

# 量子ビーム照射による昆虫病原糸状菌の殺菌剤耐性変異体の創出

篠原 忍<sup>1)</sup>・佐藤勝也<sup>2)</sup>・鳴海一成<sup>2)</sup>・田上陽介<sup>1)</sup>・西東 力<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 静岡大学農学部、<sup>2)</sup> 原子力機構

昆虫病原糸状菌は IPM の基幹技術のひとつであるが、殺菌剤と併用しにくいという難題を抱えている。その抜本的な解決策として、殺菌剤耐性という新機能を有する昆虫病原糸状菌を育種することが考えられる。本研究の目的は、炭素イオンビームの照射による突然変異育種技術を用いて、代表的な昆虫病原糸状菌 (*Isaria fumosorosea* および *Beauveria bassiana*) の殺菌剤耐性変異体を創出することである。

## <材料および方法>

### 照射分生子の調整

各菌を SDA 培地で培養し、形成された分生子をメンブレンフィルター上に集めた。

### 炭素イオンビームの単独照射

メンブレンフィルター上の分生子に対して照射した。照射線量 (50 ~ 400 Gy) は、線量と分生子生存率の関係 (第 1 表) から決定した。

### ガンマ線と炭素イオンビームの 2 段階照射

ガンマ線の照射 (50 および 500 Gy) 後に炭素イオンビームを照射 (100 および 200 Gy)

### 殺菌剤

市販のベンレート水和剤 (50% ベノミル) とトリフルミン乳剤 (15% トリフルミゾール)

### 実験方法

量子ビーム照射後の分生子を各殺菌剤 (ベノミル: 1,000 ppm、トリフルミゾール) の添加 SDA 培地上に塗布し、発育良好なコロニーを殺菌剤耐性変異体として分離した。耐性レベルは、分離菌株は各濃度段階の殺菌剤添加培地に接種し、2 週間培養後の MIC (最少発育阻止濃度) によって比較した。

## <結果および考察>

- 炭素イオンビーム単独照射の場合、*I. fumosorosea* のベノミル耐性 (MIC) は 5 倍以上、トリフルミゾール耐性 (MIC) は 4 倍以上高まった (第 2 表)。
- B. bassiana* のベノミル選抜変異体の MIC も 5 倍以上高まったが (第 3 表)、トリフルミゾール耐性変異体は得られなかった。
- 2 段階照射による変異体の MIC は炭素イオンビーム単独照射のそれと同等であった。
- 以上のことから、炭素イオンビームの照射によって殺菌剤耐性の変異体を作出できることがわかった。今後、殺菌剤耐性変異体の病原力についても検討する予定である。

第 1 表 炭素イオンビーム照射線量と分生子生存率 (%) の関係

| Gy  | <i>I. fumosorosea</i> |      |      | <i>B. bassiana</i> |      |
|-----|-----------------------|------|------|--------------------|------|
|     | 1回目                   | 2回目  | 3回目  | 1回目                | 2回目  |
| 400 | 0                     | 0    |      | 0                  |      |
| 350 | 0                     | 0    | 0    | 0.1                | 5.0  |
| 300 | 0                     | 0    | 0.6  | 0.6                | 12.8 |
| 250 | 0.3                   | 0.6  | 1.9  | 3.1                | 24.2 |
| 200 | 3.2                   | 1.1  | 3.8  | 5.0                | 52.1 |
| 150 | 10.2                  | 6.0  | 6.9  | 13.5               | 75.1 |
| 100 | 53.2                  | 25.5 | 20.1 | 44.5               | 59.6 |
| 50  | 91.4                  | 70.8 | 34.0 | 90.9               | 83.2 |

第 2 表 *I. fumosorosea* 変異体の MIC (ppm)

| 変異体         | ベノミル    | トリフルミゾール |
|-------------|---------|----------|
| 4-Ben34P1 * | > 5,000 |          |
| 2-PB1 *     | 5,000   | > 1,200  |
| R1-1B8 **   | > 5,000 |          |
| R1-2T20 **  |         | > 1,200  |
| R1-2T22 **  |         | > 1,200  |
| 元菌 (PF3110) | 1,000   | 300      |

\* 単独照射, \*\* 2 段階照射

第 3 表 *B. bassiana* 変異体の MIC (ppm)

| 変異体          | ベノミル    |
|--------------|---------|
| 2-BB22 *     | > 5,000 |
| 2-BB24 *     | > 5,000 |
| 5-Ben47B *   | > 5,000 |
| R1-2B33-1 ** | > 5,000 |
| 元菌 (BB1026)  | 1,000   |

\*, \*\*: 第 2 表参照