



生物科学研究所

令和5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

昨年度の研究年報の序文を書いたからの1年を振り返ると、ロシアによるウクライナ侵略は、3年目に入って、未だ解決の糸口が見つからない状況が続いています。それに加えて、10月に中東でも戦争が始まり、一般市民の犠牲者が毎日のように出ています。戦火がいち早く収まることを願うばかりであります。国内では、令和6年元旦の夕方に、能登半島で地震があり、輪島市では最大震度7を記録する大災害に見舞われ、震災後4か月経過した時点でも、石川県珠洲市では水道が復旧していない状況です。

研究所を取り巻くことを思い返しますと、昨年度は岡山県内で、鶏インフルエンザの発生がなく、一昨年、4件もの発生があり、動員に追われたことから比べると、研究に落ち着いて取り組めたと思っております。また、年度末には、農林水産総合センターの本所（赤磐市）とともに、当研究所にも、PPA（電力購入契約）方式による太陽光発電設備が導入され（下写真）、年間電力使用量の約2割が安価に購入できる見込みとなったのは、明るい話題でありました。



さて、研究年報は、本来であれば1年分の成果を報告するのが建前ではありますが、令和5年度は、第6期五か年研究計画（令和4年度～令和8年度）の2年目にあたり、令和6年7月に外部評価委員の方々に、研究課題の中間評価を受ける予定となっております。そのため、5ページにお示ししております6課題について、五か年計画が始まってからの2年間のトピックスを記載する形を取らせていただいております。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6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	1 1

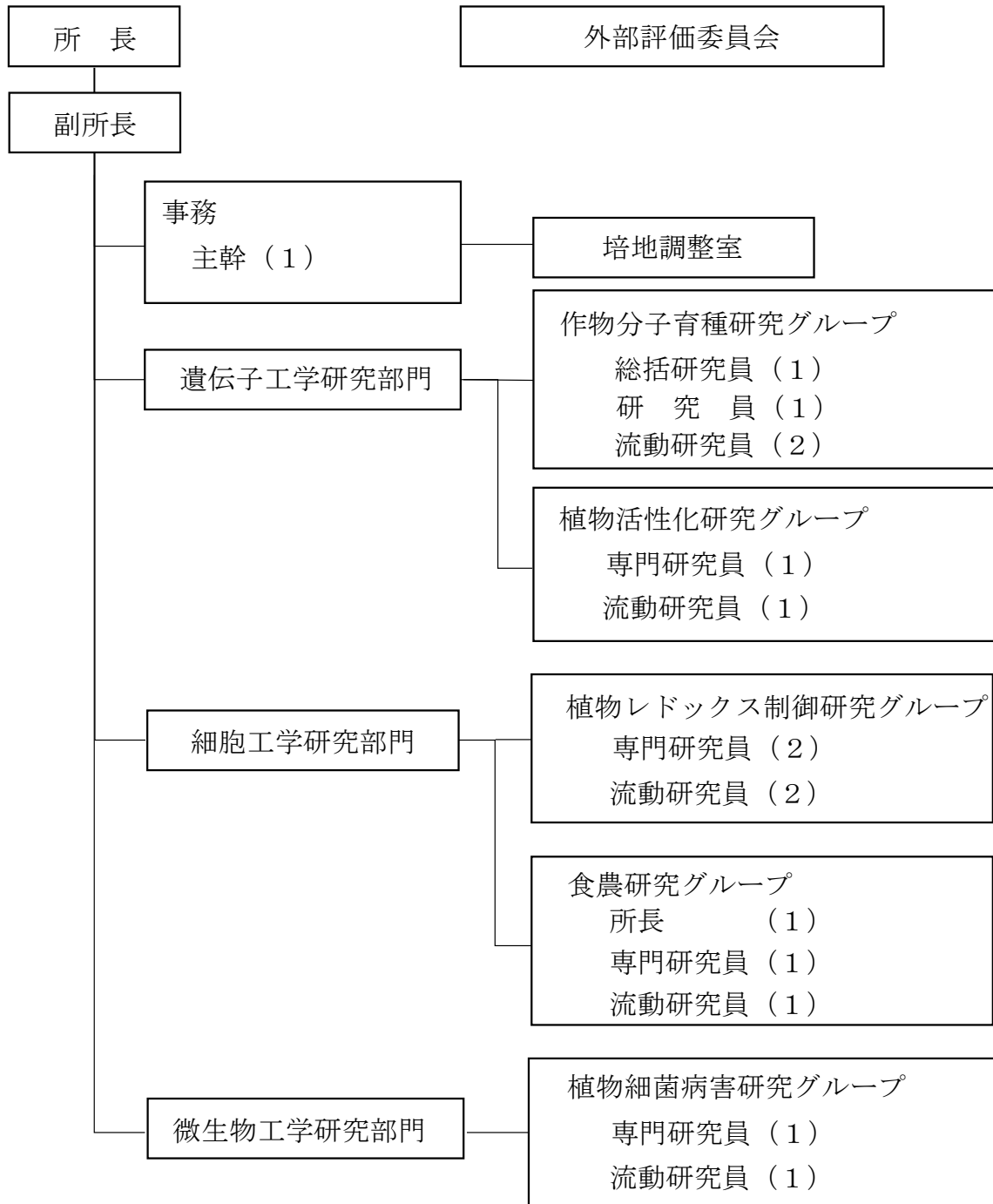
研究の概要

作物分子育種研究グループ	1 2
植物活性化研究グループ	2 1
植物レドックス制御研究グループ	4 1
食農研究グループ	5 4
植物細菌病害研究グループ	7 4

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6年3月31日現在)



所長	1	研究員	1
副所長	1	流動研究員 (非常勤)	7
主幹	1	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	6
専門研究員	5	計	24

生物科学研究所職員名簿 (令和6年3月31日現在)

職 名	氏 名	氏 名
所 長	畑 中	唯 史
副 所 長	難 波	克 徳
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・教授
川 崎	敦 史	全国農業協同組合連合会岡山県本部・副本部長
神 崎	浩	国立大学法人岡山大学環境生命科学研究科・教授
藤 原	加 奈	株式会社フジワラテクノアート・代表取締役副社長
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
野菜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

RIBS バイオサイエンスシンポジウム 「植物病害の克服に向けた基盤づくり」

日時：令和5年12月1日（金）13時00分～17時00分 オンライン開催
主催：岡山県農林水産総合センター生物科学研究所
共催：おかやまバイオアクティブ研究会、岡山大学農学部、
ダイバーシティ農業による地域イノベーション共創拠点（岡山大学拠点）
登録者数：103名（うち県外52名）

令和5年度RIBSバイオサイエンスシンポジウム
植物病害の克服に向けた基盤づくり

日時：令和5年12月1日（金）13:00-17:00（Zoomオンライン）

13:00 開会の挨拶
中村 哲郎（岡山県農林水産総合センター 次長）

13:10 貪欲なる*Dickeya dadantii*の対宿主戦略：野菜軟腐病と果樹胴枯細菌病の相違点
藤川 貴史（農業・食品産業技術総合研究機構）

13:50 ブドウ根頭がんしゅ病を抑制するバイオコントロール細菌の作用機序
能年 義輝（岡山大学学術研究院環境生命自然科学学域）

14:30 「ダイバーシティ農業による地域イノベーション共創拠点」の事業紹介
福田 文夫（岡山大学学術研究院環境生命自然科学学域）

14:40 休憩

14:50 イネ抵抗性タンパク質が進化の過程で獲得した病原菌因子を見破るしくみ
清水 元樹（岩手生物工学研究センター）

15:30 ナスコアコレクションのゲノム解読と青枯病抵抗性品種の開発
宮武 宏治（農業・食品産業技術総合研究機構）

16:10 エフェクターから見たナス科作物の青枯病抵抗性
向原 隆文（岡山県農林水産総合センター生物科学研究所）

16:50 閉会の挨拶
畑中 唯史（生物科学研究所 所長）

参加申し込み：下記URLまたはQRコードから参加登録（無料）
<https://forms.gle/WEPD2JJTVXc9yNPP8>



主催 / 岡山県農林水産総合センター生物科学研究所（RIBS, Okayama）
共催 / 岡山大学農学部
おかやまバイオアクティブ研究会
ダイバーシティ農業による地域イノベーション共創拠点（岡山大学拠点）
お問い合わせ先 / 生物科学研究所内シンポジウム事務局（担当 向原）
TEL: 0866-56-9450 E-mail: mukaihara@bio-ribs.com



令和5年4月10日 遺伝子組み換え実験講習会 ならびに 研究倫理講習会



令和5年7月14日 外部評価会議 (機関評価・生物科学研究所にて)



令和5年8月31日 生物科学研究所における所長会議



令和5年12月11日 消防訓練 (17名参加)



令和6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

「グルタチオン施用植物のアミノ酸代謝に対する NodGS 遺伝子の影響」

野田 壮一郎 …………… 13:00～13:30

食農研究グループ

「岡山県産姫とうがらしにおけるカロテノイド類の呈する色と一重項酸素の
消去作用との相関」

楊 霊麗 …………… 13:30～14:00

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」
～ウイルスフリーの社会を目指して～

鳴坂 真理 …………… 14:00～14:30

<休憩……………14:30～14:45>

作物分子育種研究グループ

「モモの熟期を決める分子機構の解析」

深松 陽介 …………… 14:45～15:15

「モモの効率的な形質転換技術の開発」

田村 勝徳 …………… 15:15～15:45

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 …………… 15:45～16:15

主な視察・来訪者

令和5年5月25日 岡山大学農学部植物コース3年生来所（計45名）



令和5年8月7日 夏の体験教室（遺伝子にふれてみよう。高生対象）開催
（2組、5名参加）



令和5年10月31日 岡山県共生高等学校1年生来所（計16名）



その他、民間企業、研究機関などからの視察・来訪者

計 171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、生産額も県内 2 および 3 位の主要農作物である。このため、県農業の振興を進めるうえで、消費者や生産者が求める優れたブドウやモモを生産し、そのブランド力・競争力を向上させることが重要である。それには、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。このような背景から、本県では、モモやブドウの新品種育成に古くから積極的に取り組んでいるところである。

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することが難しく、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、定植前に果実形質などを指標とした選抜が可能なマーカー支援選抜を岡山のモモ育種に導入すべく、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に取り組んできた。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品種や将来の課題を解決する品種育成を目標に、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、今期 5 年計画では新たにブドウも対象に加えた。研究内容は、単なるマーカー開発に向けた遺伝子研究だけでなく、マーカー支援選抜を育種現場で実践していくための指導と課題解消や、マーカーの有効活用に必要な周辺技術の開発、マーカー支援選抜以外の分子育種法の研究も進めており、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。

第 6 期五カ年研究計画におけるトピックス

- 岡山県の保有するモモのジーンバンクの多様な品種に加え、花モモや野生モモも活用して、モモが示すさまざまな形質について、品種特性が決まる遺伝的要因について詳細な解析を進めている。特に、品種の最も重要な特性の一つである果実収穫期に関し、その決定メカニズムを調べ、収穫期を高精度に予測する分子マーカーを開発した。開発マーカーは、岡山県における白桃育種の中で活用を始めている。

- 新たに、岡山県のブドウ育種にマーカー選抜技術を活用するための研究を開始した。喫緊の課題となっている黒ブドウの着色不良への対応品種を効率的に育成できるようにするとともに、品種間で香りの有無が生じる分子機構の解析を行った。
- 困難とされるモモの組織培養の研究に取り組み、カルス、不定芽、不定根の誘導条件を詳細に詰めて、組織片からの個体再生に成功した。

[背景と目的]

岡山県のモモは、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に成功している。また、岡山県のブドウは、黒ブドウの主力であるピオーネや上品で香り高いマスカットオブアレキサンドリアが全国一の生産高を誇り、近年は「晴王」のブランド名を冠した高品質なシャインマスカットの生産も盛んである。このような県主力作物であるモモ、ブドウにおいて、さらに優れた県オリジナル新品種を求める声は、生産者、実需者、消費者のそれぞれから強く出されている。そのため、本県農業試験場（現農業研究所）では古くから新品種育成に取り組み、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、県民のニーズに伝えてきた。それぞれの品種が示す形質の違い（特性）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てきた。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、従来は交配で作られた各個体の形質を互いに比較して、よいものを選抜していたのに代わり、各交配個体の DNA を比べ、よいものを予測して選抜するという手法である。DNA は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、植物の栽培環境や成長段階を考慮することなく選抜が可能である。例えば、果実の形質に関する選抜を行うのに果実は不要であり、圃場定植前の小さな幼苗の段階でわずかな葉を採取して選抜を行うことができる。このため、幼苗時に 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、すなわち、果樹育種の最大の障害である圃場での大きな果樹の栽培という労力を増やすことなく、大規模育種が可能になる。このようなことから、マーカー選抜は果樹育種に大変強力な手法と期待されてきた。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適用は遅れている。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）。

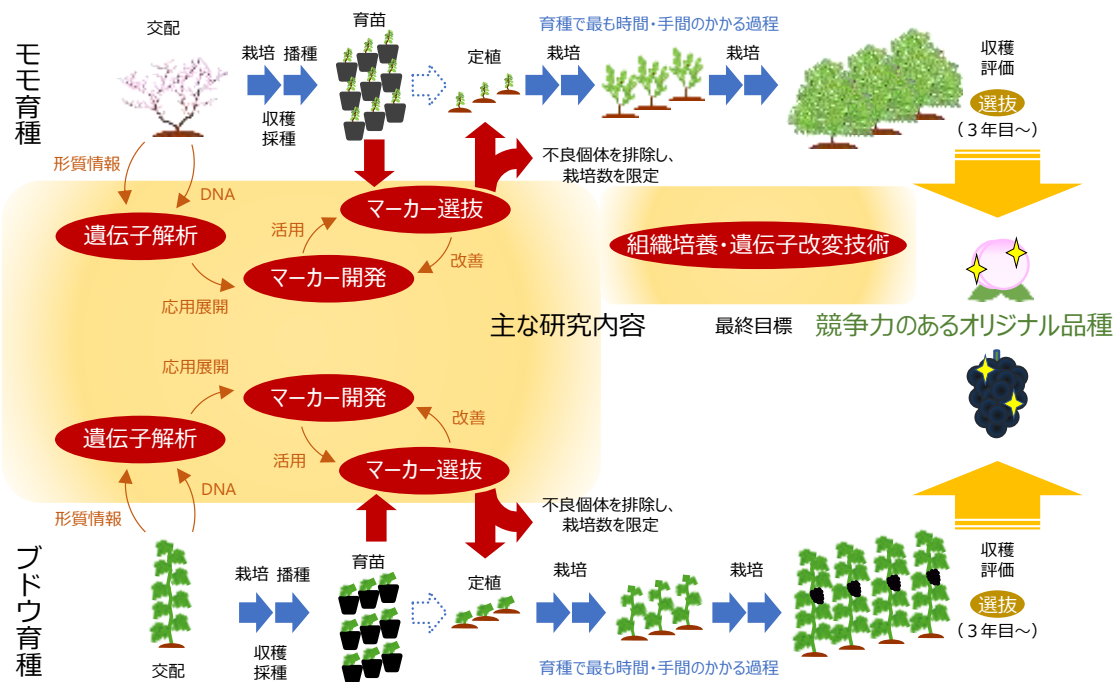


図 1. マーカーによる岡山県の効率的なモモ、ブドウの新品種育成

[今年度の成果]

研究は、主に以下の 4 つの内容に取り組んでいる。

- (1) モモやブドウを対象にした様々な形質の遺伝子解析と DNA マーカーの開発
- (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

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と一体となって実施している。(4) については、まだ基礎研究段階であるが、将来の育種技術開発を見越して着手している。

本年報の以下の部分では、今期 5 カ年計画でテーマに加えたブドウのマーカー選抜の一端として、果皮着色マーカーの改善と利用について述べる。

岡山県では、古くからブドウの生産が盛んで、現在も多くの品種が栽培されている。その中でも、黒系のピオーネは栽培面積の 63% を占めており、また同じ黒系ブドウであるオーロラブラックも合わせて考えると、県内全栽培面積の 7 割を黒系ブドウが占めている (図 2)。近年は、全国的にシャインマスカットの人気が高く、県内での栽培面積

も増加傾向が続いているものの、岡山県では依然黒系ブドウが主要な位置を占めている。しかし、近年は温暖化などの影響により、黒系ブドウの着色不良がしばしば問題となっている。岡山県はブドウ産地としては比較的南方に位置し、温暖化の影響は深刻で、高温下でも安定して着色する黒系新品種の育成が喫緊の課題となっている。そこで、着色に優れた新品種をマーカー選抜により効率的に育成することを目指した。

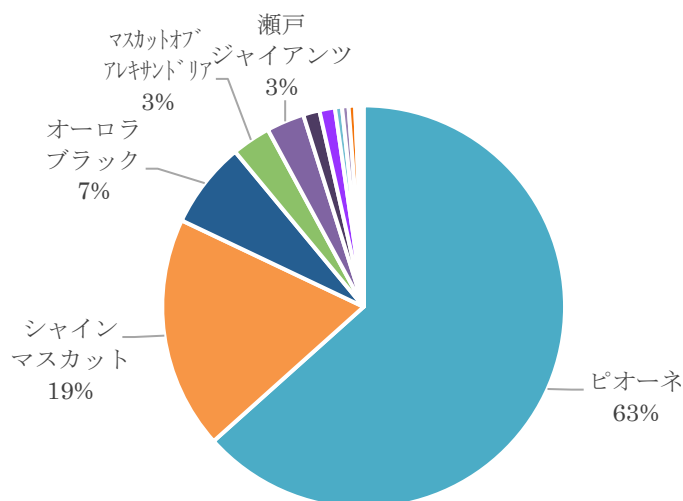


図 2. 岡山の品種別ブドウ（生食用）栽培面積の割合
令和 3 年特産果樹生産動態等調査（農水省）をもとに作成

ブドウの果皮色は量的形質であり、複数の遺伝子座が関与する。その中で、着色に強く影響する主導遺伝子座が 2 番染色体上に知られており、そこには天然色素アントシアニンの合成誘導能を有する 2 つの MYB 転写因子遺伝子が約 200kb の距離で近接して座上している。2 つの遺伝子ともに転写活性が異なる複数の多型が知られているが、遺伝子座としてのアントシアニン誘導能は、これらの遺伝子の転写活性の総体として規定されるため、育種選抜用 DNA マーカーは 2 つの遺伝子を含む領域のハプロタイプを区別できることが求められる。農研機構の東らは、このような特性をもつ DNA マーカーを開発し、報告している (Azuma et al, 2020)。このマーカーは、単一の PCR で既知のハプロタイプを判別できる極めて優れたマーカーである。その一方、高額でランニングコストもかかる DNA シーケンサーや高価な蛍光ラベルプライマーを必要とするなど、育種現場での利用にはハードルが高い一面もある。そこで、我々は岡山県での黒系ブドウ育種に適合したより簡便なマーカーを設計した。このマーカーは、単純な PCR と安価なアガロースゲル電気泳動で、岡山県が黒系ブドウの育種素材に利用している品種・系統が有する 5 つのハプロタイプ (A、B、C-Rs、C-N、G) を区別するものである (図 3a)。ただし、C-Rs と C-N はシグナルサイズが同じで区別できないため、このサイズのシグナルが検出された場合、さらに別の PCR を実施して、C-N の有無を調べる必要がある (図 3b)。このマーカーを利用して、着色に優れた 2 倍体黒系ブドウの育種に着手している。

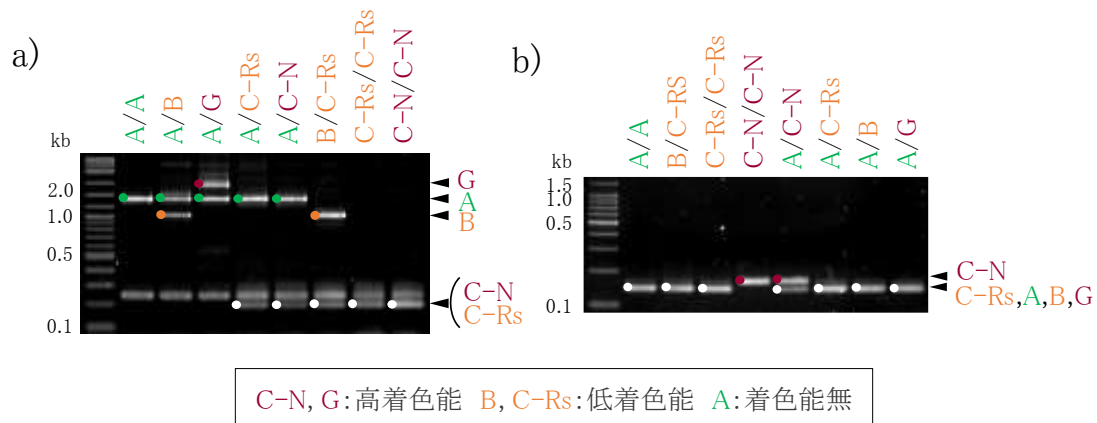


図3. 黒系2倍体ブドウ選抜用の簡便DNAマーカーによるハプロタイプ判定

ブドウには、2倍体品種の他に、ピオーネや巨峰に代表される4倍体品種が存在する。これらの品種では、アントシアニン合成誘導能は、各ハプロタイプのコピー数を考慮する必要があり、マーカーによる推定がより難しくなる。4倍体黒系ブドウの育成に当面利用する育種素材がもつハプロタイプは3つ（A、E1、E2）に限られるため、これらのコピー数を定量PCR法により測定する手法を確立した（図4）。コピー数が増えると、測定精度が下がる傾向が見られるものの、コピー数の推定は十分に可能と考えられた。

