土壌の病害抑止力を高める拮抗微生物集積誘導剤の開発に向けて

清水将文
岐阜大学応用生物科学部
植物病理学研究室

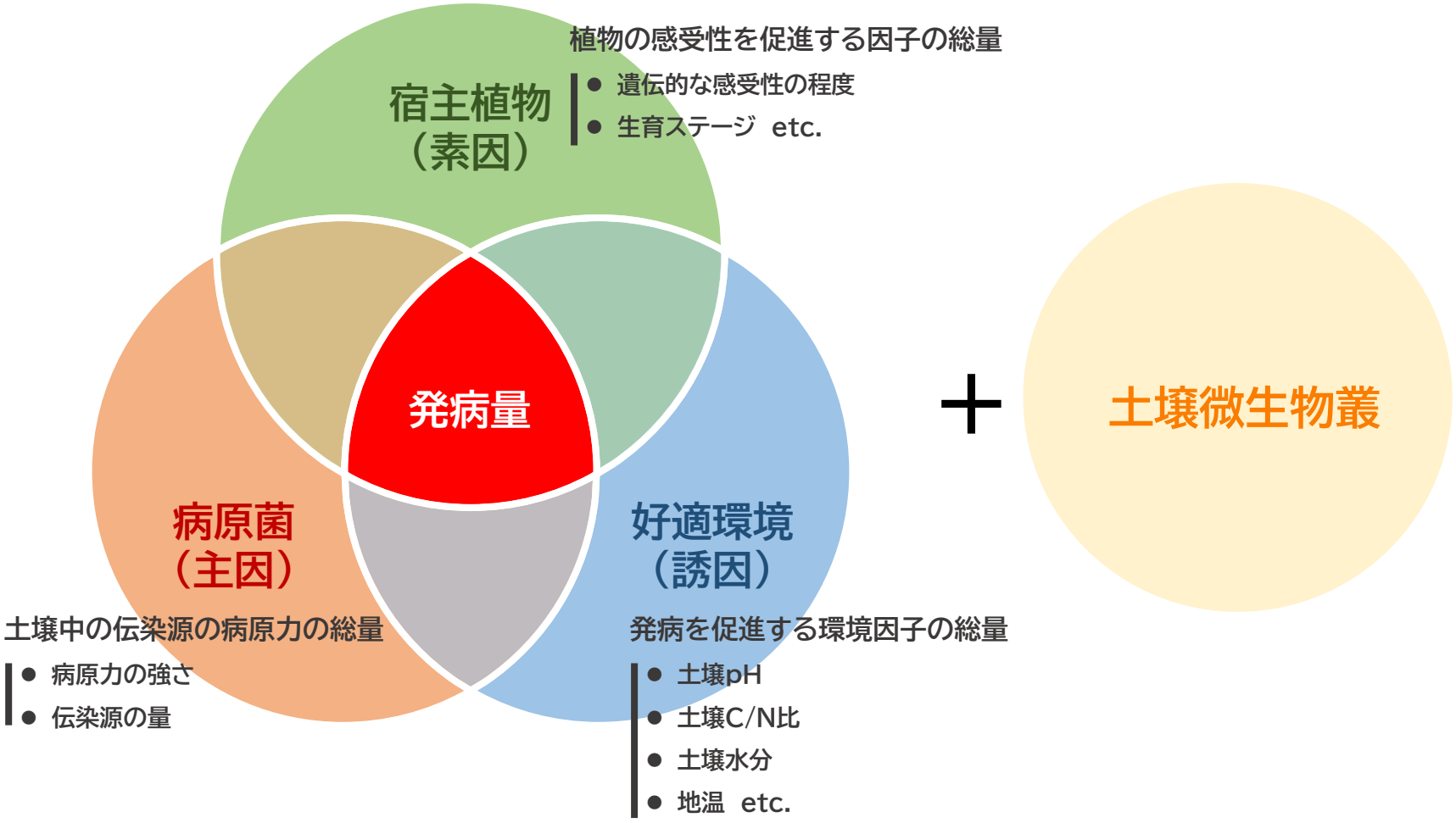
土壌伝染性の病原体による病害（土壌病害）

- 萎凋、根腐れ、立ち枯れといった重篤な症状
- 種子伝染性や空気伝染性の病害よりも被害が大きい
- 農作物の年間収量損失の10～20%を占める
- 防除が難しい（土壌くん蒸消毒が広く行われている）

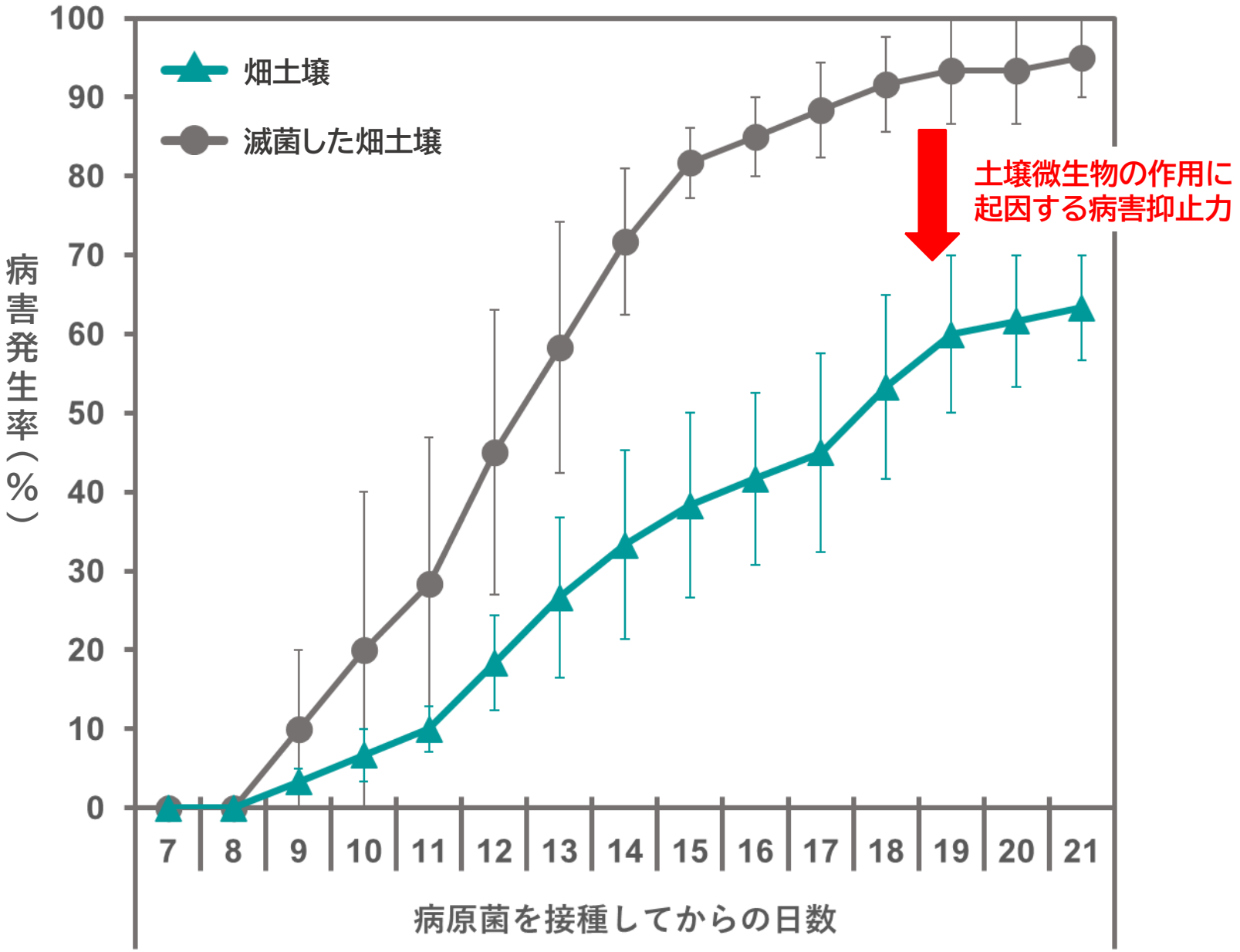
土壌くん蒸剤には**安全性や環境に対する負荷の面で問題**が多く、使用量削減が重要な課題となっている

