

令和元年6月22日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H04886

研究課題名(和文) 匂い成分オンサイト質量分析による水稻害虫トビイロウンカの品種選好・増殖特性の解明

研究課題名(英文) Analysis of varietal preference and varietal difference on population growth in the rice brown planthopper by odor component on-site mass spectrometry

研究代表者

松村 正哉 (Matsumura, Masaya)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・本部・所長・部門長・部長・研究管理役等

研究者番号：00370619

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,800,000円

研究成果の概要(和文)：水稻害虫トビイロウンカの品種選好・増殖特性について、オンサイト質量分析及び稲体成分分析によって解析した。トビイロウンカの品種選好性については、イネにとりついた個体が吸汁を開始した際に発する匂い成分によって次の個体が引き寄せられる可能性が示唆された。高温登熟耐性品種「にこまる」でトビイロウンカの後期発生量が多い(第1世代から第2世代にかけての増殖率が高い)原因として、穂揃期の茎非構造性炭水化物の含有率が高いことが確かめられた。トビイロウンカの品種選好と増殖には、圃場試験の結果で認められた穂揃期の茎非構造性炭水化物とともに、イネ茎葉における窒素代謝が密接に関与する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、「にこまる」などの高温登熟耐性品種でトビイロウンカが多発生と被害が報告されている。本研究で明らかになった、トビイロウンカの品種選好性や多発生には穂揃期のイネ体の茎非構造性炭水化物やイネ茎葉における窒素代謝が密接に関与しているという知見は、トビイロウンカが多発生しにくい、被害が軽減できる栽培・施肥管理手法の確立のための基礎的知見となる。これにより、水稻の安定生産に資することができる。

研究成果の概要(英文)：Varietal preference and varietal difference on population growth in brown planthopper (BPH) were analyzed by odor component on-site mass spectrometry. Preference test of BPH for rice varieties showed that overall most individuals were prone to prefer the rice variety that had been preferred by the first attached individual with a biased distribution between varieties tested, suggesting that the following individual may be attracted by some chemicals including odor components emitted when the individual starts sucking. Several nitrogen-containing odor components were detected. Field census revealed that the population growth rate of BPH from the 1st to 2nd generation was significantly higher on (a heat-tolerant cultivar) "Nikomaru" than on (a leading cultivar) "Hinohikari". Stem non-structural carbohydrate content at full-heading was closely associated with population growth and varietal preference. Nitrogen metabolism in rice plants may also be partially involved in population growth.

研究分野：応用昆虫学

キーワード：トビイロウンカ 品種選好性 個体群増殖

1. 研究開始当初の背景

トビイロウンカは梅雨時期に下層ジェット気流に乗って海外から飛来する稲の重要害虫である。近年、発生量が増加し被害発生の頻度が高まっている。その要因の一つに薬剤抵抗性の発達が挙げられており、より安定・持続的な防除対策のため安定で高度な抵抗性品種の育成に向けた研究推進が急務である。現在、日本では抵抗性遺伝子を導入した品種育成が進められている。これらの遺伝子の発現機構は主に吸汁阻害抵抗性に基づくものであるが、品種選好性など吸汁阻害以外の抵抗性形質については殆ど検討されていない。また、近年育成された良食味品種の中には、トビイロウンカの被害を受けやすいものがみられるが、圃場におけるトビイロウンカの増殖過程の品種間差異やその要因については不明な点が多い。

2. 研究の目的

近年の世界的規模での温暖化の進行、熱帯での新たなバイオタイプの出現により、国内での水稲害虫トビイロウンカの発生量増加による被害が深刻化している。本研究では、過去、現象としては知られてきたものの、メカニズムが未解明であるトビイロウンカの品種選好性と増殖特性の品種間差を分子レベルで解明する。稲や甘露由来の匂い成分をターゲットに、新たに開発したオンサイト大気圧化学イオン化装置を用いてオンサイト・リアルタイム質量分析を行い、ウンカの宿主選択・定位決定に関わる匂い成分・代謝産物を同定・定量する。本解析により、高度な水稲抵抗性育種・忌避剤開発等によるトビイロウンカが発生しにくい栽培管理体系を構築することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) トビイロウンカの品種選好過程の行動パターンの解析

先行研究で品種選好性に差があることが示唆された2品種を用いて、長日条件下でチョイスチャンバーや飼育ケージ内でのトビイロウンカの個体の品種選好過程を48時間まで観察した。同時に赤外線ビデオカメラで撮影(24時間後まで)し、行動パターンを解析した。複数個体を入れる条件での、個体間相互作用が選好性に影響するかを評価した。

