

氏名	藤岡 佳代子
授与した学位	博士
専攻分野の名称	農学
学位授与番号	博甲第5337号
学位授与の日付	平成28年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科 バイオサイエンス専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	リモネンによる病原糸状菌の病原性制御と宿主植物における誘導抵抗性に関する研究
論文審査委員	教授 豊田 和弘 教授 一瀬 勇規 准教授 能年 義輝

### 学位論文内容の要旨

食の量と質の確保は人類にとって最重要課題の1つである。作物の病害による損失は、毎年、全生産額の約14%、約10億人分の食糧に相当するとされている。しかし、さらなる農地拡大は地球環境への負荷を与えることが危惧され、損失を軽減する一刻も早い策定が望まれている。さらに、近年のエネルギー状況に鑑みれば、今後、化石エネルギーを減少させた作物生産は不可避の課題である。そのためにも化学農薬に替わる代替農薬（生物農薬など）や代替防除技術の開発、あるいは化学農薬への依存度を減らした新しい方策を提案するための研究が必要であると考えられる。

著者が顧問を務めた岡山県立矢掛高等学校サイエンス部では、柑橘皮から放出される何らかの揮発性成分が作物の重要病原菌であるうどんこ病菌の病原性（分生胞子の発芽やその後の侵入器官形成）に大きく影響することを見出した。すなわち、柑橘皮を入れた密閉シャーレ内に置いたタマネギ鱗片上でのうどんこ病菌の観察から、柑橘皮と非接触下でも分生胞子は発芽しないか、あるいは発芽してもその形態は異常となることを示した。岡山県を含む瀬戸内海沿岸地域では、柑橘類の生産とそれらを利用した加工産業が盛んであり、これらの実験的事実を踏まえ、柑橘皮（産業廃棄物）を活用した「省エネ防除技術」の可能性についての課題研究に取り組んできた。

このような状況を受けて、本学位論文では、柑橘皮の主要な揮発性成分であるリモネンに着目し、病原糸状菌に対する直接的な影響と植物に対する抵抗性誘導の有無について解析している。リモネンはモノテルペノイドの1種であり、柑橘皮に多量に含まれ香りを構成する物質である。本研究では、まず、うどんこ病菌を含む複数の病原糸状菌に対する直接的な作用として、胞子発芽や発芽管伸長あるいは付着器からの穿孔に対する影響について *in vitro* で調べた。その結果、病原菌の種類によって感受性は異なるものの10  $\mu\text{mol/L}$ 以上の処理によって発芽を始めとする一連の形態形成が著しく抑制されることが明らかとなった。一方、密閉容器内でリモネンをガス化させ、同容器内に一定期間静置したシロイヌナズナに誘導される代謝変動について、*EF1- $\alpha$*  遺伝子（恒常発現遺伝子）ならびに防御ホルモン誘導性の *PRI*（サリチル酸誘導性）および *PDF1.2* 遺伝子（ジャスモン酸誘導性）の発現を指標として解析したところ、アクチン遺伝子は処理の有無にかかわらず変化はなかったが、*PDF1.2*-mRNA は処理後6時間以内に急速に蓄積し、その効果は処理の濃度や時間に依存することが示された。事実、リモネンで6または24時間処理（前処理）したシロイヌナズナの耐病性について調べたところ、アブラナ科野菜類炭疽病菌の分生子による侵入は阻害され、病斑は大きく軽減すること、さらにその効果はリモネンの処理を終えても少なくとも1週間持続することなどが明らかとなった。同様の効果はアブラナ科の作物、コマツナをリモネンで処理した場合にも認めている。一方、リモネン処理で誘導される防御応答について、*PDF1.2* 遺伝子のプロモーター：*GUS* を導入した形質転換シロイヌナズナを使って調べ、わずか6時間のリモネン処理によって幼苗全体が陽性反応（*GUS* 染色）を呈することを確認している。

以上から、リモネンは病原糸状菌に対する作用だけでなく、それ自体が植物の病害抵抗性を促進する作用をもつことが明らかとなった。すなわち、適切な時期に適切な濃度を処理することで植物病害を軽減させる有効な方法の1つとして期待できることがわかった。

## 論文審査結果の要旨

食の量と質の確保は人類にとって最重要課題の1つである。作物の病害による損失は、毎年、全生産額の約14%、約10億人分の食糧に相当する。しかし、さらなる農地拡大は地球環境への負荷を与えることが危惧され、損失を軽減する一刻も早い方策が望まれている。そのためにも化学農薬に替わる代替農薬の開発あるいは化学農薬への依存度を減らした防除技術を提案するための研究が必要である。申請者は、自身が顧問として在籍する岡山県立矢掛高等学校サイエンス部において、カンキツ皮から放出される何らかの揮発性成分がうどんこ病菌の病原性（分生胞子の発芽やその後の侵入器官形成）に大きく影響することを見出し、カンキツ皮（副生物）を活用した「省エネ防除技術」の可能性について言及してきた。すなわち、カンキツ皮を入れた密閉シャーレ内に接種したうどんこ病菌の観察から、カンキツ皮と非接触下でも分生胞子は発芽しないか、あるいは発芽してもその形態は異常となることを明らかにしている。このような状況を受けて、本学位論文では、カンキツ皮の主要な揮発性成分であるリモネンに着目し、病原糸状菌に対する直接的な影響と宿主植物に対する抵抗性誘導の有無について解析している。その結果、病原菌の種類によって感受性は異なるものの10  $\mu\text{mol/L}$  以上の処理によって病原菌の分生胞子の発芽やその後の形態形成が著しく抑制されることを示し、また、リモネンをガス化させた密閉容器内に一定期間静置したシロイヌナズナに誘導される防御応答の解析から、ジャスモン酸で調節される *PDF1.2*-mRNA が処理後6時間以内に急速に蓄積し、その効果は処理濃度や時間に依存することなどを明らかにしている。このリモネンに対する応答については、*PDF1.2* 遺伝子プロモーター：*GUS* を導入した形質転換シロイヌナズナを使った解析でも実証しており、6時間の前処理で個体全体に *PDF1.2* 遺伝子が活性化され、アブラナ科野菜類炭疽病菌に対する耐性（耐病性）が付与されることを実験的に示した。また、この作用はアブラナ科野菜の1つであるコマツナにも有効であるとしている。以上から、リモネンは病原糸状菌に対する直接的な作用だけでなく、それ自体が植物の病害抵抗性を促進する作用をもつことを示し、これらの実験結果を踏まえて、リモネンを活用した減農薬へ向けた可能な防除方法について考察している。このように、同氏の学位論文はリモネンによる植物の他感作用についての基礎的な知見だけでなく、それを活用した可能な防除技術についての提案など、応用的にも幾多の価値を含んでいる。したがって、博士（農学）に値するものと判断した。