

# 関 西 部 会 講 演 要 旨

富山市 富山大学五福キャンパス (平成 26 年 9 月 27 日～28 日)

## Abstracts Presented at the Meeting of the Kansai Division, Toyama, September 27–28, 2014

(1) 春木洋平<sup>1</sup>・赤木靖典<sup>1</sup>・高尾和実<sup>2</sup>・下元祥史<sup>3</sup>・曳地康史<sup>4</sup>・児玉基一郎<sup>2</sup> トマト褐色輪紋病菌における二次代謝産物生合成関連遺伝子の機能解析 Haruki, Y., Akagi, Y., Takao, K., Shimomoto, Y., Hikichi, Y. and Kodama, M.: Functional Analysis of Secondary Metabolite Biosynthetic Genes in the *Corynespora cassiicola* Causing Corynespora Target Dpot of Tomato. *Corynespora cassiicola* には、トマト、キュウリ、シソなどに対してそれぞれ病原性を示す異なる寄生性グループが存在する。トマト褐色輪紋病菌のドラフトゲノム解析により、31 のポリケチド生合成酵素 (PKS) 遺伝子および 7 の非リボソーム型ペプチド生合成酵素 (NRPS) 遺伝子を見出した。本研究では、他の菌類においても広く分布しているメラニン生合成 PKS 遺伝子 (*CcPKS1*)、疎水性関連 NRPS 遺伝子 (*CcNPS4*)、シデロフォア生合成 NRPS 遺伝子 (*CcNPS6*) ホモログなどの機能解析を試みた。*CcPKS1* 破壊株はメラニン生合成能を失活したが、病原性に変化は認められなかった。一方、*CcNPS4* 破壊株では菌体表面の疎水性が著しく低下したが、形態および病原性には変化が認められなかった。また、*CcNPS6* 破壊株は BPS 含有培地において生育が抑制され、本遺伝子がシデロフォア生合成に関与することが示された。*CcNPS6* 破壊株の形態および病原性も野生株とは大差が認められなかった。現在、他の PKS, NRPS 遺伝子についても、網羅的機能解析を進めている。

(<sup>1</sup>鳥取大農・<sup>2</sup>鳥取連大・<sup>3</sup>高知農技セ・<sup>4</sup>高知大農)

(2) 高尾和実<sup>1</sup>・赤木靖典<sup>2</sup>・柘植尚志<sup>3</sup>・児玉基一郎<sup>1</sup> 宿主特異的 AAL 毒素生合成遺伝子クラスターの毒素非生産菌への導入 Takao, K., Akagi, Y., Tsuge, T. and Kodama, M.: Introduction of Entire *ALT* Cluster to Toxin-nonproducing Fungal Strains. トマトアルターナリア茎枯病菌 (*Alternaria alternata* tomato pathotype, 茎枯病菌) は宿主特異的 AAL 毒素を生産し、特定のトマト品種に病気を引き起こす。AAL 毒素の生合成には、少なくとも 13 遺伝子からなる AAL 毒素生合成遺伝子 (*ALT*) クラスターが関与する。本クラスターは茎枯病菌のみが保有する 1 Mb の CD 染色体上で

約 100 kb にわたって存在している。一方、本クラスター遺伝子のみで、菌に毒素生産能を賦与できるかは明らかでなかった。本研究では、4 断片に分割した *ALT* クラスター遺伝子群を、AAL 毒素を生産しない非病原性 *A. alternata* 菌株に導入した。導入株培養ろ液において、fatty acyl-CoA をコードする *ALT10* の破壊株で検出される毒素前駆体の生産が確認され、本導入株では *ALT10* フランキング領域の一部に欠失が認められた。そこで本菌株に *ALT10* を再導入した結果、AAL 毒素生産および病原性が確認された。現在、*A. alternata* 以外の菌株への *ALT* クラスター導入と発現を試みている。( <sup>1</sup>鳥取連大・<sup>2</sup>鳥取大農・<sup>3</sup>名大院生農)

(3) 二階堂佐紀・大谷耕平・和泉悠利子・増中 章・望月 進・五味剣二・市村和也・秋光和也 *ACR* 毒素生合成遺伝子である *ACRTS1*, *ACRTS2*, および *ACRTS3* の機能解析 Nikaido, S., Ohtani, K., Izumi, Y., Masunaka, A., Mochizuki, S., Gomi, K., Ichimura, K. and Akimitsu, K.: Functional Analysis of *ACRTS1*, *ACRTS2* and *ACRTS3* Genes for the Biosynthesis of ACR-toxin. *Alternaria* leaf spot 病菌である *Alternaria alternata* ラフレモン系統は、宿主特異的 ACR 毒素を生産し、ラフレモンとその交配種であるラングプールライムにのみ病原性を示す。我々のグループは、これまでに ACR 毒素生産菌のみが保有する 1.5 Mb の小型染色体にクラスター化して座乗する *ACRTS1*, *ACRTS2*, *ACRTS3* 遺伝子を明らかにしてきた。これらの遺伝子は、dehydratase, polyketide synthase, thioesterase/cyclase をコードし、それぞれの遺伝子を標的破壊したところ、転写や毒素生産の低下が認められた。このことから、これらの遺伝子はいずれも ACR 毒素生産に関与することが示唆されたため、さらに RNA silencing 法を用いて、*ACRTS1* と *ACRTS2* の knock down 株を作出したところ、どちらも毒素生産能・病原性の失活が認められ、この 2 つの遺伝子は ACR 毒素生産に必須であることが明らかとなった。同様に、RNA silencing 法を用いた *ACRTS3* の knock down 株も作出し、現在解析が進展中である。(香川大農)

(4) 勝本真衣<sup>1</sup>・増中 章<sup>1</sup>・宮本蓉子<sup>1</sup>・大谷耕平<sup>1</sup>・望月 進<sup>1</sup>・柘植尚志<sup>2</sup>・山本幹博<sup>3</sup>・五味剣二<sup>1</sup>・市村和也<sup>1</sup>・秋光和也<sup>1</sup> **ACT 毒素生合成に関与する *ACTTS* および *ACTT* 遺伝子群の機能解析** Katsumoto, M., Masunaka, A., Miyamoto, Y., Ohtani, K., Mochizuki, S., Tsuge, T., Yamamoto, M., Gomi, K., Ichimura, K. and Akimitsu, K.: Functional Analysis for *ACTTS*s and *ACTT*s Responsible for the Biosynthesis of Host-selective ACT-toxin. *Alternaria brown spot* 病菌は、病原性決定因子である宿主特異的 ACT 毒素を生産する。我々の研究グループでは、ACT 毒素に特有のポリケチド構造 (PK) の生合成や、バリンを介して PK とデカトリエン酸を結合させる反応を触媒する役割を担う *ACTTS* 遺伝子群 (*ACTTS1*, *S2*, *S3*, *S4*) と、デカトリエン酸構造の生合成を担う *ACTT* 遺伝子群 (*ACTT2*, *3*, *R*, *5*, *6*) が、ACT 毒素生産菌にのみ存在する 1.9 Mb の小型染色体にクラスター化して座乗することを明らかにしてきた。それぞれの遺伝子について、標的遺伝子破壊法やサイレンシング法を用いた機能解析を行った結果、各遺伝子の転写・毒素生産能・病原性の失活が認められ、本菌の ACT 毒素の生産やその病原性に必須の遺伝子であることが明らかになった。これらの中で遺伝子制御遺伝子である *ACTTR* に着目し、本遺伝子の遺伝子破壊株を用いて、これまで明らかになった *ACTTS* や *ACTT* 遺伝子群の発現制御様式の解析が現在進展している。

(<sup>1</sup>香川大農・<sup>2</sup>名大院生農・<sup>3</sup>岡大院自然科学)

(5) 兼市大輝<sup>1</sup>・板谷知健<sup>1</sup>・中神弘史<sup>2</sup>・齋藤隆一郎<sup>3</sup>・中屋敷均<sup>3</sup>・土佐幸雄<sup>3</sup>・眞山滋志<sup>4</sup>・秋光和也<sup>5</sup>・多田安臣<sup>1</sup> **エンバクの細胞表面に存在するチオレドキシンは宿主特異的毒素ピクトリンの標的である** Kaneichi, D., Itaya, T., Nakagami, H., Saito, R., Nakayashiki, H., Tosa, Y., Mayama, S., Akimitsu, K. and Tada, Y.: Extracellular Thioredoxin is the Target of Host Specific Toxin Victorin. エンバク葉枯病菌が産出する宿主特異的毒素ピクトリンは、感受性遺伝子である *Vb* 保有エンバク品種に対し特異的に細胞死を誘導するが、その詳細な作用機構は明らかにされていない。今回、ピクトリンの初期認識に関与することが示唆される、細胞表面に存在するピクトリン結合タンパク質 (VBP) を同定したので報告する。Biacore 解析により、VBP は感受性エンバク品種だけでなく非感受性エンバク品種及び他のイネ科植物においても存在することを明らかにした。感受性エンバク品種及びイネ品種日本晴由来の細胞壁タンパク質からビオチン化ピクトリンをリガンドとした pull-down 法により VBP を単離した結果、還元酵素であるチオレドキシンが同定された。ピクトリンは、シロイヌナズナの細胞質

型チオレドキシンを介して、R タンパク質依存的な細胞死を誘導するため、エンバクにおいても細胞表面に存在するチオレドキシンを標的とすることによって、感受性決定因子 *Vb* を活性化し、過敏感反応様細胞死を誘導することが示唆される。 (<sup>1</sup>名古屋大理・<sup>2</sup>理研 CSRS・<sup>3</sup>神戸大農・

<sup>4</sup>吉備国際大・<sup>5</sup>香川大農)

(6) 恩地友莉絵・出垣内俊介・出雲直也・植出悠紀・石川敦司 シロイヌナズナのイネいもち病菌に対する非宿主抵抗性における受容体様キナーゼの関与 Onchi, Y., Degaichi, S., Izumo, N., Uede, Y. and Ishikawa, A.: Involvement of Receptor-Like Kinase in Nonhost Resistance to *Magnaporthe oryzae* in *Arabidopsis thaliana*. われわれは、シロイヌナズナのイネいもち病菌に対する非宿主抵抗性は侵入抵抗性と伸展抵抗性に分けられ、PEN2, AGB1, PMR5, MLO2, および MPK6 が両抵抗性を制御していること、ならびに AtRbohF が後者を特異的に制御していることを明らかにしている。植物の防御応答は、病原菌由来の構成分子パターンをパターン認識受容体 (受容体様キナーゼ) で認識する PAMP 誘導免疫と、エフェクターを直接的あるいは間接的に細胞内受容体 (抵抗性遺伝子産物) で認識するエフェクター誘導免疫に大別されるが、シロイヌナズナのイネいもち病菌に対する非宿主抵抗性における病原菌認識機構に関してはほとんど明らかになっていない。今回、シロイヌナズナのイネいもち病菌に対する非宿主抵抗性における受容体様キナーゼの関与を明らかにする目的で、受容体様キナーゼノックアウト個体の解析を行った。その結果、ある受容体様キナーゼノックアウト個体において侵入抵抗性が低下することを見出した。このことから、シロイヌナズナのイネいもち病菌に対する非宿主抵抗性に受容体様キナーゼが関与することが示唆された。

(福井県立大生資)

(7) 山口公志<sup>1</sup>・山田健太<sup>1</sup>・白川友美<sup>1</sup>・石川和也<sup>1</sup>・鳴坂真理<sup>2</sup>・鳴坂義弘<sup>2</sup>・市村和也<sup>3</sup>・深溝 慶<sup>1</sup>・川崎 努<sup>1</sup> **MAPKKKa はキチンに応答した MAP キナーゼの活性化を制御する** Yamaguchi, K., Yamada, K., Shirakawa, T., Ishikawa, K., Narusaka, M., Narusaka, Y., Ichimura, K., Fukamizo, T. and Kawasaki, T.: MAPKKKa-mediated Activation of MAP Kinase Regulated by PBL27 in Chitin-triggered Immunity. 我々は、キチン認識受容体 CERK1 と相互作用し、CERK1 により直接リン酸化される因子として PBL27 を同定し、PBL27 がキチンに応答した MAP キナーゼの活性化を制御することを明らかにした。さらに、我々は、PBL27 によるキチンに応答した MAP キナーゼの活性化機構を解明するため、PBL27 の相互作用因子を探索し、MAPKKKa を

単離した。MAPKKKa 欠損変異株においてキチン処理時の MAP キナーゼの活性化は野生株よりも減少し、キチンに応答した遺伝子発現やカロースの蓄積が野生株と比べて減少していた。また、*Alternaria brassicicola* の感染に対し野生株よりも抵抗性の低下を示すことから、MAPKKKa による MAP キナーゼの活性化を介した耐病性機構の存在が示唆された。本発表では、現在得ている研究成果をもとに、シロイヌナズナにおけるキチンシグナル伝達経路 (CERK1-PBL27-MAPKKKa-MAPKK-MAPK) について報告する。<sup>(1)近畿大農・<sup>2</sup>岡山県生科研・<sup>3</sup>香川大農)</sup>

(8) 末本遥香・高野義孝 シロイヌナズナの侵入後抵抗反応時における植物ディフェンシンの発現制御に関する研究 Suemoto, H. and Takano, Y.: Studies on Gene Expression Control of Plant Defensins during Post-invasive Defense of *Arabidopsis thaliana*. クワ炭疽病菌に対するシロイヌナズナの非宿主抵抗性は侵入前および侵入後抵抗性によって維持されている。これまでに、侵入前抵抗反応時には植物ディフェンシン遺伝子 *PDF1.2a* が EDR1 依存的に発現誘導されること、さらに侵入前抵抗性の低下を示す *pen2* 変異体において、本不適応菌が侵入した際、*PDF1.2a* が侵入前よりも強く誘導されることを明らかにしている。*edr1* 変異体は侵入前抵抗性の低下を示すので、今回、本変異体の侵入後抵抗反応時における *PDF1.2a* の発現を調べた結果、その発現誘導は観察されなかった。このことより、EDR1 は侵入後抵抗反応時の *PDF1.2a* の発現誘導に関わることが強く示唆された。CYP81F2 は PEN2 の基質を生成し、その変異体は *pen2* 変異体と同様にクワ炭疽病菌に対する侵入前抵抗性の低下を示す。しかし、本不適応菌の侵入後において、*cyp81F2* 変異体の *PDF1.2a* の発現レベルは *pen2* 変異体と比較して有意に低かった。興味深いことに、両変異体におけるこの発現差は、Pep ペプチドを処理した場合の *PDF1.2a* の発現誘導時においても観察された。

(京大院農)

(9) 山田晃嗣<sup>1,3</sup>・西條雄介<sup>1,2</sup> シロイヌナズナの PEPR 経路は BAK1 欠損時に基礎抵抗性を維持するように働く Yamada, K. and Saijo, Y.: The PEPR Pathway Sustains Basal Resistance on the Pattern Co-receptor BAK1 Deficiency in *Arabidopsis*. 植物は微生物によく保存された分子構造 (MAMP) を細胞膜上の受容体で認識すると抵抗性を誘導する能力をもつ。しかし、免疫応答の発動は高い生理コストを要するため、病原体の感染状況に合わせて応答の強度を調節する機構が存在すると予想される。病原体によるダメージを感知して免疫を制御する機構として、シロイヌナズナの内因性ペプチド因子 Pep とその受容体 PEPR を介

したシグナル経路に着目し、機能解析を行った。意外なことに、PEPR の共受容体 BAK1 を欠損させると、Pep 誘導性の活性酸素種産生は減少するものの、植物の生育阻害や細胞死はむしろ増強され、BAK1 が PEPR シグナル系を負に制御する役割ももつことを明らかにした。さらに、BAK1 欠損により、BAK1 依存的な MAMP 受容体の機能が弱まると、PEPR シグナル系がそれを相補するように働くことで基礎抵抗性が維持されることが示された。本発表では BAK1 の欠損時における PEPR シグナル系の活性化機構と免疫制御の意義について報告する。

(<sup>1</sup>ドイツ・マックスプランク研究所・<sup>2</sup>奈良先端大・<sup>3</sup>現：京大院農)

(10) 高木桃子<sup>1</sup>・Alexander Graf<sup>2</sup>・David Greenshields<sup>3</sup>・高木宏樹<sup>4</sup>・篠崎一雄<sup>3</sup>・寺内良平<sup>4</sup>・白須 賢<sup>3</sup>・市村和也<sup>1</sup> シロイヌナズナ *MEKK1* 遺伝子の欠損により誘導される防御反応表現型に関する解析 Takagi, M., Graf, A., Greenshields, D., Takagi, H., Shinozaki, K., Terauchi, R., Shirasu, K. and Ichimura, K.: Toward Elucidating Complex Regulation of *Arabidopsis* MEKK1 in Plant Immunity Signaling. MAP キナーゼ経路は植物免疫において重要な役割を果たしていると考えられている。シロイヌナズナ MEKK1 (MAPKKK) は、足場タンパク質としても機能し、下流因子である MKK1, MKK2 (MAPKKs), MPK4 (MAPK) と特異的な MAP キナーゼ経路 (MEKK1-MKK1/MKK2-MPK4) を構成する。この経路は MAMPs により活性化し、MKS1-WRKY33 複合体を介した *PAD3* 遺伝子の発現誘導に関与する。一方、上記経路因子を欠損した変異体はいずれも矮性を示し、構成的な *PR* 遺伝子の発現やカロースの蓄積、維管束組織における細胞死と ROS の蓄積が観察される。以上の知見から、本経路には防御反応誘導と抑制の相反する機能が存在すると考えられるが、具体的な仕組みは不明である。この問題を解明するため、*mekk1* 変異体表現型のサプレッサー変異体を単離し、MutMap 解析を行った。その結果、有力な候補遺伝子として R タンパク質をコードする *SMN1* を同定した。さらに *mekk1/smn1* 二重変異体では、*mekk1* 変異体表現型の部分的な抑制が見られた。以上の結果から、*SMN1* は *mekk1* 変異体表現型に関与することが示唆された。

(<sup>1</sup>香大農・<sup>2</sup>Sainsbury Lab JIC・<sup>3</sup>理研 CSRS・<sup>4</sup>岩手生工研)

(11) 濱野康平<sup>1</sup>・高木桃子<sup>1</sup>・坂田 勇<sup>1</sup>・Alexander Graf<sup>2</sup>・David Greenshields<sup>3</sup>・高木宏樹<sup>4</sup>・篠崎一雄<sup>3</sup>・寺内良平<sup>4</sup>・白須 賢<sup>3</sup>・市村和也<sup>1</sup> シロイヌナズナ *mpk4* 変異体は矮性および防御反応表現型における *SMN1* 遺伝子の関与 Hamano, K., Takagi, M., Sakata, I., Graf, A.,

Greenshields, D., Takagi, H., Shinozaki, K., Terauchi, R., Shirasu, K. and Ichimura, K.: Possible Involvement of *SMN1* to Dwarf and Constitutive Defense Phenotypes of *Arabidopsis mpk4* Mutant. シロイヌナズナにおける MAP キナーゼ経路, MEKK1 (MAPKKK)-MKK1/2 (MAPKKs)-MPK4 (MAPK) はシグナル伝達複合体を形成し, MAMPs に応答して *PAD3* などの防御遺伝子の発現を制御する. 一方, 上記経路構成因子を欠損した変異体は, いずれも矮性を示し, 細胞死や活性酸素種の蓄積など, ETI に関連した防御反応を構成的に示す. この相反した現象に関連して, 我々は上記経路における複雑な制御を明らかにするため解析を行ってきた. *mekk1* 変異体の表現型は高温 (28°C) および *rar1* 変異により抑制されることから, R タンパク質の関与が示唆された. *mpk4* 変異体についても解析を行った所, 同様の結果が得られた. *mekk1* 変異体表現型のサプレッサーとして R 遺伝子変異体の *smn1* をすでに同定しているため, 同変異が *mpk4* 変異体表現型も抑制するか *mpk4/smn1* 二重変異体を作製して解析した. その結果, *mpk4* 変異体表現型でも部分的な抑制がみられた. 以上の結果から, *SMN1* は *mekk1* 変異体のみならず *mpk4* 変異体の表現型にも関与し, MAP キナーゼ経路複合体の異常に伴う表現型に関連する可能性が考察された.

