

氏 名 (本国籍)	Mary Grace Barcenal Saldajeno (フィリピン共和国)
学位の種類	博士 (農学)
学位記番号	農博甲第572号
学位授与年月日	平成24年3月13日
学位授与の要件	学位規則第3条第1項該当
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物環境科学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学位論文題目	Investigation on the Interactions Between Arbuscular Mycorrhizal Fungus (AMF) and Plant Growth-Promoting Fungi (PGPF) in their Root Colonization and Disease Suppression (根圏定着と病害抑制に関するアーバスキュラー菌 根菌(AMF)と植物生育促進菌類(PGPF)の相互作用)
審査委員会	主査 岐阜大学 准教授 松原 陽一 副査 岐阜大学 教授 百町 満朗 副査 静岡大学 教授 森田 明雄

論 文 の 内 容 の 要 旨

アーバスキュラー菌根菌 (AMF) や植物生育促進菌類 (PGPF) 等の植物の生育を促進する微生物は土壌の肥沃性を保ちつつ植物の健康を向上するのに不可欠の存在である。また、これらの微生物の利用は持続的な作物生産管理技術の向上を図る上でも非常に重要である。有用な微生物間の相互作用が同調的であるかあるいは拮抗的であるかを明らかにすることはそれらを生物防除エージェントや生物肥料として利用する上で必要となる。本研究では、AMFである *Glomus mosseae* と PGPF の *Fusarium equiseti* を組み合わせて同時に接種したときのキュウリの生育、根や根圏での着生、および *Colletotrichum orbiculare* による炭疽病や *Rhizoctonia solani* AG4 による苗立枯病の進展に及ぼす影響を制御環境下で調べたものである。

本研究では、AMF と PGPF の接種実験として、キュウリ (*Cucumis sativus* L.) 幼苗の植え付け時に *G. mosseae* を接種したあるいは接種していない土壌に *F. equiseti* GF18-3 と GF19-1 を重量比で 1% と 2% 接種する方法を用いた。キュウリの生育とキュウリ根や根圏での *G. mosseae* と *F. equiseti* の着生は、人工気象器内の制御環境下で栽培 4 週間ある

いは6週間後に調べた。

F. equiseti GF18-3 と GF19-1 をそれぞれ単独であるいは *G. mosseae* とともに接種すると、4週間あるいは6週間後のキュウリの地上部の重さはこれらの菌を接種しなかった対照に比べて、1%と2%のいずれの接種量においても有意に増加した。同様に、*G. mosseae* を単独で接種した場合においても有意に増加した。

G. mosseae は *F. equiseti* の着生を抑制する傾向を示した。同時接種した場合、単独接種に比べて、根の GF18-3 のコロニー形成数 (CFU) は4週間後に40%、また、6週間後に70%減少した。GF19-1 の CFU は6週間後に68%減少した。根からの再分離試験の結果も同様の低下傾向を示し、組み合わせ接種した場合には、単独接種に比べて、6週間後の再分離率は両菌株とも1%接種で49%と53%の減少、2%接種で29%~53%の減少を示した。根圏中の *F. equiseti* の CFU 値も同様に組み合わせ接種した場合は単独接種に比べて有意に減少した。一方、*F. equiseti* もまた *G. mosseae* の着生を抑制する傾向を示した。*F. equiseti* の GF18-3 と GF19-1 は2%接種でそれぞれ *G. mosseae* の着生率を41%、39%減少させた。

次に *G. mosseae* と *F. equiseti* を組み合わせて接種したときの *C. orbiculare* による炭疽病に対する全身的抵抗性の誘導を調べた。有用菌である *G. mosseae* と *F. equiseti* を接種した土壌にキュウリを播種し、4週間栽培後、本葉第2葉に $10^5/\text{ml}$ に調整した炭疽病菌の胞子を接種した。その結果、GF18-3 と GF19-1 を単独で1%と2%接種した場合には、いずれの接種量においても炭疽病の病斑数と病斑面積は対照の無接種に比べ著しく減少した。同様に *G. mosseae* を単独で1%と2%接種した場合においても、炭疽病の病斑面積は対照の無接種に比べ減少したが、病斑数の減少はみられなかった。一方、*G. mosseae* と *F. equiseti* を組み合わせて接種したときは、1%と2%のいずれの接種量においても、これらを単独で接種したときより炭疽病の抑制割合が高かった。この結果は、*G. mosseae* と *F. equiseti* を組み合わせて接種することで、炭疽病に対して相乗的な抑制効果が得られることを示している。なお、*G. mosseae* を単独で接種した場合の抑制割合は、*F. equiseti* の単独接種や *F. equiseti* と *G. mosseae* を組み合わせ接種した場合よりも低かった。

