

## 学 位 論 文 題 名

## ニンニク乾腐病とその生物的防除に関する研究

## 学位論文内容の要旨

1988年北海道深川市、名寄市のニンニク栽培地で地上部が著しく萎ちょうし、茎盤部が褐変するニンニクの病害が大発生し、問題となった。本論文は本病の病徴、病原菌、病原菌の体細胞和合性群、病原性の簡易検定法、病気の伝染源、病害の生物的防除並びに生物的防除の機構について研究を行った結果をまとめたものである。

北海道に多く栽培されているニンニクのホワイ種は越冬前の発芽したニンニクには萎ちょう症状は認められないが、翌年、気温が上昇する5月下旬～6月初旬になると病徴が現れ始め、6月下旬～7月初旬になると地上部では下位葉身の中央部がすじ状に黄化し、地下部では茎盤部の褐変が進み、萎ちょうは畑全体に広がる。

草丈、種球の重さ、罹病程度の項目間での相関関係を調べた結果、草丈と種球の重さ間では有意水準5%の正の相関を示した。草丈と罹病程度、種球の重さと罹病程度間では両者とも1%水準の高い負の相関を示した。

ニンニク畑において乾腐症状を示した罹病株から多数の *Fusarium* 属菌が分離された。分離された *Fusarium* 属菌の形態を観察した結果、Snyder and Hansen (1940), Booth (1971) らの分類体系から *Fusarium oxysporum* であることが明らかになった。本 *F. oxysporum* 菌の生育適温は25～30℃で、pH は7.5～10.0で最も生育がよかった。側球切片接種並びに土壤接種により病原性を調査したところ、ニンニクから分離された菌株はいずれもニンニクに対して強い病原性を示した。この結果から、1988年に深川市、名寄市で発生した *F. oxysporum* によるニンニクの病原は松尾らが報告した *F. oxysporum* f. sp. *garlic* によるニンニク乾腐病であることが明らかになった。

ニンニク乾腐病菌の *nit* mutant を用いて、体細胞和合性群 (vegetative compatibility group, VCG) を調べた結果、*F. oxysporum* f. sp. *garlic* は3つのVCGに分けられた。1011HU群には深川市、名寄市、長野県及び台湾で分離された23菌株、1012HU群は深川市で分離された2菌株、1013HU群は深川市、名寄市の2カ所で分離された4菌株が属した。このよう

に VCG と分離地域との間には関連性は認められなかった。58菌株の中で27菌株は他の菌株との和合性を示さない single VCG であった。*F. oxysporum* f. sp. *garlic* の3つの VCG の *nit* テスターを用いることによって、ニンニク乾腐病菌のより正確迅速な同定が可能になった。しかし、single VCG に属する菌株については、3つの *nit* テスターを用いても同定することは不可能であり、接種試験をする必要があった。また、非病原性 *F. oxysporum* の VCG を調べることによって、交叉防御に用いる非病原性 *F. oxysporum* の選抜にも、この方法を利用することができるものと考えられた。ユリ科植物に病原性を示す *F. oxysporum* の分化型では f. sp. *asparagi* に少なくとも2つの VCG が認められたが、ff. sp. *lilii*, *cepa*e, *allii*, *tulipae* の分化型はいずれも1つの VCG であった。また異なる分化型の菌株間では体細胞和合性は認められなかった。

*F. oxysporum* f. sp. *garlic* がニンニクのどの部位から検出されるかを調査した結果、葉鞘、茎盤部、根から本菌が検出された。菌量は、茎盤部で一番多かった。自然発病土と消毒土壌に健全及び汚染側球を播種後、草丈および収穫後の種球の重さを検討した結果、土壌消毒した区では草丈および種球の重さは自然発病土に比較して増加していた。健全側球は消毒土壌では、草丈および種球の重さが罹病側球より増加しているのに対し、自然発病土では健全側球が低くなったものもあった。このことから、本病の伝染は汚染種球と汚染土壌によるものと考えられる。

