

Verticillium biguttatumを用いたRhizoctonia solaniによるテンサイ苗立枯病および根腐病の生物的防除

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	佐山, 充 本間, 善久 竹中, 重仁
発行元	日本植物病理學會
巻/号	67巻1号
巻号補足	
掲載ページ	p. 12-18
発行年月	2001年4月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



Verticillium biguttatum を用いた *Rhizoctonia solani* によるテンサイ 苗立枯病 および根腐病の生物的防除

佐山 充^{1*}・本間 善久^{1,2}・竹中 重仁¹

ABSTRACT

SAYAMA, M.^{1*}, HOMMA, Y.^{1,2} and TAKENAKA, S.¹ (2001). Biological control of *Rhizoctonia* damping-off and root rot of sugar beet by *Verticillium biguttatum*. Jpn. J. Phytopathol. 67: 12-18.

Twenty-three isolates of *Verticillium* sp. were obtained from cultivated field soils inoculated with *Rhizoctonia solani* 5 times at 2 weeks intervals. These 23 isolates had different levels of suppressiveness to damping-off of sugar beet caused by *R. solani* AG2-2-IV in pot tests. Two isolates (HV8 and HV10) were selected as the most effective. In pot tests, the isolates were more effective in reducing damping-off and the colonization of sugar beet seeds by *R. solani* with higher concentrations of isolate-infested wheat-bran vermiculite Czapek-Dox culture. An almost similar level of control was attained by applying 5 % wheat-bran vermiculite Czapek-Dox culture of the isolates in the total soil and 40 ppm of PCNB. Incidence of root rot was reduced to 45% of the untreated control when *Verticillium* sp. was applied once to field soil near the tap root of sugar beet one day before inoculation with *R. solani* (July 9th, 1996). Incidence was reduced to 70% when two more applications were added to nursery soil (April 15th, 1996) and to the planting hole (May 27th, 1996). Light microscopic observation showed that the *Verticillium* sp. isolates penetrated only living *R. solani* hyphae stained with 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-2H-tetrazolium chloride, and infected host cells later died. These isolates were identified as *V. biguttatum* on the basis of morphology and temperature responses.

(Received March 23, 2000; Accepted September 19, 2000)

Key words: biological control, *Rhizoctonia* damping-off, *Rhizoctonia* root rot, sugar beet, *Verticillium biguttatum*.

緒 言

北海道におけるテンサイの *Rhizoctonia solani* による病害には、出芽期の苗立枯病と生育期の根腐病および葉腐病がある^{20,21}). *R. solani* の菌糸融合群のうち2群2型の培養型IV (AG2-2-IV) に属する菌株は、主に根腐病の病原であるが¹⁷, 苗立枯病罹病苗からも分離されることがあり、接種によって苗立枯をひき起こすことが知られている¹⁵).

現在, *R. solani* による苗立枯病に対しては、トルクロホスメチルなどの殺菌剤の土壌施用が、また根腐病に対しては同じくこれらの苗床灌注や圃場での株元散布が実施されているが、最近では環境問題等への配慮からこれらの病害に対しても生物的防除法開発の要望が高まっている。

北海道農業試験場内耕地土壌に *R. solani* 菌体の繰り返し接種を行ったところ, *R. solani* による病害の発病抑制効果が誘導され, その抑止性には生物因子が関与しているものと考えられた¹⁸). そこで, これらの土壌から *R. solani* AG2-2 に対する拮抗性糸状菌を探索した結果, 本菌に顕著な寄生性を有する糸状菌を分離することができた. 本研究では, 分離された菌寄生菌のテンサイ 苗立枯病と根腐病に対する抑制効果および *R. solani* に対する菌寄生様式を調査し, 種の同定を行ったので報告する。

材料および方法

供試菌株 *R. solani* AG2-2-IV 株として, 北海道恵庭市のテンサイ根から分離された Pf-28 株を用いた. また, 菌

¹ 農林水産省北海道農業試験場畑作研究センター (〒082-0071 北海道河西郡芽室町新生) Hokkaido National Agricultural Experiment Station, Upland Agriculture Research Center, Shinsei, Memuro, Kasai, Hokkaido 082-0071, Japan

² 現在: 農林水産省国際農林水産業研究センター (〒305-8686 茨城県つくば市大わし1-2) Japan International Research Center for Agricultural Sciences, Ohwashi, Tsukuba 305-8686, Japan

* Corresponding author (E-mail: beets@mail.goo.ne.jp)

