

ネパールにおける新規拮抗微生物の探索収集

農業生物資源研究所 遺伝資源第二部
微生物評価保存研究チーム

堀田光生

兵庫県中央農業技術センター農業試験場

相野公孝

Exploration and collection of new antagonistic bacteria against plant pathogens in Nepal

Mitsuo HORITA

Laboratory of Microorganism Conservation, National Institute of
Agrobiological Resources, Kannondai 2-1-2, Tsukuba, Ibaraki 305-0856, Japan

Masataka AINO

Hyogo Prefectural Agricultural Institute
Befu, Kasai 679-0103, Japan

1. 目的

農業生産の現場において、化学農薬は病虫害の防除に多大な役割を果たし、現在もなお重要な地位を占めているため、その必要性から開発が続けられている。その反面、近年では農薬あるいは化学肥料の多用に対する懸念や反省から、その軽減を目指して環境調和型あるいは低投入持続的農業が指向されはじめ、拮抗微生物 (antagonistic microorganisms) や植物生育促進根圏細菌 (plant growth-promoting rhizobacteria : PGPR) を利用した生物防除研究に注目が集まっている。これらの有用性が確認され、あるいは既にその効果が期待されている微生物は蛍光性シュードモナス (*Pseudomonas*) 属細菌をはじめ多くを数える。

我が国においてはこれまでに多くの研究者により探索・収集が行われ、その一部は生物防除素材としての適用性が試みられている。しかし、多様な病害の種類や栽培条件に対し、普遍的に効果が得られる菌株を見い出すことは困難であると考えられる。したがって、より広範な地域から、あるいは様々な植物種からの探索・収集を行い、それらの諸特性を解析した後、微生物遺伝資源として利用を図ることが必要であり、将来、適地適応性を考慮した有効な微生物農薬あるいは微生物資材の開発研究素材として活用されることが望まれる。

今回、栽培環境あるいは植物種において日本とは異なるネパール国から拮抗細菌の探索・収集を行うこととした。ネパールにおける各種微生物の探索・収集についてはその報告例が少なく、また地理的、気候的に多様であることから、既報のものと異なる拮抗微生物が収集できる可能性が非常に高いと考えられた。

2. 探索の概要

1996年9月24日から10月8日の15日間の日程でネパール国を訪問し、カトマンズにあるネパール農業省植物病理部門のDr. K. Shrestha 氏およびトリップバーン大学農学部のDr. T. Adhikari 氏との共同研究として微生物遺伝資源の探索収集を行った。ネパールは14.1万 km²と決して広くないとはいえ、ヒマラヤ山脈が東西に伸び、その移動は困難が伴う。

15日という短い日程と交通の便を考慮し、標高差を指標とした特定の地域（中部山間地域、南部盆地）にターゲットを絞り探索日程を計画した（図1、表1）。探索隊は日本側2名と現地通訳・案内を担当したトリップバーン大学R. C. Basnyat 氏の計3名が中心となり、同大学より車と運転手を借り上げて探索・移動を行った。収集微生物として植物病原菌に対する拮抗微生物を中心に行い、一部ナス科作物青枯病菌も併せて収集した。

9月24日 農林水産省本省にて打ち合わせ後、成田出発。

9月25日 カトマンズ到着。日本大使館、ネパール農業省を表敬訪問。

9月26日 Adhikari 氏、Shrestha 氏を交えて探索・調査地域の検討を行う。パスカル、チトワン、サライおよびポカラ近郊を主に絞り込む。

9月27日 カトマンズ東部の中山間地域パスカルで一般農家圃場よりトマト、ダイコン等の植物体を採取し、Shrestha 氏研究室で菌の分離を行った。パスカルでは雨期に稲、乾期にジャガイモを主に栽培しており、収穫直前の田圃の間に小規模のトマト畑が点在していた。

9月28日 カトマンズより南部タライ盆地のチトワンへ移動。

9月29～10月2日 チトワンにあるトリップバーン大学農学部に拠点を移し、サライ農業試験場、トリップバーン大学内、ヘタウダにてナス、トマト、トウガラシ等の植物のサンプリングを行った。インド国境沿いの南部は熱帯気候に属し、我々が訪問した9、10月でも最高気温が35°C、湿度が95%を超えていた。この地域では高温多湿な気候を活かして米の2期作が主に行われていた。10月初旬より、ナス、トマト等の栽培が始まっていったため、これら植物より多くのサンプルが収集可能であった。

