



生物科学研究所

令和4年度研究年報



岡山県農林水産総合センター生物科学研究所

Research Institute for Biological Sciences, Okayama

序

まずは、明るい話題から、3年に渡ったコロナウイルスによるパンデミックは、5月8日にウイルス分類が、2類相当から5類に変更になり、インフルエンザと同様な扱いとなりました。感染が収束したわけでもなく、特効薬が開発されたわけでもないので、油断はできないのですが、昨年度は、来所者数が、3年ぶりに100名を超え、コロナ前に戻りつつある状況です。

一方、昨年度研究年報序文に記載した、ロシアによるウクライナ侵攻は、泥沼化しており、終結の見通しがたっていない状況です。一日でも早く、ウクライナに平穏な日常が戻ることを、祈るばかりです。日本では、この戦争の影響で、燃料代、電気代、肥料、飼料、食料が値上がりし、日常生活が圧迫されています。この戦争は、遠い国の出来事ではなく、身近な出来事であること、そして世界と繋がっていることを痛感させられます。

また、昨年10月末に、岡山では鶏インフルエンザが出てから、年末にかけて連続4件もの発生が確認され、その対応に追われました。岡山は、鶏卵の産出額全国5位の規模であり、鶏インフルエンザの影響で、物価の優等生と云われていた鶏卵の値段が高騰し、これまた日常生活への影響が大きい現状です。

さて、令和4年度は、研究所が開設後27年目であり、センター傘下の研究所に改組されて12年が経過しました。また、第6期五か年研究計画（令和4年度～令和8年度）の初年度にあたります。第6期計画から専門研究員は、各1課題を担当しており、第5期からの継続課題3課題、今期から開始した課題3課題の計6課題の構成になっています。個別の研究成果については、本編を参照して頂きたいのですが、昨年度の成果として、「モモ絞り咲きメカニズムの解明」、「気候変動に適応したバイオスティミュラント資材の開発」、「スギ育苗時における酸化型グルタチオンの効果」、「トウガラシの色彩度と抗酸化力の相関」、「モモ本葉を用いたせん孔細菌病菌接種系の確立」など計画初年度にも関わらず、新たな知見を得ております。

平成9年度の研究年報第1号から数えて、本年報は節目の第25号目となります。当研究所に求められる役割は、設立当初からずいぶんと変遷いたしましたが、所員一同、本県農林水産業に資するため、日々懸命に努力しておりますので、今後とも関係各位の格段のご支援をお願い申し上げます。

令和5年5月

岡山県農林水産総合センター
生物科学研究所 所長 畑 中 唯 史

目 次

研究所の概要

研究方針	1
組織図	2
職員名簿	3
外部評価委員会委員	4
第6期5ヵ年研究計画【研究計画表】	5
主な行事	6
主な視察・来訪者	8

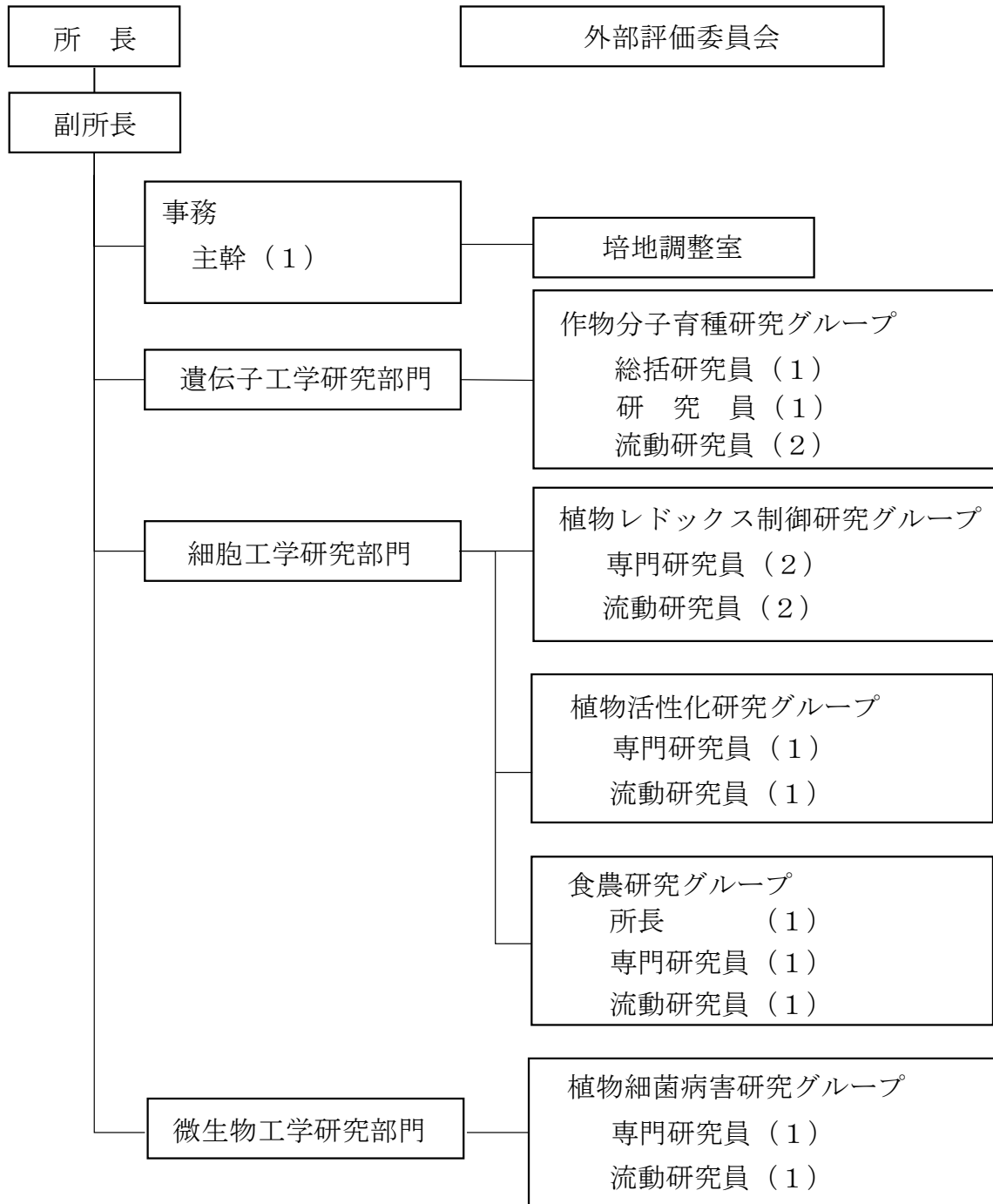
研究の概要

作物分子育種研究グループ	9
植物活性化研究グループ	1 8
植物レドックス制御研究グループ	3 4
食農研究グループ	4 4
植物細菌病害研究グループ	5 5

研 究 方 針

- バイオテクノロジー新技術の開発に資する基礎・基盤研究及び環境保全への貢献
- バイオテクノロジーに関する技術交流・情報の提供
- 農産物の岡山県ブランド化に寄与するバイオテクノロジー新技術の開発
- 産学官連携による地域貢献及び国際貢献
- 知的財産権取得の推進及び技術移転による科学技術への貢献

組織図 (令和5年3月31日現在)



所長	1	流動研究員 (非常勤)	7
事務職員	2	リサーチアソシエイト	1
総括研究員	1	実験・事務補助員等	7
専門研究員	5		
研究員	1	計	25

生物科学研究所職員名簿 (令和5年3月31日現在)

職 名	氏 名
所 長	畑 中 唯 史
副 所 長	高 橋 和 成
主 幹	守 屋 博 之
総括研究員	小 田 賢 司
専門研究員	西 川 正 信
専門研究員	小 川 健 一
専門研究員	向 原 隆 文
専門研究員	鳴 坂 義 弘
専門研究員	逸 見 健 司
研 究 員	久保田 朗 晴
流動研究員	鳴 坂 真 理
流動研究員	野 田 壮一郎
流動研究員	望 月 智 史
流動研究員	深 松 陽 介
流動研究員	楊 靈 麗
流動研究員	嘉 美 千 歳
流動研究員	田 村 勝 徳

外部評価委員会委員名簿

伊 東	秀 之	公立大学法人岡山県立大学保健福祉学部・学部長
大 森	茂	山陽薬品株式会社・代表取締役会長
神 崎	浩	国立大学法人岡山大学・教授
劔 持	敏 朗	岡山県農業協同組合中央会・専務理事
馬	建 鋒	国立大学法人岡山大学資源植物科学研究所・教授
矢 吹	香 月	岡山県消費生活センター・岡山県消費者教育コーディネーター

第6期5カ年研究計画

(令和4年度～令和8年度)

課題名	担当研究グループ
県産果物のブランド力を強化する次世代育種技術の開発研究	作物分子育種 研究グループ
持続的な農業生産に向けた環境保全型農業生産システムの開発	植物活性化 研究グループ
持続可能な農林業を支える種子選抜・肥培管理技術の開発 持続可能な飼料・食品産業を支える発酵技術開発	植物レドックス制御 研究グループ
県産農作物の機能性評価による高付加価値化の推進	食農 研究グループ
県主要農作物における細菌病害防除技術の開発研究	植物細菌病害 研究グループ

主な行事

令和4年5月9日 研究倫理講習会 ならびに 遺伝子組み換え実験講習会



令和4年7月6日 生物科学研究所における所長会議



令和4年5月25日 技術流出防止研修会



令和4年7月29日 外部評価会議（事後評価、ピュアリティまきび）



令和5年2月13日 プログレスレポート開催

プログラム

細胞工学研究部門

植物レドックス制御研究グループ

「劣化による種子品質及びその後の成長への影響」

望月 智史 …………… 13:00～13:30

「グルタチオンを施用したスギコンテナ苗の根鉢形成と植栽後の生長」

野田 壮一郎 …………… 13:30～14:00

食農研究グループ

「トウガラシ果実の抗酸化作用と色の関係」

楊 霊麗 …………… 14:00～14:30

遺伝子工学研究部門

植物活性化研究グループ

「持続的な農業生産に向けた環境保全型農業生産システムの開発」

鳴坂 真理 …………… 14:30～15:00

<休憩……………15:00～15:15>

作物分子育種研究グループ

「モモの重要農業形質の関連遺伝子探索」

深松 陽介 …………… 15:15～15:45

「モモの効率的な形質転換技術の開発」

田村 勝徳 …………… 15:45～16:15

微生物工学部門

植物細菌病害研究グループ

「モモせん孔細菌病防除技術の開発研究」

嘉美 千歳 …………… 16:15～16:45

岡山県立研究機関協議会第12回研究交流発表会
令和5年2月17日 岡山県立大学にて開催（97名参加）



主な視察・来訪者

令和4年5月26日 岡山大学農学部植物コース3年生来所（計43名）



令和4年8月19、22日 夏の体験教室
（遺伝子にふれてみよう、5組・10名参加）



その他、民間企業、研究機関などからの視察・来訪者

計 110名

作物分子育種研究グループ

総括研究員	小田 賢司 (グループ長)
研究員	久保田 朗晴
流動研究員	深松 陽介
流動研究員	田村 勝徳

県産果物のブランド力を強化する次世代育種技術の開発研究

[概要]

岡山は高品質な果物の産地として名高い。特に、ブドウやモモの市場評価は高く、県内での生産量も多い。県農業の振興を図るため、岡山県では、生産者・実需者・消費者が求める、より優れたモモやブドウの新品種育成に取り組んできた。しかしながら、植物体のサイズが大きく、着果までに長い年月を要するモモやブドウは、品種育成に一般的な交雑育種の手法では、育種目標に沿った望ましい品種を効率よく作出できないことも多く、現代の多様で変わりやすいニーズに迅速に対応できているとは言いがたい。このため、作物分子育種研究グループでは、果実形質をもとにした選抜が定植前に可能なマーカー支援選抜を岡山のモモ育種に活用すべく、育種目標に合致した独自マーカーの開発と育種現場での実践を進めてきた。令和4年度から新たにスタートした第6期5年計画では、これまでの方針を継承・発展させる形で、高品質で差別化できる新品種や、将来の課題を解決する新品種の育成を目標に、分子育種技術の活用により岡山の果樹育種力のさらなる向上を目指した研究に取り組んでいる。これまでは、研究対象をモモに限定していたが、新たにブドウについてもマーカー選抜に取り組んでいる。さらに、単なるマーカー開発だけでなく、マーカー選抜技術の有効活用に必要な周辺分野の研究や、マーカー支援選抜以外の分子育種法の開発も進めており、現代の育種法を岡山のモモ、ブドウ育種に最大限有効に活用することを目指している。

[背景と目的]

岡山のモモは、果皮がほんのり赤みを帯びた白色を呈し、果肉が柔らかくてみずみずしいという特徴があり、「岡山白桃」のブランドで他県産との差別化を図っている。また、岡山のブドウは、上品で香り高いマスカットオブアレキサンドリアや黒ブドウの主力であるピオーネが全国一の生産高を誇っている。県内で見ると、ブドウやモモは、米に次ぐ生産額第2位、3位の作物であり、県農業にとっての主力農作物である。このため、岡山県では、消費者や生産者が求めるより優れたブドウやモモを生産し、そのブランド力を向上させることで、県農業の振興を図ることを目指している。ブランド力向上には、栽培技術の改善とともに、新たな品種の育成を進めていくことが大切である。特に、品種はブランドの要であり、優良な県オリジナル品種の開発への要望は強い。その

ため、本県農事試験場（現農業研究所）では古くから新品種育成に積極的に取り組んでおり、例えばモモの品種改良は明治時代後期から開始し、これまでにおかやま夢白桃などの多くの品種を育成して、県民のニーズに応えてきた。

同じ作物でも品種によって、果実の大きさや甘さ、色、香り、収穫期、病気に対する抵抗性など、さまざまな特性（形質）が異なっているが、それぞれの品種が示す形質の違いは、基本的に各品種が保有する遺伝子の違いにより引き起こされると考えられる。近年、遺伝子を直接解析する分子生物学的手法が発達するとともに、果樹のゲノム（遺伝子の総体）情報が数多く明らかにされつつある。このような学術研究の発展をベースに、分子育種と呼ばれるこれまでにない新たな育種法が開発されてきている。その一つが、マーカー支援選抜である。これは、従来、交配で作られた各個体の形質を互いに比較して選抜していたのに代わり、各交配個体の DNA を比べ、形質を予測して選抜するという手法である。生物が持つ DNA は基本的にどの組織でも違いがなく、環境条件や生育によっても変化しない。このため、DNA を指標に選抜する場合、植物の栽培環境や成長段階を考慮する必要はない。例えば、果実の形質に関する選抜を行うのに成木の果実は必ずしも必要でなく、圃場定植前の小さな幼苗のわずかな葉で選抜を行うことができる。このため、幼苗の段階で、DNA を調べて不良形質をもつ個体を予測し、そのような個体を排除して定植すれば、圃場への定植個体数を増やすことなく、大規模な育種が可能となる。果樹は、個体サイズが大きく、着果までに長い年月を要することが一般的で、育種の際、栽培のための広い圃場や多くの人手を要することが最大の障害となって、選抜規模が極めて小規模に抑えられてきた。このようなことから、マーカー選抜は果樹育種にとって大変強力な手法になると期待される。しかし、実際には、育種目標に合致した高精度で簡便なマーカーの整備が遅れているため、マーカー支援選抜の果樹育種への適用は限定的である。そこで、このよ

うな現状を打破するため、我々は、岡山県農業研究所と共同で、モモの果皮色・果肉色・花粉稔性といった農業上の重要形質を識別する分子マーカーを独自に開発し、モモ新品種育成のより一層の効率化を進めてきた（図 1）。

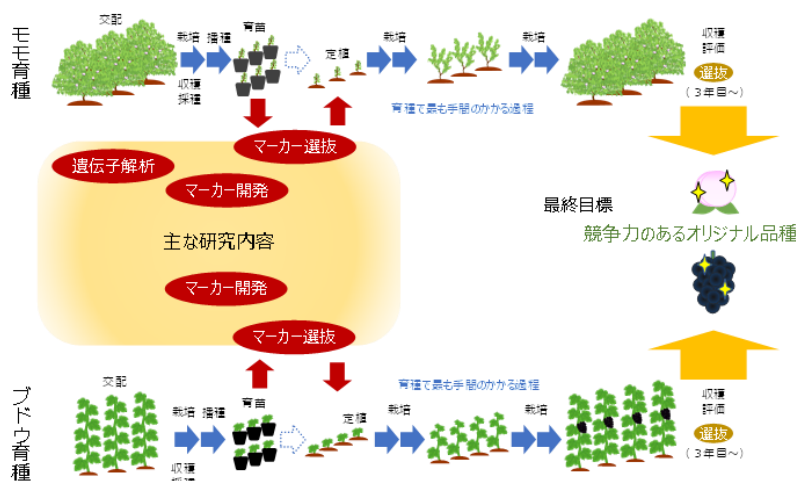


図 1. マーカーによる岡山県の効率的なモモ、ブドウの新品種育成

[今年度の成果]

今年度の研究は、主に、(1) モモやブドウを対象にした農業形質を予測する DNA マーカーの開発とモモの様々な形質の遺伝子解析、(2) DNA マーカーを有効に活用するための周辺技術の開発、(3) モモ育種におけるマーカー選抜の実践、(4) モモ育種にマーカー支援選抜以外の分子育種法を導入するための技術開発の4つに取り組んだ。このうち、(1) が研究の主体であり、現在、複数の形質について、分子機構解析やマーカー開発を進めている。(2) に関しては、幼苗を効率的に作るための発芽率の向上試験や、マーカー選抜に適した栽培法の開発などに取り組んでいる。マーカー選抜を育種現場で実践すると、マーカー開発時には想定していない問題が発生することがしばしばあり、マーカー検出法の改変や DNA 抽出法の改善等による問題解決も適宜行っている。(3) に関しては、共同研究先の岡山県農業研究所が中心となって実施している。

本年報の以下の部分では、モモの多様化を模索する試験研究として実施している着色に関する遺伝子解析の成果について述べる。

我々は、アントシアニンによる着色の中で、特に、アントシアニンを欠損し白色化する形質に着目して研究を進めている。これまでに、アントシアニンを完全に欠損するモモの変異について解析し、アントシアニンを液胞に輸送する働きがあると推察される *GST* 遺伝子が変異により機能を失うことで、そのような形質が引き起こされること、調査した品種・系統の中に *GST* の変異は 4 種類存在することを明らかにし、昨年度の研究年報で報告した。

一方、モモの中には、多くの部分はアントシアニンを失い白色化しているものの、一部分が赤色を呈する希少な形質を示す品種がある。このような形質は花卉で目につきやすく、いわゆる絞り咲き

(源平咲き) として知られている(図 2a 源平枝垂および箒桃)。花卉の白地に赤が入り乱れている様相であるが、赤の出現程度は品種間で異なっており、図 2a の源平枝垂に比べ、箒桃は赤い部分がかかなり少なくなっている。一つの樹の中でも、花卉に現れる赤色部分の出現頻度は花ごとで違い、すべての花卉が赤だけになっている花もある。



図 2. 多様なモモの花の例

- (a) 着色程度や着色の仕方に品種間で多様性が認められる
- (b) 絞り咲き品種の樹全体の様子

絞り咲き品種の白色部分のアントシアニン欠損形質がどのように生じているかを明らかにするため、箒桃、源平枝垂（入手先の異なる樹3本）、京更紗の3種5本の絞り咲き樹の成熟葉からゲノム DNA を抽出し、昨年度に報告した4種類の GST 遺伝子の変異をマーカーを用いて調査した。その結果、調べた5本すべての樹から、白花品種の照手白が有する第3エクソンのトランスポゾン挿入変異が検出され、この変異が白色化と関係することが示唆された（図3）。