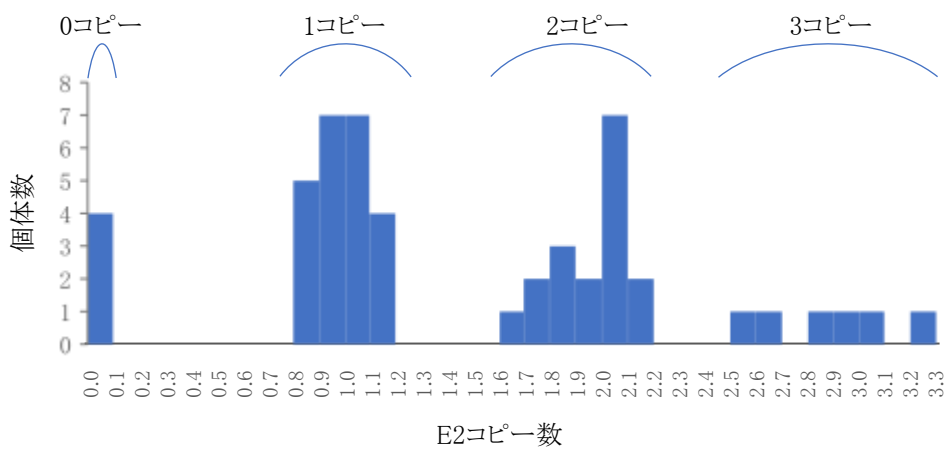


図4. 定量PCR法により求めたE2のコピー数

この手法で46本の実生個体のMYBハプロタイプを推定し、一方、各個体の果実の果皮色をカラーチャートで測定し、両者の関係を示したのが図5である。この結果から、岡山県で栽培しても、着色が優れる目安としているカラーチャート9以上の果実をつけるような個体を効率的に育成するには、図のA/E1/E2/E2以上の着色能が期待できるMYBハプロタイプを有する個体を選抜するのがよいと考えられた。

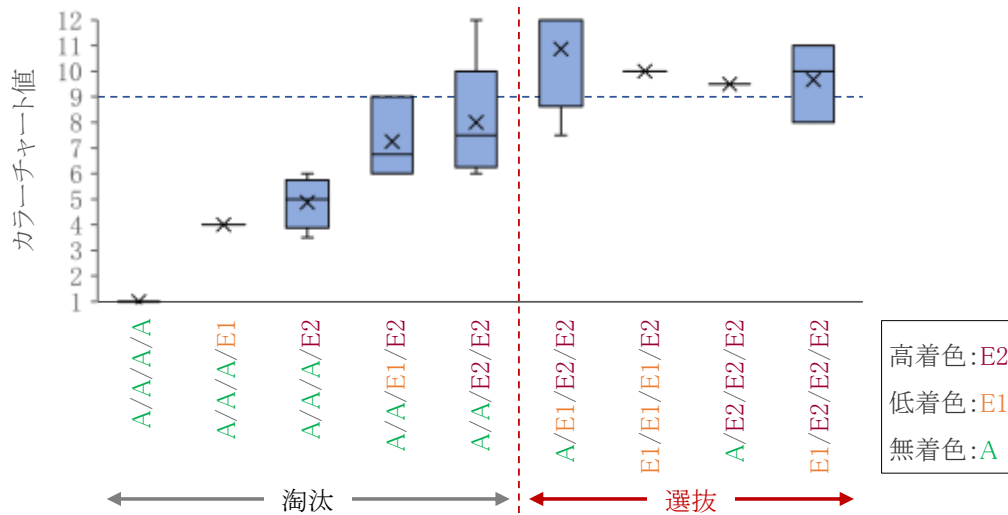


図5. MYBハプロタイプの組合せと果皮色の関係

これらのことから、実際の育種現場では、図6に示す手順で選抜を行うこととした。すなわち、① E2の定量PCRを行い、E2が増幅しない個体を排除、② Aの定量PCRを行い、Aが増幅しない個体を選抜、③ E2/Aの値を計算し、2以上の個体を選抜するという手順である。

MYBハプロタイプの組合せ	Aのコピー数	E1のコピー数	E2のコピー数	(Step 1) E2のPCRで非増幅を淘汰	(Step 2) AのPCRで非増幅を選抜	(Step 3) E2/Aの計算で2以上を選抜
A/A/A/A	4	0	0	× → 淘汰		
A/A/A/E1	3	1	0	× → 淘汰		
A/A/A/E2	3	0	1	○	○	0.33
A/A/E1/E1	2	2	0	× → 淘汰		
A/A/E1/E2	2	1	1	○	○	0.5
A/E1/E1/E1	1	3	0	× → 淘汰		
A/A/E2/E2	2	0	2	○	○	1
A/E1/E1/E2	1	2	1	○	○	1
E1/E1/E1/E1	0	4	0	× → 淘汰		
A/E1/E2/E2	1	1	2	○	○	2 → 選抜
E1/E1/E1/E2	0	3	1	○	× → 選抜	
A/E2/E2/E2	1	0	3	○	○	3 → 選抜
E1/E1/E2/E2	0	2	2	○	× → 選抜	
E1/E2/E2/E2	0	1	3	○	× → 選抜	
E2/E2/E2/E2	0	0	4	○	× → 選抜	

図6. 着色の良い4倍体黒系ブドウ候補の選抜手順

ピオーネ (A/A/E1/E2) およびオーロラブラック (A/A/E2/E2) の自然交雑実生を育て、上記の手順で処理したところ、表1に示すように、それぞれ29および41個体の候補が

選抜できた。選抜個体は圃場で栽培しており、今後、果実形質を調査していく計画である。

表 1. ピオーネおよびオーロラブラックの自然交雑実生の選抜結果

選抜 目標	1) ピオーネ自然交雑実生				2) オーロラブラック自然交雑実生			
	MYBハプロタイプの 組合せ	検出数	出現率	理論的 出現率	MYBハプロタイプの 組合せ	検出数	出現率	理論的 出現率
	A/E1/E2/E2	21	9.2%	11.1%	A/E2/E2/E2	36	16.0%	22.2%
	E1/E1/E2/E2	8	3.5%	2.8%	E2/E2/E2/E2	5	2.2%	2.8%
	その他	200	87.3%	86.1%	その他	184	81.8%	75.0%
	総数	229			総数	225		

令和5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

久保田朗晴、原美由紀、田村勝徳、鶴木悠治郎、小田賢司

白花のモモに見出されるアントシアニン欠損変異の多様性

日本農芸化学会中四国支部第67回講演会、令和6年1月27日(米子)

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 田村勝徳)

6. 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)

日本農芸化学会中四国支部 参与(小田賢司)

おかやまバイオアクティブ研究会見学会（講演）

小田賢司「モモの歩みと岡山」

令和5年8月17日（岡山県農業研究所）

アグリビジネス創出フェア（ポスター展示）

小田賢司「多様な色のモモ新品種を効率的に育成する DNA マーカー」

令和5年11月20～22日（東京）

研究成果出前講座（岡山県共生高等学校）

小田賢司「モモの分子育種」

令和5年10月31日（生物科学研究所）

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

大課題

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]

令和5年度は、第6期五カ年計画の2年目ということで、当初の方針を踏襲して研究を遂行した。「背景と目的」に関する詳細は前年度の年報を参照していただきたい。

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、「第3次晴れの国おかやま生き生きプラン」に掲げる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し、農林水産業者の所得を向上する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。一方で、農林水産省による「みどりの食料システム戦略」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おり、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必要がある。

岡山県においても気候変動によると思われる温暖化が深刻化しており、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。

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おり、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の開発をめざした。(図1)。



図1. 課題の概要

第6期五カ年研究計画におけるトピックス

・「知」の集積と活用の中 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活動がオープンイノベーション大賞を受賞！

鳴坂が代表プロデューサーを務める当該研究開発プラットフォームは、①産官学の連携により、バイオスティミュラント資材である「ストロングリキッド」などを共同開発し、販売を実現している。②農薬や植物ウイルス防除剤の社会実装に向けて多くの取組を進めている。③協議会主催イベントへの参加だけでなく、研究開発プラットフォームとして独自で講演や研究会開催など、産学官だけでなく現場も巻き込んで積極的に取り組んでいるとの理由でオープンイノベーション大賞を受賞した。岡山県を中心としてオールジャパン体制で県の農業だけではなく日本の農業に貢献している。

・“くだもの王国おかやま”の発展に貢献するイチゴ減農薬栽培に向けた新規栽培体系に貢献！

紫外線(UV-B)照射、天敵、バイオスティミュラント、AIセンサーによる病害発生予測技術を組み合わせた新規病害虫防除体系を確立した。以上はいずれも市販されており、これら技術を生産者及び農業大学校へ導入し普及を進めている。これらを併用することで、殺菌性及び殺虫性の化学合成農薬の使用を半減することに成功した。

・難防除病害のウイルス病を防ぐ!新規抗ウイルス剤の開発

植物ウイルス病は、世界で6兆円、国内では年間1000億円以上もの農産物被害をもたらしているにもかかわらず、有効な農薬や防除法が確立していない。そのため、農産物に重大な被害を与える植物ウイルス病対策の確立は喫緊の課題である。私たちは、南西諸島に自生するショウガ科ハナミョウガ属の常緑性多年草の月桃(ゲットウ, *Alpinia zerumbet*)のプロアントシアニジンに強い抗植物ウイルス活性があることを明らかにするとともに、本資材の農業資材としての市販化に向けて実証試験を進めている。また、植物の成長に必須な微量元素に抗ウイルス効果があることを発見し特許出願した。

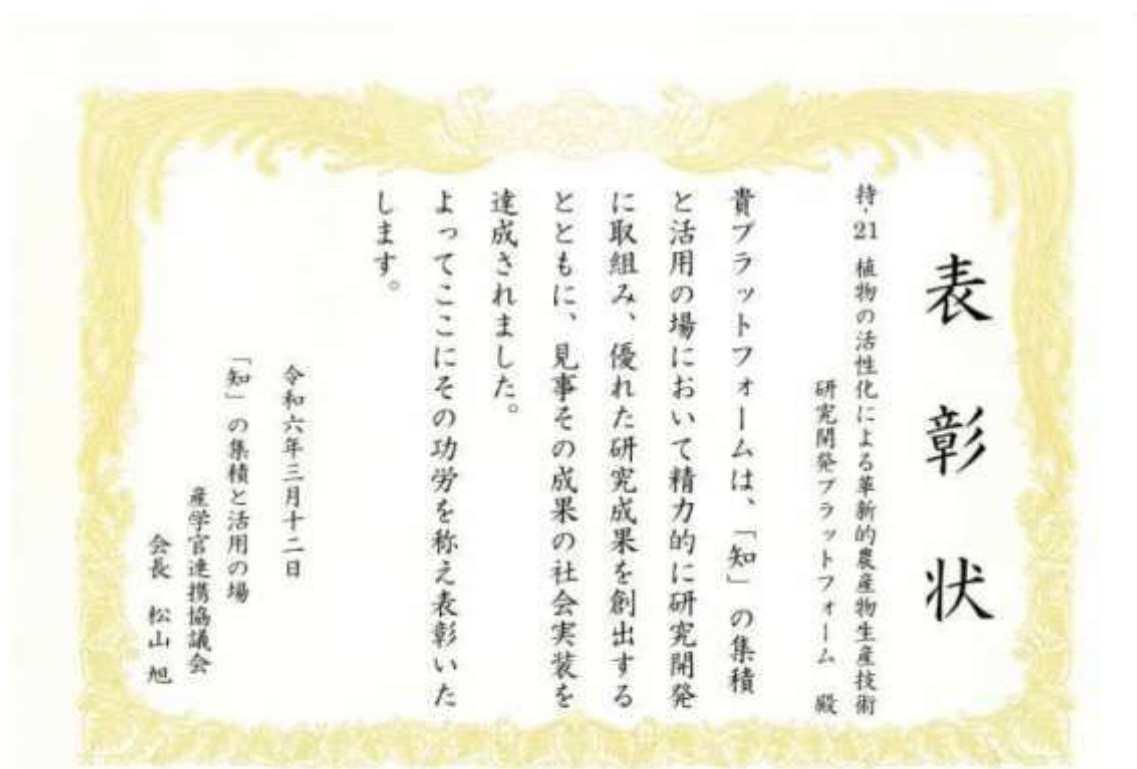


図2. 表彰状

[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。日本の農業を構成する一員としての岡山県の農業を推進するため、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期五カ年計画の第二年度において、学術論文等10(22)報（原著論文1(3)報、総説2(5)報、マニュアル1(1)報、著書(3)報、その他報文6(10)報）、発明届2(5)件、特許出願2件、特許実施許諾3件、学会等発表16(33)件、フェア出展1(2)件、受賞1件、外部研究資金獲得7（継続込み17）件、新聞等報道(3)件、商品化1件を達成した。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。（括弧内の数字は第6期五カ年計画の通算）

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、各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」を運営するとともに、国のグラントを複数件獲得し、オールジャパン体制で、本課題に取り組んでいる。

(1) 環境低負荷型の新規病害防除剤の開発

(i) 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）を開発している。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。これまでに企業と連携して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）「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」を遂行した。本事業の成果は、https://www.naro.go.jp/laboratory/brain/innovation/results/files/2023_results_kiso-08.pdf に掲載されている。R5年度の成果については、企業とともに特許出願し、本技術を用いたプラントアクチベーターの開発を進めている。

(ii) 新規抗植物ウイルス剤の開発

私たちは食料や有用物質の生産の多くを植物に依存している。世界の農業生産において、植物病原体（糸状菌等の真菌、細菌、ウイルス等）が引き起こす植物病害により世界の食糧生産の15%が損失し、世界全体で年間に植物病害により約2,200億ドルの経済的被害があると見積もられている。植物病害は植物の生産力を大きく損なう主要な要

因のひとつであり、仮に、植物病害に対する保護を実施せずに栽培を行うと収穫高が70%減収すると予想されている。このように植物病害の防除による作物収量の損失の削減は、作物の大量栽培による増産に匹敵する効果を有している。

このため、植物病害から作物を保護するための様々な防除剤が開発されてきた。例えば、糸状菌病や細菌病等の植物病原菌の感染による植物病害に対しては、抗生物質であるカスガマイシンやストレプトマイシンを主成分とする防除剤、ストロビルリン系殺菌剤（QoI 剤）、コハク酸脱水素酵素阻害剤（SDHI 剤）等の防除剤が利用されている。しかしながら、これら防除剤には、数年で耐性菌が発達し、病害防除が困難になるという問題が指摘されている。

一方、植物ウイルスの感染による植物病害の防除剤としては、日本においてレンテミンが農薬登録されているものの、特効薬となる化学農薬は未だ存在しない。

このような状況下、当研究グループは、月桃由来プロアントシアニジン及び金属キレートに植物病害に対する防除効果があることを発見した。

(a)新たな農資源「月桃」からつくる抗ウイルス剤

植物ウイルスは農作物に大きな被害をもたらすが、効果的な防除剤は見つかっていない。そこで、抗ウイルス物質を探索した結果、月桃由来のプロアントシアニジンに、強力な抗ウイルス効果があることを発見した。今後、植物ウイルスの防除剤の開発が期待されている。本研究は、生物系特定産業技術研究支援センターオープンイノベーション研究・実用化推進事業 開発研究ステージ(現場課題解決タイプ)「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」において遂行している。本事業の概要は、https://www.naro.go.jp/laboratory/brain/open-innovation/theme/files/17_29005ABc2.pdf に掲載されている。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、消毒剤や医薬部外品としての社会実装をめざしている。

(b)金属キレートによる植物ウイルス防除剤の開発

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。また、これら微量元素を植物に処理することで、病害にかかりにくくなることが報告されている。そこで、当研究グループは、微量元素のうち亜鉛、銅などの金属キレートの抗植物ウイルス効果について研究した。

金属イオンをそのまま（無機のまま）土壌に与えた場合、その金属イオンは土壌中のリン酸等と化合して不溶性の沈殿を形成し、所望の効果を十分に得ることができない場合がある。そこで、予めキレート剤と化合させてキレートを作製し、それを施肥するこ

とにより他の成分との化合を防止して本来の肥効を発揮させることができる。また、金属のキレートは植物に吸収され易いという性質を持つ。このような観点から、本研究では、キレートされた金属を用いた。

播種後 3 週齢のベンサミアーナタバコに各薬剤を茎葉散布した。薬剤にはグルコン酸亜鉛、硫酸亜鉛、グルコン酸鉄、CuEDTA またはグルコン酸銅を用い、展着剤としてマイリノーを終濃度 0.01%になるように混合した。各薬剤処理の 3 日後、トマトモザイクウイルス (ToMV) mRNA をカーボランダムを用いてベンサミアーナタバコ葉に塗布 (機械接種) した。接種 3 日後に接種葉における GFP の蛍光斑点をカウントし、各薬剤による感染防除効果を評価した。コントロールに対する防除価を算出し、その平均値を示した。その結果、各薬剤により ToMV の感染を抑制した (図 3-4)。グルコン酸亜鉛については高濃度で施用した場合でも薬害が生じず、最も効果的に感染抑制を行うことができた。

次いで、月桃プロアントシアニジンとキレート金属とを混合して用いること (混用) によって、植物ウイルス病防除において相乗効果が得られるかについて、ToMV-ベンサミアーナタバコ評価系を用いて評価した。その結果、図 5 に示すとおり、月桃プロアントシアニジン、グルコン酸亜鉛またはグルコン酸銅の単独処理によるウイルス防除効果が認められた。さらに、月桃プロアントシアニジン及びグルコン酸亜鉛を併用または、月桃プロアントシアニジン及びグルコン酸銅を併用することによって、より強いウイルス防除効果が奏されることが明らかになった。

以上により、グルコン酸亜鉛が効果的に植物ウイルス病を感染抑制することが明らかになった。今後、ウイルス防除剤としての開発が期待される。

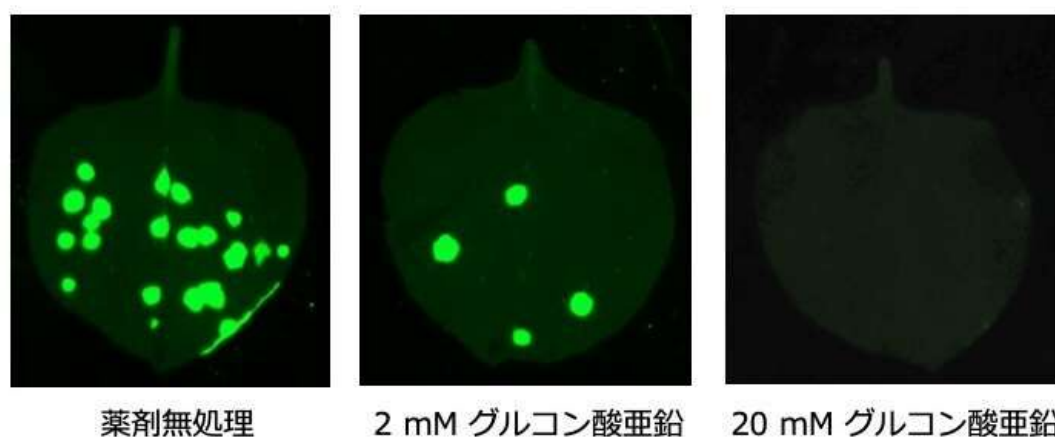


図 3. グルコン酸亜鉛による植物ウイルス病(ToMV)の感染抑制効果

グルコン酸亜鉛を噴霧処理して 3 日後に、ToMV-GFP mRNA をカーボランダムを用いてベンサミアーナタバコ葉に接種し、接種 3 日目の GFP 斑点を観察した。緑色に光っているところにウイルスが存在している。

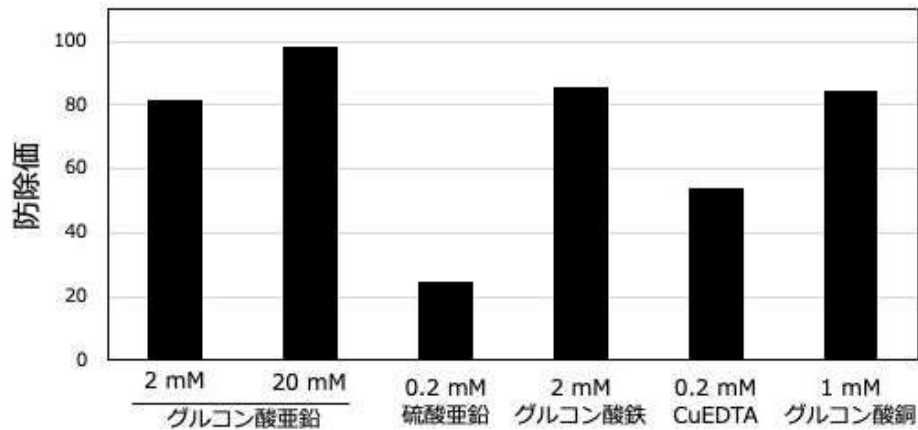


図 4. 金属及び金属キレートによる植物ウイルス病(ToMV)の感染抑制効果

播種後 3 週齢のベンサミアーナタバコに資材を処理した。処理 3 日後に ToMV-GFP mRNA をカーボランダムを用いてベンサミアーナタバコ葉に塗布した。接種 3 日後に接種葉における GFP の蛍光斑点 (ToMV の感染、増殖部位に一致する) をカウントし、感染防除効果を評価した。コントロールに対する防除価を算出し、その平均値を示した。なお、防除価は、以下の式から算出した。

防除価 = $100 - \left\{ \frac{\text{(処理植物の蛍光斑点数の平均)}}{\text{(コントロール処理植物の蛍光斑点数の平均)}} \right\} \times 100$ 。

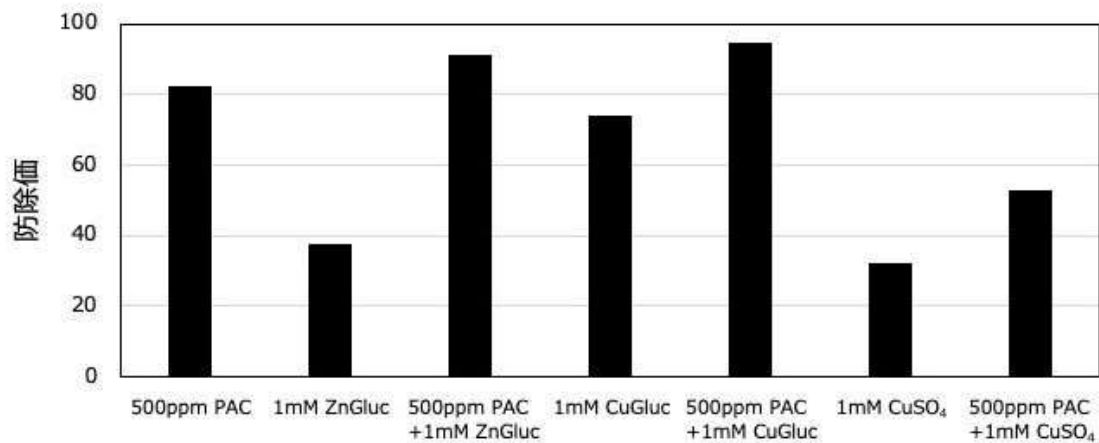


図 5. 月桃プロアントシアニジン+金属または金属キレートによる植物ウイルスの感染抑制における相乗効果

月桃プロアントシアニジン及び金属または金属キレート溶液をベンサミアーナタバコに噴霧処理した。処理 3 日後に ToMV-GFP mRNA を第 3 葉にカーボランダムを用いて接種し、3 日後に接種葉の GFP 蛍光のスポットを測定した。コントロールに対する防除価を算出した。