10月3～4日 中西部ポカラ盆地に移動し、ポカラ農業試験場圃場および一般農家圃場にてトマト、ナス科雑草等を採取した。

10月5日 ポカラよりカトマンズへ移動、試料整理。

10月6日 ネパール農業省にて収集微生物の持ち出し許可を受けた後、Shrestha 氏へ挨拶。

10月7～8日 カトマンズ～バンコク～成田～つくば着

3. 収集の成果

1) 方法

(1) 細菌の分離

採取した植物は水洗し、表面をアルコール殺菌した後、所定量を乳鉢で磨碎し、滅菌蒸留水に懸濁した。拮抗細菌の分離には蛍光性 *Pseudomonas* 属菌選択用の P-1 培地、素寒天培地(WA)またはクリスタルバイオレット培地(CV)の計 3 種を用いて、常法に従い行った。懸濁液を塗布した寒天平板をネパールで 2 日～1 週間インキュベートした後、そのまま日本に持ち帰り、1/5PDA およびキング B 平板培地上で単コロニー分離を繰り返した。分離された菌株は最終的に 1 % グルタミン酸ナトリウム加用 10% スキムミルクに懸濁して -30°C で凍結保存した。

(2) 抗菌活性試験

得られた細菌について、植物病原菌に対する抗菌活性を検討した。対象病原菌としては、*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (コムギ立枯病菌)、*Rhizoctonia solani* AG-4 (ダイコン苗立枯病菌) 等 7 種の糸状菌および *P. solanacearum* (ナス科青枯病菌)、*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (トマトかいよう病菌) 等 5 種の細菌を供試した。培地上の抗菌活性は、病原糸状菌では 1/5PDA 培地を用いた対峙培養法により、また病原細菌に対してはキング B 培地を用いたプレートクロロホルム法 (Wakimoto *et al.*, 1986) により行った。抗菌活性は、検定菌と指示病原菌との間に形成される生育阻止帯の有無により判定した。

(3) 発病抑制試験

コムギ立枯病菌に抗菌活性を示した菌株について、その発病抑制効果を検討した。コムギ種子に約 10⁸ cells 濃度で拮抗細菌をコーティングし、立枯病菌汚染培土に播種後、人工気象器内で 25°C、3 週間インキュベートし、発芽した種子の発病度を観察した。

2) 結果

(1) 細菌の分離

採取した植物サンプルより調製した懸濁液を P-1、WA および CV 培地に塗布した結果、それぞれコロニー形態が多様性に富む細菌集落が出現した。各培地間で分離される菌の種類には違いがみられた。また、分離植物や分離地域の違いにより出現する菌の種類や密度には明らかに違いが見られたが、その関連性について特定の傾向を認めることはできなかった。

各プレートより数十コロニーずつ単コロニー分離を行い、計 854 株を取得した。これら菌株をさらに純化した後、それぞれ前述に従い、10% スキムミルクに懸濁後、-30°C で凍結保存した。

(2) 収集した菌株の抗菌活性試験

分離・保存された菌株より 62 株 (蛍光色素産生株 19 株) を選抜し (表 2)、12 種の植物病原菌に対する抗菌活性を試験した。それらの結果は表 3、4 に示すとおりであった。今回選抜した菌株の大半は、試験した病原菌のいずれかに抗菌活性を示した。病原糸状菌に対する試験では、コムギ立枯病菌に抗菌性を示す株が高い割合 (40%) で得られ、また、複数の菌に対し効果を示すものが多くみられた。病原細菌に対する試験では、青枯病菌、かいよう病菌等のトマト病原細菌に対して

抗菌活性を示す菌株がかなり高い割合で認められた（47～92%）。

今回、抗菌活性が認められた菌株中には、各種病原菌に明瞭な生育阻止帯を形成するものがあり、それらは有効な抗菌物質を生産している可能性が示唆された（図2）。

（3）発病抑制試験

コムギ立枯病菌に抗菌活性を示した7菌株について発病抑制試験を行った結果、いずれの株を処理した場合もコムギは病原菌無処理区と同程度に生育し、その防除効果が認められた（図3）。

