

2023 年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

研究課題	カンキツ緑カビ病に対するイソロイシンの病害抵抗性誘導効果
キーワード	①ウンシュウミカン、②イソロイシン、③緑カビ病

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	トミヤマ ヒロユキ 富山 博之
配付時の所属先・職位等 (令和5年4月1日現在)	東京農業大学 農学部 助教
現在の所属先・職位等	東京農業大学 農学部 助教
プロフィール	2021年3月、千葉大学大学院園芸学研究科博士課程を修了。「果樹および果実における内生アブシシン酸制御と環境ストレス応答に関する研究」で博士（農学）を取得。同年4月から1年間、北海道立総合研究機構の研究職員を経て2022年4月から現職。また、2014年から4年間、日本農薬株式会社総合研究所において除草剤の探索研究に従事した。現在は、「いかなる環境下においても高品質な果実をつくる」を目標に、果実の発育および成熟における生理活性物質の役割について研究を行っている。

1. 研究の概要

ウンシュウミカン是国内で最も生産されている果実である。収穫後のウンシュウミカンでは、貯蔵中に緑カビ病による被害が問題となるため、収穫前の殺菌剤散布が行われているが、耐性菌の発生などが問題となっており、新たな防除技術が求められている。ジャスモン酸 (JA) は植物の病害抵抗性に関与する植物ホルモンである。JA はアミノ酸であるイソロイシンと結合したジャスモン酸イソロイシン結合体 (JA-Ile) となり受容体に認識されることで、病害抵抗性遺伝子誘導などのシグナル伝達が行われる。そこで本研究では、収穫後のウンシュウミカン果実にイソロイシンを処理することで、果実中の内生 JA-Ile を高め、緑カビ病に対する抵抗性付与が可能なかを検討した。

2. 研究の動機、目的

果樹を含む農業現場において、化学合成農薬の使用量を減らすことが求められている。ウンシュウミカン是国内で最も生産されている果実であり、 β -クリプトキサンチンや β -カロテンなどの機能性成分を豊富に含むことから、ヒトの健康増進に貢献できる重要な果実である。収穫後のウンシュウミカンでは、貯蔵中に発生する緑カビ病による被害が問題となる。本病害は糸状菌である *Penicillium digitatum* が、貯蔵中の果実の傷から感染、発病する。防除には、ベンゾイミダゾール系殺菌剤などの収穫前散布が行われているが、すでに耐性菌の増加、分布範囲が拡大しており、化学合成農薬ではない新たな防除技術が求められている。

ジャスモン酸 (JA) は、植物の病害応答に関与する植物ホルモンである。リンゴやウメ、ブドウ果実において、病原菌感染前のジャスモン酸誘導体プロヒドロジャスモンの処理が果実中の内生 JA 濃度を増加させることで、病原菌感染拡大を抑制できることが報告されている (Nimitkeatkai ら 2011、Wang ら 2015、Suktawee ら 2019)。JA の情報伝達は、JA とアミノ酸

の一種であるイソロイシンが結合したジャスモン酸イソロイシン結合体 (JA-Ile) が活性体として、受容体に認識されることで開始する。He ら (2018) によれば、幅広い病原菌に対して病害抵抗性を示すネーブルオレンジの自然突然変異体は野生体に比べ内生 JA および JA-Ile 含量が増加しており、JA 情報伝達関連遺伝子の発現量も高いことが報告されている。

申請者らは、果実へのイソロイシン処理が果実中の内生 JA-Ile 含量を高める可能性について、リンゴを用いて検討した結果、イソロイシン処理によりリンゴ果皮中の JA-Ile 含量が増加することを確認した (Kondo ら 2021)。以上のことから、ウンシュウミカン果実へのイソロイシン処理により内生 JA-Ile を増加させ、病害応答遺伝子の発現を高めることができれば、果実に病害抵抗性を付与できるのではないかと仮説を立てた。

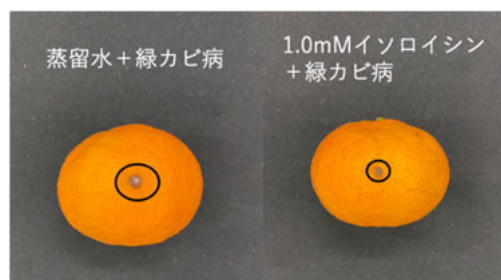
そこで本研究では、イソロイシン処理がウンシュウミカン果実の緑カビ病菌抵抗性に及ぼす影響について明らかにすることを目的とした。

