

医工農連携シンポジウム

日時:平成21年2月18日

場所:前橋工科大学

# 有用遺伝子を導入した組換え微生物による 植物病害のバイオコントロール技術の 開発に関する研究

茨城大学農学部植物生体防御学研究室

阿久津 克己

# 世界の食料事情



地球人口：約60億人  
 食糧：穀類生産(年18億t)  
 50億人(地球定員)  
 エネルギー：年50億t(石炭換算)  
 33億人(地球定員)

## 食糧生産

農地拡大(24億ha 限度)

## 集約農業

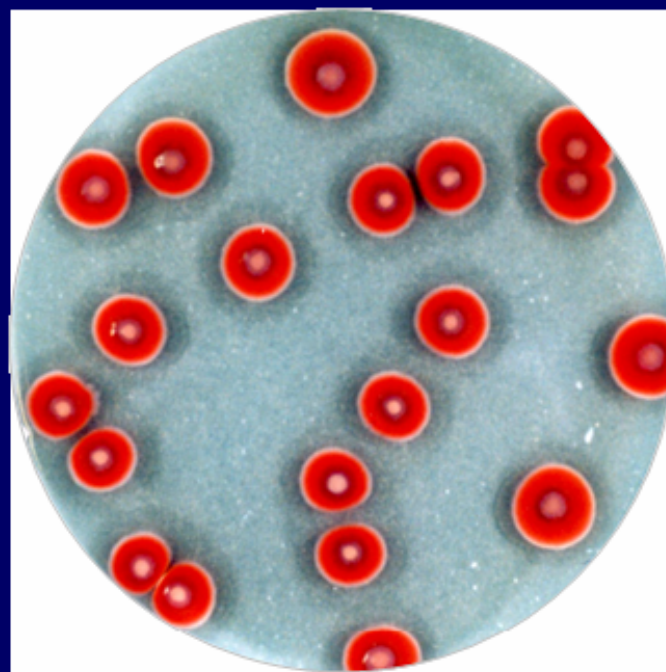
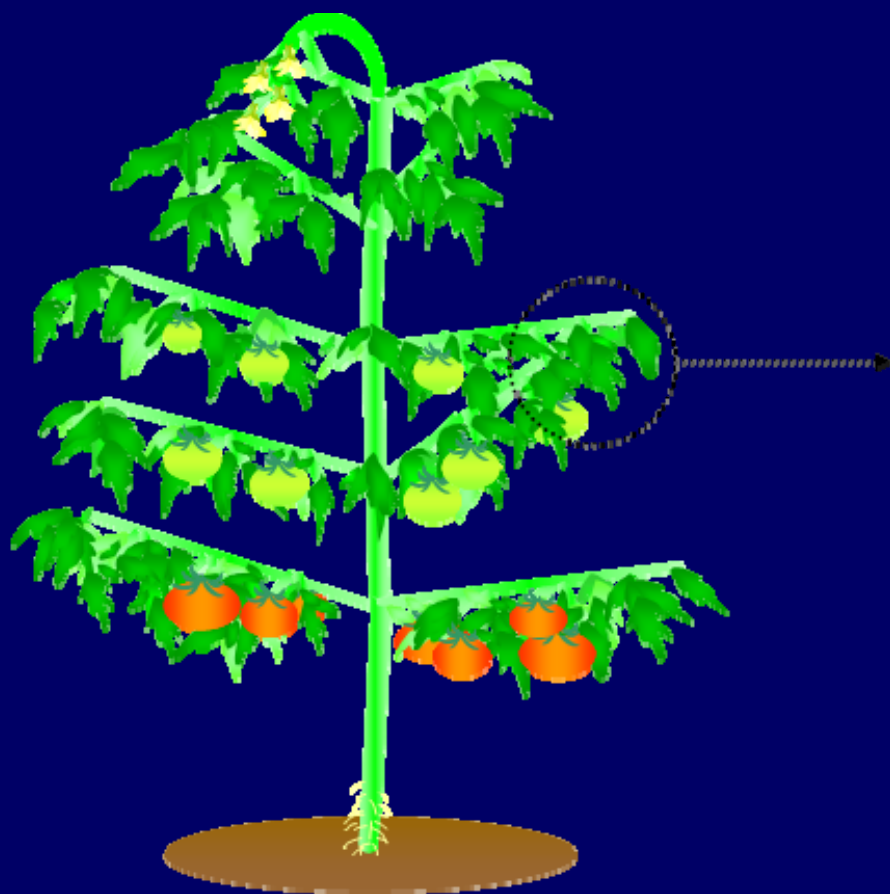
- ⇒ 生産性の増加
- ⇒ 生態系の破壊
- ⇒ 農地 40%以上消失  
(耕起農法: 表層土流亡)
- ⇒ 病害増加(単作栽培)

## 病害防除法の導入

- 薬剤防除 ⇒ 環境汚染, 耐性菌
- 育種防除 ⇒ 抵抗性品種の罹病化

## 病気による主要作物の被害

作物	損失率(%)			
	病原	害虫	雑草	総計
イネ	15.1	20.7	15.6	51.4
コムギ	12.4	9.3	12.3	34.0
オオムギ	10.1	8.8	10.6	29.5
トウモロコシ	10.8	14.5	13.1	38.4
ジャガイモ	16.4	16.1	8.9	41.4
ダイズ	9.0	10.4	13.0	32.4
ワタ	10.5	15.4	11.8	37.7
コーヒー	14.9	14.8	10.3	40.0



