



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

アスパラガス忌地現象における生物・化学的因子の
相互作用並びに植物生育改善法の実証的研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2018-08-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: LIU, JIA メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/56210

氏 名 (本 国 籍)	LIU JIA (中華人民共和国)
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博甲第 6 6 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 2 9 年 3 月 1 3 日
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生物・化学的因子の 相互作用並びに植物生育改善法の実証的研究
審 査 委 員 会	主査 岐阜大学 准教授 須 賀 晴 久 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

論 文 の 内 容 の 要 旨

忌地現象は園芸作物生産において経済栽培中後期及び改植後に生育不良、収量・品質低下が発生する現象で、野菜における事例としてアスパラガスでは国内外の産地で深刻化している。近年では、特に改植期を迎えた忌地圃場での生育不良、収量低下が産地・産業に多大な被害を与えている。忌地現象の発生因子には土壤伝染性病害といった生物的因子とアレロパシーに起因する化学的因子の存在が示唆されているが、未だに不明な点は多く、特に生物・化学的因子間の相互作用については明らかにされていない。一方、アレロパシー耐性・病害防除といった総合的植物生育改善を基軸とした忌地現象対策の確立についても検討事例が乏しく、有効な対策の開発が遅延している。本研究では、忌地現象に関わる生物的因子のアスパラガス立枯病と化学的因子であるアレロケミカルとの相互作用評価、アスパラガス主要病害に対するアーバスキュラー菌根菌 (arbuscular mycorrhizal fungi : AMF) を主体とした耐病性誘導法・耐病性機構の検討及び改植障害圃における実証的検定を行った。

アスパラガス忌地現象発生機構における生物・化学的因子の相互作用についての知見を得ることを目的とし、主要病害である立枯病と既知アレロケミカルとの相互作用について *in vitro* 評価を行った。既知アレロケミカル(カフェ酸, フェルル酸, ケルセチン, リンゴ酸) を添加 (0.01, 0.1%, w/v) した Czapec-dox 培地に立枯病菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *asparagi*, MAFF305556) の分生孢子懸濁液を混合し、増殖指数を調査した。その結果、供試した全ての物質において立枯病菌増殖指数は減少し、指数は濃度が高い区でより減少していた。続いて植物体を介したアレロケミカルの影響を調査するために、前述のアレロケミカルを添加 (0.001, 0.01%, w/v) した Knop's 培地にアスパラガス (*Asparagus officinalis* L., cv. Welcome) を無菌播種し、4 週間後に立枯病菌を接種して病徴調査を行った。その結果、一部のアレロケミカル添加区では根伸長抑制がみられ、対照区より多く

のアレロケミカル添加区で発病が重度になる傾向があった。以上のことから、アレロケミカルは立枯病菌増殖を促さず、植物体生育抑制を介した間接的な経路で発病助長に作用する可能性が示唆された。

アスパラガス実用 5 品種（グリーン系統 3 品種・紫系統 2 品種）において、アスパラガス立枯病に対する高親和性 AMF (*Glomus intraradices*) による耐病性誘導の品種間差を調査した。その結果、品種間差はみられたものの、全品種において AMF 接種区で対照区より植物生育促進に起因する乾物中増大と立枯病発病軽減効果が確認された。続いて、split root system 法を用い AMF、非病原性フザリウム菌 (NPFO : non-pathogenic *Fusarium oxysporum*) 及び NaCl による立枯病誘導抵抗性評価を行った結果、立枯病発病程度及び発病指数は AMF、NPFO 及び NaCl 処理区の両根系において対照区より低下し、その効果は処理根で大きかった。この場合、処理根のみでなく無処理根においても発病程度が軽減されたことから誘導抵抗性が確認された。一方、立枯病菌接種後における SOD 活性、DPPH ラジカル捕捉能、総アスコルビン酸、総ポリフェノール含量については、AMF、NPFO 及び NaCl 処理区において処理根及び無処理根とも対照区より高まる場合が多かった。SOD アイソザイム解析を行った結果、SOD バンドパターンについては AMF による共生特異的バンドは検出されず、AMF 区と対照区では Rf 値は一致していた。立枯病菌接種前 (Foa-) において、SOD-1 (Rf=0.37, Cu/Zn-SOD) は Gi 及び GM 区で対照区と比べて強い発現がみられた。立枯病菌接種 8 週間後 (Foa+) において、SOD-1, -2 (Rf=0.37 及び 0.33, Cu/Zn-SODs) は Gi 及び GM 区で対照区と比べて強い発現がみられ、対照区では Cu/Zn バンド群が接種前より弱化した。また、SOD-3 (Rf=0.25, Mn/Fe-SOD) は GM 区で対照区と比べて強い発現がみられた。以上のことから、AMF、NPFO 及び NaCl による立枯病耐性には誘導抵抗性が関与していることが考えられ、それには抗酸化機能変動の関連が示唆された。また、特に立枯病菌接種後における SOD 活性の量的増大が AMF 共生により誘導されたと考えられ、特に Cu/Zn-SODs アイソザイム群が立枯病耐性と密接に関連している可能性がある。

