

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：82626

研究種目：基盤研究(B) (特設分野研究)

研究期間：2019～2021

課題番号：19KT0015

研究課題名(和文) 自活線虫とバチルスが切り拓く病害虫防除の新たな可能性 生物農薬技術革新を目指して

研究課題名(英文) Possibilities for plant-parasitic nematodes control using free-living nematodes and Bacillus

研究代表者

黒田 恭平 (Kuroda, Kyohei)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・研究員

研究者番号：50783213

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、バチルス・自活線虫を用いた次世代生物防除技術開発に向けた基盤情報獲得を目的とし、(1) 植物寄生性線虫汚染圃場の実態解明、(2) バチルスによる防除機序の解明、(3) 自活線虫による防除機序の解明の3つの研究課題を実施した。結果、(1) レンコンネモグリセンチュウの診断技術開発とその病害発生機構の新規提案に成功、(2) バチルス等の二次代謝産物がレンコンネモグリセンチュウの運動性を抑制できることを発見し、これら微生物のゲノム情報獲得に成功、(3) バチルス・自活線虫優占化土壌改良資材を用いたカンショ栽培試験を行い、自活線虫がネコブセンチュウ密度を抑制する要因となることを示唆した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物寄生性線虫の防除法には、土壌燻蒸剤による土壌消毒や粒剤殺虫剤の全面散布などの農薬や還元消毒などが行われているが、コスト面のみならず環境汚染、生物多様性、ヒトの健康への影響から、新たな植物寄生性線虫の防除方法が求められている。本研究により防除機構を学術的に解明することで、バチルス・自活線虫を優占化させたコンポストや生物農薬の最適化・マニュアル化が可能となる。植物寄生性線虫被害を化学農薬ではなく、複合微生物を制御することにより防除するコンセプトは、世界中で普及可能な次世代農業資材となりうる。

研究成果の概要(英文)：The objectives of this study were to develop next-generation biological control technology using biocontrol bacteria (e.g., Bacillus) and free-living nematode. We have conducted three research themes to elucidate (1) disease causing mechanisms by plant-parasitic nematodes, (2) the biocontrol mechanisms by Bacillus and other bacteria, and (3) the biocontrol mechanisms by free-living nematodes. The major outcomes are (1) development of simple and accurate methods for lotus-parasitic nematode quantification using a qPCR-based molecular approach with lotus root DNA and proposal of the blackening mechanism of lotus tubers under the assumption of vivianite as a source of black spot minerals, (2) identification of secondary metabolites produced from Bacillus that can suppress the motility of plant-parasitic nematodes, and (3) free-living nematodes might be controlled plant-parasitic nematodes because omnivorous nematodes were specifically detected in the compost fertilized areas.

研究分野：環境微生物学

キーワード：バチルス 自活線虫 植物寄生性線虫 土壌改良資材 レンコン カンショ メタゲノム 二次代謝産物

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

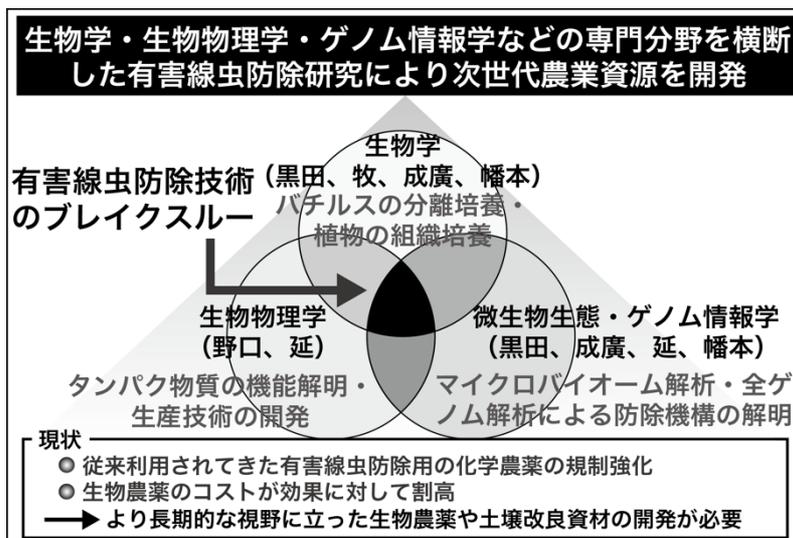
植物寄生性線虫による農作物の被害総額は1,000億 US ドルとも見積もられており、線虫剤の出荷金額は国内だけでも53億8千万円にのぼり、水稻殺虫剤の出荷金額に匹敵する (Oka et al., *Pest Manag Sci*, 56, 983-988, 2000; 水久保, 牧草と園芸, 第64巻第3号, 11-16, 2016)。植物寄生性線虫の防除法には、土壌燻蒸剤による土壌消毒や粒剤殺虫剤の全面散布などの農薬や還元消毒などが行われているが、コスト面のみならず環境汚染、生物多様性、ヒトの健康への影響から、新たな植物寄生性線虫の防除方法が求められている。我々の研究グループでは、し尿汚泥やバークなどを用いてバチルス・自活線虫を優占化させたコンポスト化技術で、根菜類の植物寄生性線虫による被害を抑制可能なことを見出している (青井, 第14回北大衛生工学シンポジウム論文集, 183-186, 2006; 蔵下ら, 土木学会論文集, 74(7), 255-264, 2018)。これは、バチルス由来の抗生物質生産と自活線虫による植物寄生性線虫の淘汰・捕食等が影響していると考えられるが、その防除機構は不明であり仮説の段階である。本研究により防除機構を学術的に解明することで、バチルス・自活線虫を優占化させたコンポストや生物農薬の最適化・マニュアル化が可能となる。植物寄生性線虫被害を化学農薬ではなく、複合微生物を制御することにより防除するコンセプトは、世界中で普及可能な次世代農業資材となりうる。

