

Trichoderma sp.

SKT-1株による6種のイネ種子伝染性病害の発病抑制効果

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	熊倉,和夫 渡辺,哲 豊島,淳 牧野,孝宏 市川,健 伊代住,浩幸 永山,孝三
発行元	日本植物病理學會
巻/号	69巻4号
巻号補足	
掲載ページ	p. 393-402
発行年月	2003年11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



Trichoderma sp. SKT-1 株による 6 種のイネ種子伝染性病害の発病抑制効果

熊倉 和夫^{1*}・渡辺 哲²・豊島 淳¹・牧野 孝宏³・市川 健⁴・伊代住 浩幸³・永山 孝三²

ABSTRACT

KUMAKURA, K.^{1*}, WATANABE, S.², TOYOSHIMA, J.¹, MAKINO, T.³, IYOZUMI, H.³, ICHIKAWA, T.⁴ and NAGAYAMA, K.² (2003). Effect of *Trichoderma* sp. SKT-1 on suppression of six different seedborne diseases of rice. Jpn. J. Phytopathol. 69: 393-402.

Strain SKT-1 of *Trichoderma* sp., when rice seeds were soaked in a suspension of its conidia at 4×10^4 – 1×10^6 conidia/ml, gave high control of “Bakanae” (foolish seedling) disease, that was nearly equivalent to that of seed disinfection with ipconazol-copper flowable. At 2×10^5 – 1×10^6 , it also gave high control of bacterial seedling blight, bacterial grain rot and bacterial brown stripe, nearly equivalent to those of seed disinfection with oxolinic acid wettable powder. At 1×10^7 , it also gave control of blast and brown spot in the stage of seedling, nearly equivalent to that of ipconazol-copper flowable. Typical pathogenic symptoms, such as damping-off, poor emergence and growth retardation, were not observed when rice seeds and seedling bed soil were treated with SKT-1. SKT-1 conidia and with those washed by centrifugation gave clear control against “Bakanae” disease and bacterial seedling blight was clearly seen, but neither SKT-1 conidia killed by autoclaving nor the supernatant solution from the centrifugation controlled disease. SKT-1 strain gave high control of “Bakanae” disease and bacterial seedling blight in treatments during soaking and germination. In post-seeding treatments of conidia at low concentrations, however, disease control of “Bakanae” disease decreased and bacterial seedling blight was not controlled by any SKT-1 concentration tested. Tests performed on the loss of disease control in combination with benomyl revealed that SKT-1 had lost its inhibitory effects against “Bakanae” disease by one day after seeding and against bacterial seedling blight by the time of seeding. In subsequent combined treatments, however, SKT-1 controlled both diseases.

(Received February 19, 2003; Accepted July 29, 2003)

Key words: biological control, seedborne disease, rice, *Trichoderma* sp. SKT-1.

緒 言

Gibberella fujikuroi によるイネばか苗病, *Pyricularia oryzae* よるイネいもち病, *Cochliobolus miyabeanus* よるイネごま葉枯病, *Burkholderia glumae* によるイネもみ枯細菌病, *Burkholderia plantarii* によるイネ苗立枯細菌病および *Acidovorax avenae* によるイネ褐条病は, イネ幼苗期に深刻な被害を与える種子伝染性病害であり, これらの育苗期の病害発生を防ぐために化学薬剤による種子消毒が一般

的に行われている. しかしながら, 近年, それら種子消毒剤の使用済廃液の処理が環境汚染の点で課題になっていることから, 環境汚染の少ない防除方法や防除資材の開発が望まれるようになり, 特に, 拮抗微生物による生物防除の研究 (Furuya *et al.*, 1991; 古屋ほか, 1992, 濱村, 1992; 宮川・高屋, 1990; 宮川・奥田, 1997; 宮川, 2000; 中保ほか, 1997; 奥田ほか, 1997; 奥田・宮川, 1998; 佐々木ほか, 1992; 角田・高屋, 1995; 角田ほか, 1995; 鳥越ほか, 1990; 對馬ほか, 1990) が盛んに行われている. 拮抗微生物を用いた防

¹ クミアイ化学工業株式会社研究開発部 (〒110-8782 東京都台東区池之端1-4-26) Kumiai Chemical Industry Co., Ltd., Research and Development Department, Taito-ku Tokyo 110-8782, Japan

² クミアイ化学工業株式会社生物科学研究所 (〒439-0031 静岡県小笠郡菊川町加茂3360) Kumiai Chemical Industry Co., Ltd., Life Science Research Institute, Kikugawa-cho Ogasa-gun Shizuoka 439-0031, Japan

³ 静岡県農業試験場 (〒438-0031 静岡県磐田郡豊田町富丘678-1) Shizuoka Agricultural Experiment Station, Toyoda-cho Iwata-gun Shizuoka 438-0803, Japan

⁴ 静岡県西部農林事務所 (〒430-0915 静岡県浜松市東田町87) Shizuoka Prefecture Seibu Agriculture and Forestry Office, Hamanatsu Shizuoka 430-0915, Japan

* Corresponding author (E-mail: k-kumakura@kumiai-chem.co.jp)

除法の開発は、環境負荷軽減という点で期待が持てるばかりでなく、化学薬剤による種子消毒で問題化している薬剤耐性菌（北村ほか, 1982; 小川ほか, 1982; 守川ほか, 1997）による問題を回避できる可能性がある。

筆者らは、土壌伝染性病害等の拮抗微生物として研究知見の多い *Fusarium* 属菌および *Trichoderma* 属菌を数種植物の根圏等から分離し、イネばか苗病および苗立枯細菌病の発病抑制効果の検討を行った。その結果、トマト根圏より分離した *Fusarium oxysporum* SNF-356 株とノシバ根圏より分離した *Trichoderma* sp. SKT-1 株が化学薬剤に匹敵する発病抑制効果を示した（熊倉ほか, 2003a）。また、両菌株の有効処理菌量は、SNF-356 株は 1.0×10^7 cfu/ml 以上、SKT-1 株は 1.0×10^5 cfu/ml 以上であり、SKT-1 株の方がより低菌量処理で効果を示すことが明らかとなった。更に、感染程度の異なる2種類のばか苗病感染種子を用い両者の発病抑制効果を調べた結果、SKT-1 株では種子の汚染程度に関わらず効果が安定していたが、SNF-356 株では重度感染種子を用いた試験で発病抑制効果が低下した（熊倉ほか, 2003a）。これらの結果より、SKT-1 株は、イネばか苗病および苗立枯細菌病の防除資材として実用性が高いことが示唆された。

