

氏名	ます い ひろ のり 升 井 洋 至
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	論 農 博 第 1864 号
学位授与の日付	平 成 5 年 11 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	STUDIES ON HOST-PARASITE INTERACTIONS IN TARO TUBERS (サトイモ塊茎中における宿主-寄生菌相互作用に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 鬼 頭 誠 教 授 小 清 水 弘 一 教 授 木 村 光

論 文 内 容 の 要 旨

サツマイモやサトイモに黒斑病を引き起こす原因となる *Ceratocystis fimbriata* は子のう菌の一種でサツマイモやサトイモから十余種の菌株が分離されている。これらの菌株は明瞭な宿主特異性を示す。本論文は、*C. fimbriata* の2つの菌株(サツマイモ菌株; Sp 菌株, サトイモ菌株; T 菌株)と宿主植物としてサトイモを用いて両者間の相互作用について研究を行ったものであり、主要な点は以下の通りである。

1. サトイモに対して非親和性である *C. fimbriata* の Sp 菌株を接種したとき Sp 菌株の胞子は発芽したが、その後その伸長は阻害され、やがて停止した。菌を接種したサトイモ組織でのみ抗菌的に作用する物質が生成することを見出した。そして抗菌物質を単離、NMR, GC-MS 等の機器分析により、9,12,13-trihydroxy-(E)-10-octadecenoic acid と同定した。さらにこの物質は構造よりリノール酸またはリノレン酸の過酸化反応により生成したものと推定された。これら不飽和脂肪酸を *in vitro* でリポキシゲナーゼ処理すると *C. fimbriata* に抗菌的に作用したことから、過酸化脂質が *C. fimbriata* の生育に影響することを確認した。

2. 菌接種サトイモ組織における過酸化脂質の生成と *C. fimbriata* に対する作用について、T 菌株と Sp 菌株の過酸化脂質への感受性を調べた。菌接種サトイモ中での総過酸化脂質量は菌接種後10時間から20時間にかけて増加し、Sp 菌株接種より T 菌株接種の方がより多く過酸化脂質を蓄積していた。このことから非親和性菌株の Sp 菌株では低い過酸化脂質量でその生育が抑えられると推定された。さらに、市販リポキシゲナーゼとリノレン酸から調製した過酸化脂質、Sp 菌株または T 菌株を接種したサトイモより抽出した脂質画分、菌接種サトイモから調製したりポキシゲナーゼとリノレン酸からの過酸化脂質及びリノール酸より調製した過酸化不飽和脂肪酸及びその還元物について、それぞれ抗菌作用を調べた。その結果、Sp 菌株の方が T 菌株より低い過酸化脂質量で生育が阻害されることが明らかとなった。しかし、リノール酸より調製し精製した過酸化不飽和脂肪酸及び還元物の異性体では両菌株ともに感受性に差はみられなかった。

これらの結果は非親和性の Sp 菌株がサトイモ中で生成する過酸化脂質で生育が阻害されるが、親和性

の T 菌株はその阻害に打ち勝って病気を起こす可能性があること、そして過酸化脂質が宿主特異性の発現にも関与している可能性を示している。

3. 菌接種サトイモ組織における過酸化脂質生成に関与する酵素に関して、サトイモに対して親和性の T 菌株と非親和性の Sp 菌株における挙動の差異について調べた。不飽和脂肪酸を遊離させるホスホリパーゼ A₂ の変動については T 菌株接種で Sp 菌株接種より早く増加し、増加量も大きかった。このことは T 菌株接種でより多くの過酸化脂質が蓄積していた結果とも一致した。また宿主 - 寄生菌間の相互作用における脂質過酸化は、活性酸素種により引き起こされる場合とリポキシゲナーゼによる場合が考えられており、この点について O₂⁻ の生成及びリポキシゲナーゼ活性の経時的変化を調べた。その結果、本系では O₂⁻ ではなくリポキシゲナーゼにより脂質過酸化が主にもたらされると考えられた。リポキシゲナーゼ活性は菌接種後10時間後より増加し始め、25時間後では親和性菌の T 菌株接種の方が Sp 菌株より約2倍高い値を示し、より多くの過酸化脂質生成能があることが明らかとなった。また生成した過酸化脂質をさらに還元などして分解するような酵素活性についても調べた。過酸化脂質分解活性は、サトイモの切断傷害でも検出されたが切断後10時間で健全なサトイモのレベルにまで減少した。

しかし、菌を接種した場合、接種後15時間から20時間にかけて再び増加し、T 菌株接種の方がその変動が大きかった。これらホスホリパーゼ A₂、リポキシゲナーゼ、過酸化脂質分解活性等の菌接種に伴う増加はすべて、サトイモに対して親和性の T 菌株で高かった。また、実際のサトイモ組織で非親和性の Sp 菌株が活動を停止する時間（25時間以内）でこれらの活性は増加し、一定のレベルになった。これらのことから過酸化脂質の生成がサトイモの抵抗性に関係していると考えられた。

以上の結果から *C. fimbriata* とサトイモの相互作用では脂質の過酸化で抗菌物質が生成し、この過酸化脂質が抵抗性及び宿主特異性を決定する因子の一つとして関与するものと推定された。

論文審査の結果の要旨

サツマイモやサトイモの黒斑病は宿主特異性をもった子のう菌の一種である *Ceratocystis fimbriata* によって引き起こされる。本寄生菌とサツマイモとの関係を調べる試みはなされてきたが、他の宿主植物を用いた研究はなされていない。本研究では宿主植物としてサトイモを用い、本寄生菌との相互作用を研究することにより発病の機構を解明しようとしたもので評価される点を以下に要約する。

1) サトイモに対して非親和性である *C. fimbriata* の Sp 菌株をサトイモに接種すると、Sp 菌株の胞子は発芽したが、その後伸長は阻害されやがて停止した。この場合、抗菌的に作用する物質が生成しており、このものを分析することにより、9,12,13-trihydroxy-(E)-10-octadecenoic acid と同定した。本物質は Sp 菌の代謝によって生成したものでなく、サトイモ組織で生成したものであることを確認した。また、本物質はリノール酸またはリノレン酸の過酸化によって生成したものと推定された。

2) サトイモ組織における菌接種後の過酸化脂質の生成と *C. fimbriata* に対する作用とを調べたところ、サトイモに対して非親和性の Sp 菌株はサトイモで生成する低濃度の過酸化脂質によって生育が阻害された。しかし、サトイモに対して親和性の T 菌株は多量の過酸化脂質の蓄積にも拘わらず、その阻害に打ち勝って生育し、結果として病気を起こす可能性が高いことを示した。この結果は過酸化脂質が宿主

特異性を決定する要因の一つとなっていることを示唆している。

3) サトイモ組織における過酸化脂質生成に関与する酵素系を調べたところ、T 菌株は Sp 菌株に比し、接種後ホスホリパーゼ A₂、リポキシゲナーゼ及び過酸化脂質分解活性が上昇していた。これらのことは、過酸化脂質の生成が植物の抵抗性に関係している可能性を示している。

よって本論文はサトイモ及びサツマイモの黒斑病菌に関して多くの新知見を与えたものであり、食糧生産学及び食糧貯蔵学の研究に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成5年9月21日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。