

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 三星 暢 公

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

### 論文審査担当者

主 査	名古屋大学教授	浅 川	晋
委 員	名古屋大学教授	柘 植	尚 志
委 員	名古屋大学准教授	村 瀬	潤
委 員	名古屋大学講師	渡 邊	健 史
委 員	名古屋大学助教	佐 藤	育 男

## 論文審査の結果の要旨

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除去することは困難である。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。

土壌の病原菌密度が比較的高くても発病が抑えられる「発病抑止土壌」が知られている。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。したがって、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・診断法として作物の栽培試験を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の開発が望まれている。発病抑止性の要因として土壌の化学性ととともに多くの場合土壌の生物性が関与することが示されている。土壌の化学性については栽培作物ごとに診断基準が定められているが、土壌の生物性には化学性のような明確な基準がない。土壌病害に関連した土壌生物性の測定項目は土壌中の病原菌、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様々であるが、これらの測定では特定の微生物や病原菌あるいは微生物群集全体を直接または間接的に評価しており、土壌の発病抑止性を直接評価しているわけではない。また、発病抑止性に関わる土壌中の微生物の作用は拮抗・競合など多種多様であり、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、土壌の発病抑止性に関わる生物性の実用的な診断方法はないのが現状である。

本研究では、被害を受ける作物の種類が多く防除が困難な土壌病害であるフザリウム病害を対象として、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新たな評価法を考案した。その適用性を検討することにより、考案した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ポット、試験圃場、農家圃場の土壌を対象に検討した。

1) 土壌の懸濁液とフザリウムを寒天平板培地上で共培養し、フザリウムの増殖抑制程度を測定するフザリウム共培養法の手法について検討するとともに、有機質肥料および有機質肥料を施用した土壌に適用し、その有用性を確認した。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。

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、ホ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 ha<sup>-1</sup>) でフザリウム増殖程度が低下した。また、ホ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。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) 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場合が多いと考えられている。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、病原菌接種試験により発病抑止性を、フザリウム共培養法によりフザリウム増殖程度を評価した。コーヒー粕堆肥およびなたね油かすを連用した土壌では、ホ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*) の接種によりホ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。これらの土壌では、フザリウム共培養法により測定したフザリウム病菌の増殖程度は低い値を示した。そのため、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。さらに、ホ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ホ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) 土壌の種類、栽培作物および管理方法が多様である農家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フザリウム共培養法により評価した。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 点の土壌についてホ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ホ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を解析した。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、その程度は土壌により様々に異なった。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フザリウム増殖抑制程度はフザリウム共培養法により評価を行

う必要があると考えられた。

これらの結果から、土壤の発病抑止性に関わる土壤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、土壤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壤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壤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。さらに、有機質肥料を施用した土壤、有機物連用試験圃場および土壤の種類、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壤について、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壤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ことには注意が必要であることも明らかとなった。

以上より、本研究では、作物生産圃場におけるハウレンソウ萎凋病に対する土壤の発病抑止性の生物的要因の簡便な診断評価法としてフザリウム共培養法を新たに考案し、その有用性を明らかにした。これらの成果には新規性と独自性の観点から高い学術的価値が認められ、さらに、土壤病害の発生予測と診断へ本研究の知見が活用されることが期待される。以上の成果は、土壤微生物学および植物病理学の発展に大きく貢献するものであり、当審査委員会は、本論文が博士（農学）の学位を授与するに十分な価値があるものと認め、合格と判定した。

## 試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 第	号	氏名	三星 暢公
試験担当者	主査 浅川 晋 副査 柘植 尚志、村瀬 潤、渡邊 健史、佐藤 育男			
<p>(試験の結果の要旨)</p> <p>平成29年 8月 7日学位審査委員会において、主論文の内容を中心としてこれに関連する科目の学識および研究能力について試問し審査した結果、合格と判定した。</p>				