

学 位 論 文 題 名

ジャガイモそうか病菌の同定と識別・定量ならびに
土壌環境制御による防除に関する研究

学位論文内容の要旨

ジャガイモそうか病に関しては、1890年代から欧米を中心に精力的な研究がなされ、病原菌の同定、発生環境、防除対策などに関する多くの研究報告がある。しかし、分類学上の混乱により病原菌の特定が近年まで困難を極めたと同時に土壌中における病原菌の生態解明は進展せず、さらに実用的な防除対策に関する研究が少なかった。

本研究では北海道に生息するそうか病菌の種類と分布を明らかにし、その簡易識別法を開発して土壌中の病原菌密度を評価するとともに、抵抗性品種を利用した土壌環境制御による防除に関する検討を行った。本研究の概要は以下の通りである。

1. ジャガイモそうか病菌の同定

北海道に分布するジャガイモそうか病菌を分離し、主としてその形態、生理的性質、血清学的性質、DNA相同性などの緒性状について既報の病原菌と比較を行った。その結果、世界的な分布を示す *Streptomyces scabies* melanin(+) 系統の他に、ハンガリーで報告された *S. scabies* melanin(-) 系統、さらに *S. turgidiscabies* および未同定の *Streptomyces* sp. の4種類の病原菌が存在することが明らかとなった。

さらに、前二者は主として道央・道南に、後二者は日高山脈を境として道東に分布し、その種類の多様性を含めて、世界的に類例を見ないユニークな分布様式を示すことが特徴的であった。

その中で、北海道に生息する新種として *S. turgidiscabies* Miyajima et al. sp. nov. を提案した。さらに、未同定 *Streptomyces* を含めた上記4種類の病原菌の形態・生理的性質、さらに血清学・遺伝学的性質が互いに大きく異なり、今後の病原菌同定の手法が示された。さらに、分類学的にも異なる多様な種が同一の病徴を引き起こすことが明らかとなり、病原性の機作に関する今後の研究の示唆が得られた。

2. ジャガイモそうか病菌の識別・定量法

分類学上の混乱ならびに病原菌の識別法に関する知見の欠如から、そうか病菌の土壌中の生態解明に関する研究は近年まで進展しなかった。本研究では、土壌中の病原菌量の評価を目的にして、各種の病原細菌で汎用されている血清学的手法ならびに遺伝子診断法によるそうか病菌の簡易識別・定量法の開発を行った。

血清学的手法では、上記の血清学的性質の類縁性比較の結果から、4種類のそうか病菌

の血清学的特異性が明らかになり、種特異抗体の作成に伴って、ELISA法により簡易に病原菌を識別する方法が開発された。これらの特異抗体は*Streptomyces scabies* melanin(+), (-)系統、*S. turgidiscabies*と未同定*Streptomyces* sp., および強酸性土壌条件下で発病する*Streptomyces acidiscabies* (北米および九州地方に分布、本道での生息は未確認)を特異的に識別した。本特異抗体を用いてコロニーELISAに応用することにより、病原菌定量への可能性が示された。

遺伝子診断法では上記の3菌群に関し、16-23SリボソーマルRNA遺伝子のspacer領域の塩基配列が竹内および筆者ら(1997)によって明らかにされたことに伴い、PCR(Polymerase chain reaction)を用いた菌叢および病斑からの簡易識別が可能となった。さらに、効率的に放線菌を分離する選択培地の検討を行った。*Streptomyces scabies*の分離のための既報の培地(Kenneth et al, 1998)を基に、更に*S. turgidiscabies*の分離効率に優れる培地を作成した。本培地を用いて土壌希釈平板法により土壌中の放線菌を分離し、さらに上記PCRの手法を用いて病原菌の識別をすることにより*S. turgidiscabies*の土壌中の菌量の評価が初めてなされた。

その結果、*S. turgidiscabies*の土壌中の秋期の菌量は本病の激発圃場においても約 1.7×10^5 cfu/g・乾土程度であることが確認され、今後の生態研究の端緒となることが期待された。

3. 土壌環境制御によるジャガイモそうか病の防除

古く、Wheeler and Adams(1897)のイオウの土壌施用による防除に関する最初の報告以来、土壌環境制御に係わる知見の蓄積はLapwood (1966, 1973他)の土壌水分に係わる一連の報告を含め、膨大とも言える研究報告がある。また、抵抗性品種に対しても「Early gem」, 「Ackerzegen」をはじめ、強抵抗性を示す品種が探索・育成され、それらは現在も育種母材として多用されている。

しかし、連作を前提とした九州地方を除き、畑輪作体系における本病に対する実用的な防除対策は確立されていない。

一方、北海道立根釧農業試験場馬鈴薯科で近年育成された「根育31号」は中度の抵抗性を示す実用性品種として期待されている。そこで、本研究では「根育31号」を用い、速効性の土壌酸度調製資材である硫酸第一鉄(商品名「フェロサンド」)の土壌施用の併用による防除効果を検討した。

フェロサンド、乾燥血粉、ダイズ蛋白質などの土壌施用により顕著な防除効果が得られた。施用土壌においては土壌pHの低下に伴う、土壌放線菌、細菌の増殖抑制が明らかに認められた。

フェロサンドの土壌施用による抑制効果は、600Kg/10aの施用深度 20cmに比較して、200Kg/10a, 同5cmでも同等の効果が得られ、その土壌pHは土壌の攪拌が無ければ、翌年も維持されることが認められた。