代替防除技術の開発が急務

土壌病害の発病量に関わる要因



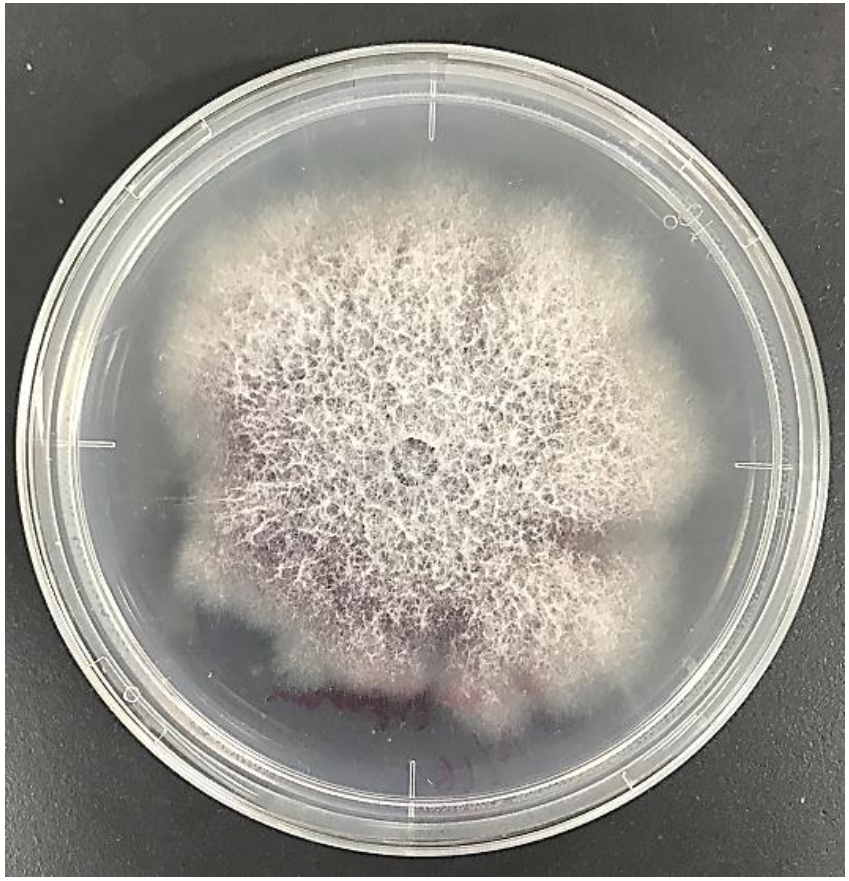
土壌に普遍的に存在する病害抑止力



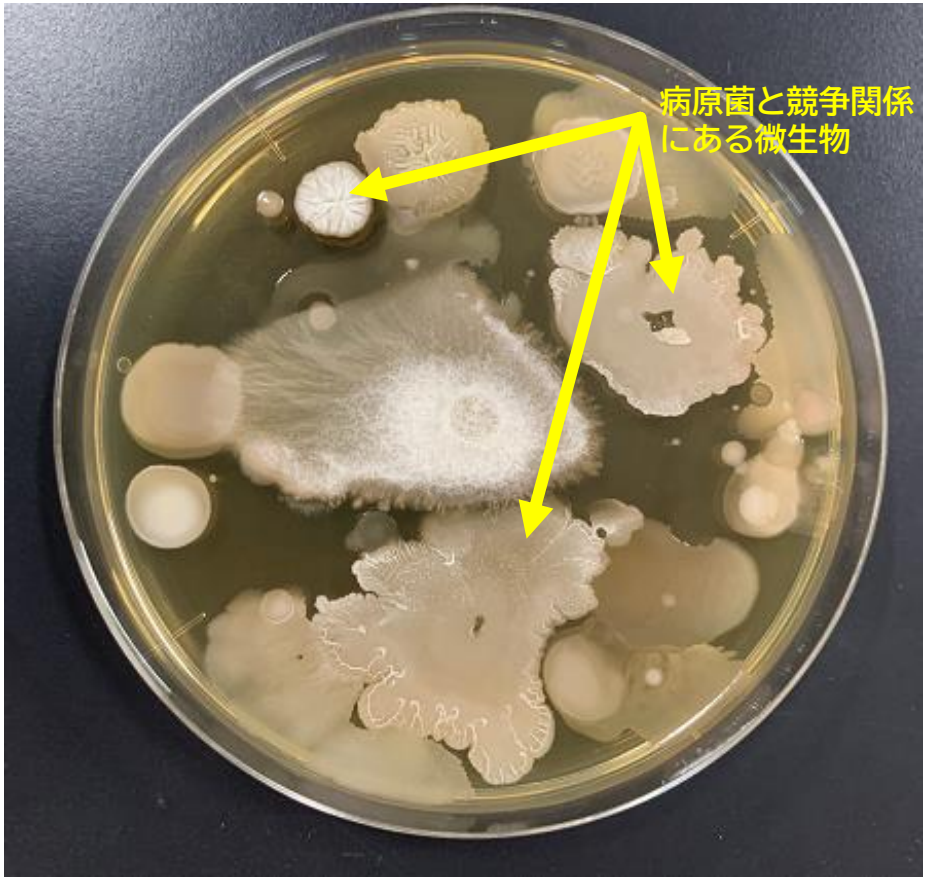
土壌微生物間の生存競争

栄養素や住処をめぐる微生物間の競合・拮抗作用

病原菌のみを寒天培地で培養



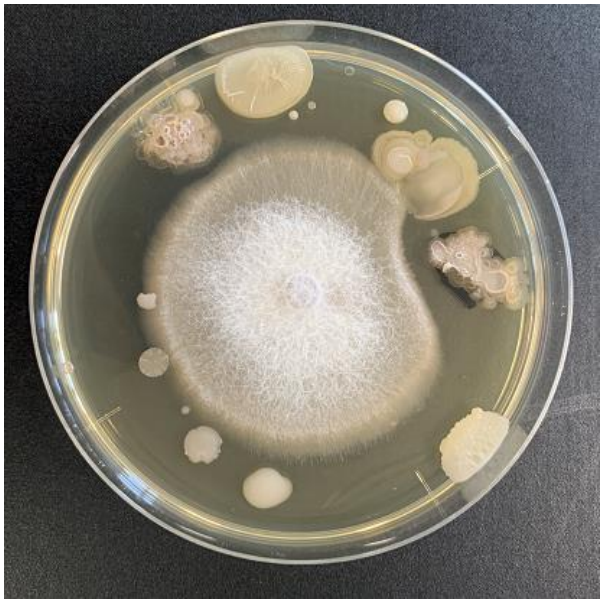
土壌懸濁液を塗布した培地で病原菌を培養



土壌微生物間の生存競争

土壌微生物叢のもつ病原菌抑止力の総量
（競争関係にある微生物の存在量や活性）

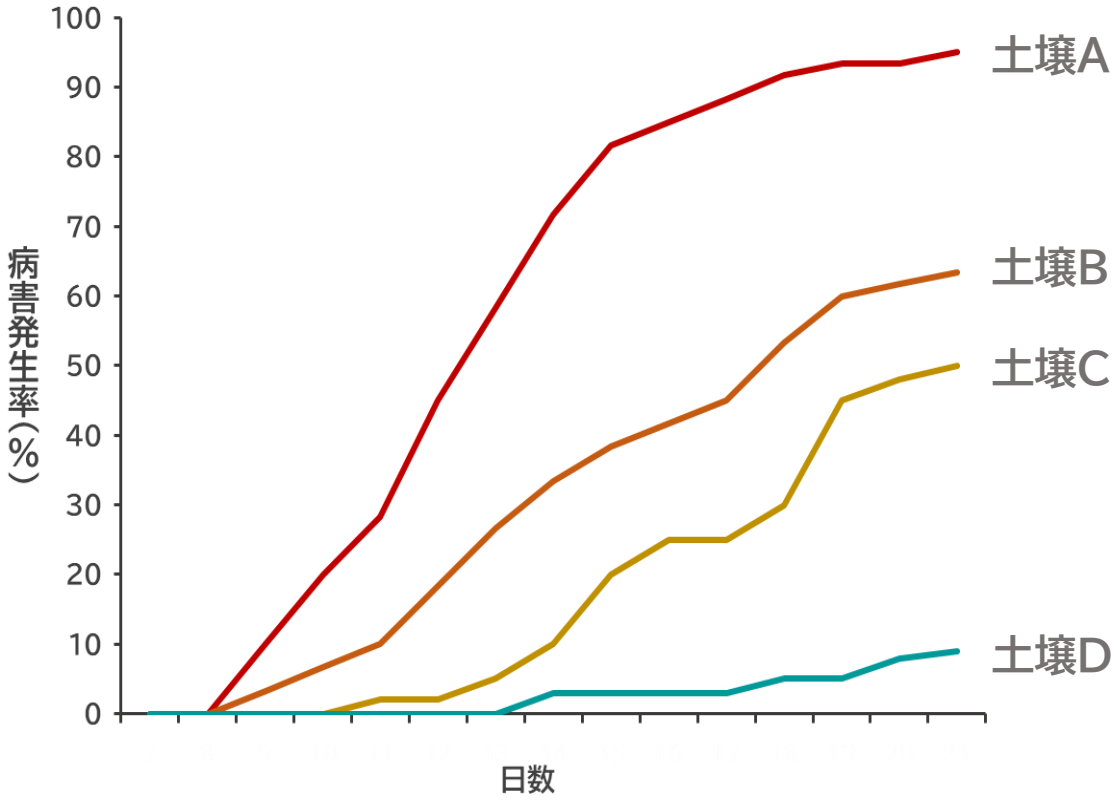
小さい ⟶ 大きい



大きい ⟶ 小さい

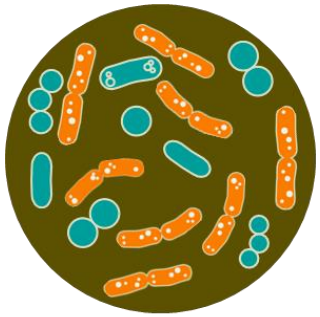
病原菌のコロニーの大きさ（増殖量）

土壌の病害抑止力と土壌微生物叢との関係



土壌微生物叢

病原菌抑止力 低



病原菌抑止力 高

競争関係にある微生物

競争関係にない常在微生物

発病抑止土壌

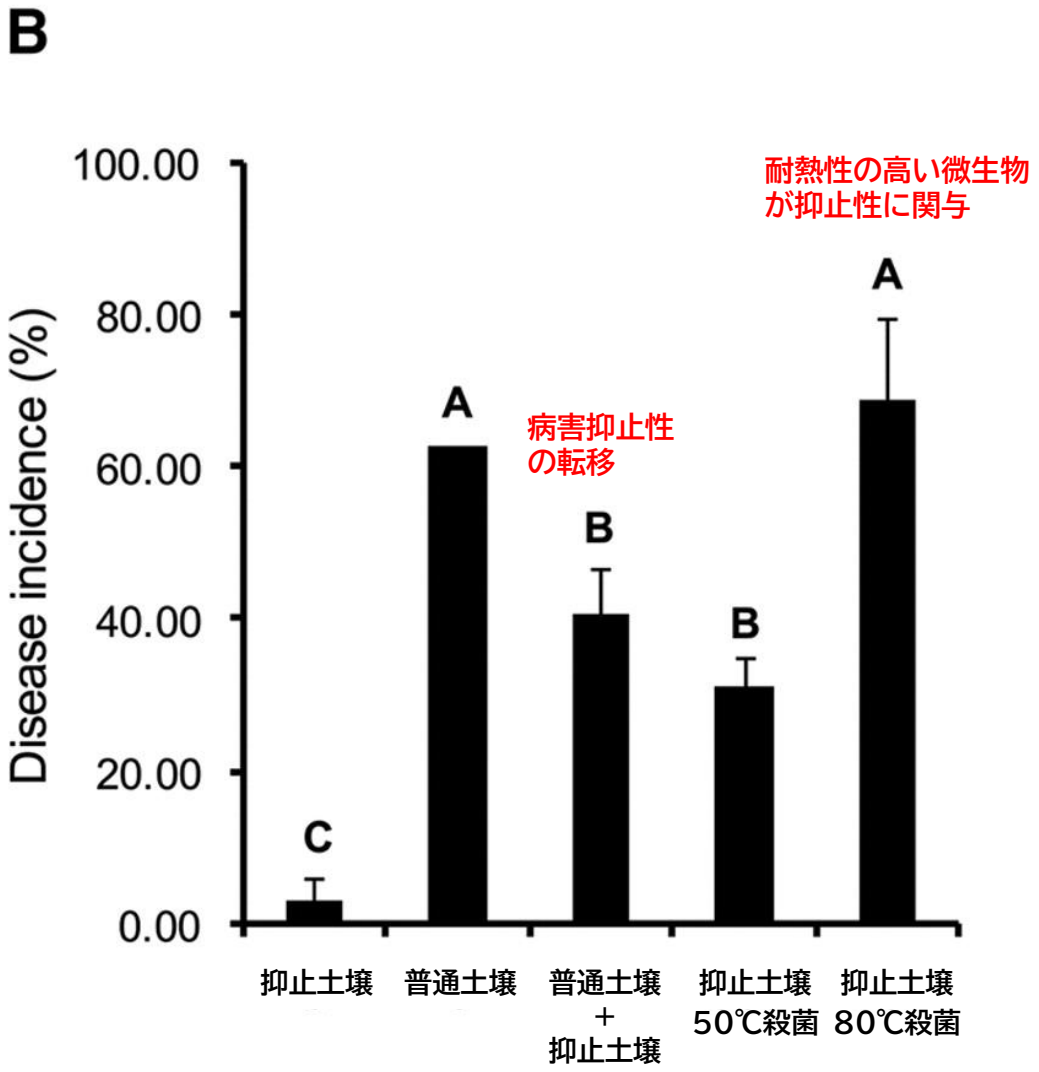
土壌病害防除を目的として薬剤、有機物、その他資材を施すことなく感受性の宿主植物を栽培したとき、病気の発生が予想される環境（水分、pH、温度その他の因子）にありながら、病気が発生しないか、極めて少ない土壌

例）コムギベアパッチ病、バナナ萎凋病、タバコ黒根病の発病抑止土壌

Figure 1. Natural biological suppression can reduce the impact of rhizoctonia disease in cereal crops. Inset: Damaged hyphae of *Rhizoctonia solani* AG8 in a suppressive soil.
Footnote: Enhanced biological disease suppression mediated by a variety of bacteria, actinomycetes and fungi has been identified under conservation management practices in South Australia. Unravelling the composition of such microbial communities has the potential to identify a new suite of beneficial microbes.

