

ゴルフ場における農薬による環境汚染の防止に関する研究（その2）

—— 農薬代替バイオ資材の開発 ——

千野 裕之 喜田 大三
辻 博和

A Study on Prevention of Pesticide Pollution at Golf Courses (Part 2)

—— Development of Biological Materials Effective Against Diseases of Turf ——

Hiroyuki Chino Daizo Kita
Hirokazu Tsuji

Abstract

It is known that some microorganisms resist pathogenic fungi, and so investigations were carried out to develop Biological Materials made of these microorganisms for resistance against diseases of grasses and prevention of pesticide pollution.

It was possible to select some useful groups of microorganisms, that is to say, resisting microorganisms against disease germs of turf grasses, for example, *Rhizoctonia* species, *Pythium* species, etc.

These consist of actinomyces and bacteria. It was possible to make sure of the effect by antifungicide tests, stability tests, model pot tests, etc. Useful carriers that absorb microorganisms could be found and Biological Materials have been made which consist of resistant microorganisms adsorbed by activated carbon.

Subgreens of golf courses have also been examined in field tests of Biological Materials and excellent effects on the repression of turfgrass diseases were observed.

概 要

ゴルフ場の芝草の維持管理に使用される農薬のうち殺菌剤の使用量を低減させる方法の1つとして、ある種の微生物が病原菌に拮抗作用を示すことが知られており、その利用が考えられる。ここでは、まず、典型的な芝草病原菌に対して拮抗作用を示す一群の微生物を根圏土壌等に含まれる放線菌、細菌数百株から選抜した。次に、選抜した拮抗微生物群の芝草への毒性、魚毒性の有無を検討した。さらに、農薬との併用の可能性も考え、典型的なゴルフ場用殺菌剤に対するこれら拮抗微生物群の薬剤耐性などを検討し、絞り込んだ。このようにして選抜した放線菌約10株、細菌数株の拮抗微生物群を用いて、活性炭あるいはカニ殻などに菌を付着させたバイオ資材を試作した。このバイオ資材をゴルフ場サブグリーンに適用したところ、対照区ではブラウンパッチの病斑が認められたのに対し、資材散布区では、まったく病斑が認められず、病害抑止効果が認められた。

1. まえがき

ゴルフ場における芝草の維持管理には、殺菌剤、殺虫剤、除草剤等の農薬が広く使用されている。しかし、これら農薬による周辺水系への汚染が危惧されており、一部の自治体では、新規ゴルフ場の開発許可条件として「農薬使用全面禁止」をうたうなど厳しく規制しているところも現われてきている。

一方、我々建設業においても、ゴルフ場の造成・維持管理には可能なかぎり環境への負荷の少ない技術開発を進めて行く必要がある。

ゴルフ場で散布する農薬による公害を起こさないためには、前報^{1)~3)}に述べたように、以下のような対策技術が考えられる。

- ① 農薬の適切な施用技術
- ② 芝草の耐病害虫性向上技術

③ 降雨水・散布水に溶けてきた農薬の流出防止技術

①および②に関しては農薬に代わって病原菌の生育を阻害する資材の導入、生長調節物質などによる芝草の活性化、また、一方では、芝草の品種を改良、選抜などして病虫害に強いものを開発するなどの方法があり、現在多くの関連分野で研究開発が行われている。

上記に関連して、当社および㈱環境緑化資源開発センターは、ゴルフ場における殺菌剤使用量の低減に関する共同研究を平成3年2月より開始し、その中で、拮抗微生物による農薬代替バイオ資材の開発を行っている。

ここで、芝草の典型的な病原菌（多くはカビ類）に対して優れた拮抗作用を示す放線菌、細菌（バクテリア）などの微生物の選抜を室内試験によって実施した。次に、それらの拮抗微生物の芝草への毒性、魚毒性および耐農薬性等に関して選抜を行い、最終的に選抜された拮抗微生物群を用いて資材化を行った。

