

氏 名	NUR LAILI
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	学 術
学位授与番号	博甲第 6 5 1 2 号
学位授与の日付	2 0 2 1 年 9 月 2 4 日
学位授与の要件	環境生命科学研究科 農生命科学専攻 (学位規則第 4 条第 1 項該当)
学位論文の題目	Hypersensitive response (HR) on eggplant (<i>Solanum melongena</i> cv. Senryo-nigou) by <i>Ralstonia syzygii</i> subsp. <i>indonesiensis</i> PW1001 (ジャガイモ青枯病菌 PW1001 によるナス千両 2 号における過敏感反応)
論文審査委員	教授 豊田 和弘 教授 一瀬 勇規 教授 山本 幹博
学位論文内容の要旨	
<p><i>Ralstonia syzygii</i> subsp. <i>indonesiensis</i> PW1001 (<i>Rsi</i> PW1001) is one of a <i>Ralstonia solanacearum</i> species complex (RSSC) that causes wilt disease on potato (former name: <i>Ralstonia solanacearum</i> phylotype IV biovar 2N). However, inoculation of <i>Rsi</i> PW1001 on non-host eggplant <i>Solanum melongena</i> cv. Senryo-nigou induced hypersensitive response (HR). HR is a plant defense response to inoculation by pathogens, which is often accompanied by a rapid, localized and programmed cell death. <i>Rsi</i> PW1001 requires type III secretion system (T3SS) to translocate the effector proteins to induce HR. I found that trehalose synthesis is required for this HR induction.</p> <p>In the first study, I screened type III effectors (T3Es) in <i>Rsi</i> PW1001 that induce HR on eggplant. <i>Rsi</i> PW1001 injects approximately 70 effectors into plant cells via Hrp T3SS during infection. All mutants lacking each of the previously known effector genes in <i>Rsi</i> PW1001 still induced HR like wild type (WT) strain, indicating that all these effectors are not an avirulence factor on eggplant. This finding speculates that there is an unknown effector in <i>Rsi</i> PW1001 that induces HR on eggplant.</p> <p>In the second study, I investigated the involvement of trehalose synthesis in <i>Rsi</i> PW1001 in inducing HR on eggplant. Although, there are <i>treS</i>, <i>treY/treZ</i>, and <i>otsA/otsB</i> genes for trehalose biosynthesis in <i>Rsi</i> PW1001, <i>otsA/otsB</i> are a dominant trehalose biosynthetic genes because mutation of <i>otsA</i> or <i>otsB</i> significantly reduced the trehalose accumulation in the bacterial cells. Inoculation of <i>otsA</i> and <i>otsB</i> mutants significantly reduced HR levels on eggplant leaves, suggesting that trehalose biosynthesis is required for complete HR induction. Growth of <i>otsA</i> and <i>otsB</i> mutants with 10% sucrose or 1.5 M NaCl were lower than WT strain, indicating that trehalose contributes to osmotic stress tolerances. I also monitored expression of <i>ripX</i> (formerly named <i>popA</i>) as a typical effector gene in RSSC, and gene <i>X</i> which was recently identified by Mukaiharu (2021) as a candidate of avirulence gene. The <i>ripX</i> and gene <i>X</i> were not expressed in BG medium and induced in minimal medium in all strains. Although trehalose synthesis did not affect the <i>ripX</i> expression, expression of gene <i>X</i> was lower in trehalose-deficient strains in minimal medium, indicating that full expression of gene <i>X</i> required trehalose biosynthesis.</p> <p>In the third study, I investigated the role of trehalose for HR induction in another strain of RSSC phylotype I, <i>R. pseudosolanacearum</i> RS1002. Mutation of <i>otsA</i> in RS1002 significantly reduced trehalose accumulation in the bacterial cells. However, in contrast to <i>Rsi</i> PW1001, <i>otsA</i> mutant of RS1002 did not affect the HR level on its non-hosts wild eggplant and tobacco, suggesting that the involvement of trehalose synthesis for HR induction is not common in RSSC.</p>	

論文審査結果の要旨

本論文は、ジャガイモ青枯病菌 *Ralstonia syzygii* subsp. *indonesiensis* PW1001 (*Rsi* PW1001, 旧名 *Ralstonia solanacearum* phylotype IV biovar 2N) がナス千両2号 (*Solanum melongena* cv. Senryou-nigou) に誘導する過敏反応 (HR) のメカニズムの研究である。本論文では、本菌のトレハロース合成系遺伝子が欠損すると十分なHRが誘導されないことから、HRにおけるトレハロースの重要性を明らかにした。トレハロース合成に必要な *otsA*, *otsB* のいずれの欠損株も同様にHR誘導能が大きく低下し、*otsBA* 遺伝子の相補によりHR誘導能は回復した。外からトレハロースを添加しても変異株のHR誘導能は回復せず、HRには細菌細胞内部に蓄積するトレハロースが必要であることが明らかとなった。またトレハロース合成能が欠損すると、1.5 M のNaClや10%スクロースの処理といった高浸透圧処理に対する耐性が低下した。一方、トマト青枯病菌 *Ralstonia pseudosolanacearum* RS1002 (旧名 *Ralstonia solanacearum* phylotype I) においても *otsA* 変異株を作出し、非宿主タバコ、トルバムビガーにおけるHRを調べたところ、RS1002の誘導するHRにはトレハロースは必要とされないことが判明した。すなわち、トレハロースのHRにおける必要性は *Ralstonia solanacearum* species complex (RSSC) に共通の事象ではないことを明らかにした。最近になって、共同研究者がPW1001のナス千両2号にHRを誘導するエフェクター遺伝子を同定したが、トレハロース合成欠損株ではこの遺伝子の発現が低下することを見出し、このことがトレハロース合成系の欠損株でHR誘導能が低下する直接の原因と考察している。これらの知見はRSSCのHR誘導機構の理解において、新規な知見をもたらした。以上のことから、本論文は博士(学術)に値する論文であると判断した。