(source: Gupta et al. 2011)

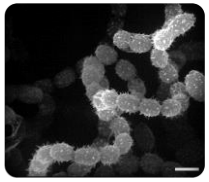
発病抑止土壌の抑止性と土壌微生物叢



(Rodrigo Mendes et al. 2011, Science)

発病抑止土壌の抑止性と土壌微生物叢

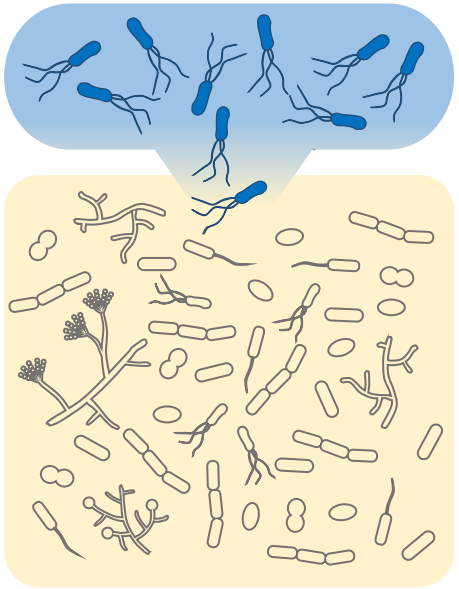
2,4-DAPG産生性の蛍光性*Pseudomonas*



チオペプチド抗生物質産生性の*Streptomyces*

非病原性*Fusarium*

土壌微生物叢

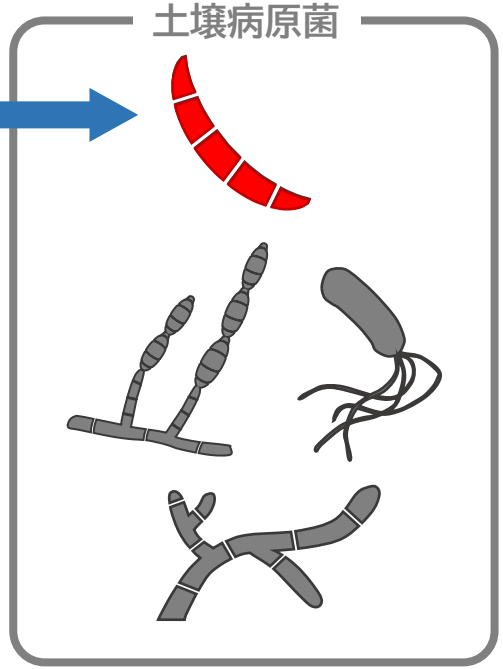


特異的抑止性

- 特定の病原菌に対して**強力な拮抗作用を示す**
  特定の拮抗微生物群の増殖に起因
- 特定の病原菌に対する高レベルの抑止性

一般的抑止性

- 病原菌と競争的な関係にある全ての土壌微生物群による競合・拮抗的な作用の総和
- さまざまな病原菌に対する低レベルの抑止性



微生物の力を活用した土壌病害防除戦略

特定の拮抗微生物株の利用

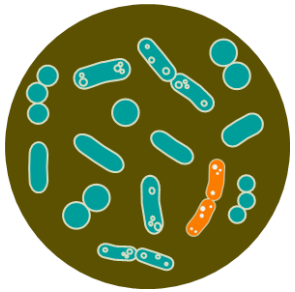
優秀な拮抗微生物株

大量培養して土壌に投入

土着拮抗微生物の利用

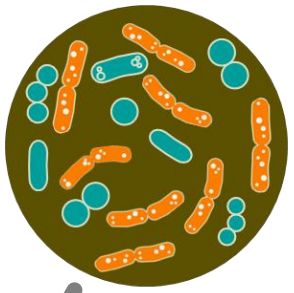
土壌改良資材

化合物



土壌微生物叢

土着拮抗微生物の
数や活性を高める

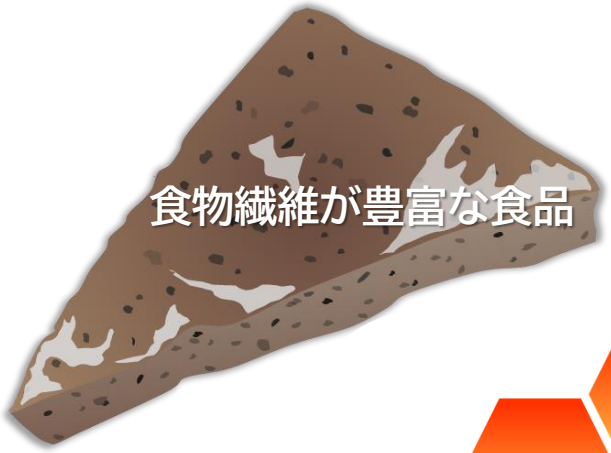


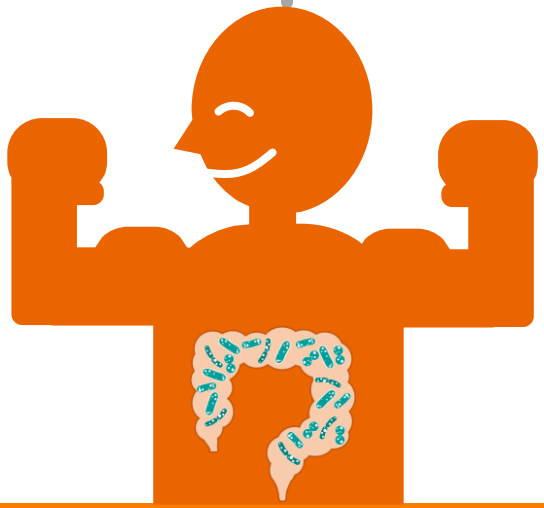
病原菌の伝染源の量や病原力を低下させ、土壌病害の発生を抑制

微生物の力を活用した土壌病害防除戦略

特定の拮抗微生物株の利用

土着拮抗微生物の利用





腸内の善玉菌の数や活性を高めて健康増進

微生物の力を活用した土壌病害防除戦略

特定の拮抗微生物株の利用

優秀な拮抗微生物株

微生物殺菌剤

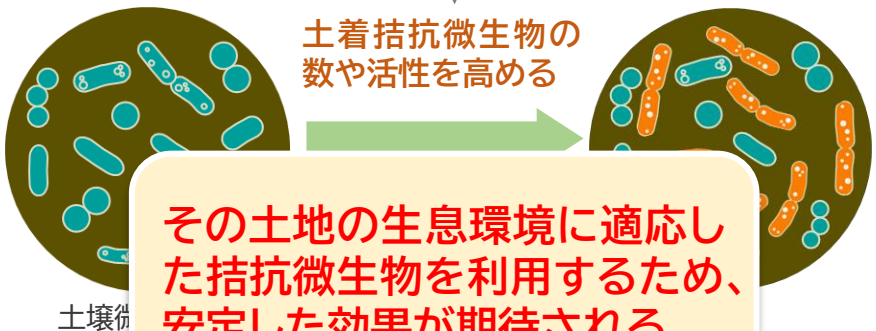
大量培養して土壌に投入

土着拮抗微生物の利用

土壌改良資材

化合物

土着拮抗微生物の
数や活性を高める



土壌微

その土地の生息環境に適応した拮抗微生物を利用するため、安定した効果が期待される

病原菌の伝染源の量や病原力を低下させ、土壌病害の発生を抑制

土壌改良資材（有機質資材）の施用による土壌微生物叢の病害抑止力の向上

有機質資材の施用

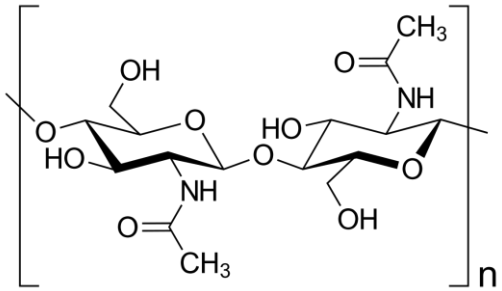
過去20年間に研究・報告された持続可能な農業技術として使用される有機質資材とその有益な効果の例

有機質資材	効果	作物	文献
きゅう肥			
鶏糞	疫病の抑制	白花ルピナス	Aryantha, Cross, & Guest, 2000
血粉と魚粉	半身萎凋病の抑制	トマト	Bailey & Lazarovits, 2003
植物性の資材			
コンポスト	つる割病と菌核病の抑制	キュウリ	Bradley & Punja, 2010
ユーカリチップ	疫病の抑制	アボカド	Downer, Menge, & Pond, 2001
有機性廃棄物	青枯病の抑制	ジャガイモ	Mengesha et al., 2017

Vida et al. (2019, Ann. Appl. Biol.)より抜粋.

