

【研究区分：先端的研究】

研究テーマ：アブラナ科植物に寄生する根こぶ病菌遊走子の運動性の解析

研究代表者：生物資源科学部 生命環境学科
生命科学コース
教授 八木俊樹

連絡先：yagit@pu-hiroshima.ac.jp

共同研究者：生物資源科学部 生命環境学科 生命科学コース 教授 奥尚

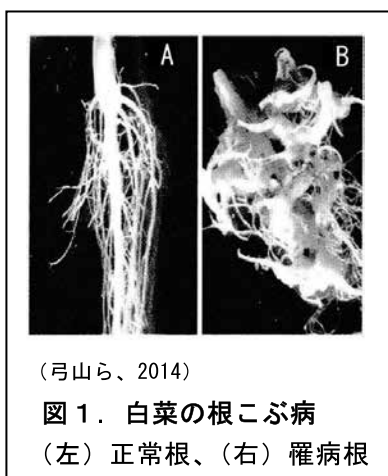
【研究概要】

根こぶ病は、アブラナ科植物の根をこぶ状に変形させ植物を弱らせる土壤伝染病である。原因となる根こぶ病菌は複雑な生活環をもつため感染機構はわかっていない。カギを握るのは、根に貯留された休眠孢子から発芽する遊走子である。遊走子は鞭毛を使って根まで到達し細胞内部に侵入する。本研究では、孢子の発芽過程と遊走子の運動を調べた。その結果、発芽には誘導物質の存在が重要であること、遊走子の運動形態は鞭毛打による遊泳と、物体に付着した鞭毛による滑走の2形態あることが新たにわかった。

【研究内容・成果】

研究の背景と目的

根こぶ病は、白菜や広島菜などのアブラナ科植物の根をこぶ状に変化させ、植物を弱体化させる難治性土壤伝染病である(図1)。罹病植物の根



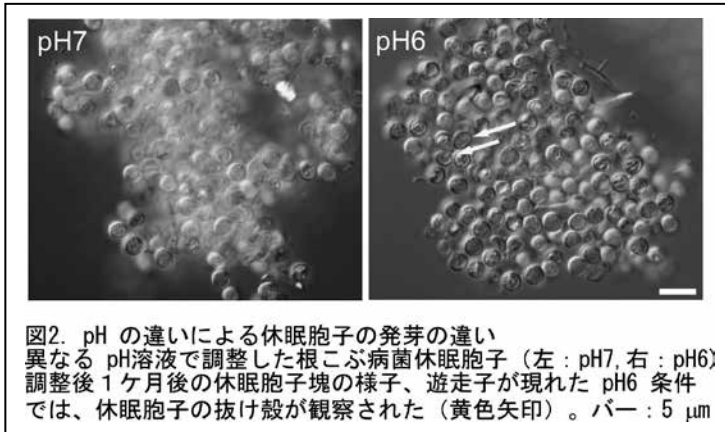
の細胞には原因菌・根こぶ病菌 (*Plasmodiophora brassicae*) の休眠孢子が多数形成される。根の腐敗とともに孢子は土壤に放出されそこから遊走子が発芽する。遊走子は土壤水中を移動して近隣の植物根に次々と感染して爆発的に病気が蔓延する。遊走子の運動性の解析と阻害実験が重要であるが、複雑な生活環をもつこの菌の研究は難しい。根こぶ病菌は、主根細胞内では休眠孢子、土壤中では遊走子、側毛細胞内では多核アメーバなど、各生活ステージにおいて細胞の形態・運動性が大きく異なる。また、根こぶ菌は絶対寄生菌であり、実験室レベルの培養ができないため、細胞レベルでの根こぶ病菌の研究はこれまでほとんど進んでいない。通常行われる防除法は対処療法的なもので、おとり植物による原因菌の減弱や根こぶ病抵抗性品種の開発・栽培、太陽熱利用による汚染土壤消毒、などがあるが効果は限定的である。根こぶ病菌を防除根絶するには、まず、謎が多いその生態を知ることが必須である。

