

地域資源と下水汚泥を含んだ堆肥による青枯病抑制効果の検証及び微生物群集解析

長岡技術科学大学・院工 (学) ○宮原 将志, (学) 蔵下 はづき
長岡技術科学大学 (正) 山口 隆司, (正) 渡利 高大, (非) 牧 慎也, (正) 幡本 将史

1. はじめに

青枯病とは、植物病原細菌である *Ralstonia Solanacearum* (以下、青枯病菌) により引き起こされる土壌病害の一種である。感染した作物は、急速な萎凋症状を発現した後、枯死に至る。本細菌の特徴として、生息分布と宿主植物の範囲の広さ、株毎の病原性挙動の違い、また、一度土壌に定着すると、除去が困難であること等が挙げられる。これらの特徴から、途上国をはじめとして、世界的に被害が大きく、対策が必要とされている¹⁾。青枯病菌に対する既存の防除法として、太陽熱殺菌、土壌燻蒸剤による土壌消毒、抵抗性接ぎ木による病原性回避、輪作等がある。しかし、これらの方法は栽培コストの増加や圃場環境の急激な変化等の問題がある。そこで現在、青枯病に対し有効な農薬の開発が求められている。近年、青枯病に対して有効な微生物 (*Bacillus amyloliquefaciens*) を用いた研究は報告されている²⁾ が、実用化には至っていない。我々の研究グループでは、過去に下水汚泥内に存在する *Bacillus* 属細菌がホウレンソウ萎凋病に対し拮抗性を示すことを確認している。

本研究では、既存の研究から *Bacillus* 属細菌を使用する生物的防除法に着目し、下水汚泥内に存在する *Bacillus* 細菌を含んだ地域資源堆肥を作製し (以下、試験堆肥)、青枯病抑制を目的として、青枯病が発生したトウガラシ (*Capsicum annuum* L.) 栽培圃場の一部を使用し、圃場試験を行なった。

2. 実験方法

圃場試験には、12.5×3 m の圃場内に 2 畝を立て、これを 3 区画にし、対照区及び試験区 1、2 とした (図 1)。対照区は慣行通りに栽培を行ない、各試験区に今回作製した試験堆肥の施肥を行なった。各試験区における堆肥組成は表 1 に示す。施肥量は試験区 1 で 3 kg/m²、試験区 2 で 6 kg/m² とした。また、測定・分析は、現地にて発病度調査³⁾ を行ない、持

ち帰ったサンプルに対し、青枯病菌検出及び菌数測定⁴⁾、*Bacillus* 属細菌菌数測定、16S rRNA 遺伝子を対象とした菌叢解析を行なった。

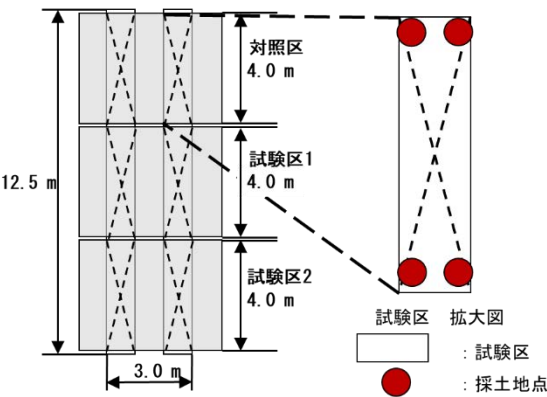


図 1 圃場概略図

表 1 試験区と堆肥の組成

対照区	通常堆肥 (牛糞堆肥)
試験区 1	試験堆肥 (牛糞堆肥+下水汚泥+米糠)
試験区 2	試験堆肥 (牛糞堆肥+下水汚泥+米糠)

3. 結果と考察

Bacillus 属細菌を含んだ試験堆肥の施肥による青枯病の抑制を目的とし、青枯病の発生したトウガラシ圃場での圃場試験を行なった。植付以降の青枯病害の程度を評価した発病度調査の結果を表 2 に示す。植付から 12 週後、15 週後の結果を示している。慣行通りに栽培した対照区においては、発病度は 12 週から 15 週後で 41% から 63% と 20% 以上上昇していることが確認できた。一方で、試験区 1、2 においては、発病度は試験区 1 で 27% から 37%、試験区 2 で 14% から 18% となり、発病度の上昇を 10% 以下に抑制していることが確認できた。また、対照区の 15 週後の発病度と比較し、試験区 1 は 41%、試験区 2 は 71% 発病度を抑制しており、今回施肥した試験堆肥を施肥及び施肥量を増加させることによる青枯病抑制効果の可能性が示唆された。また、圃場内の青枯病菌及び *Bacillus* 属細菌菌数を図 2 に示す。青枯病菌数は、対照区において 570 cfu/g 程度存在した一方、試験区

