

平成 30 年 6 月 4 日現在

機関番号：82105

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26242017

研究課題名(和文) 漆生成メカニズムに基づく高品質漆の開発

研究課題名(英文) Development of high-quality urushi lacquer based on the mechanism of urushi producing

研究代表者

田端 雅進 (TABATA, Masanobu)

国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・主任研究員 等

研究者番号：40353768

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 33,100,000円

研究成果の概要(和文)：国産漆の増産のため、漆生成メカニズムを明らかにし、高品質漆の生産技術を開発する必要がある。本研究において漆生産量が異なるウルシクローン間で樹皮組織の基本構造に大きな違いは認められないが、漆生産量の多いクローンほど内樹皮が厚く、樹脂道数が多く、樹脂道合計断面積が有意に大きいことを明らかにした。また、植物ホルモンのエチレンにより形成層付近に傷害樹脂道形成を誘導することに成功し、漆生成に関わる胴枯病菌が分子生物学的手法ならびに形態的特徴から新種 *Diaporthe toxicodendri* であることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：To insure a stable demand of Japanese lacquer, development of high quality lacquer based on the mechanism of resin production in the lacquer tree, *Toxicodendron vernicifluum* is urgently needed. Significant basal inner bark structure among the clones with different raw lacquer yields was not noted. However, our study revealed that the clone of the tree with high raw lacquer yields exhibited thicker inner bark, large number and cross-sectional areas of resin canals significantly. We could succeed in inducing to produce the traumatic resin canals along the cambium by the treatment of the plant hormone such as ethylene, and described for the first time the fungus *Diaporthe toxicodendri* sp. nov., which causes canker disease on the stems and twigs of *T. vernicifluum*.

研究分野：森林保護学

キーワード：ウルシ 漆生成 植物ホルモン エチレン 傷害樹脂道 胴枯病

## 1. 研究開始当初の背景

漆はウルシから採れる樹液で、国宝や重要文化財等の修理・修復に必要不可欠である。国産漆は外国産漆に比べ、極めて品質が優れ、評価が高いにもかかわらず、高価であるために消費量は少なく、主に高級漆器の仕上げ用に使用されてきた。しかし、全国産漆の4割が平成19年からの日光の文化財修復で使用され始めたことによる深刻な漆の供給不足が起こっていることから、国産漆の安定的な需給体制を確立する必要性が高まっている。これまでウルシの成育適地やDNA解析によって成長の優れた系統が選抜できることを明らかにし、また、樹体内の漆の生成には菌類や植物ホルモンのジャスモン酸、エチレン、サリチル酸が関係していることを明らかにした。しかしながら、安定的な国産漆の増産のためには漆生成メカニズムを明らかにし、高品質漆の生産技術を開発する必要がある。

## 2. 研究の目的

漆生成メカニズムを明らかにし、高品質漆の生産技術を開発するため、以下の4つの項目を明らかにする。

(1) 漆生産量の違いと樹皮の組織学的特徴との関係性を明らかにする。

(2) 漆生成に関連する菌類や植物ホルモンの樹脂道形成に与える影響を明らかにする。

(3) 漆の特性を評価するため、漆生産量が異なるウルシクロンの漆の成分特性と硬化性を明らかにする。

(4) 漆生産量が異なるウルシクロンに対し、傷及び植物ホルモンのエチレンを与え、刺激応答に関わる遺伝子発現挙動を明らかにする。

## 3. 研究の方法

(1) 漆生産量が異なる3クロン、それぞれ4個体ずつ樹皮を採取・トリミングした後、凍結ステージとマイクロトームを用いて厚さ約30 $\mu\text{m}$ の木口面切片を作成し、サフラニンで染色した。その後、光学顕微鏡下で観察を行い、内樹皮の厚さ、樹脂道の個数及び断面積についてNIHImageJを用いて画像解析を行った。

(2) 岩手・青森県と北海道で発見した漆生成に関わる菌類を採取、分離及び培養を行い、分子系統解析及び形態的特徴を調べた。また、分離した胴枯病菌を4~9年生ウルシに接種し、接種部の病斑を調査して胴枯病菌の病原性を調べた。

2年生ウルシ苗木に植物ホルモンのエチレン、ジャスモン酸、サリチル酸に関連する処理薬剤としてエスレル、ジャスモン酸メチル、サリチル酸メチルを用いた。傷をつけた樹幹

(傷処理)と、傷をつけない樹幹(傷無処理)で処理薬剤を塗布して行った。傷処理は傷から1~2mmの位置で、傷無処理は塗布部から木口面切片の永久プレパラートを作成した後、光学顕微鏡を用いて観察を行い、NIHImageJを用いて内樹皮に形成された樹脂道について画像解析を行った。