感染は、発芽した遊走子が宿主の根まで移動して根毛細胞に侵入することで成立する。そうすると、遊走子の運動を止めることができれば感染は劇的に減少するはずである。しかし、遊走子が土壤水中をどのように運動し、根の細胞へどうやって侵入するのか、それぞれのイベントの詳細はほとんど分かっていない。本研究ではまず、効率的に遊走子の運動を観察するために、休眠孢子から遊走子へ発芽する効率的な実験条件を探索し、得られた遊走子の運動様式をビデオ記録した。これにより、休眠孢子的発芽過程と遊走子の運動性の特徴を明らかにし、根こぶ病防除法開発への基礎を築くことを目指した。

成果

1) 休眠孢子から遊走子への効率的発芽条件の検討

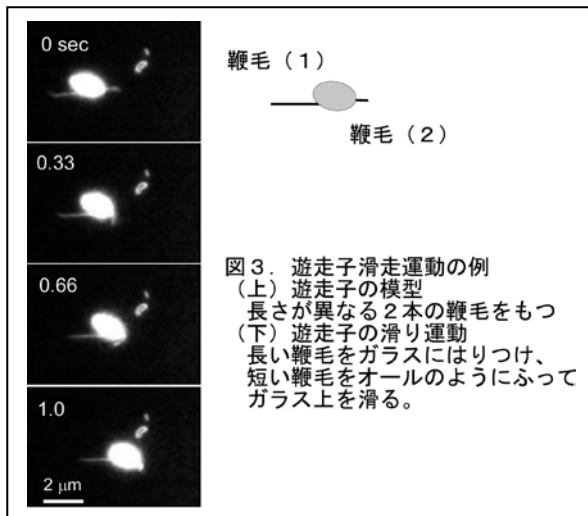
これまでの研究から、休眠孢子は pH がより低い条件で発芽しやすいことがわかってい



た。そこで pH を変えて孢子の発芽条件を調べた。中性 pH では発芽しなかったが、pH 5 近くまで下げると、4 日から 1 か月の長期にわたって発芽することがわかった (図 2)。ただし、発芽効率は最大 0.01% 程度と低かった。そこで、発芽効率を上げる条件を検討した。根こぶから休眠孢子を取り出す際に休眠孢子を洗浄するが、洗いが

不十分な場合は土壌由来の細菌等が増えるものの、よく洗った場合よりも発芽効率は上昇した。休眠孢子を洗った洗浄水を滅菌フィルターで処理し、それを洗浄済みの休眠孢子に戻したところ、発芽効率が 0.1% 程度にまで上昇することがわかった。この結果から、土壌成分もしくは植物組織成分に発芽効率を上昇させる物質が含まれることが示唆された。

2) 遊走子の運動観察



発芽した遊走子は、過去に報告されているように、長さが異なる 2 本の鞭毛を持っていた (図 3)。暗視野顕微鏡を用いて、その運動を観察したところ、運動形態には 2 種類あり、一つは、鞭毛を鞭打つように動かし水中を遊泳するというものである。運動速度は約 20 $\mu\text{m}/\text{sec}$ であるが (25 $^{\circ}\text{C}$)、運動は一方向へというよりは惑いながらようやく特定方向に進むというものだった。一方、長い方の鞭毛でガラスに貼り付き、滑るように運動する形態も見られた (図 3 左)。この場合、短い鞭毛を激しくビートさせていた。速度は 30 $\mu\text{m}/\text{sec}$ 程度 (25 $^{\circ}\text{C}$) と遊泳の場合と同程度だったが、運動は一方向に生じており、

遊泳する場合よりも効率よく動いているように見えた。

3) 今後の展望

本研究により、休眠孢子の発芽効率を上昇させる因子が土壌もしくは植物組織液に存在する可能性が示唆された。また、遊走子は遊泳だけでなく滑走運動も示すことが初めてわかった。土壌中には多量の水はなく、むしろ湿った土がある。少量の水分がある土の上を滑るほうがより移動手段としてはより現実的である。本研究の成果は、根こぶ病菌を防除するという最終目標へ向けた第一歩となりえる。今後、発芽効率を上げる成分を同定し、また、遊走子の運動を阻害する物質を探索し、最終目標に迫って行きたい。