(2) 匂い成分、甘露成分等の質量分析

品種選好性に差があることが示唆された2品種を抽出し、稲の茎由来の匂い成分、トビイロウンカの甘露の匂い成分について、大気圧イオン化質量分析システムで分析した。また、2品種の幼苗にトビイロウンカを放飼し、吸汁させ得られた甘露成分を対象に、ピコリットルプレッシャープローブエレクトロスプレーイオン化質量分析法を用いて前処理なしに試料中の代謝産物を解析した。

(3) トビイロウンカの圃場における増殖過程の品種間差異とその要因解明

九州沖繩農業研究センター(熊本県合志市)内の圃場においてジャポニカ品種の「ヒノヒカリ」、ジャポニカの高温暖耐性品種の「にこまる」、インディカ品種の「TN1」、日印交雑品種の「北陸193号」を植え、見取り法と粘着板法によってトビイロウンカ飛来後の経時的な個体数推移を調査した。トビイロウンカの個体群増殖過程と稲の栄養状態との関連性に注目しながら、品種間差異を明らかにした。また、(4)で得られた出穂期前後の稲体の成分分析データを用いて、トビイロウンカ

の個体群増殖過程と稲の栄養状態との関連性を解析し、トビイロウンカの水稲生育後期の増殖に出穂期前後の稲体成分が具体的にどのように関与しているかを解明した。

(4)出穂期前後の稲体の非構造的炭水化物、窒素、リン酸、ケイ酸含量等の成分分析

出穂期前後のイネの栄養状態の測定については、穂揃期と出穂後 20 日の 2 回、各品種とも各区分中庸な 3 株を株上げし、乾燥調整の後、葉身、穂、葉鞘・稈の全窒素、全リン酸含量を、葉鞘・稈については全ケイ酸含量、非構造的炭水化物 (NSC) 含量を測定した。これらの成分の含量とトビイロウンカのステージ別の増殖率等の関係性について解析した。

4. 研究成果

(1)トビイロウンカの品種選好過程の行動パターンの解析

トビイロウンカの定位位置であるイネの一部の茎部(根と地上部の接合部から上 15cm)のみをチョイスチャンバー内に収めた上で、選好性・行動パターンが評価できるチョイスチャンバーを用いた。長日条件下でこのチョイスチャンバーに 2 品種を入れ、10 個体の長翅雌を入れ 48 時間後にどちらに取りついているかを確認したところ、「たちすずか」と「ヒノヒカリ」のどちらかに対する明確な選好性は見られなかった。しかし、取りつく個体数は、どちらか一方に大きく偏っていることが多く、その原因を明らかにするため、最初の個体がどちらの品種に取りつくかの過程を赤外線ビデオカメラで撮影し、確認した。その結果、供試した 16 例中、12 例で最初に取りついた方の稲に対して、最終的に多くの個体に取りついていた。一方、2 例が最初の個体とは逆となった。残りの 2 例については判別ができなかった。また、最初の個体に取りつく時間および、その後の個体に取りつくタイミングは暗期に多いことも明らかになった。以上の結果から、今回の試験では、先行試験でみられた品種選好性は判然としなかったが、最初の個体が稲を加害した際に放出される何らかの匂い物質あるいは甘露に含まれる分子種が、その後の個体を誘引していることが示唆された。



図 1 . チョイスチャンバー

(2)匂い成分、甘露成分等の質量分析

質量分析計を用いて、オンサイトに稲の匂い成分分析を行うべく、長さ 1m、内径 2mm の長さの屈曲性のテフロン管を用い、匂い成分を遠隔サンプリングできるイオン源を製作した(図 2)。この方法は、キャリアガスを用いることなく(図 2 参照)揮発性・半揮発性成分を対象に高感度検出できる特長がある。具体的な例として、塩基性農薬では 1pg 以下の検出が可能であり、加熱用リボンヒーターの設定温度を 150 まで設定できる。この設計により匂い成分のテフロン器壁への吸着を

