

ISSN 0915-2830

平成 14 年度

微生物遺伝資源探索収集調査報告書

第 16 卷

2004. 3

農業生物資源研究所

とりまとめ

独立行政法人
農業生物資源研究所
ジーンバンク
微生物資源研究チーム
佐藤 豊三・永井 利郎
富岡 啓介・竹内 香純
TEL 029-838-7053

微生物の探索収集プロフィール



キクの立枯症状（築尾）



長野県塩尻市のダイズシストセンチュウ発生圃場
（相場・水久保・伊藤）



沖縄本島で見られた葉白症状を呈する
サトウキビ（対馬）



箱入り麴（柏木）



麴製品（柏木）



サトウキビ白すじ病（ペンシルライン）
（対馬）



漬物の路上販売（稲津）

ま え が き

わが国の農林水産業・食品産業のさらなる発展を図るためには、新品種の育成やバイオテクノロジー等先端技術の利活用が不可欠であり、それらを支える生物遺伝資源の確保および利用等の知的基盤の整備が益々重要であることが「科学技術基本計画」の中で示されている。また国際的にも、品種の均一化、熱帯林の減少等により、貴重な生物遺伝資源が急速に減失してしまう恐れがあり、それらの保全と利用が重大な関心事となっている。1993年の「生物多様性条約」発効後、生物遺伝資源を巡る国際的な潮流は、「人類共通の財産」から「原産国の主権的権利」を大きく認める考え方に変化し、我が国も本条約に従いつつ国際的協力関係を一層発展させながら、生物遺伝資源の収集と保全に努める必要が生じている。

特に微生物遺伝資源については、OECD（経済協力開発機構）においてBRC（生物資源センター）構想が具体的に動き出している。そこではBRCの国際的な認証基準と認証制度の立案等が検討されていることを踏まえると、わが国においても農業生物遺伝資源の品質向上や効率的保存等に関連した、生物遺伝資源研究の一層の充実に取り組むことが重要である。

1985年に開始した農林水産ジーンバンク事業は、2001年から独立行政法人農業生物資源研究所が中心となって事業の運営にあたることになった。植物、微生物、動物、DNAの農業生物遺伝資源について、全国の農業試験研究機関、種苗管理センター、家畜改良センター等の機能と立地条件を生かし、これらの機関との有機的、組織的連携協力の下に実施している。そして、国内のみならず国際的協力関係を基に海外の生物遺伝資源の探索導入および保存を行い、それらの特性を調査・評価してデータベース化し、生物遺伝資源およびその情報を国公立試験研究機関、民間、大学等に広く提供している。

本報告書は、平成14年度事業の一環として実施された「南九州におけるイネ科植物内生性窒素固定細菌の収集と評価」、「長野、群馬、新潟県におけるダイズシストセンチュウ並びにネコブセンチュウの収集」、「富山県におけるキク立枯性病害の収集と特性評価」、「サトウキビ白すじ病菌の探索・収集」、「北東北地域における発酵関連糸状菌の探索収集」および「冬期ベトナム北部における野菜発酵食品由来微生物の収集と特性評価」の結果をとりまとめたものである。本報告書を今後の生物遺伝資源を利用した試験研究、技術指導、事業の円滑な推進等に役立てていただければ幸いである。

平成16年3月

独立行政法人 農業生物資源研究所
基盤研究推進官 小 畑 太 郎

目 次

まえがき

基盤研究推進官 小畑太郎

I. 国内探索収集報告

1. 南九州におけるイネ科植物内生性窒素固定細菌の収集と評価…………… 1
国際農林水産業研究センター 畜産草地部
安藤康雄
2. 長野、群馬、新潟県におけるダイズシストセンチュウ並びにネコブセンチュウの収集…………… 6
中央農業総合研究センター 虫害防除部 線虫害研究室
相場 聡・水久保隆之・伊藤賢治
3. 富山県におけるキク立枯れ性病害の収集と特性評価…………… 12
花き研究所 生産利用部 病害制御研究室
築尾嘉章
4. サトウキビ白すじ病菌の探索・収集…………… 16
農業環境技術研究所 農業環境インベントリーセンター 微生物分類研究室
對馬誠也
5. 北東北地域における発酵関連糸状菌の探索収集…………… 22
食品総合研究所 応用微生物部 糸状菌研究室
柏木 豊

II. 海外探索収集報告

1. 冬期ベトナム北部における野菜発酵食品由来微生物の収集と特性評価…………… 27
食品総合研究所 企画調整部 食品衛生対策チーム
稲津康弘

III. これまでの探索収集実績…………… 35

Annual Report on Exploration and Introduction of Microbial Genetic Resources

Vol. 16

(April 2002 – March 2003)

Contents

Preface

Taro OBATA

Director of Genome and Biodiversity Research

I . Reports on Explora tion in Japan

1. Collection of Endophytic Nitrogen-fixing Bacteria from Gramineous Plants in South Kyusyu, Japan1
Yasuo ANDO
Animal Production and Grassland Division,
Japan Research Center for Agricultural Sciences
2. Collection of Soybean Cyst Nematode (*Heterodera glycines*) and Southern Root-knot Nematode (*Meloidogyne incognita*) in Gunma, Nagano and Niigata Prefectures in Japan 6
Satoshi AIBA, Takayuki MIZUKUBO and Kenji ITOU
Nematology Laboratory, Department of Entomology and Nematology,
National Agricultural Research Center
3. Survey and Collection of Fungi Pathogenic to Chrysanthemum in Toyama Prefecture12
Yoshiaki CHIKUO
Laboratory of Plant Pathology, Department of Production,
National Institute of Floricultural Science
4. Collection of the Pathogenic Bacteria of Sugarcane Leaf Scald in Japan16
Seiya TSUSHIMA
Microbial Systematics, National Resource Inventory Center,
National Institute of Agro-Environmental Sciences
5. Collection of Fungus from Fermented Food in North Tohoku Area, Japan22
Yutaka KASHIWAGI
Applied Mycology Laboratory, Applied Microbiology Division,
National Food Research Institute

II . Reports on Exploration in Foreign Countries

1. Survey and Collection of Fermenting Bacteria from Lightly Fermented Vegetable Sold in North Vietnam in Winter Season27
Yasuhiro INATSU
Food Hygiene Team, Research Planning and Coordination Division,
National Food Research Institute

III. Past Records35

I . 国内探索収集報告

I . Reports on Exploration in Japan

南九州におけるイネ科植物内生性窒素固定細菌の収集と評価

国際農林水産業研究センター 畜産草地部
安藤康雄

Collection of Endophytic Nitrogen-fixing Bacteria from Gramineous Plants in South Kyusyu, Japan

Yasuo ANDO

Animal Production and Grassland Division,
Japan Research Center for Agricultural Sciences
Ohwashi 1-1, Tsukuba, Ibaraki 305-8686, Japan

1. 目的

健全なイネ科植物体内にも種々の微生物が宿主に病徴を示すことなく共生的に感染し、中には宿主の生育を手助けしているものがある。これらの微生物を制御し利用することができれば、イネ科作物の生産性を上げることができると考えられる。

これまでに多数のイネ科植物において植物内生性（エンドファイティックな）窒素固定細菌の感染を確認している。この中で北九州地域で各種イネ科植物を採集し窒素固定細菌の感染状況および分離同定を行ってきたが、南九州においては未検討であった。そこで、この地域でイネ科植物を採集して、窒素固定細菌を分離・同定、および窒素固定能の評価を行った。

2. 探索概要

2002年9月1日から5日の5日間にわたって、宮崎県および鹿児島県においてイネ科植物の採集を行った（表1、図1）。収集した植物体は、冷蔵した状態で持ち帰り分離源とした。

3. 収集成果

1) 細菌の分離

採集した各種イネ科植物の地際茎と根を70%エタノールと次亜塩素酸ナトリウム溶液を用いて表面殺菌後に植物組織を細かく裁断し、そのまま改変 Rennie 半流動培地¹⁾に接種した（直接浸せき法）。各植物の茎では10本、根では5本の培地を使用した。28℃で4～5日間培養後に容器内空

気容積の10%相当をアセチレンと交換し、さらに一定時間培養を続け、ガスクロマトグラフィーでエチレン濃度を測定してアセチレン還元能を調べた²⁾。アセチレン注入後7日後まで活性を調べた。陽性を示したチューブより改変 Rennie 平板培地を用いて窒素固定細菌を分離した。

26種類の試料のうち、茎では12種類で、根では21種類でアセチレン還元活性があった(表2)。それらの陽性チューブから窒素固定能(アセチレン還元能)をもつ細菌を茎から54株、根から175株、合計229株を分離した(表2)。

表1 探索・収集日程表

年月日		行 程	行 動 内 容
2002年9月	1日	つくば市→羽田→国分市	移動(陸路, 空路)
	2日	国分市→都城市→大隅町→鹿屋市→桜島町	探索収集
	3日	桜島町→輝北町→国分市→始良町→蒲生町 →伊集院町→串木野市	探索収集
	4日	東市来町→日吉町→吹上町→鹿児島市 →樋脇町→川内市	探索収集
	5日	川内市→国分市→羽田→つくば	移動(陸路, 空路)

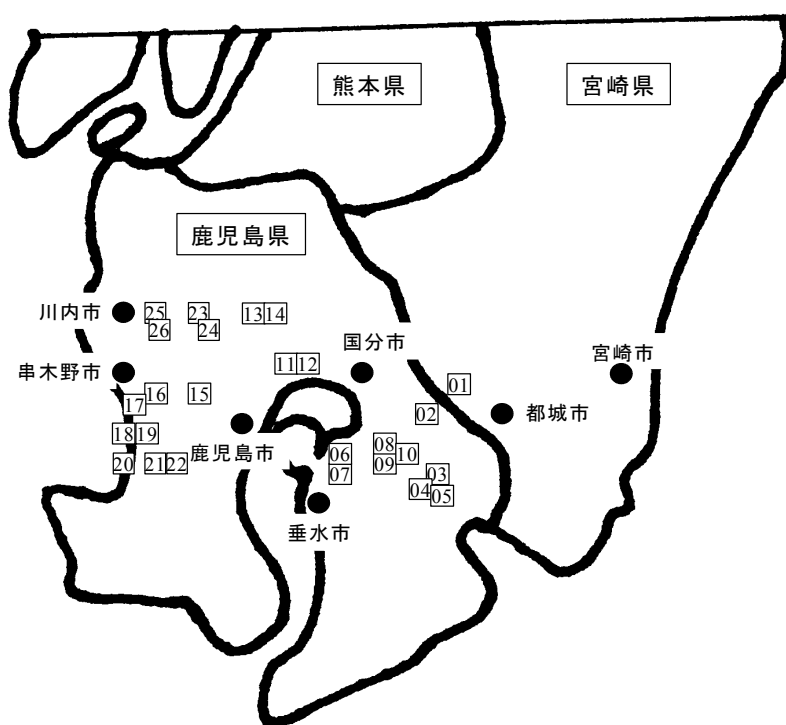


図1 探索収集地点

2) 分離細菌の系統解析

分離株のうち16菌株について16S rDNAの部分塩基配列を決定し、この配列をもとにBLAST検索を行った。その結果、3株が *Azospirillum* 属, 1株が *Azorhizobium* 属, 3株が *Herbaspirillum* 属, 6株が *Klebsiella* 属, 3株が *Pantoea* 属に属していると考えられた(表3)。