(<sup>1</sup>香大農・<sup>2</sup>Sainsbury Lab JIC・<sup>3</sup>理研 CSRS・<sup>4</sup>岩手生工研)

(12) 内田厚太郎<sup>1</sup>・福永 聡<sup>1</sup>・Justin Goodrich<sup>2</sup>・高野義孝<sup>1</sup> 不適応型炭疽病菌に対する抵抗性に欠損を示すシロイヌナズナ変異体の同定・解析 Uchida, K., Fukunaga, S., Goodrich, J. and Takano, Y.: Isolation and Characterization of *Arabidopsis* Mutants Defective in Resistance against Non-adapted *Colletotrichum* species. シロイヌナズナは, 不適応型炭疽病菌であるクワ炭疽病菌の侵入をブロックするが, この侵入前抵抗性には EDR1 および PEN2 が関与している. 今回, 適応菌であるアブラナ科炭疽病菌の近縁菌であるアルファルファ炭疽病菌の接種によって壊死斑が形成されるシロイヌナズナ変異体をスクリーニングした結果, 劣性単一変異による壊死斑形成が推定される 8 変異体を同定した. このうち 6 変異体については, クワ炭疽病菌の接種においても壊死斑が形成された. 現在, これらの変異体の原因遺伝子を同定するためにマッピングおよび全ゲノム解析を行っている. また, クワ炭疽病菌により壊死斑が形成される変異体のうち, 本葉が巻く形質を示す変異体 0921-2 については, 原因遺伝子が Polycomb 群タンパク質をコードする *CLF* (*CURLY LEAF*) 遺伝子であることを特定した. 0921-2 はクワ炭疽病菌に対する侵入前抵抗性に欠損を示した. さらに *CLF* の別のアリル変異体においても侵入前

抵抗性の欠損が見出された. 以上より, *CLF* が本不適応菌に対する侵入前抵抗性に関わることが強く示唆された.

(<sup>1</sup>京大院農・<sup>2</sup>エジンバラ大学)

(13) 鳴坂真理<sup>1</sup>・白須 賢<sup>2</sup>・豊田和弘<sup>3</sup>・白石友紀<sup>1</sup>・鳴坂義弘<sup>1</sup> デュアル抵抗性蛋白質 RPS4 および RRS1 をコアとする蛋白質複合体の機能解析 Narusaka, M., Shirasu, K., Toyoda, K., Shiraishi, T. and Narusaka, Y.: Analysis of the Molecular Mechanism for a Dual Resistance Protein Complex.

私たちは, 複数の病原体の攻撃を認識して抵抗反応を起動するデュアル抵抗性 (R) 蛋白質システムが, シロイヌナズナの 2 つの R 蛋白質 RPS4 および RRS1 によって構成されることを明らかにしてきた. 病原体の認識から抵抗性発現に至るこれら 2 つの R 蛋白質の役割を明らかにするため, 本システムを構成する RPS4 および RRS1 に FLAG または MYC タグを融合し, 蛋白質間相互作用を解析した結果, 両蛋白質が相互作用によって結合する可能性が示唆された. さらに, RRS1 のロイシンジッパーモチーフ (LZ) が, 両蛋白質の細胞内局在および相互作用に重要な領域であり, LZ 領域に変異を導入した RRS1 は, RPS4 を介して過剰な抵抗反応 (HR) を誘導することが明らかとなった. そこで, ベンサミアーナタバコを用いてウイルスベクターを利用した EDS1 のサイレンシングを行った結果, 過剰な HR の誘導が抑制された. 以上により, EDS1 はデュアル R 蛋白質システムにおける抵抗反応の起動に関わっていることが明らかとなった.

(<sup>1</sup>岡山生科研・<sup>2</sup>理研環境資源科学セ・<sup>3</sup>岡大院環境生命)

(14) 外内 滯<sup>1</sup>・牧瀬福次郎<sup>1</sup>・堅石秀明<sup>2</sup>・西内 巧<sup>3</sup>・高原浩之<sup>1</sup> *Fusarium graminearum* の推定エポキシド加水分解酵素遺伝子の同定 Tonouchi, M., Makise, F., Tateishi, H., Nishiuchi, T. and Takahara, H.: Identification of Putative Epoxide Hydrolase Gene from Wheat Pathogen *Fusarium graminearum*. ムギ類赤かび病の原因菌である *Fusarium graminearum* は, 宿主植物への感染の際にトリコテセン系マイコトキシンであるデオキシニバレノール (DON) を生産する. DON は植物毒素として作用するだけではなく, 汚染された穀物を摂取することで人や家畜に中毒症状を引き起こすことから, 赤かび病の防除体系を確立するためには, 菌感染の制御に加えて, DON 蓄積の低減化が必要となる. DON に代表されるトリコテセン系毒素の生理活性に最も重要な構造にエポキシ環がある. 我々は, 赤かび病に対する殺菌剤として広く普及しているメトコナゾールの作用機構を解析する過程で, DON のエポキシ環代謝に関与することが推定される酵素遺伝子を見出した. 本遺伝子が過剰発現する赤かび病菌形質転換株を作出した

ところ、野生株と比較して菌体内の DON 蓄積量が減少していた。さらに、赤かび病菌のモデル宿主であるシロイヌナズナに対する病原性も低下していた。これらのことから、本遺伝子は赤かび病菌の DON の蓄積と病原性に関与することが示唆された。

(<sup>1</sup>石川県大生資環・<sup>2</sup>クレハ・<sup>3</sup>金沢大学際科学実験センター)

(15) 岩井瑛理子・伊永結貴・湯本 亮・三浦隆紀・高原浩之 アブラナ科植物炭疽病菌エフェクターによる植物細胞死誘導の抑制 Iwai, E., Inaga, Y., Yumoto, R., Miura, T. and Takahara, H.: Inhibition of Induced Plant Cell Death by *Colletotrichum* Effectors. アブラナ科植物炭疽病菌 (*Colletotrichum higginsianum*) は、宿主細胞へ侵入する際にエフェクタータンパク質を分泌することで植物の防御を抑制していると考えられている。これまでに *C. higginsianum* のエフェクター候補遺伝子として *ChECs* が同定されてきた (Kleemann *et al.*, 2012)。これらの宿主感染における役割を調べるために、Agroinfiltration 法を用いてベンサミアナタバコ葉で Necrosis and ethylene-inducing peptide 1 (Nep1)-like proteins (NLP) によって引き起こされる防御応答 (細胞死) を *ChECs* が抑制するかについて解析を行ったところ、2つの候補因子が同定された。興味深いことに、これらの因子の1つは植物細胞外で、もう一方は植物細胞内で発現させることで NLP による細胞死を顕著に抑制することが明らかとなった。つまり、*C. higginsianum* は、同一のエリシターによる植物防御シグナル経路において、作用点異なる複数のエフェクターを分泌することで、防御応答のかく乱を行うことが示唆された。(石川県立大生資環)

(16) 山口 将・高原浩之 アブラナ科植物炭疽病菌の分泌型細胞死誘導タンパク質 Yamaguchi, S. and Takahara, H.: A Cell Death Inducing Protein Secreted from *Colletotrichum higginsianum*, the Crucifer Anthracnose. アブラナ科植物炭疽病菌 (*Colletotrichum higginsianum*) は、宿主植物への侵入の際にエフェクターを分泌する。我々は、*C. higginsianum* のエフェクター候補 (*ChECs*) の宿主感染における役割を調べていく過程で、エフェクター候補の1つが植物の細胞死を誘導する機能を有していることを見出した。すなわち、Agroinfiltration 法によりベンサミアナタバコ葉で一過的に発現させたところ、注入接種部位に激しい細胞死を誘導する因子を同定した。本因子の分泌シグナルペプチド欠損型を植物細胞内で発現させたところ、この反応は全く誘導されなかったことから、植物の細胞外で作用することが示唆された。現在、部位欠損型発現ベクターを構築し、細胞死誘導活性の有無について調べている。一方で、複数の植物病原糸状菌ゲノム中にも相同遺伝子が存

在していた。以上のことより、本因子は *Colletotrichum* 属を超えた様々な病原糸状菌種に比較的保存されている分泌型タンパク質ではないかと推察した。(石川県大生資環)

(17) 島上卓也・大谷耕平・小川実可子・安田晋輔・西村 聡・多々野智・望月 進・市村和也・五味剣二・秋光和也 カンキツミトコンドリアゲノムに座乗する tRNA-Ala の介在領域プロセシングタンパク質複合体の解析 Shimagami, T., Ohtani, K., Ogawa, M., Yasuda, S., Nishimura, S., Tatano, S., Mochizuki, S., Ichimura, K., Gomi, K. and Akimitsu, K.: Analysis of Protein Complex for Processing of Intron Region of tRNA-Ala Located in Citrus Mitochondrial Genome. ラフレモンに宿主特異的毒性を示す ACR 毒素の作用点はミトコンドリアであり、本毒素感受性遺伝子 (ACRS) はミトコンドリアゲノム内の tRNA-Ala の2つのエクソン間の介在領域に座乗する。カンキツ抵抗性品種は ACRSmRNA が座乗する領域のプロセシングにより毒素非感受化し、プロセシングに関与するタンパク質群の1つとして、ACRSmRNA に特異的に結合する約 30 kDa のタンパク質 (AmBP30) とその遺伝子を単離した。AmBP30 と直接的または間接的に相互作用し、RNA 修飾に関係すると考えられる 10 個の複合体構成タンパク質候補を得た。それら 10 個のタンパク質の細胞内局在を解析したところ、6 個がミトコンドリアに移行し、その中で yeast two hybrid により AmBP30 と直接的に相互作用することが示され、rRNA プロセシングに関与する報告例がある Parvulin-type peptidyl prolyl cis/trans isomerase (PppI) と、葉緑体遺伝子のグループ II イントロンのスプライシングファクターである CRS2 と相同性を示した Peptidyl-tRNA hydrolase2 (PtRH2) をコードする遺伝子の解析が現在進展している。(香川大農)

(18) 三輪晃敬<sup>1</sup>・澤田有司<sup>2</sup>・平井優美<sup>2</sup>・佐藤和広<sup>3</sup>・西内 巧<sup>1</sup> ニコチンアミドモノヌクレオチドによる植物の病害抵抗性誘導の解析 Miwa, A., Sawada, Y., Hirai, M., Sato, K. and Nishiuchi, T.: Nicotinamide Mononucleotide Activates the Disease Resistance against Phytopathogenic Fungi in *Arabidopsis thaliana*. コムギ等を宿主とする赤かび病菌が産生するトリコテセン系カビ毒は穀物に混入し、世界的な問題となっている。これまでに我々は、*F. asiaticum* を接種した赤かび病菌抵抗性系統のオオムギを複数同定している。同定した抵抗性系統を用いてメタボローム解析を行った結果、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NAD) の前駆体であるニコチンアミドモノヌクレオチド (NMN) を含む複数の代謝産物が罹病性系統に比べて、抵抗性系統で蓄積していることが分かった。赤かび病菌に罹

病性のシロイヌナズナの本葉に NMN を噴霧処理し、*F. graminearum* を接種すると未処理のシロイヌナズナと比べ、葉内の菌体量及びかび毒の蓄積が減少した。また、NAD 生合成に関わる *NMNAT* 遺伝子を過剰に発現させたシロイヌナズナは、赤かび病菌に対し顕著な病徴抑制効果が見られた。また、赤かび病に非常に弱い六条オオムギ (HES4) においても、NMN 投与による病徴及びかび毒抑制が見られた。以上から、NMN 及び関連代謝産物は難防除性の赤かび病菌に対する病害抵抗性を誘導することを明らかにした。

(<sup>1</sup>金沢大学際センター・

<sup>2</sup>理研環境資源科学研究センター・<sup>3</sup>岡山大植物研)

(19) 三輪晃敬<sup>1</sup>・西村浩二<sup>2</sup>・佐藤雅彦<sup>3</sup>・加藤智朗<sup>1</sup>・古賀博則<sup>4</sup>・木村 真<sup>5</sup>・佐藤和広<sup>6</sup>・西内 巧<sup>1</sup> 赤かび病抵抗性に関わる *UBQ/RPS27a* 遺伝子の機能解析 Miwa, A., Nishimura, K., Sato, F., Kato, T., Koga, H., Kimura, M., Sato, K. and Nishiuchi, T.: Arabidopsis UBQ-RPS27a Proteins are Involved in the Resistance to *Fusarium graminearum* and Trichothecene Phytotoxins. ムギ類赤かび病菌 (*F. graminearum*) は、宿主植物への感染過程において病原性因子として作用するデオキシニバレノール (DON) 等のトリコセセン系かび毒を産生する。オオムギやシロイヌナズナにおいて、赤かび病菌接種及び DON の投与により発現誘導を示す遺伝子として、N 末端にユビキチン、C 末端にリボソームタンパク質 27a をコードする *UBQ/RPS27aA* 及び *UBQ/RPS27aB* を見出した。シロイヌナズナの二重変異体は、野生株に比べて DON に対する感受性が低下し、葉及び花に *F. graminearum* の分生子を接種すると、いずれも野生株に比べて抵抗性が顕著に向上していた。一方、かび毒生合成に関わる *TRI5* 遺伝子を破壊した DON 非産生菌を接種した場合には、野生株と同様の抵抗性を示すことから、*UBQ/RPS27a* 遺伝子が、赤かび病抵抗性及びかび毒の作用に関与することが示唆された。また、SNARE タンパク質である SYP122 と相互作用するタンパク質として *UBQ/RPS27aA* タンパク質が報告されており、*UBQ/RPS27aA* と GFP の融合タンパク質は、細胞質中に顆粒状の局在を示した。

(<sup>1</sup>金沢大学際センター・<sup>2</sup>島根大総研センター・

<sup>3</sup>京都府大農・<sup>4</sup>石川県立大・<sup>5</sup>名大農・<sup>6</sup>岡山大植物研)

(20) 水野邑里<sup>1</sup>・大津美奈<sup>2</sup>・川北一人<sup>1</sup>・竹本大吾<sup>1</sup> ベンサミアナタバコの核膜孔 Nup107-160 複合体は、抵抗性誘導時の低分子量 G タンパク質 Ran の核外輸送に関与する Mizuno, Y., Otsu, M., Kawakita, K. and Takemoto, D.: Involvement of Nup107-160 Sub-complex in the Ran-mediated Export of mRNA during the Resistance Reaction of *Nicotiana*

*benthamiana*. これまでに、核膜孔 Nup107-160 複合体を構成する Nup75, Nup160 などが、ベンサミアナタバコのジャガイモ疫病菌抵抗性に必須であること、抵抗性誘導時のエチレンを介したファイトアレキシン生成に関与することを明らかとしている。真核生物の Nup107-160 複合体が mRNA の輸送に関与することから、Nup サイレンシング株における mRNA の細胞内局在性の解析を行った。その結果、対照株と比較して Nup75, Nup160 サイレンシング株では mRNA の核への顕著な蓄積が観察された。さらに、核-細胞質間の RNA 輸送に関与している低分子量 G タンパク質 Ran の細胞内局在性の解析を行った。Ran-GFP を発現させたベンサミアナタバコ葉にジャガイモ疫病菌由来のエリシターである INF1 を処理したところ、Ran の核外への輸送が促進された。一方、Nup75, Nup160 サイレンシング株では、エリシター処理時の Ran の核外輸送が阻害されることが明らかとなった。以上の結果から、Nup107-160 複合体を介した mRNA の核外輸送の活性化が、病害抵抗性誘導に重要な役割を担っている可能性が示された。

(<sup>1</sup>名大院生農・<sup>2</sup>現：名大院理)

(21) 岡村文音・田中愛子・竹本大吾 牧草共生糸状菌 *Epichloë festucae* における菌糸融合欠損株群の共生確立能について Okamura, A., Tanaka, A. and Takemoto, D.: Possible Correlation between Abilities of Symbiotic Infection and Hyphal Cell Fusion of Endophytic Fungus *Epichloë festucae*. *E. festucae* はイネ科牧草と共生関係を確立する糸状菌エンドファイトである。これまでに、*E. festucae* の宿主植物への共生的な感染に必要な因子として活性酸素生成酵素 NoxA, ヘテロ三量体 G タンパク質  $\alpha$  サブユニット GpaA, 機能未知の核タンパク質 NsiA などが見いだされており、これらの遺伝子破壊株では宿主植物との同調的な菌糸生育能を失い、宿主の生育を著しく阻害する。これまでに単離された共生変異株はすべて培地上での菌糸融合能をも失っていることから、菌糸融合能と共生確立能には密接な関係があると推定された。そこで今回、プラスミド挿入変異法を用いて、菌糸融合能を欠損した菌株群を単離した。また *E. festucae* から、アカパンカビにおいて菌糸の膜融合に直接機能すると推定されている膜タンパク質をコードする *Ham8* の相同遺伝子を同定し、その破壊株を作製した。これら菌株を宿主植物に接種したところ、菌糸融合能欠損株である RPA519 株および *ham8* 破壊株が感染した植物の矮化が観察され、*E. festucae* における菌糸融合能と共生確立機構の相関がさらに示された。(名大院生農)