寄生菌は、北海道札幌市および河西郡芽室町の北海道農試耕地土壌（いずれも植壤土、pH 5.5およびpH 5.8）に Pf-28 株菌体を 5 回繰り返して接種することによって、苗立枯病抑制効果が誘導された土壌¹⁸⁾ から、*R. solani* の菌叢を用いた希釈平板法¹³⁾ によって分離した 23 菌株を用いた。なお、これら 23 菌株の内訳は、札幌市分離株 19 株 (HV1～HV13, HV15～HV20)、芽室町分離株 4 株 (MV1～MV4) である。

接種源の培養法 分離された菌寄生菌（以後、分離株とする）は、ふすま、バーミキュライトおよび Czapek-Dox 液体培地を体積比で 3:3:1 に混合した培地に 25°C、2 週間培養し、接種源として用いた。なお、接種源の菌濃度は、0.1% 蒸留水寒天 (WA) 30 ml に培養菌体 1 g を懸濁し、約 130 rpm、30 分間振とう後、ジャガイモ煎汁ブドウ糖寒天を用いた希釈平板法により測定した。また、*R. solani* は、エンバク粒培地で 25°C、約 2 週間培養した菌体を 20°C で 1 晩通風乾燥後、粉碎器で粉碎し、さらに 1 mm のふるいを通したものを接種に用いた。

分離株の苗立枯病抑制効果 北海道農試の耕地土壌に、*R. solani* の培養菌体を 1% (v/v) の濃度で接種し、さらに *Pythium* および *Aphanomyces* による病害の発生を予防するために fenamiosulf を 0.7 g/l 混和処理した後、分離株の培養菌体を 1% (v/v) の濃度で接種した。これらの土壌を径 9 cm の素焼鉢にそれぞれ詰め、テンサイ種子（品種：モノエース S）を 1 鉢当たり 13 粒播種した。1 区 3 鉢を用いて温室内で栽培し、播種 2 週間後に苗立枯病の発生程度を調査して立枯指数 (DOI)⁷⁾ ($DOI = [(2A + 1B + 0.5C) / 2T] \times 100$, A, B, C および T はそれぞれ、出芽前立枯数、出芽後立枯数、罹病苗数、播種数を示す) を算出した。

分離株の接種菌量と苗立枯病抑制効果の比較のためには、*R. solani* の培養菌体を 0.5% (v/v) の濃度で接種した。また、分離株としては HV8 と HV10 の 2 菌株を用い、それぞれ 1, 2 および 5% (v/v) の濃度で培養菌体を接種した。

テンサイ根腐病に対する抑制効果 HV8 株と HV10 株を用いて、根腐病に対する抑制効果を 1996 年に札幌市羊ヶ丘の北海道農試圃場で調査した。テンサイ品種として「モノエース S」を用い、播種を 4 月 15 日、定植を 5 月 27 日に行った。両菌株による土壌処理の方法としては、1) 育苗紙筒作製時に培養菌体を育苗土に 3% (v/v) 混合（育苗土処理）、2) 移植時に培養菌体 20 ml を植穴土壌に施用（植穴処理）、3) *R. solani* の接種前日に培養菌体をテンサイの株元土壌に施用（株元処理）、4) 以上の 3 処理を

すべて行う（3 回処理）の 4 方法を行った。*R. solani* の接種は、7 月 9 日にエンバク粒培養菌体 10 粒をテンサイの各株元土壌に処理することによって行った。発病調査は 9 月 19 日に行い、北海道農試てん菜部根腐病調査基準⁶⁾ に準じた基準により発病度（発病度 = $[\Sigma(\text{当該指数} \times \text{当該個体数}) / (\text{調査個体数} \times \text{最大指数})] \times 100$ ）を算出した。

テンサイ種子への *R. solani* 菌糸の寄生に対する抑制効果 北海道農試の耕地土壌に、*R. solani* の培養菌体を 1% (v/v) の濃度で接種した後、HV8 株の培養菌体を 5% および 1% (v/v) の濃度でそれぞれ接種した。これらの土壌を径 9 cm の素焼鉢に詰め、テンサイ種子を 1 鉢当たり 12 粒播種した後、ガラス温室に置いた。3 日後に種子を回収し、水道水で十分に洗浄後、*R. solani* の選択培地¹¹⁾ に置床した。25°C で 2 日間培養後、光学顕微鏡下で種子からの *Rhizoctonia* 菌糸の出現率を調査した。

