

氏 名 (本 国 籍)	岡 田 朋 大 (岐阜県)
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博甲第 5 9 1 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 2 5 年 3 月 1 3 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 生物生産科学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学 位 論 文 題 目	アスパラガス忌地現象における主導因子並びに 総合的植物生育改善法に関する研究
審 査 委 員 会	主査 岐阜大学 教授 百 町 満 朗 副査 岐阜大学 准教授 松 原 陽 一 副査 静岡大学 准教授 切 岩 祥 和 副査 岐阜大学 准教授 須 賀 晴 久

論 文 の 内 容 の 要 旨

アスパラガス忌地現象は経済栽培中後期と改植後における生育不良および収量・品質低下現象であり、国内外の産地・産業において深刻な問題となっている。その原因には生物学的因子（病害）や非生物学的因子（アレロパシー，養分不均衡等）が指摘されているが、主導性については不明な点が多く、総合的対策法も確立されていない。本研究では、忌地現象における主導因子を評価し、それら発生因子に対する総合的植物生育改善法の検討を行った。

忌地現象主導因子を評価するため、国内の忌地現象発生圃の採取株を調査した結果、忌地症状株の貯蔵根では褐変症状が極めて高頻度に確認された。SEM による形態観察を行った結果、忌地症状根では表皮が剥離・崩壊している部分が多く、褐変や腐敗が進行した貯蔵根では皮層崩壊も観察された。また、皮層細胞・維管束木部細胞では糸状菌感染が確認され、特に木部では高密度の感染細胞がみられた。樹脂切片法による内部組織観察の結果、褐変症状を呈した貯蔵根では表皮及び皮層外層の崩壊が確認され、崩壊した皮層細胞の間隙に糸状菌感染がみられる場合があった。また、立枯病菌の人工接種根の観察を行った結果、立枯病病徴が忌地根症状とほぼ一致することが確認された。一方、既知アレロケミカル（カフェ酸，フェルル酸）のアスパラガス実生への処理によって高次茎・根の萌芽・発根抑制がみられたが貯蔵根褐変は確認されなかった。これらの結果から、忌地症状における組織学的共通特徴である褐変による組織崩壊は表皮から皮層、維管束へ進行することが示唆され、褐変および貯蔵根崩壊は生物学的因子に起因することが示唆された。また、生物学的因子と化学的因子を比較した場合、忌地現象は生物学的因子によって主導されたと考えられた。

植物生育改善法の検討として、バイオアッセイによりアレロケミカル含有が示唆される減菌忌地圃土壌において arbuscular mycorrhizal fungi [AMF; *Glomus* sp. R10 (Gr), *Gl. fasciculatum*, *Gl. mosseae*, *Gigaspora margarita* (GM)] 共生アスパラガスを育苗した結果、対照区では生育抑制がみられたが、AMF 区では植物生育促進効果がみられた。また、AMF (Gr, GM) および NaCl (50, 100mM) による立枯病 [*Fusarium oxysporum* f. sp. *asparagi* (N9-31, MAFF305556, SUF1226, SUF844)] と株腐病 [*F. proliferatum* (N1-31, SUF1207)] の耐性検定を行った結果、AMF 単独区では病原菌接種前後で対照区より乾物重が増大し、病原菌株に関わらず発病が軽減され、NaCl 単独区においても発病軽減がみられた。また、AMF+NaCl 区において AMF 単独区より乾物重が増加し、発病がさらに軽減される場合があり、NaCl による AMF の生育促進・耐病性誘導効果の増強が示唆された。一方、立枯病菌接種個体の根圏土壌および貯蔵根内の病原菌量については、根圏土壌では NaCl 区において減少したが、AMF 区での減少はみられなかった。また、貯蔵根では NaCl 区で病原菌量が減少し、NaCl の有無に関わらず AMF 区においても有意に低下した。

耐病性機構として抗酸化機能変動を解析した結果、立枯病菌接種前では NaCl 処理に関わらず AMF によって DPPH ラジカル捕捉能および総アスコルビン酸含量が増大し、SOD 活性、APX 活性が上昇する場合もみられた。また、AMF+NaCl 区では AMF 単独区より SOD 活性、APX 活性、総アスコルビン酸含量が増加する場合があった。立枯病菌接種後では大部分の AMF 区において SOD 活性が上昇し、地下部において DPPH ラジカル捕捉能が増大したが、NaCl 処理によって抗酸化機能は大きく変動しなかった。これらの結果から、耐病性誘導における抗酸化機能向上は AMF による影響が大きく、NaCl は付带的であると考えられた。一方、遊離アミノ酸変動を調査した結果、AMF 区において総遊離アミノ酸量が増加し、共生特異的遊離アミノ酸増大がみられた。この場合、地上部成分では AMF 区において 10 成分、NaCl 区では 11 成分が増加し、特に Arginine、Glutamic acid、Citrulline、GABA が顕著に増大した。地下部では AMF 区において Asparagine、Arginine、GABA を含む 18 成分、NaCl 区では 8 成分が増加した。また、地上部および地下部に共通して顕著な増大がみられた Arginine、GABA については in vitro における立枯病菌増殖抑制効果が確認され、これらの変動遊離アミノ酸による増殖抑制が耐病性に関連していると考えられた。