*Serratia marcescens* B2

図 トマト葉面から分離されたキチナーゼ活性細菌*Serratia marcescens* B2

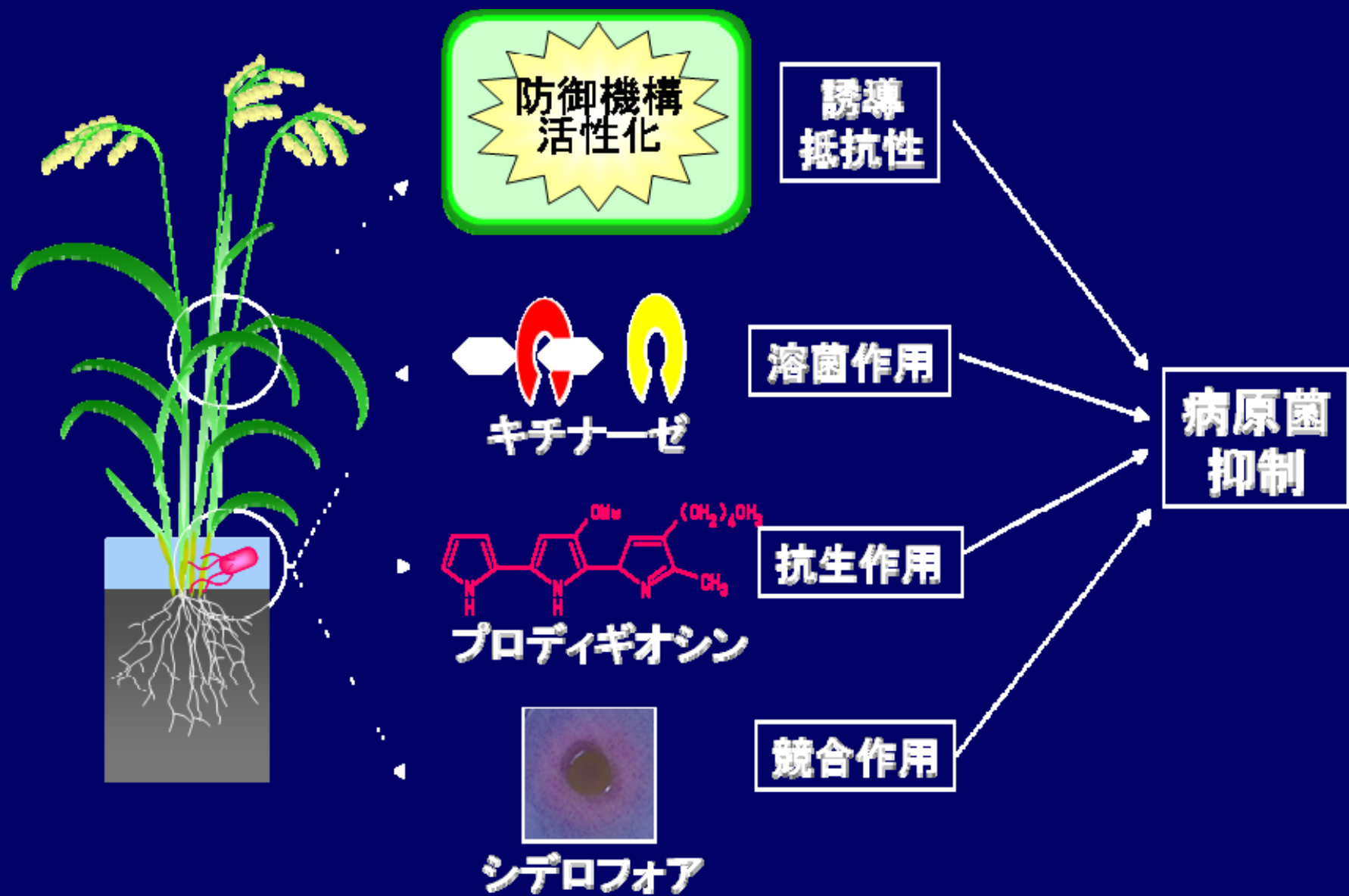


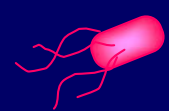
図 *S. marcescens* B2の植物病原菌に対する作用メカニズム

イネ, キュウリ, シクラメン  
植物定着性

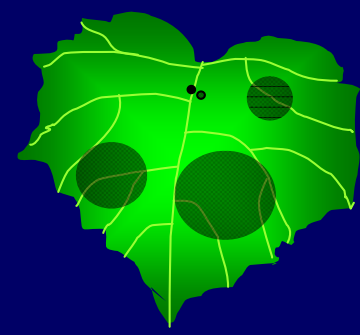
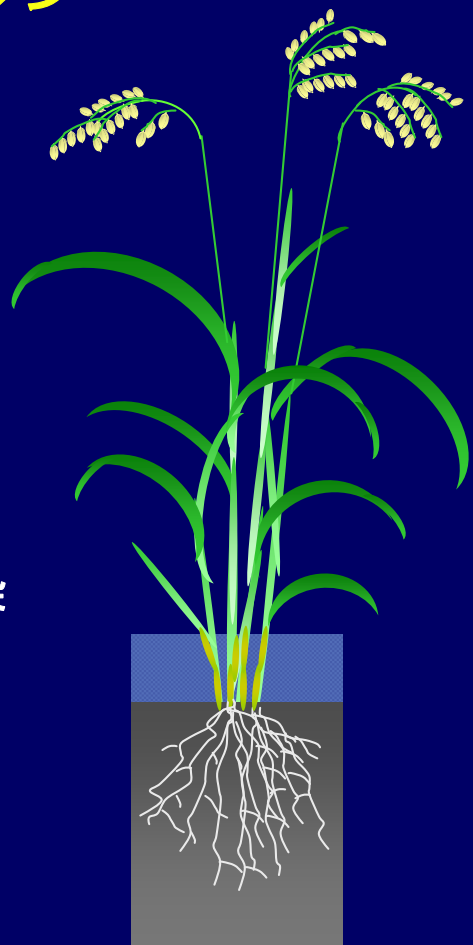
防除効果

地上部 ×

いもち病  
灰色かび病 △



*S. marcescens* B2  
・非赤色素株:  
ヒト日和見感染



土壌および  
湛水部 ○

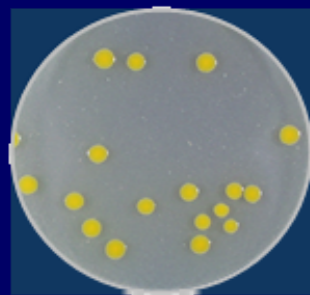
紋枯病 ○



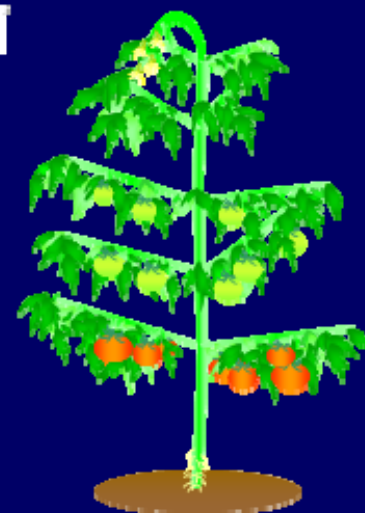
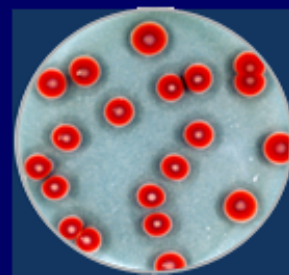
植物菌類病に対する *S. marcescens* B2 の防除効果



葉面生息細菌  
*Erwinia ananas*

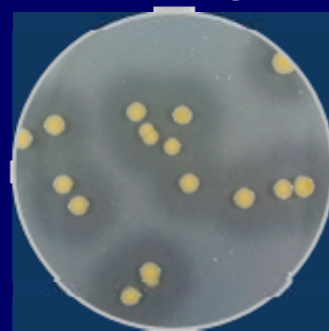


キチナーゼ活性細菌  
*S. marcescens* B2  
*Alteromonas* sp.