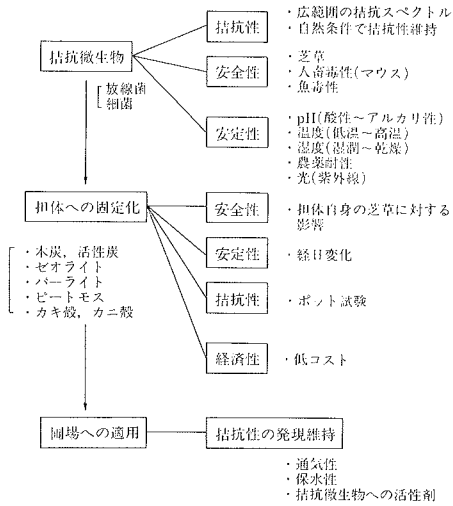


図-1 拮抗微生物資材開発のための検討項目

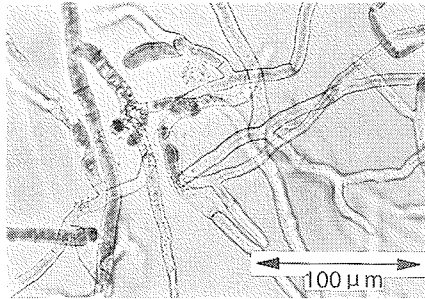


写真-1 典型的な病原菌の例 (Rhizoctonia Solani)

その次に、室内ポット試験における芝草、病原菌、拮抗菌の存在する病態系モデルの作出法を検討し、拮抗微生物の病害抑制効果を明らかにした。さらに、これら拮抗微生物資材をゴルフ場のサブグリーンに試験的に適用した結果その効果が認められたので報告する。

2. 農薬代替の拮抗微生物利用の考え方

農業の分野において、微生物を利用して土壤病害を生態的に防除しようとする試みは近年著しく多くなっている。これらの放線菌や細菌を種子や種芋にコーティングしたり、根や挿し穂に接種する手法はバクテリアゼーションと呼ばれている。これら微生物の作用機構として以下のことなどが関与しているとされている。

- ① 抗生物質生産による病原菌の抑制
- ② 根圏細菌の生産する鉄キレート物質 Siderophore による病原菌や有害な細菌の抑制
- ③ 溶菌作用による病原菌の破壊
- ④ 誘導抵抗性による発病低減

また、通常の栽培管理のもとで、特定の種類の作物を連作しているにもかかわらず、あるいは周辺の畑作地が特定の病気にかかりやすいにもかかわらず土壤病害がほとんど問題にならない土壤がある。このような土壤は「発病抑止土壤」と呼ばれ、世界各地で種々の土壤病害に対する抑止土壤の存在が知られている。興味ある現象とし

表-1 供試した病原菌一覧

No	属名	備考
GF-3	Fusarium	芝草に病原性あり。ペントグラス、フザリウム病
GH-2	Helminthosporium	芝草に病原性あり。コウライシバ、ペントグラス、葉枯病
GR-1	Rhizoctonia	芝草に病原性あり。病名不詳
GR-2	Rhizoctonia	<i>R. solani</i> AG-2-2(N) コウライシバ、リゾクトニアラジバッチ1979.4
GR-3	Rhizoctonia	<i>binucleata R. solani</i> AG-QI コウライシバ、イエローバッチ(春はげ症)1982.4
GR-4	Rhizoctonia	<i>binucleata R. solani</i> (AG-Q)コウライシバ、イエローバッチ(春はげ症)1983.3
GR-5	Rhizoctonia	<i>R. solani</i> AG-1(IA) ペントグラス、ブラウンバッチ1969.7
GR-6	Rhizoctonia	<i>R. solani</i> AG-2-2(N) コウライシバ、リゾクトニアラジバッチ 1983.5
GR-7	Rhizoctonia	ペンクロスペントグラス種子(雷印種苗1990.12購入)より単離 未同定 1991.5
GR-9	Rhizoctonia	<i>R. solani</i> AG-1(IA) ペントグラス、ブラウンバッチ
GS-1	Sclerotinia	ペントグラス、ガラススポット
GP-1	Pythium	<i>Phanidermatium Fitzpatrick</i> キュウリより単離(渡辺)1979

