

拮抗微生物の資材開発と その利用における問題点

山口大学農学部

丸 本 卓 哉

ダイコンの連作に起因するフザリウム病害の抑制を目的として、拮抗能を有する放線菌を用いた微生物資材の開発を行い、ポットや圃場試験を実施してきた。その研究過程を通して得られた成果を引用しながら、微生物資材開発とその利用についての問題点を紹介した。

1. はじめに

近代農業における化学肥料や農薬の多量施用に起因する土壌汚染や農作物汚染に対する反省から、有機農法や農業生態系の保全に関心が高まり、世界的に多くの議論がなされてきた。植物病害の防除法については、化学農薬の使用量をできるだけ少なくし、太陽熱やマルチなどを利用した物理的防除法や弱毒ウィルスや拮抗微生物を利用した生物的防除法などに関心が高まってきている。なかでも、各種微生物の生態を利用した生物防除法は、将来の植物病害防除法として大きな期待が寄せられている。

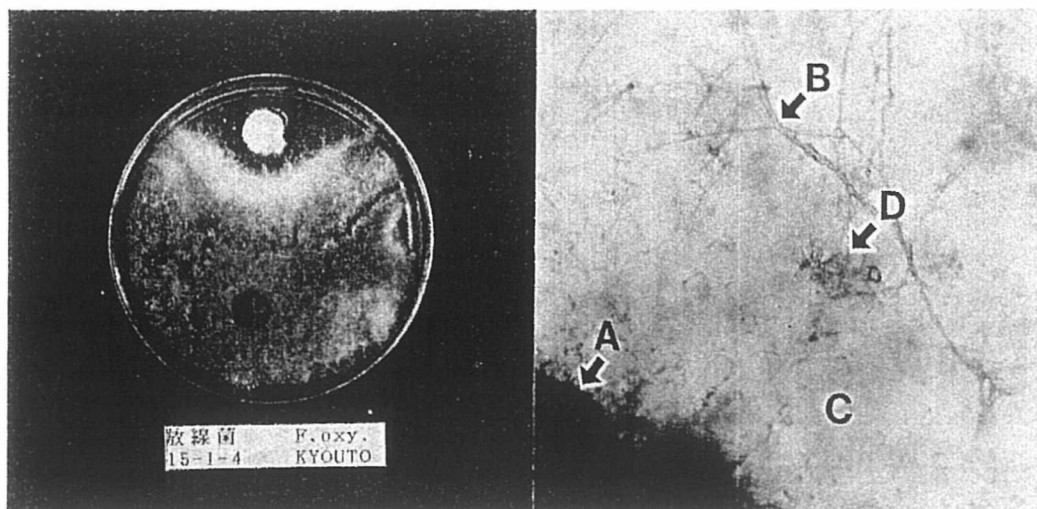
当研究室では、ダイコンの連作に起因するフザリウム病害の抑制を目的として、拮抗能を有する放線菌を用いた微生物資材の開発に関する共同研究を進めてきた。現在、これらの拮抗放線菌を組み込んだ資材が市販されている（商品名：ナオール、フマキラー株式会社）が、研究過程で明らかとなったいくつかの問題点を研究成果の一部を引用しながら紹介したい。生物防

除に関心ある方々の参考になれば幸いである。

2. 拮抗微生物の選抜

目的の植物病原菌に対して拮抗能を有する微生物を土壌や有機物の中から選抜するのは、そんなに難しいことではない。多数の分離源から選抜した多くの菌株のうち、さらにより拮抗能の高い菌を選抜する必要があるが、こうして選抜した菌の単独あるいは混合系における拮抗能を調査、検討することが、次に重要である。

本研究では畑や森林土壌の分離源より、フザリウム菌に対して抗菌活性を示す約1400株の放線菌を一次選抜し、次の中で特に強い拮抗能を持つ33株の放線菌を二次選抜した。さらに、この内の5株を混合し、拮抗微生物資材に使用した。写真1に示すように実験室内での試験においては、寒天平板培地上で目的とする病原菌に対する拮抗能を比較的容易に判別できるが、これは、あくまでも寒天培地上の現象であって、現場の土壌中で病原菌に対して同様の拮抗能を示してくれるかどうかは分からないといってよ