表2 収集植物とそれらのアセチレン還元活性（ARA）の陽性率と分離菌株数

植物名	採集地	採集月日 (2002年)	チューブでの ARA陽性率 (%)		分離菌株数	
			茎	根	茎	根
アキノエノコログサ(01)	宮崎県都城市関之町大倉田	9月2日	40	100	11	15
アキノエノコログサ(22)	鹿児島県吹上町藤元	9月4日	0	40	0	7
アキノエノコログサ(25)	鹿児島県川内市吉野山	9月4日	0	60	0	3
キンエノコロ(05)	鹿児島県大隅町土成	9月2日	20	60	6	2
キンエノコロ(13)	鹿児島県蒲生町広水	9月3日	0	80	0	1
オヒシバ(03)	鹿児島県大隅町土成	9月2日	10	100	4	5
オヒシバ(20)	鹿児島県吹上町吹上浜	9月4日	0	40	0	0
オヒシバ(26)	鹿児島県川内市天辰町	9月4日	0	80	0	9
ススキ(04)	鹿児島県大隅町土成	9月2日	0	20	0	2
ススキ(07)	鹿児島県垂水市上ノ原	9月3日	20	80	4	13
ススキ(10)	鹿児島県輝北町仏山	9月3日	0	40	0	0
ススキ(12)	鹿児島県始良町木場	9月3日	10	0	2	0
ススキ(23)	鹿児島県樋脇町市比野	9月4日	0	0	0	0
セイバンモロコシ(16)	鹿児島県東市来町坂之上下	9月4日	10	80	4	9
タチスズメノヒエ(02)	鹿児島県財部町宇部	9月2日	10	100	2	15
タチスズメノヒエ(06)	鹿児島県垂水市上ノ原	9月3日	10	100	3	15
タチスズメノヒエ(14)	鹿児島県蒲生町広水	9月3日	10	100	0	16
タチスズメノヒエ(18)	鹿児島県日吉町天神ヶ尾海水浴場	9月4日	20	80	9	25
トダシバ(08)	鹿児島県輝北町仏山	9月3日	0	0	0	0
ネズミノオ(21)	鹿児島県吹上町藤元	9月4日	0	80	0	19
ハイキビ(15)	鹿児島県伊集院町下神殿	9月3日	0	0	0	0
ハイキビ(19)	鹿児島県日吉町天神ヶ尾海水浴場	9月4日	0	0	0	0
メヒシバ(11)	鹿児島県始良町木場	9月3日	20	60	5	10
メヒシバ(17)	鹿児島県東市来町江口	9月4日	0	60	0	6
メヒシバ(24)	鹿児島県樋脇町市比野	9月4日	10	20	4	0
メリケンカルカヤ(09)	鹿児島県輝北町仏山	9月3日	0	40	0	3

表3. 分離菌株の16S rDNAの部分塩基配列に基づく系統解析の結果

分離菌株番号	学 名	相同性 (%)	分離源	
			植物名	部位
2002R0501	<i>Azospirillum</i> sp.	98.6	タチスズメノヒエ	根
2007R0401	<i>Azospirillum</i> sp.	99.1	ススキ	根
2022R0501	<i>Azospirillum</i> sp.	99.8	アキノエノコログサ	根
2005S0901	<i>Azorhizobium</i> sp.	97.4	キンエノコロ	茎
2011S0901	<i>Herbaspirillum</i> sp.	99.6	メヒシバ	茎
2011R0501	<i>Herbaspirillum</i> sp.	99.4	メヒシバ	根
2024S0902	<i>Herbaspirillum</i> sp.	99.2	メヒシバ	茎
2001S0101	<i>Klebsiella</i> sp.	100	アキノエノコログサ	茎
2001S0806	<i>Klebsiella</i> sp.	100	アキノエノコログサ	茎
2001R0201	<i>Klebsiella</i> sp.	100	アキノエノコログサ	根
2002S0701	<i>Klebsiella</i> sp.	100	タチスズメノヒエ	茎
2016R0401	<i>Klebsiella</i> sp.	100	セイバンモロコシ	根
2016R0511	<i>Klebsiella</i> sp.	100	セイバンモロコシ	根
2006R0306	<i>Pantoea</i> sp.	97.7	タチスズメノヒエ	根
2026R0201	<i>Pantoea</i> sp.	98.4	オヒシバ	根
2026R0501	<i>Pantoea</i> sp.	98.6	オヒシバ	根

4. 所感

本探索では、南九州地域において各種イネ科植物に感染している窒素固定細菌の分離を行った。サンプル数が必ずしも十分ではないが、植物種によってアセチレン還元能に差異が見られ、各植物種が本来的にもつ窒素固定細菌との親和性の程度を示すものかどうか興味あるところであり、今後の接種試験が必要とされる。また、分離細菌の同定がかなり残されているので、今後さらに検討を進める。

5. 参考文献

- 1) Elbeltagy, A., Sato, T., Nishioka, K., Suzuki, H., Ye, B., Hamada, T., Isawa, T., Mitsui, H. and Minamisawa, K. (2001). Endophytic colonization and in planta nitrogen fixation by a *Herbaspirillum* sp. isolated from wild rice species. Appl. Environ. Microbiol. 67: 5285-5293.
- 2) 浅沼修一 (1992). 新編土壌微生物実験法 (土壌微生物研究会編) . pp. 224-230. 養賢堂, 東京.

Summary

Twenty-six gramineous plants were collected in South Kyushu, Miyazaki and Kagoshima prefectures in September 1-5, 2002. Stems and roots of these samples after sterilization were separately inoculated to a modified Rennie medium, and these cultures were examined by acetylene reduction assay (ARA). From ARA-positive tubes, 229 bacteria were isolated. Sixteen strains were subjected to 16S ribosomal DNA (rDNA) sequencing for homology analysis. Three, one, three, six and three strains showed high homology to the genus *Azospirillum*, the genus *Azorhizobium*, the genus *Herbaspirillum*, the genus *Klebsiella* and the genus *Pantoea*, respectively.

長野, 群馬, 新潟県におけるダイズシストセンチュウ並びに ネコブセンチュウの収集

中央農業総合研究センター 虫害防除部 線虫害研究室

相場 聡・水久保隆之・伊藤賢治

Collection of Soybean Cyst Nematode (*Heterodera glycines*) and Southern Root-knot Nematode (*Meloidogyne incognita*) in Gunma, Nagano and Niigata Prefectures in Japan

Satoshi AIBA, Takayuki MIZUKUBO and Kenji ITOU

Nematology Laboratory, Department of Entomology and Nematology,

National Agricultural Research Center

Kannondai 3-1-1, Tsukuba, Ibaraki 305-8666, Japan

1. 目的

ダイズは我が国の畑地における重要な基幹作物であり、特に近年、米の生産調整が進む中、高収益水田営農の確立のための主要作物として重要な地位を占めている。このダイズに対する重要害虫として知られるダイズシストセンチュウは、世界的に見てもダイズ栽培における最も大きな障害要因となっている植物寄生性線虫である。我が国でも古くからその被害が問題となっていたが、近年のダイズ栽培の広がりに伴って、新たな被害の発生が見られるようになり、その対策が求められている。

本線虫の防除は非常に困難である。最も有効な方法は農薬を用いた化学的防除法であるが、比較的高価な殺線虫剤の利用は収益性の面で難しく、あまり普及していない。そのため、本線虫対策は輪作などの耕種的防除法が中心となっている。特に抵抗性品種の利用は極めて有効な防除法である。しかし、本線虫においては異なる寄生性を有するレースの存在が知られており、レースによって有効な抵抗性品種が異なる。そのため、その圃場で発生しているレースを把握することが抵抗性品種利用のためには必要不可欠となっている。また、抵抗性品種の連作によって、その抵抗性を打破して寄生する系統が出現することも報告されており、本線虫対策のためにその発生状況と発生している個体群の特性調査は極めて重要である。

ダイズシストセンチュウの発生状況とその特性調査については、最も被害の大きい北海道において詳細な報告があるが、それ以外の地域については綿密に調べた報告は少なく、ほとんどが発生地

の 1、2 個体群についてレースの検定が行われているに過ぎない。そのため、筆者らは関東・北陸地域を中心にダイズ圃場から土壌のサンプリングを行い、そこからダイズシストセンチュウの分離を試みており、今回長野県および群馬県についても調査を行うこととした。

一方、ネコブセンチュウは極めて寄主範囲が広く、わが国のみならず世界的にも畑作及び施設園芸で最も重要な有害線虫である。水田作が中心である日本海側の地域では、その発生はみられるものの、畑作の比重が小さいため個体群の収集と特性の評価はほとんど行われていなかった。そこで、新潟県の水田転作施設のトマトに発生しているネコブセンチュウを収集するとともにそのアイソザイム特性を評価して種を同定することとした。

2. 探索概要

1) ダイズシストセンチュウ

土壌の採集は 2002 年 10 月 21～22 日に群馬県、10 月 23～25 日に長野県で行った（表 1）。群馬県では前橋市を中心とした 13 カ所、長野県では長野市から伊那市にかけて 23 カ所のダイズ栽培圃場で土壌のサンプリングを行った（図 1）。採集は 1 圃場 6 地点約 2 kg の土壌を収集し、それを混和した。採集した土壌はポリエチレン袋にて中央農研に持ち帰った。

表 1. ダイズシストセンチュウの探索・収集日程

年月日	行 程	行動内容
H14.10.21	つくば市→前橋市	陸路 前橋市近郊圃場探索・収集
22	前橋市→長野市	前橋市近郊圃場探索・収集 陸路
23	長野市→上田市→四賀村→塩尻市	長野県北部圃場探索・収集
24	塩尻市→松本市→豊科町→穂高町→堀金村→池田町→大町市→松川町→小川村→中条町→塩尻市	長野県中部圃場探索・収集
25	塩尻市→伊那市→つくば市	長野県南部圃場探索・収集 陸路



図 1. 長野県塩尻市のダイズシストセンチュウ発生圃場

2) ネコブセンチュウ

新潟県における土壌採集は 2002 年 11 月 13 日に行った（表 2）。北蒲原郡加治川村の水田転作施設トマト栽培跡地で土壌及びネコブセンチュウ被害根を採集した。

表 2. ネコブセンチュウの探索・収集日程

年月日	行 程	行 動 内 容
H14.11.12	つくば市→新潟県中之島町	陸路 中之島町大口のレンコン圃場の線虫探索・収集
	中之島町大口→新潟市	滞在
13	新潟市→北蒲原郡加治川村	北蒲原郡加治川村のトマト栽培農家のハウスで探索・収集
	北蒲原郡加治川村→つくば市	陸路

3. 収集の成果

1) 方法

(1) シストの分離

採集した土壌は室内で 1 週間風乾した後、乾土 50 g を 3 リットルのプラスチックビーカーに入れ、水道水を注いで浮遊したシストを残渣と共に篩で集めてろ紙に取り、それを実体顕微鏡下で直接観察してシストを採集した。その後、シストを磨砕して内部の卵を取り出し計数した。1 サンプルにつき 3 反復行った。

(2) ダイズシストセンチュウのレース検定

レースの検定は国際判別法に基づいて行った²⁾。感受性品種「Lee68」と 4 種類の抵抗性品種、すなわち「Pickett」、「Peking」、「PI88788」および「PI90763」を温室内の直径 9 cm のポリエチレンポットで栽培し、それぞれにダイズシストセンチュウを卵幼虫懸濁液で接種した。接種 60 日後にポット内の全シストを分離・計数した。ポット内のシスト数を感受性品種を 100 とした指数で表して、10 未満を一、10 以上を＋と判定し、レース判別表よりレースを求めた。

(3) ネコブセンチュウの分離とタンパク質の泳動

被害根を実体顕微鏡 (×10) で観察しながら新鮮な卵嚢が着いた根瘤を目安に若い雌成虫を探し、ピンセットで摘出した。摘出された雌線虫 10 頭はマイクロ遠心チューブの抽出液 (20% sucrose, 2% Triton X-100) 60 µl 中に移した。ヒスコトロン (回転ホモジナイザー) によって雌を破砕したのち、4℃で遠心 (15,000rpm、15 分間) し、脂質と沈殿を除去した。上清は泳動するまでの期間 -20℃に保存した。泳動には濃度 7% に調整された既製ポリアクリルアミドゲル (ATTO PAGEL) を用い、泳動緩衝液は 0.05M Tris-0.38M glycine buffer pH 8.3 とした。検出するアイソザイムはエステラーゼとリンゴ酸脱水素酵素の 2 種類とし、それぞれの染色液を用いて活性染色を行った¹⁾。