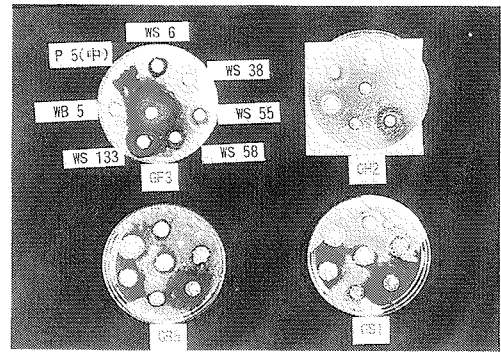


写真-2 微生物の芝草病原菌に対する拮抗性評価例 (各シャーレには病原菌が生育。拮抗性の大きい微生物を含浸したる紙のまわりの病原菌が溶菌している)

て、それらの土壤には、放線菌、細菌数が多く糸状菌(芝草病原菌のほとんどはこれに属する)が少ないことに共通性が認められる。これらの放線菌や細菌は、農業の分野だけでなく、芝草のような緑地においても適用できる可能性を持つものである。そこで、芝草病原菌に対する、放線菌、細菌類の拮抗性に着目して選抜を進めていった。以下のようなステップで開発を進めた。

- ① 芝草病原菌の収集および生態的検討
- ② 芝草病態系モデルの作出
- ③ 放線菌、細菌などから拮抗微生物のスクリーニング
- ④ 微生物吸着担体の検討および試作
- ⑤ ポット試験による病害抑止効果の検討
- ⑥ 圃場試験による病害抑止効果の確認

図-1には、開発するうえでの検討項目の模式図を示す。

3. 拮抗微生物の選抜

3.1 病原菌に対して増殖抑止性を示す微生物の選抜試験

放線菌、細菌群について数種の芝草病原菌を用いてそれらの増殖抑止性(拮抗性)を明らかにし、資材化するのに用いる拮抗微生物群を絞り込んだ。

3.1.1 実験内容と方法 代表的芝草病原菌約10種類を使用することとした。これらは、芝草病害の研究者等から入手したり、実験過程で分離されたものである。表-1にそれらの一覧を示す。生態的検討から孢子の着生程

度、高 pH に対して強い、菌核形成能、低温保存性などの条件を満たすものとした。代表的な芝草病原菌の一例を写真-1に示す。

スクリーニングに用いる放線菌、細菌は芝草の根圏の抽出液から選抜した菌あるいはある種のカビに対して拮抗作用を示した保存菌類あわせて放線菌約500種および細菌約100種である。

拮抗菌の一次スクリーニングには養分の多い液体培地を高次のスクリーニングには芝草根圏抽出液等の貧栄養培地を使用した。

培地は1菌体に5ml使用、植物培養試験管を使用。菌体接種量は、1白金鈎(直径3~5mm)とした。振とうは恒温恒湿振とう機(タイテックBR-300L)で130RPM, 20°C, 4日培養で実施した。

検定培地は、病原菌などの真菌類が生育しやすい培地であるポテトデキストロース寒天(PDA)培地を用いた。十分生育後、検定用パルプに拮抗菌の生育している液体培養液(プロス)を含浸させ、上記の検定平板に静置。培養約4日後に阻止円(パルプの回りにできる病原菌の生育を阻害した円形部分)の有無および径から拮抗性を判定した。

3.1.2 実験結果と考察 放線菌および細菌を対象に、スクリーニングを実施した結果の例を写真-2に示す。拮抗性の大小は、阻止円の径が大きいものほど、また阻止ゾーンが不鮮明なものより、鮮明なものの方が拮抗作用が強いとして評価できる。当然、できるだけ多くの種類の病原菌に拮抗作用を示すものの方が、それをもとに微生物資材を開発する際に有利である。

放線菌および細菌には拮抗作用の強いものと弱いものが存在する。すでにある種のカビに拮抗作用を示した菌株からスクリーニングしたにもかかわらず、まったく拮抗作用を示さないものもあった。その理由として、培地が合わない、保存の期間中に菌が弱まったなどが考えられた。その一方で、いくつかの放線菌には、数種以上の病原菌に対する拮抗作用が認められた。