有機質資材の施用

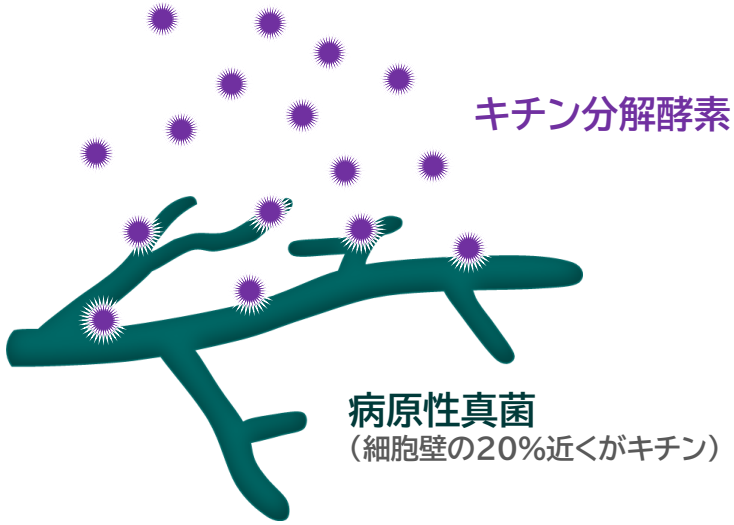
カニ殻



キチン

土壌施用
（400～500 t/ha）

キチン分解菌

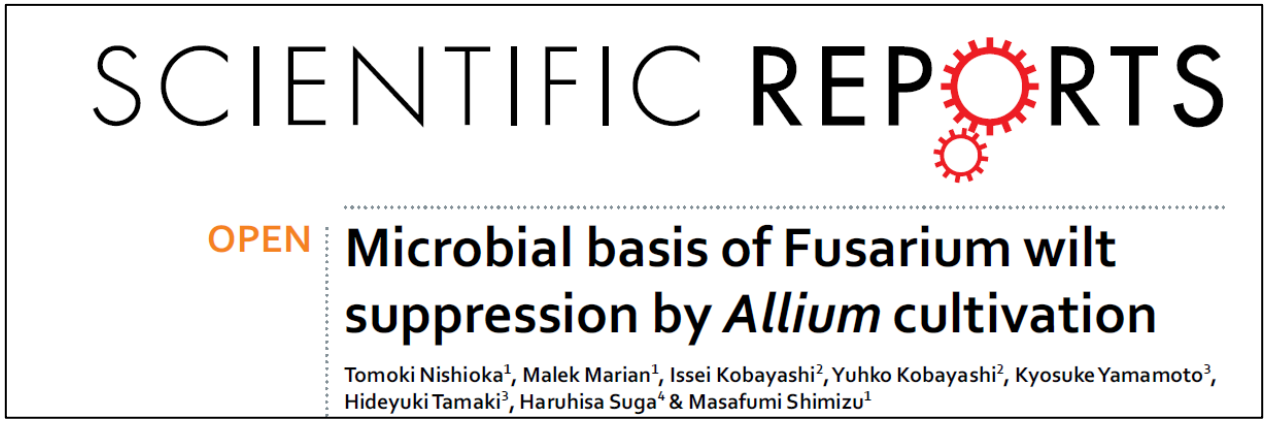


キチン分解酵素

病原性真菌
（細胞壁の20%近くがキチン）

化合物の投与による土壌微生物叢の病害抑止力の向上

土壌にフザリウム萎凋病抑止性を誘導する化合物を発見

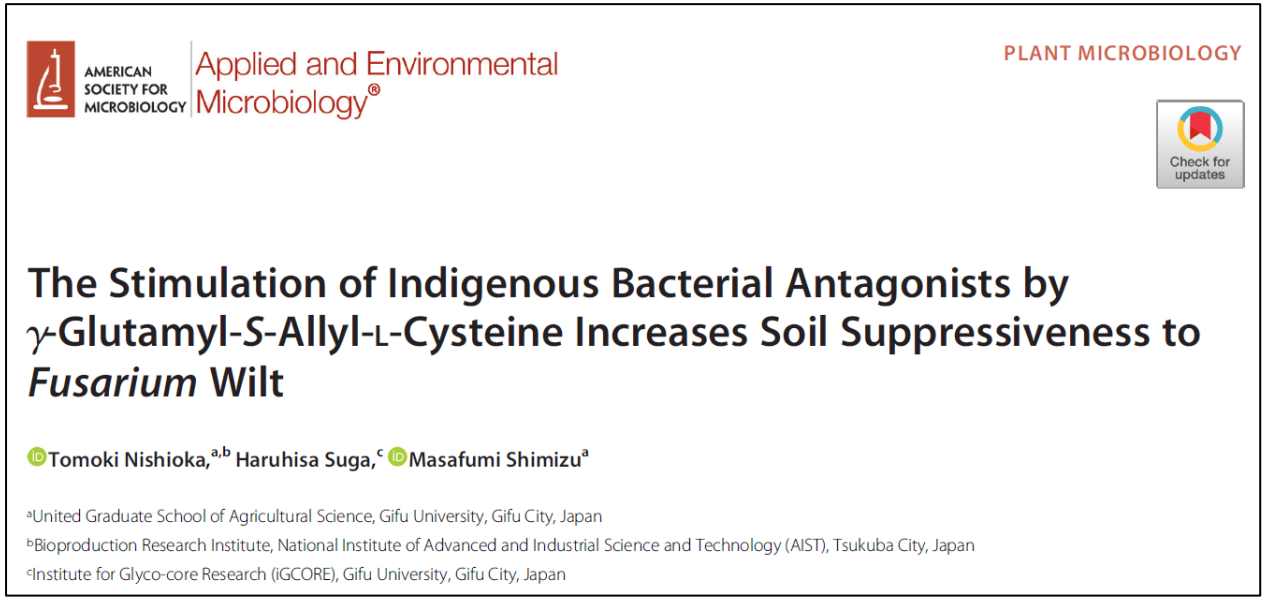


SCIENTIFIC REPORTS

OPEN

Microbial basis of Fusarium wilt suppression by *Allium* cultivation

Tomoki Nishioka[1], Malek Marian[1], Issei Kobayashi[2], Yuhko Kobayashi[2], Kyosuke Yamamoto[3], Hideyuki Tamaki[3], Haruhisa Suga[4] & Masafumi Shimizu[1]



AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY | Applied and Environmental Microbiology®

PLANT MICROBIOLOGY

Check for updates

The Stimulation of Indigenous Bacterial Antagonists by γ-Glutamyl-*S*-Allyl-L-Cysteine Increases Soil Suppressiveness to *Fusarium* Wilt

Tomoki Nishioka,[a,b] Haruhisa Suga,[c] Masafumi Shimizu[a]

[a]United Graduate School of Agricultural Science, Gifu University, Gifu City, Japan
[b]Bioproduction Research Institute, National Institute of Advanced and Industrial Science and Technology (AIST), Tsukuba City, Japan
[c]Institute for Glyco-core Research (iGCORE), Gifu University, Gifu City, Japan

フザリウム萎凋病（*Fusarium* wilt）

つる割病、萎凋病、萎黄病など

- 土壌伝染性***Fusarium oxysporum***

- 150種類以上の植物に重篤な萎凋を引き起こす

  ウリ科野菜、ナス科野菜、イチゴ、バナナ　etc.

- 重要な植物病原性真菌の第5位にランクイン

  毎年約95万トンの作物が被害

- 難防除

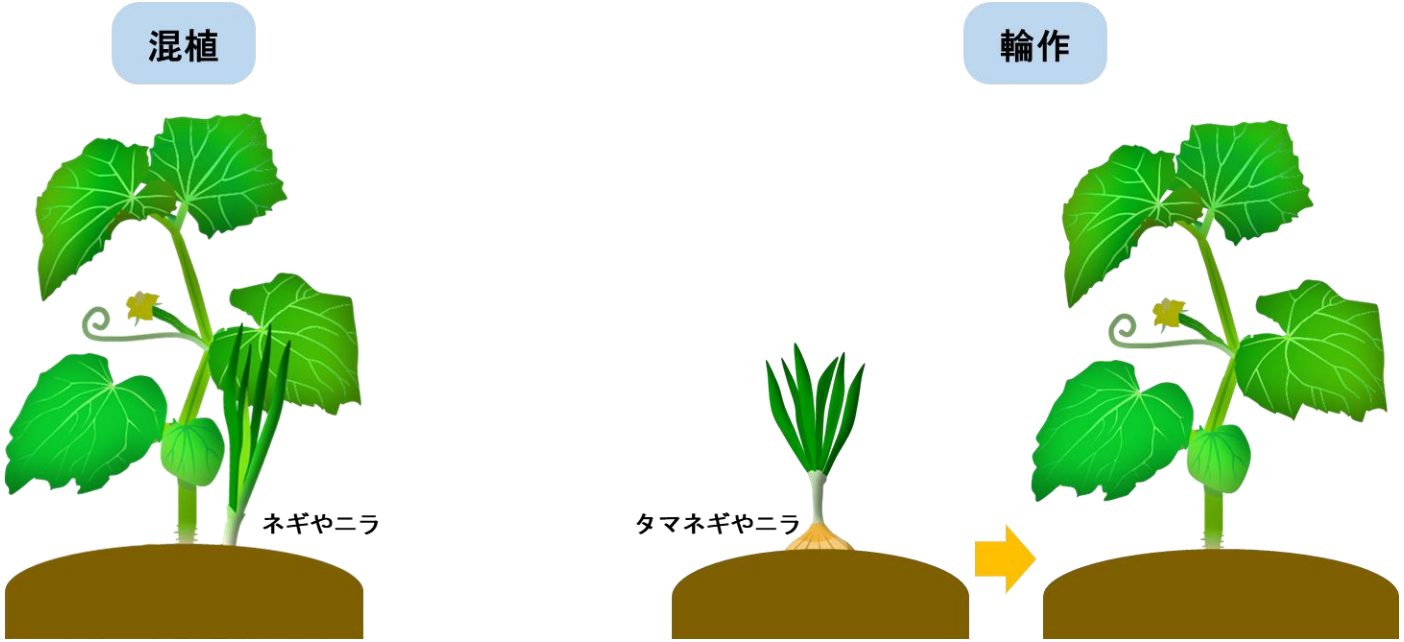
メロンつる割病

ホウレンソウ萎凋病

ネギ類の混植・輪作の有用効果

ネギ類との混植や輪作にはフザリウム萎凋病を予防する効果

- **ネギの混植**でウリ類つる割病が抑制（木嶋ら 1988, 成田ら 1993）
- **タマネギとの輪作**でカンピョウつる割病が抑制（木嶋ら 1988）
- **ニラとの混植や輪作**でバナナ萎凋病が抑制（Li et al. 2020, Huang et al. 2012）
- **タマネギとの輪作**でトマト萎凋病が抑制（Liu et al. 2012）
- **ネギ・ニラの混植**でホウレンソウ萎凋病が抑制（五十嵐ら 2017）
- **ネギの混植**でトウガラシ萎凋病が抑制（Kamil et al. 2022）