今後、これら分離株の細菌学的諸性質を検討することによって分類学的所属を明らかにするとともに、MAFF ジーンバンクに登録し微生物遺伝資源として保存することで、将来における微生物農薬開発研究素材として提供を図るものである。

4. 所感

1993年に発効した生物多様性条約の関係で、平成8年度の海外探索より外務省を通して相手国に遺伝資源の持ち出しに関する申請を行うこととなった。本条約については、我々をはじめ相手国でもまだ認識が浅かったため、その対応に混乱が生じたようであった。今後の探索・収集の際には現地対応者と綿密に連絡を取り、早めに関係する書類等の準備をしておくことが必要ではないかと考えられる。

今回の探索では、ネパール現地関係者の御協力によって、日本と共通の、あるいは固有の植物が栽培され、また気候条件の異なる地域で植物サンプルを採取することができ、その結果として植物病原菌に拮抗能を有する細菌が多数収集され、初期の目的を果たすことができた。探索前は多様な微生物相の存在とその採取の可能性について期待していたが、日程、その他の都合により限定されてしまった点が多く、残念な面もあった。

分離された菌株について、今回は12種類の植物病原菌に対する拮抗性を検討したが、対象とする病原菌を変えることにより新たな拮抗菌株が選抜される可能性は十分にある。また、多様な微生物種を含む採取サンプルから拮抗菌の選抜しか行っていないため、案外、残された中に興味ある微生物遺伝資源があるかもしれない、機会があれば再調査してみたい。

今回の調査を行うに当たっては、トリプバーン大学のAdhikari 氏、Basnyat 氏およびネパール農業省のShrestha 氏の御協力により、菌株の収集・分離およびネパール国外への持ち出し等を支障なく行うことができた。また、採集菌株の植物病原菌に対する抗菌活性試験および発病抑制試験では、農業生物資源研究所の土屋健一氏に多大な御協力を頂いた。ここに記して深く感謝申し上げる。

5. 参考文献

- 1) Aino, M., K. Tsuchiya, Y. Komoto, J. Yoshikura (1993) Colonization of tomato root by *Pseudomonas putida* strain FP-16 for the control of bacterial wilt of tomato. Soil Micro-organisms 41 : 25-29.

- 2) Aino, M. (1996) Biological control of tomato bacterial wilt by fluorescent pseudomonads. PSJ Soilborne Disease Workshop Report 18 : 60-69.
- 3) Wakimoto, S., K. Hirayae, K. Tsuchiya, Y. Kushima, N. Furuya and N. Matsuyama (1986) Production of antibiotics by plant pathogenic pseudomonads. Ann. Phytopath. Soc. Japan 52 : 835-842.

Summary

Exploration and collection of antagonistic bacteria against plant pathogens were conducted in the middle area of Nepal (in or around Kathmandu, Chitawan and Pokhara volley) during September-October 1996. Various plant materials (eggplant, tomato and so on) were collected at the cultivated fields which differed in the climate condition.

The antagonistic bacteria were dominantly detected from the collected plant samples by using three kinds of media (P-1 plate, Water agar plate, and Crystal Violet plate). The selected bacteria were tested antibiotic activity against twelve kinds of plant pathogens.

The most isolates were antagonistic to either strain of pathogens, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *spinaciae*, *F. o.* f. sp. *lycopersici*, *F. o.* f. sp. *radicis-lycopersici*, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, *X. c.* pv. *campestris*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, and *Pseudomonas solanacearum*.

表1 平成8年度ネパール国における拮抗微生物の探索日程

月 日	行 程	行 動 内 容
9・24	つくばー成田ーバンコク	移動（陸路ー空路）
25	バンコクーカトマンズ	移動（空路）
26	カトマンズ	日本大使館、ネパール農業省訪問
27	カトマンズーباسカルーカトマンズ	探索打ち合わせ、準備
28	カトマンズーチトワン	探索・収集
29	チトワンーサライーチトワン	移動（陸路）
30	チトワン（トリップバーン大学内）	探索・収集、サライ農業試験場訪問
10・1	チトワンーへタウダーチトワン	探索・収集
2	チトワン（国立公園近郊）	探索・収集
3	チトワンーポカラ	トリップバーン大学部長との晚餐会
4	ポカラ	探索・収集
5	ポカラーカトマンズ	移動（陸路）
6	カトマンズ	ネパール農業省訪問、収集菌株の持ち出し 許可申請
7	カトマンズーバンコク	移動（空路）
8	バンコクー成田ーつくば	移動（空路ー陸路）

