

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：12605

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25660041

研究課題名(和文)チャに大量に含まれるメチル化カテキンの進化的意義

研究課題名(英文)Evolutionary significance of abundant catechins in tea plants

研究代表者

仲井 まどか(Nakai, Madoka)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：60302907

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：茶葉には、カテキン類であるエピガロカテキンガレート(epigallocatechin gallate; EGCG)が乾燥重量で5-8%含まれている。このように茶葉に大量にカテキン類が含まれている究極要因として、これらのカテキン類が茶樹の天敵である害虫に対する防御物質として機能している可能性がある。本研究では、「カテキン類が昆虫の天敵微生物に対する感受性を増大させる」という仮説を検証した。その結果、茶害虫であるチャノコカクモンハマキは、EGCG添加により顆粒病ウイルス(バキュロウイルス科)に対する感受性が増大することが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Tea leaves contain 5-8% of epigallocatechin gallate in the dry weight. It can be assumed that tea contains such abundant catechin to protect themselves from its pests. In this study, the hypothesis for tea containing catechin to protect from pests with cooperation of entomopathogen, as catechin increases susceptibility of pests against entomopathogen, were examined. Consequently, the tea pests *Adoxophyes honmai* (Lepidoptera: Tortricidae) increases its susceptibility against granulovirus (Baculoviridae) due to addition of EGCG with inoculum.

研究分野：昆虫病理学

キーワード：カテキン チャ 昆虫ウイルス 感受性

1. 研究開始当初の背景

植物性化学物質の一種である植物性ポリフェノールは、昆虫の病原体に対する感受性に影響を与えることが知られている。茶葉にはポリフェノールの一種であるカテキン類が多く含まれており、中でもエピガロカテキンガレート (Epicallocatchin gallate; EGCG) は最も含有量が多いカテキンで、茶葉の乾燥重量の 5-8% を占めることが知られている (Goto et al., 1996)。このように茶葉に大量にカテキン類が含まれている究極要因として、これらのカテキン類が茶樹の天敵である害虫に対する防御物質として機能している可能性がある。

チャノコカクモンハマキ (*Adoxophyes honmai*) (鱗翅目: ハマキガ科) は、日本における茶の重要な害虫である。しかし、化学合成農薬に対する抵抗性を獲得したため、本種の防除にはバキュロウイルス等を利用した生物的防除が行われている。

2. 研究の目的

本研究は、茶が EGCG を獲得し天敵微生物に対する感受性を高めることで昆虫からの食害を防いでいる、という仮説を検証する。茶を常食するチャノコカクモンハマキと、近縁種であるが茶を宿主植物としないリンゴコカクモンハマキの 2 種の昆虫種を用い、EGCG を添加した餌を与えた両種のウイルスに対する感染増進の有無を調査した。天敵微生物としてバキュロウイルス科のチャノコカクモンハマキ核多角体病ウイルス (AdhoNPV) とリンゴコカクモンハマキ顆粒病ウイルス (AdorGV) をそれぞれ用いた。

3. 研究の方法

(1) AdhoNPV に対する感受性の調査

自由飲下法によりチャノコカクモンハマキおよびリンゴコカクモンハマキへのウイルス 4 齢 0 日幼虫に AdhoNPV をした。以下のすべての実験について 25℃、16L:8D 条件下で飼育を行った。両種の幼虫に人工飼料イン

セクタ LF (日本農産工業株式会社) を与えて 3 齢眠期になるまで集団飼育し、3 齢眠期に 24 時間絶食させた。AdhoNPV 包埋体懸濁液 ($10^{6.5}$ 包埋体/ml) に EGCG (三井農林) を下記の濃度で添加し、最終濃度 10% および 5% のショ糖および食用色素赤色 (共立食品株式会社) を加え接種源とした。EGCG は、最終濃度 0.1mg/ml, 1mg/ml, 10mg/ml に調整した。滅菌プラスチックシャーレ (直径 90mm) 上にマイクロピペットを用いて接種液の液滴を作り、ここに絶食後の 4 齢 0 日幼虫を放飼し、液滴を自由に飲下させた。食用色素で中腸が赤く染まった幼虫をウイルスを取り込んだものとして集めインセクタ LF を与えて個別飼育した。実験は 3 反復行った。得られた感染致死率のデータは、arcsin 変換した後、一元配置の分散分析 (ANOVA) で解析した。

(2) EGCG および AdhoNPV 接種の蛹重と幼虫期間に及ぼす影響

上記の実験で EGCG を摂取した幼虫を毎日観察し、4 齢 0 日から蛹になるまでの期間を幼虫期間として測定した。さらに蛹まで飼育し、蛹重を測定した。

(3) AdorGV に対する感受性調査

上記と同様に 4 齢 0 日の両種の幼虫に LC_{50} となるように包埋体懸濁液とショ糖および食用色素・赤の最終濃度をそれぞれ 10% および 1% となるように加えて接種液を作製した。自由飲下法に用いた EGCG の濃度は、最終濃度が 10mg/ml および 25mg/ml となるように調整した。実験は 4 反復行った。

