

氏 名	宮 田 善 雄 みや た よし お
学 位 の 種 類	農 学 博 士
学 位 記 番 号	論 農 博 第 873 号
学位授与の日付	昭 和 55 年 9 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 題 目	植物疫病菌の一種 <i>Phytophthora capsici</i> の遊走子のうの 間接発芽に関する研究

(主 査)
論文調査委員 教 授 山 本 昌 木 教 授 瀧 本 敦 教 授 上 山 昭 則

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、植物疫病菌の一種 *Phytophthora capsici* の遊走子のうの間接発芽機構について研究した結果をとりまとめたものである。

間接発芽は、遊走子のうから遊走子への分割と遊走子の泳出の2過程よりなる。遊走子への分割に先立ち、遊走子のう内に典型的『9 + 2 構造』をもつべん毛が形成される。べん毛を包む胞のうは、最初の割こう胞であり、割こう胞の配列と融合はここから始まると推定される。脂質果粒は、胞のうに取り込まれて変成を受け、結晶様構造を経てスフェロゾームに発達する。遊走子への分割は、小胞群より特徴的な糸くず様構造を含んだ割こう胞が出現し、並列して相互に融合後割こうを形成することから始まる。この融合した割こう膜は、遊走子の細胞膜となるが、遊走子膜はその後やや肥厚する。

キュウリ磨砕汁では、遊走子のうから遊走子への分割が起こるが、その遠沈上清液を培地とすると、形成された遊走子のうから遊走子への分割が起こらず、プロトプラスト型発芽を示す。この原因は、ステロールが培地中に欠乏したためと考えられる。この異常遊走子のう中には、種々の大きさの小胞断片が充てんした特徴的な胞のう（がらくた胞）が存在する。キュウリ脂質中のステロールは、ガスクロマトグラフィーにより、 β -シトステロールとその前駆体シクロアルテノールであることがわかった。遊走子への分割を行うためには、 β -シトステロールのほかにスティグマステロールが有効であった。コレステロールやエルゴステロールは効果が劣り、スクワレンやカルシフェロールは無効であった。遊走子のうの遊走子型発芽に有効な β -システロールの最低限界濃度は、培地 1 ml 当りほぼ $1 \mu\text{g}$ であり、その投与は、24 時間で充分であった。また、菌体に取り込まれたステロールは、エステル化を受けていることがわかった。 ^{14}C - β -シトステロールを用いた電顕オートラジオグラフィーの結果、ステロールは、各種の細胞小器官に広く分布するが、とくに割こう胞やスフェロゾーム中に存在する頻度が高かった。

しょ糖密度こう配遠心分離法により、脂質果粒・ミクロゾーム・ゴルジ体・リソゾーム・ミトコンドリアおよび細胞膜分画に分け、 ^3H - β -シトステロールの経時的推移を調べたところ、発芽過程の進行につれてゴルジ体とリソゾーム分画では、ステロール量が減少し、逆に細胞膜分画では増加した。

遊走子のう間接発芽における第2過程の遊走子の飛び出しは、その原動力として、遊走子のべん毛やアメーバ運動ならびに膨圧の上昇が考えられる。しかし、べん毛の形成されないプロトプラストが同様に飛び出すことから、べん毛の推進力は主要な原動力とは考えられない。また、ぶどう糖や果糖の高張液中での間接発芽は完全に阻止されるが、マニトール・ソルビトール・メチルグルコースなど代謝されにくい糖類では高張条件下でも発芽がみられるので、膨圧も主要な原動力ではない。

特異的代謝阻害剤を用いた実験から、間接発芽には新しいたんぱく質の合成と、多量のATPの合成と消費を伴う活発な細胞活動が必要であることが示唆された。微小管機能阻害剤ビンブラスチン(125 μ g/ml)により飛び出しは完全に阻害され、コルセミドやコルヒチンでも同様の傾向が認められた。

透過型電顕による超薄切片や走査型電顕による切断試料の観察では、遊走子のうの細胞壁と遊走子細胞膜との間に微小管とその束からなるひも状の網目様構造体が認められた。さらに、ブタ脳より抽出したチューブリン分画を抗原としたけい光抗体法により、それらの網目様構造体の存在位置とけい光発色部位とはよく一致した。この結果から、遊走子の放出は、微小管のすべり作用による可能性が示唆された。これは従来の膨圧説に代わる新しい微小管説ともいえるもので、これにより動的な遊走子放出現象はもとより、従来の膨圧説では説明不十分の出遅れ遊走子や残存果粒の放出現象をも説明できるようになった。

論文審査の結果の要旨

本論文は、*Phytophthora capsici* 菌の遊走子のうの間接発芽現象について、その全発芽過程にわたり詳細な電子顕微鏡観察ならびに生理的検討を行った結果をまとめたもので、評価される主な点はつぎのとおりである。

(1) ステロールを含まない培地で培養した遊走子のうは、間接発芽を行うことができない。このような遊走子のうではゴルジ体は未完成であり、その断片が充満した特異な胞のう(がらくた胞)を有する。

(2) キュウリのステロールは、 β -シトステロールである。遊走子のうの間接発芽を行うために、このステロールやスティグマステロールを取り込む必要がある。これらのステロールは、取り込まれたのちも、エステル化される以外には代謝変化を受けずにゴルジ体を經由して割こう胞からさらに分割した遊走子の細胞膜に転送されることを、オートラジオグラフィーとしょ糖密度勾配細胞遠心分画法によるトレーサー実験から明らかにした。

(3) 遊走子の放出が、代謝されにくい糖であるマニトール・ソルビトール・デオキシグルコース・メチルグルコースなどでは高張液中でも起こることを確認し、従来の膨張説を否定した。

(4) ビンブラスチンにより遊走子放出の阻害がみられることから、微小管が関与する可能性を示した。また、独自の細胞切断法による試料を走査型電子顕微鏡で観察すると、遊走子のう内壁と遊走子塊の表面に網目様構造を認めた。この構造は、トリプシンにより消化されることおよびビンブラスチン処理により形成阻害がみられることから、その網目様構造が微小管たんぱく質(チューブリン)よりなる可能性を示した。また、透過型電子顕微鏡観察により、この部分には、微小管束が存在することを明らかにした。

(5) ブタ脳よりチューブリン分画を取り、それを抗原としてウサギ体内で抗体を作り、けい光抗体法により先の網目様構造の存在位置とけい光発光部位とがきわめてよく一致することを示した。

(6) これらのことから、遊走子の放出に微小管の関与することが明らかとなった。

以上のように、本論文は植物疫病菌の一種 *Phytophthora capsici* の遊走子のうの間接発芽について形態的・生理的に詳細な検討を行ったもので、菌学・植物病理学・植物生理学に貢献するところが大きい。

よって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。