

氏 名	たなか えいじ
学位の種類	博士 (農 学)
学位記番号	農 博 第 1383 号
学位授与の日付	平成 16 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	農学研究科地域環境科学専攻
学位論文題目	Studies on <i>Aciculosporium take</i> , the causal agent of witches' broom of bamboo (タケ類てんぐ巣病菌の研究)
論文調査委員	(主 査) 教授 二 井 一 禎 教授 高 藤 晃 雄 教授 東 順 一

論 文 内 容 の 要 旨

日本各地でタケ類にてんぐ巣病を引き起こしている子囊菌門麦角菌科の菌類 *Aciculosporium take* はタケ類植物に寄生し、その先端枝に異常分けつと着葉の矮化を誘導し、症状が重篤な場合には枯死をもたらす病原菌である。本論文はこの菌の生物学的特性を解明し感染経路を推定するとともに、この菌の感染に対する寄主側の反応を生化学的に分析し、本病に対する抵抗性に関与すると考えられる物質を単離同定した。次に、本菌が、病徴発現に関与すると考えられるインドール酢酸(内生オーキシン)の産生能力を持つことを証明し、その合成経路を明らかにした上で、その合成に関与する遺伝子のクローニングに成功した。一方、この菌を含む麦角菌科の系統関係にはこれまで混乱が見られたが、本菌と *Ephelis* 属菌、*Epichloë* 属菌の分類学的位置を分子生物学的に検討することにより、麦角菌科の系統関係を再整理した。これらの研究の主な内容は次の通りである。

第一章では、タケ類てんぐ巣病菌の生物学的性状を調べた。まず、これまでマダケ属のみを宿主とするとされていた本菌の宿主範囲を再検討するため 8 都府県にまたがる 19 カ所の竹林を対象に詳細な調査を行い、本菌が 6 属 19 種 (8 変種 8 品種 2 園芸品種を含む) のタケ類を宿主とすること、なかでもマダケとその変種にとくに激しい病徴をもたらすことを明らかにした。次に、異なる宿主に由来する菌株間に種内変異が生じているか否かを検討するため、分生子の形状と rDNA 領域の塩基配列を菌株間で比較したところ、産地の異なるマダケを宿主とする菌株間にも、異なるタケ類を宿主とする菌株間にも差異が生じておらず、本菌が比較的最近、短期間のうちに日本各地に広まった侵入病害であることが示唆された。また、この調査の過程で、既知の針状分生子の他に、両端に付属突起をもつ分生子が新たに発見された。この付属突起は水生糸状菌の胞子に見られるアペンデッジと同様の機能を持つと考えられ、この菌が雨滴による伝搬に適応していることが示唆された。つぎに、マダケが罹病した場合に蓄積する二種類の物質を単離して構造解析し、それぞれ *N-p*-Coumaroylserotonin, *N-p*-Feruloylserotonin であることを決定した。タケ類てんぐ巣病菌を含む 3 種のタケ類の病原糸状菌を用いて、この 2 種の物質の抗菌活性を調べたところ、*N-p*-Coumaroylserotonin にタケ類てんぐ巣病菌に対する抗菌活性が見いだされた。つまり、*N-p*-Coumaroylserotonin はマダケのストレス誘導化合物であることが強く示唆された。また、ほとんど罹病しないタケ類の場合、健全な枝中にもこの物質が含まれていることから、この物質は宿主のタケ類てんぐ巣病菌に対する抵抗性にも深く関与することが推察された。

第二章では、タケ類てんぐ巣病菌のオーキシン産生について調べた。まず、“てんぐ巣”という特異な病徴が生長調整物質オーキシンのアンバランスに起因すると考えられたため、タケ類てんぐ巣病菌のオーキシン産生能力を調べたところ、調査した 30 菌株すべてに内生オーキシンであるインドール酢酸の産生能力が認められた。次に、そのインドール酢酸合成経路を詳細に分析し、本菌では L-トリプトファンから、インドールピルビン酸、インドールアセトアルデヒドを経由してインドール酢酸が生合成されていることを明らかにした。また、この合成に関わるインドールアセトアルデヒド脱水素酵素遺伝子をクローニングし、この遺伝子が本菌のゲノム中に単一コピーであることを示した。