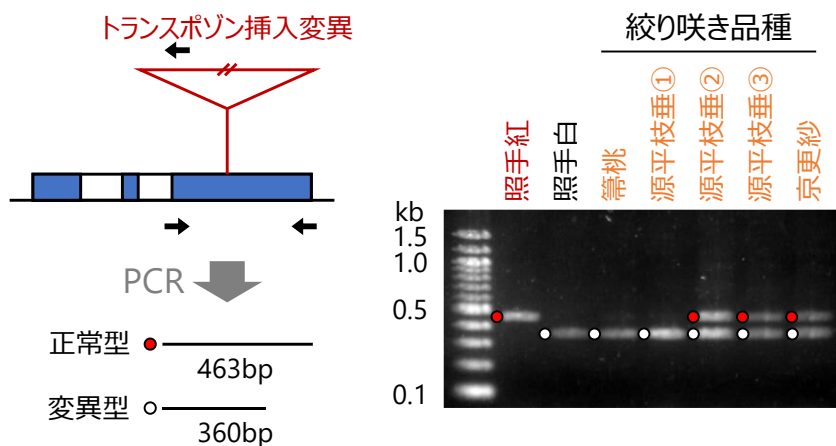


図3. 絞り咲き品種における GST 第3エクソンのトランスポゾン挿入のマーカー検出

そこで、花卉の赤い部分の細胞と白い部分の細胞から別々に DNA を抽出し、このトランスポゾン挿入変異の有無が着色の有無と相関するかを調べることを考えた。赤色と白色の花弁細胞を集めるにあたり、花卉の切片を切って光学顕微鏡で観察してみると、赤い着色は表面の細胞のみで認められ、内側の細胞は着色していないことが分かった（図4）。

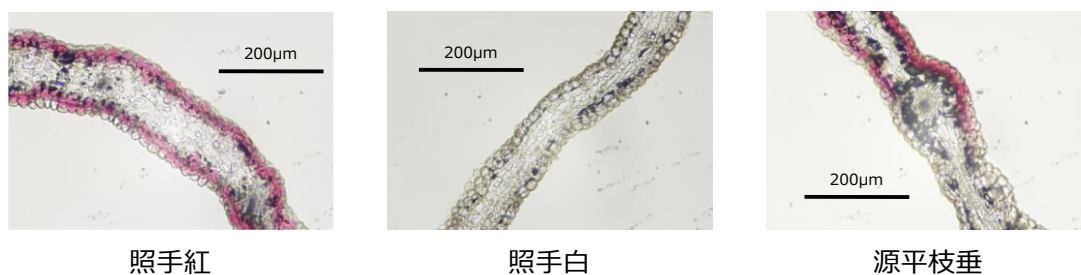


図4. 花モモの花弁切片の光学顕微鏡像

表面の細胞（L1）は内部の細胞（L2, L3）と発生学的な細胞の系譜が異なっており、赤色と白色の花弁細胞を集めるには、表面細胞のみを集める必要がある。しかし、表面の細胞のみを特異的に集めるのは困難であるため、ここでは次の簡便な方法で表面細胞が濃縮されたサンプルを集めることとした。まず、セロハンテープを両面に貼って花卉を挟み、次に一気に引きはがすと花卉が引き裂かれ、両方のセロハンテープに表面細胞が張り付く。内部の細胞は引き裂かれた表層細胞のいずれかあるいは両方に付着するの

で、内部の細胞が比較的付着していない表層細胞を色別に切り集め、赤色花卉細胞と白色花卉細胞のサンプルとした。ただし、この簡便な方法では、表面細胞が濃縮されているとはいえ、内部の細胞が少なからず含まれてしまうことは避けられない。

このようにして用意したサンプルを用い、第3エクソンのトランスポゾン挿入変異の有無をマーカーにより調査した。その結果を図5に示す。箒桃および源平枝垂①を材料として用いた場合、白色細胞ではほぼトランスポゾン挿入変異のシグナルのみが検出されたのに対し、赤色細胞ではトランスポゾン挿入変異をもつシグナルともたないシグナルの両方が検出された。トランスポゾンをもたない *GST* 遺伝子が正常な機能をもつために、赤く着色したと考えられる。このようなトランスポゾンをもたない正常遺伝子は、成長の過程でトランスポゾンが部分的に離脱したために生まれたと考えられる。

一方、源平枝垂②、③、京更紗の3サンプルでは、赤色細胞、白色細胞のいずれでも、トランスポゾン挿入変異をもつシグナルともたない正常サイズのシグナルの両方がはっきり検出された。白色細胞でトランスポゾンをもたない正常サイズのシグナルが検出されているが、この細胞はアントシアニンを欠損していることから、サイズは正常でも遺伝子機能を失っていると推察された。そこで、トランスポゾンをもたない正常サイズのシグナル部分の DNA を回収し、塩基配列を確認した。その結果、源平枝垂②、③、京更紗の3サンプルのいずれもトランスポゾン挿入変異をもっていなかったが、トランスポゾンの挿入されていた部位付近に別々のフレームシフト変異（それぞれ+4、+2、-1bp）を有することが分かった。このフレームシフト変異により遺伝子の機能が失われていると考えられた。トランスポゾンは離脱する際、数塩基の挿入・欠失変異が時に起こることがあり、これはフットプリントと呼ばれる。源平枝垂②、③、京更紗にみられるフレームシフト変異は、トランスポゾンの離脱に伴うフットプリントによると考えられる。源平枝垂や京更紗は江戸時代に作られた品種であり、接木を繰り返して現在に伝

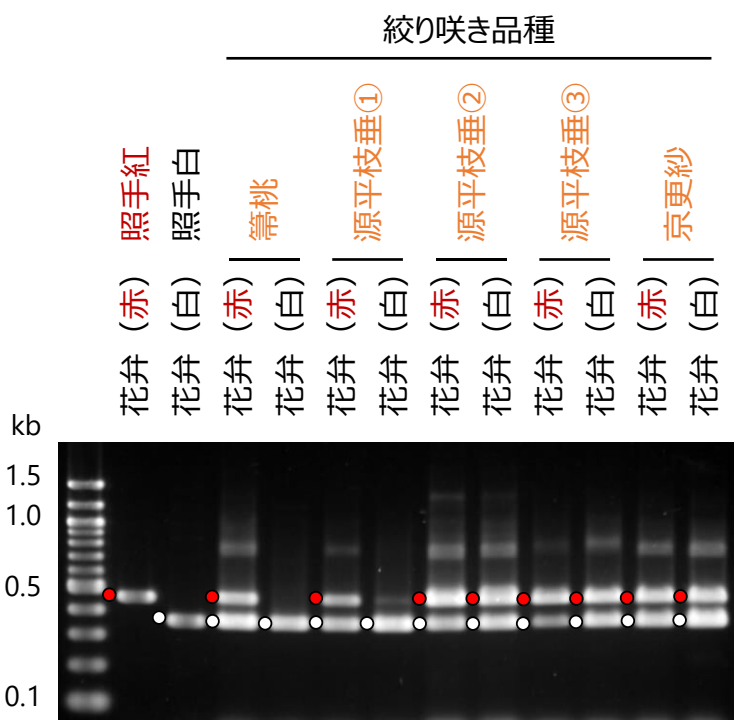


図5. 花卉の白い部分と赤い部分の細胞を用いたトランスポゾン挿入変異の検出

えられてくる歴史的過程の中で、一部の樹でトランスポゾンの離脱とフットプリントの形成が起こったのであろう（図6）。一方、赤色細胞のトランスポゾンをもたないシグナル部分について塩基配列を調べたところ、フレームシフト変異のある配列とない配列の両方が検出された。赤色細胞では、箒桃、源平枝垂①と同様に、トランスポゾンをもつ機能欠損遺伝子から成長の過程で一部細胞においてトランスポゾンの離脱が起こり、遺伝子の機能が回復して着色するようになったと考えられる。赤色細胞では、トランスポゾンをもつ機能欠損遺伝子のシグナルも検出されているが、これはサンプルに混じった内部の細胞に由来するのであろうと推察している。

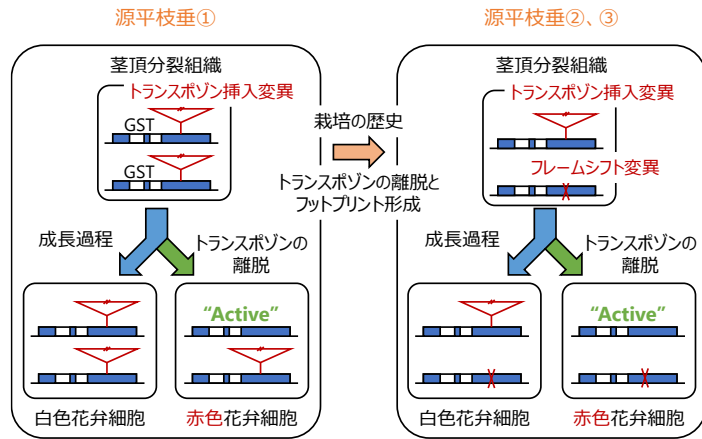


図6. 源平枝垂①、②、③の絞り咲きのメカニズム

以上のように、*GST* 遺伝子第3エクソンに挿入されたトランスポゾンは、離脱することができると考えられる。しかし、トランスポゾン自身に離脱に働く酵素をコードする正常な ORF はない。離脱に働く酵素は、ゲノム中の別のトランスポゾンからトランスに供給されているのではないかと予想される。実際、相同性検索を行うと、モモゲノムにこのトランスポゾンに配列のよく似たトランスポゾンが検出される。また、同じトランスポゾンをもちながら、絞り咲き形質を示す品種と照手白のように白花形質を示す品種がある。絞り咲き品種でも、図2aに示すように、赤い部分が出現する頻度は異なる。このような違いは、トランスに働く他のトランスポゾンに規定されるのかも知れない。すなわち、他のトランスポゾンがなければ *GST* のトランスポゾンは脱離できず、白花形質を示す。他のトランスポゾンがあっても、その活性の強さの違いにより、*GST* の正常型への復帰頻度が異なって、赤色部分の出現頻度の違いとなって現れているという可能性が考えられる（図7）。

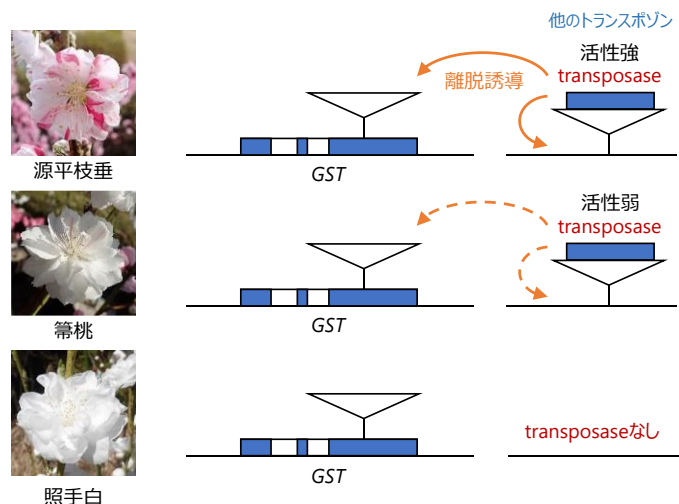


図7. トランス因子の違いによる *GST* 遺伝子のトランスポゾン離脱への影響の可能性

この研究は、花モモの花弁の絞り咲き形質にもとづいて解析を行ってきた。同様の形質は花弁以外の組織、特に果皮でも見られるであろうか。残念ながら、成熟果実を実らせることができておらず、果皮の形質は不明である。しかし、箒桃の未成熟果実を収穫し、その果皮から抽出したゲノム DNA をもとに行った PCR では、トランスポゾンのないシグナルが一部のサンプルで検出された (図 8)。このことから、果皮でもトランスポゾンは脱離することができると考えられる。トランスポゾンが離脱するならば、花弁に似たような、白地に赤色の混じった模様をもつ果実となる可能性があり、この変異を利用して、これまでになかった新しい形質の食用モモを育成できるかもしれない。

なお、本研究で用いたモモのサンプルの一部は、飯坂温泉はなももの里より譲渡いただきました。深くお礼申し上げます。

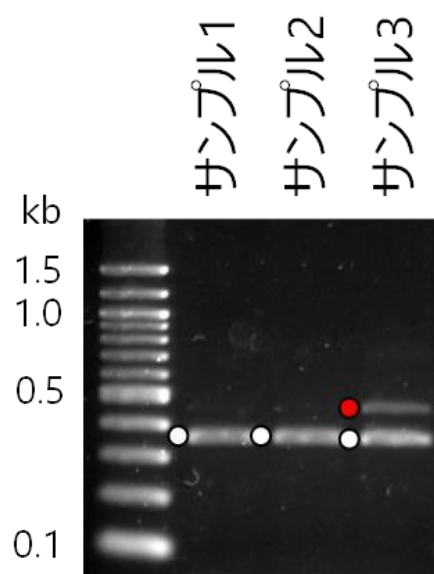


図 8. 箒桃果皮の DNA を用いたトランスポゾン挿入変異の検出

令和4年度の活動

1. 報文(総説・原著論文等)

Satoru Maeda, Wataru Ackley, Naoki Yokotani, Katsutomo Sasaki, Norihiro Ohtsubo, Kenji Oda and Masaki Mori

Enhanced Resistance to Fungal and Bacterial Diseases Due to Overexpression of BSR1, a Rice RLCK, in Sugarcane, Tomato, and Torenia

Int. J. Mol. Sci., **2023**, *24*, 3644

概要：イネのレセプター様細胞質リン酸化酵素遺伝子 *BROAD-SPECTRUM RESISTANCE 1* (*BSR1*) をサトウキビ、トマト、トレンニアで過剰発現させることで、糸状菌や細菌の病気に対する抵抗性を向上できることを明らかにした。

2. 学会・シンポジウム・講演会等での発表

久保田朗晴・原美由紀・田村勝徳・鶴木悠治郎・小田賢司

ハナモモにおける白花および絞り花の成立機構の解析

園芸学会令和4年度秋季大会、令和4年9月7～13日（山形）

衣川達己・谷澤靖洋・中村保一・伊藤武彦・田中裕之・平川英樹・篠澤章久・馬場

正・小田賢司・井出大輔・大和勝幸・石丸恵

和歌山県産モモ 25 品種の比較ゲノム解析

園芸学会令和5年度春季大会、令和5年3月19～20日（大津）

小田賢司

岡山県におけるモモ育種研究の現状

第54回岡山病理セミナー、令和4年12月10日（オンライン）

3. 知的財産権

なし

4. 共同研究・協力連携先

岡山県農林水産総合センター農業研究所、岡山大学、京都大学

5. 外部資金獲得状況

- 科学研究費補助金・基盤 C (代表 小田賢司)
- 科学研究費補助金・基盤 A (分担 小田賢司)
- 外部知見活用型・産学官連携研究事業 (代表 小田賢司)
- ウェスコ学術振興財団研究活動助成事業 (代表 深松陽介)

6. 新聞報道

山陽新聞 白桃の育種効率的に 岡山県生科研 DNA マーカー開発 令和4年12月8日

7. その他

岡山県立大学連携大学院 教授 (客員、兼任) (小田賢司)
岡山県立大学フードビジネス学 非常勤講師 (小田賢司)

植物活性化研究グループ

専門研究員	鳴坂 義弘 (グループ長)
流動研究員	鳴坂 真理
研究補助員	今井 由理子
研究補助員	難波 千鶴

持続的な農業生産に向けた環境保全型農業生産システムの開発

[背景と目的]

「第3次晴れの国おかやま生き生きプラン」には、高品質及び高付加価値な農林水産物を生産することで儲かる農林水産業を確立するとの目標が掲げられている。本課題では、持続的な農業生産に向けた環境保全型農業生産システムの開発研究に重点を置き、本県農林水産業への貢献をめざす。

人口減少及び高齢化などにより、国内の食市場は縮小傾向で推移している。一方で、世界の食市場は将来大幅に拡大することが見込まれている。今後、県の農林水産業が発展し、かつ、農林水産業者の所得向上のためには県産農産物の輸出拡大は重要な戦略となる。しかしながら、県内の農林水産業の生産者の減少及び高齢化が進んでおり、農地の適切な管理や、農業従事者の不足など、農業生産活動への支障が顕在化しつつある。本課題を解決するためには、スマート農業技術を導入し、労働時間の大幅な削減や生産コストの低減をはかり生産性の高い農業を推進する必要がある。

農林水産省は、食料の安定供給と農林水産業の持続的発展及び地球環境の両立を実現させるためのイノベーションの創出をめざし、令和3年5月12日に「みどりの食料システム戦略」を決定した。また、EUでは「農場から食卓まで戦略 (Farm to Fork Strategy)」を公表し、農家・企業・消費者・環境が一体となり、共に持続可能な食料システムを構築する戦略を策定するなど、国際的に持続可能な開発目標 (SDGs : Sustainable Development Goals) を重視する動きが加速している。一方で、地球の安定性を維持する限界値を意味する「プラネタリー・バウンダリー」のうち、気候変動は限界値をすでに超え、不可逆的かつ急激な環境変化により、負の現象が連鎖的に起こる可能性が示唆されている。日本の年平均気温は、100年当たり1.26°Cの割合で上昇し、世界平均(0.75°C)の2倍近い上昇率で温暖化が進行している。近年、気候変動によると思われる大規模災害(豪雨、台風、高温など)が頻発しており、県内の農業生産現場においても記録的な猛暑による高温障害、乾燥化や、病害虫の発生様相の変化などの影響が発生している。これらの影響は、農産物の収量及び品質の低下をもたらす農林水産業における重大なリスクとなっている。

当研究グループでは、SDGsでめざす持続可能な農業を実現するため、従来の殺菌性の化学農薬の使用を減じ、環境低負荷で持続可能な農業を推進するとともに、減農薬栽

培による岡山県の農産物のブランド化、「くだもの王国おかやま」いちごプロジェクトに貢献し、消費者へ安全、安心な農産物の提供を推進する。また、本大課題は、県の温暖化対策等研究強化事業も兼ねている（図1）。

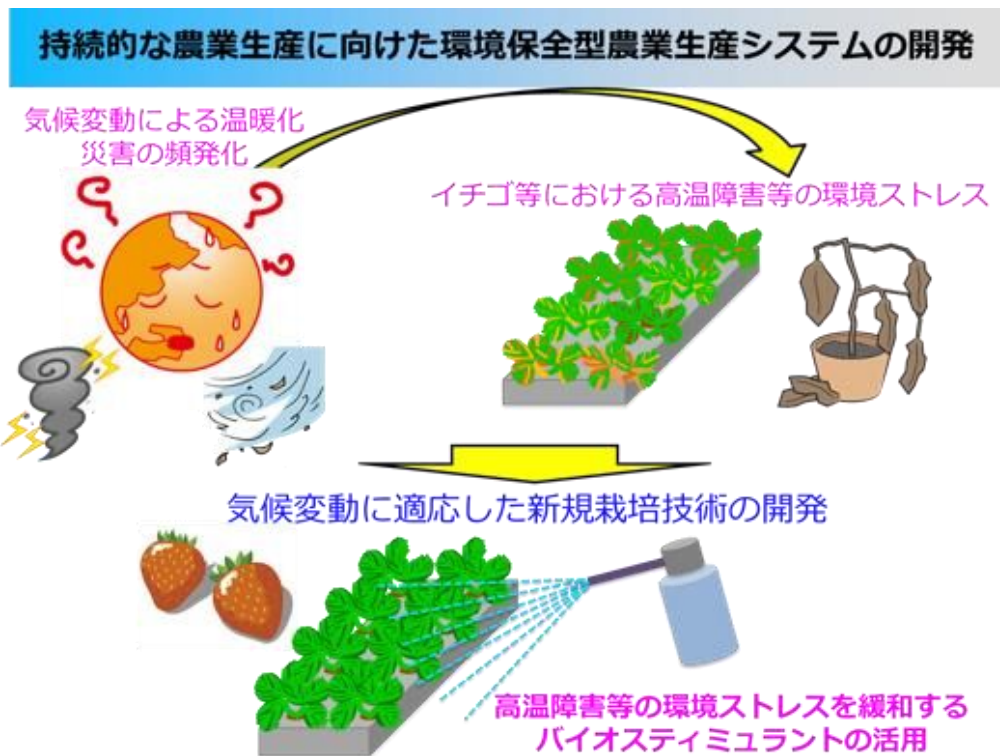


図1. 課題の概要

【今年度の成果】

岡山県内の技術、知見だけでは県の農業は成立しない。当研究グループは国内外の研究者、企業、農業従事者、管轄官庁などと連携し、農林水産業に関するあらゆる課題の解決に取り組んでいる。その結果、第6期五カ年計画の初年度において、学術論文等12報（原著論文2報、総説3報、著書3報、その他報文4報）、発明届3件、学会等発表17件、外部研究資金獲得10件、新聞等報道3件を達成した。また、企業との共同研究でバイオスティミュラント資材（P.A.D）を製品化した。以上により、第6期五カ年計画の目標を高度に達成する目処がたったとともに、当研究グループの研究成果を一般に広く伝えることができた。

