

果菜類灰色かび病防除のための *Bacillus subtilis* 剤の新しい処理方法

岐阜県農林商工部普及企画室 田 ぐち よし ひろ

はじめに

B. subtilis は枯草菌と呼ばれ、多くの細菌や糸状菌に対し抗生作用を示す拮抗微生物として知られている。*B. subtilis* を用いた植物病害防除の研究は多い (EL-GOORANI et al., 1976; PHAE, et al., 1990; SINGH and DEVARALLI, 1984) が、現在、国内で農薬登録されているのは 2 剤のみである。微生物殺菌剤の作物への処理は、化学農薬と同じ方法が多いが、化学農薬と同等の効果を求めることは難しい。このため、個々の微生物の特性を生かした処理方法の開発が望まれている。本稿では、果菜類の灰色かび病の防除に使用した *B. subtilis* の新しい処理方法について、筆者らの研究を中心に紹介する。

I 国内における *B. subtilis* の利用

1 微生物殺菌剤としての現状

本菌の農薬としての実用化は、1998 年に *B. subtilis* IK-1080 がポトキラー水和剤[®] (以下 IK-1080 という) として登録されたのが初めてである (川根, 2000)。現在、IK-1080 は野菜類、ブドウおよびシクラメンの灰色かび病やうどんこ病に対する微生物殺菌剤として広く使用されるようになった。本剤は *B. subtilis* の芽胞製剤であり 60℃ の温度でも死滅せず、常温で 3 年間保存可能である。IK-1080 に続いて、2002 年に *B. subtilis* QST713 (インプレッション水和剤[®]) がトマトおよびブドウの灰色かび病に農薬登録された。また、KUF-1401 と MBF-122 も果菜類の灰色かび病等を対象に実用化試験が進められている (日植防, 2001; 2002)。

2 *B. subtilis* 剤の処理方法と防除効果

これら 4 剤の中で、IK-1080 は懸濁液の散布、常温煙霧およびダクト散布法 (2003 年 10 月 22 日登録) の 3 種類の処理方法がある。一方、他の 3 剤は、いずれも懸濁液の散布である。表-1 に、2001 年および 2002 年に

国内で行われた野菜の灰色かび病を対象とした *B. subtilis* 剤の防除試験の結果を示した (日植防, 2001; 2002)。これらの防除効果は、化学農薬に比較してやや低い。また、トマト、ナスおよびキュウリに対する防除値には薬剤間の大きな差がないが、イチゴは他の果菜類に比較してやや低い。トマト灰色かび病に対する常温煙霧法は、懸濁液の散布法と同等の効果である。一方、ダクト散布法はキュウリおよびナスともに防除値 98 ~ 100 と著しく高い。上述以外の *B. subtilis* の処理方法として、作物の根部浸漬や土壌灌注 (PHAE et al., 1992) および種子粉衣 (MEW and ROSALES, 1992) 処理が報告されている。

B. subtilis は散布された植物体上での能動的な移動性が小さく、植物の器官ごとに、定着する菌密度が異なる。*B. subtilis* の処理には、このような植物体上での挙動も考慮する必要がある。このため *B. subtilis* を生物防除エージェントとして用いる場合、防除効果の安定性と持続性を向上させる処理技術の開発が重要な課題と考えられる。

II 新しい処理方法の特徴と防除効果

筆者らは IK-1080 を供試し、トマト栽培で用いられるホルモン剤との同時処理および温風ダクトを用いた散布処理 (田口ら, 2003a; 2003b; 2003c) により果菜類の灰色かび病の防除を行った。この結果得られた新たな知見を以下に記した。

1 ホルモン剤との同時処理

(1) 処理花卉上の菌量の変化

トマトの着果促進ホルモンである 4-CPA (トマトトーン[®], 濃度 150 ppm) と IK-1080 (1.0×10^8 cfu/ml) との混合液を、トマトの花房に約 1.0 ml 噴霧処理した。処理当日および 17 日後の乾燥花卉 1 g 当たりの IK-1080 の菌量は、それぞれ 2.0×10^8 cfu および 7.8×10^9 (± 10.4) cfu と著しく多く、花卉上での増殖が認められた。