培地上での *R. solani* 菌糸に対する寄生性 WA で 25°C、3 日間培養した *R. solani* の菌叢上に、分離 23 菌株の分生子懸濁液（約 10^3 cfu/ml）をそれぞれ 0.5 ml 塗布した。塗布 2～4 日後に、*R. solani* 菌糸への分離菌株の寄生の過程をラクトフェノール・コットンブルー染色法を用い、光学顕微鏡観察により調査した。また、2-(*p*-ヨードフェニル)-3-(*p*-ニトロフェニル)-5-フェニルテトラゾリウムクロライド (INT) を用いたテトラゾリウム塩還元法²⁴⁾ により、分離菌株が着生した *R. solani* 菌糸細胞の生死も調査した。

分離菌株の形態および生育温度 分離 23 菌株の内、苗立枯病の抑制効果が高かった HV8 株と HV10 株について、PDA 上で 25°C、7 日間培養後の分生子の大きさ、分生子内油胞数、フィアライドの長さ、輪生数を観察した。また、生育温度に関しては、麦芽エキスを寒天培地 (MEA) 平板に両菌株の PDA 培養菌叢ディスク（直径 5 mm）を置床し、12°C から 37°C までの各温度下で 4 日間培養後菌叢直径を測定した。得られた各測定値は、Gams and Zaayen⁴⁾ による *V. biguttatum* の原記載と比較した。

結 果

分離菌株の苗立枯病抑制効果

供試 23 菌株の間で苗立枯病の発病を抑制する程度に差異が認められ、無処理区に比べて苗立枯病の発生を有意に抑制したのは HV3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 16, 17, 18, 20, MV1～4 の計 18 菌株であった (Fig. 1)。

また、分離菌株の接種菌量と苗立枯病抑制効果の比較をするために HV8 株と HV10 株の培養菌体 (HV8 は 1.7×10^6 cfu/生重 g, HV10 は 9.7×10^5 cfu/生重 g) を *R. solani*

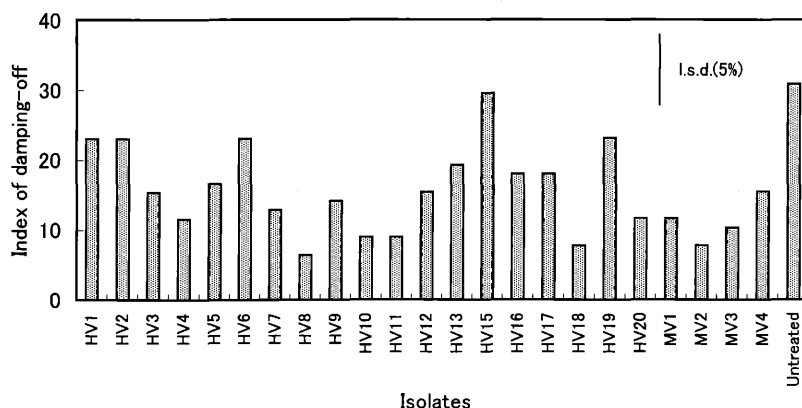


Fig. 1. Effect of *Verticillium* isolates on suppression of damping-off of sugar beet caused by *Rhizoctonia solani* AG2-2-IV in greenhouse test after 14 days. Index of damping-off (DOI): $DOI = [(2A + 1B + 0.5C) / 2T] \times 100$, where A, B and C are the number of plants with pre-emergence damping-off, post-emergence damping-off and symptoms without damping-off, respectively, and T is the total number of plants.

接種土壌に 1, 2 および 5 % の濃度で接種した。いずれの菌濃度においても無処理区に比べ低い立枯指数を示し、両菌株の接種菌量の増加につれて発病抑制効果が増大する傾向が認められた (Fig. 2)。とくに、両菌株の 5 % 濃度区では対照薬剤の PCNB (40 ppm) 区と同等の抑制効果が認められた。

テンサイ根腐病に対する抑制効果

無処理対照区では植物体のほぼ全株が発病し、その内の約 1/3 の株が枯死するかまたは病斑が地下部の 67% 以上に広がる激しい症状を示し、発病度は 70 となった。このような条件下においても、HV10 株による育苗土処理区、HV8 株による植穴処理区と株元処理区、および両菌株による 3

回処理区では、根腐病の発生程度が無処理対照区と比べて有意に低く、抑制効果が認められた (Fig. 3)。

テンサイ種子への *R. solani* 菌糸の寄生に対する抑制効果

テンサイ種子への *R. solani* の寄生は、HV8 株の接種濃度が高いほど抑制された (Fig. 4)。特に HV8 株の接種濃度が 5 % のときは、PCNB 処理 (40 ppm) と同等の抑制効果が認められた。