第三章では、麦角菌科内におけるタケ類てんぐ巣病菌、*Aciculosporium take* の分類学的位置について検討した。第一章で示したように本菌の分生子形状は麦角菌科の他の菌にはみられない特異な形態を示すので、分生子形状からは本菌の麦角菌科内での分類学的位置づけは困難であった。そこで、分子系統解析を行った。同時に、アジア産暖地型イネ科植物を宿主とする *Ephelis* 属菌と、アジアのタケ類を宿主とする *Epichloë* 属菌の系統解析を行い、麦角菌科の系統関係を再整理した。まず、アジア産の *Ephelis* 属菌として、これまで *E. japonica* と *E. oryzae* が知られていたが、これら両種の間の差異は明らかでなく、有性生殖世代との関係も知られていなかった。そこで、日本、韓国、中国、ネパール、インドの各地から採集した33菌株の *Ephelis* 属菌の系統関係を rDNA の ITS 領域塩基配列に基づいて分析した。その結果、これら33菌株は単一のグループにまとめられ、このグループはさらに、2つの小グループに分かれたが、それらは *E. japonica* と *E. oryzae* の2種とは対応せず、むしろ、北米の *Balansia discoidea* と東南アジアの *Balansia andropogonis* とそれぞれ対応関係が高かった。このように、アジア産の *Ephelis* 属菌は、その有性生殖世代が、*Balansia* 属菌のこれら2種に対応することが示唆された。つぎに、アジア産のタケ類を宿主とする *Epichloë* 属菌は既往の分類学的扱いに疑問があった。そこで、これらの菌を形態学的、分子系統学的に解析した。まず、これらの菌が *Ephelis* 型の分生子を形成することを初めて報告した。さらに、形態学的な差からこれら2種はこれまでいわれていた *Epichloë* 属ではなく、新属として取り扱うことが妥当であると考え、新属 *Heteroepichloë* を提唱した。この結果は、rDNA の ITS 領域塩基配列を用いた分子系統解析でも支持された。最後に、タケ類てんぐ巣病菌の分類学的位置については、rDNA の ITS 領域塩基配列を用いた分子系統解析では明らかにできなかった。そこで、第二章で明らかにしたインドールアセトアルデヒド脱水素酵素遺伝子の塩基配列を用いて分子系統解析を行った。その結果、この領域は麦角菌科の属間関係を示すために適当な領域であることが判明し、タケ類てんぐ巣病菌はバッカクキン属に近縁であることが明らかになった。この分子系統解析の結果と、麦角菌科各種の分生子の形状とを比較検討すると、本菌のアペンデッジを備えた特異な分生子を形成する能力は系統的な形質というよりも、むしろ水流分散という生活様式に適応して独自に獲得した形質であることが強く示唆された。

論文審査の結果の要旨

麦角菌科の菌類にはイネ科植物の子房内に黒紫色の菌核を形成させるバッカクキンや、冬虫夏草とよばれる昆虫寄生性の一群の菌が含まれるが、バッカクキンの菌核には麦角アルカロイドという強い毒性物質が含まれるため、人間や家畜に深刻な中毒被害を引き起こすことがある。一方、冬虫夏草はその薬理作用が多くの研究者に注目されてきた。さらに最近では、この科の菌類を人工的に感染させることにより植物の耐虫性を高める試みや、その宿主特異的な植物寄生性を利用して雑草防除に利用する試みなど、麦角菌科菌類の農業上での利用が注目されている。しかし、このような目的のためにはそれぞれの菌の分類情報や生活史、生理特性などについて正確な基礎知識が必要であるが、この科に属する菌類の分類には混乱が見られ、その生物学的諸性質についての研究も限定されていた。本論文は、麦角菌科菌類のなかでは例外的に宿主に激しい病徴を引き起こすタケ類てんぐ巣病菌を対象として、その生物学的性状や生活史を明らかにし、宿主植物との相互作用に関する物質の動態や生合成経路を解明するとともに、その分類学的位置を明らかにしたもので、評価すべき点は以下のとおりである。

1. マダケ属のみを宿主とするとされていたタケ類てんぐ巣病菌の宿主範囲を広く調査し、6属19種（8変種8品種2園芸品種を含む）のタケ類を宿主と認め、それらの病徴比較を通じてタケ類の中でも、マダケとその変種が本菌に対して感受性が高いことを示した。

2. 罹病したマダケに蓄積する2種の物質を単離して構造解析を行い、これら物質が *N-p*-Coumaroylserotonin と *N-p*-Feruloylserotonin であることを明らかにした。また、*N-p*-Coumaroylserotonin がタケ類てんぐ巣病菌に対して抗菌活性を持つことを明らかにし、本菌の感染に対する宿主間の抵抗性の違いが宿主植物体中に蓄積する *N-p*-Coumaroylserotonin の量と関係している可能性を示唆した。

3. 本病に特異的な病徴である“てんぐ巣症状”はタケ類てんぐ巣病菌が産生するオーキシシンによって宿主植物の内生オーキシシンのバランスが崩れることにより発現するという仮説を提唱した。

4. タケ類てんぐ巣病菌のオーキシシン産生能力を実証し、そのインドール酢酸生合成経路を明らかにするとともに、その

関連遺伝子のインドールアセトアルデヒド脱水素酵素遺伝子をクローニングした。

5. インドールアセトアルデヒド脱水素酵素遺伝子の塩基配列が麦角菌科内の属間関係を調べるために適切な領域であることを示し、本領域を用いた系統解析によって、タケ類てんぐ巣病菌が麦角菌科のバツカクキン属に近縁であることを明らかにした。

6. アジア各地から採集した暖地型イネ科植物を宿主とする *Ephelis* 属菌を rDNA の ITS 領域塩基配列に基づいて解析し、二つの小グループに分かれることを示した。また、それぞれの小グループが北米または東南アジアに産する有性生殖世代の *Balansia* 属 2 種と極めて高い類縁性を示すことを明らかにした。

7. アジアのタケ類を宿主とする 2 種の *Epichloë* 属菌を形態学的、分子系統学的に解析し、これら 2 種は新属として取り扱うことが妥当であることを示し、新属 *Heteroepichloë* を提唱した。

以上のように、本論文はタケ類てんぐ巣病菌の生物学的性状や宿主植物との相互作用を明らかにするとともに、タケ類てんぐ巣病菌をはじめとして、アジア産イネ科植物を宿主とする麦角菌科菌類の分類学的関係を解明したものであり、微生物環境制御学、植物病理学、菌学、生物有機化学などに寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成16年1月23日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。