エージェント条件

- ・植物地上部の定着性
- ・植物非病原性
- ・宿主細菌由来プロモーター  
(低栄養下機能型)
- ・染色体導入

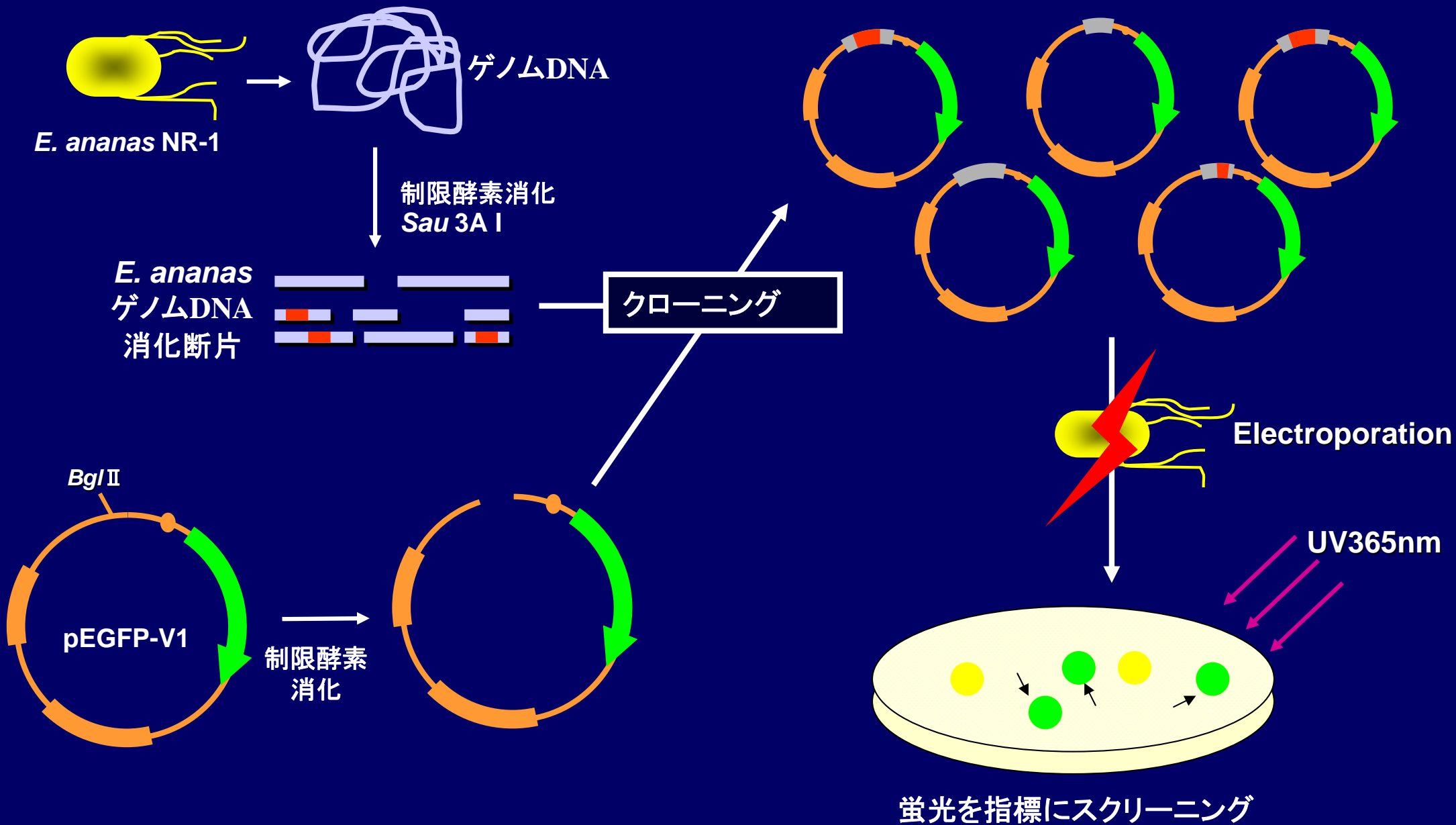


抗菌性要因

- ・キチナーゼ遺伝子 *chiA*
- ・キチナーゼ遺伝子 *chi9*

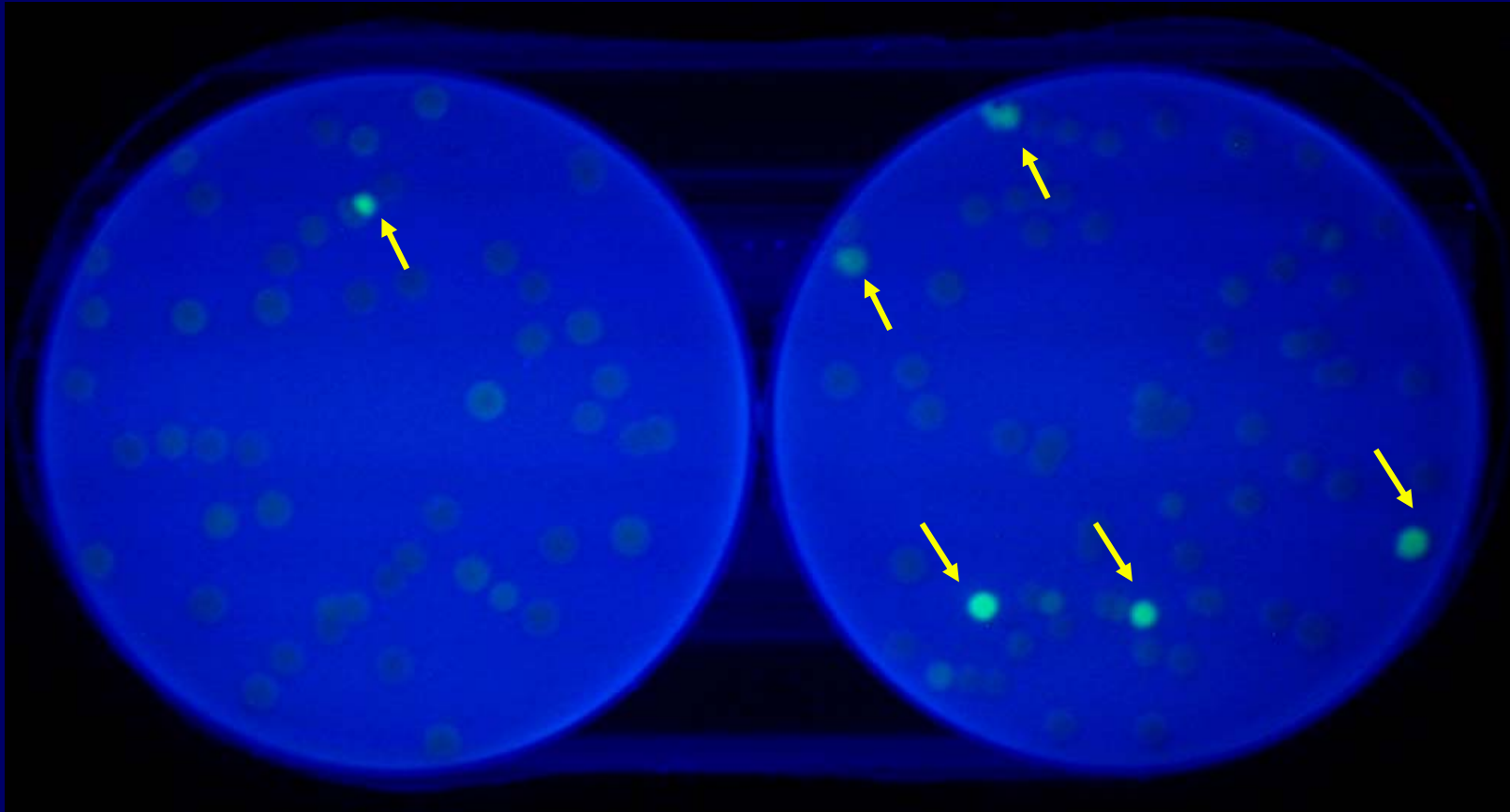
植物地上部病害の  