ネギ類の混植の歴史

2000年以上も昔から中国に伝わる伝統農法

氾勝之書

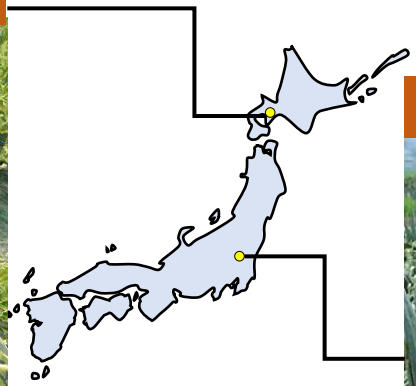
紀元前1世紀に書かれた
中国の農業書

種薤十根，令周迴甕，居瓜子外

辣韮？

ウリ

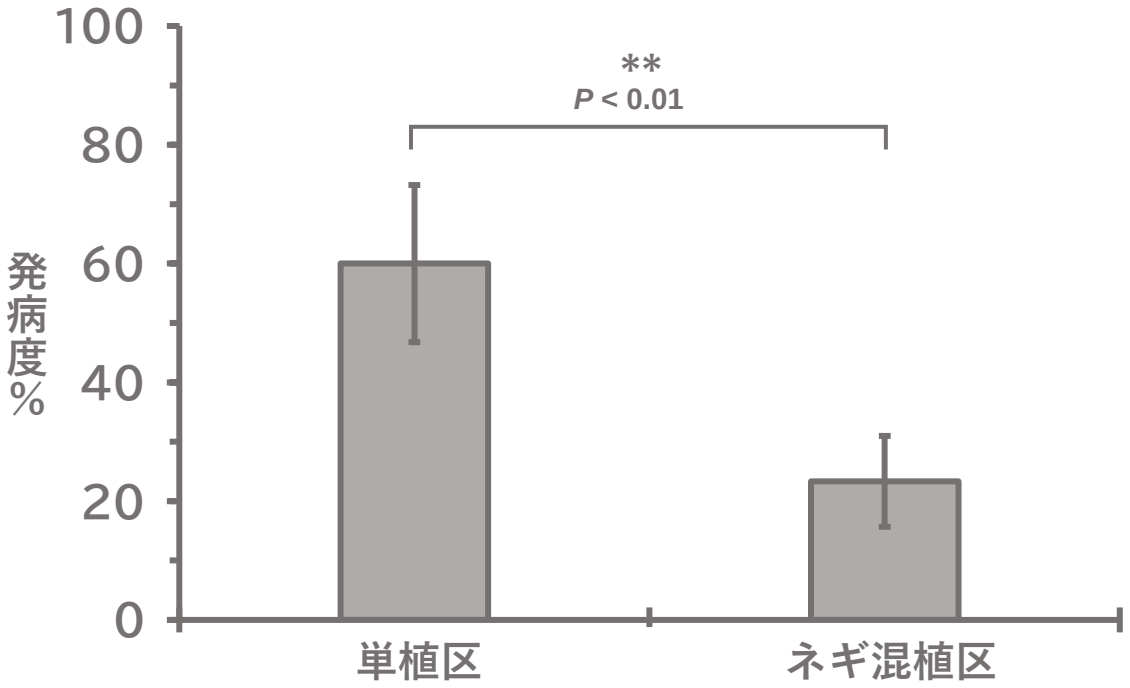
スイカとネギの混植（北海道）



カンピョウとネギの混植（栃木県）

https://blog.goo.ne.jp/arimay/e/40efaf4c61486916d794f2804363dfdf

ネギ混植のキュウリつる割病抑制効果



ネギ類混植・輪作のフザリウム萎凋病抑制メカニズム

従来の仮説

1. **ネギ類が分泌する化合物による抗菌作用**

   Zhang et al. (2013) J. Chem. Ecol. 39: 243-252

   ニラの根から放出される抗菌性揮発性物質（2-methyl-2-pentanalやその他の有機硫黄化合物）がバナナ萎凋病菌を抑制

2. **ネギ類を栽培することで増殖する細菌による拮抗作用**

   有江ら（1987）日本植物病理学会報 51: 531-539

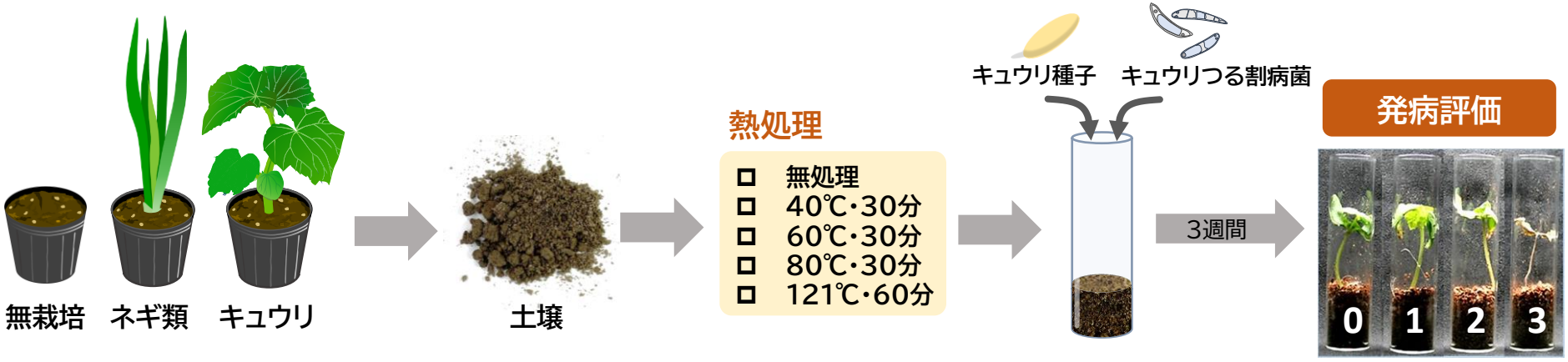
   浅川（1992）農業環境技術研究所年報 10: 61-64

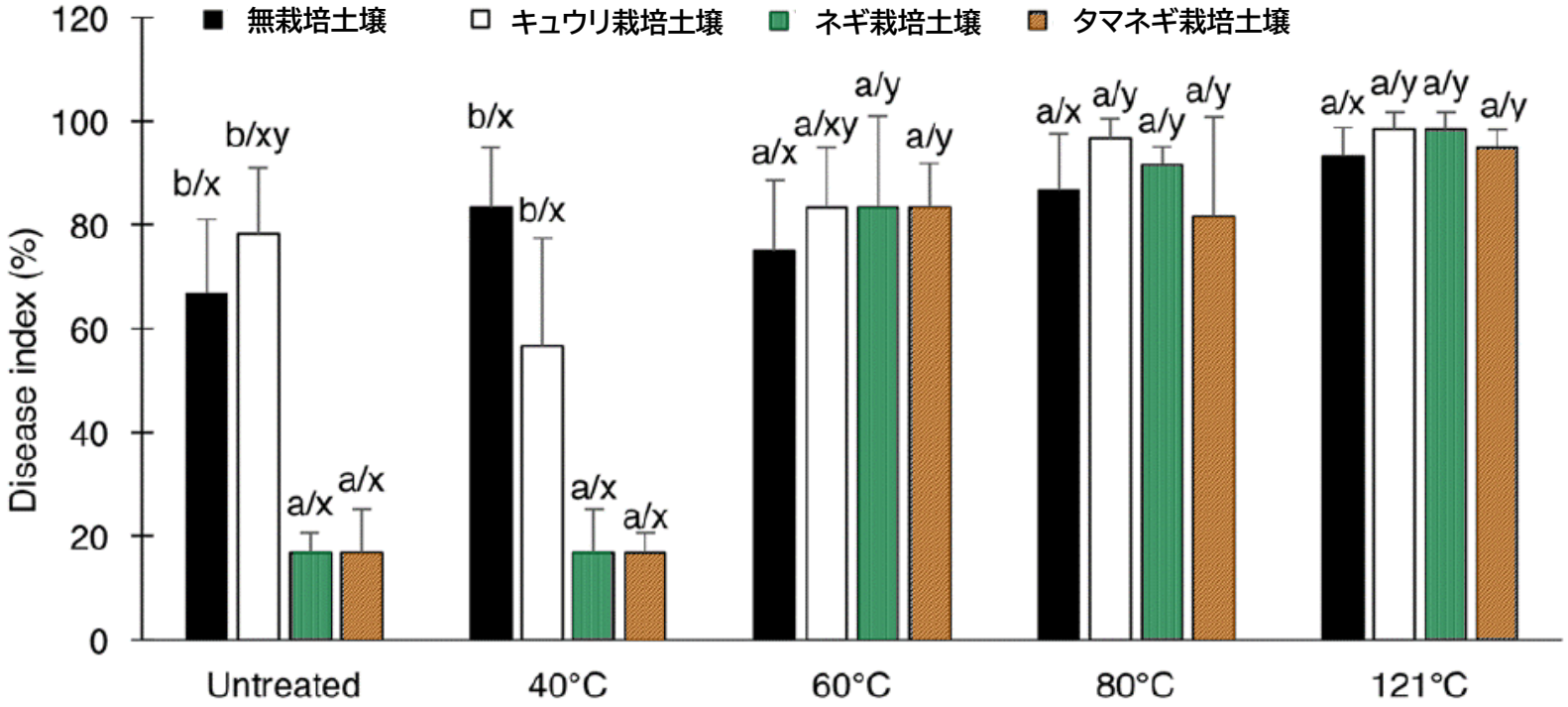
   つる割病菌に強力な抗菌作用を示す拮抗細菌が高率に分離

- **ネギ類を栽培した土壌中にはフザリウム萎凋病抑止的な微生物叢の理想形が存在？**
- **発病抑止土壌の人工作出につながるヒントが隠されている？**

ネギ類を植えるとフザリウム萎凋病抑止土壌化する？

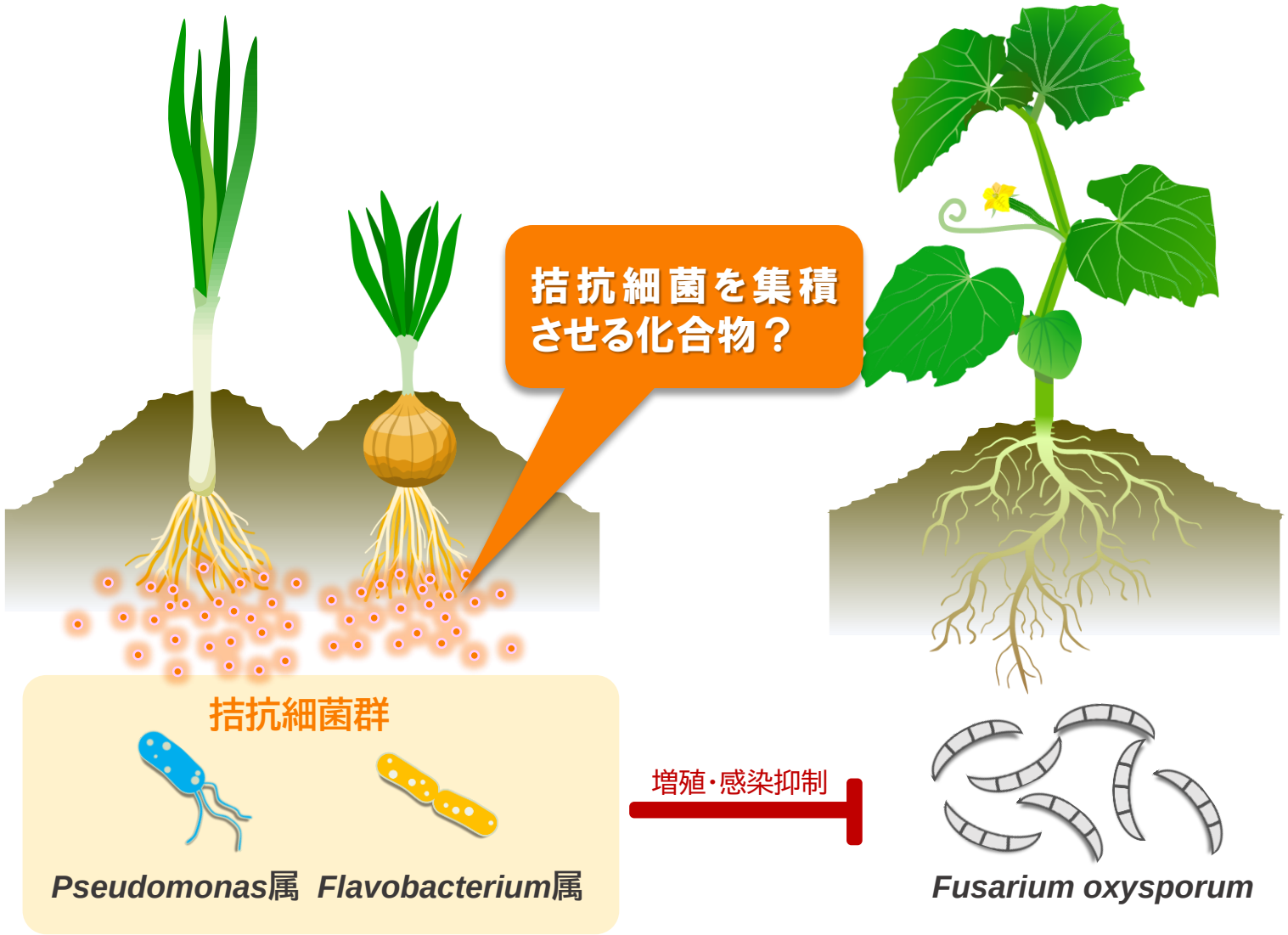
ネギ類を栽培した土壌の発病抑止性





Nishioka et al. (2019) Sci. Rep.

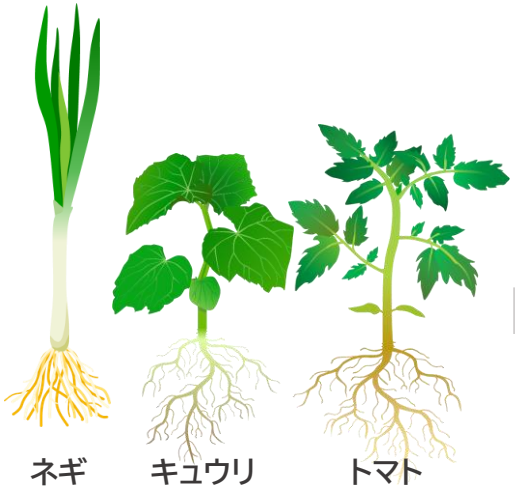
ネギ類混植・輪作のフザリウム萎凋病抑制メカニズム



Nishioka et al. (2019, Scientific Reports)

