

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07790

研究課題名(和文)ハマキガの産卵が引き起こす誘導とその発現機構の解明

研究課題名(英文) Induction by tortricid moth oviposition and analysis of its mechanism

研究代表者

戒能 洋一 (KAINOH, Yooichi)

筑波大学・生命環境系・教授

研究者番号：20183775

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：チャノココクモンハマキの茶葉への産卵により誘導が引き起こされ、その茶葉に寄生蜂であるハマキコウロコマユバチが探索行動を示すことがわかった。そして、誘導を引き起こす要因となるエリシターは、寄主の産卵によって葉に影響するが、雌蛾の腹部摩砕物を茶葉の葉裏に処理することで同様の効果があることがわかった。また、エリシターは雄のガには存在しないこと、未交尾の雌にも存在すること、寄主でないチャハマキにはこの活性がないことなどがわかった。さらに、寄主ではないアワノメイガの雌腹部摩砕物を葉裏に処理すると、寄生蜂は逆にこの葉を避けることもわかった。

研究成果の概要(英文)：It was found that induction in a tea leaf was induced by the oviposition of the smaller tea tortrix, *Adoxophyes honmai*, and the braconid parasitoid, *Ascogaster reticulata*, showed a searching behavior on the tea leaves. The elicitor, which is a factor causing the induction, adheres to the leaves by the host oviposition and has influence. The same effect was obtained by treating the abdominal homogenate of the host female moth to the abaxial side of the tea leaves. In addition, it was found that there was no elicitor activity in the male moth, and the elicitor was present in the unmated female, that there was no such activity in the non-host tortricid moth, *Homona magananima*. Furthermore, it was found that parasitoid avoid the leaf, when treating on a leaf the female abdominal homogenate of the corn borer, *Ostrinia furnacalis*, which is also nonhost.

研究分野：応用昆虫学

キーワード：寄生蜂 誘導 エリシター 産卵 コマユバチ

1. 研究開始当初の背景

植物が植食者に対する防御手段として、毒成分を身につけることによる直接防御と、天敵を呼ぶことによって身を守る間接防御の二つの方法が存在することが知られている。後者の例では、植物が植食性昆虫の食害を受けると、唾液中成分に含まれるエリシターの作用で植物は誘導を引き起こし、HIPVs(植食者誘導性植物揮発成分)を放出する。この成分の機能の一つとして寄生性昆虫や捕食性天敵が誘引されることが知られており、この現象をいわゆる‘三者系’と呼んでいる。その中でも、植食性昆虫の産卵によって植物での誘導を引き起こされ、その植物に対して卵寄生蜂が反応する例がいくつかの昆虫種で確認されている(Hilker & Meiners, 2010)。この研究分野で先駆けとなったのが、ニレノハムシの一種ノヒメコバチの一種(Meiners & Hilker, 1997)の研究である。さらに同じグループによって、マツノマツハバチノヒメコバチの一種(Hilker et al., 2002)の三者系が発表された。しかし、これらの例では、産卵時に寄主昆虫が植物に傷をつける習性があり、一般的な咀嚼性の植食性昆虫の三者系現象に近いものであった。その後、ソラマメノミナミアオカメムシノクロタマゴバチ(Collaza et al., 2004)での研究から、寄主昆虫による植物への産卵と吸汁が相乗効果となって誘導が起きることが示された。さらに、芽キャベツノオオモンシロチョウノタマゴヤドリコバチ(*Trichogramma*) (Fatouros et al., 2005)の研究では、チョウの産卵という植物に対する物理的な傷害なしに誘導が起きていることが示され注目された。