2) 結果

(1) ダイズシストセンチュウの発生状況

群馬県では調査した 13 サンプル中 7 サンプルから、長野県では 23 サンプル中 11 サンプルから、それぞれダイズシストセンチュウが検出された。そのうち乾土 1 g 当たりの卵密度が 100 を超えた高密度圃場は長野県塩尻市の 2 地点、10 以上 100 未満の中程度の密度圃場は長野県 7 地点、群馬県 2 地点であり、それ以外の圃場は 10 未満の低密度であった（表 3）。なお、今回得られた 18 個体群中、この段階で増殖し、系統を維持するのに必要十分な個体数があると判断された 3 個体群をジーンバンクに登録した。残りの系統は現在増殖中のため、十分な個体数が得られた段階で登録する予定である。

表3. 探索収集したサンプル土壌からのダイズシストセンチュウ分離結果

サンプル番号	採集地	卵密度	レース	MAFF番号
G-1	群馬県前橋市	27.9		
G-2	群馬県前橋市	9.2		
G-3	群馬県前橋市	11.6		
G-4	群馬県前橋市	5.5		
G-5	群馬県前橋市	0		
G-6	群馬県前橋市	5		
G-7	群馬県前橋市	0		
G-8	群馬県前橋市	0.5		
G-9	群馬県前橋市	0		
G-10	群馬県前橋市	1.6		
G-11	群馬県富士見村	0		
G-12	群馬県渋川市	0		
G-13	群馬県渋川市	0		
N-1	長野県長野市	0		
N-2	長野県長野市	52		
N-3	長野県長野市	44.8		
N-4	長野県上田市	0		
N-5	長野県上田市	16.3		
N-6	長野県上田市	0		
N-7	長野県四賀村	0		
N-8	長野県塩尻市	0		
N-9	長野県塩尻市	367.2	3	108265
N-10	長野県塩尻市	46.4	3	108266
N-11	長野県塩尻市	232.8	3	108267
N-12	長野県塩尻市	16.5		
N-13	長野県松本市	0		
N-14	長野県松本市	0		
N-15	長野県豊科町	0		
N-16	長野県穂高町	13.2		
N-17	長野県堀金村	0		
N-18	長野県池田町	0		
N-19	長野県松川町	0		
N-20	長野県大町市	0.1		
N-21	長野県小川市	0		
N-22	長野県中条村	0.1		
N-23	長野県伊那市	20.5		

* 分離源はいずれもダイズ根
卵密度は乾土 1 g 当たりの卵数

(2) ダイズシストセンチュウのレース

長野県の高密度圃場 2 地点についてレース検定を行った結果、いずれも抵抗性品種への寄生力は弱く、レース 3 と判定された (表 2)。なお、これ以外のサンプルについては、検定に十分な個体数が得られなかったため、今回レースの判別は行わなかった。温室内で 2~3 世代の増殖後に検定を行う予定である。

(3) ネコブセンチュウの種の同定

検出されたエステラーゼとリンゴ酸脱水素酵素のアイソザイム型は、エステラーゼのバンドが 2 番、リンゴ酸脱水素酵素のバンドが 1 番であった (図 2)。このことから、本株のアイソザイム型はサツマイモネコブセンチュウ (*Meloidogyne incognita*) の I1 型と判定された。採集地のトマトは線虫抵抗性を有する台木用品種「がんばる根」に接ぎ木されたものであったことから、本株がトマトの線虫抵抗性遺伝子 Mi を打破する系統であることは自明であった。なお、本株の登録 MAFF 番号は 108258 である。

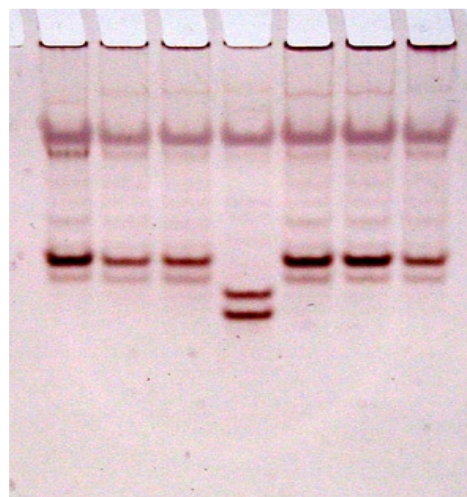


図 2. ネコブセンチュウのエステラーゼとリンゴ酸脱水素酵素のアイソザイム型
右端が新潟がんばる根

4. 所感

今回の探索では群馬県で過半数、長野県でも半数近くの圃場からダイズシストセンチュウが検出され、近年のダイズ栽培の拡大に伴って本線虫の分布も拡大していると考えられた。それらの線虫について比較的広範囲にわたって個体群の採集ができ、今後の抵抗性ダイズ品種導入のためにも有益であった。

個体数が多く、レース検定が可能だった 3 サンプルについては、いずれもレース 3 と判別された。これはかつての報告結果と合致している⁴⁾。他のサンプルについては、現在増殖中である。群馬県の個体群についてもレース 3 という報告があるが³⁾、既に北海道においては従来の抵抗性品種に寄生可能な個体群の発生が報告されており⁵⁾、今後、レース 3 とは異なる新たな寄生性を持った個体群の発生に着目した調査が重要であると考えられる。

サツマイモネコブセンチュウの被害 (生育阻害、大幅な減収、急性萎ちょう、枯死) は施設園芸のウリ科、ナス科作物を中心に広く認められている。果菜類中最も生産量が多く、産地化による栽培地の固定が著しい施設トマトではその被害は特に深刻である。トマトの線虫抵抗性品種は全て同一の遺伝子 Mi を持っているが、本遺伝子を打破する系統が大産地を中心に蔓延し、産地ではトマトの線虫抵抗性品種 (抵抗性台木) はほぼ無効化している。今回の調査により新潟県の施設トマトでも線虫抵抗性を打破するサツマイモネコブセンチュウの系統が発生していることが明らかになった。今後もこの線虫抵抗性打破系統の分布実態の解明を進める必要がある。

5. 謝辞

本調査の調査地点の選考並びに探索地へのご同行には群馬県農業技術センターの千本木市夫氏、宍田幸男氏、藍沢亨氏、長野県中信農業試験場の山田直弘氏、新潟県農業総合研究所園芸研究センターの松澤清二郎主任研究員、新潟県北蒲原農業改良普及センターの松枝直実技師に多大なご支援とご協力をいただいた。ここに記して深く感謝の意を表する。

6. 参考文献

- 1) Esbenshade, P.R. and Triantaphyllou, A.C. (1985). Use of enzyme phenotypes for identification of *Meloidogyne* species (Nematoda: Tylenchida). J. Nematol. 17: 6-20.
- 2) Golden, A.M., Epps, R.D., Duclos, L.A., Fox, J.A. and Bernard, R.L. (1970). Terminology and indentify of infraspecific forms of the soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*). Plant Dis. Repr. 54: 544-546.
- 3) 稲垣春郎・百田洋二・清水啓 (1981). 埼玉、茨城、群馬、千葉のダイズシストセンチュウのレース. 関東東山病害虫研究会年報 28: 130.
- 4) 百田洋二・後藤昭・大島康臣 (1985). 秋田、岩手、長野、山梨、静岡、岡山のダイズシストセンチュウのレース. 関東東山病害虫研究会年報 32: 226.
- 5) 清水啓・三井康 (1985). 十勝地方におけるダイズシストセンチュウのレースと分布. 北海道農業試験場研報 141: 65-72.

Summary

In order to sample soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*), 13 and 24 soybean fields were surveyed in Gunma and Nagano Prefectures, respectively in October 2002. Soybean cyst nematode was detected from 18 fields (seven fields in Gunma and 11 fields in Nagano). The densities of cyst nematode were generally moderate or low, excepting two fields in Nagano, where the egg-densities per 1 g dried-soil were as high as 100 or more. Three isolates from Nagano that successfully established were examined to be race 3 according to the international race differentiation method for soybean cyst nematode. A root-knot nematode (*Meloidogyne* sp.) isolate was collected from tomato-roots at Kajikawa village, Kitakanbara, Niigata Prefecture in November 2002. The esterase and malate dehydrogenase bands after electrophoresis showed the characteristic of isozyme phenotype 'I1' of *Meloidogyne incognita* for the Niigata isolate. Isolates were deposited at the Genebank, National Institute of Agrobiological Sciences, Japan (Accession No.: MAFF 108265, MAFF 108266, MAFF 108267 and MAFF 108258).

富山県におけるキク立枯れ性病害の収集と特性評価

花き研究所 生産利用部 病害制御研究室

築尾嘉章

Survey and Collection of Fungi Pathogenic to Chrysanthemum in Toyama Prefecture

Yoshiaki CHIKUO

Laboratory of Plant Pathology, Department of Production,

National Institute of Floricultural Science

Fujimoto2-1, Tsukuba, Ibaraki 305-8519, Japan

1. 目的

キクの立枯れ性病害としてはこれまで日本植物病名目録には糸状菌病害として立枯病(*Rhizoctonia solani*)、萎凋病 (*Fusarium oxysporum*)、疫病 (*Phytophthora cactorum*)、白絹病 (*Sclerotium rolfsii*)、炭腐病 (*Macrophomina phaseolina*) 等が記録されている。これらのうち標徴の現れる白絹病や炭腐病以外の病害は、外観からの病原菌の診断は困難である。また近年、上記以外の病原菌によると思われる立枯れ性病害が発生していると思われる。そこで露地キクの多い産地で立枯れ性病害の収集を行い、そこから病原と思われる菌類を分類・同定し、今後の立枯れ性病害診断の判断材料とする。

2. 探索概要

分離源の採集・調査は2002年11月26日に富山県大沢野町の小菊産地6カ所で行った。

表 1 探索・収集日程表

年月日	行 程	行 動 内 容
2002年 11月 25日	つくば市→富山市	移動（陸路）
26日	富山市→大沢野町→富山市→つくば市	探索収集

1) 方法

(1) 罹病植物からの分離は以下の方法によった。罹病植物の褐変・腐敗部と健全部の境界付近を切り出し、水洗後 70%エタノール液のみで 30 秒～2 分（組織の大きさによって可変）表面殺菌後、殺菌水に移し、濾紙で水分を取った後、乳酸酸性素寒天平板培地（WA）及び蔗糖加用ジャガイモ煎汁寒天（PSA）へ置床した。培地は 25℃で数日培養し、適宜伸び出してきた菌糸片を寒天ごと切り出し、V8 ジュース寒天培地または PSA に移植し、光学顕微鏡によって形態観察した。

(2) 病原性の確認

接種用のキクは親株床から採取した挿し穂を育苗後（「秀芳の力」または「セイローザ」）を径 9 cm のポットに定植し、定植 1 ヶ月以上の苗に対し、該当菌の土壌ふすま培地で培養した菌を含む土壌を株元に配置した（無傷接種）。接種後 1～2 日は腰水状態で管理し、その後は落水して過湿状態に保った。1 週間後に発病調査を行い、根や茎の褐変部については病原菌の再分離を行った。

3. 収集体果

採集地点とその内容は表 2 に示した。これ以外に 2 カ所調査を行ったが立枯症状の発生がなかったため、採集は行わなかった。調査した 4 カ所の内、2 カ所から *Pythium* 属菌 19 菌株、*Rhizoctonia* 属菌 10 菌株、*Fusarium* 属菌 12 菌株の計 41 菌株を分離した。このうち *Pythium* 属菌には複数種が含まれ、培養性質から 3 種類（Ⅰ：V8 培地上で星状の菌叢を示し、表面平滑な卵胞子を豊富に形成、3 菌株：図 3、Ⅱ：卵胞子形成がみられず、レモン状の間生胞子のうを形成、11 菌株、Ⅲ：菌叢の形状に特徴がなく、卵胞子を形成、5 菌株）に仮類別した。接種試験はそれぞれの代表菌株 3 種を供試した。また *Rhizoctonia* 属菌は培養菌そうの形態から菌糸融合群 2 群 1 型とそれ以外と考えられた。*Pythium* 属菌と *Rhizoctonia* 属菌については接種試験を行い、病原性を確認した。その結果、*Pythium* 属菌の一種（Ⅰ）は病原性が確認され（図 4）、罹病部から病原菌が再分離された。しかしⅡ、Ⅲ菌は症状は再現できたが再分離はできなかった。*Rhizoctonia* 属菌も病原性が確認され、接種菌が回収された。

