

自然土壌細菌を利用した 植物根頭がんしゅ病防除法

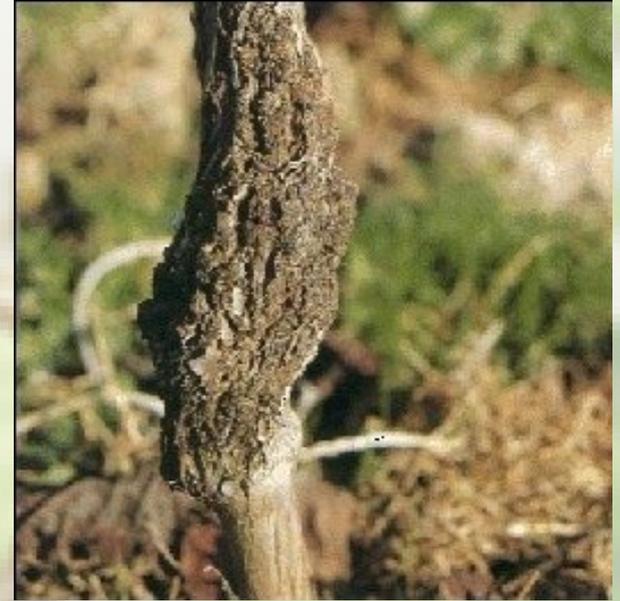
広島大学大学院先端物質科学研究科
分子生命機能科学専攻

教授 山田 隆

○ 准教授 宇佐美 昭二

助教 藤江 誠

根頭がんしゅ病とは・・・



ナシ

バラ

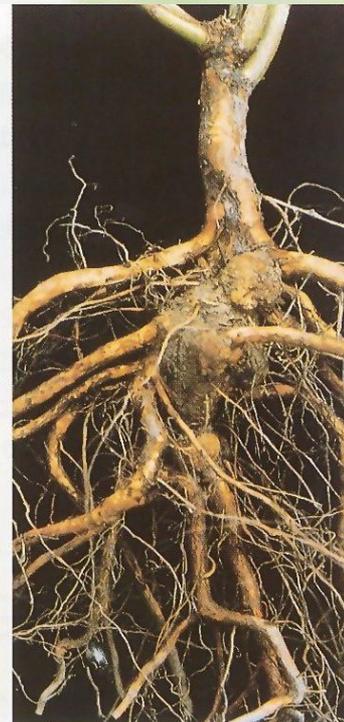
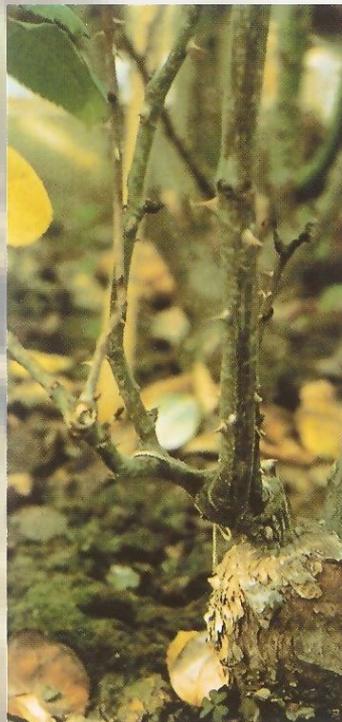
ブドウ

- 植物にできる腫瘍の一種
- 様々な植物種に生じる。
- 植物の栄養を奪い、元気を失くさせる。
- 実付・花付が悪くなる。
- 原因菌：土壌細菌 *Agrobacterium tumefaciens*
- 原因菌を除去しても腫瘍は治らない。

