

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 22 日現在

機関番号：82111

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25660033

研究課題名(和文)ACC分解エンドファイト接種によるファイトアレキシン産生抑制と品質制御の可能性

研究課題名(英文)Changes in volatiles in vegetables inoculated with ACC deaminase-producing bacteria

研究代表者

田中 福代(TANAKA, Fukuyo)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・中央農業研究センター土壌肥料研究領域・上級研究員

研究者番号：50355541

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：植物は外的ストレスを受けるとエチレンを生産する。多くの場合、ストレスエチレンは過剰に生産されることから、エチレンの前駆物質ACCを分解するエンドファイトの利用によりその生成を制御することにより、品質と生産性の向上を図ることが可能と考えた。
有機野菜等から分離した3菌株をニンジン種子に接種したところ、葉において香気成分の有意な変動があり、ストレス応答と関連する揮発性成分組成の変動が確認された。なお、リンゴ果実におけるACC分解細菌密度とエチレン発生量との関連は認められず、特異的にエチレン生成量が減少しているリンゴ樹におけるエチレン生成阻害要因はリンゴ樹の制御によるものと推定された。

研究成果の概要(英文)：Bacterial ACC deaminase is one of the key tools to ameliorate plant stress by lowering ethylene level in plants. The effects of ACC deaminase-producing bacteria on the volatile profiles in plants have not been examined to date. To address this, we performed metabolic profiling of volatiles in carrots following inoculation of the bacteria producing ACC deaminase
Results:A total of 11 bacterial strains having the activity to cleave ACC were isolated from inner part of vegetables and fruits. Three of them belonged to Pseudomonas could reduce the levels of (E)-2-hexenal and the other volatiles in the leaves of carrot following inoculation of seeds.
Conclusions: The isolated endophytes producing ACC deaminase activity could alter the composition of volatiles in plants, probably through lowering ethylene level in plant.

研究分野：分析化学

キーワード：ACC分解細菌 エチレン 揮発性成分 植物

1. 研究開始当初の背景

植物への外的ストレスはエチレンの産生を促し、植物が自ら抵抗性を誘導するきっかけとなる。一方で、エチレン生成は多くの場合過剰で、生育抑制、ファイトアレキシンの蓄積などをもたらすため、体内レベルを適度に保つことは植物にとって有利であると考えられている。特に、ファイトアレキシンは多くが苦みを呈し、香味の点からは低濃度が望ましいが、その制御法は十分検討されていない。

申請者はエチレン生成が特異的に少ないリンゴ樹を見つけ、その幼果中からエチレンの前駆物質である ACC (1-アミノシクロプロパンカルボン酸) を分解するエンドファイトを分離した。ACC 分解エンドファイトは近隣のリンゴ樹からは分離されず、これらの樹の間では、代謝物プロファイルが大きく異なった。これより、果実中に ACC 分解エンドファイトが存在し、ACC の分解によりエチレンレベルを低下させ、二次代謝に強く影響している可能性を考えた。また、病害虫ストレスがニンジン・シソ等の揮発性成分プロファイルや香り特性・嗜好性に強く影響すること、外的に与えたエチレンがニンジンの揮発成分プロファイルに外的ストレスと同様の影響を及ぼすことなどを見出していた。

2. 研究の目的

エチレン生成が特異的に少ないリンゴ樹のエチレンレベルにおける ACC 分解エンドファイトの寄与を明らかにする。次いで、ACC 分解エンドファイトに感染させた植物を用い、外的ストレス時のエチレン発生とこれに応じた生育抑制やファイトアレキシンの産生に対する抑制効果を解析し、ACC 分解を介した外的ストレス時の作物の生育促進と嗜好性向上の可能性を探る。