表 2. キク立枯症状株の採集と分離された糸状菌（富山県大沢野町）

地点	圃場種別	品種	状態	分離された糸状菌	病原性
A	ハウス	寒小若秋しぐれ	葉縁の黄化・根はあまり褐変せず（要素欠乏症的）	<i>Alternaria</i> 属菌	試験せず
B	露地	いのこ	地際部褐変・地上部赤変（排水不良地）	茎： <i>Pythium</i> 属菌 褐変側根： <i>Pythium</i> , <i>Rhizoctonia</i>	<i>Pythium</i> +, <i>Rhizoctonia</i> +
C	ハウス	不明	根の黒変・活着不良（定植直後の立枯症状）	<i>Fusarium</i> 属菌ほか	試験未了
D	ハウス	複数親株株床	地上部萎凋・根は褐変他に黒さび病発生	<i>Pythium</i> 属菌	<i>Pythium</i> +



図 1. 圃場 B での立枯症状



図 2. 同左株の根部



図 3. キク立枯症状を起因する *Pythium* 属菌の卵胞子



図 4. 接種試験による病徴の再現

4. 所感

キク立枯病は *Rhizoctonia solani* 培養型ⅢA 及びⅢB とされるが、*Pythium* 属菌も立枯症状に関与することが明らかになった。また上記報告以外の *Rhizoctonia solani* もキク立枯症状に関与することが明らかになったことが今回の成果と思われる。*Fusarium* 属菌の病原性については今後検討する予定である。

現地の調査では富山県農林水産部技術推進課佐藤克枝専門技術員、富山農業改良普及センター谷口操枝氏らの多大な援助を得た。ここに記して感謝の意を表す。

Summary

Diseased chrysanthemum plants (*Dendranthema grandiflorum*) were collected in Toyama prefecture in October 2002 to survey blight diseases. *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp. and *Fusarium* spp. were recovered from diseased stems or roots. Some of the *Pythium* and *Rhizoctonia* isolates found pathogenic to chrysanthemum. There was no records *Pythium* could attack chrysanthemum except *P. aphanidermatum* in Japan so far.

サトウキビ白すじ病菌の探索・収集

農業環境技術研究所 農業環境インベントリーセンター

微生物分類研究室

對馬誠也

Collection of the Pathogenic Bacteria of Sugarcane Leaf Scald in Japan

Seiya TSUSHIMA

Microbial Systematics, National Resource Inventory Center,

National Institute of Agro-Environmental Sciences

Kannonandai 3-1-3, Tsukuba, Ibaraki 305-8604, Japan

1. 目的

沖縄県では、すでに 1429 年には、中国南部から伝わったサトウキビを栽培し、生で食べ、煮て砂糖を作っていたとの記録が残されている。サトウキビの収穫面積は、昭和 55 年には 21,800ha に増加し（宮里、1975）、現在、沖縄県の重要な基幹作物になっている。こうした中で、独立行政法人種苗管理センターからサトウキビの葉身や葉鞘が白化する原因の解明について依頼を受けた。サトウキビでとくに葉身・葉鞘の退緑や白化を起こす病害としては、国内でモザイク病や白葉病、白すじ病、わい化病などが報告されているため（岸編,1998）、それらの情報に基づき、送付された白化症状の葉身や葉鞘から分離を試みた。その結果、ごく一部の白化葉から細菌の噴出が確認され、その部位から白すじ病菌 [*Xanthomonas albineans* (Ashby 1929) Dowson] と思われる細菌が得られた。しかし、その後、さらに確認のため送付された白化した葉身や葉鞘などのサンプルから病原菌の分離を試みたが、細菌の噴出が無いものが多く、これらの白化したサトウキビの葉身等が全て白すじ病菌によるものかどうかを特定することはできなかった。また、得られた菌株を供試した接種試験による病徴の再現も困難であった。しかし、このように分離や接種による再現が難しいことは、これまで報告されている白すじ病の特徴に適合していること（Ricaud, 1989）から、種苗管理センターでは、少なくとも白化した葉や葉鞘の一部は白すじ病菌によって引き起こされている可能性が高いと判断し、現在、著者らと共同で現場で有効な簡易診断法の確立に向けた研究を行っている。こうした状況から、今後、本病の簡易診断法等を開発する上で、各種病原菌との比較を行うため、国内の本病原細菌を収集・保存することが重要と考えられた。本病原細菌に関しては、これ

までジーンバンク登録されていないことから、とくに今回は沖縄県を中心に本病原菌を探索・収集することにした。

2. 探索概要

2002年12月9日から13日の5日間にわたって、宮古島全域、沖縄本島では沖縄県東村、名護市を中心に沖縄本島全域において葉身や葉鞘等が白化した株や、株全体がわい化して白化したサトウキビを採集した（表1、図1）。収集した植物体は、冷蔵した状態で持ち帰り分離源とした。

表1. 探索・収集日程

年月日	行程	行動内容
H14.12.9	つくば市 平良市	移動（空路）
10	平良市および島全体	宮古島内一般圃場を探索
11	平良市 那覇市	移動（空路）
12	那覇市 玉城村 知念村 名護市 東村	那覇市等一般圃場を探索 種苗管理センター場内圃場および一般圃場を調査
13	東村 那覇市	移動（陸路）
	那覇市 つくば市	移動（空路）

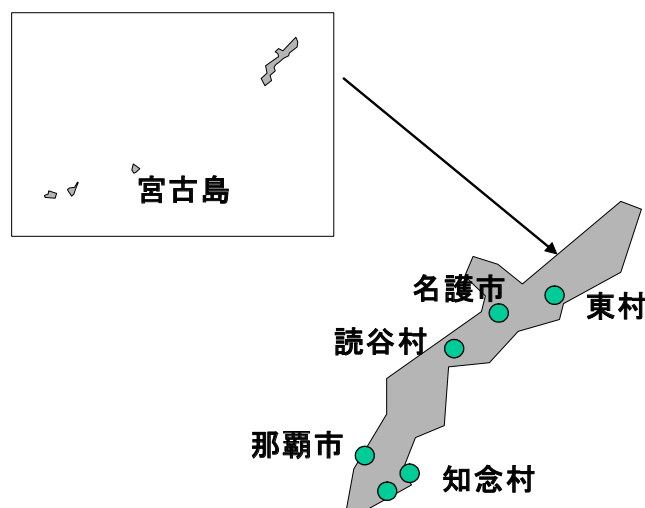


図1. 沖縄県における探索収集地点

3. 収集成果

1) 細菌の分離・同定

採集した多数の葉や葉鞘から変色した部位を切り取り、位相差顕微鏡下で菌泥の噴出を調べ、菌泥の噴出が確認された試料から細菌の分離を試みた。普通寒天培地、あるいは白すじ病菌の分離培地として報告されている Wilbrink 培地を用いて常法によって病原菌を分離した。25℃で7日間培養した後、優占的に出現した黄色のコロニーを釣菌した。

分離した黄色コロニーは、一部の菌はユニバーサルプライマー（63f および 1387r）を用いて、PCR 法で 16S rDNA を増幅し、その前半部分約 700 bp についてシーケンスを行った。また、全ての菌について、白すじ病菌特異プライマー【5'CTT TGG GTC TGT AGC TCA GG (PGBL1) and 5'GCC TCA AGG TCA TAT TCA GC (PGBL2)】（Pan, Y.-B, 1999）を用いて特異的 DNA の増幅を調べた。



図2. 宮古島で見られた葉身の一部が白化したサトウキビ（菌泥噴出はみられなかった）

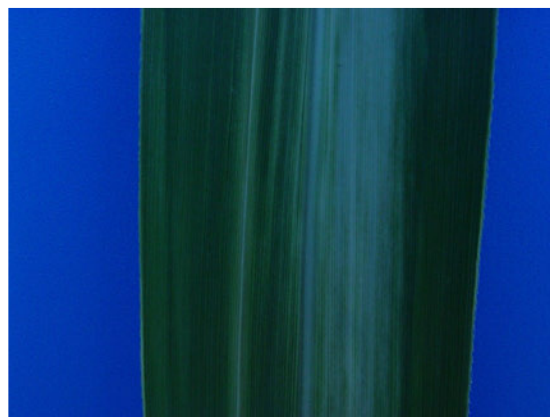


図3. 宮古島で採取された幅1～2 mmの白色ラインが見られるサトウキビの葉身（菌泥噴出は見られなかった）

2) 結果

宮古島および沖縄本島で主として葉身、葉鞘が白化したサトウキビの探索を行った（表 2）。その結果、株の一部の葉身、葉鞘等が白化した株と、株全体が白化しているものが認められた。株全体が白化したサトウキビの多くは全体の生育が抑制され、わい化症状を呈し、新葉はすべて抽出しながら白化していた。また、一部の葉身が白化したサトウキビもときに全体の生育が抑制されていた。これらの葉身の一部に本病の特徴の一つと言われている葉脈に沿って白色ライン（ペンシルライン）が認められたが、この白色ラインにも幅や長さでサンプルによって違いが見られるとともに、菌泥噴出がみられるものと無いものがあつた（表 1）。宮古島でもこれらの症状を呈するサトウキビが多数見られたが、葉身全体に広がる白色部、白色ラインとも菌の噴出は見られず、本病原細菌も分離されなかった（図 2、3）。

そこで、症状別に葉身、葉鞘から細菌の検鏡観察と分離を行ったところ、本病の葉身における特徴的な症状の一つとされる「ペンシルライン症状」を呈するいくつかの葉身から菌泥が大量に噴出するのが認められた。これらの部位の磨砕液をシャーレに画線したところ、画線の高濃度区に黄色コロニーのみが多数出現した（図 4、5）。これらの細菌について、16S rDNA や PCR による特異バンドの検出を行ったところ、黄色コロニーの細菌は 16S rDNA で白すじ病菌と高い相同性を示すとともに、PCR でも特異バンドが検出された。症状別菌泥噴出および本病原菌の分離結果と分離菌株一覧を表 3、4 に示した。

表 2. 宮古島、沖縄本島での採集数と分離株数

採取地	試料数	分離株数
宮古島	20	0
沖縄本島		
東村	23	5
知念村	34	8
玉城村	41	7

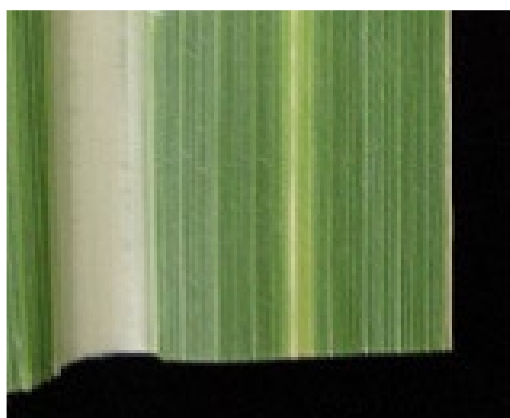


図 4. 沖縄本島で見られた白色ラインのあるサトウキビの葉身（菌泥噴出あり。白すじ病菌が分離された。）

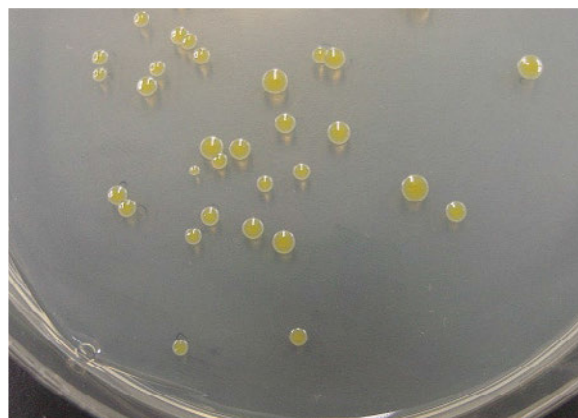


図 5. 白色ラインから分離された白すじ病菌のコロニー

表3. サトウキビの症状と白すじ病菌分離状況

サンプル No.	採取場所	症 状	サブサンプル No.	検鏡、分離部位	細菌の噴出1)	白すじ病菌の 分離
1	宮古島	全体に生育が悪くわい化し、とくに 新葉の基部が白化している	1	白化した葉身	-	-
			2	白化した葉鞘	-	-
4	宮古島	上位葉はすべて葉身の一部ないし全体が白化している。白色ライン（幅1mm程度）と白色の中に褐色の条斑がみられる。	1	白化した葉身	-	-
			2	葉身の白色ライン	-	-
			3	葉身の褐色条斑	-	-
5	知念村	葉脈に沿って白色ライン（幅1mm程度）が見られる葉身	1	葉身の白色ライン	+	+
6	東村	葉脈に沿って白色ライン（幅1mm程度）が見られる葉身	1	葉身の白色ライン	-	-
7	玉城村	全体に生育が悪くわい化し、葉身の一部ないし全体が白化している。白化部位に所々褐色の条斑が見られる。	1	白化した葉身、葉鞘の中の褐色条斑	-	-