(22) 榎野友香・竹本大吾 牧草共生糸状菌 *Epichloë festucae* の p22<sup>phox</sup> 様タンパク質をコードする *Pro41* の

**機能解析** Kayano, Y. and Takemoto, D.: Identification of Fungal Endophyte *Epichloë festucae* p22<sup>phox</sup> homologue Pro41. *E. festucae* は、イネ科牧草の細胞間隙に共生的に感染する糸状菌エンドファイトである。本菌の宿主植物への共生には、活性酸素生成酵素 NoxA, その制御因子である NoxR および低分子量 G タンパク質 RacA が必須であることが解っている。これら遺伝子の破壊株は宿主植物との同調的な菌糸生育能を失い、宿主の生育を著しく阻害することから、Nox 複合体が本菌の共生確立に必須であると考えられる。ヒト好中球 Nox2/gp91<sup>phox</sup> の活性を制御する p67<sup>phox</sup> (糸状菌における NoxR) の細胞内局在性は p47<sup>phox</sup> によって制御される。これら制御因子と Nox2 の相互作用を介在する因子に細胞膜内在性の p22<sup>phox</sup> がある。今回、ヒト p22<sup>phox</sup> と若干の相同性を示し、アカパンカビの菌糸融合に関与することが知られる Pro41/Ham6 の相同タンパク質をコードする遺伝子を *E. festucae* より同定した。Pro41 相同遺伝子の真菌での分布を調べたところ、Nox を保持する種でのみ相同遺伝子が見出され、Pro41 が Nox 複合体を構成する因子であると推定された。そこで、pro41 破壊株の作出を行い、その表現型を解析している。

(名大院生農)

(23) 香口智宏・小林括平・西口正通・山岡直人・八丈野孝 抵抗性品種を用いたオオムギうどんこ病菌エフェクターの分泌時期の解析 Kohguchi, T., Kobayashi, K., Nishiguchi, M., Yamaoka, N. and Yaeno, T.: Analysis on the Secretion Timing of *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* Effectors in the Morphogenesis Process. 植物病原菌はエフェクターと呼ばれる病原性因子を植物細胞内に送り込み、宿主の防御反応を抑制する。それに対して抵抗性を示す植物は、抵抗性タンパク質によってエフェクターを認識し、菌の感染行動を停止させる。オオムギうどんこ病菌の分生子は、宿主表面に接触後、第一発芽管、付着器、吸器等を形成し、感染を成立させる。しかし、本菌のエフェクターが形態形成のどの段階で分泌されているのかは不明である。本研究では、抵抗性遺伝子である *MLA* 対立遺伝子を持つ各オオムギ品種において、本菌 Race I 株の形態形成がどの段階で停止しているのか調べた。その結果、Race I 株の形態形成は多くの品種上で主に付着器の段階で停止していた。更に wheat germ agglutinin Alexa 488 を用いて吸器を蛍光染色したところ、それらの付着器の直下に吸器はほとんど形成されていないことが明らかとなった。以上のことから、Race I 株の持つエフェクターの多くは付着器の段階で既に分泌されていることが示唆された。

(愛媛大農)

(24) 八丈野孝<sup>1</sup>・菅井維之<sup>1</sup>・野村有子<sup>2</sup>・佐藤蘭子<sup>2</sup>・

若崎真由美<sup>2</sup>・香口智宏<sup>1</sup>・小林括平<sup>1</sup>・西口正通<sup>1</sup>・豊岡公徳<sup>2</sup>・中神弘史<sup>2</sup>・山岡直人<sup>1</sup> オオムギうどんこ病菌の付着器から分泌されるエフェクタータンパク質の同定 Yaeno, T., Sugai, K., Nomura, Y., Sato, M., Wakazaki, M., Kohguchi, T., Kobayashi, K., Nishiguchi, M., Toyooka, K., Nakagami, H. and Yamaoka, N.: Identification of Candidate Effector Proteins Secreted from Appressorium of *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*.

病原菌は病原性タンパク質であるエフェクターを植物細胞内に多数送り込み、免疫反応を抑制する。それに対して抵抗性の植物は、抵抗性タンパク質によりエフェクターを認識し、より強力な免疫反応を誘導して病原菌の感染行動を停止させる。オオムギにおいては数多くの抵抗性タンパク質が同定されているにも関わらず、オオムギうどんこ病菌が分泌するエフェクターはまだほとんど見つかっていない。オオムギ抵抗性品種における本菌 Race I 株の感染行動を解析したところ、エフェクターの多くは付着器から分泌されることが示唆された。そこでエフェクターを同定することを目的として、付着器のタンパク質およびその先端から分泌されるタンパク質を大量に集める手法を開発し、抽出したタンパク質を質量分析に供して分生子のタンパク質と比較解析した。その結果、付着器に特異的なタンパク質が多数検出された。本発表では、エフェクター候補のさらなる解析結果について報告する。

(<sup>1</sup>愛媛大農・<sup>2</sup>理研 CSRS)

(25) Nguyen Hieu Hanh, Kieu Thi Minh Pham, Ken-ichi Ikeda and Hitoshi Nakayashiki The MAP kinase, Pmk1 is Epistatic to MoSET1, H3K4 Methyltransferase for Infection-related Morphogenesis in *Magnaporthe oryzae*. We previously showed that knock-out (KO) mutants of MoSET1, histone lysine methyltransferase catalyzing methylation at H3K4 in *Magnaporthe oryzae*, failed to form appressoria and infect host plants. The phenotype of the MoSET1-KO mutants was similar to that reported in KO-mutants of the MAP kinase Pmk1 in *M. oryzae*. In this study, we therefore examined epistasis between MoSET-1 and Pmk1. We first constructed a KO mutant of Pmk1 in a wheat-infecting strain of *M. oryzae*. ChIP-qPCR analysis indicated that enrichment of H3K4me2 at several gene loci during appressorium formation was drastically reduced in the Pmk1-KO mutant while the transcript level of Pmk1 was not affected by the knock-out of MoSET1, suggesting that Pmk1 was epistatic to MoSET1. Consistently, MoSET1-dependent gene expression was severely impaired in the Pmk1-KO mutant. Overall, the results suggested that Pmk1 directly or indirectly

regulates the activity of MoSET1, leading to gene activation required for infection-related morphogenesis in *M. oryzae*.

(Grad. Sch. Agr., Kobe Univ.)

(26) 横山 綾・泉津弘佑・入江俊一・鈴木一実 ウリ類炭疽病菌におけるホメオボックス転写因子 **CoHox3** の機能解析 Yokoyama, A., Izumitsu, K., Irie, T. and Suzuki, K.: The Functional Analysis of Homeobox Transcription Factor CoHox3 in *Colletotrichum orbiculare*. ホメオボックスは DNA 結合部位のホメオドメインを含む転写調節因子であり、発生の調節などに関与し、動物や植物だけでなく菌類においても保存されている。本研究室ではこれまでに、ウリ類炭疽病菌を用いて AtMT 法によりランダム突然変異株を作出し、接種試験によって病原性欠損変異株を 14 菌株選抜した。そのうちの 1 つである Path-9 株において、導入遺伝子近傍の配列をシーケンスした結果、ホメオボックス遺伝子 **CoHox1** を同定した。**CoHox1** 遺伝子破壊株においては、ガラスおよび人工セルロース膜上での形態分化は正常であったものの宿主への病原性が顕著に低下し、侵入菌糸生育が初期段階で停止していた。ウリ類炭疽病菌にはこの **CoHox1** 以外に少なくとも 9 つのホメオボックス遺伝子が存在する。今回、我々はその 1 つである **CoHox3** の遺伝子破壊株を作出して機能解析を行った。**CoHox3** 破壊株は正常な付着器を形成せず、発芽管が伸長し続けた。また、一部の発芽管ではやや膨潤し薄くメラニン化した付着器様の構造が認められた。これらのことから、**CoHox3** はウリ類炭疽病菌の付着器の成熟化に関与していると思われる。

(滋賀県大環境)

(27) 原田 賢・久保康之 ウリ類炭疽病菌における **Ras GTPase** 活性化タンパク質 **CoIra1** と **CoRas2** は感染器官の形態分化時にダイナミックな局在変化を伴う Harata, K. and Kubo, Y.: Ras GTPase Activating Protein CoIra1 and CoRas2 Show Dynamic Localization during Infection-related Morphogenesis in *Colletotrichum orbiculare*. 我々はこれまでに Ras GTPase activating protein CoIra1 が感染器官の形態形成や病原性に関与し、CoRas2 を介して細胞内 cAMP 内在量や MAPK CoMekk1-Cmk1 経路の活性化を制御することを報告した。今回は、感染器官の形態分化時における CoIra1 と CoRas2 の細胞内局在を比較し、CoIra1 と CoRas2 の時空間的な制御を理解することを目的とした。そこで、**CoIRA1** と蛍光遺伝子 **VENUS** の融合遺伝子と **CoRAS2** と蛍光遺伝子 **RFP** の融合遺伝子を導入した **CoIRA1-VENUS/CoRAS2-RFP** 株を作出し、感染器官の形態分化時における CoIra1 と CoRas2 の細胞内局在を観察した。その結果、未発芽胞子では CoIra1 と CoRas2 は顆

粒状の構造体に共局在するが、発芽、付着器形成胞子では顕著な局在は示さなかった。興味深いことに、侵入菌糸を形成する直前の付着器において CoIra1 と CoRas2 は顆粒状の構造体に共局在を示した。以上から、感染器官の形態分化時に CoIra1 と CoRas2 はダイナミックな局在変化を伴うことが明らかとなった。

(京府大院生環)

(28) 深田史美・坂口 歩・久保康之 ウリ類炭疽病菌における **CoBub2-CoBfa1** と出芽酵母 **Bub2-Bfa1** のスワッピングは **G1/S** 期進行を遅延させる Fukada, F., Sakaguchi, A. and Kubo, Y.: Swapping of *Colletotrichum orbiculare* CoBub2-CoBfa1 with *Saccharomyces cerevisiae* Bub2/Bfa1 Causes Delay of G1/S Progression. 出芽酵母 RabGAP 複合体 Bub2-Bfa1 が M 期終了機構を制御するのに対し、ウリ類炭疽病菌のホモログの破壊株 **Acobub2**, **Acobfa1** は **G1/S** 期の移行時期の促進、オートファジーの遅延および病原性低下を示すことを報告している。今回、出芽酵母 Bub2-Bfa1 が本菌において機能オルソログであるかを検討するために、ウリ類炭疽病菌において **CoBUB2**, **CoBFA1** の ORF と出芽酵母 **BUB2**, **BFA1** の ORF をスワッピングした遺伝子発現系を構築した。ウリ類炭疽病菌の **Acobub2**, **Acobfa1** 単独破壊株に出芽酵母 **BUB2**, **BFA1** のそれぞれを導入すると欠損形質は相補されなかった。一方、**Acobub2 Acobfa1** 二重破壊株に **BUB2**, **BFA1** の双方を導入すると欠損形質の強制的な相補が認められ、**G1/S** 期の移行時期が野生株よりも遅延し、その後のオートファジーの遅延および病原性の欠損が認められた。以上より、出芽酵母 Bub2-Bfa1 スワッピングにより **G1/S** 期の進行制御が強制的に相補されることが見出され、適切な細胞周期制御がオートファジー、侵入器官の形態形成に必須であることが示唆された。

(京府大院生環)

(29) 石塚隼也<sup>1</sup>・池田恭子<sup>1</sup>・入枝泰樹<sup>1</sup>・Pamela Gan<sup>2</sup>・白須 賢<sup>2</sup>・高野義孝<sup>1</sup> ウリ類炭疽病菌の付着器において発現誘導される分泌タンパク質遺伝子の機能解析 Ishizuka, J., Ikeda, K., Irieda, H., Gan, P., Shirasu, K. and Takano, Y.: Functional Analyses of Secreted Protein Genes Expressed in Appressoria of *Colletotrichum orbiculare*. ウリ類炭疽病菌が植物上で形成する付着器において発現誘導される分泌タンパク質遺伝子群をマイクロアレイ解析により同定し、そのうち 20 種を **ECAP** (effector candidate expressed in appressoria on plant) 1 ~ 20 遺伝子と命名し、エフェクター候補としてその機能解析に着手している。第一に **ECAP** 遺伝子の破壊解析を実施しており、現在までに 18 種の **ECAP** 遺伝子について標的破壊株の作出に成功している。作出した破壊株のコロニーの様子はいずれも野生株と同等であっ

た. 現在, 残り2つの *ECAP* 遺伝子の破壊株作出を行いつつ, 作出された破壊株の病原性評価を行っている. 本菌のエフェクター NIS1 は, 植物免疫抑制能を有する一方, ベンサミアナタバコにおいては過敏様細胞死を誘導する. そこで破壊解析と並行し, 第二にアグロバクテリウムを用いた一過的発現系により, *ECAP* 遺伝子をベンサミアナタバコにおいて発現させ, 発現部位において細胞死等の反応が誘導されるかを調べている. これらの *ECAP* 遺伝子に関する機能解析の進捗状況について報告する.

(<sup>1</sup>京大院農・<sup>2</sup>理研 CSRS)

(30) 田中栄爾 侵入器官形成培地表面状態のウリ類炭疽病菌付着器形態への作用 Tanaka, E.: Appressoria Morphology of *Colletotrichum orbiculare* Depends on Surface Conditions of Infection Structures Formation Media. 新規開発した人工培地上において, イネいもち病菌 (*Magnaporthe oryzae*: 北1菌株) とウリ類炭疽病菌 (*Colletotrichum orbiculare*: 104-T 菌株) の付着器および侵入菌糸の形成が誘導されることを本年の大会において報告した. この侵入器官形成培地上では, いもち病菌は通常のメラニン化したドーム状の付着器を形成した. しかし, 炭疽病菌は通常のドーム状の付着器とは異なり, 長楕円形のメラニン化した付着器を形成した. このような付着器の形態の変異は培地表面の状態に左右されていると考えた. そこで, 最適な培地形成条件を求めるため, 侵入器官形成培地の作製条件と炭疽病菌の付着器形態との関係を確認した. すると, 培地作製条件によって, いもち病菌の付着器の形態に変化が見られないのにも関わらず, 炭疽病菌の付着器の形態は通常のドーム状に近い形態から非常に細長い形態のものまで変異が見られた. このようなウリ類炭疽病菌の異常な付着器は, 付着器形成が誘導されるのにも関わらず, 培地表面に十分に固着できないことが原因と考えられた.

(石川県立大)

(31) 堀田佳祐<sup>1</sup>・鈴木良祐<sup>1</sup>・佐々木伸浩<sup>1</sup>・早川敏弘<sup>1</sup>・景山幸二<sup>2</sup> *Sclerophthora macrospora* によるノシバ黄化萎縮病 (新称) Hotta, K., Suzuki, R., Sasaki, N., Hayakawa, T. and Kageyama, K.: Yellow Tuft of *Zoysia japonica* Caused by *Sclerophthora macrospora*. 2009 年より, 神奈川県ゴルフ場のノシバが春と秋に直径 1~4 cm 程度のパッチ状に黄化する症状が確認された. 黄化した株は叢生し, 葉身は時に捻れ, 肥厚した. 罹病株表面に糸状菌の器官は認められなかったものの, 罹病葉を 15°C・8 時間~16 時間水浸することで表面に遊走子のうを形成し, 遊走子を放出した. 遊走子のうは無色もしくは褐色を呈し, 形状は楕円形, レモン型もしくは倒卵型, 先端にはときに乳頭状突起を有して

おり, 大きさは 57-150 × 30-50 (av. 97.5 × 41.4) μm であった. 遊走子形成は 10~18°C で確認され, 楕円形もしくは腎臓型で, 大きさは 12-22 μm であった. 卵胞子の形成は供試サンプルでは認められなかった. 罹病株の葉身より DNA を抽出し, *coxII* 遺伝子の塩基配列に基づく系統解析を行った結果, *Sclerophthora macrospora* のクレード内に含まれ, 静岡県内のベントグラス試験圃場で発生した黄化萎縮病菌の配列とも 100% 一致した. 以上の形態・系統学的特徴から本菌を *Sclerophthora macrospora* と同定し, 本病名をノシバ黄化萎縮病 (新称) としたい.

(<sup>1</sup>理研グリーン・<sup>2</sup>岐大流域圏セ)

(32) Rahman Mohammad Ziaur<sup>1</sup>, Seiji Uematsu<sup>2</sup>, Haruhisa Suga<sup>3</sup> and Koji Kageyama<sup>1</sup>. **Diversity of *Phytophthora* Species Newly Reported from Japanese Horticultural Production.** Recently developed molecular techniques facilitate the re-evaluation of phylogenetic relationships and taxonomic classification. The previous study evaluated 11 morphologically identified and 3 un-identified Japanese *Phytophthora* isolates. According to the analyses based on ITS, LSU and *cox1* sequences, 11 isolates exhibited low sequence homology with the species originally assigned, but high homology with *P. hedraiaandra*, *P. multivora*, *P. niederhauserii*, *P. sansomeana*, *P. sp. kelmania*, and *P. sojae*. Three un-identified isolates showed high homology with *P. nicotianae* or *P. palmivora*. To confirm the previous phylogenetic identifications, we used the β-tubulin and translation elongation factor 1 alpha (EF1-α) gene sequences and the morphological re-observations. The results indicated that the phylogenetic identification was in line with morphological data. The re-identified species *P. hedraiaandra*, *P. multivora*, *P. niederhauserii*, *P. sansomeana*, and *P. sp. kelmania* are new to Japan, adding to the *Phytophthora* biodiversity in this country.

(<sup>1</sup>River Basin Res. Center, Gifu Univ.,

<sup>2</sup>Chiba Pref. Agri. Forest. Res. Center,

<sup>3</sup>Life Sci. Res. Center, Gifu Univ.)

