

1. 委託事業名： トマトに共生する微生物の分離と植物病原菌防除への応用

2. 委託事業者名： 委託団体:株式会社テクノスルガ・ラボ

連携大学:国立大学法人静岡大学農学部 生物資源科学科

准教授 橋本 将典

3. 研究成果概要:

【背景】

我が国では、持続可能な食糧システムの構築に向けて、「みどりの食糧システム戦略」を策定し、2050年までに目指す姿として、「化学農薬の使用量を50%低減」、「輸入原料や化石燃料を原料とした化学肥料の使用量を30%低減」などの目標を掲げている。

静岡市は、トマト栽培が盛んな市で、作付面積は18ha、生産者211名（農林水産省・統計情報、2020年）となっている。静岡市のトマト栽培は、経験的なノウハウが必要な露地栽培から、マニュアルの整備された施設栽培に移行している。その中の養液栽培では、クリーンな環境で最適な化学肥料を液肥として植物に与え、露地栽培よりも病害発生リスクは低いが、ひとたび病害が発生した時には被害が大きくなる可能性があり、迅速に化学農薬の散布が必要となる。

トマト栽培において化学農薬の5割を削減する代替技術を検証した研究では、生物農薬の効果が栽培年により不安定であると報告された¹⁾。弊社でもこれまでトマトの栽培環境中から病害菌に拮抗する微生物（生物農薬の候補）を分離し、予め接種することで病害の発生を防ぐことを試みてきたが、再現性を得ることが難しいという経験をしている。外部から投入された病害に対する拮抗微生物の効果が不安定な要因として、既に栽培環境中に存在する様々な微生物に影響を受け、その効果が左右されることが挙げられる。

そこで弊社では、新しい安定的な生物農薬の候補として、植物内に共生するエンドファイトに注目した。エンドファイトとは、ギリシャ語で「endo phyte」（内部の植物）を意味する言葉で、植物内において植物体と共生している微生物の総称を指す。一部のエンドファイトには、病害の抑制や植物の生育促進効果があると報告されている²⁾。トマトには、植物特化代謝物としてトマチンという苦味・有毒物質が植物体全身に蓄積し、病原菌や捕食者に対する防御に役立っていると言われている。トマトはこのような特色を持つため、エンドファイトもトマチン耐性を持つ特殊な微生物が存在している可能性がある。有用なトマトのエンドファイトには、これまでの生物農薬にはない安定的な効果が期待でき、トマト栽培において、様々な病害が予防できる可能性がある。

【目的】

本事業では、入手可能なトマト株から新しい生物農薬の候補として、トマトの葉、茎、根内に共生するエンドファイトの分離を行う。分離したエンドファイト候補株について、トマト株の各部位の微生物叢解析結果によりスクリーニングする。

【研究結果および成果】

(1) トマト植物体からのエンドファイトの分離

施設栽培を含むトマト生産では、病原菌の蔓延等を原因とする生育不良が生じることがあ

る。生育不良が生じたトマト個体が栽培される圃場では、ごく稀に生育がよく健全なトマト株が隣接する場合がある。

県内トマト施設栽培農家より、同一のビニールハウス内で病気が生じたトマト 7 株と比較的生育の良いトマト 10 株を株ごと提供いただいた。病原は、萎れやトマト茎の断面を水に浸した時に菌泥がみられたことから青枯病と推測した。

サンプリングした健全なトマト株を葉、茎、根に切り分け、次亜塩素酸水で表面殺菌した後、平板法によりエンドファイトの分離・培養を行った。データ解析の結果を受けて、健全なトマト株の根、根圏から改めて分離・培養を行った (図 1)。その結果、合計約 50 種の分離株が得られた。

(2) 各部位における健全トマト株と罹病トマト株の菌叢比較

サンプリングしたトマト計 17 株から、5 部位 (葉、茎、根、根圏、土) の計 85 検体対象として、多種多様なエンドファイトからなる菌群集の DNA による菌叢解析を行った。菌叢解析では、エンドファイトが共通して有する 16S rRNA 遺伝子をターゲットとして、それぞれの相対存在量を算出した (図 1)。

