

学位論文題名

Studies on the Population of *Phytophthora infestans*,
the Cause of Potato Late Blight, in Japan.

日本に於けるジャガイモ疫病菌 (*Phytophthora infestans*) に関する研究

学位論文内容の要旨

ジャガイモの疫病は数あるジャガイモの病害のなかでもっとも重要なもののひとつである。本病原菌 (*Phytophthora infestans*) の原産地は、メキシコ特に中央メキシコであると考えられている。本菌にはA 1 交配型とA 2 交配型が存在するが、メキシコから世界に蔓延したのはA 1 交配型のみであるとされていた。しかるに、近年になってヨーロッパ各地でA 2 交配型が発見され、注目を集めている。本研究では、日本におけるジャガイモ疫病菌のA 1, A 2 交配型の存否、その分布を調べ、両者の諸性質の違いを検討し、さらに両者の存在下で形成される卵胞子の形成機構を調べた。さらに、アイソザイム分析を行なうことによってA 1 とA 2 の特徴を明らかにし、これをもとに海外の疫病菌との比較を行なった。その結果は以下のとおりである。

ジャガイモ疫病菌の2つの交配型、A 1 とA 2 の日本における存在が、1987年から1990年までの調査から明らかとなった。A 1 とA 2 の分離株を対峙培養すると、底着性の造精器を持つ造卵器が多数形成された。日本各地から集めた1150分離株についてその交配型を調べたところ、174菌株はA 1, 975菌株はA 2 であり、1菌株は同株性であった。日本の多くの地域でA 1, A 2 の両者が検出されたが、A 2 の分離頻度が高かった。北海道におけるA 2 の分離頻度は、1987年より1990年の方が高かった。九州からはA 1 は検出されなかった。この4年間にA 2 の比率が増加していることが判明した。

A 1, A 2 は多くの点で異なっていた。A 1 菌株はジャガイモの塊茎スライス上で薄く平らな菌叢を形成し、遊走子のうの形成量が多く、これをS型とした。一方、A 2 菌株は綿毛状の菌叢を形成し、遊走子のうの形成が少なく、これをM型とした。ライムギ寒天培地上では両交配型の菌株ともよく生育したが、オートミール寒天培地上ではA 1 菌株は生育できなかったのに対し、A 2 菌株はよく生育し、この性質は安定であった。これによってA 1 とA 2 の識別が可能であ

た。寒天培地上では、A 1 と A 2 はまったく異なる菌糸の分岐の仕方が観察された。

A 1 は 4 例を除いて、常に抵抗性遺伝子を持たないジャガイモ品種から分離された。A 2 は抵抗性遺伝子を持たない品種ばかりでなく、種々の抵抗性遺伝子を持つ品種からも分離された。接種試験の結果、A 1 は抵抗性遺伝子を持たない品種のみに病原性を示し、一方、A 2 は抵抗性遺伝子 R 1 を持つ品種にも病原性を示した。

次に、A 1 と A 2 に卵胞子を形成させるホルモン様物質について検討した。V-8 寒天培地で生育させた A 1 と A 2 の寒天片をポリカーボネートメンブレンを介して接触培養し、7 日後に卵胞子の形成を調べた。その結果、A 2 は卵胞子を形成したが、多くの A 1 は形成しなかった。卵胞子の形成数は、A 2 は菌株によってまちまちであったが、A 1 の場合は 2 菌株で異常な卵胞子が非常にわずかに形成されたのみであった。A 1 の生産するホルモン様物質が A 2 の卵胞子形成を助長していることが証明された。日本の A 2 は無菌の素寒天片との接触培養では卵胞子を形成しなかったが、無菌の V-8 寒天片との接触培養により卵胞子を形成した。このことは、日本の A 2 の卵胞子形成にとって、A 1 により生産される物質が必要不可欠ではないことを示唆している。