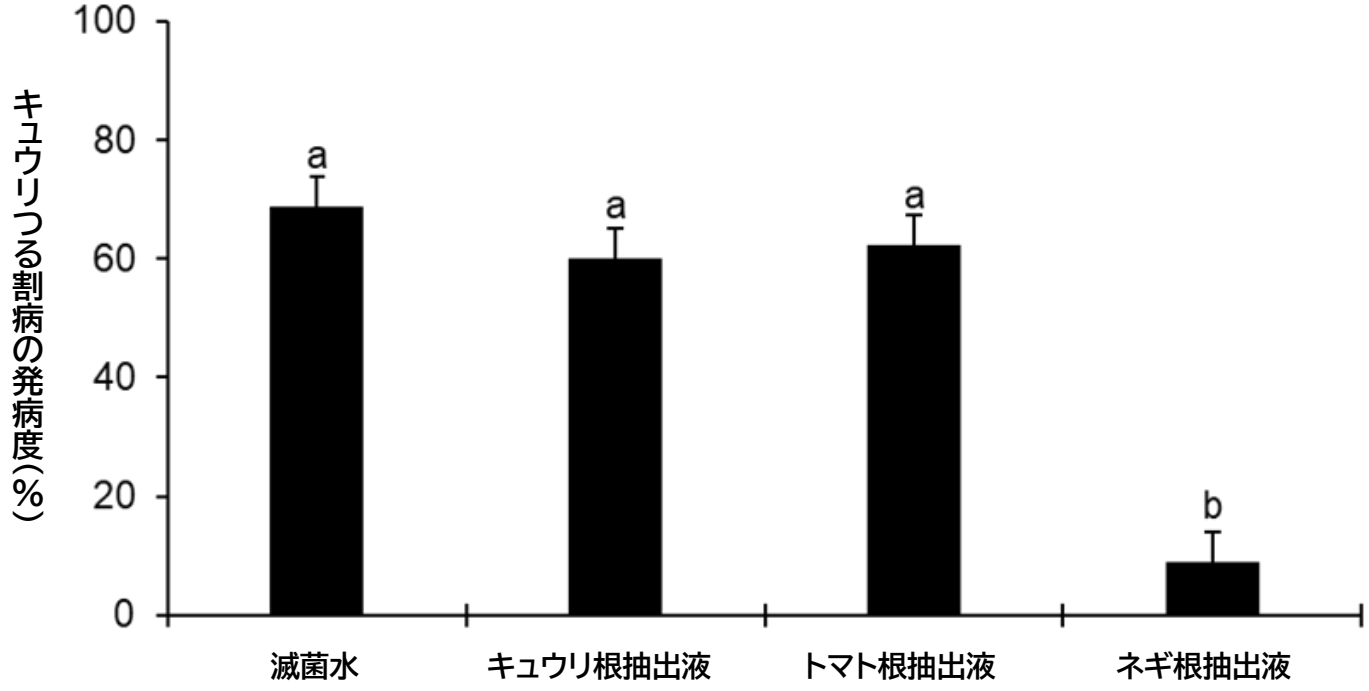
拮抗細菌の集積を誘導し、普通土壌を発病抑止土壌に変える化合物の探索

ネギ根抽出液の発病抑止性誘導活性



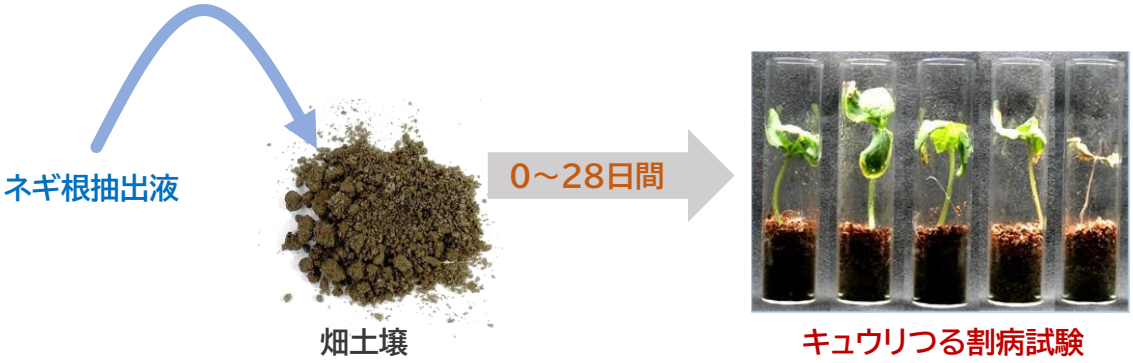
根の水抽出液

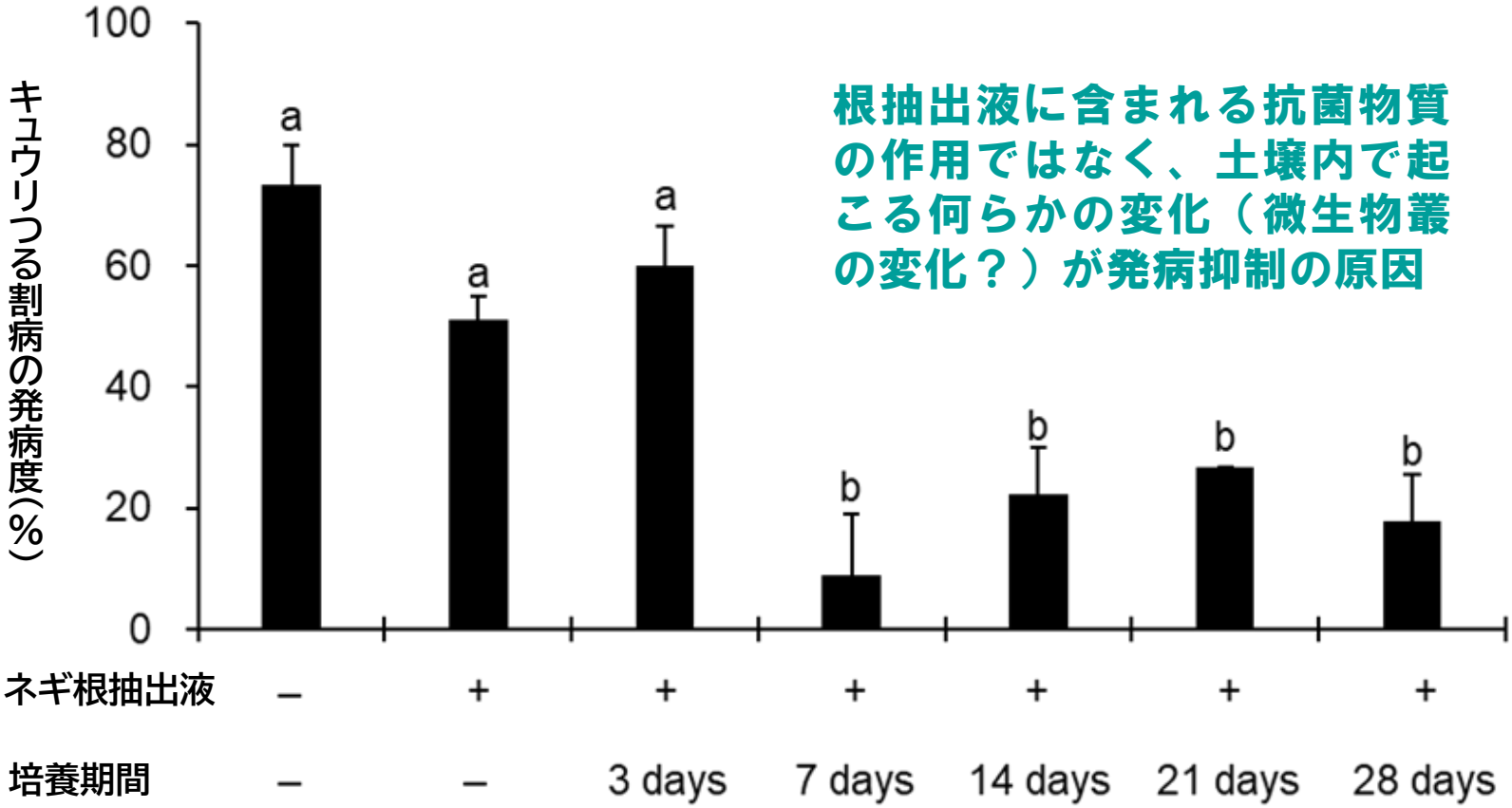
28日間



Nishioka et al. (2022) Appl. Environ. Microbiol.

ネギ根抽出液の発病抑止性誘導活性





根抽出液に含まれる抗菌物質の作用ではなく、土壌内で起こる何らかの変化（微生物叢の変化？）が発病抑制の原因

ネギ根抽出液に特徴的な化合物

LC–MS/MS（液体クロマトグラフィータンデム質量分析装置）を用いた成分分析

TABLE 1 Peak area of each compound in the aqueous root extracts of Welsh onion, cucumber, and tomato plants[a]

Compound	Retention time (min)[b]	Peak area		
		Welsh onion	Cucumber	Tomato
Adenosine	2.00	7.8 ± 0.0a	5.5 ± 0.0c	6.1 ± 0.0b
Adenine	2.01	7.2 ± 0.0a	4.5 ± 0.2c	5.3 ± 0.0b
2′-Deoxyadenosine	2.02	7.1 ± 0.0a	3.8 ± 0.1c	4.8 ± 0.1b
γ-Glutamyl-*S*-allyl-cysteine	4.53	6.9 ± 0.0a	3.8 ± 0.0c	4.0 ± 0.1b
5′-*S*-Methyl-5′-thioadenosine	4.95	6.0 ± 0.0a	3.4 ± 0.0c	5.0 ± 0.0b
Azobenzene	5.66	6.6 ± 0.0a	5.5 ± 0.0b	3.8 ± 0.1c
Testosterone cypionate	10.80	5.4 ± 0.1a	3.8 ± 0.0b	3.9 ± 0.0b

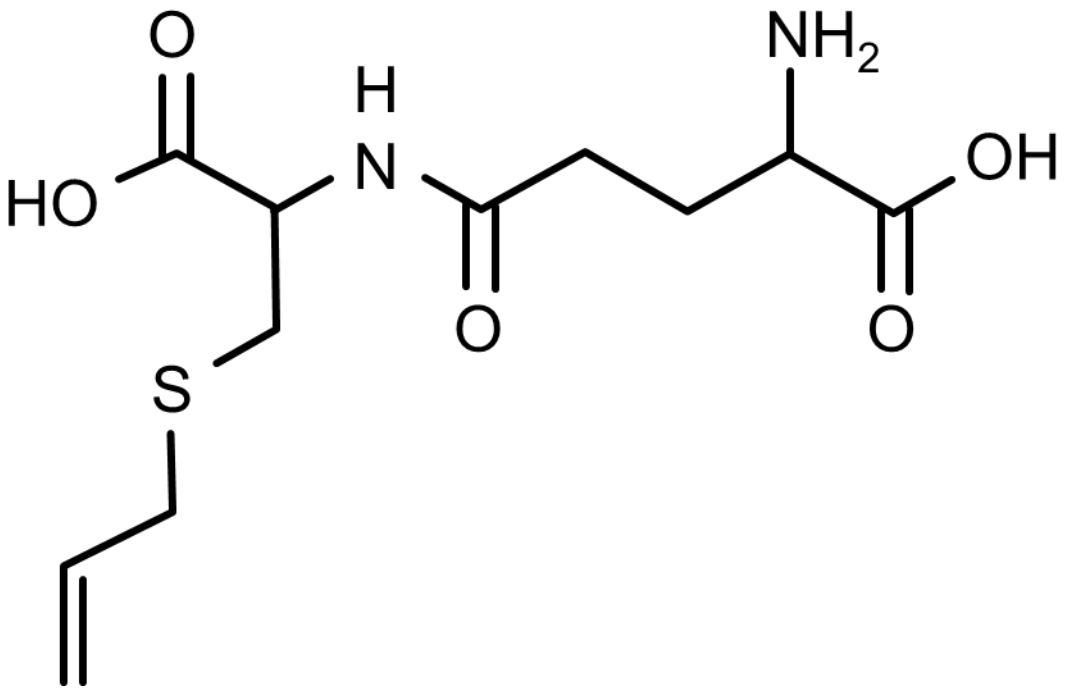
[a]The area of the peaks detected at the same *m/z* values from each root extracts was calculated in selected ion monitoring (SIM) mode. The values were converted to logarithmic value (log 10 peak area). The data are presented as the means ± SD ($n = 3$). For each compound, numbers followed by different letters indicate significant differences ($P < 0.01$, Tukey's test).

[b]Retention time for each compound detected in the Welsh onion root extract.

Nishioka et al. (2022) Appl. Environ. Microbiol.