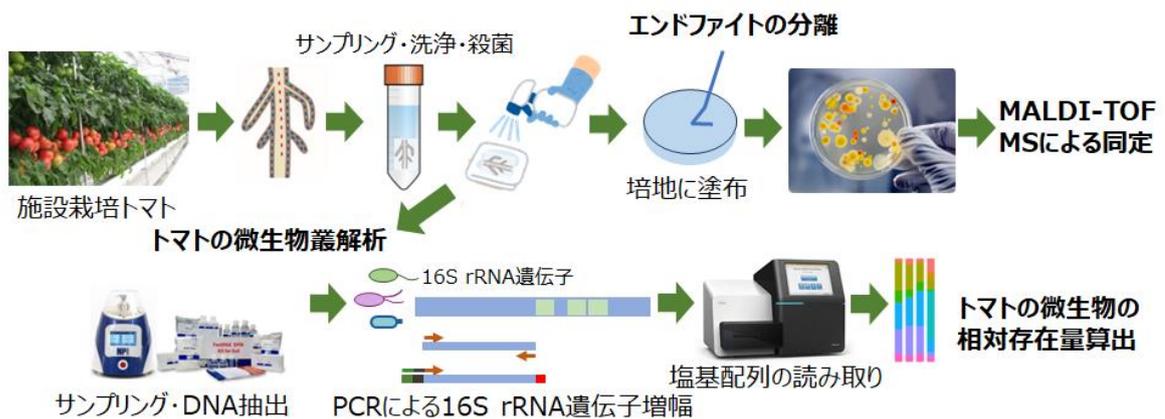


図 1. 実験の流れ

土では *Paenarthrobacter* 属の割合が隣接する健全なトマト株で有意に高く、*Ralstonia* 属の割合が罹病トマト株で有意に高く、健全なトマト株ではほぼ検出限界以下であった (図 2)。

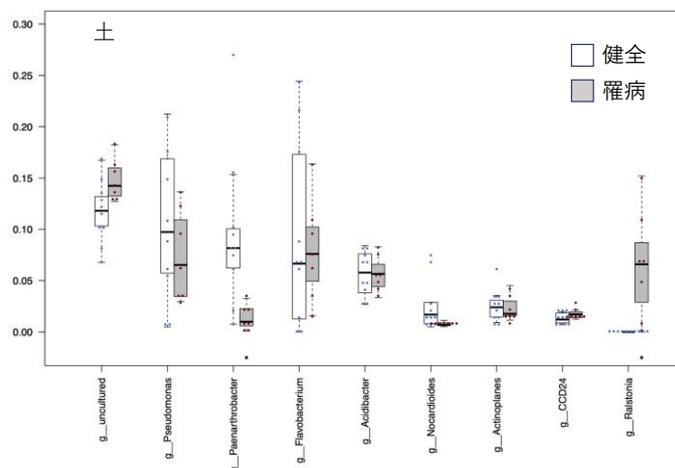


図 2. 土における細菌属ごとの存在比

Ralstonia 属は、青枯病菌の帰属する分類群であり、観察症状との結果とも一致していた。*Paenarthrobacter* 属の再分類される前の *Arthrobacter* 属の菌株には植物ホルモンの産生や窒素固定をする役割、キチナーゼによる *Fusarium* 病の制御の可能性が報告されている³⁾。

より根に近くトマチンの影響を受けていると考えられる根圏では *Pseudomonas* 属、*Paenarthrobacter* 属および *Variovorax* 属の割合が健全なトマト株で有意に高く、*Ralstonia* 属、*Asticcacaulis* 属および *Cellvibrio* 属の割合が罹病トマト株で有意に高かった (図 3)。*Pseudomonas* 属の一部には抗菌性二次代謝産物による抗生作用や植物の免疫力を増強し、植物保護効果を持つ菌株が存在している⁴⁾。また *Variovorax* 属の一部には、群集中の他の細菌によって引き起こされる根の生育抑制を回復させられることが報告されている⁵⁾。

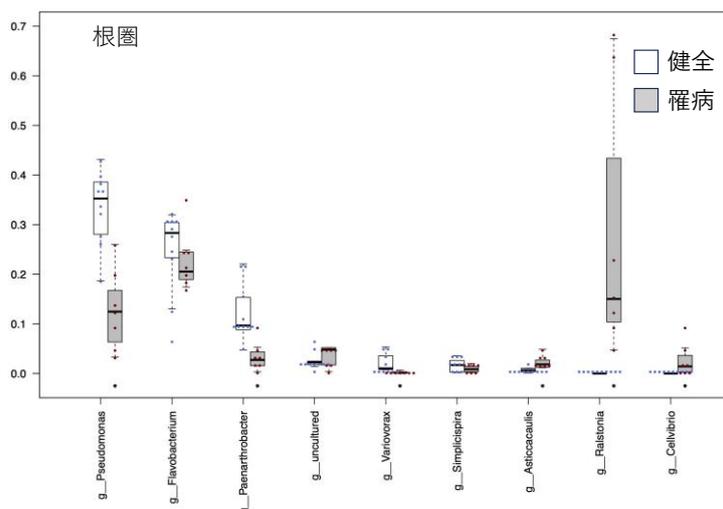


図 3. 根圏における細菌属ごとの存在比

根圏よりもトマチンの影響を受けていると考えられる根では *Pseudomonas* 属、*Paenarthrobacter* 属および *Variovorax* 属の割合が健全なトマト株で有意に高く、*Ralstonia* 属および *Cellvibrio* 属の割合が罹病トマト株で有意に高かった (図 4)。

