

令和元年度育英費受給者

大崎 晴菜（弘前大学大学院農学生命科学研究科修士課程・指導教員：山尾 僚）
研究テーマ『宿主植物の競争環境が植食者の餌選択に与える影響の解明』

服部 暉（筑波大学大学院生命環境科学研究科博士後期課程・指導教員：山岡 裕一）
研究テーマ『コムギ赤さび病菌が形成するグリーンアイランド現象の形成メカニズムの解明』

早野 敬大（岐阜大学大学院自然科学技術研究科修士課程・指導教員：景山 幸二）
研究テーマ『河川に生息する植物病原性卵菌類の分布に関する研究』

足助聡一郎（神戸大学大学院農学研究科博士後期課程・指導教員：土佐 幸雄）
研究テーマ『オオムギ・コムギといもち病菌菌群の特異性進化機構の解明』

内藤 圭吾（鳥取大学大学院持続性社会創生科学研究科博士前期課程・指導教員：上中 弘典）
研究テーマ『植物の病害抵抗性を誘導する新素材キチンナノファイバーの作用機構の解明』

宿主植物の競争環境が植食者の餌選択に与える影響の解明

弘前大学農学生命科学研究科修士課程 大崎晴菜

植物の生育密度は、競争環境の変化をもたらし、植物の化学的形質を変化させる。このような葉の成分の変化は、植物を利用する植食者の餌利用や分布にも影響を与えることが予測される。私はこれまでの研究により、①外来雑草であるエゾノギシギシでは生育密度の高い環境で葉に含まれる二次代謝産物の含有量が高いことと、②そのようなエゾノギシギシには、ギシギシ属を専門的に食べるコガタルリハムシが集中的に分布することを明らかにした。これらの研究成果を踏まえ、本年度は、競争環境の効果を実験的に検証するため、エゾノギシギシを3つの競争環境（種内競争処理：隣に同種他個体を植える処理、種間競争処理：隣に他種植物を植える処理、コントロール処理：隣に何も植えない処理）で栽培し、被食に関与することが知られる複数の葉形質と葉に対するハムシの嗜好性を同時に評価した。その結果、種内競争処理を施したエゾノギシギシは他の処理よりも縮合タンニンの含有量が高くなり、コガタルリハムシに選好された。単位面積当たりの葉重量や葉緑素量などの他の葉形質についても分析を行ったが、処理間で違いがみられなかったことから、縮合タンニンなどの二次代謝産物含有量が主要な要因であると考えられた。これらの結果から、エゾノギシギシの種内競争による葉形質の変化がハムシの嗜好性を規定する要因となることが示された。外来種であるエゾノギシギシは、繁殖力が強く農業雑草として知られる。防除法の一つとしてコガタルリハムシを用いた生物的防除が用いられることがあるが、すべてのエゾノギシギシを平等に採食するとは考えにくく、コガタルリハムシの葉形質に対する選好性を考慮した効率的な防除法をおこなう必要があると考えられた。また、農作物の耕作には、収量を上げるための過密耕作が行われることがあるが、このような耕作手法では作物同士の種内競争を促進し、農作物の味や病害虫からの食害をコントロールすることが可能になるかもしれない。今後は、他の農業雑草や農作物を対象とした検証を進めることで、本研究課題の一般性について検証していきたい。

コムギ赤さび病菌が形成するグリーンアイランド現象の形成メカニズムの解明

筑波大学大学院農学研究科博士課程後期 服部 暉

サビキンは増殖に生きた細胞を必要とする絶対寄生菌である。主要作物のコムギの病原菌であるコムギ赤さび病菌はコムギ葉上で無性的に夏胞子を生産し、感染を拡大する。本菌感染葉が老化する過程で、感染局所ではクロロフィルが維持され、その外側は退色するグリーンアイランドが形成される。寄生昆虫と共生細菌の研究より、グリーンアイランド局所的に植物ホルモンのサイトカイニンが高濃度で蓄積することが明らかになった。サイトカイニンにはクロロフィル生産を促進する効果が報告されており、葉の老化を遅延させる。そのため、コムギ赤さび病菌により形成される本現象にもサイトカイニンが関与している可能性が考えられる。本研究では、グリーンアイランドにおけるサイトカイニンの関与及びグリーンアイランド形成メカニズムの解明を目的とした。最初の段階として、グリーンアイランド現象の誘導及び遺伝子発現解析の条件検討を行なった。