(2) 処理花卉上の糸状菌の種類の減少

トマト花卉に発生した糸状菌の胞子あるいは分生子柄の形態などの特徴を光学顕微鏡下で観察し、属レベルで種類別の発生頻度を調べた。この結果、無処理の花弁に

Scattering Methods for Biological Control of Gray Mold Disease of Vegetables Using *Bacillus subtilis* IK-1080. By Yoshihiro TAGUCHI

(キーワード: *B. subtilis* IK-1080, ダクト散布法, ホルモン同時処理, 生物防除)

表-1 2001年と2002年に全国で行われた、果菜類の灰色かび病に対する *B. subtilis* 剤の防除値^{a)}

作物名	試験薬剤名	散布濃度 cfu/ml	散布量 (l)	防 除 値 ^{b)}	
				2002年	2001年
トマト	IK-1080	1.0×10^8	200	31.8 ~ 62.9	75.9 ~ 75.6
	KUF-1401	5.0×10^7	200	60.5 ~ 60.1	
	MBF-122	5.0×10^6	300		66.7 ~ 88.3
	SB-910	1.0×10^7	490	72.2	78.3 ~ 63.0
	IK-1080	1.0×10^9	2.1 l 煙霧 ^{c)}		68.0 ~ 72.6
ナス	SB-910	1.0×10^7	200		82.3 ~ 48.2
	IK-1080	1.0×10^8	230		46.5
	IK-1080	10 g/10 a/日	ダクト散布法 ^{d)}		98.6
キュウリ	IK-1080	1.0×10^8	250	85.4 ~ 79.0	
	KUF-1401	5.0×10^7	250	82.4 ~ 78.0	
	IK-1080	10 g/10 a/日	ダクト散布法	100	
イチゴ	IK-1080	1.0×10^8	200	52.8 ~ 62.9	
	MBF-122	1.0×10^6	200	52.1	
	KUF-1401	5.0×10^7	200	64.3 ~ 60.1	
	SB-910	1.0×10^7	200 ~ 300	35.1 ~ 59.1	87.5 ~ 27.9

^{a)} 2001年と2002年の日本植物防疫協会の生物農薬実用化試験成績から引用、整理した。^{b)} 1試験例は単一の数値、2例以上の試験は“x ~ x”として表した。^{c)} 煙霧は常温煙霧法による散布を示す。^{d)} ダクト散布法はダクトへの投入による散布を示す。

表-2 *B. subtilis* IK-1080 をホルモン同時処理したトマト花卉に発生する糸状菌の比率^{a)}

処理区 ^{b)}	糸状菌の属						不 明			
	<i>Botrytis</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Ascochyta</i>	<i>Aspergillus</i>				
							1	2	3	4
IK-1080 処理	0	100	100	0	0	91	100	16	8	0
無処理	75	100	100	92	75	100	100	58	25	17

^{a)} トマト処理花卉 100 花を採取し 25℃の湿室に 5 日間保存後、顕微鏡下で糸状菌を観察した。^{b)} IK-1080 はホルモン液と 1,000 倍になるよう混合し、1 花房当たり 1 ml を噴霧処理した。

は *Cladosporium* 属菌、*Aspergillus* 属菌、*Fusarium* 属菌、*Ascochyta* 属菌および *Botrytis* 属菌等、10 種類以上の糸状菌が認められた。一方、IK-1080 を同時処理した花卉には *Cladosporium* 属菌と *Aspergillus* 属菌が高率に発生し、出現した糸状菌種は 5 種類と少なかった。また、灰色かび病の発生は著しく抑制された (表-2)。

2 IK-1080 のダクト散布法による灰色かび病の防除

(1) ダクト散布法による防除効果

温風ダクトは暖房機からの温風を施設内の各所に誘導し、均一な温度環境とするために用いられている。施設キュウリ、トマトおよびイチゴの灰色かび病を対象として、ダクトの送風機能を利用し温風と同時に IK-1080 を粉体のまま散布し防除効果を調べた。いずれの試験でも栽培開始から毎日、IK-1080 を 10 ~ 15 g/10 a ダク

ト散布すると、葉、茎および果実の灰色かび病の発生を顕著に抑制できることがわかった (図-1 ~ 3)。また、キュウリ栽培では、つる枯病やうどんこ病などの発生も少なかった。

