

学位論文要旨	
氏名	田場 聡
題目	サツマイモネコブセンチュウの物理的, 耕種的および生物的防除に関する研究 (Studies on the physical, cultural, and biological control of the southern root-knot nematode, <i>Meloidogyne incognita</i> (Kofoid & White) Chitwood)
<p>線虫による作物の被害は世界的な問題であり, なかでも根こぶ線虫類による被害は甚大である. 一方, これらの線虫害の防除は化学薬剤によるものが主流であったが, 近年, 化学的防除法は, 施用後に急速に線虫密度が増加するリサージェンス現象やオゾン層の破壊など, 環境への負荷が指摘され, これに替わる防除法の開発が急務となっている. そこで, 本研究では, サツマイモネコブセンチュウ (以後ネコブセンチュウと略する) の環境保全型防除技術開発のための, 物理的, 耕種的および生物的防除法の基礎的および応用的検討を行った.</p> <p>1. 物理的および耕種的防除法: 数種有機物を土壌混和し, ネコブセンチュウに対する防除効果を検討した結果, 米ぬか処理が最も高い効果を示した. その抑制メカニズムは, 米ぬかから滲出する脂肪酸類, 特にリノール酸が強い殺虫作用を有することと, 米ぬかを栄養源として増殖した <i>Bacillus</i> 属細菌と, これを餌として増殖する細菌食性線虫の代謝産物である単体のアンモニアが関与していることが明らかとなった. さらに, 即効性を示した脂肪酸の効果を踏まえ, 米ぬか混和と太陽熱処理を併用した結果, さらに高い防除効果を示した.</p> <p>2. 生物的防除法: 沖縄に自生する 29 種の未利用植物の抽出液を用いて高い抗線虫作用を有する種の探索を行った結果, アワユキセンダングサが最も高い殺虫, 不動化および孵化阻害作用を示した. そこで, トマトを用いて防除効果試験を行ったところ, 抽出液の土壌灌注処理, 根浸漬処理ならびに種子浸漬処理した場合, いずれの処理においても防除効果が認められた. これらの抗線虫物質の分離・同定を行った結果, カフェ酸, 桂皮酸類似物質およびフェノール性物質のほか, 未知物質の関与が示唆された.</p> <p>沖縄に生息する線虫捕捉菌の分離・同定と分布に及ぼす物理的, 化学的および生物的要因について検討を行ったところ, 未報告 4 種を含む 5 属 18 種が確認され, 土壌深度, 植生, pH, 腐植およびカルシウム含量により異なる分布パターンを示した. さらに, ネコブセンチュウに対する捕捉性を比較した結果では, <i>Monacrosporium elliposporum</i> が最も高い捕捉能力を有することが明らかとなった. 本菌を用いてネコブセンチュウに対する防除効果試験を行った結果, 高い防除効果を示した. またホスチアゼートとの混合剤ビーズを作製し, これを用いて防除試験を行ったところ, さらに高い効果を示した.</p> <p>以上のように本研究では, 有機物混和・太陽熱併用処理, 植物抽出液ならびに天敵微生物と薬剤の混合剤ビーズを用いた防除法の開発を行った. これらの技術は環境保全型の土壌線虫防除法に資するものと期待される.</p>	

