学術奨励賞研究要旨

nit 変異菌株を用いたフザリウム病の発生生態に関する研究*

竹 原 利 明**

Toshiaki TAKEHARA**: Use of Nitrate Nonutilizing Mutants in Ecological Studies of Fusarium Diseases

フザリウム病の発生生態を解明するためには、特定の病原性フザリウム菌を他の分化型・レースや非病原性フザリウム菌と区別して追跡する必要がある。従来のフザリウム菌選択分離培地ではこれらの識別は困難なため、分化型やレースの確認のためには、宿主への煩雑な接種試験を要した。本研究では、各種 *Fusarium oxysporum* から塩素酸塩に耐性の *nit* 変異菌株(硝酸塩利用能欠損変異菌株)を作出し、これを自然土壤に投入して塩素酸塩耐性を標識として選択培地で分離することによって、特定のフザリウム菌の動態を簡易かつ確実に追跡する手法を確立した。また、本手法により、トマト萎凋病菌、ハウレンソウ萎凋病菌などの動態の一部を明らかにした。

1. 各種 *F. oxysporum* の *nit* 変異菌株の作出

塩素酸カリウムを含む培地を用いて、10 分化型の日本産病原性 *F. oxysporum*、および非病原性の *F. oxysporum* から、塩素酸塩耐性を有する *nit* 変異菌株を作出した。

2. *nit* 変異菌株と野生菌株の諸性質の比較および *nit* 形質の安定性の確認

nit 変異菌株をフザリウム菌の生態的研究に用いるためには、*nit* 変異菌株が野生菌株と同等の性質をもち、さらに、標識とした *nit* 形質が安定している必要がある。そこで、*nit* 変異菌株と元の野生菌株とについて、固体培地上の生育、液体培地中および滅菌土壤中の増殖、病原性などの諸性質を比較した。また、保存中および土壤中や植物体中での *nit* 形質の変化を調査した。その結果、*nit* 変異菌株の中には病原性や生育速度が野生菌株と異なるものもあるが、多くの *nit* 変異菌株は野生菌株と同等の性質を有し、また、長期間形質が安定しているため、生態的研究に利用できることが明らかになった。

3. 異なる分化型のフザリウム菌株間の菌糸和合性の調査

異なる分化型のフザリウム菌が互いに菌糸融合をするか

否か、最少培地上で *nit* 変異菌株同士を対峙培養し補完反応の有無を調査する方法で調べた。その結果、供試した9 分化型では、異なる分化型間の菌糸融合は認められなかった。したがって、追跡に用いる *nit* 変異菌株が土壤中で既存の *F. oxysporum* と菌糸融合を起こして標識を失ったり、標識が転移したりする可能性は低いことが明らかになった。

4. *nit* 変異菌株および野生菌株の選択分離培地を用いた分離

土壤中や植物体中から *F. oxysporum* の *nit* 変異菌株を選択的に分離できる、塩素酸カリウムを含む選択分離培地を作成した。また、硝酸塩を唯一の窒素源とし、野生菌株を選択的に分離できる培地を開発した。さらに、硝酸ミコナゾールの添加などにより、これら両培地の選択性を高めた。両培地を併用することにより、*nit* 変異菌株と野生菌株とが混在している土壤中、両菌株の動態を別々に追跡することが可能となった。

5. *nit* 変異菌株を用いたフザリウム病菌の動態追跡

トマト萎凋病菌レース2の *nit* 変異菌株を用いて、トマト植物体中の同菌の移動状況を追跡し、同菌の種子伝染を確認した。また、消毒した土壌と無処理畑土壌にハウレンソウ萎凋病菌の *nit* 変異菌株を少量ずつ接種した場合の菌密度の推移を調査し、消毒土壌では病原菌の増殖が早く、病気も起こりやすいこと等を明らかにした。

以上のように、本研究により、*nit* 変異菌株を用いて特定のフザリウム菌の動態を追跡する手法を確立した。本手法と他の研究手法との組み合わせにより、フザリウム病の生態的研究がいつそう進展することが期待される。

本研究を行うに当たり、國安克人博士をはじめ多くの方々のご指導とご協力をいただいた。ここに心から感謝の意を表する。

* 平成9年4月2日 平成9年度大会で受賞した学術奨励賞研究の要旨

** 農業研究センター National Agriculture Research Center, Tsukuba 305, Japan