2. 研究の目的

本研究の最終目的は、世界で1,000億 US ドルの農作物の被害を出している植物寄生性線虫を、化学農薬に依らないバチルス属細菌・自活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、バチルス属細菌・自活線虫が優占化することにより植物寄生性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で、バチルス属細菌・自活線虫優占化土壌改良材の最適化・マニュアル化を行う。本研究の学術的独自性は、上述の仮説に (実圃場での実験で確認されている線虫抑制効果) について農学、工学、微生物学による分野横断型融合研究を実施することで、これまで誰も学術的に答えを出せなかった仮説を解き明かすことである (右下図)。本研究の創造性は、有用微生物であるバチルス属細菌が優占している未利用バイオマス (下水汚泥) に着目し、それを活用した土壌改良資材を開発することで、より高付加価値なバイオリサイクルを試みている点である。

本研究では、バチルス・自活線虫を用いた次世代生物防除技術開発に向けた基盤情報の獲得を目的とし、「(1) 植物寄生性線虫汚染圃場の実態解明」「(2) バチルスによる防除機序の解明」「(3) 自活線虫による防除機序の解明」の3つの研究課題を実施した。

本研究では、バチルス・自活線虫を用いた次世代生物防除技術開発に向けた基盤情報の獲得を目的とし、「(1) 植物寄生性線虫汚染圃場の実態解明」「(2) バチルスによる防除機序の解明」「(3) 自活線虫による防除機序の解明」の3つの研究課題を実施した。



3. 研究の方法

(1) 植物寄生性線虫汚染圃場の実態解明

Hirschmanniella diversa (レンコンネモグリセンチュウ) の防除効果を評価するための基盤整備として、*H. diversa* の系統・寄生関係の整理と *H. diversa* の定量技術の開発を行った。対象試料はレンコン栽培土壌と *H. diversa* の寄生箇所であるレンコン細根とし、DNA 抽出およびベルマン法による線虫密度の測定を行った。また、細根を採取したレンコンについては、黒皮線虫病被害程度を5段階で評価した。*H. diversa* 及び *H. imamuri* (イマムラネモグリセンチュウ) を標的とし、5.8S rRNA 遺伝子/ITS 領域を対象としたプライマーを用い、定量 PCR を行った。

レンコン黒皮線虫病の黒斑点形成機構を化学・微生物学的観点から解明するため、複数の圃場からレンコン及び栽培土壌を採取し、土壌の化学分析、表皮の分析型走査電子顕微鏡 (SEM-EDS) 観察、黒斑点の元素分析及び 16S rRNA 遺伝子解析を行った。16S rRNA 遺伝子解析には、イルミナ社の MiSeq シークエンサーを用いた。得られたデータは QIIME2 を用いて解析した。