微生物殺菌剤

有用形質を組み合わせた新規生物農薬の開発戦略



# 宿主プロモーターの獲得法





ショットガンクローニングによって得られたクローン  
(矢印, ポジティブクローン)

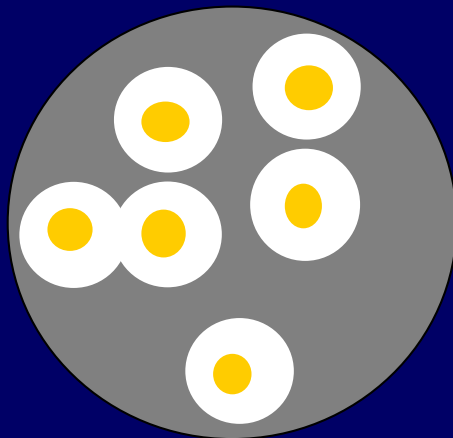
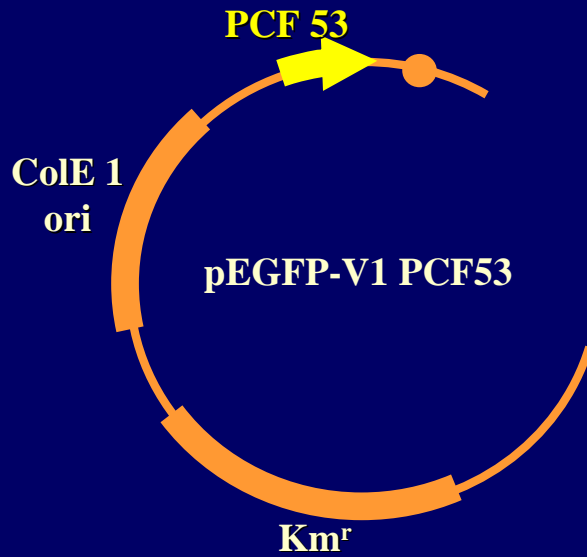
Alteromonas sp. 79401株由来