学 位 論 文 要 旨	
氏 名	Satoshi Taba
題 目	Studies on the physical, cultural, and biological control of the southern root-knot nematode, <i>Meloidogyne incognita</i> (Kofoid & White) Chitwood (サツマイモネコブセンチュウの物理的, 耕種的および生物的防除に関する研究)
<p>The damage of the crops by a nematode is a global problem, with the damage caused by the root-knot nematode being especially serious. Biocides have been used commonly to control detrimental nematodes, but adverse environmental effects of such treatment and resurgences leading to increased nematode densities make the development of alternative technologies a pressing issue. To develop environmentally acceptable control methods for the root-knot nematode, I was studied fundamental and applied aspects of various physical, cultural and biological control approaches.</p> <p>1. Physical and cultural control: Among different types of organic matter, rice bran showed the strongest control effect. Exudates of rice bran were studied to identify the mechanism of the suppression of the nematode population; linoleic acid possessed a particularly strong nematicidal activity. Moreover, the contents of free ammonia in the excrements of bacterial-feeding nematodes rose continuously with the growth of <i>Bacillus</i> sp. populations after application of rice bran, leading to death or immobilization of <i>M. incognita</i>. In addition, the chemical effects of the fatty acids were the most direct and immediate ones, and by applying rice bran together with solarization, an increased control effect was achieved.</p> <p>2. Biological control: Among extracts from 29 hitherto not utilized plant species from Okinawa that were tested for anti-nematodal effects, the strongest effects such as increased lethality, inhibition of mobility, and decreased hatching rates of <i>M. incognita</i> was caused by <i>Bidens pilosa</i> L. var. <i>radiata</i>. When the effect was examined using tomato seedlings, a suppression of the nematode was observed after drench, bare-root dip and seed dip treatment. Moreover, caffeic acid, cinnamic acid like substance and phenolic compounds as well as unidentified compounds were suggested to be responsible for the anti-nematodal effects of the extract.</p> <p>Nematode-trapping fungi distributed in Okinawa Island were collected and identified, and the physical, chemical and biological factors controlling their distribution were analyzed. Eighteen species of fungi in five genera, including four new species, were analyzed; they showed specific distribution patterns according to the parent materials, depth, vegetation, pH as well as humus and calcium contents of the soil. <i>Monacrosporium elliposporum</i> had the highest activity of all nematode-trapping fungi isolated. The application of granules containing <i>M. elliposporum</i> cultures plus fosthiazate resulted in an increased anti-nematodal effect.</p> <p>The above mentioned control methods – application of organic matter plus solarization, application of plant extracts, and combined microorganism-nematicide formulations – were characterized and further developed. It is expected that these methods will contribute to an environmentally acceptable control of nematode populations.</p>	

学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏名	田場 聡
審査委員	主査 宮 崎 大学 教授 上運天 博
	副査 佐 賀 大学 教授 近藤 栄造
	副査 宮 崎 大学 教授 赤尾 勝一郎
	副査 佐 賀 大学 教授 大島 一里
	副査 琉 球 大学 教授 諸見里 善一
審査協力者	
題 目	サツマイモネコブセンチュウの物理的、耕種的および生物的防除に関する研究 (Studies on the physical, cultural, and biological control of the southern root-knot nematode, <i>Meloidogyne incognita</i> (Kofoid & White) Chitwood)
<p>線虫による作物の被害、特にネコブセンチュウ類による被害は甚大である。これらの有害線虫の防除は殺線虫剤によるものが主流であったが、薬剤施用後に線虫数が回復して増加するリサーチェンスや、殺線虫剤として広く使用されてきた臭化メチルがオゾン層破壊のために使用禁止となるなどの問題があり、新たな防除法の開発が急務となった。本研究は、サツマイモネコブセンチュウに対する環境保全型防除技術の構築を目的として、物理的、耕種的および生物的防除法に関する基礎的および応用的な見地から試験研究を進め、以下の結果を得た。</p> <p>1. 物理的および耕種的防除法</p> <p>数種有機物の土壌混和による線虫防除効果を比較調査した結果、米ぬか処理により最も高い線虫防除効果が得られた。この防除効果は、米ぬかから滲出する脂肪酸類（リノール酸、オレイン酸およびパルミチン酸）、特にリノール酸の強い殺虫作用と、米ぬか混和後に増殖する<i>Bacillus</i>属細菌を餌として増殖する細菌食性線虫から排泄されるアンモニアによる線虫不動化作用によるものであることが明らかとなった。米ぬか混和の線</p>	

虫防除効果は、太陽熱処理との併用により、更に高くなった。

2. 生物的防除法

1) 植物抽出液の利用

沖縄に自生する草本植物27種および木本植物2種の煮沸抽出液の抗線虫作用を調べた結果、アワユキセンダングサが最も高い殺虫力、不動化および孵化阻害を示した。そこで、トマトを用いて本植物の煮沸抽出液のネコブセンチュウに対する防除効果を土壌灌注処理、根浸漬処理ならびに種子浸漬処理により調べた結果、殺線虫剤処理とほぼ同程度の防除効果が認められた。煮沸抽出液中の抗線虫物質の分析を行った結果、カフェ酸、桂皮酸類似物質、フェノール性物質および未知物質の関与が示唆された。本抽出液の土壌灌注は、ナス科、マメ科およびウリ科作物の生育ならびに、土壌中の菌の構成と密度に対して、大きな影響は及ぼさなかった。

