

PCT

世界知的所有権機関

国際事務局



特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(51) 国際特許分類 5 A01G 7/00	A1	(11) 国際公開番号 WO 94/01998 (43) 国際公開日 1994年2月3日 (03.02.1994)
(21) 国際出願番号 PCT/JP93/00801 (22) 国際出願日 1993年6月15日(15. 06. 93) (30) 優先権データ 特願平 4/215738 1992年7月22日(22. 07. 92) JP (71) 出願人(米国を除くすべての指定国について) 出光興産株式会社 (IDEMITSU KOSAN COMPANY LIMITED)[JP/JP] 〒100 東京都千代田区丸の内三丁目1番1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) 坂井昌和(SAKAI, Yoshikazu)[JP/JP] 宮本 人(MIYAMOTO, Jin)[JP/JP] 〒299-02 千葉県袖ヶ浦市上泉1280番地 出光興産株式会社内 Chiba, (JP) (74) 代理人 弁理士 久保田藤郎, 外(KUBOTA, Fujio et al.) 〒104 東京都中央区京橋1丁目1番10号 西勘ビル Tokyo, (JP) (81) 指定国 AT(欧州特許), AU, BE(欧州特許), CH(欧州特許), DE(欧州特許), DK(欧州特許), ES(欧州特許), FR(欧州特許), GB(欧州特許), GR(欧州特許), IE(欧州特許), IT(欧州特許), KR, LU(欧州特許), MC(欧州特許), NL(欧州特許), NZ, PT(欧州特許), SE(欧州特許), US.		添付公開書類 国際調査報告書
(54) Title : PROCESS FOR PRODUCING SUBSTANCE INOCULATED WITH VA MYCORRHIZAL FUNGUS (54) 発明の名称 VA菌根菌接種物の製造方法 (57) Abstract A process for producing a substance inoculated with a VA mycorrhizal fungus, which comprises cultivating a plant infected with a VA mycorrhizal fungus belonging to the genus <i>Gigaspora</i> by using a base material comprising calcined Akadama soil or a mixture thereof with calcined attapulgite to thereby proliferate the VA mycorrhizal fungus. This process serves to prevent contamination with indigenous VA mycorrhizal fungi, pathogenic bacteria and the like and efficiently proliferate a VA mycorrhizal fungus belonging to the genus <i>Gigaspora</i> used as a pure seed fungus. The invention serves to prepare a substance inoculated with a VA mycorrhizal fungus, which is easy to handle and has a high spore density, at a low cost. Furthermore, the invention makes it possible to commercialize, as such, the base material for proliferating a VA mycorrhizal fungus, so that a troublesome step of spore separation can be dispensed with and the operation can be simplified.		

(57) 要約

ギガスポラ (Gigaspora) 属に属する V A 菌根菌を感染させた植物を、焼成赤玉土、或いは焼成赤玉土と焼成アタパルジヤイトとの混合物を基材として栽培し、V A 菌根菌を増殖させることを特徴とする V A 菌根菌接種物の製造方法。本発明の方法によれば、土着の V A 菌根菌、病原菌等の混入を防ぐことができ、純粹に種菌として用いたギガスポラ (Gigaspora) 属に属する V A 菌根菌を効率よく増殖させることができる。また、本発明によれば、取扱が容易で、孢子密度の高い V A 菌根菌接種物を安価に作成することができる。更に、本発明によれば、V A 菌根菌増殖基材をそのまま商品とすることができるために、孢子分離の手間をかけずに済み、操作が簡便である。

情報としての用途のみ

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第1頁にPCT加盟国を同定するために使用されるコード

AT	オーストリア	CS	チェッコスロヴァキア	KR	大韓民国	PL	ポーランド
AU	オーストラリア	CZ	チェッコ共和国	KZ	カザフスタン	PT	ポルトガル
BB	バルバドス	DE	ドイツ	LI	リヒテンシュタイン	RO	ルーマニア
BE	ベルギー	DK	デンマーク	LK	スリランカ	RU	ロシア連邦
BF	ブルキナ・ファソ	ES	スペイン	LU	ルクセンブルグ	SD	スーダン
BG	ブルガリア	FI	フィンランド	LV	ラトヴィア	SE	スウェーデン
BJ	ベナン	FR	フランス	MC	モナコ	SI	スロヴェニア
BR	ブラジル	GA	ガボン	MG	マダガスカル	SK	スロヴァキア共和国
BY	ベラルーシ	GB	イギリス	ML	マリ	SN	セネガル
CA	カナダ	GN	ギニア	MN	モンゴル	TD	チャード
CF	中央アフリカ共和国	GR	ギリシャ	MR	モーリタニア	TG	トーゴ
CG	コンゴ	HU	ハンガリー	MW	マラウイ	UA	ウクライナ
CH	スイス	IE	アイルランド	NE	ニジェール	US	米国
CI	コート・ジボアール	IT	イタリア	NL	オランダ	UZ	ウズベキスタン共和国
CM	カメルーン	JP	日本	NO	ノルウェー	VN	ヴェトナム
CN	中国	KP	朝鮮民主主義人民共和国	NZ	ニュージーランド		