以上の結果から、AMF にはアレロパシー耐性および立枯病・株腐病耐性誘導効果があることが確認され、NaCl においても耐病性誘導効果や AMF による耐病性増強を図ることが可能であると考えられた。また、AMF および NaCl による根圏土壌・貯蔵根内の病原菌量減少、抗酸化機能および数種遊離アミノ酸変動が耐病性に関連していることが示唆された。これに関連し、抗酸化物質、遊離アミノ酸の増大は、アスパラガスの高機能化を図る上でも有効となると推察された。これらのことから、アスパラガス忌地現象に対する生物的・化学的手法による総合的植物生育改善法を確立できると考えられた。

審 査 結 果 の 要 旨

アスパラガス忌地現象は経済栽培中後期と改植後における生育不良および収量・品質低下現象であり、国内外の産地・産業において深刻な問題となっている。忌地現象には生物的（病害）・非生物的（アレロパシー等）因子の関与が指摘されているが、主導因子については不明な点が多く、総合的対策法も確立されていない。本研究では忌地現象

における主導因子を評価するとともに、主要因子に対する総合的植物生育改善法の検討を行った。

忌地現象主導因子を評価するため、国内の忌地現象発生圃の採取株を調査した結果、忌地症状株の貯蔵根では褐変症状が極めて高頻度に確認された。SEM による形態観察を行った結果、忌地症状根では表皮の剥離や皮層崩壊が観察された。また、皮層細胞・維管束木部細胞では糸状菌感染が確認され、特に木部では高密度の感染細胞がみられた。樹脂切片法による内部組織観察の結果、褐変症状を呈した貯蔵根では表皮及び皮層外層の崩壊が確認され、崩壊した皮層細胞の間隙に糸状菌感染がみられる場合があった。また、立枯病菌の人工接種根の観察を行った結果、立枯病病徴が忌地根症状とほぼ一致することが確認された。一方、既知アレロケミカル（カフェ酸、フェルル酸）のアスパラガス実生への処理によって高次茎・根の萌芽・発根抑制がみられたが貯蔵根褐変は確認されなかった。これらの結果から、忌地症状における組織学的共通特徴である褐変変化および貯蔵根崩壊は生物的因子に起因することが示唆され、生物的因子と化学的因子を比較した場合、忌地現象は生物的因子によって主導されたと考えられた。

植物生育改善法の検討として、バイオアッセイによりアレロケミカル含有が示唆される滅菌忌地圃土壌において AMF[arbuscular mycorrhizal fungi: アーバスキュラー菌根菌: *Glomus* sp. R10 (Gr), *Gl. fasciculatum*, *Gl. mosseae*, *Gigaspora margarita* (GM)] 共生アスパラガスを育苗した結果、対照区では生育抑制がみられたが、AMF 区では植物生育促進効果が確認された。また、AMF(Gr, GM)および NaCl による立枯病 [*Fusarium oxysporum* f. sp. *asparagi* (N9-31, MAFF305556, SUF1226, SUF844)] と株腐病 [*F. proliferatum* (N1-31, SUF1207)] の耐病性検定を行った結果、AMF 区および NaCl 区において、病原菌種・菌株に関わらず発病軽減がみられた。また、AMF + NaCl 区において発病がさらに軽減される場合があった。一方、耐病性機構として抗酸化機能変動を解析した結果、AMF 接種 16 週間後および立枯病菌接種 10 週間後において、抗酸化酵素である SOD(superoxide dismutase)および APX(ascorbate peroxidase)活性、抗酸化物質関連指標である DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)ラジカル捕捉能、総ポリフェノールおよび総アスコルビン酸含量が多く、AMF 区において地上部および地下部で増大することを確認した。また、植物体中の遊離アミノ酸変動を調査した結果、AMF 区において総遊離アミノ酸量が増加し、数種アミノ酸において共生特異的増大がみられた。この場合、地上部および地下部に共通して顕著な増大がみられた Arginine、GABA については、*in vitro* における立枯病菌増殖抑制効果が確認され、これらの変動遊離アミノ酸による増殖抑制が耐病性に関連していると考えられた。

本研究では、忌地現象は生物的因子によって主導されることを明らかにするとともに、AMF および NaCl の組合せによる植物体生育促進、アレロパシー耐性および立枯病・株腐病耐性誘導効果を確認した。また、耐病性には抗酸化機能および遊離アミノ酸変動が関連することが示唆され、これらはアスパラガスの高機能化を図る上でも有効となると推察された。以上のことから、アスパラガス忌地現象に対する生物的・化学的手法による総合的植物生育改善法を確立できると考えられた。

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. Okada, T. and Matsubara, Y.: Tolerance to Fusarium Root Rot and the Changes in Free Amino Acid Contents in Mycorrhizal Asparagus Plants. HortSci. 47: 751-754, 2012.
2. Okada, T. and Matsubara, Y.: Influence of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Sodium Chloride on Fusarium Root Rot and Antioxidative Abilities in Asparagus Plants. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 81: 257-262, 2012.