桜・バラの根頭がんしゅ病



桜



バラ

- 日本における最も重篤な被害
 - 桜:ソメイヨシノ、バラ:バラ愛好家、ブドウ:ブドウ生産

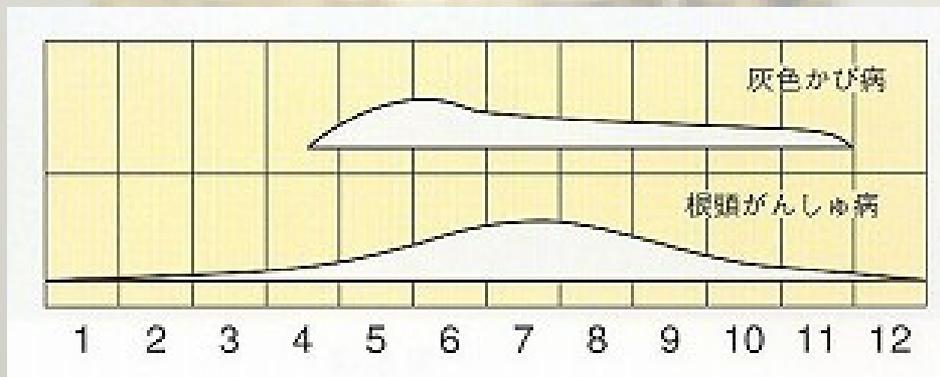
症状と発生要因

● 症状

- 1. 幹の根ぎわや根に多くの癌種を作る。
- 2. 年々大きくなる。
- 3. 時々、毛根病を併発する。
- 4. 苗木にも発病するが、初期生育は健全苗とかわらない。
- 5. 発病樹は生育が不良となる。地上部からだけでは判別しがたい。
- 6. 余病を起しやすくなる。
- 7. 様々な果樹、花卉等に発生する。

● 発生要因

- 1. 病原細菌は土壤中に潜伏しており、苗木などが植えられるとその傷口から侵入、発病する。
- 2. 樹の組織の生長が旺盛な時に癌種の発達も盛んになる。
- 3. 病原細菌は癌種の表面で増殖し、雨水に流されて傷口に達して感染し、また土壤中に潜伏する。