同様に、高次スクリーニングの選抜を進め、評価を行った例を表-2に示す。評価する際には、多くの菌に対して拮抗作用を示し、しかもゴルフ場の芝草病原菌で最も一般的なGR-5などのリゾクトニア菌に強い拮抗作用を示すものを主眼に選抜した。最終的には試験した菌株のうち、放線菌では、20数株が、細菌では、10数株が拮抗菌として優れている、と判定された。これら拮抗微生物の同定は十分なされていないが、放線菌では *Streptomyces sp.* が優勢であり、細菌では *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.* が優勢であった。

3.2 拮抗微生物の芝草等に対する影響試験

3.2.1 実験内容と方法 3.1で抑止性が認められた拮抗菌約40株について、芝草への発芽および生育への有害な影響の有無を検討した。

所定量のペンクロスベントグラス(グリーン用芝草)種子(雪印種苗(株)製)を拮抗微生物のプロスの10倍希釈

表-2 微生物の芝草病原菌に対する拮抗性評価例

拮抗微生物	病原菌	GP-3	GH-2	GR-1	GR-3	GR-5	GR-6	GR-9	GS-1	GP-1
		ベントグラス	ベントグラス	ベントグラス	ベントグラス	ベントグラス	コウライソバ	ベントグラス	ベントグラス	ベントグラス
	病名	ベントグラス病	葉斑病	ゾウノビ病	イロハビ	ゾウノビ病	ゾウノビ病	ゾウノビ病	ゾウノビ病	ゾウノビ病
放線菌	WS-6	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	WS-8	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	WS-9	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	WS-10	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	WS-11	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	WS-12	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	WS-13	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	WS-14	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	WS-15	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	WS-16	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	WS-17	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	WS-18	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	WS-19	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	WS-20	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	WS-21	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	WS-22	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	WS-23	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	WS-24	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	WS-25	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	細菌	WB-1	+	+	+	+	+	+	+	+
WB-2		+	+	+	+	+	+	+	+	+
WB-3		+	+	+	+	+	+	+	+	+
WB-4		+	+	+	+	+	+	+	+	+
WB-5		+	+	+	+	+	+	+	+	+
WB-6		+	+	+	+	+	+	+	+	+
WB-7		+	+	+	+	+	+	+	+	+
WB-8		+	+	+	+	+	+	+	+	+
WB-9		+	+	+	+	+	+	+	+	+
WB-10		+	+	+	+	+	+	+	+	+

+: 拮抗性大 +: 拮抗性あり ±: 拮抗性わずかにあり -: 拮抗性なし ND: 未検定

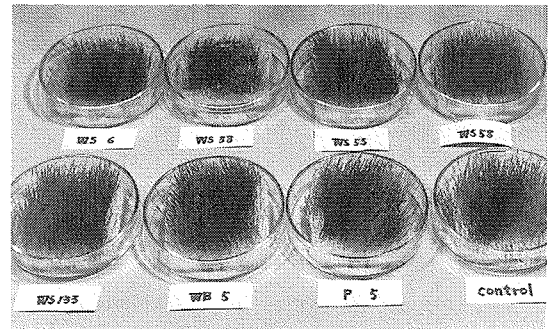


写真-3 芝草に対する安全性試験結果

液を含浸させた50cm²のマットに散布してシャーレ内に静置し、発芽状況を対照区のものと比較した。また、すでに生育した芝草にもプロスの10倍希釈液を散布し、対照区と生育状況を比較した。温度は25°Cで生育させた。

3.2.2 試験結果 写真-3に試験結果の一例を示すように、試験を行った放線菌および細菌について対照区と発芽率にマイナスの有意差は認められず、生育した芝草に対する影響も調べたが、やはり対照区に対してマイナスの有意差は認められなかった。

これらのことから、拮抗作用の優れたこれら放線菌および細菌が芝草の発芽・生育に悪影響を及ぼすことはないと考えられる。なお、これら拮抗微生物を製品化するためには、これらが動物に対して毒性がないことも明らかにしておく必要がある。ここでは、ヒメダカに対する魚毒性を予備的に検討した結果、図示しないが、プロスの濃度が10,000ppm以上でも半数致死濃度(TLm)に至っておらず、供試の拮抗微生物および代謝産物のヒメダ

