

研究成果報告書

研究テーマ (和文) AB		有用線虫-バチルス優占化土壌改良資材による寄生性線虫防除メカニズムの解明			
研究テーマ (欧文) AZ		Elucidation of parasitic-nematodes controlling mechanisms by beneficial nematodes and <i>Bacillus</i> predominated compost			
研究氏 代 表 名 者	カナ CC	姓)クロダ	名)キョウヘイ	研究期間 B	2018～ 2019年
	漢字 CB	黒田	恭平	報告年度 YR	2019年
	ローマ字 CZ	Kuroda	Kyohei	研究機関名	都城工業高等専門学校
研究代表者 CD 所属機関・職名		都城工業高等専門学校物質工学科・助教			
<p>概要 EA (600字～800字程度にまとめてください。)</p> <p>本研究では、世界で1,000億USドルの農作物の被害を出している有害線虫を、我々の開発した化学農薬に依らないバチルス属細菌(近縁な系統を含む、以下 <i>Bacillales</i> 目細菌)・線虫捕食性有用線虫優占化土壌改良材を開発することにより防除することとし、「何故、<i>Bacillales</i> 目細菌・有用線虫が優占化することにより有害線虫から防除できるのか?」という問い(仮説)についてその防除機構を学術的に解明することを目的とした。</p> <p>土壌改良資材は、し尿汚泥(乾燥重量で10%)、ため池脱水土(30%)、杉破碎バーク(60%)を用い、自活性線虫が死滅しない40℃以下で発酵させることで、自活性線虫を10,000頭/10g-dry、<i>Bacillales</i> 目細菌が10⁷cfu/g-dry以上となるように調製した。作製した土壌改良資材の16S rRNA 遺伝解析を行った結果、<i>Bacillales</i> 目細菌が全体の23.5%と最も優占し、その他放線菌を含む <i>Actinomycetales</i> 目細菌も13.7%検出された。土壌改良資材から抽出したDNAを鋳型として、<i>Bacillus</i> が生産する抗生物質イチュリン、サーファクチン産生関連遺伝子の検出をPCR増幅により行った。結果、土壌改良資材中にイチュリン、サーファクチンを生産可能な微生物が存在することが示唆された。<i>B. subtilis</i> が生産するイチュリンA、サーファクチンを用いて、レンコンの植物寄生性線虫である <i>Hirschmanniella diversa</i> を対象に走化性試験を実施した。結果、イチュリンA(20ppm)、サーファクチン(200ppm)の条件において、殺線虫剤ホスチアゼート(60ppm)よりも高い制運動性効果が確認され、<i>Bacillus</i> 属細菌が生産する抗生物質が植物寄生性線虫に対して制線虫効果を持つことが実証された。</p>					
キーワード FA	植物寄生性線虫	<i>Bacillales</i> 目細菌	抗生物質	未利用バイオマス	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}	黒田恭平, 蔵下はづき, 幡本将史, 青井透							
	書名 ^{HC}	アグリバイオ 2019年12月臨時増刊号（題目：自活性線虫と <i>Bacillales</i> 目細菌を優占化させた廃棄物利用型の土壌改良資材, 3(14), p.41-42）							
	出版者 ^{HB}	株式会社 北隆館	発行年 ^{HD}	2	0	1	9	総ページ ^{HE}	2
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要 ^{EZ}

Our purpose of this study is elucidation of nematodes disease controlling mechanisms using our developed compost, which are prepared using night-soil sludge, cedar bark and dehydrated soil. Using this preparation method, the compost contains predominant *Bacillales* and free-living nematodes, which can be controlled nematodes diseases.

First, we prepared the compost using above materials, and the numbers of *Bacillales* and free-living nematodes were 10^7 cfu/g-dry and 10,000/10 g-dry, respectively. Microbial community analysis of the compost based on 16S rRNA gene sequencing, order *Bacillales* was the most predominant bacteria (23.5%), and order *Actinomycetales* known as beneficial organisms for agriculture was also predominant (13.7%), suggesting that the predominant organisms might be affect for controlling plant-parasitic nematodes. Next, we attempted to detect lipopeptide antibiotics such as iturin A and surfactin from the compost. By PCR amplification, we could detect both functional genes, indicating that the compost contains lipopeptides producing bacteria. To evaluate the effect of the antibiotics to plant-parasitic nematodes, we performed chemotaxis test of *Hirschmanniella diversa* (lotus root disease occurrence nematodes) using iturin A, surfactin and fosthiazate (nematicide). The results showed that iturin A (20 ppm) and surfactin (200 ppm) highly inhibited the motility of *H. diversa* compared with fosthiazate (60 ppm), indicating that the lipopeptide antibiotics produced by *Bacillales* bacteria have potential of controlling plant-parasitic nematodes.