A 2 の自殖によって形成された造卵器は直径約 35 μm 、卵胞子は約 30 μm であった。一方、A 1 と A 2 により形成された造卵器は約 30 μm 、卵胞子は約 26 μm であり、明らかに異なっていた。これによって、交配により形成された卵胞子と自殖によって形成された卵胞子が区別できた。

日本の菌によって形成された卵胞子はほとんど発芽しなかったが、日本の A 2 とメキシコの A 1 の間にできた卵胞子は容易に発芽した。造卵器の中には、成熟した卵胞子と未成熟の卵胞子があることが判明した。日本の A 1 と A 2 の間に形成された卵胞子の 90% 以上は、未成熟であった。このように、未成熟な卵胞子が多いことが、卵胞子の発芽の悪い原因であると考えられた。このため、疫病菌の卵胞子が日本の圃場で第一次感染源としての役割を果たしているかどうかは、残された問題である。

日本のジャガイモ疫病菌の遺伝的変異を、アイソザイム分析によって調べた。1987 年から 1990 年の間に日本各地から集めた疫病菌 A 1 および A 2 の 198 菌株、1983 年以前に分離された A 1 の 4 菌株を用いた。デンブengel 電気泳動は O⁺Mally らの方法によった。その結果、10 酵素につき、14 遺伝子座が観察された。GPI, MDH, SOD および PEP は 2 つの離れた場所にバンドが現れ、それぞれ別々の遺伝子座にコードされていると考えられた。供試した日本の全ての A 1 と A 2 の菌株は、IDH, LDH, G6PDH, PGD, GDH, MDH-1, MDH-2, SOD-1, SOD-2, PEP-2, GPI-2 の 11 遺伝子座が単型で、これらがコードするアイソザイムの泳動パターンは両交

配型とも同じであった。そのほかの3遺伝子座 GPI-1, PEP-1, ME では多型であり、それぞれ2つの遺伝子型が認められ、これと交配型が一致した。この結果はA1とA2の間に遺伝的組換えが起こっていないことをしめしている。これまで、疫病菌では報告されていなかった、MEの遺伝子型90/100およびPEP-1遺伝子型96/96がA2菌株に発見された。日本の全てのA1の菌株は、GPI-1 86/100, PEP-1 92/100, ME 100/100であった。一方、A2の菌株は全て GPI-1 100/100, PEP-1 96/96, ME 90/100であった。これらのことから、日本の疫病菌のA1とA2の2つの交配型は、アイソザイムによって類別できることが明らかとなった。

さらに、メキシコ、アメリカおよびイングランドの疫病菌についても同様にアイソザイム分析を行ない、日本の疫病菌の結果と比較した。イングランドの菌株でMEの遺伝子型90/100がはじめて発見された。日本の疫病菌のアイソザイムは、メキシコの菌株に比べ、変化が少ないことが明らかとなった。また、MEはジャガイモ疫病菌の遺伝的研究、また起源に関する研究において、有用なマーカーになると考えられた。

近年になって日本に出現したA2菌株は、海外から侵入したものと考えられるが、どこから来たのかは不明である。本研究によって得られた結果は、こうした問題を解明するための基礎になるものである。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 生 越 明
副 査 教 授 木 村 郁 夫
副 査 教 授 喜 久 田 嘉 郎

本論文は英文で記され、図13、表23、付録2を含む総頁数210からなり、6章をもって構成されている。

ジャガイモの疫病は数あるジャガイモの病害のなかでもっとも重要なもののひとつである。本疫病菌 (*Phytophthora infestans*) には、A1交配型とA2交配型が存在するが、原産地であるメキシコから世界に蔓延したのはA1交配型のみであるとされていた。しかるに、近年になってヨーロッパ各地でA2交配型が発見され、注目を集めている。本研究は、日本におけるジャガ

イモ疫病菌のA 1, A 2交配型の存否, その分布を調べ, 両者の諸性質の違いを検討し, 両者の存在下で形成される卵胞子の形成機構を調べ, さらに, アイソザイム分析によって海外の疫病菌との比較を行なった研究をまとめたものである。