(2) 散布精度を高めるダクトの配置と吐出口

ダクト散布法では、防除効果を発現させるに足る量の IK-1080 を施設内全体に均一に散布する必要がある。このため施設内の所定の位置に NA (Nutrient agar) 平板培地 (以下 NA 平板という) を置いてダクト散布した IK-1080 を捕捉し、形成されたコロニー数を比較した。IK-1080 を均一に散布するためには、主ダクト (直径 90 cm) に枝ダクト (直径 30 cm) を畝ごとに取り付け、枝ダクトに 2 ~ 3 m 間隔に直径 3 cm の吐出口を上向きにあけて送風する方法が適していた (図-4、表-3)。施

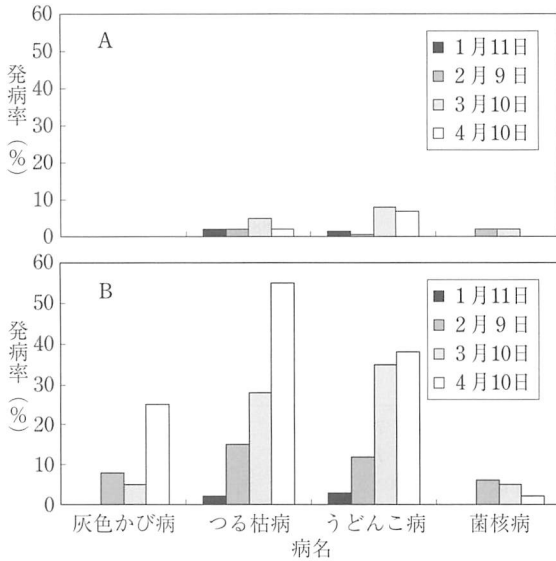


図-1 *B. subtilis* IK-1080のダクト散布法によるキュウリの病害防除効果

A: ダクト散布区. 1999年11月から2000年4月まで毎日10gのIK-1080を温風ダクトを用いて散布した. B: 慣行防除区. 同11月から3月まで毎月、灰色かび病菌に効果のある農薬を毎月1~2回散布した. イプロジオン, TPN, ジェトフェンカルブ, イミノクタジナルベシル酸塩, フルジオキシソニル, スルフェン酸系を用いた.

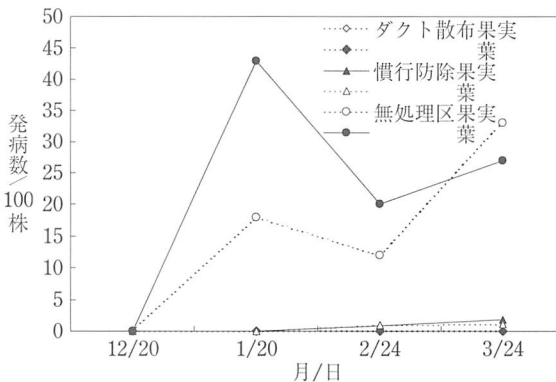


図-2 *B. subtilis* IK-1080のダクト散布法による促成栽培トマトの灰色かび病の防除効果 (2002)

ダクト散布区は2001年11月30日から翌年4月まで毎日、IK-1080を10g散布した. 数値は100株当たりの発病果実および葉数を示す. 慣行防除は11月から4月までの間にTPN, メバニピリム, フルジオキシソニル, TPN, ジェトフェンカルブ, スルフェン酸系, フルジオキシソニルの順に散布した.

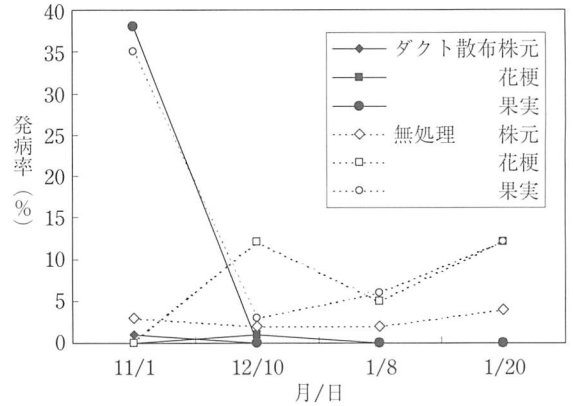


図-3 *B. subtilis* IK-1080のダクト散布による促成栽培イチゴの灰色かび病の防除効果 (2002)

ダクト散布区は送風ダクトを用いて11月30日から3月まで毎日IK-1080を15g程度散布した. 株元はイチゴ株の基部に発生した灰色かび病を示す. 慣行防除区は11, 12および1月にそれぞれメバニピリム, イミノクタジナルベシル酸塩, フルジオキシソニルを散布した.