PAC:月桃プロアントシアニジン、ZnGluc:グルコン酸亜鉛、CuGluc:グルコン酸銅

(2) 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(晴苺)を主体に県産農産物のブランド力の向上に貢献する。詳細は R4 年度の年報に記載したので参照していただきたい。R5 年度も引き続き技術の向上と普及を試みた。特に、イチゴ栽培において、紫外線 (UV-B) 照射技術による病虫害防除、紫外線照射技術と組み合わせた天敵による害虫の防除、AI センサーによる病害発生予測技術の普及、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、これらを組み合わせた新規防除体系を確立し、イチゴ生産者への普及を図った。本研究の一部は、生研支援センター「戦略的イノベーション創造プログラム (SIP) 次世代農林水産業創造技術」の課題「持続可能な農業生産のための新たな総合的植物保護技術の開発」及び、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 (JPJ007097)」の課題「バイオスティミュラントを活用した革新的作物保護技術の実用化」、「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」の支援を受けて行った。

AI 病害発生予測技術の詳細は以下のサイトをご覧ください。

「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」

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

紫外線 (UV-B) 照射技術による病虫害防除については、以下のサイトをご覧ください。

紫外光照射を基幹としたイチゴの病虫害防除マニュアル～技術編～

https://www.naro.go.jp/publicity_report/publication/pamphlet/tech-pamph/130266.html

(3) 気候変動に適応した新技術の開発

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。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、病虫害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。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。

当研究グループは、これまでにミネラル(微量要素)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。当研究グループは企業との共同研究で、BS 資材・液

体微量要素複合肥料「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、販売：JA）の開発に成功し本BS資材を上市した。本年度は、ストリキの新たな適用及びその施用方法を開発するための試験を行った。

(i) バイオスティミュラント資材ストリキの収量向上効果

ストリキ処理による収量の向上効果について試験した。ストリキ処理以外は対照区及び処理区ともに同様の栽培方法とした。ストリキは窒素、リン酸、カリを含まないため、対照区と同様の施肥を実施した。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2～3週間間隔で散布した。その結果、ストリキ処理区は実の収量が約15%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倍に希釈して茎葉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45%向上した（図7）。さらに、タマネギについてもストリキを水で500倍に希釈して葉面及び株元に散布した。その結果、ストリキ処理区は収量が約20%向上した（図8）。以上については数年間にわたって試験した結果、イチゴで15-20%、ナスで30-45%の増収効果が認められた。上述の通り茎葉と株元（根圏）への散布が重要である。

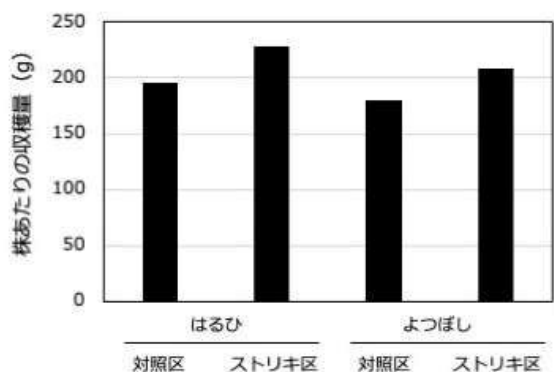


図6. ストリキを処理したイチゴの収量調査
12月から2～3週間間隔で、500倍に希釈したストリキ（0.1%界面活性剤添加）をイチゴの葉面及び株元に散布し、一定期間の収量を調査した（各区18～27株）。

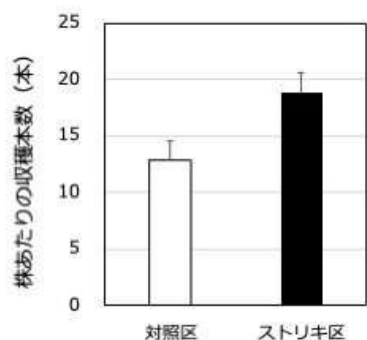


図7. ストリキを処理したナスの収量調査
5月にナス（品種：千両2号）を定植（各区13株ずつ）した後、500倍に希釈したストリキ（0.1%界面活性剤添加）を1ヶ月間隔で茎葉及び株元に3回散布し、一定期間の収量を調査した。



ストリキ区

対照区

	収穫数	個体重平均	個体重中央値	全重量
対照	105	83.14	80	8730
ストリキ処理	106	96.04	95	10180
ストリキ/対照	1.01	1.16	1.19	1.17

重量の単位 : g

図 8. ストリキを処理したタマネギの収量調査

11月に植え付けしたタマネギに500倍に希釈したストリキ（0.1%界面活性剤添加）を葉面及び株元に3月末まで定期的に8回散布し、収量を調査した。

(ii) バイオスティミュラント資材ストリキの生理障害緩和効果

前述の通り、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。連携しているイチゴ生産者の圃場でランナーに黄化症状が認められた。微量元素の欠乏症が疑われたため、ストリキを散布した。その結果、症状が改善された（図9）。

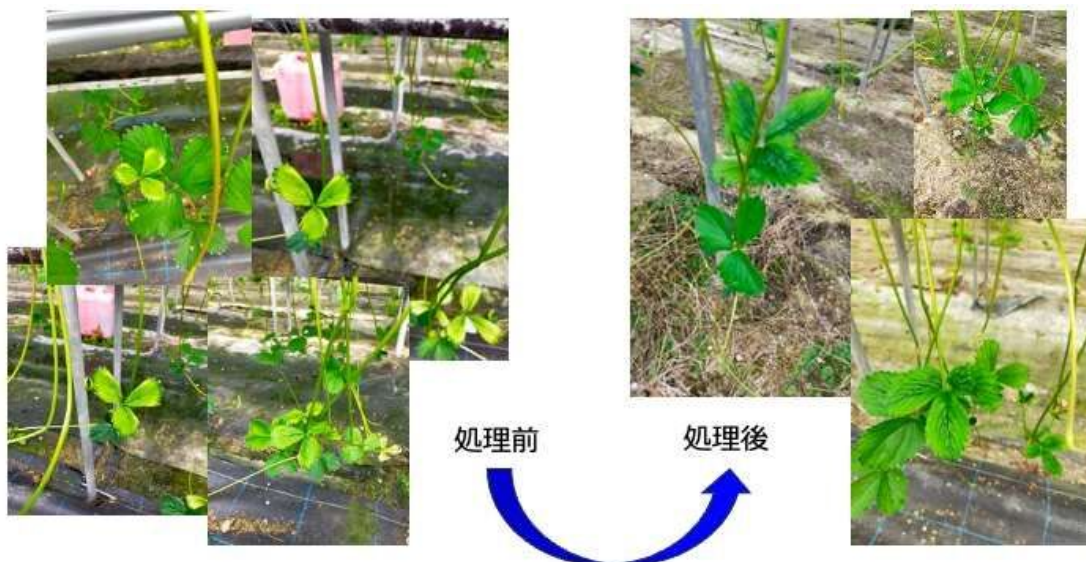


図 9. イチゴのランナーにおける黄化症状の改善

イチゴ生産者の圃場にて、一部のランナーに黄化症状が認められた。そこで、500倍に希釈したストリキを散布した結果、1週間後には症状が改善された。

(iii) バイオスティミュラント資材ストリキの乾燥ストレス緩和効果

昨年度に引き続き、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10はイチゴ苗（品種：女峰）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。同様な結果はトマト、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。育苗期、作物に負荷がかかる定植時、夏の高温乾燥時に処方することで乾燥による枯死を防ぐことが期待される。特にイチゴではランナーの切り離し時や、挿し苗及び育苗期での効果が期待される。現在、遺伝子発現解析、植物ホルモン解析を行っており、次年度以降も作用機作について解析する予定である。

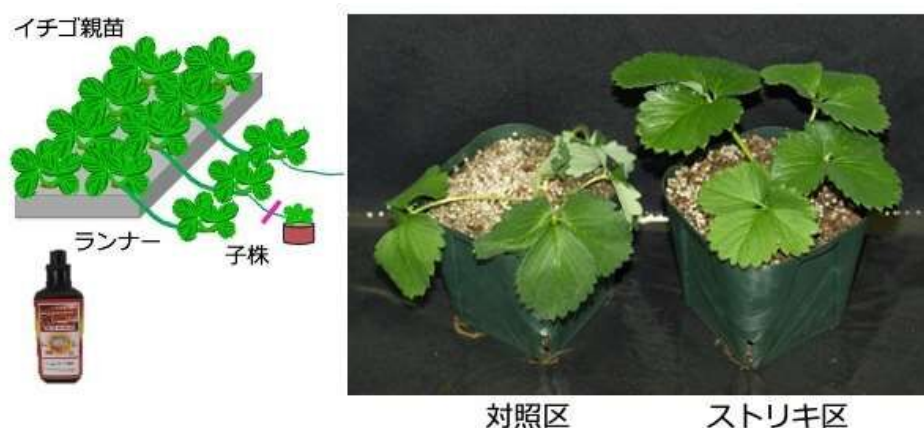


図10. イチゴ苗を用いたストリキの乾燥ストレス耐性付与効果試験

親苗から分離して11日目のイチゴ苗（品種：女峰）を用いて、それぞれ水または250倍に希釈した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。8日後には対照区の苗（左端）は萎れているのに対して、ストリキ処理区の苗は健全さを維持していた。ストリキは植物に乾燥耐性を付与することができた。

(iv) イチゴ新品種の開発

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するため、イチゴの新品種の育成に取り組んでいる。日本のイチゴの品種は300種以上あり、新しい品種が次々に誕生している。最近では都道府県によるオリジナル品種の開発やブランド化が増えており、特に大粒で甘いイチゴが好まれる傾向にある。当研究グループは通常のイチゴよりもフルーティな芳香で、甘く、ジューシーなイチゴを開発した（紅1号、未登録）（図11）。その形、色、芳香はモモを連想させる。さらに、現在、大きくて、甘いイチゴを育苗中である。

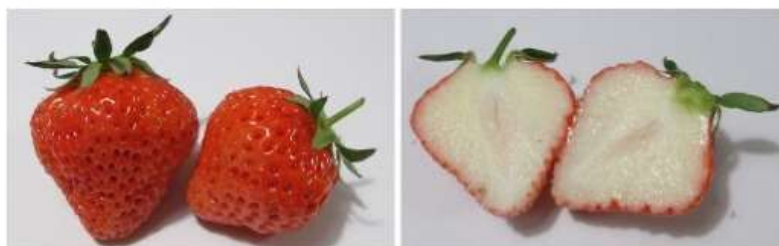


図11. 当研究グループが開発したイチゴ新品種

(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。

- ・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
- ・農産物生産を向上する新技术開発
- ・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
- ・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
- ・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
- ・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
- ・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 Grant（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など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、Grant 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。R5 年度の主な活動を以下に記す。

- ・会員数 34 機関
- ・オープンイノベーション大賞を受賞
- ・アグリビジネス創出フェアへの出展
- ・「知」の集積と活用 の場 産学官連携協議会 令和 5 年度成果報告会へ参加（招待講演）
- ・「知」の集積と活用 の場ポスターセッション 2023 に 4 件発表
- ・新事業創出会議、定時総会、「知」の集積と活用 の場 産学官連携協議会 セミナーへ参加
- ・「知」の集積と活用 の場 社会実装成果事例を提出
- ・生物刺激制御研究会の活動

- ・その他、関連論文の発表、招待講演など。

月桃から抗ウイルス成分をゲット!!
 世界における植物ウイルス病による被害額は年間300億米ドル以上と推定されており、日本国内においても植物ウイルスによる農作物の被害は深刻化しています。一方、植物ウイルスに対して直接的な効果を示す防除剤は見つかっていません。

研究の結果、沖縄県等に自生し、古くから食品や工芸品として親しまれているショウガ科の多年草である月桃に強力な抗ウイルス効果を示す成分(プロアントシアニジン)が含まれることを発見しました。更に動物ウイルスでも高い不活化効果を実験で確認しており、今後、月桃由来成分を活用した様々なウイルス防除剤の開発と製品化を差し進めます。

この他、本プラットフォームでは植物本来の活力を高めることが期待されるバイオスティミュラント資材の開発にも取り組んでおり、既に上市された製品もあります。植物本来の能力を活性化する技術及び活性化した農作物煎製の技術開発を推進し、安心安全な農作物の安定供給に貢献します。

ウイルスフリーな農業生産をめざして

新たな農業資材
 月桃ーゲットウ

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

農林水産省

知の集積と活用
 産学官連携協議会

農林水産省 農産物生産部 農産物加工課 農産物加工課 農産物加工課 (関係機関決定タイプ)

図 12. プラットフォームの取組み紹介パネル（農林水産省などで掲示）
 <農林水産省作成（無断転載、加工禁止）>

(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 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。R5年度は第7回および第8回生物刺激制御研究会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

岡山県における病害防除も、化学合成された殺菌性及び殺虫性の農薬に大きく依存している。このような状況から、新たな発想による病害防除技術の普及や資材の開発が求められている。私たちは当研究所の植物活性化研究グループにおいて、環境保全型農業に適した病害防除剤の開発、減農薬栽培に向けた防除技術の構築及び、病害抵抗性作物の育種により、岡山県の農産物のブランド化、特に、イチゴの減農薬栽培の技術開発をめざす。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、農業従事者及び、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。世界的な気候変動により、これまでとは異なる病害虫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、病害虫の蔓延は、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、岡山県単独ではなく、都道府県及び国が連携し、病害虫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」を運営することで、オールジャパン体制を構築し、本課題に取り組んでいきたい。

令和5年度の活動

1. 報文（総説・原著論文等）

Yoshihiro Inoue, Trinh Thi Phuong Vy, Suthitar Singkaravanit-Ogawa, Ru Zhang, Kohji Yamada, Taiki Ogawa, Junya Ishizuka, Yoshihiro Narusaka, Yoshitaka Takano
Selective deployment of virulence effectors correlates with host specificity in a fungal plant pathogen.

New Phytologist, 238(4):1578-1592 (2023)

概要：炭疽病菌の新たなエフェクターの発見とその機能について解明した。

鳴坂義弘

バイオスティミュラント資材の紹介

山陽の農業, 第162号, 34-40 (2023)

概要：市販されているバイオスティミュラントについて分類ごとに解説した。

鳴坂義弘

みどりの食料システム戦略におけるバイオスティミュラントの役割

山陽の農業, 第163号, 27-33 (2023)

概要：みどりの食料システム戦略におけるバイオスティミュラントの位置付けとその役割について解説した。

鳴坂真理, 鳴坂義弘

地球温暖化による環境ストレスから作物を守る！新規バイオスティミュラントの研究開発

令和4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5年3月）、pp.114-116（2023）

概要：新規バイオスティミュラントの研究開発について報告した。

植物免疫プライミングコンソーシアム（吉岡博文、鳴坂義弘、川北健一）

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

イノベーション創出強化研究推進事業研究紹介 2023、生物系特定産業技術研究支援センター（令和5年11月）、pp.15-16 (2023)

概要：ナノ粒子を用いたプラントアクチベーターの研究開発について報告した。

月桃コンソーシアム（畑中唯史、鳴坂義弘、関根健太郎、富高保弘、川北健一）
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
イノベーション創出強化研究推進事業研究紹介 2023、生物系特定産業技術研究支援センター（令和5年11月）、pp.27-28 (2023)

概要：月桃由来プロアントシアニジンを用いた抗ウイルス剤の開発研究について報告した。

AI 病害発生予測コンソーシアム（古屋廣光、鳴坂義弘ら）
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
イノベーション創出強化研究推進事業研究紹介 2023、生物系特定産業技術研究支援センター（令和5年11月）、pp.61-62 (2023)

概要：AIによる病害予測・防除支援ソフトウェアの開発研究について報告した。

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の管理（岡山県の事例）
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 要約版（編集発行：AI 病害発生予測コンソーシアム）（2023年7月）, pp.18-19(2023)
<https://www.akita-pu.ac.jp/oshirase/oshirase2022/AIbyougai>

概要：AIによる病害予測・防除支援ソフトウェアの実施事例について報告し、マニュアル化した。

鳴坂義弘
共同研究（者）紹介 =第101回 (連載)=
In 植物ストレス科学研究ネットワークメールマガジン vol. 158、発行日 2023年9月8日、発行元 岡山大学資源植物科学研究所 植物ストレス科学研究ネットワーク(PSSNet)委員会
<http://www.rib.okayama-u.ac.jp/pssnet/>

概要：月桃の遺伝学的な解析を行った。

植物の活性化による革新的農産物生産技術開発プラットフォーム（鳴坂義弘）
微量元素を主成分とする新規バイオスティミュラント資材を開発
In 「知」の集積と活用場 社会実装成果事例
農林水産省 農林水産技術会議事務局 研究推進課 産学連携室(2023)
概要：微量元素を主成分とする新規バイオスティミュラント資材について紹介した。

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）

林 優介、吉岡美樹、日野雄太、安達広明、高野義孝、別役重之、鳴坂真理、鳴坂義弘、
吉岡博文
半活物寄生菌や殺生菌を接種したベンサミアナタバコにおける SA・JA シグナル
の時空間的な活性動態
令和5年度日本植物病理学会関西支部会、2023年9月23日～24日（奈良市）

長岐清孝、鳴坂真理、鳴坂義弘
南西諸島に自生する *Alpinia* 属植物のセントロメア DNA 配列の解析
染色体学会第74回(2023年度)年会、2023年10月21日～22日（オンライン開催）

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
（鳴坂義弘、鳴坂真理ら）
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 2023、
2023年10月6日～11月30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）
雑草という草はない！新たな農資源「月桃」からつくる抗ウイルス剤
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 2023、
2023年10月6日～11月30日（オンライン開催）

バイオスティミュラントコンソーシアム（鳴坂義弘、鳴坂真理、谷口伸治ら）
微量要素を主成分とする新規バイオスティミュラント資材の開発
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 2023、
2023年10月6日～11月30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（川北健一、鳴坂義弘、鳴坂真理ら）
ウルトラファインパーティクル（UFP）を用いた農薬送達・徐放システムによる免
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 2023、
2023年10月6日～11月30日（オンライン開催）

（招待講演）鳴坂義弘、鳴坂真理
ウイルスフリーな社会の実現に向けて — 雑草という草はない！新たな農資源
「月桃」からつくる抗ウイルス剤 —
北大東村 村民との月桃についての懇話会、2023年11月14日（北大東村）

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

(鳴坂義弘、鳴坂真理ら)

出展：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 2023、2023年11月20日～22日（東京）

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

(鳴坂義弘、鳴坂真理ら)

雑草という草はない！新たな農資源「月桃」からつくる抗ウイルス剤

アグリビジネス創出フェア 2023 出展者プレゼンテーション、2023年11月21日

(東京)

鳴坂義弘、関根健太郎、長岐清孝、鳴坂真理

月桃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

第46回日本分子生物学会年会、2023年12月6日～8日（神戸）

鳴坂真理、鳴坂義弘

デュアル抵抗性タンパク質システムを活用した病害抵抗性作物の分子育種技術の開発研究

第46回日本分子生物学会年会、2023年12月6日～8日（神戸）

(招待講演) 鳴坂義弘

バイオスティミュラントの現状と今後の方向性

2023年度植物防疫講演会、2024年1月31日（三重県松阪市、オンライン参加）

鳴坂義弘、鳴坂真理、長岐清孝

月桃の遺伝学的解析

令和4年度 岡山大学資源植物科学研究所「共同研究成果発表会」、2023年2月

28日（倉敷市）

鳴坂義弘、鳴坂真理、長岐清孝

月桃の遺伝学的解析

令和5年度 岡山大学資源植物科学研究所「共同研究成果発表会」、2024年2月

27日（倉敷市）

(招待講演) 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 代表プロデューサーとして）

成果報告③ 持-21 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

「知」の集積と活用の場 産学官連携協議会 成果報告会、2024年3月12日（東京、オンライン）

熊倉直祐、Suthitar Singkaravanit-Ogawa、Pamela Gan、津島綾子、石濱伸明、渡邊俊介、瀬尾光範、岩崎信太郎、鳴坂真理、鳴坂義弘、高野義孝、白須賢
ウリ類炭疽病菌の分泌性リボヌクレアーゼは宿主植物の免疫反応を増強する
令和6年度日本植物病理学会大会、2024年3月13日～15日（仙台市）

林 優介、吉岡美樹、日野雄太、安達広明、高野義孝、別役重之、鳴坂真理、鳴坂義弘、吉岡博文
病原菌感染および傷害や食害に応答したベンサミアナタバコでの SA/JA シグナルの時空間的な活性動態
令和6年度日本植物病理学会大会、2024年3月13日～15日（仙台市）

3. 知的財産権

発明届け2件、特許出願2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メンバー、「知」の集積と活用の場 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 オープンイノベーション研究・実用化推進事業 開発研究ステージ(現場課題解決タイプ) (代表 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)
- ・ 科学研究費補助金・基盤C一般延長 (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）
- ・ 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1件（代表 鳴坂義弘）

6. 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）

「知」の集積と活用場 オープンイノベーション大賞 受賞

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)
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

課題名

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「陸の豊かさも守ろう」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一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。

第6期五カ年研究計画におけるトピックス

- ・種子のグレード選別による生産性向上（出荷時の選別コストは全育苗コストに大きな割合を占めているが、それが軽減され、大幅な省力・省コスト化に期待）
- ・GSSG 施用で生育適応条件の拡大（植栽2年目で2.5mを超えるスギの成長、競合する雑草木の高さを早期に超え、下刈り回数の大幅な削減に期待）
- ・未利用資源を活用した新規培地の開発（保水性がよいが、水はけの良い成長性を担保した半固形培地、資源の持続可能な循環利用へ期待）