世界的な気候変動により、これまでとは異なる病虫害の発生による被害の拡大が予測されており、発生の変動に対応した対策が求められている。また、病虫害の蔓延は、県境を越えて拡大し、我が国の農業に甚大な被害を与える恐れがある。そのため、本県単独ではなく、都道府県及び国が連携し、病虫害防除対策に取り組む必要がある。当研究グループは、農林水産省「知」の集積と活用における「植物の活性化による革新的農産物生産技術研究開発プラットフォーム」を運営し、オールジャパン体制で、本課題に取り組んでいる。

(1) 減農薬栽培に向けた新規病害防除技術の開発と社会実装に向けた実証試験

減農薬栽培に向けた新規病害防除技術の開発により、イチゴ(晴莓)を主体に県産農産物のブランド力の向上に貢献する。これまでに、イチゴ栽培において、紫外線(UV-B)照射技術による病害虫防除、天敵による害虫の防除、バイオスティミュラント(BS)資材による生育促進効果に関する知見を得た。本年度は前期五カ年計画に引き続き、これらを組み合わせた新規防除体系を確立し、イチゴ農家への普及を図った。導入技術として、紫外線(UV-B)照射、天敵、BS資材、AIセンサーによる病害発生予測技術の普及を試みた(図2)。

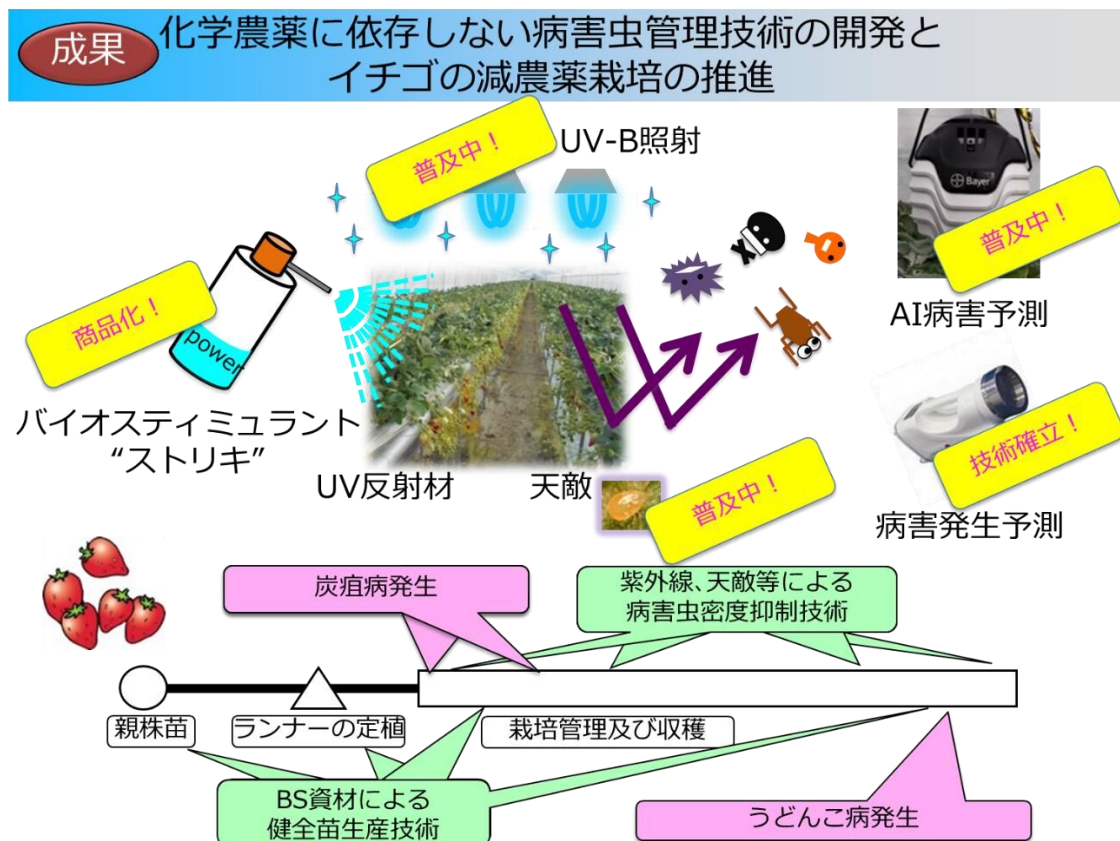


図2. イチゴの減農薬栽培に向けた新規病害防除技術の開発

施設栽培(イチゴ)のAI発病予測を利用した病害管理

生研支援センター「イノベーション創出強化研究推進事業」の課題「施設園芸の主要病害発生予測 AI による総合的病害予測・防除支援ソフトウェア開発」(AI 病害発生予測コンソーシアム、代表機関: 秋田県立大学)において、イチゴうどんこ病の圃場での実証試験を行った。生科研内のイチゴ栽培施設(品種: おいCベリー、やよいひめ、よつぼし、はるひ等)、協力農家A(品種: 章姫)、協力農家B(品種: よつぼし)及び岡山県農業大学校(品種: おいCベリー及び、恋みのり等)のビニルハウスにプロトタイプ温湿度センサー(プランテクト®)を設置してデータ収集を行うとともに、対象病害の発生を観察した。また、同温湿度センサーの指示により、各圃場での条件や環境に応

じて、任意の防除を行い、発病推移を継時的に観察した。エアサンプラーにより空間に飛散するうどんこ病菌を捕捉するため、うどんこ病菌の捕捉に関する実験を行い、発病調査の結果と統合して検討した。

令和3～4年度の作について、協力農家Aのビニルハウスでは、4月20日にプランテクト®により感染リスクが発出されてから26日後（5月16日）にうどんこ病の発生を確認した(図3)。協力農家Bのビニルハウスでは、4月20日に感染リスクが発出され、4月27日に農薬散布したことで発病を抑制できたものと思われる。その後、感染リスクが連続して発出され、5月11日にうどんこ病の発生が確認された。プランテクト®により感染リスクが発出されてから発生が確認されたことから、感染予測システムが機能したと考えられる。

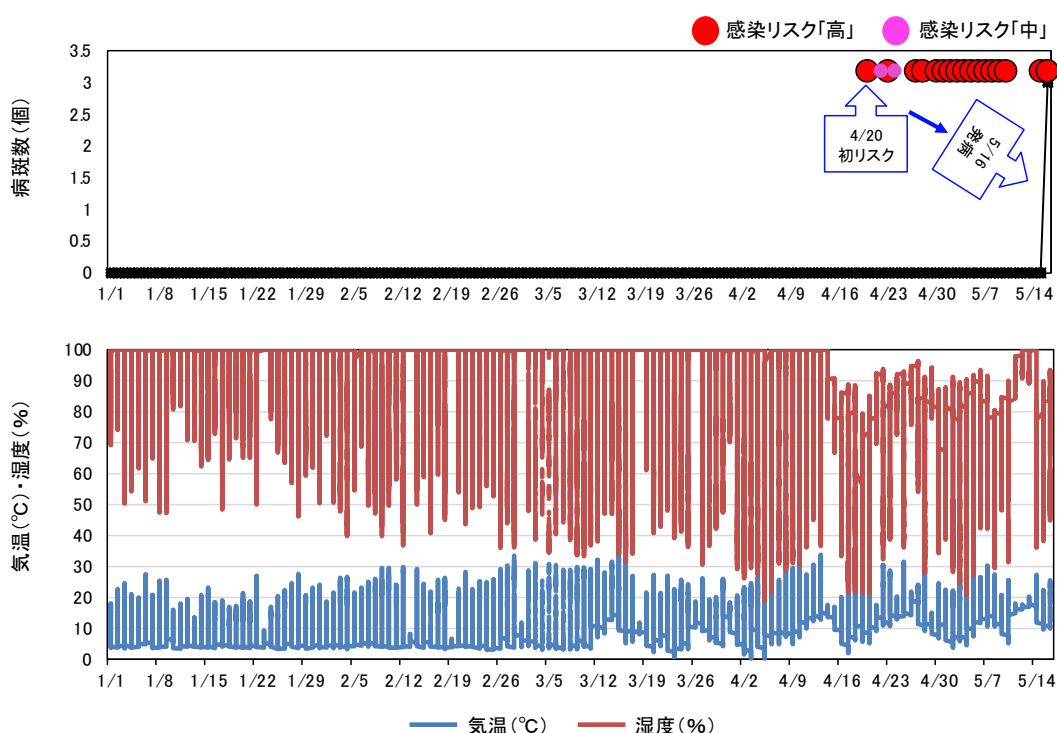


図3. イチゴうどんこ病の発生と感染リスクの推移（上図）及び、その間の気温と湿度の状況（下図） イチゴ品種：章姫

令和4年度の作について、センター内のイチゴ栽培施設において、農薬散布（いずれもサフオイル乳剤）は予測防除区で5回、慣行防除区で9回散布し、いずれの試験区も感染リスク対象病害の発生は認められなかった。ただし、予測防除区の散布のうち、3回は主にハダニを対象としたものであり、予測防除区の農薬散布回数は慣行防除区に対して大きく減じた。また、収量調査の結果、慣行防除区と予測防除区のイチゴの収量はほぼ同量であった。以上から、発病は認められなかったが、農薬の散布回数を減じたことで、感染予測システムは有効に機能したと考えられる。さらに、エアサンプラーにより空間に飛散するうどんこ病菌を捕捉することで、対象病害の感染予測を検証した。その結果、飛散量が一定値以上になると発病した(図4)。

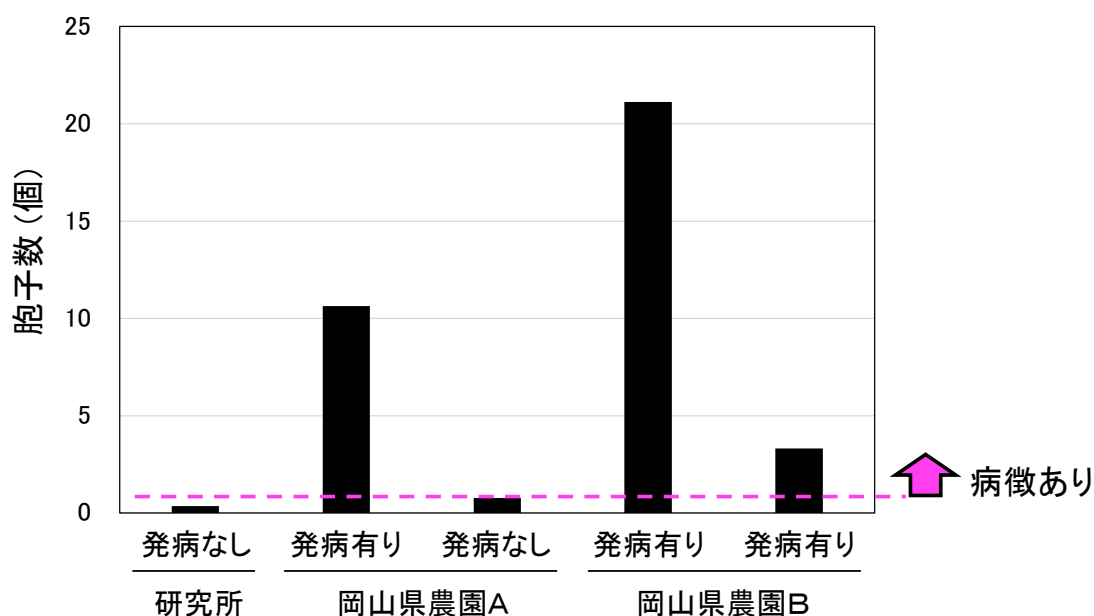


図4. 捕集した空気 3000L 中で検出されたイチゴうどんこ病菌の量

以上について、AI 病害発生予測コンソーシアムの成果として「AI 発病予測を利用した施設栽培の病害管理技術マニュアル」を公開した。詳細は以下のサイトをご覧ください。

<https://www.pref.okayama.jp/page/849437.html>

(2) 気候変動に適応した新技術の開発

気候変動によると思われる温暖化が深刻化しており、気候変動による主要穀物の生産被害は世界で約 5 兆円/年とされている。例えば、岡山県の主要な農作物であるトマトでは、高温による着色・着果不良、裂果、イチゴでは花芽分化の遅延、ブドウでは、黒色品種の着色不良、モモでは、暖冬による生育不良といった問題が既に発生している。また、2100 年までに、世界の平均地上気温は 0.3~4.8℃上昇すると予想されており、岡山地方気象台の発表によると岡山県では、①年平均気温が 100 年で約 4℃上昇、②猛暑日が年間 55 日程度増加、③大雨 (50mm/時間) の発生回数が 3 倍になる、④無降水日数が増加すると予測されている。また、農林水産省が推進する「みどりの食料システム戦略」や、「農林水産研究イノベーション戦略 2021」にも示されているとおり、持続可能な農林水産業を実現する上で、地球環境変動への対策は大きな課題となっている。

近年、気候変動による農業生産の不安定化リスクを低減し、収益性を高める技術としてバイオスティミュラント(biostimulant、BS 資材、生物刺激剤)が注目されている (図 1)。BS 資材は、「植物の活力を高め、植物に本来備わっている力を利用することで、様々なストレスを緩和させて健全な植物の生長をサポートする物質」(生物刺激制御研究会、HP : <https://bio-stimulant-research.org>) と定義され、病害虫などに直接作用して予防・防除する農薬や、栄養素を供給する肥料とは異なる (図 5)。しかしながら、多くの既存の

BS 資材は作用機作及び科学的根拠が不明で、規格化、標準化ができていないことが問題である。

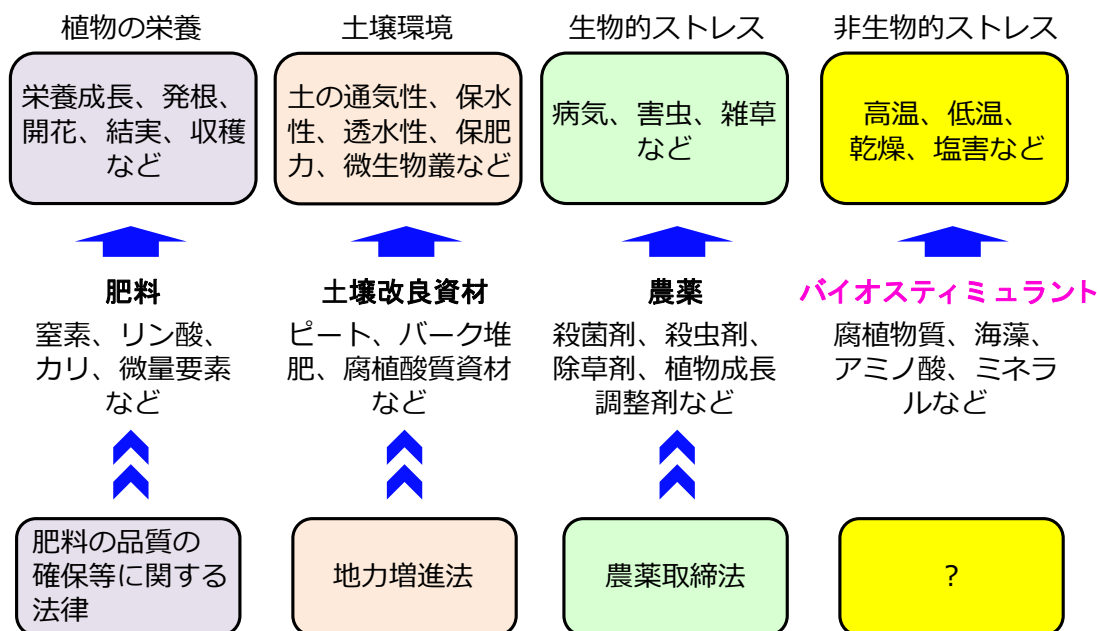


図 5. バイオスティミュラントの位置付け

当研究グループは、これまでにミネラル(微量元素)にストレス防御応答、生育促進、根の活着促進、収量を向上する効果があることを発見した(特許第 6634325 号、特許第 6713117 号、特願 2020-080169)。また、ミネラルを至適の比率で混合することで、「植物の環境ストレスに対する防御応答の強さと生産性(生長性)間のトレードオフ(一得一失)」を回避することに成功した。これまでに当研究グループは企業との共同研究で、BS 資材・液体微量元素複合肥料「ストロングリキッド」(以下「ストリキ」)(製造:片倉コープアグリ株式会社)及び、平成 4 年度に販売を開始した BS 資材「P.A.D」(製造:株式会社アグリドック)の開発に成功した。

植物の生長に必要な栄養素のうち、必要量が多い要素を多量要素(窒素、リン酸、カリウム)、必要量が少量でよいものを微量元素(鉄、マンガン、ホウ素、モリブデン、亜鉛、銅、塩素など)という。これらの微量元素は植物の生体内の生理活性(光合成、酸化還元、代謝など)や、植物の防御応答に強く関与しており、これらが不足(欠乏症)しても過剰(過剰症)になっても生長に負の影響を及ぼす。当研究グループは、微量元素の生長への効果と環境ストレスに対する防御応答の向上効果に着目し、生長と防御応答のトレードオフを打破する BS 資材の開発を試みた。

個々のミネラルの単独での施用は過剰症による薬害(葉の褐変、斑点、萎れ、生育障害など)を生じた。そこで、植物の環境ストレスを緩和するために、個々のミネラルの特性を考慮し、複数のミネラルを至適濃度で配合することで、生長と防御応答間のエネ

ルギーバランス効果を図った。いくつかの組み合わせを試行した結果、マンガン、ホウ素、鉄、銅、亜鉛を混合した微量元素資材を作製した。上述の通り、本資材は当研究グループと企業との共同開発により「ストリキ」として販売しているが、その科学的な特性は未知であったため以下の実験を行った。

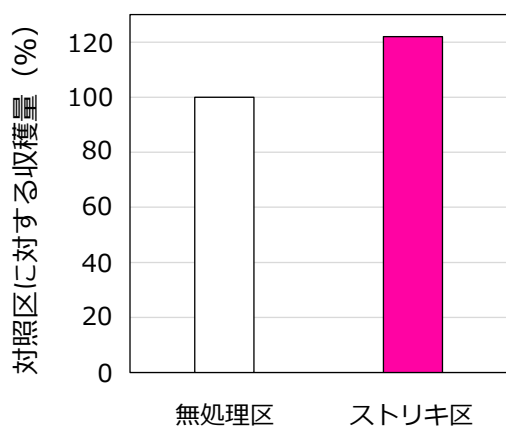


図6. 微量元素資材を処理したイチゴの収量調査
12月から2~3週間おきに500倍に希釈した微量元素資材ストリキ(0.1%界面活性剤添加)をイチゴ(品種:おいCベリー)に8回散布し、収量を調査した。おいCベリーは各区54株を用いた。ストリキ区の収量は対照区の収量を100%とした場合の相対値で示した。