培地上での *R. solani* 菌糸に対する寄生性

WA 上の分離菌株の分生子は、接種翌日には発芽し、菌糸を伸ばして *R. solani* の菌糸に接近し、さらに同菌糸に沿って生育した後かぎ状の菌糸を形成して *R. solani* 菌

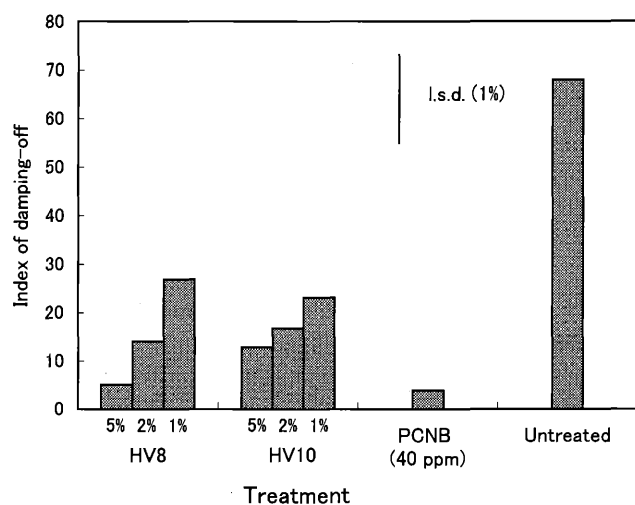


Fig. 2. Relation between the rate of *Verticillium* isolates applied to soil artificially infested with *Rhizoctonia solani* AG2-2-IV (0.5% (v/v) inoculum) and the suppressive effect against damping-off of sugar beet.

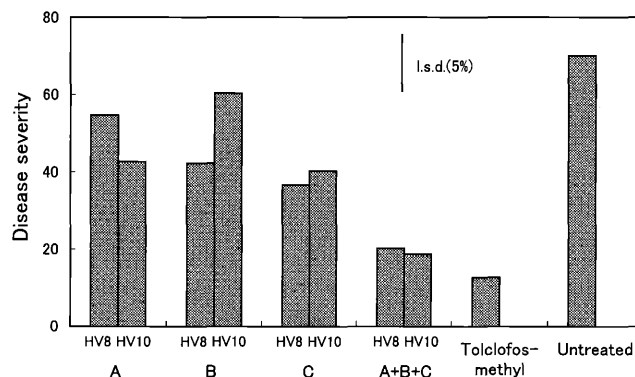


Fig. 3. Effect of HV8 and HV10 *Verticillium* isolates and tolclofos-methyl on suppression of root rot of sugar beet caused by *Rhizoctonia solani* AG2-2-IV in the field. Disease severity was measured as described⁶⁾. Treatments were added to nursery soil (April 15th) (A), planting hole (May 27th) (B), soil near tap root one day before inoculation of *R. solani* (July 9th) (C), and compared with 1000 ppm tolclofos-methyl applied to soil at 200 liters/10a.

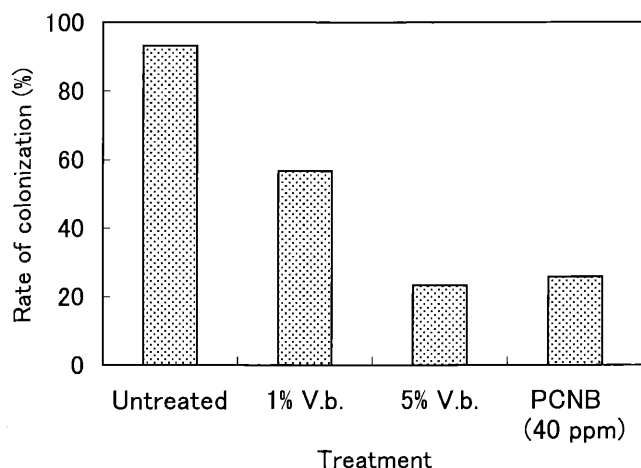


Fig. 4. Effect of *Verticillium* isolate HV8 applied at the rate of 1% and 5% (v/v) into soil artificially infested with *Rhizoctonia solani* AG2-2-IV (1.0% (v/v) inoculum) on suppression of colonization of sugar beet seeds by *R. solani* AG2-2-IV.