抑制できるため、メモリー効果を抑えたオンサイト臭気分析が可能になった(Usmanov et al., 2017)。

このイオン源を用いて、品種選好性の異なると思われる2品種、「ヒノヒカリ」「たちすずか」のポット稲を育成し、最高分げつ期から登熟期にかけて、トビイロウンカが特異的に寄生する株元15cmの茎の表皮を対象にオンサイトの臭気成分の分析を行った。その結果、両品種とも特異的な脂肪鎖を有する含窒素化合物が検出された(図3)。なお、「ヒノヒカリ」では最高分げつ期から出穂前にかけてこれら分子種が検出され、出穂以降は全く検出されなかったのに対し、「たちすずか」では最高分げつ期から登熟期にかけて検出された(Usmanov et al., 2017)。一方、甘露の臭気成分を対象にこの方法を用いた分析を行ったところ、特異的な分子シグナルを観測することはできなかった。上記2品種から採取した甘露成分について、プレッシャープローブエレクトロスプレーイオン化質量分析法により分析したところ、検出された分子種、および浸透圧に品種間差が認められた。

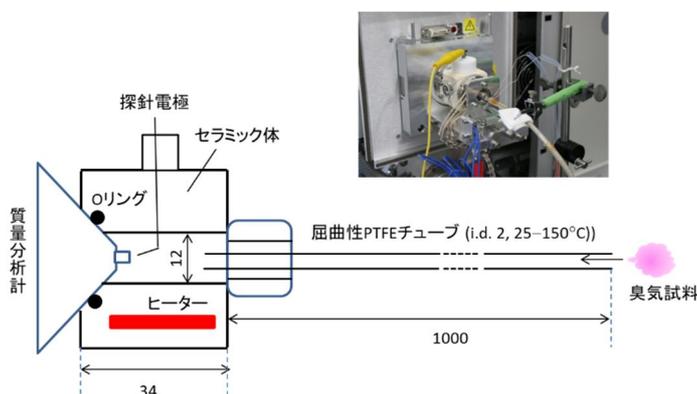


図2. オンサイト臭気分析を可能にするイオン源の概略図。挿入図はイオン源の写真(Usmanov et al., 2017)。

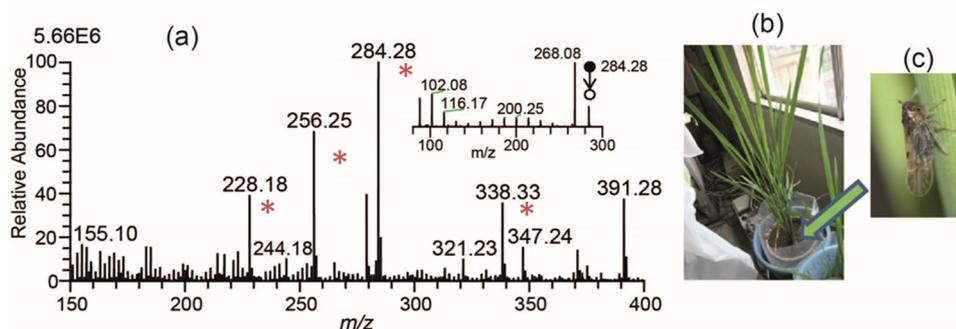


図3. ポット稲の株元の茎表皮由来の臭気成分のMSスペクトルを示す(Usmanov et al., 2017)。

(3) トビイロウンカの圃場における増殖過程の品種間差異とその要因解明

九州沖縄農業研究センター内の圃場において、2014~2018年に、「ヒノヒカリ」, 「にこまる」, 「TN1」, 「北陸193号」の4品種を植え、それぞれの品種におけるトビイロウンカの密度推移を調査した。2015年についてはトビイロウンカの自然発生が少なく、飼育虫を放飼しての試験となったため、増殖過程の解析から除外した。その結果、飛来世代の侵入量に関しては、4品種間で顕著な

差がみられなかった。一方、第1世代以降には顕著な品種間差異がみられた。「にこまる」では「ヒノヒカリ」に比べて第1世代から第2世代にかけての増殖率が高く、顕著な密度増加がみられた。また、「TN1」と「北陸193号」のトビイロウンカの発生量は「にこまる」と同様に多かった。「北陸193号」では第3世代にかけての増殖率も高かった。

(4) 出穂期前後の稲体の非構造的炭水化物、窒素、リン酸、ケイ酸含量等の成分分析

(3)と同じ圃場で栽培した水稻4品種を供試し、穂揃期、出穂後20日目の稲体の葉鞘・稈(茎)における非構造的炭水化物含有率(NSC)および穂、茎、葉身の窒素、リン酸、ケイ酸含有率を分析することで、トビイロウンカの水稲生育後期の増殖パターンに出穂期前後の稲体成分の多少が関与しうるかを統計学的に解析した。その結果、穂揃期のNSC含量がトビイロの第1~第2、第3世代にかけての増殖率と密接に関与することが強く示唆された。以上から、穂揃期の茎におけるNSC含有率が高いことが、「にこまる」でトビイロウンカの後期発生量が多い原因である可能性が示唆された。