(2) バチルスによる防除機序の解明

バチルスの生産する二次代謝産物が、植物寄生性線虫与える影響を評価するため、60 mm 径のシャーレに 0.5% の寒天とそれに *Bacillus* が産生する市販の抗生物質 (2, 20, 200 mg/L), Fosthiazate (60 mg/L), をそれぞれ所定の濃度で混ぜ合わせた培地を作製・固化させた後、シャーレ中心部に 4 期~成虫ステージの *H. diversa* (レンコンネモグリセンチュウ) 50~60 頭を放飼し、25°C で 36 時間培養した。36 時間後にシャーレ中心からの距離を 10 mm ごとに区分けし、各ゾーンの *H. diversa* 個体数をカウントすることで、各物質の制運動性評価を行った。

次に、バチルス属細菌・自活線虫優占化土壌改良材から *Bacillus* 属細菌の分離培養を行い、得られた分離株の代謝産物及び粗精製タンパク質を用いて上記の制運動性を評価した。*Bacillus* 属細菌の分離培養では、採取した試料を 4°C で 24 時間静置した後に 80°C, 30 分間の熱処理を行った後に、Nutrient broth 培地等を用いて単離を行った。

バチルス属細菌・自活線虫優占化土壌改良材中に存在する優占微生物の二次代謝産物などの植物寄生性線虫増殖抑制物質の生産能を評価するため、土壌改良材から DNA を抽出し、イルミナ社の NovaSeq6000 シークエンサーを用いたショットガンメタゲノム解析を行った。出力されたリードはクオリティトリミングを行った後、Megahit を用いたアセンブルを行い、その後、Metabat2 を用いた Binning 処理を行い、ドラフトゲノムを再構築した。ドラフトゲノムの機能は、Prokka や KEGG 等のアノテーションソフトウェア等を用いて行った。

(3) 自活線虫による防除機序の解明

自活線虫による防除機序の解明では、バチルス・自活線虫を優占化させた土壌改良資材を作製し、サツマイモネコブセンチュウ (*Meloidogyne incognita*) に感受性を示すコガネセンガンを対象とした栽培試験を行った。圃場には試験区①土壌改良資材無施用区 (0 t/10 a), ②土壌改良資材施用区 (1 t/10 a), ③土壌改良資材施用区 (3 t/10 a), ④殺線虫剤施用区 (ネマトリンエース (石原バイオサイエンス (株)) 20 kg/10 a) と 4 つの試験区を設置した。各試験区は 6 m × 8 m を 1 試験区 (48 m²) とし、1 日目に土壌改良資材を施用した。27 日目には、820 カンショ化成 (100 kg/10 a) とダイアジノン 5 (4 kg/10 a) を施肥し、ロータリーで深さ 20 cm 程度を耕耘後、1 試験区に 5 畝 (畝幅 90 cm, 株間 40 cm) 作り、試験区内のばらつきを抑えるために、他の試験区と隣接もしくは畦側の両端の畝を除いた中央の 3 畝を試験に使用した。1 畝 18 株 (両端と中央のそれぞれ 3 株は使用しない) から、栽培途中 (109 日目) に連続する 4 株、栽培後 (187 日目) に連続する 5 株を採取し、塊根重量、センチュウ被害状況を調査した。カンショ塊根の収量調査は、50 g 以下のカンショ塊根をくずイモとし、別に計測した。植付けは資材投入後 34 日目に行い、ウイルスフリー苗を用いた。

圃場から採取した土壌試料および土壌改良資材から DNA 抽出を行った。土壌試料は施用前 (土壌改良資材の施用日を 1 日目とした)、植付け前 (34 日目)、中間 (109 日目)、栽培後 (187 日目) に採取し、土壌改良資材は 1 日目の土壌改良資材施用前に一部採取した。4 回採取した土壌試料および土壌改良資材より得られた DNA 抽出物は原核生物の 16S/18S rRNA 遺伝子を対象としたプライマーセットで PCR 増幅を行い、イルミナ社の MiSeq シークエンサーを用いたシークエンス解析を行った。得られたデータは QIIME2 を用いて解析した。

各試験区の植物寄生性線虫密度の計測では、ベルマン法を用いて、土壌試料 20 g から落下してくる線虫をガラス管瓶に回収した (約 25°C で 3 日間ベルマン装置を静置)。また、*M. incognita* の Internal transcribed spacer (ITS) 領域を対象としたプライマーセットを用いて定量 PCR を行うことで、土壌中での *M. incognita* の増減を評価した。