2) 線虫捕捉菌の利用

ネコブセンチュウの生物的防除への利用を目的として、母岩・土性が異なる沖縄の3地域において、線虫捕捉菌の分離・同定を行った。その結果、未報告4種を含む5属18種が確認され、線虫捕捉菌の分布は、土性、土壌深度、植生、pH、腐植およびカルシウム含量により異なることが明らかになった。分離した捕捉菌の線虫捕捉能力を比較した結果、*Monacrosporium elliposporum* が最も高い能力を示した。培養した本菌は、トマトの株元あるいは土壌全面への混和処理により、線虫防除効果を示した。本菌の線虫防除への利用と農薬使用量の低減化を図るために、本菌の菌糸伸長に影響を及ぼさないことが明らかになった殺線虫剤（ホスチアゼート液剤）との混合剤ビーズを作製してその防除効果を調べた結果、安定した高い線虫防除効果が認められた。

以上のように、本研究は、これまで不明であった米ぬか土壌混和の線虫防除メカニズムを明らかにし、化学的防除法に代わり得る米ぬか混和・太陽熱併用処理法を開発するとともに、アワユキセンダングサおよび線虫捕捉菌を利用した防除法を開発したものであり、学術上および実用上の意義が大きな研究成果と認められる。従って、審査員一同は、本論文は、博士（農学）の学位論文として十分に価値あるものと判定した。

学力確認結果の要旨	
学位申請者 氏 名	田場 聡
審査委員	主査 宮 崎 大学 教授 上運天 博
	副査 佐 賀 大学 教授 近藤 栄造
	副査 宮 崎 大学 教授 赤尾 勝一郎
	副査 佐 賀 大学 教授 大島 一里
	副査 琉 球 大学 教授 諸見里 善一
審査協力者	
実施年月日	平成 18 年 8 月 5 日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと.) (口答)・(筆答)	
<p>主査及び副査の 5 名は、平成 18 年 8 月 5 日の公開審査会において、学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について試問を行った。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることができた。</p> <p>また、筆記により、外国語（英語）の学力を確認した。</p> <p>以上の結果から、審査委員会は、申請者が大学院博士課程修了者と同等以上の学力ならびに識見を有するものと認め、博士（農学）の学位を与えるに十分な資格を有するものと認めた。</p>	

学位申請者 氏名	田場 聡
<p>[質問 1] 沖縄におけるネコブセンチュウによる作物被害はどの程度か？</p> <p>[回答 1] 沖縄では詳しい被害調査はほとんど行われていないが、ウリ科、ナス科植物、オクラなどの果菜類における被害が特に大きい。最近は、ハーブ類やモロヘイヤなどの被害が顕著になっている。</p> <p>[質問 2] 沖縄での米ぬかを利用したサツマイモネコブセンチュウの防除の状況について説明せよ。</p> <p>[回答 2] 沖縄県南部地域の野菜圃場、特にハーブ類やモロヘイヤ栽培で普及段階にある。太陽熱処理との併用は非常に高い防除効果を示し、土壌燻蒸剤に代わる防除技術として定着しつつある。</p> <p>[質問 3] ネコブセンチュウの防除に関する研究の世界的な流れについて説明せよ。</p> <p>[回答 3] 化学農薬の使用による地球環境への負荷や人畜への影響をできるだけ低減することが重要であることから、物理的、耕種的および生物的防除法が検討されている。生物的防除法に関しては、天敵微生物を利用した防除技術の開発が主流で、線虫寄生細菌、卵寄生菌および線虫捕捉菌を利用した方法が検討されている。その他の方法として、インドセンダン等の植物成分を用いた防除法開発も行われている。</p> <p>[質問 4] 脂肪酸の作用により致死したネコブセンチュウの体内に生じる液胞とはどのようなものか、また致死に至るメカニズムについて説明せよ。</p> <p>[回答 4] 体内に観察される液胞の成分については不明であるが、多くの場合、体外から受けるストレスによって形成されるようである。致死に至るメカニズムに関しては、米ぬかから滲出した脂肪酸類がネコブセンチュウ第 2 期幼虫の体表面に付着することにより、皮膚呼吸を阻害するためと推察している。</p> <p>[質問 5] 細菌食性線虫が排泄する単体のアンモニアがサツマイモネコブセンチュウの 2 期幼虫の不動化を引き起こすことが室内試験で示されているが、圃場において、不動化を引き起こすに足るほどにアンモニア濃度は高くなるものか？</p> <p>[回答 5] ポット試験において、米ぬかを混和した土壌中のアンモニア濃度は 10～30 ppm であった。室内試験では、10 ppm レベルでも高い不動化作用を示した。これらのことから、圃場においてもネコブセンチュウの不動化を引き起こす濃度に十分達すると考えている。</p> <p>[質問 6] 有害線虫や自活性線虫の生息数を簡易に測定する方法について検討したか、あるいはそのような方法があるのか？</p>	

