

Rhizoctonia solani によるハクサイしり腐病と イチゴ芽枯病に対する生物防除

申 東範¹⁾・小林 紀彦²⁾・築尾 嘉章²⁾・池田 弘³⁾

(¹⁾韓国嶺南作物試験場, ²⁾野菜・茶業試験場久留米支場, ³⁾福岡県総合農業試験場)

Biological control of chinese cabbage bottom rot and strawberry bud rot caused by *Rhizoctonia solani*. Dong Bum SHIN¹⁾, Norihiko KOBAYASHI²⁾, Yoshiaki CHIKUO²⁾ and Hiroshi IKEDA³⁾ (¹⁾ Yeongnam Crop Experimental Station, Yeongnam, Korea, ²⁾ Kurume Branch, National Research Institute of Vegetables, Ornamental Plants and Tea, Kurume, Fukuoka 830, ³⁾ Fukuoka Agriculture Research Center, Yoshiki Fukuoka 812)

Rhizoctonia isolates from strawberry were characterized for optimum temperature of mycelial growth, nucleus number and anastomosis group. Biological control of chinese cabbage bottom rot and strawberry bud rot caused by *Rhizoctonia solani* AG2-1 were also tested using antagonistic microorganisms from soil. One multinucleate isolate (Stw001) was identified as *R. solani* AG4 by anastomosis analysis and nuclei staining. Three others binucleate isolates (Stw002, 3, 4) were identified as *Rhizoctonia* spp. Optimum temperature of mycelial growth of Stw-001, 002, 003, 004 and Rf1-0 was between 28-30°C, and AG2-1 was 23°C. Stw001 and AG2-1 were pathogenic to chinese cabbage and strawberry. Sixty two microorganisms (167 isolates) inhibited mycelial growth of *R. solani* AG2-1 and AG4, and two isolates (Kr013 and Kr020) of 68 antagonistic microorganisms had a suppressive effect on disease development of chinese cabbage bottom rot and strawberry bud rot caused by *R. solani* AG2-1 or AG4 when applied as a seed treatment or as a planting hole treatment with a charcoal carrier.

韓国において、トウガラシとハクサイはキムチを生産する主要な作物である。韓国の嶺南地域では水稲後作の施設栽培作物としてイチゴとハクサイが導入されている。しかし、これらの作物の栽培中に *Rhizoctonia solani* によるハクサイしり腐病やイチゴ芽枯病が多発し、大きな被害を及ぼしている。筆者らは、施設栽培のイチゴから分離された *R. solani* 菌株の生理的特性、菌糸融合群を調査し、併せてハクサイしり腐病とイチゴ芽枯病に対する生物防除試験を行ったので、その結果を報告する。なお、本試験のため標準菌株を分譲して頂いた北海道大学生越 明先生に深く謝意を表する。

材 料 と 方 法

1. イチゴ分離菌株の生育温度と菌糸融合群

イチゴから分離された *Rhizoctonia* 6 菌株(福岡総農試保存 4 菌株: Stw001-4, 野菜・茶業試験場久留米支場病害研究室保存 1 菌株: Rf1-0, 北海道大学保存 1 菌株: AG2-1)

を供試した。

a) 温度の影響: 各供試菌株を PSA (Potato Sucrose Agar) 培地に培養して 3 日後にコルクボーラで菌叢 5 mm のデスクを作り 9 cm ペトリ皿に流しこんだ PSA 培地中央に移植した。それらを 10, 15, 20, 25, 28, 30 および 33°C の定温器で培養し、3 日後の菌叢直径を測定した。以上の試験は 3 反復で行った。

b) 供試菌株の菌糸融合群: 供試菌株と北海道大学標準菌 12 菌株をニュークリオポアーフィルム上の素寒天培地で対峙培養し、1~2 日後に菌糸融合の有無を顕微鏡で調査した。また、供試菌株の菌糸細胞内の核は HCl-ギムザ法によって染色し、菌糸の細胞内の核数を観察した。

2. 供試菌株の病原性

イチゴ 3 品種 (とよのか, ドーバー, 宝交早生) のランナーに供試菌株の菌叢を針接種して、湿度を保ったプラスチックケースに入れ、25°C で保存し、病原性を調査した。また、イチゴ 3 品種とハクサイ (錦将) 子苗のク

