

海道産 16 菌株 (1991–2005 年採集), 長崎産 9 菌株 (2002 年採集) で, 対照として 2 倍体とされるメキシコ産 8 菌株を供試した. その結果, 2 倍体と 3 倍体の菌株は北海道産で 7 菌株と 8 菌株, 長崎産で 7 菌株と 1 菌株であり, 4 倍体の菌株は見つからなかった. また, ヘテロカリオンと考えられる菌株がそれぞれの産地で 1 菌株ずつ存在した. 倍数性と交配型の関連性は, 2 倍体の菌株群では A1 と A2 が混在するのに対して, 3 倍体の菌株群では例外なく A1 であった. 今回のデータは, 日本産 *P. infestans* 集団の倍数性が遷移したか, もしくは解析手法によって異なる結果が導かれたことを示している. (岡山大院自然科学)

(8) 井上拓也・坂口 歩・辻 元人・久保康之 ウリ類炭疽病菌の病原性に関与する **Fam1p, p Cocco2p, Cocwh41p** タンパク質の細胞内局在性解析 Inoue, T., Sakaguchi, A., Tsuji, G. and Kubo, Y.: Analysis of Cellular Localization of Fam1p, Cocco2p, Cocwh41p Involved in Pathogenicity of *Colletotrichum orbiculare*. 演者らはこれまでに AtMT 法により得られたウリ類炭疽病菌の変異株により同定された遺伝子, *FAM1*, *Co CCC2*, *CoCWH41* の機能解析を行ってきた. *FAM1* 遺伝子はその遺伝子破壊株がペルオキシソーム機能欠損変異株と類似の形質を示すが, 既知のペルオキシソーム関連遺伝子との相同性がないことから糸状菌に特異的な新規のペルオキシソーム機能関連遺伝子と考えられている. また, *CoCCC2* 遺伝子は P-type ATPase を, *CoCWH41* 遺伝子は  $\alpha$ -glucosidase I をコードしていると推定されている. 各遺伝子の機能解析を目的とし, 遺伝子産物の感染器官での局在性の解明を試みた. 各遺伝子を緑色蛍光タンパク質遺伝子 (*GFP*) の下流に連結させることにより, *GFP* 融合タンパク質発現ベクターを構築し, 対応する遺伝子破壊株に導入することにより機能復帰を確認した. 各形質転換体について蛍光顕微鏡下で観察を行ったところ, 各形質転換体において *GFP* 蛍光の細胞内局在性が認められた. 特に *Fam1p* についてはペルオキシソームに局在を示さず, 糸状菌に特異的な脂肪酸代謝の存在が示唆された. (京都府大院生環)

(9) 佐々木厚子・中村 仁・吉田幸二・島根孝典 白紋羽病菌 W779 株の保持する 2 種の dsRNA の人工接種及び土壌で生育する菌糸間での移行 Sasaki, A., Nakamura, H., Yoshida, K. and Shimane, T.: Artificial Infection of L1- and L2-dsRNAs in Hypovirulent Isolate W779 of *Rosellinia necatrix* and their Horizontal Transmission in Soil-cultured Mycelia. 白紋羽病菌 W779 株が保持する 2 種の dsRNA (L1-dsRNA と L2-dsRNA) は本菌の生育および病原力を低下させる. これら 2 種の dsRNA が白紋羽病菌の防除に有

効かを明らかにするため, 他菌株への感染性と土壌上で生育させた本菌での移行を調査した. W779 株と体細胞融合性が異なり, dsRNA フリー株である W37 株と W564 株に, プロトプラスト融合法で 2 種の dsRNA の感染を試みたところ, 両者とも dsRNA が感染し, 感染株は元株と比較して生育速度が低下した. また, W779 株と dsRNA フリー化した本株を PDA 培地または土壌上で対峙培養して dsRNA の移行状況を比較した. dsRNA の移行は PDA 培地で培養した場合よりもその範囲は限定されたものの, 土壌上で対峙培養した場合にも観察された. これらのことから W779 株中の dsRNA は他の菌株にも感染し生育速度を低下させ, 土壌で生育する白紋羽病菌の菌体間でも移行することから, これら dsRNA は白紋羽病菌にとって有効な病原力低下因子である可能性が示唆された. (果樹研)

