

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2003 年 6 月 5 日 (05.06.2003)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 03/046157 A1

- (51) 国際特許分類: C12N 1/20, 八坂 2 3 8 4-4 Shizuoka (JP). 矢野 祐幸 (YANO, Hiroyuki) [JP/JP]; 〒439-0031 静岡県 小笠郡 菊川町加茂 1 8 0 9 Shizuoka (JP).  
A01N 63/02, C12N 1/20, C12R 1:07)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP02/12319
- (22) 国際出願日: 2002 年 11 月 26 日 (26.11.2002)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願 2001-359222 2001 年 11 月 26 日 (26.11.2001) JP  
特願 2002-133294 2002 年 5 月 8 日 (08.05.2002) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): クミアイ化学工業株式会社 (KUMIAI CHEMICAL INDUSTRY CO., LTD.) [JP/JP]; 〒110-0008 東京都台東区池之端一丁目 4 番 2 6 号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 渡辺 哲 (WATANABE, Satoshi) [JP/JP]; 〒418-0022 静岡県富士宮市 小泉 1 8 9 0-3 Shizuoka (JP). 豊島 淳 (TOYOSHIMA, Jun) [JP/JP]; 〒439-0031 静岡県 小笠郡 菊川町加茂 1 8 0 9 Shizuoka (JP). 清水 力 (SHIMIZU, Tsutomu) [JP/JP]; 〒439-0035 静岡県 小笠郡 菊川町平尾 1 1 4 Shizuoka (JP). 山路 孝二 (YAMAJI, Koji) [JP/JP]; 〒439-0031 静岡県 小笠郡 菊川町加茂 1 8 0 9 Shizuoka (JP). 永山 孝三 (NAGAYAMA, Kozo) [JP/JP]; 〒436-0004 静岡県 掛川市
- (74) 代理人: 志賀 正武, 外 (SHIGA, Masatake et al.); 〒169-8925 東京都 新宿区 高田馬場三丁目 2 3 番 3 号 ORビル Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:  
— 国際調査報告書  
— 請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補正書受領の際には再公開される。
- 2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: *BACILLUS* SP. D747 STRAIN, PLANT DISEASE CONTROLLING AGENTS AND INSECT PEST CONTROLLING AGENTS USING THE SAME AND CONTROL METHOD USING THE AGENTS

(54) 発明の名称: バシルス s p . D 7 4 7 菌株、それを用いた植物病害防除剤および害虫防除剤、並びにこれらを用いた防除方法

(57) Abstract: A novel strain *Bacillus* sp. D747 (FERM BP-8234); plant disease controlling agents and insect pest controlling agents containing the strain *Bacillus* sp. D747 as the active strain; and a control method using these controlling agents. When a culture (containing vital cells) of the strain *Bacillus* sp. D747 or vital cells thereof separated from the culture exist on a plant (for example, on the roots, stem leaves or seeds thereof) or the soil in which it is grown, the occurrence of plant diseases over a broad scope can be prevented and insect pests can be controlled. Moreover, plants on which plant disease controlling agents and insect pest controlling agents containing the strain *Bacillus* sp. D747 have been applied exhibit high effects of controlling various plant diseases and insect pests.

[続葉有]



---

(57) 要約:

本発明は、新菌株；バシルス *s p.* D 7 4 7 (FERM BP-8234) に関するものであり、また、バシルス *s p.* D 7 4 7 菌株を有効菌として含有する植物病害防除剤及び害虫防除剤、並びにこれら防除剤を用いた防除方法に関するものである。バシルス *s p.* D 7 4 7 は、その培養物（生菌体を含む）またはその培養分離生菌体を、根、茎、葉、種子などの植物体上、あるいはその栽培土壌中に存在させることによって、きわめて広範囲に各種の植物病害の発生を抑止し、害虫を防除することができ、かつ、本発明の D 7 4 7 菌株を含んだ植物病害防除剤および害虫防除剤を散布した植物は、各種植物病および害虫に対して高い防除効果を有することとなる。

## 明細書

バシルス s p. D 7 4 7 菌株、それを用いた植物病害防除剤および害虫防除剤、並びにこれらを用いた防除方法

## 技術分野

本発明は、バシルス (*Bacillus*) s p. D 7 4 7 菌株およびその利用に関し、さらに詳しくは、植物病害の発病抑制効果および害虫防除効果を有するバシルス s p. D 7 4 7 菌株を有効菌として含有する植物病害防除剤及び／又は害虫防除剤、並びにこれら防除剤を用いた防除方法に関するものである。

