

フザリウムワークショップに参加して (1)

千葉大学園芸学部生物生産基礎科学講座 なが お ひ ゆき
長 尾 英 幸

はじめに

フザリウム及び関連する糸状菌についてのワークショップは、1994年9月26日より30日までオーストラリアのシドニー大学農学部で開催された(図-1)。大学はダウンタウンからバスで10分ぐらいの所にあり、徒歩でも30分ぐらいの便利なところに位置している。しかしセメスター間の休みであったためか思いのほか静かであった。参加者はオーストラリア国内の試験場や会社関係者7名と、海外から新ユーゴ、フィリピン、ベトナム、日本の4か国5名が参加した。このワークショップは、主催者のBURGESS教授がフザリウム実験マニュアル第3版(Laboratory manual for Fusarium Research. 3rd ed., L. W. BURGESS et al., Univ. Sydney, 1994)を出版したのを機に5年ぶりに開催された。今回はオーストラリアで分離されるフザリウムの講義と観察だけでなく、フザリウムの分離時によく出現したり、形態が類似している *Cylindrocarpum*, *Cylindrocladium*, *Verticillium* についても講義と観察が行われた。講義と観察の合間をぬって、分子生物学的手法のセミナーやフザリウム菌の地理的分布のセミナーも行われた。最終日には、名前のふせてある菌株を観察してワークショップの成果が試された。ワークショップのプログラムは表-1に示した。

ティータイム

ワークショップは、朝9時より夕方5時までかなりびっしりで行われた。ランチタイムはおよそ2時間だが、実際には昼過ぎまで顕微鏡をのぞく参加者が多かった。また午前中と午後に適当なティータイムがあった。南半球では9月の気候は北半球の初春に当たるので、少しでも寒い身体を暖めるために、私や東南アジアからの参加者たちはワークショップ前に暖かい飲物をとらなくてはならなかった。ティータイムではそれぞれ参加者がテーブルを囲んで、雑談や自己紹介をかねた研究の話の繰り広げていた。BURGESS教授は現任学部長のためにセメスターの休みを利用してこのワークショップを開催していた。ワークショップの講義と実習も半分近くは自ら担当していたことが印象深い(図-2)。雑務の中でこのように準備良く進行できるのも、有能な秘書の方の貢献が大きいようであった。ワークショップが開かれた実習室は

学生実験室だった(図-3)。学生用の顕微鏡は最近5年以内につくられた日本製の性能の良い光学顕微鏡であったが、ノマルスキー顕微鏡や位相差顕微鏡以外は「ふつうの」顕微鏡と考えられているようで、BURGESS教授は設備が十分でなく残念だと嘆いていた。BURGESS教授はフザリウム研究室を担当しているが、スタッフとしては助手と技官だけのようで、ワークショップの講義と実習には教え子でシドニー植物園に勤める Dr. B.A. SUMMERELL が活躍していた。植物園の研究室はできたばかりなので、研究を軌道に乗せるのと同時に研究室の運営にも腐心しているようであった。ちなみにすでにE-mailは導入されていた。

培養と保存

今回のワークショップでは、*Fusarium* 菌の分類と同定の講義と実習だけでなく、培養株の継代培養法と長期保存について実習が行われた。講義の中でも繰り返し触れられたように、*Fusarium* 菌の単孢子培養株を研究のスタートにすることが必要となる。このワークショップでは簡便な単孢子培養法が紹介された。その方法は、斜面培地の培養株に殺菌水を注ぎ、懸濁した後に素寒天培地に懸濁液を流し込み、すぐに反転して余分な水分をのぞくやり方である。この培地を28°Cで一晩培養後、実体顕微鏡で観察しながら白金耳で発芽した胞子を拾い上げる。さきに述べたようにコロニー直径の計測には単胞子を接種源としてシャーレに移植して培養していた。

