

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 20 日現在

機関番号：17201

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24658054

研究課題名(和文) トノサマバッタはなぜオオムギを食べない? 植食者の寄主と非寄主を決定する要因の探索

研究課題名(英文) Mechanism of feeding deterrence of barley seedlings against the migratory locust

研究代表者

徳田 誠 (Tokuda, Makoto)

佐賀大学・農学部・准教授

研究者番号：60469848

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：様々なイネ科植物を摂食するがオオムギは摂食しないというトノサマバッタの寄主特異性に着目し、オオムギ品種Betzesの染色体を1対ずつコムギに導入したオオムギ染色体導入コムギ系統を用いて、トノサマバッタの行動や寄主選好性、生存率や発育期間に影響を及ぼすオオムギ側の要因を解明すべく研究に取り組んだ。

コムギを与えて幼虫を飼育したときに比べ、オオムギ染色体導入コムギ系統6Hで生存率が有意に減少し、2Hで1齢および2齢幼虫期間が有意に遅延し。以上より、オオムギの6番染色体および2番染色体には、それぞれトノサマバッタの生存および発育に負の影響を与える遺伝的要因が含まれていることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Locusta migratoria feeds on various Poaceae but barley. Barley genes related to feeding deterrence are useful for developing novel resistant crops. We investigated the effects of barley cultivar Betzes, wheat cultivar Chinese Spring (CS), and six barley chromosome disomic addition lines of wheat (2H-7H) on locomotor activity, feeding behavior, survival and development of *L. migratoria*. Locomotor activity was similar in nymphs kept with wheat and 2H-7H in an actograph, whereas it was generally high in those kept with barley. Feeding tests suggested that barley genes related to inhibition of feeding by *L. migratoria* are located on barley chromosomes 5H and 6H and those related to the palatability of plants on chromosomes 2H, 5H and 6H. Rearing experiments suggested the presence of barley genes negatively affecting the survival and growth of locust nymphs on chromosomes 5H and 2H, respectively, and the effects are phase-dependent. The results were published in Suematsu et al. (2013).

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・応用昆虫学

キーワード：異種染色体導入コムギ オオムギ コムギ トノサマバッタ 虫害抵抗性 寄主特異性

1. 研究開始当初の背景

イネ科作物の代表的な害虫であるトノサマバッタは、すべてのイネ科植物を寄主とするわけではなく、イネやコムギは摂食するがオオムギは摂食しない (e.g. Ishikawa & Kande, 2000)。

このような寄主特異性は、数年や数十年単位で頻繁に変化するものではなく、進化的に安定した形質であると考えられる。

これまで、単食性 (単一の植物種を寄主として利用する性質) の植食者における加害可能な寄主品種の決定メカニズムに関して、Gene-for-gene concept が提唱されている (e.g. Harris et al., 2003)。

この概念は、植食者の加害性遺伝子と植物の抵抗性遺伝子は概ね 1 対 1 の対応関係にあるというものであり、例えばイネ品種といもち病菌株や、コムギ品種とコムギ害虫ヘシアンバ工系統の関係などは、これに相当すると考えられている。

一方、ある昆虫にとって、寄主でない植物種には、抵抗性遺伝子が多数存在しており、そのすべてに対する加害性遺伝子を獲得しなければその植物を利用できない、と考えられている。

したがって、非寄主植物に含まれる豊富な抵抗性遺伝子を探索できれば、革新的な病害虫抵抗性を持つ品種育成をはじめ、様々な場面で応用の可能性が大きく開けるものと期待される。

2. 研究の目的

トノサマバッタやサバクトビバッタは、発育時の密度に依存して体型や体色、行動などを連続的に変化させる相変異という現象を示す。

この密度依存的な多型現象は、バッタ類の大発生と密接に関連していると考えられ、本種の防除を考える上で重要な要素である。とりわけアジア地域では、トノサマバッタの大発生がしばしば生じ、作物生産に大きな被害をもたらすことが知られている (e.g. Tanaka & Zhu, 2005)。

本研究では、オオムギ染色体導入コムギを用いて、コムギを寄主とするがオオムギは寄主としないトノサマバッタの発育増殖特性を比較するとともに、虫害抵抗性に関与するオオムギの遺伝的、生理的、生化学的基盤を、網羅的なアッセイにより解明することを目的とする。

本研究を遂行することにより、基礎生物学的には、植食者において寄主と非寄主を決定する基盤が明らかになり、植物と植食者の共進化に関して興味深い知見が得られることが期待される。