## 背景技術

植物病害および害虫の防除法としては、輪作や太陽熱を利用した耕種的あるいは物理的防除、化学農薬を用いる化学的防除、病害抵抗性品種の利用による防除、弱毒ウィルスや病原菌に対する拮抗微生物を用いた生物的防除等が挙げられる。これらのうち、化学農薬、特に有機合成殺菌剤の開発研究は、近年に至るまで目覚ましく発達し、効力が高く様々な作用を有する多数の薬剤が次々と開発され、更には様々な施用法も開発された。これらを用いた化学的防除法は、植物の病害防除並びに防除作業の省力化等に大きく貢献し、広く普及している。しかしながら、近年、いわゆる薬剤耐性菌の出現により、化学的防除法による防除効果が低下するという現象が、一部作物、病害で認められ、問題となってきた。また、作物の指定産地化が進むにつれて連作を余儀なくされる結果、化学農薬では難防除とされる土壌伝染性病害の発生も各地で深刻な問題となっている。さらに、化学農薬を大量に何度も繰り返して用いる方法は、自然界に存在しない化学物質を環境中に放出するため、動植物に直接毒性を有する薬剤はもちろん、そうでない薬剤であっても、環境へ悪影響を引き起こすことが心配されている。

以上のように、化学農薬による病害防除は、耐性菌の出現によって防除効果が低下する可能性が高く、その場合、新たな殺菌剤の開発が必要となってしまう。また、化学農薬では難防除とされる病害防除に対しては、代替手段あるいは他の

方法を併用する手段を講じなくてはならない。さらに、環境に対してより安全性の高い防除技術の確立も望まれている。

近年、このような背景のもと、化学農薬の使用に偏った防除方法を見直し、化学農薬からより環境への安全性が高いと想定される微生物を利用した生物防除（いわゆる生物農薬）方法が提案され、その一部は実用化されている。

植物病害の生物防除に関する研究として、弱毒ウイルスの利用、病原菌の弱病原性あるいは非病原性系統微生物の利用、拮抗微生物の利用等が試みられている。その中でも、拮抗微生物の利用に関する研究事例は多数あり、また、拮抗微生物のうち、バシルス属菌を用いた病害防除研究についても多数の報告はあるが、広い病害防除スペクトラムを有するバシルス属菌は見いだされていなかった。

#### 発明の開示

本発明の課題は、複数種の植物病害の発病抑制及び／又は害虫防除の効果を有する新規な菌株を分離することにある。

本発明の更なる課題は、上記菌株を有効菌として含有し、生物農薬として有効に使用できる植物病害防除剤及び／又は害虫防除剤を提供することにある。

本発明の更なる課題は、上記植物病害防除剤及び／又は害虫防除剤を用いた、植物病害及び／又は害虫の防除方法を提供することにある。

本発明者らは、自然界から分離したバシルス属に属する一新菌株が、植物体の成長には悪影響をおよぼすことなく、数種の植物病害の発病抑制効果および害虫防除効果を有することを見出し、本発明を完成するに至った。

本発明は、以下の菌株、および植物病害防除剤及び／又は害虫防除剤、並びに、植物病害防除及び／又は害虫防除方法である。

- (1) バシルス (*Bacillus*) s p. D 7 4 7 菌株。
- (2) バシルス (*Bacillus*) s p. D 7 4 7 菌株を有効菌として含有することを特徴とする植物病害防除剤。
- (3) バシルス (*Bacillus*) s p. D 7 4 7 菌株を有効菌として含有することを特徴とする害虫防除剤。
- (4) 上記 (2) に記載の植物病害防除剤及び／又は上記 (3) に記載の害虫

防除剤を用いることを特徴とする、植物病害及び／又は害虫の防除方法。

〔バシルス *s p.* D 7 4 7 菌株の単離と寄託〕

本発明のバシルス *s p.* D 7 4 7 菌株は、静岡県小笠郡菊川町の空気中から分離された菌株である。これらの菌株は、後記する細菌学的性質をもとに、Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, volume 1 (1984) を参考に同定したところ、バシルス属に属する新菌株であり、最初、バシルス・セレウスに属するのではないかと思われ、2000年（平成12年）11月28日に「*Bacillus cereus* D747」として、工業技術院生命工学工業技術研究所（Agency of Industrial Science and Technology, National Institute of Bioscience and Human-Technology）に寄託した。