ニンニク乾腐病菌について、バクテライゼーションおよび交叉防御現象による生物的防除法を行った。ニンニク乾腐病菌に対して強い生育阻止効果を示す細菌が名寄圃場で育てたニンニク根面より分離された。これらの拮抗細菌の属を調べた結果、*Pseudomonas* 属菌、*Erwinia* 属菌、*Bacillus* 属菌と同定された。交叉防御に用いる非病原性 *F. oxysporum* は珠芽を用いた病原性簡易検定法及び体細胞和合性を用い、選抜した。拮抗細菌および非病原性 *F. oxysporum* の処理による温室でのニンニク珠芽の発芽率や草丈を調べた。温室では珠芽の発芽率が拮抗細菌や非病原性 *F. oxysporum* を浸漬処理すると無処理に比べ、それぞれ高かった。また圃場ではニンニクの草丈、収量、罹病程度を調査し、生物的防除による効果を検討した。1989年の圃場でのバクテライゼーションおよび交叉防御試験の結果、拮抗細菌 HB8810で草丈と種球の重さがもっとも高く、また罹病程度も低かった。1991年、拮抗細菌および非病原性 *F. oxysporum* と助剤をニンニク乾腐病汚染圃場で助剤を用いて処理した結果、発病程度も低く、生長も良かった。助剤のみで処理してもニンニク植物の生育に大きな影響はなかった。また、助剤による効果はメチルセルローズ+タルクとガムキサントゲン+タルクの組み合わせがもっとも効果的であって、次にメチルセルローズ、アパタイトの順であった。

バクテライゼーションの機構を調べるために、拮抗細菌（*Bacillus* 属菌 HB9101, HB9102, *Erwinia* 属菌 HB9104, *Pseudomonas* 属菌 HB9105）4 菌株が抗菌物質を生産するか否かを TLC 上で、UV 吸収（254nm）で調査した結果、供試した拮抗細菌 HB9105 菌株の濾液抽出物が pyrrolnitrin と同様の Rf 値を示した。しかし、Ehrlich 呈色試薬では確認できなかった。TLC で展開後、病原菌を用いてバイオオートグラフィーを行った結果、供試した抗菌細菌 4 菌株は孢子の発芽を抑制した。また、供試 4 菌株の生育促進ホルモンの生産の有無を TLC 上で、UV 吸収（254nm）で調査した結果、4 菌株とも IAA や gibberellin と同一 Rf 値のものと思われるものがあつた。Ehrlich 呈色試薬では IAA のみ同一 Rf 値の部分が検出された。硫酸 80 % 液を噴霧後、UV 吸収（365nm）で調べた結果、HB9101 菌株は純品 GA<sub>3</sub> と同じ緑色蛍光を発した。このことから HB9101 菌株が gibberellin を生産している可能性があると考えられたが、最終的には単離と同定が必要である。抗菌物質の生産以外に生長促進物質を生産することから、バクテライゼーションの機構は抗菌物質や生長促進物質が生産されることによるものと考えられる。

ニンニク乾腐病に対する発病抑制効果は非病原性 *F. oxysporum* 生菌体を処理することによって生じるが、死菌体やパラフィン等による物理的閉塞によっては抑制されなかった。ニンニク珠芽に非病原性 *F. oxysporum* を処理したのち、苗の葉鞘の部分に乾腐病菌を注射接種しても発病抑制を示した。この交叉防御による発病抑制は、非病原性 *F. oxysporum* の接種によってニンニクに抵抗性が誘導されることによるものと考えられる。

## 学位論文審査の要旨

主査	教授	生越	明
副査	教授	木村	郁夫
副査	教授	喜久田	嘉郎
副査	助教授	小林	喜六

本論文は和文で記され、図47、表27、引用文献264を含み、総頁数162よりなり、内容は12章をもって構成されている。

本論文は、北海道で発生し、問題となっているニンニクの萎ちょう性病害について、病徴、病

原菌，病原菌の体細胞和合性群，病原性の簡易検定法，病気の伝染源，病害の生物的防除並びに生物的防除の機構について行った研究をとりまとめたものである。

本病は越冬前の発芽したニンニクには萎ちょう症状は認められないが，翌年，気温が上昇する5月下旬～6月初旬になると病徴が現れ始める。6月下旬～7月初旬になると，地上部では下位葉の中央部がすじ状に黄化し，この時期の地下部は，茎盤部の褐変が進み，萎ちょうは畑全体に広がる。

草丈，種球の重さ，罹病程度の項目間での相関関係を調べた結果，草丈と種球の重さ間では有意水準5%の正の相関を示した。草丈と罹病程度，種球の重さと罹病程度間では両者とも1%水準の高い負の相関を示した。