ラウンにも同様に接種し、温室におき、病原性の有無を毎日調査した。

3. 生物防除

a) 拮抗微生物の選抜

野菜・茶試久留米支場病害研究室に保存されていた土壌微生物167菌株を25°C, PSA培地で供試病原菌 (*Rhizoctonia solani* AG2-1 および AG4) との対峙培養により、病原菌の菌糸生育を抑制する微生物を選抜した。

b) ハクサイしり腐病に対する生物検定 (ポット試験)

供試病原菌2菌株 (*R. solani* AG2-1, Stw-001) をジャガイモ-土壌培地 (ジャガイモ5mm角片200gを1,000mlの土壌に混和後オートクレープ殺菌) で培養した。培養10~14日後に、その培地を風乾し、2~5mmの篩で篩って接種源とした。その接種源を殺菌土壌に1.0%の割合で混和し、汚染土壌を作成した。対峙培養で選抜した40菌株の拮抗微生物を Yeast-Maltose 液体培地で1週間培養し、それらの懸濁液に本葉2葉の水洗したハクサイ根を2~3分間浸漬した。また、これらを移植する汚染土壌の植穴には各拮抗微生物を固定した炭粒を3mlずつ処理し、移植後、余った拮抗微生物懸濁液を、さらに2mlずつ植穴に灌注した。その後、温室で保存し、発病経過を毎日調査した。

c) ハクサイしり腐病に対する拮抗微生物の種子処理による生物防除 (ポット試験)

生物検定で防除効果の高かった拮抗微生物 Kr013, 020, 043および079を Yeast-Maltose 液体培地に1週間培養し、その懸濁液にハクサイ (錦将) の種子を25°C, 24時間浸漬した。浸漬したハクサイ種子を病原菌 (*R. solani* AG2-1) の1.0%汚染土に直播し、温室で発病経過を調査した。

d) チゴ芽枯病に対する生物防除

拮抗微生物, Kr013, 020, 043および079を Yeast-Maltose 液体培地で、1週間培養し、その懸濁液を炭粒に固定し、その炭粒を5mlずつ10%の汚染土壌の植穴に処理してイチゴを移植した。

結 果

1. イチゴ分離菌株の菌糸生育に対する温度の影響

供試菌株の菌糸生育に対する温度の影響を Fig. 1 に示した。AG2-1 の最適生育温度は23°C付近にあり、Stw-001, 003, 004は28°Cであった。また、Stw002 と Rf1-0 は他の菌株の生育適温より高く、30°C付近が最適生育温度であった。

2. 供試菌株の菌糸融合群

供試菌株の菌糸融合群の解析は供試菌株と標準菌, 12

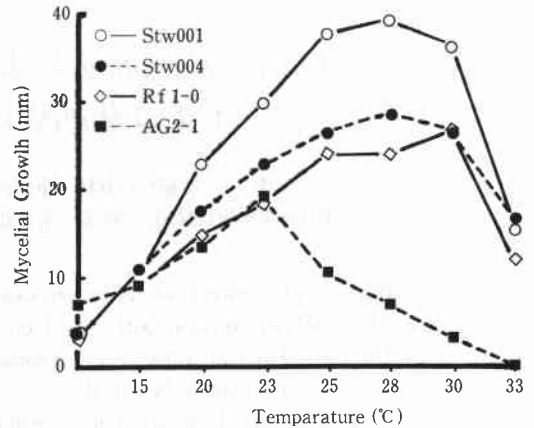


Fig. 1. Effect of temperature on hyphal growth

Table 1. Anastomosis group and nuclei number of mycelial of *Rhizoctonia* sp. isolates from strawberry

Isolates	No. of nucleate	Anastomosis group
Stw001	5-8	AG4
Stw002	2	binucleate <i>Rhizoctonia</i> sp.
Stw003	2	binucleate <i>Rhizoctonia</i> sp.
Stw004	2	binucleate <i>Rhizoctonia</i> sp.