しかしながら、後日、バシルス・セレウスに属することに疑問をもち、詳細に検討し、バシルス属に属するまでの確信に至るのみであったので、2002年（平成14年）4月1日に「*Bacillus sp.* D747」への記載変更届を提出した。

従って、本発明のバシルス *s p.* D 7 4 7 菌株（以後、単に「D 7 4 7 菌株」と称する）は、独立行政法人産業技術総合研究所 特許生物寄託センター（National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, International Patent Organism Depository）において、「*Bacillus sp.* D747」（FERM P-18128）として寄託され、2002年（平成14年）11月8日に、国際寄託に移管され、同特許生物寄託センターにおいて、「*Bacillus sp.* D747」（FERM BP-8234）として寄託されている。

〔D 7 4 7 菌株の細菌学的性質〕

本発明のD 7 4 7 株の細菌学的性質は、以下に示す通りである。なお、菌学的性質の試験は、前記 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology に基づいて行った。

（A）形態学的性質

形態： 桿菌

大きさ： 幅1.0～1.2  $\mu\text{m}$ 、長さ3～5  $\mu\text{m}$

運動性： ＋

鞭毛の着生状態： 周鞭毛

内生孢子： ＋

孢子の位置： 中央

孢子の膨張： －

(B) 培養的性質

コロニーの色： 白色～薄い茶色

肉汁寒天平板培養： 白色～クリーム色のコロニーを形成し、表面はしわ状

(C) 生理学的性質

グラム染色性： ＋

硝酸塩の還元： ＋

MR 試験： －

V P 試験： ＋

インドールの生成： －

澱粉の加水分解： ＋

クエン酸の資化性： ＋

無機窒素源： ＋

オキシダーゼ： －

カタラーゼ： ＋

生育 pH 6.8、肉エキス培地： ＋

生育 pH 5.7、肉エキス培地： ＋

生育温度 30℃： ＋

生育温度 50℃： －

生育 NaCl 濃度 2%： ＋

生育 NaCl 濃度 5%： ＋

生育 NaCl 濃度 7%： ＋

好氣的生育： ＋

嫌氣的生育： －

O-F テスト： O

卵黄反応： －

グルコースからの酸生成： ＋

マンニトールからの酸生成： －

L－アラビノースからの酸生成： －

D－キシロースからの酸生成： －

グルコースからのガス生成： －

$\beta$ －ガラクトシダーゼ： －

NaCl 及び KCl 要求性： －

#### [D 7 4 7 菌株の培養]

本発明に用いられる D 7 4 7 菌株の培養方法においては、培地の種類および培養条件等、適宜任意なものを選択できる。例えば、肉エキス培地など一般的な培地の他、グルコース、ペプトン、イーストエキスを含む培地などが挙げられる。また、液体培地以外に寒天入りの斜面培地および平板培地等の固体培地を用いてもよい。培養によって D 7 4 7 菌株を増殖させて、所望の菌体量を得ることができる。

培地の炭素源としては、上記菌株が同化しうるあらゆるものが利用可能である。具体的にはグルコース、ガラクトース、ラクトース、スクロース、マルトース、麦芽エキス、澱粉加水分解物などの糖の外に、D 7 4 7 菌株が利用し得る各種の合成または天然炭素源をあげることができる。

培地の窒素源として、同様に、ペプトン、肉エキス、酵母エキスなどの有機窒素含有物をはじめ、該菌株が利用し得る各種の合成又は天然物も利用可能である。

微生物培養の常法に従って、食塩、リン酸塩などの無機塩類、カルシウム、マグネシウム、鉄などの金属の塩類、ビタミン、アミノ酸などの微量栄養源も必要に応じて添加することができる。

培養は、振盪培養、通気培養などの好氣的条件下で行なうことができる。培養温度は、20～30℃、好ましくは25～30℃、pHは、5～8、好ましくは6～7、培養期間は、1～4日、好ましくは2～3日が適当である。