乾腐症状を示した罹病株から多数の *Fusarium oxysporum* が分離された。分離された *F. oxysporum* について種々の *Fusarium* 属菌と共に，側球切片接種並びに土壌接種により病原性を調査した結果，ニンニクから分離された菌株はいずれもニンニクに対して強い病原性を示した。以上より，1988年に深川市，名寄市で発生した *F. oxysporum* によるニンニク萎ちょう性病害は松尾らが報告した乾腐病であり，その病原菌は *F. oxysporum* f. sp. *garlic* と同定した。

病原菌の体細胞和合性群 (vegetative compatibility group, VCG) を調べた結果，*F. oxysporum* f. sp. *garlic* は3つの VCG に分けられた。VCG と分離地域との間には関連性は認められなかった。ユリ科植物に病原性を示す *F. oxysporum* の分化型では f. sp. *asparagi* に2つの VCG があり，ff. sp. *allii*, *lilii*, *tulipae*, *cepa* の分化型はいずれも1つの VCG であった。異なる分化型の菌株間では和合性は認められなかった。

ニンニク珠芽を用い，温室内でペーパーポットに病原菌を接種後，健全な珠芽を植え，病原性を調査する方法は病原性検定の簡便法として有効であった。

種用の側球からしばしば病原菌が分離された。また，自然発病土と消毒土壌に健全及び汚染側球を播種後，草丈および収穫後の種球の重さを検討した結果，土壌消毒した区では草丈および種球の重さは自然発病土に比較して増加していた。健全側球は消毒土壌では，草丈および種球の重さが罹病側球より増加した。これらのことから，本病の伝染は汚染種球と汚染土壌によるものと考えられる。

ニンニク乾腐病菌に対して強い生育阻止効果を示す細菌が名寄圃場で育てたニンニク根面より分離され，*Pseudomonas* 属菌，*Erwinia* 属菌，*Bacillus* 属菌と同定された。交叉防御に用いる非病原性 *F. oxysporum* は珠芽を用いた病原性簡易検定法及び体細胞和合性を用い，選抜した。温室で，珠芽を拮抗細菌あるいは非病原性 *F. oxysporum* に浸漬処理すると，珠芽の発芽

率は無処理に比べ、高くなった。圃場でのバクテライゼーションおよび交叉防御試験の結果、拮抗細菌 *Bacillus* 属菌 HB8810 処理区で草丈と種球の重さがもっとも高く、また罹病程度も低かった。拮抗細菌および非病原性 *F. oxysporum* を助剤とともにニンニクに処理した結果、発病程度も低く、生長も良かった。助剤はメチルセルロース+タルクの組み合わせがもっとも効果的であった。

バクテライゼーションの機構を調べるために、拮抗細菌 (HB9101, HB9102, HB9104, HB9105) 4 菌株が抗菌物質を生産するか否かを調べるため、培養濾液抽出物を TLC で展開後、病原菌を用いてバイオオートグラフィーを行った結果、供試した抗菌細菌 4 菌株は孢子の発芽を抑制した。また、供試 4 菌株の生育促進物質の生産の有無を TLC 上で、調べた結果、4 菌株とも IAA と思われるものがあつた。また *Bacillus* 属菌 HB9101 がジベレリンを生産している可能性があると考えられた。以上から、バクテライゼーションの機構は処理細菌が抗菌物質や生育促進物質を生産することによるものと考えられる。

ニンニク乾腐病菌と非病原性 *F. oxysporum* 間に抗菌性は認められなかった。ニンニクの乾腐病に対する発病抑制効果は非病原性 *F. oxysporum* の生菌体を処理する事によってのみ確認された。苗の地下部に非病原性 *F. oxysporum* を処理しておくと、乾腐病菌を注射接種しても、発病は抑制された。この交叉防除による発病抑制は、非病原性 *F. oxysporum* の接種によってニンニクに抵抗性が誘導されることによるものと考えられる。

以上のように本研究は、ニンニク乾腐病の病徴、病原、その伝染環を調べ、さらに生物的防除について研究したものであり、学術上、応用上貢献するところが大きいと評価される。

よって審査員一同は、最終試験の結果と合わせて、本論文の提出者 兪 晟濤は博士 (農学) の学位を受けるのに十分な資格があるものと認定した。