

氏名	Niranjan MAHADEVAN		
授与した学位	博士		
専攻分野の名称	学術		
学位授与番号	博甲第	7304	号
学位授与の日付	2025年 3月 25日		
学位授与の要件	環境生命科学研究科 農生命科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)		
学位論文の題目	Differential infection behavior of <i>Rhizoctonia solani</i> AG-1 and AG-4 in monocot plants, and identification of candidate resistance genes to <i>R. solani</i> AG-4 in barley (<i>Rhizoctonia solani</i> AG-1 と AG-4 の単子葉植物での感染様式の解析と AG-4 系統へのオオムギ抵抗性遺伝子の同定)		
論文審査委員	教授 平井儀彦	教授 能年義輝	教授 一瀬勇規 教授 豊田和弘
学位論文内容の要旨			
<p><i>Rhizoctonia solani</i> is a soil-borne phytopathogenic fungus responsible for significant agricultural losses in various crops. Effective disease management requires an understanding of the mechanisms underlying pathogen virulence and plant disease resistance. <i>R. solani</i> is a species complex classified into 13 anastomosis groups (AGs) based on hyphal fusion reactions, with further subdivisions based on culture morphology. While typically a necrotrophic pathogen, the AG-1 IA isolate undergoes a brief biotrophic phase before transitioning to necrotrophy. However, it remains unclear whether this infection process is common across all <i>R. solani</i> species.</p> <p>This study investigated the virulence and tissue specificity of selected Japanese <i>R. solani</i> isolates on two monocot plants, <i>Brachypodium distachyon</i> and barley, using both below- and above-ground inoculations. AG-1 IA and AG-4 HG-I+II showed the strong virulence on leaves, but only AG-4 HG-I+II infected roots. Among the <i>B. distachyon</i> accessions (Bd21, Bd3-1, and Gaz-4) and barley cultivars (Haruna Njo, Morex, and Golden Promise) tested, Bd3-1, Gaz-4, and Morex were relatively resistant to leaf inoculation. Bd3-1 and Morex also showed better growth in AG-4-inoculated soil. These resistant plants induced genes associated with salicylic acid (SA) and <i>N</i>-hydroxypipicolic acid (NHP) in response to AG-1, but not AG-4. Consistently, exogenous application of SA or NHP conferred resistance to AG-1 but not to AG-4. Microscopic observation revealed that AG-1 formed extensive infection cushions, whereas AG-4 produced sparse, aggregated hyphal clusters beneath necrosis. Overall, the <i>R. solani</i> species complex employs at least two distinct infection strategies: the hemi-biotrophic approach of AG-1 IA and the necrotrophic nature of AG-4 HG-I+II.</p> <p>Transcriptome analysis of the resistant barley cultivar Morex during root inoculation with AG-4 HG-I+II identified differentially expressed genes (DEGs) at 1- and 3-days post inoculation in both root and leaf tissues. GO enrichment analysis suggested that Morex recognizes the pathogen and initiates a defense response within 1 day.</p> <p>In addition, 219 accessions from the barley germplasm panel were evaluated for resistance to root inoculation with AG-4 HG-I+II. The accessions were divided into four resistance categories: 2.7% were potentially resistant, 18.26% were moderately resistant, 62.55% were susceptible, and 16.43% were highly susceptible. Genome-wide association studies (GWAS) identified five significant marker-trait associations located at four chromosomal positions. These regions contained 89 candidate genes, 25 of which were associated with defense.</p> <p>The identified loci and candidate genes provide insights into the infection mechanisms of <i>R. solani</i> and valuable resources for barley breeding programs to improve resistance to <i>R. solani</i>.</p>			

論文審査結果の要旨

本研究は担子菌に属する植物病原糸状菌である*Rhizoctonia solani*の病原性機構の解明、ならびにその地下部感染を受けたオオムギの防御応答と耐病性に関わる遺伝子座の同定を目的として行われた。*R. solani*は広い宿主範囲を有し、世界中の様々な植物種の根、地際、地上部に壊死を誘導する殺生菌であり、甚大な農業被害の原因となっている。リゾクトニアは種複合体であり、菌糸融合反応により分類される13種のAG群を含み、さらにそれらは菌叢等で亜群に区分される。リゾクトニア病の克服に向けた防除手段の開発には病原性機構の解明が不可欠だが、本菌は遺伝学的なアプローチが困難なためにその理解はあまり進んでいない。この解決に向け、本研究ではミナトカモジグサとオオムギというプラットフォームを用い、植物の応答性を指標として本菌の感染機構の解析を進めたことが特徴である。

具体的には、まず種々のAG群を網羅する*R. solani*の日本分離株の感染性と組織特異性を解析した。その結果、AG-1 IAが両植物種の葉のみに感染するのに対し、AG-4 HG-I+IIは葉と地下部に強い病原性を示すことを明らかにした。また、ミナトカモジグサのBd3-1とGaz-4およびオオムギのMorexがAG-1とAG-4の両菌に対して抵抗性を示した。Bd3-1とMorexはAG-1の感染に対し、植物の防御関連ホルモンであるサリチル酸やN-ヒドロキシピペコリン酸 (NHP) の生合成や応答に関わる遺伝子群の発現を誘導しており、AG-1とAG-4に対する耐病性機構の違いが示唆された。これと一致して、サリチル酸とNHPの事前処理により、両植物種の葉においてAG-1への抵抗性が誘導されたが、AG-4への抵抗性は付与されなかった。葉表面の菌糸の観察の結果、AG-1の菌糸は葉に広く蔓延し、従前より知られる感染器官である感染座を形成していた。一方、AG-4には感染座は観察されず、分散した菌糸塊を形成して、その直下に壊死を誘導していた。この結果、*R. solani*種複合体には、ミナトカモジグサとオオムギの葉への感染に際し、半活物寄生と殺生寄生を行う異なるタイプの病原性機構が含まれることを明らかにした。

次に、AG-4 HG-I+IIのオオムギ地下部への感染機構の解析を行った。抵抗性系統であるMorexの地下部感染の1および3日後の地下部と地上部のトランスクリプトーム解析から、Morexは地下部の3日後、地上部の1日後、3日後において防御関連遺伝子群の発現を誘導していることが示された。葉とは異なり、Morexは根においてはAG-4を感染後早い段階で感知して全身的に防御応答を誘導し、耐病性を発揮している様子が示された。

さらに、ナショナルバイオリソースプロジェクトが保有する219個のオオムギ品種について、AG-4 HG-I+IIの地下部感染に対する耐病性レベルを定量評価し、抵抗性、弱い抵抗性、罹病性、強い罹病性がそれぞれ6個 (2.7%)、40個 (18.3%)、137個 (62.6%)、36個 (16.4%)であった。このデータをMLMMとFarmCPUの2つのモデルによるGWAS解析に供試し、2H、6H、7Hおよび3H、6H、7Hにそれぞれ抵抗性に関わる遺伝子座を特定した。本領域内の89個の遺伝子には他の病害において防御応答や抵抗性に関わるものが報告された遺伝子群が含まれ、それらの関与が示唆された。

本研究はリゾクトニア種複合体の病原性の実態の一端を解明すると共に、防除が難しい地下部感染に対するオオムギの耐病性育種に道を拓き、植物病理学における一定の科学的価値が認められる。また、口頭発表と質疑応答において、その内容の十分な理解度が確認された。以上をもって本論文は博士(学術)の学位の授与に値すると判断した。