本発明のバシルス s p. D 7 4 7 菌株は、その培養物（菌体を含む）またはその処理物（培養物と他の成分との混合物など）、又は培養分離菌体（培養物を遠心分離処理した菌体もしくはその洗浄菌体など）またはその処理物（培養分離菌体と他成分の混合物など）、更にまたは、これらの処理物（これらの液体や固体による希釈物など）を、根、茎、葉、種子などの植物体上、あるいはその栽培土壌中に存在させることで、各種の植物病害を抑止し、また害虫を防除する性質を有する。

本発明の D 7 4 7 菌株は、施用形態により、藻菌類（*Oomycetes*）、子囊菌類（*Ascomycetes*）、担子菌類（*Basidiomycetes*）、及び不完全菌類（*Deuteromycetes*）に属する菌類、および細菌類に起因する植物の病害を防除することができる。

D 7 4 7 菌株が防除することができる病気の原因菌として、具体的には、シュウドペロノスポラ（*Pseudoperonospora*）属菌、例えばキュウリベと病菌（*Pseudoperonospora cubensis*）、ベンチュリア（*Venturia*）属菌、例えばリンゴ黒星病菌（*Venturia inaequalis*）、エリシフェ（*Erysiphe*）属菌、例えばコムギうどんこ病菌（*Erysiphe graminis*）、ピリキュラリア（*Pyricularia*）属菌、例えばイネいもち病菌（*Pyricularia oryzae*）、ボトリチス（*Botrytis*）属菌、例えばキュウリ灰色かび病菌（*Botrytis cinerea*）、リゾクトニア（*Rhizoctonia*）属菌、例えばイネ紋枯病菌（*Rhizoctonia solani*）、パクシニア（*Puccinia*）属菌、例えばコムギ赤さび病菌（*Puccinia recondita*）、セプトリア（*Septoria*）属菌、例えばコムギふ枯病菌（*Septoria nodorum*）、スクレロティニア（*Sclerotinia*）属菌、例えばキュウリ菌核病菌（*Sclerotinia sclerotiorum*）、ピシウム（*Pythium*）属菌、例えばキュウリ苗立枯病菌（*Pythium debaryanum* Hesse）、また細菌として、バークホルデリア（*Burkholderia*）、例えばイネ苗立枯細菌病（*Burkholderia plantarii*）などをあげることができるが、本発明はこれらの例に限定されるものではない。

また、本発明の D 7 4 7 菌株は、半翅目害虫、鱗翅目害虫、鞘翅目害虫、双翅目害虫、直翅目害虫、シロアリ目害虫、アザミウマ目害虫、ハダニ害虫などの害虫を防除することができる。



D 7 4 7 菌株が防除することができる害虫として、具体的には、半翅目害虫、例えばホソヘリカメムシ (*Riptortus clavatus*) 等のカメムシ類 (異翅類; *HETEROPTERA*)、ツマグロヨコバイ (*Nephotettix cincticeps*) 等のヨコバイ類、トビイロウンカ (*Nilaparvata lugens*) 等のウンカ類、*Psylla* sp. 等のキジラミ類、シルバーリーフコナジラミ (*Bemisia tabaci*) 等のコナジラミ類、モモアカアブラムシ (*Myzus persicae*) 等のアブラムシ類、クワコナカイガラムシ (*Pseudococcus comstocki*) 等のカイガラムシ類、鱗翅目害虫、例えばチャハマキ (*Homona Magnanima*) 等のハマキガ類、ブドウホソハマキ (*Eupoecillia ambiguella*) 等のホソハマキガ類、*Bambalina* sp. 等のミノガ類、コクガ (*Nemapogon granellus*) 等のホソガ類、ミカンハモグリガ (*Phyllocnistis citrella*) 等のコハモグリガ類、コナガ (*Plutella xylostella*) 等のスガ類、ニカメイガ (*Chilo suppressalis*) 等のメイガ類、タバコバッドワーム (*Heliothis virescens*) 等のヤガ類、鞘翅目害虫、例えばドウガネブイブイ (*Anomala cuprea*) 等のコガネムシ類、ニジュウヤホシテントウ (*Epilachna vigintioctopunctata*) 等のテントウムシ類、イネミズゾウムシ (*Lissorhoptrus oryzophilus*) 等のゾウムシ類、双翅目害虫、例えばアカイエカ (*Culex pipiens*)、シナハマダラカ (*Anopheles sinensis*)、コダタアカイエカ (*Culex tritaeniorhynchus*)、直翅目害虫、例えばチャバネゴキブリ (*Blattella germanica*)、シロアリ目害虫、例えばヤマトシロアリ (*Reticulitermes speratus*)、アザミウマ目害虫、例えばチャノキイロアザミウマ (*Scirtothrips dorsalis*)、ハダニ類、たとえばナミハダニ (*Tetranychus urticae*)、また、その他有害動物、不快動物、衛生害虫、寄生虫、例えばスクミリンゴガイ (*Pomacea canaliculata*)、ナメクジ (*Incilaria* sp.) 等の腹足綱類 (*Gastropoda*)、ダンゴムシ (*Armadillidium* sp.) 等の脚目類などをあげることができるが、本発明はこれらの例により限定されるものではない。

