

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 北沢 優悟

我が国の花き産業は経済取引規模で約1兆円にのぼり、流通・加工・販売に至るまで一大産業を形成している。花き生産において大きな問題となるのが植物病害による被害である。病害の蔓延により安定生産が脅かされるのみならず、品質低下による収益低下や最悪の場合には産地の壊滅に見舞われるケースもある。一方で、我が国の花き産業を活性化していくためには最先端技術を利用した新品種の開発が必要不可欠である。

花き類に発生する細菌病の多くは外観を損なうことからその防除は急務であるが、細菌病には有効な治療法が存在しない。細菌病を引き起こす病原細菌は、種ごとに宿主植物の範囲や症状を引き起こす病原性機構が異なる。したがって、病原細菌を正確に同定するとともに病原性機構を明らかにすることで、防除戦略の構築に向けた知見を得ることができる。そこで、コスモスに発生した新規細菌病害の病原細菌を同定した。さらに、植物病原細菌ファイトプラズマは感染植物の花器官を葉に変える葉化という症状を誘導する。葉化は花器官の機能を喪失させる一方で、植物種によっては感染植物が緑色品種として珍重されることもあり、新規育種素材としてのポテンシャルも持っている。そこで、病原細菌ファイトプラズマが花器官の形態異常を誘導するメカニズムを解析した。

### 1. 葉枯症状を示すコスモスより分離された細菌の病原性解析

葉枯症状を呈するコスモスを顕微鏡観察し、細菌病による症状であると推測した。細菌によるコスモスの葉枯症状は我が国では報告されていなかったため、続いて病原細菌の同定、病原性解析を行った。被害部から分離された細菌の簡易分類試験により、*Pseudomonas cichorii* であると推定された。分離菌株をコスモスに接種したところ葉枯症状が再現され、罹病部位より分離菌株と類似したコロニーを形成する細菌が高率に再分離された。以上から、分離菌株がコスモスに病原性を有することが示された。さらに、分離菌株はレタス、メボウキなどに対する病原性も有することも明らかにした。

分離菌株の種を同定するため、分離菌株の細菌学的性状について解析を行った。分離菌株の糖利用能をはじめとした43項目の細菌学的性状を試験した結果、ほぼ全ての性状が既報の *P. cichorii* と一致した。さらに、分離菌株の16S rRNA領域の配列を、既報の *Pseudomonas* 属細菌の配列とともに系統解析したところ、分離菌株は既報の *P. cichorii* とともに独立したクレードを形成した。以上の解析結果から、分離菌株を *P. cichorii* と同定した。

### 2. phyllogen による葉化誘導機構

ファイトプラズマが感染した植物では花器官の葉化や突き抜けが観察される。これまでにシロイヌナズナに葉化を誘導する因子として Phyllody-inducing gene (Phyllogen)

が報告されているが、詳細な誘導機構は明らかではなかった。花器官の分化には、A、B、C、E クラスの MADS-box 転写因子 (MADS transcription factor; MTF) が関与するが、ファイトプラズマ感染植物の葉化症状は A、E クラスの MTF 変異体シロイヌナズナ花器官の形態異常と類似することに着目し、*phyllogen* がこれらの MTF の機能を阻害している可能性を検証した。

酵母ツーハイブリッド法による解析から、タマネギ萎黄病ファイトプラズマ (onion yellows phytoplasma wild line; OY-W) が持つ *phyllogen* (PHYL1<sub>OY</sub>) は、シロイヌナズナのクラス A の MTF である APETALA1 (AP1) および SEPALLATA3 (SEP3) と結合することが示された。さらに、*in planta* でのこれら MTF の蓄積量を詳細に解析したところ、PHYL1<sub>OY</sub> によりプロテアソーム系を介して分解されていることが示唆された。以上から、PHYL1<sub>OY</sub> は標的 MTF の分解を介して花器官の形態異常を引き起こすことが示唆された。

### 3. 様々な花き類に対する *phyllogen* の機能の検証

ファイトプラズマは広範な被子植物に感染し、花器官の形態異常を誘導する。そこで、シロイヌナズナ以外の植物における花器官の形態異常も *phyllogen* により誘導されるかを明らかにするために解析を行った。幅広い宿主範囲を持つリンゴ小球形潜在ウイルス (apple latent spherical virus; ALSV) をベクターとして用い、PHYL1<sub>OY</sub> もしくは peanut witches' bloom phytoplasma (PnWB) の *phyllogen* (PHYL1<sub>PnWB</sub>) をナス科植物のペチュニアで発現させた。その結果、いずれのペチュニアでも花器官の形態に異常が観察された。また、PHYL1<sub>PnWB</sub> をキク科のヒマワリおよびアスターで同様に発現させたところ、いずれの植物でも花器官の形態異常が観察された。さらに、PHYL1<sub>OY</sub> はペチュニアおよびキク科のキクの A クラスおよび E クラスの MTF と相互作用し、分解を引き起こすことが示された。以上から、*phyllogen* は少なくとも 3 科の植物に作用すると考えられた。興味深いことに、PHYL1<sub>OY</sub> はユリ科のユリの A クラスおよび E クラスの MTF も標的としたことから、単子葉植物においても機能することが示唆された。

本研究により、コスモスに発生した葉枯症状が *P. cichorii* の感染に起因することが明らかになった。さらに、ファイトプラズマの病原性因子 *phyllogen* が広範な植物の A クラスおよび E クラスの MTF を分解することで葉化を誘導することが示された。本研究の成果は、花き類の細菌病の防除法構築や新規育種素材の基盤知見として寄与する実用的な成果であると同時に、ファイトプラズマの病原性誘導メカニズムの理解に資する学術的な成果であり、農学上重要な研究成果であると考えられる。以上より、審査員一同は本論文が博士 (農学) に値するものと認めた。