4. 研究成果

(1) 植物寄生性線虫汚染圃場の実態解明

レンコン (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) の黒皮線虫病は、植物寄生性線虫である *H. diversa* および *H. imamuri* によって引き起こされることが知られている。この病害の程度を評価するために、レンコン肥大茎の表面状態に応じて線虫被害を 5 段階に分類する被害指標が提案されているが、この方法で正確に評価するにはかなりの経験が必要である。また、これら植物寄生性線虫の定量には、ベルマン法や土壌から抽出した DNA を用いた定量 PCR 法等が行われているが、これらの方法ではバラツキが大きく、正確に線虫密度の測定や圃場の被害程度の把握を行うことが難しい。そこで本研究では、*H. diversa* および *H. imamuri* がレンコンの細根に寄生・加害することに着目し、細根から抽出した DNA を用いた定量 PCR のマニュアルを提案した。*H. diversa* の密度と被害程度には強い相関関係が見られたが、*H. imamuri* には有意な相関が見られなかったことから、黒皮線虫の主要な原因線虫は *H. imamuri* ではなく *H. diversa* であることが分かった。加えて、*H. diversa* の経済的被害許容水準の提案にも成功した。

レンコン黒皮線虫の黒斑点形成機構を目的とした研究では、土壌化学分析と黒皮線虫病被害度との単回帰分析の結果、P₂O₅ や CaO 等の肥料・石灰成分は被害度と正の直線関係を示した (R² ≥ 0.5)。SEM-EDS 観察の結果、レンコン表皮の健全部と比較して黒斑点では Fe と P の集積が確認された。元素分析による Fe と P の定量を行った結果、黒斑点では P が健全部の 1.5 倍と有意 (p < 0.05) に多く、Fe も 2.7 倍の値を示した。加えて黒斑点には鉄還元細菌 *Georgfuchsia toluolica* に近縁な系統 (相同性 99%) が最も優占 (存在割合 25%) して存在することが確認された。得られた結果から、レンコン黒皮線虫の発生機構を新規提案した (次頁右上図)。これ

らの成果の一部は、国際誌の査読付論文として発表した (Kurashita and Kuroda *et al.*, Crop prot, 139, 105380, 2021; Kuroda and Kurashita *et al.*, Nematol Res, 51, 5-9, 2021; Kurashita *et al.*, Agronomy, 11(12), 2517, 2021)。

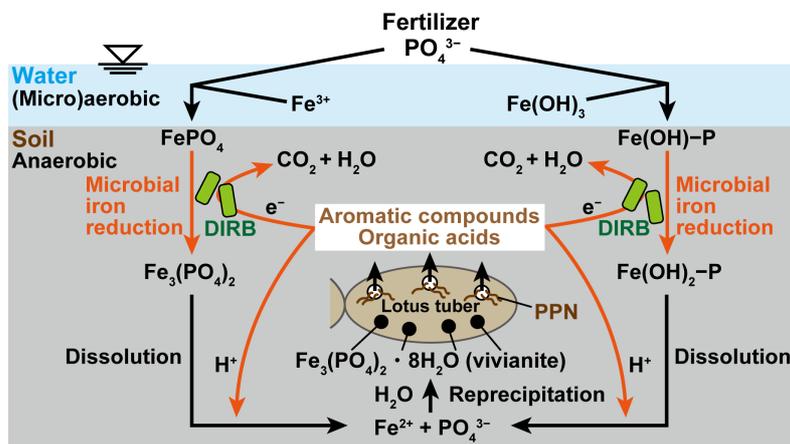
(2) バチルスによる防除機序の解明

Bacillus の産生する市販の抗生物質を用いて、*H. diversa* の制運動性試験を行った結果、殺線虫剤等の農薬成分である Fosthiazate と比較して、有意に高い制運動性効果が得られた。この結果から、*Bacillus* 属細菌の二次代謝産物は植物寄生性線虫の運動性を抑制できることが示唆された。我々の対象とするバチルス属細菌・自活線虫優占化土壌改良材に優占する *Bacillus* 等の細菌の分離培養を行った結果、合計 29 株の *Bacillales* 目細菌の分離培養に成功した。29 株中、土壌改良資材中で優占していた 3 株を選択し、これら分離株の培養液を用いた *H. diversa* の制運動性試験を行った結果、全ての株で有意な制運動性効果が得られた。培養液中の二次代謝産物の特定のため、酸、1-butanol やヘキサンをを用いたタンパク質の抽出・粗精製を行い、これを用いた制運動性試験を行ったが、制運動性効果は得られなかった。そのため、タンパク質の抽出・粗精製についてさらなる検討が必要であることが示唆された。