コムギ赤さび病菌は播種後7日の第一葉に接種した。葉における菌体密度により、グリーンアイランドが明確に確認される接種後日数が19-21日と幅があることが分かった。今後、菌体DNAを用いた定量的な解析により、菌量とグリーンアイランド現象の相関関係を明らかにし、正確な誘導条件を検討する。次に遺伝子発現解析のため、接種葉よりRNA抽出を行なった。抽出効率の向上のため、植物葉の破碎時間を検討した。その結果、液体窒素凍結下において直径1cmのジルコニアビーズで破碎した場合、3分以上の破碎時間で100 ng/μl程度のRNAが抽出され、電気泳動により明瞭なバンドも確認された。抽出されたRNAを用い、qRT-PCRによる遺伝子発現解析を行なった。しかし、内因性コントロール *Actin* の増幅効率が接種・非接種区のどちらにおいても低かった。これは接種後日数に変わりはない。そのため、遺伝子発現解析に適切でないと判断した。今後、RNA抽出効率の向上と最適な内因性コントロール遺伝子及びプライマーの検討を行う。また、コムギ赤さび病菌によるサイトカイニン合成の可能性を考え、タンパク質の候補を探索した。コムギのサイトカイニン合成に関わるイソペンテニルトランスフェラーゼのアミノ酸配列4つをNCBIより取得し、コムギ赤さび病菌のタンパク質データベース内をPSI-BLASTで検索した。その結果、PTTG_02835タンパク質が候補として挙げられ、イソペンテニルトランスフェラーゼのドメインが保存されている可能性が示唆された。今後、サイトカイニンの蓄積が見られた場合、PTTG_02835の機能についても調査する。

河川に生息する植物病原性卵菌類の分布に関する研究

岐阜大学自然科学技術研究科修士課程 早野 敬大

卵菌類は立枯病を起こし、農業生産に深刻な被害を引き起こすことで知られている。その菌が河川の水から分離されることが頻繁にある。卵菌類が潜む河川から農業用水路を引き、農作物に灌水を行うことで、河川に潜む卵菌類が農地に侵入する。また、近年、異常気象によるゲリラ豪雨によって河川の氾濫が起これ、河川の水が農地に侵入する可能性が高くなっている。河川の氾濫は広範囲であるため、地域的な被害拡大につながる恐れがあるため、事前に農業生産の脅威になる卵菌類の生息を調査することが必要である。本研究ではモデルケースとして、岐阜県を流れる第一級河川長良川の支流伊自良川について、上流の山間部から、農地が広がる平野部、そして人の生活圏の下流に至るまでの各地点から河川に生息する卵菌類を探索した。分離された卵菌類について形態学的特徴と DNA 解析を合わせて同定し、河川における卵菌類の多様性を調べるとともに、同じ場所での定期的な調査により、季節の移り変わりによる卵菌類相の変化を調査した。その結果、上流から下流までの広い範囲で *Pythium*、*Phytophthora*、*Phytopyhium* のいずれかが常に分離された。分離菌には植物病原菌として報告のある *P. dissotocum*、*Phpy. litorale* も含まれていた。また、下流には近年、特に養液栽培で問題となっている *Phpy. helicoides* が常に生息していた。季節変化による卵菌類相の変化も見られ、気温が低いと分離される種数が少なく、温度の上昇とともに分離される種数の増加が見られた。最も多様性が見られたのは10月で、10月は落ち葉等の有機物が豊富になる季節であり、多くの卵菌類が分解菌としての役割を持っていることに関係があると思われた。1年ではデータが不十分なため、2年目も引き続き調査する。また、河川に生息していた菌株が植物病原菌としての能力を持っているかどうかを病原性試験により明らかにしていきたい。