(植物病害防除剤および害虫防除剤)

本発明の植物病害防除剤および害虫防除剤は、上記のように植物病害や害虫

を防除できるD 7 4 7 菌株を有効菌として含有するものである。本発明の植物病害防除剤および害虫防除剤においては、D 7 4 7 菌株を単体で使用することもできるが、D 7 4 7 菌株とともにD 7 4 7 菌株の変異体も使用することができる。変異体は、上記D 7 4 7 菌株の細菌学的特性を有し、植物病害防除作用および害虫防除作用を有するものであり、自然突然変異株、紫外線や化学変異剤を用いての突然変異株、また細胞融合株および遺伝子組み換え株も利用が可能である。本発明では、植物病害防除剤および害虫防除剤に含有されるD 7 4 7 菌株には、D 7 4 7 菌株の変異体が含まれる。

本明細書中において「防除」とは、病気や害虫の予防、忌避のみならず、除去、死滅をも含む意味で用いるものとする。したがって、病原菌に既に感染した植物であっても、本発明の植物病害防除剤を適用することによって、植物から病原菌を除去することができ、病原菌による発病や病気の悪化を防止することができる。また、害虫についても、忌避および殺虫効果により防除することができる。

本発明による植物病害防除剤および害虫防除剤において、D 7 4 7 菌株が生菌として適用される場合、 $10^5 \sim 10^{10}$ 個/mlの濃度で、植物体に添加されることが好ましい。

また、D 7 4 7 菌株の培養物を使用する場合、その適用時期および適用量は、上記生菌の場合に準じて、適宜決定されてよい。

さらに、本発明による植物病害防除剤および害虫防除剤においてD 7 4 7 菌株は、菌体または培養物を単独で用いるほか、不活性な液体または固体の担体で希釈し、必要に応じて界面活性剤、その他の補助剤を加えた薬剤として用いてもよい。具体的な製剤例としては、粒剤、粉剤、水和剤、懸濁剤、乳剤等の剤型等があげられる。好ましい担体の例としては、タルク、ベントナイト、クレイ、カオリン、珪藻土、ホワイトカーボン、バーミキュライト、消石灰、珪砂、硫安、尿素、多孔質な固体担体、水、イソプロピルアルコール、キシレン、シクロヘキサノン、メチルナフタレン、アルキルグリコールなどの液体担体等があげられる。界面活性剤および分散剤としては、例えばジナフチルメタンスルホン酸塩、アルコール硫酸エステル塩、アルキルアリアルスルホン酸塩、

リグニンスルホン酸塩、ポリオキシエチレングリコールエーテル、ポリオキシエチレンアルキルアリアルエーテル、ポリオキシエチレンソルビタンモノアルキレート等があげられる。補助剤としては、カルボキシメチルセルロース、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、アラビアゴムイ、キサントガム等、保護剤としては、スキムミルク、pH緩衝剤等があげられる。この場合、D747菌株の生菌体の量および／またはその培養物の量、さらには適用時期および適用量は、上記生菌の場合に準じて適宜決定することができる。

さらに、本発明の植物病害防除剤および害虫防除剤は、有効成分として必要に応じて、殺虫剤、他の殺菌剤、除草剤、植物生長調節剤、肥料などのその他の成分を含むことができる。また、本発明の植物病害防除剤および害虫防除剤は、D747菌株とともに、他の種類の菌株を含有してもよい。

