

氏名(本籍)	林 宗俊 (台湾)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	博甲第5155号
学位授与年月日	平成21年4月30日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目	<b>The Involvement of Phenolics and Hydrogen Peroxide in Acibenzolar-S-Methyl Induced Systemic Acquired Resistance on Cucumber</b> (アシベンゾラルSメチルによるキュウリの全身獲得抵抗性誘導とフェノール成分及び過酸化水素の関与)
主査	筑波大学教授(関連大学院)農学博士 石井英夫
副査	筑波大学教授 農学博士 柿  眞
副査	筑波大学准教授 農学博士 山岡裕一
副査	筑波大学教授 農学博士 松本  宏

### 論文の内容の要旨

ベンゾチアジアゾール系の化合物アシベンゾラルSメチル(ASM)は多くの作物において各種病原菌に対する全身獲得抵抗性(SAR)を誘発する。ASMの処理によりキュウリでは数々の防御反応すなわち、病原菌の付着器周辺におけるフェノール類の蓄積やカロース生成、表皮細胞壁における過酸化水素やリグニンの蓄積、フェニルアラニンアンモニアリアーゼ、感染特異的蛋白質であるキチナーゼ、 $\beta$ -1,3-グルカナーゼ、PR1、ペルオキシダーゼなどの遺伝子発現増大、細胞壁の強化に関する遺伝子や活性酸素の生成・消去関連酵素の活性化などが起こる。しかし、ASMによるSAR誘導のメカニズムについてはいまだ不明な点が多い。そこで本研究では、SARの発現におけるファイトアレキシン関与の有無、フェノール成分や過酸化水素の役割について解析した。

ファイトアレキシンの蓄積は病原菌の感染に対する植物の防御反応の1つである。また、植物ではシキミ酸やフェニルプロパノイドの代謝により数多くのフェノール化合物が生成され、病原菌の感染や付傷に対する防御反応において重要な機能を果たすと考えられている。しかし、これらの経路に及ぼすASMの影響は不明であったので、シキミ酸やフェニルプロパノイド経路上の主要な化合物を定量するとともに、これらの経路における関連酵素の遺伝子発現を解析した。また、SARの発現の過程で、ASM処理したキュウリの第一本葉からASM未処理の上位葉に移行するシグナル物質として、過酸化水素の重要性に着目、キュウリ木部における過酸化水素を定量して、その役割を調べた。

キュウリで報告されたファイトアレキシンのほとんどは、フェノール成分が共役配糖体と結合している。本研究において、キュウリ葉から抽出した共役フェノール成分はバイオオートグラフィでキュウリ炭疽病菌と黒星病菌に抗菌活性を示したが、キュウリ褐斑病菌に対しては活性を示さなかった。抗菌性物質の蓄積はキュウリの成長が進むとともに増加する傾向にあったが、ASMの処理とは関係がなかった。次に、オオイタダリの葉抽出の製剤であるMilsana®を、ファイトアレキシン蓄積のポジティブコントロールとして使用した。Milsana®を処理したキュウリでは数種の共役フェノール成分が大幅に増加したのに対して、ASMを

処理したキュウリでは蒸留水処理と違いがなかった。ASMの処理は、キュウリにうどんこ病や炭素病に対するSARを誘導したが、ファイトアレキシンの蓄積は関与しなかった。

シキミ酸やフェニルプロパノイドの生合成経路に及ぼすASMの影響を調べた。5-エノイルピルビニルシキミ酸-3-リン酸シンターゼ (EPSPS)、コリスミ酸ムターゼ、桂皮酸-4-ヒドロキシラーゼ、4-クマロイル CoA リガーゼ、シナモイル CoA レダクターゼなどの遺伝子を本研究でキュウリから初めて単離した。ASMの処理によってシキミ酸の増加やEPSPS遺伝子の発現増大が観察された。また、ASM処理後炭素病菌を接種したキュウリには十分な量のp-クマル酸やフェルラ酸が含まれ、コーヒー酸が増加した。これらはリグニンの前駆物質として働き、リグニンペルオキシダーゼの活性化によってキュウリの表皮細胞壁に速やかな木質化が起これると考えられた。

SARの発現過程で、ASM処理したキュウリの第一本葉からASM未処理の上位葉に移行するシグナル物質について、この研究で部分的に明らかにした。ASM処理後炭素病菌を接種したキュウリでは処理後速やかに木部液中の過酸化水素量が大幅に上昇した。この結果は過酸化水素がキュウリの木部システムを通じて下位葉から上位葉に移行し、ASMにより誘導されるキュウリのSARのシグナル物質として働く可能性を示唆するものであった。

結論として、ファイトアレキシンの蓄積はASMにより誘導されるキュウリのSARに関与しないこと、過酸化水素がキュウリにおけるSARのシグナル物質の1つとして働くことが明らかになった。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

植物病原菌には殺菌剤耐性菌の出現が相次ぎ、その対策の1つとして全身獲得抵抗性 (SAR) を誘導する物質の利用が注目されている。ベンゾチアジアゾール系化合物アシベンゾラル S メチル (ASM) は作物病原菌に対するSARを誘導し、その過程でキュウリでは数々の防御反応が起こるが、SAR誘導のメカニズムについては不明な点が多い。そこで本研究では、SARの発現におけるファイトアレキシン関与の有無、フェノール成分や過酸化水素の役割について解析している。

キュウリ葉の共役フェノー成分は、キュウリ炭素病菌と黒星病菌に抗菌活性を示したが、ASMの処理とは関係がなかった。また、オオイタドリの葉抽出物製剤 Milsana® を処理したキュウリでは数種の共役フェノール成分が大幅に増加したが、ASMを処理したキュウリでは増加しなかった。次に、シキミ酸やフェニルプロパノイド経路に及ぼすASMの影響を調べ、各種フェノール物質が前駆物質として働いて、キュウリの表皮細胞壁にリグニンによる物理的障壁を形成、病原菌の侵入を阻止することを見出した。また、SARの発現過程で、ASM処理したキュウリの第一本葉からASM未処理の上位葉に移行するシグナル物質として、過酸化水素の重要性に着目、キュウリ木部における過酸化水素の蓄積が有意に増大することを突き止めている。

以上のように本研究では、これまで不明であったSAR発現におけるファイトアレキシン関与の有無を明らかにするとともに、リグニンによる物理的障壁形成に至る各種フェノール物質の役割を見出し、さらに、過酸化水素がキュウリにおけるSARのシグナル物質の1つとして働くことを明らかにしており、この内容はASMによるSAR誘導の全体像を解明する上で大変重要な成果であると判断される。

よって、著者は博士 (農学) の学位を受けるに十分な資格を有する者として認める。