学術奨励賞研究要旨

Alternaria alternata の宿主特異的毒素と病原性に関する研究*

柘 植 尚 志**

Takashi TSUGE**: Relation between the Host-Specific Toxin Production and Pathogenicity in *Alternaria alternata* Pathogens*

宿主特異的毒素(以下 HST と略す)を生成することが知られている7種類の *Alternaria alternata* 群病原菌は、限られた植物品種のみに激甚な被害を与える。この明確な宿主選択性が HST に起因することは、これまでの研究から明確であるが、その実態は依然として不明の部分が多い。本研究では、病原性発現における HST の役割を明確にする目的で、主にナシ黒斑病菌(*A. alternata* Japanese pear pathotype, AK-毒素生成菌)を用いて、毒素生成の人為的制御による病原性発現の抑制、毒素生成能の失活と獲得現象などを中心に検討を行った。

1. 分生孢子発芽時の HST 生成と病原性

圃場から分離した多数のナシ黒斑病菌菌株のうち、二十世紀ナシに病原性を示す菌株のみが、孢子発芽時に AK-毒素を生成・放出していた。AK-毒素は、培養液から構造類似の複合毒素(毒素 I および II)として検出されるが、孢子発芽時には、そのうち毒素 I のみが生成されていた。1個の孢子は、置床後6時間目にすでに、宿主細胞100個を致死させる約 0.03 µg の毒素を放出していた。発芽時の毒素生成は、孢子への短時間湿熱処理(例えば50°C—10秒間)や、抗生物質セルレニン、メチオニンなどの添加によって著しく阻害された。これらの処理によって、孢子発芽や付着器形成は影響されることなく、病原性発現は顕著に抑制された。以上の結果は、発芽時に生成される毒素が、病原性発現に不可欠な役割を演じていることをさらに明確にした。

2. HST 生成の失活と獲得

二十世紀ナシ葉上の黒斑病病斑から多数の単孢子分離菌株を得、それらを継代培養すると、分離直後すでに病原性を保有しない菌株、継代培養により AK-毒素生成能を失活し、病原性を失う菌株などが認められた。さらに、病原性の安定な菌株でも、夏期の野外高温環境下に放置すると、高頻度で毒素生成能を失い、病原性を失活した。また、ナシ黒斑病菌は、AK-毒素を生成するという性質以外、腐生的 *A. alternata* と区

別することができないが、本研究では、*A. alternata* の腐生菌株孢子群から、AK-毒素生成変異菌株を検出した。すなわち、チロシン要求性を指標として付与した腐生菌孢子を、二十世紀ナシ若葉に噴霧接種し、極くまれに出現した病斑から、チロシン要求性でかつナシ葉に病原性を示す変異菌株を得た。これら変異菌株の孢子発芽液は、AK-毒素活性を示した。また、同様な手法により、ナシ黒斑病菌孢子群から、本来の宿主でないリンゴ葉にも病原性を示す変異菌株を分離した。さらに、ナシ黒斑病菌とリンゴ斑点落葉病菌(*A. alternata* apple pathotype, AM-毒素生成菌)の両菌間でヘテロカリオンを形成させ、ナシとリンゴ両葉に病原性を示す菌株を作出することに成功した。以上の結果は、HST 生成能の失活による非病原菌化と、HST 生成能の獲得による病原菌化現象の存在を示唆した。

3. HST 生成に関与する遺伝情報の検索

HST 生成能の不安定性に関して、二本鎖 RNA ウィルス介在の可能性を検討した。その結果、AK-毒素生成菌株、同失活菌株ともに、菌糸中に二本鎖 RNA が存在する菌株が見出された。しかし、毒素生成と二本鎖 RNA の存在との間には直接相関はなかった。さらに、毒素生成菌株と同失活菌株間で、DNA および RNA の相同性を利用した competitive hybridization 法により RNA の比較を行った。その結果、毒素生成菌株のみに特定の mRNA が多量に存在していることが明らかとなった。この mRNA の cDNA クローニングを試み、毒素生成能失活菌株中には、毒素生成菌株の約10%程度しか存在しない mRNA のクローンを得ることに成功し、この遺伝情報が AK-毒素生成に関与している可能性を示唆した。

本研究の遂行に当り、名古屋大学農学部西村正暘教授、同大学アイソトープ総合センター小林裕和博士をはじめ、多くの方々に御指導と御協力をいただいた。心から深謝の意を表する。

* 昭和62年3月30日 本大会で受賞した学術奨励賞研究の要旨

** 名古屋大学農学部 Faculty of Agriculture, Nagoya University, Nagoya 464, Japan