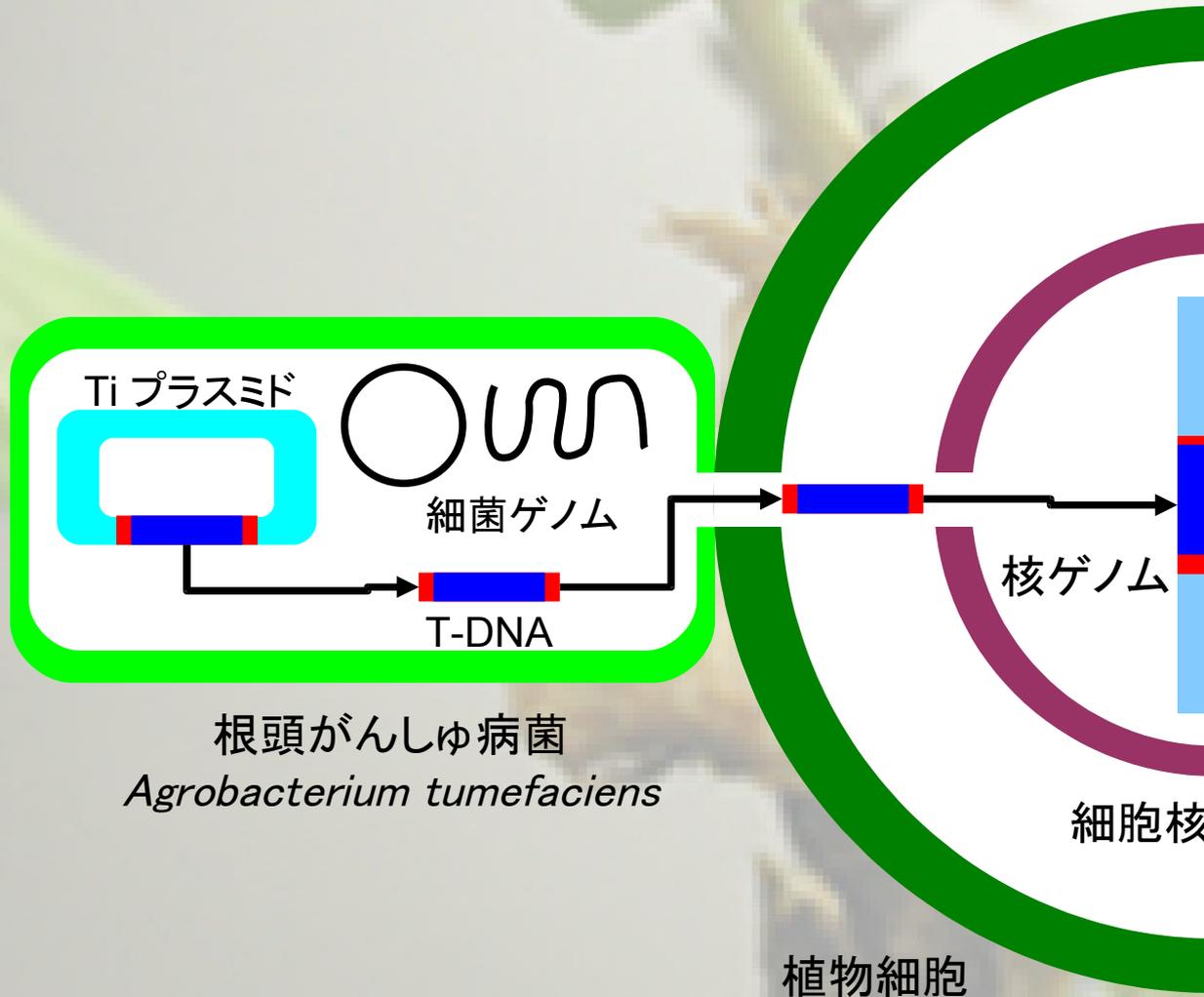


根頭がんしゅ病の発生時期

根頭がんしゅ病の感染経路

- 土壌汚染
 - 根頭がんしゅ病発生土壌では何年も病原菌が生き残る。
- 継木、剪定時に感染
 - 継木、剪定は園芸・農芸上必須の操作
- 農機具等による伝播
 - 多数の植物を取り扱うので、毎回殺菌処理を行うことは非現実的。

根頭癌種が治癒しない理由



- 自然界で起きる遺伝子導入
- 温帯～寒帯に広く分布
- 腫瘍は病原菌がいなくても増殖し、罹病植物の栄養を奪い続ける。

他種こぶ病との比較

- 根頭がんしゅ病
 - 腫瘍形成による栄養搾取
 - 原因菌を除去しても腫瘍は治らない。
 - 治療困難、予防的処置が有効
- ネマドーダ根瘤病等
 - 腫瘍形成による栄養搾取または毒素生産
 - 原因菌の除去により腫瘍は治癒する。
 - 病気発生後の治療可能(特異的抗生物質等)

実用化されている根頭がんしゅ 病対策と問題点

- 土壌殺菌
 - 罹病植物の処分と汚染土壌の加熱処理等
 - 罹病植物の処分による損失
 - 高額な殺菌費用
- 土壌置換
 - 健全土壌との交換
 - 罹病植物の処分による損失
 - 高額な運送費、処分代、用地
- 抗生物質による殺菌
 - 高額な抗生物質費用
 - 土壌細菌相の破壊
- 木酢液、有機酸等による殺菌
 - 経験的使用による不確実性

実用化されている根頭がんしゅ 病対策と問題点

- 微生物農薬バクテリローズ(日本農薬株式会社)
 - *Agrobacterium radiobacter* K84
 - ノパリン型*Agrobacterium tumefaciens*に対する特異的殺菌物質バクテリオシン84を生産する。
 - 罹病植物への治療効果はない。
 - 予防的処置:大量投与が必要
 - 外国由来の土壌細菌
 - 土壌細菌相の破壊



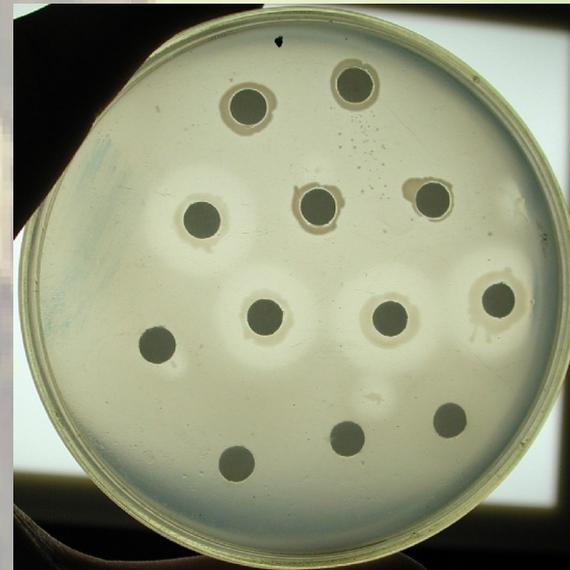
(日本農薬株式会社より)