イネ種子伝染性病害の生物防除としては、角田らの報告（奥田ほか, 1997; 奥田・宮川, 1998; 角田ほか, 1995）によるグラム陰性細菌 *Pseudomonas* sp. CAB-02 株が既に実用化されている。本菌株はイネもみ枯細菌病と苗立枯細菌病に対して化学薬剤による種子消毒に匹敵する高い効果を示すが、ばか苗病に対しては発病抑制効果を示す（角田ほか, 1995）ものの実用化には至っておらず、化学農薬と併用する必要がある。また、現在報告されているイネ種子伝染性病害の生物防除研究の多くが細菌性病害を対象としており、糸状菌病害、特に最重要防除対象とされるばか苗病については、CAB-02 株を含め数例の研究報告があるに過ぎず（濱村, 1992; 佐々木ほか, 1992; 角田ほか, 1995）、実用化に至っていない。従って、全ての種子伝染性病害防除を生物防除資材単独で行うまでには至っておらず、より広範な病害に効果を示す汎用性の高い菌株の探索が求められている。

今回、SKT-1 株の6種のイネ種子伝染性病害に対する発病抑制効果について検討したところ、ばか苗病と苗立枯細菌病以外にもみ枯細菌病菌による苗腐敗症に対しても高い発病抑制効果を有すること、育苗期の苗いもち病、ごま葉枯病および褐条病に対しても発病抑制効果を示すことがわかった。更に、本菌株のばか苗病および苗立枯細菌病発病抑制を発現する機序について若干の知見が得られたので

報告する。

実験材料および方法

供試菌およびその調整方法 著者らが、イネばか苗病および苗立枯細菌病に高い発病抑制効果を示す菌株として選抜した *Trichoderma* sp. SKT-1 株（熊倉ほか, 2003a）を供試した。SKT-1 株の分生子をスキムミルク液（10% スキムミルク、1% グルタミン酸）に懸濁して -80°C で凍結保存した菌株を、湯煎（ $40\sim 45^{\circ}\text{C}$ ）で解凍後、懸濁液を径9cmのプラスチックシャーレに作成したジャガイモ煎汁ブドウ糖寒天（PDA）培地（Difco）に移植した。 27°C で7～9日間培養後、蒸留水を1シャーレ当たり10ml加え、菌叢表面に形成された分生子をガラス棒で軽くなぞって掻き取った。各病害の発病抑制効果検定には、これに蒸留水を加え $4 \times 10^4 \sim 1 \times 10^7$ 個/ml に菌量を調整した分生子懸濁液を用いた。

SKT-1 株の各種イネ種子伝染性病害に対する発病抑制効果検定

(1) ばか苗病に対する発病抑制効果 PDA 培地で 27°C 、9日間培養により得られたイネばか苗病菌 (*G. fujikuroi*) (N-34 株, クミアイ化学工業株式会社生物科学研究所) の菌糸片をジャガイモ煎汁ブドウ糖 (PD) 培地 (Difco) に移植し、 27°C 、3日間振とう培養 (180 rpm) 後、四重のガーゼで濾過し滅菌蒸留水を加え bud cell 懸濁液 (1×10^5 cfu/ml) を調製した。この bud cell 懸濁液をイネ (品種: 短銀坊主) の開花期と穂摘期に 1m^2 当たり 50 ml の割合で噴霧接種し、ここから収穫したばか苗病菌開花期接種種子を供試した。SKT-1 株の分生子懸濁液 ($4 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ 個/ml) にこの接種種子を 15°C で5日間浸漬処理した後、余分な菌液を捨て 32°C の湿室内に24時間保って催芽させた。催芽種子を育苗培土 (パールマット1号, 片倉チッカリン社) を充填した径6cmのプラスチックカップに1ポット当たり4g (約100粒) 播種し、播種後3日間、 30°C の育苗庫内 (暗所) に保ち、更に $20\sim 25^{\circ}\text{C}$ のガラス温室内で13～16日間育苗した。その後、発病苗数を調査し、発病苗率および防除価を次式により算出した。対照には、イブコナゾール・銅フロアブル剤の200倍、24時間浸漬処理区を設けた。各処理区、対照区および無処理区とも試験は1区1ポット、3反復で行った。

防除価 = $\{1 - (\text{処理区の発病苗率} / \text{無処理区の発病苗率})\}$

$\times 100$

(2) 苗いもち病に対する発病抑制効果 静岡県菊川町、クミアイ化学工業株式会社生物科学研究所内の穂いもち多発圃場より採種したいもち病汚染種子 (品種: 関東90号) を

供試した. SKT-1 株の分生子懸濁液 ($4 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ 個/ml) にこの種子を 15°C で 5 日間浸漬処理した後, 余分な菌液を捨て 32°C の湿室内に 24 時間保って催芽させた. 催芽種子を育苗培土 (宇部粒状培土 2 号, 宇部興産) を充填した 9×12.5 cm のプラスチック容器に 1 ポット当たり 12 g (約 300 粒) 播種し, 25°C の過湿状態を保った温室で 15 日間育苗した. その後, ばか苗病に対する発病抑制効果試験と同様に発病苗数を調査し, 発病苗率および防除価を算出した. 対照には, イブコナゾール・銅フロアブル剤の 200 倍, 24 時間浸漬処理区を設けた. 各処理区, 対照区および無処理区とも試験は 1 区 1 ポット, 3 反復で行った.

(3) ごま葉枯病に対する発病抑制効果 静岡県菊川町, クミアイ化学工業株式会社生物科学研究所内圃場より採種したごま葉枯病汚染種子 (品種: 黄金晴) を供試した. SKT-1 株の分生子懸濁液 ($4 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ 個/ml) にこの種子を 15°C で 5 日間浸漬処理した後, 余分な菌液を捨て 32°C の湿室内に 24 時間保って催芽させた. 催芽種子を育苗培土 (宇部粒状培土 2 号, 宇部興産) を充填した 9×12.5 cm のプラスチック容器に 1 ポット当たり 12 g (約 300 粒) 播種し, 25°C の過湿状態を保った温室で 15 日間育苗した. その後, ばか苗病に対する発病抑制効果試験と同様に発病苗数を調査し, 発病苗率および防除価を算出した. 対照には, イブコナゾール・銅フロアブル剤の 200 倍, 24 時間浸漬処理区を設けた. 各処理区, 対照区および無処理区とも試験は 1 区 1 ポット, 3 反復で行った.

(4) 苗立枯細菌病に対する発病抑制効果 イネ苗立枯細菌病菌 (*B. plantarii*) (BP-903 株, クミアイ化学工業株式会社生物科学研究所) を PD 培地 (Difco) で 28°C , 48 時間振とう培養 (180 rpm) 後, 蒸留水を加え調製した細菌懸濁液 ($3 \times 10^6 \sim 6 \times 10^6$ cfu/ml) をイネ (品種: 黄金晴) の開花期と穂揃期に 1 m^2 当たり 50 ml の割合で噴霧接種し, ここから収穫したイネ苗立枯細菌病菌開花期接種種子を供試した. SKT-1 株の分生子懸濁液 ($4 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ 個/ml) にこの接種種子を 15°C で 5 日間浸漬処理した後, 余分な菌液を捨て 32°C の湿室内に 24 時間保って催芽させた. 催芽種子を育苗培土 (宇部粒状培土 2 号, 宇部興産) を充填した径 6 cm のプラスチックカップに 1 ポット当たり 4 g (約 100 粒) 播種し, 播種後 3 日間, 30°C の育苗庫内に保ち, 更に 25°C の過湿状態を保った温室で 10~12 日間育苗した. その後, ばか苗病に対する発病抑制効果試験と同様に発病苗数を調査し, 発病苗率および防除価を算出した. 対照には, オキシソニック酸水和剤の 200 倍, 24 時間浸漬処理区を設けた. 各処理区, 対照区および無処理区とも試験は 1 区 1 ポット, 3 反復で行った.