『研究題目：オオムギ・コムギといもち病菌菌群の特異性進化機構』

神戸大学大学院農学研究科
植物病理学研究室 足助 聡一郎

いもち病菌 *Pyricularia oryzae* は、イネのみに感染するイネ菌、アワのみに感染するアワ菌のように、各イネ科植物の属ごとに病原性を特化させた菌群を形成している植物病原糸状菌である。いもち病菌の寄生性分化は現在も続いており、近年、南米ブラジルにおいてコムギに病原性を獲得した新型いもち病菌（コムギ菌）が誕生し、コムギ栽培の新たな脅威となっている。しかし、いもち病菌が過去から現在にわたってどのようなメカニズムで様々なイネ科栽培植物の属に対応した寄生性を獲得してきたのかは未だ不明なところが多い。興味深いことにコムギに近縁なオオムギに寄生性を特化させたオオムギ菌群は存在しておらず、オオムギの各いもち病菌群に対する抵抗性は、単一の遺伝子座 *Rmo2* によって支配されていることが明らかになっている。そこで本研究では、元らいもち病菌の非宿主であったムギ類といもち病菌間の特異性決定機構の解明を目的に、オオムギのいもち病菌に対する抵抗性遺伝子 *Rmo2* の単離を試みた。

抵抗性品種 Russian No.81 と感受性品種 Nigrate の交雑から得られた F₃ 世代を用いて詳細マッピングを行ったところ、候補遺伝子を 1 つ (*RI*) に絞り込むことができた。*RI* が *Rmo2* であることを証明するために、いもち病菌に感受性であり、形質転換可能なオオムギを作出し、このオオムギ系統に *RI* 過剰発現ベクターを導入した T₁ 個体を作出した。T₁ 個体にいもち病菌を接種したところ、抵抗性になる T₁ 個体を複数検出することに成功し、*RI* が *Rmo2* 遺伝子であることが証明された。データベースを参照したところ、コムギに本遺伝子のオーソログが存在しており、起源の古い抵抗性遺伝子であることが示唆された。一方、マップベースクローニング法により、本抵抗性遺伝子に対応するいもち病菌が保有する非病原力遺伝子の単離にも既に成功している。今後、いもち病菌集団・ムギ類植物集団内におけるこれら非病原力遺伝子と抵抗性遺伝子の配列を詳細に解析することで、いもち病菌－イネ科植物間特異性を決定する重要な相互作用の解明に繋がることが期待される。

植物の病害抵抗性を誘導する新素材キチンナノファイバーの作用機構の解明

鳥取大学大学院 持続性社会創生科学研究科
博士前期過程 1年 内藤 圭吾

鳥取県で大量に廃棄される産業廃棄物であるカニ殻の農業分野での有効利用を目的に、その主成分であるキチンの機能に注目した研究を実施しています。キチンを処理した植物では病害抵抗性が誘導されるため、農業分野での利用が期待されてきましたが、キチンは水に不溶であり加工性に劣るため、限定的な利用に留まっているのが現状です。近年、キチンを微細繊維化することでキチンナノファイバー(CNF)という均一に分散した液状で利用可能な新素材を得る技術が確立されました。これまでの研究により、CNFには病害抵抗性の誘導に関する独自の機能が備わっていることが明らかになっています。CNF特有の物性と病害抵抗性の誘導に関する機能を利用した植物の病害防除技術の実用化を最終目標としていますが、そのためにはCNFの作用機構に関する基礎的な知見も必要とされています。そこで私は、「植物の病害抵抗性を誘導する新素材キチンナノファイバーの作用機構の解明」というテーマで、植物におけるCNFの作用機構に関して病害抵抗性の誘導の側面から解明すべく、研究に取り組みました。本年度は、CNF処理したモデル植物シロイヌナズナで誘導される病害抵抗性に関与する受容体の同定を行い、既知のキチン受容体とは異なる複数の受容体が、CNFによる病害抵抗性に関与することを明らかにしました。また、CNF処理した植物のトランスクリプトーム解析を実施し、発現変動遺伝子の網羅的同定を行っています。本解析により、CNFによる病害抵抗性の誘導に関わるシグナル伝達経路を明らかにしていく予定です。