

氏名(本籍)	野 <sup>の</sup> 口 <sup>ぐち</sup> 雅 <sup>まさ</sup> 子 <sup>こ</sup> (群馬県)		
学位の種類	博士(農学)		
学位記番号	博乙第2325号		
学位授与年月日	平成19年11月30日		
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	イネいもち病菌の準有性的組換え菌の病原性と病原力に関する研究		
主査	筑波大学教授	農学博士	柿  薫  眞
副査	筑波大学教授	農学博士	奥  野  員  敏
副査	筑波大学教授(連携大学院)	農学博士	石  井  英  夫
副査	筑波大学准教授	農学博士	山  岡  裕  一
副査	山形大学教授	農学博士	生  井  恒  雄

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

いもち病は、イネいもち病菌 (*Magnaporthe oryzae*) により引き起こされるイネの重要病害である。本病の防除法として、マルチライン(いもち病抵抗性同質遺伝子系統の混植)が実用化されている。しかし、イネいもち病菌の病原性変異により、混植に用いているすべての系統を侵害することのできる病原性変異菌株(スーパーレース)が出現し、発病抑制効果が崩壊する可能性が考えられる。病原性変異菌株出現要因の一つに準有性的組換えが考えられる。そこで本研究では、イネいもち病菌の無性世代における準有性による組換の証明とともに、準有性的組換え菌株の病原性、交配型および核型の遺伝様式、核数、核相、レースの安定性と病原力(病斑長、孢子形成数、圃場における発病)の解析を行い、準有性的組換えによる新レース生成機構の解明と準有性的組換え菌株のマルチラインにおける発病の可能性の検証を試みた。

準有性的組換の証明のため、イネいもち病菌株 Y90-71 にビアラフォス耐性遺伝子、また同菌株 3514-R-2 にプラストサイジン S 耐性遺伝子をそれぞれ導入し、異なる薬剤耐性菌株(Y90-71BI, 3514-R-2BS)を作成した。そして、これら2菌株を混合培養後、2薬剤を添加した培地上で生育させ、2剤耐性菌株を選抜した。2剤耐性菌株が準有性的組換えにより生じたことを証明するために、導入した薬剤耐性遺伝子をプローブとしたサザン解析を行った結果、2剤耐性菌株は遺伝子導入した異なる2種類の薬剤耐性遺伝子を有していた。このことから、イネいもち病菌において、準有性により組換えが起こることが明らかとなった。

核学的知見を得るために、有性的組換え菌株の分生子を DAPI 染色した結果、単核であった。また、フローサイトメトリーにより、菌糸の核相を調べた結果、単相であった。これらのことより、本研究で得た準有性的組換え菌株は、母菌株と同様に単核で単相であることが示唆された。

準有性的組換えによる病原性の遺伝様式を明らかにするために、準有性的組換え49菌株について、イネ系統「K59-1」および品種「八反3号」に対する非病原性菌株と病原性菌株の分離比を調べた結果、Y90-71BIと3514-R-2BSを交配し、得られた交配後代70菌株についての「K59-1」および「八反3号」に対する病原性の分離比とそれぞれ同様の分離比であった。また、準有性的組換え菌株の交配型(MAT1-1とMAT1-2)の分離比を調べた結果、交配後代の交配型の分離比と同様であった。さらに、パルスフィールドゲル電気泳動法を

用いて両母菌株、交配後代および準有性的組換菌株の核型を解析した結果、準有性的組換菌株も交配後代も母菌株のいずれかと同様の核型が見られ、準有性的組換菌株の分離と交配後代の核型の分離比も同様であった。これらのことから、準有性的組換による病原性、交配型の遺伝様式および核型は有性生殖と類似していると考えられた。

準有性的組換菌株の病原性と病原力を明らかにするために、菌株 NAO-02（病原性レース 133.1）と TH77-1（レース 047.0）を混合培養し、両母菌株の病原性を併せ持つ準有性的組換候補菌株（レース 177.1）を選抜した。RAPD 解析によりこれらの菌株が準有性的組換菌株であることを確認し、品種「アキユタカ」および品種「愛知旭」に7回繰り返して接種を行い、再分離された菌株の病原性を調べた結果、同一の病原性を示し変化は認められなかった。このことから、準有性的組換菌株の病原性は継代しても安定していることが明らかになった。また、準有性的組換菌株の病斑長と胞子形成数、さらに「愛知旭」単植圃場での発病進展および株当たりの病斑数と発病株率は母菌株の中間の値を示した。「愛知旭」、「関東 51 号」、「フクニシキ」を等量混合した混植圃場における準有性的組換菌株の発病進展、株当たりの病斑数および発病株率は両母菌株より優れていた。このため、準有性的組換菌株は、一方の母菌株より優るか、あるいは同等の病原力を有する可能性が示唆された。

以上より、イネいもち病菌は準有性による組換を行い、単核単相の準有性的組換菌株を出現させ、その病原性、遺伝様式および核型は有性生殖と類似していることが明らかとなった。そのため、母菌株の病原性と病原力を併せ持つ準有性的組換菌株がマルチラインで大きな被害をもたらす可能性が示唆された。

## 審査の結果の要旨

イネいもち病菌の新しい病原性菌株は、病原菌の無性世代における準有性的組換えによって出現することが示唆されていたが、その実体は不明であった。そこで本研究では、イネいもち病菌の準有性的組換えについて、その実験的な証明と遺伝様式の解明、また、組換えによって出現した菌株の病原性と病原力の調査を目的として行ったものである。その結果、1) イネいもち病菌は準有性により組換を起こし、生理的性質や病原性の異なる菌株が出現すること、2) 核数、核型および交配型の調査により、その遺伝様式は、有性生殖による交配のそれと非常に類似していること、3) 出現した菌株の病原性は、安定しており、また、母菌株の病原性を合わせもつ菌株も出現すること、4) また、それらのイネ品種に対する病斑形成能力、胞子形成能力、また圃場における発病程度などの調査により、それらは、母菌株のほぼ中間あるいはそれ以上の病原力を有することなどを明らかにした。これらのことより、イネいもち病菌は、無性世代における準有性により組換を行い、母菌株の病原性と病原力を併せ持つ新しい菌株を出現させることを明らかにし、今後のイネの栽培管理に大きな警鐘を与えている。

以上のように、本研究は、イネいもち病菌の新しい菌株の出現について、その詳細な出現機構についてはさらに解明が必要ではあるが、無性世代における準有性的組換えが大きな役割を果たしていることを明らかにしたものであり、植物病原菌類の生理的分化機構や生態の解明に大きな貢献をもたらす研究として大変高く評価される。また、病原菌の防除のための基礎研究としても重要であると判断される。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。