新技術の特徴1

- 根頭がんしゅ病菌に対する増殖阻害菌
- 国内産自然土壌由来の非病原性土壌細菌
 - 土壌細菌相を破壊しない。
 - 自然界で起きていることを促進する。



増殖阻害菌の効果1



増殖阻害菌の効果2

新技術の特徴2

- 根頭がんしゅ病菌種別の増殖阻害菌
 - 原因菌別に最適増殖阻害菌を適用
 - 効果的な土壌回復

検定菌

- 日本産 *Agrobacterium tumefaciens*
 MAFF301001 : 桜属、ダイズ
 MAFF301222 : マーガレット、マメ科植物
 MAFF301224 : バラ
 MAFF301276 : 菊、ダイズ
 IFO15193 : 菊
- 外国産 *Agrobacterium tumefaciens*
 LBA4404 : 実験用非病原性
 EHA101 : 実験用非病原性
 NTL4 : 実験用非病原性
- 日本産 *Agrobacterium rhizogenes*
 IFO14793 : 牡丹、バラ
- 外国産 *Agrobacterium rhizogenes*
 LBA1334 : ミヤコグサ
- 大腸菌
 JM109、XL-1BlueMRF
- 根粒菌 *Mesorhizobium loti*
 MAFF303099

	A	B	C	D	E	F	G	H
MAFF301001	○	△	◎	△	◎	◎	—	—
MAFF301222	○	△	◎	×	×	◎	—	○
MAFF301224	×	○	○	×	○	△	—	—
MAFF301276	◎	○	○	○	×	◎	—	—
IFO15193	◎	○	◎	○	○	◎	—	○
NTL4	○	○	◎	○	○	◎	○	△
LBA4404	◎	○	△	△	○	○	△	△
EHA101	◎	◎	○	×	○	◎	—	○
IFO14793	◎	◎	○	△	○	×	—	—
LBA1334	◎	○	◎	△	×	◎	—	—
MAFF303099	△	×	△	△	○	◎	—	—
JM109	○	×	○	△	○	◎	—	—
XL-1BlueMRF	×	×	×	○	○	◎	—	—

阻止円の大きさ
 ×: 阻止円非形成
 △: 直径1mm未満
 ○: 直径1~2mm
 ◎: 直径2mm以上
 —: 未検定

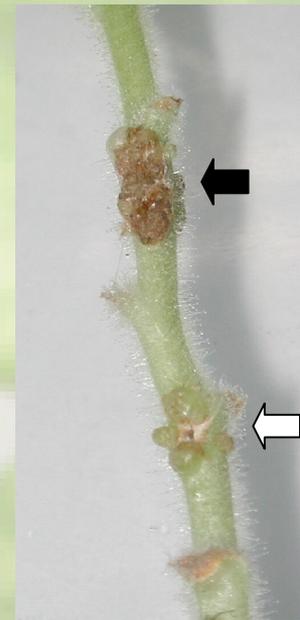
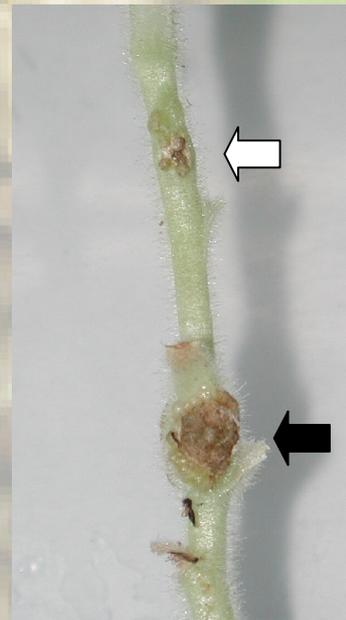
新技術の特徴3

- 増殖阻害菌による根頭癌種形成阻害
- 根頭がんしゅ病の防除



MAFF301276

MAFF301276
+
Enterobacter sp. strain H



MAFF301276

MAFF301276 + *Enterobacter* sp. strain H

新技術の特徴4

- 阻害菌の複数混合による阻害効果の増強
 - 菌種別阻害効果の最適化
 - 土壌細菌相の非破壊

	A					B				C			D		E	A+B+C+
	B	C	D	E	F	C	D	E	F	D	E	F	E	F	F	D+E+F
MAFF301001	×	○	○	○	◎	×	○	○	◎	○	○	○	△	◎	◎	○
MAFF301222	×	△	×	△	◎	×	○	△	◎	×	△	○	×	◎	◎	○
MAFF301224	△	○	△	△	○	△	△	△	◎	×	×	◎	×	◎	◎	◎
MAFF301276	△	△	△	○	◎	△	○	△	◎	△	○	◎	×	◎	◎	◎
NTL4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	×	×	◎	△	◎	◎	◎
LBA4404	—	—	—	—	—	—	—	—	—	×	×	○	△	◎	◎	◎
EHA101	×	×	×	△	◎	×	○	○	○	○	○	○	×	◎	◎	◎
LBA1334	△	○	△	○	◎	△	△	○	◎	△	○	◎	○	◎	◎	◎
JM109	×	×	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	×	◎	◎	◎