【今年度の成果】

【グレード選別種子によるコンテナ苗生産】

種子の充実率を評価する際に用いる SQI 値を用いて種子のグレード分けを行うと、SQI グレードと小型プラグ苗の成長性には相関があることを報告した。また、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）がよいという結果も報告してきた。SQI グレード選別種子で育成した小型プラグ苗をさらに大きさ（苗丈）でグレード分けを行ってからコンテナ育苗を行うと、グレード分けを行わなかった場合に比べて苗丈のばらつきも小さくなる。

本年度はさらに、SQI グレード選別の有効性を小型プラグ苗だけでなく、コンテナ育苗でも評価を行った。同時に SQI 値と相関をもつ特定の脂質含量によるグレード選別や比重、前年の生育に基づく成長予測式によるグレード分けでもコンテナ育苗でのコンテナ生産性の効果を評価した。

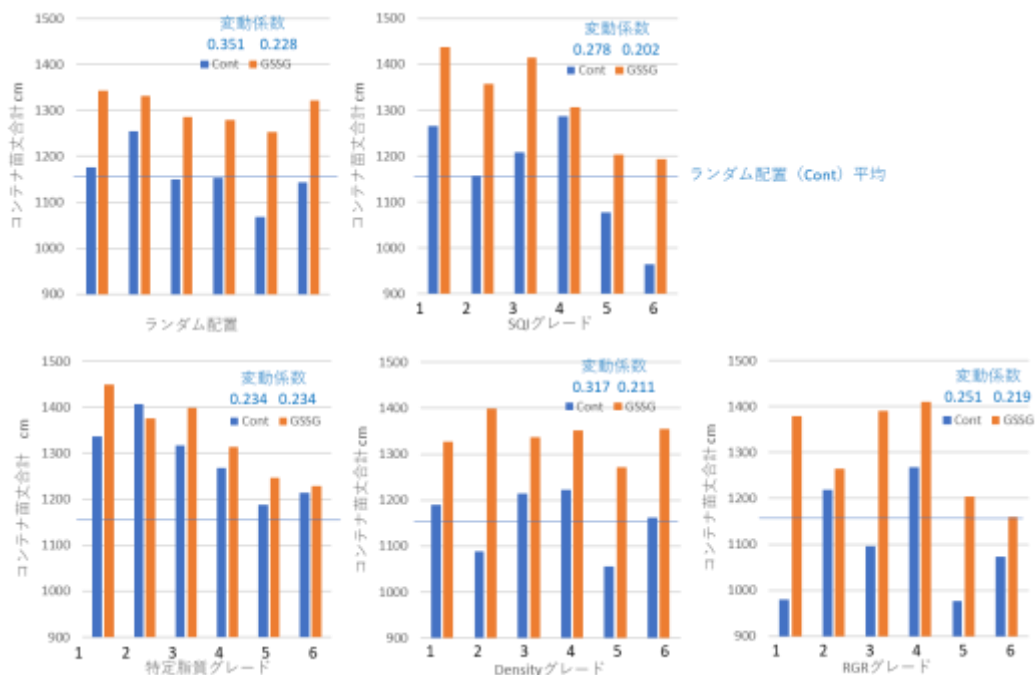


図1. 各種グレード選別種子のコンテナ苗丈（合計値）

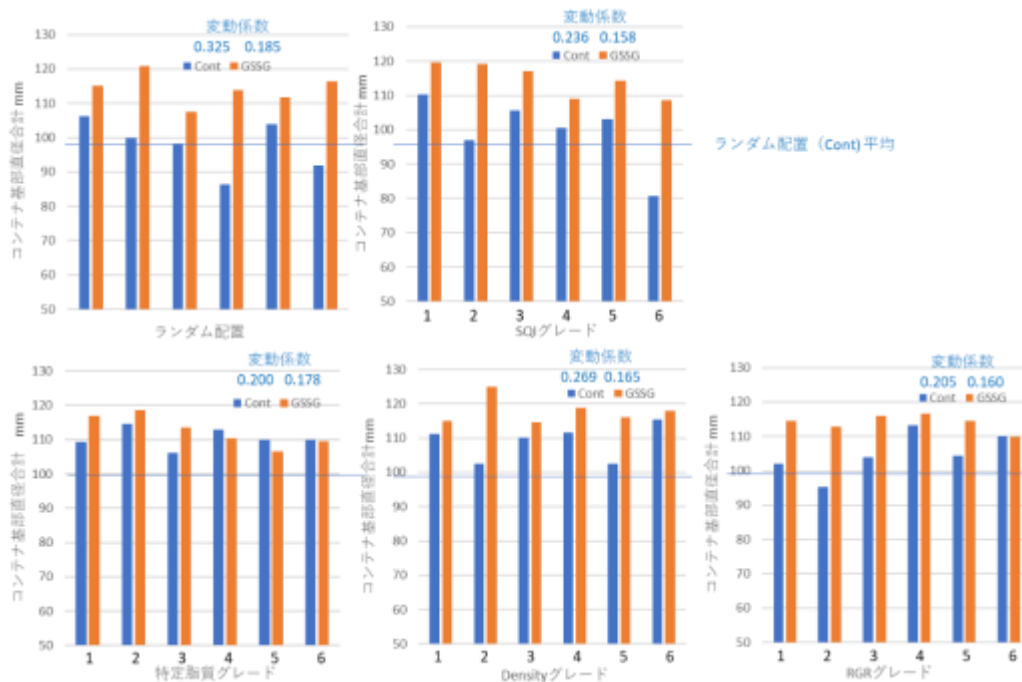


図 2. 各種グレード選別種子のコンテナ苗基部直径（合計値）

図 1 と図 2 にはランダム配置（充実種子としての選別以外の選別をせずに播種したプラグ苗をランダムに配置したコンテナ）と各種のグレード選別の結果を示す。凡例の GSSG はカネカペプチド水和剤とペプチオン粒剤を使用した従来にある方法で育苗した苗を示し、GSSG を含まない窒素を同程度与えた区を対照（Cont）とした。それぞれの区のコテナ内の変動係数を各グラフパネルの凡例の上に示した。

コンテナ毎の生産性を評価するためにコンテナ単位で苗長と基部直径を合計した値を集計した。また、コンテナ内の生育のばらつきを評価するため、枯死個体は便宜上数値 0 として扱った。ランダム配置の Cont 区のコテナ苗丈（合計値）と変動係数の平均は 1158 cm と 0.351 に対して、GSSG 区は 1302 cm と 0.228 であり、 $p < 0.01$ で有意に GSSG 区の苗丈が大きく、コンテナ内の苗丈変動係数が低下した。これに対して、従来の SQI グレードによる選別では、対照区のランダム配置に比べて変動係数の低下が認められたが、GSSG 育苗の効果の方が大きいという結果となった。特にこれまでに特許化済みの特定脂質グレードでは明らかな生産性の向上が認められ、グレード選別によって個体の競合による生産性の低下が抑制できることが明らかとなった。種子の分析は九州大学で行ったが、選別速度が担保できた機械がさらに開発されれば生産性は大幅に改善でき、出荷の際の選別作業の軽減が期待される。

【超緩効性肥料を元肥として育成したスギ苗木の林地での生育】

徳島県および岡山県で育苗したスギ苗木を岐阜県に 2022 年春に植栽した事例の追跡調査結果を示す。なお、調査は岐阜県に大いなる協力を得ているほか、他の多くの応援を得て実施した結果である。

英田 1 と三好 6 は少花粉系統の母樹であり、西育 6 と西育 77 はエリートツリー系統、

中之条2は第一世代精英樹系統である。育苗時には超緩効性肥料ハイコントロール700日タイプを元肥としている。超緩効性肥料を用いていない本試験区は、周囲の試験区に比べて明らかな生育促進が認められ、2年秋で2.5mを超える個体の出現が認められた。また、育苗時にも植栽時にもGSSG施用したものが一番よいと考えられる結果となった(図3)。

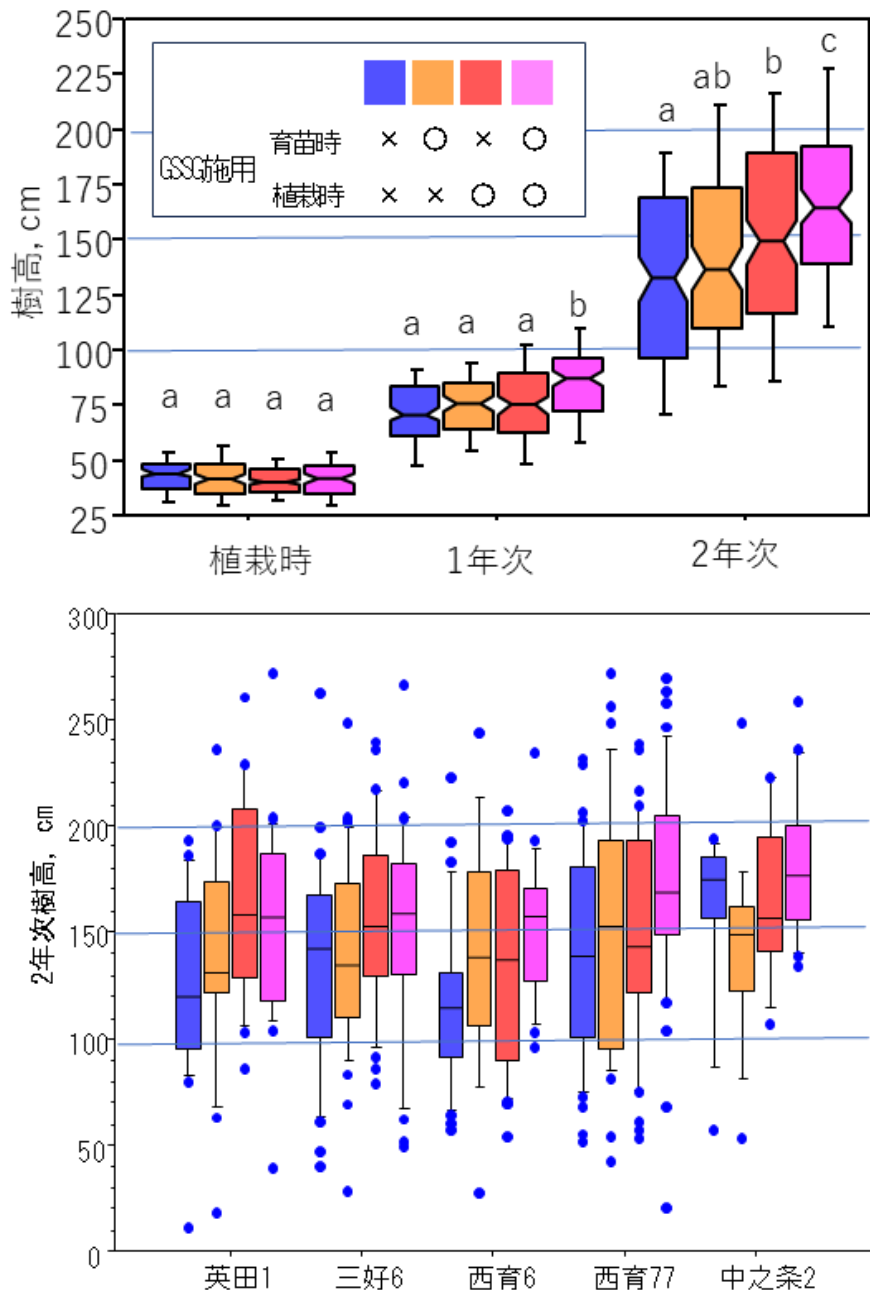


図3. 超緩効性肥料を用いたコンテナ育苗とGSSG施用の林地でのスギの成長への効果

斜面の上と下では生育が異なることが知られているが、その主な要因のひとつが土壌水分と考えられている。そこで夏の特定日に土壌水分を個体ごとに計測し、その値と成長との関係性を評価した。

GSSG 施用しなかった苗木は15%程度の土壌水分前後が生育には最適と考えられる結

果であるのに対して、GSSG 施用した植物は土壌水分に対する適応性が拡大していることが明らかとなった（図4）。

また、コンテナ苗木の根鉢の形成度合いは、林地で苗木を取扱う際に重要視されており、十分な根鉢形成が求められているが、一方で、過度に形成された根鉢は新しい根の形成を遅らせ、生育に影響する懸念がある。そこで、根鉢の形成度合いを1から5までの数値で点数化し、その評価点数と林地での伸長量との関係についても調査を行った。

根鉢評価1~2は根鉢が崩れる程度で、3以上が根鉢が崩れにくい状態である。伸長成長に最適な根鉢の形成程度があることが明らかになり、さらにGSSG施用した方が成長がよいということが明らかになった（図5）。

新しい根が十分に発達できる程度の根鉢の柔らかさは必要であるという結果である。

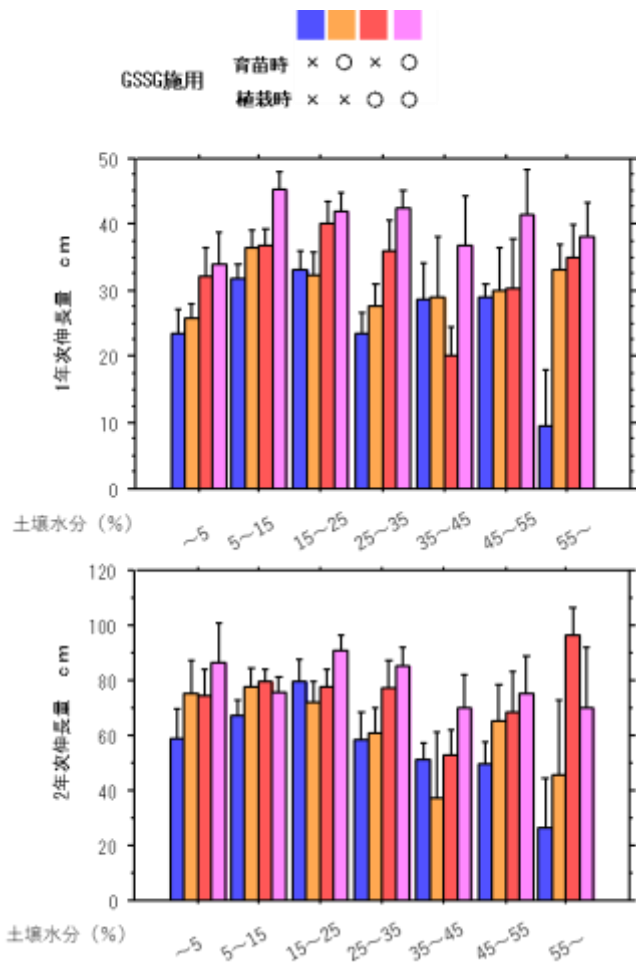


図4. GSSG 施用苗の各土壌水分での成長

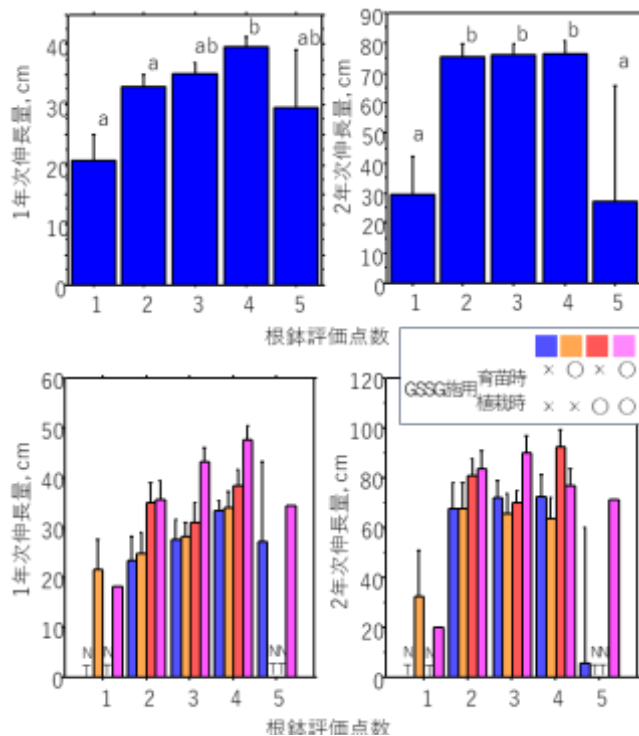


図5. 苗木の根鉢形成と林地での生育

【未利用資源を利用した育苗培地の開発】

コンテナ苗の培地として使用されるココナツピート（細かく砕いたココヤシハスクを堆肥化させたもの）が使用されているが、国際情勢の不安定さによって輸入が安定して継続できるかは不透明な状況である。昨今の円安の影響以上に価格は高騰しており、国産の安定した材料で作られた培地の供給が喫緊の課題である。未利用資源（利用が十分されていない資源を含む）でこうした課題の解決を目指して培地の開発を行った。その結果、図6の通り、ココピートと同等程度以上の生育が確認できる培地の開発に成功した。根鉢は、ココピートでは確認できない時期に確認できるうえ、水はけが良く、保水性のある培地は特許出願中である。

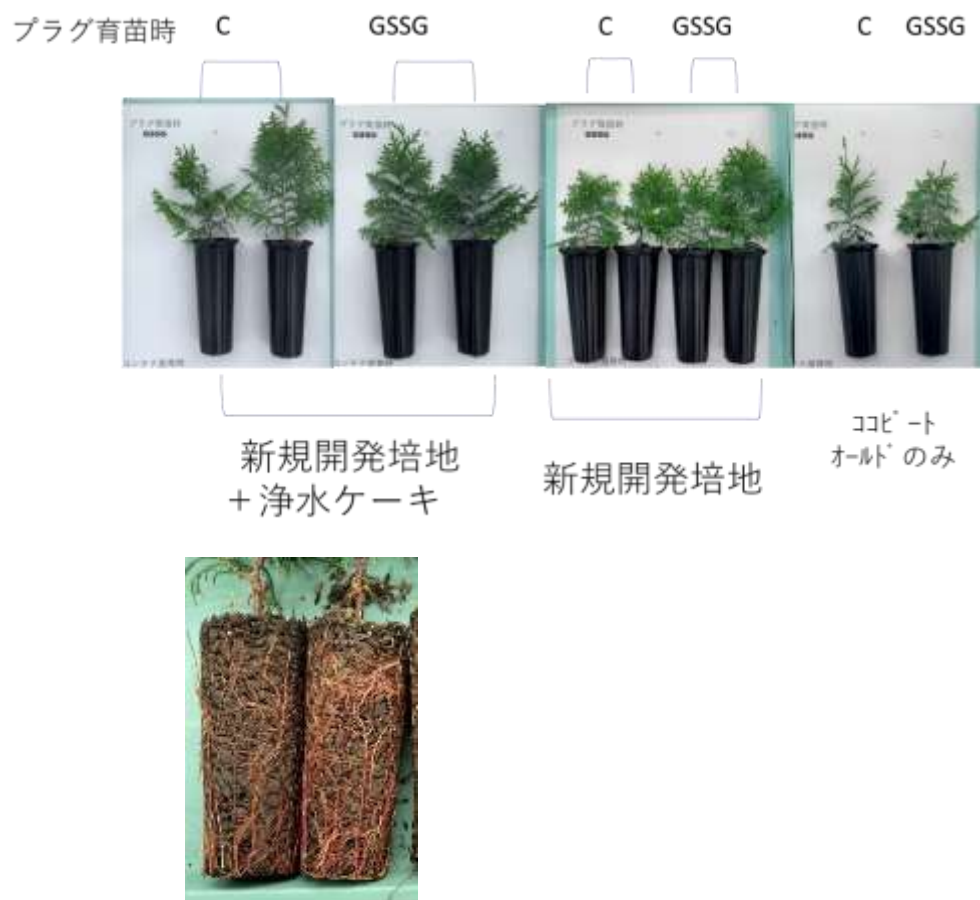


図6. 新規開発培地における苗木の成長

300 cc コンテナにインナーポットを入れて栽培したもの。ココピートでは根鉢形成は不十分。新規開発培地は、固形性があり、根鉢如何に関わらず、崩れにくい特徴をもつ。

課題名

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。その資源量は、植物プランクトンによる光合成を源泉に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大豆など、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、対象魚の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、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。

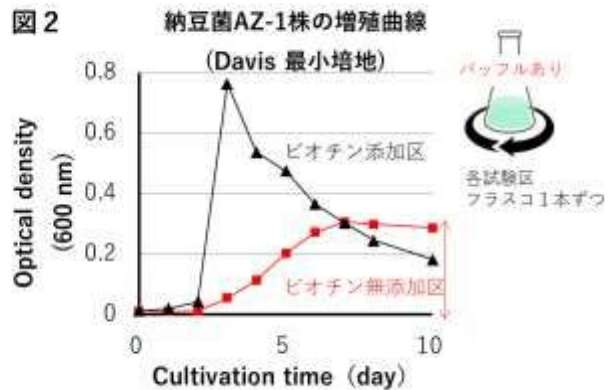
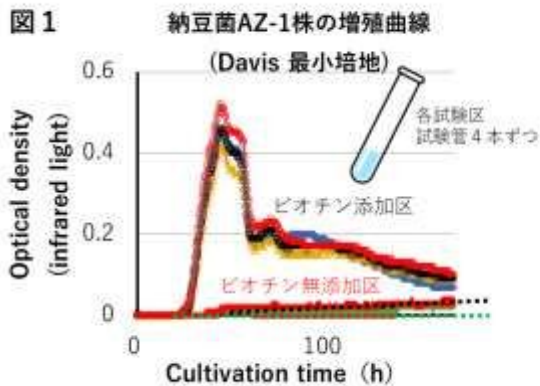
また、将来的に、多種多様な代謝能力を有する枯草菌の遺伝子資源を活用した納豆菌優良株の育種も考えられる。仮に遺伝子組換え技術を使ったとしても、分類学上同種である枯草菌から納豆菌への有用遺伝子の導入(移植)はナチュラルオカレンスの範疇にあり、いわゆる遺伝子組換え体に該当しない。安全性が担保されることが大前提であるが、枯草菌の遺伝子資源には期待するものが大きいと考えている。

[今年度の成果]

納豆菌がもつ能力、その活用事例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、今年度も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分布しており、我が国には、稲わらに棲む納豆菌を使った伝統的な納豆造りの食経験がある。上述の通り、納豆菌は、枯草菌のグループに属するが、“納豆造り適性”を示すことから特別なサブグループを作る。その特徴は、①煮た大豆粒の表面に旺盛に生育する、②たんぱく質分解酵素を分泌し、強く作用する(=豆を柔らかくする)、③ポリグルタミン酸を主成分とする粘糸を作る、などである。①、②は非納豆菌である枯草菌と比べての相対的な特徴になるが、③は納豆菌に独特のものと言えよう。納豆菌は、“納豆造り適性”との因果関係は定かでないが、ビオチン要求性を示すことが知られている。納豆菌であるか否かをビオチン要求性の有無で鑑定できるほど、両者の相関は強い(1)。このような興味から、納豆菌が示すビオチン要求性について詳しく調べてみた。