長期保存法については、真空凍結乾燥法が推奨されている。単孢子分離に比べると、BURGESSグループのオリジ

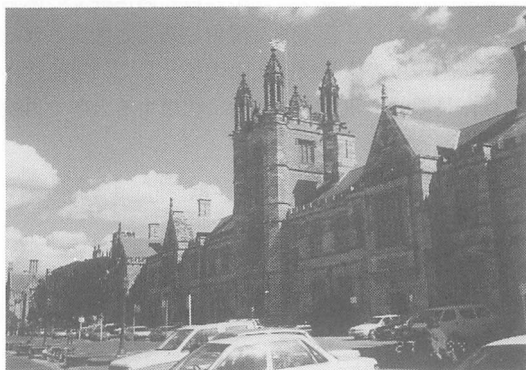


図-1 シドニー大学農学部

Report of Laboratory Workshop on Fusarium and Related Fungi. By Hideyuki NAGA●

表-1 ワークショップのプログラム

LABORATORY WORKSHOP ON FUSARIUM AND RELATED FUNGI

26-30 September 1994

Program	
Monday	Wednesday
9.00 Introduction to <i>Fusarium</i> Taxonomy and identification	8.30 Lyophilisation —Stage 2
10.00 <i>F. oxysporum</i> and <i>F. solani</i> Comments on biology, pathology and taxonomy Examination of cultures	9.00 <i>F. chlamydosporum</i> , <i>F. poae</i> , <i>F. sporotrichioides</i> , <i>F. tricinctum</i> Biology, toxicology and taxonomy Examination of cultures
10.45 Coffee	10.45 Coffee
11.00 Continue examination of cultures	11.00 Continue examination of cultures
11.30 <i>F. nygamai</i> and <i>F. babinda</i> Comments on biology, toxicology and taxonomy Examination of cultures	12.00 Mycogeography of <i>Fusarium</i> and application of Bioclim model
12.30 Lunch	12.30 Lunch
1.30 <i>F. moniliforme</i> , <i>F. subglutinans</i> , <i>F. proliferatum</i> , <i>F. anthophilum</i> Comments on biology, pathology, toxicology and taxonomy Examination of cultures	2.00 <i>F. semitectum</i> , <i>F. polyphialidicum</i> Biology and taxonomy Examination of cultures
3.45 Coffee	3.00 <i>F. decemcellulare</i> , <i>F. lateritium</i> , <i>F. merismoides</i> and <i>F. dimerum</i> Biology, pathology and taxonomy Examination of culture
4.00 <i>F. beomiforme</i> Biology and taxonomy Examination of cultures	3.45 Coffee
4.45 Single spore isolation Brief discussion and seeding of WA plates with unknown <i>Fusarium</i> cultures	4.00 Continue examination of cultures
5.30 End of session	5.30 End of session
Tuesday	Thursday
8.30 Transfer of germinated single spores of unknown <i>Fusarium</i> cultures onto PDA plates for deter- mination of colony diameters at 25°C and 30°C on Friday	8.30 Introduction of <i>Cylindrocarpon</i> Biology and taxonomy Examination of cultures
9.00 <i>F. graminearum</i> (Groups 1 and 2), <i>F. culmorum</i> , <i>F. crookwellense</i> , <i>F. sambucinum</i> Comments on biology, pathology, toxicology and taxonomy Examination of cultures	10.00 Introduction of <i>Cylindrocladium</i> Biology and taxonomy Examination of cultures
10.45 Coffee	10.45 Coffee
11.00 <i>F. avenaceum</i> sub. spp. <i>avenaceum</i> , <i>aywerte</i> , <i>nurragai</i> ; <i>F. heterosporum</i> Biology, ecology and taxonomy Examination of cultures	11.00 Continue examination of cultures of <i>Cylindrocarpon</i> and <i>Cylindrocladium</i>
12.00 Molecular variation in above fungi—use of RFLP techniques	11.30 Introduction of <i>Verticillium</i> and other fungi Biology, Pathology and taxonomy Examination of cultures
12.30 Lunch	12.30 Lunch
2.00 <i>F. acuminatum</i> sub.spp. <i>acuminatum</i> , <i>armeniaceum</i> ; <i>F. compactum</i> ; <i>F. equiseti</i> ; <i>F. scirpi</i> ; <i>F. longipes</i> Biology, toxicology and taxonomy Examination of cultures	2.00 Perfect states of <i>Fusarium</i> , <i>Cylindrocarpon</i> and <i>Cylindrocladium</i>
3.45 Coffee	3.45 Coffee
4.30 Lyophilisation techniques—Stage 1	4.00 Continue examination of cultures
5.30 End of session	5.30 End of session
	Friday
	8.30 Measure colony diameters of unknown <i>Fusarium</i> cultures
	9.00 Identification of unknown <i>Fusarium</i> cultures
	10.45 Coffee
	11.00 Continue identification of unknown cultures and identification of participants' cultures
	12.30 Lunch
	Afternoon Session ended Laboratories will remain open and participants may continue to examine cultures.