3. 研究の方法

(1) オオムギの遺伝的要因がトノサマバッタの相変異形質と繁殖形質に及ぼす影響

これまでの研究から、7 対のオオムギ染色

体のうち、2, 5, 6 番染色体をコムギに導入した際、バッタ幼虫が忌避したり、発育に負の影響が生じたりすることが判明している。

そこで、オオムギ染色体導入コムギ各系統をバッタ幼虫が成虫になるまで継続的に摂食させた際、前翅長や後脚長などの相変異と関連する形質がどのように変化するかを明らかにする。

成虫になるまで通常コムギで飼育したバッタに、羽化直後から染色体導入コムギ系統を与えた場合、産卵数や卵サイズなどの繁殖形質がどのように変化するかを明らかにする。

(2) オオムギに含まれるトノサマバッタ抵抗性遺伝子の探索

コムギおよびオオムギに関しては、ナショナルバイオリソースプロジェクトなどを通してゲノム研究が進展し、マイクロアレイによる網羅的な発現遺伝子の解析手法がすでに確立している。

また、オオムギのトノサマバッタ摂食阻害は、幼苗期ほど影響が顕著であることが知られている。

2, 5, 6 番染色体を導入した幼苗期のコムギ系統において特異的に発現しているオオムギ遺伝子を、マイクロアレイ解析により網羅的に探索し、虫害抵抗性のキーとなる遺伝子を絞り込む。

(3) トノサマバッタの摂食や発育に影響を与えるオオムギ二次代謝産物の解析

過去の実験から、オオムギに含まれるアルカロイドの一種グラミンが、バッタの摂食忌避に一部関与していることが判明しているが、詳細は未解明である。

よって、LC-ESI-MS/MS などを用いた染色体導入コムギにおけるアルカロイド類の網羅的な定量を行う。

また、オオムギ幼苗のメタノール、ジクロロメタン、ヘキサン、アセトン、水抽出物をそれぞれ濃縮し、5%スクロースとともに紙に染み込ませてバッタ幼虫に摂食させる。バッタ幼虫が忌避を示した抽出物に含まれる植物の二次代謝産物を同定する。

4. 研究成果

(1) オオムギの遺伝的要因がトノサマバッタの相変異形質と繁殖形質に及ぼす影響

ふ化後の様々な時期から与える餌をオオムギに切り替えて飼育し、コムギのみを与え続けた場合と生存率などを比較した。

ふ化直後、および、1 齢 4 日齢から切り替えた場合、一部の個体はオオムギを摂食して生存したものの、生存率は著しく低下した。

一方、2 齢や 3 齢から切り替えた場合、顕著な生存率の低下は認められなかった。

以上から、オオムギの遺伝的要因はトノサマバッタの齢期が若いほど生存に影響す

ると考えられた。

また、各染色体導入コムギ系統のみを与えて南西諸島産の群生相を1齢幼虫から5齢幼虫まで飼育した結果、コムギを与えたときに比べ、オオムギ染色体導入コムギ系統6Hで生存率が有意に減少し、オオムギ染色体導入コムギ系統2Hで1齢および2齢幼虫期間が有意に遅延した。

以上より、オオムギの6番染色体および2番染色体には、それぞれトノサマバツタの生存および発育に負の影響を与える遺伝的要因が含まれていることが示唆された。

一連の成果を学術雑誌に原著論文として取りまとめて発表した (Suematsu et al., 2013)。

(2) オオムギに含まれるトノサマバツタ抵抗性遺伝子の探索

マイクロアレイ上の43,644プローブの中で32,193プローブにおいて有意なシグナル強度が得られた。CSにおいて未処理と加害処理とのシグナル値を比較したところ、2,491プローブで有意な差が見られた。

これらについて、オオムギ染色体導入系統およびCSにおける未処理と加害処理によるシグナル値の比とゴール形成症状スコアとの相関を求めた。さらに、ヒメトビウカのカ加害により、シグナル値が有意に変動を示したプローブを除外した。オオムギ染色体導入系統では、ゴール形成の程度とシグナル値において、78プローブで正の相関、109プローブで負の相関が見られた。

また同様に、フタテンチビヨコバイの加害密度とシグナル値が相関するプローブを検索した。194プローブで正の相関、394プローブで負の相関が見られた。ゴール形成と正の相関を示すプローブの中には、WRKYやMADS転写因子やF-boxと配列の相同性がある遺伝子が見られた。

以上の結果から、これらがフタテンチビヨコバイの吸汁によるゴール形成に関わっている可能性があるものと考えられた。

(3) トノサマバツタの摂食や発育に影響を与えるオオムギ二次代謝産物の解析

摂食阻害物質を多く含むオオムギ品種を探索するため、Betzesや野生種を含む10品種を用いて摂食試験を実施し、複数系統のオオムギ品種を絞り込んだ。

これらのオオムギ若葉の成分をヘキサソ、ジクロロメタン、メタノールなどで抽出し、ろ紙を用いた摂食試験を実施した結果、特定の溶媒から抽出した処理区でのみ、バツタの摂食量が有意に低下した。