稲わらを煮沸消毒し、熱に耐えた芽胞形成菌の雑多な集団から納豆菌を分離することを目標に想定すれば、まず1次選抜として液体培養を行う事が好ましい。つまり、ビオチンを含まない液体培地で増殖し得る非納豆菌をペニシリン濃縮法の要領で排除しようと企むのである。また、平板培地に加える寒天には微量のビオチンが含まれており、これを完全に除去することは技術的に難しい。そこで、将来的に行う予定である納豆菌の本格的スクリーニングに先立ち、予備実験として、素性の明らかな納豆菌 AZ-1 株を、ガラス製試験管内の Davis 最小液体培地(ブドウ糖及び無機塩類から成る合成培地)へ接種し、培養してみた。培養温度は、以降の



実験も含めすべて 28℃とした。図1に示す通り、AZ-1 株は明らかにビオチン要求性を示すことが確認された。しかしながら、ビオチンを含まない試験区においても僅かながらに増殖が認められた。納豆菌も含めた枯草菌の増殖では、酸素の要求度が高い。酸素の気相から液相への移動速度が、試験管培養と比べて速いバッフル付き三角フラスコを使った培養では、ビオチンが含まれない培地における納豆菌の増殖はより明確であった(図2)。乳酸菌ビオチン要求株を使ったビオチンアッセイ法に供する培地として、ビオチンが含まれないことが担保されている“ニッスイ・ビオチン定量基礎培地”を使った同様の実験でも、納豆菌の増殖が確認された(データ紹介無し)。従って、酸素供給の問題は重要である。培地量とフラスコ容積について、上述のバッフル付三角フラスコとほぼ同じスケールであるバッフル無し三角フラスコを使った同様の実験では、ビオチンを含まない試験区では明確な増殖は認められなかった(図3)。バッ

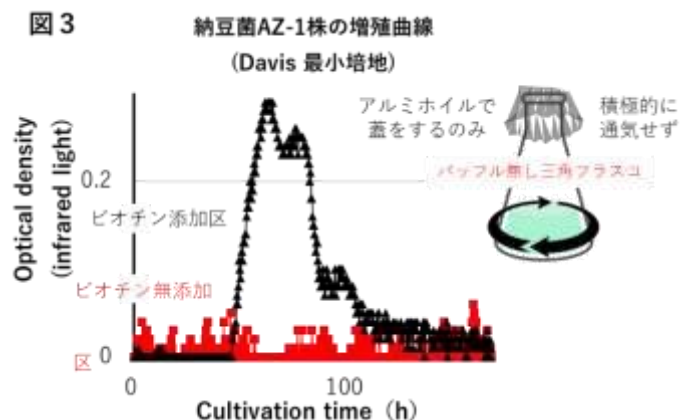
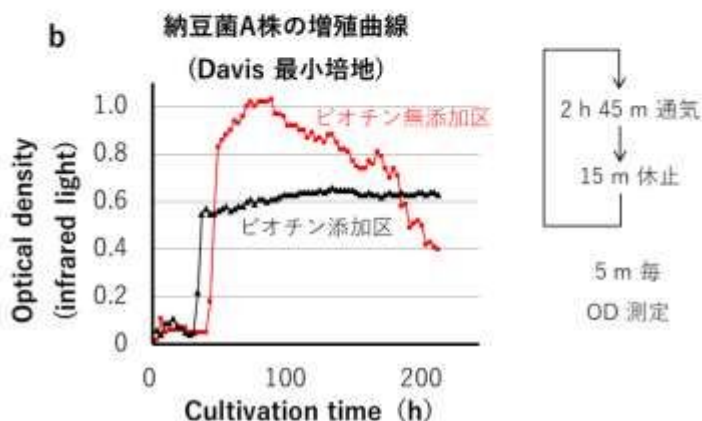


図 4 a



フル無し三角フラスコでの培養では、酸素供給が緩いと考えられる。逆に、ポンプを使って空気を強制的にフラスコ内の培地へ吹き込んだ場合(図 4a)、バッフル付三角フラスコの培養と比べて、ビオチンを含まない培地での増殖がさらに顕著となった(図 4b)。液体培養におけるビオチン要求性の評価では、通気方法の設計が重要である事が分かった。

ビオチン要求性であるとされる納豆菌がビオチンを含まない合成培地で増殖することは、驚きであった。

増殖に必須なビオチンが前培養からキャリーオーバー(持ち込み)される可能性も考えられるので、ビオチンが豊富に含まれる LB 液体培地(含まれるビオチンの濃度は約 71.6 nM と見積もられる)による培養物をビオチンが含まれない液体最小培地へ継代し、以降、増殖してきた培養物を再びビオチンが含まれない液体最小培地へ継代する、という操作を繰り返した。継代は、培養物の一部を回収し、その 1,000 倍量の新しい培地へ移し、28℃にて1週間程度培養した。その結果、継代を少なくとも 13 回繰り返しても、AZ-1 株は増殖した。但し、ビオチンが含まれる場合のように旺盛に増殖するわけではなく、目視で確認できる濁度にまで増殖する程度の、制限の掛かった増殖であった。

納豆菌がビオチン要求性である原因は、複数から成るビオチン生合成系遺伝子群の一部に欠損があるためとされる(1)。AZ-1 株について、ビオチン合成系酵素群の遺伝子クラスターの塩基配列を調べたところ、*bioF* (8-amino-7-oxononanoate synthase (pimeloyl-CoA-dependent)) に欠損が見つかった(さらに、*bioW* (6-carboxyhexanoate-CoA ligase (pimeloyl-CoA synthase)) にも変異が見つかった)。そこで、BioF の機能を代替する酵素の存在を疑い、枯草菌をモデルに、その *bioF* に加えて、BioF と反応機構が類似する、トレオニン代謝関連酵素遺伝子 *kbl* (2-amino-3-ketobutyrate CoA ligase (glycine acetyl transferase))(2) も同時に欠損する二重欠損変異株を作製した。しかし、本株も AZ-1 株と同様に、ビオチンを含まない培地で増殖することが確認できた。これは一例に過ぎないが、より重要なことに、*bioF* 以外のビオチン合成経路上の酵素遺伝子を欠損する各種の枯草菌株も培養してみると、いずれも完全なビオチン要求性、すなわちビオチンを含まない培地を使った継代の繰り返しが途切れる

事はなかった。

従って、何らかの枯草菌変異株を、ビオチンを含まない培地に接種しても増殖しないという、対照となり得る適当な実験区が設定できず、「納豆菌 AZ-1 株は、*bioF* および *bioW* に欠損があるものの、何らかの酵素がこれらの機能を代替して、弱いながらもビオチンを合成できる」との結論には、至らなかった。ビオチン合成経路上には、1 回きりの反応で失活する、酵素たんぱく質の合成に費やすエネルギーとの収支を考えても極めて非効率な酵素があることから明らかのように、細胞が過剰量のビオチンを生合成することは無い。ちなみに、大腸菌が増殖に必要とするビオチンは細胞辺り 100-200 分子であるという (3, 4)。納豆菌が一見してビオチンを要求しないように見えるのは、ビオチンが分解され難いとか、他の化合物へと変換され難いとかいった、ビオチンの物質的安定性に係る属性に依るものなのかもしれない。これについて、ヒトにおけるビオチンのリサイクル機構とのアナロジーから、納豆菌、枯草菌では、新生する細胞が死滅した細胞から放出されるビオチンを再利用するとの仮説も立てられる。しかしながら、ビオチンのリサイクルを支える酵素・ビオチニダーゼ (aminohydrolase や nitrilase-related carbon-nitrogen hydrolase の類) の細菌における働きは、その存在を含め、あまり詳細には研究されていない。納豆菌の選抜に、ビオチン要求性に目を付けたペニシリン濃縮法を適用するには、培養時の酸素の供給を抑えるような工夫が必要であることが分かった。

参考文献

1. Kubo Y, Rooney AP, Tsukakoshi Y, Nakagawa R, Hasegawa H, Kimura K. (2011) Phylogenetic analysis of *Bacillus subtilis* strains applicable to natto (fermented soybean) production. *Appl Environ Microbiol* 77:6463-9, doi: 10.1128/AEM.00448-11.
2. Kubota T, Shimono J, Kanameda C, Izumi Y (2007) The first thermophilic α -oxoamine synthase family enzyme that has activities of 2-amino-3-ketobutyrate CoA ligase and 7-keto-8-aminopelargonic acid synthase: cloning and overexpression of the gene from an extreme thermophile, *Thermus thermophilus*, and characterization of its gene product. *Biosci Biotech Bioch* 7:3033-40, doi:10.1271/bbb.70438.
3. Xu Y, Beckett D. (1994) Kinetics of biotinyl-5-adenylate synthesis catalyzed by the *Escherichia coli* repressor of biotin biosynthesis and the stability of the enzyme-product complex. *Biochemistry* 33:7354-60, <https://doi.org/10.1021/bi00189a041>.
4. Cronan JE Jr. (2001) The biotinyl domain of *Escherichia coli* acetyl-CoA carboxylase. Evidence that the "thumb" structure is essential and that the domain functions as a dimer. *J Biol Chem* 276:37355-64, <https://doi.org/10.1074/jbc.M106353200>.

令和5年度の活動

1. 報文(総説・原著論文等)

小川健一

良い母樹、良い種、良い苗木を選んで育てる—グルタチオン施肥で下刈り回数の低減を目指して—

山林 1680: 36-44 (2024)

概要 : 採種する母樹の状態は、種子の品質に影響し、種子の品質は苗木の品質に影響することを示しながら、苗木の品質は山に植栽後の成長に大きく影響することを示し、山での成長を高めて下刈り回数を減らすためには、母樹を管理し、種子を選び、苗木を選ぶことが重要であることを示した。

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、招は招待講演)

小川健一 (招)

種子生産、育苗、植栽後におけるグルタチオンの効果

第7回全苗連生産者の集い、2023年9月5日～6日 (和歌山城ホール、和歌山市)

原山尚徳、飛田博順、奥田史郎、上村章、齋藤隆実、壁谷大介、山川博美、小川健一

競合植生と立地条件を考慮したスギ植栽苗の初期成長に対する植栽時のグルタチオンと緩効性肥料施用効果の検証

第13回関東森林学会大会、2023年11月2日 (山梨県 JA 会館、甲府市)

3. 職務発明

職務発明認定1件 (特許出願済)

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、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ロープセンター（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、IHI、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

- ・民間3件（代表 小川健一）
- ・民間1件（代表 望月智史）

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）

- ・出前授業 作陽学園高等学校（小川健一） 真庭高校（小川健一）
- ・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)
その他 生産者への説明支援および技術説明会等 (小川健一)

- 小中学生向けテキストの作成 (小川健一)
「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 (小川健一)
「エリートツリーを生かす育苗と育林、施業モデル」
詳細版 課題 1-2 とりまとめ

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 靈麗

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

[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5年2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。野菜や果物には、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、これら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 大課題「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県内の在来品種の機能性に着目した。また、ブドウの果皮やトウガラシの葉など、多くの品種では未利用であるが、食用とされる品種を対象として、その機能性にも着目した。これまでにこれら多くの県特有の農作物で、機能的な成分や特性は、ほとんど不明である。

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。カロテノイドやポリフェノールの機能には、生体調節作用や疾病に対する予防や改善効果が知られている (Saini et al. 2022、中村 2023)。カロテノイドには、 β -カロテンや α -カロテンのように、生体内でビタミンAに代謝されるもの(プロビタミンA)がある。カプサンチンにはラットにおいてHDLコレステロール(善玉)を増やす効果が認められている(Aizawa and Inakuma 2009)。このように、個々に特有の機能を有する一方で、共通して抗酸化能(一重項酸素消去能)を有することも知られている(向井と大内 2013)。ポリフェノールでは、ケルセチンには脂肪分解促進活性や血圧低下作用などが知られており、特定保健用食品にもケルセチン配糖体を配合する飲料が登録されている(立石ら 2018)。アミノ酸では、アルギニンに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)。

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(ヒト生体への影響を評価する指標)を分析することで、その機能的な優位性を見出す。上述のような既報から得られる情報を活用して、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。

第6期五カ年研究計画におけるトピックス

- ・果実の色彩値と一重項酸素消去能(SOAC値)とに強い負の相関関係を見出した。トウガラシ属では、鮮やかな果皮色ほどSOAC値が低く、くすんだ果皮色ほどSOAC値が高い関係にあった。非破壊的な測定による色彩値から、破壊分析が必要な一重項酸素消去能が予測できると考えられる。
- ・姫とうがらし(鏡野町奥津地区の在来品種)は、調べた9種類の赤または黄品種のトウガラシ属の中では、一重項酸素消去能および総カロテノイド含量が最も高かった。

- ・晩秋に収穫される姫とうがらしの天日干しには、果皮色の濃化だけでなく、一重項酸素消去能やカロテノイド含量を高める効果があり、機能性の向上にも寄与していることを見出した。

[今年度の成果]

1 姫とうがらしの機能的な優位性およびトウガラシ属における「果皮色」と「一重項酸素消去能」の相関関係

今年度は、昨年度に引き続き、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。姫とうがらしは秋に成熟果（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。成熟果の果皮は特徴的な濃い赤色を呈しているが、カロテノイドに由来すると考えられることから、まず果皮色とカロテノイドに着目した。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、これらについて5種類のトウガラシ一般流通品種（赤品種4種類および黄品種1種類）と品種間比較することで、姫とうがらしの特徴を見出すこととした。なお、比較対象として、同じトウガラシ属で多様な果皮色を有するパプリカも加えた。

カボチャやトマトなどにおいてはカロテノイド含量と果実の色彩値との間に相関関係が示されている（Ittle 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】

トウガラシ属品種の栽培 トウガラシは「鷹の爪」「ジャンボとうがらし」（サカタのタネ、横浜）、「やまと紅」「黄とうがらし」「大長とうがらし」（中原採種場、福岡）、「沖縄島とうがらし」（フタバ種苗卸部、南城、沖縄）、「朝天唐辛子」「八房唐辛子」「かぐらなんばん」「ぼたんこしょう」「太長中辛唐辛子」「バナナなんばん」（野口種苗研究所、飯能、埼玉）、「ひもとうがらし」（トキタ種苗、さいたま）および姫とうがらしを用いた。パプリカは赤、オレンジおよび黄色の果皮を有する品種（ぱぷ丸）の苗をホームセンターにて購入した。

赤および黄品種のトウガラシ属品種間比較に対しては、姫とうがらしを含む6品種のトウガラシと果皮色の異なる3種類のパプリカを生物科学研究所の隔離圃場において栽培し、2023年9月前半にサンプリングした（図2）。

天日干し効果の検証に用いた姫とうがらしの成熟果（赤姫）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、2023年9月12日および10月24日に現地にてサンプリングした。



図2 品種間比較に用いたトウガラシ属の赤および黄品種

トウガラシ； 姫 (HM)： 姫とうがらし (赤姫)、鷹 (TT)： 鷹の爪、紅 (YB)： やまと紅、朝 (TY)： 朝天唐辛子、沖 (OS)： 沖縄とうがらし、黄 (KI)： 黄とうがらし。パプリカ； 黄 (PY)、橙 (PO)、赤 (PR)： それぞれ果皮色が黄色、オレンジ色、赤色のパプリカを示す。

青品種を含めたすべての品種間比較に対しては、姫とうがらし以外は、生物科学研究所の隔離圃場において栽培し、2022年9-10月に収穫した。姫とうがらしは上述の契約農家において栽培され、現地にて収穫した。成熟果 (赤姫) は2022年9月9日および10月20日、未熟果 (青姫) は2022年11月24日にサンプリングした。

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、凍結粉砕まで -80°C の冷凍庫にて保管した。凍結した状態の果実を破砕装置 Shake Master (バイオメディカルサイエンス、新宿、東京) を用いて粉砕し、凍結乾燥機 FDU-1110 (東京理化工機、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。

果実の色彩の測定 果皮の色彩は、 $L^*a^*b^*$ 色空間法により評価した。サンプリング時に、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。なお、色度 a^* は赤方向が正の値、緑方向が負の値をとり、色度 b^* は黄方向が正の値、青方向が負の値をとる。色度 a^* および b^* から彩度 C^* ($=[(a^*)^2+(b^*)^2]^{1/2}$) を算出した。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。

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

10-100 mg の凍結乾燥物あたり 4 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。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。

カロテノイドの定量 含量に応じて、20~100 mg の凍結乾燥サンプルに対して0.1 % アスコルビン酸を含むエタノールで3回抽出した (合計4 ml)。水酸基を持つカロテノイドはほとんどエステル体になっているため、80 % 水酸化カリウムで85°C、10分間のけん化を行い、遠心して脂質を沈殿として除去した。従来の分液法では、抽出液から極性の強いカプサンチンなどがヘキサンなどで十分に分離できなかったため、同モル量の塩酸により水酸化カリウムを中和した。β-カロテンは酸性条件では不安定なため、弱塩基性となるように中和すると、損失なく、安定性も良くなった。真空濃縮機 SpeedVac (Thermo Fisher Scientific, MA, USA) を用いて乾燥した後に、移動相の溶媒に再溶解して、HPLC分析を行った。YMC Carotenoidカラム(150 mm×4.6 mm I. D.、S-3 μm、ワイエムシィ、京都)を用いて2種類の移動相の溶媒条件 (90 %エタノールおよび10 mM 酢酸アンモニウムを含むメタノール/水=92/8, v/v) で分離し、標品の吸収スペクトル、保持時間との比較や検量線により、個々のカロテノイドを同定・定量した。総カロテノイド含量は、90 %エタノールの移動相で分離したHPLCプロファイルの総面積からα-カロテン当量で算出した。カロテン類は水酸基を持っていないため、けん化の前後で量は変わらない。けん化前と中和後のサンプルでは、β-カロテンの量が変わらなかったことを確認した。乾燥と再溶解の過程でほとんど損失しなかったことも確認した。

カプサイシノイドおよび総ポリフェノールの定量、スーパーオキシド消去能の評価 (多賀と平井 2024、原田と横部 2024) 凍結乾燥粉末 100 mg に 80 %エタノールを 10 ml 加え、ソニケーターで1時間超音波抽出した。遠心分離後に 0.22 μm のフィルターで濾過し、使用するまで冷凍保存した。

カプサイシノイドの定量は、高速液体クロマトグラフィー (送液ポンプLC-20AD、デガッサDGU-20A、カラムオープンCTO-20A、UV-VIS検出器SPD-20A、オートサンプラSIL-20ACおよびシステムコントローラCBM-20A、いずれも島津製作所) を用いて分析した (豊田 1999)。分析条件は、カラム; Wakosil-II (250 mm×4.6 mm I. D.、東京化成工業)、移動相; アセトニトリル: 純水: リン酸=45: 55: 0.05、流速; 1.0 ml/min、カラム温度; 40°C、注入量; 10 μl、検出波長; 280 nmとした。

総ポリフェノール含量は、Folin-Ciocalteu法により定量した (小杉ら 2022)。抽出液0.1 mlに水で10倍希釈したFolin-Ciocalteu試薬 (Sigma-Aldrich) を2 ml加えて、室温で3分間放置した。0.4 M炭酸ナトリウム水溶液を2 ml加え、室温で60分間放置した後、765 nmの吸光度を測定した。検量線は没食子酸一水和物 (ナカライテスク) を用いて作成し、没食子酸相当量として算出した。

スーパーオキシド消去活性は、SOD Assay Kit (同仁化学) を用い、マニュアルに従って測定した。96穴プレートに抽出液20 μl、WST working solution 200 μlおよびEnzyme working solution 20 μlを加え混和した後、37°Cで20分間インキュベートし、プレートリーダーで450 nmの吸光度を測定した。抽出液は原液とともに80 %エタノールで2、4、8倍に希釈して用いた。

【結果および考察】

1-1 姫とうがらしの機能的な優位性（品種間比較）

カロテノイド含量および一重項酸素消去能の品種間比較 目視から赤品種間で果皮色が異なるが、カロテノイド含量にも品種間差がみられるか調べるために、総量を比較した（図3 A）。比較した9種類（6品種のトウガラシと3種類のパプリカ、図2）の中では、姫とうがらし（赤姫）の総量が最も多かった。トウガラシとパプリカのいずれも赤、橙、黄の順に総量が多い傾向が見られた。組成の特徴を調べるために、個々のカロテノイドを定量した（図3 B）。標品の吸収スペクトルや保持時間との比較により、9種類のカロテノイドが特定できた。検出されたカロテノイドの種類や組成は、品種間で異なっていた。赤品種のトウガラシではカプサンチンが主要なカロテノイドであったのに対して、赤および橙パプリカではゼアキササンチンが主要なカロテノイドであった。姫とうがらしでは、カプサンチンが最も主要なカロテノイドで、他品種の2倍以上を含有しており、これが高含有の主な要因であった。黄とうがらしと黄および橙パプリカではカプサンチンが検出されなかった。

カロテノイドは一重項酸素の消去能が高いことから（向井と大内 2013）、SOAC 法により一重項酸素消去能を評価した（図3 C）。比較した9種類の中では、姫とうがらしのSOAC値が最も高かった。カロテノイド総量と同様に、トウガラシとパプリカのいずれも赤、橙、黄の順にSOAC値が高い傾向が見られ、総カロテノイド含量とSOAC値に強い正の相関関係が見られた（ $r=0.986$ 、 $p<0.001$ 、データ不示）。