土壌改良資材のショットガンメタゲノム解析を行った結果、総シークエンス数 216 Gb より、高品質な 71 個 (11 門) のゲノムが得られた (右表)。全ての Bin の completeness の平均は 90.1%，contamination の平均は 3.89% であった。二次代謝産物生合成遺伝子の推定を行った結果、iturin や surfactin 等の合成酵素を含む Non-ribosomal peptide synthetases (NRPS) を有する遺伝子クラスターは合計で 38 (21 Bins) であり、これらは *Acidobacteriota* 等の 6 門に属していた。今後、NRPS で生合成される二次代謝産物の機能について評価していく必要があると考えられた。Blastp を用いて UniProt より取得した遺伝子との相同性検索を行った結果、相同性 30% 以上、e-value 1E-10 以下を示す遺伝子は serine protease, alkaline serine protease のみであり、それぞれ 32 (20 Bins), 37 (25 Bins) の遺伝子が同定された。そのうち、同じ活性部位周辺配列および Signal peptide を有する遺伝子は serine protease で 3 種類 (*Acidobacteriota*, *Bdellovibrionota*, *Actinobacteriota*)、alkaline serine protease で 1 種類 (*Actinobacteriota*) 同定された。本研究で同定された遺伝子はネコブセンチュウ等を含む線虫の表皮を構成するクチクラ層を分解可能な serine protease, alkaline serine protease と同じ活性部位を有し、比較的高い相同性 (30% 以上) を示しており、これら微生物群が土壌改良資材を施用した土壌中で植物寄生性線虫害抑制に関与できることが示唆された。本研究の成果は、複数の学会発表で報告しており、現在論文にまとめている段階である。

(3) 自活線虫による防除機序の解明

土壌改良資材の施肥効果を目的とした圃場の収量調査を行った結果、3 畝合計のカンショ塊根重量は、試験区間で大きな違いが見られなかった (右表)。また、サツマイモネコブセンチュウによるカンショの被害度調査を行い、根こぶ指数を評価した結果、試験区②、③の被害指数は① (50, 無処理区) と同程度でそれぞれ 50 と 51.7 であり、④ (殺線虫剤区) では 38.8 を示した。この結果より、土壌資材施用による根こぶ被害抑制効果は認められなかった。ベルマン法を用いて土壌 20 g のネコブセンチュウ密度を測定した結果、試験区①-④において、1 日目は 19-28 頭/20 g-土壌、187 日目は 65-419 頭/20 g-土壌を示した (次頁右上図)。187 日目において土壌改良資材を施用した試験区②および試験区③はそれぞれ 419 頭/20 g-土壌、214 頭/20 g-土壌であり、試験区①と同程度のネコブセンチュウ密度であった。また、試験区④の 6.4 倍 (試験区②)、3.3 倍 (試験区③) のネコブセンチュウ密度を示したことから、植物寄生性線虫の生育抑制には 3 t 以下の土壌改良資材施用では不十分だと考えられた。また、カンショ圃場の土壌



Phylum	binの数	coverage (X)	NRPS (bin)
Acidobacteriota	7	23-173	6 (2)
Actinobacteriota	25	25.3-658	15 (9)
Bacteroidota	2	229-609	
Bdellovibrionota	1	69.6	1 (1)
Chloroflexota	6	20-75.5	
Firmicutes	3	24.2-31.8	
Gemmatimonadota	2	27.3-49	
Myxococcota	1	29.1	
Patescibacteria	1	78.8	
Planctomycetota	3	29.9-432	5 (2)
Alphaproteobacteria	13	26.3-209	8 (5)
Gammaproteobacteria	7	22.1-859	3 (2)

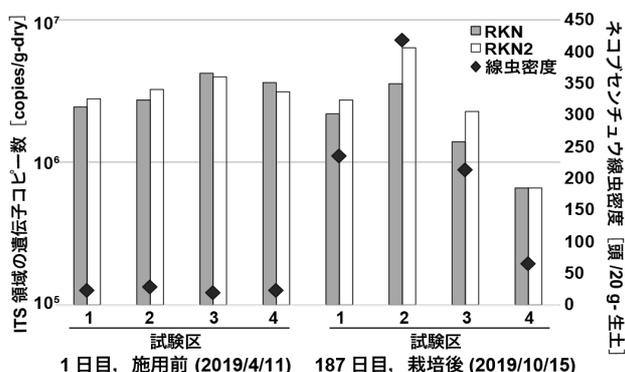
試験区	投入資材	資材施用条件 (kg/10 a)	カンショ収量(kg/15株)		根こぶ指数
			塊根重量	くずイモ重量 ³	
①	無	無	25 ± 21	0.20	50.0
②	土壌改良資材 ¹	1000	22 ± 8.4	0.30	51.7
③		3000	17 ± 0.3	0.24	50.0
④	殺線虫剤 ²	20	19 ± 0.6	0.20	38.8