(33) 金子秀平・清水涼子・三浦晴菜・牧田結衣・荒川征夫・稲垣公治 東アジア諸国より採集したイネ褐色菌核病菌および紋枯病菌の菌体内脂肪酸組成に基づく菌種内変異 (予報) Kaneko, S., Shimizu, R., Miura, H., Makita, Y., Arakawa, M. and Inagaki, K.: Intraspecific Variation of Two Rice Sclerotial Disease Fungi, *Rhizoctonia oryzae-sativae* and *R. solani* AG-1 IA Collected from East Asian Countries, Based on Fatty Acid Composition (Preliminary report). 褐色菌核病菌と紋枯病菌について, 中国より採集した 7, 10, 台湾:

16, 10, 韓国: 5, 10, および日本: 46 (1道6県), 18 (14県), 合計 74, 55 菌株を用いて, 菌種内多様性情報を得るため, 菌体内脂肪酸組成を調査した. 馬鈴薯煎汁培地上での培養菌体から得た脂質の脂肪酸メチルエステル化を行い, ガスクロマトグラフ分析に基づきクラスター (CL) 解析を行った. 褐色菌核病菌の主要脂肪酸はオレイン酸 > リノール酸 > パルミチン酸, 紋枯病菌はリノール酸 > オレイン酸 > パルミチン酸であった. 褐色菌核病菌は 3CL (1: 38, 2: 22, 3: 14 菌株) に類別され, 台湾由来全菌株と北海道由来 12 菌株中 11 菌株は CL 1 と 2 に, 中国・韓国由来 12 菌株と沖縄県 (西表・石垣島) 由来 14 菌株中の 12 菌株は CL 1 と 3 に所属した. 紋枯病菌は 3CL (CL1: 21, 2: 20; 3: 14 菌株) に類別でき, 台湾・韓国由来菌株は CL1 と 2, 沖縄県由来 7 菌株は CL2 と 3, 中国由来菌株は CL1, 2, 3 に所属した. このように, 両菌種ともに菌株の採集地とクラスターとの間には特異的な関係が存在することが推察された. (名城大農)

(34) 須賀晴久<sup>1</sup>・新井満大<sup>2</sup>・瀧瀬康子<sup>1</sup>・船坂美佳<sup>1</sup>・堅石秀明<sup>3</sup>・清水将文<sup>2</sup>・景山幸二<sup>4</sup>・百町満朗<sup>2</sup> *Fusarium fujikuroi* におけるフモニシン産生株と非産生株のジベレリン産生性の違い Suga, H., Arai, M., Takise, Y., Funasaka, M., Tateishi, H., Shimizu, M., Kageyama, K. and Hyakumachi, M.: Different Gibberellin Producibility between Fumonisin Producing Isolates and Non-producing Isolates in *Fusarium fujikuroi*. *Fusarium fujikuroi* は植物ホルモンのジベレリンやカビ毒のフモニシンなど様々な二次代謝産物を産生する. 但し, それらの産生量は株によって異なっており, フモニシンについては産生株と非産生株が存在する. 我々は, 10% ICI で 7 日間振とう培養した液を薄層クロマトグラフィーに用いた際, フモニシン産生株ではジベレリン生合成の主要最終産物とされている GA<sub>3</sub> が検出されないのに対し, フモニシン非産生株では検出されることを見出した (平成 25 年度本大会). 今回その検証を目的に, フモニシン産生 12 株と非産生 11 株の培養液中の GA<sub>3</sub> 及び, GA<sub>1</sub>, GA<sub>4</sub>, GA<sub>7</sub> の濃度を LC-MSMS で調べた. その結果, ジベレリンが検出された場合は GA<sub>3</sub> の濃度が最も高かった (但し, GA<sub>7</sub> の方が僅かに高かった 1 株を除く). フモニシン産生株では 6 株で低濃度の GA<sub>3</sub> が検出されたが (0.8 ~ 3.2, 平均 1.7 ppm), 残り 6 株はいずれのジベレリンも定量限界未満であった. 一方, フモニシン非産生 11 株は全株で GA<sub>3</sub> が検出され (1.9 ~ 50.5, 平均 16.8 ppm), フモニシン産生株より濃度に高い傾向が見られた.

(<sup>1</sup>岐大生命セ・<sup>2</sup>岐大応生・<sup>3</sup>株式会社クレハ・

<sup>4</sup>岐大流域研セ)

(35) 平山喜彦<sup>1</sup>・浅野峻介<sup>1</sup>・小林 甫<sup>1</sup>・安川人央<sup>1</sup>・窪田昌春<sup>2</sup> 奈良県におけるレース 10 抵抗性品種でのホウレンソウべと病の発生と代替品種の探索 Hirayama, Y., Asano, S., Kobayashi, H., Yasukawa, H. and Kubota, M.: Occurrence of Spinach Downy Mildew on Cultivars Resistant to *Peronospora effuse* Race 1-10 in Nara Prefecture and Screening of Alternative Cultivars. 2014 年 3 月, 奈良県宇陀市の雨よけホウレンソウ栽培において, レース 1 ~ 10 抵抗性品種 (種苗会社による調査) でべと病の発生が確認された. そこで, 数種のレース 1 ~ 10 抵抗性品種で発病を確認するとともに, 本菌に対して抵抗性を持つ品種を調査した. 各ホウレンソウ種子をポットに播種した. 子葉展開時に, 病斑から採取して約 10<sup>4</sup> 孢子/ml に調整した懸濁液を噴霧接種した. 温室条件下の 12°C, 12 hr 日長で管理し, 接種 10 ~ 15 日後に発病の有無を調査した. その結果, レース 1 ~ 10 抵抗性品種では, 供試した 3 品種のすべてで発病が確認された. レース 1 ~ 7 抵抗性品種では, 10 品種中 8 品種で発病したが, サマートップセブン, 晩抽サマースカイでは発病しなかった. レース 1 ~ 8 抵抗性品種では, 供試したデュエル, トリトン, サマースカイ R7 の 3 品種すべてで発病は認められなかった. 以上から, 今回未発病であった品種は代替品種として有望であると考えられた. また, レース 1 ~ 10 抵抗性品種で発病が確認されたことから, 国内未発生である新レースの可能性が示唆された.

(<sup>1</sup>奈良農研セ・<sup>2</sup>野菜茶研)

(36) 杉本琢真<sup>1</sup>・菅野正治<sup>2</sup>・姜 昌杰<sup>2</sup>・黒田智久<sup>3</sup>・前田征之<sup>3</sup>・高橋真実<sup>4</sup>・羽鹿牧太<sup>5</sup> 新潟県産及び富山県産ダイズ茎疫病菌の各種大豆品種に対する病原性の評価と兵庫県産菌株との比較 Sugimoto, T., Sugano, S., Jiang, C.-J., Kuroda, T., Maeda, M., Takahashi, M. and Hajika, M.: Evaluation of Resistance of Several Soybeans to *Phytophthora sojae* Derived from Nigata and Toyama, and Comparison of Virulence of its Pathogen Isolated from Hyogo. 新潟県産ダイズ茎疫病菌 (5 菌株) 及び富山県産茎疫病菌 (5 菌株) を用いて, 埋込接種法 (2010 年度成果情報素材) によるレース検定を行った結果, 2 菌株が国内レース G, 1 菌株がレース L, 1 菌株がレース A に該当し, 5 菌株は新規レースと考えられた. 米国レース判別品種を用いてレース検定を行った結果, 既報の 51 レースには該当せず, 全て新規レースと考えられた. 国内外の大豆 61 品種を用いて, 10 菌株の病原性を評価した結果, PI103091 (*Rps1d*), L77-1794 (*Rps1k*), General (*Rps1k*), ゲデンシラズ 1 号に対して非親和性を示した. 次に, 10 菌株と兵庫県産菌株 (レース E, A, 新規レース) を用いて, 各種大豆品種の抵抗性程度比

較を行った結果, PI103091 (*Rps1d*), ゲデンシラズ 1 号は 3 県産の菌株に対して真性抵抗性を示した. 一方, 大豆 61 品種に対する反応パターンはそれぞれ異なり, 茎疫病菌の病原性の多様性が示唆された. 以上のことから, これらの地域における茎疫病抵抗性の付与には真性抵抗性遺伝子に加え, 圃場抵抗性遺伝子の利用が重要と考えられた.

(<sup>1</sup>兵庫農総セ・<sup>2</sup>生物研・<sup>3</sup>新潟農総セ・<sup>4</sup>中央農研・<sup>5</sup>作物研)

(37) 桐野菜美子・川口 章 夏秋雨除け栽培トマトのすすかび病が発病に至る環境要因と発病株の空間分布解析 Kirino, N. and Kawaguchi, A.: The Role of Environmental Factors Affecting Disease Incidence and Spatial Patterns of Tomato Plants Naturally Infected with Black Leaf Mold in Commercial Greenhouses. 岡山県の夏秋雨除け栽培トマトの重要病害であるすすかび病の発病に至る環境要因について検討した. すすかび病菌分生子の発芽好適温度は 15 ~ 30°C で, トマト葉上では高湿度条件 (85%以上) で接種 4 h 以降に発芽が開始し, 24 h 後には 52%が発芽した. 一方, 低湿度条件 (65%以下) ではほとんど発芽が認められなかった. 発病までの期間は 30°C で 10 日, 25°C で 14 日, 20°C で 20 日を要し, 初発後の発病小葉割合は 25°C と 30°C では同様の推移を示した. そこで, 2013 年の現地 (5 ~ 10 月) で発芽に適した温湿度条件 (気温 15 ~ 30°C, 湿度 85%以上の 4 h 以上継続) の出現状況を調査した結果, 6 月中旬以降本条件が継続し, 6 月下旬に初発生が認められた. 次に, 本圃場で  $I_B$  指数 (Morishita, 1962) を用いて発病株を空間分布解析したところ, 6 月下旬に初発生が認められた圃場の 7 ~ 8 月の  $I_B$  指数が有意に 1 以上となり, 集中分布を示した. 以上の結果, 夏秋雨除け栽培トマト圃場では 6 月中旬以降すすかび病菌の発病に適した環境となり, 発病株が周辺の株への二次伝染源となる可能性が示唆された. (岡山農研)

(38) 鈴木啓史<sup>1</sup>・黒田克利<sup>1</sup>・辻 朋子<sup>1</sup>・光永貴之<sup>2</sup>・窪田昌春<sup>3</sup> 発生予察におけるトマトすすかび病の必要調査株数 Suzuki, H., Kuroda, K., Tsuji, T., Mitsunaga, T. and Kubota, M.: Required Number of Samples for the Generation Forecasting of *Cercospora* Leaf Mold of Tomato. 発生予察におけるトマトすすかび病の調査株数を検討するため, 低段密植栽培のトマト (桃太郎ヨーク, 冠美) を対象に, 温室内 (540 m<sup>2</sup>) のすすかび病発病株の発生分布を調べた. トマトは温室内を 4 等分し定植をずらして 4 系統が周年栽培されている. ここでは各 1 系統 (約 600 株) を 1 作期と見なし, 計 12 作の発病を全株調査した. 各系統は 2 列のベッドからなり, それぞれ左右にトマトを誘引すること

から見かけ上 4 列となっている. 全 12 作の発病初期の調査結果から, ランダムに列方向の連続 150 株を抜き出し, 森下の  $I_B$  指数を 30 回求め, 指数 1 との t 検定からその分布様式を判断した. その結果, 12 作中 11 作が集中分布を示し, 1 作のみがポアソン分布を示した. また,  $I_B$  指数から必要標本数を小野・森下 (1969) の式より信頼度約 70% で推定したところ, 発病株率 4.7%では 239 株, 10.8%では 105 株, 20.5%では 55 株であった. よって, 発病確認までは 100 ~ 300 株を調査し, 発病確認後はその周辺を 50 株程度調査することで, 初発およびその後の発生推移を把握できると考えられた.

(<sup>1</sup>三重農研・<sup>2</sup>(独)中央農研・<sup>3</sup>(独)野茶研)

(39) 楠 幹生 レタス疫病に対する薬剤の効果 Kusunoki, M.: Effect of Fungicides to Stem Blight of Lettuce Caused by *Phytophthora* sp. レタス疫病は香川県観音寺市を中心に発生が拡大し, 発病株率が 30%を超える被害の大きいほ場もあり, 早急な防除対策が求められている. そこで, レタスに登録のある 9 薬剤について, レタス疫病菌に対する菌糸伸長抑制効果を PDA 培地上で調査した. 適用濃度での抑制効果は, マンジプロパミド水和剤が最も高く, 次いでメトラキシル M・TPN 水和剤, ヒドロキシソキサゾール液剤が高かった. 次に, 本菌の卵胞子懸濁液 10 ml (1 × 10<sup>4</sup>個/ml) を接種したレタスポット苗を用い, 2000 倍のマンジプロパミド水和剤および 800 倍のメトラキシル M・TPN 水和剤を株当たり 50 ml 灌注処理した. 無処理区は発病株率が 75.0%であったのに対し, 両薬剤処理区は発病株率がともに 0%であり, 非常に高い発病抑制効果を示した. また, リーフレタスの汚染圃場で, 2000 倍のマンジプロパミド水和剤を処理時期をかえて 10 a 当たり 200 l 散布した. 発病抑制効果は定植当日散布区が最も高く, 次いで定植 10 日後散布区が高かったが, 定植 30 日後散布区の発病抑制効果は低かった.

(香川農試病害虫防除所)

(40) 西岡輝美<sup>1</sup>・瓦谷光男<sup>1</sup>・谷川典宏<sup>2</sup>・岡田清嗣<sup>1</sup> 水ナスにおける褐紋病の発生とその防除 Nishioka, T., Kawaradani, M., Tanigawa, N. and Okada, K.: Control of *Phomopsis* Blight on Eggplant "Mizunasu". 2006 年 6 月頃より, 大阪府の露地栽培水ナスにおいて, 果実や茎には淡褐色~濃褐色のややへこんだ類円形の病斑が, 葉には初め褐色の小斑点で, 次第に拡大・融合して周縁部が濃褐色, 内側は淡褐色となる不整形の大型病斑が生じ, 黒小粒の柄子殻を多数形成する病徴が観察された. 診断の結果, *Phomopsis vexans* による褐紋病と同定された. 本病に対する防除薬剤の登録がないことからナスに既登録剤の中から

9 剤を選択し、それぞれの実用散布の 1/10 ~ 1/100 濃度を添加した PDA 培地を用いて孢子発芽抑制および菌糸伸長抑制による薬剤スクリーニングを行った。その結果、ベノミル水和剤 (B)、イミノクタジナルベシル酸塩水和剤 (I) が有効であったことから、所内および現地水ナスほ場において発病前から両剤を約 10 ~ 11 日間隔で 3 回散布して (所内試験では B および I 剤 2000 倍液の初回散布後に罹病葉を吊し夕刻に散水して発病を促した)、防除効果を確認した。その結果、所内試験では最終散布 7 日後に無処理区が発病葉率 33%, 発病度 11 であったのに対して B 剤は 88, I 剤は 89 の高い防除価を示した。また現地試験でも最終散布 14 日後の無処理区が発病葉率 23%, 発病度 5.6 であったのに対して、B 剤は 80, I 剤は 36 の防除価となり、B 剤では予防的な散布により高い防除効果が得られた。

(<sup>1</sup>大阪環農水研・<sup>2</sup>泉州農の普及課)

(41) 佐古 勇<sup>1</sup>・谷口美保<sup>2</sup>・松谷 守<sup>3</sup> ブロッコリーべと病の耐病性品種の花蕾病徴および防除対策について Sako, I., Taniguchi, M. and Matutani, M.: Symptoms of Comparatively Cultivated Resistant Broccoli Varieties and Fungicidal Control of Downy Mildew on Flower Bud. 花蕾に発生するべと病は鳥取県では 1999 年頃から多発生したが、カリ過剰圃場は見当たらなかった。中生品種の初発生は 2002 年、葉で 10 月下旬、頂花蕾で 11 月中旬、側花蕾で 12 月下旬で多発生した。2007 年頃からは耐病性とみられる中生品種の導入によって、花蕾の症状は軽微となり、主茎上部と側生花序の花柄に黒褐色小斑点がみられたが、頂花蕾から側花蕾へのまん延はみられなくなった。また、花蕾頭部、花芽の花梗および主茎下部に黒褐色不正形の斑点はみられず、被害に気づくのは箱詰め調製時が多くなり、選別に労力を要した。そこで、発病前薬剤散布試験において、2011 年、2012 年のマンゼブ・メタラキシル剤、TPN・メタラキシル M 剤、アミスルプロム剤、およびマンジプロパミド剤の 10 月中旬、11 月上旬の連続、体系散布試験を実施した結果、多発条件下でマンジプロパミド剤の連続 2 回散布の防除効果が高かった。その後、生産地での防除効果も高く、選別労力の軽減も可能であった。

(<sup>1</sup>鳥取西部総合農林局・<sup>2</sup>鳥取中部総合農林局・<sup>3</sup>鳥取西部農協)

(42) 西村文宏・森 充隆 香川県におけるブロッコリー黒すす病の発生と有効な薬剤の散布時期 Nishimura, F. and Mori, M.: Occurrence of Alternaria Sooty Spot of Broccoli in Kagawa Prefecture and Effect of Application Timing of Fungicides on this Disease. 香川県仲多度郡まんのう町のブロッコリーにおいて、品種を問わず収穫期の花蕾に黒変

症状を呈する株が多発生した。当該症状を有する花蕾近傍の葉上には輪紋状の斑点を認め、両部位から高率に *Alternaria* 属菌が分離され、既報 (漆原ら, 2006) によるブロッコリー黒すす病の記載と一致した。葉の輪紋症状部位から分離された菌の花蕾への接種により、花蕾に同様の症状が再現され、接種菌が再分離されたことから、葉から花蕾への伝染の可能性が示唆された。次に、本病害に対する薬剤の効果及び残効を調査した。本菌を接種する 21 日前から約 7 日間隔で、3 種の薬剤を常用濃度でブロッコリーに処理し、接種 7 日後に調査を行い、発病程度から発病度と防除価を算出した。ボスカリドの防除価は接種 21 日前 91.5, 15 日前 87.2, 6 日前 82.8 と残効が長く、高い防除効果が見られたが、アゾキシストロピンは 32.2, 17.9, 51.7, ピリベンカルブは 3.4, 0, 37.9 であり、両薬剤とも防除価がばらついた。(香川農試)

