

審査の結果の要旨

氏名 伊代住浩幸

植物は病原体を察知すると多段階の抵抗性反応を誘導し、病原体の感染を阻害する。第一段階として幅広い病原体を認識して主にその侵入を阻害する基礎的抵抗性が誘導され、その後病原体が感染すると病原体由来の因子を認識して特異的な病原体の感染を阻害する真正抵抗性が誘導される。一方、これら植物が備える防御応答を利用し、植物にあらかじめ一定レベルの抵抗性を誘導しておき、その後の病原菌の感染を予防するプライミングと呼ばれる現象が病害防除に応用されており、プライミングを誘導する抵抗性誘導剤とよばれる農薬が普及している。抵抗性誘導剤は直接の殺菌作用を持たず、比較的環境負荷の低い農薬であると考えられており、我が国の微生物農薬の中でも大きなシェアを占めるが、利用できる抵抗性誘導剤の種類には限りがあり、効率的なスクリーニング手法の確立が望まれている。本研究では植物の病害応答に伴う極微弱発光（UPE）に着目し、病害誘導時の UPE 検出系を利用して非侵襲的な抵抗性誘導剤のスクリーニング系を確立した。

1. 病害抵抗反応に伴う極微弱発光の検出に適した植物試料と病害抵抗反応誘導因子の組み合わせの選定

まず、病害応答時の UPE の検出を行った。タバコ、イネ、メロン、トマト、イチゴ、サツマイモについて、それぞれ感受性もしくは抵抗性を示す様々な病原体を接種し、UPE を検出した。タバコ野火病菌を接種したタバコでは、真正抵抗性の誘導時に接種 12 時間後にピークを持つ一過性の UPE が検出され、サツマイモつる割病菌もしくは非病原性フザリウム菌を接種したサツマイモ貯蔵根のスライスでは、1 日以上継続する持続的な UPE が検出された。非病原性フザリウム菌を接種したサツマイモでは抵抗性反応の指標であるファイトアレキシン的一种イポメアマロンの生成が検出された。

次いで、病害応答時の安定的な UPE 検出系を確立するため、エリシター処理により誘導される UPE の検出を行った。エリシターとは病害抵抗性を誘導する物質の総称であり、本研究ではすでに抵抗性誘導活性が示されている糸状菌の細胞壁成分であるキチン 6 量体ならびに植物生育促進菌類（PGPF）の培養ろ液を用いた。キチンエリシターと PGPF エリシターはともにサツマイモ貯蔵根スライス、タバコ葉、イネ葉、イネ懸濁細胞でそれぞれ明瞭に UPE を誘導した。

2. エリシター応答発光の増強に基づいたプライミング検出システムの開発

病害抵抗性誘導剤によるプライミングがエリシター処理による UPE に与える影響を検証した。抵抗性誘導剤を処理したイネ葉およびイネ懸濁培養細胞に PGPF エリシターを処理すると UPE の増強が認められ、UPE 検出を利用したプライミング検出が可能であることが明らかになった。プライミングによる UPE の増強は、イネとキチン 6 量体、コムギとキチン 6 量体、ジャガイモとアラキドン酸、ブドウと酵母エキスといった植物培養細胞とエリシターの組み合わせにおいても同様に観察された。また、抵抗性誘導剤について検討し、全身的獲得抵抗性(SAR)、傷害誘導性抵抗性、誘導性全身的抵抗性、 β アミノ酪酸誘導抵抗性およびブラシノステロイド依存的抵抗性を誘導する既存の抵抗性誘導剤について、それぞれ UPE の増強を検証したところ、SAR を誘導する化合物により、試験した全ての組み合わせでプライミング依存的な UPE の増強が検出され、他の抵抗性の誘導剤は植物とエリシターの組み合わせにより UPE の増強が検出された。

さらにプライミングによる UPE 増強のメカニズムを明らかにするため、イネにおける SAR の主要な調節因子である *OsWRKY45* 遺伝子をノックダウンしたところ、野生型の細胞においては、SAR 誘導性の病害抵抗性誘導剤によりエリシター処理による UPE が増強した一方で、*OsWRKY45* 遺伝子をノックダウンした細胞では UPE が低下した。以上より、少なくとも SAR 誘導物質によるプライミングに関しては、プライミングに伴う UPE 増強は抵抗性誘導に関与することが明らかになった。

以上のプライミング検出系において供試した組み合わせの中でイネとキチンの組み合わせが最も安定しており、適用可能な抵抗性誘導物質濃度の範囲が最も広がった。そこで、イネとキチンの組み合わせを用いて、2セットの化合物ライブラリーのプライミング活性に関するスクリーニングを植物への病原体接種試験と組み合わせで実施し、8,947 化合物の中から病害抵抗反応のプライミングに関する 7 種類の新しい骨格構造を発見した。

以上を要するに、植物が病害応答時に UPE を引き起こすことを発見し、エリシターを用いた安定な病害応答 UPE の検出系を確立した。また、抵抗性誘導剤によるプライミング依存的にエリシター処理による UPE が増強することを明らかにし、抵抗性誘導剤の非侵襲的なスクリーニング系を確立した。これらの知見は抵抗性誘導剤の開発を通じた植物病害防除に寄与する農学的に重要な研究成果である。以上より、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。