また、*G. mosseae* と *F. equiseti* を組み合わせて接種したときの *R. solani* AG4 RO2 菌株による苗立枯病に対する抑制効果を調べた。有用菌の *G. mosseae* と *F. equiseti* はキュウリの播種時に土壌に重量比で1%と2%接種した。また、病原菌の *R. solani* は重量比で0.5%と0.75%に設定し、有用菌の接種時に同時に接種するか、あるいはキュウリの播種後、すなわち有用菌の接種後6日または12日に接種した。その結果、*G. mosseae* や *F. equiseti* を *R. solani* と同時に接種した場合には、どの接種割合においても発病抑制効果はみられなかった。一方、*R. solani* を *F. equiseti* GF18-3 や GF19-1 の接種より6日または12日後

に接種した場合は、対照の GF18-3 や GF19-1 を接種しなかった場合に比べ顕著な苗立枯病の抑制がみられた。*G. mosseae* では *R. solani* の接種時期に関わらず苗立枯病の抑制はみられなかった。また、*F. equiseti* と *G. mosseae* を組み合わせて接種しても、*F. equiseti* を単独で接種したときより苗立枯病の抑制割合が高くなることはなかった。なお、*F. equiseti* と *G. mosseae* の接種量を 1% から 2% に増加しても抑制割合に変化はなかった。一方、*R. solani* の接種量が 0.5% から 0.75% と増加すると苗立枯病に対する抑制割合は減少した。

以上のことから、本研究の結論として、① *G. mosseae* と *F. equiseti* は互いにキュウリ根への定着に対し拮抗的に働くが、この拮抗関係はキュウリに対するこれらの菌の生育促進効果には影響を及ぼさない、② *F. equiseti* は地上部の病害である炭疽病と地下部病害の苗立枯病の両方に対し抑制効果が示す、③ *G. mosseae* は地上部の病害である炭疽病には抑制効果を示すが地下部病害の苗立枯病に対しては示さない、④ *G. mosseae* と *F. equiseti* を組み合わせて接種すると、地上部の病害である炭疽病に対しては相乗的な抑制効果が示すが、地下部病害の苗立枯病に対してはそのような効果を示さない、ことが明らかになった。

審 査 結 果 の 要 旨

本論文の公開学位論文発表会は、審査委員全員を含む関連教員や学生の出席者のもと、平成 24 年 1 月 17 日（火）午後 4 時 00 分より岐阜大学連合大学院棟において実施された。

アーバスキュラー菌根菌（AMF）や植物生育促進菌類（PGPF）等の植物の生育を促進する微生物は土壌の肥沃性を保ちつつ植物の健康を向上するのに不可欠の存在である。また、これらの微生物の利用は持続的な作物生産管理技術の向上を図る上でも非常に重要である。有用な微生物間の相互作用が同調的であるかあるいは拮抗的であるかを明らかにすることはそれらを生物防除エージェントや生物肥料として利用する上で必要となる。本研究では、AMF である *Glomus mosseae* と PGPF の *Fusarium equiseti* を組み合わせて同時に接種したときのキュウリの生育、根や根圏での着生、および *Colletotrichum orbiculare* による炭疽病や *Rhizoctonia solani* AG4 による苗立枯病の進展に及ぼす影響を制御環境下で調べたものである。

F. equiseti GF18-3 と GF19-1 をそれぞれ単独であるいは *G. mosseae* とともに接種すると、4 週間あるいは 6 週間後のキュウリの地上部の重さはこれらの菌を接種しなかった対照に比べて、1% と 2% のいずれの接種量においても有意に増加した。同様に、*G. mosseae* を単独で接種した場合においても有意に増加した。