カに対する毒性は極めて小さいことが明らかとなった。魚毒性、人畜毒性に関しては今後、担体も含めた資材を用いて、正式に検討する予定である。

3.3 拮抗微生物の農薬に対する耐性試験

3.3.1 試験内容と方法 拮抗微生物資材によって減農薬できたとしても、現状では完全に無農薬にするのは難しい現状を考慮すると、資材と農薬を併用せざるを得ないであろう。そこで上記の優れた拮抗作用が認められた菌株について、ゴルフ場で一般的に使用されている5種類の殺菌剤（キャプタン、ペノミル、グランサー、グラステン、ダコニール）に対する薬剤耐性すなわちこれらの殺菌剤の拮抗菌に対する最小阻止濃度（MIC=Minimum Inhibitory Concentration）を求めた。MICとは、拮抗微生物が新たにまったく生育できない濃度を示し、MIC 10 mg/ml とは培地 1 ml 当たりの農薬の有効成分量をいう。

麦芽エキス寒天培地で寒天平板希釈法を用い、殺菌剤は培地 1 ml あたり 10 mg, 1 mg, 0.1 mg, 0.01 mg, 0.001 mg の5段階に希釈した。25°Cで10~14日間培養後、生育を観察した。

3.3.2 試験結果と考察 上記の試験で効果の認められた有望な菌について、MICで評価した結果を表-3に示す。多くの拮抗微生物に対して殺菌剤のMICは比較的高く、10 mg/ml 程度のもが多く認められた。同表には、病原菌に対しても同様にMICを求めた結果も併記している。芝草病原菌の多くが10~100 µg/ml で生育阻害されるのに比べてその10~100倍大きい値である。このことから、拮抗微生物は病原菌に比べてこれら殺菌剤に対する抵抗性が認められる。殺菌剤のMICが低い一部の拮抗微生物の菌株については選抜から除外して、拮抗微生物とこれら殺菌剤とが併用可能となるようにした。なお、殺虫剤、除草剤についても同様に耐性試験を実施中である。

3.4 拮抗微生物の紫外線に対する安定性試験

3.4.1 試験内容と方法 微生物資材を開発するうえで紫外線、温度等に対する安定性すなわち環境に対する適応能力の大きいことが要求される。ここでは、上記で選抜された拮抗微生物の一部について紫外線に対する安定性を検討した。

100 ml 三角フラスコに、各菌株のプロスの所定量を加え、60~70 cm の上方から紫外線殺菌ランプ(日立殺菌ランプ GL15)を2本並列に設置して所定時間照射。検定は被検菌としてGR-5を用い、3.1と同様に検定を行った。

3.4.2 試験結果と考察 表-4に試験結果を示す。同表で阻止円の径が大きいほど拮抗性が強いことを示す。紫外線照射48, 96時間後の拮抗微生物のGR-5への拮抗性は0時間後のそれに比べて、若干阻止円の径が小さくなる菌があるものの拮抗性の低下とは認められない程度の変化であった。このことから拮抗微生物は太陽光などの紫外線に対して比較的安定であると考えられる。

表-3 拮抗微生物の農薬に対する影響試験結果

種別	殺菌剤名 番号	グランサー	グラステン	キャプタン	ペノミル	ダコニール	
		10%プロホス メチル	フルトラニル イソプロピル オキソニル	キャプタン	ペノミル	プロホホニル	
放線菌	WS-6	10<	1	10	10	1	
	WS-55	10<	10<	10	10<	10	
	WS-58	10<	1	10<	10	10	
	WS-133	10<	10	10	10	1	
	WS-141	ND	ND	0.1	?	ND	
	WS-182	10<	10<	10<	10	10<	
	WS-226	10<	1	10<	1	10<	
	WS-227	ND	ND	10	10	ND	
	WS-238	ND	ND	10<	1	ND	
	WS-248	10<	1	10<	1	10	
細菌	WB-105	10<	10	10<	10<	1	
	WB-126	10<	10<	ND	10	10<	
	病原菌	GF-1	ND	ND	0.1	0.1	ND
		GF-2	ND	ND	0.1	0.1	ND
		GF-3	ND	ND	0.01	0.01	ND
		GH-1	ND	ND	0.1	1	ND
GH-2		ND	ND	1	0.1	ND	
GR-1		ND	ND	0.01	1	ND	
GS-1	ND	ND	0.01	<0.001	ND		