(5) もみ枯細菌病 (苗腐敗症) に対する発病抑制効果 イネもみ枯細菌病菌 (*B. glumae*) (BG-81 株, クミアイ化学工業株式会社生物科学研究所) を PD 培地で 28°C , 52 時間振とう培養後, 蒸留水を加え調製した細菌懸濁液 (3.8×10^9 cfu/ml) にイネ (品種: 黄金晴) 種子を浸漬し, 15 分間の減圧処理を 15 分毎に 3 回行うことにより得られた減圧接種種子を供試した. SKT-1 株の分生子懸濁液 ($4 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ 個/ml) に, この接種種子を 15°C で 5 日間浸漬処理した後, 余分な菌液を捨て 32°C の湿室内に 24 時間保って催芽させた. 催芽種子を育苗培土 (宇部粒状培土 2 号, 宇部興産) を充填した径 6 cm のプラスチックカップに 1 ポット当たり 4 g (約 100 粒) 播種し, 播種後 3 日間, 30°C の育苗庫内に保ち, 更に 25°C の過湿状態を保った温室で 12 日間育苗した. その後, ばか苗病に対する発病抑制効果試験と同様に発病苗数を調査し, 発病苗率および防除価を算出した. 対照には, オキシソニック酸水和剤の 200 倍, 24 時間浸漬処理区を設けた. 各処理区, 対照区および無処理区とも試験は 1 区 1 ポット, 3 反復で行った.

(6) 褐条病に対する発病抑制効果 イネ褐条病菌 (*A. avenae*) (PA-01 株, クミアイ化学工業株式会社生物科学研究所) を PD 培地で 28°C , 52 時間振とう培養後, 蒸留水を加え調製した細菌懸濁液 (2.8×10^8 cfu/ml) にイネ (品種: 黄金晴) 種子を浸漬し, 15 分間の減圧処理を 15 分毎に 3 回行うことにより得られた減圧接種種子を供試した. SKT-1 株の分生子懸濁液 ($4 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ 個/ml) に, この接種種子を 15°C で 5 日間浸漬処理した後, 余分な菌液を捨て 32°C の湿室内に 24 時間保って催芽させた. 催芽種子を育苗培土 (宇部粒状培土 2 号, 宇部興産) を充填した径 6 cm のプラスチックカップに 1 ポット当たり 4 g (約 100 粒) 播種し, 播種後 3 日間, 30°C の育苗庫内に保ち, 更に 25°C の過湿状態を保った温室で 9 日間育苗した. その後, ばか苗病に対する発病抑制効果試験と同様に発病苗数を調査し, 発病苗率および防除価を算出した. 対照には, オキシソニック酸水和剤の 200 倍, 24 時間浸漬処理区を設けた. 各処理区, 対照区および無処理区とも試験は 1 区 1 ポット, 3 反復で行った.

SKT-1 株のイネ生育に及ぼす影響

(1) 種子処理による影響 発病抑制効果検定と同様の方法により, 上記 6 種の種子伝染性病害の発生が認められないことを確認した 11 品種のイネ種子 (コシヒカリ, キヌヒカリ, あきたこまち, ひとめぼれ, ニホンマサリ, シズヒカリ, アキニシキ, 金南風, 黄金晴, 関東 90 号, 短銀坊主: クミアイ化学工業株式会社生物科学研究所産) を供試した. この種子を蒸留水に 15°C , 5 日間浸漬した後, $1.0 \times$

10⁷個/mlに調製したSKT-1株の分生子懸濁液中に浸し30℃の恒温器内に24時間保って催芽させた。育苗培土（宇部粒状培土2号，宇部興産）を充填した9×12.5 cmのプラスチック容器に，催芽種子を1ポット当たり12 g（約300粒）播種し，播種後3日間，30℃の育苗庫内に保ち，更20～25℃のガラス温室内で18日間育苗した。播種3日後に出芽率を，育苗期間中に立枯症状の発生の有無を調査した。対照として，蒸留水中で催芽させた区（無処理区）を設けた。処理区および無処理区とも試験は1区1ポット，3反復で行った。

(2) 育苗培土処理による影響 上記試験で用いたコシヒカリの種子を供試した。種子を蒸留水に15℃，5日間浸漬した後，水を切り30℃の湿室内に24時間保って催芽させた。SKT-1株の分生子を乾土1 gあたり1.0×10⁷個となるよう接種した育苗培土（宇部粒状培土2号，宇部興産）を9×12.5 cmのプラスチック容器に充填し，催芽種子を1ポット当たり12 g（約300粒）播種した。その後，上記試験と同様に育苗を行い，播種3日後に出芽率を，育苗期間中に立枯症状の発生の有無を調査した。対照として，SKT-1株無接種区（無処理区）を設けた。処理区および無処理区とも試験は1区1ポット，3反復で行った。

SKT-1株の生菌体と死菌体のばか苗病および苗立枯細菌病発病抑制効果 SKT-1株の分生子（1×10⁷個/ml），オートクレーブ処理により死滅させた分生子，遠心分離処理により洗浄した分生子およびその上清液を供試し，各々のばか苗病および苗立枯細菌病発病抑制効果を調べた。供試種子，供試材料（ポット，培土），連制，浸種，催芽，播種後の育苗管理等の試験条件および調査方法は前述のばか苗病および苗立枯細菌病の発病抑制効果検定法に従った。

SKT-1株の処理時期別ばか苗病および苗立枯細菌病発病抑制効果 第1図に示した通り，SKT-1株分生子懸濁

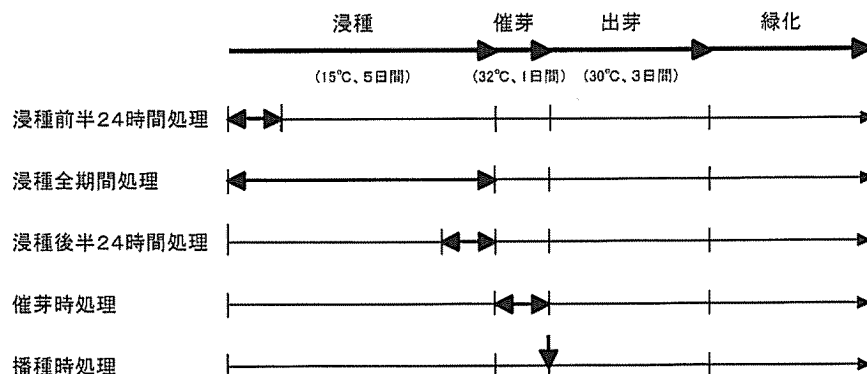
液を浸種開始から24時間処理，浸種の全期間処理，浸種の後半24時間処理，加温催芽時の24時間処理および催芽後播種時の播種面処理の各区を設け，ばか苗病および苗立枯細菌病発病抑制効果を調べた。供試種子，供試材料，連制，催芽，播種後の育苗管理等の試験条件および調査方法は前述のばか苗病および苗立枯細菌病の発病抑制効果検定法に従った。