Streptomyces phaeopurpureus

(15-1-4)

Streptomyces hygroscopicus

(66-1-1) (×600)

写真1 寒天培地上におけるフザリウム菌に対する放線菌の拮抗作用

- A. 放線菌 *Streptomyces hygroscopicus* (66-1-1)
- B. フザリウム菌 *Fusarium oxysporum f. sp. raphani*.
- C. フザリウム菌のコロニー内における成育阻害 (シャーレの上部)
- D. 放線菌にからまれたフザリウム菌菌糸

い。実際、本研究においても、シャーレ上での現象と同じ抗菌活性を土壤中で示さない場合もみられたが、固定化資材、菌の混合系、資材施用方法を改善することによって、それらの不一致現象を少しずつ乗り越えることができた。

3. 土壌は不均一な系で貧栄養状態にある

2. で述べたように、実験室内の試験結果では十分な拮抗能がみられたのに、現場での拮抗菌接種効果は、ほとんどみられなかったという場合がある。一般にはむしろ、このような場合の方が多い。その理由の一つは、土壌は極めて不均一な系であることによる。まず、土壌中の砂、シルト、粘土などの無機物、なかでも粘土鉱物の種類と含量は、それぞれの土壌で大きく異なっている。それによって、各種イオンの吸着や土性などの土壌の理化学性は大きく異なる。

同様に、土壌の団粒構造の重要な要因である有機物の種類と含量も異なっており、そこに生存している土壌生物、なかでも微生物の量と組成(フロラ)は、圃場毎に異なっているといっても過言ではない。つまり、土壌固有の微生物は、それぞれの土壌、気象、植生などの環境に影響を受けており、フロラのみならず、その生理的状态が異なっていることも十分に考えられる。しかも微生物は、図1に示すように、土壌の団粒内に存在し、外部環境から自分を保護している状態にある。さらに、通常、土壌は栄養不足の状態にあるため、団粒内部の微生物は、休止あるいは静止状態にあり、お腹を空かした微生物が、エサの来るのをじっと待っている状態といつてよい。

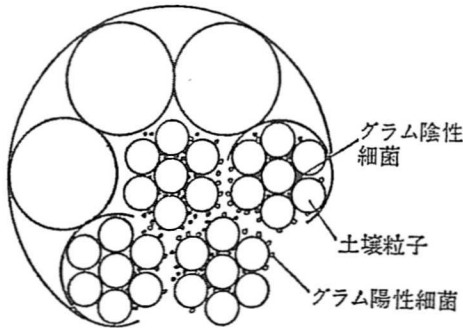


図1 土壌団粒内の細菌分布
(古坂、服部 1962)

4. 接種拮抗微生物の固定化

トーチカ(団粒)の中で、敵(エサ)を待ち受けている敵陣の中に、のこのこ無防備で向かっていく兵隊(接種微生物)の将来は知れている。つまり単に、土壌に微生物を接種するだけでは土着の固有微生物のエサになることが多い。接種した拮抗微生物が、土壌固有の微生物群と戦って生き残り、土壌中に定着してその拮抗能(抗菌活性)を発揮し、病原性の減少や抑制機能を示すことが重要である。そのためには、接種拮抗微生物に鎧を着せて武器を持たせること(固定化資材に組み込むこと)と、戦いに勝てるだけの兵力(すなわち一定数以上の微生物数： $>10^3$ 個/g)を投入することが必要不可欠である。これを接種微生物の定着あるいは固定といい、それを確実にするために接種微生物の固定化技術が大切となる。固定化技術は、目的とする微生物の種類と、その生理的、生態的条件に十分配慮して決定されることが重要である。固定化資材については、無機系と有機系の選択と配分に、十分注意しなければならない。基本的には目的の接種微生物が急激に増殖したり、活動したりすることがないように、貧栄養で静かに生きている状態で、外敵に攻撃されない“す