想定される用途

- 根頭がんしゅ病菌汚染土壌の再生
 - － 根頭がんしゅ病の発生した園芸土壌
 - 従来: 廃棄 > 高い運搬費用、廃棄場所の確保
 - 本法: その場で再生 > 運搬費用の削減、廃棄場所不要
- 花卉・園芸植物植え付け時の根頭がんしゅ病防除用製剤
 - － 微生物農薬
 - 従来: 外国由来の単一菌種 > 土壌細菌相の変化大
> 植物生長への影響大
 - 本法: 自然土壌由来混合菌種 > 土壌細菌相の変化小
> 植物生長への影響小

想定される業界

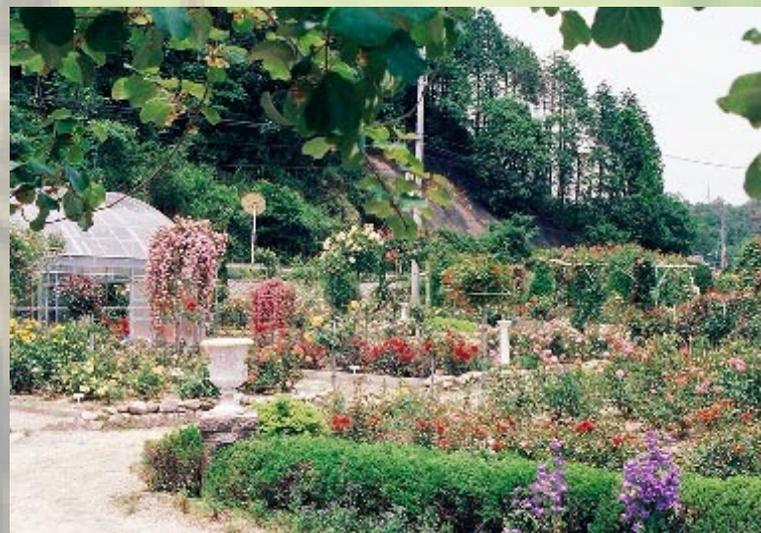
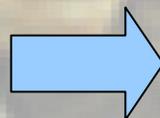
- 造園業者
 - 公園・緑地等の管理
 - 客土
- 花卉・園芸資材製造業
 - 園芸用土壌(バラ等)の製造・販売
 - バラ等の植え付け時予防薬
- 果樹栽培業者
 - ブドウ・ナシ等の果樹栽培土壌の再生

実用化に向けた課題1

- 増殖・感染抑制機構の解明と効率化
 - － 抑制機構は未解明
 - 抑制機構の解明
 - － 抑制機構の効率化
 - 増殖抑制菌の改良(育種による変異体分離等)
 - 根頭がんしゅ病菌種毎の増殖阻害菌・組み合わせの最適化
 - － 新奇抑制菌の分離と改良
 - 分離条件の検討による新奇抑制菌の分離
 - 育種による改良

実用化に向けた課題2

- 根頭がんしゅ病菌の増殖・感染抑制効果
 - － 実験室レベルの効果
 - 特定土壌、特定植物、実験室内条件
 - － 実地検証
 - 様々な土壌、様々な植物、自然条件
 - フィールドスケール



実用化に向けた課題3

- 大量培養と保存技術
 - 実験室スケール
 - 小スケール
 - 高栄養価培地
 - 即時使用
 - 実地使用
 - 培養コストの削減
 - 大量培養
 - 長期保存（製剤化）



