

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 18 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23780167

研究課題名(和文) 葉の被食防御物質を介した植物と植食性昆虫の相互作用ネットワークの解明

研究課題名(英文) Interactive networks between plants and insect herbivores through defense chemicals in the leaves

研究代表者

高橋 明子 (Takahashi, Akiko)

京都大学・野生動物研究センター・研究員

研究者番号：60568236

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：植食性昆虫の摂食による葉の防御レベルの変化やその範囲を測定するため、非破壊的な成分定量を近赤外分光法により試みた。コナラ、シラカシ、アラカシを対象とし、葉の吸光スペクトルを得、さらに防御物質(総フェノール)を定量し、PLS回帰を行った。得られた検量モデルから予測値の標準誤差が最少となるモデルを選択し、それぞれの種のベストモデルとした。コナラとアラカシおよび得られたモデルを用い、植食者による摂食実験を行った。同一シュート内および摂食刺激を受けたシュートより上部のシュートにおいて、防御物質が増える傾向が見られたが、モデル推定値の信頼区間が広く、再検討が必要である。

研究成果の概要(英文)：To examine changes of defense level and the extent in induced defense in leaves according to feeding by insect herbivores, I developed nondestructive models for estimating total phenol content in leaves with near infrared spectroscopy. I modeled relationship between absorbance spectra of *Quercus serrata*, *Q. myrsinaefolia*, and *Q. glauca* leaves and total phenol content by partial least squares regression, and obtained the best calibration models of each species based on the standard errors of prediction. Then I carried out feeding experiment by herbivores with *Q. serrata* and *Q. glauca*, and their models. It showed a tendency that the content of total phenols increased in the treated shoots and ones which grew on upper position of the treated ones, while this result should be examined again because of the large confidential interval in values estimated with the calibration models.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：森林学・森林科学

キーワード：生物間相互作用 誘導防御 被食防御 フェノール ブナ科

1. 研究開始当初の背景

植物にとっての葉は光合成を行うための器官であり、植物はそのために必要な窒素などの資源を投資する。一方で、植物の葉は多くの植食性昆虫にとっての餌資源でもあり、窒素や同化産物である糖は重要な栄養成分である。ほとんどの高等植物は植食性昆虫による被食を防ぐため、フェノールなどの被食防御物質を葉に投資するが、通常の防御レベルでは多くの昆虫による摂食を防ぐことはできない。一部の植物では、昆虫による摂食刺激により、防御物質を多く産生し、防御レベルを上げることが知られている(誘導防御)。

これまで多くの誘導防御に関する研究が行われ、操作実験により誘導が生じ、葉中の被食防御物質の含有率が上がったという結果が多く報告されている(Wold & Marquis, 1997)。また、誘導防御をもたらす分子基盤なども明らかになりつつある(He et al., 2001)。

その一方で、誘導防御の研究には化学成分定量にまつわる障害が存在し、先行研究は大きな制約の下での実験デザインを強いられている。誘導防御を検出するためには化学分析のためのサンプリングを伴い、分析時の成分情報しか得られない。つまり、被食前後の成分情報の関連付けができず、誘導による効果(誘導が生じる範囲や昆虫の採食への影響)の追跡ができない。また、葉の化学成分などの形質が個葉ごとに大きく異なること(Herrera, 2009)、葉の切除などの物理的刺激によっても誘導が生じること(Wold & Marquis, 1997)が近年報告されており、同一葉群から成分分析用サンプルを得るのも望ましい方法とは言えない。さらに、誘導による防御レベルの上昇と同時に、窒素含有率の低下が生じるという報告もあり(Hikosaka et al., 2005)、誘導による昆虫の摂食への影響評価のためには同時に複数の化学成分情報を得る必要がある。

2. 研究の目的

本研究では、測定対象である葉をサンプリングせずに、樹上で生きたままの状態成分測定を行う手法を近赤外分光法により確立する。その手法を用い、同属で葉の形質や開葉フェノロジーの異なるコナラとシラカシの葉を対象とし(後にアラカシを追加)、昆虫による葉の被食によって生じる誘導防御の存在と生じる範囲を検出し、葉の被食防御物質を介した植物-植食性昆虫の相互作用ネットワークを明らかにすることを目的とした。

近赤外分光法(Near infrared spectroscopy; NIRS)は、近赤外光の吸光度から対象物における目的の物質の濃度を測定する方法で、光を当てるだけで非破壊的に対象の化学成分を迅速に測定することができる手法である。非破壊的という特性から、近赤外分光法は果実の糖度計測など、食品、農業、工業分野で広く実用化されている。しかし、生態学的な分野では世界的に見ても適用例は非常に限られている(Foley et al., 1998)。