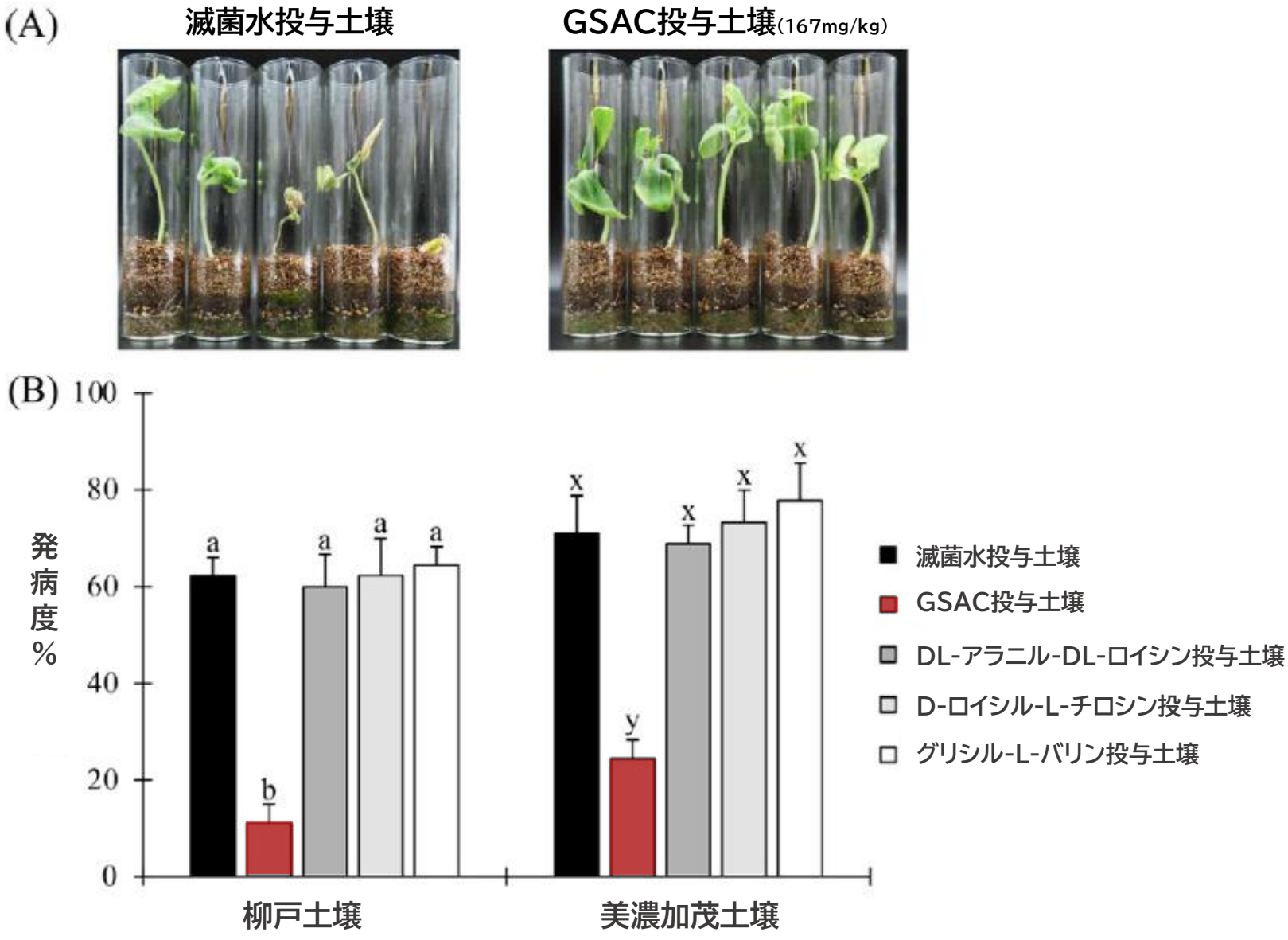
ネギ根抽出液に特徴的な化合物

ネギ類に特有のジペプチド



γ-グルタミル-S-アリルシステイン（GSAC）の構造式

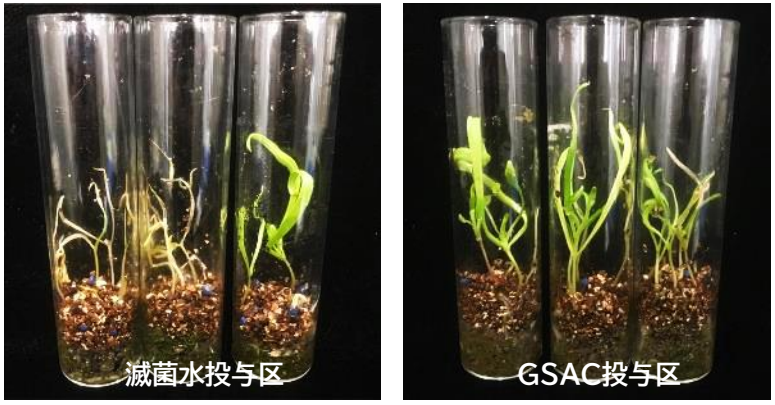
GSACの発病抑止性誘導活性

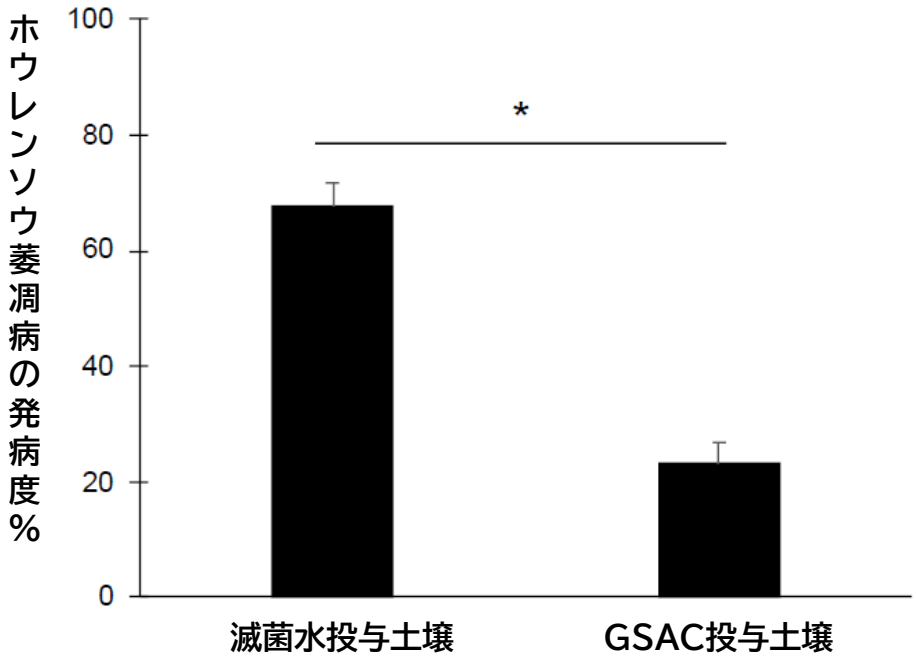


Nishioka et al. (2022) Appl. Environ. Microbiol.

GSACの発病抑止性誘導活性

GSAC添加土壌の発病抑止性は他のフザリウム萎凋病にも有効？

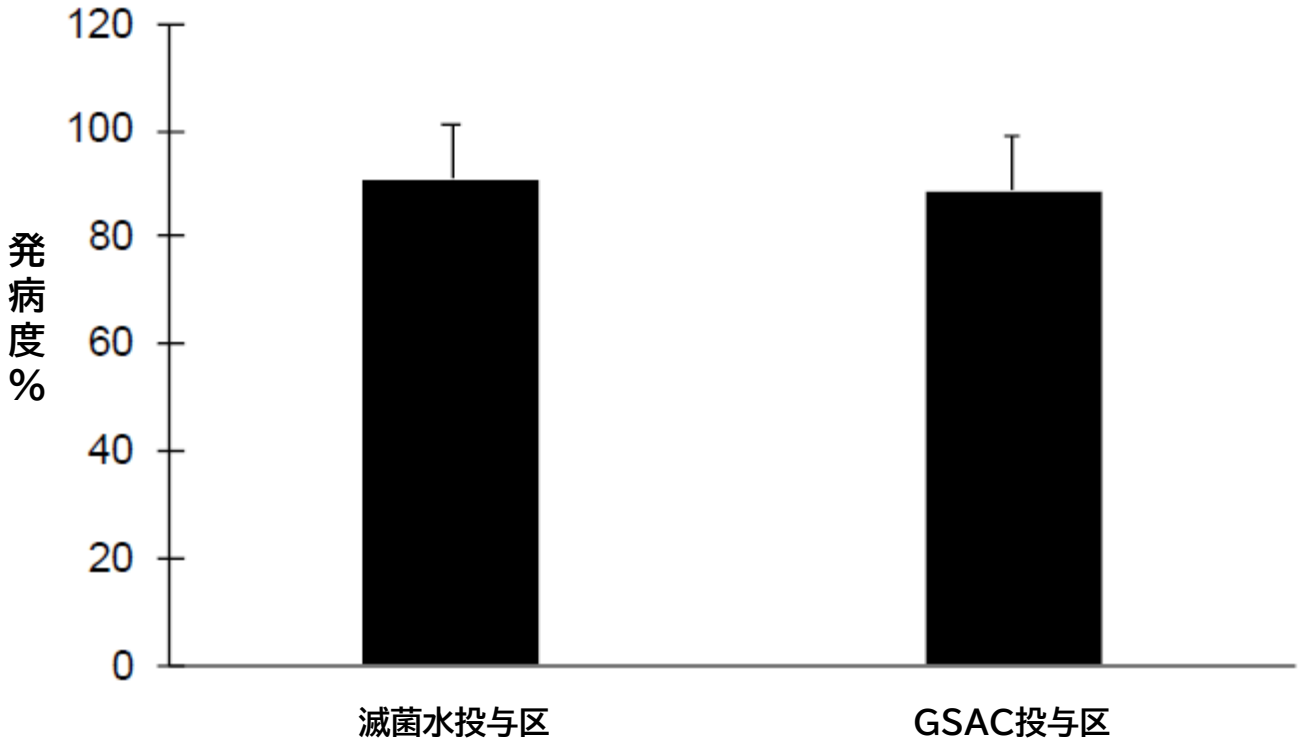




Nishioka et al. (2022) Appl. Environ. Microbiol.

