

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 堀田光生

病原細菌 *Ralstonia solanacearum* に起因する青枯病は熱帯、亜熱帯、温帯地域に広く発生し、トマト、ナス、ジャガイモなどの経済的に重要な作物の安定生産にとって最も大きい障害要因の1つとなっている。青枯病菌は多犯性である一方で、宿主範囲や生理・生化学的性質の違いにより多くの系統（レース、biovar 等）が存在している。本研究では、我が国ならびに外国産の各種植物青枯病菌を供試して、その細菌学的性質、生理・生化学的性質、遺伝的性質および病原性の解析に基づき、本邦産青枯病菌の多様性と遺伝的類縁関係を明らかにすることを試みた。

### 1. 日本で分離される青枯病菌の細菌学的性質と病原性

日本国内で分離された青枯病菌75菌株を収集し、それらの生理型 (biovar) を調べた結果、biovar N 2に13菌株、biovar 3に25菌株、biovar 4に37菌株がそれぞれ類別されることを明らかにした。また、20項目の主要な細菌学的・生理的性質をもとにクラスター分析を行った結果、供試株は6つのクラスターに類別された。biovar 3 および 4 はそれぞれ1つのクラスターを形成したのに対し、biovar N2では3つのクラスターに分かれることが示された。一方、5種のナス科作物に対する病原性を調べた結果、各植物に対する病原性の違いにより4つのグループに類別された。グループ1~3はいずれもトマト、ナス、ピーマン、ジャガイモに病原性を示すことからレース1に、グループ4はジャガイモにのみ強い病原性を示すことからレース3にそれぞれ相当することが明らかとなった。

### 2. DNA解析を用いた各種青枯病菌株の比較

REP、ERIC、BOXの3種のプライマーセットを用いた rep-PCR解析に基づくDNAパターンについてクラスター分析を行い、日本産および外国産菌株間の遺伝的類縁関係を調べた。供試した78菌株は2つのクラスターに大別でき、クラスターAには日本産 biovar N2、3、4（レース1）、アジア他産 biovar 3、4、5（レース1、4、5）およびアフリカ産 biovar 1（レース1）の株が属し、クラスターBには日本産 biovar N2（レース3）およびアメリカ他産 biovar 1、2、N2（レース1、2、3）が属した。さらに、rep-PCR解析および挿入配列をプローブに用いたDNAフィンガープリント解析を行ったところ、rep-PCRで35、DNAフィンガープリントで43のDNA typeに分かれ、両解析に基づくクラスター分析では、レース1とレース3の2つのクラスターに大別された。レース1はさらに6~7つのサブ

クラスターに分かれ、各サブクラスターには biovar、病原性および宿主植物等の異なる菌株が含まれた。特に biovar 3の菌株は 5つのサブクラスターに分かれ、遺伝的に不均一であることが明らかとなった。

### 3. 宿主植物内および根圏土壌中における青枯病菌の動態

以上の結果に基づき、本菌の土壌中での生存から宿主植物への感染過程における動態を rep-PCR法を用いて解析したところ、トマト青枯病菌およびナス青枯病菌では、土壌ならびに根圏土壌中からは複数の DNA typeを示す多様な菌株が分離されるにもかかわらず、宿主植物内からは特定の DNA typeを有する菌株が優先的に分離されることが明らかとなった。

以上を要するに、本研究では青枯病菌の細菌学的性質、生理的性質、病原性に基づく表現形質ならびに DNA 解析による遺伝的多様性について検討した結果、本邦産菌は病原性から 2つのレース (レース 1、レース 3) に、また、細菌学的性質から 3つの生理型 (biovar N2, 3, 4) にそれぞれ類別されること、および、その大多数を占めるレース 1には病原性の発現において多様性に富む系統が存在することを明らかにした。また、rep-PCR などによる解析から、本邦産菌は病原性および biovar の異なる菌株を含むレース 1がアジア系統の 1つとして特徴づけられるのに対して、レース 3はインドネシア系統と密接な類縁関係があることが示された。さらに、DNA 解析法を用いた本菌の動態解析により、土壌中および宿主植物内から分離される菌株間では両者に遺伝的な違いがみられることを見出した。本研究で得られた成果は学術上、応用上寄与するところが大きい。よって審査委員一同は、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。