

氏 名 (本国籍)	堀之内 勇 人 (岐阜県)
推 薦 教 員 名	岐阜大学 教授 百 町 満 朗
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博乙第132号
学 位 授 与 年 月 日	平成22年3月15日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第3条第2項該当
学 位 論 文 題 目	Biological Control of Fusarium Diseases of Tomato and Spinach by Plant Growth Promoting Fungus, <i>Fusarium equiseti</i> (植物生育促進菌類 <i>Fusarium equiseti</i> によるトマ ト及びホウレンソウのフザリウム病害に対する生物 防除)
審 査 委 員 会	主査 岐阜大学 教 授 百 町 満 朗 副査 岐阜大学 教 授 小 山 博 之 副査 静岡大学 教 授 森 田 明 雄 副査 信州大学 教 授 伴 野 潔

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

トマトとホウレンソウは日本各地で生産される主要な野菜品目である。しかし、それらの栽培現場では、土壌病害の1種であるフザリウム病害の発生が大きな問題となっている。トマトでは萎凋病及び根腐萎凋病が、ホウレンソウでは萎凋病が発生し、それぞれ甚大な被害を及ぼしている。また、トマトでは栽培方式として養液栽培が普及しつつあるが、そこでも根腐萎凋病の発生が問題となっている。フザリウム病害の対策として、化学農薬による土壌消毒が有効な手段であるが、環境保全型農業が推進される中で新しい防除技術の開発が急務となっている。そこで、トマトとホウレンソウのフザリウム病害に対して植物生育促進菌類 *Fusarium equiseti* を用いた生物防除に関する研究を実施した。

最初に6種類の植物生育促進菌類、1種類の非病原性 *Fusarium* 菌、5種類の有用細菌を用い、養液栽培におけるトマト根腐萎凋病に対する発病抑制効果を調べ、有用な生物防除エージェントの選抜を行った。その結果、植物生育促進菌類の *F. equiseti* GF191 菌株が有望な生物防除エージェントとして選抜され、*F. equiseti* の発病抑制効果は短期間の試験 (病原菌接種後71日) では防除価100 (防除価100の場合、発病は全く無いことを示す) と高かった。また、実際の圃場での利用を考慮し長期間の試験 (病原菌接種後117~140日) を実施した時でも *F. equiseti* の発病抑制効果は防除価63~85と安定して高かった。

次に *F. equiseti* と近年、プラスチックポットの代替として普及が進む生分解性ポットを組み合わせて用いることで、土耕栽培におけるトマト根腐萎凋病の発病抑制効果を検討した。

試験は *F. equiseti* を処理したトマト苗と生分解性ポットを共に病原菌汚染圃場に定植することで行った。*F. equiseti* と生分解性ポットの組み合わせ処理の発病抑制効果は汚染土定植 131 日後に調査した結果、防除価 58 であった。この試験では生分解性ポットを鉢上げ時に使用したため、汚染土に定植した初期から、生分解性ポットの分解が進んでいた。そこで、より高い防除効果を得るために、生分解性ポットを汚染土定植直前に用い生分解性ポットによるトマト根と病原菌の遮断期間を長くなるようにした。根腐萎凋病が中発生の試験では、*F. equiseti* と生分解性ポットの組み合わせ処理は、*F. equiseti* 単独処理、生分解性ポット単独処理と比較して高い防除効果が得られ、汚染土定植 149 日後の発病抑制効果は防除価 87 と高かった。さらに根腐萎凋病が多発生の場合においても、*F. equiseti* と生分解性ポットの組み合わせ処理は汚染圃場定植 135 日後に防除価 81 と高い発病抑制効果が得られた。

定植 15 日～120 日後の無処理の土壤中とトマト根での病原菌量は、それぞれ  $0.02\sim 14.4 \times 10^3$  cfu/g、 $1.7\sim 27.2 \times 10^3$  cfu/g cfu/g であったのに対し、*F. equiseti* と生分解性ポットの組み合わせ処理における生分解性ポット内の土壤中と根の病原菌量は、無処理と比較してそれぞれ 4.3～16.3%、0.6～31.9%と少なく推移した。また、試験期間中の生分解性ポット内の土壤中の *F. equiseti* 菌量は  $3.9\sim 9.5 \times 10^4$  cfu/g と、生分解性ポットを使用しない時と比較して 1.7～19.1 倍高く推移した。これらのことから、生分解性ポットはトマト根圏において病原菌の増殖を抑制し、*F. equiseti* の菌量を高く維持する働きがあることが明らかになった。

