

氏名(本籍)	小 ^こ 山 ^{やま} 修 ^{おさむ} (千葉県)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	博甲第4347号
学位授与年月日	平成19年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目	土壌診断と拮抗微生物によるジャガイモそうか病制御技術に関する研究

主査	筑波大学教授	農学博士	松本 宏
副査	筑波大学教授	農学博士	内山 裕夫
副査	筑波大学教授	工学博士	向高 祐邦
副査	筑波大学助教授	農学博士	青柳 秀紀

論文の内容の要旨

ジャガイモそうか病はジャガイモ塊茎表面に暗褐色の直径1cm程度のコルク化した病斑が多数現れる極めて防除の困難な植物病害の一つであり、世界的に大きな問題となっている。我が国でも1980年代前半から過度の連作や有機物・化学肥料の多肥用によって各地でそうか病が多発傾向にあり、その経済的損失はジャガイモ生産者にとって極めて深刻である。そうか病の防除方法は、人体に極めて有害なクロロピクリン等の農薬(土壌燻蒸剤)による防除を主体としている。クロロピクリンは空気より比重が重く、人畜に有害であることから、使用地域や使用回数に制限がある。このため、人畜や周辺環境に優しいエコ・フレンドリーな新規防除対策が切望されている。本研究はこのような背景を踏まえて、ジャガイモそうか病の土壌診断と拮抗微生物による病除法の研究に取り組んだ。

第一ステップとして、そうか病の発病原因の調査を行った。そうか病の診断ツールとして、competitive QP-PCR法を用いて、被害圃場から採取した土壌サンプルのそうか病関連遺伝子である *nec1* 遺伝子のコピー数を測定した。その結果、土壌中の *nec1* コピー数と発症率とはかなり高い相関 ($R^2=0.9033$) があることが明らかとなった。更に、*nec1* のコピー数が 10^3 コピー以下では、発病率が低下することが分かった。次に competitive QP-PCR法により、そうか病発病因子を解析した。見かけ状病斑のついていない種イモからそうか病遺伝子 *nec1* 遺伝子が検出された。種イモ経路による病原菌の畑への持ち込みはこれまで一定した見解が得られていなかった。しかし、今回の結果は、見かけ上健全な種イモ表面にそうか病菌が存在することを証明する結果となった。よって、種イモからの病原菌の畑への持ち込みを防ぐため、種イモ消毒は必須であることが分かった。また、長崎県島原半島生産者畑において、収穫直後の土壌水抽出溶液中アルミニウムイオン濃度とそうか病関連遺伝子量との関係を調査した結果、水溶性アルミニウム抽出物量が 0.1 (mg/L) 以上あるとそうか病が抑制されることが推定できた。また、その時の土壌 pH は $4.2\sim 4.3$ であり、土壌 pH を $4.2\sim 4.3$ 以下まで下げるとそうか病が抑制されると推定できた。これらの結果から、competitive QP-PCR法を用いて *nec1* 遺伝子数を測定すれば事前発病予測が可能となること、水溶性アルミニウム抽出物量が 0.1 (mg/L) 以上あるとそうか病が抑制されること、さらに、種イモを消毒すること等の重要性が明らかとなった。

第2ステップとして、微生物防除法について検討した。長崎島原半島で今までに全くそうか病が発病したことのない畑の土から、そうか病菌の拮抗菌微生物を単離した。この拮抗菌と白紋羽病菌に拮抗作用がある *Trichoderma. asperellum* F-288 株について、プレート上で拮抗作用の確認を行い、拮抗作用の強い微生物について、プランター試験を行った所、無処理区の発病塊茎率が33%であったのに対し、*T. asperellum* F-288 株と新規分離菌 122 株はいずれも無発病、新規分株 100 株は発病塊茎率が10%であったことから、抑制効果が確認された。

最終段階として、そうか病被害畑土および被害畑でのそうか病制御効果を確認した。そうか病菌密度の中間程度の畑では、拮抗菌施用単独でそうか病の発病を抑制する可能性が示唆された。また、そうか病菌密度の高い畑では、硫酸単肥施用と拮抗菌の併用することでそうか病を防除出来る可能性が示唆された。さらに実圃場においても同様の効果が確認された。具体的な研究成果は、土壤診断施肥管理システムとして、平成17年の1月より、長崎県島原半島において、ジャガイモ農家を対象に実用化を行い、18年度、200ha分の売り上げが見込まれている（長崎県のジャガイモ作付け面積の5%に相当）。経済性も従来法であるクロロピクリンの施用単価と同程度のコストであり、環境負荷が少ない、エコフレンドリーなジャガイモそうか病の制御技術として、本開発技術は地元生産者に浸透しつつある。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本病の防除が極めて困難で、的確な防除技術は未だ確立されていないその大きな原因として土壤中における病原菌の定量技術が確立されていないことがあげられた。そこで、本研究では、quenching-probeを用いるQP-PCR法を応用し、土壤中のPCR阻害物質の影響を受けることなく、そうか病菌発病関連遺伝子である *nec1* 遺伝子を土壤から定量する competitive QP-PCR法を開発するとともに、その手法を用いて、長崎県島原半島の被害圃場における発病塊茎率と *nec1* 遺伝子数に密接な関係があることを明らかにした。この手法を用いて、competitive QP-PCR法によって種いもおよび作付け予定土壤中の病原菌量を把握するとともに、その結果に基づいて発病抑制を目的とした施肥改良並びに拮抗菌施用を組み合わせた制御技術について検討し、実圃場において、防除できる可能性が示唆された。この研究成果は、土壤診断施肥管理システムとして、17年度より、長崎県島原半島において、ジャガイモ農家を対象に実用化が行われ、18年度にその成果が見込まれている。以上のように本研究は、著者独自の新規な考えの下に行われた独創性の高い研究であり、しかも、その成果を実用に活かした応用性の高い研究であり、十分評価出来る。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。