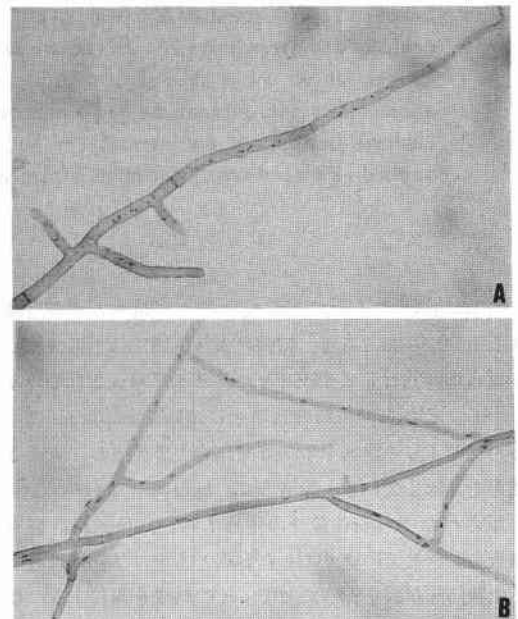


Fig. 2. Nuclei in vegetative hyphae of *Rhizoctonia* sp. isolates from strawberry.

A: multinucleate of Stw002, B: binucleate of Stw002

菌株との対峙培養によって検討した。その結果、Stw001は *Rhizoctonia solani* AG4-HG1 と不完全融合して AG4 に属し、多核であった。一方、Stw002, 003, 004は2核を有する2核 *Rhizoctonia* であった (Table 1, Fig. 2)。

Table 2. Pathogenicity of *Rhizoctonia* spp. isolates to chinese cabbage and strawberry

Isolates	Chinese cabbage		Strawberry				
	Kinsho	Toyonoka		Dover		Hokowase	
		A ^{a)}	B ^{b)}	A	B	A	B
Stw-001	+	+ ^{c)}	- ^{d)}	-	-	+	-
Stw-002	-	-	-	-	-	-	-
Stw-003	+	-	-	-	-	-	-
Stw-004	-	+	-	-	-	-	-
Rf1-0	-	-	-	-	-	+	-
AG2-1	+	+	* ^{e)}	-	** ^{f)}	+	*

- a) Stem of runner inoculated with a niddle injury, and kept at 25°C in a moisture chamber
 b) Bud inoculated, and kept in green house
 c) Pathogenicity d) Non pathogenicity
 e) Bud rot f) Bud rot and die

3. 供試菌株の病原性

供試菌株のハクサイ（錦將）とイチゴに対する病原性を検討したところ、Stw001はハクサイとイチゴのとよのか、および宝交早生のランナーに病原性を示した。一方、AG2-1はハクサイと、イチゴのとよのか、宝交早生のランナーに病原性を示した。また、茎頂接種するとよのか、ドーバー、宝交早生に芽枯病の病徴が現われた (Table 2)。

4. 生物防除

a) 拮抗微生物のスクリーニング

野菜・茶試久留米支場病害研究室保存の土壌微生物167菌株中、ハクサイしり腐病とイチゴ芽枯病の病原菌である *R. solani* AG2-1 に対して拮抗作用を示した菌株は68菌株あり、*R. solani* AG4 (Stw001) に対しては63菌株が優れた拮抗作用を示した。このうち、両方の病原菌に対し拮抗作用を示した微生物は62菌株であった。

b) ハクサイしり腐病に対する拮抗微生物の生物検定 (ポット試験)

ハクサイの錦將とオレンジクイーン の 2 品種を用い、また、拮抗微生物は40菌株を選抜して病原菌である AG2-1 と AG4 (Stw001) に対する生物防除効果と生育阻害を根浸漬接種法で検討した。両品種とも対照区は100%の枯死株率を示したのに対し、Kr013 および Kr020 処理区は処理後20日でもそれぞれ33.3%と0%の発病株率で顕著な防除効果が認められた (Table 3)。

c) 拮抗微生物の種子処理によるハクサイしり腐病の生物防除

生物検定で顕著な防除効果を示した拮抗微生物、Kr013 および Kr020 の培養液にハクサイの種子を24時間浸漬して、1.0%病原菌汚染土壌に直播した。その結果、処理後15日においても Kr013 および Kr020