養液栽培のトマト根腐萎凋病の試験において、病原菌接種 117 日後にトマト茎内の病原菌の菌量を調査した結果、*F. equiseti* を処理したトマト茎内の病原菌量は、病原菌のみ接種の菌量が  $5.8 \times 10^4$  cfu/g であったのに対し 80 cfu/g と約 1/700 であった。この現象は他の養液栽培及び土耕栽培の試験でも見られ、それぞれ病原菌接種 97 日後、135 日後の病原菌のみ接種の菌量が  $2.1 \times 10^5$ 、 $3.1 \times 10^4$  cfu/g であったのに対し *F. equiseti* 処理区の茎内の病原菌量は  $1.4 \times 10^3$  cfu/g、 $9.1 \times 10^2$  cfu/g と約 1/150、1/30 であった。*F. equiseti* を処理したトマト茎の磨砕液中では病原菌の胞子の発芽率が接種 8～12 時間後に無処理区と比較して 13～68%低く推移した。また、*F. equiseti* を処理したトマト茎の磨砕液中での胞子増殖も無処理区と比較して試験期間（接種 1～21 日後）を通じて約 33%低かった。

ハウレンソウ萎凋病に対しては、ハウレンソウ根での定着が高い *F. equiseti* GF183 菌株を用いて試験を行った。試験は、播種時に *F. equiseti* を処理した後、ペーパーポットで育苗した苗を汚染圃場に移植し行った。汚染圃場定植 22～27 日後の *F. equiseti* 処理の防除価は 51.5～91.8 と高かった。また、*F. equiseti* を播種時 1 回、移植前日 1 回、播種時及び移植前日の 2 回の 3 種類の処理による発病抑制効果を検討した。萎凋病が多発生条件で試験を行った結果、播種時 1 回と播種時及び移植前日の 2 回処理では防除価がそれぞれ 52.8、58.1 と高い発病抑制効果が認められた。一方、移植前日処理では防除価が 18.1 と発病抑制効果は認められなかった。また萎凋病が中発生の試験では、*F. equiseti* の播種時及び移植前日の 2 回処理は、播種時 1 回処理の防除価 43.5 と比べ防除価 87.3 と高かった。

*F. equiseti* を処理したハウレンソウ根内の病原菌量は、無処理の菌量  $6.7 \times 10^5$  cfu/g に対し  $9.9 \times 10^3$  cfu/g と約 1/70 であった。また、*F. equiseti* を処理したハウレンソウの根磨砕液中において、病原菌の胞子増殖は無処理と比較して低く推移し、接種 3、5 及び 7 日後の胞子濃度は 19.7%、24.1%、30.9%低かった。さらに、*F. equiseti* を処理した後に病原菌を接種したハウレンソウ根の磨砕液中では増殖抑制効果が高くなり、接種 3、5 及び 7 日後の胞

子濃度は無処理と比較して67.9%、48.8%、53.8%低かった。

以上のように、*F. equiseti*を処理したトマトとハウレンソウは発病が少なくなるだけでなく、トマト茎とハウレンソウ根内においてそれぞれ病原菌の菌量が少なくなることが明らかになった。また、*F. equiseti*を処理したトマト茎、ハウレンソウ根の磨砕液中では病原菌の増殖が抑制された。これらのことから、*F. equiseti*を処理することで植物体内において病原菌の発芽や増殖を抑える何らかの抗菌成分が生産されていることが示唆された。

本研究において、植物生育促進菌類の*F. equiseti*は長期間に渡り養液栽培トマトの根腐萎凋病の発病を抑制した。さらに、*F. equiseti*と生分解性ポットやペーパーポットを組み合わせることで土耕栽培のトマト根腐萎凋病とハウレンソウ萎凋病に対して栽培期間中、高い防除効果を示した。これらのことから、*F. equiseti*は生物防除エージェントとして有望であるとともに、*F. equiseti*を用いた生物防除法と病原菌の遮断を目的とした生分解性ポットやペーパーポットを用いた物理的防除法を組み合わせた技術はトマト及びハウレンソウの栽培現場で有望な防除技術となることが示された。