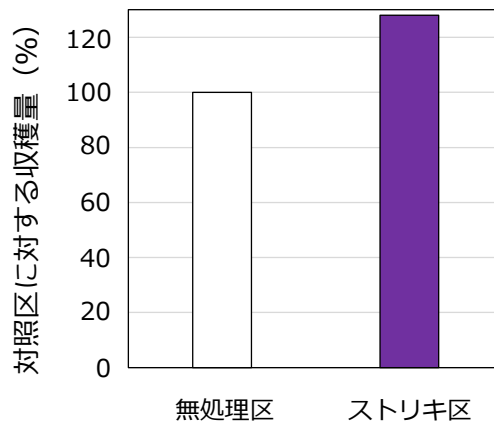


図7. 微量元素資材を処理したナスの収量調査
5月にナス(品種:千両2号)を定植(各区20~23株)した後、約2週間毎に500倍に希釈した微量元素資材ストリキ(0.1%界面活性剤添加)を8回葉面散布し、収量を調査した。ストリキ区の収量は対照区の収量を100%とした場合の相対値で示した。

微量元素(マンガン、ホウ素、鉄、銅、亜鉛)などの金属類は植物体内を移動しにくい特徴があり、根で吸収しても葉の先に供給することは困難である。そこでストリキを水で500倍に希釈してイチゴの葉面及び株元に散布した。その結果、ストリキ処理区は実の収量が20%向上した(図6)。また、岡山県の主要な農産物であるナスにストリキを水で500倍に希釈して葉面及び株元に散布した。その結果、ストリキ処理区は実の収量が30%近く向上した(図7)。

次いで、ストリキの乾燥ストレスに対する耐性付与効果を検討した。図8はトマト苗(品種:レジナ)を用いた乾燥実験の結果である。水のみを与えた苗に対し、ストリキを与えた苗は、乾燥ストレス条件下で元気さを維持していた。同様な結果はハクサイ苗でも得られており、ストリキは植物に乾燥耐性を付与することができた。現在、マイクロアレイを



図8. トマト苗を用いた微量元素資材の乾燥ストレス耐性付与効果
播種後26日のトマト苗(品種:レジナ)を用いて、それぞれ水または250倍に希釈した微量元素資材ストリキを灌注したのち、温度24℃、湿度30~40%、16時間明下/8時間暗下の条件にて乾燥処理を行った。7日後には水のみを与えた苗(左)は萎れているのに対して、ストリキを与えた苗(右)は健全さを維持していた。

用いて、ストリキ処理により発現誘導される遺伝子の網羅的な発現解析を行っており、その作用機作の解析を試みている。

本研究において、微量要素資材を処理することでトマトに乾燥ストレス耐性を付与し、かつ、収量を向上することが明らかになった。植物はストレスに遭遇すると個体、組織及び細胞レベルで速やかに応答し、ストレスに対する耐性を獲得する。一方で、植物は防御応答に必要なエネルギーを作るため、自らの生長を抑制する。そのため、植物の生長（バイオマス）とストレスに対する防御応答はトレードオフ（一方を追求すると他方を犠牲にしなければならないという、二律背反の状態）の関係にある。BS 資材によりストレスに対する植物の抵抗力を高めても生長を大きく阻害して収量を減じては本末転倒である。BS 資材の創薬には、植物のストレス耐性と生長のトレードオフの関係を科学的に理解し、これを打破する技術の開発が必要である。本研究で明らかになった通り、微量要素資材(ストリキ)は植物のストレス耐性と生長のトレードオフの關係の科学的な解明のツールとしても興味深い。

今後は、BS 資材の主材となるミネラルについて、複数の異なる栽培条件や施用法により処理したトマトを調製し、BS 資材成分の短期及び長期的な作用について、生理応答の変化（遺伝子発現の変動など）や外的変化（形態や成長の変化、薬害の有無など）を調査するとともに、BS 資材成分による高温・乾燥などのストレス耐性及び生産性の向上に関わる作用機作を解明する必要がある。本評価指標は BS 資材の規格化・標準化に資すると考えられる。

また、2021 年 5 月に農林水産省が発表した「みどりの食料システム戦略」において、2050 年までに化学農薬の 50%低減、化学肥料を 30%低減及び、耕地面積に占める有機農業の取り組み面積の割合を 25%に向上するとの目標が掲げられた。これらを解決するための一つの技術として BS 資材の使用が考えられている。

我が国の農業では古来より腐植物質及び海草類が農業資材として使われてきた。今後、科学的に作用機作及び効果が解明された BS 資材を農業生産に積極的に取り入れることで生産性が向上し、安定的な食料生産に貢献することが期待される。

(3) 環境低負荷型の新規病害防除剤の開発

プラントアクチベーターの開発

植物の免疫力を高める植物保護剤であるプラントアクチベーター（抵抗性誘導剤）と、抗植物ウイルス剤を開発する。近年、ヒトの免疫と同様に、植物も類似した免疫機構を有することが明らかになってきており、植物自身が持つ病気や劣悪な環境に対する“抵抗力”を強化することで、生産量損失の抑制と、従来の農薬の使用量を大幅に削減することが期待されている。これにより、環境への負荷を軽減し、持続的な農業生産システムの構築が期待できる。前期では、植物自身が持つ防御システムを活性化して病害を防除する環境低負荷型の病害防除法として、プラントアクチベーター候補剤の開発に成功した。このような植物自身の持つ防御システムの活性化により獲得された抵抗性には永続的な効果が期待されるため、薬剤耐性病原菌の発生を回避し、農薬による人体及び環

境への影響を最低限に抑え、低投入持続型の農業生産を行うことが可能となる。

抗ウイルス剤の開発

植物ウイルス病の被害は世界で6兆円、日本においても1,000億円以上と見積もられているが特効薬となる農薬は存在しない。これまでに、ショウガ科植物の月桃（ゲットウ、*Alpinia zerumbet*）から同定したプロアントシアニジンに抗ウイルス効果を発見した。現在、企業等との共同研究を実施し、農薬として社会実装をめざしている。また、本物質はインフルエンザウイルスやノロウイルス等の動物ウイルスにも抗ウイルス効果を示したため、医薬品や医薬部外品としての社会実装をめざしている。

(4) 「知」の集積と活用 の場 植物の活性化による革新的農産物生産技術研究開発プラットフォーム及びコンソーシアムの活動

農林水産省は、農林水産・食品分野に異分野の知識や技術を導入し、革新的な技術シーズを生み出すとともに、それらの技術シーズを事業化・商品化へと導き、国産農林水産物のバリューチェーンの形成に結びつける新たな産学連携研究の仕組み—「知」の集積と活用 の場—の構築に取り組んでいる（「知」の集積と活用 の場 URL の説明文を引用。<https://www.knowledge.maff.go.jp>）

生物科学研究所を管理運営機関とし、鳴坂が代表プロデューサーとして「植物の活性化による革新的農産物生産技術研究開発プラットフォーム」を平成30年2月に立ち上げて以下の事業を行っている。

- (1) 植物の能力を活性化する技術及び活性化した農作物創製の新技术開発
- (2) 農産物生産を向上する新技术開発
- (3) バイオサイクルによる環境負荷低減型の食料生産システムの開発研究
- (4) 上記開発技術の商品化・事業化のための研究戦略、研究計画の策定
- (5) 上記開発技術の商品化・事業化に関連する知財情報の調査及び知財戦略の策定
- (6) 研究成果等の情報発信及び新たなプラットフォーム会員の勧誘
- (7) その他「知」の集積と活用 の場産学官連携協議会の活動への協力等

これまでに本プラットフォームを起点とした研究コンソーシアム（バイオスティミュラントコンソーシアム、月桃コンソーシアム、植物免疫プライミングコンソーシアム、サトイモ疫病防除技術開発コンソーシアム、ゲノム編集コンソーシアム及び、作物刺激制御技術開発コンソーシアムなど）が立ち上がっており、国のグラント（生研支援センター イノベーション創出強化研究推進事業など）の獲得、アグリビジネス創出フェアへ出展するなどして精力的に活動している。また、本プラットフォームは企業とのマッチング、グラントへの推薦なども行っている。本プラットフォームへの参加については当研究グループまでお問い合わせ頂きたい。

(5) 生物刺激制御研究会の運営

近年、農薬、肥料、土壌改良資材に次ぐ新たな農業資材候補といわれるバイオスティミュラント（BS）資材が注目を浴びている。私たちは、BS資材について学術的に研究、

情報交換及び、議論する場を提供するため、令和3年1月に「生物刺激制御研究会」を立ち上げた。BS資材の定義は様々であるが、生物刺激制御研究会ではBS資材を「植物の活力を高め、植物に本来備わっている力を利用することで、様々なストレスを緩和させて健全な植物の成長をサポートする物質」と定義した。具体的には、植物が本来備えている免疫力を高める作用や生育を促進する作用を持つ資材がそれに当たる。これまでに6回のセミナーを開催した。

本会についての詳細は以下のHPを参照されたい。

<https://bio-stimulant-research.org>

(6) 今後の展望

岡山県の農業において、高温乾燥環境下で作物を安定的に生産できる技術を開発する。また、AI病害予測によるスマート農業の推進や、植物が本来備えている病気に対する抵抗力を高めて病気を防ぐ技術を主とした防除体系を開発し、新規病害虫防除体系によるイチゴの減農薬・無農薬栽培を推進することで、「くだもの王国おかやま」いちごプロジェクトに貢献する。

令和4年度の活動

1. 報文（総説・原著論文等）

鳴坂真理, 鳴坂義弘

バイオスティミュラントはどのように植物保護に貢献できるか?

日本農薬学会誌, 47(2), 69-72 (2022)

概要: バイオスティミュラントについて最新の知見を紹介し、植物保護分野での利用について提案した。

山口賢人, 北川隆啓, 飛永恭兵, 斉藤太香雄, 吉岡博文, 鳴坂義弘

抵抗性誘導剤を内包したナノ粒子の開発

日本農薬学会誌, 47(2), 65-68 (2022)

概要: 抵抗性誘導剤のナノ粒子化について最新の技術を紹介した。

鳴坂義弘

バイオスティミュラントの現状と課題

山陽の農業, 第160号, 26-33 (2022)

概要: バイオスティミュラントの現状と課題について解説した。

鳴坂義弘

バイオスティミュラント普及の動き

山陽の農業, 第161号, 22-28 (2022)

概要: バイオスティミュラントについて国内の普及の動向について解説した。

鳴坂義弘

微量元素活用による野菜類の免疫力向上を通じた生産安定

作物生産と土づくり, vol.54, No.571, 59-64 (2022)

概要: 微量元素のバイオスティミュラントとしての活用について解説し、当研究グループが開発したバイオスティミュラント資材について紹介した。

鳴坂真理, 鳴坂義弘

抵抗性タンパク質ペアによる病原体認識・抵抗性発現メカニズム

In バイオスティミュラントハンドブック(監修:山内靖雄, 須藤修, 和田哲夫, 編集協力:

日本バイオスティミュラント協議会), 株式会社エヌ・ティー・エス, pp. 201-207 (2022)

概要: 世界的に研究されている抵抗性タンパク質ペアによる病原体認識・抵抗性発現メカニズムについて解説し、当研究グループが発見した抵抗性タンパク質ペア RPS4/RRS1 に

ついて紹介した。

鳴坂義弘, 谷口伸治, 鳴坂真理

微量要素を主成分とするバイオスティミュラント資材

In バイオスティミュラントハンドブック(監修:山内靖雄, 須藤修, 和田哲夫, 編集協力: 日本バイオスティミュラント協議会), 株式会社エヌ・ティー・エス, pp.421-428 (2022)

概要: 微量要素のバイオスティミュラントとしての活用について解説し、当研究グループが開発した微量要素資材について紹介した。

鳴坂義弘, 鳴坂真理

バイオスティミュラントの開発・商品化の動向

In 化学農薬・生物農薬およびバイオスティミュラントの創製研究動向(監修:梅津憲治), 株式会社シーエムシー, pp.459-470 (2023)

概要: バイオスティミュラントについて解説するとともに、その開発及び普及の動向について紹介した。

鳴坂真理, 鳴坂義弘

日本の伝統食材サトイモを疫病から守る! RNAseq による防御マーカーの作製と免疫力の向上による防除技術の開発

令和 2 年度公益財団法人ウエスコ学術振興財団 事業報告書 研究成果報告書集、公益財団法人ウエスコ学術振興財団(令和 3 年 3 月)、pp.113-114(2021)

概要: サトイモの主要な産地で疫病が大発生し、生産の危機に直面している。当研究グループは疫病を防除するためにサトイモの抵抗性誘導機構について解析した。

鳴坂真理, 鳴坂義弘

日本の伝統食材サトイモを疫病から守る! RNAseq による防御マーカーの作製と免疫力の向上による防除技術の開発

令和 3 年度公益財団法人ウエスコ学術振興財団 事業報告書 研究成果報告書集、公益財団法人ウエスコ学術振興財団(令和4年 3 月)、pp.109-111 (2022)

概要: サトイモ疫病を防除するため、サトイモの抵抗反応を誘導し、疫病を防除する抵抗性誘導剤を選抜した結果、防除に有効な候補剤を得た。

鳴坂義弘, 鳴坂真理

AI 発病予測システムを利用したイチゴうどんこ病管理

In 施設園芸における空気伝染性病害の発生予測と病害管理(編集発行:AI 病害発生予測コンソーシアム)(2023 年 3 月), pp.43-53(2023)

<https://www.akita-pu.ac.jp/oshirase/oshirase2022/AIbyougai>

概要: AI 発病予測システムを利用したイチゴうどんこ病管理技術について紹介した。

Yoshihiro Narusaka

R&D Platform for innovative agricultural production technology based on plant stimulation
In Field for Knowledge Integration and Innovation[®] 2022 Introductory Pamphlet, *Field for Knowledge Integration and Innovation*, p.8 (2022)

(農林水産省「知」の集積と活用[®]の場[®] 産学官連携協議会 英語版パンフレット)

<https://www.knowledge.maff.go.jp/en/fkii.html>

概要：「知」の集積と活用[®]の場[®]「植物の活性化による革新的農産物生産技術研究開発プラットフォーム」の成果として、バイオスティミュラント資材ストロングリキッドを紹介した。

2. 学会・シンポジウム・講演会等での発表（英文大会名は国際学会）

(招待講演) 鳴坂義弘

微量要素活用による野菜類の免疫力向上を通じた生産安定
土づくり推進フォーラム講演会「バイオスティミュラント資材開発・利用の最前線」、2022年
8月4日(東京)

呑田佐知、鳴坂真理、鳴坂義弘、畑中唯史、富高保弘、関根健太郎

ゲットウ由来プロアントシアニジンのウイルス感染阻害効果
日本植物病理学会令和4年度(第56回)植物感染生理談話会、2022年9月5日～7
日(仙台市)

本田一馬、鳴坂義弘、鳴坂真理

腐植酸処理した植物における病害防御応答機構の解明
第39回日本植物バイオテクノロジー学会大会、2022年9月11日～13日(堺市)

吉岡美樹、荒川花子、鳴坂真理、鳴坂義弘、山口賢人、北川隆啓、吉岡博文

植物免疫ホルモンモニター植物による抵抗性誘導剤を内包したナノ粒子剤の評価
令和4年度日本植物病理学会関西支部会、2022年9月21日～22日(高知市)

(招待講演) 鳴坂義弘

バイオスティミュラントとは何か？その科学的根拠を考察する
第39回農薬環境科学研究会シンポジウム、2022年9月29日～30日(岐阜市)

藤田侑希、山口賢人、北川隆啓、川北健一、元藤梓平、吉岡博文、鳴坂義弘

ナノ粒子を用いた病害防除方法の開発
第41回農薬製剤・施用法シンポジウム、2022年10月14日(オンライン開催)

長岐清孝、鳴坂真理、鳴坂義弘

南西諸島に自生する *Alpinia* 属植物の核型解析

一般財団法人 染色体学会 第 73 回 (2022 年度) 年会、10 月 14 日～16 日 (オンライン開催)

鳴坂義弘、鳴坂真理、川北健一、関根健太郎、富高保弘、谷口伸治

植物の活性化による革新的農産物生産技術研究開発プラットフォーム

アグリビジネス創出フェア 2022、2022 年 10 月 26 日～28 日 (東京)

鳴坂義弘

新たな農資源ゲットウを利用した新規抗植物ウイルス剤の創製

アグリビジネス創出フェア 2022 出展者プレゼンテーション、2022 年 10 月 27 日 (東京)

山口賢人、藤田侑希、北川隆啓、川北健一、元藤梓平、吉岡博文、鳴坂義弘

抵抗性誘導剤を内包したナノ粒子農薬の開発

第 36 回農薬デザイン研究会、2022 年 11 月 11 日 (オンライン開催)

畑中唯史、鳴坂真理、裏地美杉、山次康幸、鳴坂義弘

ショウガ科植物・月桃に含まれる抗植物ウイルス成分の同定

日本生物工学会西日本支部大会 2022 (第 6 回講演会)、2022 年 11 月 26 日 (高知市)

(招待講演) 鳴坂義弘

バイオスティミュラントについて

IPM 協議会研修会、2022 年 11 月 28 日 (岡山市)

鳴坂義弘

植物の活性化による革新的農産物生産技術研究開発プラットフォームの紹介

農林水産省「知」の集積と活用[®] 産学官連携協議会ポスターセッション、2022 年 11

月 30 日～12 月 16 日 (オンライン開催)

月桃コンソーシアム (鳴坂義弘、鳴坂真理ら)

新たな農資源「月桃」由来成分を利用した新規抗ウイルス剤の開発をめざして!