1) + : 位相差顕微鏡下でサンプルからの菌泥噴出が見られた、- : 噴出が見られなかった。

表4. 分離菌株一覧

菌株番号	採集場所	採集年月日	分離葉病徴	コロニー色 ¹⁾	16SrDNA ²⁾	学名	MAFF
A-1-1	知念村	2002.12.12	ペンシルライン様症状	黄色	X.a	<i>Xanthomonas albilineans</i>	311358
A-2-1	知念村	2002.12.12	ペンシルライン様症状	黄色	X.a	<i>Xanthomonas albilineans</i>	
A-2-2	知念村	2002.12.12	ペンシルライン様症状	黄色	X.a	<i>Xanthomonas albilineans</i>	
A-2-3	知念村	2002.12.12	ペンシルライン様症状	黄色	X.a	<i>Xanthomonas albilineans</i>	311359
C-2-1	玉城村	2002.12.12	ペンシルライン様症状	黄色	X.a	<i>Xanthomonas albilineans</i>	
C-2-2	玉城村	2002.12.12	ペンシルライン様症状	黄色	X.a	<i>Xanthomonas albilineans</i>	
C-2-3	玉城村	2002.12.12	ペンシルライン様症状	黄色	X.a	<i>Xanthomonas albilineans</i>	311360
C-3-1	玉城村	2002.12.12	ペンシルライン様症状	黄色	X.a	<i>Xanthomonas albilineans</i>	
C-3-2	玉城村	2002.12.12	ペンシルライン様症状	黄色	X.a	<i>Xanthomonas albilineans</i>	

1) NA培地上でのコロニーの色。

2) 16SrDNAの塩基配列に基づき, *Xanthomonas albilineans*

4. 所感

本探索では、沖縄県の宮古島と沖縄本島においてサトウキビ白すじ病菌の探索・収集を行った。本病は、近年品種の変遷等に伴い、とくに沖縄本島では増加傾向にあると考えられている。しかし、本病原細菌は分離しにくいことや接種による発病の再現が極めて難しいこともあり、現場で有効な迅速診断法などの開発が望まれている。しかし、これらの研究を行うためには多数の菌株を用いた比較試験等を行う必要があるが、これまで本病原細菌はジーンバンクの他、国内の保存機関にも登録されていない。

そこで、今回白化症状を呈するサトウキビを多数採集し、位相差顕微鏡観察による菌泥の噴出を確認後に病原細菌の分離を行った。その結果、サンプル病葉数に対して得られた菌株数は少なかったが、今回初めて白すじ病菌をジーンバンク登録することができた。しかし、分離菌数はまだ少ないため、今後もさらに沖縄県で探索・収集を行うとともに、サトウキビ栽培地帯である鹿児島県南部においても発病調査および病原細菌の収集を行う必要がある。

5. 謝辞

本探索では、多くの方々にご支援とご協力をいただいた。(独)種苗管理センター沖縄農場中里 工氏、同場杉澤 武氏には、沖縄本島での探索に同行していただき、多大なご協力をいただいた。沖縄県農業試験場宮古支場園芸研究室小禄博昭氏、澤岨哲也氏には宮古島での探索に同行いただき、多大なご協力をいただいた。沖縄県関係者および生産者の方々には、探索期間中多くの情報とご助言をいただいた。ここに記して、深く感謝の意を表する。

6. 参考文献

- 1) 宮里清松 (1975). サトウキビとその栽培. 日本分蜜糖工業会. p. 358.
- 2) 日本植物病害大辞典 (1998). 岸国平編. pp. 170-176. 全国農村教育協会. 東京.
- 3) Ricaud, C. and Ryan, C.C. (1989). Leaf scald. Pages 39-58 in: Diseases of Sugarcane. C. Ricaud, B.T. Egan, A.G. Gillispie, Jr. and C.G. Hughes, eds. Elsevier, Amsterdam.
- 4) Pan, Y.-B., Grisham, M.P., Burner, D.M., Legendre, B.L., Wei, Q. (1999). Development of Polymerase chain reaction primers highly specific for *Xanthomonas albilineans*, the causal bacterium of sugarcane leaf scald disease. Plant Dis. 83: 218-222.

Summary

For isolation of the sugarcane leaf scald pathogen, *Xanthomonas albineans* (Ashby 1929) Dowson, 20 and 59 sugarcane samples showing the chlorosis or pencil-line streak were collected in Miyako island and Okinawa island, respectively. However, the bacterial pathogen was not isolated from all the samples collected from Miyako island. For the samples collected in Okinawa island, the bacterial colonies with buff yellow-color, a typical of the pathogen, were recovered only from leaves with 'pencil-line' symptom producing bacterial ooze. The bacterial isolates were subjected to the 16S rDNA analysis and PCR using *X. albineans*-specific primers. These bacterial isolates showed high homology with *X. albineans* in 16S rDNA sequence and produced the specific PCR band, indicating that the bacteria is *X. albineans*. In this investigation, the pathogen of sugarcane leaf scald was first registered in MAFF Genebank.

北東北地域における発酵関連糸状菌の探索収集

食品総合研究所 応用微生物部 糸状菌研究室

柏木 豊

Collection of Fungus from Fermented Food in North Tohoku Area, Japan

Yutaka KASHIWAGI

Applied Mycology Laboratory, Applied Microbiology Division,
National Food Research Institute
Kannondai 2-1-12, Tsukuba, Ibaraki 305-8642, Japan

1. 目的

我が国の発酵食品の多くには麹が用いられている。実用麹菌はほとんどが種麹メーカーによって管理されており、実際に発酵食品に用いられているものは由来が明らかな菌株である。多くの醸造場では種麹メーカーから菌株の供給を受けているため、現在では実際に使用されている菌株の多様性が比較的少ない傾向にある。麹を利用した発酵食品が数多く造られているが、その製造工程において実際に用いられている菌株の性質を明らかにすれば、発酵食品の品質向上のために有用な情報を提供することができると考えられる。

東北地方では特徴のある発酵食品が多く造られており、これらの発酵食品には麹菌が多く用いられているが、最近の実用菌株の性質について検討はあまり行われていない。そこで、実際に用いられている麹、および麹菌を利用している醸造場のサンプルから麹菌を中心とした糸状菌を分離することを行った。

2. 探索概要

2002年12月18日から20日の3日間にわたって、北東北地域青森県内において醸造場を訪問し、麹試料の供与を受けるとともに試料の探索収集を行った(表1)。収集した試料は、冷蔵状態で持ち帰り分離源とした。

表 1. 日程及び試料探索収集場所

日程	行程	訪問場所	実施行動
12 月 18 日	つくば市→八戸市		移動
12 月 19 日	八戸市→三戸町 三戸町→八戸市	株式会社小野寺醸造元 八戸酒類株式会社八鶴工場 合同酒精株式会社 甲文醤油合名会社 八戸酒類株式会社男山工場	試料探索収集 試料探索収集 試料探索収集 試料探索収集 試料探索収集
12 月 20 日	八戸市 八戸市→つくば市	青森県水産物加工研究所	情報収集 移動

3. 収集成果

1) 糸状菌の分離

糸状菌の分離には、Potato-dextrose agar または Czapeck-dox agar に 1 µg/mL Ampicillin 及び 100 µg/mL Streptomycin を添加した寒天平板培地を用いた。

収集した試料 10 g を 100mL の 0.9% NaCl 中に懸濁し、寒天平板培地に一定量を滴下し塗抹した（塗抹法）。また、試料を直接寒天平板培地にのせ、25℃にて 4~5 日間分離培養を行った。コロニー形成後、コロニー中心部からエーゼにて菌糸を掻き取り、新しい寒天平板培地に移植して 25℃、4~5 日間培養を行った。この操作をコロニーが純粋になるまで繰り返し、純粋分離菌株を得た。

麴製品においては麴菌が孢子形成に達していない場合が多く、初期分離培養には、塗抹法よりも直接接種法の方が菌の生育が良かった。また、孢子着生が少ない菌株も得られたが雑菌混入と継代中に死滅したため、これらは純粋分離にいたらなかった。6 種類の試料から麴菌 4 菌株を分離した。

分離した 4 菌株は、PDA 平板培地および CD 平板培地における形態・培養特性から、いずれも *Aspergillus oryzae* と同定した（表 2、図 1）。それらのうち 2 菌株は孢子色が純白のアルビノであった。

表 2. 収集試料より分離された麴菌

整理番号	分離した菌株	外観特徴	分離源
No. 2-3 (MAFF 寄託中)	<i>Aspergillus oryzae</i>	孢子白色	米麴（漬物）
No. 3-2 (MAFF 寄託中)	<i>Aspergillus oryzae</i>	孢子黄緑色	酒造用米麴
No. 3-3 (MAFF 寄託中)	<i>Aspergillus oryzae</i>	孢子黄緑色	酒造用米麴
No. 5-2 (MAFF 寄託中)	<i>Aspergillus oryzae</i>	孢子白色	米麴（漬物）

4. 所感

今回、北東北地域における探索収集により分離した麴菌菌株は、麴菌の新品種育成素材として有用である。今回の探索収集では孢子色が純白の菌株が得られた。本菌株は特に漬物、麴などの醸造製品に対して孢子色の影響をできるだけ少なくする意図で育種されたものであり、貴重な微生物遺伝資源と思われる。麴菌は、発酵食品の種類によって適した品種が育種されており、北東北地域では孢子着生が少ないもの、孢子色が白色のものが好んで用いられている様であった。

発酵醸造産業の発展のためには、麹菌等の発酵微生物の品種改良が要点の一つであると考えられ、今後も、広範囲にわたって麹菌等の発酵微生物を収集するとともに、分離菌に関する遺伝学的・生化学的特性の評価を進める必要がある。