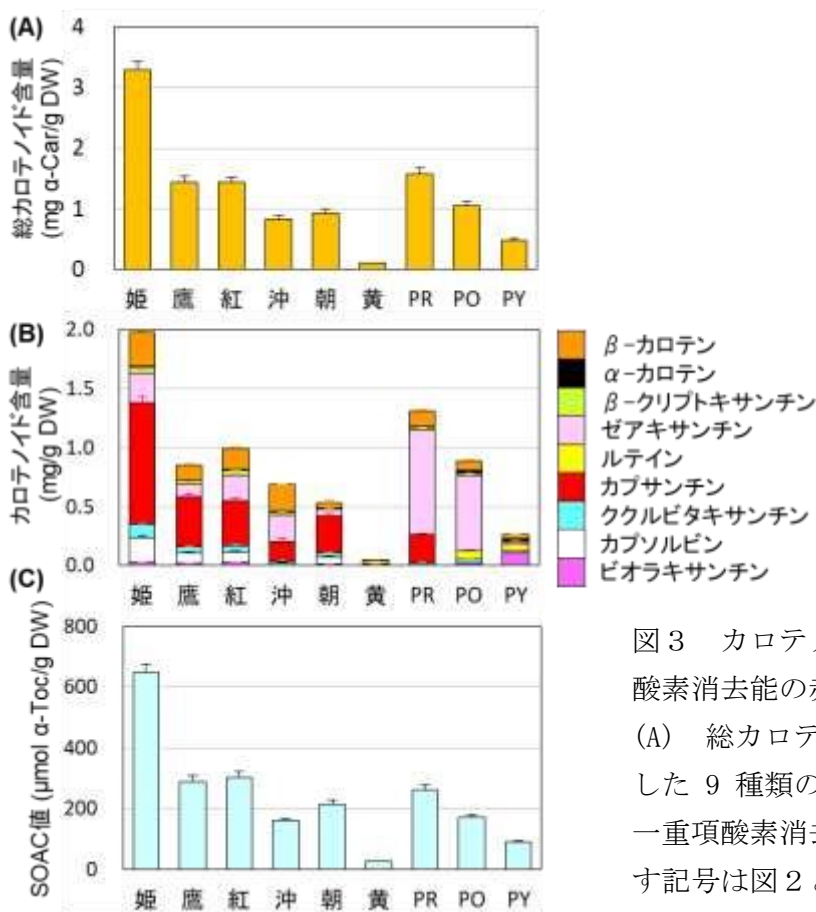


図3 カロテノイド含量および一重項酸素消去能の赤品種間比較
 (A) 総カロテノイド含量。(B) 特定した9種類のカロテノイド含量。(C) 一重項酸素消去能(SOAC値)。品種を示す記号は図2と同様。

一重項酸素消去能と果実の色彩値との相関関係 果実の色彩値は、カロテノイド含量との相関関係が示されている (Itle and Kabelka 2009; Arias et al. 2000; D' Souza et al. 1992)。トウガラシ属の中でも上述のように総カロテノイド含量と SOAC 値に強い相関関係が見られたことから、果皮の色彩値を測定し、SOAC 値との相関関係を調べた (図 4)。いずれの色彩値 (明度 L^* 、色度 a^* および b^* 、彩度 C^*) も SOAC 値との間に有意な相関関係 ($p < 0.001$) が見出されたが、この中でも彩度 C^* との相関が最も強く、「くすんだ果皮色ほど SOAC 値が高い (鮮やかな果皮色ほど SOAC 値が低い)」という強い負の相関関係が見出された ($r = -0.884$, $p < 0.001$)。総カロテノイド含量が高いほど、吸収される光が多いため、彩度 C^* が小さくなる一方で、比例関係にある SOAC 値が大きくなると考えられる。

この関係から、非破壊的な指標である色彩値を測定することで、破壊分析が必要な一重項酸素消去能が予測できると考えられる。また、収穫適期の判断材料や品質管理の指標としての応用展開も期待できる。

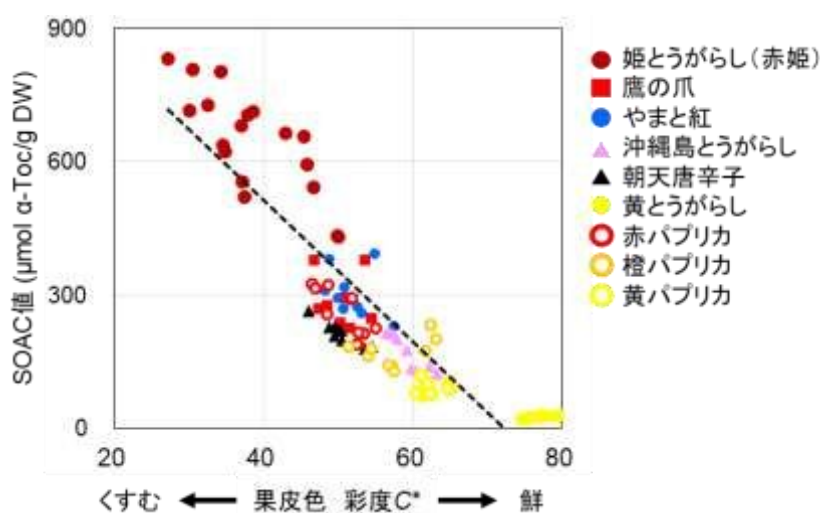


図 4 SOAC 値と彩度 C^* との相関関係

カプサイシノイドおよび総ポリフェノール含量、スーパーオキシド消去能の品種間比較 (多賀と平井 2024、原田と横部 2024) トウガラシはカプサイシノイドと総称される辛味成分を特徴とする野菜である。一般的な含有率は、カプサイシンが46-77%、ジヒドロカプサイシンが21-40%、ノルジヒドロカプサイシンが2-12%である (岩井と渡辺 2008)。辛味強度はカプサイシンを100とした場合、ジヒドロカプサイシンが100、ノルジヒドロカプサイシンが57である (岩井と渡辺 2008)。姫とうがらしの辛味成分の特徴を調べるために、トウガラシにおけるこれら3種類の主要なカプサイシノイドを分別定量し、他品種と比較した (図 5 A)。赤姫および青姫のカプサイシノイド総量は同程度で、調べた14品種の中では中位にあり、鷹の爪と同程度であった。3種類の主要なカプサイシノイドの組成は、品種間差が小さかったことから、カプサイシノイド総量は各品種の辛味程度を反映していると考えられる。従って姫とうがらしの辛味は鷹の爪と同程度であると考えられる。

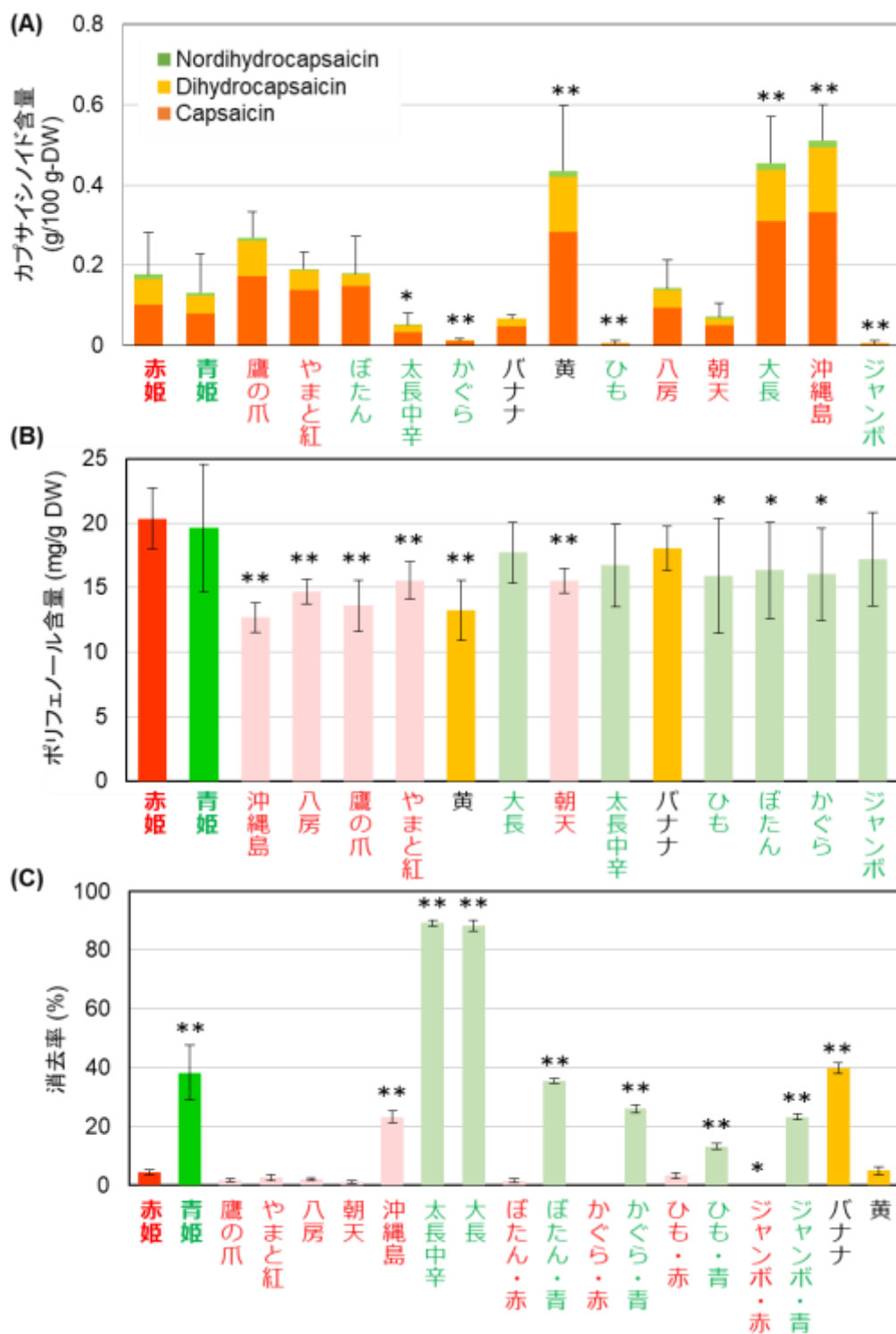


図5 赤品種と青品種を含めた品種間比較

(A) カプサイシノイド含量。(B) ポリフェノール含量。(C) スーパーオキシド消去能。平均±SD および Dunnett 検定による赤姫に対する有意差を示す (**: $p < 0.01$, *: $p < 0.05$)。

トウガラシに含まれる機能性成分としては、カロテノイドやカプサイシノイドに加

え、ポリフェノールが挙げられる（岩井と渡辺 2008、小杉ら 2022）。そこで、総ポリフェノールを定量し、その含量に特徴がみられるか検討した（図 5 B）。赤姫および青姫の総ポリフェノール含量は同程度で、調べた14品種の中では赤姫の平均値が最も高く、青姫や大長とうがらしなどとともに上位にあった。

赤品種間比較において、姫とうがらし成熟果（赤姫）の一重項酸素消去能（SOAC 値）が最も高かった（図 3 C）。しかし、その未熟果（青姫）のSOAC値は、黄とうがらしと同程度に低かったことから、カロテノイド含量の季節変動による影響と考えられた。そこで、青姫を特徴づける抗酸化能を探索するために、スーパーオキシド消去活性について検討した（図 5 C）。調べた14品種の中では、赤品種よりも青品種の方が高い傾向がみられた。また、同じ品種内における赤色果実と緑色果実との比較では、すべての品種で緑色果実の活性が高かった。姫とうがらしにおいても、赤姫よりも青姫の方が高い活性を示した。このように、スーパーオキシド消去活性も季節によって変動した。青姫では生産者間での活性強度が要因となって標準偏差が大きかったが、その活性の平均値は太長中辛唐辛子と大長とうがらしに次いで高かった。

姫とうがらし（赤姫）の果皮は、調べた9種類の中では、彩度 C^* が最も低く、「最もくすんだ果皮色で、かつ、一重項酸素消去能、総カロテノイド含量が高い」ことが特徴であった。姫とうがらしは赤品種および青品種を含めてポリフェノール含量が最も高い品種のひとつであった。一重項酸素消去能とスーパーオキシド消去能は季節によって変動し、赤姫では前者が高く、逆に青姫では後者が高かった。

1-2 姫とうがらしの機能性に対する天日干しの効果

果皮色、カロテノイド含量および一重項酸素消去能 姫とうがらしの商業生産においては、収穫後の果実は天日干しされている（図 6 A）。10月に収穫される姫とうがらしの果皮色は、目視による赤色が9月に比べて薄い、天日干しによって濃くなるのが習慣的に知られている。図 4 の結果から、果皮色が濃くなれば、カロテノイド含量や一重項酸素消去能も向上すると予想されるが、実際に、天日干しによってこれらに対しても影響が及んでいるか検証した。1週間天日干しした10月の収穫物を天日干ししなかったものおよび9月の収穫物（天日干しなし）と比較した（図 6 B）。

10月の果皮色は、明度 L^* 、彩度 C^* ともに9月から増加した（明るく鮮やかな色になったことを示す）。天日干しによって明度 L^* 、彩度 C^* ともに低下し（暗くくすんだ色になったことを示す）、明度 L^* は9月の値までほぼ回復したが、彩度 C^* は完全には回復しなかった（図 6 C）。天日干し後の目視による果皮色の濃化は、明度 L^* の低下による寄与が大きいと考えられる。10月のカロテノイド含量およびSOAC値は、いずれも9月から減少したが、天日干しによっていずれも9月と同程度までに増加した（図 6 D、E）。10月のカプサンチン含量は、9月に比べて減少したが、天日干しによって部分的に回復した（データ不示）。また、天日干し後のゼアキサンチン含量は、9月や天日干

し前よりも増加した（データ不示）。カロテノイド含量および SOAC 値の変動は、カプサンチンとゼアキサンチン含量の変動による寄与が大きかった。

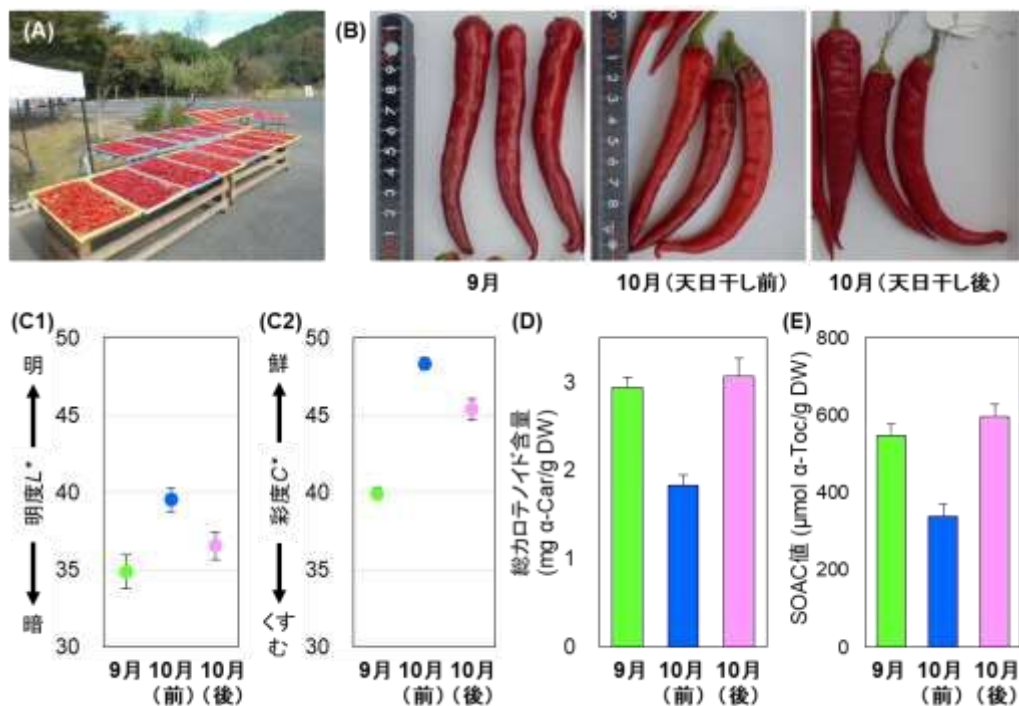


図6 天日干しが果皮色、総カロテノイド含量、一重項酸素消去能に与える影響
 (A) 赤姫の天日干し (2023年10月24日)。(B) 9月および10月の天日干し前後の赤姫。
 (C) 果皮の明度 L^* (C1) および彩度 C^* (C2) の変化。(D) 総カロテノイド含量の変化。
 (E) 一重項酸素消去能 (SOAC 値) の変化。

商業生産における習慣的な天日干し作業には、果皮色の濃化・均一化や乾燥機の負荷軽減をはかる効果があるが、機能性の面からも、カロテノイド含量や一重項酸素消去能を高める効果があり、機能性の向上にも寄与していると考えられる。

【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、石倉由貴さん) と共同で実施した。図5で示す実験は、同研究室で実施されたものである。

【引用文献】

Aizawa K and Inakuma T (2009) Br. J. Nutr. **102**: 1760-1766.
 Arias R et al. (2000) J. Agric. Food Chem. **48**: 1697-1702.

- D' Souza MC et al. (1992) HortScience **27**: 465-466.
- Iltle 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.
- 岩井和夫、渡辺達夫編 (2008) 「改訂増補トウガラシ辛味の科学」 幸書房 (東京) .
- 小杉徹ら (2022) 日本食品科学工学会誌 **69**: 163-174.
- 多賀智織、平井葉名 (2024) ノートルダム清心女子大学人間生活学部食品栄養学科
2023年度卒業論文.
- 立石法史ら (2018) 化学と生物 **56**: 408-413.
- 豊田美和子 (1999) 北陸作物学会報 **34**: 141-143.
- 中村宜督 (2023) 日本食生活学会誌 **33**: 165-169.
- 向井和男、大内綾 (2013) オレオサイエンス **13**: 371-378.
- 原田知佳、横部菜乃香 (2024) ノートルダム清心女子大学人間生活学部食品栄養学科
2023年度卒業論文.

2 備前黒皮かぼちゃにおけるカロテノイド含量の特徴

備前黒皮かぼちゃは、瀬戸内市牛窓地区を中心に栽培されてきた在来品種（日本カボチャ）である。2024年1月29日に農林水産省において地域ブランドとして農林水産物などを保護する制度である「地理的表示（GI）保護制度」の対象として登録された（農林水産省ホームページ）。濃い緑色と溝の深い果皮をもつ外観とは対照的な淡い黄色の果肉や、煮崩れのしにくさや生食でも食べられることが特徴である。同制度への申請団体である「備前黒皮かぼちゃ振興協議会」からも多くのレシピが紹介され、生産や販売の振興が図られている（同協議会のホームページ）。

備前黒皮かぼちゃは特徴的な黄色の果肉を有しており、カロテノイドに由来すると考えられることから、本課題ではカロテノイドに着目し、広く栽培されているえびす（西洋カボチャ）との品種間比較試験を実施した。

【材料および方法】

カボチャサンプルおよび特性調査 備前黒皮かぼちゃ振興協議会から提供を受けた瀬戸内市牛窓産の備前黒皮かぼちゃを用いた。また、JA 岡山はなやか牛窓店において購入した瀬戸内市牛窓産のえびすを用いた。いずれも2023年7月中旬に収穫された。形態的な特性は、カボチャ属の審査基準・特性表（農林水産省）に従って調査した。上述のトウガラシ属と同様の方法で、果実の色彩を測定したのちに凍結乾燥サンプルを調製した。凍結乾燥の前後で重量を測定し、水分含量を算出した。

果実の色彩測定およびカロテノイドの定量 上述のトウガラシ属と同様の方法で分析した。

【結果および考察】

備前黒皮かぼちゃの形態的な特性 (図7、表1) 備前黒皮かぼちゃの果面は、えびすと比較して凹凸が大きい。果面の色はやや黒く見えるが、色彩値の測定によって、明度 L^* (明るさの指標) は同程度であったのに対して、彩度 C^* (鮮やかさの指標) が低いこと (くすんだ色) が要因と考えられる。果肉の色は、えびすと比較して、より鮮やかな黄色に見えるが、色度 b^* (黄色の指標) や彩度 C^* はむしろえびすの方が高く、明度 L^* が高いことがその要因と考えられる。水分含量は備前黒皮かぼちゃの方が高く、生食でも食べられる、シャキシャキとした食感が裏付けられた。

表1 果実の形態的な特性および水分含量

項目		状態		
		備前黒皮	えびす	
目視	果形	腰高	扁円	
	果実先端の形	凹	平	
	果実基部の形	凹	平	
	果面の状態	溝・瘤	痘	
	果面の地色	褐	黒緑	
	果肉の色	淡黄	濃黄	
色彩 色差計 (ave±SE)	果面の 色彩	L^*	28.03±1.13	29.20±0.03
		a^*	-0.95±0.30	-4.36±0.15
		b^*	1.63±0.75	5.59±0.36
		C^*	1.91±0.80	7.09±0.36
	果肉の 色彩	L^*	80.10±0.78	69.85±0.10
		a^*	2.60±1.71	9.70±0.75
		b^*	62.09±1.94	74.54±0.18
		C^*	62.20±1.96	75.18±0.28
水分含量 (%) (ave±SE)		89.1±0.5	81.0±0.7	

図7 本研究に用いたカボチャ品種の果実

(A) 外観。(B) 種子を除いた縦切り断面。いずれも上段が備前黒皮かぼちゃ、下段がえびす。スケールバーは20 cmを示す。

カロテノイド含量の特徴 標品の吸収スペクトルや保持時間との比較により、7種類のカロテノイドが特定できた (総カロテノイドの7割程度に相当した)。備前黒皮かぼちゃのルテイン含量は、えびすと比較して3割程度高く、えびすでは検出限界以下であった α -カロテンが検出された (図8)。他のカロテノイドは同程度か低含量であった。

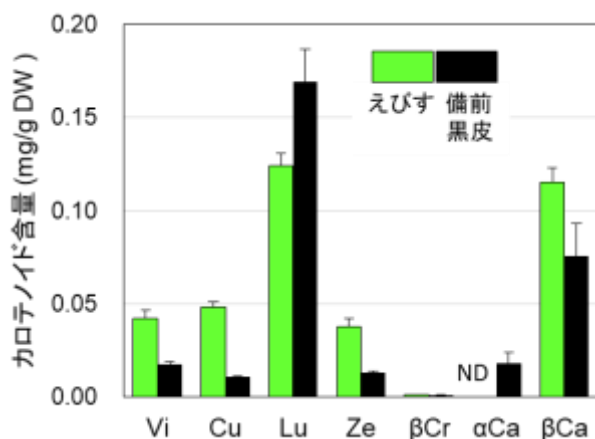


図8 カロテノイド含量

特定した7種類のカロテノイド含量。
Vi: ビオラキサンチン、Cu: ククルビ
タキサンチン、Lu: ルテイン、Ze: ゼ
アキサンチン、βCr: β-クリプトキ
サンチン、αCa: α-カロテン、βCa:
β-カロテン。ND: 検出限界以下。

