

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

主論文の要旨

論文題目 フザリウム共培養法による土壌病害の発病抑止性の
評価に関する研究
氏名 三星 暢公

論文内容の要旨

作物生産圃場では土壌病害による収量低下が減収に直結するため問題となっている。土壌病害は、その症状が確認された後の対策は限られており、発症した作物体を圃場外へ除去したとしても病害の発生源を完全に取り除くことは困難である。そのため、作付け前に土壌病害の発生予測と診断ができれば過剰な消毒等の作業による手間とコストを削減できると考えられる。

「発病抑止土壌」は土壌の病原菌密度が比較的高くても発病が抑えられ、発病抑止性の要因として化学的要因とともに生物的要因が示されている。土壌の発病抑止性の評価は作物の栽培試験により発病を確認する必要があるが、煩雑な上、判断できるまでに時間を要するため、作物の作付け前の土壌病害対策の実施が必要であることを考えると、予測・診断法として実際の農家圃場へ適用するのは困難である。そのため、短時間で簡便に土壌の発病抑止性を評価できる方法が必要である。栽培作物ごとに土壌の化学性の診断基準はあるが土壌の生物性は化学性のような明確な基準がなく、本研究では土壌の生物性に着目する。作物生産圃場における土壌の生物性の診断項目には土壌中の病原菌、糸状菌、細菌および放線菌の密度やバランス、微生物群集の多様性および土壌酵素活性などがあるが土壌の発病抑止性を直接評価しているわけではない。このような土壌生物性診断では特定の微生物や病原菌を直接または間接的に評価しており、一つの項目だけでは発病抑止性を評価できないと考えられる。

土壌病害の中でもフザリウムによる病害は被害を受ける作物の種類が多く、防除が困難である。一方で、フザリウムに対する発病抑止性として、例えば拮抗菌、孢子への付着菌による溶菌作用および増殖阻害物質の産生などが示されている。しかし、作物生産圃場における土壌診断として、土壌中の微生物の活性や競合などのそれぞれの要因の全てを個々に評価することは難しいため、土壌の生物性に関わる実用的な診断方法はないのが現状である。

本研究では、作物生産圃場における土壌病害の発病抑止性に関わる生物性の評価法を検討し、評価法の有用性を明らかにすることを目的とした。具体的には土壌の懸濁液とフザリウムを寒天平板培地上で培養すること（フザリウム共培養法）により、土壌中の微生物によるフザリウムの増殖抑制程度を簡便に評価する方法を検討した。

1. 病原性フザリウムの共培養による土壌病害の発病抑止性に関わる土壌生物性の評価法の検討

作物栽培前の予防的措置実施のために実用的な土壌の発病抑止性の評価法を検討することを目的として、土壌懸濁液とフザリウムを共培養し、土壌中の微生物によるフザリウムの増殖抑制程度を簡便に評価する方法（フザリウム共培養法）を検討した。有機質肥料または土壌の懸濁液の希釈液を接種した寒天プレートの中央にフザリウムの培養寒天片を置き、約1週間培養後、プレート上に形成されたフザリウムのコロニーの増殖程度を調査した。フザリウム増殖程度はコロニーの面積および伸長程度で評価した。伸長程度の評価では面積の評価と比較して土壌懸濁液の希釈段階によって緩やかに値が変化し、拮抗菌によるフザリウムの菌糸の伸長抑制をより詳細に評価できると考えられた。フザリウム共培養法で有機質肥料を評価したところ、有機質肥料間でフザリウム増殖程度に差が認められ、有機質肥料の評価法としてフザリウム共培養法が有用であると考えられた。有機質肥料を施用した土壌では施用直後にはフザリウム増殖程度に差は認められなかったが、ハウレンソウ萎凋病菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *spinaciae*) の接種試験後の土壌では微生物資材施用区 (10 t) でフザリウム増殖程度が低下した。ハウレンソウ萎凋病菌の接種試験による発病度とフザリウム共培養法によるフザリウム増殖程度との間に有意な相関関係が示されたことから、有機質肥料および土壌のフザリウムに対する発病抑止性の評価にフザリウム共培養法が適用できる可能性が示唆された。

