

学 位 論 文 題 名

Studies on potato scab pathogenic *Streptomyces* species

(ジャガイモそうか病を引き起こすストレプトミセス属放線菌に関する研究)

学位論文内容の要旨

ジャガイモそうか病菌 *Streptomyces scabies*、*S. acidiscabies* およびサツマイモ立枯病菌 *S. ipomoeae* が生産する植物毒素（サクストミン、Thaxtomin）については、過去10年間に大きな研究の進展があった。サクストミンは、ジケト-ピペラジン構造を含む4-ニトロインドール化合物の総称で、その主要なものがAで、宿主に非特異的な毒素反応を示す。また、未成熟のジャガイモ塊茎の他、異なる植物の組織に壊死を引き起こす。1970年代以降、そうか病はジャガイモ栽培の障害となってきた。*S. scabies* は主要なそうか病菌と考えられてきたが、最近新しいそうか病菌が高い頻度で北海道に見出されるようになってきた。この新しいそうか病菌は *S. turgidiscabies* と命名され、ジャガイモ塊茎に典型的なそうか症状を引き起こす他、他の作物にも病原性を有している。この病原菌における一つの大きな疑問は、この菌によるジャガイモのそうか症状がやはり毒素サクストミンによって引き起こされているかどうかという点であった。本研究では最初に毒素の解明を行なった。

1・*Streptomyces turgidiscabies*の生産する植物毒素

ジャガイモ塊茎スライスおよびオートミール液体培地で *S. turgidiscabies* 91 SY-10 C 株を培養し、そうか症状を誘導する毒素の分離を試みた。薄層クロマトグラフィーで分離された物質を高分解能マススペクトルおよびNMRスペクトルで分析した結果、この物質がサクストミンAであることを確認した。この菌株由来のサクストミンAを単独でジャガイモマイクロチューバーに処理したところ、菌の孢子懸濁液を接種した場合と同様の壊死病斑が形成された。*S. turgidiscabies* 35 菌株を用いてサクストミンA生産量の調査を行ったところ、*S. turgidiscabies* のサクストミンA生産量はほとんどの場合で *S. scabies* を上回り、菌株の病原性の強さとサクストミンA生産量とは正の相関を示すことが確認された。本研究結果は、*S. turgidiscabies* が *S. scabies* と同様にサクストミンAによって病原性が支配されているという最初の報告である。

2・土壌水分条件とジャガイモ塊茎表面に優占するストレプトミセス属菌

そうか病の発病においては、土壌の水分条件が大きな影響を与えることが知られている（水分量少→発病多発）。本研究では、水分条件の違いによるジャガイモ塊茎上の優占菌種の違い、塊茎表面の違いに着目し、この現象の機作を明らかにすることを試みた。北海道大学農場において3年間にわたり、水分条件の異なる土壌中のジャガイモ塊茎表面の放線菌密度を調査した。その結果、乾燥した（ $pF > 2.6$ ）土壌の塊茎表面では全放線菌密度が湿潤土壌の100倍以上であることが明らかとなった。乾燥土壌では通常のそうか病の発病は少なく、netted scab と呼ばれる塊茎表面に軽い網目状の病斑型が観察された。これらの塊茎表面からは単一種と思われる放線菌が高頻度で分離された。72菌株を用いて51項目の表現型・細菌学的性質を調査したところ、これらの菌株はこれまで北海道では発見されていなかった *S. acidiscabies* にほぼ一致した。さらに、これらの菌株が *S. acidiscabies* に特徴的で同定の指標に用いられているナフトキノン誘導体色素を生産していることが高分解能マススペクトルによって確認された。また菌種に特徴的な16SリボソームRNA PCR増幅産物のサイズが *S. acidiscabies* と一致したことにより、これらの菌株を最終的に *S. acidiscabies* と同定した。アメリカにおける *S. acidiscabies* はそうか病斑からも分離されており、サクストミンAを生産することが報告されているが、今回分離したすべての *S. acidiscabies* 菌株はサクストミンAを生産せず、接種試験においても典型的なそうか病斑を形成しないことが確認された。また、これらの菌は培地上で *S. scabies* に拮抗作用を示し、その生育を抑制することが明らかとなった。

以上の結果より、圃場の水分量が塊茎表面に優占する菌種に影響する事、さらにサクストミンAの生産がそうか病斑の形成に重要な役割を果たしていることが明らかになった。サクストミンAを生産する *Streptomyces* 属放線菌 (*S. scabies*, *S. acidiscabies*, *S. turgidiscabies*) はそうか病を引き起こし、生産しない菌種はわずかに塊茎表面の変化 (netted) を引き起こすに過ぎなかった。サクストミンAの生産が分類的に類縁性のない菌種にわたっていることから、これらの菌種が独立にその病原性を獲得したのか、あるいは何らかの移動因子によって水平伝搬されたのかは現時点では明らかではないが、将来検討すべき興味深い課題であると考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 小 林 喜 六