SKT-1株とベノミル剤併用処理によるばか苗病および苗立枯細菌病発病抑制効果 SKT-1株分生子懸濁液にベノミル水和剤（ベノミル50%）を500 ppmの濃度で加用し各種子を24時間浸漬処理した区，SKT-1株分生子懸濁液に各種病種子を24時間浸漬処理し，播種時，播種1日後，3日後，5日後および7日後にベノミル水和剤500 ppm懸濁液を1ポットあたり15 ml灌注処理した区を設け，ばか苗病および苗立枯細菌病発病抑制効果を調べた。供試種子として，ばか苗病発病抑制効果試験には，ベノミル耐性イネばか苗病菌（*G. fujikuroi*）（N-68株，ベノミル感受性：MIC値>1000 ppm，クミアイ化学工業株式会社生物科学研究所）をPD培地で27℃，3日間振とう培養後，滅菌蒸留水で希釈し調製したbud cell懸濁液（7×10⁴ cfu/ml）をイネ（品種：短銀坊主）の開花期と穂揃期に1 m²当たり50 mlの割合で噴霧接種し，収穫したばか苗病菌開花期接種種子を供試した。苗立枯細菌病発病抑制効果試験には，前述と同じ種子を供試した。また，供試材料，連制，浸種，催芽，播種後の育苗管理等の試験条件および調査方法は前述のばか苗病および苗立枯細菌病の発病抑制効果検定法に従った。

実験結果

SKT-1株の各種イネ種子伝染性病害に対する発病抑制効果

SKT-1株の各イネ種子伝染性病害に対する発病抑制効



第1図 *Trichoderma* sp. SKT-1株の処理時期と処理方法。

果について、分生子懸濁液のイネ種子浸漬処理で評価したところ、ばか苗病に対しては、 4×10^4 、 2×10^5 および 1×10^6 個/mlの処理で対照のイブコナゾール・銅フロアブルの200倍浸漬処理とほぼ同等の高い発病抑制効果が認められた。苗いもち病およびごま葉枯病に対しては、 2×10^6 および 1×10^7 個/ml処理で無処理区に比べて有意な発病抑制効果が認められ、 1×10^7 個/ml処理では対照のイブコナゾール・銅フロアブルの200倍浸漬処理とほぼ同等の発病抑制効果が認められたが、 4×10^5 個/ml処理では無処理区との間に有意な差はなかった。苗立枯細菌病およびもみ枯細菌病（苗腐敗症）に対しては、 2×10^6 および 1×10^6 個/mlの処理で対照のオキシリニック酸水和剤とほぼ同等の発病抑制効果が認められた。褐条病では、 4×10^4 、 2×10^5 および 1×10^6 個/ml処理で無処理区に比べ有意な差が認められ、 2×10^5 および 1×10^6 個/ml処理は対照のオキシリニック酸水和剤とほぼ同等であった。なお、無処理区における発病は、ばか苗病、苗立枯細菌病およびもみ枯細菌病では発病苗率100%であった（第2図）。

SKT-1 株のイネ生育に及ぼす影響

イネ11品種を供試して、SKT-1 株の分生子懸濁液（ 1×10^7 個/ml）を催芽時に浸漬処理したところ、育苗期間中に種子や根のまわりに SKT-1 株と思われる菌塊の発生は認

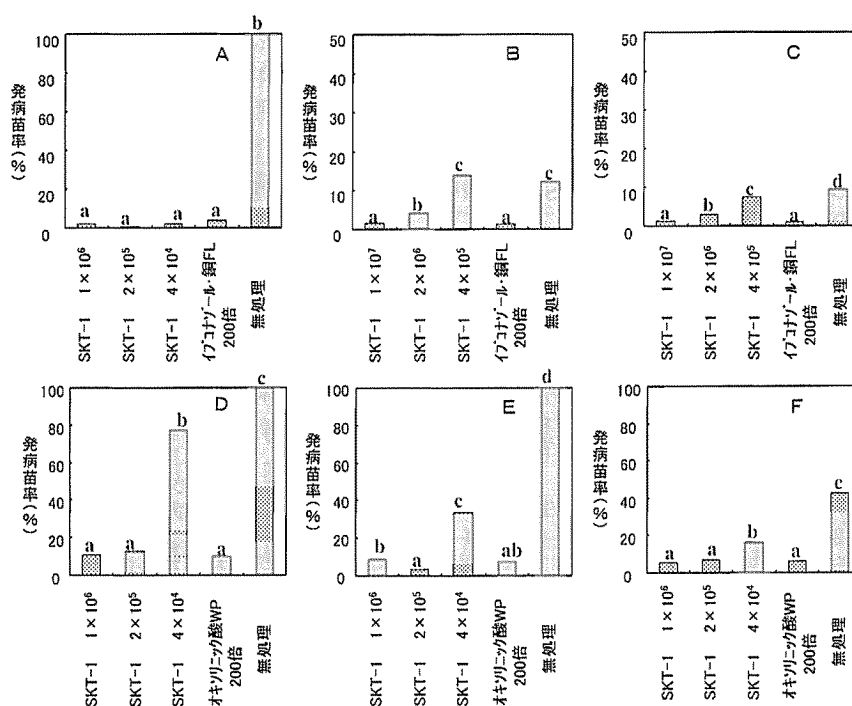
められたもの出芽程度は各品種とも無処理区と差がなく、立枯症状を示す苗の発生も認められなかった（第1表）。また、コシヒカリについて、乾土 1×10^7 個の育苗培土接種による影響を調べたが、種子処理同様に発芽程度は無処理区とほぼ同等であり、立枯症状を示す苗の発生も認められなかった。（第2表）。

SKT-1 株の生死がばか苗病および苗立枯細菌病の発病抑制に及ぼす影響

ばか苗病および苗立枯細菌病に対する発病抑制効果は、分生子と遠心分離処理で洗浄した分生子で明らかに認められたが、オートクレーブ処理により死滅させた分生子および上清液には認められなかった（第3表）。

SKT-1 株の処理時期別ばか苗病および苗立枯細菌病発病抑制効果

ばか苗病に対する発病抑制効果は、浸種時の各処理と催芽時処理では差がなく、 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 個/mlで防除価99.5~100%と高かった。しかし、播種時処理では 1×10^6 個/ml処理は防除価99.4%と高い効果が認められたが、 1×10^5 個/ml処理では無処理区に比べて有意な効果が認められるものの浸種処理や催芽時処理の同菌量処理に比べて明らかに劣った。一方、苗立枯細菌病では、浸種全期間処理、浸種時後半24時間処理および催芽時処理では 1×10^6 個