本発明の植物病害防除剤および害虫防除剤は、そのまま直接施用するか、あるいは水などで希釈して施用することができる。植物病害防除剤および害虫防除剤の施用方法は、特に限定されず、例えば、直接植物や害虫に散布する方法、土壤に散布する方法、植物や土壤に添加する水や肥料に添加する方法などがあげられる。その他、製剤の施用量は、対象病害、対象害虫、対象作物、施用方法、発生傾向、被害の程度、環境条件、使用する剤型などによって変動するので、適宜調整されることが好ましい。

以上のように、本発明のバシルス *sp.* (*Bacillus sp.*) D747菌株は、広い病害および害虫防除スペクトラムを有し、複数種の植物病害や害虫を防除することができる。

本発明のD747菌株を含有する本発明の植物病害防除剤および害虫防除剤は、植物病害や害虫を防除できるので、生物農薬として使用できる。したがって、本発明の植物病害および害虫防除剤は、環境に対して安全性が高く、また複数種の病害や害虫に対して防除効果を有するので、他の併用手段を用いなくとも、広く病害や害虫を防止することができる。

発明を実施するための最良の形態

本発明を以下の実施例によって具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

#### 実施例 1 : D 7 4 7 菌株の培養

D 7 4 7 菌株を、静岡県小笠郡菊川町の空気中から分離した。詳細に述べると、静岡県小笠郡菊川町加茂の空気中に漂う微生物を分離するため、ポテトデキストロース寒天培地が入った平板培地を、蓋を取って、10分間放置し、空気に接触させた。これを27℃で3日間培養し、形成したコロニーを分離した。分離したコロニーを、ポテトデキストロース液体培地で振とう培養を行い、植物病害菌に対して効果のある菌株を見出して、D 7 4 7 菌株を分離した。

分離したD 7 4 7 菌株を、グルコース1%、可溶性澱粉2%、ポリペプトン0.5%、乾燥酵母1%、脱脂大豆1%、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2%、 $\text{NaCl}$  0.2%、炭酸カルシウム0.3%を含む、pH6.0の培地で、27℃、120rpm、3日間振盪培養した後、遠心集菌（10,000×g、15分間）し、滅菌水中に懸濁し、培地成分を洗浄した。この操作を2回行い、再び滅菌水中に約 $10^9$  /mlの濃度で懸濁した。

#### 実施例 2 : イネいもち病防除効果試験

直径7.5cmの素焼鉢各々に、イネ種子（品種：愛知旭）を10粒ずつ播種し、温室内で育成した。第4葉が展開したイネに、実施例1のようにして得られたD 7 4 7 菌株の懸濁液を、1ポット当たり10ml散布し、風乾した後、イネいもち病菌（*Pyricularia oryzae*）の孢子懸濁液を噴霧接種し、湿室内で管理した。接種5日後に、第4葉の病斑数を調査し、これを発病度として以下の表1の基準により評価した。試験結果を表2に示す。

表 1

| 評価 |                    |
|----|--------------------|
| A  | 発病を認めず             |
| B  | 無処理の発病度の20%未満      |
| C  | 無処理の発病度の20%以上50%未満 |
| D  | 無処理の発病度の50%以上      |

### 実施例 3 : イネ紋枯病防除効果試験

直径 6.0 cm の素焼鉢各々に、イネ種子（品種：金南風）を 10 粒ずつ播種し、温室内で育成した。2～3 葉期のイネに、実施例 1 のようにして得られた D 7 4 7 菌株の懸濁液を、1 ポット当たり 10 ml 散布し、風乾した後、イネ紋枯病菌（*Thanatephor uscucumeris*）を接種し、温室内で管理した。接種 5 日後に病斑高を調査し、これを発病度として上記表 1 の基準により評価した。試験結果を表 2 に示す。

### 実施例 4 : コムギふ枯病防除効果試験

直径 6.0 cm のプラスチックポット各々に、コムギ種子（品種：農林 6 1 号）を 10 粒ずつ播種し、温室内で育成した。第 2 葉が展開したコムギに、実施例 1 のようにして得られた D 7 4 7 菌株の懸濁液を、1 ポット当たり 10 ml 散布した。風乾後、コムギふ枯病菌（*Septoria nodorum*）の柄胞子を接種し、温室内で管理した。接種 10 日後にポット全体の第 1 葉の発病面積を調査し、これを発病度として上記表 1 の基準により評価した。試験結果を表 2 に示す。