GSAC添加土壌の抑止性と土壌微生物の関係

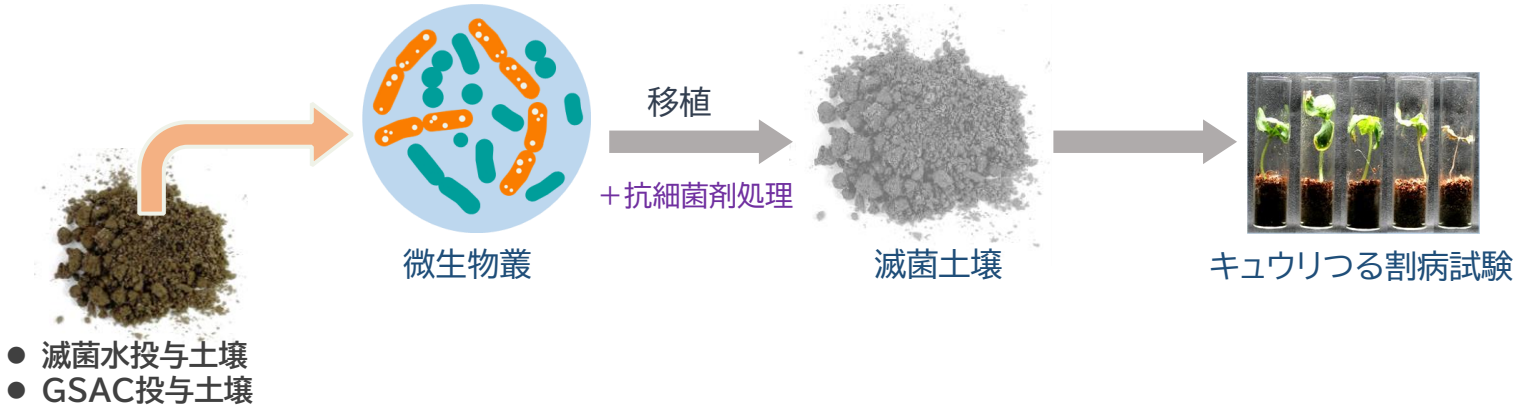
GSACにより誘導される抑止性に微生物は関係する？

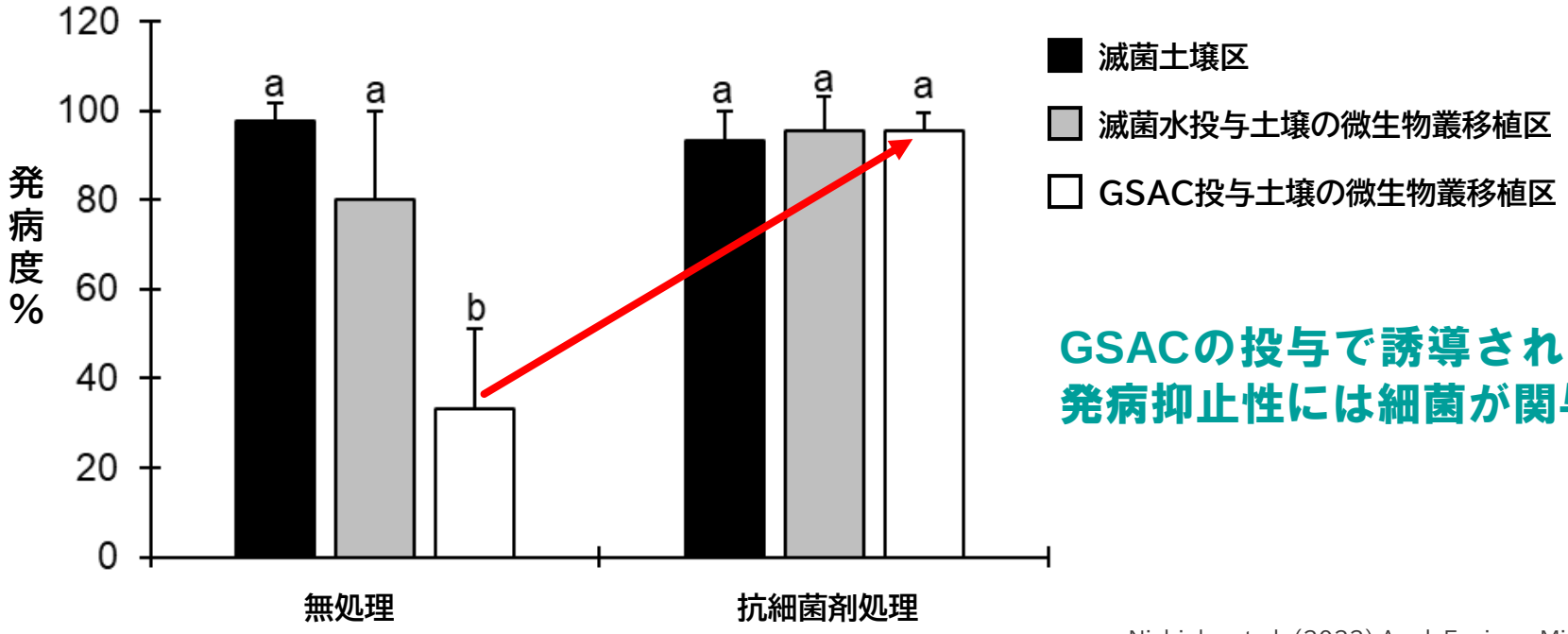


Nishioka et al. (2022) Appl. Environ. Microbiol.

GSAC投与土壌の抑止性と土壌微生物の関係

土壌微生物叢の移植で抑止性が転移できるか？



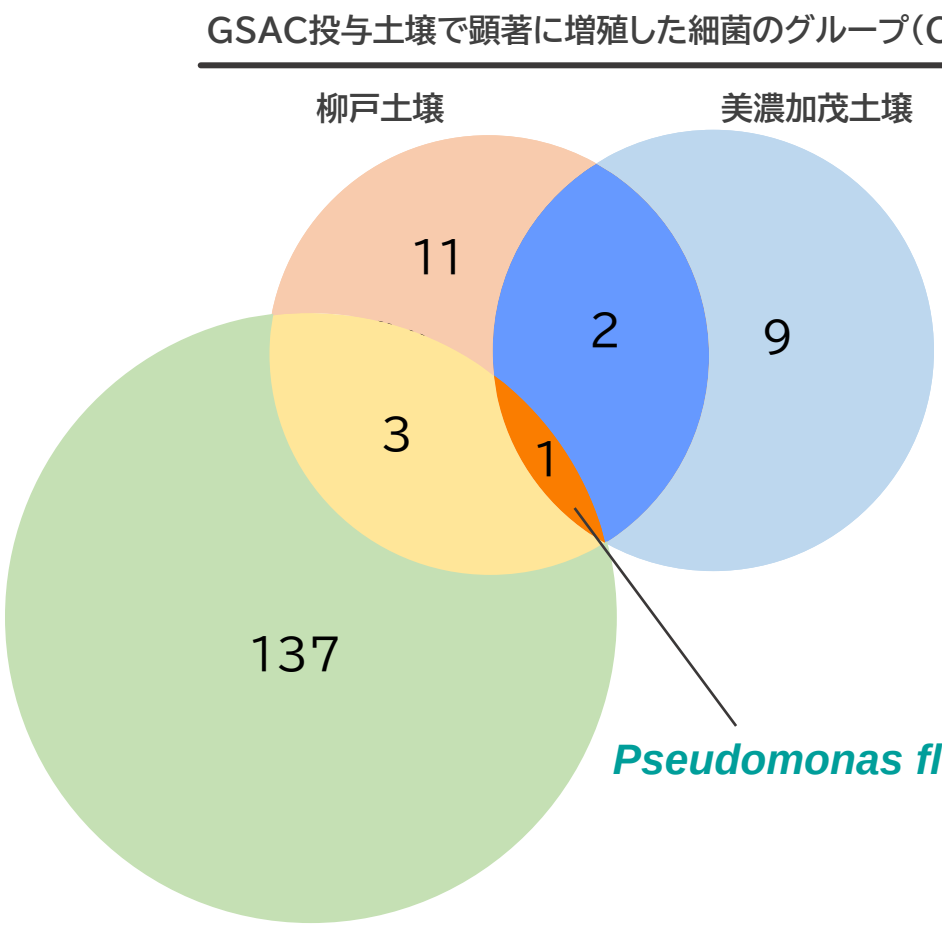


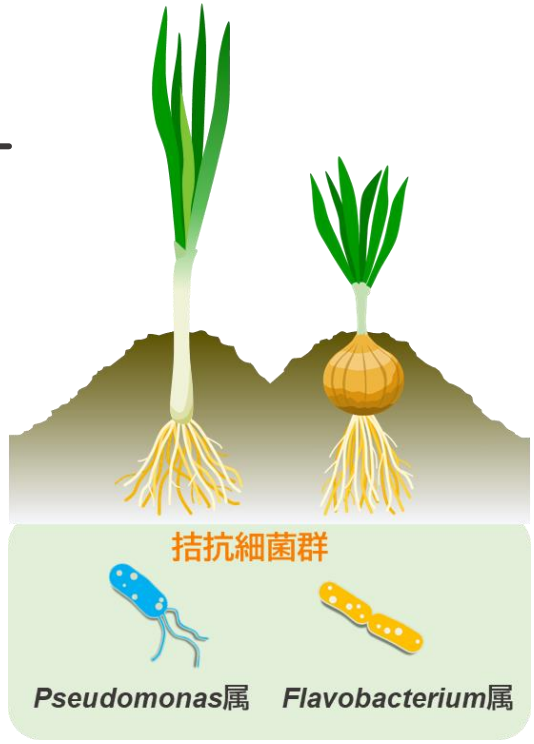
GSACの投与で誘導される発病抑止性には細菌が関与

Nishioka et al. (2022) Appl. Environ. Microbiol.

GSAC投与土壌の細菌叢の解析

GSAC投与土壌とネギ根圏土壌に集積する細菌群



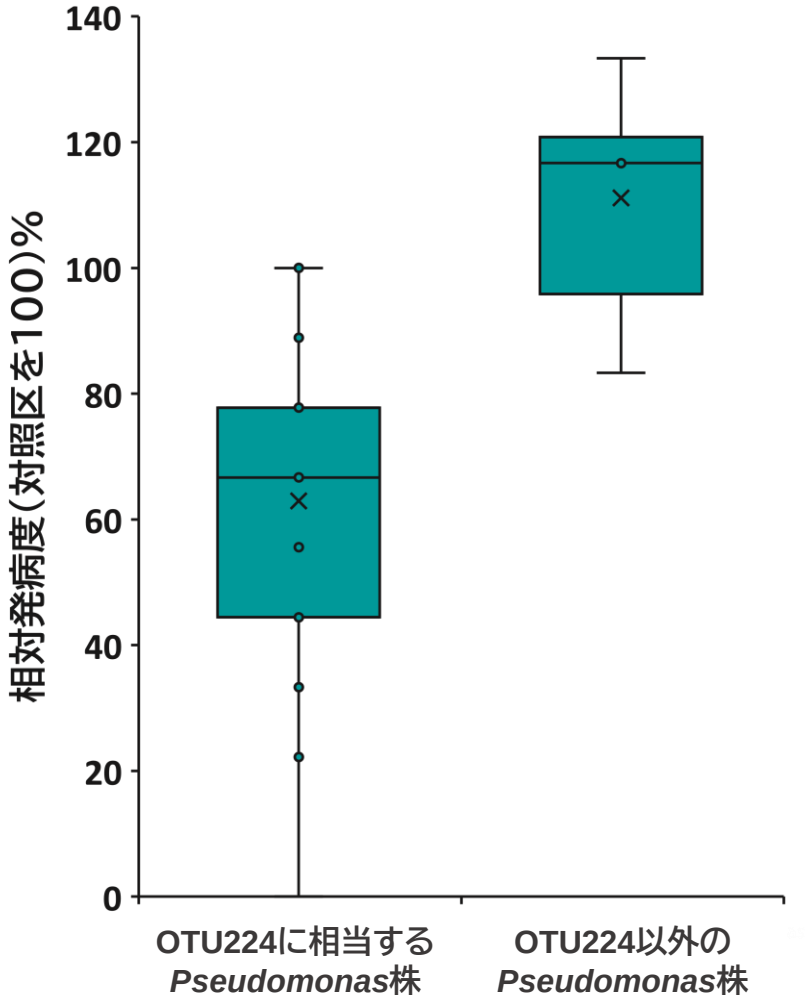


*Pseudomonas fluorescens*種複合体（OTU224）

Nishioka et al. (2022) Appl. Environ. Microbiol.

Pseudomonas OTU224の発病抑止性

Pseudomonas OTU224が発病抑止性に関与？



Nishioka et al. (2022) Appl. Environ. Microbiol.

本発表のまとめ

ネギ類特有のγ－グルタミル－S－アリルシステイン（GSAC）には、拮抗細菌（*P. fluorescens*種複合体）の集積を促し、フザリウム萎凋病に対する土壌の抑止力を向上させる作用があることを発見

土壌病害防除効果をもつ拮抗微生物集積誘導剤の開発に向けた研究を継続実施中

謝　辞

（※敬称略）

岐阜大学

西岡友樹

鈴木陽子

マレック　マリアン

田中千尋

冨田真奈

五十嵐千佳

須賀晴久

三重大学

田中さおり

小林一成

小林裕子

産業技術総合研究所

山本京祐

玉木秀幸

イビデンエンジニアリング株式会社

高橋俊行

岐阜県中山間農業研究所

浅野雄二

岐阜県農業技術センター

渡辺秀樹

北海道立総合研究本部農業研究本部

栢森美如

愛知県経済農業協同組合

三宅律之

本研究は科研費（24780317および22H02344）とJSPS特別研究員奨励費（16J06445および19J01859）の支援を受けて実施しました。

ご清聴ありがとうございました。