第2図 *Trichoderma* sp. SKT-1 株の各種イネ種子伝染性病害に対する発病抑制効果。

A: ばか苗病 B: いもち病 C: ごま葉枯病 D: 苗立枯細菌病 E: もみ枯細菌病 F: 褐条病

同一英小文字を付した値間には、Tukeyの多重比較検定 ($P=0.05$) による有意差がないことを示す。統計処理は Arcsin $\sqrt{\%}$ 変換数値に関して行った。

第 1 表 イネ 11 品種の生育に及ぼす SKT-1 株の種子処理の影響

供試品種	種子処理 ^{a)}	出芽率 (%)	立枯苗発生の有無 ^{b)}	着菌程度 ^{c)}
コシヒカリ	SKT-1	96.3	—	++
	無処理	98.1	—	—
キヌヒカリ	SKT-1	97.7	—	+
	無処理	96.6	—	—
あきたこまち	SKT-1	98.2	—	+
	無処理	98.1	—	—
ひとめぼれ	SKT-1	97.9	—	+
	無処理	98.8	—	—
ニホンマサリ	SKT-1	95.9	—	+
	無処理	96.2	—	—
シズヒカリ	SKT-1	98.1	—	+
	無処理	97.4	—	—
アキニシキ	SKT-1	97.3	—	++
	無処理	97.5	—	—
金南風	SKT-1	96.6	—	++
	無処理	97.2	—	—
黄金晴	SKT-1	97.7	—	+
	無処理	98.1	—	—
関東90号	SKT-1	96.1	—	+
	無処理	94.9	—	—
短銀坊主	SKT-1	96.3	—	++
	無処理	95.9	—	—

a) SKT-1 株処理区では、催芽時に 1.0×10^7 個/ml の分生子懸濁液中へ種子を浸漬処理。

b) 出芽後に立枯症状を示す苗の発生につき—；発生なし，+；発生，で示した。

c) 種子及び根部における *Trichoderma* 菌の菌圃発生程度を—；発生なし，+；20%未満の個体に発生，++；20%以上の個体に発生，で示した。

第 2 表 イネ（品種：コシヒカリ）の生育に及ぼす SKT-1 株の育苗培土接種の影響

処理 ^{a)}	出芽率 (%)	立枯苗発生の有無 ^{b)}	着菌程度 ^{c)}
SKT-1 株	97.7	—	+
無処理	98.1	—	—

d) SKT-1 株処理区では、育苗培土へ分生子を乾土 1 g あたり 1.0×10^7 個となるよう接種。

e) 出芽後に立枯症状を示す苗の発生につき—；発生なし，+；発生，で示した。

f) 種子及び根部における *Trichoderma* 菌の菌圃発生程度を—；発生なし，+；20%未満の個体に発生，++；20%以上の個体に発生，で示した。

/ml 処理で防除価が 99.5～100%， 1×10^5 個/ml 処理で防除価がそれぞれ 83.4%，92.7% および 90.8% と高い発病抑制効果が認められた。浸種前半 24 時間処理では 1×10^6 個/ml 処理で防除価 92.0% と高い発病抑制効果が認められたが、 1×10^5 個/ml では上記 3 処理に比べて効果が劣る傾向

にあった。播種時処理では 1×10^6 個/ml で発病抑制効果が認められなかった（第 4 表）。

ベノミル剤併用処理が SKT-1 株のばか苗病および苗立枯細菌病発病抑制効果に及ぼす影響

ベノミル耐性イネばか苗病菌を接種した罹病籾を用いて、SKT-1 株を浸種時に処理し、ベノミルを同時に浸漬処理、播種時、播種 1 日後（出芽処理 1 日目）、播種 3 日後（出芽処理 3 日目）、播種 5 日後および播種 7 日後に灌注処理したときの発病抑制効果を調べたところ、浸種同時処理、播種時および播種 1 日後（出芽処理 1 日目）までの処理は発病抑制効果が消失したのに対して、播種 3 日後（出芽処理 3 日目）以降では発病抑制効果が発現された（第 5 表）。同様に苗立枯細菌病発病抑制効果についても検討したところ、ベノミルの同時処理と播種時処理では発病抑制効果が消失したのに対して、播種 1 日後（出芽処理 1 日目）以降の処理では発病抑制効果が発現された（第 6 表）。

第3表 SKT-1株の生死がイネばか苗病および苗立枯細菌病の発病抑制に及ぼす影響

種子処理 ^{a)}	ばか苗病		苗立枯細菌病	
	発病苗率 (%) ^{b)}	防除価 (%)	発病苗率 (%) ^{b)}	防除価 (%)
生菌体 (分生子)	0.0a	100	1.0a	99.0
洗浄胞子	1.1a	98.9	5.1a	94.9
熱処理による死滅胞子	100 b	0	94.4b	5.6
遠心上清液	100 b	0	100 b	0
無処理	100 b	—	100 b	—

a) 処理の浴比は何れの処理とも 1:1 (体積比). 何れも 1×10^7 個/ml 分生子懸濁液より調製した.

b) 同一英小文字を付した数値間には, Tukey の多重比較検定 ($p=0.05$) による有意差がないことを示す. 統計処理は $\text{Arcsin}\sqrt{\%}$ 変換数値に関して行なった.

第4表 SKT-1株の処理時期別のイネばか苗病および苗立枯細菌病発病抑制効果

処理時期・方法 ^{a)}	処理菌量 (個/ml)	ばか苗病		苗立枯細菌病	
		発病苗率 (%) ^{b)}	防除価 (%)	発病苗率 (%) ^{b)}	防除価 (%)
浸種前半24時間処理	1×10^6	0 a	100	8.0b	92.0
	1×10^5	0 a	100	45.6d	54.4
浸種全期間処理	1×10^6	0 a	100	0 a	100
	1×10^5	0 a	100	16.6c	83.4
浸種後半24時間処理	1×10^6	0 a	100	0 a	100
	1×10^5	0.5a	99.5	7.3b	92.7
催芽時処理	1×10^6	0 a	100	1.0a	99.5
	1×10^5	0.4a	99.6	9.2b	90.8
播種時処理	1×10^6	0.6a	99.4	99.4f	0.1
	1×10^5	26.6b	73.4	89.1e	10.9
無処理	—	100 c	—	100 f	—

a) 種子処理は浴比 1:1 (体積比). 播種時処理では育苗箱 (30 cm×60 cm) 換算で 500 ml 相当量を播種時に灌注処理.

b) 同一英小文字を付した数値間には, Tukey の多重比較検定 ($p=0.05$) による有意差がないことを示す. 統計処理は $\text{Arcsin}\sqrt{\%}$ 変換数値に関して行なった.