3. 研究の方法

(1) NIRSを用いた非破壊成分分析法 対象種

本研究では、温帯林の代表種である、落葉性コナラ属のコナラと常緑性コナラ属のシラカシ(後からアラカシを追加)を対象種とする。温帯林の主要構成種が多いコナラ属では、日本国内だけで523種の鱗翅目昆虫がその葉を利用することが知られている(寺本, 2008)。コナラ属の種では、誘導防御の存在が報告されている(Nabeshima et al., 2001)が、野外では多くの植食性昆虫が次々に葉を利用し、摂食刺激によって誘導防御が生じるために、植物-植食性昆虫の複雑な相互作用ネットワークが形成されていると予想される。

方法

首都大学内の松木日向緑地内(東京都八王

子市)のコナラおよびシラカシを対象木として選定した。開葉(2011年4月下旬)~落葉(2011年11月下旬)までの間2カ月に一度、樹冠内の様々な場所の葉(20枚程度×10個体)の吸光スペクトルをポータブル近赤外分光装置(Field、スペクトラコープ社)を用いて測定する。スペクトル測定後、従来法による化学分析(総フェノール)を行い、スペクトルから得られる吸光度と化学分析値から検量モデルを作成する。なお、総フェノール以外の葉の化学成分については、十分な数の試料が得られなかったため、モデルを作成できなかった。また、検量モデルの補償範囲を拡張し、精度を向上させるために、後日全く別の個体群(宮崎県串間市)からの葉もサンプルとして加えた。

後述の実験に用いるシラカシ個体の多くが枯死してしまった関係で、後からアラカシ(宮崎県串間市の個体)を対象に加えた。コナラ等と同様のスケジュールで葉をサンプリングし、検量モデルを作成した。

サンプリングした葉は25に調整後、インタラクタンス法により分光器で吸光スペクトルを測定した。その後速やかに冷凍、凍結乾燥処理を施し、粉碎処理後に通常の湿式化学分析(Modified Price Butler method)を行った。

(2) 植食性昆虫による摂食実験 対象

樹高約1~1.5mのコナラ、アラカシ各8個体を対象とし、実験を行った(シラカシは枯死)(2011年5月~8月)。

小型ビニールハウス内に設置し、必要に応じて給水を行った。当初の予定ではハウス内の植食者を排除した上で実験を行う予定だったが、実際には侵入を防ぐことができなかったため、摂食させたい葉以外の葉を寒冷紗で覆うことで排除区を設定した。それでも排

除区に大幅に侵入された個体(コナラ、アラカシ各3個体)については、解析から除外した。

方法

各個体のシュートに下に生えているものから番号をふり、中央値となる番号を摂食させるシュートとした(偶数の場合は+1番のシュートを対象とした)。またシュートが属する枝にも同様に番号をふった。

実験開始から1週間の間は毎日、それ以降は1週間に一度、全ての葉の吸光スペクトルを測定した。測定したスペクトルから(1)で得られたモデルにより、総フェノール量を推定した。

それぞれの樹種において、二元配置の分散分析により、時期および位置と総フェノール量の関係について検討した。また nested ANOVA により、総フェノール量がシュート、枝、個体のどのレベルで異なるのかを分析した。

4. 研究成果

(1) NIRS を用いた非破壊成分分析法

コナラ、シラカシ、アラカシのそれぞれにおいて、原スペクトルおよび二次微分スペクトルと化学分析値から検量モデルの作成を行った。加えて検量モデルに使用する適切な波長領域についても検討し、ベストモデルの選択を行った。

その結果、コナラ、シラカシ、アラカシの二次微分スペクトルより、 $R^2=0.68$, $SEC=1.88$, $SEP=2.01$ (700-950nm), $R^2=0.41$, $SEC=2.24$, $SEP=2.60$ (700-1000nm), $R^2=0.73$, $SEC=1.83$, $SEP=1.97$ (700-950nm)のモデルがそれぞれ得られた(括弧内は使用した波長領域)。この検量モデルにより、樹上の葉であっても成分推定が可能となったが、同一サンプルの時系列変化を追うには精度のさらなる改善が必要である。

(2) 植食性昆虫による摂食実験

コナラ、アラカシにおける摂食シュートからの位置関係と総フェノール量との間には明瞭な関係は見られなかったが ($p = 0.08, 0.07$)、同一シュート内および摂食刺激を受けたシュートより上部のシュートにおいて総フェノール含有率が上がる傾向が見られた。また、遅い時期ほど全体的に総フェノール量が漸増する傾向にあったが、これは開葉フェノロジーが進み、葉の成熟に伴った防御投資の結果という可能性が考えられる。ただし、(1)でも述べた通り、モデル推定値の信頼区間が広いいため、モデル精度の向上およびサンプル数を加えた上での再検討が必要である。

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 件)

〔学会発表〕(計 1件)

高橋明子. プナ科樹種の葉における非破壊成分推定法. 第124回日本森林学会大会. 2013年3月26日(岩手)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋明子 (Takahashi, Akiko)

京都大学・野生動物研究センター幸島観察

所・研究員

研究者番号：60568236

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：