chi9

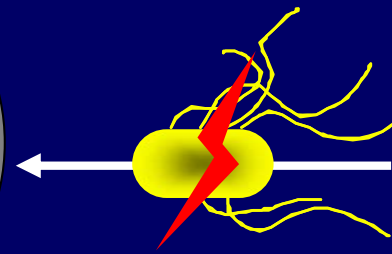
Serratia marcescens B2株由来

chiA

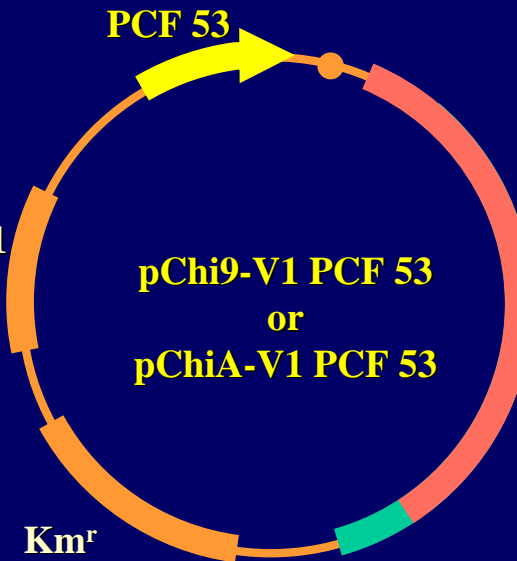
プロモータレスキチナーゼ遺伝子をクロニング



キチナーゼ活性を持つ組換え*E. ananas*を作出

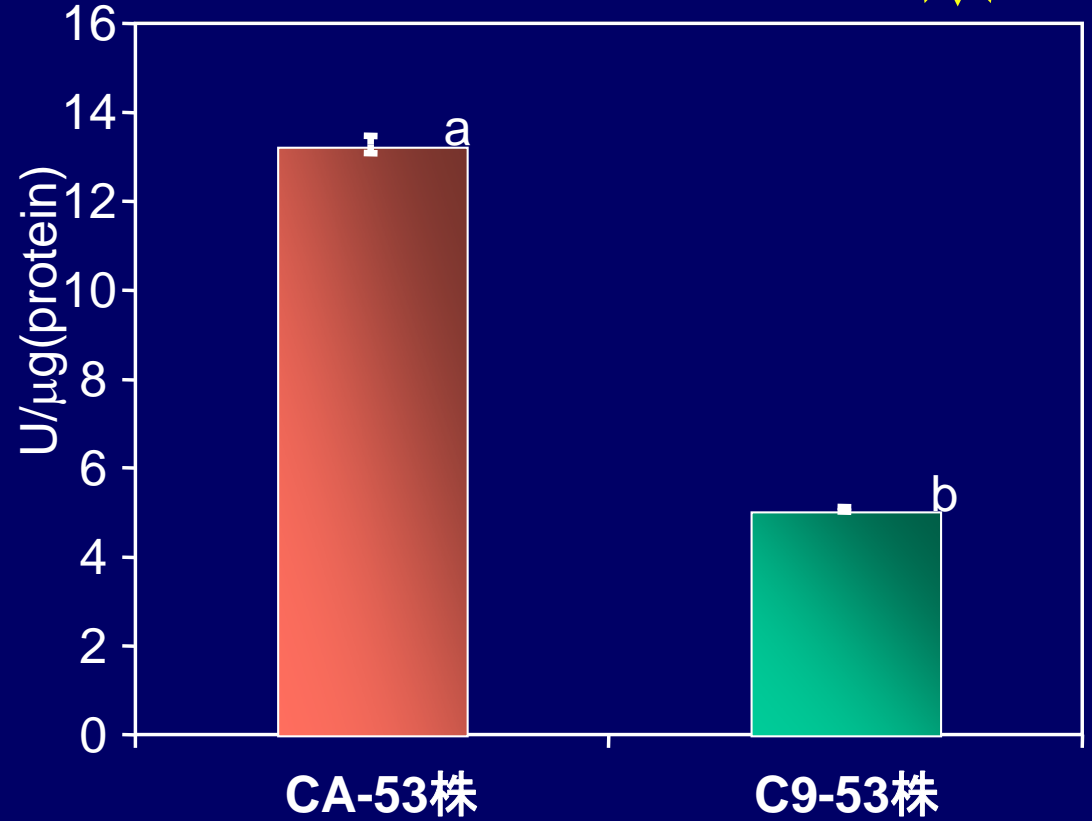
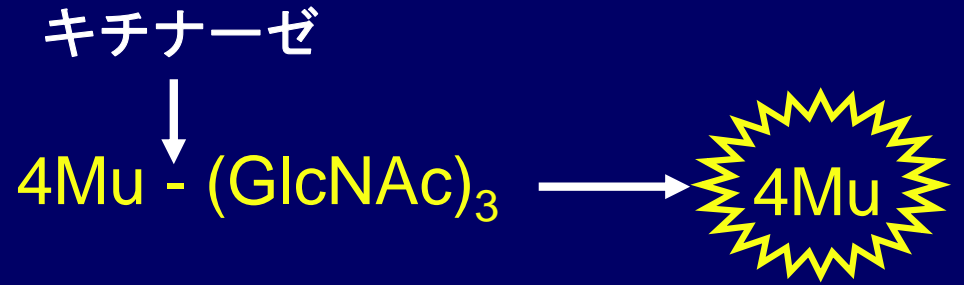
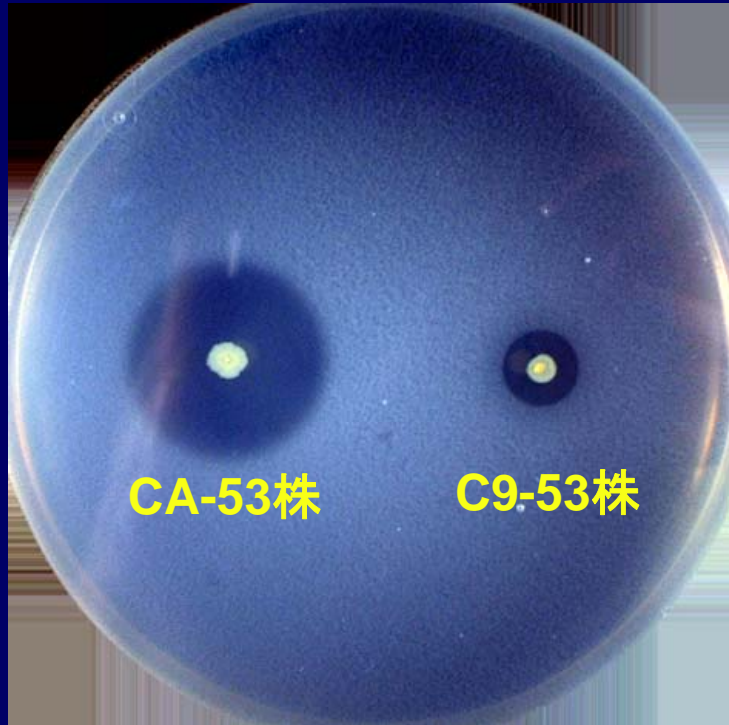