数値は最小阻止濃度MIC(mg/ml)を示す。NDは未測定を示す。

表-4 拮抗微生物の紫外線に対する影響試験結果

菌株	UV照射時間 (h)	0	48	96
	WS-133	20	20	20
WS-182	25<	25<	25<	25<
WS-226	20	20	20	20
WS-248	25	25	25	20
WB-105	25<	20	20	20

数値は阻止円の径(mm)を示す

4. バイオ資材の試作とその適用試験

4.1 バイオ資材の試作

上記の検討の結果、優れていると判定された放線菌約10数株、細菌約数株の菌株を使用して、A, B 2種類の資材化を行った。資材化の方法は以下に示すとおりである。個々の拮抗微生物を大量に液体培養したプロスの混合物(pH 6.5~7.5)を等量の木炭と混合する。次に、ある種の有機酸を加え、所定量の活性炭および粉炭と混合し種菌とした。

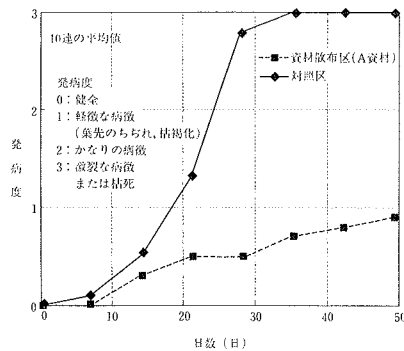
A 資材は種菌に活性炭、木炭および少量のピートモスを加え、攪拌混合した後にある種の有機酸でpH調整を行った。B 資材は種菌にRGF(カキ殻・カニ殻混合物)およびある種の有機酸を添加し攪拌混合する。その後水分、pHの調整を行った。

A, B 両資材の性状を表-5に示す。pHはほぼ中性であり、肥料成分はわずかしが含まれていない。なお、表には示さないが、重金属類等の有害化学物質はJIS K 1474の抽出法では検知されなかった。

A 資材は、主に床土造成用に用いることを念頭に開発され、木炭および活性炭が床土の微生物吸着担体として利用され、床土の微生物環境を良好にすることを意図している。また、造成後に播種した芝草の発芽率向上とそ

表—5 バイオ資材の成分

項目	A資材	B資材
含まれる拮抗微生物	WS-6, 55, 133, 248, 305, 312, 305, 368, 388 WB-105, 126, 56	WS-6, 55, 133, 248, 305, 312, 305, 368, 388 WB-105, 126, 56
主な構成成分	木炭, 活性炭, ビートモス	カキ殻, カニ殻, 木炭
pH	6.8~8.0	6.8~8.0
EC (mS/cm)	1.5~2.6	7.0~7.5
cfu (生菌数/g)	10 ⁸ ~10 ¹⁰	10 ⁸ ~10 ¹⁰
水分 (%)	38.1	20.1
T-N (%)	0.15	1.08
T-P (%)	0.29	0.24
T-K (%)	0.15	0.62
Fe (%)	0.64	0.18
Na (%)	0.56	1.4



図—2 バイオ資材のポット試験における病害抑制効果

れに伴うターフ造成工事のスピードアップも期待できる。

また、B資材はカニ殻等が含まれており、カニ殻に含まれる有効成分が放線菌類の生育に寄与すると考えられる。グリーンの更新作業時等に定期的に適用することを意図している。芝草の緑色を鮮やかにする効果も期待できる。また、フェアウェイ等に使用することで健全な芝草の生育、枯損箇所の早期回復が期待できる。

4.2 病害抑制効果に関するポット試験

4.2.1 実験内容と方法 室内試験において、芝草、病原菌、拮抗菌の存在する病態系モデルの作出法を検討した結果に基づいて、試作資材の病害抑制効果を検討した。ここでは、A資材について対照区と病害抑制効果を比較した例を示す。