備前黒皮かぼちゃにおいて黄色のカロテノイド（ルテイン、α-カロテン、ビオラキサンチン、ククルビタキサンチン）の総和は、えびすと同程度であった。これに対して、橙色のカロテノイド（ゼアキサンチン、β-クリプトキサンチン、β-カロテン）の総和は、えびすの6割程度であった。備前黒皮かぼちゃの果肉では、橙色カロテノイドが低含量のために黄色カロテノイドによる呈色が強調されていると考えられる。

α-カロテンはβ-カロテンと同様に、プロビタミンA活性（生体内でビタミンAに代謝される）を有し、ビタミンAの摂取源となるカロテノイドである。また、ルテインは眼球の黄斑や水晶体に局在し、加齢などによって減少すると、目の機能が低下することが知られている。ルテインには強光ストレスの軽減や、抗酸化作用による酸化ストレスからの防御によって、視細胞を保護する役割があるとされている（以上、中村 2022）。備前黒皮かぼちゃに特徴的なカロテノイドは、機能性代謝物の効率的な摂取源として生体調節に貢献すると期待される。

【謝辞】

本研究の推進にあたっては、備前黒皮かぼちゃ振興協議会の安達勇治会長にご理解、ご協力をいただいた。備前黒皮かぼちゃサンプルは、同協議会を介して藤岡泰平氏からご提供いただいた。

【引用】

中村宜督（2022）「食品でひく機能性成分の事典」女子栄養大出版部（東京）.
地理的表示 (GI) 保護制度 登録産品一覧 第 143 号: 備前黒皮かぼちゃ（農林水産省）
https://www.maff.go.jp/j/shokusan/gi_act/register/0143/index.html
農林水産植物種類別審査基準・特性表「カボチャ属 (*Cucurbita L.*)」（農林水産省）
https://www.maff.go.jp/j/shokusan/hinshu/info/sinsa_kijun_jp.html
「備前黒皮かぼちゃは振興協議会」ホームページ
<https://council.bizen-kurokawa.com/>

3 ブドウ皮に含まれるポリフェノール比較

【材料および方法】

ブドウ ブドウは、農業研究所・果樹研究室栽培の5品種（オーロラブラック (AB)、クインニーナ (QN)、ナガノパープル (NP)、ピオーネ (PO)、シャインマスカット (SM)) を分譲していただき使用した (図9)。



図9 本研究で用いたブドウ5品種

抽出法 ブドウ皮10粒分を収集し、湿重量を測定後、液体窒素下、シェイクマスターを用いて、振とう粉碎し、得られた粉末を凍結乾燥し、乾燥重量を測定した。皮凍乾物からの抽出法は、Jiao Fengらの文献に記載の方法に従った (Jiano Feng et al. 2022)。すなわち、皮凍乾物50mgから、1%塩酸/メタノールにて抽出操作を5回繰り返し、その遠心上清を抽出物とした (図10)。

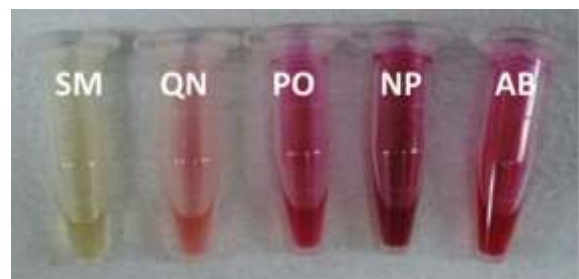


図10 ブドウ皮抽出物の比較

全ポリフェノール定量 皮抽出物に含まれるポリフェノールは、フォリン-チオカルト法に従って、没食子酸を標準ポリフェノールとし検量線をたて、没食子酸換算として、全ポリフェノール量を算出し比較した。

抗酸化力測定 農研機構の標準作業手順書 (渡辺ら 2013) に従い、水溶性ORAC法により、Trolox換算値を算出し、抗酸化力を比較した。

LC-MSによるポリフェノール定量 Methyl-trans-*p*-coumarate を内部標準物質 (IS) に用い、逆相カラムにより分離し、イオントラップ型MS装置 (ブルカー社製 amaZon SL) により、皮抽出物に含まれる8種のポリフェノール (カテキン、エピカテキン、プロシアニジン B1、プロシアニジン B2、ケルセチン、ケルセチン-3-O-ガラクト

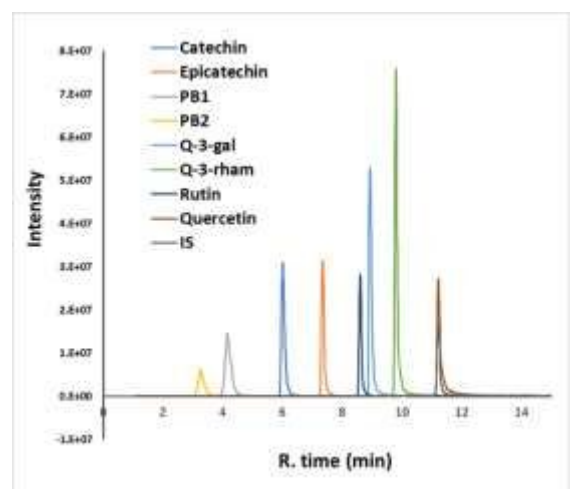


図11 8種のポリフェノールの分離パターン

シド、ケルセチン-3-O-ラムノシド、ルチン)をISとの強度比較により定量した(図11)。

【結果および考察】

全ポリフェノール定量結果 図12に、1粒皮あたりの全ポリフェノール量を示す。比較した5品種のうち、皮ごと食べるものは、シャインマスカット、ナガノパープル、オーロラブラックである。青系統のシャインマスカットの皮には、ほとんどポリフェノールが含まれていないのが、よくわかる結果となった。

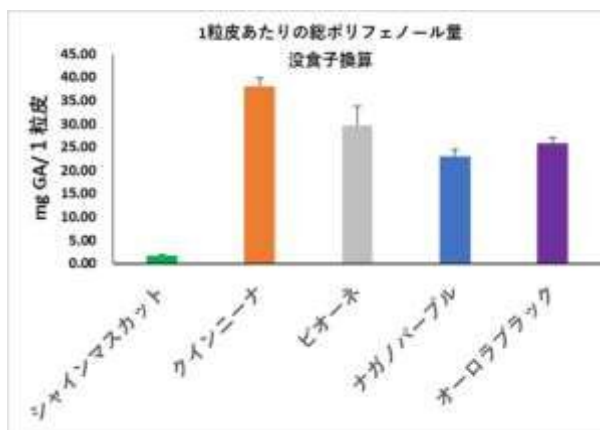


図12 全ポリフェノール定量結果

抗酸化力測定結果 図13に、1粒あたりの水溶性ORAC法による抗酸化力測定結果を示す。図12と比較するとよくわかるように、ORAC値は、皮に含まれる全ポリフェノール量と、よく相関することが判明した。

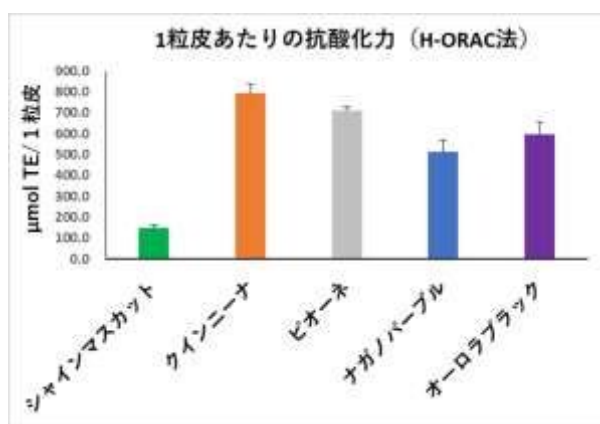


図13 H-ORAC測定結果

LC-MSによるポリフェノール定量結果 図14に、1粒あたりに含まれる8種のポリフェノール定量結果を示す。8種のうち、プロシアニジンB2およびルチンは、検出限界以下となった。8種のうち、カテキン、エピカテキン、プロシアニジンB1(=カテキンの2量体)は、その含量と渋味とがよく相関することが、報告されている(Jiano Feng et al. 2022)。示すように、ピオーネの皮には、カテキン、プロシアニジンB1が豊富に含まれ、皮ごと食すると、渋味を感じる事が推察される。

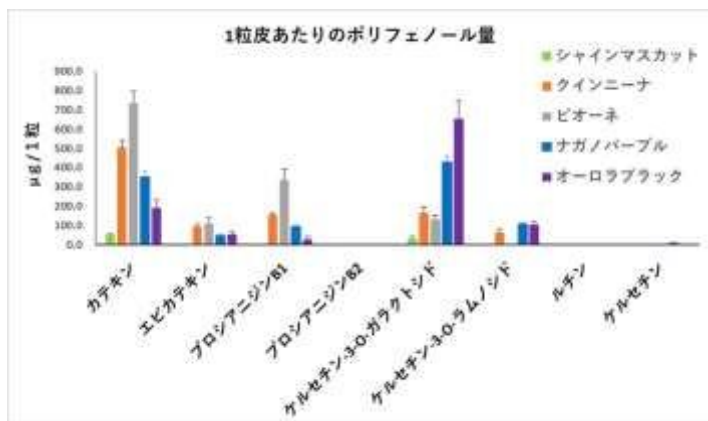


図14 ポリフェノール定量結果

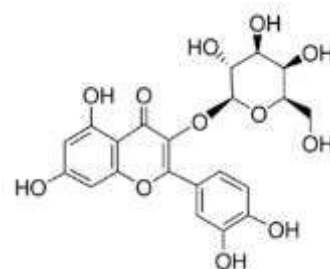


図15 ケルセチン-3-O-ガラクトシド

この結果は、農業研究所・環境研究室で示された官能試験結果 (https://www.pref.okayama.jp/uploaded/life/856622_8135878_misc.pdf) ともよく一致した。

8種のポリフェノールのうち、ケルセチン-3-O-ガラクトシド(=クエルシトリン、図15)は、5品種のうち、オーロラブラック皮1粒あたり600マイクログラムと豊富に含まれることが判明した。ケルセチン配糖体は、体脂肪低減効果が報告されている化合物であり(立石ら2018)、オーロラブラックを皮ごと食すると、渋味が少なく、機能的ポリフェノールを摂取できることが示唆された。

皮ごと食べられるブドウとして、岡山県が開発したオーロラブラックの皮には、ポリフェノールが豊富に含まれ、機能的性が期待されることが示唆された。今後、ブドウ皮に含まれる成分の歯周病菌、虫歯菌への効果等を検討していきたいと考えている。

【謝辞】

ブドウを提供いただきました、農業研究所・果樹研究室の方々に感謝いたします。

【引用文献】

Jiano Feng et al. (2023) J. Food Sci. **88**: 447-461.

渡辺純ら (2013) H-ORAC 分析法 標準作業手順書.

立石法史ら (2018) 化学と生物 **56(6)**: 408-413.

令和5年度研究成果（報文、発表等）

1. 報文（総説・原著論文等）

Yang, L., Hatanaka, T.

Enhanced overexpression of secreted enzymes by discrete repeat promoters in *Streptomyces lividans*
Biosci. Biotech. Biochem. **87**(11) 1420-1426 (2023)

概要 : ストレプトマイセス・リビダンスは、分泌タンパク生産の宿主として有望視されている。我々は、恒常型で強力な二つのプロモーターである *scmpPc* あるいは *kasOp** を搭載した放線菌用デュアル発現ベクターを構築した。このベクターを利用して、*S.mobaraensis* 由来トランスグルタミナーゼ等の分泌量を比較検討した。トランスグルタミナーゼ遺伝子+ターミネーター下流に、*scmp* プロモーター+ターミネーターのカセット遺伝子を挿入した場合、トランスグルタミナーゼ分泌量は倍増し、カルボキシペプチダーゼ分泌量も6割増強することを見出した論文である。

Mune, M.A.M., Hatanaka, T., Kishimura, H., Kumagai, Y.

Understanding Antidiabetic Potential of Oligosaccharides from Dulce Xylan by Investigating α -Amylase and α -Glucosidase Inhibition
Molecules **29** 1536 (2024) <https://doi.org/10.3390/molecules29071536>

概要 : 以前我々が、クローニング及び発現させたヒト由来マルターゼ (Kawakami, K. et al. *J. Food Sci.* **79**(9) 1848-1853 (2014)) 及び、ブタ由来 α アミラーゼに対する海藻（北海道産紅藻ダルス）由来キシロオリゴ糖の阻害効果を調べた論文である。その結果、キシロオリゴ糖類は、両酵素に対し、マイルドな阻害効果を示し、糖尿病予防効果が期待される結果を示した。
(北海道大学水産学部・熊谷祐也准教授との共同研究)

逸見健司

野菜の在来品種に潜在する機能性の探索およびその強化

令和4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 119-120 (2023)

概要 : トウガラシの品種間比較によって、調べた品種間では、姫とうがらし（鏡野町奥津地区の在来品種）の一重項酸素消去能（SOAC値）が高い傾向であることを示した。また、SOAC値と果皮の色彩値とに強い負の相関関係を見出した。

逸見健司

醱酵出身・グルタチオン肥料の食農利用

広島醱酵会会報（公開講演会講演要旨）42 5-7（2023）

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）

守谷智恵、川上賀代子、浅野陽子、畑中唯史、坪井誠二（*P）

「種々の米タンパク質加水分解物の細胞内グルタチオン量と睡眠ホルモン合成酵素活性に対する影響」

第77回日本栄養食糧学会（2023年5月12日～5月14日）

川上賀代子、守谷智恵、花房満、畑中唯史、坪井誠二（*P）

「酒粕加水分解物の抗酸化作用」

第77回日本栄養食糧学会（2023年5月12日～5月14日）

畑中唯史、川上賀代子、植田輝義、守谷智恵、坪井誠二

「黄ニラ由来細胞内グルタチオン上昇活性成分の同定」

学会創立100周年記念 日本農芸化学会 中四国・西日本支部 合同大会
（2023年9月21日～9月22日）

楊靈麗、畑中唯史、加藤奈々、吉金優、逸見健司

「岡山県産姫とうがらしのカロテノイド含量、及び果皮色と抗酸化作用との相関」

学会創立100周年記念 日本農芸化学会 中四国・西日本支部 合同大会
（2023年9月21日～9月22日）

Hatanaka, T., Yang, L.（*P）

Enhanced overexpression of secreted enzymes by discrete repeat promoters in *Streptomyces lividans*

Asian Congress on Biotechnology 2023（2023年10月15日～10月19日）

川上賀代子、森山圭、畑中唯史、坪井誠二、守谷智恵

「黄ニラの抗酸化活性と活性成分の同定」

第96回日本生化学会大会（2023年10月31日～11月2日）

3. 特許・発明

該当なし。

4. 共同研究・協力連携先

ノートルダム清心女子大学（人間生活学部、産学連携センター）、岡山県立大学・保健福祉学部、北海道大学・水産学部、就実大学・薬学部、岡山県農林水産総合センター農業研究所（果樹研究室、ジーンバンク事業）、NPO 法人てっちりこ、ナガセケムテックス株式会社、備前黒皮かぼちゃ振興協議会、真庭市（湯原振興局、二川ふれあい地域づくり委員会）

5. 外部資金獲得状況

・令和5年度 八雲環境科学振興財団 国際研究交流助成（代表 畑中唯史）

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）

おかやまバイオアクティブ研究会 幹事（畑中唯史）

研究報告会の開催

○逸見健司、楊靈麗、畑中唯史 「赤姫の機能的な優位性と特徴」

○多賀智織、○横部菜乃香、原田知佳、平井葉名、加藤奈々、吉金優

（ノートルダム清心女子大学） 「姫とうがらしの食品化学的特性」

大学考案レシピによる「姫とうがらし餃子」の試食

令和5年度研究報告会（NPO 法人てっちりこ、

鏡野、令和6年2月22日、右写真）



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

大課題

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、細菌性の植物病害「せん孔細菌病」の被害が問題となっている。本病害はモモの葉や枝に褐色病斑を形成して樹勢を低下させるだけでなく、果実に病斑を形成して商品価値を大きく損なわせるため、モモ生産の大きな阻害要因である。本病害の防除には防風ネットの設置、目視による果樹病巣の除去と農薬散布を組み合わせた総合的防除が必須であるが、生産者の労働負担が大きいことや農薬耐性を持つ菌の出現により、対策が喫緊の課題となっている。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」が常に問題となっている。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農薬処理では効果が無く、抵抗性台木を用いた接木栽培が防除利用されているが、土壌中の病原菌密度が高い場合には台木を通り抜けて穂木が発病してしまう。本グループでは令和3年度までの第5期五カ年計画において青枯病に強度抵抗性を示すナス野生系統を見出しており、本系統が持つ抵抗性遺伝子の育種利用を目指している。せん孔細菌病と青枯病は共に細菌性病害であり、本グループが有する様々な研究手法をせん孔細菌病菌にも適用できることから、令和4年度からの第6期5カ年計画では「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。

第6期五カ年研究計画におけるトピックス

- ・モモ本葉を枝から切り離した状態で約1か月間維持できる手法を開発し、実験室環境で安定なせん孔細菌病菌のモモ接種系を確立した。開発した本葉接種系は、従来の野外で行うモモ新梢傷接種系と比較して、実験期間の短縮や省スペース、年複数回の反復実験によるデータの高精度化、圃場汚染の回避など多くの利点があり、強力な研究ツールとして期待できる（中課題1）。
- ・ナスは *phylotype IV* のジャガイモ青枯病菌が持つ *HopBF1* エフェクターを認識して強力な抵抗反応を誘導すること、及び青枯病菌祖先株の *hopBF1* 遺伝子に *null* 変異が生じた結果、現在のナス青枯病菌が生まれたことを明らかにした。（中課題2）。

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している。その一つの要因が「せん孔細菌病の多発による減収」であり、県内でも平成30年度から3年連続で70%以上の圃場で本病害の発生が確認されている。本病害は、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加えて強風対策や伝染源となる枝病斑の剪除が必須であり、生産者の労働負担が大変大きい。また、近年、国内主要生産地で農薬耐性を獲得したせん孔細菌病菌の分布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せん孔細菌病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。

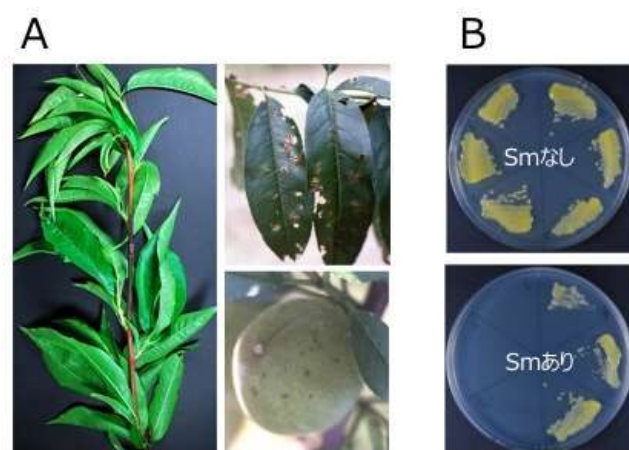


図1. モモせん孔細菌病の病徴及びストレプトマイシン耐性菌

(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ったものである。このため、試験には広大な野外圃場と栽培労力が必要となり、年一回しか試験できないことも問題である。モモ品種間の病害抵抗性の比較や各種防除資材の有効性を評価する目的では、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。近年、DNAマーカーを活用して果樹の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DNAマ

ーカーが整備されてきているが、日本国内で栽培されている白桃種でせん孔細菌病抵抗性を判定できる DNA マーカーは未だ開発されていない。本研究では抵抗性モモ品種を効率よく選抜できる DNA マーカーの開発にも取り組む。

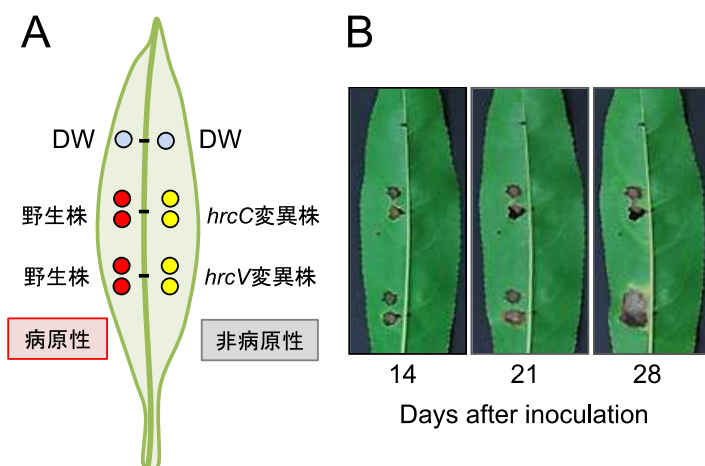


図 2. モモ本葉を用いた実験室環境での安定なせん孔細菌病菌接種系
 (A) せん孔細菌病菌野生株（病原性）、*hrc* 変異株（非病原性）及び水コントロール (DW) のモモ本葉接種位置。菌懸濁液の濃度は 5×10^8 CFU/ml。 (B) 接種 14, 21, 28 日後の病徴。野生株の接種部位には褐色病斑が形成されるが、*hrc* 変異株及び水の接種部位に褐変化は観察されない。

[今年度の成果]

1-1. モモ本葉組織でのせん孔細菌病菌の増殖と病斑形成

昨年度の本年報で、モモ本葉を用いた安定なせん孔細菌病菌の接種系を開発したことを報告した (図 2)。本接種系では温度及び光量を一定にした実験室環境でモモ本葉に病徴を安定に再現できるため、従来のモモ新梢傷接種法では困難だった病斑部位での菌増殖を調べることが容易である。そこで、今年度は本葉接種で形成される病斑の褐変化程度と菌増殖の関係を詳細に調査した。具体的には、3 段階の菌濃度に調整したせん孔細菌病菌の菌液をモモ本葉に注入し、経時的に病斑の褐変化の程度と菌増殖をモニターした。その結果、接種葉で病原菌が増殖し、経時的に病原菌密度が上昇し、褐色病斑が形成されることが明らかとなった。最も早く病斑が認められた 5×10^8 CFU/ml 菌液の接種部位では 7 日後で既に軽度の褐変化が認められ、経時的に褐変化の程度が強くなった (図 3A 及び 3B)。また、接種部位での菌増殖は接種後 7 日後で既に 10^8 CFU/cm² を超え、21 日後には 10^9 CFU/cm² に達していた (図 3C)。この結果は、本葉での菌増殖が 10^8 CFU/cm² を超えると病斑の褐変化が出始め、経時的にその程度が強くなることを示している。 5×10^6 CFU/ml 菌液や 5×10^4 CFU/ml 菌液の接種部位でも同様の結果が認められた。以上の結果より、本葉に形成される病斑の褐変化の程度は菌増殖の程度と相関することが明らかとなった。多くの細菌はクオラムシグナルを介した菌密度感知機構により遺伝子発現

