctonia solani* に対しては *Trichoderma* 菌がコイル状の菌糸を出して密着し、宿主菌糸を褐変させるてん絡タイプ、宿主菌糸の細胞隔壁で切断する切断タイプ、*Corticium rolfsii* に対しては宿主菌糸の先端細胞が肥大する先端肥大タイプ、また、*Fusarium oxysporum* に対しては宿主菌糸周囲に針状結晶を析出しているのが観察された。

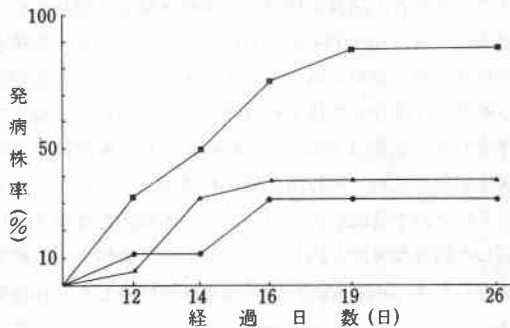
3) *Trichoderma* 菌の拮抗性の評価を対峙培養によりコロニー形態別に分類した。タイプI : 病原菌の伸長を阻

第3表 重要土壌病害に対し抑止力を持つ拮抗性トリコデルマ菌株とその番号一覧表

病原菌	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
白紋羽病 R8																○									
白紋羽病 R26																○									
ハクサイ黄化病								○				○	○											○	
ナス半身萎ちょう病								○				○	○						○					○	
ソラマメ白絹病																○									
ホウレンソウ立枯病		○	○							○		○				○							○	○	
ホウレンソウ株腐病		○				○			○							○							○		
トマト萎ちょう病		○	○						○	○	○	○	○												
キュウリつる割病		○	○	○	○					○			○												

病原菌	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
白紋羽病 R8				○	○	○				○	○	○				○						○			
白紋羽病 R26				○	○					○	○	○				○									
ハクサイ黄化病																									
ナス半身萎ちょう病																									
ソラマメ白絹病						○				○		○				○		○	○		○	○	○		○
ホウレンソウ立枯病				○	○																				
ホウレンソウ株腐病		○			○					○		○													
トマト萎ちょう病																									
キュウリつる割病																									

注) ○印は拮抗性の認められた菌株を示す。



第3図 メロンつる割病に対するトリコデルマ菌製剤の防除効果

■—■：対照区 ▲—▲：T-30
●—●：T-12

止する。タイプⅡ：病原菌の伸長を阻止し、接触部分で褐変を起こす。タイプⅢ：病原菌のコロニーへ阻止を受けずに簡単に侵入する。その他病原菌が *Trichoderma* 菌に侵入するものをタイプⅠとした。この中で強拮抗菌としてタイプⅠ, Ⅱ, Ⅲを選抜した。

4) 9種類の土壌病原菌に対して50種類の *Trichoderma* 菌の拮抗性を評価した結果, *Trichoderma* 菌の菌株間に拮抗能力のスペクトラムの広い菌株, 狭い菌株のあることが認められた。

5) *Trichoderma* 菌を製剤化してメロンつる割病の防除試験を行った結果, *Trichoderma* 菌製剤による明らかな防除効果が認められた。

引用文献

- 1) ALLEN, M. C. and HAENSELER, C. M. (1935) *Phytopathology* 25 : 244-252.
- 2) BRIAN, P. W. and HEMMING, H. G. (1945) *Ann. Appl. Biol.* 32 : 214-220.
- 3) ELAD, Y., CHET, I. and HENIS, Y. (1981) *Plant and Soil* 60 : 245-254.
- 4) HADAR, Y., CHET, I. and HENIS, Y. (1979) *Phytopathology* 69 : 64-68.
- 5) 大島俊市 (1966) 岡山たばこ試験場報告 27 : 1-43.
- 6) PAPAIVIZAS, G. C. (1985) *Ann. Rev. Phytopathol.* 23 : 23-54.
- 7) RIFAI, M. A. (1969) *Mycol.* 116 : 56.
- 8) 渡辺直道 (1987) 農及園 62 : 37-43.

(1989年5月8日 受領)