(3) 漆生産量が異なるウルシクロンから採取された初辺・盛辺・末辺漆の脂質、水分量、酵素活性及び硬化性を調べ、それらの特性についてクロン間の差異を明らかにする。

(4) 漆生産量が異なるウルシクロンに対し、傷及びエスレルを処理し、時系列に沿って処理部を採取し、それぞれRNAを抽出した後、ライブラリーを作成し、次世代シーケンサーを用いて発現する遺伝子を取得して解析した。

## 4. 研究成果

(1) 漆生産量が異なるウルシクロンの樹皮組織で正常樹脂道と傷害樹脂道が形成され、樹皮組織に大きな違いは認められなかった。しかしながら、漆生産量が多いクロンの組織学的特徴は、内樹皮が厚く、内樹皮における単位接線幅あたりの樹脂道数が多く、樹脂道合計断面積が有意に大きいことを明らかにした。

(2) 漆生成に関わる胴枯病菌(図1)が分子生物学的手法ならびに形態的特徴から新種 *Diaporthe toxicodendri* であることを明らかにした。また、4~9年生ウルシに対し病原菌を接種した結果、すべての接種木に壊死斑が形成され、病原菌が壊死斑部から再分離され病原菌の病原性を確認した。



図1 罹病部から採取された胴枯病菌

苗木に対し処理薬剤としてエスレル、ジャスモン酸メチル、サリチル酸メチルを塗布し、樹皮組織の変化を観察した結果、傷無処理のエスレル、傷処理のエスレル処理、傷処理の

ジャスモン酸メチル処理で内樹皮の形成層付近に傷害樹脂道が認められ、エスレルは単独で傷害樹脂道形成(図2)を誘導し、ジャスモン酸メチルは傷害刺激を増幅することによって傷害樹脂道形成を誘導することを明らかにした。

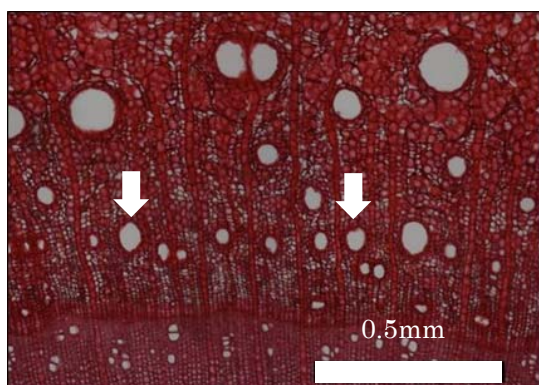


図2 傷無エチレンで形成された傷害樹脂道(矢印)

(3) 漆生産量が異なるウルシクローン間で初辺・盛辺・末辺漆の成分特性及び硬化性を比較した結果、クローン別の初辺・盛辺・末辺漆におけるウルシオール量、水分量、ラッカーゼ活性及び硬化性はほとんど差がなかった。

(4) 漆生産量が異なるウルシクローン間で大きく異なる遺伝子数は112遺伝子存在していること、収集した遺伝子情報が42,519遺伝子に収束していることを明らかにし、得られた42,519遺伝子を利用して主成分分析を行った結果、傷をつけた処理(傷のみ処理)と、傷をつけた後にエスレルを処理(傷・エスレル処理)、それぞれ両処理の時系列における遺伝子発現の挙動は大きく異なり、傷・エスレル処理が傷のみ処理とは異なる刺激を与えていることを明らかにした。また、エチレンに関連する遺伝子を42,519遺伝子から抜き出し、その発現挙動を調べた結果、18遺伝子のうち、3日目に強く発現する3遺伝子、14日目に強く発現する8遺伝子が認められた。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計4件)

①ANDOU Yuhō, MASUYA Hayato, AIKAWA Takuya, ICHIHARA Yu, TABATA Masanobu, *Diaporthe toxicodendri* sp. nov., a causal fungus of the canker disease on *Toxicodendron vernicifluum* in Japan. *Mycosphere*, 査読有, Vol.8, 2018, 1157-1167

②田中功二, 飯田昭光, 土屋慧, 小岩俊行, 松本則行, 中村弘一, 高田守男, 平井敬三, 平岡裕一郎, 田端雅進, 植栽適地の評価に向けたウルシの成長への立地環境および林分状況の