4. 研究成果

(1) AdhoNPV に対する感受性の調査

チャノコカクモンハマキについては、EGCG を添加による有意な感染増進が認められなかった ($F=1.29$, $P=0.34$) (図 1)。一方、リンゴコカクモンハマキでは、EGCG の添加濃度に依存して AdhoNPV による平均感染致死率が增大する傾向があったが、有意な感染増進効果はみられなかった ($F=3.13$, $P=0.09$) (図

2)

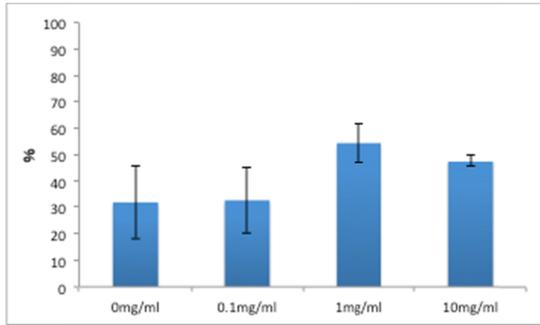


図 1. EGCG を摂取したチャノコカクモンハマキ 4 齢幼虫の AdhoNPV による感染致死率. bar は SE を示す.

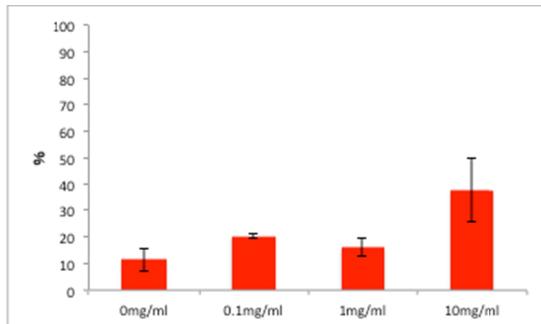


図 2. EGCG を摂取したリンゴコカクモンハマキ 4 齢幼虫の AdhoNPV による感染致死率. bar は SE を示す.

(2)EGCG および AdhoNPV 接種の蛹重と幼虫期間に及ぼす影響

上記の両種とも EGCG 添加の有無により、幼虫期間 (図 3 と 4) や蛹重 (図 5 と 6) に有意差はなかった。このことから、EGCG は両種に対して生存コストとして働かない可能性が示唆された。

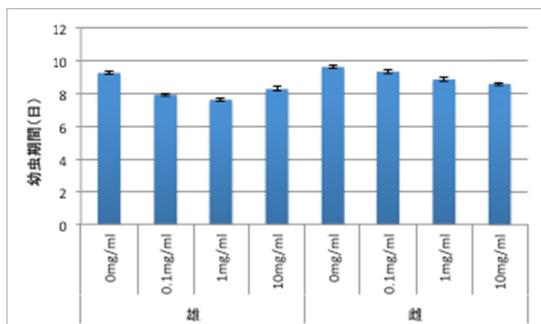


図 3. EGCG を 4 齢 0 日に摂取したチャノコカクモンハマキ幼虫の幼虫期間. bar は SE を示す.

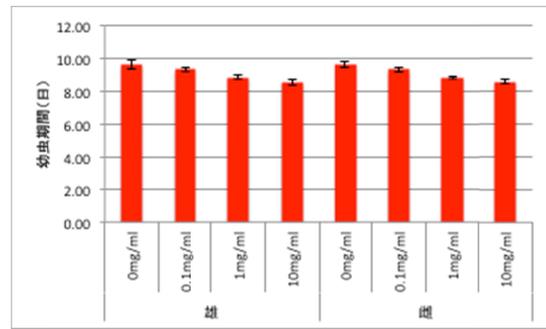


図 4. EGCG を 4 齢 0 日に摂取したリンゴコカクモンハマキ幼虫の幼虫期間. bar は SE を示す.

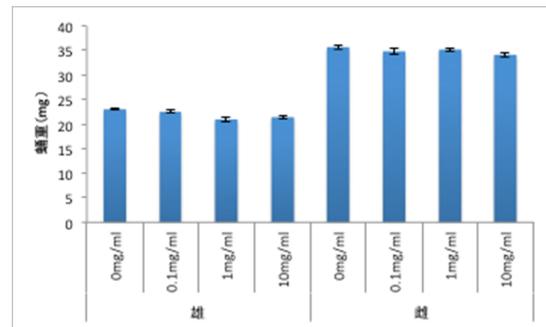


図 5. EGCG を 4 齢 0 日に摂取したチャノコカクモンハマキ幼虫の蛹重. bar は SE を示す.