みか”に生存している状況を設定することである。

5. 圃場で接種拮抗微生物の働きを生かすには

目的とする微生物の固定化がうまくいき、資材化できたとしても、現地圃場に施用してその効果を有効に発揮させるためには、まだ検討しなければいけないことが多々ある。まず、施用量と施用法の検討である。これらは、病害発生土壌の病原菌密度と大きく関係するため特に重要である。表1に日本各地での拮抗放線菌資材のフザリウム病害抑制試験における施用量と施用法の影響を示した。病害の抑制効果は一定ではないが、施用量と方法に大きく影響されることが明らかである。効果的な施用法としては植物の播種溝あるいは根域に沿って筋状あるいは点状に施用する方法が拮抗菌密度を高めて病害抑制が効果的になされる傾向が示されている。その際クロロピクリンと併用すれば、より効果的であることが分かるが、微生物生態学的にはクロロピクリン処理によって、目標とする病原菌以外の微生物も同時に死滅させるために問題である。これについては、正常な微生物フローラを持つ完熟堆肥などをクロロピクリン処理後に施用するなどの手当が必要であろうと思われる。

次に、接種拮抗微生物およびその固定化資材が、種子の発芽や土壌環境に悪影響を及ぼさないことを確認しておくことが必要である。なかでも、拮抗微生物を有機質資材に組み込んだ場合は、有機物そのものが病原微生物に影響することがあり注意を要する。表2に病原微生物の発病抑制に及ぼす有機物施用の影響についての報告例を示したが、有機物の施用は必ずしも植物病害を抑制するとは限らないことを示している。つまり、土壌中の病原菌密度や環境条件に

表1 実験圃場におけるダイコン萎黄病に対する拮抗微生物資材の抑制効果

場所	年	クロロピクリン 処理	拮抗微生物資材		発病度* (%)		病害抑制度**
			施用量 (kg ha ⁻¹)	施用法	施用前	施用後	
新潟県	1988	—	1000	条層施用	30.6	→ 5.9	++
新潟市		—	6000	表層散布		→ 6.7	++
福島県	1987	—	6700	条層施用	41.5	→ 36.7	+
昭和村	1988	—	6000	表層散布	100.0	→ 90.0	±
福井県	1987	—	1000	表層散布	26.3	→ 5.2	++
坂井町							
岡山県	1987	—	1000	条層施用	42.0	→ 15.0	++
八束村		—	7000	表層散布		→ 6.0	++
山口県	1987	—	1000	条層施用	36.3	→ 20.1	+
むつみ村		—	5000	条層施用		→ 7.2	++
		+	1000	条層施用		→ 26.8	+
宮崎県	1988	—	2000	条層施用	34.1	→ 28.3	±
田野町		—	8000	表層散布		→ 21.4	+
		+	2000	条層施用		→ 14.5	++
		+	8000	表層散布		→ 15.2	++
	1989	—	5000	表層散布	68.5	→ 54.0	+
	1990	—	5000	表層散布	28.7	→ 15.7	+

* [(枯死した個体数 × 3 + 大きな被害を受けた個体数 × 2 + 僅かに被害を受けた個体数) / (調査した個体数 × 3)] × 100

** ++: 顕著に抑制、+: 僅かに抑制、±: 影響なし、-: 発病度の増加

表2 最近試験された有機物施用と土壌病害発生との関係

有機物の種類	軽減された病害	助長された病害
鶏糞	キュウリ蔓割病* トマト萎凋病* キャベツ萎黄病*、菌核病 ハクサイ、コカブ根瘤病	トマト萎凋病* ダイコン萎黄病* コンニャク乾腐病* ジャガイモ粉状そうか病 ダイコン横縞病
豚糞	キュウリ蔓割病*、立枯性疫病 トマト萎凋病* コカブ根瘤病	ナス半身萎凋病 ピーマン疫病 ダイコン萎黄病* ジャガイモそうか病 コンニャク乾腐病* キャベツ萎黄病* レタス裾枯病
牛糞	コカブ根瘤病	ダイコン萎黄病*

表2 最近試験された有機物施用と土壌病害発生との関係(続き)