影響の解明, 日本森林学会誌, 査読有, Vol.99, 2017, 136-139

③田端雅進, 国産漆資源の現状と今後の展望, 山林, 査読無, Vol.1564, 2014, 57-63

④田端雅進, 木材の塗装材としての漆, NPO木の建築, 査読無, Vol.39, 2014, 40-43

[学会発表](計14件)

①升屋勇人, 安藤裕萌, 田端雅進, ウルシ胴枯病菌 *Diaporthe toxicodendri* のゲノム解析, 第129回日本森林学会大会, 2018年

②安藤裕萌, 升屋勇人, 相川拓也, 田端雅進, *Diaporthe toxicodendri* によるウルシ胴枯病, 第129回日本森林学会大会, 2018年

③田端雅進, 保坂路人, 山岸祐介, 半智史, 船田良, 異なるクローン内での樹皮組織、樹脂生産量及び植物ホルモンの関係, 第129回日本森林学会大会, 2018年

④石井智朗, 小谷二郎, 白旗学, 井城泰一, 田端雅進, ウルシ萌芽木の成長に与える胴枯病の影響, 第129回日本森林学会大会, 2018年

⑤泉湧一郎, 田村美帆, 田端雅進, 井城泰一, 渡辺敦史, 優良ウルシ選抜に向けた遺伝資源評価, 第129回日本森林学会大会, 2018年

⑥塚田健太郎, 岡田健汰, 山岸祐介, 田端雅進, 半智史, 船田良, ウルシの種子を用いた組織培養による植物体再生に関する研究, 第68回日本木材学会大会, 2018年

⑦岡田健汰, 塚田健太郎, 吉田裕子, Md Hasnat Rahman, 田端雅進, 半智史, 船田良, ウルシの種子からのカルス誘導と有用物質の解析, 第68回日本木材学会大会, 2018年

⑧安藤裕萌, 升屋勇人, 田端雅進, ウルシ胴枯病罹病部から得られた *Diaporthe* 属2種について, 日本菌学会第61回大会, 2017年

⑨石井智朗, 小谷二郎, 白旗学, 井城泰一, 田端雅進, ウルシ萌芽木の成長に与える密度の影響, 第128回日本森林学会大会, 2017年

⑩田端雅進, 小谷二郎, ウルシ萌芽木の健全性評価, 第127回日本森林学会大会, 2016年

⑪田村美帆, 田端雅進, 渡辺敦史, ウルシ形成層部位で発現する遺伝子の収集, 第127回日本森林学会大会, 2016年

⑫升屋勇人, 田端雅進, 遠藤力也, ウルシを加害するツタウルシノコキクイムシの随伴菌, 第127回日本森林学会大会, 2016年

⑬保坂路人, 山岸祐介, 田端雅進, 渡辺敦史, 半智史, 船田良, 樹脂生産量の異なるウルシ樹皮の組織構造の観察, 第65回日本木材学会大会, 2015年

⑭田端雅進, 小谷二郎, ウルシの萌芽更新とその阻害要因, 第126回日本森林学会大会, 2015年

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

田端 雅進 (TABATA Masanobu)  
国立研究開発法人森林研究・整備機構・  
森林総合研究所・主任研究員 等  
研究者番号：40353768

### (2)研究分担者

升屋 勇人 (MASUYA Hayato)  
国立研究開発法人森林研究・整備機構・  
森林総合研究所・主任研究員 等  
研究者番号：70391183

安部 久 (ABE Hisashi)  
国立研究開発法人森林研究・整備機構・  
森林総合研究所・主任研究員 等  
研究者番号：80343812

宮腰 哲雄 (MIYAKOSHI Tetsuo)  
明治大学・研究・知財戦略機構・研究  
推進員  
研究者番号：00062018

船田 良 (FUNADA Ryo)  
東京農工大学・(連合) 農学研究科研究院・  
教授  
研究者番号：20192734

渡辺 敦史 (WATANABE Atsushi)  
九州大学・農学研究院・准教授  
研究者番号：10360471

小谷 二郎 (KODANI Jiro)  
石川県農林総合研究センター林業試験場・  
森林環境部長  
研究者番号：40450811

### (3)連携研究者

市原 優 (ICHIHARA Yu)  
国立研究開発法人森林研究・整備機構・  
森林総合研究所・主任研究員 等  
研究者番号：10353583

平岡 裕一郎 (HIRAOKA Yuichiro)  
国立研究開発法人森林研究・整備機構・  
森林総合研究所林木育種センター・  
主任研究員 等  
研究者番号：50370862

### (4)研究協力者

室瀬 和美 (MUROSE Kazumi)  
竹内 義浩 (TAKEUCHI Yoshihiro)