

## 植物防疫専攻者への育英費の支給

令和2年度

富田 駿（東京農業大学大学院農学研究科博士後期課程・指導教員：横田 健治）

『きのこを腐敗させる毒素 tolaasin に対する *Microbacterium foliorum* NBRC 103072<sup>T</sup>  
による解毒機構』

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）

『河川に生息する植物病原性卵菌類の分布に関する研究』

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）

『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』

岡本 雄太（宮崎大学大学院農学研究科修士課程・指導教員：安達 鉄矢）

『土着天敵タバコカスミカメの生活史の研究』

きのこを腐敗させる毒素 tolaasin に対する  
*Microbacterium foliorum* NBRC 103072<sup>T</sup> による解毒機構

東京農業大学大学院 博士後期課程 3年 富田駿

きのこ腐敗病は *Pseudomonas tolaasii* を病原菌とするきのこ細菌病であり、広範な食用きのこを宿主とする重要病害である。*P. tolaasii* が分泌生産する環状リポペプチド tolaasin は、本病害の病徴を引き起こす毒素として同定されている。国内では、きのこ細菌病全般に対する登録農薬はなく、生物防除法の開発が期待されている。これまでに私は、高い tolaasin 解毒能を有する *Microbacterium foliorum* NBRC 103072<sup>T</sup> (Mf103072) を見出した (Tomita et al., 2020)。そこで本研究では、科学的根拠に基づいた生物防除剤の開発を目的として、Mf103072 株の tolaasin 解毒機構の解明を行うこととした。

Mf103072 株の tolaasin 解毒様式として、①未同定の吸着因子により tolaasin を菌体へ効率的に吸着すること、② tolaasin のペプチド部位のペプチド結合を加水分解し、生成する分解産物を菌体から上清へ移行させること、③菌体の界面活性剤処理により抽出した液相に tolaasin 分解活性が認められることを明らかにした。さらに、得られた Mf103072 菌体由来の抽出液を各種クロマトグラフィーおよび Blue Native-PAGE を用いて tolaasin 分解活性を指標とした評価系を構築し、粗精製画分の LC-MS/MS によるペプチドマッピングを行った。得られたペプチド断片のアミノ酸配列から、タンパク質を探索 (MASCOT サーチ) した結果、「Aminopeptidase N」がプロテアーゼタンパク質として同定されたため、本酵素を tolaasin 加水分解酵素と推定した。

今後は、本酵素の遺伝子破壊株の作出や大腸菌を用いて組換えタンパク質を作製し、tolaaasin 分解酵素の同定を行う必要がある。さらに、Mf103072 株の実用化を目的として、きのこ栽培条件における散布法や散布時期などを考慮した病害抑制効果を評価・検討していきたい。

## 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

卵菌類に属する *Pythium* および *Phytophthium* 属菌は、立枯病や根腐病など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。本研究室の先行研究から、これらの植物病原菌は河川にも生息していることを報告した。このことは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農地に侵入する可能性を示唆している。また、近年の異常気象によるゲリラ豪雨による河川の氾濫により農地への侵入の可能性が高くなっていると考えられる。したがって、事前に農業生産の脅威になる卵菌類の河川における生息を調査することは重要である。本研究では卵菌類の分布を調べるため岐阜県内の 5 つの河川において調査を行った。また、同一河川で地点および季節により卵菌類の菌相が変化するかを調査するため、長良川の支流、伊自良川をモデルケースにし、上流の山間部をから生活圏の下流に至るまで、2年間の定点調査を行った。さらに、分離された菌株の病原性を調べることで実際に農業生産の脅威になりえるのかも調査した。

岐阜県内 5 河川から *Pythium* 属菌 12 種、*Phytophthium* 属菌 3 種分離された。このうち、植物病原菌として報告されている *P. dissotocum*、*Phy. litorale* および *Phy. vexans* が含まれ、調査した何れの河川にも植物病原菌として報告されている種が生息していた。伊自良川の定点調査では、全 17 種の卵菌類が分離され、これらには病原菌として報告されている *P. arrhenomanes*、*P. dissotocum*、*P. myriotylum*、*Phy. helicoides*、*Phy. litorale* が含まれていた。どの地点からも *P. dissotocum* が年間を通して分離された。また、中流からは *P. arrhenomanes*、*Phy. helicoides*、*Phy. litorale*、*P. myriotylum* が 6~10 月に分離された。また、中流以降では *Phy. helicoides* が年次変動はあるが 4~6 月に検出された。

分離頻度が高かった *P. dissotocum* および *Phy. helicoides* について、それぞれの種の宿主に対する病原性試験をしたところ、前者はレタスに立枯病、後者はレタスに立枯病およびセダムに根腐病を引起し、河川に生息している菌株であっても病原性を持つことが明らかになった。

## 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  
農学専攻 博士前期課程 2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 を土壌に混合して栽培した植物では、直接 CNF を処理していない部位においても病害抵抗性が誘導され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。

今年度は、モデル植物シロイヌナズナの複数の変異体を用いて、CNF 処理した植物での植物ホルモンやファイトアレキシンの定量解析、病害抵抗性の誘導に関与する既知のキチン受容体とは異なる受容体の探索、トランスクリプトーム解析を実施して発現変動遺伝子の網羅的同定を行いました。その結果、植物ホルモンであるジャスモン酸もしくはカマレキシンは CNF による全身的な病害抵抗性の誘導には関与しておらず、一方で CNF 処理により細胞壁関連遺伝子群の発現量が顕著に増加することが明らかとなりました。これらの結果から、シロイヌナズナでは土壌施用した CNF が根で複数の受容体により認識された後、地上部へと情報が伝わり、葉で細胞壁関連遺伝子の発現が制御を受けることで、全身的な病害抵抗性の誘導が起こると考えられました。本研究により、今後の CNF を用いた植物の病害防除技術の実用化に貢献する CNF の作用機構に関する重要な研究成果が得られたと考えます。

## 土着天敵タバコカスミカメの生活史の研究

宮崎大学大学院農学研究科農学専攻修士課程 岡本 雄太

タバコカスミカメは、動物質餌とともに植物質餌も利用する天敵である。本種はその捕食能力の高さから、施設果菜類における微小害虫の防除に広く利用され、応用面での研究が進められている。しかしながら、本種の我が国における越冬の有無や野外での寄主植物の種類など、その生活史に関する知見は乏しい。生産者が野外で本種を効率的に採集し、害虫防除に使用するためには、本種の生活史の解明が不可欠である。そこで、集団遺伝構造解析により本種の越冬の有無を推定するとともに、腸内容物の DNA バーコーディングにより本種の野外寄主植物を推定した。集団遺伝構造解析には、九州地域で採集された 9 個体群を用いた。MIG-seq 法により SNP を検出後、個体群間の地理的距離と遺伝的距離の相関分析を実施した。その結果、個体群間の地理的距離と遺伝的距離にやや正の相関があり ( $r=0.49$ )、距離による隔離が認められた。これは典型的な土着種が示す遺伝的構造である。したがって、タバコカスミカメは九州地域では越冬している可能性がある。DNA バーコーディングには、主に西日本でゴマあるいはクレオメ上から直接採集された 21 個体群を用いた。その結果、11 種の植物が虫体内から検出され、タバコカスミカメはこれらの植物を利用していたと考えられた。そのうちハマスゲやハリビユ、ナギなどの 8 種については、本種が利用するという報告がないことから、新たな寄主植物の可能性はある。今後はタバコカスミカメの越冬生態や、DNA バーコーディングで検出された植物上での増殖の可否を解明する必要がある。