第5表 SKT-1株とベノミルの同時種子処理および灌注処理との体系によるイネばか苗病発病抑制効果

処理 ^{a)}	発病苗率 (%) ^{b)}
SKT-1 (種子浸漬処理)	0.2a
SKT-1 (種子浸漬処理) + ベノミル水和剤500倍 (同時種子浸漬処理)	18.7d
SKT-1 (種子浸漬処理) + ベノミル水和剤500倍 (播種時灌注処理)	20.2d
SKT-1 (種子浸漬処理) + ベノミル水和剤500倍 (播種1日後灌注処理)	15.7c
SKT-1 (種子浸漬処理) + ベノミル水和剤500倍 (播種3日後灌注処理)	1.7b
SKT-1 (種子浸漬処理) + ベノミル水和剤500倍 (播種5日後灌注処理)	0.6a
SKT-1 (種子浸漬処理) + ベノミル水和剤500倍 (播種7日後灌注処理)	0.6a
イブコナゾール・銅 FL 200倍 (種子浸漬処理)	0.8a
無処理	53.2e

a) 種子処理は浸種前24時間浸漬処理 (処理の浴比は体積比 1:1). SKT-1 株の処理量は 1×10^6 個/ml. 灌注処理では育苗箱 (30 cm×60 cm) 換算で 500 ml 相当量を処理.

b) 同一英小文字を付した数値間には, Tukey の多重比較検定 ($p=0.05$) による有意差がないことを示す. 統計処理は $\text{Arcsin}\sqrt{\%}$ 変換数値に関して行なった.

考 察

Trichoderma sp. SKT-1 株の浸種時イネ種子処理による6種のイネ種子伝染性病害に対する発病抑制効果を調査し

たところ, ばか苗病に対して 4×10^4 個/ml 以上の処理菌量で, 苗立枯細菌病およびもみ枯細菌病 (苗腐敗症) に対して 2×10^5 個/ml 以上の処理菌量で, 対照薬剤のイブコナゾール・銅フロアブルまたはオキシリニック酸水和剤の種

第 6 表 SKT-1 株とベノミルの同時種子処理および灌注処理との体系によるイネ苗立枯細菌病発病抑制効果

処理 ^{a)}	発病苗率 (%) ^{b)}
SKT-1 (種子浸漬処理)	27.5a
SKT-1 (種子浸漬処理) + ベノミル水和剤500倍 (同時種子浸漬処理)	74.0b
SKT-1 (種子浸漬処理) + ベノミル水和剤500倍 (播種時灌注処理)	79.9c
SKT-1 (種子浸漬処理) + ベノミル水和剤500倍 (播種 1 日後灌注処理)	30.4a
SKT-1 (種子浸漬処理) + ベノミル水和剤500倍 (播種 3 日後灌注処理)	30.2a
オキシソニック酸水和剤200倍 (種子浸漬処理)	29.0a
無処理	70.2b

a) 種子処理は浸種前24時間浸漬処理 (処理の浴比は体積比 1 : 1). SKT-1 株の処理量は 1×10^6 個/ml. 灌注処理では育苗箱 (30 cm $\times$ 60 cm) 換算で 500 ml 相当量を処理.

b) 同一英小文字を付した数値間には, Tukey の多重比較検定 ($p=0.05$) による有意差がないことを示す. 統計処理は $\text{Arcsin}\sqrt{\%}$ 変換数値に関して行なった.

子消毒とはほぼ同等の発病抑制効果が認められた. これら病害防除試験で SKT-1 株は, 無処理区の発病苗率が何れも 100% と激しい発病状況であるにもかかわらず化学薬剤による種子消毒と同等の効果を示したことから, 育苗期間中に発生するこれら 3 病害の防除資材として実用性が高いと考えられる. また, 育苗期に発生する苗いもち病およびごま葉枯病に対して 1×10^7 個/ml 処理の処理で, 褐条病に対して 2×10^6 個/ml 以上の処理で対照薬剤のイブコナゾール・銅フロアブルまたはオキシソニック酸水和剤の種子消毒とはほぼ同等の発病抑制効果が認められた. これら病害に対する発病抑制効果は, 前述の 3 病害のように激発条件下での結果ではないものの, 通常の育苗においては大きな被害を与える発病状況といえることから, 化学薬剤と同等の効果を示すこれら菌量では実用化の可能性があると考えられる. 従って, SKT-1 株は, 2×10^6 個/ml 以上の種子浸漬処理で育苗時におけるばか苗病および 3 種の細菌性病害の防除が, また, 1×10^7 個/ml 以上の処理で同時期の苗いもち病およびごま葉枯病の同時防除ができる可能性が示唆され, 種子伝染による広範な病害の育苗時の防除に有効な点から有用性が高いと考えられた.

Trichoderma 属菌を用いたイネ育苗中に発生する病害の防除研究としては, 育苗箱中に発生する *Fusarium* sp. によるイネ苗立枯病に対する防除報告はあるが (市田ほか, 1974), イネ種子伝染性病害についての報告はなく, 本報による SKT-1 株が初めての報告となる. また, *Trichoderma* 属菌を植物の種子に処理して病害防除を試みる例としては, ワタ, コムギ, エンドウ, ハツカダイコン, キュウリ, トマトなど数多くの研究事例があるが (Chao *et al.*, 1986; Harman *et al.*, 1981, 1989; Harman, 1991; Lifshitz *et al.*, 1986; Sivan *et al.*, 1987; Sivan and Chet, 1989; Taylor and Harman, 1990; Vannacci and Harman, 1987), *Pythium*

spp., *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani* などの土壌病害についての研究, 即ち種子処理があくまで拮抗微生物の根圏定着のための導入手段として用いられているものが多く, 種子伝染性病害の防除に利用した例 (Vannacci and Harman, 1987) はそれら土壌病害に比べると報告数は少ない.

Trichoderma 属菌の病害としては, イネでは茨木 (茨木, 1974) により苗立枯病の報告があり, *T. viride* が病原菌として日本植物病名目録に記載されている (日本植物病理学会編, 2000). 本病は主に育苗土を介して伝染し, pH 4.0 以下の酸性土壌, 保水力の小さい土壌, 緑化開始期の低温などの条件で発病が助長されるとされている (大畑, 1998). 上記のイネ種子伝染性病害の発生が認められない 11 のイネ品種を供試し, SKT-1 株の種子処理によるイネ苗の生育に及ぼす影響について調べた結果, 何れの品種においても育苗期間中に種子や根のまわりに SKT-1 株と思われる菌塊の発生は認められたが, 出芽不良および立枯症状は認められなかった. また, 品種コシヒカリを使って感染の実態に近い育苗土接種についても検討を行ったが, 種子処理同様に病徴は認められなかった. 従って, 今回の試験結果から, SKT-1 株はイネに対して通常の育苗では病原性を示さず, 生物防除に用いる菌として問題ないものと考えられた.

