

(様式第 13号)

学 位 論 文 要 旨

氏名: Ganphung Rattrikorn

題目: 島根微生物ライブラリーを用いたキュウリ病害の抑制に関する研究
(Studies on the inhibition of cucumber diseases by using Shimane microbial library)

キュウリは日本の主要な農作物の1つであるが、うどんこ病、褐斑病、炭疽病、つる枯病、斑点細菌病、べと病など、さまざまな病害による収量低下が発生する。病気の防除には、抵抗性・耐病性品種の利用や化学合成農薬の使用が一般的であるが、過度な農薬使用による薬剤耐性菌の出現が問題となっている。一方で、生きた微生物を用いた微生物農薬では、耐性菌の出現リスクが少ないと考えられている。そのため、微生物を利用した生物防除に関する研究が盛んに行われている。我々は、島根県内に生息する微生物に注目し、植物及び土壌から分離した微生物を保存して、島根微生物ライブラリーを構築した。

本研究は島根県内で分離された微生物が保存されている島根微生物ライブラリーを用いて、キュウリ病害の抑制について調査したものである。得られた結果は以下のように要約される。

島根県松江市で分離された *Streptomyces blastmyceticus* である STS1 株によるキュウリうどんこ病に対する抑制効果を調査した。まず、室内実験における STS1 株の培養液の効果を調査した。うどんこ病菌 (*Podosphaera xanthii*) を接種する 24 時間前に STS1 株の培養液をキュウリに前処理した。その後、うどんこ病菌を接種し、7 日後に病害指数を調査した。その結果、室内実験において、STS1 株は、うどんこ病の発生を抑制した。また、STS1 株を前処理したキュウリ葉上では、後接種した *P. xanthii* の分生子の発芽が抑制された。そこで、うどんこ病が発病したキュウリ葉上に STS1 株を後処理して、電子顕微鏡による観察を行った。その結果、キュウリ葉上では、STS1 株の菌糸が生育して、*P. xanthii* の分生子を崩壊している様子が観察された。STS1 株はキチナーゼを生産することが確認されており、キチナーゼにより、*P. xanthii* の分生子が溶解された可能性が示唆された。そこで、STS1 株によるうどんこ病に対する抑制効果を野外試験により調査した。STS1 株を栽培期間中に 5 日間ごとに処理し、経時的にうどんこ病の発生を調査した。その結果、対照区では、定植 15 日からうどんこ病の発生が確認され、定植 60 日後には、植物体全体にうどんこ病の発生が確認され

た。一方、STS1 株を処理したキュウリでは、定植 60 日後でもうどんこ病の発生はほとんど確認されなかった。また、STS1 株は、LB 寒天培地上において、少なくとも 20~37℃では生育可能であり、複数の農薬に対して、耐性を示した。これらの結果より、STS1 株は、野外でのキュウリうどんこ病の防除に利用できる可能性が示唆された。

次に島根県江津市で分離した GT1022 株によるキュウリ炭疽病菌 (*Colletotrichum orbiculare*) に対する抑制効果を調査した。まず、GT1022 株と炭疽病菌を対峙培養した。その結果、GT1022 株の存在下では、炭疽病菌の菌糸生育は、著しく抑制され、菌糸先端の崩壊が観察された。また、GT1022 株の培養液により、分生子の発芽も抑制された。そこで、GT1022 株の培養液を前処理し、後接種した炭疽病菌によるキュウリ葉上での病斑形成面積を調査した。その結果、GT1022 株の培養液の前処理では、炭疽病菌による病斑形成は抑制され、キュウリ葉上での分生子の発芽も抑制されていた。そこで、GT1022 株による炭疽病菌に対する抑制効果を野外試験により調査した。GT1022 株は、栽培期間中に 7 日間ごとに処理し、定植 30 日後に炭疽病菌を人工接種して、発病を調査した。その結果、植物体上での炭疽病の発生面積は、1/5 以下に抑制された。16S rRNA 遺伝子のシーケンス解析では、GT1022 株は、*Burkholderia ambifaria* と 99%の相同性を示した。これらの結果より、GT1022 株は、*C. orbiculare* によって引き起こされる炭疽病を抑制できる可能性が示唆された。

最後に GT1022 株によるキュウリ立枯病菌 (*Pythium aphanidermatum*) に対する抑制効果を調査した。GT1022 株は LB 培地を用いた対峙培養法により、立枯病菌の菌糸生育を著しく抑制した。さらに、GT1022 株の培養液は、立枯病菌の遊走子の発芽を著しく抑制した。そこで、GT1022 株の経時的な抑制効果を調査するために、キュウリ植物体上に GT1022 株の培養液と立枯病菌を接種して、1~5 日間のキュウリの生存率を調査した。その結果、GT1022 株の存在下では、接種 5 日間でも高いキュウリ植物体の生存率が観察された。一方、対照区では、接種 2 日後から高い発病が観察された。さらに、キュウリ根での卵胞子形成は対照区と比較して、GT1022 株の存在下で抑制された。GT1022 株の性状解析を行った結果、プロテアーゼ活性が観察され、濃度依存的に遊走子の発芽を抑制した。これらの結果より、GT1022 株が、*P. aphanidermatum* によって引き起こされる立枯病を抑制できる可能性が示唆された。

これらの結果から、島根微生物ライブラリーに保存されている *S. blastmyceticus* である STS1 株は、キュウリうどんこ病を抑制できることが明らかになった。また、島根県江津市の土壌から分離された *Burkholderia* 属菌である GT1022 株の培養液は、キュウリ炭疽病及びキュウリ立枯病を抑制できることが明らかになった。これらのことから、島根微生物ライブラリーに保存されている微生物が、キュウリ病害の生物防除に利用できる可能性が示唆された。