糸に付着した (Fig. 5A). そして, その3日後には, *Verticillium* 属菌の菌糸が *R. solani* の菌糸細胞内に侵入している様子が観察された (Fig. 5B). *R. solani* 菌糸へのこのような着生の過程は, 全ての供試株で確認され, また各菌株による着生程度にも差異は認められなかった. また, 分離菌株が着生している *R. solani* の菌糸細胞内に INT 染色による赤色素の沈着が高い頻度で観察された (Fig. 5A). しかし, すでに侵入を受けていた *R. solani* の菌糸細胞には色素の沈着はほとんど見られず, 内部は細胞質を失って空洞化していた (Fig. 5B).

分離菌株の形態と生育温度

発病抑制効果の高かった HV8 株と HV10 株について, 形態的特性と生育温度を調査した. 両菌株ともに分生子柄は直立し, 先端に分生子塊を形成したフィアライドが輪生した. 分生子は無色, 単胞, 円筒状で比較的大型の油胞が存在する両端部がやや膨らんでおり, HV8 株で大きさは平均 $6.7(4.0-9.8)\mu\text{m} \times 2.8(2.3-3.3)\mu\text{m}$, 分生子内油胞数は平均 2.2(2-4)個, フィアライドの長さは平均 $30.4(20.0-40.8)\mu\text{m}$, MEA 上の菌叢は白色ビロード状で, HV10 株でもほぼ同じ結果が得られた (Table 1, Fig. 6). また, 両菌株の生育可能な最低温度は $12-16^\circ\text{C}$, 最適温度は $25-28^\circ\text{C}$, 最高温度は $30-37^\circ\text{C}$ の間であった (Fig. 7).

考 察

本研究で分離された菌寄生菌は *Verticillium biguttatum* の原記載と分生子の幅およびフィアライドの長さがやや長かったものの, はほぼ一致した. また, 各温度での生育に

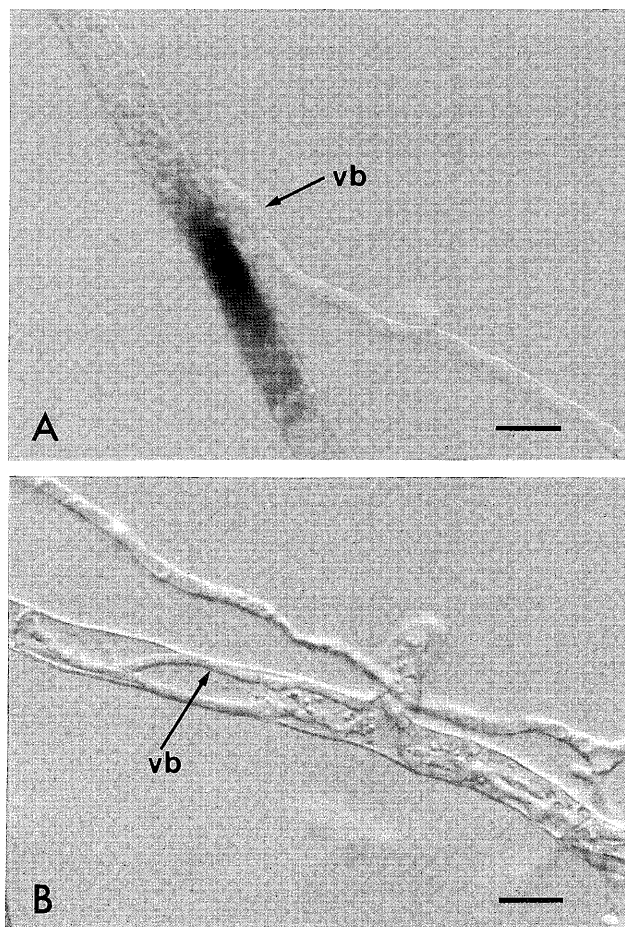


Fig. 5. In vitro growth of hyphae of *Verticillium* isolate HV8 and *Rhizoctonia solani* AG2-2-IV on agar plate after vital staining with 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-2H-tetrazolium chloride. (A) A main hypha and its side branch of *Verticillium* isolate HV8 (vb) on a living hypha of *Rhizoctonia solani* AG2-2-IV with deposition of red pigment after 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-2H-tetrazolium chloride staining. Scale bar = $10\mu\text{m}$. (B) Hyphae of isolate HV8 (vb) growing within a dead hyphal cell of *R. solani*.

ついては, Gams and Zaayen⁴⁾ の記載では 30°C で全く生育していないが, Boogert らの生育試験²⁾ では1日当たり 1.5 mm 生育しており, 菌株により多少の差異はあるものと思われる. また, 形態的に似ている *V. fungicola* などの近縁種とは各温度における生育量が大きく異なり, また *R. solani* に対する寄生様式の特徴からも, 供試菌株はいずれも日本では未記載の *V. biguttatum* と同定された.