¹ *Bacillales*・自活線虫優占化土壌改良資材

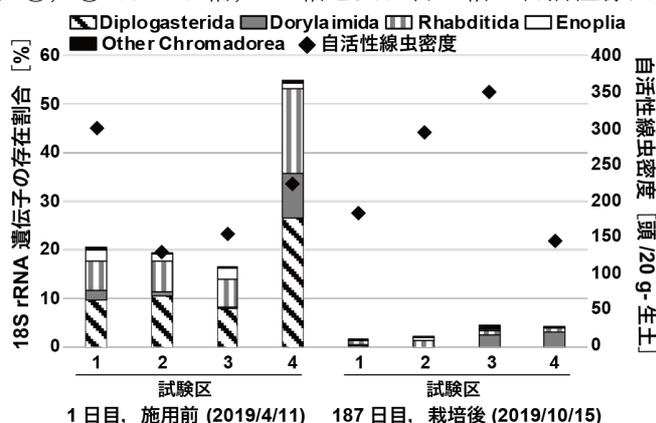
² ネマトリンエース (石原バイオサイエンス (株))

³ 50 g/株 以下のカンショ塊根をくずイモとした。

試料を採取し、ITS 領域の遺伝子を標的とした土壌中のサツマイモネコブセンチュウ (*M. incognita*) の定量を行った。その結果、1 日目と 187 日目における *M. incognita* の ITS 領域の遺伝子コピー数を比較すると、試験区①0.89 倍 (RKN) と 0.97 倍 (RKN2)、試験区②1.3 倍と 2.0 倍、試験区③0.33 倍と 0.57 倍、試験区④0.18 倍と 0.21 倍を示し、RKN と RKN2 の両方のプライマーセットで同様の増減パターンを示した。試験区③において ITS 領域の遺伝子コピー数が 0.33–0.57 倍、試験区④においてコピー数が 0.2 倍程度になった理由として、それぞれ土壌改良資材および殺線虫剤の効果が表れた可能性が考えられた。



カンショ圃場の 4 試験区より採取した土壌試料を対象とし、自活性線虫の検出を目的とした 18S rRNA 遺伝子解析および定量を目的としたベルマンによる自活性線虫密度の計測を行った。結果、試験区①、④では栽培 1 日目と 187 日目を比較すると、それぞれ 0.62 倍、0.65 倍を示した一方で、土壌改良資材を施用した試験区②、③では 1.9 倍、2.2 倍と共に約 2 倍の自活性線虫密度を示した (右図)。線虫群集構造解析の結果、各土壌試料から合計 392,711 リード (1 試料あたり 13,060–26,369 リード) の 18S rRNA 遺伝子配列を得た。土壌中の自活性線虫群集構造を評価するために、Chromadorea 綱での存在割合を解析した結果、187 日目における Dorylaimida 目線虫が試験区①0.20%、②0.04%、③2.58%、④3.35%であり、資材 3 t 施用区および殺線虫剤区において Dorylaimida 目線虫の存在割合が試験区①、②の約 12 倍を示した (右図)。試験区③で最も優占していた Dorylaimida 目線虫 (1.87%) は雑食性線虫として知られる *Microdorylaimus miser* に相同性 99% であるため、雑食性線虫あるいはその近縁である可能性が高く、土壌中の細菌以外にも糸状菌や植物寄生性線虫の捕食が期待される。187 日目における試験区④で優占している Dorylaimida 目線虫は雑食性線虫である *Aporcelaimellus obtusicaudatus* に相同性 100% であった。この系統は試験区④における 1 日目の存在割合が 6.58% であり、試験区④の元土壌において特異的に存在していた。Aporcelaimellus 属の一部の種 (*A. nivalis*) は *M. incognita* を捕食することが知られており、これら自活性線虫が優占化することで植物寄生性線虫を抑制可能な土壌改良ができる可能性が考えられた。本研究成果の一部は、「し尿汚泥を利活用した土壌改良資材施用によるカンショ栽培圃場の細菌・線虫群集構造変化」と題した論文にとりまとめ、国内誌の査読付論文として発表した (穂田ら, 土木学会論文集 G (環境), 76(7), 141–148, 2020)。