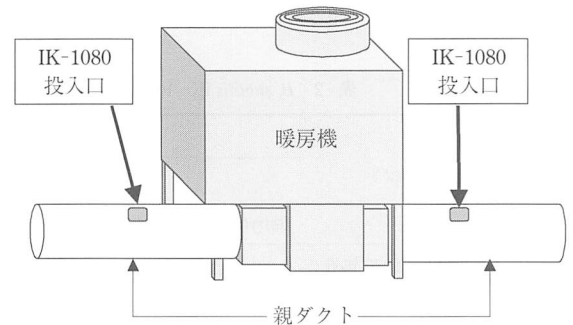


図-4 ダクト散布図

設内の外周のみに主ダクトを配置する方法も普及しているが、この方法でIK-1080を散布しても中央の畦まで飛散しなかった。また、吐出口をあけずにダクト散布したところ、IK-1080はダクト先端の排気口の近辺にのみ散布された。

本試験で、枝ダクトの吐出口から吹き出る風の速度は約8m/秒で、2mの高さでもIK-1080の飛散が認められた。また、風速とIK-1080の飛散量には高い相関関係が認められた。このようにダクト散布法ではダクトの配置と吐出口の数および吐出口からの風速が、IK-1080の散布精度に大きな影響を与える。

IK-1080の平均粒径は約40μmである。ダクト散布により2m以上の高さでも多数のIK-1080が確認されるが、80μmを超える粒径は少なかった。高い所に飛

表-3 主ダクトと枝ダクトを配置した施設内でのダクト吐出口の風速と *B. subtilis* IK-1080 の浮遊数^{a)}

吐出口の番号 ^{b)}	風速 (m/s)	コロニー数 ^{c)} (cfu)
ダクト散布区		
①	2.8	1,114
②	6.5	1,632
③	3.3	1,170
④	2.3	1,188
⑤	1.7	736
⑥	6.5	1,242
⑦	4.2	1,410
⑧	1.5	708
慣行防除区		
⑨	3.5	0

^{a)} 主ダクトは施設内外周に、枝ダクトは各畝間に配置した。①～⑥と⑨は枝ダクトの、⑦、⑧は主ダクトの吐出口で、各々の風速を調べた。⑨は無処理区。IK-1080は10gを散布した。^{b)} 午後5時から翌日午前9時まで、NA平板を①～⑨の吐出口の周辺50cmに置いた。送風時間は188分だった。^{c)} NA平板(直径9cm)を回収後、25℃に4日間静置培養したときに培地上に形成されたコロニー数を調べた。

散させるためには吐出口を上向きとし、直接作物に風が当たらないようにする必要がある。ダクト散布を行う場合、設置されている暖房機の能力を考慮し、保温機能に影響しないようダクトの管理を行う必要がある。

(3) 散布後日数と飛散量の推移

キュウリ栽培施設の中で、20g/10aのIK-1080をダクト散布し、投入直後と2, 4, 6, 8, 11, 13および28日後にNA平板を用いて飛散状況を調べた。本試験では、IK-1080の投入は初回のみとし追加投入しなかった。NA平板は、調査当日の午後5時から翌日午前9時まで、施設内の所定の場所の畦上と2mの高さに配置した。

この結果、直後は畦上でペトリ皿(直径9cm)当たり2,594～3,284および高さ2mの位置で2,125～3,400cfuのコロニーが形成された。2日後以降は急激に少なくなったが、飛散は認められ、28日後でも142～393cfuのコロニーが形成された。また、暖房機の稼働時間が長かった11および13日後には1,000cfu以上のコロニーが形成された(表-4)。このように一度IK-1080をダクトに投入すれば、施設内で長い間飛散が認められるが、その数は翌日から激減するため、毎日少しずつ投入する必要がある。