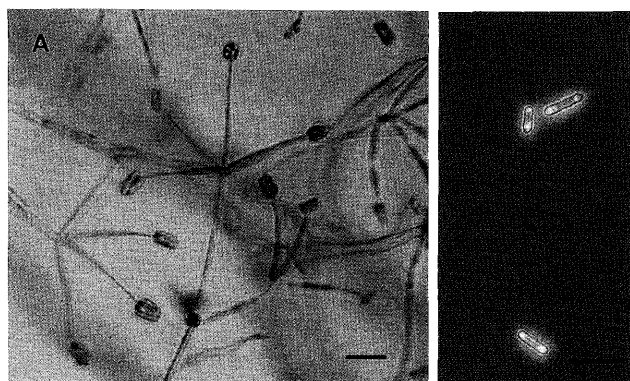
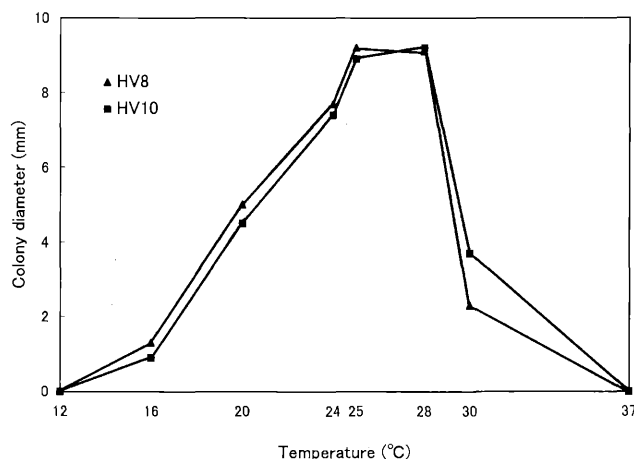
テンサイの *R. solani* による病害を対象とした生物的防除の主な研究には, *Pseudomonas* 属菌などの拮抗細菌^{8,14)}, *Trichoderma* 属菌や2核性 *Rhizoctonia* 属菌などの糸状菌^{1,5,19,23)}, ジャガイモクロバネキノコバエ¹⁶⁾ などの食菌

Table 1. Morphological comparison of conidia and phialides of *Verticillium* isolates with the description of *Verticillium biguttatum*

Characteristics	Species description by Gams and Zaayen ^{a)}	Isolates studied			
		HV 8		HV 10	
		Range	Mean ^{b)}	Range	Mean
Conidium					
Length (μm)	5.5–9.5	4.0–9.8	6.7	4.2–8.8	6.2
Width (μm)	1.5–2.2	2.3–3.3	2.8	2.4–3.3	2.7
Length/width ratio	2.7–4.5	1.4–3.3	2.3	1.5–3.4	2.3
Number of guttules	2 (3 rarely)	2–4	2.2	2–3	2.1
Phialide					
Length (μm)	18–30	20.0–40.3	30.4	23.8–36.9	30.3
Number	3–5	3–5	4.2	3–5	4.0

a) Gams and Zaayen (1982).

b) Values are means in 50 conidia or phialides.

Fig. 6. *Verticillium biguttatum* isolate HV8. (A) Branched conidiophores with verticillate whorls of phialides and conidial masses. Scale bar = 10 μm . (B) Differential interference microscopy of conidia. Scale bar = 10 μm .Fig. 7. Colony diameters (mm) of isolates HV8 and HV10 of *Verticillium biguttatum* grown for 4 days at different temperatures on malt extract agar.

性昆虫を用いたものがあり、いずれも発病抑制効果が認められている。しかし、拮抗細菌およびジャガイモクロバネキノコバエを用いた研究では苗立枯病に対してしか効果が認められていない。また、*Trichoderma* 属菌の一部は、育苗時における苗立枯病の病原菌として記載されているので¹⁰⁾、テンサイに適用するには問題がある。一方、本研究で用いた *V. biguttatum* は、苗立枯病ばかりでなく根腐病に対しても抑制効果があり、しかも植物に対しては病原性を示さなかった。また、本菌は生物依存栄養性(biotrophic)菌寄生菌とされ、*Trichoderma* 属菌などの多くの殺生菌とは異なって活動に基質を必要とせず、寄生した *R. solani* の菌叢全体の生育に影響を及ぼすことも生物的防除に利用する場合に有利な点とされている³⁾。