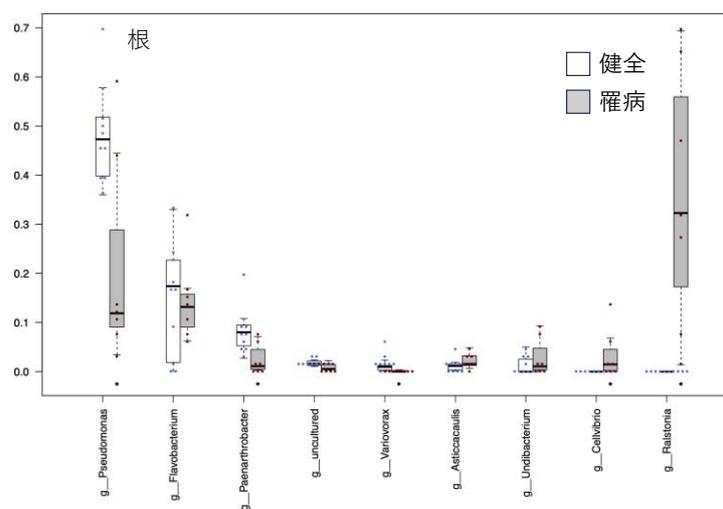


図 4. 根における細菌属ごとの存在比

茎では *Ralstonia* 属の割合が罹病トマト株で有意に高かったが、その他の属では有意な差は見られなかった。葉ではいずれの属でも有意な差は見られなかった。

【まとめ】

- ・ トマト植物体からのエンドファイトの分離を行い、約 50 の分離株が得られた。
- ・ *Ralstonia* 属は土を介してトマト植物体に感染をしていること、隣接する健全なトマト株で検出された *Pseudomonas* 属、*Paenarthrobacter* 属および *Variovorax* 属は、トマチンに抵抗性を持ち、青枯れ病菌に拮抗し、生育促進効果の可能性のある有用なエンドファイトの候補であると推察された (図 4)。
- ・ 現時点で *Pseudomonas* 属以外の分離株は得られておらず、引き続き選択培地を用いて *Paenarthrobacter* 属および *Variovorax* 属の分離を継続する。
- ・ 今後得られた各分離株について青枯れ病菌に対する拮抗試験、トマトに対する生育促進効果試験を行い、微生物資材候補株の絞り込みをする。

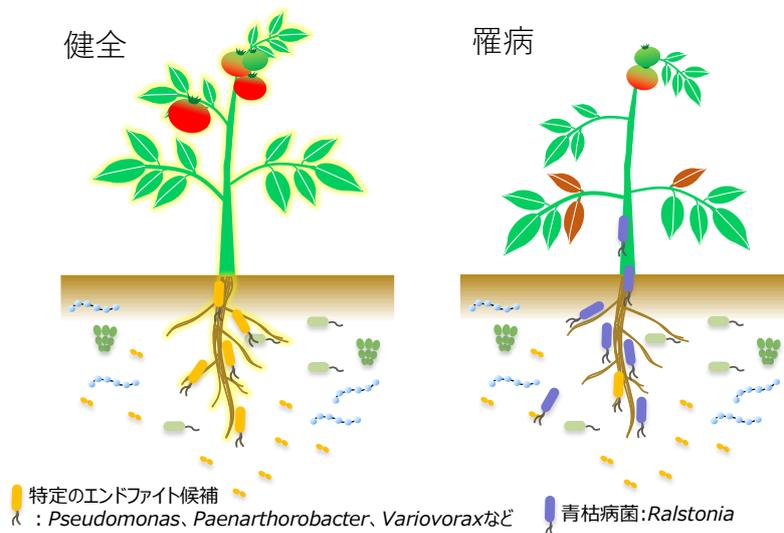


図 5. 健全トマト株と罹病トマト株の菌叢比較

【地域社会への波及効果】

トマトの化学農薬・化学肥料の削減に寄与するため、青枯れ病の予防、生育促進効果が期待できる微生物資材候補を微生物資材メーカーに提供し、製品化を促進することで農業分野に貢献する。

参考文献

- 1) 乙部裕一 (2011). トマトの化学合成農薬・化学肥料 5 割削減栽培の実証. 第 13 回道南農業新技術発表会要旨, 13-14.
- 2) 池田成志, 鶴丸博人, 大久保卓, 岡崎和之, 南澤究 (2013). 植物共生科学の新展開と農学研究におけるパラダイムシフト. 化学と生物 51(7), 462-470.
- 3) Dorothy Jones, Ronald M. Keddie (2006). The Genes *Arthrobacter*. The Prokaryotes A Handbook on the Biology of Bacteria Third Edition Volume 3: Archaea, Bacteria: Firmicutes, Actinomycetes 1.1.21, 945-960.
- 4) 染谷信孝, 竹内香純, 諸星知広 (2019). 植物保護能力を有する蛍光性 *Pseudomonas* の機能と生態植物保護細菌の多彩な武器. 化学と生物 57(9), 541-548.
- 5) Omri M Finkel, Isai Salas-González, Gabriel Castrillo, Jonathan M Conway, Theresa F Law, Paulo José Pereira Lima Teixeira, Ellie D Wilson, Connor R Fitzpatrick, Corbin D Jones, Jeffery L Dangl (2020). A single bacterial genus maintains root growth in a complex microbiome. Nature 587(7832), 103-108.