ナルな方法となっている。保存する菌株はCLAで14日間培養する。あらかじめ凍結保存用のガラス管には綿栓を詰めて滅菌しておく。スポロドキアが豊富に形成されたカーネーション葉片をピンセットでつまみ上げ、綿栓を外したガラス管に移し、底部へ押し込む(図-4)。綿栓をガラス管の下部1/3ぐらいまで押し込み携帯バーナーでその上部を加熱して、管が封じ込められない程度に引き延ばす。このように準備したガラス管を真空凍結乾燥機にセットしておよそ17~18時間凍結乾燥する。乾燥終了後にガラス管を携帯バーナーで焼いて封じる(図-5)。保存は冷蔵庫で行っている。

研究室での通常の培養は、25℃に調節され、12時間明期の照明下で行われている(図-6)。培養は図のように直径およそ5cmのシャーレを用いていた。この培養室は土足で、白衣も着用せずに入室可能であったが、ときに

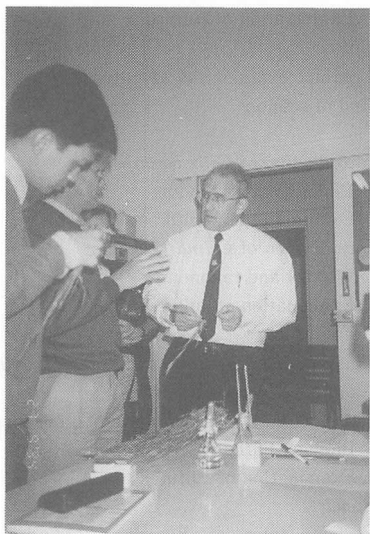


図-2 実習を指導するBURGESS教授

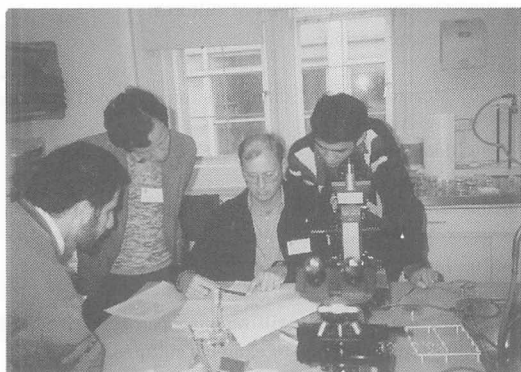


図-3 ワークショップ実習の様子

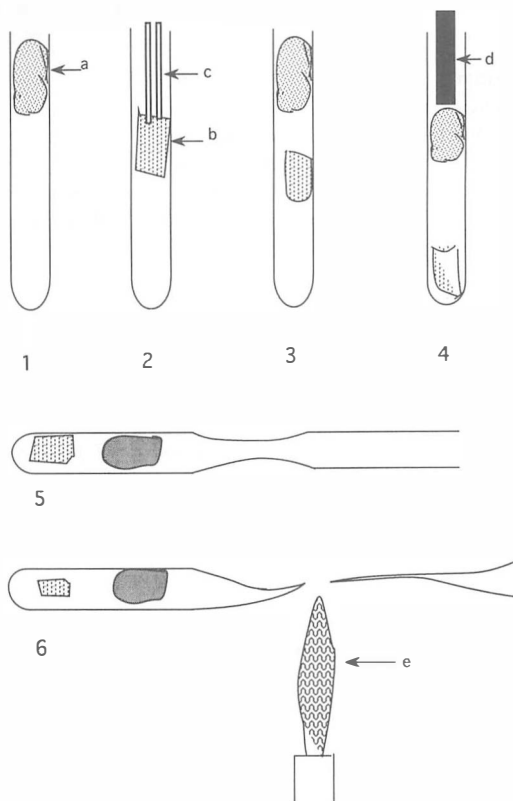