農林水産省「知」の集積と活用[®] 産学官連携協議会ポスターセッション、2022 年 11

月 30 日～12 月 16 日 (オンライン開催)

植物免疫プライミングコンソーシアム (鳴坂義弘、鳴坂真理ら)

ナノ粒子を用いた農薬送達システムによる革新的植物免疫プライミング技術の開発

農林水産省「知」の集積と活用[®] 産学官連携協議会ポスターセッション、2022 年 11

月 30 日～12 月 16 日 (オンライン開催)

鳴坂義弘、鳴坂真理

施設栽培における空気伝染性病害の AI を用いた発病予測と防除 4) イチゴうどんこ病菌
の高感度検出技術の開発と発病予測

令和 5 年度日本植物病理学会大会、2023 年 3 月 27 日～29 日 (オンライン開催)

鳴坂真理、関根健太郎、畑中唯史、長岐清孝、鳴坂義弘

ゲットウ由来プロアントシアニジンを利用した新規抗植物ウイルス剤の開発研究

令和 5 年度日本植物病理学会大会、2023 年 3 月 27 日～29 日 (オンライン開催)

3. 知的財産権

発明届け 3 件、特許実施許諾 3 件

4. 共同研究・協力連携先

農研機構、京都大学、東京大学、名古屋大学、岡山大学、琉球大学、鳥取大学、理化学
研究所環境資源科学研究センター、理化学研究所バイオリソースセンター、秋田県立大
学、東京工業大学、徳島大学、岡山県農林水産総合センター農業研究所・畜産研究所・
水産研究所・農業大学校、都道府県の研究機関 (鹿児島県農業開発総合センター、栃木
県農業試験場、兵庫県立農林水産技術総合センター、静岡県農林技術研究所など)、「知」
の集積と活用の中核 植物の活性化による革新的農産物生産技術研究開発プラットフォ
ームのメンバー、「知」の集積と活用の中核 病害虫防除研究開発プラットフォームのメ
ンバー、その他民間企業 8 件など

5. 外部資金獲得状況

- ・ 生物系特定産業技術研究支援センター イノベーション創出強化研究推進事業 (基
礎研究ステージ) (中課題分担 鳴坂義弘)
- ・ 生物系特定産業技術研究支援センター イノベーション創出強化研究推進事業 (応
用研究ステージ) (小課題分担 鳴坂義弘)
- ・ 生物系特定産業技術研究支援センター イノベーション創出強化研究推進事業 (開
発研究ステージ) (中課題分担 鳴坂義弘)
- ・ 科学研究費補助金・基盤 C 一般 (代表 鳴坂真理)

- ・ 科学研究費補助金・基盤 C 一般 (代表 鳴坂義弘)
- ・ 外部知見活用型・産学官連携研究事業 (代表 鳴坂義弘)
- ・ 財団法人ウエスコ学術振興財団 研究活動費助成事業 (代表 鳴坂真理)
- ・ 令和 4 年度 岡山大学資源植物科学研究所 共同研究課題 (代表 鳴坂義弘)
- ・ その他 民間 2 件 (代表 鳴坂義弘)

6. 新聞、テレビ報道

バイオスティミュラントの世界
 ニューカントリー, Vol. 69, 5 月号, No.818, 12-17 (2022)
 (鳴坂義弘のインタビュー記事)

実用化進むバイオスティミュラント 複数の成分を組み合わせる利用の体系化へ
 令和 4 年 8 月 24 日 農業共済新聞 掲載

バイオスティミュラントとは
 令和 4 年 10 月 17 日 日本農業新聞 掲載

7. その他

岡山県立大学連携大学院 教授 (客員、兼任) (鳴坂義弘)

「知」の集積と活用場 植物の活性化による革新的農産物生産技術研究開発プラットフォーム 代表プロデューサー (鳴坂義弘)

生物刺激制御研究会 代表世話人 (鳴坂義弘)、世話人 (鳴坂真理)

バイオスティミュラント資材「P.A.D (Plant Activation Drug)」(製造: 株式会社アグリドック) 販売

植物レドックス制御研究グループ

専門研究員	小川 健一 (グループ長)
専門研究員	西川 正信 (サブグループ長)
専門研究員	逸見 健司
流動研究員	野田 壮一郎
流動研究員	望月 智史
リサーチアソシエイト	小倉 美智子
研究補助員	狩野 真一

持続可能な農林業を支える種子選抜・肥培管理技術の開発

[背景と目的]

「第3次晴れの国おかやま生き生きプラン」には、SDGsの観点から、生産性の高い農業や持続可能な森林経営の推進、畜産物や水産物の生産振興が求められている。例えば、SDGsの17の目標のうち、目標15「陸の豊かさを守ろう」があり、「2020年までにあらゆる森林の持続可能な経営の実施を促進し、森林減少を阻止し、劣化した森林を回復し、世界全体で新規植林および再植林を大幅に増加させる」が掲げられている。しかしながら、国（県）産材の利用の低迷と人手不足・高齢化、造林コストが高止まりする現状で、再造林意欲が低迷している。また、国民病ともいべき花粉症の対策として少花粉スギやヒノキの開発と植え替えが進められている。しかしながら、少花粉という形質は成長性と関連する形質であるため、通常、従来系統に比べて成長が劣り、苗生産期間が長くなり、生産歩留まりが低下して、森林経営の持続可能性をさらに低下させる要因になっており、生産の第一段階として優良種子の効率的選抜が必須である。加えて、少花粉スギやヒノキの苗生産では、肥培管理が特に重要になるが、慣行育苗で用いられる化成肥料*の大量使用は、温室効果ガス（GHG）の大量排出に繋がっており、この排出低減が求められている。

*化学肥料には、原料の採掘、精製などの生産過程、また輸送・流通などの過程で大量の化石エネルギーが消費されている。

本課題では、農林水産業の持続可能性に重点を置き、優良種子の効率的選抜とGHG排出抑制・循環的な生産体系で利活用可能な肥料（未利用藻類や浄水ケーキなどを材料にしたもの）を用いた肥培管理技術の開発を行い、県農林水産業の発展を図る。

[今年度の成果]

【山行苗の育成】

スギ種子の充実率を評価する際に用いる SQI 値を用いて種子をグレード分けし、グレードとプラグ苗の成長との関係を調べると、グレードによってプラグ苗の成長が異なることが明らかになった(図1)。生育の悪いグレードほど GSSG の効き方(無施対照区に対する GSSG 施用区の比率)がよいという結果であった。プラグ苗の大きさ(苗長)でグレード分けを行いコンテナ育苗の結果を評価すると、グレード分けを行わなかった場合に比べてばらつきも小さくなり(図2)、選苗の労力・コストの軽減につながるかと期待された。

なお、エリートツリーを母樹とする特定苗木の種子の SQI 値は平均的に低く、プラグ苗の成長がよい傾向であった(図3)ため、コンテナ育苗の場合においても、特定苗木の有意性が期待される。

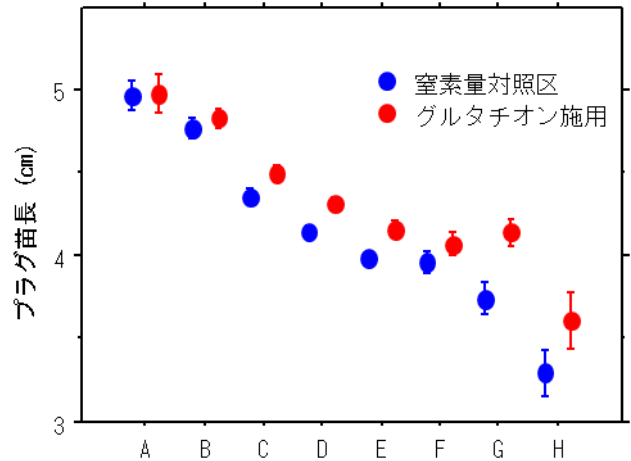


図1. 種子品質 SQI 値に基づくグレードとプラグ苗の生育の関係

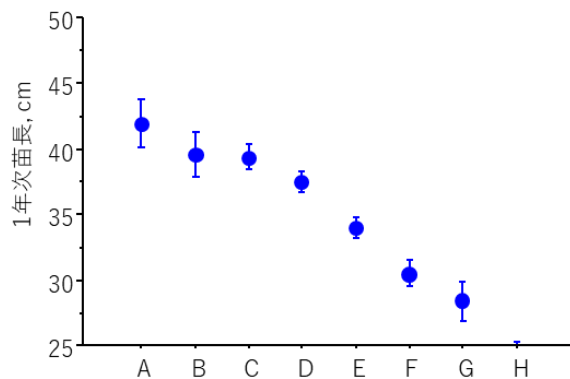


図2. プラグ苗の苗長に基づく等級(グレード)分けと1年次秋のコンテナ苗の苗長の関係

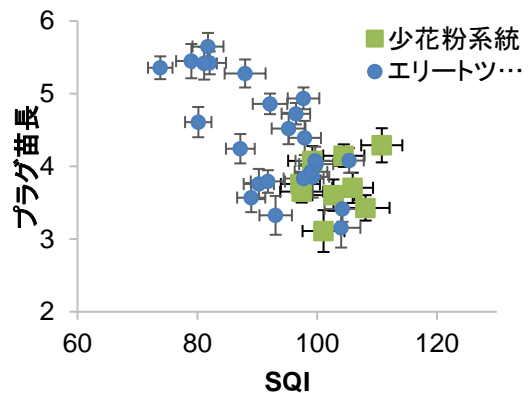


図3. 実生プラグサイズと SQI 値の関係

【グルタチオン施用のタイミングの違いによる林地での苗木の生育の違い】

スギ造林地での植栽木の活着不良による補植等の追加作業は経営に大きな影響を与える。育苗時に酸化型グルタチオン(GSSG)を施用した苗木(育苗時○)は、植栽後の生存率が高かった。植栽時に GSSG と緩効性肥料を同時に施用した場合に特に生存率が高く、グラフに示した試験地では、生存率は100%という結果であった(図4左)。育苗時に GSSG 施用しなかった場合は、徐々に生存率が低下したが、下草刈りまでに雑

草木との競争に負けた個体が増加した結果である。

植栽時の GSSG 施用は、生存率だけでなく、樹冠面積、樹高成長量にも効果が現れた。生存個体だけの樹高成長量を示すグラフ (図 4 右) では GSSG 施用によって樹高成長が早いことがわかる。3 年次の樹高の割合をみると、育苗時に GSSG 施用した場合はおよそ 7 割以上の個体が 150 cm の高さを上回っていた (図 5)。

生存率も確保して確実な効果を得るには、育苗時と植栽時の GSSG 施用が重要と考えられる。

カラマツやヒノキ等の植栽でもっとも GSSG 施用による生育促進効果が認められた条件は、初年度の林地の競合植生が少ない条件であったことから、地ごしらえ直後の植栽が有効であると考えられる。

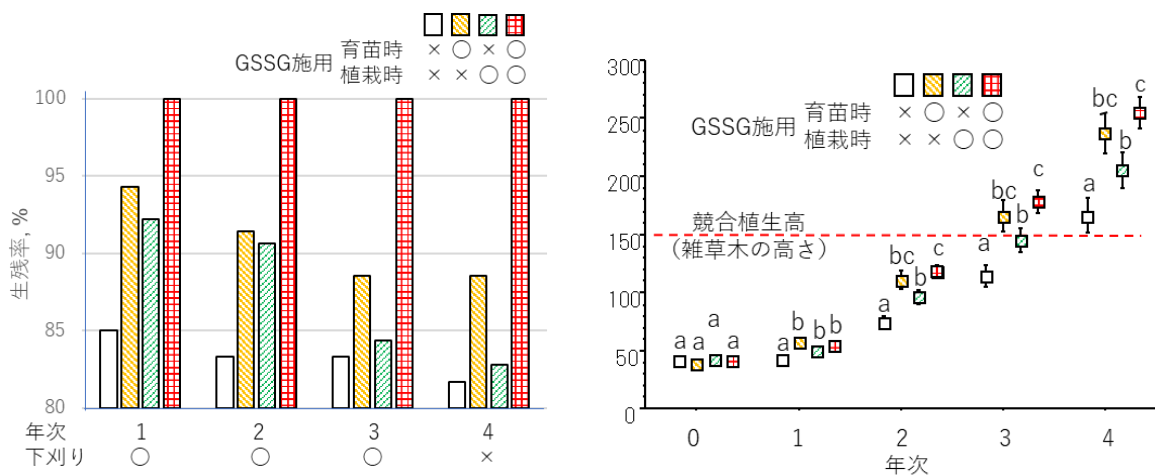


図 4. GSSG 施用有無による植栽苗木の生存率(左)と樹高推移(右)

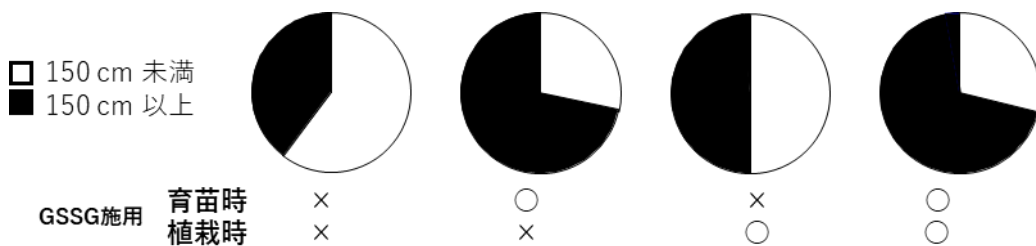


図 5. GSSG 施用有無による樹高 150 cm を基準とした 3 年次の樹高分布

GSSG 施用が最も効果的と考えられる植栽条件として、地ごしらえ後すぐに植栽した場合について、特定苗木を使って検証した。西育 7 7 および西育 6 を母樹とする特定苗木だけでなく、少花粉系統の母樹 (英田 1 および三好 6)、第一世代精英樹 (中之条 2) を母樹とする苗木でも植栽後の成長は、育苗時および植栽時の両方でグルタチオン施用を実施した場合に最も成長が良かった (図 6)。特定苗木を用いた施行体系でも、機械地ごしらえ後、直ちにグルタチオン施用して育成した苗木に植栽時にさらにグルタチオン施用することが最も効果的な方法であると考えられた。

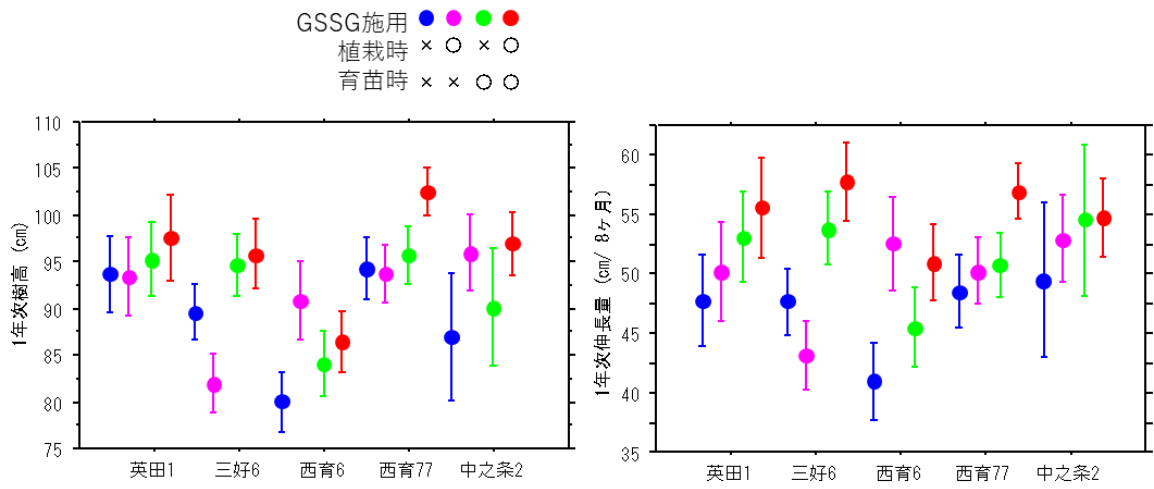


図 6. 植栽時および育苗時の GSSG 施用が植栽後の成長に及ぼす影響

持続可能な飼料・食品産業を支える発酵技術開発

[背景と目的]

昨今、高騰する食糧価格の話題を耳にするたび、近い将来、食物に不自由するのではと不安を感じる。水産物に目を向けると、既に食卓に上る養殖魚の生産量は天然魚の捕獲量を上回っている。養殖魚の餌の主要部分はイワシなど天然の小魚類である。水産資源は日々新生され続けるものの、いずれ需要に供給が追いつかなくなる懸念があり、養殖による生産体制も大きな負の影響を受けるであろう。そこで近年、養殖に供する小魚類を光合成に由来する植物性原料に代替する研究開発が盛んである。植物は事実上、再生可能な資源と捉えられるからである。植物由来の飼料に、成長に適したアミノ酸組成を持たせることや、消化不良に帰する有害な成分を除くこと、そもそも含まれない、養殖魚にとって必須な栄養素を補うことなどが、開発目標である。

我々は、微生物の力を活用して、発酵により植物由来飼料の品質を改善する方策を整理した。原料はたんぱく質が豊富であること、及び原料に作用させる微生物に食経験があることからして、食用油の生産に伴う副産物であり、価格競争において勝機のある脱脂大豆粕と納豆菌の組み合わせが最善であると考えた。

また、将来的に、多種多様な代謝能力を有する枯草菌の遺伝子資源を活用した納豆菌優良株の育種も考えられる。仮に遺伝子組換え技術を使ったとしても、分類学上同種である枯草菌から納豆菌への有用遺伝子の導入（移植）はナチュラルオカレンスの範疇にあり、いわゆる遺伝子組換え体に該当しない。安全性が担保されることが大前提であるが、枯草菌の遺伝子資源には期待するものが大きいと考えている。

[今年度の成果]

納豆菌の力、使い方については既に広く知られるところではあるが、我々はそれらの知識に疎く、経験も皆無であり、まずは納豆菌が如何なるものかという初歩段階から研究を開始した。従って、今年度の成果として特に取り上げるべきものはなく、ここでは単に実際に行った取り組みについて紹介したい。

納豆菌は自然界に広く生息しており、我が国には、古くから稲わらに棲む納豆菌を使った納豆造りに利用されてきた食経験の伝統がある。実際に稲わらを煮沸消毒し、蒸した大豆に接種してみると、豆の表面に「被り」と呼ばれるバイオフィルムが形成された（図 1）。納豆菌が示す有用な性質に面的増殖力の強さが挙げられる。納豆菌を煎り大豆の粉末である黄粉（きな粉）のスラリーにマグネシウム塩を添加し、寒天で固めた平板上に接種すると、強い面的増殖能が確認できた（図 2a）。また、黄粉には遊離するアミノ酸は比較的少ないが、納豆菌を作用させることでその量が著しく増えることも確認できた（図 2b）。固体発酵を行う際、納豆菌は、エネルギーを投入して攪拌することなく豆表面を覆うように増殖し、強くたんぱく質を分解するため、飼料品質の改善に有効であろう。以上は蒸し大豆や黄粉に対する実験結果であり、今後は原料として経済的に成り立つ価格帯にある脱脂大豆粕を使った検討が必要であろう。



図1 納豆菌の分離 (a) 分離源である吉備中央町産コシヒカリの茎（正月飾り用に早刈りされ、室温にて保存されていたもの）、(b) 煮沸による芽胞の選抜、(c) 固体発酵仕込み時の様子（大豆品種はツルムスメ）、(d) 豆表面における「被り（バイオフィルム）」の形成。

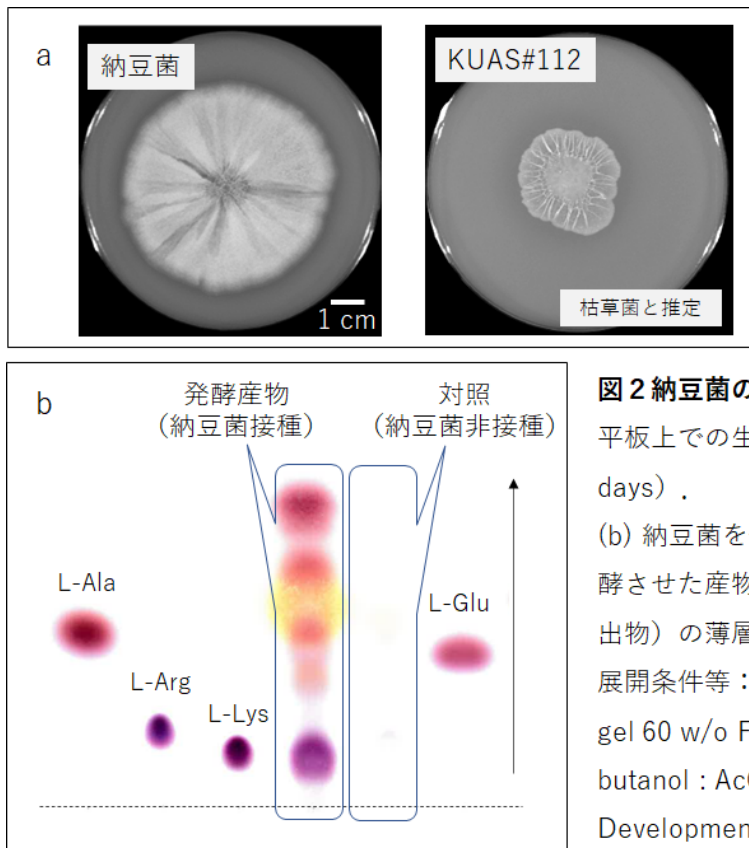


図2 納豆菌の諸特性 (a) 黄粉寒天平板上での生育の様子（@28°C 4 days）、(b) 納豆菌を使い黄粉スラリーを発酵させた産物（トリクロロ酢酸抽出物）の薄層クロマトグラフィー展開条件等：HPTLC plate, silica gel 60 w/o F₂₅₄; Mobile phase, 1-butanol : AcOH : water=3 : 1 : 1; Development, ninhydrin spraying.