CoIE 1 ori

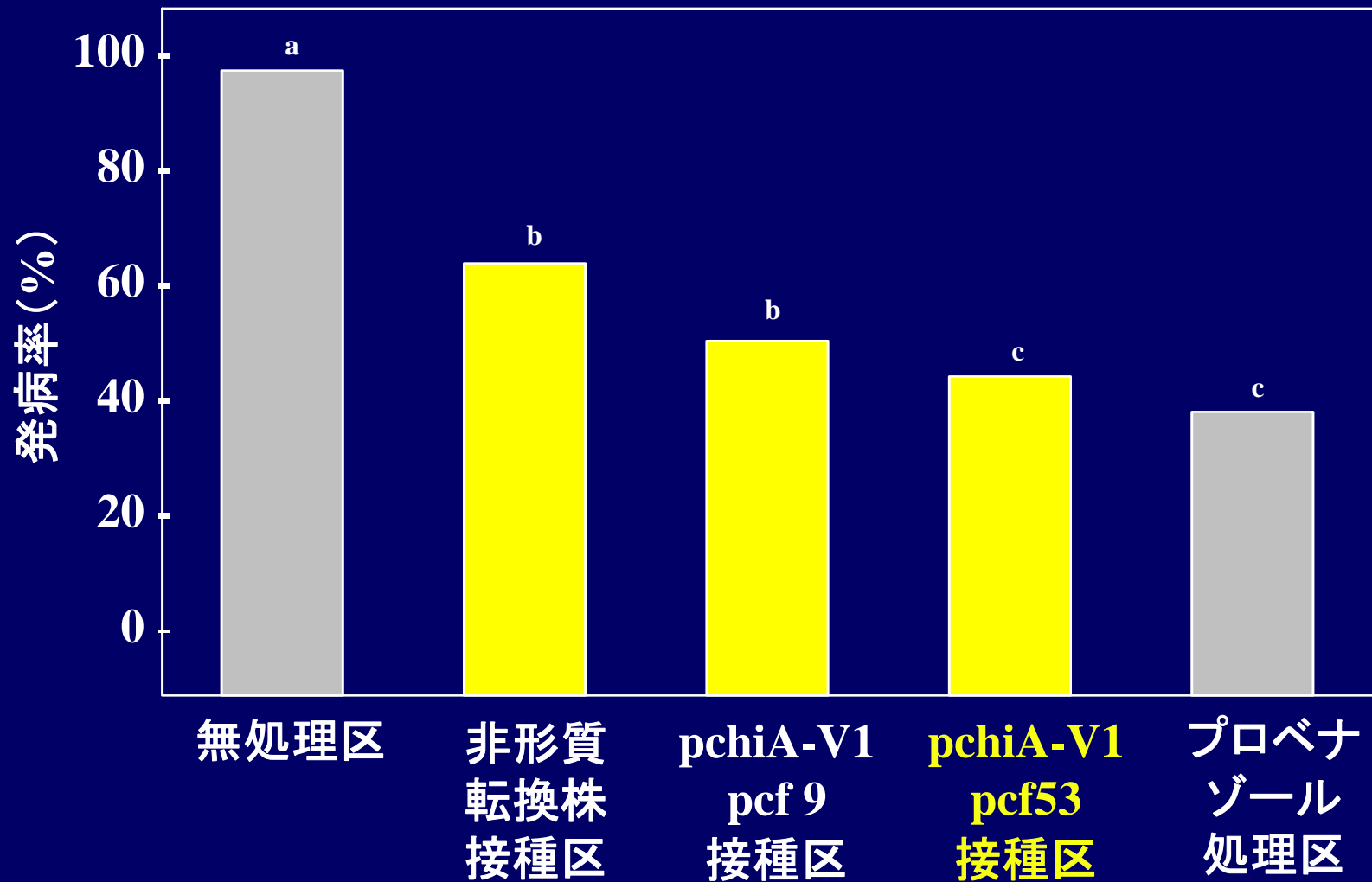


Chi9 or ChiA

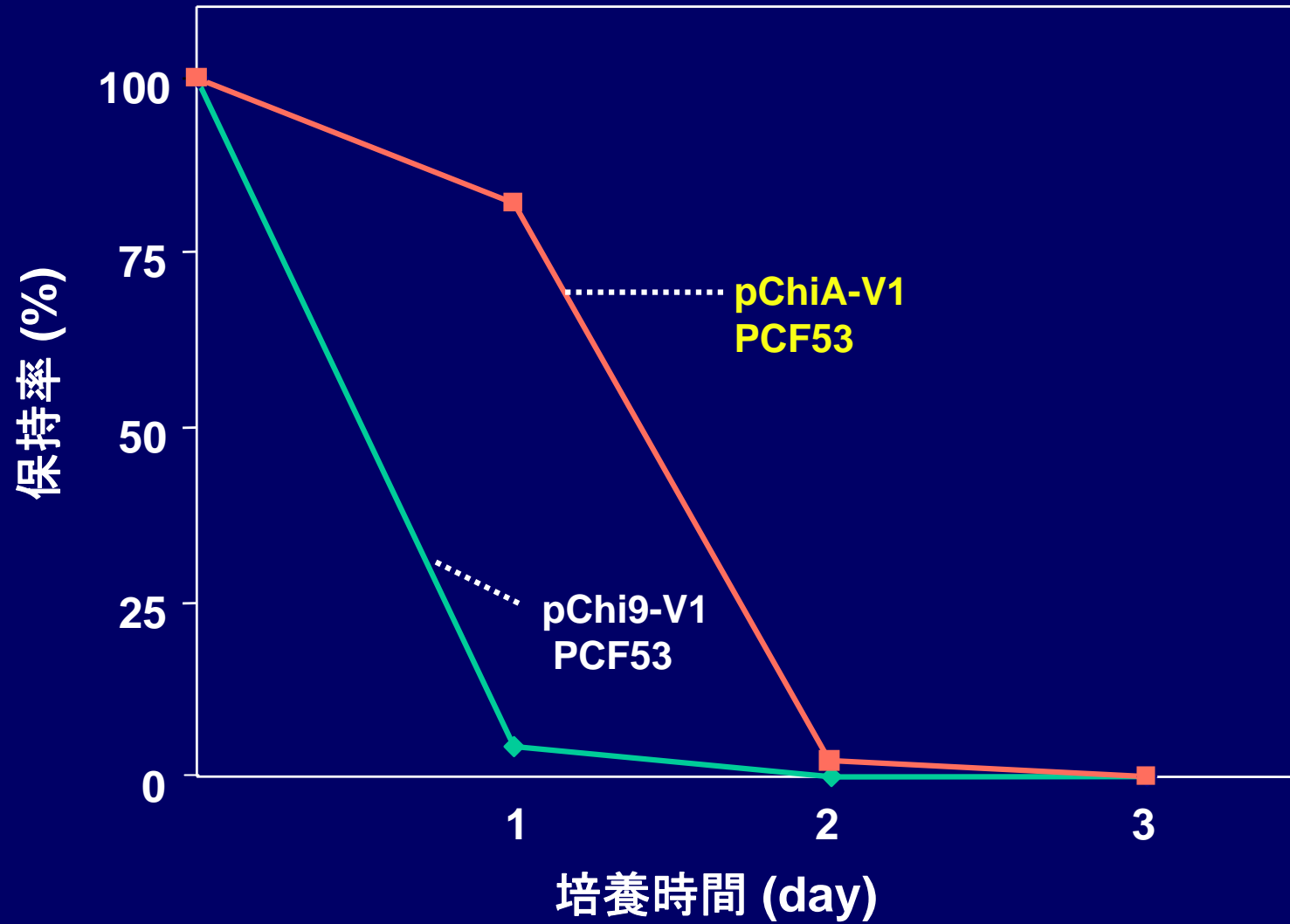
キチナーゼ遺伝子発現組換え細菌の作出



形質転換 *E. ananas* のキチナーゼ活性の比較



