



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ジャガイモ塊茎腐敗の発生生態解明と新規防除法の検討 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	大澤, 央
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第13924号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/77915
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Hisashi_osawa_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称： 博 士（農学）

氏名 大 澤 央

学 位 論 文 題 名

ジャガイモ塊茎腐敗発生生態解明と新規防除法の検討

ジャガイモ (*Solanum tuberosum* L.) の可食部である塊茎の腐敗は様々な植物病原性微生物によって引き起こされるが、とりわけジャガイモ疫病菌 (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, 以下 疫病菌) による塊茎腐敗は貯蔵庫内で大規模に発生することがあることから産業上問題となっている。先行研究では、ジャガイモ塊茎の疫病感染は (1) 栽培中に疫病菌が土壤に浸透して塊茎に到達すること (Lapwood 1977; Sato 1980), または (2) 収穫時・収穫後の取扱いで汚染土壤と接触すること (Dowley and O'Sullivan 1991; Nærstad et al. 2010) によって引き起こされると報告されている。しかし、現代の日本の大規模なジャガイモ栽培では、貯蔵前に腐敗塊茎を取り除く選別を行っているため、貯蔵庫内に栽培中に感染した塊茎は少ないと考えられる。したがって本論文では、貯蔵庫内で大規模に発生する疫病塊茎腐敗の大きな要因は収穫時の感染であるとの仮説を提唱した。

また、収穫時の感染が貯蔵塊茎腐敗の大きな要因であった場合、収穫前の土壤中の疫病菌密度を定量することができれば貯蔵腐敗の発生程度を予想できる可能性がある。これまで土壤疫病菌密度を定量するためにはバイオアッセイが用いられてきたが、バイオアッセイは迅速・正確な定量ができない欠点があった。したがって、これらの欠点を克服するためにリアルタイム PCR に注目した。しかし、一般に土壤試料からの DNA 抽出・リアルタイム PCR は困難であり、自然発病圃場土から疫病菌を定量した例はない。

本論文では、塊茎腐敗発生生態の解明ならびに防除法の検討のため、(1) 収穫時の塊茎受傷と塊茎腐敗の関係 (2) 土壤疫病菌密度定量法の開発と圃場における疫病菌密度推移の解析 (3) 新規防除法 (表土殺菌剤処理法) の検討 を行った。

(1) 収穫時の塊茎受傷と塊茎腐敗の関係

収穫時の塊茎受傷が貯蔵中の塊茎腐敗にどの程度関与するかを確認する試験を行った。人為的に付傷した塊茎に汚染土壤を混和した上で培養し、塊茎腐敗の発生数を調査した。塊茎表面に傷があり、かつ疫菌激発圃場土を混和した試験区・傷があり、かつ接種を行った試験区では供試した塊茎の約 90 %が腐敗し、これら 2 試験区は同様の腐敗塊茎数の推移を示した。一方で塊茎表面に傷がなく疫菌激発圃場土を混和した試験区・傷がなく疫病菌を接種した試験区の腐敗率はそれぞれ約 40 %, 約 30 %であり、受傷があった区に比べて腐敗率は有意に低かった。また、疫病による腐敗塊茎は培養 1・2 週目に高頻度で観察され、それ以降は疫病腐敗に細菌性腐敗が併発した。

以上の結果から、貯蔵庫内で発生する大規模な塊茎腐敗の大きな要因は収穫時に受傷した塊茎が汚染土壤と接触することであり、疫病による腐敗症状は時間の経過に伴って複合的症状に移行することが示された。したがって、貯蔵腐敗の被害を軽減させるには収穫時の塊茎受傷量を減らすこと、または収穫時の土壤中の疫病菌密度を低減させることが必要である。

(2) 土壤疫病菌密度定量法の開発と圃場における疫病菌密度推移の解析

土壤中の疫病菌密度を迅速・正確に定量するために、リアルタイム PCR による定量法を開発した。改変した CTAB-Bead-beating 法により 11 種類の人工接種土壤から DNA を抽

