

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：33919

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07230

研究課題名(和文)ゼニゴケの植食者に対する誘導防衛メカニズムに関する基盤的研究

研究課題名(英文)A fundamental study on induced defense of *Marchantia polymorpha* against herbivores

研究代表者

上船 雅義 (Uefune, Masayoshi)

名城大学・農学部・准教授

研究者番号：90559775

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ゼニゴケが植食者に対してどのような防衛能を有しているか調べた。その結果、ゼニゴケは、植食者に対する忌避能、生存阻害能、繁殖阻害能、発育阻害能、孵化抑制能を有していることが明らかとなった。防衛に関与する植物ホルモンであるゼニゴケ内のジャスモン酸とサリチル酸の量は、ナミハダニ雌成虫とハスモンヨトウ幼虫の食害によって増加する傾向が示された。ジャスモン酸前駆体のOPDAを作れないゼニゴケは野生型のゼニゴケよりナミハダニの生存を向上させた。これらことから、ゼニゴケの植食者に対する防衛能には誘導防衛が存在すると考えられた。

研究成果の概要(英文)：We investigated that defense of the liverwort, *Marchantia polymorpha*, against herbivores. We showed that the liverwort had ability to repel and to reduce survival, reproduction, development and hutching of herbivores, two-spotted spider mite and common cutworm. We also showed that the liverwort which cannot make 12-Oxo-phytodienoic acid (OPDA) that is an intermediate in jasmonic acid biosynthesis did not significantly reduce survival of two-spotted spider mite females. The amount of jasmonic acid and salicylic acid in the liverwort tended to increase with feeding damage by herbivores. These results suggested that the liverwort might have induction defense against herbivores.

研究分野：応用昆虫学

キーワード：植物防衛 ゼニゴケ ナミハダニ ハスモンヨトウ 忌避物質 繁殖抑制 発育抑制

1. 研究開始当初の背景

植物 - 植食者間の相互作用研究では、これまで維管束植物を用いて植食者に対する誘導防衛が研究されてきた。その結果、植食者が食害することで、防衛に関与する植物ホルモンであるジャスモン酸 (JA) とサリチル酸 (SA) 量の変化、防御遺伝子の誘導、それらの結果としての防衛物質の生産、天敵誘引性の揮発性物質の放出など多くの研究成果を上げてきた。

近年、コケ植物の病原微生物に対する誘導防衛の研究が報告され、病原微生物によって防衛遺伝子の誘導、JA の蓄積 (Pablo Oliver et al., 2009) や SA の増加 (Ponce de Leon et al., 2012)、全身獲得抵抗性 (SAR) に類似の反応 (Winter et al., 2014) が明らかになってきた。植物が進化の過程でどのように病原微生物に対して防衛能力を獲得してきたのか議論が進んでいる。

一方、コケ植物の植食者に対する防衛の研究は、コケ植物内に含まれる物質に摂食阻害効果や忌避効果があることを明らかにしているだけで、コケ植物が植食者に対し、どのような誘導防衛を行っているのかについては未解明である。コケ植物の植食者に対する誘導防衛の解明は、植物が進化の過程でどのように植食者に対して防衛能力を獲得してきたのか議論するための証拠を与えるのと同時に、コケ植物が持つ高い対植食者防衛能力の解明は、作物に害虫抵抗性を付与する研究の新たなシーズとなる重要な研究課題であることを認め、本研究計画を着想した。

2. 研究の目的

コケ植物は、現生している陸上植物の最基部で分岐し、独自の進化を遂げてきたと考えられる。現在、コケ植物を食害する節足動物は非常に少なく、進化の過程でどのような防衛能力を身につけてきたのか大変興味深い。また、コケ植物が持つ高い対植食者防衛能力の解明は、作物に害虫抵抗性を付与する研究の新たなシーズとなる。本研究では、コケ植物の中でも、ゲノム情報や形質転換技術といった実験基盤が整備されたゼニゴケに注目し、「ゼニゴケが傷害及び食害誘導的に放出する揮発性物質と、それらが植食者に与える影響」、「ゼニゴケ由来の不揮発性物質が植食者に与える影響」、「ゼニゴケの誘導防衛反応の解析」に関して研究を行い、植食者に対するゼニゴケの防衛能力を解明する。またそれを基に、作物の害虫抵抗性向上への新たな道筋を得ることを目的とする。