(4) まとめと今後の展望

本研究では、バチルス・自活線虫を用いた次世代生物防除技術開発に向けた基盤情報の獲得を目的とし、「(1) 植物寄生性線虫汚染圃場の実態解明」「(2) バチルスによる防除機序の解明」、「(3) 自活線虫による防除機序の解明」の 3 つの研究課題を実施し、レンコネモグリセンチュウやサツマイモネコブセンチュウを対象としたバチルスと自活線虫の防除機序に関する基礎的知見を得た。今後もこれらの基礎研究を継続すると同時に、廃棄物を活用した安定的な植物寄生性線虫害抑制のための安価で高付加価値な土壌改良資材の社会実装を目指した実学的研究も行き、循環型社会形成へ貢献していきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kuroda Kyohei, Kurashita Hazuki, Takagi Motonori, Narihiro Takashi, Hatamoto Masashi, Yamaguchi Takashi	4. 巻 51
2. 論文標題 Phylogenetic analyses of the lotus root parasitic nematodes <i>Hirschmanniella diversa</i> and <i>H. imamuri</i> based on the 18S ribosomal RNA (rRNA) gene and 5.8S rRNA gene/internal transcribed spacer region	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nematological Research (Japanese Journal of Nematology)	6. 最初と最後の頁 5~9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3725/jjn.51.5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kurashita Hazuki, Kuroda Kyohei, Maki Shinya, Sato Takeshi, Takagi Motonori, Goto Maki, Kariya Tetsuro, Hatamoto Masashi, Yamaguchi Takashi, Tomita Shun, Narihiro Takashi	4. 巻 11
2. 論文標題 Chemical and Microbial Characteristics of Blackening Disease in Lotus (<i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn.) Caused by <i>Hirschmanniella diversa</i> Sher	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Agronomy	6. 最初と最後の頁 2517~2517
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/agronomy11122517	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kurashita Hazuki, Kuroda Kyohei, Narihiro Takashi, Takagi Motonori, Goto Maki, Ikeda Shoji, Hirakata Yuga, Hatamoto Masashi, Maki Shinya, Yamaguchi Takashi, Aoi Toru	4. 巻 139
2. 論文標題 Accurate evaluation of blackening disease in lotus (<i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn.) using a quantitative PCR-based assay for <i>Hirschmanniella diversa</i> Sher and <i>H. imamuri</i> Sher	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Crop Protection	6. 最初と最後の頁 105380~105380
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cropro.2020.105380	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 前田稔太、川添未裕、大池達矢、野口太郎、幡本将史、牧慎也、山口隆司、黒田恭平	4. 巻 76
2. 論文標題 緑色凝灰岩の加工廃材がミニトマトとニンジンの収量、土壌化学性および土壌微生物性に与える影響評価	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 土木学会論文集G (環境)	6. 最初と最後の頁 III_337~III_348
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2208/jscej.76.7_III_337	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 穂田南海、蔵下はづき、島武男、村田岳、幡本将史、山口隆司、青井透、黒田恭平	4. 巻 76
2. 論文標題 し尿汚泥を利活用した土壌改良資材施用によるカンショ栽培圃場の細菌・線虫群集構造変化	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 土木学会論文集G (環境)	6. 最初と最後の頁 111_141 ~ 111_148
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2208/jscej.76.7_111_141	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 幡本将史、青井透	4. 巻 43(A)
2. 論文標題 下水汚泥と地域バイオマスを利用した枯草菌と自活性線虫豊富な土壌改良資材の生産	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 水環境学会誌	6. 最初と最後の頁 124 ~ 127
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 黒田恭平、蔵下はづき、幡本将史、青井透	4. 巻 3(14)
2. 論文標題 自活性線虫とBacillales目細菌を優占化させた廃棄物利用型の土壌改良資材	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 アグリバイオ 2019年12月臨時増刊号 (出版社: 株式会社 北隆館)	6. 最初と最後の頁 41 ~ 42
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 蔵下はづき、富田駿、成廣隆、幡本将史、山口隆司、黒田恭平
2. 発表標題 活性汚泥中に普遍的に存在するMyxococcota門細菌の生態及び二次代謝産物生合成関連遺伝子の解析
3. 学会等名 第56回日本水環境学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 蔵下はづき, 幡本将史, 山口隆司, 穉田南海, 野口太郎, 島武男, 村田岳, 田淵宏朗, 青井透, 成廣隆, 黒田恭平
2. 発表標題 し尿汚泥土壌改良資材から見出す植物寄生性線虫害抑制に関する複合微生物群の探索
3. 学会等名 土木学会第76回年次学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 蔵下はづき, 牧慎也, 佐藤剛, 高木素紀, 後藤万紀, 假屋哲朗, 幡本将史, 山口隆司, 富田駿, 成廣隆, 黒田恭平
2. 発表標題 レンコン黒皮線虫病の黒斑点発生機構解明に向けた化学・微生物学的解析
3. 学会等名 2021年度日本線虫学会大会 (第28回大会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 前田稔太, 大池達矢, 野口太郎, 幡本将史, 牧慎也, 山口隆司, 成廣隆, 黒田恭平
2. 発表標題 緑色凝灰岩の施用がミニトマト栽培土壌団粒および根圏微生物群集構造に与える影響評価
3. 学会等名 日本微生物生態学会第34回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 黒田恭平, 成廣隆
2. 発表標題 未利用バイオマス資源を用いた作物病害生物の微生物学的制御
3. 学会等名 第19回 産総研・産技連LS-BT合同研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名	Hazuki Kurashita, Motonori Takagi, Maki Goto, Tetsuo Kariya, Masashi Hatamoto, Takashi Yamaguchi, Kyohei Kuroda
2. 発表標題	Estimation of nematodes community structures and soil chemical characteristic involved in blackening and deformation disease of lotus (<i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn.) caused by plant-parasitic nematodes
3. 学会等名	International Conference of "Science of Technology Innovation" in Nagaoka (5th STI-Gigaku 2020) (国際学会)
4. 発表年	2020年