[回答6]簡易な定量法は無く、土壌から線虫類を分離し、形態観察により判断する方法が一般的である。

[質問7]サツマイモネコブセンチュウの防除に野草を利用した動機について説明せよ。

[回答7]有害線虫類に対する防除法の1つとして対抗植物の利用が知られており、マメ科、キク科およびイネ科植物が用いられている。雑草、害草と呼ばれる植物はその進化の過程で病害虫に対する抵抗性を獲得することで過酷な環境を生き抜いてきたと考えられる。以上の理由から、主にキク科、マメ科およびイネ科の野草を採集し実験に供試した。

[質問8]アワユキセンダングサの分類について説明せよ。

[回答8]アワユキセンダングサはキク科に属する多年生植物で、最近までコセンダングサの変種タチアワユキセンダングサあるいはハイアワユキセンダングサに分類されていた。しかし、これら3種については、分類基準となる形態に普遍性がないため、現在は、アワユキセンダングサとして統一されている。

[質問9]アワユキセンダングサの煮沸抽出液がネコブセンチュウ2期幼虫に対して示す、殺虫力、不動化ならびに孵化阻害の作用機作は同じか？

[回答9]それぞれの作用について詳細な検討を行っていないため、作用機作が同一のものかどうかについては不明である。煮沸抽出液には抗線虫物質が複数含まれている可能性があり、それらの物質が別々に関与している可能性も考えられる。

[質問10]アワユキセンダングサの煮沸抽出液が植物(トマト)の生育に及ぼす影響を調べているが、生育阻害作用がある場合、その作用機作としてどのようなことが考えられるか？

[回答10]植物は、生物、非生物を問わず外部から刺激を受けると、これらに対処する生理的反応を示す。このときに生産される物質が植物自体の生育にも影響を及ぼす場合が知られており、アワユキセンダングサについても、そのような現象が起きている可能性が考えられる。

[質問11]煮沸抽出液中に存在する物質(カフェ酸、など)の抗線虫作用の発現機構は同じか？

[回答11]フェノール性物質や桂皮酸は、生物に対して毒性を示すことが知られている。カフェ酸については、本研究の結果から、抗線虫物質として作用していると考えられたが、それぞれの物質の作用発現機構が同じであるかについては不明である。

[質問12]線虫捕捉菌の分布を決める要因(土壌深度、植生、pH、腐植量、カルシウム含量)の中では腐植量が最も大きな影響を持つと思うが、そのように考えてよいか？

[回答12]数種の線虫捕捉菌が腐植の多く含まれる土壌からのみ分離されたことから、菌の種類によっては、腐植の量が、その分布に大きく関与している場合があると考えられる。しかし、一般論として言えるかどうかについてはもう少しデータが必要と思われる。

[質問13] 土壌の種類によって腐植やカルシウム含量が異なるとのことだが、一般的な事象であるのか？

[回答13] 供試土壌に限ってのデータであり、サンプル数が増えれば、含有量にばらつきが出てくる可能性も考えられる。

[質問14] 本研究の成果である「農薬に依存しない線虫防除法」を栽培現場へ応用するに際して、どのような点に考慮が必要か？

[回答14] ネコブセンチュウによる作物の被害は少発生から甚発生まで様々であり、それぞれに応じて防除対策を講じる必要がある。そのためには、前作の被害状況を十分に把握することが重要と考えている。被害が著しい場合、複数の防除法の併用が必要と考えている。