形質転換*E. ananas* NR1のイネいもち病防除効果



形質転換菌の導入遺伝子保持率

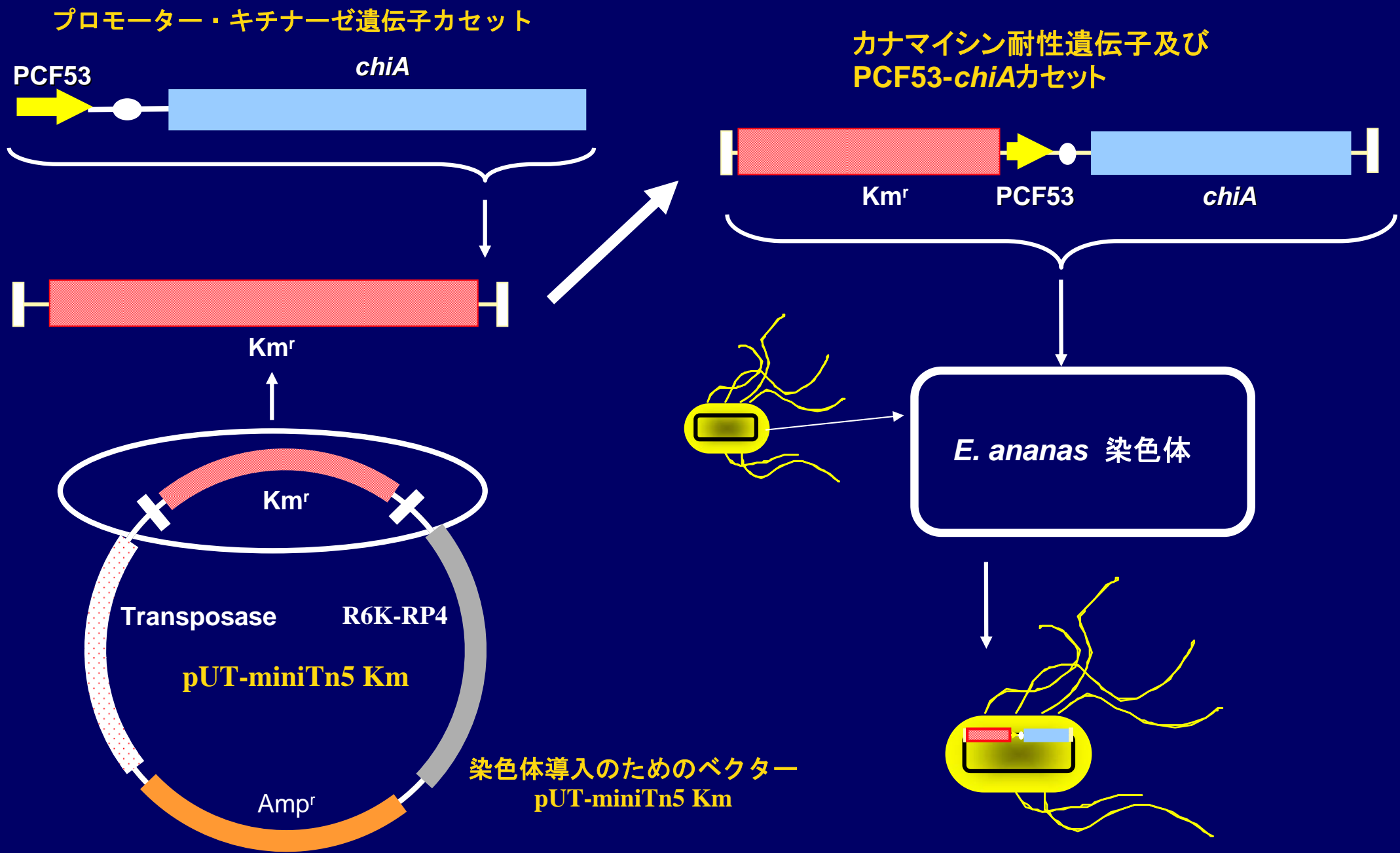
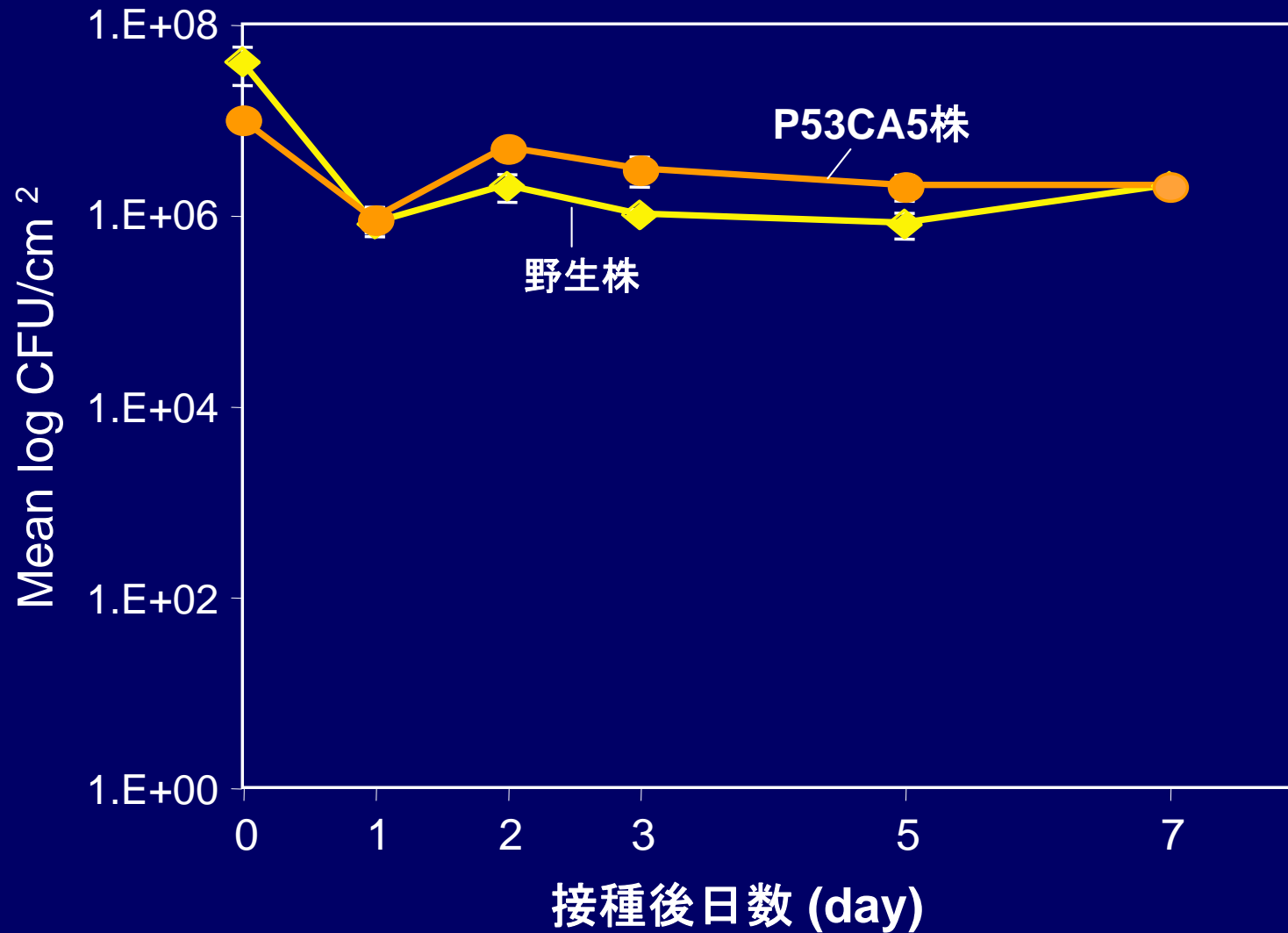


