

(続紙 1)

京都大学	博士 (農 学)	氏名	大畑勇統
論文題目	リンゴ果実における昆虫の食害に対する化学的防御応答の解明		
(論文内容の要旨)			
<p>モモシクイガ <i>Carposina sasakii</i> はリンゴ <i>Malus domestica</i> の主要な害虫である。幼虫は果実内に穿孔して内部を食害しながら幼虫期を過ごし、また成虫の発生は数ヶ月にわたってばらつくため殺虫剤散布による防除が難しい。さらに、本種はリンゴの総輸出量の 75% を占める台湾に生息せず、検疫対象となっている。近年、一部のリンゴ品種(‘ふじ’、‘ジョナゴールド’)がモモシクイガ幼虫に対し極めて強い抵抗性を発現すると報告された。この抵抗性は果実が樹に実った状態(着果)でのみ確認され、樹から摘み取った果実(摘果)では発現しない。本研究では、この新奇な現象を ① 果実に誘導される化学的防御、② 防御に関わる師管液成分、という 2 つの側面から分子レベルで解明し、リンゴが本来もつ抵抗性を利用した省農薬リンゴ栽培への応用を目指した。</p> <p>第 1 章の序論に続く第 2 章では、モモシクイガ幼虫を飼育ための人工飼料を開発した。これまでのモモシクイガの飼育では、幼虫にリンゴ果実を与えて生育させていたが、安定した生理活性評価試験の実施には専用の人工飼料の開発が必要であった。そのため、凍結乾燥したリンゴ粉末を用い、配合を模索しながら既存の人工飼料に添加したところ継代飼育が可能となり、以降の研究に活用されることとなった。</p> <p>第 3 章では、品種間でのモモシクイガ抵抗性と食害誘導性化合物の誘導量を比較した。その結果、‘ふじ’に加えて、‘あおり 24’、‘つがる’、‘陸奥’では、着果におけるモモシクイガ幼虫の死亡率は 75% 以上であり、‘ふじ’と同様に非常に強い抵抗性を示した。一方で、‘王林’、‘北斗’、‘千雪’では死亡率が 45% 程度であり、抵抗性は低かった。モモシクイガ抵抗性の強い品種の食害部においてクロロゲン酸類(CGA、CoQA)の濃度が他品種に比べ高く、クロロゲン酸類がモモシクイガへの防御物質として機能すると推測した。</p> <p>第 4 章では、酸化酵素の一種、peroxidase (POD) の食害部における酵素活性を測定した。その結果、POD 活性は着果のみで食害部局所的に顕著に上昇する一方で、物理的傷害や摘果食害部では活性上昇は確認されなかった。これより、POD の食害誘導には、食害時特異的なエリシターと樹体から流入するシグナル分子が関与すると推察した。</p> <p>第 5 章では、食害部で誘導されたクロロゲン酸類と POD のモモシクイガ幼虫に対する協奏的な生育抑制活性とそのメカニズムについて調べた。CGA は catechol 構造が POD と反応して <i>o</i>-quinone に変換されることを quinoxaline 誘導體化を用いた有機化学的手法で明らかにした。さらに、<i>o</i>-quinone は幼虫腸管内のタンパク質に</p>			

非特異的に結合することで幼虫の生育を抑制することが分かった。一方、CoQA と POD の反応生成物は昆虫の血糖である trehalose 代謝系に作用し、血中 trehalose 濃度を低下させる機構が推測された。さらに、CoQA と POD との反応の主生成物を単離し、NMR スペクトルから CoQA 二量体と決定した。CoQA のような phenol 型化合物と POD との反応生成物が昆虫の生育を抑制する機構はこれまでに報告のない新規な作用メカニズムである。

第 6 章では、リンゴ果実の食害応答に対する師管液成分の関与を調べるために、果柄上部にある果台部の師管を除去する環状剥皮処理の影響を調べた。その結果、環状剥皮すると、モモシクイガ幼虫の生存率は、着果に比べ高くなる傾向にあった。また、クロロゲン酸類や POD の誘導も環状剥皮により抑制された。したがって、着果で発現するモモシクイガ抵抗性と食害応答には師管液成分が関与することが示唆された。さらに、摘果と着果食害部の遺伝子発現量を RNA-seq 解析により比較した結果、着果食害部特異的にクロロゲン酸類の生合成に関わるシキミ酸経路とフェニルプロパノイド生合成経路遺伝子の発現が活性化されていた。この結果から、着果食害部ではクロロゲン酸類が *de novo* 合成により誘導されると推測された。

第 7 章では、本論文で明らかになったリンゴ果実のモモシクイガ幼虫の食害に対する化学的防御メカニズムについて、果実食害部で誘導されるフェノール性有機化合物の構造的特性とモモシクイガ幼虫に対する生理作用の観点から考察した。また、着果でのみ発現する食害応答の制御メカニズムについて検討し、師管液成分の分析に関する先行研究も踏まえて、着果のリンゴ果実の抵抗性の発現に師管液中の光合成産物や植物ホルモンが関与すると推定した。さらにリンゴ果実が本来持つ抵抗性がほかのリンゴ果実害虫に作用する可能性について述べ、この抵抗性の解明がリンゴ栽培の害虫防除体系に応用される発展性について、近年の品種開発技術やゲノム編集技術を交えて論じた。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は 1 頁を 38 字×36 行で作成し、合わせて、3,000 字、を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 words で作成し
審査結果の要旨は日本語 500～2,000 字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

モモシクイガはリンゴの難防除害虫の一種であり、抵抗性品種開発のため、リンゴが本来もつ抵抗性の利用が模索されてきた。近年、一部のリンゴ品種でモモシクイガに対し、強力な抵抗性を発現することが明らかになった。また、この抵抗性は果実が樹体に着果した状態でのみ発現するが、この分子メカニズムは明らかにされていない。本論文では、リンゴ果実のモモシクイガ幼虫に対する化学的防御機構について、誘導性化合物の果実内動態とモモシクイガへの生理活性を解析し、リンゴ果実が篩管液成分を介した複合的な防御応答を行うことを明らかにした。評価できる点は以下の通りである。

1. リンゴ凍結乾燥粉末を独自の配合で既存の人工飼料に添加することで、モモシクイガ幼虫を継代飼育できる専用人工飼料を開発した。
2. モモシクイガ抵抗性が強いリンゴ品種として‘あおり 24’、‘陸奥’、‘つがる’を発見した。
3. 一部のリンゴ品種の着果被害部には、クロロゲン酸類 (CGA, CoQA) と peroxidase (POD) が局所的に誘導されることを明らかにした。
4. クロロゲン酸類と POD の反応生成物はモモシクイガ幼虫の生育を抑制し、CGA は腸管内タンパク質に、CoQA はトレハロース代謝系にそれぞれ作用する可能性を示した。
5. 着果におけるクロロゲン酸類と POD の被害誘導には、篩管液成分の果実への流入が関与することを明らかにした。

以上のように、本論文はリンゴ果実がモモシクイガ幼虫の被害に対して、樹体との篩管液を介したクロストークにより、被害部局所的な防御応答を発現することを示した。これは、植物の化学的防御に関わる新たな知見を与えるものであり、化学生態学・農薬科学・植物生理学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士 (農学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、令和 5 年 2 月 14 日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士 (農学) の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

また、本論文は、京都大学学位規程第 14 条第 2 項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： _____ 年 _____ 月 _____ 日以降 (学位授与日から3ヶ月以内)