

氏名	坂田 七海		
学位の種類	博 士 ( 農 学 )		
学位記番号	博 甲 第 10458 号		
学位授与年月日	令和 4 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査学術院	理工情報生命学術院		
学位論文題目	植物抵抗性誘導剤によるアブラナ科植物黒斑細菌病の抑制機構に関する研究		
主査	筑波大学助教	博士 ( 農学 )	石賀康博
副査	筑波大学教授	農学博士	山岡裕一
副査	筑波大学准教授	博士 ( 農学 )	岡根泉
副査	筑波大学准教授	博士 ( 工学 )	橋本義輝

## 論 文 の 要 旨

審査対象論文は、*Pseudomonas cannabina* pv. *alisalensis* (以下、*Pcal* と略す)によるアブラナ科植物黒斑細菌病の防除薬剤として使用されている植物抵抗性誘導剤アシベンゾラル S-メチル (以下、ASM と略す)の作用機構について解析を行った研究である。

第一章において、著者は、研究背景としてアブラナ科植物黒斑細菌病をはじめとする細菌病の防除には、銅剤や抗生物質などの殺菌剤が広く使用されていること、しかしながら、これらの薬剤に対する *Pcal* 耐性菌の出現が既に報告されており、殺菌剤に代わる持続可能な防除法の開発が喫緊の課題であることを論じている。さらに、植物の抵抗性を誘導する植物抵抗性誘導剤が、ウイルス、糸状菌、細菌など様々な病原体に対して防除効果を示すことから、持続可能な防除法として注目されていることについて説明している。さらに、植物抵抗性誘導剤の複雑な作用機構から病原菌がこれを打破することは難しく、耐性菌の出現はこれまでに報告されていないことを説明している。加えて、2020 年よりキャベツとハクサイの黒斑細菌病に対する防除薬剤として使用されている植物抵抗性誘導剤 ASM について、その細菌病抑制機構が明らかになっていないことを論じている。これらの背景から著者は、当該論文の研究目的として、ASM によるアブラナ科植物黒斑細菌病の抑制機構の解明を提示している。

第二章において、著者は、*Pcal* の宿主植物であるキャベツおよびエンバクに対する感染機構の解明に取り組んだ。その結果、*Pcal* は両宿主に対して、主に気孔から侵入することを明らかにした。さらに、他の病原細菌において気孔の再開口に関与することが報告されている毒素コロナチンの作用機序の解明を行った。その結果、*Pcal* のコロナチン生合成関連遺伝子の発現が感染時特異的に上昇することを明らかにした。さらに、コロナチン生合成変異株を用いた解析により、キャベツとエンバクの両宿主に対して、コロナチンは気孔の再開口を誘導して植物内への侵入を可能にしていることを明らかにした。加えて、植物内へ侵入後は、コロナチンを用いて植物防御応答ホルモンであるサリチル酸の蓄積や抗菌タンパク質の蓄積などの植物防御応答を抑制することにより、植物内での *Pcal* の増殖を可能にしていることを明らかにした。これらの結果から、著者は、これまで不明であった *Pcal* の感染機構の一端を解明した。

第三章において、著者は、ASM によるキャベツ黒斑細菌病の抑制機構の解明に取り組んだ。その結果、ASM を土壌灌注処理することにより、キャベツにおける黒斑細菌病の病徴形成および植物内の *Pcal* 細菌

数が抑制されることを明らかにした。また、ASM が処理 2 時間後という非常に早い段階で防除効果を示したことから、*Pcal* の感染過程の初期段階である侵入の過程に作用していると推測し、気孔の開口幅の測定を行った。その結果、ASM 処理によりキャベツの stomatal-based defense (以下、気孔防御と称す) が活性化されていることを明らかにした。さらに、ASM 土壌灌注処理により植物内への細菌侵入数が有意に抑制されることを明らかにした。これらの結果から、著者は、ASM は気孔防御を活性化することで *Pcal* の植物内への侵入を阻害し、キャベツ黒斑細菌病の抑制に寄与していると結論づけている。

第四章において、著者は、ASM によるダイコン黒斑細菌病の抑制機構の解明に取り組んだ。その結果、ASM 処理葉だけでなく無処理葉においても、気孔防御の活性化および気孔閉鎖の誘導が全身的に引き起こされることを明らかにした。さらに、ASM による気孔閉鎖は、ペルオキシダーゼ経路を介した活性酸素種生産により引き起こされることを明らかにした。加えて、ASM による気孔閉鎖は、第二章で明らかになった *Pcal* の病原力因子であるコロナチンにより打破される可能性が低いことを述べている。これらの結果から、著者は、ASM は活性酸素種生産を介して全身的に気孔防御を活性化することで、*Pcal* のダイコン植物内への侵入抑制に寄与していると結論づけている。

第五章において、著者は、ASM による細菌病の抑制機構の一つが、気孔防御の活性化による細菌の植物内への侵入阻害であると結論している。さらに、気孔の開閉をめぐる植物と病原細菌の攻防が感染の成否をめぐる重要な局面となっていることを論じている。加えて、著者は、植物病原細菌の多くは気孔を侵入場所としており、さらに、いくつかの植物病原糸状菌も気孔を侵入場所としていることから、気孔防御の活性化は、様々な病害に対する有効な防除方法となる可能性を示唆している。そして、本研究により、植物抵抗性誘導剤の開発に資する新規な指標として「気孔閉鎖」を発見したことは、今後の有効で持続可能な防除方法の開発に繋がる知見であると述べている。

## 審 査 の 要 旨

植物抵抗性誘導剤による病害防除に関する研究は、主に糸状菌病を対象として行われてきた。植物抵抗性誘導剤 ASM は細菌病に対しても農薬登録されているが、その抑制機構は不明であった。本論文では、ASM の細菌病における作用機構を解明するために、アブラナ科植物黒斑細菌病菌の感染機構を詳細に解析し、本菌が病原力因子の一つである毒素コロナチンを分泌することで、防御応答により一度閉じた気孔を再開口させ、植物体内への侵入を可能にしていることを明らかにした。そして、感染機構を解明したことが基盤となり、ASM による細菌病の抑制機構の一つが、全身的な気孔防御の活性化による細菌の植物内への侵入阻害であると結論づけた。さらに、ASM による気孔防御の活性化は、本菌の病原力因子であるコロナチンにより打破される可能性が低いことを明らかにした。これらの研究成果は、植物病原細菌と植物間の相互作用の解明に大きく寄与するだけでなく、持続可能な防除資材の今後の開発に向けた重要な指針を示した優れた成果であると評価される。

令和 4 年 1 月 19 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。