抵抗性品種「根育31号」とフェロサンドの200Kg/10a, 施用深度5cmの土壌施用の併用により実用的な防除効果が得られた。

今後は難防除土壌病害の代表とされるそうか病の被害軽減のために、抵抗性品種利用と

土壌環境制御などの複数の技術の組み合わせによる防除体系の確立が重要とする知見が得られた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 小 林 喜 六
副 査 教 授 生 越 明
副 査 教 授 上 田 一 郎
副 査 教 授 喜久田 嘉 郎

学 位 論 文 題 名

ジャガイモそうか病菌の同定と識別・定量ならびに 土壌環境制御による防除に関する研究

本研究は、図29、表49、引用文献178を含み6章からなる総頁数177の和文論文である。別に参考論文9編が添えられている。

本研究では北海道に生息するそうか病菌の種類と分布を明らかにし、その簡易識別法を開発して土壌中の病原菌密度を評価するとともに、抵抗性品種を利用した土壌環境制御による防除に関する検討を行った。概要は以下の通りである。

1. ジャガイモそうか病菌の同定

北海道に分布するジャガイモそうか病菌を分離し、主としてその形態、生理的性質、血清学的性質、DNA相同性などの諸性質について既報の病原菌と比較を行った。その結果、世界的な分布を示す *Streptomyces scabies melanin*(+) 系統の他に、ハンガリーで報告された *S. scabies melanin*(-) 系統、さらに *S. turgidiscabies* および未同定の *Streptomyces* sp. の4種類の病原菌が存在することが明らかとなった。

さらに、前二者は主として道央・道南に、後二者は日高山脈を境として道東に分布し、その種類の多様性を含めて、世界的に類例を見ないユニークな分布様式を示すことが特徴的であった。

その中で、北海道に生息する新種として *S. turgidiscabies* Miyajima et al. sp. nov. を提案した。さらに、未同定 *Streptomyces* を含めた上記4種類の病原菌の形態・生理的性質、さらに血清学・遺伝学的性質が互いに大きく異なり、今後の病原菌同定の手法が示された。さらに、分類学的にも異なる多様な種が同一の病徴を引き起こすことが明らかとなり、病原性の機作に関する今後の研究の示唆が得られた。

2. ジャガイモそうか病菌の識別・定量法

血清学的手法では、4種類のそうか病菌の血清学的特異性が明らかになり、種特異抗体の作成に伴って、ELISA法により簡易に病原菌を識別する方法が開

発された。これらの特異抗体は *Streptomyces scabies* melanin(+), (-) 系統, *S. turgidiscabies* と未同定 *Streptomyces* sp., および強酸性土壌条件下で発病する *Streptomyces acidiscabies* (北米および九州地方に分布, 本道での生息は未確認) を特異的に識別した。本特異抗体を用いてコロニーELISAに応用することにより, 病原菌定量への可能性が示された。

遺伝子診断法では上記の3菌群に関し, 16-23SリボソーマルRNA遺伝子の spacer領域の塩基配列が竹内および筆者ら(1997)によって明らかにされたことに伴い, PCR(Polymerase chain reaction)を用いた菌叢および病斑からの簡易識別が可能となった。さらに, 効率的に放線菌を分離する選択培地の検討を行った。*Streptomyces scabies* の分離のための既報の培地(Kenneth *et al.*, 1998)を基に, 更に *S. turgidiscabies* の分離効率に優れる培地を作成した。本培地を用いて土壌希釈平板法により土壌中の放線菌を分離し, さらに上記PCRの手法を用いて病原菌の識別をすることにより *S. turgidiscabies* の土壌中の菌量の評価が初めてなされた。

3. 土壌環境制御によるジャガイモそうか病の防除

古く, Wheeler and Adams(1897)のイオウの土壌施用による防除に関する最初の報告以来, 土壌環境制御に関する知見はLapwood (1966, 1973他)の土壌水分に係わる一連の報告を含め, 膨大とも言える研究報告がある。また, 抵抗性品種に対しても「Early gem」, 「Ackerzegen」をはじめ, 強抵抗性を示す品種が探索・育成され, それらは現在も育種母材として多用されている。

しかし, 畑輪作体系における本病に対する実用的な防除対策は確立されていない。

一方, 北海道立根釧農業試験場馬鈴薯科で近年育成された「根育31号」は中度の抵抗性を示す実用性品種として期待されている。そこで, 「根育31号」を用い, 速効性の土壌酸度調製資材である硫酸第一鉄(商品名「フェロサンド」)の土壌施用の併用による防除効果を検討した。

フェロサンド, 乾燥血粉, ダイズ蛋白質などの土壌施用により顕著な防除効果が得られた。施用土壌においては土壌pHの低下に伴う, 土壌放線菌, 細菌の増殖抑制が明らかに認められた。

フェロサンドの土壌施用による抑制効果は, 600Kg/10aの施用深度 20cmに比較して, 200Kg/10a, 同5cmでも同等の効果が得られ, その土壌pHは土壌の攪拌が無ければ, 翌年も維持されることが認められた。

抵抗性品種「根育31号」とフェロサンドの200Kg/10a, 施用深度5cmの土壌施用の併用により実用的な防除効果が得られた。

今後は難防除土壌病害の代表とされるそうか病の被害軽減のために, 抵抗性品種利用と土壌環境制御などの複数の技術の組み合わせによる防除体系の確立が重要であるとする知見が得られた。

以上のように, 本論文はジャガイモそうか病菌の同定と識別, 定量を可能にし, あわせて土壌環境制御による防除体系を確立した。この成果は学術的・実用的に高く評価される。よって審査員一同は, 田中文夫が博士(農学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。