1987年から1990年までの間に日本各地から集めた1150分離株について, その交配型を調べたところ, 174菌株はA 1, 975菌株はA 2であり, 1菌株は同株性であった。日本の多くの地域で両交配型が検出されたが, A 2の分離頻度が高かった。この4年間にA 2の比率が増加していることが判明した。

A 1, A 2は多くの点で異なっていた。A 1菌株はジャガイモの塊茎スライス上で薄く平らな菌叢を形成し, 遊走子のうの形成量が多かった(S型)。一方, A 2菌株は綿毛状の菌叢を形成し, 遊走子のうの形成が少なかった(M型)。寒天培地上での両交配型の生育も異なっていた。A 1とA 2ではまったく異なる菌糸の分岐の仕方が観察された。

A 1は4例を除いて, 常に抵抗性遺伝子を持たないジャガイモ品種から分離された。接種試験の結果, A 1は抵抗性遺伝子を持たない品種のみに病原性を示し, 一方, A 2は抵抗性遺伝子R 1を持つ品種にも病原性を示した。

V-8寒天培地で生育させたA 1とA 2の寒天片をポリカーボネートメンブレンを介して接触培養し, 卵胞子の形成を調べた。A 2は多くの卵胞子を形成したが, A 1はほとんど形成しなかった。種々の実験から, A 1によって生産されるホルモン様物質がA 2の卵胞子形成を助長していることが判明した。

ジャガイモの茎葉中での卵胞子形成を調べたところ, 異なる交配型の菌株を同時に接種した場合には, 接種6日後に, 底着性の造精器を持つ造卵器が形成された。単一の交配型のみ接種では卵胞子は観察されなかった。

日本の菌によって形成された卵胞子はほとんど発芽しなかったが, 日本のA 2とメキシコのA 1の間にできた卵胞子は容易に発芽した。日本のA 1とA 2の間に形成された卵胞子の90%以上は, 未成熟であり, これが卵胞子の発芽の悪い原因であると考えられた。このため, 疫病菌の卵胞子が日本の圃場で第一次感染源となっているかどうかは, 残された問題である。

日本のジャガイモ疫病菌の遺伝的変異を, デンプンゲル電気泳動によるアイソザイム分析によって調べた。1987年から1990年の間に日本各地から集めた198菌株, および1983年以前に分離された4菌株を用いた。その結果, 10酵素につき, 14遺伝子座が観察された。そのうち11遺伝子座は単型で, A 1とA 2との間に違いはなかった。そのほかの3遺伝子座 GPI-1, PEP-1, ME は多型であり, それぞれ2つの遺伝子型が認められ, これと交配型が一致した。MEに遺伝

子型90/100および PEP-1 の遺伝子型96/96がA 2 菌株に新たに発見された。日本の全てのA 1 菌株は、GPI-1 86/100, PEP-1 92/100, ME 100/100であり、一方、A 2 菌株は全て GPI-1 100/100, PEP-1 96/96, ME 90/100であった。これらのことから、日本の疫病菌の両交配型はアイソザイムによっても類別できることが明らかとなった。

さらに、メキシコ、アメリカおよびイングランドの疫病菌についても同様にアイソザイム分析を行ない、日本の疫病菌の結果と比較した。イングランドの菌株で ME に遺伝子型90/100がはじめて発見された。日本の疫病菌のアイソザイムは、メキシコの菌株に比べ、変化が少ないことが明らかとなった。また ME はジャガイモ疫病菌の遺伝的研究、また起源に関する研究において、有用なマーカーになると考えられた。

以上の研究成果は、ジャガイモ疫病菌のA 1, A 2 交配型について、日本における分布を明らかにし、両者の諸性質の違いを示し、また形成される卵胞子の役割を論議し、さらに海外の菌との比較を行なって、日本の菌の特徴を明らかにしたものであり、高く評価される。よって審査員一同は、最終試験の結果と合わせて、本論文の提出者アハメッド アハメッド モサは博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格があるものと認定した。