

氏名	ラハマン エムディ ザヒドウル RAHMAN MD ZAHIDUR
学位の種類	博士 (農学)
学位記番号	甲第306号
学位授与年月日	平成15年 9月19日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Basic Study on the Mechanism of Light-Induced Disease Resistance in Plant (光による植物病害抵抗性誘導機構に関する基礎的研究)
学位論文審査委員	(主査) 荒瀬 榮 (副査) 山本 廣基 本田 雄一 尾谷 浩 田中 秀平

学位論文の内容の要旨

Light induced resistance was investigated by using red light and broad bean (*Vicia faba* L.) plant inoculated with *Alternaria tenuissima* and *Botrytis cinerea* for understanding the resistance mechanism. Red light could inhibit formation of infection hypha and reduce the infection hyphal growth resulting in less number of cell invaded per infection hypha shown by restricted necrotic lesion only in inoculated surface of broad bean leaflets against *B. cinerea*. Red light could also suppress lesion development in heat treated heated susceptible broad bean leaflets by restricted growth and formation infection structure and the results suggested a relationship between lesion development and phytoalexin production in broad bean leaves inoculated with *B. cinerea*. Red light could suppress a newly recognized broad bean leaf spot disease caused by *A. tenuissima*. Lesion development was completely suppressed in red light irradiated broad bean leaflets where *A. tenuissima* failed to produce infection hypae, irrespective of isolate or spore concentration. Pre-treatment of leaflets with red light for 24 h before inoculation also suppressed the lesion development, suggested that the disease suppression in broad bean leaflet is due to light-induced resistance. Red light also suppressed susceptibility induced by *A. tenuissima* SGF, thus, lesion formation and development were suppressed when leaflets were inoculated with the spores of *A. alternata* suspended in *A. tenuissima* SGF under red light. Study on a relationship between red and far-red light on red light-induced resistance in broad bean against *A. tenuissima* indicated that red light suppressed formation and development of lesion, while far-red light had no suppressive effect on lesion formation as well as development. Red light, whether preceded or followed could suppress lesion development, though preceding irradiation was more significant than following irradiation with far-red irradiation or in the dark. Far-red light suppressed the red light effect whether far-red irradiation was before or after red irradiation, though there were no

significant different when far-red light was replaced with dark. The effect of metabolic inhibitors on red light-induced resistance of broad bean against *Botrytis cinerea* was also investigated and found that red light failed to inhibit the formation of infection hyphae from appressorium as well as growth of infection hypha when leaflets were treated with an inhibitor of photosynthesis, DCMU or an inhibitor of protein synthesis, cycloheximide. In microscopic studies, clear cell browning was recognized only in red light irradiated control leaflets. Moreover, DCMU and cycloheximide treated leaflets produced black necrotic lesion even under red light irradiation for 48h, which was extended on uninoculated lower surface. DCMU did not affect on fungal growth, spore production and spore germination of *B.cinerea*. Cycloheximide at the concentration of 25 μ g/ml suppressed mycelial growth but not spore production. However, cycloheximide with the same concentration completely inhibited the spore germination. Based on these results, it might be concluded that red light-induced resistance in broad bean plants is pathogen non-specific, heat-stable and depends on host photosynthesis and protein synthesis.

論文審査の結果の要旨

本研究は、ソラマメと病原糸状菌 (*Alternaria tenuissima* と *Botrytis cinerea*) の系を用いて植物の光誘導抵抗性を生理学的に究明したもので、その内容は以下のように要約される。

