

(様式11)

論文審査の要旨（課程博士）

生物システム応用科学府長 殿

審査委員 主 査 豊田 剛己 ⑩

副 査 橋本 洋平 ⑩

副 査 佐藤 令一 ⑩

副 査 梶田 真也 ⑩

副 査 有江 力 ⑩

学位申請者	<u>循環生産システム学</u> 専修 平成23年度入学 学籍番号 <u>11701303</u> 氏名 <u>渡邊 貴由</u>
申請学位	博士（農学）
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 Effect of nematode suppressive fungi as a biological control agent on plant diseases caused by root-knot nematodes
論文審査要旨（2,000字程度） <p>本研究の目的は、①線虫を効果的に抑制する線虫天敵糸状菌の単離・選抜、②線虫天敵糸状菌の大量培養方法の検討、③線虫天敵糸状菌を培養した資材の効果的な使用方法の検討 である。</p> <p>「①線虫を効果的に抑制する線虫天敵糸状菌の単離・選抜」では、第2章「線虫捕捉菌の単離」および第3章「線虫寄生菌の単離」において研究結果を記述する。具体的には、線虫捕捉菌は、土壌中から2層遠沈浮遊法により死滅した線虫を分離し、単離した。また、線虫寄生菌は、ネコブセンチュウの卵塊より単離した。これらの手法は博士課程以前に実施した研究の中でも行っており、すでに資材化に有望な線虫寄生菌、線虫捕捉菌が得られていたが、さらに線虫に対して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、糸状菌の分離を試みたところ、線虫捕捉菌1菌株、線虫寄生菌3菌株を得たことから、線虫抑止性にこれらの線虫天敵微生物が関与している可能性が示唆された。次に、これらの単離した菌株を既存の菌株と比較したところ、既存株の生育が新規株よりも旺盛であったので、大量培養以降の研究については既存株を用いて実施した。</p> <p>「②選抜した線虫天敵糸状菌の大量培養方法の検討」では、第4章「線虫捕捉菌の大量培養」および第5章「線虫寄生菌の大量培養」において研究結果を記述する。具体的には、「①線虫を効果的に抑制する線虫天敵糸状菌の単離・選抜」で選抜した線虫捕捉菌および線虫寄生菌を液体培地と固体培地を用いて大量培養を</p>	

試みた。まず、液体培地で培養菌液を作り、それを固体培地に接種し、培養した。さまざまな液体培地を試験し、線虫天敵糸状菌の増殖の良いものを得た。また、固体培地の検討においても増殖の良い組成を得ることを念頭に置くが、資材コストが高くなってしまえば、普及しないことが予想されたので、原材料に未利用有機物を組み入れ、原材料コストを低減し、また、堆肥のように堆積して培養することで、人件費を抑え、販売力の高い資材化を製造できる培養方法を確立し、工場レベルでの大量培養可能であることを確認した。ただし、これらの大量培養に関する結果については企業秘密に関わるため、論文中に詳細を記載する予定はない。

「③線虫天敵糸状菌を培養した資材の効果的な使用方法の検討」では、第7章「ポットを用いた培養物の線虫害抑制効果の確認」、第8章「無底ポットを用いた培養物の線虫害抑制効果の確認」および第9章「圃場を用いた培養物の線虫害抑制効果の確認」で研究結果を記述する。具体的には、ポットを用いた培養物の線虫害抑制効果の確認では、様々な条件を変えて、線虫害抑止効果を確認し、培養物の特長を明らかにした。具体的には、ポット試験では、サツマイモネコブセンチュウ卵を供試し、感受性作物であるハウセンカを栽培してハウセンカの根にできるネコブ数を調査した。培養物の線虫害抑制効果を根にできるネコブ数を指標にして、培養物の施用量、施用時期の検討および従来から線虫抑制が知られているカニガラとの併用効果を調査した。その結果、培養物の適正な施用量は600kg/10a、施用時期は定植2週間前、カニガラとの併用効果ではカニガラ1t/10aがよいことが分かった。無底ポットでは、ネコブセンチュウ汚染圃場においてダイコンおよびサツマイモを栽培し、培養物のネコブセンチュウへの効果を確認した。無底ポットでは、施用量を増加に伴うネコブセンチュウへの効果とそれらの連用効果を観察した。その結果、培養物の施用量に伴い、植物寄生性線虫密度の低下が観察された。次に、ネコブセンチュウ汚染圃場においてナスを栽培し、ネコブセンチュウへの効果を確認した。線虫害は、植物寄生性線虫の初期密度が高いほど大きいことが知られている。線虫害を効果的に抑えるために培養物の施用量を多くすれば線虫天敵糸状菌密度は高くなり、効果が増大するが、施用コストが上がり、経済的に許容できない可能性もある。そこで培養物の全面全層施用のほか根圏の線虫天敵糸状菌密度を高めるような植穴施用およびカニガラ施用を組み合わせ、線虫害が軽減されるか確認した。その結果、植穴施用により線虫天敵微生物の定着性が向上し、カニガラを併用することでさらに高まった。圃場試験の結果のうち初年度において、線虫天敵糸状菌の培養物を施用しても植物の線虫害が軽減されなかったものの、植物寄生性線虫（ネコブセンチュウ）初期密度と植物（ナス）の収量および被害度の関係を解析した。また、第6章「線虫寄生菌単離株の迅速なモニタリング手法の確立」では分子生物学的手法であるアルタイムPCRを用いて線虫卵寄生菌単離株を検出する方法を確立し、培地および土壌中の線虫卵寄生菌単離株の迅速なモニタリングが可能となった。

以上のことから、線虫害抑止土壌の線虫抑止性にこれらの線虫天敵微生物が関与している可能性が示唆された。また、植物性寄生性線虫の線虫害軽減には、線虫寄生菌の定着が重要であり、そのためには定植前に植穴箇所に培養物を施用すること、また、カニガラの存在が単離した線虫寄生菌にとって有利に働くことが示唆されたので、カニガラを併用することが望ましいことが明らかになった。