副 査 教 授 生 越 明

副 査 助 教 授 近 藤 則 夫

学 位 論 文 題 名

Studies on potato scab pathogenic *Streptomyces* species

(ジャガイモそうか病を引き起こすストレプトミセス属放線菌に関する研究)

本論文は、図22、表2を含む総頁数118の英文論文であり、他に参考論文3編が添えられている。

1970年代以降、そうか病はジャガイモ栽培の障害となってきた。*S. scabies* は主要なそうか病菌と考えられてきたが、最近新しいそうか病菌が高い頻度で北海道に見出されるようになってきた。この新しいそうか病菌は *S. turgidiscabies* と命名され、ジャガイモ塊茎に典型的なそうか症状を引き起こす他、他の作物にも病原性を有している。この病原菌における一つの大きな疑問は、この菌によるジャガイモのそうか症状がやはり毒素サクストミンによって引き起こされているかどうかという点であった。本研究では最初に毒素の解明を行なった。

1・*Streptomyces turgidiscabies*の生産する植物毒素

ジャガイモ塊茎スライスおよびオートミール液体培地で *S. turgidiscabies* 91 SY-10 C 株を培養し、そうか症状を誘導する毒素の分離を試みた。薄層クロマトグラフィーで分離された物質を高分解能マススペクトルおよびNMRスペクトルで分析した結果、この物質がサクストミンAであることを確認した。この菌株由来のサクストミンAを単独でジャガイモマイクロチューバーに処理したところ、菌の孢子懸濁液を接種した場合と同様の壊死病斑が形成された。*S. turgidiscabies* 35 菌株を用いてサクストミンA生産量の調査を行ったところ、*S. turgidiscabies* のサクストミンA生産量はほとんどの場合で *S. scabies* を上回り、菌株の病原性の強さとサクストミンA生産量とは正の相関を示すことが確認された。本研究結果は、*S. turgidiscabies* が *S. scabies* と同様にサクストミンAによって病原性が支配されているという最初の報告である。

2・土壌水分条件とジャガイモ塊茎表面に優占するストレプトミセス属菌

そうか病の発病においては、土壌の水分条件が大きな影響を与えることが知られている（水分量少→発病多発）。本研究では、水分条件の違いによるジャガイモ塊茎上の優占菌種の違い、塊茎表面の違いに着目し、この現象の機作を明らかにすることを試みた。北海道大学農場において3年間にわたり、水分条件の異なる土壌中のジャガイモ塊茎表面の放線菌密度を調査した。その結果、乾燥した（ $pF > 2.6$ ）土壌の塊茎表面では全放線菌密度が湿潤土壌の100倍以上であることが明らかとなった。乾燥土壌では通常のそうか病の発病は少なく、netted scab と呼ばれる塊茎表面に軽い網目状の病斑型が観察された。これらの塊茎表面からは単一種と思われる放線菌が高頻度で分離された。72 菌株を用いて 51 項目の表現型・細菌学的性質を調査したところ、これらの菌株はこれまで北海道では発見されていなかった *S. acidiscabies* にほぼ一致した。さらに、これらの菌株が *S. acidiscabies* に特徴的で同定の指標に用いられているナフトキノ誘導体色素を生産していることが高分解能マスペクトルによって確認された。また菌種に特徴的な 16S リボソームRNA PCR 増幅産物のサイズが *S. acidiscabies* と一致したことにより、これらの菌株を最終的に *S. acidiscabies* と同定した。アメリカにおける *S. acidiscabies* はそうか病斑からも分離されており、サクストミンAを生産することが報告されているが、今回分離したすべての *S. acidiscabies* 菌株はサクストミンAを生産せず、接種試験においても典型的なそうか病斑を形成しないことが確認された。また、これらの菌は培地上で *S. scabies* に拮抗作用を示し、その生育を抑制することが明らかとなった。

以上の結果より、圃場の水分量が塊茎表面に優占する菌種に影響する事、さらにサクストミンAの生産がそうか病斑の形成に重要な役割を果たしていることが明らかになった。サクストミンAを生産する *Streptomyces* 属放線菌 (*S. scabies*, *S. acidiscabies*, *S. turgidiscabies*) はそうか病を引き起こし、生産しない菌種はわずかに塊茎表面の変化 (netted) を引き起こすに過ぎなかった。サクストミンAの生産が分類的に類縁性のない菌種にわたっていることから、これらの菌種が独立にその病原性を獲得したのか、あるいは何らかの移動因子によって水平伝搬されたのかは現時点では明らかではないが、将来検討すべき興味深い課題であると考えられた。

以上の様に、本論文はジャガイモそうか病菌 *S. turgidiscabies* と *S. acidiscabies* の病原性因子としての毒素の役割を明らかにした。この成果は学術的・実用的に高く評価される。よって審査員一同は、トート・ラスロが博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。