V. biguttatum はオランダおよびイギリスで *R. solani* AG3 による黒あざ病罹病ジャガイモ塊茎上の *R. solani* の菌核から分離され^{9,12)}、後にジャガイモ黒あざ病に対する抑制効果が認められている²²⁾。一方、我が国では、本菌を用いた生物的防除の研究例はこれまでなく、本研究は、*V. biguttatum* を *R. solani* AG2-2-IV によるテンサイの病害の生物的防除に適用した初めての報告である。

V. biguttatum の供試23菌株間で苗立枯病に対する抑制効果に差が認められた。しかし、培地上の実験では *R. solani* 菌糸に対する寄生の程度は、どの菌株でもほぼ同じであったことから、発病抑制効果の菌株間差は一つには土壤中における *R. solani* 菌糸への寄生能力の差異によるものと推察される。また、HV8 株施用区では、テンサイ種子への *R. solani* の寄生が抑制されたことから、*V. biguttatum* は土壤中の *R. solani* の菌糸に寄生してその活性を低下させ、菌糸伸長を抑制することによって、苗立枯病の発生を抑制するものと考えられる。HV8 株と HV10 株は圃場試

験においてテンサイ根腐病に対しても抑制効果を示した。これらの菌株の施用時期と *R. solani* の接種時期の間隔が近いほど、概して高い抑制効果がみられたことから、*V. biguttatum* 施用後の土壌中における本菌の定着性が効果に影響しているものと思われる。また、3回処理で最も高い効果が認められたが、これは *V. biguttatum* の反復施用により土壌中の本菌密度が高まったためと考えられる。

培地上での *V. biguttatum* と *R. solani* との相互作用について、Boogert ら²⁾ は *R. solani* の近傍を伸長していた *V. biguttatum* の菌糸は、主軸菌糸から側枝菌糸を伸ばし、*R. solani* 菌糸の細胞壁を貫通して菌糸細胞内に侵入し生育することを報告している。本研究の供試菌株における観察結果も、これら既往の報告とほぼ一致した。また、INT 染色により、*V. biguttatum* の菌糸は *R. solani* 菌糸の死細胞ではなく生細胞に着生すること、および本菌侵入後に、*R. solani* の菌糸細胞が死に至ることが観察され、Boogert ら³⁾ によって示されたとおり *V. biguttatum* は生物依存栄養性であることが確認された。

本研究で示した *V. biguttatum* の利用は、慣行の薬剤処理法に比べて施用方法が煩雑であり、また病害抑制効果もやや劣るため、現段階での実用化は難しい。しかし、テンサイの生産においても薬剤使用量の削減が求められることから、近い将来テンサイ苗立枯病や根腐病の総合防除における有用な技術の一つとなることが期待される。

摘 要

Rhizoctonia solani AG2-2-IV を繰り返し接種した北海道札幌市および河西郡芽室町の耕地土壌から菌寄生菌23菌株を分離した。分離菌株の多くは *R. solani* AG2-2-IV によるテンサイ苗立枯病を抑制したがその程度は菌株により異なった。分離菌株の中から最も抑制効果の高かった2菌株(HV8株, HV10株)を選抜した。これら2菌株は施用量が多いほどテンサイ苗立枯病に対する抑制効果が高く、またテンサイ種子への *R. solani* の寄生を強く抑制し、特に5%の濃度で処理した場合にはPCNB(40 ppm)処理と同等の抑制効果を示した。また両菌株はテンサイ根腐病に対しても、株元への1回処理および苗床、植穴、株元への計3回処理で明瞭な抑制効果を示した。光学顕微鏡観察の結果、分離菌株は *R. solani* 菌糸の生細胞に寄生し、本菌侵入後に *R. solani* の菌糸が死に至ることが明らかとなった。分離 *Verticillium* 属菌は、形態と生育温度からいずれも *Verticillium biguttatum* と同定された。