## 審 査 結 果 の 要 旨

本論文は、難防除病害であるトマト根腐萎凋病とハウレンソウ萎凋病に対する生物防除研究である。

最初に、養液栽培のトマトにおいて、6種類の植物生育促進菌類、1種類の非病原性 *Fusarium* 菌と5種類の細菌を用いて根腐萎凋病に対する生物防除エージェントの選抜を行った。短期間の試験から、植物生育促進菌類の *Fusarium equiseti* が有望な生物防除エージェントとして選抜され、その防除効果は長期間の試験（病原菌接種117～140日後）でも安定して高かった（防除価63～85）。

次に、生物防除研究では効果が不安定となる事例がある土耕栽培においてトマト根腐萎凋病の試験を行った。ここでは *F. equiseti* と近年、環境負荷軽減を目的に開発が進む生分解性樹脂からなる生分解性ポットを組み合わせることで防除効果を検討した。*F. equiseti* を単独で処理した場合でも根腐萎凋病に対して発病抑制効果が認められたが、*F. equiseti* と生分解性ポットを組み合わせることでより高い発病抑制効果が得られた。また、生分解性ポットを用いることで、根圏土壌及び根での病原菌量が低く推移するだけでなく、根圏土壌での *F. equiseti* の菌量も高く維持された。

ハウレンソウ萎凋病に対しては、*F. equiseti* とペーパーポットを組み合わせることで試験を行った。播種時に *F. equiseti* を処理した後、ペーパーポットで育苗した苗を汚染圃場に移植した結果、汚染圃場定植22～27日後の *F. equiseti* 処理の防除価は51.5～91.8と高かった。また、萎凋病の発生が多く播種時1回処理の防除効果（防除価43.5）が低い場合でも、播種時及び移植時前日の2回処理することで高い防除効果（防除価87.3）が得られた。

*F. equiseti* を処理したトマトとハウレンソウの植物体内において病原菌の菌量が低くなることも、また、*F. equiseti* を処理したトマト茎及びハウレンソウ根の磨砕液中では病原菌の増殖が抑制されることも明らかになった。これらのことから、*F. equiseti* を処理することで植物体内において病原菌の発芽や増殖を抑える何らかの抗菌成分が生産されていることが示唆された。

本研究において、植物生育促進菌類の *F. equiseti* は生物防除エージェントとして有望であるとともに、*F. equiseti* を用いた生物防除法と病原菌の遮断を目的とした生分解性ポットやペーパーポットを用いた物理的防除法を組み合わせた技術はトマト及びホウレンソウの栽培現場で有望な防除技術となることが示された。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文として十分価値あるものと認めた。

【基礎となる学術論文】

1. Horinouchi, H., Muslim, A., Suzuki, T., Hyakumachi, M. (2007). *Fusarium equiseti* GF191 as an effective biocontrol agent against Fusarium crown and root rot of tomato in rock wool systems. *Crop Protection*, 26, 1514-1523.
2. Horinouchi, H., Katsuyama, N., Taguchi, Y., Hyakumachi, M. (2008). Control of Fusarium crown and root rot of tomato in a soil system by combination of a plant growth promoting fungus, *Fusarium equiseti*, and biodegradable pots. *Crop Protection*, 27, 859-864.
3. Horinouchi, H., Muslim, A., Hyakumachi, M. (2009). Biocontrol of Fusarium wilt of spinach by plant growth promoting fungus, *Fusarium equiseti* GF183. *Journal of Plant Pathology* (in press)

【既発表学術論文】

1. Muslim, A., Horinouchi, H., Hyakumachi, M. (2003). Biological control of Fusarium wilt of tomato with hypovirulent binucleate *Rhizoctonia* in greenhouse conditions. *Mycoscience*, 44, 77-84.
2. Muslim, A., Horinouchi, H., Hyakumachi, M. (2003). Suppression of Fusarium wilt of spinach with hypovirulent binucleate *Rhizoctonia*. *Journal of General Plant Pathology*, 69, 143-150.
3. 田口義広, 百町満朗, 堀之内勇人, 川根太. (2003). *Bacillus subtilis* IK-1080 によるイネいもち病の生物防除. *日本植物病理学会報*, 69, 85-93.
4. Muslim, A., Horinouchi, H., Hyakumachi, M. (2003). Control of Fusarium crown and root rot of tomato with hypovirulent binucleate *Rhizoctonia* in soil and rock wool system. *Plant Disease*, 87, 739-747.