表2 抗菌活性試験に供試したネパール採集菌株一覧

菌株番号	分離地	分離植物	分離選択培地	蛍光色素(キングB)
2B2	パスカル	トマト (Pusa Ruby)	WA*	-
2C1	パスカル	トマト (Pusa Ruby)	CV	-
2C6	パスカル	トマト (Pusa Ruby)	CV	-
2D2	パスカル	トマト (Pusa Ruby)	CV	-
2E-3	パスカル	トマト (Pusa Ruby)	P-1	+
2E-8	パスカル	トマト (Pusa Ruby)	P-1	+
2E-9	パスカル	トマト (Pusa Ruby)	P-1	+
2F1	パスカル	トマト (Pusa Ruby)	P-1	+
2F8	パスカル	トマト (Pusa Ruby)	P-1	+
3E-1	パスカル	ダイコン	WA	+
3G1	パスカル	ダイコン	WA	-
3H1	パスカル	ダイコン	CV	+
4C1	パスカル	ダイコン	CV	+
4F1	パスカル	ダイコン	P-1	-
5E-3	サライ	ナス (Paro Local)	P-1	-
6C2	サライ	ナス (Paro Local)	CV	-
6C10	サライ	ナス (Paro Local)	CV	-
8B9	チトワン	トマト (Pusa Ruby)	WA	-
8E-2	チトワン	トマト (Pusa Ruby)	P-1	-
10C1	サライ	トウガラシ	WA	-
10D1	サライ	トウガラシ	WA	-
10E-1	サライ	トウガラシ	CV	-
10E-10	サライ	トウガラシ	CV	-
10F3	サライ	トウガラシ	CV	-
10G4	サライ	トウガラシ	CV	+
10-B4	サライ	トウガラシ	P-1	-
10-B10	サライ	トウガラシ	P-1	-
10-E3	サライ	トウガラシ	P-1	-
11D6	ヘタウダ	ナス (Pusa Purple Long)	CV	-
11E-6	ヘタウダ	ナス (Pusa Purple Long)	P-1	-
12B2	ヘタウダ	トウガラシ	WA	-
14A1	ヘタウダ	雑草	WA	-
14A6	ヘタウダ	雑草	WA	-
14A12	ヘタウダ	雑草	WA	-
14B1	ヘタウダ	雑草	WA	-
14B5	ヘタウダ	雑草	WA	-
14C1	ヘタウダ	雑草	CV	-
14C6	ヘタウダ	雑草	CV	-
14D1	ヘタウダ	雑草	CV	-
14F5	ヘタウダ	雑草	P-1	-
15B10	ポカラ	トマト (B350)	WA	-
15C10	ポカラ	トマト (B350)	CV	+
15D4	ポカラ	トマト (B350)	CV	+
15D8	ポカラ	トマト (B350)	CV	+
15D10	ポカラ	トマト (B350)	CV	+
15E-4	ポカラ	トマト (B350)	P-1	-
15E-7	ポカラ	トマト (B350)	P-1	-
16A10	ポカラ	ナス科雑草 (Kantakani)	WA	-
16C1	ポカラ	ナス科雑草 (Kantakani)	WA	+
16D2	ポカラ	ナス科雑草 (Kantakani)	CV	-
16F10	ポカラ	ナス科雑草 (Kantakani)	CV	-
16G4	ポカラ	ナス科雑草 (Kantakani)	P-1	-
16G10	ポカラ	ナス科雑草 (Kantakani)	P-1	-
16H2	ポカラ	ナス科雑草 (Kantakani)	P-1	-
17A10	チトワン	雑草	WA	-
17D4	チトワン	雑草	CV	+
17E-2	チトワン	雑草	CV	+
17E-10	チトワン	雑草	CV	+
17F5	チトワン	雑草	P-1	+
17F10	チトワン	雑草	P-1	-
17G1	チトワン	雑草	P-1	+
17G3	チトワン	雑草	P-1	-