チャの害虫であるチャノココクモンハマキ(チョウ目:ハマキガ科)においても、チャの葉裏への産卵により葉内部で誘導が引き起こされ、その葉表に対して寄生蜂ハ

マキコウラコマユバチ(以下、コマユバチ)が探索行動反応を示すことが知られている(Deshpande & Kainoh, 2012)。茶葉に産卵された直後ではその反応が見られないが、24時間後には誘導が起き、その葉表に対してコマユバチが活発に探索行動を行うことがわかった。また、チャノココクモンハマキ(以下、ハマキガ)によって産み付けられた卵塊が5日を超えて孵化直前になると誘導活性は低下すること、産卵を受けた葉付近にある同じ枝の別の葉にも誘導が起きること(全身誘導)、寄主蛾成虫の鱗粉や排泄物が葉に付着しただけでは誘導は起きないが、雌腹部摩砕物を葉裏に処理すると誘導は起きることなど一連の結果が示された(Deshpande & Kainoh, 2012)。

2. 研究の目的

ハマキガによる茶葉の誘導現象をさらに解明するために、雌蛾腹部に含まれるエリシターの種特異性および化学的性質を調べるために、ハマキガ以外の蛾の腹部摩砕物の処理で誘導が起きるかどうかを調べ、その種間関係を解明することを目的としている。また、産卵による雌ハマキガ腹部摩砕物をエリシターとした誘導の分子機構を分子生物学的手法で解明することを目的としている。この分子機構が解明されることにより、その遺伝子発現のしくみを他の植物にも導入し、害虫の食害や産卵に敏感に反応し天敵を引きつけるような将来の品種改良技術に結びつけることを最終目的としている。

3. 研究の方法

ハマキガが茶葉の葉裏に産卵することから、ハマキガによる自然産卵により誘導が起きるかどうかの確認実験を行った。野外に鉢植えのチャを準備し、ビニール袋で全体を覆い、その中に交尾したハマキガ雌を5頭放した。翌日、産卵された葉を摘み取り、実験室

内で未産卵の葉とともに選択実験を行った。

蛾の腹部摩砕物の場合には、雌 1 頭の腹部を切り離し、リンガー液(10 μ l)とともに摩砕したものを葉裏に処理し、パラフィルムでカバーすることにより周囲をシールして 24 時間放置した。そして、処理葉と対照区としてリンガー液のみを処理した葉を摘み取り、同様に選択実験を行った。

実験室内でのコマユバチを使った実験では、直径 14cm のプラスチックシャーレに処理葉と対照区の葉を共に 2cm の間隔をおいて並べ、雌コマユバチを導入して選択実験を行った。5 分間の観察時間に「歩行」か「静止」の行動要素に関して、「処理葉」「対照葉」「その他」の位置要素を、行動計測ソフト 'The Observer XT' を用いて計測した。そして、どちらの葉上で長く探索行動を行ったかを比較した。葉裏に処理したサンプルは、寄主ハマキガの雄腹部摩砕物、コマユバチの寄主ではないチャハマキおよびアワノメイガの雌腹部摩砕物を用いた。

ハマキガの産卵により、チャはどのように反応しているかの分子機構を調べるために以下の実験を行った。既交尾のハマキガ雌 5 頭をビニールで覆ったチャの鉢植えに放ち、翌朝、産卵を確認した葉のサンプリングを行った。全くハマキガに接していない別のチャの鉢植えから、葉を採取し、これを対照区とした。葉は採取直後にフリーザーに入れ、保存した。植物の防御応答に関与することが示唆されている植物ホルモン(サリチル酸、ジャスモン酸、エチレン)を介したシグナル伝達経路の鍵遺伝子の発現解析を行った。

4. 研究成果

雌ハマキガが茶葉へ産卵することにより誘導が引き起こされ、その茶葉に対して寄生蜂であるコマユバチがより長い時間探索行動を示すことが確認された。そして、誘導を引き起こす要因となる物質(エリシタ