図 プロモーター・キチナーゼ遺伝子カセットの染色体導入



キュウリ葉面上での接種菌の菌数



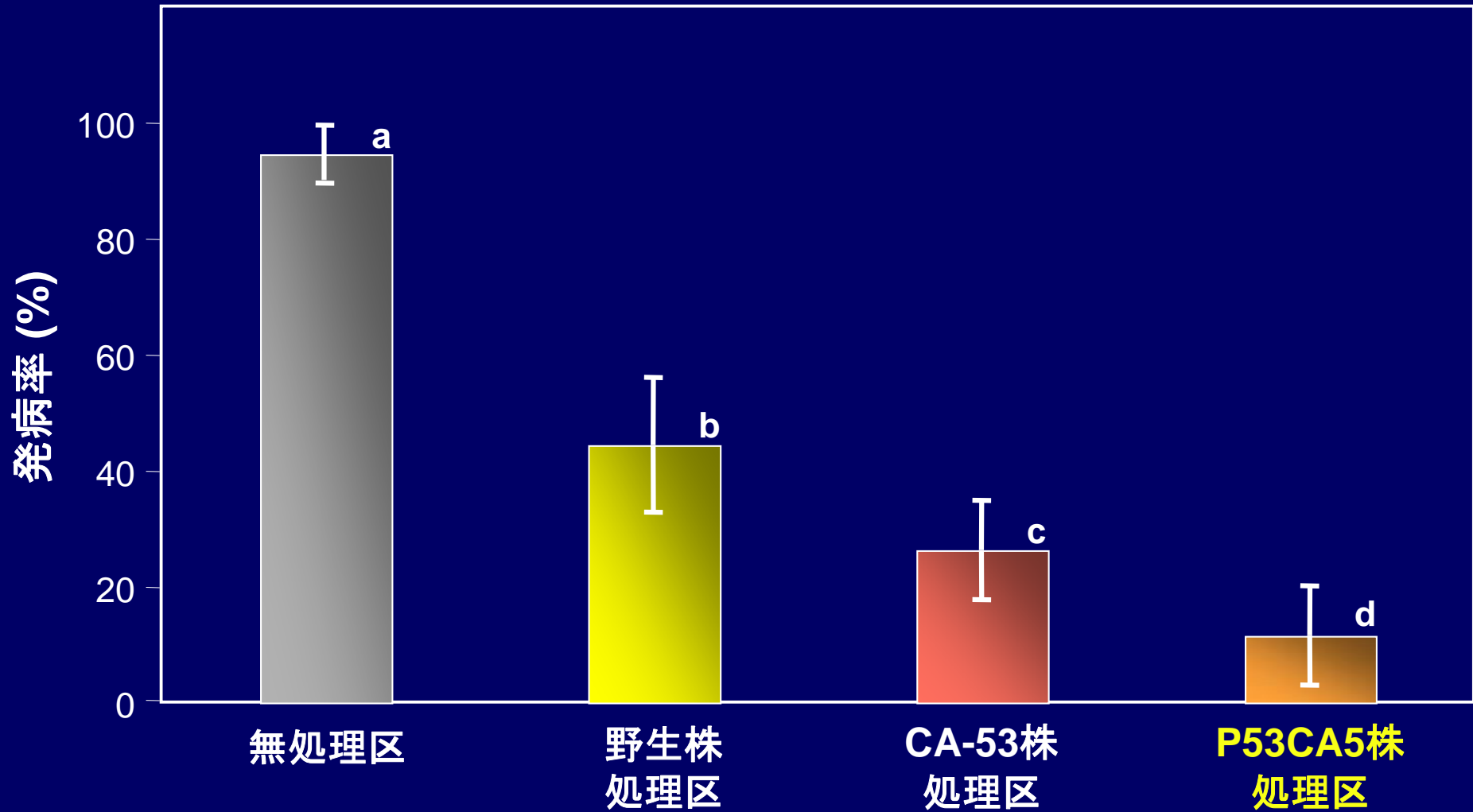
無処理区



P53CA5株

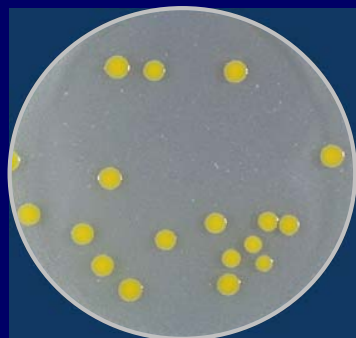
遺伝子染色体導入株によるキュウリ灰色かび病の防除効果





## キュウリ灰色かび病の防除

葉面細菌  
*E. ananas* NR-1

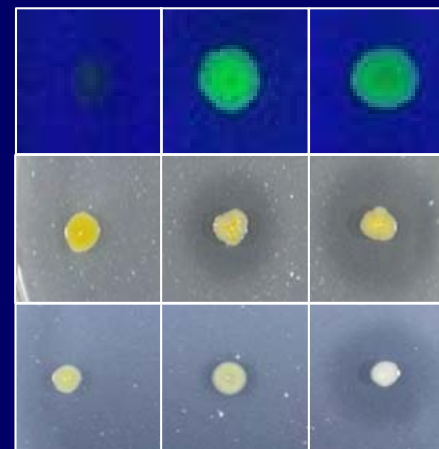


GFP発現

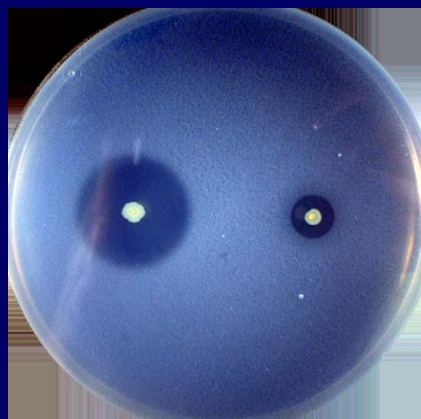
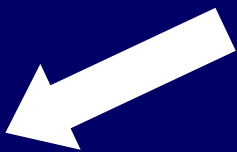
高栄養条件下  
キチナーゼ発現

低栄養条件下  
キチナーゼ発現

野生株 PCF 9 PCF 53



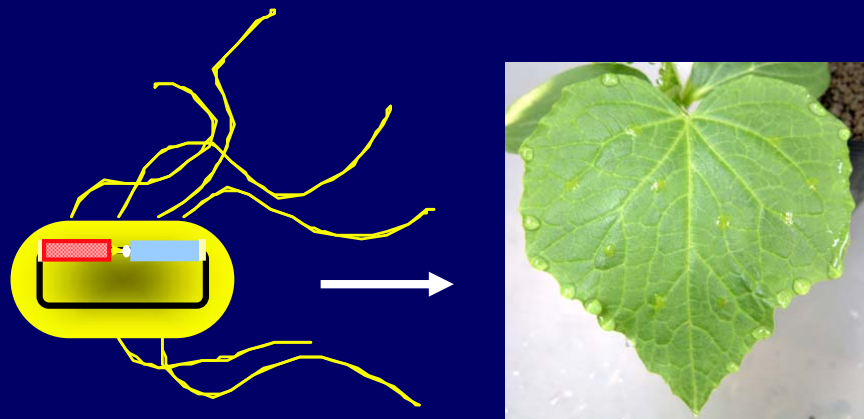
プロモーターの選抜



*chiA*

*chi9*

導入キチナーゼ遺伝子の選抜



- ・ 導入遺伝子の安定保持
- ・ 高発病抑制

導入遺伝子の染色体導入