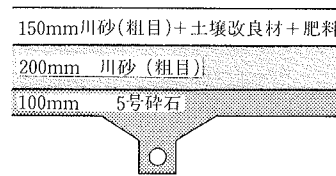
供試試料としてペンクロス種子(雪印種苗(株)製)のものを使用した。拮抗微生物資材はA資材を使用した。その際含まれる菌株はWS6, WS55, WS58, WS133, WS248, WS294, WB5, WB33, WB51, WB105である。病原菌はリゾクトニアブラウンプッチ病の病原菌であるGR-5を使用した。

ペンクロス種子を所定の方法で滅菌消毒。滅菌山砂と滅菌米ぬかをいれて、十分に攪拌混合する。下記の拮抗微生物資材 200 g/m² および病原土壌 200 g/m² を添加混合。滅菌水をいれて全体を湿らす。種子 10 g/m² を同時に播種。3,000 lx, 16時間明条件, 25°Cで培養し、1週間

表—6 バイオ資材のポット試験における病害抑制効果

カップNo	発芽	0日	7日	14日	21日	28日	35日	42日	49日
対照区	1	0	0	0	1	3	3	3	3
	2	0	1	2	3	3	3	3	3
	3	0	0	0	1	3	3	3	3
	4	0	0	1	1	3	3	3	3
	5	0	0	0	1	3	3	3	3
	6	0	0	0	1	3	3	3	3
	7	0	0	1	1	2	3	3	3
	8	0	0	0	1	2	3	3	3
	9	0	0	1	2	3	3	3	3
	10	0	0	0	1	3	3	3	3
平均	0	0.1	0.5	1.3	2.8	3	3	3	3
バイオ資材散布区(A資材)	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	1	1
	3	0	0	0	0	0	1	1	1
	4	0	0	0	0	0	1	1	1
	5	0	0	2	3	3	3	3	3
	6	0	0	0	0	0	0	0	0
	7	0	0	0	0	0	0	0	0
	8	0	0	0	0	0	0	0	0
	9	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	1	2	2	2	2	3
平均	0	0	0.3	0.5	0.5	0.7	0.8	0.9	

発病度 0:健全
1:軽微な病徴(葉先のちぢれ, 褐変化)
2:かなりの病徴
3:激烈な病徴または枯死



150mm川砂(粗目)+土壌改良材+肥料
200mm 川砂(粗目)
100mm 5号砕石

土壌改良材: 粒状ビートモス 3%
繊維状ビートモス 3%
炭 5%
ゼオライト 1.53%

図—3 試験区の床土構造

ごとに病徴チェックを行った。実験は10連で行い、その平均で評価した。

4.2.2 実験結果と考察 表—6および図—2に拮抗微生物の評価結果を示す。4日後に全区画で発芽が観察されたが、資材添加の有無で明瞭な差が認められた。対照区では培土表面全体に菌糸のコロニーが観察されたが、資材添加区では、数量とも少なく、輪郭のはっきりしないコロニーがわずかに観察されるのみであった。35日以降には対照区すべての病徴度が3の激烈な病徴となり、資材添加区と比べて有意の差が認められる。

このことはバイオ資材によるリゾクトニア病の抑止効果を明瞭に示すものである。また、培地表面に形成された接種リゾクトニア菌のコロニー数が当該資材の添加によって、激減する事実とも一致する。なお、当該資材の使用によって種子の発芽率が格段に向上する効果も認められた。

4.3 圃場への適用試験

4.3.1 試験内容と方法 上記のポット試験の結果を踏まえ、これらの拮抗微生物を含むバイオ資材をゴルフ場のベントグリーンに適用し、その病害抑制効果を検討した。芝草はペンクロスであり、試験区の床構造等は図—3に示すとおりである。1つの区画あたり 25 m² とした。A資材およびB資材は5月下旬に 200 g/m² を手押し式の散布機でグリーン表面に均一に散布した。資材の散布