(4) 送風停止後の飛散量の推移

キュウリ栽培施設内で、ダクトの送風を停止する前と後のIK-1080の飛散量を調べた。IK-1080を10g/10aダクト内に投入後、暖房機を稼働し、停止0.5時間前、停止直後、0.5, 1, 2, 3, 4, 6および8時間後に、上述

表-4 主ダクトと枝ダクトを配置した施設内での温暖房機の稼働後における日別の *B. subtilis* IK-1080 のコロニー形成数^{a)}

調査地点	稼働後の日数(日)							
	0 (220) ^{b)}	2 (227)	4 (139)	6 (245)	8 (228)	11 (327)	13 (330)	28 (304)
ダクト散布区								
① 2m ^{c)}	3,390	506	271	543	312	1,256	832	187
0m	3,154	664	912	458	295	1,070	131	393
② 2m	2,125	320	291	439	176	826	716	192
0m	2,594	660	370	492	257	790	656	266
③ 2m	3,444	998	234	625	408	1,102	1,052	170
0m	3,284	394	556	650	395	1,126	267	235
④ 2m	2,642	532	269	478	— ^{d)}	656	960	142
0m	2,822	834	380	620	—	774	1,002	149
慣行防除区								
⑨ 2m	0	0	0	0	0	0	0	0
0m	0	0	0	0	0	0	0	0

^{a)} NA平板は午後5時から翌日午前9時まで各々の場所の畦上(高さ0m)と、高さ2mの位置に置いた。NA平板を回収し、25℃に4日間静置後発生したコロニー数を調べた。暖房機稼働の最低気温は14℃に設定した。^{b)} ()は送風時間を示す。^{c)} ①～④は表-3の枝ダクトの吐出口の番号の位置、⑨は無処理区を示す。^{d)} 一は欠測。

と同様の場所にNA平板を置いて30分間暴露し回収した。この結果、送風中に畦上および2mの高さに置いたNA平板上には、それぞれペトリ皿当たり268～500および139～292cfuのコロニーが形成された。送風停止と同時に飛散量は減少し、一時間後には著しく少なくなった(表-5)。

(5) 花卉および葉上のIK-1080の菌量

ダクト散布を開始した翌日と35日後に、キュウリ花卉上のIK-1080の菌量を調べた。乾燥花卉1g当たりの菌量は、翌日(10⁶cfu)よりも35日後(10⁹cfu)の方が多かった。また、キュウリ葉上の菌密度はダクト散布の期間中、10³～10⁴cfu/cm²が維持された。同様にして行ったトマトでの試験では、ダクト散布した葉上および花卉上のIK-1080の菌量は、それぞれ10³～10⁵cfu/cm²および10⁶～10⁷cfu/g(乾燥花卉)で、キュウリと同程度であった。しかし、イチゴの花卉での増殖は認められず、*B. subtilis*の効果が現れにくい一因と考えられた。本法では1日当たり10g/10aというわずかな量であるが、毎日散布を行うため、新たに伸長した部分にもIK-1080が付着し、能動的な移動性がない*B. subtilis*の欠点を補うことができる。

(6) 花卉に発生する糸状菌相の単純化

IK-1080をダクト散布した後のキュウリ花卉から発

表-5 温風暖房機の稼働中と停止後の畦上と地上 2 m の位置における *B. subtilis* IK-1080 の飛散状態

設置場所 (地上高)	温風暖房機稼働停止後の時間 (hr)								
	-0.5 ^{b)}	0	0.5	1	2	3	4	6	8
① 2 m ^{d)}	192 ^{c)}	92	88	41	23	37	2	5	10
0 m	500	142	231	304	129	229	46	88	135
② 2 m	292	49	69	53	24	37	1	1	4
0 m	403	61	128	207	75	103	151	71	22
③ 2 m	162	69	53	3	13	32	0	2	12
0 m	268	95	86	155	48	34	5	8	32
④ 2 m	139	35	41	31	10	23	3	1	4
0 m	269	85	62	108	28	151	174	72	58
対照									
⑨ 2 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0 m	0	0	0	0	0	0	0	0	0