(43) 篠崎 毅<sup>1</sup>・清水伸一<sup>1</sup>・楠元智子<sup>1</sup>・三好孝典<sup>2</sup>・澤田宏之<sup>3</sup> 愛媛県におけるキウイフルーツかいよう病菌 (Psa3 系統) の発生 Shinozaki, T., Shimizu, S., Kusumoto, S., Miyoshi, T. and Sawada, H.: Occurrence of Kiwifruit Canker Caused by Virulent Strain (Psa3) of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* in Ehime Prefecture. 2014 年 4 月、愛媛県内のキウイフルーツ栽培圃場 (品種: レンボーレッド) において、結果母枝および新梢が枯死する病害が発生した。葉には褐色の小斑点や主幹からは褐色の樹液の漏出が認められ、特に花蕾の枯死が顕著であった。これらの症状は既に県内で発生している *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa) Psa1 系統による症状と類似していたため、発病部位から細菌を分離し PCR 法によりファゼオロトキシン関連遺伝子群を標的とした検出を行ったが陰性であった。このため、本年の大会で報告したマルチプレックス-PCR による系統識別 (清水ら, 2014) や rep-PCR による増幅パターンが既存の Psa3 系統と一致したことから、国内では未発生の Psa3 系統であることが明らかとなった。なお、分離菌株をキウイフルーツの新梢に接種した結果、Psa1 系統より Psa3 系統で病原性が強い傾向を示した。現在の県内での Psa3 系統の発生は、レンボーレッド、'Hort16A'、ヘイワードの 3 品種であるが、徐々に発生地域が拡大しており本病の蔓延が懸念される。

(<sup>1</sup>愛媛果樹研セ・<sup>2</sup>愛媛県庁・<sup>3</sup>農業生物資源研究所)

(44) 清水伸一<sup>1</sup>・三好孝典<sup>2</sup>・楠元智子<sup>1</sup>・篠崎 毅<sup>1</sup>・澤田宏之<sup>3</sup> マルチプレックス PCR によるキウイフルーツかいよう病菌の系統識別法の改良 Shimizu, S., Miyoshi, T., Kusumoto, S., Shinozaki, T. and Sawada, H.: Improvement of Multiplex-PCR Assay for Discrimination of *Pseudomonas*

*syringae* pv. *actinidiae* Strains. 演者らは平成 26 年度大会において、キウイフルーツかいよう病の原因菌である *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (PSA) 4 系統 (Psa1 ~ 4) の 2 種のマルチプレックス PCR (M-PCR) による識別法について報告した。今回は、国内で PSA 新系統の Psa5 が報告 (澤田ら, 2014) されたことから、Psa1 ~ 5 の 5 系統を迅速に確認するための M-PCR の改良を検討した。新たに Psa5 の専用プライマー対を加え、これまで、存在するエフェクターの組み合わせから判断していた Psa3 及び 4 についても、既報の PCR 情報から特異検出できるプライマー対を新たに設計した。この結果、5 組の特異的プライマー対 (別途 1 組の共通プライマー対も混合) を供することで、1 種の M-PCR で、より迅速に系統を識別することが可能となった。そこで本法により、本年 5 月国内で初確認された Psa3 に加え、Psa1 および 5 の保存 PSA 株を M-PCR に供したところ、同定結果とすべて一致した。以上のことから、改良した M-PCR は、現地で分離した PSA 株の系統識別に有効と考えられた。

(<sup>1</sup>愛媛果樹研・<sup>2</sup>愛媛県庁・<sup>3</sup>生物研)

(45) 楠元智子<sup>1</sup>・清水伸一<sup>1</sup>・篠崎 毅<sup>1</sup>・三好孝典<sup>2</sup>・澤田宏之<sup>3</sup> キウイフルーツかいよう病の迅速診断技術の開発 Kusumoto, S., Shimizu, S., Shinozaki, T., Miyoshi, T. and Sawada, H.: Development of Rapid Detection Method for *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*. 2014 年 4 月、愛媛県において *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* 系統 3 (Psa3) の発生が新たに確認された。従来、本病の診断は、葉の斑点や枝のかいよう症状などの発病部位から細菌を分離・培養した後、DNA 試料の調整及び遺伝子診断 (PCR) により行っており、その期間として 3 ~ 5 日を要していた。本病の依頼診断は、発芽後から梅雨明け頃までが中心であるが、この期間は、かいよう病の重要な防除時期であり、被害防止・軽減のために結果を迅速にフィードバックすることが求められることから、多量検定に適した新葉の病徴からの DNA 抽出法について検討した。その結果、病斑を打ち抜いたリーフディスクの水浸漬による抽出法が、検定の精度が維持されるとともに、期間の短縮 (1 ~ 2 日) が図られ、多量検定に適していると考えられた。

(<sup>1</sup>愛媛果樹研・<sup>2</sup>愛媛県庁・<sup>3</sup>生物研)

(46) 徳永雅之・木場章範・曳地康史 トウガラシ植物プロトプラストへのトバモウイルス感染系の開発 Tokunaga, M., Kiba, A. and Hikichi, Y.: Development of Tobamovirus Infection System into *Capsicum annuum* Protoplasts. トウガラシ植物 (*Capsicum annuum*) プロトプラスト単離系とトバモウイルス感染系の開発を行った。裏表皮を剥離した、

播種 4 週間後のトウガラシ植物の完全展開上位第一葉を、0.04% Pectolyase Y-23, 0.25% Cellulase Onozuka RS および 10 mM CaCl<sub>2</sub> を含むマンニトール溶液 (0.5 M マンニトール, 5 mM MES) に遮光下 26°C で 6 時間浸漬した。ガーゼでろ過した溶液を、800 rpm で 3 分間遠心後、沈殿画分を 3 mM CaCl<sub>2</sub> を含むマンニトール溶液で懸濁し、6 × 10<sup>5</sup> cell/ml のプロトプラスト液を得た。プロトプラスト液に、トバモウイルス RNA 25 µg を、エレクトロポレーション (150 V, 125 µF) を用いて接種した。氷上で 30 分静置後、800 rpm で 3 分間遠心し、沈殿画分を、Narabayashi らの培養液 (2009) に懸濁後、遮光下 26°C で静置培養した。トバモウイルス外被タンパク質抗体を用いたウエスタンブロット解析にて、接種 12 時間後以降、プロトプラストでのトバモウイルスの感染が認められ、本系を用いて、トウガラシ植物プロトプラストでのトバモウイルス感染能の解析が可能であると判断された。(高知大農)

(47) Alam, M.M.<sup>1</sup>, Kobayashi, K.<sup>2</sup>, Yaeno, T.<sup>2</sup>, Yamaoka, N.<sup>2</sup> and Nishiguchi, M.<sup>2</sup> **Virus Resistance in Transgenic Rice Over-expressing a Heme Activator Protein Gene (*OsHAP2E*): Rice necrosis mosaic virus.** We previously described the response of rice heme activator protein gene (*OsHAP2E*), one of CCAAT binding family, to fungal and bacterial infections using the transgenic rice in which the GUS reporter gene was driven by its promoter (Alam *et al.*, 2013). Here we demonstrate the response of *OsHAP2E* and the resistance of transgenic rice over-expressing *OsHAP2E* (*OsHAP2E*-OX) to *Rice necrosis mosaic virus* (RNMV). The expression of *OsHAP2E* was induced after RNMV infection. When *OsHAP2E*-OX lines were inoculated with RNMV, they showed a lower amount of RNMV RNAs accumulated compared with that in non-transgenic control plants. These lines displayed no significant symptoms by RNMV while the control plants showed yellowing and stunting. These results suggest that *OsHAP2E* contributes to resistance against viral pathogens. This work was supported partly by the Program for Promotion of Basic and Applied Researches in Bio-oriented Industry and Science and Technology Research Promotion Program for Agriculture, Forestry, Fisheries and Food Industry.

(<sup>1</sup>United Grad. Sch. Agric. Sci., Ehime Univ.,  
<sup>2</sup>Fac. Agr., Ehime Univ.)

(48) Wagh, S.G.<sup>1</sup>, Alam, M.M.<sup>1</sup>, Tanaka, T.<sup>2</sup>, Kobayashi, K.<sup>2</sup>, Yaeno, T.<sup>2</sup>, Yamaoka, N.<sup>2</sup> and Nishiguchi, M.<sup>2</sup> **Response of Rice RNA dependent RNA Polymerase1 (*OsRDR1*) and Suppressor of Gene Silencing (*OsSGS3*) to Pathogen**

**Infections.** The RNA-dependent RNA polymerases (RDRs) and suppressor of gene silencing3 (SGS3) play key roles in gene silencing. We investigated rice homologs of these genes, *OsRDR1* and *OsSGS3b*, to analyze the response of the genes in rice to fungal, bacterial and viral pathogens. Rice mutant lines by the insertion of retrotransposon *Tbs17* were used and the double mutant of the two genes (*OsRDR1/OsSGS3b*) was produced by crossing. These three mutant lines and wild type plants were inoculated with *Rice necrosis mosaic virus* (RNMV), *Magnaporthe oryzae* or *Xanthomonas oryzae* pv, *oryzae*. Among these lines, the double mutant line showed the highest susceptibility to all pathogens tested. Single mutant lines were more susceptible than wild type plants. These results suggest that *OsRDR1* and *OsSGS3b* have a positive defense role against viral, fungal and bacterial pathogens. This work was supported partly by the Program for Promotion of Basic and Applied Researches in Bio-oriented Industry and Science and Technology Research Promotion Program for Agriculture, Forestry, Fisheries and Food Industry.

(<sup>1</sup>United Grad. Schl. Agric. Sci., Ehime Univ.,

<sup>2</sup>Fac. Agr. Ehime Univ.)

(49) 中林優貴・海道真典・奥野哲郎・三瀬和之 *Nicotiana benthamiana* における RNA silencing の抑制に関与する *Cassia yellow blotch virus* (CYBV) 因子の探索 Nakabayashi, Y., Kaido, M., Okuno, T. and Mise, K.: Viral Factors Involved in the Suppression of RNA Silencing in *N. benthamiana* upon CYBV Infection. CYBV はプロモウイルス属に属し, *N. benthamiana* に全身感染する. 本研究では, 植物のウイルス抵抗性の1つとして知られている RNA silencing に対する抑制活性を CYBV がコードする4種のタンパク質 (1a, 2a, 3a および外被タンパク質) が持つのかを調べた. GFP を発現する *N. benthamiana* line 16c を用いた agro-infiltration assay によって解析した結果, CYBV および CYBV がコードする各タンパク質のいずれにおいても agro-infiltration した葉で誘導される local RNA silencing は抑制されなかった. 一方, CYBV と 2a 複製酵素タンパク質はサイレンシングシグナルが上位葉に伝わることで誘導される systemic RNA silencing を抑制した. また, 2a タンパク質を agro-infiltration した葉においてのみ壊死が観察された. さらに, 複製酵素活性を欠損させた変異体 2a タンパク質を発現させた注入葉では壊死が観察されなくなった. 現在, CYBV2a タンパク質による壊死と systemic RNA silencing の抑制の関連性について調査している.

(京大院農)

(50) 藤岡佳代子<sup>1,3,5</sup>・後藤良子<sup>3</sup>・野海 拓<sup>3</sup>・飯尾賢太郎<sup>2</sup>・能年義輝<sup>1,2</sup>・稲垣善茂<sup>1,2</sup>・山本幹博<sup>1,2</sup>・一瀬勇規<sup>1,2</sup>・白石友紀<sup>1,2,4</sup>・豊田和弘<sup>1,2</sup> 揮発性リモネンで処理したシロイヌナズナにおける病害抵抗性の促進作用

Fujioka, K., Gotoh, H., Noumi, T., Iio, K., Noutoshi, Y., Inagaki, Y., Yamamoto, M., Ichinose, Y., Shiraishi, T. and Toyoda, K.: Enhanced Disease Resistance on *Arabidopsis thaliana* Seedlings Exposed to Gaseous Limonene. 岡山県立矢掛高校サイエンス部では, 産業廃棄物を利用した省エネ防除技術の開発を目標として, 柑橘皮に含まれるリモネンに着目して研究を進めてきた. 実際, 校庭内のうどんこ病に罹病したウバメガシなどから採取した分生胞子を使って, 密閉シャーレ内に入れたタマネギ鱗片上での形態形成について観察したところ, 柑橘皮と非接触下で発芽管の伸長と付着器形成が阻害された (平成21年度第4回岡山大学大学院自然科学研究科高校生・大学院生による研究紹介と交流会), 今回, リモネンの作用機序に基づいた新たな防除法の確立を目指し, 揮発性リモネンによる植物の病害抵抗性の促進作用について調査した. シロイヌナズナの防御関連遺伝子を指標として調べた結果, 10 ~ 100  $\mu\text{mol/l}$  の処理でデフェンシン遺伝子 (*PDF1.2*) が顕著に誘導された. そこで, リモネンで処理した幼苗の炭疽病菌に対する罹病性について評価したところ, 未処理の場合と比較して誘導される病斑は著しく抑制された. このように, リモネンには病原菌に対する抗菌性と病害抵抗性の促進作用があり, 両者に適正な濃度と処理法を組み合わせることによって植物病害を軽減させる有効な方法として期待できることがわかった.

(<sup>1</sup>岡大院自然科学・<sup>2</sup>岡大院環境生命・<sup>3</sup>岡山県立矢掛高・

<sup>4</sup>現: 岡山生物研・<sup>5</sup>現: 岡山県立井原高)

(51) 松原和司<sup>1</sup>・西脇いつか<sup>1</sup>・Nguyen Thi Quyet<sup>1</sup>・木原淳一<sup>1</sup>・荒瀬 榮<sup>1</sup>・上野 誠<sup>1,2</sup> *Bacillus* 属菌の揮発性成分による植物病原菌の抑制について Matsubara, K., Nishiwaki, I., Nguyen, Q.T., Kihara, J., Arase, S. and Ueno, M.: Inhibition of Plant Pathogens by Volatile Substances of *Bacillus* sp. 演者らは島根県内の土壌及び植物から植物病原菌の防除に利用可能な菌の探索を行っている. 今回は, ヨモギから分離された細菌 (NI2 菌株) の有用性を調査した. 対峙培養によるスクリーニングにより, NI2 菌株は *Magnaporthe oryzae* の菌糸生育を抑制した. そこで, NI2 菌株の同定を 16S rDNA の ITS 領域のシーケンス解析により試みた. その結果, NI2 菌株は, *Bacillus pumilus* と高い相同性を示した. *B. pumilus* による揮発性抗菌物質の生産が知られていたことから, NI2 菌株による揮発性抗菌物

質の生産の有無について調査した。その結果、2分割シャーレを用いた実験により、NI2菌株は、*M. oryzae*, *Colletotrichum orbiculare* 及び *Botrytis cinerea* などの植物病原菌の菌糸生育を抑制した。さらに、NI2菌株はこれら植物病原菌の孢子発芽も抑制した。以上の結果は、NI2菌株が複数の植物病原菌の生育を抑制する揮発性抗菌物質を生産している可能性を示した。現在、NI2菌株の植物体上での防除効果と生産している揮発性抗菌物質についての解析を行っている。<sup>(1)</sup> 島根大生資・<sup>2</sup> 琉球大熱生研

(52) 西岡友樹<sup>1</sup>・鈴木陽子<sup>1</sup>・須賀晴久<sup>2</sup>・百町満朗<sup>1</sup>・清水将文<sup>1</sup> ネギ、タマネギおよびキュウリの根圏から分離した *Burkholderia* 属菌のキュウリつる割病抑制活性の比較 Nishioka, T., Suzuki, Y., Suga, H., Hyakumachi, M. and Shimizu, M.: Comparison of Fusarium Wilt Suppressiveness of *Burkholderia* Strains Isolated from Rhizospheres of Welsh Onion, Onion and Cucumber. 我々は、ネギ混植やタマネギ輪作によるウリ類つる割病抑制の機構解明を進めている。これまでに、ネギ属根圏の優占細菌は *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium* および *Chryseobacterium* であること、ネギとタマネギの根圏に生息する *Pseudomonas* がキュウリつる割病抑制に関与する可能性があること、を報告してきた(平成26年度大会)。今回は、ネギ、タマネギおよびキュウリの根圏から分離した *Burkholderia* 菌株のキュウリつる割病菌に対する抗菌活性および発病抑制活性の検定、各植物根圏に生息する *Burkholderia* の生息密度の算出、を行った。抗菌活性を有する菌株の割合は20～35%であり植物間で差がなかった。同様に、発病抑制活性にも植物間で差は見られなかったが、いずれも高い活性を示す傾向にあった。しかし、*Burkholderia* の生息密度はネギ、タマネギおよびキュウリの根圏でそれぞれ  $6.3 \times 10^7$ ,  $1.8 \times 10^8$  および  $6.4 \times 10^6$  であり、ネギ属根圏に高く生息した。以上から、ネギ混植やタマネギ輪作によるウリ類つる割病抑制には、*Burkholderia* も関与する可能性が示唆された。<sup>(1)</sup> 岐大院応生・<sup>2</sup> 岐大生命セ

(53) 南谷理紗<sup>1</sup>・百町満朗<sup>1</sup>・須賀晴久<sup>2</sup>・清水将文<sup>1</sup> 内生 *Bacillus* 菌株の茎葉処理によるトマト青枯病の抑制 Nanya, R., Hyakumachi, M., Suga, H. and Shimizu, M.: Suppression of Tomato Bacterial Wilt by Foliar Application of an Endophytic *Bacillus* Strain. 我々は、ナス科植物青枯病の防除に有効な茎葉散布型の微生物農薬の開発を目指し、その素材となる候補細菌を探索している。今回は、トマト植物体内から分離した *Bacillus* 属菌155株を対象に行った選抜試験の結果を報告する。まず、分離細菌株のトマト青枯病抑制活性を、試験管を用いた幼苗試験で検定した。播

