

植物表層の傷モデルにおける植物病原性カビの反応

Response of Plant Pathogenic Fungus In a wound model of Plant surface layer

兵庫県立神戸高等学校総合理学科1年 木村峻大 小川露佳 坂田萌泰 佐野凌 松川華音

動機・目的

- アクリル板傷口周辺での植物病原性カビの反応
- 新たな病原菌侵入制御技術開発への貢献

◇植物病原性カビから農作物を保護することはとても重要である。そこで私たちは、植物病原菌の侵入経路となる植物表層の傷に着目した。植物病原性カビが傷を認識する一部の反応を明らかにしたいと考えた。

Introduction

- ・植物病原性カビは植物表層での**侵入場所**を物理的段差で認識する可能性が高い
- ・傷口の認識には、**物質を介している**可能性が高い

背景

Background

(1)非宿主植物表層での植物病原性カビの侵入様式

- カビ発芽後→**付着器を介さず侵入**（傷口周辺で顕著）
- カビが植物の状態を感知・適切な侵入戦略の選択

(2)孔辺細胞における段差と付着器形成

- さび病菌の胞子
- PS板上**において孔辺細胞とほぼ同等の高さの段差で付着器を形成
- ◇**植物表層での段差認識による感染行動**

一般的な植物組織内への侵入方法→メラニン化によって付着器を形成する

実験方法

Methods

(1)植物病原性カビの分離・培養

- PDA平板培地の作成**（φ90mm 深さ20mm のシャーレ20枚分）
- ジャガイモ(*Solanum tuberosum*)・グルコース・寒天末を使用

植物病原性カビ【未同定】

Colletotrichum orbiculare (Berkeley & Montagne) Arx

■植物病原菌罹病葉から病斑部の分離

- 1:兵庫県立神戸高等学校敷地内から植物病原菌罹病葉を2枚採集
- 2:病斑部と中毒部を含む部分を3~5mm 幅の帯状に切り出し
- 3:70%エタノールと1%次亜塩素酸ナトリウム水溶液を用いて表面殺菌・培養

■培養条件

人工気象室 温度27℃ 湿度75%環境下で培養（本研究全体）

■菌の植えつき

植えつきループを用いた菌体の切り出しと植えつき

(2)アクリル板上での創傷(Co)

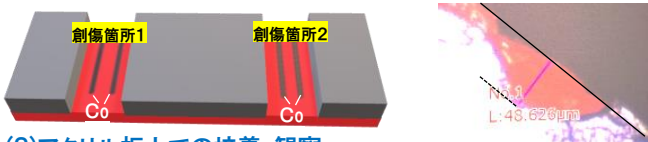
創傷にはメスを使用(幅40μm±5μm)

- アクリル板(30mm×90mm)7枚の上に下記の表のとおりに傷(凹)をつけた

アクリル板番号	アルファベットは傷の種類		培地と傷、傷と傷の間隔8mm	
	創傷箇所1 深さ(μm)		創傷箇所2 深さ(μm)	
1	A-98.0 B-54.7		C-128.5 D-119.9 E-43.6	
2	F-63.7 G-46.4		H-53.8 I-39.8	
3	J-104.1		K-94.7	
4	L-77.3		M-64.9	
5	N-48.6		O-50.1	
6	P-86.9			
7	Q-0.0		備考:コントロール	

実験に用いたアクリル板(赤色)と培地(灰色)

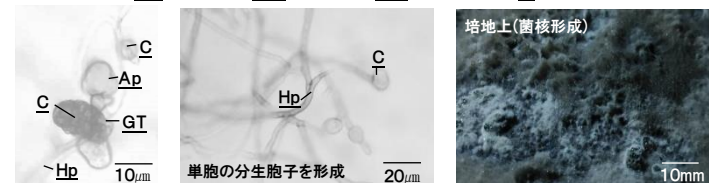
デジタル顕微鏡を用いた傷の幅・深さ測定



(3)アクリル板上での培養・観察

- カビ全体と菌糸周辺の観察(双眼実体顕微鏡・デジタル顕微鏡)

◇対象 菌糸(Hp)・発芽管(GT)・付着器(Ap)・分生胞子(C)



結論

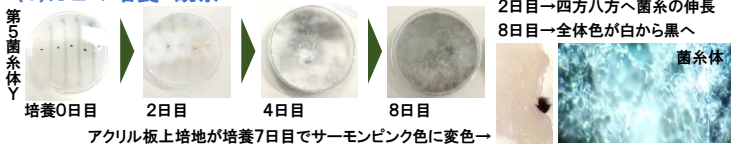
【反省点】 【将来性】

十分なデータを得ることができなかった点、GT・Ap・Cである確定的証拠が得られる方法で観察をするべきだった点。本研究で用いた植物病原性カビを同定し、実際の植物表層での地形的特徴と研究結果を結び付けることで、さらなる植物病原菌の侵入プロセスや反応の理解につながる。病原菌侵入プロセスを解明することで、侵入プロセス遮断による新たな農業開発につなげることができる。また、この農業は病原菌に直接作用しないという利点がある。

結果

Results

(1)カビの培養・観察



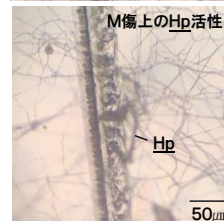
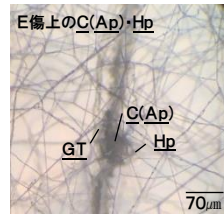
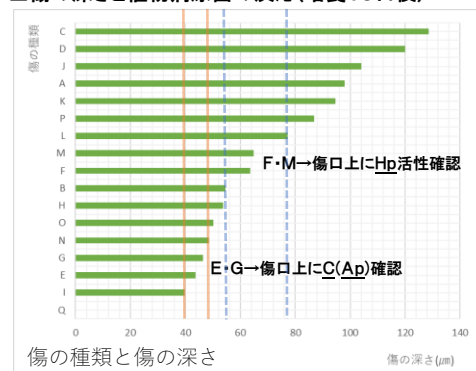
(2)アクリル板上での観察



アクリル板上で菌糸が伸長（培養72時間後）
(黒線→培地とアクリル面の境界 赤線→傷)

※本研究では、カビが傷口に対して菌糸を伸ばさず・付着器を作成する・菌糸の明らかな集合が見られる場合に『活性がある』としている。

■傷の深さと植物病原菌の反応(培養15日後)



■植物表層の傷

植物葉にはあらゆる形・幅・深さの傷が存在するが、ツバキ表皮組織は35~50μmの厚さ

考察

Discussions

E・Gの傷上に分生胞子の形成がみられたことやF・Mの傷上に菌糸の集合活性がみられたことから、本研究で用いた植物病原性カビは深さ39.8μmより大きく48.6μm未満、54.7μmより大きく77.3μm未満の範囲で侵入場所を認識していることが分かった。E・Gに関してはツバキ表皮組織にできる実際の傷の大きさに一致している。また、アクリル板上で行ったため、物質を介した反応ではないことがわかる。しかし、先行研究であった付着器を形成しない侵入方法を考慮すると、侵入場所は段差認識で得るが、その場所が傷口だという情報は、物質を介して得ている可能性が高いと考えられる。