出し、既報の種特異的プライマー・プローブ (Lees et al. 2012) で絶対定量したところ、9種類の畑作土壌からは精度よく定量できた。一方で畑作土壌ではない真砂土・海砂からは畑作土壌と比較して低い定量値が得られた。以上から、開発した方法は日本の畑作土壌の疫病菌密度定量法として適していると考えられた。一方で、真砂土・海砂からは低い定量値が得られたため、シリカを多量に含む土壌を定量する際には注意が必要である。

次に、開発した方法で無防除圃場の土壌の疫病菌密度推移を解析した。土壌疫病菌密度は初発前・地上部枯凋後に低く、地上部に疫病病斑が多い激発時期に高い結果が得られ、地上部の疫病消長とよく一致した結果であった。また、畝表面土壌の疫病菌密度は塊茎周辺の土壌と比較して定量値が 10–100 倍ほど高い結果が得られることが多かった。以上より、開発した定量法は土壌中の疫病菌密度を定量するために実用可能であり、疫病菌の多くは土壌に浸透せずに畝表面付近に存在していることがわかった。

さらに、栽培中に疫病が発生した一般圃場の土壌を用いて感染ポテンシャルと疫病菌密度の関係性を確かめる試験を行った。供した全ての土壌から疫病菌 DNA は定量され、疫病菌 DNA 量と感染ポテンシャルの多寡はよく一致した。疫病菌密度は畝間の表面土壌で高く、加えて塊茎周辺土壌からも多くの疫病菌 DNA が定量された例があった。以上の結果から、本定量法で土壌疫病菌密度のみならず感染ポテンシャルを間接的に定量できることがわかった。また、無防除圃場で行った試験とは異なり一般圃場の試験では塊茎周辺からも大量の疫病菌 DNA が定量された。この原因は土壌採取直前に低気温の日が続き、かつ大量の降雨があったため遊走子のうが間接発芽し遊走子となって土壌に浸透したためであると推察された。このことから、栽培後期の寒冷な気象条件では条件次第で塊茎周辺にも疫病菌は到達し得ることが分子生物学的な手法で証明された。

(3) 新規防除法（表土殺菌剤処理法）の検討

これまでの結果により、収穫時に受傷した塊茎が汚染土壌と接触することで塊茎腐敗が発生し、疫病菌は土壌の表層に留まる例が多いことがわかった。したがって、畝表面の疫病菌を殺菌剤により不活化することで土壌疫病菌密度が低下し、結果として貯蔵塊茎腐敗の被害を軽減できる可能性がある。本仮説を立証するため、畝表面の疫病罹病残渣に殺菌剤を散布する表土殺菌剤処理法を考案し、土壌の疫病菌密度・感染ポテンシャルをそれぞれリアルタイム PCR・バイオアッセイで調べた。

疫病菌密度は殺菌剤有効成分シアゾファミド（商品名：ランマンフロアブル、石原バイオサイエンス株式会社）を散布した殺菌剤区では薬剤無処理区と比較して低い菌密度であることが多かった。今回の試験では殺菌剤散布濃度の違いによる疫病菌密度の減少程度の違いは認められなかった。また、全ての試験で感染ポテンシャルは殺菌剤の散布により低下した。独立した 4 試験の結果をメタ解析（ランダム効果モデル）したところ、統合リスク比は殺菌剤の通常濃度散布区・高濃度散布区でそれぞれ 0.11, 0.08 であり、両殺菌剤濃度区で有意な防除効果が認められた。以上の結果から、土壌の感染ポテンシャルは殺菌剤散布によっても減少し、その減少程度はリアルタイム PCR で定量可能であることがわかった。また、感染ポテンシャルは殺菌剤散布によって有意に減少したことから、検討した新規防除法は貯蔵塊茎腐敗被害軽減に効果があることが示された。

本研究では貯蔵中の塊茎腐敗発生生態を解明し、疫病菌の生態に基づく新規防除法を検討した。開発・検討した土壌疫病菌密度定量技術・防除法を用いて、将来的には貯蔵塊茎腐敗発生の予想や効果的な防除をするための意思決定支援システムを構築できる可能性がある。今後は貯蔵塊茎腐敗に関与する疫病菌密度以外の要因に関して更なる研究を進める必要がある。