明 細 書

V A 菌根菌接種物の製造方法

技術分野

本発明は、農業や園芸等の分野で有用な V A 菌根菌、特にギガスポラ (Gigaspora) 属に属する V A 菌根菌の胞子密度が高い V A 菌根菌接種物の製造方法に関する。

背景技術

V A 菌根菌 (Vesicular Arbuscular Mycorrhizae) は、植物の根に共生することにより、植物の生長を促進したり、植物の耐病性等を向上させる働きがあり、その有用性は古くから知られている (小川 眞著 : V A 菌根とその働き, 森林立地, 第 3 0 (2) 巻, 第 5 7 ~ 6 5 頁, 1 9 8 8 年. 小林紀彦著 : V A 菌根菌と土壤病害への利用, 植物防疫, 第 4 2 巻, 第 2 5 9 ~ 2 6 6 頁, 1 9 8 8 年など) 。

しかしながら、V A 菌根菌、特にギガスポラ (Gigaspora) 属に属する V A 菌根菌を人工的に増殖させ、V A 菌根菌接種物として商業的に使えるようなものはこれまで製造されていない。

これは、V A 菌根菌、特にギガスポラ (Gigaspora) 属に属する V A 菌根菌の大量培養が非常に難しく、また培養操作が煩雑であり、コストがかかることが主な原因

とされている。

そこで特にギガスポラ (Gigaspora) 属に属する V A 菌根菌を商業的に使えるようにするために、培養操作が簡単で、かつ、安価に大量生産できる方法が望まれている。

このため、V A 菌根菌を増やす方法として、幾つかの提案がされている。

例えば、休耕地の土から V A 菌根菌を採取したり、或いは休耕地の土に V A 菌根菌を接種し、適当な宿主植物をその土で栽培することによって V A 菌根菌を増殖させる土耕法が知られている。

しかしながら、この土耕法は、V A 菌根菌胞子を分離する操作が必要であり、また、生の土を使用すると、土着の V A 菌根菌や病原菌の混入を招くおそれがあった。これは、土を化学薬剤や蒸気などで殺菌することにより回避することができるが、その手間が別途必要となる。また、残留薬剤による V A 菌根菌の生育阻害という新たな問題点を生ずる。

なお、この土耕法において、土壌中から V A 菌根菌胞子を大量に分離する方法としては、土壌を篩で分別した後、比重差を利用して分離する方法 (鈴木達彦著 : V A 菌根に関する諸問題 5 , 農業および園芸 , 第 6 2 巻 , 第 3 号 , 第 2 8 ~ 3 3 頁 , 1 9 8 7 年) や、遠心分離によ

る方法（特開昭 6 3 - 3 0 9 1 7 8 号公報）などが提案されているが、非常に煩雑な操作が必要であり、商業規模での生産を困難なものとしている。

また、V A 菌根菌を増やす方法として、多孔質で植物の根が分配されるようになる材料を用いて行なう栄養薄膜培養法が提案されている（特開昭 5 5 - 1 1 8 3 9 0 号公報）が、これを接種源として用いた場合には、根の乾燥によって感染性が低下するという問題があった。

さらに、毛状根を使って V A 菌根菌をインビトロで培養する方法が提案されている（特公昭 6 2 - 4 9 0 4 7 号公報，特開平 3 - 8 3 5 2 2 号公報など）。