[質問15] 本研究の目的が環境保全型の線虫防除技術の改善・確立であるとするならば、線虫捕捉菌と殺線虫剤（ホスチアゼート）を用いて調整したビーズの利用は、どのように考えたら良いのか？

[回答15] 完全無農薬栽培が実現できれば、それに超したことはないが、天敵微生物単独利用による防除効果は化学薬剤に比べ、効果が劣る場合がほとんどである。しかし、天敵微生物を併用することにより、慣行の化学農薬を使用した防除法に比べ、農薬使用量を低減できれば環境への負荷も軽減できると考えられる。その意味では環境保全型技術であると考えている。

[質問16] 沖縄においてネコブセンチュウの防除を行う上で重要なことは何か？

[回答16] 沖縄には母岩の異なる複数の土壌が分布しており、土壌の種類によって被害の程度が異なるだけでなく、同じ防除法であっても効果に差を生じる場合がある。従って、それぞれの場合について適切な防除法を講じることが重要であると考えている。

[質問17] 生物的あるいは耕種的な方法による線虫防除効果を、薬剤処理による線虫防除効果と比較することは妥当か？

[回答17] 薬剤と生物的あるいは耕種的方法の防除効果自体を比較することを目的としているのではなく、客観的に防除効果を評価することを目的としているため、薬剤処理区を設定する必要があると考えた。

学 位 論 文 要 旨	
氏 名	Satoshi Taba
題 目	Studies on the physical, cultural, and biological control of the southern root-knot nematode, <i>Meloidogyne incognita</i> (Kofoid & White) Chitwood (サツマイモネコブセンチュウの物理的, 耕種的および生物的防除に関する研究)
<p>The damage of the crops by a nematode is a global problem, with the damage caused by the root-knot nematode being especially serious. Biocides have been used commonly to control detrimental nematodes, but adverse environmental effects of such treatment and resurgences leading to increased nematode densities make the development of alternative technologies a pressing issue. To develop environmentally acceptable control methods for the root-knot nematode, I was studied fundamental and applied aspects of various physical, cultural and biological control approaches.</p> <p>1. Physical and cultural control: Among different types of organic matter, rice bran showed the strongest control effect. Exudates of rice bran were studied to identify the mechanism of the suppression of the nematode population; linoleic acid possessed a particularly strong nematicidal activity. Moreover, the contents of free ammonia in the excrements of bacterial-feeding nematodes rose continuously with the growth of <i>Bacillus</i> sp. populations after application of rice bran, leading to death or immobilization of <i>M. incognita</i>. In addition, the chemical effects of the fatty acids were the most direct and immediate ones, and by applying rice bran together with solarization, an increased control effect was achieved.</p> <p>2. Biological control: Among extracts from 29 hitherto not utilized plant species from Okinawa that were tested for anti-nematodal effects, the strongest effects such as increased lethality, inhibition of mobility, and decreased hatching rates of <i>M. incognita</i> was caused by <i>Bidens pilosa</i> L. var. <i>radiata</i>. When the effect was examined using tomato seedlings, a suppression of the nematode was observed after drench, bare-root dip and seed dip treatment. Moreover, caffeic acid, cinnamic acid like substance and phenolic compounds as well as unidentified compounds were suggested to be responsible for the anti-nematodal effects of the extract.</p> <p>Nematode-trapping fungi distributed in Okinawa Island were collected and identified, and the physical, chemical and biological factors controlling their distribution were analyzed. Eighteen species of fungi in five genera, including four new species, were analyzed; they showed specific distribution patterns according to the parent materials, depth, vegetation, pH as well as humus and calcium contents of the soil. <i>Monacrosporium elliposporum</i> had the highest activity of all nematode-trapping fungi isolated. The application of granules containing <i>M. elliposporum</i> cultures plus fosthiazate resulted in an increased anti-nematodal effect.</p> <p>The above mentioned control methods – application of organic matter plus solarization, application of plant extracts, and combined microorganism-nematicide formulations – were characterized and further developed. It is expected that these methods will contribute to an environmentally acceptable control of nematode populations.</p>	