SKT-1 株のばか苗病および苗立枯細菌病に対する発病抑制効果は, 分生子処理および遠心分離処理により洗浄した分生子処理で明らかに認められたが, その上清液および熱処理により死滅させた分生子では認められなかった. このことから, 発病抑制効果発現には, 菌の生存が不可欠であることがわかった. 次に, 処理した生菌体がどの時期に作用するのか確認すべく, 処理時期別のばか苗病および苗立枯細菌病の発病抑制効果について調べたところ, 両病害に対して浸種期および催芽時の処理では高い発病抑制効果

が認められたが、播種時の処理では、ばか苗病に対しては低菌量処理区で発病抑制効果が低下し、苗立枯細菌病では供試した処理量では殆ど発病抑制効果が認められなかった。更に、殺菌剤ベノミルが SKT-1 株に対し強い抗菌力を示し、その生物防除活性を打ち消すことが確認されている（熊倉ほか, 2003b）ことから、ベノミル併用による SKT-1 株の発病抑制効果消失時期を調べたところ、ばか苗病では播種 1 日後（出芽処理 1 日目）まで、苗立枯細菌病では播種時処理までの併用処理で発病抑制効果が消失したものの、それ以降の併用処理では発病抑制効果が発現された。

これら一連の結果より、ばか苗病では催芽から出芽処理の期間、苗立枯細菌病では催芽期間に、SKT-1 株による発病抑制効果が発現することがわかった。SKT-1 株は、ばか苗病菌と対峙培養すると菌糸の接触部でばか苗病菌の菌糸を溶菌すること、液体培地での共存培養によりばか苗病菌を死滅させ、もみ枯細菌病菌の増殖を抑制することが明らかにされている（渡辺ほか, 2002）。ばか苗病菌および苗立枯細菌病菌は、催芽から出芽処理の加温条件下で急激に増殖し最も感染が促されるとされるが、SKT-1 株はこの加温条件下にある催芽～播種後の出芽までの過程でイネの種子周辺、幼芽或いは根圏で生育域を拡大し、病原菌と拮抗や競合することにより病害の発病を抑制しているものと推察される。奥田・宮川は、イネ種子に拮抗細菌 CAB-02 株の細菌懸濁液を催芽時に浸漬処理（32°C, 24 時間）をすることで、播種後から出芽時にかけて CAB-02 が対数的に増殖しもみ枯細菌病菌の増殖を阻害し発病抑制効果が発現するとしている（奥田・宮川, 1998）。今後、SKT-1 株のばか苗病および苗立枯細菌病に対する発病抑制機構を解明するには、催芽から出芽時における感染種子の発病に至るまでの病原菌と SKT-1 株の動態およびその相互作用を詳細に調べ、その上で *Trichoderma* 菌による生物防除で一般に報告されているような溶菌酵素（Harman and Kubicek, 1998; Haran *et al.*, 1996）や抗菌性物質（Almassi *et al.*, 1991; Claydon *et al.*, 1987）の関与について検証いく必要があると考えられる。

化学薬剤による種子消毒では、種子を薬液に浸漬処理する段階やその後の水へ浸種の段階で有効成分がイネ種子内部に浸透し、その有効成分の抗菌作用により種子表面や内部に存在する病原菌を殺菌或いは増殖を抑制することにより発病抑制効果を発現する（Hikichi, 1993; 曳地, 1993; Tateishi *et al.*, 1998; 和田ほか, 1991）。しかしながら、SKT-1 株では化学薬剤のように処理から浸種の段階で病原菌を抑制するのではなく、加温条件下での催芽から出芽

時に作用し防除効果を示すことがわかった。従って本菌株を用いてこれら病害を防除するには、イネ種子の予措作業の中でも特に催芽から出芽時期の管理を適切に行うことにより、十分な効果をあげることができると考えられる。

摘 要

Trichoderma sp. SKT-1 株は、分生子懸濁液の種子浸漬処理により、ばか苗病に対して $4 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ 個/ml の処理菌量で対照のイブコナゾール・銅フロアブルの種子消毒とほぼ同等の、苗立枯細菌病、もみ枯細菌病および褐条病に対して $2 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 個/ml の処理菌量でオキシリニック酸水和剤の種子消毒とほぼ同等の高い発病抑制効果が認められた。また、育苗期に発生するいもち病およびごま葉枯病に対しては、 1×10^7 個/ml 処理で、対照のイブコナゾール・銅フロアブルの種子消毒とほぼ同等の発病抑制効果が認められた。SKT-1 株をイネ種子または育苗培土に処理しても、出芽不良、生育抑制および立枯症状などの病徴は認められなかった。SKT-1 株のばか苗病および苗立枯細菌病防除活性は分生子処理および遠心分離により洗浄した分生子処理で明らかに認められたが、オートクレーブにより死滅させた分生子および分生子懸濁液の上清液では認められなかった。SKT-1 株は、浸種期および催芽時の処理で、ばか苗病および苗立枯細菌病に対して高い発病抑制効果が認められた。播種後の処理では、ばか苗病に対しては低菌量処理区で発病抑制効果が低下し、苗立枯細菌病では殆ど発病抑制効果が認められなかった。ベノミル併用による SKT-1 株の発病抑制効果消失時期を調べたところ、ばか苗病では播種 1 日後までの併用処理、苗立枯細菌病では播種時処理までの併用処理で発病抑制効果が消失したものの、それ以降の併用処理では発病抑制効果が発現された。

引用文献

- Almassi, F., Ghisalberti, E.L., Narbey, M. J. and Sivasithamparam, K. (1991). New antibiotics from strains of *Trichoderma harzianum*. J. Nat. Prod. 54: 396-402.
- Chao, W., L. Nelson, E.B., Harman, G.E. and Hoch, H.C. (1986). Colonization of the rhizosphere by biological control agent applied to seeds. Phytopathology 76: 60-65.
- Claydon, N., Allan, M., Hanson, J.R. and Avent, A.G. (1987). Antifungal alkyl of the fungus *Trichoderma harzianum*. Trans. Br. Mycol. Soc. 88: 503-513.
- Furuya, N., Okamoto, T., Kori, Y., Matsuyama, N. and Wakimoto, S. (1991). Control of bacterial seedling rot of rice by avirulent strains of *Pseudomonas glumae*. Ann Phytopathol. Soc. Jpn. 57: 371-376.
- 古屋成人・松尾弘敏・古賀一治・津野和宣・松山宣明 (1992). 非病原性イネもみ枯細菌病菌による苗腐敗症の発病抑制