この方法は、無菌的な方法であるので、病原菌等の混入は防ぐことはできるものの、操作が非常に煩雑になるという欠点がある。

また、パーライト，バーミキュライト，粘土などの多孔質体を、植物および V A 菌根菌の増殖培地として使用し、この多孔質体の上で、V A 菌根菌を増殖させる方法（Methods and Principles of Mycorrhizal Research, N. C. Schenck 編, The American Phytopathological Society. p 6 1, 1 9 8 2 年）や、植物として麦，コショウ，トウモロコシ，モロコシ，ネギ，アルファルファ，ピーナツなどを用い、バーミキュライト，ピート，パーライト，ピュミス等の担体上で栽培して V A 菌根菌

を増殖させる方法 (VA Mycorrhiza Conway Ll, Powell, D. Joseph Bagyaraj, CRC Press, p 190, 1984 年) などが知られている。

しかしながら、これらの方法によって、ギガスポラ (Gigaspora) 属に属する VA 菌根菌を高密度で増殖させた例は示されていない。

さらに、VA 菌根菌の胞子形成を誘導する方法としても、幾つか提案されており、例えば植物を日長調節することにより、強制開花させ、胞子形成を誘導する方法 (特開平 2 - 227068 号公報) や、水切りなどを行なって強制的に植物を枯らすことにより、胞子形成を誘導する方法などが知られているが、いずれも胞子形成させる度に植物を捨てなければならず、連続的に胞子形成させることが難しい。

また、VA 菌根菌の接種物を作る方法としては、大きく次の 2 つに分けられるが、VA 菌根菌接種物として実用的なものはこれまで得られていない。

すなわち、第 1 に、土壌などで増やした VA 菌根菌の胞子を分離回収し、その胞子をバーミキュライト、アタパルジャイト、ケイソウ土等の担体に、カルボキシメチルセルロース等の接着物と共に混ぜ、粒状化させて得た接種物 (特開平 1 - 165369 号公報) や、上記担体と炭との混合物を用いること以外は同様にして得られた

接種物（特開平 3 - 1 0 3 1 2 4 号公報）が知られている。

しかしながら、この場合には、胞子を分離する過程や粒状化過程で、胞子に損傷が与えられたり、粒状化過程で強制乾燥するために、高頻度で胞子が死滅することがあり、良質の接種物を作ることは困難であった。

また、第 2 に、担体として、土壌（特開平 3 - 5 8 7 1 5 号公報，同 3 - 7 6 5 7 2 号公報），発泡させた粘土，軽石等の多孔質構造を有する物（特開昭 6 0 - 2 3 7 9 8 7 号公報，同 5 5 - 1 1 8 3 9 0 号公報）、或いは多孔質両性イオン交換体（特開昭 6 3 - 8 7 9 7 3 号公報）を用いて、植物根と V A 菌根菌を共生させて増やし、これら担体に付着した V A 菌根菌をそのまま接種物として使用する方法が知られている。

しかしながら、この方法においては、例えば特開平 3 - 5 8 7 1 5 号公報に記載されているように、天然の土壌を使った場合には、病原菌による汚染が問題となる。

また、特開平 3 - 7 6 5 7 2 号公報に記載されているように、細粒土を V A 菌根菌の担体とし、粗粒土と深さ方向の界面に充填して、植物を栽培する方法では、0.1 ~ 1 m m の細粒土に、増えた V A 菌根菌を回収し、使用する。このため、製造過程（2 ~ 4 ケ月）で細粒土が砕け、目詰りを生ずる。この状態では、酸素の供給が充分

に行なわれず、V A 菌根菌の増殖に好ましいとは言えない。さらに、病原菌等の雑菌汚染の危険性が高い。

さらに、特開昭 6 3 - 8 7 9 7 3 号公報に記載されているように、多孔質両性イオン交換体を担体とし、イモ類を宿主植物として V A 菌根菌を増やす方法の場合には、宿主植物がイモ類に限定されることと、担体自体が D E A E セルロース等、高価で实际的でなく、また孢子密度も不十分である。

本発明者等は、このような従来の問題点を解消すべく鋭意研究を重ねた結果、驚くべきことに、基材として焼成赤玉土、或いは焼成赤玉土と焼成アタパルジャイトとの混合物を用いることにより、上記問題点をすべて解消することができることを見出し、この知見に基づいて本発明を完成するに至った。

発明の開示

すなわち本発明は第 1 に、ギガスポラ (Gigaspora) 属に属する V A 菌根菌を感染させた植物を、焼成赤玉土を基材として栽培し、V A 菌根菌を増殖させることを特徴とする V A 菌根菌接種物の製造方法を提供するものである。