(10) 有江 力・關波直子・寺岡 徹 *Gibberella fujikuroi* フェロモンレセプター遺伝子破壊株の交配能と病原性 Arie, T., Sekinami, N. and Teraoka, T.: Mating Ability and Pathogenicity of Disruptants of Pheromone Receptor Genes in *Gibberella fujikuroi*. サトウキビしょう頭腐敗病菌 *Gibberella fujikuroi* mating population B (不完全世代名: *Fusarium sacchari*) から, 酵母のフェロモンレセプター遺伝子 *ste2* および *ste3* のホモログを単離し, それぞれ *pre2* および *pre1* とした. いずれの交配型菌株 (MAT1-2: FGSC 7610; MAT1-1: FGSC 7611) とともに *pre1* 及び *pre2* を保持しており, それらの塩基配列は菌株間で 100% 相同であった. *pre1* および *pre2* の機能を調査すべく遺伝子破壊株 FGSC 7610 $\Delta$ *pre1*, FGSC 7611 $\Delta$ *pre1*, FGSC 7610 $\Delta$ *pre2*, FGSC 7611 $\Delta$ *pre2* を作出し, 生育・交配能・病原性を調査した. FGSC 7610 $\Delta$ *pre2*, FGSC 7611 $\Delta$ *pre1* を雌として, それぞれ FGSC 7611, FGSC 7610 と交配した場合に, 成熟した子嚢殻が形成されず, *pre2*, *pre1* がそれぞれ MAT1-2 株, MAT1-1 株の雌性稔性に関与している事が明らかになった. いずれの破壊株でもその他の性状, すなわち, 雄性稔性, 菌叢性状, 菌叢生育速度, 分生子形成数, サトウキビに対する病原性には変化は認められなかった. (東京農工大院・農)

(11) 下野嘉久・有馬寿英\*・久保田真弓・百町満朗 トマト褐色根腐病菌における交配型遺伝子の解析 Shimono, Y., Arima, T., Kubota, M. and Hyakumachi, M.: Cloning and Characterization of Mating Type Genes in *Pyrenochaeta lycopersici*. 本菌には 2 つのタイプ (Type 1 と Type 2) が存在するが, これらの有性生殖は確認されていない. そこで, 本菌が潜在的に交配可能であるかを調べるために交配型遺伝子の単離と解析を行った. 菌株には CBS267.59

(Type 1) と MAFF712040 (Type 2) を使用した. 交配型遺伝子の単離には degenerate primer による PCR 法と TAIL-PCR 法を用いた. その結果, CBS267.59 (Type 1) は *MAT1-1-1* 遺伝子を保有する交配型 MAT1-1 であり, MAFF712040 (Type 2) は *MAT1-2-1* 遺伝子を保持する交配型 MAT1-2 であることが示唆された. また RT-PCR 法によりそれらの発現を解析した結果, 両交配型遺伝子は貧栄養条件および富栄養条件ともに転写されていることが明らかになった. さらに, 両交配型遺伝子に存在するイントロンは他の糸状菌で報告された位置に保存されていることも判明した. なお Type 1 の 11 菌株と Type 2 の 20 菌株を用いて Multiplex-PCR 法による交配型遺伝子検定を行った結果, Type 1 は交配型 MAT1-1, Type 2 は交配型 MAT1-2 であることが明らかになった. (岐大応生・\* 県立広島大)

(12) 奈尾雅浩・伊藤博章・河野 靖 イチゴ炭疽病の蔓延を防ぐ傾斜育苗パネルにおける灌水法 Nao, M., Itoh, H. and Kohono, Y.: Effect of Plant Foot Irrigation System using the Inclined Nursery Bed on the Development of Strawberry Anthracnose (*Glomerella cingulata*). イチゴ炭疽病に対しては降雨・頭上灌水等によるイチゴ株への水滴飛散を防ぐ, 雨よけ・底面給水法による防除効果が高い. 今回は既存の小型ポット利用による棚式育苗システム (伏原ら, 1992) において, イチゴの株元へ灌水する手法を考案し本病の蔓延を抑制できた. 本育苗システムのポット架台になるベリーラックパネルを 30° 傾斜させ, 塩化ビニル製パイプを加工した灌水器具をパネル最上部に取り付けることで水をパネル上に掛け流しできるようにした (パネル傾斜区). この時, ポットへの給水精度を高めるため, 短冊状に裁断した落ち綿をポットの縁部分から内壁面へ向けて入れ込み給水資材に利用した. 2007 年 9 月 16 日から薬剤無散布の条件下においてイチゴ炭疽病菌の人工接種株による間接接種で本病の蔓延防止効果を調査した. 頭上灌水で育苗しているイチゴ (品種 ‘さちのか’) を対照区にしたところ, 接種 42 日後に本病の発病株率は, 頭上灌水区の 48.4% に対して, パネル傾斜区では 3.2% となり, 顕著な蔓延防止効果を確認できた. (愛媛農試)