図-4 真空凍結乾燥の手順(1:綿栓をして乾熱殺菌したガラス管を用意する,2:通常の無菌操作により*Fusarium*を培養したカーネーション葉をピンセットなどで入れる,3:再び綿栓をする,4:針金などで綿栓とカーネーション葉をガラス管底部へ押し込む,5:ガラス管の任意の位置を熱して引き延ばし,真空凍結乾燥を行う,6:凍結乾燥終了後,ガラス管を焼き切り封じる。:a:綿栓,b:カーネーション葉,c:ピンセットなど,d:針金など,e:ガスバーナーの炎)

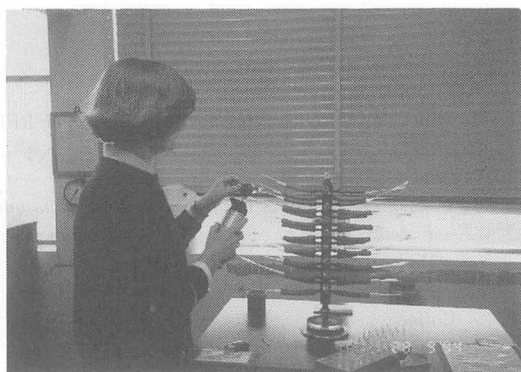


図-5 真空凍結乾燥後のアンプル封入

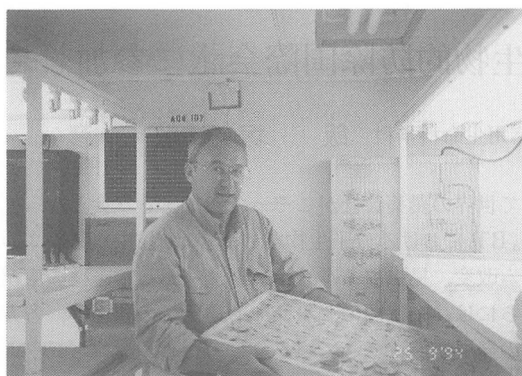


図-6 *Fusarium* 培養室の BURGESS教授

はダニによる汚染があるそうである。

研究上必要となる外国産の菌株輸入に関しては、研究者が許可番号を持っていて、直接海外より郵送される。

シンポジウムのトピックス

BURGESSのグループでも *Fusarium* の分類に分子遺伝学的手法を導入し始めた。*F. graminearum* を対象にサブグループと分子レベルの関係を RFLP で検討している。現在までのところでは、*F. graminearum* にはいくつかの分子レベルで区別される菌系が示唆されている。

BURGESSのグループは *Fusarium* の分類を生態と関連づけて研究している。菌類地理学 (Mycogeography) と呼ぶこのテーマでは、a. *Fusarium* 種の分布とオーストラリア土壌との関係、b. *Fusarium* 種の分布と気候との