また、本発明は第 2 に、ギガスポラ (Gigaspora) 属に属する V A 菌根菌を感染させた植物を、焼成赤玉土と

焼成アタパルジャイトとの混合物を基材として栽培し、V A 菌根菌を増殖させることを特徴とする V A 菌根菌接種物の製造方法を提供するものである。

なお、本発明の第 1 と第 2 とは、焼成赤玉土を単独で基材として用いるか、或いは焼成赤玉土と焼成アタパルジャイトとの混合物を基材として用いるかの点で相違している。

発明を実施するための最良の形態

V A 菌根菌は、土壤中に存在する接合菌の一種であり、その菌糸が様々な植物の根について菌根を形成し、両者が共生することが知られている。

本発明の方法においては、種々の V A 菌根菌の中でも特に、従来、高密度で増殖させることが困難であったギガスポラ (*Gigaspora*) 属に属する V A 菌根菌を選択的に用いる。

ここでギガスポラ (*Gigaspora*) 属に属する V A 菌根菌としては、例えばギガスポラ・アルビダ (*Gigaspora albida*), ギガスポラ・マルガリタ (*Gigaspora margarita*), ギガスポラ・ギガンタ (*Gigaspora gigantea*), ギガスポラ・カロスポラ (*Gigaspora calospora*), ギガスポラ・ヘテロガマ (*Gigaspora heterogama*) 等を挙げることができる。

これらギガスポラ (*Gigaspora*) 属に属する V A 菌根菌は、自然界から篩等を用いて集めたり (鈴木達彦著, V A 菌根に関する諸問題 5, 農業および園芸, 第 6 2 巻, 第 3 号, p 2 8 ~ 3 3, 1 9 8 7 年)、遠心分離により集めた (特開昭 6 3 - 3 0 9 1 7 8 号公報) ものをを用いることができる。さらに、栄養薄膜培養法 (特開昭 5 5 - 1 1 8 3 9 0 号公報) や器官培養した根を使用する方法 (特公昭 6 2 - 4 9 0 3 7 号公報) 等により増殖させたものを用いることができる。また、無機質や有機質の担体に付着させた V A 菌根菌も使用することができる。

本発明でギガスポラ (*Gigaspora*) 属に属する V A 菌根菌を感染させる植物、すなわち V A 菌根菌培養のための宿主植物としては、ギガスポラ (*Gigaspora*) 属に属する V A 菌根菌が感染する植物であれば特に制限はないが、生長が速く、根がよく張る植物であって、かつ、ギガスポラ (*Gigaspora*) 属に属する V A 菌根菌が感染しやすい植物が好適である。

具体的には例えば、トウモロコシ, メヒシバ, ソルゴー (別名ソルガム又はモロコシ), ムギ, 芝草, スダングラス, バヒアグラス, ギニアグラス等のイネ科植物、ナス, トマト, ピーマン, シシトウ等のナス科植物、赤クローバー, ダイズ, カラスノエンドウ, マングビーン, ピーナッツ, アルファルファ等のマメ科植物、ネギ,

玉ネギ等のユリ科植物などが挙げられる。

これらの植物は、種や実生苗を用いる他、播種して育苗後、移植して栽培したり、栄養繁殖したり、挿し芽、挿し木、接木、球根等により増殖、栽培したりして用いられる。

上記の如き宿主植物に、ギガスポラ（*Gigaspora*）属に属するVA菌根菌を感染させる場合に用いる基材（培地）としては、宿主植物が生育する基材ならば特に制限はなく、様々なものを挙げることができ、有機物である、無機物であるかを問わない。無機物としては例えば、ゼオライト、発泡粘土（ブレー粘土）、タルク、パーライト、バーミキュライト、（焼成）赤玉土、軽石、石灰岩、土、砂、コークス等を挙げるができる。また、有機物としては例えば、ピートモスなどを挙げることができ、これらを複数併用した混合基材を用いてもよい。

但し、土着の雑菌の混入防止という観点からは、滅菌処理（焼成処理も含む）した基材が好ましく、例えば滅菌土壌、焼成赤玉土等を好適に用いることができる。

ギガスポラ（*Gigaspora*）属に属するVA菌根菌の宿主植物への接種・感染方法について述べると、施用時期としては、宿主植物の発根前後のいずれであってもよいが、特に播種時や挿し芽の前処理時、播種や挿し芽と同時、或いは苗の移植時などが好ましい。また、施用方法