(13) 福森庸平・中島雅己・阿久津克己 灰色かび病菌における小型分生胞子の性状について Fukumori, Y., Nakajima, M. and Akutsu, K.: Characterization of Microconidia in *Botrytis cinerea*. 演者らは平成 19 年度大会において, *Botrytis cinerea* に形成された小型分生胞子の培養上清が本菌の菌核に対して受精毛と考えられる特異的菌糸の伸長を誘導することを報告している. 培養上清を経時的に採取して Tris/Tricine SDS-PAGE に供試した結果, 小型分生胞子

の分泌物と思われる複数のバンドが確認された. これらの濃度は培養 6 日目まで高まり, その後一定となることが示された. *Neurospora crassa* の受精毛誘導因子である MFA-1 は小型分生胞子により産生, 分泌されることが報告されていることから, 本菌の小型分生胞子にも *N. crassa* と同様, タンパク合成ならびに分泌に必要な細胞小器官が存在するものと考えられた. そこで, モレキュラープローブを用いて細胞小器官の観察を行ったところ, 本菌の小型分生胞子においても ER およびミトコンドリアの存在が確認された. これらの形態は *N. crassa* で報告のあるそれと類似していた. 以上のことから, 本菌の小型分生胞子は *N. crassa* のそれと同様, 受精毛誘導因子を産生, 分泌することが考えられた. (茨城大農)

(14) 内堀美和・山崎亮一・長田茂穂・中島雅己・阿久津克己 *Botrytis cinerea* の Ga タンパク質 (BCG3) と相互作用するタンパク質の探索 Uchibori, M., Yamazaki, R., Osada, S., Nakajima, M. and Akutsu, K.: Search for the Protein which Interacts to G-protein Alpha Subunit (Bcg3) in *Botrytis cinerea*. 演者らは, これまでに *B. cinerea* の G タンパク質  $\alpha$  サブユニットである BCG3 が本菌の菌核形成に関与していることを報告した. BCG3 と G $\beta$  サブユニットである BCGB1 の相互作用を酵母 two-hybrid 法により調査したところ, それらが相互作用しないことが明らかとなった. そこで, 酵母 two-hybrid 法を用いて BCG3 と相互作用するタンパク質の探索を試みた. 様々な条件下で *bcg3* の発現を調査した結果, 本菌を振とう培養あるいは静置培養して得られた菌体において本遺伝子の発現は認められなかったが, トマト葉またはタマネギリン片表皮に分生胞子懸濁液を接種後 20 時間以降に多く発現してくることが明らかになった. そこで, *bcg3* の発現が確認されたトマト接種葉から作製した cDNA ライブラリーを酵母 two-hybrid 法に供試したところ, 約 150 の陽性クローンが得られた. それらの塩基配列を調査したところ, G $\beta$  サブユニットである BC1G\_10054 と相同な配列が確認され, これが BCG3 と相互作用する G $\beta$  サブユニットであると考えられた. (茨城大農)

(15) 馬場達也・高橋真理子・中島雅己・阿久津克己 *Botrytis tulipae* における Ga タンパク質 (BTG3) の機能解析 Baba, T., Takahashi, M., Nakajima, M. and Akutsu, K.: A Functional Analysis of the Ga protein (*btg3*) in *Botrytis tulipae*. *Botrytis tulipae* はチューリップの枯死した罹病個体および球根に多くの菌核を形成し, 植物残渣とともに土壌中で越冬した菌核が翌年の主な伝染源となることが知られている. これまでに本菌と同属の *B. cinerea* において,