現在、この抽出物をさらに画分し、摂食阻害に直接関与する物質を探索中である。

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 1 件)

Suematsu, S., Harano, K., Tanaka, S., Kawaura, K., Ogihara, Y. and Tokuda, M. (2013) Effects of barley chromosome addition to wheat on behavior and development of *Locusta migratoria* nymphs. *Scientific Reports* 3: 2577. 査読あり DOI:10.1038/srep02577

[学会発表](計 14 件)

田中誠二・西出雄大・佐伯真二郎・安居拓恵 (2014) バツタの相変異：混み合いに対するステージ間の感受性の違い. 第58回日本応用動物昆虫学会大会、2014.3.27、高知

西出雄大・田中誠二・佐伯真二郎・安居拓恵・辻井直(2014)サバクトビバツタにおける群生相刺激の感受と伝達機構. 第58回日本応用動物昆虫学会大会、2014.3.27、高知

佐伯真二郎・西出雄大・田中誠二・安居拓恵・竹田真木生 (2014) トノサマバツタに食草選択、混合給餌の影響と広食性の意義. 第58回日本応用動物昆虫学会大会、2014.3.27、高知

田中誠二 (2013) 相変異するバツタの体色と行動の制御. 日本昆虫学会九州支部第71回大会、2013.10.19、佐賀

田中誠二・徳田誠 (2013) トノサマバツタの地理的変異: 正木クライン. 日本昆虫学会第73回大会、2013.9.14、札幌

Tanaka S (2013) Body color and behavioral gregarization in desert locusts. *International Congress of Invertebrate Reproduction and Development*, 2013.7.17, Detroit, Michigan, USA.

川浦香奈子・吉田圭祐・神代瞬・徳田誠・松倉啓一郎・松村正哉・荻原保成 (2013) オオムギ染色体導入コムギ系統を用いたフタテンチビヨコバイ吸汁によるゴール形成に関わる遺伝子の探索. 日本育種学会第123回講演会、2013年3月28日、東京

佐伯真二郎・西出雄大・田中誠二・竹田真木生 (2013) トノサマバツタにおける広食性の意義と食草選択行動の解析. 第57回日本応用動物昆虫学会大会、2013.3.28

徳田誠 (2013) トノサマバツタの分子系統と生物地理および寄主特異性. 第57回日本応用動物昆虫学会大会、2013.3.28

Kawaura K, Yoshida K, Kumashiro S, Tokuda M, Matsukura K, Matsumura M, Ogihara Y (2013) Transcriptome changes in barley chromosome addition lines of common wheat caused by gall-inducing leafhopper feeding. Plant and Animal Genome XXI, 2013.1.12-16, Town and Country Hotel, San Diego, USA

末松俊二・田中誠二・川浦香奈子・荻原保成・徳田 誠 (2012) コムギへのオオムギ染色体導入がトノサマバッタ幼虫の生存や発育に及ぼす影響. 日本昆虫学会九州支部第 60 回大会、2012 年 12 月 2 日、佐賀

徳田 誠・末松俊二・田中誠二 (2012) オオムギ品種 Betzes に対するトノサマバッタ幼虫の感受性. 日本昆虫学会第 72 回大会、東京

Tokuda M, Suematsu S, Tanaka S, Kawaura K, Ogihara Y (2012) Effects of barley chromosome addition to wheat on feeding preference and nymphal development of the migratory locust *Locusta migratoria* (Orthoptera: Acrididae). XXIV International Congress of Entomology, 2012.8.20-22, Daegu, Korea

末松俊二・徳田誠 (2012) 異なる発育段階のトノサマバッタ幼虫にオオムギを摂食させた場合の生存と発育. 動物学会・植物学会・生態学会九州支部合同佐賀大会、2012.5.19、佐賀

〔図書〕(計 0 件)

該当なし

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

該当なし

取得状況 (計 0 件)

該当なし

〔その他〕

ホームページ等

http://systemeco.digi2.jp/Lab_of_Syst_Ecol.html/Home.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

徳田 誠 (TOKUDA, Makoto)

佐賀大学・農学部・准教授

研究者番号：60469848

(2) 研究分担者

田中 誠二 (TANAKA, Seiji)

独立行政法人農業生物資源研究所・その他
部局等・研究員

研究者番号：50370664

川浦 香奈子 (KAWAURA, Kanako)

横浜市立大学・付置研究所・助教

研究者番号：60381935

軸丸 裕介 (JIKUMARU, Yusuke)

帝京大学・理工学部・研究員

研究者番号：90442970

(平成 25 年 2 月まで)