*WA: 素寒天培地, CV: クリスタル・バイオレット培地, P-1: P-1培地

表3 各種植物病原糸状菌に対する抗菌活性

供試菌株 番号	蛍光色素 產生(KB)	抗 菌 活 性 a)						
		RSAG4	RSAG8	FOS	FOL (J1)	FOL (J2)	FOL (J3)	GGT
2B2	-	++	++	+	++	+	++	++
2C1	-	++	++	+	++	+	++	++
2C6	-	-	-	-	n.t.	-	-	n.t.
2D2	-	++	+	+	n.t.	+	++	n.t.
2E-3	+	-	-	-	-	-	-	n.t.
2E-8	+	-	-	-	-	n.t.	-	n.t.
2E-9	+	-	-	-	-	-	-	n.t.
2F1	+	-	-	-	-	-	-	n.t.
2F8	+	-	-	-	-	-	-	n.t.
3E-1	+	+	-	-	-	-	-	+
3G1	-	-	-	-	-	-	-	-
3H1	+	+	+	+++	+++	+++	(+)	+
4C1	+	+	+	-	n.t.	-	(+)	++
4F1	-	-	-	+	+++	+++	+	+
5E-3	-	++	-	n.t.	-	-	++	++
6C2	-	-	-	-	-	-	-	-
6C10	-	-	-	n.t.	-	+	-	-
8B9	-	-	-	n.t.	-	+	-	-
8E-2	-	-	-	n.t.	-	-	-	-
10C1	-	-	-	-	-	-	-	-
10D1	-	-	-	-	-	-	-	-
10E-1	-	-	-	-	-	-	-	-
10E-10	-	-	-	-	-	-	-	n.t.
10F3	-	-	-	-	-	-	-	n.t.
10G4	+	+	(+)	-	-	-	-	n.t.
10-B4	-	-	-	n.t.	-	-	-	-
10-B10	-	-	-	n.t.	-	-	-	-
10-E3	-	-	-	n.t.	-	-	-	-
11D6	-	-	-	n.t.	-	-	-	-
11E-6	-	-	-	n.t.	-	-	-	-
12B2	-	-	-	n.t.	-	-	-	-
14A1	-	-	-	n.t.	-	-	-	n.t.
14A6	-	-	-	n.t.	-	-	-	n.t.
14A12	-	-	-	n.t.	-	-	-	n.t.
14B1	-	-	+	n.t.	-	-	-	(+)
14B5	-	-	-	n.t.	-	-	-	-
14C1	-	-	-	n.t.	-	-	-	-
14C6	-	-	-	-	-	-	-	-
14D1	-	-	-	-	-	n.t.	-	-
14F5	-	-	-	-	-	-	-	-
15B10	-	-	-	-	-	-	-	+
15C10	+	+	(+)	-	-	-	-	+
15D4	+	-	-	-	-	-	-	-
15D8	+	-	-	-	-	-	-	-
15D10	+	-	-	-	-	-	n.t.	-
15E-4	-	-	-	-	-	-	n.t.	-
15E-7	-	-	-	-	-	-	n.t.	-
16A10	-	-	-	-	-	-	-	-
16C1	+	++	++	-	-	(+)	-	+
16D2	-	-	-	-	-	-	-	n.t.
16F10	-	-	-	-	-	-	-	n.t.
16G4	-	-	-	-	-	-	-	-
16G10	-	-	-	-	-	-	-	-
16H2	-	-	-	-	-	-	-	-
17A10	-	-	-	+	-	-	+	++
17D4	+	+	+++	-	-	-	-	++
17E-2	-	-	++	-	-	-	-	++
17E-10	+	-	++	-	-	-	-	++
17F5	+	+	-	-	-	n.t.	-	++
17F10	-	-	-	-	-	-	(+)	++
17G1	+	+	+	-	-	-	-	++
17G3	-	-	-	-	-	-	+	++

a) 1/5PDA を用いた対峙培養により検定した。

抗菌活性は指示菌の生育阻止帯の幅で判定した。- ; 陰性, (+) ; 阻止帯形成されるが、菌糸で被覆される,
+ ; 5~10mm, ++ ; 10~15mm, +++ ; 15mm 以上, n.t. ; 試験せず。b) RSAG4; *Rhizoctonia solani* AG-4 (ダイコン立枯病菌),RSAG8; *R. solani* AG-8 (コムギ根腐病菌),FOS; *Fusarium oxysporum* f. sp. *spinaciae* (ホウレンソウ萎ちよう病菌),FOL (J1); *F. o. f. sp. lycopersici* (トマト萎ちよう病菌 レース 1),FOL (J2); *F. o. f. sp. lycopersici* (トマト萎ちよう病菌 レース 2),FOL (J3); *F. o. f. sp. radicis-lycopersici* (トマト根腐萎ちよう病菌),GGT; *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (コムギ立枯病菌)