10

としては、V A 菌根菌を前記の基材と混合したり、根元に入れたり、種子や芽の下層に層状に施用したり、或いは定植時の植え穴の中に施用したりすることが好ましい。

V A 菌根菌を植物へ感染させる場合、通常、1 植物体に対し、1 ～100,000 個、好ましくは5 ～10,000個のギガスポラ (Gigaspora) 属に属するV A 菌根菌胞子を植物へ接種すればよい。

V A 菌根菌を接種した植物を、常法にて栽培することにより、例えば温度5 ～60℃、好ましくは10 ～45℃にて、基材のpH3 ～9.5、好ましくは4 ～7.5の条件で栽培することにより、V A 菌根菌が植物の根に感染する。

このように宿主植物の発根と共に、ギガスポラ (Gigaspora) 属に属するV A 菌根菌の感染が成立する。

本発明の方法は、このようにしてV A 菌根菌を感染させた植物を、赤玉土 (赤褐色系壤土) を加熱処理したもの、即ち焼成赤玉土、或いは好ましくはこの焼成赤玉土と焼成アタパルジャイト (加熱処理したアタパルジャイト) との混合物を基材として栽培する点に特徴がある。

すなわち、宿主植物であるV A 菌根菌感染植物を、焼成赤玉土、或いは焼成赤玉土と焼成アタパルジャイトとの混合物を基材とする培地に植え替え、V A 菌根菌を増殖させると共に、V A 菌根菌感染植物を十分に生育させ

1 1

る。なお、場合によっては、当初から、このような基材中で感染・栽培してもよい。

ここで用いる焼成赤玉土は赤玉土を200～1000℃、好ましくは250～850℃で焼成したものである。その粒径は特に制限はないが、通常、0.3～5mm、好ましくは0.5～3mmのものである。

また、焼成アタパルジャイトとしては、アタパルジャイトを200～1000℃、好ましくは300～650℃で焼成したものである。その粒径は特に制限はないが、通常、0.3～5mm、好ましくは0.5～3mmのものである。

焼成赤玉土と焼成アタパルジャイトとの混合物においては、焼成赤玉土を5～95容量%、好ましくは40～80容量%の割合で混合すればよい。

培地には、このような基材の他に、炭，軽石，発泡粘土等を混合することが可能であるが、この場合には、焼成赤玉土、或いは焼成赤玉土と焼成アタパルジャイトとの混合物の合計が、培地全体の80容量%以上となるようにする。

本発明の方法では、このように特定の基材を用いているため、ギガスポラ（*Gigaspora*）属に属するVA菌根菌が盛んに増殖し、VA菌根菌の菌糸が基材を満たした容器全体に効率よく伸長する。

1 2

V A 菌根菌感染植物に肥料等を与えて、栄養生長を維持しながら、胞子形成を誘導する。このようにして植物は栄養生長を続けながらも、V A 菌根菌は胞子を形成し始める。宿主植物の栽培は通常条件で行なえばよく、温度は通常、5 ～ 6 0 ℃である。

なお、植物を旺盛に生育させるために肥料を与えるが、肥料は調製したものであってもよいし、或いは市販のものであってもよい。また、固形肥料であってもよいし、施肥を調節しやすいように、液体肥料（液肥）を与えてもよい。

また、肥料中に含まれるリンの濃度は高すぎないようにすることが望ましく、好ましくは 3 0 0 p p m 以下とする。

このようにして V A 菌根菌感染植物の栄養生長を維持するが、適当な時期に、ギガスポラ（*Gigaspora*）属に属する V A 菌根菌の胞子形成を誘導する。

通常、栽培し始めてから、2 ～ 7 ヶ月程度経過して、植物が十分に生育し、V A 菌根菌も増殖したところで、水、栄養等の供給を絶ち、暫く放置すると、V A 菌根菌は胞子を形成する。

すなわち、胞子密度が十分に上がったところで、焼成赤玉土、或いは焼成赤玉土と焼成アタパルジャイトとの混合物を回収して、V A 菌根菌接種物（製剤）を得、必

1 3

要に応じて乾燥して製品化する。

このようにして孢子密度が高く、活性に優れたV A菌根菌接種物が得られる。なお、乾燥は孢子や菌糸がダメージを受けない程度の温度、例えば70℃以下、好ましくは20～50℃の温度で行なえば良い。

