

## 学位論文題名

## Studies on the common spear rot of oil palm and its pathogenic fungi in Indonesia

(インドネシアにおけるアブラヤシ葉腐病の病原糸状菌に関する研究)

## 学位論文内容の要旨

アブラヤシ葉腐病は、株腐病としても知られるアブラヤシ (*Elaeis guineensis* Jacq.) 幼樹の生育に多大な影響を与える世界的な重要病害である。1920年代にインドネシアで最初の報告がなされて以来、この病害はアブラヤシ大規模栽培圃場において多大な損失を与えてきたにもかかわらず、その原因は不明のままであった。一般には、病原性発現を再現できる発生環境および病原を確定できないことを理由として、何らかの栄養障害が原因と考えられてきた経緯がある。

現在、インドネシアにおいて典型的な症状を示す罹病幼樹の発生率は、南スマトラ、北スマトラおよびバンガ・ベリツン各県のプランテーションにおいて10%以上に達する。南スマトラでは一部の圃場において8年生樹にも見られたものの、発症が見られるのは樹齢4年以下のものが大部分である。その症状は、若枝の小葉における進展性の腐敗、さらに、それに引き続く葉組織の崩壊および萎縮を特徴とする。多数の小葉が被害を受けた樹木においては、葉軸が歪曲することもしばしばあり、このような症状は本病発生樹の25%に及んでいた。本研究の目的は、罹病アブラヤシから分離された糸状菌の病原性を環境要因との関連から再現することにより、本病の原因を明らかにすることである。

罹病樹の典型的な葉腐れ症状から14種の糸状菌が分離され、これらは、形態学的性質および translation elongation factor (EF-1 $\alpha$ ) あるいは internal transcribed spacer (ITS) region の塩基配列比較により以下のように同定された。すなわち、*Fusarium incarnatum*, *F. solani*, *Fusarium* sp. (*Gibberella fujikuroi* 複合種の1種と推定される), *F. sacchari*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *Ceratocystis paradoxa*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Pestalotiopsis microspora*, *Curvularia affinis*, *Rhizoctonia* sp., *Nigrospora* sp., *Moniliella* sp. および *Colletotrichum* sp. である。この中で *F. incarnatum*, *F. solani*, *Fusarium* sp. および *C. paradoxa* が病葉から高い頻度で分離された。一方、健全葉からは *P. microspora* あるいは *C. affinis* のほか、*F. incarnatum* および未同定の *Fusarium* sp. が高頻度で分離されたものの、*C. paradoxa* は分離されなかった。

以上の分離糸状菌各種を代表する18菌株について病原性試験を行った。その結果、*C. paradoxa* は自然発病と同様な進展性の腐敗を小葉に起こし、*C. paradoxa* に比較して病原力、分離率は低いものの *F. sacchari* にも病原性が認められた。また、両者においては、特に生長が急激なため水分を多く含んで肥厚した小葉に対し、通常の小葉より高い発病程度を示した。同様に、肥厚していない小葉に対しては病原性が認められなかった *Fusarium* 属菌 (*F. incarnatum*, 未同定 *Fusarium* sp.) によっても、上記のような肥厚した小葉には小型の病斑を

形成することから、これらはいわゆる「弱病原性」であると確認された。なお、いずれの菌株、条件においても発病には傷が必要である。

本病害の症状の発現には、特に弱病原性菌株の場合には小葉の罹病性が高くなることが必要十分条件となる。苗の育成方法の一つである湛水苗床 (flooded nursery) においては、排水と湛水の繰り返しによる間欠的な乾燥ストレスが、小葉の迅速な肥厚生長を促す。また、本圃苗床 (field nursery) においては、11月から12月の雨期初期の施肥によるアブラヤシの急速な生長の間に、罹病性の高い小葉が形成されることになる。このように、アブラヤシの苗育成の過程において、乾燥からの回復後に続く急速な生長期間にアブラヤシの罹病性が高まり、弱病原性のもも含めた複数の糸状菌の感染により本病が発症するものと考えられた。ただし、これら弱病原性の糸状菌各種を混合接種してもそれに伴って発病が激しくなることはなく、比較的病原性が高い *C. paradoxa* と弱病原性の *Fusarium* 属菌との混合接種においても、*C. paradoxa* 単独接種の場合と比べて発病程度に差は認められなかった。

以上の機構を明らかにするため、弱病原性菌である数種の *Fusarium* 属菌の生長、病原力および各種細胞壁分解酵素の活性に対する乾燥と高浸透圧ストレスの影響について検討した。高浸透圧条件では、著しく各菌株の菌糸生長が抑制されたが、ストレスを取り除いた培地に戻すと菌糸生長は迅速な回復を見せた。高浸透圧培地で前培養した未同定 *Fusarium* sp. と *F. incarnatum* は、回復後ストレスが与えられなかったときに比べて2~4倍の大きさの病斑を形成し、病原力の増強が認められた。なお、中程度の病原力を示す *F. sacchari* では、病斑形成程度の増加に対する高浸透圧ストレスの影響は見られなかった。この時 pectin lyase, laccase, lignin peroxidase, manganese peroxidase および cellulase 活性は、いずれの *Fusarium* 属菌においても認められなかったが、*F. incarnatum* 菌株 BT48 を除くすべての *Fusarium* 属菌で、液体培地内あるいはそれらの感染葉において polygalacturonase 活性の増加を示した。未同定 *Fusarium* sp. および *F. sacchari* の感染葉では5~32倍の polygalacturonase 活性を示したことから、これらによる小葉の腐敗には pectinase が関与しているものと推察された。以上のことは、未同定 *Fusarium* sp., *F. incarnatum* および *F. sacchari* の高浸透圧ストレスに対する病原力昂進誘導という適応的可塑性を示唆する。このように、浸透圧適応が弱病原性 *Fusarium* 属菌の病原力増強に関連することは新知見であると考えられる。病原力が高い *C. paradoxa* においても、同様に高浸透圧ストレスからの回復に伴う菌糸生長の回復と病原力の増強が認められ、polygalacturonase 活性のほか laccase 活性および cellulase 活性の有意な増加が認められた。