有機物の種類	軽減された病害	助長された病害
おがくず家畜糞	ユウゴオオ割病*	トマト根腐れ萎凋病 ダイコン萎黄病*、亀裂褐変病 ジャガイモそうか病、粉状そうか病
パーク堆肥	キュウリ割病* トマト萎凋病* ジャガイモそうか病、粉状そうか病 アスパラガス紫紋羽病	ナス半身萎凋病、褐変腐敗病 ダイコン亀裂褐変病 ナガイモ褐色腐敗病
刈り作物	コンニャク乾腐病*	キュウリ割病* テンサイ苗立枯病 ダイズ白絹病 ダイコン萎黄病* レタス裾枯病
稲藁	キュウリ割病* テンサイ苗立枯病 ジャガイモそうか病 コンニャク根腐病* タマネギ乾腐病*	コンニャク根腐病*
堆肥	キュウリ割病* トマト萎凋病* 根腐れ萎凋病 テンサイ苗立枯病、根腐病 アスパラガス紫紋羽病 コンニャク根腐病*	コンニャク根腐病*、乾腐病*

*フザリウムによる病害

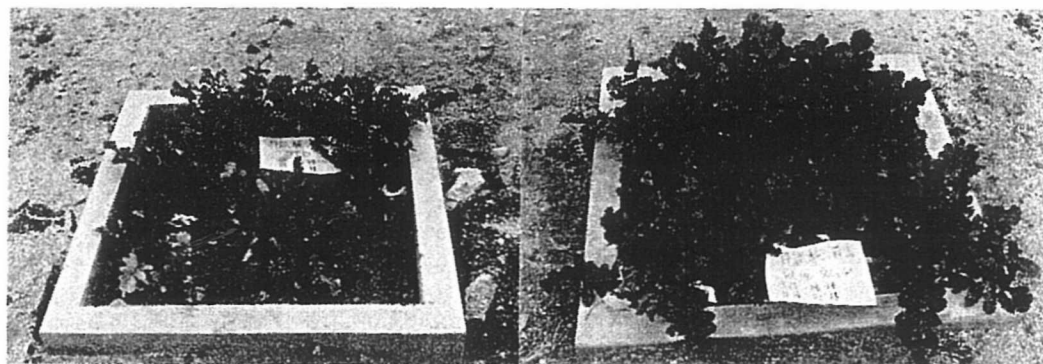
(植物防疫 35巻 第3号より一部抜粋)

よっては、有機物の施用が病害を助長することもあるため、十分その影響を検討しておくことが必要である。

6. 静菌作用のメカニズムの解明

拮抗微生物の病原菌に対する静菌作用のメカ

ニズムを解明するのは簡単ではないが、植物病害の抑制を多面的に実施しようとするには、そのメカニズムを明らかにすることが必要かつ重要である。写真2はダイコン萎黄病の多発土壌の対照区と当拮抗微生物資材接種のダイコン播種後55日目の状況である。拮抗微生物資材接種



無処理区

資材接種区

写真2 ダイコンのフザリウム病に対する拮抗放線菌資材接種の影響(接種後55日後)

区のダイコンの生育は、対照区より正常で勝っていることが明らかである。当拮抗微生物資材の効果のメカニズムを解明する目的で、目標とするダイコン萎黄病を引き起こすフザリウム菌とその厚膜孢子密度の土壤中での動態調査を実施した結果、拮抗微生物資材の施用とダイコン播種時期の組み合わせにより、萎黄病抑制の程度が異なることが示され、発病抑制の主要な原因は、接種微生物資材がフザリウム菌の厚膜孢子発芽を抑制するとともに、菌糸の発育も抑制していることが明らかとなった。表1でも示したように、拮抗微生物を用いて植物病害を抑制する方法は、病害を完全に抑制することはできないが、土壤微生物の生態系を壊すことなく、病原菌の発病機能を抑制するという点で、環境にやさしい方法といえるであろう。