また、納豆菌に潜む未知能力の探索も始めた。納豆菌は枯草菌の仲間である。分類学上、独立した亜種とは認められていないものの、上述のごとく納豆造り適した諸性質をもつ。枯草菌全体で言えば、本種は植物の表面や土壌などに広く生息し、耐熱性を有する芽胞（耐久細胞）をつくる微生物である。共同研究先のご厚意により自然界より収集された枯草菌類（バチルス類）を譲り受け、休止菌体反応によって多様な代謝能力の一面を探った。図3に一例を示す通り、調査した百株強程度の中で数株のみにアミノ基を有する基質Aから別の化合物へアミノ基を転移し、グルタミン酸を生成する能力が見つかった。この能力の有無は使いようで、有利にも不利にもなる。ある納豆菌はこの能力を持っておらず、枯草菌のメジャーなグループに属していると言える。一方、詳細は解析中であるが、納豆菌は基質Aから未知のアミノ基含有化合物を生成する。この基質Aは、アミノ基がグルタミン酸へ転移されないという意味で、代謝（分解）されるルートが明確になり、納豆菌の基質Aに対する潜在的な物質変換能力を引き出す際、代謝の人為的調節（=代謝への人為的介入）を設計していく上で有益な情報を得たと考えている。

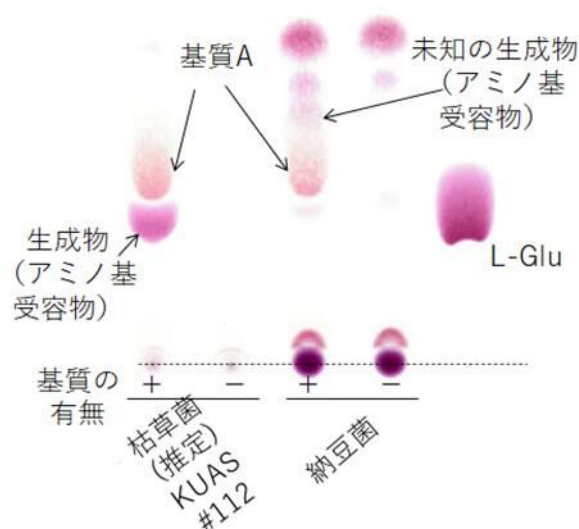


図3 納豆菌、枯草菌休止菌体によるアミノ基転移反応 菌体と基質Aを共存させた反応液上清（SCXイオン交換樹脂非吸着画分）の薄層クロマトグラフィー
 展開条件等： HPTLC plate, silica gel 60 w/o F₂₅₄; Mobile phase, 2-propanol : water=4 : 1;
 Development, ninhydrin spraying.

謝辞

KUAS#112株をはじめとする菌株は京都先端科学大学バイオ環境学部バイオサイエンス学科・萩下大郎研究室より提供されたものである。

令和4年度の活動

1. 報文（総説・原著論文等）

小川健一

グルタチオン施肥による コンテナ苗の育苗期間の短縮
森林技術 966:12-15 (2023)

小川健一

抗酸化ペプチド・グルタチオン による光合成能力向上効果
「農業技術体系」土壌肥料編 第2巻 作物栄養 V+72 の1の17の1の2～作物栄
養 V+72 の1の17の1の9、農文協、東京 (2023)

飛田博順、奥田史郎、原山尚徳、上村章、小川健一

スギコンテナ苗の成長に及ぼす植栽時のグルタチオン施用の影響
関東森林研究 74:52-57 (2023)

Nishikawa, M., Noda, S., Henmi, K., Ogawa, K.

Sulphate repression of *ssuD*-dependent alkanesulphonate-sulphur assimilation in
Escherichia coli.

Microbiology (Reading) 168(6) (2022) doi: 10.1099/mic.0.001190.

概要：腸菌はアルカンスルホン酸類（スルホ基で置換された脂肪族化合物）を硫黄源として利用し得る代謝系を持っている。その初段酵素であるアルカンスルホン酸モノオキシゲナーゼ（遺伝子名 *ssuD*）はアルカンスルホン酸分子内の炭素-硫黄間の結合を開裂する。*ssuD* の発現調節は、細胞内に遊離するシステインの濃度調節に連携されると同時に、活性化された硫酸イオン誘導体の濃度にも応答することが知られていた。本報告では、これらの調節機構とは別に、活性化されていない硫酸イオンそのものに応答するとみられる、新たな *ssuD* の発現調節機構の存在を遺伝生理学的手法で明らかにした。これは、大腸菌を使ったアルカンスルホン酸のバイオアッセイ系をデザインする際、組み合わせるべき遺伝子変異の最適解を導く上で、重要な発見であると考えている。

2. 学会・シンポジウム・講演会等での発表（英文大会名は国際学会）

小川健一

種子生産、育苗、植栽後におけるグルタチオンの効果

研究成果発表シンポジウム「エリートツリー等を活かす施業モデルとデジタルツールの開発」、2023年3月8日（東京）

宮本尚子、松田修、小川健一、井城泰一、笹島芳信

寒冷地におけるスギのコンテナ育苗技術と成長特性

第134回日本森林学会大会、2023年3月25日～27日（鳥取、Web）

松田修、小川健一カメムシ類が針葉樹種子の稔実不良に及ぼす影響の評価

第134回日本森林学会大会、2023年3月25日～27日（鳥取、Web）

木村恵、藤井 栄、松田 修、小川 健一

種子の形質が発芽速度と実生サイズに及ぼす影響

第134回日本森林学会大会、2023年3月25日～27日（鳥取、Web）

3. 職務発明

職務発明 1 件

4. 共同研究・協力連携先

岡山県農林水産総合センター内

水産研究所、森林研究所、農業研究所、普及連携部

大学関係

岡山大学、北海道大学、酪農学園大学、秋田県立大学、東北大学、千葉大学、東京農業大学、京都大学、大阪大学、神戸大学、香川大学、九州大学、慶応義塾大学、京都先端科学大学、Mahidol 大学（タイ）、Kasetsart 大学（タイ）、中興大学（台湾）

県外機関等

宇宙航空研究開発機構（JAXA）、日本原子力機構高崎量子応用研究所、国際農林水産業研究センター（JIRCAS）、森林研究・整備森林総合研究所、森林研究・整備森林総合研究所鱗木育種センター、タイ王国農務省ラヨングフィールドクroppセンター（タイ）、Agricultural Genetics Institute（ベトナム）、Vietnam Cassava Association（ベトナム）、Thai Tapioka Developmental Institute（タイ）、Taiwan Agricultural Research Institute（台湾）、北海道、青森県、岩手県、秋田県、山形県、群馬県、富山県、長野県、山梨県、静岡県、岐阜県、大阪府、兵庫県、高知県、徳島県、福岡県、宮崎県、熊本県、沖

縄県などの地方公共団体研究機関、トヨタ自動車株式会社、日本製紙株式会社、住友林業株式会社、株式会社カネカ、ENEOS 株式会社、ENEOS テクノマテリアル株式会社、Jリーフ株式会社、三井物産アグロビジネス株式会社、九州計測器株式会社、三菱商事ライフサイエンス株式会社、クニミネ工業株式会社、株式会社 WAKU、株式会社システムズ・エンジニアリング、I H I、興農（台湾）、AMCEL 社（ブラジル）、Bunbury Treefarm Project 社（オーストラリア）等の民間企業、グルタチオン農業の実現を目指す技術開発ネットワーク（農林水産省事業、拠点として40以上の団体・機関と連携）

5. 外部資金獲得状況

- ・農林水産省 戦略的プロジェクト研究推進事業
「成長に優れた苗木を活用した施業モデルの開発」（実行課題責任者 小川健一）
- ・民間2件（代表 小川健一）

6. その他

「グルタチオン農業の実現を目指す技術開発ネットワーク」の拠点として活動

岡山県立大学連携大学院 教授（客員、兼任）（小川 健一）
岡山県立大学連携大学院 准教授（客員、兼任）（西川 正信）

- ・技術支援
株式会社 WAKU 技術アドバイザー（小川 健一）
社会福祉法人 P.P.P.への農林業技術支援（小川 健一）
- ・展示会技術説明
第3回次世代森林産業展（2022年9月14日～26日）にて、グルタチオン施用効果の技術説明
- ・小中学生向けテキストの作成「スケルトンリーフをつくってみよう」
- ・パンフレット概要版の作成
「エリートツリーを生かす育苗と育林、施業モデル」
森林総合研究所令和5年3月発行
「クリーンラーチ・カラマツ類の優れた成長を活かす育苗と育林、施業モデル」
北海道立総合研究機構森林研究本部林業試験場森林経営部 令和5年3月発行

食農研究グループ

専門研究員	逸見 健司 (グループ長)
所長	畑中 唯史
流動研究員	楊 霊麗
実験補助員	山本 昭恵

県産農作物の機能性評価による高付加価値化の推進

[概要]

「第3次晴れの国おかやま生き生きプラン」には、「岡山ブランドの確立」や「岡山ブランドのさらなる推進」が掲げられている。「21おかやま農林水産プラン」においても、「ブランド力強化」が掲げられており、県産農作物への付加価値付けを推進することが求められている。本課題では、農作物の機能性研究に重点を置き、農作物に機能的な付加価値付けをすることによって、本県農業への貢献を目指す。国連で採択された「持続可能な開発目標 (SDGs)」においても、「(#9)産業と技術革新の基盤をつくろう」という目標が設定されている。この目標も謳っているように、本課題を通して、農業が持続的に安定化した産業となることに貢献する。

健康な長寿社会の実現は強く求められており、消費者の立場からみると、生体調節機能 (食品の第三次機能) に対する関心や期待は高い。「機能性表示食品制度」の導入 (平成27年4月) もそのひとつと考えられる。この制度の導入以来、機能性食品市場は拡大傾向にあるとの調査結果もある (矢野経済研究所、令和4年3月)。節制ではなく、“食べて”健康の維持増進を図ることが求められている。野菜には、第三次機能に効能をもつ多種多様な「機能性成分」が含まれることから、野菜の日常的な摂取が健康の維持・増進に寄与すると考えられる。

そこで本課題では、県産農作物を主な対象として、機能性代謝物や機能的な特性 (生体に及ぼす効果を推定する指標) を分析することで、“機能的な優位性”を見出す取り組みを推進する。これは、生産者ニーズでもある農作物の付加価値 (ブランド力) 向上にもつながるとともに、6次化産業への波及も期待できる。農作物の機能性研究を通して、「消費者の食や健康」と「生産者のブランド作物」の双方に貢献する成果を目指す。本課題の概念図を図1に示す。



図1 課題「県産農作物の機能性評価による高付加価値化の推進」の概念図

[背景と目的]

農作物に対する消費者ニーズは、時代とともに変化してきている。食糧難の時代には増産が求められ、生産量がある程度満たされるとおいしさが求められ、飽食ともいわれる近年にあつては、健康な長寿社会への希求とも相まって、生体調節機能に期待や関心が移ってきている。

野菜の主な流通品種は、戦後経済の発展に伴って、安定的な大量生産に適した品種へと転換が進んだ。本課題では、生産のしやすさが求められたあまり、見過ごされがちだった在来品種の機能性に着目した。県内の在来品種は、機能的な成分や特性がほとんど不明である。本課題での分析を通して、機能性の面において特徴的な品種のスクリーニングを目指す。

ヒト生体内で有益な生理作用をもつ代謝物の研究は進展しており、情報が蓄積されてきている。カロテノイドには、生体内でビタミンAに代謝されるもの(プロビタミンA)や抗酸化作用を示すものがあり、疾病の予防や改善に寄与することが期待される(Saini et al. 2022)。アルギニンはタンパク質を構成するだけでなく、血流を促進する働きが知られている。タンパク質を構成しないアミノ酸にも、オルニチンのように、肝臓においてアンモニアを解毒するなど、機能性が示されているものがある(Wu 2009; Nie et al. 2018)。このような既報を活用して、対象とする代謝物や機能的な特性(ヒト生体への影響を評価する指標)などを選定する。

本課題では、在来品種を含む県産農作物を対象として、代謝物や機能的な特性を分析することで、その機能的な優位性を見出す。農作物の特徴付け、差別化により、付加価値の向上を図ることを目的とする。

[今年度の成果]

今年度は、鏡野町奥津地区のトウガラシ在来品種である姫とうがらしを主な分析対象とした。まず、本品種の形態的な特性を調査した。秋に成熟果(赤姫)、初冬に未熟果(青姫)が収穫され、いずれも食用として出荷されている。このうち、成熟果に特徴的なカロテノイドに着目した分析をここに報告する。

カロテノイドは、抗酸化作用のうち、特に一重項酸素の消去能が高いことが示されている(向井と大内 2013)。そこで、一重項酸素消去能を5種類の一般流通品種(赤品種4種類および黄品種1種類)と品種間比較した。

カボチャにおいては総カロテノイドやルテイン含量と、トマトにおいてはリコペン含量と果実の色彩値との間に相関関係が示されている(Itle and Kabelka 2009; Arias et al. 2000; D' Souza et al. 1992)。この一方で、一重項酸素消去能と色彩値との関係は未知であるため、これらの相関の程度についても評価した。

【材料および方法】

トウガラシの栽培および特性調査 トウガラシは「鷹の爪」(サカタのタネ、横浜)、「やまと紅」「黄とうがらし」(以上、中原採種場、福岡)、「沖縄島とうがらし」(フタバ種

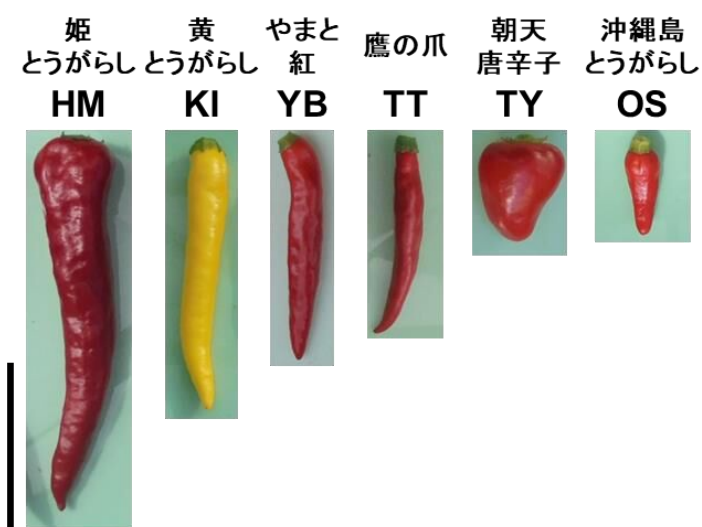


図2 本研究で用いたトウガラシ品種本研究に用いたトウガラシ品種と本文中で使用する記号を示す。スケールバーは5 cmを示す。

果皮の色彩は、色彩色差計 CR-400 (コニカミノルタ、千代田、東京) を用いて、明度 L^* 、赤と緑方向の色度 a^* および黄と青方向の色度 b^* を測定した。また、色度 a^* および b^* から彩度 C^* ($=[(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$) を算出した。

生重量および果皮の色彩を測定後に、果実を液体窒素で凍結させ、凍結粉碎まで -80°C の冷凍庫にて保管した。凍結した状態の果実を破碎装置 Shake Master (バイオメディカルサイエンス、新宿、東京) を用いて粉碎し、凍結乾燥機 FDU-1110 (東京理化工業、文京、東京) を用いて乾燥させた。乾燥後の微細粉末を以下の分析に供した。

一重項酸素消去能の評価(SOAC法; Singlet Oxygen Absorption Capacity Assay Method)

赤品種は、4-5 mg の凍結乾燥物あたり 1 ml のクロロホルム/エタノール/重水 (50:50:1, v/v/v) で抽出液を調製し、測定に供した。黄品種 (黄とうがらし) は赤品種の 10 倍量の凍結乾燥物を供した。向井と大内 (2013) の方法に従って測定した。α-トコフェロールの一重項酸素消去能に対する相対値として評価した。

カロテノイドの TLC 展開 赤品種は、50 mg 程度の凍結乾燥物あたり 500 μl の抽出液でカロテノイドを抽出した。SOAC法と同じ抽出液を用いた。約 20 μl の抽出液を silica gel 60F254 プレート (Merck, New Jersey, USA) にスポットした。黄品種は赤品種の 10 倍の濃縮液をスポットした。乾燥後に、アセトン/酢酸エチル/トルエン (1:4:95, v/v/v) で展開した。パプリカ抽出物標品 (植物油溶液) (東京化学工業、草加、埼玉) と比較した。

苗卸部、南城、沖縄)、「朝天唐辛子」(野口種苗研究所、飯能、埼玉) および姫とうがらしを用いた (図 2)。姫とうがらし以外の品種は、生物科学研究所の隔離圃場において栽培した。姫とうがらしは、NPO 法人てっちりこの 2 戸の契約農家 (鏡野町奥津地区) において栽培され、現地にてサンプリングした。形態的な特性は、トウガラシ属の審査基準 (農林水産省、2022) に従って調査した。

【結果および考察】

姫とうがらしの形態的な特性 目視により判断された特性は、表 1 および図 3 に示す通りであった。調べた 6 品種のうち、果実の着生が「節成り」は、姫とうがらし、黄とうがらし、朝天唐辛子および沖縄島とうがらしで、他は「房成り」である。また、着生の向きが「垂れる」の特性は、姫とうがらしと黄とうがらしで、他は「直立」である。

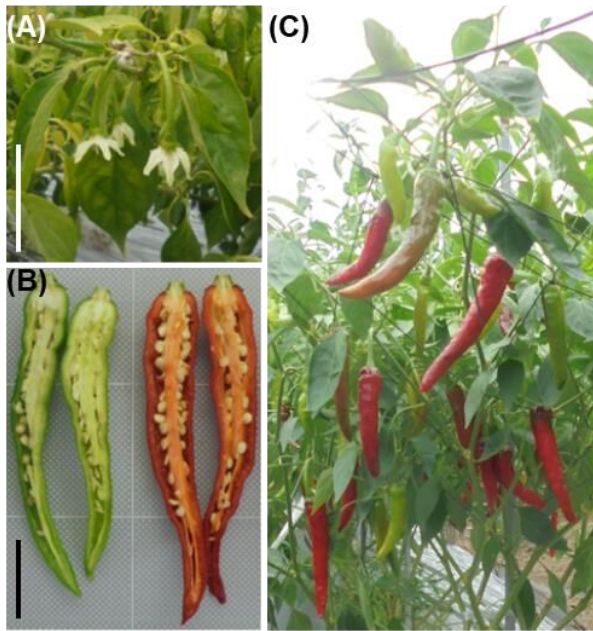


図 3 姫とうがらしの形態的な特性

(A) 葉の形、花の色、花柄の向き。(B) がくの形、未熟果（青姫、左）および成熟果（赤姫、右）の色、縦断面の形、こうあの有無、先端の形。(C) 果実の着生および着生の向き。スケールバーは 3 cm を示す。

表 1 姫とうがらしの形態的な特性

器官	形質	状態
葉	葉の形	披針形
花	花の色	白
	花柄の向き	下垂
がく	がくの形	包まない
果実	着生	節成り
	着生の向き	垂れる
	未熟果の色	緑
	成熟果の色	赤
	縦断面の形	狭三角形
	横断面の形	円形
	こうあの有無	無
先端の形	極鋭	

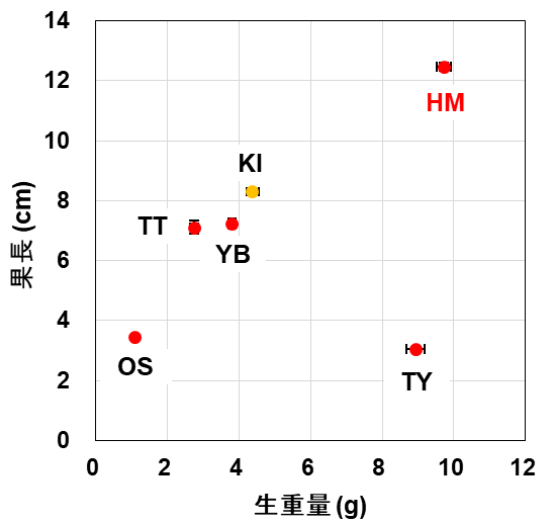


図 4 果実の大きさの品種間比較

HM: 姫とうがらし (赤姫) ; KI: 黄とうがらし ; YB: やまと紅 ; TT: 鷹の爪 ; TY: 朝天唐辛子 ; OS: 沖縄島とうがらし

姫とうがらし (赤姫) の果実の長さおよび生重量を他の 5 品種と比較した (図 4)。鷹の爪と比較した場合では、果長は 2 倍弱、生重量は 3 倍程度であった。6 品種間でも比較的大型の果実であった。朝天唐辛子において果長に対して生重量が比較的重いのは、肉厚であることが影響していると考えられた。