表4 各種植物病原細菌に対する抗菌活性

供試菌株 番号	蛍光色素 產生(KB)	抗 菌 活 性 a)				
		XCV	病 原 XCC	糸 状 ECC	菌 b) CMM	PSOL
2B2	-	-	-	+++	++	n.t.
2C1	-	-	-	+++	++	n.t.
2C6	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	++
2D2	-	-	-	+++	++	n.t.
2E-3	+	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	++
2E-8	+	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	++
2E-9	+	-	-	-	-	++
2F1	+	-	-	-	-	++
2F8	+	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	++
3E-1	+	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	(+)
3G1	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	(++)
3H1	+	+	-	-	+	+++
4C1	+	-	-	-	++	-
4F1	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	-
5E-3	-	-	-	-	-	-
10C1	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	(++)
10D1	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	(++)
10E-1	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	+
10E-10	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	+
10F3	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	+
10G4	+	-	-	-	++	+++
10-B4	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	+
10-B10	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	+
10-E3	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	+
11D6	-	-	-	-	-	++
11E-6	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	+
12B2	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	+
14A1	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	++
14A6	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	+
14A12	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	+
14B1	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	+
14B5	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	+
14C1	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	+
14C6	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	+
14D1	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	+
14F5	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	+
15B10	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	(+++)
15C10	+	-	-	-	-	+++
15D4	+	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	(++)
15D10	+	-	-	-	-	+++
15E-4	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	(++)
15E-7	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	(++)
16A10	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	+
16C1	+	+++	++	-	++	+++
16D2	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	+
16F10	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	+++
16G4	-	-	-	-	-	+++
16G10	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	+++
16H2	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	+++
17D4	+	-	-	-	+++	++
17F5	+	+	-	-	-	n.t.
17G1	+	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	+
17G3	-	-	-	-	-	-

a) キングB培地を用いたプレートクロロホルム法により検定した。

抗菌活性は指示菌の生育阻止帯の幅で判定した。- ; 隆性, (++) ; 不透明阻止帯形成,
+ ; 5~10mm, ++ ; 10~15mm, +++ ; 15mm以上, n.t. ; 試験せず。b) XCV; *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (トマト斑点細菌病菌),
XCC; *X. c.* pv. *campestris* (キヤベツ黒腐病菌),ECC; *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (野菜軟腐病菌),CMM; *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (トマトかいよう病菌),PSOL; *Pseudomonas solanacearum* (ナス科青枯病菌)

表5 ネパールにおいて採集したナス科青枯病菌分離株一覧

菌株番号	分離地	分離源	採取日
105	パスカル	トマト根圈土壤	9/27
110	パスカル	トマト根圈土壤	9/27
160	チトワン	トマト (Pusa Early)	9/29
170	チトワン	トマト (Pusa Early)	9/29
173	チトワン	ナス (Pusa Purple Long)	9/29
201	ポカラ	ナス	10/3
202	ポカラ	ナス	10/3
203	ポカラ	ナス	10/3
204	ポカラ	ナス	10/3
205	ポカラ	ナス	10/3
209	ポカラ	トマト (Pusa Ruby)	10/3
210	ポカラ	トマト (Pusa Ruby)	10/3
211	ポカラ	トマト (Pusa Ruby)	10/3
212	ポカラ	トマト (Pusa Ruby)	10/3
213	ポカラ	トマト (Pusa Ruby)	10/3
231	ポカラ	トマト栽培土壤	10/3