種10日目に発病を評価した結果、15菌株が抑制活性を示し、GEBT35株に最も強い活性が認められた。そこで、ピートモスで2週間育苗したトマトの茎葉をGEBT35株懸濁液( $4 \times 10^7$  cfu/ml)に1時間浸漬した後、青枯病菌( $1 \times 10^8$  cfu/ml)を断根浸漬接種した。接種1週間後の発病を調査した結果、GEBT35株処理区では発病が約42～100%抑制された。さらに、8葉期のトマト苗にGEBT35株懸濁液( $4 \times 10^7$  cfu/ml) 50 mlを茎葉散布し、1日後に青枯病菌汚染土( $2.5 \times 10^5$  cfu/g 乾土)を詰めたビニルポットに移植した。移植15～27日後に発病調査した結果、GEBT35株処理区では発病が36～100%抑制された。以上の結果から、内生細菌の茎葉処理で青枯病を防除できる可能性が示唆された。<sup>(1)</sup> 岐大応生・<sup>2</sup> 岐大生命セ

(54) 上野 誠<sup>1,2</sup>・新里尚也<sup>2</sup> 沖縄微生物ライブラリーを利用したマンゴー炭疽病の抑制について Ueno, M. and Shinzato, N.: Control of Anthracnose of Mango Caused by *Colletotrichum acutatum* Using Okinawa Microbial Library. 沖縄微生物ライブラリーには、亜熱帯地域である沖縄県内の島々で分離された微生物が保存されている。今回は、沖縄微生物ライブラリーに保存されている *Bacillus* 属菌を用いて、マンゴー炭疽病菌の生育を抑制できる揮発性物質を生産する微生物の探索を行った。沖縄微生物ライブラリーに保存されていた216菌株の *Bacillus* 属菌の中から57菌株を用いて、2分割シャーレでの揮発性物質生産菌のスクリーニングを行った。その結果、57菌株の *Bacillus* 属菌の内、*B. subtilis*, *B. pumilus* 及び *B. licheniformis* のいくつかの菌株でマンゴー炭疽病菌の菌糸生育が抑制された。そこで、選抜した菌株を用いて、マンゴー上でのマンゴー炭疽病菌の抑制効果を調査した。その結果、マンゴー上においても、マンゴー炭疽病菌の生育が抑制された。これらの結果は、沖縄微生物ライブラリーに保存されている *Bacillus* 属菌が、マンゴー炭疽病の抑制に利用できる可能性を示した。現在、これら *Bacillus* 属菌が生産する揮発性抗菌物質について解析中である。<sup>(1)</sup> 島根大生資・<sup>2</sup> 琉球大熱生研

(55) 岡久美子<sup>1</sup>・佐藤幸生<sup>2</sup>・中桐 昭<sup>1</sup>・尾谷 浩<sup>1</sup> 数種きのこ由来揮発性抗菌物質の植物病原糸状菌に対する抗菌活性の比較 Oka, K., Sato, Y., Nakagiri, A. and Otani, H.: Comparison of Antimicrobial Activities of Volatile Antibiotics Produced by Some Mushrooms against Phytopathogenic Fungi. 木材腐朽性きのこのブナハリタケやブナシメジは植物病原糸状菌に対して活性を示す揮発性抗菌物質(VA)を生産する(H25年度関西西部会, H26年度大会)。今回は、菌根性きのこである *Russula* sp. の子実体から抽出した揮

発性物質も同様の活性を示すことが明らかとなったので、これら3種類のきのこ由来VAの抗菌活性を比較した。VAはいずれもキャベツ黒すす病菌 (*Alternaria brassicicola*) の分生子発芽を顕著に抑制したが、ブナハリタケやブナシメジ由来のVAではVAの除去により発芽を開始したのに対して、*Russula* sp. きのこ由来のVAではVA除去による影響はみられず、ブナハリタケやブナシメジ由来VAの活性は静菌的、*Russula* sp. きのこ由来VAの活性は殺菌的であった。また、絶対寄生菌であるキュウリうどんこ病菌 (*Podosphaera xanthii*) の分生子発芽に対するVAの活性を調べると、ブナハリタケおよび *Russula* sp. きのこ由来のVAは発芽を顕著に抑制したのに対してブナシメジ由来VAは抑制せず、これらVAの植物病原糸状菌に対する活性はそれぞれ異なることが示唆された。

(<sup>1</sup>鳥取大農・<sup>2</sup>富山県立大)

(56) 鳴坂義弘<sup>1</sup>・南 太一<sup>2</sup>・浜崎隆史<sup>2</sup>・高崎智子<sup>2</sup>・北川隆徳<sup>2</sup>・安原貴臣<sup>2</sup>・鳴坂真理<sup>1</sup> 植物に病害抵抗性を誘導するビール類酵母抽出物の作用機作の解明 Narusaka, Y., Minami, T., Hamasaki, T., Takasaki, S., Kitagawa, T., Yasuhara, T. and Narusaka, M.: The Mechanism for Induced Plant Disease Resistance by Yeast Cell Wall Extract. 私たちはこれまでに、細胞壁を主成分とするビール類酵母抽出物(家庭園芸用複合肥料 豊作物語)にはエリシター活性が存在し、その植物への処理により、植物の種々の病害虫に対する防御応答を誘導することを明らかにしてきた。本研究において、酵母抽出物を処理したシロイヌナズナは、ジャスモン酸/エチレンシグナル伝達経路上のマーカー遺伝子 *PDF1.2* の速やかな発現を誘導し、次いで、サリチル酸シグナル伝達経路上のマーカー遺伝子 *PR1* の発現を強く誘導した。そこで、酵母抽出物をアブラナ科植物(シロイヌナズナ、チンゲンサイ)に処理した後、アブラナ科類黒斑細菌病菌 (*Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*, *Pseudomonas cannabina* pv. *alisalensis*) およびアブラナ科野菜類炭疽病菌 (*Colletotrichum higginsianum*) を噴霧接種した結果、これら病原体に対する発病抑制効果が認められた。また、防御シグナル伝達経路の欠損変異体を用いた解析により、本病害防除は、ビール類酵母抽出物による直接的な抗菌効果ではなく、本資材の処理により誘導された抵抗性発現効果によると考えられた。

(<sup>1</sup>岡山生科研・<sup>2</sup>アサヒグループホールディングス(株))

(57) 川口 章 非病原性 *Rhizobium vitis* ARK-1 株はブドウ根頭がんしゅ病菌の *vir* 領域の発現と菌数の増加を抑制する Kawaguchi, A.: Nonpathogenic *Rhizobium* (= *Agrobacterium*) *vitis* Strain ARK-1 Suppresses the *vir*

Genes Expression and Bacterial Cell Population of Tumorigenic *A. vitis* in Grapevine Seedlings. 演者らはこれまで、果樹類に発生する根頭がんしゅ病に対して高い防除効果を示す拮抗細菌として、ブドウ樹体内から分離された非病原性 *Rhizobium vitis* ARK-1 株を報告した。ここでは、拮抗作用機構の解明を目的として、ARK-1 株と病原細菌 (Ti 株) をブドウ「ネオ・マスカット」1年生実生苗の主幹部に等量混合接種した際の主幹内における両菌株の菌数と、Ti 株の病原性関連遺伝子群 (*vir* 領域) の発現量を測定した。混合接種7日～88日後までARK-1株の菌数がTi株よりも多く推移したが、接種1～5日後までは明瞭な差は認められなかった。一方、接種1日後のARK-1株と混合接種したブドウ主幹部の組織から抽出した全RNAを鋳型とし、RT-qPCRによって*vir*領域内の*virD2*と*virE2*の発現量を定量した結果、ARK-1株を混合した接種部位の発現量はTi株単独接種における発現量の1/3～1/7まで低下していた。以上より、ARK-1株の拮抗作用機構には、短期的にはTi株の*vir*領域の発現抑制が、長期的にはTi株の増殖抑制が関与すると考えられた。(岡山農研)

(58) Abraham, A., Kimani, S.K., Jamal, A. and Suzuki, N. Diverse Mycoviruses Associated with Head- and Seed-borne Mycoflora of Wheat from Ethiopia. Over 500 fungal isolates belonging mainly to genera *Fusarium*, *Alternaria* and *Phoma* were obtained from 150 wheat seed and 120 head samples collected from various locations in Ethiopia in 2013. About 5% of the isolates were dsRNA-positive, implicating viral infection. Sequence analyses of representative dsRNAs revealed the infections of an isolate belonging to *F. incarnatum-equiseti* complex by a new virus (a member of a possibly unassigned family), of an isolate of *F. graminearum* by two new mitoviruses distantly related to Ophiostoma mitovirus 7, and of isolates of *F. chlamydosporum* by a hypovirus. In addition, sequences of a possible new mitovirus and two other mitoviruses closely related to *Fusarium circinatum* virus-1 and -2-1 were obtained from isolates of *F. oxysporum*. Some isolates of *Alternaria alternata* and *Phoma* sp. were shown to be infected by a possibly new partitivirus and a totivirus, and a chrysovirus closely related to *Penicillium chrysogenum* virus, respectively. These combined results show that mycoviruses of fungi colonizing wheat in Ethiopia are extremely diverse. (IPSR, Okayama Univ.)

(59) Md. Mamunur Rashid・津下誠治・伊川有美 イネ白葉枯病菌 *XO02767* にコードされる *LysR* 型転写制御因子は *hrp* 遺伝子群の発現を正に制御する Rashid, M.M.,

Tsuge, S. and Ikawa, Y.: A LysR Family Transcriptional Regulator XOO2767 is Involved in the Positive Regulation of *hrp* Gene Expression in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. イネ白葉枯病菌 (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) の *hrp* 遺伝子群の発現には、2つの主要制御因子 HrpG および HrpX のほか、複数の因子が関与している。今回、ランダムトランスポゾン法により、本細菌の *hrp* 遺伝子の1つ *hpa1* の発現が著しく低下する変異株を得た。シークエンス解析を行ったところ、本変異株では LysR 型転写制御因子をコードする XOO2767 が破壊されていた。XOO2767 変異株では、*hrpG*、*HrpX*、および *hrcU* の発現が低下していたことから、XOO2767 は *hrpG* の発現を制御することにより、HrpG の制御する *hrpX*、さらには HrpX の制御する他の *hrp* 遺伝子の発現を制御することが示唆された。一方、XOO2767 に隣接する XOO2768 ~ XOO2771 にはガラクトース代謝に関与する遺伝子が存在している。XOO2767 変異株では XOO2768 の発現も低下すること、および本変異株はガラクトースを単一の糖源とする培地での増殖が著しく低下することも明らかとなった。以上、LysR 型転写制御因子 XOO2767 はガラクトース代謝に関わるとともに *hrp* 制御タンパク質 HrpG の発現を介して *hrp* 遺伝子群の発現の正の制御因子として機能することが明らかとなった。

(京府大生命環境)

(60) 澤田貴博<sup>2</sup>・田口富美子<sup>1</sup>・山本幹博<sup>1</sup>・稲垣善茂<sup>1</sup>・能年義輝<sup>1</sup>・豊田和弘<sup>1</sup>・一瀬勇規<sup>1</sup> *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* における病原性制御因子 *ArsR* の機能解析  
Sawada, T., Taguchi, F., Yamamoto, M., Inagaki, Y., Noutoshi, Y., Toyoda, K. and Ichinose, Y.: Characterization of Transcriptional Regulator of Virulence, *ArsR*, in *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*. これまで、*Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* 6605 の病原性関連遺伝子の欠損変異株を作出し、その影響を解析してきた。病原性を制御する cAMP 結合性転写因子 Vfr (Virulence factor regulator) の欠損株は表面運動能並びに発病能力が低下した。本菌の遺伝子発現をマイクロアレイ解析したところ、*arsR* (arsenic repressor) の発現が野生株と比較して約 14 倍に増高していた。*ArsR* はヒ素耐性に関わる転写因子として同定され、金属耐性、色素や毒素生産、病原性、バイオフィーム形成などを制御すると報告されているが、植物病原細菌における知見はほとんどない。そこで、上述の *arsR* 遺伝子の変異株を作出したところ、軟寒天培培地上における運動能、ならびに宿主タバコに対する発病能力が低下した。また、マイクロアレイ解析の結果から *arsR* 欠損株では多くの type III secretion system (T3SS) 関連遺伝子の発現が半分以下に抑えられていた。

以上の結果から、*ArsR* はべん毛運動と T3SS 関連遺伝子の発現に関わる病原性制御因子であることが示唆された。

(<sup>1</sup>岡山大学院環境生命科学・<sup>2</sup>岡山大学農学部)

(61) 内 弘貴<sup>1</sup>・木場章範<sup>1</sup>・曳地康史<sup>1</sup>・大西浩平<sup>2</sup>

**NtrB-NtrC 二成分制御系は青枯病菌の宿主導管内での増殖に必須である** Uchi, H., Kiba, A., Hikichi, Y. and Ohnishi, K.: NtrB-NtrC Two-component System is Necessary for *Ralstonia solanacearum* Growth in Xylem of Host Plant. 青枯病菌のアンモニア利用を制御する二成分制御系 NtrB-NtrC の変異株は宿主に対する病原性が低下することを昨年度の関西部会で報告した。今年度は、病原性低下の要因について詳細な解析を行った。センサーキナーゼ *ntrB* 変異株は宿主植物ナスの細胞間隙では正常に増殖するが導管内では増殖できなかった。アンモニア欠乏時には NtrB によってリン酸化された NtrC がグルタミン合成酵素遺伝子の発現を活性化する。青枯病菌は *ntrB-ntrC* の近傍に位置する *glnA1* と離れた位置にある *glnA2* の2種類のグルタミン合成酵素遺伝子を有している。試験管内最少培地において、*glnA1* の発現のみが *ntrB* 変異株で顕著に減少したことから、NtrC のターゲットは *glnA1* であることが示された。一方、植物体内における *glnA1* の発現は、細胞間隙においては *ntrB* 変異の影響を受けなかったのに対し、導管内では *ntrB* 変異によって顕著に低下した。以上のことから、NtrB-NtrC 二成分制御系変異株は導管内におけるアンモニア欠乏に適応出来ず、増殖できないため病原性が低下していることが示唆された。(高知大農・高知大総研セ)

(62) 谷口しづく<sup>1</sup>・三好正花<sup>2</sup>・玉置大介<sup>2</sup>・山田祥子<sup>2</sup>・田中啓一朗<sup>2</sup>・宇治雄也<sup>2</sup>・田中 涼<sup>2</sup>・秋光和也<sup>1,2</sup>・五味剣二<sup>1,2</sup> ジャスモン酸誘導性セスキテルペン合成酵素遺伝子の単離とその合成産物のイネ病害抵抗性における役割  
Taniguchi, S., Miyoshi, S., Tamaoki, D., Yamada, S., Tanaka, K., Uji, Y., Tanaka, S., Akimitsu, K. and Gomi, K.: Isolation of Jasmonate-induced Sesquiterpene Synthase and Role of its Product in Rice Defense System. 我々の研究により、ジャスモン酸 (JA) 応答性揮発性物質がイネ白葉枯病抵抗性において重要であることが明らかとなっている。そこで今回、JA 処理によって誘導される機能未知な揮発性テルペン合成酵素遺伝子 (TPS) の解析を進めた。本 TPS の細胞内局在解析を行ったところ、細胞質に局在したため、主に細胞質で合成されるセスキテルペンを合成する TPS であると示唆された。次に、本 TPS による合成産物の同定を行ったところ、セスキテルペンである  $\beta$ -elemene と  $\beta$ -bisabolene が合成されることが分かった。 $\beta$ -elemene は JA 処理イネで蓄積がみられたが、 $\beta$ -bisabolene は検出されなかった。

そこで、 $\beta$ -elemene の病理学的役割を解析したところ、白葉枯病菌に対しては何も作用しないが、いもち病菌に対しては抗菌活性を持つことが明らかとなった。さらに、JA 非感受性組換えイネにおいては、JA 処理後の本 *TPS* の発現誘導や  $\beta$ -elemene の蓄積はみられなかった。以上のことから、 $\beta$ -elemene は JA によって誘導されるイネ病害抵抗性において抗菌物質として機能していると示唆された。

(<sup>1</sup>愛媛連大農・<sup>2</sup>香川大農)

(63) 宇治雄也<sup>1</sup>・谷口しづく<sup>2</sup>・玉置大介<sup>1</sup>・宍戸穂高<sup>1</sup>・山田祥子<sup>1</sup>・田中 涼<sup>1</sup>・秋光和也<sup>1,2</sup>・五味剣二<sup>1,2</sup> イネにおけるジャスモン酸シグナル制御因子 **OsJAZ8** と相互作用する **OsMYC2** の病理学的役割 Uji, Y., Taniguchi, S., Tamaoki, D., Shishido, H., Yamada, S., Tanaka, S., Akimitsu, K. and Gomi, K.: Role of OsJAZ8-interacting Transcription Factor OsMYC2 in Rice Defense Response. これまでの我々の研究により、ジャスモン酸 (JA) によって誘導されるイネ白葉枯病抵抗性において、負の制御因子である **OsJAZ8** が重要であることが明らかとなっている。さらに我々は、イネの JA 誘導性遺伝子群の中から、**OsJAZ8** と直接相互作用する転写因子として **JIGEN1** を見出していた。**JIGEN1** は花序形成等の発達制御に重要な転写因子として報告された **OsMYC2** と同一遺伝子であった。しかしながら、**OsMYC2** の病理学的役割は解明されていないため、JA 誘導性の白葉枯病抵抗性における **OsMYC2** の役割について解析を進めた。その結果、**OsMYC2** はイネに存在する 15 個の **JAZ** のうち、**OsJAZ14** 以外の **JAZ** と結合することが明らかとなった。また、**OsMYC2** は **OsJAZ8** を介した JA シグナル経路において働くことが示唆された。さらに、**OsMYC2** 過剰発現イネでは、抵抗性関連遺伝子が恒常的に発現しており、白葉枯病に対する抵抗性が強化された。以上のことから、**OsMYC2** は **OsJAZ8** の介する JA 誘導性のイネ白葉枯病抵抗性において重要な転写因子であると示唆された。

(<sup>1</sup>香川大農・<sup>2</sup>愛媛連大農)

(64) 田中 涼・宇治雄也・宍戸穂高・秋光和也・五味剣二 ジャスモン酸シグナル制御因子である **OsNINJA1** と相互作用する新規イネタンパク質の探索 Tanaka, S., Uji, Y., Shishido, H., Akimitsu, K. and Gomi, K.: Investigation of Novel OsNINJA1-interacting Proteins in Rice. これまでの我々の研究により、**OsJAZ8** が介在するジャスモン酸 (JA) シグナル伝達機構がイネ白葉枯病抵抗性誘導において重要であることが明らかとなっている。本研究では、シロイヌナズナにおいて **JAZ** や **TPL** と結合することによって JA シグナルを負に制御することが明らかとなっている **NINJA** の、イネホモログである **OsNINJA1** に着目し、そのイネに

おける基本的性状を調査した。その結果、**OsNINJA1** は全ての **OsJAZ** タンパク質や **OsTPL1** と複合体を形成し JA シグナルを負に制御することが示唆された。更に **OsNINJA1** と相互作用する新規タンパク質を探索するためにイネ cDNA ライブラリーを用いて Yeast two-hybrid スクリーニングを行ったところ、**OsJAZ** や **OsTPL1** 以外の新規結合タンパク質を複数同定した。その 1 つである **FHA domain-containing protein** については、シロイヌナズナにおいて JA シグナルに関与する可能性がすでに示されているため、現在、本タンパク質に着目し、その細胞内局在や遺伝子発現の JA 応答性等について解析を進めている。(香川大農)

(65) 田中啓一朗<sup>1</sup>・玉置大介<sup>1</sup>・瀬尾茂美<sup>2</sup>・谷口しづく<sup>3</sup>・秋光和也<sup>1,3</sup>・五味剣二<sup>1,3</sup> イネ防御システムにおけるジャスモン酸及びサリチル酸の役割 Tanaka, K., Tamaoki, D., Seo, S., Taniguchi, S., Akimitsu, K. and Gomi, K.: Role of Jasmonic Acid and Salicylic Acid in Rice Defence System.