本発明の方法により製造して得られたV A菌根菌接種物を、野菜・果樹苗の育苗時や鑑賞用植物の栽培時に接種することにより、これら植物にV A菌根菌を感染させ、植物の良好な生育を図ることができる。

本発明の方法では、このようにして、十分な量のV A菌根菌の孢子を回収しうると共に、V A菌根菌感染植物を別の新たな基材（焼成赤玉土、或いは焼成赤玉土と焼成アタパルジャイトとの混合物からなる基材）に移植することにより、再度V A菌根菌の孢子形成を誘導することができる。また、所望しない土着のV A菌根菌や病原菌の混入を防止することができる。

すなわち、新たな基材（焼成赤玉土、或いは焼成赤玉土と焼成アタパルジャイトとの混合物からなる基材）に移植されたV A菌根菌感染植物に、上記と同様にして、肥料等を与えて、栄養生長を維持しながら、孢子形成を誘導し、孢子密度が十分に上がったところで、基材を回収し、乾燥して製品化するとともに、V A菌根菌感染植物を分離し、これを再度別の新たな基材に移植すること

1 4

により、1本のVA菌根菌感染苗から繰り返し、複数回、にわたり、十分な量のVA菌根菌の胞子を得ることが可能となる。

次に本発明を実施例により、さらに詳しく説明する。
実施例1，2及び比較例1，2

150ミリリットル（ml）容のビニールポットに、赤玉土（関東ローム由来の赤褐色系壤土）を800℃で焼成した焼成赤玉土（粒径0.5～4mm）を基材として、ポットの容量の3分の2まで充填し、その上に種菌として、休耕地より採取したVA菌根菌〔ギガスポラ・マルガリタ（*Gigaspora margarita*）〕（なお、本菌は工業技術院微生物工業技術研究所において、受託を拒否された。本出願人は、本菌の提供を要請する者に対して、本菌を提供する用意がある。）の胞子を50個接種し、さらに上記と同じ焼成赤玉土を1cmの厚さに充填した。その上に、アルファルファの種子を3粒播き覆土した。

このようにセットしたポットを計12個用意し、各ポットの中を充分濡らした後、25～30℃のガラス温室内で4週間栽培してVA菌根菌を感染させた後、12鉢の5号プラスチック鉢（1.5リットル容）に移植した。その際に、基材として、800℃で焼成した赤玉土（粒径0.5～4mm）（実施例1）、600℃で焼成したアタパルジャイトに800℃で焼成した赤玉土（粒径0.5

1 5

～ 4 mm) を 1 : 1 (容積比) の割合で混合した基材 (実施例 2)、市販の非焼成赤玉土 (粒径 0.5 ～ 4 mm) (比較例 1)、或いはバーミキュライト (粒径 1 ～ 4 mm)

(比較例 2) を、各 3 ポットずつ充填した。なお、基材の中に化成肥料 (8 - 8 - 8) を、用土 1 リットル当り 5 g の割合で混合した。

移植後、25 ～ 35 °C のガラス温室内で、14 週間にわたり植物を栽培しながら、V A 菌根菌 [ギガスポラ・マルガリタ (*Gigaspora margarita*)] を増殖させ、その後、水の供給を中止し、2 週間放置した。このようにして得られた V A 菌根菌接種物を回収し、付着している V A 菌根菌 [ギガスポラ・マルガリタ (*Gigaspora margarita*)] の孢子数を測定した。各区 3 ポット毎の平均値を第 1 表に示した。なお、非焼成赤玉土使用区 (比較例 1) においては、グロムス (*Glomus*) 属と思われる、別の V A 菌根菌の孢子の混入が観察された。

1 6

第 1 表

	実施例 1	実施例 2	比較例 1	比較例 2
	焼成赤玉土	焼成アタパ ルジャイト + 焼成赤玉土	非焼成 赤玉土	バーミ キュラ イト
胞子数 (個／ ポット)	9,769	12,133	7,229	1,281

実施例 3, 4 及び比較例 3, 4

実施例 1, 2 及び比較例 1, 2 において用いたアルファルファの代わりに、白クローバーを用い、かつ、5 号プラスチック鉢の基材として、焼成赤玉土のみからなる基材（実施例 3）、焼成アタパルジャイトと焼成赤玉土とを、1 : 2（容積比）の割合で混合した基材（実施例 4）、非焼成赤玉土のみからなる基材（比較例 3）、或いは天然の黒ボク土をオートクレーブ（120℃, 1 時

