

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 水谷 行善

論 文 題 目

マイコウイルスの多様性および宿主糸状菌への影響に関する研究

論文審査担当者

主 査	名古屋大学准教授	千葉 壮太郎
	名古屋大学教授	松本 省吾
	名古屋大学教授	中園 幹生
	名古屋大学教授	池田 素子
	名古屋大学教授	村瀬 潤
	名古屋大学准教授	竹本 大吾
	名古屋大学助教	佐藤 育男

論文審査の結果の要旨

植物病害の主要な原因生物は菌類（真核微生物）であるが、この防除は化学農薬に大きく依存している。持続的な農業の実現に向けて化学農薬使用量の削減は必須であり、耕種的防除法や生物的防除法を含む代替法をよく確立し、社会実装することは、植物病理学・植物保護学の重要課題のひとつである。近年、植物糸状菌病害の防除因子候補として、菌類に感染するウイルス（マイコウイルス）が認識されるようになり、現在では多様な植物病原菌から多くの RNA ウイルスが報告されている。本学位論文では、このようなウイルスを資源と捉え、有用マイコウイルスの探索とその性状、ならびに探索の過程で得たウイルスの多様性に着目し、研究展開した。実施したウイルスゲノム配列決定法の検討、分離ウイルスのゲノム配列決定と多様性分析、および各種ウイルス感染菌の生物学的特性解析は、関連研究分野において重要な新規知見を提供しており、学術的価値も高い。各研究成果の概要および評価は以下の通りである。

第一に、フザリウム属を中心とした菌コレクションから選抜されたウイルス感染株を用いて、二本鎖 RNA ウイルスのゲノムおよび一本鎖 RNA ウイルスの複製中間体（二本鎖 RNA）を精製し、次世代シーケンサーによる網羅的なウイルスゲノム配列の決定を行なった。この時、通常の RNAseq（Illumina HiSeq）、これを二本鎖 RNA 配列解析に最適化した fragmented and loop primer ligated dsRNA sequencing（FLDS）法、および新法として RNA 分子を直接解析する Nanopore Direct RNA Sequencing（DRS）を用いた de novo シーケンシングの結果を比較解析し、RNA ウイルスゲノムの解析法を評価した。RNA ウイルスの配列解析は、高い変異率やゲノム RNA の複雑な立体構造などに起因する様々な課題を抱えているが、将来的に DRS のリード精度向上とライブラリ調製法の改良により、それら課題を克服できる可能性を示した（投稿中の実績）。

また、計 18 の菌株から 30 種のウイルスゲノム配列を決定し、そのうち 2 種は新科・属を形成する可能性が示された。特に環状の RNA ゲノムをもつミトコンドリア局在型ウイルスは極めて新奇である。さらに、RNA ウイルスは分類学的に 6 つの門から構成されるが、本学位論文研究で発見されたウイルスはこれらの門のうち 5 つを網羅しており、供試菌株中に極めて多様なウイルスが感染することを明らかにした。以上から、新奇ウイルスの発見を含め、ウイルス学的価値が高い成果を上げた。

第二に、植物病原菌の病原性を制御する可能性のあるマイコウイルスについて、性状解析を進めた。これまでに、植物病原菌を弱毒化するウイルスは複数発見されているが、圃場レベルで有効なマイコウイルスは未だ 2 種に限られており、さらなる有用ウイルスの分離と効果的な施術法の開発が必要である。本学位論文研究では、弱病原性の候補菌株 *Fusarium boothii* Ep-BL13（ムギ類赤かび病菌）に感染するゲノム配列解

論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

析を完結し、マイトウイルス科新規メンバーの *Fusarium boothii mitovirus 1*、ティモウイルス目新規メンバーの *Fusarium boothii large flexivirus 1* (FbLFV1) 及びその内部配列欠損 RNA (Defective RNA: D-RNA) の重複感染を明らかとした (主要実績)。本菌株は、培地上での菌糸生育とコムギ小穂における病原性が顕著に抑制されるが、少なくとも菌糸生育抑制は FbLFV1 D-RNA の存在に規定されていることを明らかにした。通常、D-RNA は、RNA ウイルスの複製や病原性を負に調節する defective-interfering RNA として機能することが多い。一方、FbLFV1 D-RNA においては、FbLFV1 の単一 ORF が大きく欠失しインフレームに連結した結果、新たに病原性タンパク質をコードするセグメントとして定着した可能性が示唆された。本成果は、殆どが不顕性感染するマイコウイルスにあって、強い宿主菌病原性抑制効果を発揮するウイルスを分離した点、その作用機序として D-RNA が関与するという新規性の高い発見をした点で、関係分野における学術的重要性が高い。

第三に、菌寄生性 *Trichoderma viride* の生活環に影響を及ぼすウイルスを単離した。トリコデルマ属菌は、生物防除資材として利用される菌類である。マイコウイルスの感染により菌寄生能が低減する可能性、また菌類への寄生性によりマイコウイルスを伝搬する可能性が指摘されているが、未だ知見が乏しい。本学位論文研究では、*T. viride* AH-4 株に感染する *Trichoderma viride victorivirus 1* (TvVV1) が、本菌の孢子形成能を著しく低下させ、気中菌糸成長を促進し、黒色色素を沈着させることを明らかにした。また、本ウイルスの感染が、宿主菌の栄養、光条件への応答様式と細胞壁構成成分に影響を与える可能性も示唆された。さらに、共感染する他の 2 種のウイルスへの干渉効果が疑われる結果も得られている。一方で、*T. viride* AH-4 株の菌寄生性能力への検討が不十分であり、今後の検討課題として挙げられる。本成果は、AH-4 株がウイルス-宿主間相互作用およびウイルス-ウイルス間相互作用研究のモデルパソシステムとして有用なプラットフォームであることを示しており、今後の関係研究分野の発展に大きく寄与する内容であると評価できる。

以上、本学位論文は、マイコウイルスの多様性理解とその方法論、および特定のウイルス感染が及ぼす宿主菌への生物学的影響を報告するものであり、成果の一部は学術論文として公表され十分な評価を得ている。また、これらは、植物病理学、植物保護学、ウイルス学分野の進展に資するものであり、知見の応用展開にも期待ができる。よって、本審査委員会は本論文の内容が博士 (農学) の学位を授与するに十分な価値を有するものと認め、合格と判定した。