

(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 <u>20</u> 年度入学 氏名 <u>須賀 有子</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	DGGE 法の土壌微生物生態研究への応用				
論文要旨 (2,000 字程度) 安全で高品質な農作物の持続的生産を行うためには、安定した地力の確保や連作障害等の克服が重要である。そのためには、土壌の性質、つまり化学性、物理性、生物性を把握し、適切な土壌管理を行う必要がある。土壌の生物性は、バイオマス、活性、群集構造（フロラ）から構成されるが、それぞれ関連し合っているため、この3つの観点から評価することが望ましい。しかし、バイオマス、活性に関する知見に比べて、群集構造に関する知見は少なく、栽培管理が農地土壌の微生物群集構造におよぼす影響について十分に明らかになっていない。そこで本研究は、微生物群集構造解析法として DGGE 法を用いて、連作や前作、有機物施用、拮抗細菌接種、土壌消毒といった様々な栽培管理が、農地土壌や栽培用培地の細菌および糸状菌の群集構造におよぼす影響を評価することを目的として行った。 軽石培地を用いたトマトの養液栽培において青枯病発病試験を行い、トマト青枯病拮抗細菌やリジン、シクロオスの添加が、青枯病発病およびトマト根の細菌、糸状菌群集構造におよぼす影響を評価した。青枯病発病株率が最も低かった拮抗細菌 K20 株およびリジン添加区において、特徴的な細菌の DGGE バンドが見られ、これらのバンドに相当する細菌種が青枯病発病抑制に関与したことが推察された。また、トマトの前作作物として、トマト以外の作物を栽培した軽石培地を用いて青枯病発病試験を行い、前作作物の種類が青枯病発病および軽石培地の細菌群集構造におよぼす影響を評価した。青枯病発病程度によって、軽石培地の細菌群集構造が異なる傾向が見られ、軽石培地の細菌群集構造の違いが青枯病発病に影響した可能性が示された。 スギ皮培地を用いたユリのボックス栽培試験において、ユリの連作が土壌病害発生およびスギ皮培地の糸状菌の群集構造におよぼす影響を評価した。2種類のスギ皮培地を用いたユリの周年栽培実証試験（年3作）では、培地の種類が栽培回数よりもスギ皮培地の糸状菌群集構造の変動に影響することがわかった。同じ種類の培地では、栽培回数の影響が見られ、施肥、灌水等の栽培管理によるスギ皮培地の化学性の変化が、糸状菌群集構造の違いに影響したと考えられた。また、ユリ病原糸状菌の DGGE マーカーを作製し、スギ皮培地の潜在的な病害発生リスクの評価を試みた。栽培試験に用いたスギ皮培地において、病原糸状菌と同位置の DGGE バンドはほとんど見られず、また栽培期間を通して病害は発生しなかったことから、ユリの周年栽培を行ってもスギ皮培地の病害発生リスクは小さいと考えられた。 土壌の生物性は、土壌病害発生に大きく関与していると考えられる。そこで、土壌生物性を考慮した有機質資材施用法開発のための基礎的な知見を得ることを目的として、堆肥とワラの組み合わせ施用が土壌生物性におよぼす影響を評価した。化成肥料単用に比べて、化成肥料に堆肥またはワラを併用することによって、微生物バイオマスおよび呼吸量、また細菌、糸状菌ともに群集の多様性が高まることがわかった。堆肥およびワラを併用すると、これらはさらに高まることがわかった。本試験で得られた微生物群集の多様性の異なる土壌を用いて、ホウレンソウ萎凋病、また株腐病発病試験を行い、微生物群集の多様性と発病の関係を調					

査した。その結果、萎凋病発病試験では、多様性が高かった堆肥、ワラ、化成肥料併用区では、多様性の低かった堆肥、化成肥料併用区に比べて、有意に発病株率が低かった。また、株腐病発病試験においても同様の傾向が見られ、微生物群集の多様性がハウレンソウ土壌病害の発病に影響した可能性が示唆された。

雨よけハウスでのハウレンソウのプランタ栽培において、ハウレンソウ萎凋病発病試験を行い、カラシナを用いた土壌還元消毒および消毒後のハウレンソウの連作が、萎凋病発病および土壌の糸状菌群集におよぼす影響を評価した。土壌還元消毒処理によって糸状菌群集は大きく変動し、また、フスマ、カラシナ、エンバクといった消毒処理に用いる有機物の種類によっても糸状菌群集が変動することがわかった。カラシナを用いた土壌還元消毒は、夏季のハウレンソウ栽培で高い萎凋病発病抑制効果が見られたが、その効果は翌年の夏作まで持続せず、萎凋病が多発する夏作前に再度消毒処理を行う必要があると考えられた。

以上のように、DGGE法を用いて農地土壌や栽培用培地の微生物群集構造解析を行い、様々な栽培管理が細菌や糸状菌の群集構造の変動に影響することを明らかにした。また、特定の微生物種や微生物群集の多様性が土壌病害発生に関与した可能性を示した。本研究を通して、DGGE法は農地土壌や栽培用培地の一般的な微生物群集構造解析法として適用可能であり、栽培管理による微生物群集構造の変動を評価するのに適していると考えられた。