ジャスモン酸 (JA) とサリチル酸 (SA) は植物の防御応答において重要な役割を果たしており、双子葉植物では JA シグナルと SA シグナルは拮抗することが明らかとなっている。しかしながら、単子葉植物であるイネにおける JA シグナルと SA シグナル間のクロストークは不明確であった。これまでの我々の研究により、hemibiotroph な病原菌である *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* が引き起こす白葉枯病に対する抵抗性に JA が関与していることが示されている。また、JA 処理イネでは、SA のアナログであるベンゾチアゾール処理時に発現誘導される遺伝子の半分以上が誘導されていることが明らかとなった。これらの結果は、JA と SA の両方によって活性化される共通の防御システムが存在することを示唆している。さらに、JA 処理イネでは SA 量が減少していたが、そのメチル体であるサリチル酸メチル (MeSA) の蓄積が増加していることが明らかとなった。現在、MeSA のイネにおける JA と SA の共通防御システムへの関与の可能性について解析を進めている。

(<sup>1</sup>香川大農・<sup>2</sup>生物研・<sup>3</sup>愛媛連大農)

(66) 間瀬圭介・Dario Canelon-Suarez・Kelsey Griffin・John Petersen・Rachel K. Meyers・Megan Siegle・片桐文章 低コスト (約 \$2,300) で製作可能な人工気象器の開発・性能評価 Mase, K., Canelon-Suarez, D., Griffin, K., Petersen, J., Meyers, R.K., Siegle, M. and Katagiri, F.: Design and Construction of an Inexpensive House-made Plant Growth Chamber. 温度、湿度および日照条件は、植物の免疫応答に大きな影響を及ぼす。このため、植物育成用の人工気象器は植物免疫の研究分野において必須の実験機器であるが、精度高く環境を制御可能な市販品は非常に高価である。

このため、多くの植物の育成が必要となる大規模な研究の遂行を試みた際に、十分な規模の人工気象器の有無によって研究遂行の可否が決定される。この問題を解決するために、我々は約 \$2,300 (約 23 万円) で製作可能な人工気象器を設計・開発した。人工気象器内の総床面積は、 $4.3 \text{ m}^2$  であり、病原菌接種実験に用いる五週齢シロイヌナズナ 1536 個体を生育可能である。また、温度、湿度の制御能は、1 時間当たりの平均温度変化  $\pm 0.5^\circ\text{C}$ 、平均湿度変化  $\pm 5\%$  以内である。この人工気象器を用いてシロイヌナズナへのトマト斑葉細菌病菌の接種実験を行い、菌の増殖を評価したところ、我々の人工気象器でも市販の人工気象器での実験と同様に安定した結果が得られた。よって、我々の開発した人工気象器は、植物免疫応答を研究するにあたり十分な性能を保持すると結論づけた。(University of Minnesota)

(67) 赤木靖典<sup>1</sup>・石原 亨<sup>1</sup>・柘植尚志<sup>2</sup>・児玉基一朗<sup>3</sup>  
*Alternaria alternata* におけるセラミド合成酵素遺伝子の機能解析 Akagi, Y., Ishihara, A., Tsuge, T. and Kodama, M.: Functional Analysis of the Ceramide Synthase Genes in *Alternaria alternata*. トマトアルターナリア茎枯病菌 (茎枯病菌) は、AAL 毒素を生産し、特定のトマト品種に病気を引き起こす。Sphinganine analog mycotoxins である AAL 毒素は、宿主トマトのセラミド合成を阻害することで細胞死を誘起すると考えられている。AAL 毒素生合成遺伝子クラスター上には、セラミド合成酵素遺伝子 (Cer) ホモログ (AAL 毒素抵抗性遺伝子 *Asc1* ホモログ) である *ALT7* (*AaLAG3*) が存在するが、本遺伝子破壊株では、AAL 毒素生産能および AAL 毒素耐性に変化は認められなかった。茎枯病菌のドラフトゲノム解析により、本菌は *AaLAG3* 以外に 2 つの Cer ホモログ (*AaLAG1* および *AaLAG2*) を有していることが示された。これら遺伝子の破壊実験を行った結果、*AaLAG1* 破壊株の成長は、PDA および V8 培地上で著しく遅延することが明らかとなった。また、*AaLAG2* 破壊株では V8 培地でわずかに成長遅延が認められたが、*AaLAG3* 破壊株では親株と差異はみられなかった。一方、*AaLAG2/AaLAG3* ダブル破壊株においては、著しい成長遅延と AAL 毒素生産の失活が認められた。

(<sup>1</sup>鳥取大農・<sup>2</sup>名大院生農・<sup>3</sup>鳥取連大)

(68) Galarza, L.<sup>1</sup>, Akagi, Y.<sup>2</sup>, Takao, K.<sup>1</sup>, Peralta, E.L.<sup>3</sup>, Santos, O.E.<sup>3</sup> and Kodama, M.<sup>1</sup> **Identification of the Gene (*ThSNF1*) Encoding a Putative Protein Kinase in *Trichoderma harzianum*.** *SNF1* encodes a protein kinase that plays an important role for transcriptional activation of glucose-repressed genes in yeast. In plant pathogenic fungus, *Cochliobolus carbonum*, the homolog of *SNF1* (*ccSNF1*) is

required for expression of numerous degrading enzymes such as  $\beta$ -1,3-glucanase, pectinase and xylanase, and affects the virulence on host plants. *Trichoderma harzianum*, a biocontrol agent for various plant pathogens, is known to degrade cell wall of many fungi. In this study, we identified a homolog of *SNF1* (*ThSNF1*) in *T. harzianum* by draft genome sequencing of the strain T36. Targeted gene disruption of *ThSNF1* was performed by PEG method with fusion PCR products. The growth of the mutant markedly decreased on the minimal medium with chitin as a carbon source. Mycoparasitism tests of the mutant on several plant pathogens such as *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Panama disease) are now in progress.

(<sup>1</sup>UGSAS, Tottori Univ., <sup>2</sup>Fac. Agr., Tottori Univ., <sup>3</sup>CIBE ESPOL)

(69) 森田雄一<sup>1</sup>・上森喬大<sup>1</sup>・井上加奈子<sup>1</sup>・中屋敷均<sup>1</sup>・兼松聡子<sup>2</sup>・池田健一<sup>1</sup> 白紋羽病菌の和合性及び不和合性反応についての細胞学的・分子生物学的解析 Morita, Y., Uwamori, T., Inoue, K., Nakayashiki, H., Kanematsu, S. and Ikeda, K.: Cytological and Transcriptional Analyses of Homogenic Compatibility and Heterogenic Incompatibility in *Rosellinia necatrix*. 果樹類白紋羽病菌に対する新しい生物防除法であるヴァイロコントロール法は、菌糸融合を介したマイコウィルスの伝搬が重要である。しかしながら、遺伝子型の異なる菌株間では細胞質不和合性反応を起こし、菌糸融合することなく細胞死が引き起こされるためウイルスが伝搬されない。そこで本研究では、和合性反応及び不和合性反応の各々を制御する分子的機構の解明を試みた。まずは、菌糸接触領域のアクチン配向を LifeAct-GFP 変異株を用いて評価したところ、不和合性と比較して和合性の方において、より大きく変動していることが認められた。さらに、次世代シーケンサを用いた RNA-seq により、和合性反応と比較して、不和合性反応時に特異的に発現が変動する遺伝子の網羅的な解析を行った。その結果、約 1000 個の遺伝子の発現に変化があった。これらの遺伝子発現変動から推測される不和合性機構について議論する。

(<sup>1</sup>神戸大院農・<sup>2</sup>果樹研究所)

(70) 亀田拓也・長谷川育子・北島義章・岩崎行玄・加藤久晴 イネの感染特異的タンパク質遺伝子 *OsPR17* の発現解析 Kameda, T., Hasegawa, Y., Kitajima, Y., Iwasaki, Y. and Kato, H.: A Comprehensive Expression Analysis of Pathogenesis-related Protein 17 (*OsPR17*) Gene Family in Rice. 3 量体 G タンパク質  $\alpha$  サブユニット (Ga) の恒常的活性型を導入したイネ形質転換体 (QL/DK22) では病害抵抗性が向上することが示されている (平成 18 年度大

会). QL/DK22 で発現量が増加している遺伝子を解析したところ、感染特異的タンパク質の 1 つである PR17 が見出された. PR17 は PR タンパク質の最も新しいファミリーであり、アミノ酸配列からメタロプロテアーゼである可能性が示唆されているが、その機能は不明である. そこで、イネの病害抵抗性における PR17 の機能解析の一環として発現解析を行った. イネには 3 つの PR17 遺伝子 (*OsPR17-1* ~ 3) が存在するが、*OsPR17-1* および *OsPR17-3* については、野生型イネに比べ Ga 欠損イネ (DK22) での発現量が低く、QL/DK22 での発現量が高いことから、それらの発現に G タンパク質が関与していることが示された. また、イネ植物体および培養細胞に各種エリシターを処理したところ、すべての *OsPR17* の発現が誘導されることが確認された. 現在、各 *OsPR17* の組換えタンパク質を用いた酵素活性について解析を進めている. (福井県立大)

(71) 松平一志<sup>1</sup>・加野彰人<sup>1</sup>・福元健志<sup>1</sup>・大谷耕平<sup>1</sup>・望月 進<sup>1</sup>・吉原明秀<sup>1</sup>・何森 健<sup>1</sup>・小原敏明<sup>2</sup>・重松由夫<sup>2</sup>・石田 豊<sup>3</sup>・市村和也<sup>1</sup>・五味剣二<sup>1</sup>・秋光和也<sup>1</sup> 希少糖の植物への作用 (34): イネで D-allose リン酸化を行う *OsHXX6* の酵素学的諸性質 Matsudaira, K., Kano, A., Fukumoto, T., Ohtani, K., Mochizuki, S., Yoshihara, A., Izumori, K., Ohara, T., Shigematsu, Y., Ishida, Y., Ichimura, K., Gomi, K. and Akimitsu, K.: Effect of Rare Sugars to Plants (34): An Enzymatic Characterization of *OsHXX6* Involving Phosphorylation of D-allose in Rice. 自然界に多量に存在する単糖に対して、微量にしか存在しない単糖を希少糖という. 希少糖のひとつである D-allose は、イネの生長抑制と病害抵抗性を誘導する. D-allose をイネに処理して、イネヘキソキナーゼ遺伝子 (*OsHXXs*) の発現挙動を解析した結果、イネゲノムに 10 個存在する *OsHXXs* の中で *OsHXX6* の発現が誘導された. *OsHXX6* は D-allose リン酸化活性 (A6P 生産性) が強く、基質となる糖の種類も多いことから、*OsHXX6* が D-allose 作用において重要な役割をもつ可能性があると考え、大腸菌で発現させた *OsHXX6* の酵素学的諸性質を明らかにした. その結果、*OsHXX6* の至適温度は 30–40°C、至適 pH は 8–9 であり、pH 5 以下 pH 11 以上または 45°C 以上で 12 時間静置すると、リン酸化活性が著しく低下した. さらに *OsHXX6* の活性には Mg イオン、Mn イオン、Co イオン等の影響が大きいかも明らかとなった. また、*OsHXX6* の酵素活性基部の特定のためにターゲットアミノ酸を置換した置換型変異 *OsHXX6* では、リン酸化活性が著しく減少するか、消失していた. これらの諸性質は、D-glucose、D-allose のいずれを基質にした場合でも差はなかった.

(<sup>1</sup>香川大農・<sup>2</sup>三井化学アグロ・<sup>3</sup>四国総合研)

(72) 大西優太郎<sup>1</sup>・野元美佳<sup>1</sup>・板谷知健<sup>1</sup>・三田村梨帆<sup>2</sup>・多田安臣<sup>1</sup> CDPK により誘導される病害応答性遺伝子発現機構の解明 Onishi, Y., Nomoto, M., Itaya, T., Mitamura, R. and Tada, Y.: Elucidation of the Transcription Machinery Responsible for Disease Resistance Induced by CDPK. 植物は病原菌感染時において、細胞内への急激な  $\text{Ca}^{2+}$  流入を引き起こし、 $\text{Ca}^{2+}$  センサーを介して防御応答を誘導する. しかし、 $\text{Ca}^{2+}$  認識による病害抵抗性遺伝子発現機構は十分には明らかにされていない. 本研究では、シロイヌナズナの  $\text{Ca}^{2+}$  依存性タンパク質リン酸化酵素 (Calcium-Dependent Protein Kinase: CDPK) AtCPK5 が担う転写制御機構に関し、その標的因子の同定を試みた. AtCPK5 は、WRKY や HSF などの幾つかの転写因子をリン酸化することで病害抵抗性遺伝子発現を制御することが明らかにされている. そこで、AtCPK5 と防御応答関連転写因子、特に WRKY 及び TGA ファミリーとの相互作用の有無を *in vitro* において調査した. その結果、AtCPK5 と防御応答を負に制御する WRKY 転写因子が相互作用することを確認し、AtCPK5 は病原菌感染時にリプレッサー WRKY の機能を抑制することにより、疾病防御応答機構を活性化することが示された. また、あわせて、逆遺伝学的手法により、 $\text{Ca}^{2+}$  流入に関与することが示唆される DCS 遺伝子を同定したので報告する.

(<sup>1</sup>名古屋大理・<sup>2</sup>香川大農)

(73) 能年義輝<sup>1</sup>・香西雄介<sup>1</sup>・山中由利恵<sup>1</sup>・渡邊 恵<sup>1</sup>・北松瑞生<sup>2</sup> 環状ペプチドライブラリーを探索源とした植物免疫プライミング剤の同定 Noutoshi, Y., Kouzai, Y., Yamanaka, Y., Watanabe, M. and Kitamatsu, M.: Identification of Plant Immune-priming Agents Using Cyclic Peptide Library as a Screening Source. 我々はシロイヌナズナ培養細胞がトマト斑葉細菌病菌に対して示す細胞死を指標とし、薬剤が植物免疫応答に及ぼす影響を定量評価できる多検体アッセイ系を確立した. そして種々の低分子化合物群から植物免疫プライミング剤を同定してきた. 今回我々は、新たな探索源として低分子環状ペプチドを用いることで新剤の単離を目指すと共に、将来的には生理活性環状ペプチドを合成生物学的手法で発現させることで免疫賦活化した耐病性品種を作出する手法の開発を念頭に置いた研究を展開している. まず、パラレルペプチド合成機でのマイクロスケールカラムを用いた Fmoc 固相ペプチド合成法を基に、樹脂上で 7mer ペプチドを効率良く環化できる反応条件を決定した. 3 個の任意箇所を含む 20 種類の天然アミノ酸で構成される 8000 種類の 7mer 環状ペプチド分子からなるラ

イブラリーの作製を進めており、現在までに 5000 個の合成が完了した。このうち 1600 個については細胞ベースアッセイを終え、植物免疫プライミング剤、免疫阻害剤、細胞死誘導剤の各候補薬剤を得ることに成功している。

(<sup>1</sup>岡大院環境生命・<sup>2</sup>近畿大学理工)

(74) 谷川友里佳<sup>1</sup>・渡邊 恵<sup>1</sup>・熊谷和夫<sup>2</sup>・香西雄介<sup>1</sup>・山中由利恵<sup>1</sup>・木村麻美子<sup>1</sup>・稲垣善茂<sup>1</sup>・山本幹博<sup>1</sup>・一瀬勇規<sup>1</sup>・豊田和弘<sup>1</sup>・能年義輝<sup>1</sup> サリチル酸配糖化酵素を用いた抵抗性誘導剤の標的ベース探索 Tanigawa, Y., Watanabe, M., Kumagai, K., Kouzai, Y., Yamanaka, Y., Kimura, M., Inagaki, Y., Yamamoto, M., Ichinose, Y., Toyoda, K. and Noutoshi, Y.: Target-based Screening for Plant Defense Activators Using Salicylic Acid Glucosyltransferase. 我々は抵抗性誘導剤のシーズ探索を目的とし、独自の細胞ベースアッセイ法により 7 個の植物免疫プライミング剤 (インプリマチン) を単離した。この一部はサリチル酸を不活化する配糖化酵素 (SAGT) を阻害する。そこでさらに強力な候補剤の単離を目指し、SAGT を用いた標的ベース探索を実施した。まず、配糖化反応を蛍光基質により間接的に定量検出できるアッセイ系を確立した。具体的には、384 プレートを用いた酵素反応におけるコントロール値から算出される S/B 比, CV 値, Z' 値が基準をクリアするように、緩衝液組成, 酵素量, 時間, 温度等を最適化した。そして東京大学創薬オープンイノベーションセンター (OCDD) の 9600 個のコアライブラリー (終濃度 10  $\mu$ M) の探索から 63 個の 1 次ヒットを得た。その後、再現性と擬陽性排除を目的とした 2 次スクリーニングとして HPLC を用いた SAG の直接定量を行い、結果として 3 つの薬剤が陽性を示すことを確認した。(<sup>1</sup>岡大院環境生命・<sup>2</sup>東大 OCDD)

(75) 松浦昌平 トマト黄化葉巻病および葉かび病の感染がクロロフィル蛍光収率に及ぼす影響 Matsuura, S.: Effect of TYLCV or Leaf Mold Infection in Tomato Plants on Chlorophyll Fluorescence Yield. 病害感染の早期診断に応用する目的で、トマト黄化葉巻病 (TYLCV) および葉かび病の感染が、クロロフィル蛍光最大収率 (Fv/Fm) に及ぼす影響を調査した。本葉 3.5 葉期のトマト (桃太郎 8) に TYLCV または葉かび病菌を接種し、実験に用いた ( $n = 3$ )。TYLCV 感染株では、接種 10 日後に TYLCV 濃度は増加したが、病徴の識別は困難であった。この段階で病葉の SPAD 値, Fv/Fm に健全葉と差は認められなかった。接種 16 日後には、ウイルス濃度も最大となり、明瞭な病徴が現れた。この時点でクロロフィル a, b 含量, SPAD 値および Fv/Fm の著しい低下が認められた。一方、葉かび病では、接種 8 ~ 10 日後に葉裏のみに胞子形成を伴わな

い初期病斑が現れたが、SPAD 値, Fv/Fm に健全株と差は認められなかった。接種 16 日後には、褐色菌叢と黄化えそ斑が現れ、SPAD 値と Fv/Fm の顕著な低下が認められた。以上から、両病害ともに明瞭な病徴出現に同調して、Fv/Fm の低下が確認された。クロロフィル蛍光を利用したトマト病害の初期感染の検出には、更なる検討が必要である。 (広島総研農技セ)

(76) 森 充隆<sup>1</sup>・中西 充<sup>1</sup>・吉田重信<sup>2</sup>・對馬誠也<sup>2</sup> 土壌中の菌核病菌の菌核密度推定法 Mori, M., Nakanishi, M., Yoshida, S. and Tsushima, S.: A Method for Estimating Numbers of Viable Sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* in Soil.