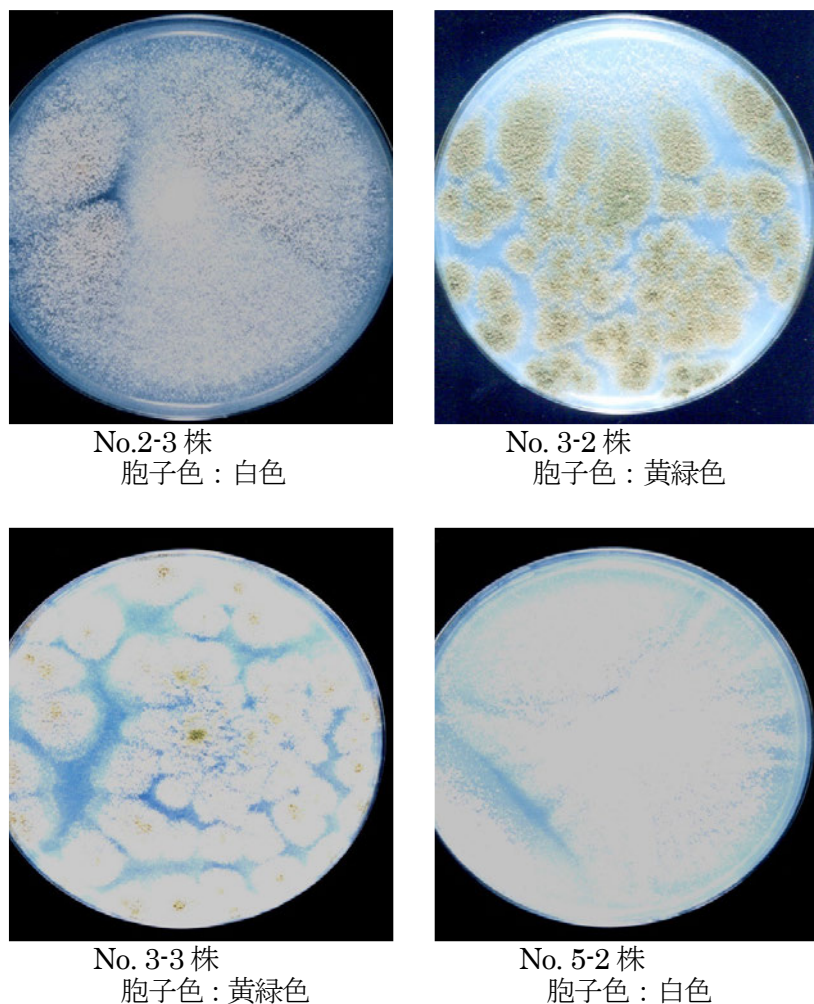


図 1. 分離された麹菌株 (*Aspergillus oryzae*) の PDA 寒天平板上コロニー

5. 謝辞

本探索収集にあたり、試料収集活動に対してご協力をいただいた青森県水産物加工研究所、試料を供与していただいた株式会社小野寺醸造元、八戸酒類株式会社、合同酒精株式会社、甲文醤油合名会社に謝意を表します。特に、試料収集ならびに情報収集にあたり多大な協力をいただいた青森県水産物加工研究所成田清一部長に深く感謝致します。

5. 参考文献

- 1) 長谷川武治編著 (1975). 改訂版微生物の分類と同定. pp. 72-82. 学会出版センター.
- 2) 高鳥浩介編著 (1991). 一目でわかる図説かび検査・操作マニュアル. pp. 62-91. テクノシステム, 東京.

Summary

Six samples of *koji* were collected in Aomori prefecture, North Tohoku area, in December 18-20, 2002. *Koji* is steamed rice grains which *Aspergillus oryzae* grown on. From these *koji* samples, 4 strains of *A. oryzae* were isolated. Two were the albino strains, and the others were normal strains of *A. oryzae*. Because *A. oryzae* strains used in the fermentation factories were supplied from the manufacturers of *tane-koji*, the morphological character of strains isolated from *koji* samples were similar. The albino strains of *A. oryzae* were isolated from the *kome-koji* for the pickles production. From the *koji* for *sake* fermentation, normal strains were isolated.

II. 海外探索收集報告

II. Reports on Exploration in Foreign Countries

冬期ベトナム北部における野菜発酵食品由来微生物の 収集と特性評価

食品総合研究所 企画調整部 食品衛生対策チーム

稲津康弘

Survey and Collection of Fermenting Bacteria from Lightly Fermented Vegetable Sold in North Vietnam in Winter Season

Yasuhiro INATSU

Food Hygiene Team, Research Planning and Coordination Division,

National Food Research Institute

Kannondai 2-1-12, Tsukuba, Ibaraki 305-8642, Japan

1. 目的

乳酸発酵は食品保全技術として全世界的に古くから利用されている¹⁾。これは乳酸菌の生産する有機酸による pH の低下と、「ナisin」に代表される抗菌物質（バクテリオシン）の相乗作用により、競合する有害微生物の発育を防止しようとするものである^{2,3)}。特に東アジア地域からインドシナ半島中北部地域にかけては、多種多様の野菜発酵食品が生産されていることが知られているが、これは加熱殺菌が困難な生食用野菜を安全に長期間保存するための生活の知恵と言えるだろう^{4,5)}。これまでも種々のバクテリオシン生産菌が野菜発酵食品から分離されてきたが、ベトナム地域については調査報告が少ない。そのため、今回、ベトナム食品工業研究所（FIRI）の協力を受けて、現地で市販される野菜発酵食品の微生物学的特性を調査した。食中毒死亡リスクが高いことで知られる *Listeria monocytogenes* の非加熱的制御手法の開発が国内外で求められていることから、同菌に有効なバクテリオシン生産菌のスクリーニングもあわせて実施した。

2. 探索概要

2003 年 3 月 3 日から 3 月 16 日の期間、ベトナム国ハノイ市に滞在し、市内 7 箇所の公設市場および露地で販売された野菜発酵食品を収集した（表 1）。検体の収集は午前中に行い、同日中にベトナム食品工業研究所において分析を行った。10 g の検体を 90 g の蒸留水にて乳剤化後、「HORIBA Compact Ion Meter C-122 Na+」および「新電源 ISFET pH 計 KS723」を用いて、塩濃度ならびに pH を測定した。検体の一般生菌数・大腸菌群数は標準寒天培地およびデソキシコール酸培地を

使用し、「食品衛生検査指針」⁶⁾に準拠して計数した。乳酸菌数の計数には1%炭酸カルシウム添加BCP寒天培地を用いた。

コロニー形状を元に大腸菌群50株を分離後、グラム染色による検鏡、TSI・LIM試験およびIMViC試験を実施した。うち25株についてapi20E(日本ビオメトリュー)を使用して菌種の決定を行った。

乳酸菌200株をランダムに選抜後、コロニー形状およびグラム染色による検鏡に基づいて50株を選抜し、api50CH(日本ビオメトリュー)を用いて糖発酵試験を行い、菌種の決定を行った。

検体乳液5mlを100℃、10分加熱後、普通寒天培地上にスプレッドすることで耐熱性孢子形成菌の分離を行い、菌種同定およびファージタイピング等の特性評価を行った⁷⁾。

バクテリオシン生産性はAgar well法⁸⁾によって検定した。MRS液体培地で24時間静置培養した乳酸菌の培養上澄20μlを、*Lactobacillus plantarum* ATCC8014または*Listeria monocytogenes* ATCC43256培養液をあらかじめ混釈した寒天固形培地のウェルに分注し、30℃で24時間培養後の阻止円形成能を検定した。枯草菌についてもNB培地にて24時間培養後の上澄を用いて同様の試験を行った。

Lactococcus lactis ssp. *lactis*の生産するバクテリオシンはナisinである可能性が高いと考えられたため、70度4時間の加熱処理に対する耐性およびプロテアーゼK処理に対する感受性についても検討を行った。さらに既報のナisin A, ナisin Z 構造遺伝子(*nisaA*, *nisaZ*)の塩基配列^{9,10)}を元にプライマー設計を行い、KOD polymeraseにてPCR反応を行った。これを鋳型DNAとしてBig-dye terminator法にてdirect sequencingを行うことで、塩基配列の確認を行った。

表1 探索・収集日程表

年月日	行 程	行動内容
2003年 3月	3日 つくば市→東京国際空港→ベトナム国ハノイ市	移動(陸路, 空路)
	4日 ハノイ市	ベトナム食工研研究打合わせ
	4-14日 ハノイ市	探索収集・菌分離測定
	15日 ハノイ市	資料整理
	16日 ハノイ市→東京国際空港→つくば市	移動(陸路, 空路)

3. 収集成果

1) 野菜発酵食品の微生物相

冬期ハノイ市内では「カブの葉」(cole leaf)、「小玉ナス」(small eggplant)、「線切キャベツ」(cutted cabbage)、「ラッキョ」(shallots)および「乾燥小タマネギ」(small onion)を原料とする、5種類の野菜発酵食品が至る所で販売されていた。ハノイ市内7箇所を選び、計37品目について特性評価を行った(Table 2)。塩濃度は0.4%付近のものが多く、ナス漬は塩濃度が1%以上のものが多く、タマネギ漬も塩濃度が0.5%以上であった。pHは3付近のものから中性付近のものまで種々あり、それは販売段階での発酵度合いの違いを反映しているものと考えられた。一般細菌数(APC)は4-8 log CFU/g台と広く分布しており、その大部分は乳酸菌(LAB)であった。またLABが多い検体ほどpHが下がっている傾向が見られた。大腸菌群(Coliform)は2-5 log CFU/g台であり、

APC あるいは LAB 数と明確な関係は見出せなかった。大腸菌群は野菜の常住細菌であり、野菜に 5 log CFU/g 以上付着していることも珍しくない¹¹⁻¹⁴⁾。グラム陽性菌と比較すると、大腸菌群は弱酸およびバクテリオシンに対する感受性が低いことが知られていることから、乳酸菌の増殖によっても十分に大腸菌群の増殖が抑制されなかったケースがあったものと考えられた。

Table 2. pH, salt concentration and the number of bacteria.

Sample	pH	Salt (%)	Bacteria (Log CFU/g)		
			APC	Coliform	LAB
cole leaf	3.7	0.34	6.6	3.0	6.9
	4.0	0.30	7.3	2.3	7.3
	4.0	0.34	7.5	2.5	7.1
	4.2	0.94	7.7	2.4	7.4
	4.3	0.30	8.1	3.4	8.0
	4.3	0.33	7.8	5.1	7.9
	4.9	0.32	7.1	2.3	7.7
	5.0	0.27	7.9	2.3	7.8
	5.3	0.39	7.8	3.9	7.7
	6.1	0.42	4.4	3.4	5.1
small eggplant	3.4	1.00	8.0	5.0	7.8
	3.6	0.94	7.4	3.7	7.3
	3.9	1.40	4.8	2.3	5.0
	3.9	2.60	6.3	2.5	6.1
	4.0	1.90	7.4	2.3	7.2
	4.5	0.80	6.7	3.6	6.2
	5.5	1.90	5.0	2.3	4.3
	6.2	1.20	7.8	5.0	7.7
	6.5	2.90	5.4	4.0	4.8
	7.0	2.10	7.4	2.3	6.0
cutted cabbage	3.8	0.37	8.0	2.3	8.1
	4.1	0.43	7.5	2.3	6.9
	4.3	0.36	6.8	4.8	7.1
	5.5	0.35	7.8	4.3	8.0
	5.9	0.41	7.5	2.9	7.5
	6.0	0.49	7.1	2.3	8.9
	6.3	0.36	5.9	2.4	6.2
	6.4	0.27	7.9	4.5	7.8
shallots	6.4	0.38	6.4	4.5	6.1
	3.5	0.35	5.5	3.1	4.8
	4.0	0.43	7.3	2.3	7.0
	6.5	0.30	7.3	2.3	7.5
Small onion	6.6	1.35	5.6	2.3	5.2
	3.2	0.65	6.5	2.3	6.4
	3.7	1.10	4.7	2.3	4.7
	5.0	0.85	7.8	2.3	7.9
	6.3	0.54	7.7	2.3	7.5

APC: Aerobic plate counts, LAB: Lactic acid bacteria

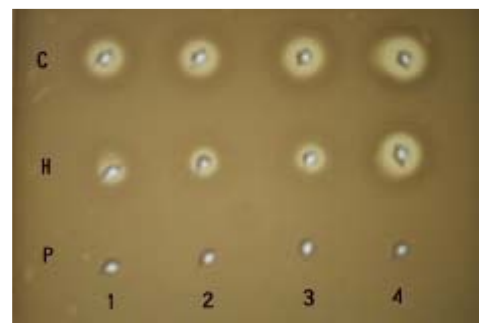


Fig. 1. Heat trerance and protease sensitivity of nisin
C: Control, N: Heat treated, P: Protease treatment.