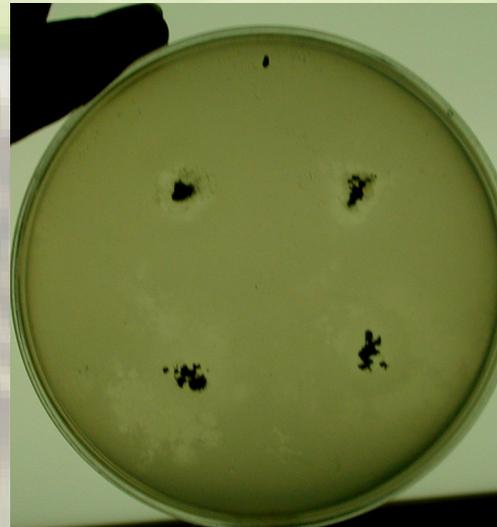
企業への期待1

- 実地検証
 - フィールド実験用土壌の提供とフィールド実験
- 大量培養・保存技術
 - 大量培養及び保存(製剤化)技術



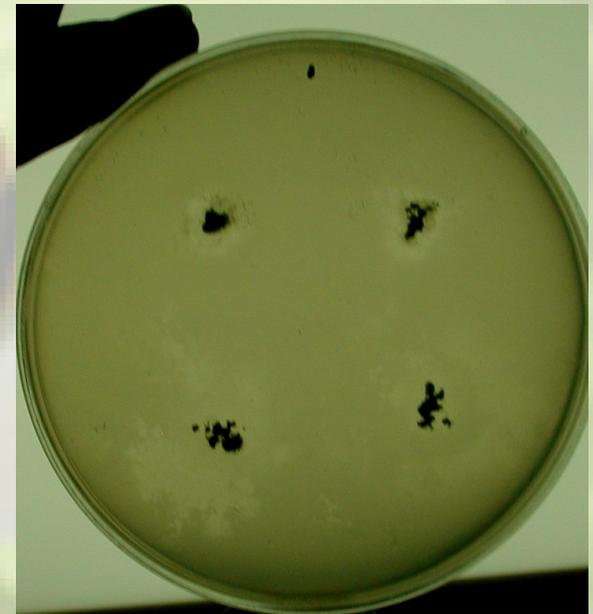
企業への期待2

- 更なる増殖阻害菌の分離
 - 様々な土壌からの新奇増殖阻害菌の分離
 - 増殖・感染抑制効果の検証
 - 複数混合効果の検証
- 人海戦術



<追加1> 土壌アメーバによる 病原性土壌細菌防除

- 新奇増殖阻害微生物
 - 土壌性アメーバ: アカントアメーバ
 - 自然土壌中に多数存在
 - 耐久性孢子形成
 - 食細菌性
 - × アカントアメーバ角膜炎として悪名が先行
 - × 自然土壌中に多数存在し、通常は非病原性



<追加2>

根頭がんしゅ病菌に対する バクテリオファージ

- *Agrobacterium*属細菌感染性バクテリオファージ
 - 非病原性・非致死性
 - M13型?
 - 対*Agrobacterium*属細菌用遺伝子導入ツール
 - 感染性抑制機構の導入(非遺伝子組換え体として作成予定)
 - 実験用ツール
 - 増殖抑制ツール

(kbp)

19.33

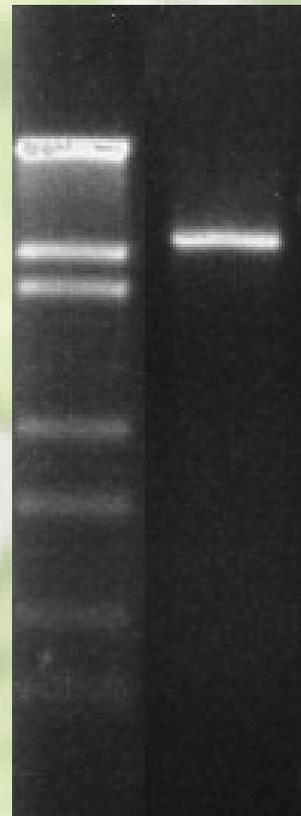
7.74

6.22

4.26

3.47

2.69



本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 :根頭がんしゅ病菌の増殖を阻害する細菌含有組成物およびその利用
- 出願番号 :特願2006-135829
- 出願人 :国立大学法人広島大学
- 発明者 :山田 隆、宇佐美 昭二、藤江 誠

お問い合わせ先

広島大学
産学連携センター
産学連携部門
コーディネータ 榎木 高男

TEL 082-421-3704

E-mail kayaki@hiroshima-u.ac.jp