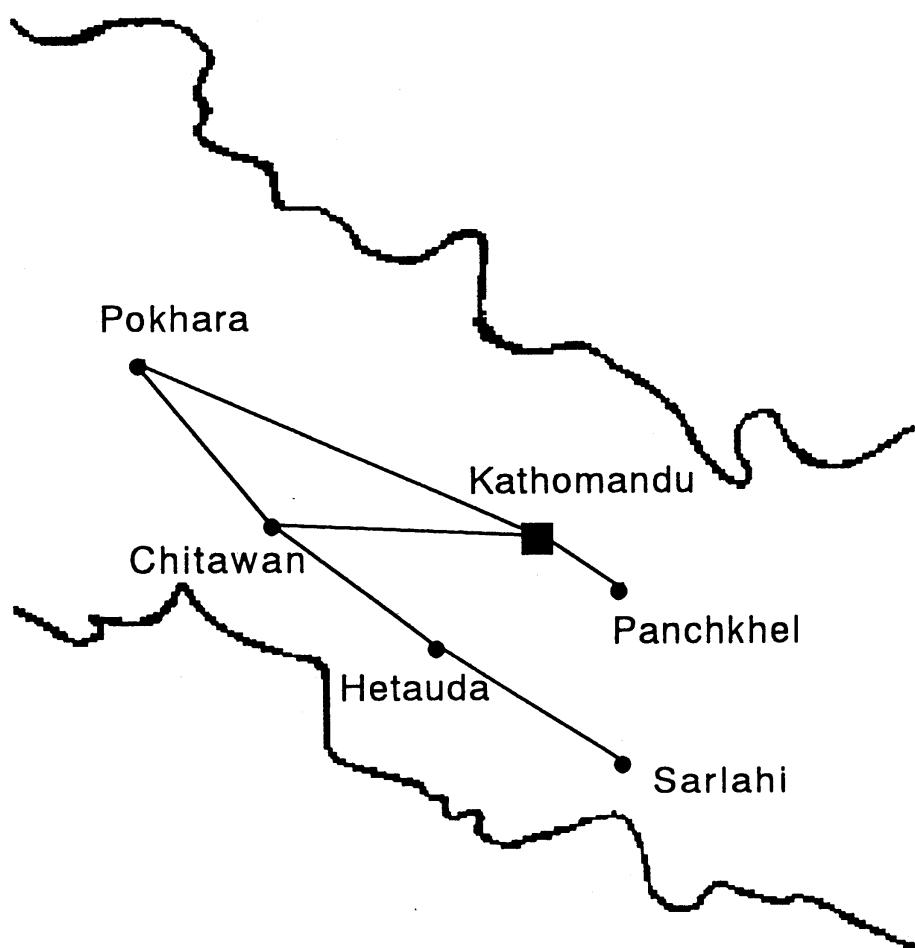


図1 ネパールにおける探索収集経路

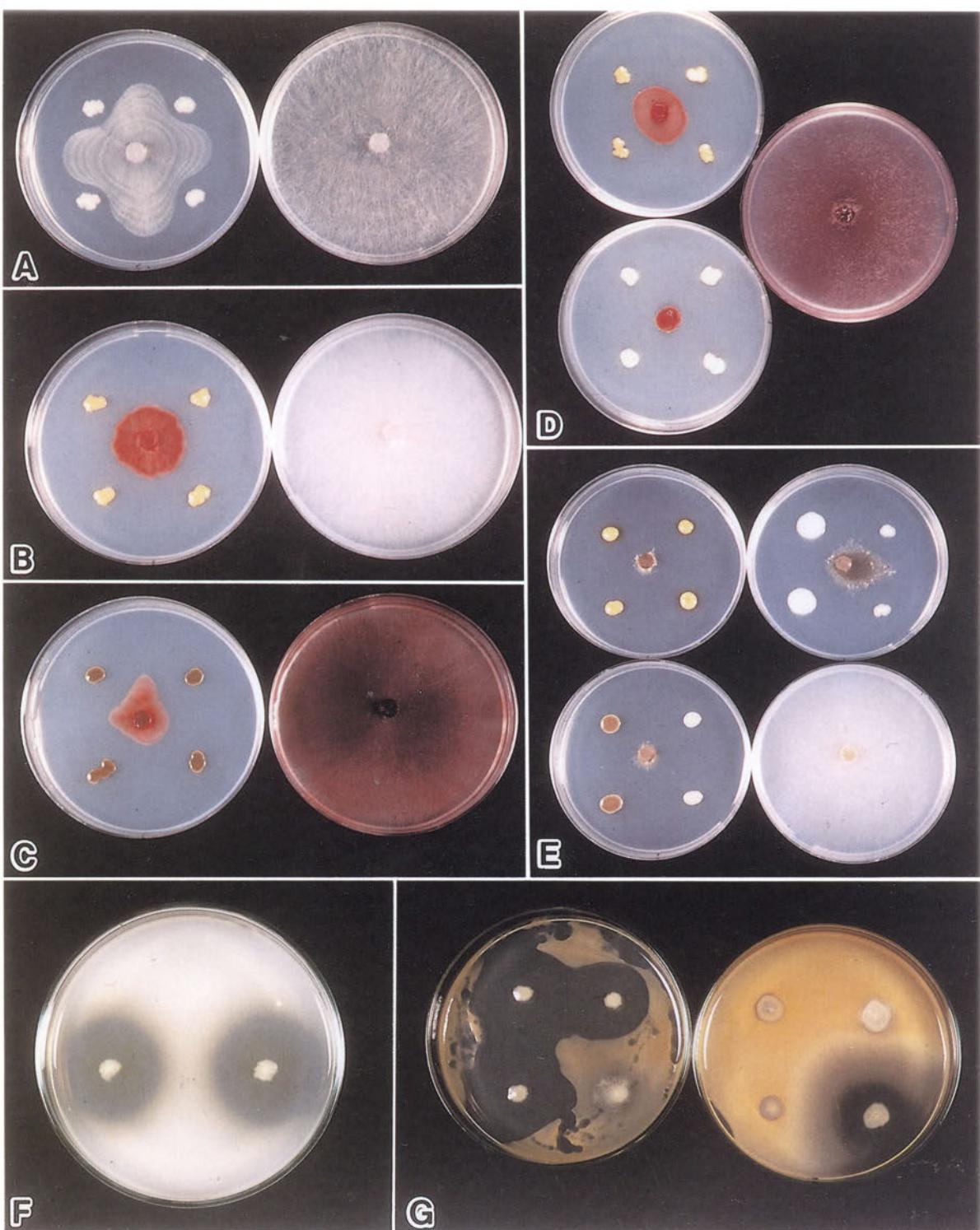


図2 各種植物病原菌に対する抗菌作用

A～E ; PDA 培地上での糸状菌に対する抗菌作用

A ; ダイコン立枯病菌 (*R. solani* AG-4)

B ; トマト根腐萎ちゅう病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*)

C ; ホウレンソウ萎ちゅう病菌 (*F. o. f.* sp. *spinaciae*)

D ; トマト萎ちゅう病菌 (*F. o. f.* sp. *lycopersici* race J2)

E ; コムギ立枯病菌 (*G. graminis* var. *tritici*)

F, G ; キング B 培地上での細菌に対する抗菌作用