2. 発病抑止性を示す有機物連用圃場の土壌のフザリウム共培養法による発病抑止性の評価

有機質肥料を施用した土壌のポット規模での試験で病原菌接種試験による発病度とフザリウム共培養法によるフザリウム増殖程度との間に相関関係が示された。しかし、実際に生産活動が行われている圃場での評価を行っていないため、圃場土壌を用いて発病抑止性の評価にフザリウム共培養法が適用可能かを明らかにする必要がある。有機質肥料の施用により発病抑止性を示すことが知られており、土壌の生物性が発病抑止性の要因に関わっていると考えられている。2カ所の長期の有機物連用を行っている試験圃場の土壌を対象に発病抑止性をフザリウム共培養法により評価した。コーヒーク堆肥およびなたね油かすを連用した土壌ではハウレンソウ萎凋病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *spinaciae*) およびレタス根腐病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *lactucae*) の接種によりハウレンソウおよびサラダナの発病度が低く発病抑止性が示された。これらの土壌の懸濁液中の微生物をフザリウム共培養法により評価した。それぞれのフザリウム病菌の増殖程度は低い値を示したことにより、本方法によるフザリウム増殖程度は土壌中の微生物による発病抑止性を評価する指標になると考えられた。また、

ハウレンソウ萎凋病の病原菌接種試験による発病度とフザリウム共培養法によるフザリウム増殖程度との間に相関関係が示された。以上より、フザリウム共培養法は有機物連用圃場の土壌のハウレンソウ萎凋病菌に対する発病抑止性の評価に適用可能であると考えられた。

3. フザリウム共培養法による作物生産圃場の土壌の発病抑止性の評価

有機質肥料を施用した土壌および有機物連用圃場の土壌においてハウレンソウ萎凋病菌に対する発病抑止性の評価にフザリウム共培養法が適用可能であると考えられた。これらは一種類の土壌へ異なる処理をした場合の土壌の発病抑止性の違いを評価したものであり、土壌の種類、栽培作物および管理方法が多様である作物生産圃場の土壌の調査は行っていない。そのため、作物生産圃場の土壌の発病抑止性の評価にフザリウム共培養法が適用可能であるかを検討することを目的として、全国各地 75 点の作物生産圃場より採取した土壌のフザリウム増殖程度を評価した。作物生産圃場の土壌のフザリウム増殖程度は様々な値を示した。さらに、フザリウム増殖程度の異なる 14 点の土壌についてハウレンソウ萎凋病の病原菌接種試験を行い、発病度とフザリウム増殖程度との関係を調査した。発病度とフザリウム共培養法によるフザリウム増殖程度との間に相関関係が示されたことから、作物生産圃場の土壌においてもハウレンソウ萎凋病の発病抑止性の評価にフザリウム共培養法が適用可能であると考えられた。また、フザリウム増殖程度の値に影響を及ぼす土壌の化学性および微生物性解析した。フザリウム増殖程度には複数の土壌の化学性および微生物性の項目が関わっており、その程度も土壌により様々に異なっていた。したがって、特定の化学性や微生物性の項目あるいはそれらの組み合わせによりフザリウム増殖程度を統一的に予測することはできないと考えられた。そのため、作物生産圃場の土壌の発病抑止性の評価にはフザリウム共培養法による評価が必要であると考えられた。

以上の結果より、土壌の発病抑止性に関わる土壌生物性評価法としてフザリウム共培養法の有用性が明らかになった。まず、土壌懸濁液の希釈段階ごとにフザリウムのコロニーの伸長程度を評価することで土壌中の微生物によるフザリウムの増殖抑制のわずかな差および土壌中の拮抗菌によるフザリウムの菌糸の伸長抑制を評価できると考えられた。有機質肥料を施用した土壌、有機物連用試験圃場および土壌の種類、栽培作物および管理方法が様々に異なる作物生産圃場の土壌について、ハウレンソウ萎凋病の病原菌接種試験による発病度とフザリウム共培養法によるフザリウム増殖程度との間に相関関係が示された。そのため、フザリウム共培養法により評価したフザリウム増殖程度はハウレンソウ萎凋病に対する土壌の発病抑止性の指標として用いることができると考えられた。一方、非生物的な要因による発病抑止性の評価ができないこと、および対象とする作物ごとに共培養する病原菌の種類を変える必要があると考えられる点には注意する必要があることも明らかとなった。

以上より、作物生産圃場におけるハウレンソウ萎凋病に対する土壌の発病抑止性の生物的要因の簡便な診断評価法としてのフザリウム共培養法の有用性を示すことができた結論した。