Table 3. Suppressive effect of antagonistic isolates to *R. solani* AG2-1, AG4 (Stw001) on chinese cabbage seedlings of two varieties in a greenhouse

Antagonistic isolates	<i>R. solani</i> AG2-1				<i>R. solani</i> AG4 (Stw001)			
	Kinsho		Orange queen		Kinsho		Orange queen	
	10	20	10	20	10	20	10	20 (days)
Kr011	0/3	0/3 ^{a)}	0/3	0/3	2/3	2/3	2/3	1/3
Kr013	2/3	1/3	3/3	3/3	3/3	3/3	2/3	2/3
Kr018	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	2/3	0/3	0/3
Kr020	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
Kr025* ^{b)}	0/3	0/3	0/3	0/3	1/3	1/3	0/3	0/3
Kr043	0/3	0/3	0/3	0/3	1/3	0/3	0/3	0/3
Kr049*	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	2/3	0/3	0/3
Kr079	0/3	0/3	0/3	0/3	2/3	1/3	0/3	0/3
Kr089	0/3	0/3	0/3	0/3	1/3	1/3	1/3	0/3
Kr099	0/3	0/3	0/3	0/3	2/3	2/3	1/3	1/3
Kr116	0/3	0/3	0/3	0/3	2/3	2/3	3/3	3/3
Kr121	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	3/3	3/3	2/3
Kr132	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	2/3	3/3	3/3
Kr138	0/3	0/3	0/3	0/3	2/3	2/3	3/3	3/3
Kr143	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	2/3
Kr149*	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Kr163	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	2/3	3/3	3/3
Control	0/3	0/3	0/3	0/3	2/3	0/3	0/3	0/3

a) No. of surviving plants, b) Inhibition of plant growth

Table 4. Suppressive effect of antagonistic isolates to chinese cabbage bottom rot disease caused by *R. solani* AG2-1 by seed treatment

Isolates	No. of emergence (plants/10 seeds)					
	5 ^{a)}	7	9	10	12	15
Kr013	3	4	3	2	2	2
Kr020	5	8	7	6	4	4
Kr043	1	0	0	0	0	0
Kr079	1	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0

a) Days after treatment

Table 5. Suppressive effect of antagonistic isolates to strawberry bud rot disease caused by *R. solani* AG2-1 on strawberry seedlings in a greenhouse

Antagonistic isolates	Days after treatment				
	3	5	7	10	15
Kr013	3/3 ^{a)}	3/3	3/3	3/3	3/3
Kr018	3/3	2/3	1/3	0/3	0/3
Kr020	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
Kr043	3/3	3/3	1/3	0/3	0/3
Kr079	3/3	2/3	0/3	0/3	0/3
Control	3/3	2/3	0/3	0/3	0/3

a) No. of surviving plants

処理区はそれぞれ供試個体10株のうち、それぞれ2株と4株が最終発病調査時まで生存し、優れた発病抑制効果を示した (Table 4)。

d) イチゴ芽枯病に対する生物防除

イチゴ芽枯病に対する防除効果を検討した結果、ハクサイしり腐病と同様、移植後15日でも Kr013 および Kr020 処理区は地際部の枯死が認められず、優れた発病抑制効果が認められた (Table 5)。