写真-4 資材散布区 (B 資材) 15日後



写真-5 対照区 15日後

後約10分間スプリンクラーで散水した。その他はグリーンと同等の管理を行った。

4.3.2 試験結果と考察 写真-4および5に資材散布15日後の試験区の状況を示す。また、表-7に資材散布15日後および50日後の病害の発生状況を示す。A 資材, B 資材の散布区ともに15日後にパッチ状の病害の発生はまったく認められなかった。それに対し対照区では典型的なブラウンパッチと考えられる褐色のリング状病斑が6個認められ, 病害面積は全体の約5%程度であった。50日後も対照区の病斑数は若干少なくなったものの同様に認められた。対照区の病害の程度は, 15日後, 50日後共に比較的軽度であると観察された。

A 資材と B 資材の散布区は対照区と比べて葉色が鮮やかな緑色であり, 50日後にもその傾向が若干認められた。A 資材と B 資材を比較した場合, 後者の方がより即効的に鮮緑色になる傾向が認められた。

ところで A 資材, B 資材とも窒素成分の含有量はわずかであるにもかかわらず鮮やかな緑色となったのは微生物代謝産物によるものとも考えられ, 興味深い。

5. まとめ

ゴルフ場の農薬使用量を低減させるため, 殺菌剤に代わる資材として典型的芝草病原菌に拮抗作用を示す有用微生物を使ったバイオ資材の開発を行った。

① 典型的な芝草病原菌に広く拮抗作用を示し, リゾクトニア菌に強い拮抗作用を示す拮抗微生物群として, 放線菌20数株, 細菌10数株が選抜された。

② これら拮抗微生物群の芝草への毒性はまったく示さず, また予備的に検討した結果, 魚毒性も小さく安全性が高いといえる。

表-7 バイオ資材の圃場試験における病害抑制効果

日数	項目	A資材散布区	B資材散布区	対照区
15日後	病斑数	0	0	6
	病斑面積率(%)	0	0	5.0
50日後	病斑数	0	0	4
	病斑面積率(%)	0	0	3.5

③ 上記の拮抗微生物群を典型的なゴルフ場殺菌剤に対する耐性の面からさらに絞り込み, 殺菌剤との併用が可能な拮抗微生物群を得た。

④ 上記の拮抗微生物群から放線菌10数株, 細菌数株を用いて, 木炭・活性炭ベースの資材およびカキ殻・カニ殻ベースの資材の2種を試作した。

⑤ モデルポット試験を用いてバイオ資材を評価した結果, 対照区と比べて病害抑制効果が認められた。

⑥ ゴルフ場グリーンにバイオ資材を添加したところ, 対照区ではブラウンパッチと考えられる病斑が認められたのに対し, バイオ資材散布区では, まったく病斑が認められず, これら資材の有効性が認められた。

6. あとがき

現在, バイオ資材の現場適用試験を数箇所のゴルフ場に拡大して進めており, 最適な適用法を確立すべく検討中である。また, 今回土壌微生物の動態について明らかにできなかったが, 病原菌など特定の菌について, その消長あるいは芝草への感染状況など明らかにしていく必要がある。

なお, 本研究を進めるにあたり, (株)環境緑化資源開発センター (GRC) の大澤部長, 山岸室長をはじめ皆様方には大変お世話になりました。この場を借りて感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 千野, 喜田, 辻: ゴルフ場における農薬による環境汚染の防止に関する研究(その1), 大林組技術研究所報 No. 45, p. 123~128, (1992)
- 2) 喜田, 辻, 千野: ゴルフ場からの農薬の吸着・分解に関する実験検討(その1), 日本芝草学会創立20周年記念大会講演要旨集, p. 97~98, (1991)
- 3) 喜田, 辻, 千野: ゴルフ場からの農薬の吸着・分解に関する実験検討(その2), 日本芝草学会平成4年春季大会講演要旨集, p. 94~95, (1992)
- 4) 喜田, 辻, 千野, 大澤, 函師, 山岸: ゴルフ場における減農薬法の開発(その1), 日本芝草学会平成5年春季大会講演要旨集, p. 84~85, (1993)
- 5) Cook, R. J. et al. APS, ST. Paul. 539 p., (1984)
- 6) 梅谷, 加藤: 農業有用微生物—その利用と展望—, (株)養賢堂, 108 p., (1990)
- 7) 小林, 駒田: 土壌病害に対する発病抑止土壌, 肥料科学, No. 6, p. 69~97, (1983)