ー)は、寄主の産卵によって葉に付着し影響を与えるが、雌蛾の腹部摩砕物を茶葉の葉裏に処理することで同様の効果があることも確認された。

ハマキガ雄の腹部摩砕物にはエリシターとしての活性が存在しないこと、雌ハマキガは未交尾個体でも存在すること、寄主でない同じハマキガ科のチャハマキにはこの活性がないことなどがわかった。さらに、寄主ではないアワノメイガの雌腹部摩砕物を葉裏に処理すると、コマユバチはコントロールより短い時間探索行動を行った。すなわち、摩砕物処理された葉に対してはむしろ回避する行動をとることがわかった。このことから、茶葉での誘導は種特異的であり、寄生蜂は自分の寄主昆虫種による産卵によって誘導を受ける変化に反応するが、それ以外の寄主とはならない昆虫種の産卵によっては反応しないという種特異性が明らかになった。また、寄主でない昆虫の種類によっては、チャへの産卵がかえって忌避的に働くことが示され、このことは寄生蜂にとって、より効率よく寄主卵を探すことができるかと推察できる。

植物ホルモンを介したシグナル伝達経路の鍵遺伝子の発現解析を行った結果、サリチル酸経路の遺伝子 *Phenylalanine ammonia-lyase* の発現は、対照区と比較して優位な発現変動は認められなかった。しかしながら、ジャスモン酸経路の遺伝子 *Lipoxygenase* や *Chitinase* の発現は、対照区と比較して優位に上昇していた。加えて、エチレン経路の遺伝子 *Ethylene response transcription factor* の発現の優位な上昇も認められた。以上のことから、ハマキガの産卵によるチャの応答には、植物ホルモンであるジャスモン酸とエチレン経路を介したシグナル経路の関与が推察できる。これらの結果は、ハマキガの茶葉への産卵により茶葉内部で植物ホルモンを介

した伝達経路が活性化され、ハマキガに対する直接的、間接的防御反応の準備のための遺伝子発現が活性化されたとみることができる。特に間接的防御に関わる遺伝子発現は寄生蜂の探索行動を刺激する因子に係すると思われる。今後は、エリシターの化学分析とともにそれが引き起こす誘導の分子機構をさらに明らかにすることが必要であろう。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

藏満 司夢・戒能 洋一(2018) 天敵利用を支える基礎的な研究に関する最近の話題. 日本応用動物昆虫学会誌(応動昆) 62(1):13-20 (査読あり)

Piyasaengthong N, Kinoshita N, Sato Y, Kainoh Y (2016) Sex-specific elicitor of *Adoxophyes honmai* (Lepidoptera: Tortricidae) on tea leaf arrests the egg-larval parasitoid *Ascogaster reticulata* (Hymenoptera: Braconidae). *Applied Entomology and Zoology* 51:353-362 (査読あり)

〔学会発表〕(計 3 件)

Piyasaengthong N, Kainoh Y (2017) Moth oviposition preference, neonate performance and induction of tea leaves to arrest the egg-larval parasitoid. The 5th International Entomophagous Insects Conference .

Piyasaengthong N, Sato Y, Kinoshita N, Kainoh Y (2016) Host moth oviposition and induction of tea leaves to arrest the parasitoid *Ascogaster reticulata*. The Annual Meeting of the 60th Japanese Society of Applied Entomology and Zoology.

Piyasaengthong N, Kinoshita N, Kainoh Y (2015) Oviposition preference for leaf age in the smaller tea tortrix moth, *Adoxophyes honmai* (Lepidoptera: Tortricidae) as related to performance of neonates and parasitoid searching. Ag-ESD.

6 . 研究組織

(1)研究代表者

戒能 洋一 (KAINOH, Yooichi)

筑波大学・生命環境系・教授

研究者番号：20183775

(2)研究分担者

木下 奈都子 (KINOSHITA, Natsuko)

筑波大学・生命環境系・助教

研究者番号：80716879

(3)研究協力者

石賀 康博 (ISHIGA, Yasuhiro)

筑波大学・生命環境系・助教

研究者番号：50730256