



微生物を用いた環境に優しいブドウ病害防除

University of Yamanashi

○古屋 誠一、河野 美奈子、鈴木 俊二、守屋 正憲、高柳 勉

山梨大学 ワイン科学研究センター

【目的】今日のブドウ栽培は、人体や環境への影響、残留等が問題とされる化学農薬に依存している。また、ボルドー液の散布により、ブドウ中に含まれる香り成分が影響を受けるため、ブドウ栽培においてボルドー液や化学農薬散布に替わる病害菌防除法が求められている。本研究は、ブドウから分離した微生物の抗菌スペクトルの解明、化学農薬に対する耐性試験等を行った。これにより、環境に優しい次世代のブドウ病害菌防除剤としての本微生物の可能性を探った。

- ①分離微生物の同定: コロニー形態の観察、光学および電子顕微鏡観察、グラム染色試験、および生化学試験を行った結果、両分離微生物を *Bacillus subtilis* と同定した。また、16S rRNA塩基配列の決定を行った結果、両分離株は異なる新規の分離株であった(KS1、YS15株と命名)。
- ②抗菌スペクトルの解明:
 - (1)対峙培養試験: ブドウ灰色かび病菌に対して、両分離株共に生育抑制効果を示した。加えて、市販バチルス・スプテリス剤には認められなかった灰色かび病菌の菌糸先端の膨張、破裂を確認した。また、KS1は、ブドウ晚腐病菌に対しても同様の効果が認められた。しかしながら、ブドウ以外に感染する黒斑病菌、萎ちょう病菌、ペスタロチア病菌に対しては、その生育を抑制しなかった。
 - (2)圃場散布試験: ペト病の発症率(%)と発症度(cm²)は、無処理区で60%(74.8 cm²)、市販されているバチルス・スプテリス水和剤散布区で50%(75.5 cm²)であったのに対し、YS15散布区は30%(9.3 cm²)、KS1散布区に至っては10%(1.0 cm²)であり、明らかに両分離株の散布は、ペト病の発症および、発病を抑制した。
- ③化学農薬に対する耐性試験: KS1、YS15共に、化学農薬に対する耐性は高いものであり、実際の栽培条件下において、多くの化学農薬との併用が可能であることが示唆された。

ペト病に対しての抑制効果が圃場試験で確認されたことから、ボルドー剤の散布に替わるペト病防除法として本分離株散布は有効であることが示唆された。加えて、予防的に本分離株を散布し、緊急を要する時には化学農薬を併用するなどの新たなブドウ病害防除法を提案できる可能性を示した。

研究背景

- 人体・環境への影響
- 耐性菌出現の可能性
- 残留農薬
- 醸造への影響

微生物を用いた病害菌防除法

- 微生物農薬: 菌糸・芽生細胞、エンドサイト細胞
- 競合作用: 植物体に病害菌より先に定着し、栄養を奪う

特徴的拮抗作用を示した微生物の分離

KS1
YS15

新たな病害菌防除機構

研究内容

- 分離微生物の同定
- 微生物防除剤としての検討
 - 抗菌スペクトルの解明
 - (1)対峙培養試験 → 適用病害菌
 - (2)圃場散布試験
 - 化学農薬成分に対する耐性試験 → 化学農薬との併用

次世代ブドウ病害菌防除剤としての可能性を探る

本微生物の同定

- 形状
 - KS1, YS15
 - 形: 桿菌
 - 大きさ: KS1 0.8×3~5 μm, YS15 0.8×2~9 μm
 - グラム染色: (+)
 - 芽胞形成: (+)
- コロニーの形態
 - KS1, YS15
- 生理的性状
 - 64項目についてテスト
 - カタラーゼテスト(+)
 - アルギニンジヒドロラーゼ(-)
 - 糖分解: グルコース(+), マルトース(+), インドール(-)

本微生物の同定

Bacillus subtilis

16s rRNA塩基配列のSequence

NCBI BLAST

- ・100%一致する株は無し
- ・5株と検定を行い塩基配列の相違を確認

新たな分離株
※特許出願中

抗菌スペクトルの解明～対峙培養試験～

● 供試病害菌

- Botrytis cinerea* (ブドウ)
- Glomerella cingulata* (ブドウ以外の植物)
- Alternaria brassicicola*
- Fusarium oxysporum*
- Pestalotiopsis sydowniana*

対峙培養試験の結果

- *Botrytis cinerea*
- *Glomerella cingulata*

対峙培養の結果

- *Alternaria brassicicola*
- *Fusarium oxysporum*

対峙培養の結果

- *Pestalotiopsis sydowniana*

	KS1	YS15	市販微生物農薬
<i>Botrytis cinerea</i>	+	+	+
<i>Glomerella cingulata</i>	+	-	-
<i>Alternaria brassicicola</i>	-	-	-
<i>Fusarium oxysporum</i>	-	-	-
<i>Pestalotiopsis sydowniana</i>	-	-	-

抗菌スペクトルの解明～圃場散布試験～

- *Plasmopara viticola*

	発病率(%)	発病度(cm ²)
KS1	10	1.0
YS15	30	9.3
市販剤	50	75.5
無処理	60	74.8

化学農薬に対する耐性試験

市販微生物農薬: KS1, YS15

KS1を用いた薬剤散布モデル

KS1防除剤