3. 研究の結果

(未発表データのため、概略のみ記載)

東京農業大学農学部研究圃場内で露地栽培されているウンシュウミカン‘日南一号’から収穫期に果実を収穫し、供試した。収穫した果実を蒸留水、0.4mM プロヒドロジャスモン溶液および0.5mM、1.0mM に調製したイソロイシン溶液に浸漬処理後、果実表面に深さ3mmの傷をつけ、緑カビ病菌の胞子を接種した。緑カビ病菌は農業生物資源ジーンバンクから入手した緑カビ病菌 (MAFF 番号 242809) をポテトデキストロース寒天培地とともに25℃に設定したインキュベーター内で7日間培養したものを接種した。緑カビ病菌接種後は室温25℃、相対湿度95%下で貯蔵し、処理から0、1、2、3、4、5日後に果実をサンプリングした。サンプリングした果実の病斑直径を測定し、病原菌への被害程度を確認した。また、感染部位を除く果皮は液体窒素で凍結保存し、抗酸化活性 (DPPH ラジカル消去活性)、内生 JA および JA-Ile 含量、内生アブシシン酸含量および関連遺伝子の発現解析に供試した。

1.0mMイソロイシン+緑カビ病区の果実における病斑直径は蒸留水+緑カビ病区に比べ有意に小さくなった。一方で、0.5mMイソロイシン+緑カビ病区における病斑直径は蒸留水+緑カビ病区との間で有意差は認められなかった。このことから、緑カビ病の生育を抑制するには1.0mM以上のイソロイシン処理が必要であると推察された。また、1.0mMイソロイシン+緑カビ病区における果皮中の内生JAおよびJA-Ile含量は処理1日後に蒸留水+緑カビ病区に比べて高くなる傾向を示した。加えて、1.0mMイソロイシン+緑カビ病区における果皮中のDPPHラジカル消去活性は試験期間中、蒸留水+緑カビ病区よりも有意に高かった。今後、遺伝子発現解析およびJA以外の内生植物ホルモンの分析結果も含め、論文を作成する予定である。



4. 研究者としてのこれからの展望

果樹による果実生産では、病虫害防除のために殺菌剤・殺虫剤の散布が必要不可欠です。しかし、近年は化学合成農薬の使用量を低減させることが求められおり、化学合成農薬以外の防除法が要望されています。本研究では、アミノ酸であるイソロイシンに注目して、ウンシュウミカンの緑カビ病に対する病害抵抗性付与に関する研究を実施し、イソロイシンが緑カビ病菌の生育を一時的に阻害することを確認しました。今後は緑カビ病以外の重要病害や、ウンシュウミカン以外の果実においてもイソロイシン処理の効果について確認するとともに、そのメカニズムについてさらに明らかにしていく必要があります。一般的に、果実の発育には植物ホルモンの関与しています。果実中の内生植物ホルモンを自由自在に制御することが可能となれば、本研究で取り組んだ病害抵抗性の付与にとどまらず、棚持ち性の向上や着色促進などの技術開発にも繋がると考えられます。今後も、果実の発育と植物ホルモンなどの生理活性物質との関係性について研究を続け、農業生産分野に貢献できる研究者を目指します。

5. 支援者（寄付企業等や社会一般）等へのメッセージ

私が専門としている果樹園芸の分野では、植物ホルモンの一種であるジベレリンを使って無種子ブドウが生産されているように、高品質果実生産を目的とした生理活性物質による発育調節が行われています。近年では、地球温暖化による果実の着色不良や開花の不揃いなどが生産現場における課題となっています。課題解決のためには、新品種の育成が求められていますが、果樹の育種には長い年月がかかってしまいます。そのため、生理活性物質によるケミカルコントロールの面からアプローチし、すぐに実用化できる技術の開発を目指しています。今後も、「いかなる環境下でも高品質な果実をつくる」を目標に研究を進め、日本の果物がいつまでも世界に誇れるようにするのが私の使命だと感じています。

今回、ご支援いただき実施することができた研究を活かして、自身の研究をさらに発展させたいと考えております。今後とも、ご支援・ご協力のほどをどうかよろしくお願いいたします。

