

学 位 論 文 題 名

トウモロコシ栽培による

アズキ落葉病菌菌量低下機構に関する研究

学位論文内容の要旨

アズキ落葉病は不完全菌類に属する糸状菌 *Phialophora gregata* f. sp. *adzukicola* による土壤病害である。本菌は発芽間もないアズキ根に侵入し、維管束の褐変・萎ちょうを引き起こし、さらには落葉・枯死にいたらしめる。本病の発生は1938年に初めて報告されたが、1970年には十勝地方を中心に大発生し、その発生面積は栽培面積の66%にあたる14,000haに達した。その後も本菌の分布面積は大きく、北海道におけるアズキの最重要病害である。

本菌は土壤中で分生胞子で生存していると考えられているが、トウモロコシを栽培することにより、その菌量が著しく低下し、その結果発病も抑制されることが明らかとなった。抵抗性品種の普及が進んでいない現状では、その他の耕種的あるいは生物的・生態的防除が必要とされる。そこで、これに寄与する知見を得る目的で、このトウモロコシ栽培によるアズキ落葉病菌菌量低下機構の解明を試みた。本論文はその成果をまとめたものである。

菌量低下の場は、根の影響を最も顕著に受ける根圏土壤と考え、トウモロコシ、アズキ、ダイズ、コムギに関して菌量の測定を行った結果、4作物共に著しい菌量の低下（1/10以下）が認められた。

一方、栽培土壤全体の菌量はアズキ栽培では低下しなかったが、他の3作物の栽培では漸減し、秋には根圏土壤中の菌量に近い値となった。根圏土壤中では同様に低下するにも関わらず、このような差がアズキと他作物の間に認められた原因として、根系の違いが考えられた。土壤中の根長密度（単位土壤容積当たりに含まれる根の長さ）を測定したところ、アズキ以外では著しい増加が認

められた。このことは、これら根長密度の大きくなる植物（トウモロコシ、ダイズ、コムギ）は根を土壌の広範囲に広げ、その根圏での菌量低下の効果を土壌全体に及ぼしたことを示し、逆に根長密度の増加が小さいアズキではその根圏での菌量低下が土壌全体に及ばなかったことを示している。

宿主も含めた複数の作物の根圏土壌中で同様に菌量の低下が認められたことから、これは作物の種類によらない非特異的な作用によることが示唆された。そこで、根浸出液に一般に含まれるとされる糖・アミノ酸の水溶液を透析膜を介して徐々に土壌に浸出させるモデル系を用い、そこで形成される疑似的な根圏、すなわち人工根圏土壌中の本菌菌量を調査した。その結果、人工根圏土壌中においても実際の植物根圏と同様に菌量が低下した。殺菌土壌、あるいは低温殺菌土壌（60℃・40分）を用いた同様の実験では菌量低下は全く認められないことから、人工根圏土壌中の菌量低下現象には非耐熱性細菌の何らかの作用が関係するものと考えた。さらに、この時、微生物活性が低いと（4℃下）菌量低下が認められないことから、高い活性も必要条件であることが明らかとなった。簡易細菌同定システムとクラスター分析を組み合わせることにより、人工根圏土壌中の細菌相と対照土壌中の細菌相を詳細に比較した結果、両者は非常によく似ており、人工根圏土壌中である特定のグループに属する細菌が選択的に増加するのではないことが明らかとなった。したがって、菌量低下は一般的な細菌の全体的な働きによる可能性が高いと考えられた。このことは、非特異的な根圏効果による菌量低下という考えを支持するものである。

人工根圏土壌中におけるアズキ萎ちょう病菌（*Fusarium oxysporum* f. sp. *adzukicola*）とコムギ条斑病菌（*Cephalosporium gramineum*）の菌量について検討した結果、両菌とも全く影響を受けなかった。このことから、根圏土壌中における菌量低下はアズキ落葉病菌に特異的な現象であることが示唆された。

蛍光染色した分生胞子を接種した土壌を用いて人工根圏土壌中での発芽を観察した結果、アズキ落葉病菌では発芽率は数％と非常に低かったが、コムギ条斑病菌では25％以上の発芽率であった。したがって、人工根圏土壌中のアズキ落葉病菌は未発芽の状態で死滅することが明らかとなった。また、このことから、菌量低下現象に対して土壌静菌作用の関与が示唆された。

土壤静菌作用を*in vitro*で再現するLeaching systemを用いて、アズキ落葉病菌の栄養ストレスに対する感受性を検討した。その結果、アズキ落葉病菌はコムギ条斑病と比較して著しく感受性が高く、強い栄養ストレスの下で速やかに死滅した。