を変化させて集団全体の行動を同調させることがよく知られている。植物病原細菌では宿主内で一定の菌密度以上に到達して初めて宿主にダメージを与える細胞壁分解酵素等の後期病原性関連遺伝子の発現が ON になる。今回の結果から、せん孔細菌病菌の病斑形成においても菌密度感知機構の関与が強く示唆される。

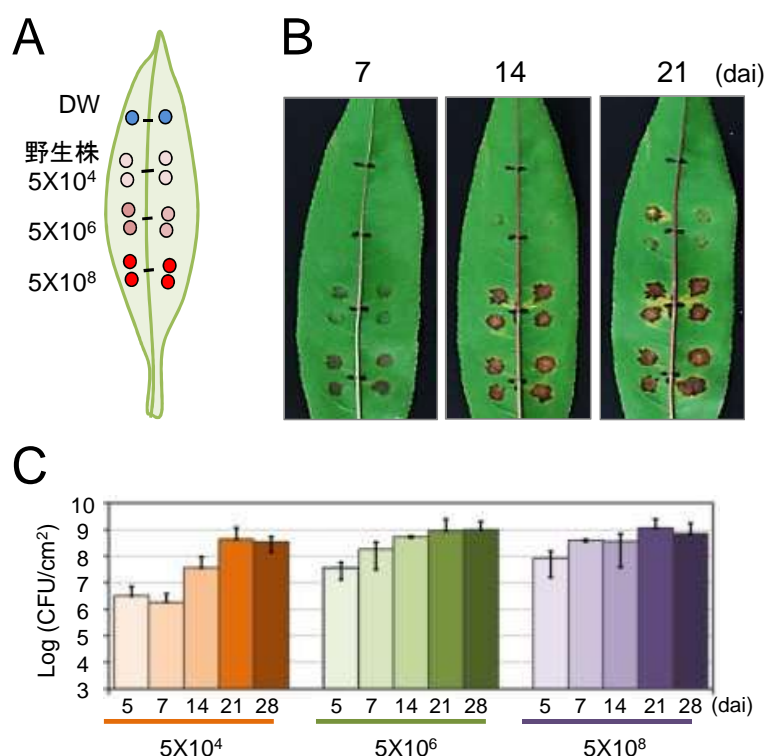


図 3. モモ本葉内でのせん孔細菌病菌の増殖と病斑形成

(A) 各種菌濃度 (CFU/ml) に調整したせん孔細菌病菌野生株及び水コントロール (DW) のモモ本葉接種位置。(B) 接種 7, 14, 21 日後の病徴。(C) 各菌濃度のせん孔細菌病菌液を接種したモモ本葉組織における菌増殖。数字は接種後の日数を示す (dai, days after inoculation)。

1-2. せん孔細菌病抵抗性モモ系統は本葉での病原菌増殖を抑制する

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、発病程度が他のモモ系統よりも低い抵抗性系統が見出されている。昨年度の本報告で、我々の本葉接種系を用いてこれら抵抗性系統を評価したところ、抵抗性系統の本葉では感受性系統の本葉よりも病斑の褐変化程度が低いことを報告した。そこで今年度は、せん孔細菌病感受性のモモ系統 A と抵抗性のモモ系統 B について本葉組織内での病原菌増殖を詳細に比較した。その結果、抵抗性系統 B では感受性系統 A よりも本葉組織内での菌増殖が抑制されていた。接種 10 日後以降では菌増殖の抑制が顕著になり、抵抗性系統では感受性系統の約 10 分の 1 に菌増殖が抑制された (図 4)。また、菌増殖の抑制は最初の接種菌濃度が低いとより明白に観察された (図 4A)。以上の結果から、抵抗

性系統 B は感受性系統 A よりも本葉内の菌増殖を抑制し、菌密度を 10^8 CFU/cm² に到達しにくいいため、感受性系統よりも病徴が大きく軽減すると推察される。上述のように、せん孔細菌病に完全抵抗性を示すモモ系統は現在までに知られておらず、病原菌の感染を完全に抑制する抵抗性遺伝子は期待できない。従って、抵抗性系統 B が持つ「菌感染は許しても病斑形成を大きく軽減させる」抵抗性遺伝子を感受性栽培系統に導入することは樹勢や果実品質の維持に大きな効果があると考えられ、遺伝子マーカーの開発はせん孔細菌病防除に大きな意味を持つと思われる。

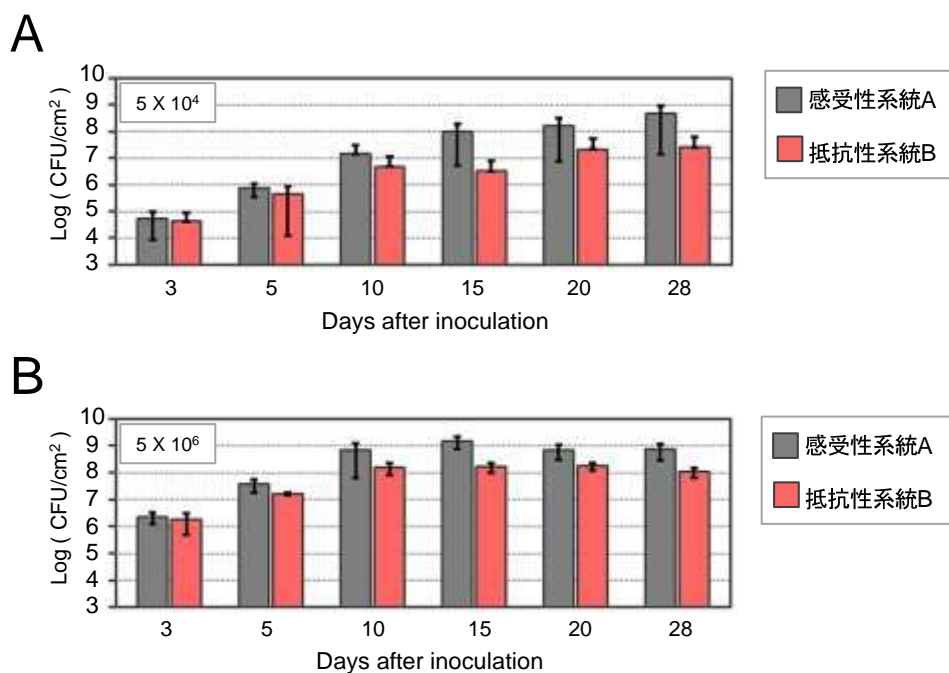


図 4. 感受性モモ系統 A と抵抗性モモ系統 B の本葉組織における病原菌増殖
 (A) 5×10^4 CFU/ml のせん孔細菌病菌懸濁液を接種したモモ本葉における菌増殖。
 (B) 5×10^6 CFU/ml の菌懸濁液を接種したモモ本葉における菌増殖。
 灰色及び赤色カラムはそれぞれ感受性モモ系統 A 及び抵抗性モモ系統 B の結果を示す。数字は接種後の日数を示す。

1-3. 農業研究所ジーンバンク保存モモ系統の抵抗性評価

近年、DNA マーカーを活用した果樹の新品種育成が進められている。せん孔細菌病抵抗性育種マーカーの開発を目的に、開発した本葉接種系を用いて岡山農林水産総合センター農業研究所ジーンバンクで維持されている 182 のモモ系統について抵抗性判定を行った。その結果、病斑形成の程度が低い抵抗性 23 系統、大きな病斑が形成される極感受性 18 系統を見出した。これらモモ系統のゲノム情報を利用したゲノムワイド関連解析 (GWAS) でせん孔細菌病抵抗性 (または極感受性) に関与する遺伝子領域を検出できる可能性がある。また、上記系統の交配後代集団の遺伝学的解析からも抵抗性育種マーカーを開発できると考えられる。

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。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、抵抗性植物は病原菌が感染時に植物細胞内に注入するタンパク質性病原因子（エフェクター）を認識して強力な抵抗反応を誘導する（図 5）。我々は、抵抗性植物に認識される青枯病菌の非病原力（Avr）エフェクターを利用してナス科作物が持つ抵抗性（R）タンパク質の同定を行っている（図 6）。

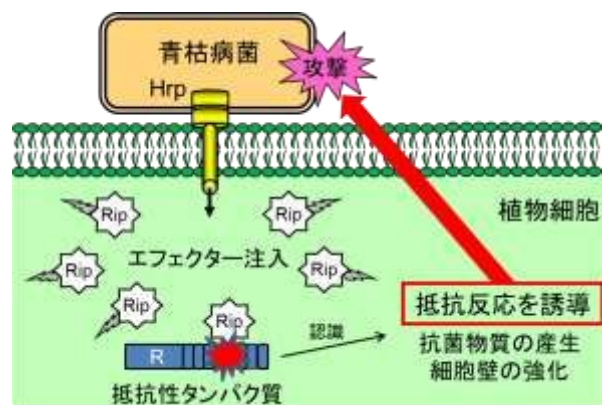


図 5. 植物の抵抗性タンパク質を介した青枯病菌の認識機構
 青枯病菌は植物感染時に III 型分泌装置（Hrp）から宿主細胞にエフェクターを注入し、植物は抵抗性（R）タンパク質で非病原力（Avr）エフェクターを認識して抵抗反応を誘導し、病原菌増殖を抑制する。

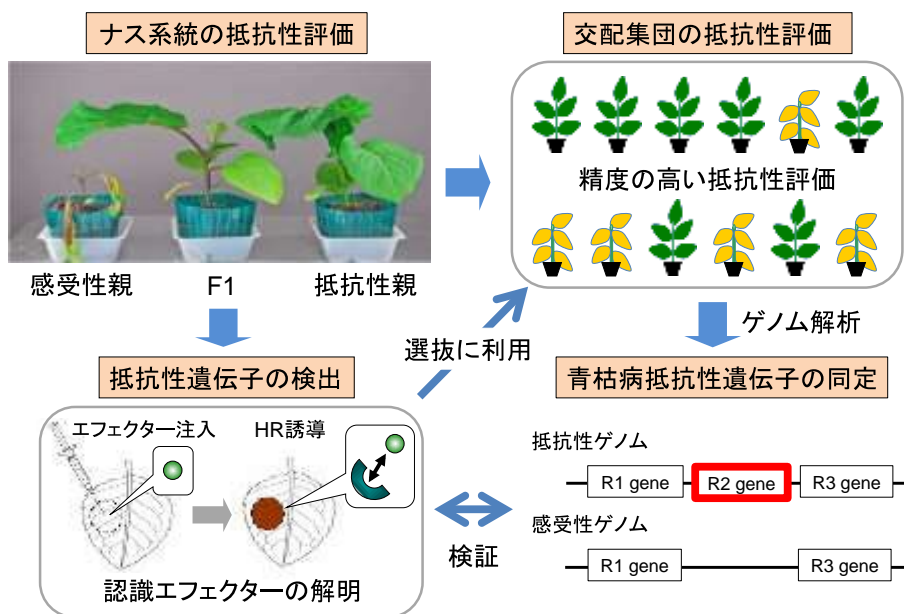


図 6. Avr エフェクターを利用した青枯病抵抗性遺伝子の同定

[今年度の成果]

2-1. ジャガイモ青枯病抵抗性遺伝子 *R-BF1* の同定

我々はナスが持つ *phyloptype IV* ジャガイモ青枯病菌に対する抵抗性遺伝子 *R-BF1* の同定に取り組んでいる。*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る。国内で栽培されているジャガイモ系統は日本産の *phyloptype I* 青枯病菌を対象に抵抗性育種がなされているが、*phyloptype IV* は想定していないため、*phyloptype IV* 青枯病菌の侵入地域ではジャガイモ生産に被害が発生している。

これまでの研究で、ナスは我が国で分離される *phyloptype IV* 青枯病菌が共通に持つ HopBF1 エフェクターを認識し、HR を伴う強力な青枯病抵抗性を発揮することを明らかにしている。HopBF1 ファミリーエフェクターは多くの植物病原細菌に分布しており、ナスは青枯病菌だけでなく、*Pseudomonas syringae* の HopBF1 も認識して HR を誘導する。このため、HopBF1 を認識する *R-BF1* 抵抗性遺伝子は HopBF1 ファミリーエフェクターを持つ多くの植物病原細菌に有効と考えられる。*Pseudomonas syringae* HopBF1 は植物の HSP90 をリン酸化してシャペロン活性を失わせることが報告されている。ナスは HopBF1 のタンパク質リン酸化活性を何らかの形で感知して過敏感反応 (HR) を誘導すると考えられるが、HSP90 に対する病原菌の攻撃を感知する抵抗性タンパク質はこれまで知られておらず、*R-BF1* の実体とエフェクター認識機構は大変興味深い。

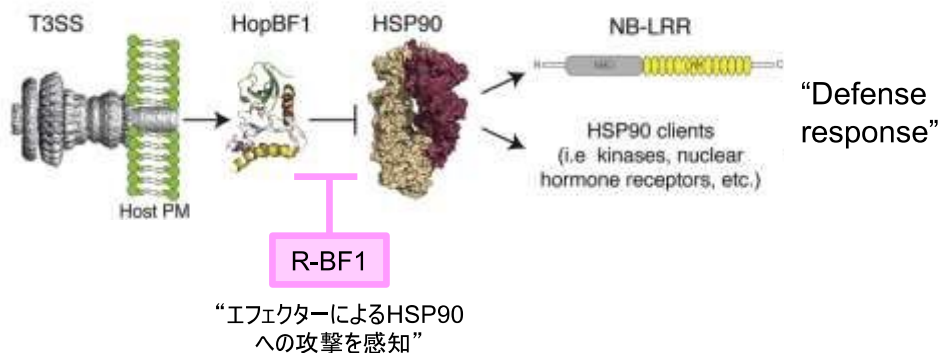


図 7. ナス *R-BF1* 抵抗性タンパク質による HopBF1 エフェクターの認識
青枯病菌は植物に感染するとタイプ III 分泌装置 (T3SS) から HopBF1 エフェクターを植物細胞内に注入する。HopBF1 は宿主 HSP90 をリン酸化してシャペロン活性を失わせ、抵抗反応を抑制する。*R-BF1* は HopBF1 のタンパク質リン酸化活性を感知して抵抗反応を誘導する。

ナスは東南アジアで有史以前から栽培されており、世界的に大きな遺伝資源が存在する。今年度、世界各地から収集されたナスの代表系統 (コアコレクション) を探索し、HopBF1 を認識できない (HopBF1 に対して HR を誘導しない) ナス系統を 11 見出した。これら系統は HopBF1 を認識する抵抗性遺伝子 (*R-BF1*) に null 変異を持つと推察される。これらナスはごく近縁の関係にある系統を除くと 8 グループに大別でき、うち 6 系統では HopBF1 を認識するナス系統がごく近縁に存在することも明らかとなった (図

8)。これら HopBF1 認識の異なるナス系統の組み合わせは、今後、抵抗性遺伝子 *R-BF1* を絞り込む際に重要な研究材料になると考えられる。

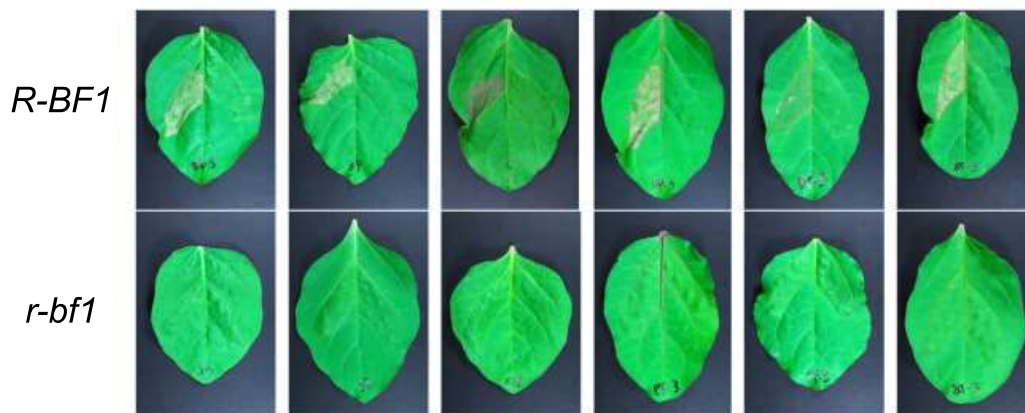


図 8. ナスコアコレクションを利用した HopBF1 を認識しないナス系統の探索
ナス本葉の左側に HopBF1 を持つ phylotype IV 青枯病菌の野生株を接種し、右
側には $\Delta hopBF1$ 変異株を接種した。下段はコアコレクションから見出された
HopBF1 を認識しないナス系統 (*r-bf1*)。上段はそれらにごく近縁の HopBF1 を
認識するナス系統 (*R-BF1*)。写真は接種 24 時間後に撮影。

HopBF1 を認識する抵抗性遺伝子 *R-BF1* の性格付けを目的に HopBF1 を認識するナス系統 (HR^+) と認識しないナス系統 (HR^-) を交配した交配後代集団の表現型を調査した (表 1)。その結果、 $HR^+ \times HR^-$ の F1 系統及び $(HR^+ \times HR^- F1) \times HR^+$ の戻し交雑 (BC) 系統では調べたすべての個体が HopBF1 を認識し、 $(HR^+ \times HR^- F1) \times HR^-$ の戻し交雑系統では約半数が HopBF1 を認識した。一方、 $HR^+ \times HR^-$ の自殖 F2 系統では約 70%の個体が HopBF1 を認識した。また、 $HR^+ \times HR^-$ 由来の RIL 系統では約半数が HopBF1 を認識した。以上の結果は、HopBF1 を認識する抵抗性遺伝子 *R-BF1* が優性 1 遺伝子であることを示している。

表 1. HopBF1 に対する認識が異なるナス系統の交配後代の表現型

交配後代集団	HR 誘導あり	HR 誘導無し
$HR^+ \times HR^-$ F1	8/8 (100%)	0/8 (0%)
$(HR^+ \times HR^- F1) \times HR^+$	6/14 (43%)	8/14 (57%)
BC		
$(HR^+ \times HR^- F1) \times HR^-$	16/16 (100%)	0/16 (0%)
BC		
$HR^+ \times HR^-$ F2	73/104 (71%)	31/104 (29%)
$HR^+ \times HR^-$ RIL	52/92 (57%)	40/92 (43%)

2-2. ナス青枯病抵抗性遺伝子 *R-AX2* 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。本抵抗性遺伝子はナスに交配導入可能な強度青枯病抵抗性遺伝子として初めて見出されたものである。

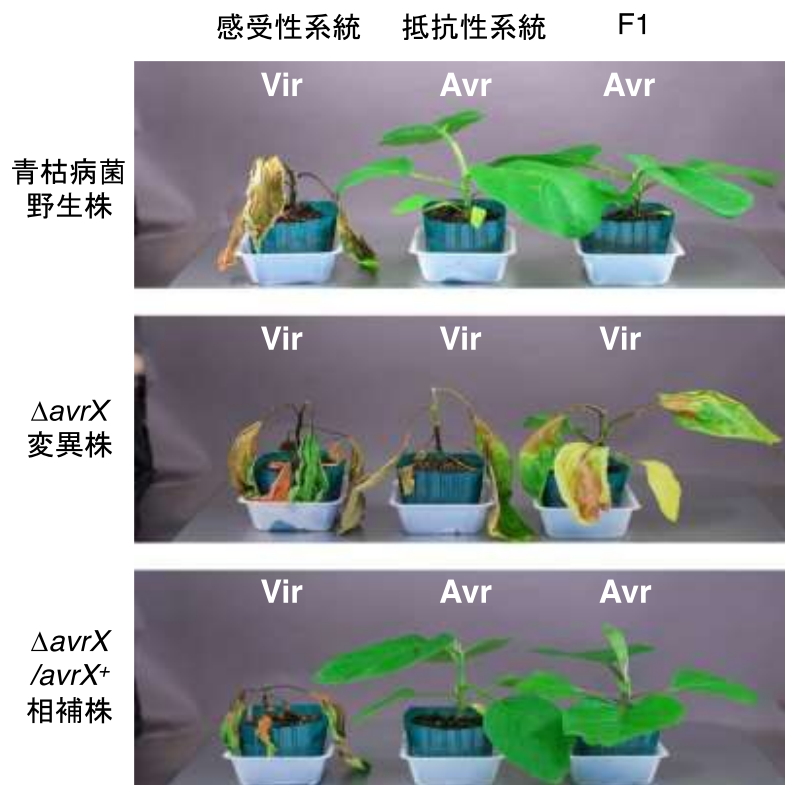


図9. 青枯病強度抵抗性のナス系統は青枯病菌の *Avr* エフェクターを認識するナスの青枯病感受性系統、抵抗性系統及びそれらの交配後代 (F1) の青枯病抵抗性。抵抗性系統は青枯病菌の特定の *Avr* エフェクターを認識して、抵抗性を発揮する。

図9で示すように、抗性系統はナス青枯病菌が持つ特定の *Avr* エフェクターを認識して抵抗反応を誘導することから、本系統が持つ抵抗性遺伝子 *R-AX2* の実体は NBS-LRR 抵抗性タンパク質遺伝子である可能性が高い。現在、抵抗性ナス系統と感受性ナス系統の交配後代集団 (F2) の青枯病抵抗性を評価しており、その結果を *R-AX2* 遺伝子同定に活用したいと考えている。

令和5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 (*招は招待講演)

向原隆文

青枯病菌におけるナス病原性適応の分子機構 (*招)

令和5年度植物感染生理談話会

令和5年9月4-6日(岡山)

向原隆文

エフェクターから見たナス科作物の青枯病抵抗性 (*招)

令和5年度RIBSバイオサイエンスシンポジウム

令和5年12月1日(オンライン開催)

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)
- 科学研究費補助金・基盤B (分担 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6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