F ; ナス科青枯病菌 (*P. solanacearum*)

G ; キャベツ黒腐病菌 (*X. c.* pv. *campesiris*)



図3 拮抗細菌処理によるコムギ立枯病の発病抑制

コムギ種子に約 10^8 cells/種子でコーティングし、病原菌汚染培土に播種した。

微生物の探索収集プロフィール



圃場でのサンプル収集
(森ら)



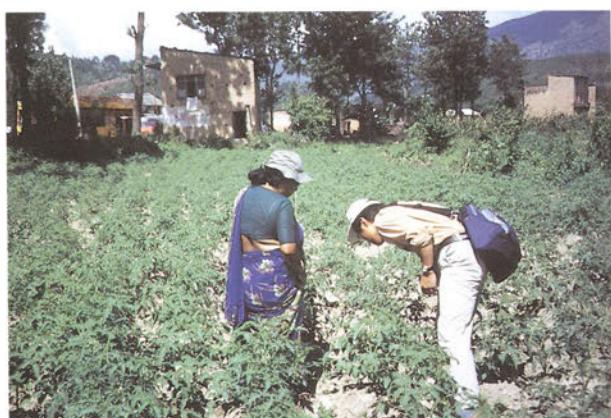
北海道の代表的な水産物の入った発酵漬物（白菜のニシン漬）
(森ら)



チャバネアオカメムシ *Plautia stali* 成虫
(三代)



カメムシを採集した寄主植物（クサギ）
(三代)



トマト圃場での拮抗細菌の探索収集
(ネパール、パスカル)
(堀田・相野)



拮抗細菌の抗菌作用により形成されたホウレン
ソウ萎ちよう病菌の生育阻止帯
(堀田・相野)