### 実施例 5 : コムギうどんこ病防除効果試験

直径 6.0 cm のプラスチックポット各々に、コムギ種子（品種：農林 6 1 号）を 10 粒ずつ播種し、温室内で育成した。1.5～2 葉期のコムギに、実施例 1 のようにして得られた D 7 4 7 菌株の懸濁液を、1 ポット当たり 10 ml 散布した。風乾後、コムギうどんこ病菌（*Erysiphe graminis*）分生胞子を接種し、温室内のベンチ上に調査まで置いて、温室内で管理した。接種 10 日後にポット全体の第 1 葉の発病面積を調査し、これを発病度として上記表 1 の基準により評価した。試験結果を表 2 に示す。

### 実施例 6 : キュウリ灰色かび病防除効果試験

直径 6.0 cm のプラスチックポット各々に、キュウリ種子（品種：相模半白）を 4 粒ずつ播種し、温室内で育成した。子葉が展開したキュウリ幼苗に、

実施例 1 のようにして得られた D 7 4 7 菌株の懸濁液を、1 ポット当たり 1 0 m l 散布した。風乾後、キュウリ灰色かび病菌 (*Botrytis cinerea*) の孢子懸濁液を浸したペーパーディスクを、キュウリ子葉表面に置床接種し、2 0 °C 温室で管理した。接種 3 日後に子葉の発病面積を調査し、これを発病度として上記表 1 の基準により評価した。試験結果を表 2 に示す。

#### 実施例 7 : キュウリべと病防除効果試験

直径 6 . 0 c m のプラスチックポット各々に、キュウリ種子 (品種 : 相模半白) を 4 粒ずつ播種し、温室内で育成した。子葉が展開したキュウリ幼苗に、実施例 1 のようにして得られた D 7 4 7 菌株の懸濁液を、1 ポット当たり 1 0 m l 散布した。風乾後、キュウリべと病菌 (*Pseudoperonospora cubensis*) の遊走子嚢懸濁液を噴霧接種し、2 2 °C 温室で 2 4 時間放置後、温室内で管理した。接種 8 日後に子葉の発病面積を調査し、これを発病度として上記表 1 の基準により評価した。試験結果を表 2 に示す。

表 2

| 実施例番号 | 試験病害      | D 7 4 7 菌株<br>による防除効果 |
|-------|-----------|-----------------------|
| 2     | イネいもち病    | A                     |
| 3     | イネ紋枯病     | A                     |
| 4     | コムギふ枯病    | A                     |
| 5     | コムギうどんこ病  | A                     |
| 6     | キュウリ灰色かび病 | A                     |
| 7     | キュウリべと病   | A                     |

#### 実施例 8 : イネミズゾウムシ殺虫試験

実施例 1 のようにして得られた D 7 4 7 菌株の懸濁液 3 0 m l を、容量 6 0 m l のプラスチックカップに入れ、長さ 3 c m のイネ葉片を 3 枚浮かべた。これに、イネミズゾウムシ (*Lissorhoptrus oryzophilus*) 成虫を 1 0 頭放った後、蓋をして 2 5 °C の恒温室に放置した。3 日後に生存虫数を数えた。試験は 3 回行い、下記の式 (1) により死虫率を求め、最終的な死虫率を、3 回の平

均値をとることにより決定した。試験結果を表 3 に示す。

$$\text{死虫率 (\%)} = \{ [10 - (\text{生存虫の数})] / 10 \} \times 100$$

表 3

|               | 最終的な死虫率 (%) |
|---------------|-------------|
| D 7 4 7 菌株で処理 | 1 0 0       |
| 無処理           | 0           |

上記の表 2 および表 3 の結果からわかるように、本発明の D 7 4 7 菌株を含んだ植物病害防除剤および害虫防除剤を散布した植物は、各種植物病および害虫に対して、高い防除効果を有していた。

#### 産業上の利用可能性

本発明は、新菌株、バシルス s p . D 7 4 7 ( F E R M B P - 8 2 3 4 ) を見出したところに特色を有し、バシルス s p . D 7 4 7 は、その培養物（生菌体を含む）またはその培養分離生菌体を、根、茎、葉、種子などの植物体上、あるいはその栽培土壤中に存在させることによって、きわめて広範囲に各種の植物病害の発生を抑止し、害虫を防除することができ、かつ、本発明の D 7 4 7 菌株を含んだ植物病害防除剤および害虫防除剤を散布した植物は、各種植物病および害虫に対して高い防除効果を有することとなる。