1: nisin producing strain, 2: nisinZ producing strain, 3: NFR17426,

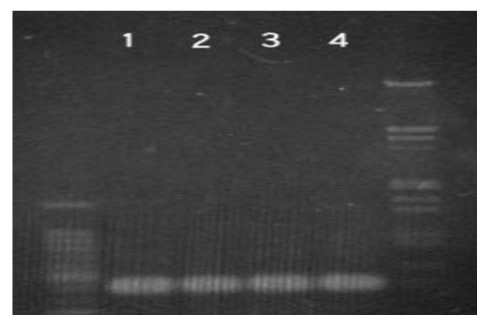


Fig 2. PCR results of *nisa* gene
1: nisin producing strain, 2: nisinZ producing strain, 3: NFR17426,

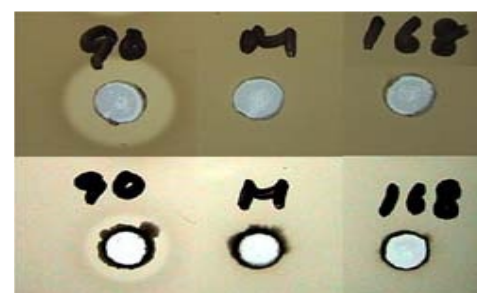


Fig. 3. Antibiotic production of *bacillus subtilis* NFR18390, Miyagino and Marberg168 strains
Upper: *Lactobacillus plantarum*, Lower: *Listeria monocytogenes*

2) 分離細菌の同定

分離菌株の同定結果を Table 3 に示した。分離された大腸菌群は野菜の常住細菌として知られる *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Providencia* 属であり、糞便汚染指標菌として用いられる大腸菌 (*Escherichia coli*) や他の病原性腸内細菌は検出されなかった。乳酸菌については *Lactobacillus* が全ての種類の検体から分離され、*Lactococcus*, *Leuconostoc* あるいは *Pediococcus* を含む検体もあった。これらはいずれも日本の野菜発酵食品からよく分離されるものと一致していた¹⁵⁾。一般に野菜漬物においては、発酵初期に比較的耐酸性の弱い *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* が出現し、発酵の進展に伴い *L.plantrum* や *L.brevis*, *Lc.lactis* が優勢菌相をなすことが知られている¹⁶⁾。調査地域においては種々の発酵状態の漬物が販売されていたことから、幅広い種類の乳酸菌が分離できたものと考えられた。

Table 3. Identified Gram negative and lactoacidic bacteria

Sample	Gram negative bacteria	Lactic acid bacteria
cole leaf	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Lactobacillus coprophilus</i>
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Lactobacillus curvatus</i>
	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>
		<i>Lactobacillus pentosus</i>
		<i>Lactobacillus plantarum</i>
		<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
		<i>Pediococcus pentosaceus</i>
small eggplant	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
	<i>pneumoniae</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>
	<i>Providencia rettgeri</i>	<i>Lactobacillus coprophilus</i>
		<i>Lactobacillus delbrueckii</i>
		ssp. <i>delbrueckii</i>
		<i>Lactobacillus pentosus</i>
		<i>Lactobacillus plantarum</i>
		<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>
		<i>Leuconostoc lactis</i>
cutted cabbage	<i>Citrobacter youngae</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
	<i>Enterobacter amnigenus</i>	<i>Leuconostoc citreum</i>
	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
shallots	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
	<i>Citrobacter youngae</i>	<i>Lactobacillus pentosus</i>
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
	<i>pneumoniae</i>	
	<i>Providencia alcalifaciens</i>	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>
		<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
Small onion	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Lactobacillus curvatus</i>
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>
	<i>pneumoniae</i>	ssp. <i>delbrueckii</i>
	<i>Providencia rettgeri</i>	<i>Lactobacillus pentosus</i>
		<i>Lactobacillus plantarum</i>
		<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>
		<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
		<i>Pediococcus pentosaceus</i>

3) バクテリオシン生産乳酸菌の特性評価

乳酸菌 200 株から 3 株のバクテリオシン生産菌が分離され、うち 2 株は同一のものであった。ナス漬物由来株 (NFRI7426) およびタマネギ漬物由来株 (NFRI7427) はいずれも *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* と同定され、いずれもナイシン構造遺伝子 *nisA* と 100% の相同性を示す遺伝子を保持していた (Fig. 2)。これらの菌が生産する耐熱性・プロテアーゼ感受性の抗菌物質は *L. plantarum* のみならず食中毒原因菌である *Listeria monocytogenes* に対しても作用した (Fig. 1)。

4) 粘物質生産性枯草菌の特性評価

耐熱性孢子形成能を持つグラム陽性桿菌が全ての種類の検体から分離された。うち、ナス漬物から分離された *Bacillus subtilis* (NFRI8390) は、アミラーゼおよびプロテアーゼ生産性を持ち、粘物質生産性検定培地である GSP 培地上で日本の納豆菌と類似の形態を示したが、ファージタイプは日本の納豆菌と異なっていた。日本の納豆製造に使用される宮城野株と異なり、NFRI8390 株は *Listeria monocytogenes* のみならず病原大腸菌 O157:H7 株、*Salmonella* Enteritidis に対しても抗菌作用を持つ物質を生産することが確認された (Fig. 3)。*Bacillus licheniformis* および *Bacillus subtilis* の一部はバシトラシンを生産し¹⁷⁾、またある種の *B. subtilis* は "Bacterial Lysozyme" を生産することが知られている¹⁸⁾。しかし、これらはいずれも主としてグラム陽性菌に対して抗菌作用を示す物質であることから、本株はこれら以外の新規な抗菌性物質を生産している可能性もある。

4. 所感

ベトナムの野菜発酵食品は日本のそれと比較すると低塩であり、常温製造・流通している関係から、比較的、発酵が浅い状態のものも店頭に並んでいる。そのため、発酵に伴う菌層の均一化を強く受けていないものと考えられ、多様な微生物の分離源としてはすぐれているものと考えられた。しかしながら、菌株の持ち出しおよび利用については二国間の調整面で困難が伴い、本収集も結果として事前調査の域を出ることができなかった。今回分離されたバクテリオシン生産菌は食品由来の安全な微生物制御物質として応用可能であると考えられるが、産業利用に関してはベトナム側との合意が必須である。なお、本調査の成果の一部については 2004 年度農芸化学学会大会の報告が予定されている。

本調査を実施するにあたりご協力いただいた、ベトナム工業省食品工業研究所および国際協力事業団の関係者各位に感謝申し上げます。

5. 参考文献

- 1) Herbert J. Buckenhuuskes (2001). Fermented Vegetables in M.D. Doyle ed. Food Microbiology ASM Press. pp. 665.
- 2) Martin R. Adams and Linda Nicolaidis (1997) Review of the sensitivity of different foodborne pathogens to fermentation. Food Control 8: 227-239.
- 3) O' Sullivan, L., Ross, R.P. and Hill, C. (2002). Potencial of bacteriocin- producing lactic acid bacteria for improvements in food safety and quality. Biochemie 84: 593-604.

- 4) Cherl-Ho Lee (1997). Lactic acid fermentated foods and thier benefit in Asia. Food control 8: 259-269.
- 5) 吉田集而 (1999). 世界における発酵文化圏の構想. 食の科学.261: 8-27.
- 6) 厚生省生活衛生局 (1990). 食品衛生検査指針 (日本食品衛生検査協会).
- 7) Inatsu, Y., Kimura, K. and Itoh, Y. (2002). Characterization of *Bacillus subtilis* strains isolated from fermented soybean foods in Southeast Asia: Comparison with *B. subtilis* (natto) Starter Strains. JARQ 36: 169-175.
- 8) Kawamoto, S., Shima, J., Sato, R., Eguchi, T., Ohomoto, S., Shibato, J., Horikoshi, N., Takeshita, K. and Samehima, T. (2002). Biochemical and genetic characterization of Mundticin KS, an antilisterial peptide produced by *Enterococcus mundtii* NFRI 7393. App. Env. Microbiol. 68: 3830-3840.
- 9) Kuipers, O.P., Beerthuyzen, M.M., Siezen, R.J. and De Vos, W.M. (1993). Characterization of the nisin gene cluster *nisABTCIPR* of *Lactococcus lactis*. Requirement of expression of the *nisA* and *nisI* genes for development of immunity. Eur. J. Biochem. 216: 281-291.
- 10) Park, S.H., Itoh, K., Kikuchi, E., Niwa, H. and Fujisawa, T. (2003). Identification and characteristics of Nisin Z-producing *Lactococcocus lactis* subsp. *lactis* isolated from Kimchi. Curr. Microbiol. 46: 385-388.
- 11) Ercolani, G.L. (1976). Bacterilogocal quality assment of fresh marketed lettuce and fennel. Appl. Env. Microbiol. 31: 847-852.
- 12) Ueda, S. and Kuwabara, Y. (1998). Bacteriological Study on Fresh Vegetables. J. Antibact. Antifung. Agents 26: 673-678.
- 13) Kaneko, K., Hayashidani, H., Ohtomo, Y., Kosege, J., Kato, M., Takahashi, K., Shiraki, Y. and Ogawa, M. (1999). Bacterial contamination of Redy-to-eat foods and fresh products in retail shops and food factories. J. Food Prot. 62: 644-649.
- 14) Konishi, N., Kai, A., Matushita, S., Noguchi, Y., Takahashi, Y., Sekiguchi, K., Arai, T., Morozumi, S. and Kokubo, Y. (2001). Bacterial contamination of fresh vegetables and epidemiological investigation of the isolates. Jpn. J. Food Microbiol. 18 (1): 9-14.
- 15) Morita, H., Miyamoto, T., Mori, K., Kataoka, K. and Izumimoto, M. (1990). Isolation and identification of lactic acid bacteria from Pickles. Jap. J. Dairy Food Sci. 39: 183-193.
- 16) Nakagawa, H., Mizuno, T., Shimizu, T., Kaneko, J., Kadono, M., Itoh, T., Sakai, S. and Terada, A. (2001). Lactic acid bacteria flora isolated from salted vegetables. Jpn. J. Food Microbiol. 18: 61-66.
- 17) Azevedo, E.C., Rios, E.M., Fukushima, K. and Campos-Takashi, G.M. (1993). Bacitracin production by new strain of *Bacillus subtilis*. App. Biochem. Biotech. 42: 1-7.
- 18) Okada, S. and Kitahata, S. (1973). Purification and some properties of bacterial lysozyme. J. Ferment. Technol. 51: 705-712.

Summary

The lightly fermented vegetables sold in Hanoi city were collected in March 2003. Salt concentrations, pH and micro flora of 5 kinds of 37 samples were analyzed. The salt concentrations tend to be lower than that of Japanese lightly fermented vegetables and some samples did not ferment enough to increase the acidity. The aerobic plate count varied between 5 to 8 log CFU/g. Most of them were lactic acid bacteria (LAB), including *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* and *Pediococcus*. Two to five log CFU/g of coliform bacteria also detected; all of identified strains were same as known natural flora on fresh vegetables however. Bacteriocin producing strains effective for *Listeria monocytogenes* were screened. Three of nisin producing *Lactococcus lactice* spp. *lactis* strains were isolated from 200 LABs. The DNA sequences of *nisA* gene (structural gene of nisin A) were completely same as that of reported ones. One polyglutamic acid producing *bacillus subtilis* strain was also isolated for the candidate of an antibiotic producing strains against *Listeria monocytogenes* or other Gram negative bacteria.