3. 研究の方法

研究当初は、遺伝子組み換えしたゼニゴケを用いた研究を想定していたが、研究を進めるにつれてゼニゴケは系統が異なることで植食者に対する防衛能が異なることが見えてきたため、2 系統のゼニゴケを主に用いて研究を進めた。

2 系統のゼニゴケを用いてゼニゴケが植食者に対して忌避能を有しているかをナミハダニ雌成虫とハスモンヨトウ幼虫を用いて評価した。また、ゼニゴケが機械傷特異的に放出を増加する C8 化合物を用いてナミハダニに対する忌避性を確認した。ゼニゴケの揮発性物質に忌避以外の防衛能を有しているか評価するために、ゼニゴケの放出する揮発性物質を暴露してナミハダニ雌成虫とハスモンヨトウ幼虫のパフォーマンスを評価した。C8 化合物以外にゼニゴケが機械傷によって放出を増加させる物質を明らかにするために、ゼニゴケが放出する揮発性物質を分析した。

ゼニゴケの体内に有する防衛能を評価するために、ゼニゴケを餌としてナミハダニ雌成虫、幼虫とハスモンヨトウ幼虫のパフォーマンスを調べた。誘導防衛が植食者のパフォーマンスに影響しているかを評価するために、防衛に関与する植物ホルモンの JA の前駆体である 12-オキソフィトジエン酸 (OPDA) を生産できないゼニゴケ株を用いてナミハダニ雌成虫のパフォーマンスを調べた。ナミハダニの卵に対するゼニゴケの防衛能を評価するために、ゼニゴケ上に置いた卵の孵化を調べた。

食害によってゼニゴケ内の JA と SA の量が変化するかを明らかにするため、ナミハダニ雌成虫とハスモンヨトウ幼虫に食害させたゼニゴケ体内の JA と SA 量を LC-MS を用いて調べた。

4. 研究成果

(1) ゼニゴケの植食者に対する忌避能 ナミハダニ雌成虫に対する忌避能

風上にゼニゴケが存在しない場合と系統 A の健全ゼニゴケが存在する場合、ナミハダニ雌成虫に風上と風下のインゲン葉片を選択させたところ有意に多くの個体が風上のインゲン葉片を選択した (図 1)。しかし、風上に系統 A の機械傷ゼニゴケ、系統 B の健全ゼニゴケ、機械傷ゼニゴケが存在する場合は、風上への選好性は失われ (図 1)、ゼニゴケの揮発性物質に忌避能があることが確認された。

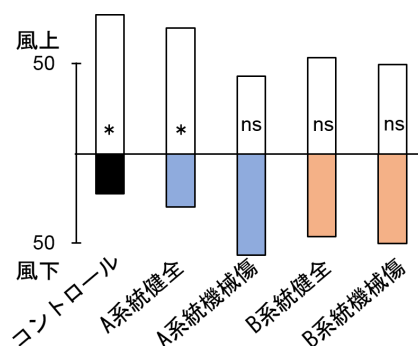


図 1 風上にゼニゴケがある場合におけるナミハダニ雌成虫の風上風下の選択割合

C8化合物のナミハダニに対する忌避能
 溶媒のみを風上に置いた場合、ナミハダニ雌成虫に風上と風下のインゲン葉片を選択させたところ有意に多くの個体が風上のインゲン葉片を選択した。風上に1-Octen-3-ol、Octane-3-one、1-Octen-3yl acetateを置いた場合、機械傷ゼニゴケが放出する濃度においてすべての化合物で風上に対する選好性が失われ、忌避性が確認された。

ハスモンヨトウ幼虫に対する忌避能

ゼニゴケを側に置いた人工飼料と置かなかった人工飼料をハスモンヨトウ幼虫に選択させたところ、A系統の機械傷ゼニゴケの場合、ゼニゴケを置かなかった人工飼料を有意に多くの個体を選択し、忌避性が確認された(図2)。系統Aの健全ゼニゴケ、B系統の健全ゼニゴケと機械傷ゼニゴケにはどちらの人工飼料も同じように選好し(図2)忌避能は確認されなかった。

