

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 MD. MUZAHID-E-RAHMAN
 学位 博士 (農学)
 学位記番号 新大院博 (農) 第 159 号
 学位授与の日付 平成 28 年 3 月 23 日
 学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当
 博士論文名 Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* causing white mold with *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum*
 (*Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* を用いた菌核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum* の生物学的防除)

論文審査委員 主査 教授・大山 卓爾
 副査 教授・末吉 邦
 副査 教授・岡崎 桂一
 副査 教授・野中 昌法
 副査 准教授・鈴木 一史
 副査 准教授・原田 直樹

博士論文の要旨

バングラデシュでは近年、菌核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum* による農産物の被害が拡大している。現在、その対策には主に化学農薬が使用されているが、環境汚染や農民の健康被害の発生など、持続的な農作物生産の維持に問題が生じている。そこで本論文では、菌核病の生物学的防除法の確立を目的に、多様な生理活性を有することで知られる *Bacillus* 属細菌に焦点を絞って有用菌株を獲得し、その性質と菌核病に対する抑制効果について検討した。

本論文ではまず、バングラデシュ各地から *S. sclerotiorum* を単離してその菌類学的性質を明らかにした。

次いで菌核病菌に拮抗性を示す *Bacillus* 属細菌を我が国の土壌からスクリーニングして 8 菌株を得た。これらについて形態学的及び生理生化学的、遺伝子分類学的な検討を行った結果、*B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* と同定された。この 8 株は芽胞形成菌で、高温及び高塩類濃度に耐性を示すとともに、バイオフィーム形成能を有した。また各種の加水分解酵素を産生し、植物生育促進能も有する多機能な菌株であり、生物学的防除に適する性質を持つものと判断された。さらにいずれの単離株も植物病原性微生物に対する拮抗物質、あるいは拮抗性関連物質の産生に関与する遺伝子、*bacA* (bacilysin)、*dfnM* (difficidin)、*fenA* (fengycin)、*ituA* (iturin) 及び *sfp* (surfactin) を保持していた。本研究で単離した *Bacillus* 属 8 菌株は、対峙培養試験 (PDA 培地を使用) 及び培養ろ液を用いた影響試験などによって、*in vitro* で菌核病菌に対して明らかな生育抑制効果を示した。また、これらの単離株は菌核病菌の菌糸の伸長や菌核の形成を抑制した。電子顕微鏡での観察の結果、*Bacillus* 属単離株は菌核病菌の菌糸の細胞壁溶解や異形化を引き起こす他、子囊盤の形態異常、子囊胞子の発芽異常を生じさせることが分かり、単離株が菌核病菌に対して高い拮抗性を有することが示唆された。

上記の *Bacillus* 属単離株 8 株を種子接種した後、菌核病菌を感染させたカラシナ幼植物を

育てたところ、菌核病の発生率は対照（未接種）と比較して最大で 98%抑制された。カラシナ切断葉に *Bacillus* 属単離株の培養液を噴霧後に菌核病菌を感染させた場合においても、*Bacillus* 属単離株は菌核病の発生抑制に効果を示した。また単離株の葉面散布の効果をカラシナを用いたポット実験にて調べた結果、菌核病菌の発生は対照より 90%少なかった。さらに本研究で得られた単離株はカラシナ種子の発芽率を向上し、根活性を高めたことから、*in vivo* においても植物生育促進効果が発揮できる菌株であると考えられた。

審査結果の要旨

本論文は、*S. sclerotiorum* が引き起こす菌核病の発生抑制に有効な *Bacillus* 属細菌を獲得し、その性質について明らかにしたもので、記述された内容は十分に詳しく、また論理的に構成されたものであった。バングラデシュにおいて、植物病害に対する新たな生物学的防除法の確立へとつながる重要な成果であり、今後、単離株の製剤化と現地でのフィールド試験の実施を通して実用化へとつながることが期待される。

また本論文の内容は、いずれもレフリーシステムの確立された国際学術雑誌に、筆頭著者として 2 件掲載されており（*Australasian Plant Disease Notes* 誌及び *Australasian Plant Pathology* 誌）、学術価値が高いと評価された。

よって、本論文は博士（農学）の博士論文として十分であると認定した。