関係、c. *Fusarium* 種の分布と植物群落との相互作用の3点について検討している。今回のセミナーでは、農業による生態への圧力と *Fusarium* 種の分布については触れられなかったが、植生が *Fusarium* 種の分布に影響していることが報告された。*Fusarium* は腐生的生活により主に植物遺体の分解を進めるが、分解する植物遺体には嗜好性があるらしい。オーストラリア大陸は植物学上も孤立してきた特異な位置にあるので、コスモポリタンな *Fusarium* のこのような嗜好性が今後の研究で明らかになることを期待したい。

おわりに

BURGESSのグループはオーストラリア大陸を中心に *Fusarium* の分類を生態と関連づけて研究している。その研究の発展系として、最初に手がけた穀類立枯れ病を起こす *F. graminearum* の分子遺伝学的アプローチを試みたり、地理的に離れている北アフリカや東ヨーロッパ (バルカン半島近辺) の菌株の比較に着手している。このような戦略は東南アジアにも進められているようで、ベトナムやインドネシアで菌類地理学の立場から緯度に沿ってあるいは植生に応じて採集を行っている。また、交配群が明らかになりつつある *F. moniliforme* の分布についても、ベトナムで精力的に進めているようである。

(なお、今回はワークショップの概略を紹介したが、次号でフザリウム菌の分類と同定法について紹介したい。)

人 事 消 息

(4月1日付)

永田 徹氏 (生物研企画調整部長) は農業環境技術研究所長に

山下良弘氏 (九州農試企画連絡室長) は東北農業試験場長に

加藤明治氏 (農研センター総合研究官) は農業研究センター次長に

桂 直樹氏 (生物研機能開発部長) は農業生物資源研究所企画調整部長に

笠毛邦弘氏 (食品総合研生物機能開発部分子情報解析研究室長) は農業生物資源研究所機能開発部長に

小川 奎氏 (農研センター企画調整部研究企画科長) は北海道農業試験場生産環境部長に

井上隆弘氏 (北海道農試生産環境部長) は九州農業試験場企画連絡室長に

玉木佳男氏 (農環研所長) は退職〔東北大学教授農学部〕
松原茂昌氏 (東北農試場長) は退職〔鳥取大学教授農学部〕

原城 隆氏 (農研センター次長) は退職

清野 裕氏 (農環研企画調整部企画科長) は農業環境技術研究所環境資源部気象管理科長に

松井重雄氏 (農研センター企画調整部研究交流第2科長) は農業研究センター企画調整部研究企画科長に

石黒 潔氏 (農研センター病害虫防除部主任研究官 (水田病害研究室)) は農業研究センター企画調整部主任研究官 (研究企画科) に

野口勝司氏 (農研センター耕地利用部畑雑草研究室長)

は農業研究センター企画調整部研究交流第2科長に

大村敏博氏 (農研センター病害虫防除部主任研究官 (ウイルス防除研究室)) は農業研究センター病害虫防除部ウイルス防除研究室長に

萩原 廣氏 (農研センター病害虫防除部畑病害研究室長) は農業研究センター病害虫防除部土壌病害研究室長に

斉藤初雄氏 (東北農試水田利用部水田病害研究室長) は農業研究センター病害虫防除部畑病害研究室長に

宇垣正志氏 (生物研企画調整部主任研究官 (企画科)) は農業生物資源研究所分子育種部適応性遺伝子研究室長に

上路雅子氏 (農環研資材動態部農薬動態科除草剤動態研究室長) は農業環境技術研究所企画調整部企画科長に

安田耕司氏 (国際農林水産業研究センター沖縄支所主任研究官 (作物保護研究室)) は農業環境技術研究所環境生物部主任研究官 (昆虫管理科昆虫分類研究室) に

鈴木隆之氏 (農環研資材動態部農薬動態科農薬管理研究室

(31 ページに続く)