G. mosseae は *F. equiseti* の着生を抑制する傾向を示した。同時接種した場合、単独接種に比べて、根の GF18-3 のコロニー形成数（CFU）は 4 週間後に 40%、また、6 週間後に 70% 減少した。GF19-1 の CFU は 6 週間後に 68% 減少した。根からの再分離試験の結果も同様の低下傾向を示し、組み合わせ接種した場合では、単独接種に比べて、6 週間後の再分離率は両菌株とも 1% 接種で 49% と 53% の減少、2% 接種で 29%～53% の減少を示した。根圏中の *F. equiseti* の CFU 値も同様に組み合わせ接種した場合は単独接

種に比べて有意に減少した。一方、*F. equiseti*もまた *G. mosseae* の着生を抑制する傾向を示した。*F. equiseti*の GF18-3 と GF19-1 は 2%接種でそれぞれ *G. mosseae* の着生率を 41%、39%減少させた。

*F. equiseti*を単独で 1%と 2%接種した場合では、いずれの接種量においても炭疽病の病斑数と病斑面積は対照の無接種に比べ著しく減少した。同様に *G. mosseae*を単独で 1%と 2%接種した場合においても、炭疽病の病斑面積は対照の無接種に比べ減少したが、病斑数の減少はみられなかった。一方、*G. mosseae*と *F. equiseti*を組み合わせる接種したときは、1%と 2%のいずれの接種量においても、これらを単独で接種したときより炭疽病の抑制割合が高かった。

*R. solani*を *F. equiseti* GF18-3 や GF19-1 の接種より 6 日または 12 日後に接種した場合は、対照の GF18-3 や GF19-1 を接種しなかった場合に比べ顕著な苗立枯病の抑制がみられた。*G. mosseae*では *R. solani*の接種時期に関わらず苗立枯病の抑制はみられなかった。また、*F. equiseti*と *G. mosseae*を組み合わせる接種しても、*F. equiseti*を単独で接種したときより苗立枯病の抑制割合が高くなることはなかった。なお、*F. equiseti*と *G. mosseae*の接種量を 1%から 2%に増加しても抑制割合に変化はなかった。

本研究の結論として、① *G. mosseae*と *F. equiseti*は互いにキュウリ根への定着に対し拮抗的に働くが、この拮抗関係はキュウリに対するこれらの菌の生育促進効果には影響を及ぼさない、② *F. equiseti*は地上部の病害である炭疽病と地下部病害の苗立枯病の両方に対し抑制効果が示す、③ *G. mosseae*は地上部の病害である炭疽病には抑制効果を示すが地下部病害の苗立枯病に対しては示さない、④ *G. mosseae*と *F. equiseti*を組み合わせる接種すると、地上部の病害である炭疽病に対しては相乗的な抑制効果が示すが、地下部病害の苗立枯病に対してはそのような効果を示さない、ことが明らかになった。

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. Saldajeno, M.G.B. and Hyakumachi, M. (2011) The plant growth-promoting fungus *Fusarium equiseti* and the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* stimulate plant growth and reduce severity of anthracnose and damping-off diseases in cucumber (*Cucumis sativus*) seedlings. *Ann. Appl. Biol.* 159:28-40.
2. Saldajeno, M.G.B., Ito, M. and Hyakumachi, M. (2012) Interaction between the plant growth-promoting fungus *Phoma* sp. GS8-2 and the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*: impact on biocontrol of soil-borne diseases, microbial population, and plant growth. *Austral. Plant Pathol.* (in press)

既発表学術論文

1. Saldajeno, M.G.B., Chandanie, W.A., Kubota, M. and Hyakumachi, M. (2008) Effect of interactions of arbuscular mycorrhizal fungi and beneficial saprophytic mycoflora on plant growth and disease protection. *In*

Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry (eds. by Siddiqui, Z.A. *et al.*). Springer Science, pp. 211-226.

2. Saldajeno, M.G.B and Hyakumachi, M. (2011) Arbuscular mycorrhizal interactions with rhizobacteria or saprotrophic fungi and its implications to biological control of plant diseases. *In Mycorrhizal Fungi* (ed. by Fulton, S.M.). Nova Science Publishers, Inc., pp.187-212.