

## 学位論文審査の結果の要旨

### Summary of Doctoral Dissertation Examination

氏 名/Name	Ganphung Rattrikorn
審査委員 Examining Committee	Chief Examiner 主 査 上野 誠 (印)
	Assistant Examiner 副 査 木原 淳一 (印)
	Assistant Examiner 副 査 伊藤 真一 (印)
	Assistant Examiner 副 査 児玉 基一朗 (印)
	Assistant Examiner 副 査 井藤 和人 (印)
題 目 Title	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
審査結果の要旨 (2,000字以内) / Summary of Doctoral Dissertation Examination (Within 1200 words)	
<p>植物の病気の防除には、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を用いた防除法では、耐性菌の出現リスクが少ないことが報告されている。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。本研究では、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、キュウリ病害を抑制できる微生物の探索とその効果について調査し、以下の研究成果が得られている。</p> <p>まず、島根県松江市で分離された <i>Streptomyces blastmyceticus</i> 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。キュウリの重要病害の 1 つであるうどんこ病菌 (<i>Podosphaera xanthii</i>) をキュウリに接種する前に STS1 株の培養液を前処理し、うどんこ病菌を後接種し、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、キュウリ葉での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、後接種したうどんこ病菌の発芽が抑制された。さらに、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 株が <i>P. xanthii</i> 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を確認しており、キチナーゼにより、<i>P. xanthii</i> が溶解された可能性が示唆された。STS1 株によるうどんこ病に対する抑制効果の野外試験では、STS1 株を栽培期間中に定期的に処理し、経時的にうどんこ病の発生を調査した。その結果、対照区でうどんこ病の発生が確認されたのに対して、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。STS1 株は、20~37°C で生育可能であり、複数の農薬に対して、耐性を示した。これらの結果より、STS1 株が、野外でのキュウリうどんこ病の防除に利用できる可能が示された。</p> <p>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 (<i>Colletotrichum orbiculare</i>) 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、炭疽病菌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が抑制され、キュウリ葉上での炭疽病菌の発芽も抑制された。そこで、</p>	

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、栽培期間中に定期的に処理し、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 は、*Burkholderia ambifaria* と 99% の相同性を示した。これらの結果より、GT1022 株が、*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 日後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 日後から発病が観察された。さらに、キュウリ根での卵孢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 株の培養液により、キュウリうどんこ病を抑制できることが明らかにされた。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 株の培養液により、キュウリ炭疽病及びキュウリ立枯病が抑制されることが明らかにされた。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などの植物病原菌の防除に利用できる可能性が示された。

以上のように、本研究では、これまでほとんど注目されてこなかった島根県内で分離された微生物に注目し、それらの微生物の中に、植物病害の防除に利用できる微生物が存在することを示した。また、島根県内で分離された *Streptomyces* 属菌や *Burkholderia* 属菌の菌株が圃場レベルで病害を抑制できることを明らかにした。このように、本研究は独創性、新規性及び応用性において、高く評価できることから、審査委員会は、学位論文として十分な価値を有すると判定した。