17

間殺菌)処理した土からなる基材(比較例4)を用いた、こと以外は、実施例1, 2及び比較例1, 2と同様に行なった。各区3ポット中に含まれた胞子数の平均値を第2表に示した。なお、非焼成赤玉土使用区(比較例3)においては、グロムス(Glomus)属と思われる、別のVA菌根菌の混入が観察された。

第2表

	実施例3	実施例4	比較例3	比較例4
	焼成 赤玉土	焼成アタパ ルジャイト + 焼成赤玉土	非焼成 赤玉土	黒ボク土
胞子数 (個/ ポット)	8,076	12,803	4,226	1,551

実施例5, 6及び比較例5

実施例1, 実施例2, 比較例1において、ギガスポラ

・マルガリタ (*Gigaspora margarita*) の代わりに、ギガスポラ・アルビダ (*Gigaspora albida*) (なお、本出願人は、本菌の提供を要請する者に対して、本菌を提供する用意がある。) を用いたこと以外は、実施例 1 , 実施例 2 , 比較例 1 と同様に行なった。結果を第 3 表に示す。

第 3 表

	実施例 5	実施例 6	比較例 5
	焼成 赤玉土	焼成アタパ ルジャイト + 焼成赤玉土	非焼成 赤玉土
胞子数 (個 / ポット)	9,218	11,004	6,059

本発明の方法では、焼成赤玉土、或いは好ましくは焼成赤玉土と焼成アタパルジャイトとの混合物を基材として用いることによって、土着のV A菌根菌，病原菌等の混入を防ぐことができ、純粹に種菌として用いたギガスポラ（Gigaspora）属に属するV A菌根菌を増殖することができる。

また、本発明の方法によれば、これまでV A菌根菌の中でも増殖が困難であったギガスポラ（Gigaspora）属に属するV A菌根菌を効率よく増殖させることができる。

さらに、本発明の方法によれば、取扱が容易であって、孢子密度が高く、しかも活性を安定に保持するV A菌根菌接種物（製剤）を安価に作成することができる。

また、本発明の方法によれば、V A菌根菌増殖基材をそのまま商品とすることができるために、孢子分離の手間をかけずに済み、操作が簡便である。

産業上の利用可能性

本発明の方法によれば、これまでV A菌根菌の中でも増殖が困難であったギガスポラ（Gigaspora）属に属するV A菌根菌を効率よく増殖させることができるため、農業，園芸業等の分野において極めて有効に利用することができる。

請求の範囲

- (1) ギガスポラ (*Gigaspora*) 属に属する V A 菌根菌を感染させた植物を、焼成赤玉土を基材として栽培し、V A 菌根菌を増殖させることを特徴とする V A 菌根菌接種物の製造方法。
- (2) ギガスポラ (*Gigaspora*) 属に属する V A 菌根菌を感染させた植物を、焼成赤玉土と焼成アタパルジャイトとの混合物を基材として栽培し、V A 菌根菌を増殖させることを特徴とする V A 菌根菌接種物の製造方法。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP93/00801

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl⁵ A01G7/00

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. Cl⁵ A01G7/00

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, A, 4-179473 (Idemitsu Kosan Co., Ltd.), June 26, 1992 (26. 06. 92), (Family: none)	1, 2
X	JP, A, 3-247270 (Central Glass Co., Ltd.), November 5, 1991 (05. 11. 91), (Family: none)	1, 2

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

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"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)

"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

"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

"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

"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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

August 31, 1993 (31. 08. 93)

Date of mailing of the international search report

September 21, 1993 (21. 09. 93)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Facsimile No.

Authorized officer

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl. ⁸ A 01 G 7 / 0 0		
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. ⁸ A 01 G 7 / 0 0		
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 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 請求の範囲の番号
X	JP, A, 4-179473 (出光興産株式会社) 26. 6月. 1992 (26. 06. 92) (ファミリーなし)	1, 2
X	JP, A, 3-247270 (セントラル硝子株式会社) 5. 11月. 1991 (05. 11. 91) (ファミリーなし)	1, 2
☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☐ 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 「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 「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの 「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) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献 「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 「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 「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 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日	
31. 08. 93	21.09.93	
名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100 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) 星 野 浩 一 ⑤	2 B 8 6 0 2
	電話番号 03-3581-1101 内線	3238