考 察

Rhizoctonia solani は多犯性で、宿主植物の地際部や地下部を侵することが多い。また、*Rhizoctonia* 属菌には多核菌と2核菌が存在する。多核菌は *R. solani* のみであるが、2核菌には多くの種が知られている。*R. solani* は菌糸融合群によって分類でき、同一菌群内の菌株は相互に菌糸融合するが、他の群の菌株とは融合しない。また、菌糸融合には同一菌株の完全融合と異種菌株との不完全融合があり、同一菌群でも生態的にみるとアブラナ科低温系 (*R. solani* AG2) とイグサ科枯病系および根腐病系に分かれる^{15,17)}。一方、2核 *Rhizoctonia* も菌糸融合群によって分類することができる。イチゴ根腐病 *Rhizoctonia candida* AG-A, *R. fragariae* は AG-G と AG-1 に属すると報告されている¹⁶⁾。Herr *et al.*⁹⁾ はレタスしり腐病罹病株から AG2-1, AG1-IB, AG1-IG, AG4, AG5 ならびに2核 *Rhizoctonia* 菌が分離されることを報告している。また、Martin *et al.*¹³⁾ はイチゴの罹病根から *Rhizoctonia* 菌を分離した場合、2核 *Rhizoctonia* 菌の分離頻度が *R. solani* AG5 よりも高いことを示している。さらに、これらの2核 *Rhizoctonia* 菌を菌糸融合群で分けると、AGA, AGG, AGI の3群になるとしている。本研究で使用した Stw001 は多核で、菌糸融合群は AG4 に属した。他の菌株 Stw002, 003, 004 は2核 *Rhizoctonia* 菌であった。また、各菌株の菌糸生育適温をみると、AG2-1 は23°C の低温性であり、Stw001, 002, 003, 004 と Rf1-0 は28~30°C の高温性菌であった。生物検定に供試した AG2-1 と AG4 (Stw001) はハクサイの子苗やイチゴのランナーと芽に対して病原性を示した。

Rhizoctonia solani に対する生物防除は *Trichoderma* 属菌の利用をはじめとして古くから多くの研究がなされている。*Trichoderma* 菌を生物 agent として利用した生物防除をみると、その発病の抑制機構として、まず病原菌の菌糸に *Trichoderma* 菌が寄生し、細胞壁に穴を開けて菌糸内部の栄養を奪うことにより菌糸が崩壊していくことが知られている。このような菌糸溶解は病原菌の密度を低下させ、発病を軽減する主要な要因であると説明されて

きた。しかし、最近、拮抗微生物の生育を促進することも認められている³⁾。

その他の生物的な防除方法として、2核の *Rhizoctonia* 菌を利用したベントグラスのブラウンパッチの防除¹¹⁾ およびインゲン苗立枯病の防除²⁾ ならびに非病原性 *Rhizoctonia* 菌を利用したワタ、ダイコン、コムギ (*R. solani*) の苗立枯病の発病抑制も報告されている⁷⁾。

さらに、これらの拮抗微生物を土壤中で定着させ、作物根菌で安定した防除効果を発揮させるためには、拮抗微生物をしっかりと固定、増殖させる carrier (媒体) の選抜が重要となる。拮抗微生物である *Bacillus subtilis* や放射菌を炭粒で固定、増殖させた炭粒コンポストはキュウリ苗立枯病 (病原菌: *Rhizoctonia solani*, *Pythium splendens*) に顕著な防除効果を示し⁹⁾、また、8種類の拮抗微生物を混合したパーク堆肥の微生物資材はワタ苗立枯病 (病原菌: *R. solani*) の生物防除に有効であることも報告されている¹⁰⁾。

本試験でも培地上で優れた拮抗作用を示した拮抗微生物 Kr013 と Kr020 を炭粒に固定して、ハクサイしり腐病の汚染土壌の植穴に処理すると顕著な発病抑制効果を示した。また、これらの培養液にハクサイの種子を24時間浸漬して汚染土壌に直播しても、同様に発病抑制効果が認められた。さらにイチゴ芽枯病汚染土壌の植穴に本資材を処理し、イチゴ苗を移植すると、ハクサイしり腐病の場合と同様、優れた生物防除効果を示した。しかし、これらの効果はポットでの試験結果であり、今後、実用場面での検討が必要である。

広大な圃場における生物防除では簡便な処理方法が必要とされ、メチルセルロースなどで種子をコートしたり¹²⁾、拮抗微生物の懸濁液にゲルを混合し、直接ドリル処理する方法などが試みられているが¹⁴⁾、これらの方法でも優れた効果が示されている。とくに、彼ら¹⁴⁾は、これらによる生物防除の効果は1ha当たり PCNB を5.3kg処理したよりも高いと報告しており、その機構は拮抗微生物の寄生によるものでないとしている。さらに、生物防除の効果を安定させるために、農業との併用による防除法についても検討されている¹¹⁾。