7. おわりに

拮抗能を持つ放線菌を用いた微生物資材の開発と利用に関する研究成果を紹介しながら、その過程で得られた問題点と注意点について述べてきた。一口に拮抗微生物資材といっても目標とする土壤病原菌は多種多様で、それぞれに対応する拮抗微生物を検索して資材化するのは大変なことである。ただ、本拮抗微生物資材はフザリウム病害のみでなく、ほかの病害にもかなり効果を示す場合のあることが現場より報告されている。つまり、当初の目的以外に効果を示すこともあり、幅広い効果を持つ可能性が期待される。病原菌密度は植物の発病に対する絶対条件ではなく、他の微生物との相対的バランスや環境条件との関係で発病したり、しなかったりすることが明らかであり、植物病害の発生要因を正しく解析することが大切である。当拮抗微生物資材の効果が低い圃場は、地下水位が高

表3 土壤伝染性病原菌の一般的な生存期間

病原菌名	生存器官	生存期間(年)
フザリウム	厚膜孢子	5~15
ガエマノマイセス	菌糸	1~2
ヘルミンソスポリウム	分生孢子	3
ファイトフトラ	卵孢子	2~8
プラスモディオフォーラ	休眠孢子	>7
ピシウム	卵孢子	>5
アフアノマイセス	卵孢子	>5
リゾクトニア	菌核	>5
スクレロチウム	菌核	>5
パーティシリウム	微小菌核	5~15

く、水はけの悪いところが多いという傾向が観察された。現地農家では、降雨直後の土壤水分含量の高い時期の播種を避けることによって、発病が減少したことが認められている。また、近年は耐病性の品種が開発され、ダイコン萎黄病はかなり減少したようであるが、連作を続けていく限り、いずれ同様の問題が生じるのではないかと危惧される。連作障害によるこれらの病害発生はいくつかの原因が重なって生じると考えられるが、微生物フロアの片寄りと病原菌密度の増加が、その主要な原因のひとつであることは間違いない。また、表3に示すように土壤伝染性病原菌の一般的な生存期間は、数年から10年以上にも達するため、これらの完全な防除は極めて難しく、日頃から正常な微生物フロアを持てるような肥培管理が最も求められているといえる。

最後になるが、日本土壤肥料学会の微生物資材専門委員会では平成8年に“微生物資材の現状と評価”をとりまとめ、微生物資材の問題点と今後のあるべき方向について考察している。

この報告書を参考にしていただければ、より具体的な微生物資材の問題点が理解できるであろう。

〔参考文献〕

1. 高木滋樹・北村 章・丸本卓哉：拮抗能を持つ放線菌を利用したフザリウム病害の抑制. 第1報：拮抗菌のスクリーニング、土と微生物、39、35～40、1992
2. 高木滋樹・北村 章・丸本卓哉：拮抗能を持つ放線菌を利用したフザリウム病害の抑制. 第2報：有機物の選抜と拮抗放線菌利用資材の調製、土と微生物、39、41～48、1992
3. 高木滋樹・北村 章・丸本卓哉・石田大作・田中秀平：拮抗能を持つ放線菌を利用したフザリウム病害の抑制. 第3報：異なる土壤環境条件における微生物資材の土壤微生物相へ

の影響とダイコン萎黄病に対する効果的施用法の検討、土と微生物、47、51～58、1996

4. 丸本卓哉・高木滋樹・北村 章・石田大作・田中秀平：拮抗能を持つ放線菌を利用したフザリウム病害の抑制. 第4報：ポットおよび圃場試験における微生物資材Aの効果、土と微生物、49、17～25、1997
5. 高木滋樹・北村 章・丸本卓哉・田中秀平・西山雅也・石田大作：拮抗能を持つ放線菌を利用したフザリウム病害の抑制. 第5報：拮抗微生物資材Aによるダイコン萎黄病抑制機構、土と微生物、49、27～33、1997
6. 西尾道徳・大畑貫一編：農業環境を守る微生物利用技術、家の光協会、東京、1998 7. 鈴木孝仁・岡田齊夫・国見裕久・牧野孝宏・斎藤雅典・宮下清貴編：微生物の資材化：研究の最前線、ソフトサイエンス社、東京、2000

