

## 学位論文審査の結果の要旨

氏名	Fatma Fakhry Abdel-Motaal
審査委員	主査 伊藤 真一 (印) 副査 田中 秀平 (印) 副査 小林 淳 (印) 副査 荒瀬 榮 (印) 副査 児玉 基一朗 (印)
題目	THE ROLE OF SECONDARY METABOLITES OF THE MEDICINAL SOLANACEOUS PLANT ( <i>HYOSCYAMUS MUTICUS</i> L.) AND ITS ASSOCIATED FUNGI IN PLANT-FUNGAL INTERACTIONS (薬用植物 <i>Hyoscyamus muticus</i> L. と菌の相互作用における二次代謝物および共存菌の役割)
<p>本論文は、薬用植物の一種である <i>Hyoscyamus muticus</i> と菌との相互作用について、<i>H. muticus</i> の二次代謝物および <i>H. muticus</i> の共存菌に着目して研究を行った結果を述べたものである。本論文の成果は以下のように要約される。</p> <p>1. 砂漠環境で生育している <i>H. muticus</i> の菌相 エジプト南部の砂漠地域において自生する <i>H. muticus</i> の周辺土壌、植物体表面、植物体内から約 10,000 株の共存菌を単離し、31 属 81 種および 2 変種を同定した。<i>H. muticus</i> のすべての組織部位から内生菌が単離されたことから、本植物における内生菌の重要性が示唆された。</p> <p>2. トロパンアルカロイドに対する糸状菌の応答 <i>H. muticus</i> が生産するトロパンアルカロイド (ヒヨスチアミンおよびスコポラミン) に対する <i>H. muticus</i> 共存菌の応答を明らかにした。供試菌 (40 種) はすべてスコポラミンに対して耐性を示したが、ヒヨスチアミンに対しては程度に差異があるもののすべて増殖が抑制された。TLC-バイオオートグラフィーの結果に基づいて、増殖抑制様式は 3 タイプに分かれた。すなわち、(i) 増殖抑制ゾーンが培養 8 日後でも鮮明な高感受性の 17 菌株 (タイプ I)、(ii) 増殖抑制ゾーンを取り囲む褐色サークルが形成され、増殖抑制ゾーン内で菌が増殖を再開した 22 菌株 (タイプ II)、および (iii) 褐色サークルが形成されず、増殖抑制ゾーン内で菌が増殖を再開した 1 菌株 (タイプ III) である。タイプ II とタイプ III 菌株においては、増殖抑制ゾーンのヒヨスチアミンは消失していた。そこで、代表的な 2 菌種 <i>Penicillium purpurogenum</i> (タイプ II) と <i>Cunninghamella elegans</i> (タイプ III) を用いてヒヨスチアミンの変化を調べた。その結果、これらの 2 菌はともにヒヨスチアミンを、抗菌活性の低い別のアルカロイドに変換する能力を持つことがわかった。すなわち、タイプ II および III の <i>H. muticus</i> 共存菌は、ヒヨスチアミンによって増殖が抑制されるが、ヒヨスチアミンを低毒性アルカロイドに変換・無毒化する適応能力を有することが示唆された。</p> <p>3. イネ病原菌に対するトロパンアルカロイドの抗菌活性 日本産のイネいもち病菌およびイネ 紋枯病菌に対するヒヨスチアミンおよびスコポラミンの抗菌</p>	

活性を調べ、ヒヨスチアミンが両菌に対してきわめて高い増殖抑制能を有することを明らかにした。ヒヨスチアミンで菌糸を処理すると、両菌とも電解質が漏出した。ヒヨスチアミンは、いもち病菌の分生子発芽、およびポリスチレン板上で生育中の同菌の付着器形成を、遅延あるいは抑制するとともに、いもち病菌分生子のイネ葉表面への付着、およびイネ葉表面での付着器形成を抑制した。イネを宿主にした接種試験において、ヒヨスチアミン (10 µg/ml) はいもち病の病斑形成を90%以上抑制し、紋枯病の発病を強く抑制した。また、ヒヨスチアミン (≥20 µg/ml) は、紋枯病菌の菌核の発芽と発達 (開始、成熟、およびメラニン沈着) を完全に抑制した。これらの結果から、ヒヨスチアミンのイネいもち病および紋枯病の防除における有用性が示唆されるとともに、イネいもち病菌分生子発芽とイネ紋枯病菌菌核の発芽および発達機構を解明するための研究試薬になりうることが示唆された。

#### 4. *H. muticus*の内生菌の抗菌活性

*H. muticus*から単離・同定した44株の内生菌から10菌株を選び、無菌的に生育した*H. muticus*苗に接種し、内生菌の再分離を行った。9菌株が内生菌として再分離され、このうち8菌株は、2種の植物病原菌および6種の非植物病原菌に対して抗菌活性を示した。とくに高い抗菌活性を示した*Penicillium citrinum*および*Neosectalidium dimidiatum*を培養し、細胞外および細胞内画分を、それぞれ酢酸エチル、*n*-ブタノール、および水で抽出し、TLC-バイオオートグラフィーによって各抽出物の抗菌活性を調べた。その結果、*P. citrinum* と*N. dimidiatum*ともに、細胞外液から高い抗菌活性が検出された。このことから、これらの内生菌が細胞外に抗菌物質を分泌していることが明らかになった。

#### 5. *H. muticus*の内生酵母の単離および同定

*H. muticus*の内生酵母について解析し、担子菌門および子う菌門に属する6種の酵母を単離した。形態学的、生理学的、および系統学的に解析した結果、担子菌門の4種は、*Pseudozyma*属の新種と判定された。また、子う菌の2種は、*Pichia guilliermondii*および*Debaryomyces hansenii*であることを明らかにした。

#### 6. *H. muticus*の新病害

日本において栽培中に発生した*H. muticus*の病害について、その病原菌2種を明らかにした。それらは*Cladosporium herbarum*および*Choanephora cucurbitarum*で、前者による病害をEgyptian henbane leaf spot (エジプトヘンベン斑点病) と命名した。後者については、Egyptian henbane floral rot diseaseという病名を提案した。

以上のように、本研究は、*H. muticus*の主要二次代謝物であるトロパンアルカロイドの抗菌作用を初めて明確にただけでなく、これまでまったく知られていなかった*H. muticus*内生菌の抗菌物質生産、内生酵母の存在、および*H. muticus*の新病害を明らかにしている。これらの研究成果は、植物と微生物の相互作用の解明に寄与する新知見であり、博士(農学)の学位を与えるに十分な価値を有すると判断した。