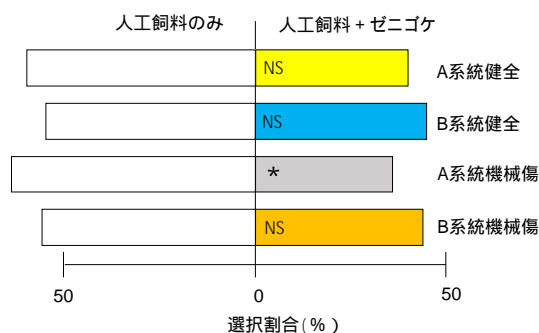


図2 各人工飼料に対するハスモンヨトウ幼虫の選択割合

(2) ゼニゴケの揮発性物質が植食者のパフォーマンスに及ぼす影響

ナミハダニ雌成虫のパフォーマンス

ゼニゴケの揮発性物質は、ゼニゴケの系統と機械傷の有無に関わらずナミハダニ雌成虫の食害量と産卵数に影響を及ぼさなかったが、A系統の健全ゼニゴケにおいてはナミハダニの生存を低下させ(図3)生存阻害能を示した。

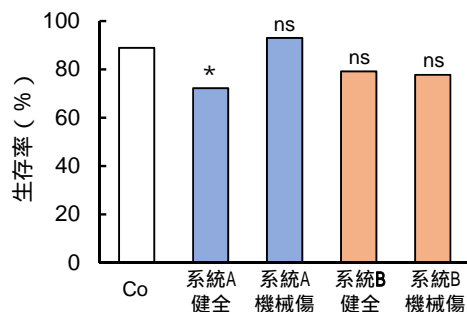


図3 ゼニゴケの揮発性物質を暴露した場合のインゲン上のナミハダニ雌成虫の生存率

ハスモンヨトウ幼虫のパフォーマンス

ゼニゴケの揮発性物質は、A系統の機械傷ゼニゴケにおいてはハスモンヨトウ幼虫の摂食量を増加させるが、体重増加を減少させ

る傾向が見られた。B系統の機械傷ゼニゴケの揮発性物質は、摂食量を減少させ、体重増加も減少させ、ハスモンヨトウ幼虫に対する発育阻害能を有していた。

(1)と(2)の結果のようにゼニゴケの揮発性物質は植食者に対する忌避能と生存阻害能、発育阻害能を有しており、これまで防除対象だったゼニゴケを用いた害虫防除法への発展が期待できる。

(3) ゼニゴケが放出する揮発性物質の分析

C8化合物の1-Octen-3-ol、Octane-3-one、1-Octen-3yl acetateは、ゼニゴケに機械傷を与えることにより放出量が増えた。機械傷を受けることでゼニゴケがより放出するテルペン類は、リモネンを含み4成分あることが分かった。今後は、これらテルペン類の忌避能を評価することで、より害虫防除に有効な物質が明らかにできる。

(4) ゼニゴケがナミハダニ雌成虫のパフォーマンスに及ぼす影響

ナミハダニ雌成虫の生存率

ゼニゴケを餌とした場合のナミハダニの生存率は、インゲンを餌としたときと比べて減少した。しかし、OPDAを生産できないゼニゴケを餌とした場合の生存率は、インゲンを餌としたときと有意な差はなく、生存に対する防衛はOPDAが関与した誘導防衛であることが考えられた。

ナミハダニ雌成虫の産卵数

ゼニゴケを餌とした場合のナミハダニの産卵数は、インゲンを餌としたときと比べて減少した。OPDAを生産できないゼニゴケを餌とした場合も同様な結果となった。このため、産卵に対しては誘導防衛ではなく恒常的な防衛の可能性が示唆された。

(5) ゼニゴケがナミハダニ幼虫のパフォーマンスに及ぼす影響

ゼニゴケを餌とした場合は、インゲンを餌とした場合よりナミハダニ幼虫が成虫になる率(成虫率)が減少し、発育を阻害することが示された(図4)。また、その発育阻害効果は系統Aより系統Bの方が高かった(図4)。