上の実験の結果から、根圏土壌中におけるアズキ落葉病菌の菌量低下機構として以下のようなことが推察された。すなわち、植物根からの浸出液により増加した非耐熱性細菌がアズキ落葉病菌分生胞子の周囲に集まり、それから浸出する栄養分を利用することにより、急激に内在栄養分が欠乏する。これにより分生胞子は外部からの栄養の供給があっても発芽不能の状態となり、さらにそのような栄養ストレスが継続することにより、死滅すると考えられる。

以上のような非特異的な微生物全体（非耐熱性細菌全体）による根圏土壌中の菌量低下の効果を土壌の広範囲に及ぼすことのできる根系を備えたトウモロコシを栽培することによって土壌中の菌量は低下すると考えることができる。1983年に近藤らはトウモロコシのみではなく、ダイズ、各種マメ科牧草の栽培によっても土壌中菌量が低下したことを報告したが、これは、これらが高い根長密度を持つことから、トウモロコシと同様の機構によって起きたと考えることができ、本研究の結論と一致する。

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

学位論文題名

トウモロコシ栽培による

アズキ落葉病菌菌量低下機構に関する研究

本論文は和文で記され、図43、表21を含む総頁数121からなり、10章をもつて構成されている。

アズキ落葉病は病原菌 *Phialophora gregata* f. sp. *adzukicola* による土壌伝染性病害であり、北海道のアズキ栽培の重要な障害となっている。本病は土壌中に生存する分生胞子が根に感染することによって起こるが、トウモロコシを栽培することにより、土壌中の病原菌菌量が著しく低下し、発生が低減されることが知られている。本論文はこのトウモロコシ栽培によるアズキ落葉病菌菌量低下の機構を解明する目的で行った研究をまとめたものである。

トウモロコシ、アズキ、ダイズ、コムギの各根圏土壌中の本菌菌量を調査した結果、それぞれで著しい菌量低下（1/10以下）が認められた。一方、栽培土壌中の菌量はトウモロコシ、ダイズ、コムギ栽培では徐々に低下したが、アズキ栽培土壌中の菌量には変化が認められなかった。

これら4作物の土壌中の根量（根長密度；単位土壌容積あたりに含まれる根の長さ）を測定した結果、アズキを除く3作物の根長密度は生育と共に上昇したが、アズキでは顕著な増加は認められなかった。このことから、アズキはその根圏での菌量低下の効果を土壌の広範囲に広げることができないため土壌中の菌量低下が認められなかったと考えられた。反対に、トウモロコシ、ダイズ、

コムギはその根系の広い分布によって、土壤全体の菌量を低下させることができると考えられた。

宿主も含めた複数の作物の根圏土壤中で同様に菌量の低下が認められたことから、これは作物の種類によらない非特異的な作用によることが示唆された。そこで、根浸出液に一般に含まれるとされる糖・アミノ酸の水溶液を透析膜を介して徐々に土壤に浸出させるモデル系を用い、そこで形成される疑似的な根圏、すなわち人工根圏土壤中の本菌菌量を調査した。その結果、人工根圏土壤中においても実際の植物根圏と同様に菌量が低下した。また、この菌量低下現象には60℃・30分の熱処理によって死滅する非耐熱性の細菌の増加とその高い微生物活性が関与することが明らかとなった。これらの結果は非特異的な根圏効果による菌量低下という考えを支持するものである。

人工根圏土壤中におけるアズキ萎ちょう病菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *adzukicola*) とコムギ条斑病菌 (*Cephalosporium gramineum*) の菌量について検討した結果、両菌とも全く影響を受けなかった。このことから、根圏土壤中における菌量低下はアズキ落葉病菌に特異的な現象であることが示唆された。

また、人工根圏土壤中でアズキ落葉病菌分生胞子は発芽しないまま死滅することが明らかとなった。一方、コムギ条斑病菌は25%以上が発芽したことから、アズキ落葉病菌の菌量低下への土壤静菌作用の関与が示唆された。土壤静菌作用を再現するためのLeaching systemを用いて、強い栄養ストレスを継続的に加えたところ、アズキ落葉病菌の生存率が著しく低下した。このことから、菌量低下は根圏微生物（非耐熱性細菌）による栄養ストレスによって胞子の内在養分が喪失することによって起こることが推察された。

以上の研究成果は、学術上高く評価される。よって審査員一同は、最終試験の結果を合わせて、本論文の提出者相馬 潤は博士（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。