Ⅲ. これまでの探索収集実績

Ⅲ. Past Records

Ⅲ. これまでの探索収集実績

年度	調 査 課 題	対象微生物	担 当 機 関	担 当 者	派 遣 先	期 間
昭62	害虫防除に利用する微生物の探索および特性解明	昆虫寄生菌	果樹試験場	柳 沼 勝 彦	長野県 岩手県 青森県 静岡県	S62.07.27～S62.07.29 S62.10.22～S62.10.24 S62.12.07～S62.12.08
	香川県および愛媛県における魚類病原菌およびウイルスの探索収集	魚類病原細菌 魚類病原ウイルス	養殖研究所	反 町 稔 佐 古 浩 前 野 幸 男	香川県 愛媛県	S62.11.07～S62.10.13
	多糖類分解酵素の生産菌の探索および特性解明	多糖類分解菌	食品総合研究所	原 口 和 朋	千葉県	S62.10.13～S62.10.24
	北海道の各種飼料に着生する有用微生物の収集	飼料微生物	畜産試験場	原 慎 一 郎	北海道	S62.09.24～S62.09.29
	窒素固定菌の探索収集とその有効利用	窒素固定菌	農業生物資源研究所	蒲 生 卓 磨	タイ	S62.09.01～S62.09.22
	反芻家畜寄生性住血吸虫の探索および収集	家畜寄生性原虫	家畜衛生試験場	南 哲 郎	インドネシア	S62.11.29～S62.12.19
	小笠原諸島の亜熱帯農業環境における菌類遺伝資源の収集および特性解明	植物病原菌 木材腐朽菌	農業環境技術研究所	佐 藤 豊 三	小笠原諸島 (父島 母島)	S63.07.01～S63.07.06
昭63	果樹の根頭がんしゅ病菌およびブドウウイルス病様症状の探索収集および特性解明	植物病原ウイルス 植物病原細菌	果樹試験場	今 田 準 澤 田 宏 之	岩手県 青森県 山形県 秋田県	S63.06.20～S63.06.23
	亜熱帯地域に生息する食品関連の特殊糸状菌の収集	カビ毒生産菌	食品総合研究所	鶴 田 理	沖縄県	S63.11.05～S63.11.10
	北海道における大型褐藻分解細菌の探索収集	大型褐藻分解細菌	中央水産研究所	中 山 昭 彦 内 田 基 晴	北海道	S63.07.04～S63.07.06
	ネパール国における伝統的な発酵食品の調査および食品微生物の調査	発酵微生物	食品総合研究所	新 国 佐 幸	ネパール	S63.10.11～S63.11.01
	沖縄における食用きのこ遺伝資源の探索収集および特性解明	食用きのこ	森林総合研究所	根 田 仁	沖縄県	H01.10.13～H01.11.19
	都城市周辺圃場におけるアフラトキシン生産菌の探索収集	糸状菌	食品総合研究所	岡 崎 博	宮崎県	H01.08.23～H01.08.25
	タイにおけるさび病菌の重複寄生菌の調査・収集	拮抗微生物	農業環境技術研究所	佐 藤 豊 三	タイ	H01.10.02～H01.10.21
平2	キオビエダシャクの病原糸状菌の探索収集	糸状菌	森林総合研究所	島 津 光 明	沖縄県	H02.12.18～H02.12.21
	ソルガム紫斑点病菌の交配用菌株等の探索	糸状菌	草地試験場	月 星 隆 雄	九州	H02.09.09～H02.09.12
	特殊環境微生物の探索と利用	特殊環境微生物	食品総合研究所	川 澄 俊 之	九州	H02.10.15～H02.10.18
	ニュージーランドにおけるきのこ類の探索収集	食用きのこ	森林総合研究所 沖縄県林業試験場	根 田 仁 宮 城 健	ニュージーランド	H03.03.13～H03.03.27
平3	高知県における木材腐朽菌遺伝資源の探索収集	木材腐朽菌	森林総合研究所	服 部 力	高知県	H03.11.12～H03.11.15
	セルロース合成および分解真菌の探索収集および特性解明	鞭毛菌類・子囊菌類	農業環境技術研究所	大久保 博 人	北海道	H03.09.24～H03.09.28
	北海道におけるコムギ植物体上微小菌類の収集	微小菌類	農業生物資源研究所	青 木 孝 之	北海道	H03.07.08～H03.07.12
	米粒の品質劣化に影響する病原菌類相と侵害機作の解明	糸状菌	農業研究センター	内 藤 秀 樹	山口県	H03.09.23～H03.09.25
	タイにおける特殊環境微生物（好塩菌）の探索収集	特殊微生物	食品総合研究所	川 澄 俊 之	タイ	H03.07.25～H03.08.20
平4	ナシ黒星病菌のDMI剤感受性のモニタリング	糸状菌	果樹試験場	石 井 英 夫	佐賀県	H04.07.18～H04.07.20
	九州における樹木寄生糸状菌類の調査と収集	糸状菌	森林総合研究所	金 子 繁	大分県 熊本県	H04.09.22～H04.09.27
	中華人民共和国雲南省におけるイネいもち病菌の探索収集	糸状菌	農業研究センター	内 藤 秀 樹	中国	H04.09.19～H04.09.29

年度	調 査 課 題	対象微生物	担 当 機 関	担 当 者	派 遣 先	期 間
平5	小笠原諸島におけるさび病菌の重複寄生菌の調査・収集	糸状菌	四国農業試験場	佐藤 豊三	小笠原諸島	H05.12.08～H05.12.15
	九州地域におけるイネ白葉枯病菌各種レースの探索・収集	植物病原細菌	農業生物資源研究所	加来 久敏	長崎県 熊本県 宮崎県	H05.09.25～H05.09.28
	タイ国におけるサイレージ用高温性乳酸菌の探索・収集	乳酸菌	草地試験場 静岡県畜産試験場	大桃 定洋 大山 信也	タイ	H05.08.25～H05.09.13
平6	北海道に発生する植物病原ML0の探索と収集	植物病原微生物	農業研究センター	塩見 敏樹	北海道	H06.08.30～H06.09.03
	東北地方におけるナラタケ属菌の生態と分類学的検討	担子菌類	森林総合研究所	長谷川 絵里	青森県 岩手県 山形県 宮城県 福島県	H06.09.12～H06.09.13 H06.10.06～H06.10.07 H06.10.11～H06.10.12 H06.10.20～H06.10.21 H06.10.24～H06.10.25
	オーストラリアにおける <i>Agrobacterium</i> 属細菌の探索・収集	バイテク関連微生物	農業環境技術研究所 静岡県農業試験場	澤田 宏之 牧野 孝宏	オーストラリア	H07.03.08～H07.03.22
	スリランカ国におけるイネ病原微生物の探索収集	植物病原細菌	農業生物資源研究所 京都府立大学 北海道十勝農業試験場	落合 弘和 堀野 邦修 宮島 邦之	スリランカ	H07.02.25～H07.03.08
	沖縄における放線菌根菌（フランキア菌）の探索と収集	窒素固定微生物	森林総合研究所	山中 高史	沖縄県	H07.09.18～H07.09.21
平7	南西諸島における拮抗性シュードモナス属細菌の探索と収集	拮抗細菌	農業生物資源研究所	土屋 健一	沖縄県	H07.11.25～H07.12.04
	中国におけるダイズ根粒菌等有用微生物の探索・収集に関する共同調査	共生微生物	農業生物資源研究所 長野県中信農業試験場	横山 正 村上 敏文	中国	H07.07.15～H07.08.01
	北海道における発酵食品微生物の収集	食品微生物	食品総合研究所	森勝 美 山田(伊豫)知枝 中島 博文 島 純	北海道	H08.11.26～H08.11.30
平8	九州地方におけるカメムシ類共生微生物の探索と収集	共生微生物	果樹試験場	三代 浩二	福岡県 熊本県 大分県	H08.10.14～H08.10.19
	ネパールにおける新規拮抗微生物の探索収集	拮抗微生物	農業生物資源研究所 兵庫県中央農業技術 センター	堀田 光生 相野 公孝	ネパール	H08.09.24～H08.10.08
	長崎県福江島、壱岐及び対馬におけるカンキツかいよう病菌の収集	細菌	果樹試験場	塩谷 浩 尾崎 克己	対馬 壱岐 福江島	H09.08.21～H09.08.22 H09.09.25～H09.09.26 H09.10.23～H09.10.24
平9	タイ国でのカンキツトリステザウイルス弱毒、強毒系統の探索・収集	ウイルス	果樹試験場	家城 洋之	タイ	H09.08.27～H09.09.11
	沖縄県での暖地型イネ科植物ミイラ穂病菌の探索・収集	糸状菌	草地試験場	月星 隆雄	沖縄本島 石垣島	H10.02.26～H10.03.02
平10	離島及び西日本地域のブナ帯における主要栽培きのこの野生菌株の収集と特性評価	担子菌	森林総合研究所	馬場崎 勝彦 宮崎 安将	南九州 佐渡島 紀伊半島	H10.10.26～H10.11.20
	奄美大島におけるサトウキビ上生息糸状菌類の収集と特性評価	糸状菌	農業生物資源研究所	青木 孝之	奄美大島	H10.11.30～H10.12.06
	台湾におけるVA菌根菌の探索と収集	共生微生物	草地試験場	斉藤 雅典	台湾	H11.01.16～H11.01.24

年度	調 査 課 題	対象微生物	担 当 機 関	担 当 者	派 遣 先	期 間
平11	沖縄における乳酸菌の収集と特性評価	乳酸菌	畜産試験場	木 元 広 実	沖縄県	H11.08.25～H11.09.01
	東北地域におけるイチゴうどんこ病に対する拮抗微生物の収集と特性評価	拮抗微生物	野菜・茶業試験場	小 板 橋 基 夫	栃木県 福島県 青森県 岩手県 宮城県	H12.01.18～H12.01.21
	ロシア極東地域における <i>Steinernema</i> 属・ <i>Heterorhabditis</i> 属 昆虫病原性線虫およびそれらの共生細菌の収集と特性評価	線虫 共生細菌	農業環境技術研究所	吉 田 睦 浩	ロシア	H11.09.05～H11.10.07
平12	沖縄におけるいもち病菌の収集と特性評価	糸状菌	中央農業総合研究 センター	宮 坂 篤 一 園 田 亮	沖縄県	H12.10.17～H12.10.20
	東北地方北部地域及び長野県におけるナメコ等食用きのこの 収集と特性評価	担子菌	森林総合研究所 岩手県林業技術センタ 青森県林業試験場	馬場崎 勝 彦 宮崎 安 将 上 部 明 広 坂 本 尚 美	長野県 青森県 秋田県	H12.10.17～H12.10.19 H12.10.30～H12.11.02
	インドネシアにおける植物病原および共生シュードモナスの 収集と特性評価	細菌	農業環境技術研究所	土 屋 健 一	インドネシア	H12.11.19～H12.12.03
	沖縄県における園芸作物病原菌等の収集と特性評価	糸状菌	農業生物資源研究所	佐 藤 豊 三	沖縄県	H13.11.01～H13.11.07
平13	沖縄県でのイネ科植物寄生性 <i>Bipolaris</i> , <i>Curvularia</i> , <i>Exserohilum</i> 属菌の収集	糸状菌	農業環境技術研究所	月 星 隆 雄	沖縄県	H14.02.18～H14.02.22
	沖縄県におけるサトウキビから分離される細菌の収集と特性 説明	細菌	農業環境技術研究所	篠 原 弘 亮	沖縄県	H13.11.25～H13.12.01
	南西諸島における植物病原細菌の探索収集	細菌	農業生物資源研究所	堀 田 光 生	南西諸島	H14.01.23～H14.01.30
平14	南九州におけるイネ科植物内生性窒素固定細菌の収集と	窒素固定細菌	国際農林水産業研究 センター	安 藤 康 雄	宮崎県 鹿児島県	H14.09.01～H14.09.05
	長野、群馬、新潟県におけるダイズシストセンチュウ並びに ネコブセンチュウの収集	線虫	中央農業総合研究 センター	相 場 聡 水久保 隆 之 伊 藤 賢 治	長野県 群馬県 新潟県	H14.10.21～H14.10.25 H14.11.12～H14.11.13
	富山県におけるキク立枯れ性病害の収集と特性評価	糸状菌	花き研究所	築 尾 嘉 章	富山県	H14.11.25～H14.11.26
	サトウキビ白すじ病菌の探索・収集	細菌	農業環境技術研究所	對 馬 誠 也	沖縄県	H14.12.09～H14.12.13
	北東北地域における発酵関連糸状菌の探索収集	発酵関連糸状菌	食品総合研究所	柏 木 豊	青森県	H14.12.18～H14.12.20
	冬期ベトナム北部における野菜発酵食品由来微生物の収集 と特性評価	発酵関連微生物	食品総合研究所	稲 津 康 弘	ベトナム	H14.03.03～H14.03.16

生 物 研 資 料

平成 16 年 3 月

平成 14 年度 微生物遺伝資源探索収集調査報告書

2004 年 3 月 24 日 印刷

2004 年 3 月 31 日 発行

編集兼
発行者 独立行政法人農業生物資源研究所

National Institute of Agrobiological Sciences

〒305-8602 茨城県つくば市観音台 2-1-2

Annual Report on Exploration and Introduction of
Microbial Genetic Resources

Vol. 16

April 2002 – March 2003

March 2004

National Institute of Agrobiological Sciences