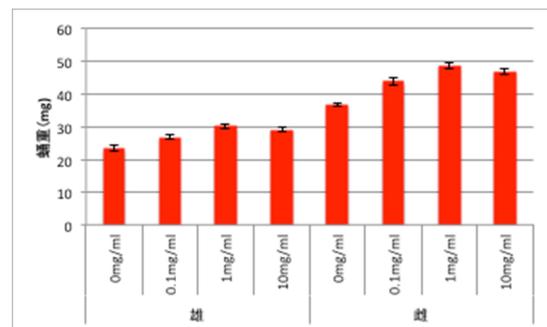


図 6. EGCG を 4 齢 0 日に摂取したリンゴコカクモンハマキ幼虫の蛹重. bar は SE を示す.

(3)AdorGV に対する感受性の調査

チャノコカクモンハマキにおいて、EGCG の添加により AdorGV に対する感受性が有意に上昇した ($F=7.20, P<0.05$) が、リンゴコカクモンハマキでは感染増進効果は見られなかった ($F=0.75, P>0.05$) (図 7 と 8)。

このことから、茶はカテキン類を生産することで AdorGV の感染を増進させ、自身を害虫であるチャノコカクモンハマキ幼虫の食

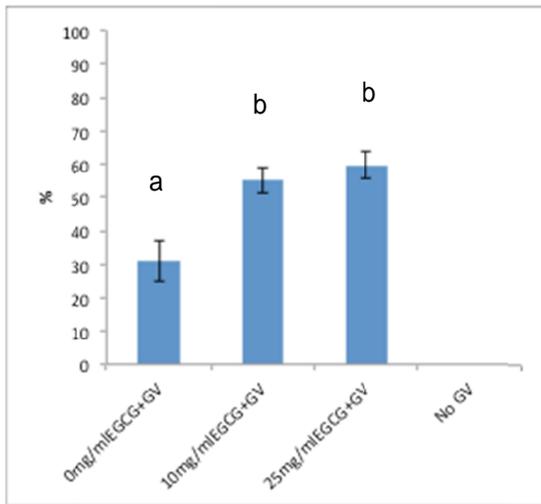


図7. AdorGVおよびEGCGを接種したチャノコカクモンハマキ幼虫の感染致死率.実験は4反復行った.異なる文字は有意差を示す ($P<0.05$). barはSEを示す.

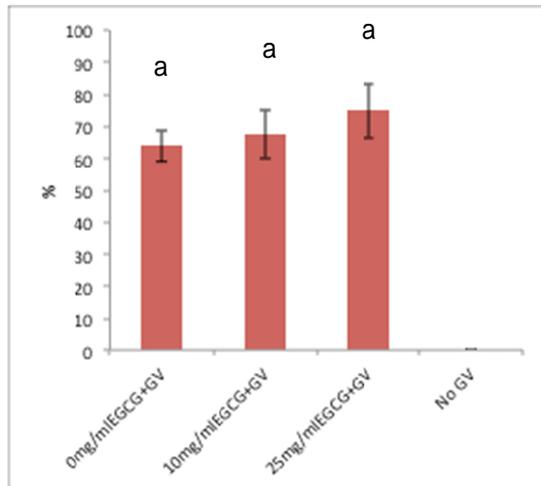


図8. AdorGVおよびEGCGを接種したリンゴコカクモンハマキ幼虫の感染致死率.実験は4反復行った.異なる文字は有意差を示す ($P<0.05$). barはSEを示す.

害から防御している可能性が示唆された。一方、茶害虫ではないリンゴコカクモンハマキではEGCG添加による感染増進は見られなかったことから、EGCGの感染増進効果は宿主種により異なることが示された。

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0件)

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計2件)

1) Nakai, M. (2014) Role of Biopesticides in Tea from Japanese Perspective: Viral Control of Tea Pests in Japan and the Effects of Virus Infection on Domestic Endoparasitoids. In: Biopesticides in Sustainable Agriculture, Progress and Potential, Koul, O. Dhaliwal, G.S., Khokhar, S. and R. Singh eds. Scientific Publishers (India). pp420-430. ISBN978-81-7233-865-7.

2) 仲井まどか, 小池正徳, 国見裕久 (2014) 微生物農薬としての利用, 最新昆虫病理学. 国見裕久・小林迪弘編. 講談社. pp207-222. ISBN978-4-06-153740-8.

〔産業財産権〕

出願状況 (計0件)

取得状況 (計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.tuat.ac.jp/~insect/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

仲井 まどか (NAKAI MADOKA)

東京農工大学・大学院農学研究院・准教授
研究者番号: 60302907