3. 研究の方法

(1) 特異的にエチレン生成量が少ないリン

ゴ樹における ACC 分解エンドファイトの寄与近隣の‘ふじ’リンゴ樹間のエチレンレベルと ACC 分解細菌密度を解析した。菌密度は ACC を唯一の窒素源とする選択培地を用いた最確値法により実施した。また、エチレン生成量とリンゴの香り成分プロファイルの関連を調査した。

リンゴに加え、市場から購入した同一品種のトマト、キュウリ、ニンジンを試し、上記の選択培地を用いて最確値法により ACC 分解細菌数を計数した。また、同一ロットの試料について揮発性成分プロファイルを比較した。

(2) ACC 分解エンドファイトの接種効果の解析

ニンジン 向陽2号種子に対して3種類の菌株 (OFT2, OFT5, RH7) の単独接種または非接種の区を設け、1/10000a のポットで栽培した。葉と根部に分け揮発性成分を分析した。

シソ ACC 分解エンドファイト OFT2 株接種と農薬による防除処理を設け、ガラス室内で栽培した。81 日後に展開葉を採取し、抽出液の揮発性成分を分析した。

4. 研究成果

(1) 特異的にエチレン生成量が少ないリンゴ樹における ACC 分解エンドファイトの寄与リンゴ果実における ACC 分解細菌密度とエチレン発生量との関連は認められなかった。一方、特異的にエチレン生成量が減少しているリンゴ樹においては、植物の ACC 合成酵素遺伝子発現の低下が認められ、エチレン生成阻害要因は ACC 分解エンドファイトよりも、リンゴ樹の制御によるものと推定された。エチレン生成量の少ないリンゴの果実は、特徴的にエステル類が少ない香りプロファイルを示し、香りプロファイルの第一主成分スコアはエチレン発生量と高い相関を示した (図 1)。

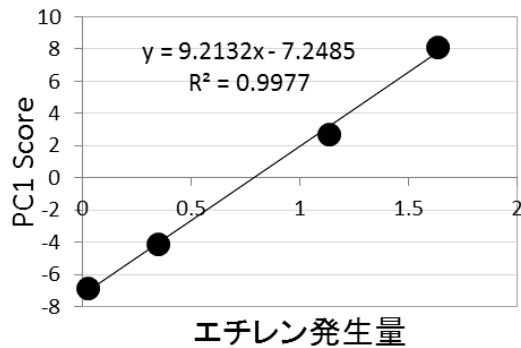


図1．リンゴのエチレン発生量と香り成分の主成分スコア

一方、野菜類においては最確値法により市販野菜（キュウリ、トマト、ニンジン）における ACC 分解細菌密度の相違を検討したところ、それぞれロット間に密度の差が認められた。揮発性成分の発生量と菌密度に緩い関連が認められる事例があり、さらに検討することとした。

(2) ACC 分解エンドファイトの接種効果の解析

有機栽培野菜を中心に ACC を唯一の窒素源とする選択培地で生育可能な細菌エンドファイトを収集した。リョクトウ胚軸の伸長阻害の緩和や ACC 分解酵素活性から ACC 分解能を有する 11 菌株を選抜した。

そのうち、酵素活性や胚軸の生長に対する効果の異なる *Pseudomonas* 属の 3 菌株を、接種試験に供試した。

ニンジン種子に 3 種の *Pseudomonas* 属細菌を接種し、80 日間栽培し、葉と根に分けて揮発性成分の分析を行った。ニンジンにおける主要な揮発性成分は、モノテルペン、セスキテルペンと C6 化合物であった。

葉において香り成分の有意な変動があり、ストレス応答と関連する揮発性成分組成の変動が確認された。特に、代表的な GLV (Green Leaf Volatiles) である 2-ヘキセナールで顕著であった(図2)。

以上から、ACC 分解細菌によるエチレンレベルの変化がストレス応答成分である GLV 等の

濃度に影響を及ぼした可能性が推定された。揮発性成分プロファイルが変動するメカニズムについて引き続き検討する予定である。

懸濁液への浸漬により接種したシソ苗をポットに移植し、ガラス室内で 81 日間栽培し、シソの様相の観察および自然発生したハダニ個体数のカウントを行った。ACC 分解細菌を接種したシソ葉では GLV 濃度が低下し、ハダニ個体数が減少した。この現象については再現性の確認を行う必要がある。