我々は、土壌を介して伝染する病害について、個々のほ場の発病ポテンシャルの診断に基づく病害管理 HeSoDiM (Tsushima *et al.*, 2012) の開発を行っている。その中で、診断項目の 1 つである病原菌の密度推定を行うため、レタス菌核病菌の土壌中での菌核密度の推定法について検討した。複数の罹病植物上に形成された菌核を採集し、自然乾燥した後、簡易的に比重を測定した結果、0.9 ~ 1.1 であったことから、塩化カリウム水溶液の濃度別の浮遊時間を調査した。その結果、蒸留水では 1 時間後に供試菌核の約 90% が沈んだのに対して、3 mol/l (比重 = 1.13) 及び飽和量である 5 mol/l では、1 時間後でも約 90% の菌核が浮遊していた。30°C, 1 夜乾燥した菌核を土壌に混和した後、3 mol/l 溶液に添加・攪拌し、30 分後に浮遊した菌核を回収した結果、ほぼ 100% の菌核が回収できた。前作で菌核病の発病を認めたほ場 (発病株率約 6%) の乾燥土壌 10 kg から約 10 個の菌核が回収され、常法の分離により菌核病菌の菌核であることを確認した。以上から、本推定法が有効であると考えられた。 (<sup>1</sup>香川農試・<sup>2</sup>農環研)

(77) 桃井千巳<sup>1</sup>・守川俊幸<sup>2</sup> 土壌からのチューリップ微斑モザイクウイルス、条斑ウイルスおよび媒介菌の定量による発生リスク評価 Momonoi, K. and Morikawa, T.: Risk Evaluation of Viral Diseases on Tulip Field by the Quantification of *Tulip mild mottle mosaic virus*, *Tulip streak virus* and *Olpidium virulentus* in Soils. これまでに、リアルタイム PCR による土壌からのチューリップ微斑モザイクウイルス (*Tulip mild mottle mosaic virus*, TMMMV) や媒介菌である *Olpidium virulentus* の効率的な検出・定量法について報告してきた。今回、土壌からチューリップ条斑ウイルス (*Tulip streak virus*, TuSV) の検出・定量が可能であることが明らかになった。そこで、2013 年 10 ~ 11 月に富山県内のチューリップ圃場 9 筆にチューリップを植付け、開花期に両ウイルス感染率を TBIA により調査するとともに、作付け前の 2013 年 10 ~ 11 月に採集した土壌からリアルタイム PCR

により両ウイルスと *O. virulentus* をそれぞれ検出・定量した。その結果、両ウイルスとも土壌中のウイルス濃度の高い圃場で、チューリップのウイルス感染率が高かった。一方、土壌中の *O. virulentus* 量とウイルス感染率との関係は不明瞭であった。以上から、土壌中の媒介菌に含まれると推定されるウイルスの量を指標に、両ウイルス病の圃場における発生リスクが推定できると考えられた。

(<sup>1</sup>富山農総セ園研・<sup>2</sup>富山農総セ農研)

(78) 辻 朋子<sup>1</sup>・黒田克利<sup>1</sup>・鈴木啓史<sup>1</sup>・對馬誠也<sup>2</sup>・吉田重信<sup>2</sup> イチゴ炭疽病菌および萎黄病菌の土壌菌密度と発病の関係 Tsuji, T., Kuroda, K., Suzuki, H., Tsushima, S. and Yoshida, S.: Relationships between the Disease Severity and the Soil Inoculum Density in Strawberry Diseases Caused by *Glomerella cingulata* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*. 三重県のイチゴの主要品種「章姫」(炭疽病に弱く萎黄病に強い)と「かおり野」(炭疽病に強く萎黄病に弱い)を用いて、土壌中の病原菌密度と発病の関係(dose-response curve, DRC)を調査した。炭疽病菌(菌株0608401)の分生子と萎黄病菌(菌株91060510)のbud-cellを、それぞれ菌密度が $10^1 \sim 10^4$ 個/mlになるように土壌(園芸培土と山砂を体積比1:1で混和)に混和接種した。園芸用プランターに4株(3反復)を定植し、9月～1月にかけて温室管理下で発病を調べた。その結果、炭疽病については、「章姫」はすべての菌密度で発病が見られ、特に $10^4$ 個/mlで10株が枯死したのに対し、「かおり野」は $10^2$ 個/ml以下では発病せず、 $10^4$ 個/mlでの枯死も1株であった。一方、萎黄病については、「かおり野」は $10^2$ 個/ml以上で発病したのに対し、「章姫」はすべての菌密度で発病しなかった。以上から、これらの病害におけるDRCは、栽培品種により大きく異なることが示唆されるとともに、圃場での発病のしやすさを診断するうえでは、その土壌のDRCと病原菌密度の把握が重要と考えられた。(<sup>1</sup>三重農研・<sup>2</sup>農環研)

(79) 足立嘉彦・古澤重則 カンキツそうか病菌のQoI剤クレソキシムメチルに対する感受性について Adachi, Y. and Furusawa, S.: Sensitivity to QoI Fungicide, Kresoxim-methyl of *Elsionoe fawcettii*, Causal Agent of Citrus Scab. 2012～2013年に静岡県浜松市(5ヶ所)、静岡市(3ヶ所)、新潟県佐渡市および長崎県南島原市(各1ヶ所)のカンキツ園より採集した360菌株、1994～1995年に9県より採集した果樹研究所保存23菌株を供試してカンキツそうか病菌のQoI剤感受性を調査した。調査は、クレソキシムメチル添加ジャガイモ煎汁寒天培地(PDA)上での菌糸の最低生育阻止濃度(MIC)で行った。その結果、果樹研保存の2菌株(MIC 10 ppm)を除き、供試株はMIC 1 ppm

を示すものと200 ppm以上になるものの2峰性の分布となった。浜松市の菌株が全て200 ppm以上を示したのに対し、他の地域は全て1 ppmであった。両者のミトコンドリアゲノムのチトクロームb遺伝子の塩基配列を調べた結果、低感受性の菌株には、多くのQoI剤耐性植物病原菌で確認されるコドン143の推定アミノ酸におけるグリシンからアラニンへの変異(G143A)が検出された。現在、これら菌株に対するカンキツ上でのQoI剤の防除効果を検証しているが、G143A変異が確認できたことから、QoI剤耐性そうか病菌であることが強く示唆された。

(果樹研カンキツ)

(80) 小野友慈・尾崎剛一・長谷川恵介 ピリベンカルブの菌核病菌孢子発芽阻害活性および菌糸生育阻害活性 Ono, Y., Ozaki, K. and Hasegawa, K.: Mycelial Growth and Spore Germination Inhibition Activity of Pyribencarb against *Sclerotinia Sclerotiorum*. 菌核病菌の第一の感染経路は子嚢盤から飛散する子嚢孢子であり、子嚢孢子が花卉や傷口から侵入・発芽し、菌糸を伸長させることで発病に至る。このため、実場面での薬剤の菌核病防除効果には孢子発芽阻害活性、菌糸生育阻害活性などの阻害作用が関与しており、薬剤のこれら阻害作用を正確に把握することは薬剤の適切な使用につながる。そこで、菌核病に対して効果を示すピリベンカルブの孢子発芽阻害活性と菌糸生育阻害活性について*in vitro*及びインゲンマメ菌核病ポット試験で確認した。ポット試験については、子嚢孢子懸濁液をペーパーディスクに含ませて接種する方法(子嚢孢子接種)と菌糸磨砕液をペーパーディスクに含ませて接種する方法(菌糸接種)で行った。その結果、ピリベンカルブの効果は接種方法によって異なり、菌糸接種よりも子嚢孢子接種で高い効果を示した。菌糸生育阻害活性と孢子発芽阻害活性の比較でも孢子発芽阻害活性でより強い力価を示したことから、本剤は菌核病菌の菌糸生育よりも孢子発芽に強く作用すると考えられた。(クミアイ化学)

(81) 畔柳泰典・井上幸次・桐野菜美子 岡山県内におけるアスパラガス茎枯病菌のベンゾイミダゾール系薬剤に対する感受性 Kuroyanagi, Y., Inoue, K. and Kirino, N.: Sensitivity of *Phomopsis asparagi* Isolated from Asparagus in Okayama Prefecture to Benzimidazole Fungicides. 2013年に岡山県内4地域における露地栽培のアスパラガス25圃場から採取したアスパラガス茎枯病菌167菌株について、チオファネートメチル(T)の感受性を寒天平板希釈法で検定した。さらに、その内の4菌株についてベノミル(B)の検定を行った。各薬剤を0, 0.1, 1.0, 10, 100, 1000 ppmの添加濃度で作成したPSA培地上に、菌叢ディスクを置

床し、25°Cで7日間培養後に菌糸生育の有無を調査した。その結果、TのMICは10 ppm及び1000 < ppmをピークとする2峰性を示し、前者152菌株が感受性菌、後者15菌株（4地域中の2地域4圃場から採集した菌株）が感受性低下菌と考えられた。BのMICはT感受性菌が1.0 ppm、同感受性低下菌が1000 < ppmを示し、Tの検定と同様であった。ポット苗による生物検定を行ったところ、T水和剤及びB水和剤の防除価は前者が33～100に対して、後者は0～19と低かった。以上のことから、県内の一部の圃場においてベンゾイミダゾール系薬剤耐性の茎枯病菌が発生しているものの、感受性菌が優占していると考えられた。

（岡山農研）

(82) 渡辺秀樹・村元靖典 **QoI耐性トマトすすかび病菌の発生** Watanabe, H. and Muramoto, Y.: Occurrence of QoI-resistant *Pseudocercospora fuligena* Strains of Tomato Cercospora Leaf Mold. 岐阜県のトマト産地では、QoI耐性の葉かび病菌が確認されているが、抵抗性品種の普及に伴ってすすかび病による被害が顕在化している。両病害は産地内で混在して発生しているため、すすかび病菌のQoI剤に対する感受性低下が起きている可能性が懸念された。そこで、夏秋産地から2012年に分離した103菌株を供試して、アゾキシストロビンに対する感受性を調べた。PDA培地にアゾキシストロビン（0～1000 µg/mlの13段階）および没食子酸 *n*-プロピル（2 mM）を添加し、菌糸摩砕液を置床して25°Cで10日間培養したところ、MIC値は0.125～1000 µg/mlに分布した。そこで、アゾキシストロビン水和剤（有効成分20%）、ピリベンカルブ水和剤（有効成分40%）の2000倍希釈液を散布したトマト苗に、培地感受性の異なる8菌株の菌糸摩砕液を接種して発病程度を調べた結果、防除価は各々2～100、5～85と菌株間で明らかに差が認められた。一部の菌株について、チトクローム *b* 遺伝子の一部配列をシークエンス解析した結果、感受性が低下した菌株にはF129L変異が認められた。（岐阜農技セ）

(83) 下元祥史<sup>1</sup>・大塚利一郎<sup>2</sup> シンナムアルデヒドの揮発処理によるキュウリ、トマトおよびナス病害の防除 Shimomoto, Y. and Otsuka, R.: Controls of Diseases on Cucumber, Tomato and Eggplant by Volatilization of Cinnamaldehyde. シンナムアルデヒドは糸状菌の菌糸伸張および胞子発芽を抑制する（Sivakumar *et al.*, 2002）。しかし、シンナムアルデヒド50%乳剤500倍希釈液、3～4日間隔散布のキュウリ灰色かび病に対する防除価は29.8と低かった。同剤散布後のナス葉におけるシンナムアルデヒドの付着量を経時的に調査した結果、散布1時間後の残存率は散布直後の1.5%で、残留性が非常に乏しいことが明らかに

なった。そこで、毎日、容積340 m<sup>3</sup>の施設内にシンナムアルデヒド99%剤3gを暖房機の温風により揮発させて、キュウリ灰色かび病の発病を調査した。2回試験を実施した結果、防除価は74.8および92.4で、効果は散布より高まった。また、同様の処理によるキュウリ褐斑病、トマトすすかび病、ナスすすかび病、うどんこ病および菌核病の防除効果を検討した結果、防除価はそれぞれ59.6、66.7、91.0、96.8および100でいずれの病害も50%以上発病を抑制した。  
（<sup>1</sup>高知農技セ・<sup>2</sup>アビオン）

(84) 井上幸次・金谷寛子 モモ果実赤点病に対する各種殺菌剤の予防効果 Inoue, K. and Kanetani, H.: Efficacy of Fungicides Against Fruit Red Spot of Peach. 近年、中生種～晩生種のモモ（有袋栽培）で、慣行防除園においても果実赤点病が多発して品質低下が問題となる事例がみられる。本病には登録薬剤が少ないことから、各種殺菌剤の予防効果を圃場試験で検討した。2013～2014年に白鳳、まさひめ、清水白桃、川中島白桃などを用いて、硬核期に樹全体に薬液を散布後、果実に分生子及び菌糸片懸濁液を噴霧接種したところ、マンゼブ（防除価81～98）、ペンチオピラド（67～93）、ジラム・チウラム・フェナリモル（84～92）の効果が高く、次いでTPN（74）、チウラム（59～67）で、イミノクタジナルベシル酸塩（14～67）は効果がやや不安定であった。一方、テブコナゾール（0～33）、クレソキシムメチル（12～21）、チオファネートメチル（0）、イプロジオン（20）、メパニピリム（0～35）はほとんど効果が認められなかった。以上から、本病の多発園地では幼果期に有効薬剤を主体とした防除体系への変更が必要と考えられた。  
（岡山農研）

(85) 板垣 芳・渋谷俊夫・東條元昭・遠藤良輔・北宅善昭 高R/FR比の光照射下で順化したキュウリ実生ではうどんこ病菌の生育が抑制される Itagaki, K., Shibuya, T., Tojo, M., Endo, R. and Kitaya, Y.: Development of Powdery Mildew Fungus is Inhibited on Cucumber Seedlings Acclimated to Illumination with High Red-to-far-red Ratio. 施設園芸において光質による植物の病害抵抗性の制御が試みられている。本研究では、遠赤色光に対する赤色光の比（R/FR比）に注目した。植物群落の下層などR/FR比が低下した光照射下では、植物の病害抵抗性が低下することが知られている。このことから、照射光のR/FR比を調節することで病害抵抗性を向上できる可能性があるが、自然光（R/FR比＝1.2）よりも高いR/FR比の影響についてはほとんど検討されていない。異なるR/FR比の光照射下で育成したキュウリ（*Cucumis sativus*）の子葉にウリ類うどんこ病菌（*Podosphaera xanthii*）の分生胞子を接種し、その後、各試

験区のキュウリを同じ環境下で育成して *P. xanthii* の生育を調べた。接種後の分生胞子の発芽率には R/FR 比の影響はみられなかった。自然光よりも高い R/FR 比 ( $\geq 5.0$ ) に順化したキュウリ葉では吸器形成が抑制され、病斑数が減少した。高い R/FR 比に順化したキュウリ葉は、葉が厚くなる傾向がみられた。以上の結果より、高い R/FR 比による葉の形態的・生理的变化によって *P. xanthii* の葉内への侵入あるいは侵入後の生育が抑制されることが示唆された。

(大阪府大院生環)

(86) 三室元気・田村美佳・守川俊幸 タマネギ乾腐病の耕種的防除法の検討 Mimuro, G., Tamura, M. and Morikawa, T.: Cultural Control of Fusarium Basal Rot of Onion. 富山県ではタマネギの産地化をすすめているが、乾腐病の発生が課題となっていることから、耕種的な防除法について検討した。まず、春まき作型における黒マルチ栽培において、生育期後半の地温を抑制するために、マルチの切れ込み処理の効果について調査した。定植前に乾腐病菌 OniF23-2 株を灌注接種 ( $8 \times 10^4$  cells/株) した苗を4月中下旬に定植(4条/畝, 株間10 cm) し、5月下旬あるいは6月にマルチに切れ込みを入れた場合の発病を調査した結果、マルチに切れ込みを入れた区やマルチを全面除去した区で本病の発生が減少する傾向が見られた。また、本病菌に汚染された育苗用セルトレイの消毒試験を行ったところ、水道水あるいは洗剤を用いて洗浄した後、ベンチアゾール(有効成分30%)1000倍液に5分間浸漬あるいは60°C 5秒の温湯処理を行うことにより、セルトレイからは駒田培地上に菌がほとんど検出されなかった。品種比較試験では、供試した5~11品種に大きな発病の差異が認められたことから、今後の品種選定に活用したい。(富山農総セ農研)