<引用文献>

Usmanov, D. T., K. Hiraoka, H. Wada, M. Matsumura, S. Sanada-Morimura, H. Nonami, S. Yamabe (2017) Non-proximate mass spectrometry using a heated 1-m long PTFE tube and an air-tight APCI ion source. *Analytica Chimica Acta* 973: 59-67.
DOI: 10.1016/j.aca.2017.03.044

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計7件)

Usmanov, D. T., M. K. Mandal, K. Hiraoka, S. Ninomiya, H. Wada, M. Matsumura, S. Sanada-Morimura, H. Nonami, S. Yamabe (2018) Dipping probe electrospray ionization/mass spectrometry for direct on-site and low-invasive food analysis. *Food Chemistry* 260: 53-60.
DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.04.003

Usmanov, D. T., S. Ninomiya, K. Hiraoka, H. Wada, H. Nakano, M. Matsumura, S. Sanada-Morimura, H. Nonami (2018) Electrospray generated from the tip-sealed fine glass capillary inserted with an acupuncture needle electrode. *Journal of The American Society for Mass Spectrometry* 29: 2297-2304.
DOI: 10.1007/s13361-018-2062-3

Usmanov, D. T., K. B. Ashurov, S. Ninomiya, K. Hiraoka, H. Wada, H. Nakano, M. Matsumura, S. Sanada-Morimura, H. Nonami (2018) Remote sampling mass spectrometry for dry samples: Sheath-flow probe electrospray ionization (PESI) using a gel-loading tip inserted with an acupuncture needle. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 32: 407-413.
DOI: 10.1002/rcm.8045

Takaishi, R., D. T. Usmanov, S. Ninomiya, Y. Sakai, K. Hiraoka, H. Wada, M. Matsumura, S. Sanada-Morimura, H. Nonami, S. Yamabe (2017) Analysis of fluorene and 9,9-dialkylfluorenes by electrospray droplet impact (EDI)/SIMS. *International Journal of Mass Spectrometry* 419: 29-36.
DOI: 10.1016/j.ijms.2017.05.006

Usmanov, D. T., K. Hiraoka, H. Wada, M. Matsumura, S. Sanada-Morimura, H. Nonami, S. Yamabe (2017) Non-proximate mass spectrometry using a heated 1-m long PTFE tube and an air-tight APCI ion source. *Analytica Chimica Acta* 973: 59-67.

DOI: 10.1016/j.aca.2017.03.044

Usmanov, D. T., K. Hiraoka, S. Ninomiya, L. C. Chen, H. Wada, M. Matsumura, S. Sanada-Morimura, K. Nakata, H. Nonami (2017) Pulsed probe electrospray and nano-electrospray: the temporal profiles of ion formation from the Taylor cone. *Analytical Methods* 9: 4958-4963.

DOI: 10.1039/c7ay01275f

Usmanov, D.T., K. Hiraoka, H. Wada, M. Matsumura, S. Sanada-Morimura, H. Nonami (2016) Gaseous ion formation by the cavitation occurred between aqueous solutions and the ultrasonically vibrating blade studied by mass spectrometry. *International Journal of Mass Spectrometry* 411:34-39.

DOI: 10.1016/j.ijms.2016.11.009

〔学会発表〕(計1件)

松村正哉, 真田幸代, 藤井智久, 和田博史, トビイロウンカの圃場における増殖過程の品種間差異とその要因、第61回日本応用動物昆虫学会合同大会、2017

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：和田 博史

ローマ字氏名：Hiroshi Wada

所属研究機関名：国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構

部局名：九州沖縄農業研究センター

職名：上級研究員

研究者番号(8桁)：40533146

研究分担者氏名：平岡 賢三

ローマ字氏名：Kenzo Hiraoka

所属研究機関名：山梨大学

部局名：クリーンエネルギー研究センター

職名：特命教授

研究者番号(8桁)：80107218

研究分担者氏名：真田 幸代

ローマ字氏名：Sachiyo Sanada-Morimura

所属研究機関名：国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構

部局名：九州沖縄農業研究センター

職名：グループ長

研究者番号(8桁)：80533140