アスパラガス改植障害圃場における生物・化学的手法による総合的植物生育改善の検証として、改植歴の異なる 2 改植障害圃 (改植 5 回・2 回) における検定を行った。これら 2 改植障害圃では PCR-SSCP (single-stranded conformational polymorphism) 法により立枯病及び株腐病が発生していると診断された。アスパラガス成型苗・ポット育苗時に、生物的手法として AMF3 菌種および NPFO、化学的手法として NaCl (50, 100mM) を単独または複合処理し、2 改植障害圃への定植 12 週間後に発病及び生育調査を行った。その結果、対照区では病害・アレロパシーに起因する欠株率が 60%程度と重度であり、黄化茎発生率も顕著に高かったが、AMF、NPFO、NaCl 単独・複合処理区で対照区より有意に低下し、定植後の生育も処理区で良好であった。この場合、特に AMF と NaCl を併用することでそれらの効果が最も高かった。一方、改植後における収量調査を行った結果、AMF と NaCl の併用区を中心に茎収量増大及び収穫茎における主要抗酸化物質 (ポリフェノール等) の増大がみられる場合があった。また、収穫後の立茎栽培時においても、AMF と NaCl の併用区を中心に茎数・茎長増大による生育促進効果が持続して確認された。このように、AMF を主体とし NaCl を組み合わせて処理する方法が改植障害圃における生育改善に最も有効であることを確認した。

本研究では、アスパラガス忌地現象発生機構における生物的因子（病害）と化学的因子（アレロパシー）との相互作用に関する基礎的知見が得られ、改植障害圃において AMF を主体とした生物・化学的な植物生育改善法を実証した。

審査結果の要旨

忌地現象は園芸作物生産において経済栽培中後期及び改植後に生育不良、収量・品質低下が発生する現象で、アスパラガスでは国内外の産地で深刻化している。忌地現象の発生活性因子には病害といった生物的因子とアレロパシーに起因する化学的因子の存在が示唆されているが、特に生物・化学的因子間の相互作用については明らかにされていない。一方、アレロパシー耐性・耐病性誘導による総合的植物生育改善法の開発も遅延している。本研究では、忌地現象に関わる生物・化学的因子の相互作用評価、アスパラガス主要病害に対するアーバスキュラー菌根菌（arbuscular mycorrhizal fungi : AMF）を主体とした耐病性誘導法・耐病性機構の検討及び改植障害圃における実証的検定を行った。

アスパラガス忌地現象発生機構における生物・化学的因子の相互作用についての知見を得ることを目的とし、主要病害である立枯病と数種アレロケミカル示唆物質の相互作用について *in vitro* 評価を行った。アレロケミカル示唆物質（caffeic acid, ferulic acid, quercetin, malic acid）を添加（0.01, 0.1%, w/v）した Czapek-dox 培地に立枯病菌（*Fusarium oxysporum* f. sp. *asparagi*, MAFF305556）を混合し増殖指数を調査した。その結果、供試した全ての物質・濃度において立枯病菌増殖指数は減少した。続いて植物体を介したアレロケミカルの影響を調査するために、アレロケミカル示唆物質を添加（0.01, 0.1%, w/v）した Knop's 培地にアスパラガス（*Asparagus officinalis* L., cv. Welcome）を組織培養し、立枯病菌を接種した。その結果、アレロケミカル添加区で根伸長抑制がみられ、生育抑制がみられたアレロケミカル添加区で対照区より発病が重度になる傾向があり、特に caffeic acid で顕著であった。以上のことから、アレロケミカルは植物体生育抑制を介した間接的な経路で発病助長に作用する可能性が示唆された。

アスパラガス実用 5 品種（グリーン及び紫系統）において、AMF（*Glomus intraradices*）による植物生育促進・立枯病耐性誘導がみられ、split root system 法により AMF、非病原性フザリウム菌及び NaCl による立枯病誘導抵抗性も確認された。この場合、立枯病菌接種後における植物体 SOD 活性、DPPH ラジカル捕捉能、総アスコルビン酸、総ポリフェノール含量の増大、SOD-1, -2 (Rf=0.37 及び 0.33, Cu/Zn-SODs) の活性化が AMF 区を主体に確認された。これらのことから、植物体の Cu/Zn-SODs アイソザイム群を主体とする抗酸化機能増大が立枯病耐性と密接に関連していることが示唆された。

改植歴の異なる複数の改植障害圃において、生物・化学的手法による総合的植物生育改善の検証を行った。これら改植障害圃における主要病害は PCR-SSCP（single-stranded conformational polymorphism）法により立枯病及び株腐病であると診断された。アスパラガス成型苗・ポット 2 次育苗時に、生物的手法として AMF 及び非病原性フザリウム菌、化学的手法として NaCl（50, 100mM）を単独または複合処理し、改植障害圃へ定植した。改植 12 週間後、対照区では病害・アレロパシーに起因する欠株率が 60%程度と重度であり、黄化茎発生率も顕著に高かった。一方、欠株率・黄化茎発生率は特に AMF と NaCl

併用区で対照区より有意に低下し、定植後生育も良好であった。改植後収量では、特に AMF・NaCl 併用区で若茎収量増大及び収穫茎での抗酸化物質（ポリフェノール等）の増大がみられる場合があった。また、収穫後の立茎栽培時においても、AMF・NaCl 併用区を主体に茎数・茎長増大による生育促進効果が持続して確認された。このように、AMF を主体とした NaCl 併用処理法が改植障害圃における生育改善に最も有効であることを確認した。

本研究では、アスパラガス忌地現象発生機構における主要病害とアレロパシーとの相互作用に関する基礎的知見が得られ、改植障害圃における AMF を主体とした生物・化学的な植物生育改善法を実証した。

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. Liu, J. and Matsubara, Y.: Induced systemic resistance to *Fusarium* root rot and changes in antioxidative ability by arbuscular mycorrhizal fungus and non-pathogenic *Fusarium oxysporum* in asparagus plants. J. JSATM 23(2): 21-29, 2016.
2. Liu, J. and Matsubara, Y.: Changes in SOD isozyme in mycorrhizal asparagus inoculated with *Fusarium oxysporum*. Plant Root 10: 26-33, 2016.