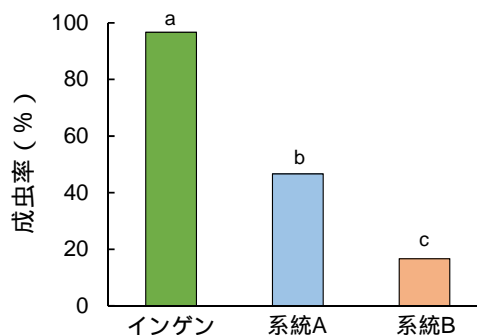


図4 各餌におけるナミハダニ幼虫が成虫になった割合(成虫率)

(6) ゼニゴケがハスモンヨトウ幼虫のパフォーマンスに及ぼす影響

人工飼料を餌とした場合はほとんどのハスモンヨトウ幼虫は蛹化するが、ゼニゴケを餌とした場合は4齢や5齢までは発育可能だが、ほとんど蛹化できず蛹化阻害能が認められた。

(7) ゼニゴケがナミハダニ卵の孵化に及ぼす影響

インゲン上のナミハダニ卵の孵化率と比べてゼニゴケ上の孵化率は大きく低下し(図5) ゼニゴケに孵化抑制能があることを明らかにした。この結果は、ナミハダニ雌成虫の産卵を調べているときに気がつき、計画にはないインパクトのある成果となった。

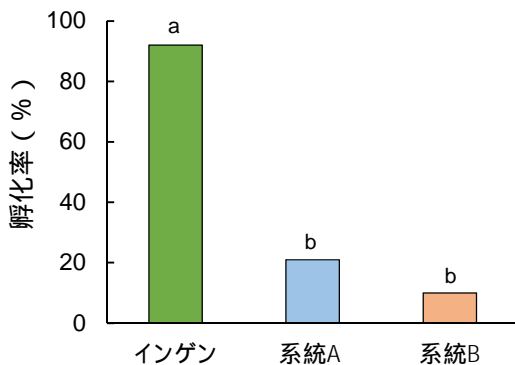


図5 インゲンとゼニゴケ上のナミハダニ卵の孵化率

(8) ゼニゴケ内のJAとSAの分析

ナミハダニ食害ゼニゴケとハスモンヨトウ幼虫食害ゼニゴケのJA量とSA量は、健全ゼニゴケと比べて増加する傾向にあった。しかし、JAの検出量は非常に小さく、今後さらに調査して行く必要があると考えられた。

以上の結果によって、ゼニゴケは植食者を即時に殺すような非常に強い防衛能を有しておらず、忌避能、生存阻害能、発育阻害能、産卵抑制能、孵化抑制能など様々な防衛能により植食者に対して強い防衛能を発揮していることを世界で初めて明らかにした。さらに、その防衛には誘導防衛も関与していることも世界で初めて明らかにした。

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 5件)

鈴木麻衣子・上船雅義・小澤理香・松井健二・高林純示、ゼニゴケが有するナミハダニの卵に対する発育阻害効果、第62回日本応用動物昆虫学会大会、2018年

鎌井恵美・片山裕貴・小池友恵・鈴木麻衣子・上船雅義・小澤理香・松井健二・高林

純示、ゼニゴケの揮発性物質が植食者のパフォーマンスに与える影響、第62回日本応用動物昆虫学会大会、2018年

飯坂真衣・小池友恵・鈴木麻衣子・上船雅義・小澤理香・松井健二・高林純示、ゼニゴケのハスモンヨトウに対する蛹化阻害効果、第62回日本応用動物昆虫学会大会、2018年

鈴木麻衣子・上船雅義・小澤理香・松井健二・高林純示、ゼニゴケの揮発性物質が有する防衛能の系統的違い、第61回日本応用動物昆虫学会大会、2017年

鈴木麻衣子・上船雅義・小澤理香・松井健二・高林純示、ゼニゴケの揮発性物質が有する防衛能の系統的違い、日本昆虫学会第76回大会・第60回日本応用動物昆虫学会大会合同大会、2016年

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0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 0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〕
特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上船 雅義 (UEFUNE, Masayoshi)
名城大学・農学部・准教授
研究者番号：90559775

(2) 研究分担者

松井 健二 (MATSUI, Kenji)
山口大学・医学系研究科・教授
研究者番号：90199729

小澤 理香 (OZAWA, Rika)
京都大学・生態学研究センター・研究員
研究者番号：90597725

(3)連携研究者

高林 純示 (TAKABAYASHI, Junji)

京都大学・生態学研究センター・教授

研究者番号：10197197