注^{d)} 稼働中 停止 作業 作業
^{a)} ①~④は表-3の枝ダクトの吐出口の番号の位置を示す。0 m は畦の上, 2 m は地上高 2 m を示す。^{b)} -0.5 は稼働停止 30 分前を示す。^{c)} 各数値は NA 平板上を 30 分間施設内に静置後, 形成されたコロニー数 (cfu) を示す。^{d)} 稼働中: 暖房機を稼働, 停止: 暖房機の稼働を停止, 1 および 3 時間の作業はキュウリの収穫作業を示す。

生する属レベルの糸状菌は, トマト花房にホルモン同時処理した場合と同じ種類であった。一方, 無処理の花弁からは 10 種類の糸状菌が発生した。すなわち, IK-1080 処理によって糸状菌相の単純化が起こった。この現象は, ダクト散布処理したトマトの花弁および葉上でも認められ, 施設内全体が IK-1080 を中心とした微生物相に変化していると考えられた。

おわりに

IK-1080 をホルモンと同時処理した農家は, 果実の

灰色かび病が少なかったと報告してくれた。ダクト散布法を見た農家の一人が, 農薬の散布作業から解放してくれる「夢の方法だな」と笑顔でつぶやいた。また, IK-1080 を均一に散布するため, ダクトの配置にも気を配るようになった。農家に受け入れられたとき技術は生きてくる。ダクト散布法は, 施設内の急激な湿度の上昇および温度の低下を招かないため, 他の病害の誘発や天敵昆虫に悪影響を及ぼすことがない。これで生物防除が飛躍的に進展すると喜んでくれた人もいる。筆者らは, 上述の方法以外にもマルハナバチの脚に IK-1080 を付着させ, 花卉に運搬させる方法も検討した(田口ら, 2003b)。有益昆虫の多目的利用やポリネーターが媒介する病原菌(岡田ら, 2001) 対策の上からも, 各々の微生物農薬の特徴を生かした利用方法の検討が必要と考えられる。最後に, 本試験に多大なるご指導をいただいた岐阜大学百町満朗教授に感謝の意を表します。

引用文献

- 1) EL-GOORANI, M. A. et al. (1976): *Phytopathology*, Z. 85: 345 ~ 352.
- 2) 川根 太 (2000): *植物防疫* 54: 342 ~ 345.
- 3) MEW, T. W. and A. M. ROSALES (1992): *Biological control of Plant Disease*. (ed. by T. JAMOS, E. S. et al.), Plenum Press, New York. pp. 113 ~ 123.
- 4) 日本植物防疫協会 (2001): *生物農薬連絡試験成績*, 東京, pp. 1 ~ 4, 88 ~ 153.
- 5) ——— (2002): *新農薬実用化試験成績* (生物農薬), 東京, pp. 1 ~ 6, 74 ~ 146.
- 6) 岡田清嗣ら (2001): *日植病報* 67: 197.
- 7) PHAE, C. G. et al. (1990): *J. Fermentation and Bioengineering* 69: 1 ~ 7.
- 8) ——— (1992): *日植病報* 58: 329 ~ 339.
- 9) SINGH, V. and B. J. DEVARALLI. (1984): *Br. Mycol. Soci.* 83: 487 ~ 490.
- 10) 田口義広ら (2003a): *日植病報* 69: 72 ~ 73.
- 11) ———ら (2003b): 同上 69: 94 ~ 101.
- 12) ———ら (2003c): 同上 69: 107 ~ 116.

新刊図書

世界におけるいもち病研究の軌跡

—21 世紀の研究発展をめざして—

浅賀宏一・加藤 肇・山田昌雄・吉野嶺一 編 B5 判 261 頁
 定価 9,975 円税込み (本体 9,500 円) 送料 340 円

1971 年以降に世界で発表された稲いもち病の関係論文延べ 6,000 件以上を分類別に収録し, その分野の専門家に研究内容の概論を執筆いただきました。巻末には「日本植物病理学会」のいもち病関係の講演要旨も収録してあります。いもち病研究に不可欠な書です。

お申し込みは直接当協会へ, 前金 (現金書留・郵便振替) で申し込むか, お近くの書店でお取り寄せ下さい。

社団法人 日本植物防疫協会 出版情報グループ 〒170-8484 東京都豊島区駒込 1-43-11

郵便振替口座 00110-7-177867 TEL (03) 3944-1561 (代) FAX (03) 3944-2103 メール: order@jppa.or.jp