謝 辞

本研究を行うに当たり、*Verticillium* 属菌の同定に関して御助言を賜った北海道立北見農業試験場生産研究部長田村修博士に深甚の謝意を表します。

引用文献

1. Abada, K.A. (1994). Fungi causing damping-off and root-rot on sugar-beet and their biological control with *Trichoderma harzianum*. Agric. Ecosyst. Environ. 51: 333-337.
2. Boogert, P.H.J.F. van den and Jager, G. (1984). Biological control of *Rhizoctonia solani* on potatoes by antagonists. 3. Inoculation of seed potatoes with different fungi. Neth. J. Pl. Path. 90: 117-126.
3. Boogert, P.H.J.F. van den and Deacon, J.W. (1994). Biotrophic mycoparasitism by *Verticillium biguttatum* on *Rhizoctonia solani*. Eur. J. Plant Pathol. 100: 137-156.
4. Gams, W. and Zaayen, A. van (1982). Contribution to the taxonomy and pathogenicity of fungicolous *Verticillium* species. I. Taxonomy. Neth. J. Pl. Path. 88: 57-78.
5. Herr, L.J. (1988). Biocontrol of *Rhizoctonia* crown and root rot of sugar beet by binucleate *Rhizoctonia* spp. and *Laetisaria arvalis*. Ann. appl. Biol. 113: 107-118.
6. 北海道てん菜技術推進協会 (1981). てん菜根腐病 (*Rhizoctonia solani*) 発病調査基準 (てん研法). 昭和55年度てん菜の病害に関する試験成績書, pp. 90-96.
7. Homma, Y. and Suzui, T. (1989). Role of antibiotic production in suppression of radish damping-off by seed bacterization with *Pseudomonas cepacia*. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 55: 643-652.
8. Homma, Y., Chikuo, Y. and Ogoshi, A. (1991). Mode of suppression of sugar beet damping-off caused by *Rhizoctonia solani* by seed bacterization with *Pseudomonas cepacia*. Bull. SROP 14: 115-118.
9. Jager, G., ten Hoopen, A. and Velvis, H. (1979). Hyperparasites of *Rhizoctonia solani* in Dutch potato fields. Neth. J. Pl. Path. 85: 253-268.
10. 神沢克一 (1973). 紙筒育苗てん菜苗の苗枯病. てん菜技術連絡研究会発表論文集 13: 37-43.
11. Ko, W. and Hora, F.K. (1971). A selective medium for the quantitative determination of *Rhizoctonia solani* in soil. Phytopathology 61: 707-710.
12. Morris, R.A.C., Coley-Smith, J.R. and Whipps, J.M. (1992). Isolation of mycoparasite *Verticillium biguttatum* from sclerotia of *Rhizoctonia solani* in the United Kingdom. Plant Pathol. 41: 513-516.
13. Morris, R.A.C., Coley-Smith, J.R. and Whipps, J.M. (1994). Quantitative isolation of the mycoparasite *Verticillium biguttatum* from soil. Soil Biol. Biochem. 27: 793-799.
14. Mosa, A.A., Bbd-El-Sayed, Wafaa, M. and El-Kholi, M.M.A. (1997). Biological control of *Rhizoctonia* damping-off of sugar beet by *Pseudomonas fluorescens*. Arab Univ. J.

- Agri. Sci., Ain Shams Univ., Cairo 5: 433-447.
15. 内藤繁男・杉本利哉・山口武夫・藤沢一郎 (1975). てん菜の苗立枯病から分離した *Rhizoctonia solani* KÜHN の類別について. 北海道農試研究報告 111: 25-35.
 16. 内藤繁男・杉本利哉 (1988). ジャガイモクロバネキノコバエによるテンサイ苗立枯病の抑止. 日植病報 54: 317-318.
 17. 生越 明 (1972). *Rhizoctonia solani* KÜHN の菌糸融合による類別. 日植病報 38: 117-122.
 18. 佐山 充・古屋廣光・本間善久 (1993). テンサイ根腐病激発土壌および *Rhizoctonia solani* を繰り返し接種した土壌の抑止性について. 日植病報 59: 773 (講要).
 19. 内野浩克・神沢克一 (1985). テンサイ根腐病に関する研究 第 8 報 生物的防除法における *Rhizoctonia* 属菌利用の可能性について. てん菜研究会報 27: 65-70.
 20. 宇井格生 (1960). テンサイの主要病害とその研究. 甜菜研究会報告 2: 26-90.
 21. 宇井格生・松本広治・三井 康 (1958). 北海道における甜菜“葉腐病”の分布. 甜菜研究会報告 1: 5-14.
 22. Velvis, H. and Jagar, G. (1983). Biological control of *Rhizoctonia solani* on potatoes by antagonists. 1. Preliminary experiments with *Verticillium biguttatum*, a sclerotium-inhabiting fungus. Neth. J. Pl. Path. 89: 113-123.
 23. Walther, D. and Gindrat, D. (1988). Biological control of damping-off of sugar-beet and cotton with *Chaetomium globosum* or a fluorescent *Pseudomonas* sp. Can. J. Microbiol. 34: 631-637.
 24. Zimmerman, R., Iturriaga, R. and Becker-Birck, J. (1978). Simultaneous determination of the total number of aquatic bacteria and the number thereof involved in respiration. Appl. Environ. Microbiol. 36: 926-935.