キーワード 青枯病, 下水汚泥, 堆肥
連絡先 〒940-2137 新潟県長岡市上富岡町 1603-1 長岡技術科学大学 水圏土壌環境研究室

1では未検出、試験区2では100 cfu/g程度存在し、施肥を行なった試験区において対照区のものよりも低くなっていたことが確認できた。*Bacillus* 属細菌の菌数は、対照区と比較し、試験区1, 2では、1.3, 1.7倍程度存在することが確認できたが、全試験区において10⁷ cfu/g程度であった。このことより、土壌中の*Bacillus* 属細菌の菌数に大差がないことが確認された。図3に施肥前の土壌の菌叢解析結果、図4に今回の試験区土壌の菌叢解析結果の内、総リード数に対し1%以上存在したものを示す。施肥前の土壌細菌叢には、*Bacillus* 属細菌の存在は確認できなかった。一方、施肥後の土壌細菌叢からは*Bacillus* 属及び*Bacillales* 目細菌が検出された。検出された中で、高い発病抑制率を示した試験区2でのみ*Bacillus* 属細菌のみの検出となった。このことから、試験区2で検出された*Bacillus* 属細菌に青枯病への抑制作用が存在すると考えられる。また、抗生物質を産生することで知られる*Streptomyces* 属細菌をはじめとした放線菌類や植物成長促進細菌として知られる*Arachidicoccus* 属細菌⁵⁾の存在も確認された。近年、*Streptomyces* 属細菌は青枯病に対し抵抗誘導性を示すことを報告する研究が報告されており⁶⁾⁷⁾, *Bacillus* 属細菌のみならずこれらの細菌群の複合的な作用により、青枯病の発病抑制を示した可能性が示唆された。

4. まとめ

青枯病発生抑制を目的とし、*Bacillus* 属細菌を含んだ堆肥を作製し、青枯病発生圃場に施肥し圃場試験を行なった。圃場試験の結果、本実験で作製した地域資源堆肥には、3 kg/m²以上の施肥により、青枯病に対し青枯病菌数の減少及び発病度の上昇を10%以下に留めることが確認できた。また、施肥後の菌叢解析結果から*Streptomyces* 属をはじめとした抗生物質を産出する放線菌の存在や植物成長促進細菌の一種である*Arachidicoccus* 属細菌の存在が確認された。今回作製した試験堆肥内の青枯病抑制作用は*Bacillus* 属細菌の働きのみならず、他の細菌やそれらとの複合的なものである可能性が示唆された。

表 2 各試験区の発病度

	植付 12 週後 (%)	植付 15 週後 (%)
対照区	41	63
試験区 1	27	37
試験区 2	14	18

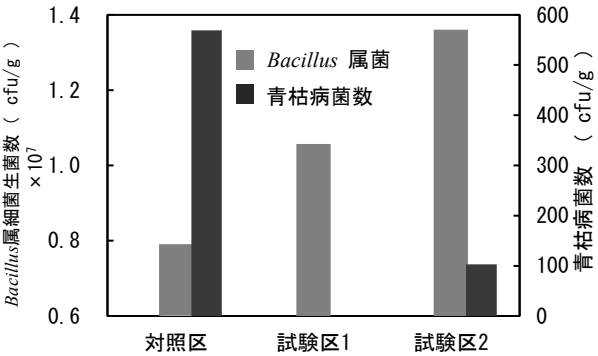


図 2 各試験区の青枯病菌、*Bacillus* 属細菌の菌数

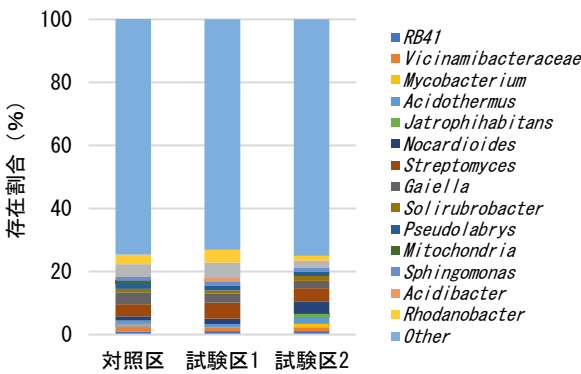
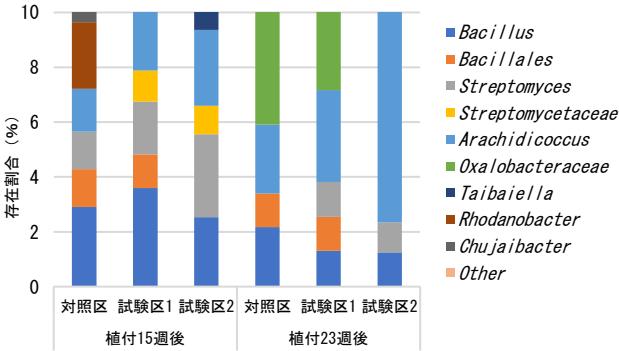


図 3 施肥前の土壌菌叢解析結果



参考文献

1. Mansfield et al., *Molecular Plant Pathology*, **13**(6):614–629, 2012.
2. Depeng Chu et al., *Microbial Biotechnology*, **15**(4):1152-1167,2021
3. 日本植物防疫協会, 調査法, -野菜関係-, pp.22-23,2020
4. 日本土壌微生物学会, 土壌微生物実験法, 養賢堂, pp.200-203, 2013
5. Munusamy M et al.,*International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 65(2):578-586,2015
6. Manigundan K et al., *Current Microbiology*, 79:146,2022
7. Ting S et al., *Applied Soil Ecology*, 157:103724,2021