一重項酸素消去能と色彩値との相関関係 姫とうがらし（赤姫）の SOAC 値は、他の 5 品種と比較すると高い傾向を示した。彩度 C^* 値は、低い傾向を示した（図 5A）。

また、調べた 6 品種間において SOAC 値と彩度 C^* との間に、負の相関関係が見出された ($r=-0.904$ 、図 5A)。彩度 C^* は数値が大きいほど鮮やかで、小さいほどくすんだ色を示す。したがって、果皮色がくすんでいるほど、SOAC 値が高い傾向があると示唆された。

カロテノイドの TLC 展開 6 品種間のうち、朝天唐辛子は、近似直線から最も外れていた（図 5A）。これがカロテノイドによるものか検討するために、果実の凍結乾燥物からカロテノイドを抽出し、TLC 展開した（図 5B）。朝天唐辛子では、 β -カロテンを示すバンドがほとんど検出されなかったことから、少なくとも β -カロテン組成の低さが影響していると考えられた。

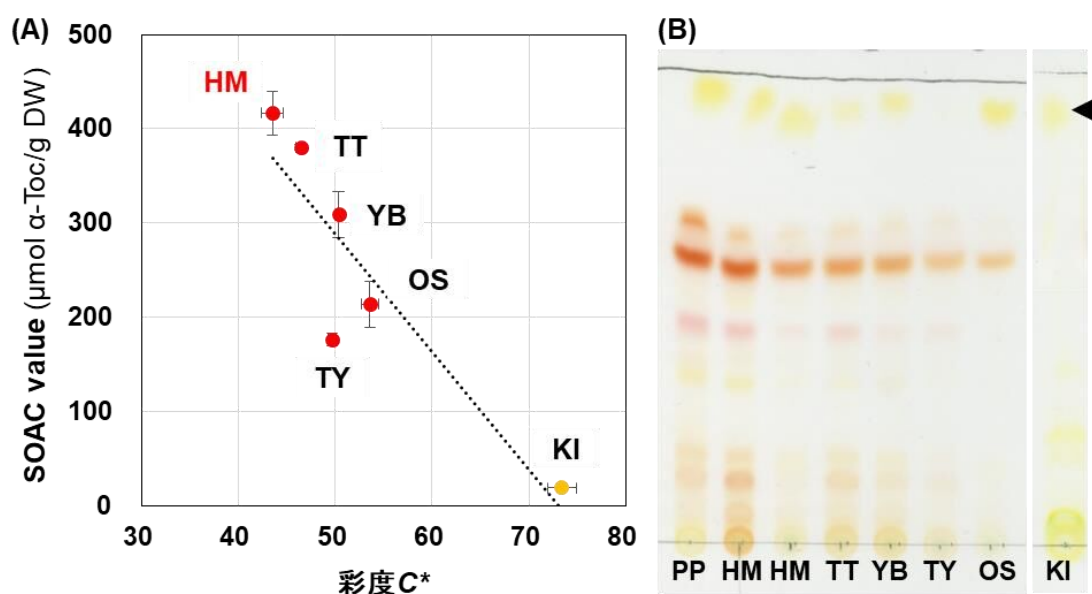


図 5 SOAC 値の品種間比較および彩度 C^* との相関関係

(A) SOAC 値と彩度 C^* との相関関係。(B) カロテノイドの TLC 展開。PP はパプリカの標品、矢印は β -カロテンを示す。品種を示す記号は図 4 と同様。

調べた 6 品種の中では、姫とうがらし（赤姫）の SOAC 値は高い傾向を示し、一重項酸素消去能は比較的高い品種であると考えられた（図 5A）。品種間比較したことで、SOAC 値と彩度 C^* とに負の相関関係が見出された（図 5A）。この関係を利用することで、SOAC 値を非破壊で推定する技術へ発展する可能性がある。収穫時期の判断材料など、品質や生産管理に資する技術への応用も考えられる。また、トウガラシ以外のカロテノイド含有野菜への展開も期待できる。

【謝辞】

姫とうがらしの生産管理者であるNPO法人「てっちりこ」（赤穂武夫理事長）にご理解をいただき、梅本治子さんと友広正さんよりサンプルを提供いただいた。現地でのサンプリング作業および果実の調査は、ノートルダム清心女子大学・吉金研究室（吉金優准教授、加藤奈々助手、大森佳美さん、多賀智織さん、原田知佳さん、平井葉名さん、横部菜乃香さん）と共同で実施した。

【引用文献】

- Arias R et al. (2000) J. Agric. Food Chem. **48**: 1697-1702.
- D' Souza MC et al. (1992) HortScience **27**: 465-466.
- Ittle RA and Kabelka EA (2009) HortScience **44**: 633-637.
- Nie C et al. (2018) Int. J. Mol. Sci. **19**: 954-969.
- Saini RK et al. (2022) Antioxidants **11**: 795-828.
- Wu G (2009) Amino Acids **37**: 1-17.
- 農林水産植物種類別審査基準（農林水産省）「トウガラシ属 Sweet pepper, Hot pepper, Paprika, Chili (*Capsicum L.*) (2022年4月)」
- 向井和男、大内綾 (2013) オレオサイエンス **13**: 371-378.

令和4年度の活動

1. 報文（総説・原著論文等）

Uraji, M., Yang, L., Hatanaka, T.

Improvement in hyperexpression with a combination of truncated *scmp* promoter and *Streptomyces lividans*

Biosci. Biotech. Biochem. **86**(8) 1122-1127(2022)

概要：これまでに我々は、*S. cinnamonues* TH-2 株が、大量に金属プロテアーゼ（SCMP）を分泌することを見出した。*scmp* プロモーター下流に、放線菌由来酵素遺伝子を挿入し、*S. lividans* を宿主に発現を試みた。全長 424 塩基対の *scmp* プロモーターは、培地に、豊富にリン酸塩、グルコースを含む場合のみ作動するが、3' 末端 63 基対のみを用いることにより、培地成分の制限が解消されることを見出した。さらに、分泌型ロイシンアミノペプチダーゼ遺伝子を発現させた場合、3' 末端プロモーターは、全長プロモーターと比較し、約 5 倍分泌量が向上することを明らかにした論文である。

Yang, L., Hatanaka, T.

Construction and development of a novel dual-gene expression system to promote heterologous protein secretion for *Streptomyces*

Biosci. Biotech. Biochem. **87**(3) 349-357(2023)

概要：放線菌におけるタンパク質の分泌には、細胞膜への輸送、細胞外への放出およびストレス調整システムまで多くのタンパク質因子が関わる。それらの中から、分泌増強候補因子として 5 種（SecA, FtsY, SipY, CssS および CssR）を選んだ。放線菌用発現プロモーター（*scmp* 必須領域プロモーター及び *kasO**プロモーター）が逆向きに挿入されたデュアル発現ベクター（pTSKr duet）の構築に成功した。*scmp* プロモーター下流に放線菌由来トランスグルタミナーゼの遺伝子を、*kasO**プロモーター下流に上記分泌増強候補遺伝子を挿入し、影響を検討したところ、CssR を共発現させた場合のみに、トランスグルタミナーゼの分泌増強効果を見出した論文である。

2. 学会・シンポジウム・講演会等での発表（（*P）はポスター発表、（*招）は招待講演、英文タイトルは国際学会）

川上賀代子、椎木香帆、花房満、畑中唯史、守谷智恵、坪井誠二

「酒粕加水分解物の抗酸化メカニズムの解析」

第 76 回日本栄養食糧学会（2022 年 6 月 10 日～6 月 12 日）

逸見健司

「醗酵出身・グルタチオン肥料の食農利用」
令和4年度広島醗酵会公開講演会（オンライン）（2022年7月9日）

呑田佐知、鳴坂真理、鳴坂義弘、畑中唯史、富高保弘、関根健太郎（*P）

「ゲットウ由来プロアントシアニジンのウイルス感染阻害効果」
令和4年度植物感染生理談話会（2022年9月4日～9月6日）

楊靈麗、畑中唯史

「放線菌 *Streptomyces lividans* による共発現ベクターの構築と、それを利用した分泌促進因子の探索」
—日本農芸化学会 創立100周年記念事業—支部創立20周年記念2022年度中四国支部大会（第63回講演会）（2022年9月22日）

川上賀代子、森山圭、守谷智恵、畑中唯史、洲崎悦子、坪井誠二（*P）

「黄ニラ抽出物の肝障害保護作用」
第95回日本生化学会大会（2022年11月9日～11月11日）

畑中唯史（*招）

「知ってますか？黄ニラの魅力～おかやまブランド野菜は、ぼっけえで～」
令和4年度第3回消費生活講座（2022年11月18日）

楊靈麗、畑中唯史

「重複プロモーターによる放線菌用強発現ベクターの構築」
支部創立40周年記念 日本生物工学会西日本支部大会2022（2022年11月26日）

畑中唯史、鳴坂真理、裏地美杉、山次康幸、鳴坂義弘

「ショウガ科植物・月桃に含まれる抗植物ウイルス成分の同定」
支部創立40周年記念 日本生物工学会西日本支部大会2022（2022年11月26日）

Kawakami, K., Moriyama, K., Moritani, C., Hatanaka, T., Tsuboi S.（*P）

Antioxidant effect of yellow Chinese chives extract via elevation of the intracellular glutathione levels.
22nd International Congress of Nutrition (ICN)（2022年12月6日～12月11日）

Moritani, C., Kawakami, K., Shimoda, H., Hatanaka, T., Tsuboi S.（*P）

Protective effects of rice peptide against oxidative injury through activation of Nrf2

signaling pathway

22nd International Congress of Nutrition (ICN) (2022年12月6日～12月11日)

畑中唯史

「知ってますか？ 黄ニラの魅力」

岡山県立機関協議会第12回研究交流発表会 (2023年2月17日)

川上賀代子、森山圭、植田輝義、守谷智恵、畑中唯史、坪井誠二 (*P)

「黄ニラ抽出物の細胞傷害抑制メカニズムの解析」

日本薬学会第143年会 (2023年3月25～3月28日)

守谷智恵、川上賀代子、照屋希之薫、畑中唯史、坪井誠二 (*P)

「PC12細胞における米由来ペプチドのNrf2を介した細胞内グルタチオン上昇作用について」

日本薬学会第143年会 (2023年3月25日～3月28日)

鳴坂真理、関根健太郎、畑中唯史、長岐清孝、鳴坂義弘

「ゲットウ由来プロアントシアニジンを利用した新規抗植物ウイルス剤の開発研究」

令和4年度日本植物病理学会 (2023年3月27日～3月29日)

3. 特許・発明

該当なし。

4. 共同研究・協力連携先

ナガセケムテックス株式会社、三洋化成株式会社、農研機構・植物防疫研究部門、ノートルダム清心女子大学・人間生活学部 及び 産学連携センター、琉球大学・農学部、就実大学・薬学部、鳥取大学・農学部、岡山県農林水産総合センター畜産研究所、同農業研究所 (ジーンバンク事業)、NPO法人・てっちりこ

5. 外部資金獲得状況

- ・イノベーション創出強化研究推進事業・応用研究ステージ（代表 畑中唯史）
【29005AB】「新たな農資源ゲットウを利用した新規抗植物ウイルス剤の創製」
- ・ウエスコ学術振興財団・研究助成（代表 逸見健司）

6. その他

岡山県立大学連携大学院 准教授（客員、兼任）（逸見健司）

おかやまバイオアクティブ研究会 企画委員（逸見健司）

岡山県立大学連携大学院 教授（客員、兼任）（畑中唯史）

日本農芸化学会 中四国支部参与（畑中唯史）

おかやまバイオアクティブ研究会 幹事（畑中唯史）

新聞掲載（黄ニラを題材とした消費生活講座の案内、山陽新聞 2022年11月6日付）

新聞掲載（就実大学との黄ニラに関する共同研究、山陽新聞 2022年12月25日付）

植物細菌病害研究グループ

専門研究員

向原 隆文 (グループ長)

流動研究員

嘉美 千歳

県産農作物における細菌病害防除技術の開発研究

[概要]

「第3次晴れの国おかやま生き活きプラン」には「儲かる農林水産業加速化プログラム」の重点施策として「モモ、ぶどうの供給力の強化」と「生産性の高い農業の推進」が掲げられている。これらの目標を達成するには県主要農作物の安定生産が必須である。県特産のモモでは、近年、細菌性の植物病害「せん孔細菌病」の被害が顕著である。本病害はモモの葉、枝及び果実に褐色の病斑を形成して樹勢の低下や果実品質の毀損をもたらし、モモ生産上の大きな阻害要因となっている。本病害では伝染源除去、防風ネット設置と農薬散布を組み合わせた総合的防除が行われているが、予防効果の高いストレプトマイシンに耐性を持つ菌が出現し、問題となっている。一方、県の野菜生産額で第一位・二位を占める主力野菜品目のナス・トマトでは、土壌伝染性の細菌病害「青枯病」が常に脅威となっている。青枯病菌は植物の根から感染して植物内部で増殖するため、外部からの殺菌剤処理は効果が無く、抵抗性台木を用いた接木栽培が防除に利用されている。第5期五カ年計画では、青枯病に強度抵抗性を示すナス野生系統を見出し、遺伝学的解析から新規な青枯病抵抗性遺伝子の同定と育種利用に道筋をつけた。せん孔細菌病と青枯病は共に細菌性の病害であり、本グループが青枯病菌で蓄積した様々な研究手法をせん孔細菌病菌にも適用できる。このような理由から、令和4年度からの第6期5カ年計画では県主要農作物の安定生産を目的とした「モモせん孔細菌病防除技術の開発」と「青枯病防除技術の開発」の2つの研究課題に取り組んでいる。

中課題1

モモせん孔細菌病防除技術の開発

[背景と目的]

モモは国内外で人気の高い果物の1つである。しかしながら、近年、モモの国内総生産量は減少傾向にある。その一つの要因として「モモせん孔細菌病の多発」が挙げられており、県内でも平成30年度から3年連続で圃場の70%以上で本病害の発生が確認されている。モモせん孔細菌病は、農薬のみでは防除が難しい「難防除病害」であり、台風や雨の多い年には特に深刻化することが知られている(図1)。このため、モモ生産には農薬散布に強風対策や枝病斑の剪除を組み合わせた総合的防除が必須であり、生産者の労働負担が大きくなっている。また、近年、国内の主要モモ生産地で農薬耐性菌の拡

大が問題となっており、本県でも1割強の圃場でストレプトマイシン耐性菌が確認されている。このため、農薬耐性菌にも有効な新しいせん孔細菌病防除技術の開発や抵抗性モモ品種の育成が生産者から強く求められている。

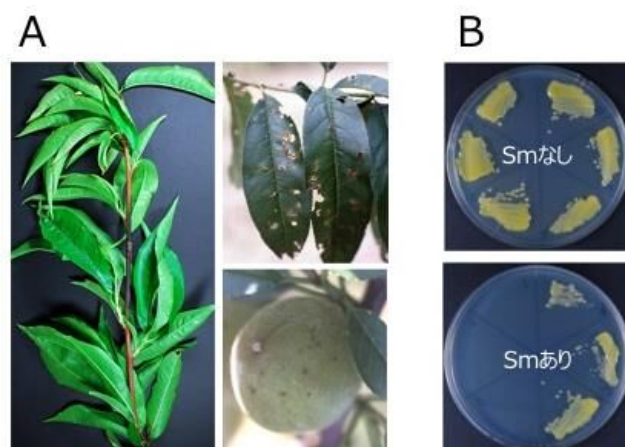


図1. モモせん孔細菌病の病徴及びストレプトマイシン耐性菌

(A) 枝、本葉及び幼果に生じた病徴。写真は岡山県病害虫防除所提供。

(B) 通常のせん孔細菌病菌（左側）及び県内圃場で分離されたストレプトマイシン（Sm）耐性菌（右側）。上のプレートはSmなし、下のプレートはSmあり。

モモせん孔細菌病防除技術の開発で最も大きな問題は実験室環境における安定な接種実験系が無いことである。現在一般的に利用されている接種系は、野外栽培したモモの新梢に傷を付けて病原菌を接種し、3ヶ月後に病斑の拡大程度を調べるというものである。このため、試験には広大なスペースと栽培のための労力が必要となる。また、年一回しか試験できないことも問題である。モモ品種間の抵抗性の違いの評価や各種防除資材の有効性の評価では安定な試験結果が得られる実験室環境での接種が望ましい。そこで、本研究では第一に安定なせん孔細菌病菌接種系の確立に取り組む。果樹においては、近年、遺伝子マーカーを活用した新品種育成が効率化されつつある。モモにおいても様々な遺伝子マーカーが整備されてきているが、日本の白桃種でせん孔細菌病抵抗性を判定できる遺伝子マーカーは未だ開発されていない。本研究では抵抗性を導入したモモ品種を効率よく選抜する遺伝子マーカーの開発も行う。

[今年度の成果]

1-1. モモ本葉を用いた安定なせん孔細菌病菌接種系の確立

モモ本葉にせん孔細菌病菌を接種し、温度及び光量を制御した実験室内で病徴を安定的に再現できるかどうかを検討した。菌株は県内圃場で分離された S2 株及び遺伝解析用にリファンピシン耐性変異を導入した S2R 株を用いた（共にモモ病原性を有する）。S2 及び S2R をモモ本葉に注入すると、どちらも接種14日後にはせん孔細菌病斑に酷似した褐変化が注入部位で観察された（図2）。一方、せん孔細菌病菌の病原性に必須な III

型分泌系遺伝子に変異を導入した *hrcC* 変異株及び *hrcV* 変異株をモモ本葉に注入した場合、接種 28 日後でも注入部位に褐変化は生じなかった。この結果から、せん孔細菌病菌の接種部位で形成される褐変化は、本菌の病原性に起因する病斑であると考えられる。今回確率したモモ本葉接種系は実験室環境で接種実験を行うため、野外で行う新梢傷接種法と比較して、安定な反復試験が可能であるだけでなく、実験期間の短縮、省スペース、省労働力、圃場の病原菌汚染の回避等、多くの利点があり、今後の遺伝子マーカーや防除資材の開発研究に活用したいと考えている。

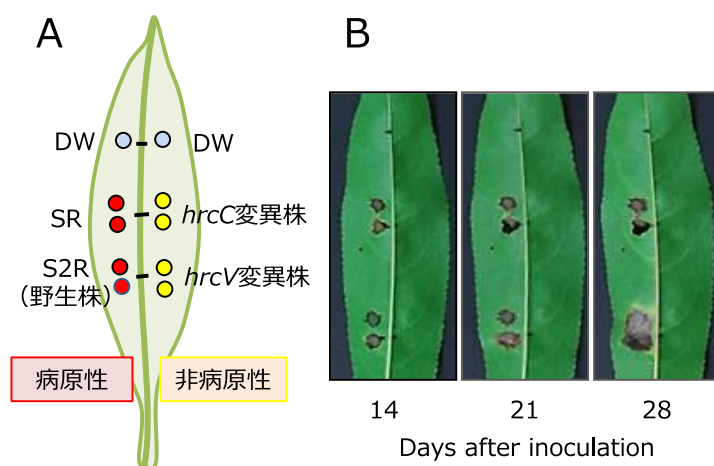


図 2. せん孔細菌病菌を接種したモモ本葉で観察される病徴
 (A) 本葉における接種位置。(B) 感受性系統 A の本葉で接種 14, 21, 28 日後に観察される病徴。DW は滅菌水。