- とその機作. 日植病報 58: 603 (講要).
- 濱村 洋 (1992). トリフルミゾール低感受性 *Fusarium moniliforme* によるイネ種子伝染性病害の生物防除. 日植病報 58: 581 (講要).
- Harman, G.E., Chet, I. and Baker, R. (1981). Factors affecting *Trichoderma hamatum* seed treatments for biological control of plant disease. Crop Prot. 10: 166-171.
- Harman, G.E., Taylor, A.G. and Stasz, T.E. (1989). Combining effective strains of *Trichoderma harzianum* and solid matrix priming to improve biological seed treatment. Plant Dis. 73: 631-637.
- Harman, G.E. (1991). Seed treatments for biological control of plant disease. Crop Prot. 10: 166-171.
- Harman, G.E. and Kubicek, C.P. (1998). *Trichoderma* and *Gliocladium*. volume 2: Enzymes, biological control and commercial applications. pp. 129-184, Taylor & Francis Ltd., London.
- Haran, S., Schickler, H. and Chet, I. (1996). Molecular mechanisms of lytic enzymes involved in biological control activity of *Trichoderma harzianum*. Microbiology 142: 2321-2331.
- Hikichi, Y. (1993). Antibacterial activity of oxolinic acid on *Pseudomonas glumae*. Ann Phytopathol. Soc. Jpn. 59: 369-374.
- 曳地康史 (1993). オキシロニック酸のイネ苗腐敗症に対する作用機構 1. イネ幼苗に生存する *Pseudomonas glumae* 細菌数の推移とイネ苗腐敗症発病との関係. 日植病報 59: 441-446.
- 茨木忠雄 (1974). イネ苗立枯病に関する研究 5. *Trichoderma* 属菌による障害. 日植病報 40: 189-190 (講要).
- 市田宏市・柴田幸省・高橋三郎 (1974). イネ苗立枯病に対する数種薬剤の防除効果. 関東東山虫疫研報 21: 14.
- 北村義男・保積隆夫・田中徳己 (1982). ペノミル剤耐性イネ馬鹿苗病菌の出現. 日植病報 48: 380 (講要).
- 熊倉和夫・渡辺 哲・豊島 淳・牧野孝宏・市川 健・伊代住浩幸・永山孝三 (2003a). イネ種子伝染性病害防除に有効な *Fusarium* 属菌と *Trichoderma* 属菌の選抜. 日植病報 69: 384-392.
- 熊倉和夫・渡辺 哲・豊島 淳・牧野孝宏・市川 健・伊代住浩幸・永山孝三 (2003b). *Trichoderma* sp. SKT-1 株からのペノミル剤耐性変異株の作出と変異株 SKT-3 株のイネ種子伝染性病害防除における実用性. 日植病報 69: 415-419.
- Lifshitz, R., Windham, M.T. and Baker, R. (1986). Mechanism of biological control of preemergence damping-off of pea by seed treatment with *Trichoderma* spp. Phytopathology 76: 720-725.
- 宮川久義・高屋茂雄 (1990). イネもみ枯細菌病菌とその弱病原性変異株等との混合接種によるもみ枯細菌病発病抑制効果. 日植病報 56: 397-398 (講要).
- 宮川久義・奥田 充 (1997). 農水省ジーンバンク保存の *Pseudomonas gladioli* によるイネ苗立枯細菌病の発病抑制. 日植病報 63: 252 (講要).
- 宮川久義 (2000). *Burkholderia gladioli* 特はその病原性喪失株によるイネ苗立枯細菌病の発病抑制. 日植病報 66: 232-238.
- 守川俊幸・松崎卓志・西山幸司・宮川久義・向嶋博行 (1997). イネ褐条病ともみ枯細菌病菌のオキシロニック酸およびカスガマイシンに対する感受性. 日植病報 63: 516 (講要).
- 中保一浩・角田佳則・奥田 充・宮川久義 (1997). *Pseudomonas* 属細菌処理によるイネもみ枯細菌病菌穂枯症および収穫期の苗腐敗症に対する発病抑制効果. 日植病報 63: 252 (講要).
- 日本植物病理学会編 (2000). 日本植物病名目録 (初版). pp. 13, 日本植物病理学会, 東京.
- 大畑寛一 (1998). 日本植物病害大辞典 (岸 國平編). pp. 54-55, 全国農村教育協会, 東京.
- 小川勝美・諏訪正義・渡辺 茂 (1982). イネ馬鹿苗病菌のベンズイミダゾール系薬剤に対する感受性について. 日植病報 48: 379-380 (講要).
- 奥田 充・角田佳則・宮川久義 (1997). 拮抗細菌 CAB-02 の生産する抗菌性物質. 日植病報 63: 515 (講要).
- 奥田 充・宮川久義 (1998). 拮抗細菌 CAB-02 処理による罹病種子発芽時の *Pseudomonas glumae* の増殖抑制. 日植病報 64: 384-385 (講要).
- 佐々木正人・出崎里永子・青木 篤 (1992). *Pseudomonas cepaciae* AGF-158 株によるイネ苗立枯細菌病, 褐条病および馬鹿苗病の発病抑制効果. 日植病報 58: 602-603 (講要).
- Sivan, A., Ucko, O. and Chet, I. (1987). Biological control of *Fusarium* crown rot of tomato by *Trichoderma harzianum* under field conditions. Plant Dis. 71: 587-592.
- Sivan, A. and Chet, I. (1989). The possible role of competition between *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* on rhizosphere colonization. Phytopathology 79: 198-203.
- Tateishi, H., Saishoji, T., Suzuki, T. and Chida, T. (1998). Antifungal properties of the seed disinfectant ipconazol and its protection against "Bakanae" and other diseases of rice. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 64: 443-450.
- Taylor, A.G. and Harman, G.E. (1990). Concept and technologies of selected seed treatments. Annu. Rev. Phytopathol. 28: 321-339.
- 角田佳則・高屋茂雄 (1995). 初および浸種液から単離され, イネもみ枯細菌病菌苗腐敗症に発病抑制能を示す細菌株. 日植病報 61: 269-270 (講要).
- 角田佳則・高屋茂雄・西山幸司 (1995). イネもみ枯細菌病菌苗腐敗症に発病抑制能を持つ 4 細菌株の分類学的位置とイネ苗立枯細菌病, イネばか苗病に対する発病抑制能. 日植病報 61: 269-270 (講要).
- 鳥越博明・対馬誠也・内藤秀樹・小坂橋基夫・和泉勝一・深町三朗 (1990). イネもみ枯細菌病の拮抗細菌 (Kyu-A891 菌株) による防除. 日植病報 56: 398 (講要).
- 対馬誠也・内藤秀樹・小坂橋基夫・鳥越博明・和泉勝一・深町三朗 (1990). イネもみ枯細菌病菌に対する拮抗微生物の探索とその発病抑制効果. 日植病報 56: 398 (講要).
- Vannacci, A. and Harman, G.E. (1987). Biocontrol of seed-born *Alternaria raphani* and *A. brassicola*. Can. J. Microbiol. 33: 850-856.
- 和田拓雄・平松基弘・竹中充章 (1991). ペフラゾエートのイネばか苗病防除機構. 日植病報 57: 477-484.
- 渡辺 哲・熊倉和夫・豊島 淳・牧野孝宏・市川 健・永山孝三 (2002). *Trichoderma atroviride* SKT-1 株によるイネ種子伝染性病害の生物防除 (4) *Trichoderma atroviride* SKT-1 株によるイネ種子伝染性病害防除の作用機構 (1). 日植病報 68: 205-206 (講要).