

学 位 論 文 要 旨

新規エンドルナウイルスがアスパラガス疫病菌の成長と分化、
及び殺菌剤感受性に及ぼす影響

Effects of novel endornaviruses on vegetative growth, developmental stages and
fungicide sensitivities of the host oomycete, asparagus Phytophthora rot fungus
(*Phytophthora* sp.)

生物生産科学専攻 生物制御科学大講座
内田 景子

エンドルナウイルス属は、9.8~17.6 kbp の範囲の線状二本鎖 RNA ゲノムを持ち、植物、菌、卵菌に感染する。植物宿主としては、主としてイネを含む多くの農作物や河口沿岸部に自生する海草アマモに持続感染する。一方、疫病卵菌 (*Phytophthora* 属菌) においてもその存在が確認されているが、これまでに報告されてきた一部の例を除き、殆どのエンドルナウイルスは宿主に明らかな症状を起こすことが示されていない。疫病菌は卵菌類に分類され、2018年時点で161種が報告されており、現在も増え続けている。菌と卵菌の相違点は、菌糸体の核相、細胞壁と細胞膜の組成、代謝経路、さまざまな阻害剤に対する感受性など、ライフサイクルにおける多くの重要な特性に基づいている。疫病菌は世界中の畑作物、野菜、果樹、樹木等、広い宿主範囲を持ち、ジャガイモ疫病、ダイズ茎疫病およびピーマン疫病等難防除病害も多く、その防除には多大な費用と、労力が必要とされている。現在、疫病の防除は、化学合成農薬を主体として、CAA 殺菌剤 (細胞壁生合成阻害)、PA 殺菌剤 (核酸合成代謝阻害)、QoI 剤 (呼吸阻害) 等の低濃度・高活性の薬剤を用いて行われることが多いが、一方で薬剤耐性菌出現のリスクも問題となっている。これまでのエンドルナウイルスに関する研究は、主に分離、配列決定およびゲノム構造解析に焦点が当てられてきており、エンドルナウイルスと宿主間の相互作用メカニズムについての知見はほとんど蓄積されていない。本研究では、アスパラガス疫病菌から発見された新規エンドルナウイルス (*Phytophthora endornavirus* 2、PEV2 および *Phytophthora endornavirus* 3、PEV3) のゲノム構造と系統発生の分析を行った。さらにウイルス感染株とウイルス感染株から誘導したウイルス含量低下株

を用いて、ウイルス感染が宿主に及ぼす影響を菌のライフサイクルの各ステージにおける表現型と数種類の卵菌殺菌剤の感受性によって評価した。

PEV2 と PEV3 の 2 つの新規エンドルナウイルスは、日本で収集されたアスパラガスの病原菌である *Phytophthora* sp. の分離株 CH98ASP059 菌株および CH98ASP060 菌株から検出された。PEV2 と PEV3 のゲノムはそれぞれ 14,345 bp および 13,810 bp で構成され、4,640 aa および 4,531 aa の単一の ORF を有していた。これらの ORF 中には、RNA helicase (Hel)、UDP-glycosyltransferase (UGT) および RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) が含まれており、Hel と RdRp のドメインは他のアルファエンドルナウイルスのドメインと保存性を示した。全アミノ酸配列レベルでは PEV2 は soybean leaf-associated endornavirus 1 と、PEV3 はベイマツに特異的に感染する *Phytophthora alphaendornavirus 1* (PEV1) と最も高い同一性を示した。RdRp 配列に基づく分子系統解析では PEV2 は Brown algae endornavirus 2 と、PEV3 は PEV1 と最も近縁であった。PEV2 および PEV3 は、分離株 CH98ASP059 および CH98ASP060 で明らかに高含量のウイルスとして検出されたが、PDA 培地での分離株 CH98ASP059 の継代培養中にウイルス低含量株が得られた。低含量株は、高含量株（オリジナルの分離株）よりも速い正常な菌糸成長を示したが、遊走子嚢および遊走子はほとんど観察されず、これらの器官形成は元の高含量株でのみ観察された。これらの結果は、PEV2 および PEV3 が遊走子嚢形成を促進し、宿主のライフサイクルを調節する可能性があることを示唆している。

殺菌剤感受性は、殺菌剤添加 PDA プレート上の菌糸成長に基づいて調べた。CAA 殺菌剤（セルロース合成酵素の阻害剤）；ベンチアバリカルブイソプロピルのウイルス高含量株に対する最小発育阻止濃度（MIC）は、ウイルス低含量株と比較して、10 倍高い感受性を示した。同様に、高含量株は、低含量株と比較して、1 mM の没食子酸 *n*-プロピルの存在下で、QoI 殺菌剤（Qo サイトのチトクローム bc1 の阻害剤）；ファモキサドンに対して 100 倍高い感受性を示した。対照的に、高含量株は、低含量株と比較して、フェニルアミド殺菌剤（RNA ポリメラーゼ I の阻害剤）；メタラキシルに対する感受性が 10 倍低かった。これらの結果は、PEV2 と PEV3 の持続的な感染が宿主卵菌の殺菌剤感受性を変動させることを示した。

本研究成果は、アスパラガス疫病菌（*Phytophthora* sp.）に感染する新規エンドルナウイルスの分子特性を明らかにし、エンドルナウイルスの宿主菌の感染過程と殺菌剤感受性に及ぼす影響に関して新たな知見を提示した。PEV2 および PEV3 の宿主菌に対する作用性の解明は、マイコウイルスと宿主間の相互作用のさらなる研究のための基礎となるだけでなく、作物保護や農業生産性の向上への新たなアプローチの一つに資することができると期待される。