

(様式5)

指導教員 承認印	主	副	副
	㊟	㊟	㊟

学位（博士）論文要旨

論文提出者	生物システム応用科学府 生物システム応用科学専攻 博士後期課程 <u>循環生産システム学</u> 専修 平成23年度入学 氏名 <u>渡邊 貴由</u> ㊟				
主指導教員 氏名	豊田 剛己	副指導教員 氏名	橋本 洋平	副指導教員 氏名	
論文題目	線虫天敵糸状菌の培養物による植物の線虫害軽減に関する研究				
論文要旨 (2,000 字程度)					
<p>本研究の目的は、線虫に対して寄生もしくは捕捉作用の強い糸状菌（線虫天敵微生物）を日本国内の線虫害抑止土壌および生産者圃場の土壌などから単離することおよび線虫天敵微生物の培養物による線虫害抑制効果を室内試験ならびに圃場試験で確認することである。</p> <p>「線虫に対して寄生もしくは捕捉作用の強い糸状菌を日本国内の線虫害抑止土壌および生産者圃場の土壌などから単離すること」では、線虫天敵微生物のうち線虫捕捉菌と線虫寄生菌に注目した。また、線虫害抑制効果の高い菌を得るため、愛知県に存在する線虫害抑止土壌と呼ばれる線虫害の発生がまれな特殊な土壌を供試し、線虫天敵微生物の単離を行った。二層遠沈浮遊法を用いて土壌や堆肥中から死滅した線虫を分離し、線虫捕捉菌を単離した。また、線虫寄生菌は、ネコブセンチュウに罹病した作物の根から採取したネコブセンチュウの卵塊より単離した。これらの手法を用いて線虫捕捉菌 8 菌株、線虫寄生菌 21 菌株を得た。単離した線虫捕捉菌は、捕捉器官の形態からすべて <i>Arthrobotrys</i> 属糸状菌であった。単離した線虫捕捉菌のうち、生育が旺盛な <i>Arthrobotrys</i> sp. TF006 を栽培試験に供試しようとしたが、大量培養できず、栽培試験の実施を断念した。株式会社テクノスルガ・ラボによる試験結果では、<i>Arthrobotrys</i> sp. TF006 の ITS-5.8S rDNA 塩基配列は、アポロン DB-FU および国際塩基配列データベースに対する相同性検索の結果、<i>Arthrobotrys oligospora</i> Fresen. と推定され (96.5~99.5%)、分生子などの形態からも <i>A. oligospora</i> と確認された。また、ネコブセンチュウ卵から単離した糸状菌は、分生子などの形態からすべて <i>Paecilomyces</i> 属糸状菌であると考えられた。そのうち、<i>Paecilomyces</i> sp. EP015 が生育旺盛であったので、栽培試験に供試した。株式会社テクノスルガ・ラボによる試験結果では、<i>Paecilomyces</i> sp. EP015 の ITS-5.8S rDNA 塩基配列は、アポロン DB-FU および国際塩基配列データベースに対する相同性検索の結果、子囊菌門の一種である <i>Purpureocillium lilacinum</i> (Thom) Luangsa-ard, Hywel-Jones & Samson あるいはそれに近縁な <i>Purpureocillium</i> sp. と推定された (以降、<i>Paecilomyces</i> sp. EP015 は、<i>Purpureocillium</i> sp. EP015 と表記する。)</p> <p>「線虫天敵微生物の培養物による線虫害抑制効果を室内試験ならびに圃場試験で確認すること」では、ナスをネコブセンチュウ汚染圃場で栽培し、ナスの収量および根こぶ指数とナス定植時のネコブセンチュウ密度との関係について調査した。根こぶ指数とは、ネコブセンチュウの寄生により根にできたこぶの程度を 10 段階に数値化したものである。ナスの収量低下は、ネコブセンチュウ初期密度 2 頭/20g 土壌以上で観察された。この値は既報のサツマイモネコブセンチュウのナスの要防除水準 1 J2/20g 土壌 (Schomaker・Been 2006) と極めて類似した。根こぶ指数とナス収量の関係については根こぶ指数 5 以上で収量低下が観察された。したがって、ナスの線虫害による収量低下は、ネコブセンチュウ初期密度 2 頭/20g 土壌以上、根こぶ指数 5 以上で起きることが判明した。次に、<i>Purpureocillium</i> sp. EP015 培養物 (以下、培養物と呼ぶ。) を用</p>					

いたポット試験を実施し、培養物の特長を明らかにした。非滅菌土壌にサツマイモネコブセンチュウ卵を接種してサツマイモネコブセンチュウ卵汚染土壌（50 卵/20g 土壌）を作製し、感受性作物であるハウセンカ苗を定植してハウセンカの根にできるネコブ数と根重（乾物）から算出したネコブ密度を指標にして培養物の施用量、施用時期を検討した。その結果、培養物の適正な施用量は 600kg/10a であり、施用時期は定植 2 週間前がよいことが分かった。次に、培養物のネコブセンチュウ害抑制効果を検証するため、培養物を施用したネコブセンチュウ汚染圃場にナスを栽培し、収量および根こぶ指数を調査した。また、リアルタイム PCR 法を用いて栽培終了時の土壌中の *Purpureocillium* sp. EP015 の生菌数を計測した。培養物の施用方法は、全面全層施用、根圏の *Purpureocillium* sp. EP015 密度を高めるため植穴に培養物を施用する植穴施用および培養物を植穴施用するときにカニガラを同時に施用するカニガラ併用施用の 3 種類である。いずれも定植 2 週間前に施用した。その結果、カニガラ併用施用でのナスの根こぶ指数が 5 以下になり、収量の増加が観察された。また、植穴施用により *Purpureocillium* sp. EP015 の定着性が向上し、カニガラ併用施用でさらに高まった。

以上のことから、ナスの線虫害による収量低下は、ネコブセンチュウ初期密度 2 頭/20g 土壌以上、根こぶ指数 5 以上で起きたことから、線虫天敵微生物培養物などを用いてこれらの指標より高くしないような栽培体系が確立できればナスのネコブセンチュウ害が軽減される可能性が示唆された。また、培養物の適正な施用量は 600kg/10a であり、定植 2 週間前に植穴箇所に培養物を施用すること、培養物の植穴施用時にカニガラを同時に施用することが望ましいことが明らかになった。