## 請求の範囲

1. バシルス s p. D 7 4 7 菌株。
2. バシルス s p. D 7 4 7 菌株を有効菌として含有することを特徴とする植物病害防除剤。
3. バシルス s p. D 7 4 7 菌株を有効菌として含有することを特徴とする害虫防除剤。
4. 請求項 2 に記載の植物病害防除剤及び／又は請求項 3 に記載の害虫防除剤を用いることを特徴とする、植物病害及び／又は害虫の防除方法。



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/12319

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> C12N1/20, A01N63/02// (C12N1/20, C12R1:07)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> C12N1/20, A01N63/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                  | Relevant to claim No. |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| X         | JP 6-133763 A (Showa Denko Kabushiki Kaisha),<br>17 May, 1994 (17.05.94),<br>(Family: none)                                         | 1-4                   |
| X         | JP 5-91869 A (Yukishitsu Hiryo Seibutsu Kassei<br>Riyo Gijutsu Kenkyu Kumiai),<br>16 April, 1993 (16.04.93),<br>(Family: none)      | 1-4                   |
| X         | JP 5-51305 A (Sumitomo Chemical Co., Ltd.),<br>02 March, 1993 (02.03.93),<br>(Family: none)                                         | 1-4                   |
| X         | EP 522836 A2 (NISSAN CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.),<br>13 January, 1993 (13.01.93),<br>& JP 5-15364 A & US 5266483 A<br>& US 5516514 A | 1-4                   |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

|                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                  |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| * Special categories of cited documents:                                                                                                                                | "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention                                              |
| "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance                                                                | "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone                                                                     |
| "E" earlier document but published on or after the international filing date                                                                                            | "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art |
| "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) | "&" document member of the same patent family                                                                                                                                                                                                    |
| "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                  |
| "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                  |

Date of the actual completion of the international search  
11 December, 2002 (11.12.02)

Date of mailing of the international search report  
24 December, 2002 (24.12.02)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                            |                  |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|------------------|
| A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                            |                  |
| Int. Cl <sup>7</sup> C12N 1/20, A01N 63/02 //(C12N 1/20, C12R 1:07)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                            |                  |
| B. 調査を行った分野                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                            |                  |
| 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                            |                  |
| Int. Cl <sup>7</sup> C12N 1/20, A01N 63/02                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                            |                  |
| 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                            |                  |
| 国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                            |                  |
| C. 関連すると認められる文献                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                            |                  |
| 引用文献の<br>カテゴリー*                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示                          | 関連する<br>請求の範囲の番号 |
| X                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | JP 6-133763 A (昭和電工株式会社) 1994. 05. 17<br>(ファミリーなし)         | 1-4              |
| X                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | JP 5-91869 A (有機質肥料生物活性利用技術研究組合) 1993. 04. 16<br>(ファミリーなし) | 1-4              |
| X                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | JP 5-51305 A (住友化学工業株式会社) 1993. 03. 02<br>(ファミリーなし)        | 1-4              |
| <input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                            |                  |
| * 引用文献のカテゴリー<br>「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの<br>「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの<br>「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)<br>「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献<br>「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献<br>「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの<br>「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの<br>「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの<br>「&」 同一パテントファミリー文献 |                                                            |                  |
| 国際調査を完了した日<br>11. 12. 02                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 国際調査報告の発送日<br>24.12.02                                     |                  |
| 国際調査機関の名称及びあて先<br>日本国特許庁 (ISA/J P)<br>郵便番号 100-8915<br>東京都千代田区霞が関三丁目4番3号                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 特許庁審査官 (権限のある職員)<br>鈴木 恵理子<br>電話番号 03-3581-1101 内線 3488    |                  |

| C (続き) . 関連すると認められる文献 |                                                                                                               |                  |
|-----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| 引用文献の<br>カテゴリー*       | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示                                                                             | 関連する<br>請求の範囲の番号 |
| X                     | EP 522836 A2 (NISSAN CHEMICAL INDUSTRIES, LIMITED) 1993.01.13<br>& JP 5-15364 A & US 5266483 A & US 5516514 A | 1-4              |