1. 発表者名	Ryota Maeda, Suzuka Yamada, Tatsuya Ohike, Taro Noguchi, Masashi Hatamoto, Shinya Maki, Takashi Yamaguchi, Kyohei Kuroda
2. 発表標題	Evaluation of green tuff supplementation effect into soil microorganisms using batch cultivation test
3. 学会等名	International Conference of "Science of Technology Innovation" in Nagaoka (5th STI-Gigaku 2020) (国際学会)
4. 発表年	2020年

1. 発表者名	蔵下はづき, 延優, 中原望, 野口太郎, 幡本将史, 成廣隆, 山口隆司, 青井透, 黒田恭平
2. 発表標題	し尿汚泥土壌改良資材の優占微生物群が保持する植物寄生性線虫害抑制関連遺伝子の探索
3. 学会等名	第55回日本水環境学会年会
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	蔵下はづき, 池田匠児, 幡本将史, 山口隆司, 青井透
2. 発表標題	未利用資源を用いた自活性線虫優占化堆肥における線虫群集構造解析
3. 学会等名	第38回土木学会関東支部新潟会研究調査発表会
4. 発表年	2020年

1. 発表者名 蔵下はづき, 池田匠児, 平片悠河, 高木素紀, 幡本将史, 牧慎也, 山口隆司, 青井透, 黒田恭平
2. 発表標題 Bacillales目細菌および自活性線虫を優占化させた土壌改良資材施用効果の分子生物学的解析
3. 学会等名 日本微生物生態学会 第33回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 蔵下はづき, 高木素紀, 後藤万紀, 平片悠河, 幡本将史, 山口隆司, 黒田恭平
2. 発表標題 形態学的同定に依らない18S rRNA遺伝子配列情報に基づいた網羅的線虫群集構造解析方法の開発
3. 学会等名 第54回日本水環境学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 穂田南海, 蔵下はづき, 新島二葉, 幡本将史, 山口隆司, 青井透, 鈴木崇之, 村田岳, 島武男, 黒田恭平
2. 発表標題 し尿汚泥を用いた土壌改良資材によるカンショ栽培実圃場の細菌・線虫群集構造変化
3. 学会等名 第54回日本水環境学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 池田匠児, 幡本将史, 渡利高大, 牧慎也, 山口隆司, 青井透
2. 発表標題 下水汚泥を用いたバチルス属細菌と自活性線虫を豊富に含む土壌改良資材の開発
3. 学会等名 令和元年度土木学会全国大会 第74回年次学術講演会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	成廣 隆 (Narihiro Takashi) (20421844)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・研究グループ長 (82626)	
研究分担者	幡本 将史 (Hatamoto Masashi) (20524185)	長岡技術科学大学・工学研究科・准教授 (13102)	
研究分担者	延 優 (Nobu Masaru) (40805644)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・主任研究員 (82626)	
研究分担者	牧 慎也 (Maki Shinya) (80413855)	長岡技術科学大学・工学研究科・准教授 (13102)	
研究分担者	野口 太郎 (Noguchi Taro) (90615866)	都城工業高等専門学校・物質工学科・准教授 (57601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------