以上、本論文において、アブラヤシ葉腐病の発生拡大には、乾燥により宿主側の罹病性が高くなることと併せて、病原力が比較的強い *C. paradoxa* および *F. sacchari* に加えて、高浸透圧および乾燥ストレスからの回復に伴う未同定 *Fusarium* sp. や *F. incarnatum* など弱病原性の葉面常在糸状菌の病原力の増強が関係することを明らかにした。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 近 藤 則 夫  
副 査 特任教授 幸 田 泰 則  
副 査 講 師 秋 野 聖 之

学 位 論 文 題 名

## Studies on the common spear rot of oil palm and its pathogenic fungi in Indonesia

(インドネシアにおけるアブラヤシ葉腐病の病原糸状菌に関する研究)

本論文は図 30, 表 9 を含み, 全 7 章からなる総頁数 138 の英文論文であり, 別に参考論文 1 編が添えられている。

アブラヤシ葉腐病は, アブラヤシ (*Elaeis guineensis* Jacq.) 幼樹の生育・育成に多大な影響を与える世界的な重要病害である。1920 年代にインドネシアで最初の報告がなされたものの, 本症状からの分離微生物による病徴が必ずしも再現されなかったことから, その原因として栄養障害が疑われるなど, 病原菌は長らく不明のままであった。本病害は, アブラヤシ大規模栽培圃場において樹齢 4 年以下の幼樹に主に発生し, 若枝の小葉における進展性の腐敗, さらに, それに引き続く葉組織の崩壊および萎縮を特徴とする。

本研究は, 罹病アブラヤシから分離された病原性糸状菌の同定を行うとともに, 発病に関わる病原菌の生理的要因を明らかにすることを目的に行われたものである。詳細は以下のとおりである。

### 分離糸状菌の病原性

罹病アブラヤシの典型的な葉腐れ症状から分離された 14 種の糸状菌の中で, 高頻度で分離され, 小葉の有傷接種法により病原性が認められたのは, *Ceratocystis paradoxa* であり, 自然発病と同様な進展性の腐敗を小葉に起こした。同時に, 分離率は低いものの *Fusarium sacchari* にも病原性が認められた。さらに, 両者においては, 特に生長が急激なため水分を多く含んで肥厚したアブラヤシの小葉に対して, より高い発病程度を示すことが明らかにされた。なお, 健全葉からはこれらの糸状菌は分離されていない。また, 肥厚が見られない小葉に対して病原性が認められなかった *F. incarnatum* および *Gibberella fujikuroi* 複合種の 1 種と推定される未同定 *Fusarium* sp. においても, 肥厚した小葉においては有傷接種により小型の病斑が形成されることから, これらはいわゆる弱病原性菌であると確認された。これらの糸状菌は健全葉からも分離されており, 常在の葉面糸状菌と考えられる。

### 高浸透圧ストレスと病原力

このように, 宿主であるアブラヤシの小葉の肥厚生長により罹病性が高くなる (抵抗性が低下する) という宿主側の要因とは別に, 環境要因として乾燥ストレスあるいは高浸透圧ストレスが及ぼす病原菌自身の病原力への影響が検討された。高浸透圧条

件では、著しく各菌株の菌糸生長が抑制されたが、高浸透圧ストレスを取り除いた培地に戻すと菌糸生長は迅速に回復した。高浸透圧培地で前培養した未同定 *Fusarium* sp. と *F. incarnatum* は、菌糸生長の回復後にはストレスが与えられなかったときに比べて2～4倍の大きさの病斑を形成し、病原力の増強が認められた。なお、中程度の病原力を示す *F. sacchari* では、病斑形成程度の増加に対する高浸透圧ストレスの影響は見られなかった。

#### 各種細胞壁分解酵素の活性比較

この時、細胞壁分解酵素である pectin lyase, laccase, lignin peroxidase, manganese peroxidase および cellulase の活性は、いずれの *Fusarium* 属菌においても認められなかったが、一部菌株を除くすべての *Fusarium* 属菌で、液体培地内あるいはそれらの感染葉において polygalacturonase 活性の増加を示した。未同定 *Fusarium* sp. および *F. sacchari* の感染葉では5～32倍の polygalacturonase 活性を示したことから、これら糸状菌による小葉の腐敗には pectinase が関与しているものと推察された。病原力が強い *C. paradoxa* においても、同様に高浸透圧ストレスから通常の浸透圧に変化することに伴う菌糸生長の回復と病原力の増強が認められ、polygalacturonase 活性のほか laccase 活性および cellulase 活性に有意な増加が認められた。

以上のように、長年に渡って不明であったアブラヤシ葉腐病の病原糸状菌を明らかにし、高浸透圧ストレスによるこれら病原糸状菌の病原力の回復及び増強という知見は本病害の防除法開発に有用な成果であり、学術上および応用上高く評価できる。よって審査員一同は、スワンディが博士（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。