赤色光は *B.cinerea* の感染菌糸の形成阻害とその伸長抑制によって、ソラマメ葉上での赤色斑点病の病斑形成を抑制した。この現象は、接種時間の経過に伴ってより鮮明になり、赤色光照射下では病斑は接種した葉面のみに限られていた。しかし、暗黒下では、黒色の病斑が葉の裏面にまで到達していた。この様な赤色光による低抗性の誘導効果は、一時的な熱処理 (50°C、5 秒間) によっても失われることなく、ソラマメ細胞における病原菌の感染菌糸の形成や生育は抑制されていた。接種した孢子懸濁液の抗菌活性を *B.cinerea* の孢子発芽を指標として調査した結果、接種 48 時間後の回収液に強い抗菌活性が認められ、抗菌物質の蓄積が示唆された。しかも、赤色光照射を行った熱処理葉から回収された接種液の方が暗黒下に保持した熱処理葉から回収された接種液よりも強い抗菌活性が認められた。これらの結果から、*B.cinerea* を接種したソラマメ葉における病斑形成とファイトアレキシン形成との間には密接な関係がある事が示唆された。

「ソラマメ斑点病」“leaf spot of broad bean” と命名された *Alternaria tenuissima* に起因する新病害に対する赤色光誘導低抗性について検討した。その結果、病斑形成は赤色光照射によって完全に抑制され、赤色光照射下では *A.tenuissima* は感染菌糸を全く形成しなかった。接種前に 24 時間赤色光を照射することによっても病斑形成は抑制された。これらの結果は赤色光照射下におけるソラマメ斑点病の発病抑制は光誘導低抗性によるものであることを示している。*A.tenuissima* の孢子発芽液 (SGF) に非病原菌である *A.alternata* の孢子を懸濁後、ソラマメ葉に有傷または無傷接種すると暗黒下では *A.alternata* が感染できるようになり、病斑が形成された。この結果から、SGF にはソラマメに感受性を誘導する因子の存在することが明らかとなった。しかし、赤色光は *A.tenuissima* の SGF による感受性誘導効果を抑制した。すなわち、赤色光は *A.tenuissima* の SGF に懸濁した *A.alternata* の孢子接種によるソラマメ葉への病斑形成及び病斑進展を抑制した。これらの結果より、*A.tenuissima* は孢子発芽時にソラマメに対する感受性誘導因子を生成し感染を成立させているが、赤

色光下では SGF による感受性誘導が阻害または抑制され、結果として病斑形成の拡大抑止が起こるものと考えられた。

次に、*A.tenuissima* に対する赤色光による低抗性誘導効果に及ぼす赤色光及び遠赤色光の相互作用を検討した。その結果、赤色光は病斑形成及びその伸長を抑制するのに対し、遠赤色光はそのような抑制作用はない事が明らかになった。しかし、暗黒区と比較すると、遠赤色光は病勢進展をやや促進する傾向が認められた。赤色光の病斑形成抑制作用は光の強さが増し、また、照射時間が長くなるにつれて強くなった。光の強さと照射時間とでは後者のほうがより大きな影響を及ぼすようであった。赤色光と遠赤色光または暗黒処理を組み合わせた場合、赤色光照射が先になっても後になっても病斑形成抑制効果は認められたが、赤色光を先に照射するとその効果はより大きくなった。

B.cinerea に対する赤色光誘導抵抗性の発現に及ぼす代謝阻害剤の影響を検討した。その結果、光合成阻害剤 DCMU とタンパク質合成阻害剤シクロヘキシミドを前処理したソラマメ葉では、赤色光による抵抗性誘導は認められなくなった。DCMU やシクロヘキシミドで処理した葉には 48 時間の赤色光照射条件下にあっても黒色の病斑が形成され、しかも、病斑は接種葉の裏面にまで到達していた。顕微鏡観察の結果、代謝阻害剤処理葉では赤色光による感染菌糸形成抑制効果は認められず、無処理区の赤色光照射下でのみ認められたソラマメ細胞壁の明瞭な着色（褐色）も観察されなかった。

以上のように本研究では、赤色光照射によりソラマメに対して誘導される抵抗性は病原菌非特異的かつ熱安定性で、しかもその発現には *de novo* な光合成活性やタンパク質合成活性などの宿主代謝系が深く関与していることを明らかにした。これらの光誘導抵抗性に関する研究業績は、植物の病害抵抗性機構の解明という植物病理学の重要課題の解決に寄与する新知見であり、博士の学位を与えるに十分な価値を持つものと判定した。