1-2. モモ本葉接種系を用いたせん孔細菌病抵抗性の判定

せん孔細菌病に完全な抵抗性を示すモモ系統は世界的に見ても知られていないが、感受性系統と比較して発病程度が低い抵抗性系統が見出されている。感受性系統 (A 及び B) と抵抗性系統 (C 及び D) の各本葉にモモ病原性のせん孔細菌病菌 S2R 株を様々な濃度で接種し、病徴を観察した。その結果、接種 14 日後には全ての本葉で 5×10^8 cfu/ml 及び 5×10^6 cfu/ml 菌濃度の接種部位で褐色の病斑形成が認められた (図 3A 及び 3B)。しかしながら、抵抗性系統は感受性系統よりも病斑の褐変化程度が低いことが明らかとなった。このことから、モモ本葉接種系はせん孔細菌病抵抗性の判定に利用できると考えられる。

1-3. モモ本葉組織におけるせん孔細菌病菌の増殖

モモ本葉での病原菌増殖と病斑形成との関係について調べるため、 5×10^6 cfu/ml の病原菌を接種したモモ本葉から経時的に葉片を採取し、そこに含まれる菌数を測定した。その結果、感受性系統 A 及び B の本葉に病原性の S2R 株を接種した場合、接種 3 日後には約 1000 倍以上も病原菌が増殖していることが分かった。また、非病原性の *hrcC* 変異株は S2R 株と比較してごくわずか (1/100 以下) しかモモ本葉で増殖できなかったが、

本葉から排除されず低レベルで菌数が維持されていた (図 3C) 一方、抵抗性系統 C 及び D の本葉における菌増殖を調べた結果、接種 3 日後の菌増殖は感受性系統の本葉とほぼ同レベルだったが、接種 5-10 日後では抵抗性系統でわずかに増殖の抑制が認められた。しかしながら接種 10 日後以降は感受性系統と抵抗性系統での菌増殖に大きな違いは無かった。このことから、抵抗性系統は病原菌増殖をある程度抑制するとともに、病原菌の感染拡大も抑制している可能性が高い。今後は、抵抗性系統と感受性系統の本葉内における病原菌の感染拡大を調べてその可能性を検証するとともに、モモのせん孔細菌病抵抗性を見分ける遺伝子マーカーの開発に取り組む予定である。

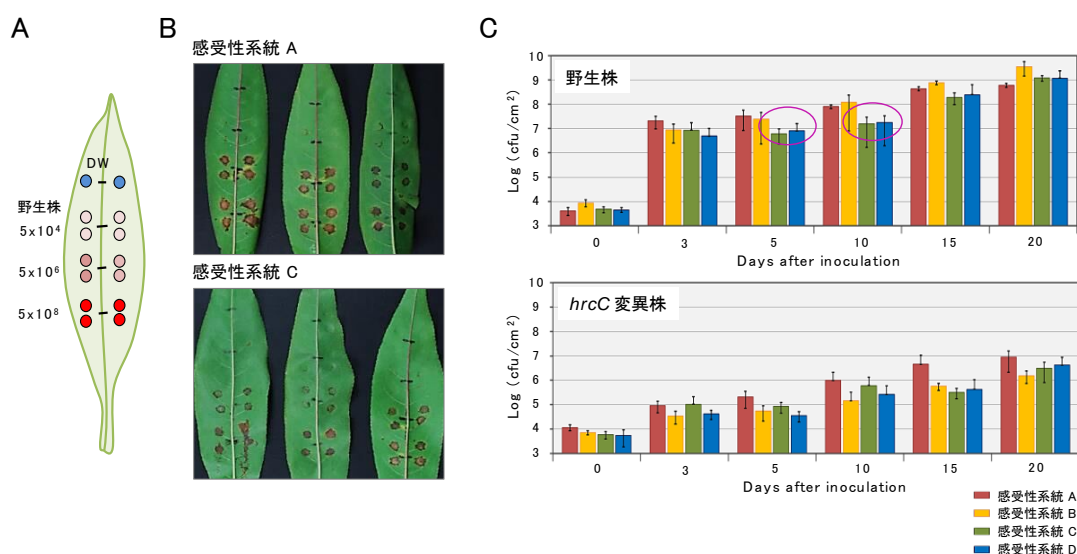


図 3. モモ本葉接種系を用いたせん孔細菌病抵抗性の判定と菌増殖の調査

(A) 本葉における接種位置。(B) 感受性系統 A 及び抵抗性系統 C の本葉で接種 14 日後に観察される病徴。(C) 野生株と *hrcC* 変異株を接種した感受性系統及び抵抗性系統の本葉における菌増殖。DW は滅菌水。

中課題 2

青枯病防除技術の開発

[背景と目的]

本課題では、ナス科作物の最重要病害「青枯病」に強い新品種を作することを目的に研究を行っている。果実品質、収量、病害抵抗性といった有用形質の多くは複数遺伝子支配であり、集積が非常に難しい。青枯病抵抗性作物を効率よく選抜するには、抵抗性遺伝子の解明が必須と考えられる。一般的に、青枯病抵抗性植物は青枯病菌が感染時に植物に注入するタンパク質性の病原因子 (エフェクター) を認識して強力な抵抗反応を誘導する (図 4)。我々は、抵抗性植物に認識される青枯病菌の非病原力 (Avr) エフェクター及びナス科作物が持つ抵抗性 (R) タンパク質 (R) の同定を行っている (図 5)。

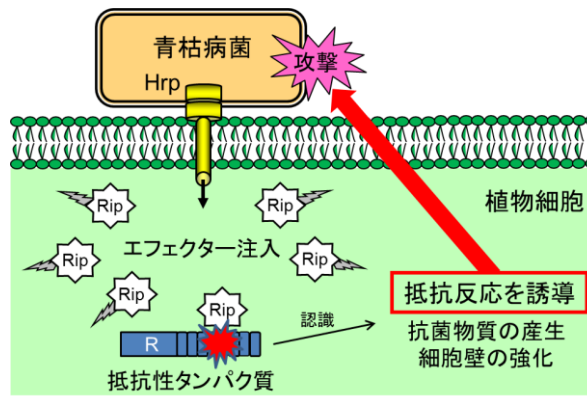


図 4. 植物の青枯病菌認識。青枯病菌は植物感染時に III 型分泌装置 (Hrp) から宿主細胞にエフェクターを注入する。抵抗性 (R) タンパク質は特定のエフェクターを認識して病害抵抗反応を誘導し、病原菌の植物内増殖を抑制する。

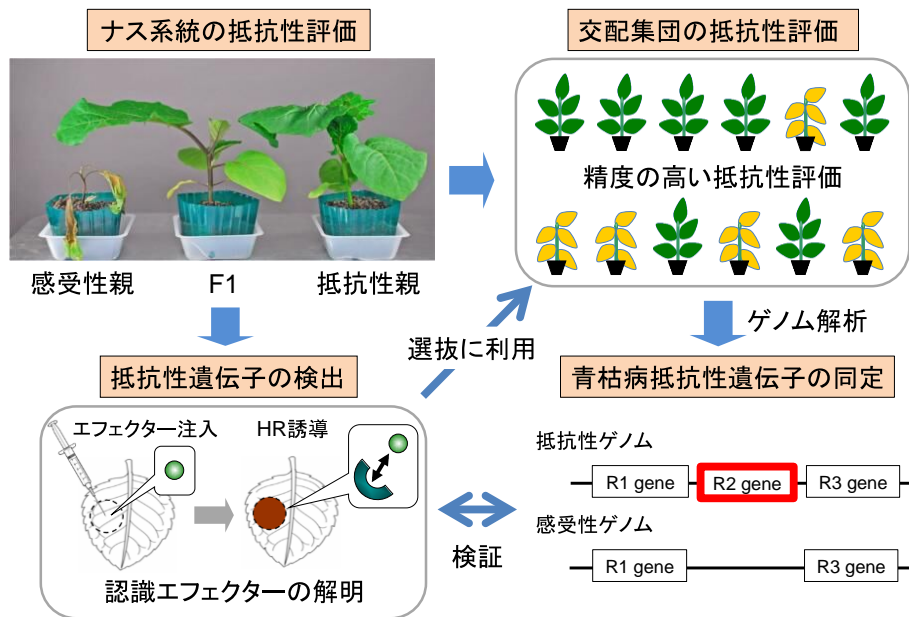


図 5. Avr エフェクターを利用した青枯病抵抗性遺伝子の同定

[今年度の成果]

2-1. 青枯病抵抗性遺伝子 *R-AX2* 及び *R-BF1* の同定

我々はナス青枯病菌に強度抵抗性を示すナス野生系統 No. 98 を見出し、本系統が持つナス青枯病抵抗性遺伝子 *R-AX2* の同定に取り組んでいる。現在、No. 98 系統と青枯病感受性ナス系統の交配後代集団を作出するとともにゲノム解析を進めており、青枯病抵抗性を指標としたゲノムワイド相関 (GWAS) 解析から目的の抵抗性遺伝子の同定を進めている。また、並行して、ナスが持つ *phyloptype IV* 青枯病菌抵抗性遺伝子 *R-BF1* の同定にも取り組んでいる。*Phyloptype IV* 青枯病菌は我が国の西南地域に近年に侵入・定着

した外来性の青枯病菌であり、現地のジャガイモ生産に大きな被害を与えている。これまでの研究から、ナスが認識する *phylo*type IV 青枯病菌の *Avr* エフェクター (*HopBF1*) を同定し、我が国で分離された *phylo*type IV 青枯病菌全てに *HopBF1* が保存されていることを明らかにしている。このため、青枯病菌抵抗性遺伝子 *R-BF1* は国内の *phylo*type IV 青枯病菌全てに有効と考えられる。現在、*R-BF1* を持つナス系統と持たないナス系統の交配後代のゲノム解析を利用して抵抗性遺伝子の同定を進めている。

上記二つの青枯病抵抗性遺伝子の同定研究はまだ中途であり、その内容を詳細に報告することは困難なため、本年報では青枯病菌のナス病原性獲得と *hopBF1* 変異の関係を中心に報告する。

2-2. 青枯病菌のナス病原性獲得と *hopBF1* 変異

近年のゲノム情報に基づいた分子生物学的な系統解析から、青枯病菌は単一種ではなく、複数種からなる種複合体 (*Ralstonia solanacearum* species complex, RSSC) であることが明らかになっている。世界の青枯病菌は大きく4つ、アジア分布の *phylo*type I、アメリカ分布の *phylo*type II、アフリカ分布の *phylo*type III 及び東南アジア分布の *phylo*type IV に大別される。我が国に分布する青枯病菌のほとんどは *phylo*type I 菌株であるが、九州・沖縄を中心とする一部のジャガイモ産地には東南アジアから侵入したと考えられる *phylo*type IV 菌株が存在する。*phylo*type I 青枯病菌の宿主範囲は総じて広く、単一菌株がナス、トマト、ジャガイモ、タバコ、トウガラシ等、多くの植物種を加害するが、国内で分離される *phylo*type IV 青枯病菌の宿主範囲はごく狭く、圃場ではジャガイモから分離されるのみである。*phylo*type IV 青枯病菌がナス病原性を持たない理由の一つとして、本菌がナスに強い過敏感反応 (HR) を誘導することが挙げられる。

昨年度、我々は *phylo*type IV 青枯病菌からナス HR を誘導する *avr* 遺伝子として *hopBF1* を同定した。*hopBF1* を導入したナス青枯病菌はナスに HR を誘導するようになると同時にナス病原性を完全に失った (令和3年度研究年報)。*phylo*type IV 青枯病菌 *hopBF1* 変異株はナス本葉でわずかに病原性 (植物内増殖) を示すようになったが、青枯病菌は植物根部から感染するため、本年度は *hopBF1* 変異株をナス根部に接種し、根部での増殖能力を確認した。観察に際して、*hopBF1* 変異株の植物内での動態を観察できるように *luxCDABE* オペロンを導入し、自家発光する *Lux* 標識菌株を作出した (図6)。

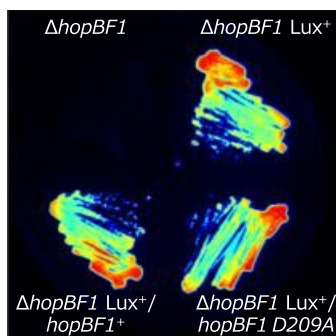


図6. ルシフェラーゼ (*Lux*) 標識した *phylo*type IV 青枯病菌株の自家発光

Lux 標識した phylotype IV 青枯病菌をナス根部に接種したところ、本葉で得られた結果と同様に機能的な *hopBF1* を持たない *hopBF1* 変異株はナスに対してわずかに病原性（植物内増殖）を示すようになった（図 7）。しかしながら、 Δ *hopBF1* 変異のみでは効率良くナス内で増殖できないことから、(1) phylotype IV 青枯病菌にはナスに認識される未知の *avr* 遺伝子が他にも存在する、(2) ナスにおいて病原性を上昇させるような病原性遺伝子を持たない、または (3) その両方の可能性が考えられる。

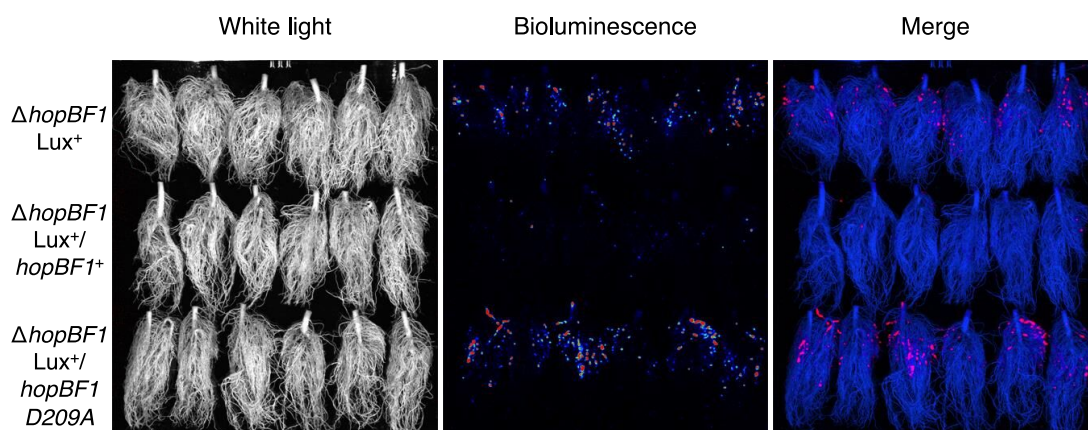


図 7. ナス根部における phylotype IV 青枯病菌変異株の増殖

我が国に分布する phylotype IV 青枯病菌はナスに感染できないが、世界にはナスに病原性を示す phylotype IV 青枯病菌が存在する。興味深いことにナス病原性の phylotype IV 青枯病菌のゲノムでは *hopBF1* を含む領域が消失している（図 8）。このことは、ナス非病原性の phylotype IV 青枯病菌が *hopBF1* を失うことでナス病原性を獲得した可能性を強く示唆する。また、phylotype IV 青枯病菌と近縁の phylotype I 及び phylotype III 青枯病菌では調べた菌株全てが共通の *hopBF1* null 変異を持っていた（図 8）。この結果は、phylotype I、III 及び IV の祖先となった青枯病菌が元々は *hopBF1* を持っていたことを強く示唆する。phylotype I 及び phylotype III はアジアとアフリカに広く分布するが、phylotype IV の分布はインドネシア周辺のごく狭い地域に限られている。ナスがインドで生まれ、そこからアジア、アフリカに分布を広げたことと考え合わせると、青枯病菌の祖先菌株が *hopBF1* 変異によりナス病原性を獲得し、ナスが世界に分布を広げると共にナス病原性青枯病菌がアジアからアフリカに拡散し、現在の phylotype I 及び III 青枯病菌に分化したという仮説が導き出される。青枯病菌は *hopBF1* が変異して初めてナスで増殖可能になることから、phylotype I 及び phylotype III のゲノムに痕跡が残る *hopBF1* 変異はナス病原性獲得の「はじめの第一歩」であったかもしれない。また、青枯病菌がナス病原性を獲得するには *hopBF1* 変異に加えて更に別の適応変異が必要なことが強く示唆された。このようなナス適応変異の正体を明らかにすることで、青枯病菌のナス科植物に対する病原性をより深く理解できると考えられる。

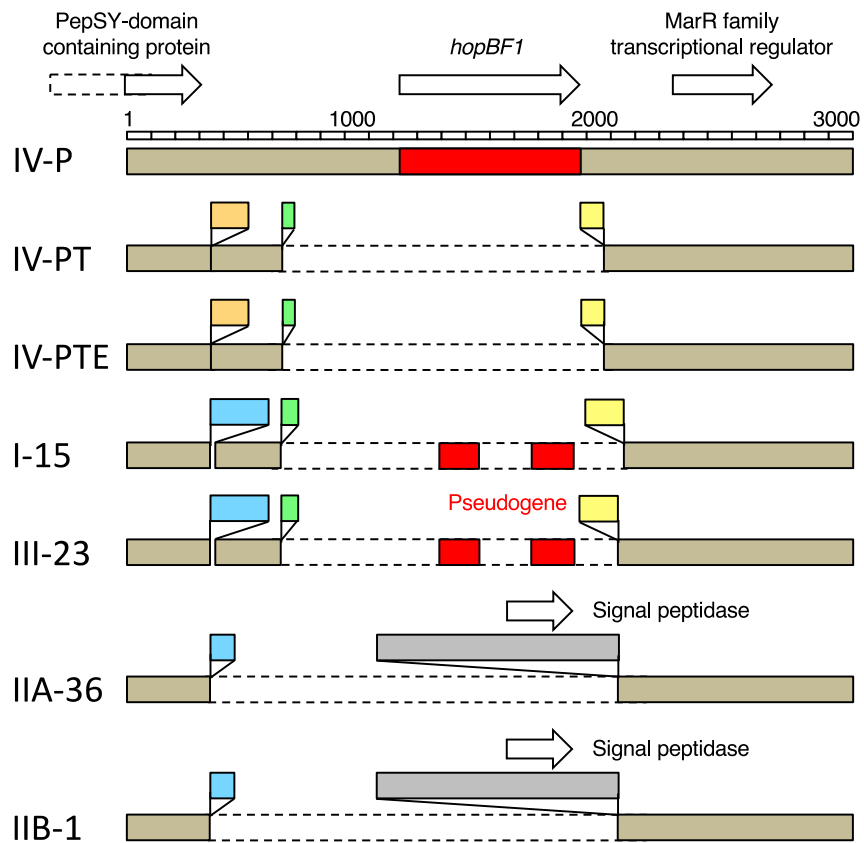


図 8. 青枯病菌種複合体 (RSSC) における *hopBF1* の分布
 I, II, III 及び IV は各 phylotype を示し、続く数字は sequevar を示す。赤は *hopBF1* の読み枠 (ORF) を示す。菌株間で保存されている領域が色別に図示されている。

令和4年度の活動

1. 報文（総説・原著論文等）

なし

2. 学会・シンポジウム・講演会等での発表（*Pはポスター発表、*招は招待講演）

向原隆文

ナス病原性の青枯病菌を生み出したエフェクター遺伝子変異（*招）
第29回植物細菌病談話会
令和4年12月3日（東京・オンラインハイブリッド開催）

3. 知的財産権

なし

4. 共同研究・協力連携先

岡山県農林水産総合センター農業研究所、岡山大学、農研機構生物機能利用研究部門、
農研機構野菜花き研究部門、岩手生物工学研究センター

5. 外部資金獲得状況

- 科学研究費補助金・基盤C（代表 向原隆文）
- ウェスコ学術振興財団研究活動費助成（代表 嘉美千歳）

6. その他

岡山県立大学連携大学院 教授（客員、兼任）（向原隆文）

発行日	令和5年7月31日
発行者	岡山県農林水産総合センター生物科学研究所
連絡先	〒716-1241 岡山県加賀郡吉備中央町吉川 7549-1 TEL 0866-56-9450 FAX 0866-56-9453 ホームページアドレス http://www.pref.okayama.lg.jp/soshiki/203/

※無断転載複製を禁ず