以上述べてきたように、*Rhizoctonia* 病に対する生物防除の試みは様々になされているが、有用微生物を agent にする生物防除は化学農業ほど安定した高い防除効果を示す例は少ない。たとえ、優れた生物防除でも地域や作物によって効果に振れが見られる。今後、農業生態系を安全に維持して作物を栽培していくには、微生物資材による生物防除、耕種の防除法ならびに化学的防除法等を組合わせたより高度な技術を開発し、化学農業への依存

度を少しでも軽減するような努力が必要と考えられる。

また、生物防除法の効果を安定させるためには、発病抑制土壌の抑制機構で解明された知見、例えば *R. solani* の抑止土壌でアルミニウム含量が高いこと⁸⁾ や特異的な微生物が関与していること^{5,6)} などをうまく活用した土壌管理や耕種の防除も加味して生物防除の効果を安定化させる必要がある。

摘 要

施設栽培イチゴから分離した *Rhizoctonia spp.* の4菌株中、Stw001は *Rhizoctonia solani* AG4であり、他の菌株(Stw002, 003, 004)は2核 *Rhizoctonia spp.* であった。AG2-1の生育適温は23℃付近であり、Stw001, 002, 003, 004ならびにRf1-0は28~30℃付近であった。また、Stw001(AG4)とAG2-1はハクサイとイチゴに病原性を示した。土壌から分離した土壌微生物167菌株のうち、*R. solani* AG2-1とAG4の両者に対する拮抗微生物62菌株を選抜した。それらの拮抗微生物のうち、Kr0136とKr020の2菌株は *R. solani* AG2-1とAG4によるハクサイしり腐病ならびにイチゴ芽枯病に対して優れた発病抑制効果を示した。また、これらの拮抗微生物の培養液にハクサイ種子を浸漬し、汚染土壌に直播しても同様な効果が認められた。さらに、拮抗微生物を炭粒に固定し、汚染土壌の植穴に処理した後イチゴ子苗を移

植すると、イチゴ芽枯病に対しても優れた生物防除効果を示した。

引 用 文 献

- 1) Burpee, L. L. and Goult, L. G. (1984) *Phytopathology* **74** : 692-694.
- 2) Cardoso, J. E. and Echandi, E. (1987) *Phytopathology* **77** : 1548-1551.
- 3) Chet, I. (1987) in "Innovative Approaches to plant disease control" (Chet Ilan ed) John Wiley & Sons, pp. 137-160.
- 4) Herr, L. J. (1992) *Phytopathology* **84** : 1046-1050.
- 5) 百町満朗・山本好伸・宇井格生 (1983) 日植病報 **49** : 18-21.
- 6) 百町満朗・宇井格生 (1984) 日植病報 **50** : 255-262.
- 7) Ichievich-Auster, M., Sneh, B. and Barash, I. (1985) *Phytopathology* **75** : 1080-1084.
- 8) Kobayashi, N. and Ko, W. H. (1985) *Trans. Brit. mycol. Soc.* **84** : 691-694.
- 9) 小林紀彦 (1989) 日植病報 **55** : 509.
- 10) Kwok, O. C. H., Fahy, P. C., Hoitink, A. J. and Kuter, G. A. (1987) *Phytopathology* **77** : 1206-1212.
- 11) Lifshitz, R., Lifshitz, S. and Baker, R. (1985) *Plant disease* **69** : 431-434.
- 12) Lifshitz, R., Windcham, M. T. and Baker, R. (1986) *Phytopathology* **76** : 720-725.
- 13) Martin S. B. (1988) *Phytopathology* **78** : 379-384.
- 14) Mihuta- Grimm, L. and Rowe R. C. (1986) *Phytopathology* **76** : 306-312.
- 15) 生越 明 (1976) 農技研報 **C 30** : 1-63.
- 16) Ogoshi, A., Oniki, M., Sakai, R. and Ui, T. (1979) *Trans. mycol. Soc. Japan* **20** : 33-39.
- 17) Sneh, B., Burpee, L. and Ogoshi, A. (1991) Identification of *Rhizoctonia* species. Sneh, B., Burpee, L. and Ogoshi, A. eds. APS press, St. Paul.

(1993年4月30日 受領)