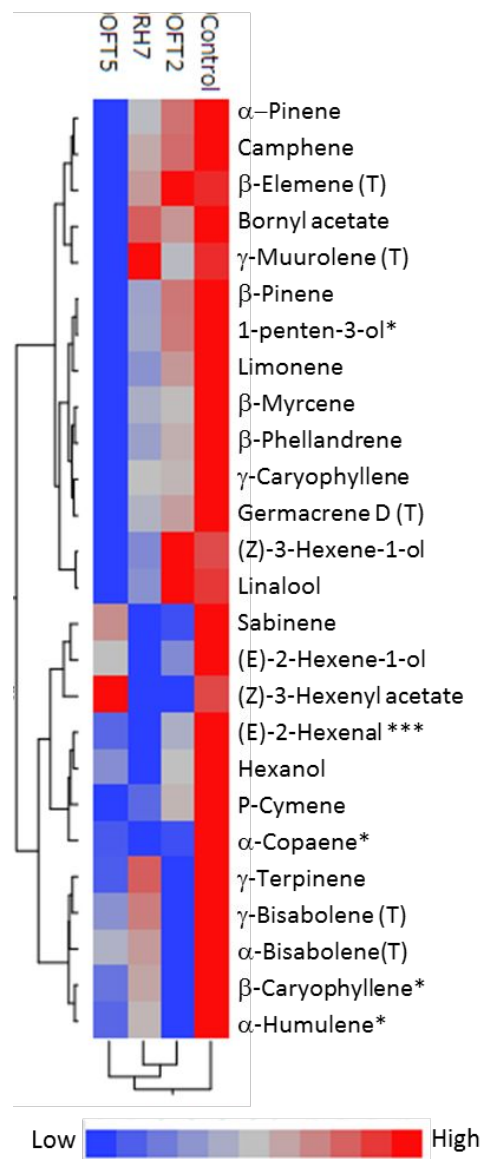


図2．ニンジン葉揮発性成分のヒートマップ (T) は仮同定

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Changes in volatiles in carrots inoculated with ACC deaminase-producing bacteria isolated from organic crops. Matsuoka H., Ohwaki Y., Tohnooka-Terakado J., Tanaka F. Plant Soil. 10.1007/s11104-015-2769-x on-line 2015.12. in press (査読あり)

〔学会発表〕(計 3 件)

「ACC deaminase を産生するエンドファイトの接種がニンジンの揮発性成分に及ぼす影響」大脇良成, 松岡宏明, 塔野岡(寺門)純子, 田中福代, 第 57 回日本植物生理学会年会 (2016 年 3 月 18 日) 岩手大学 (岩手県盛岡市)

「ACC 分解細菌の接種がシソの揮発性成分に及ぼす影響」田中福代, 松岡宏明, 大脇良成, 日本土壌肥料学会 (2015 年 9 月 10 日) 京都大学 (京都府京都市)

Evaluation of ACC deaminase-producing endophytic bacteria isolated from organic products by mung bean assay. Matsuoka H, Ohwaki Y, Terakado-Tonooka J and Tanaka F. Rhizosphere4. (2015 年 6 月 22 日) マーストリヒト (オランダ)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称: 微生物農薬、並びに植物の虫害抵抗性付与及び品質低下抑制方法

発明者: 田中福代, 大脇良成, 日本典秀, 塔野岡純子

権利者: 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構

種類: 特許

番号: 特願 2015-029054

出願年月日: 2015 年 2 月 17 日

国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等 準備中

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 福代 (TANAKA, Fukuyo)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 中央農業研究センター土壌肥料研究領域 上級研究員

研究者番号: 50355541