

令和元年6月10日現在

機関番号：82111

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K21599

研究課題名(和文)植物の複合ストレスへの抵抗性応答：罹病植物は食害虫を回避できるのか？

研究課題名(英文)Resistive responses of plant to complex stresses: Can disease plants avoid insect pests?

研究代表者

植田 浩一 (Ueda, Hirokazu)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・農業環境変動研究センター・契約研究員・外部研究員等

研究者番号：20432594

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題では、植物が病害と虫害を同時に受けた三者系実験モデルを構築し、病害(トマトモザイクウイルス)に対する植物(トマト)のストレス応答が、害虫(タバココナジラミ)の選好性に与える影響を明らかにすることとした。構築した実験系において、ウイルスに対する病害応答で植物内に蓄積したサリチル酸は、タバココナジラミの産卵選好性と生育に対し、負の影響を与えることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでの研究では、様々な植物 植食者相互作用において、健康な植物やストレスを受けた植物に対する植食者の選好性が報告されていたが、どのような植物の機構が選好性を決定するかは明らかにされていなかった。本研究結果は、トマトモザイクウイルス(ToMV)の感染によりトマト植物が蓄積するサリチル酸(SA)が、タバココナジラミの産卵選好性に負の影響を与える重要な分子であることを示した。また、SAは、タバココナジラミによる食害によっても上昇する。これらのことから、タバココナジラミが、病害や食害ストレスによるSAを蓄積していない植物に選好性を示すことは、次世代により良い生育環境を選択するためだと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we constructed a simple tripartite experimental system in which plants were simultaneously damaged by insect pests and diseases. Tomato plant (Micro-Tom), their insect pest Bemisia tabaci (whitefly), and infectious tomato mosaic virus (ToMV) were used for the system. In the choice tests, whiteflies laid more eggs on healthy plants than on disease plants. Salicylic acid accumulation in response to biological stresses such as disease and whitefly infection is involved in whitefly preference and growth performance.

研究分野：植物防御応答

キーワード：植物防御応答 植物-昆虫間相互作用 生物間相互作用

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

野外の植物は、しばしば病原体と草食動物によるストレスを同時に受ける。病原体による感染および植食者による食害は、植物に対する深刻な生物学的ストレスであり、作物の損失の約40%を占めるといわれている。したがって、植物 食害虫 微生物の相互作用を理解することは、作物の損失を減らすために重要である。植物の情報伝達分子、特にサリチル酸 (SA)、ジャスモン酸 (JA)、およびエチレンは、生物学的ストレスに対する防御応答を誘導するのに重要な役割を果たす。それぞれのストレス応答の解析が進められており、一般に、生物栄養性病原体およびウイルスによる感染、ならびに吸汁性食害虫による食害は、植物に SA 蓄積および SA 関連応答を誘導することが明らかにされてきた。一方、壊死性病原体による感染および咀嚼昆虫による食害は、JA 蓄積および JA 関連応答を誘導する。一方で、病害と食害が同時に植物に及ぼす複合ストレスの影響を同時に評価できる実験系は限られており、SA と JA の2つの経路を活性化する場合や、同じ経路を活性化する場合が考えられるが、これらのストレスを同時に受けた植物の応答は、ほとんど分かっていない。

Bemisia tabaci (タバココナジラミ) は、食害や、それに伴い植物ウイルスを媒介することで深刻な被害を引き起こす農業害虫である。昆虫に媒介されるウイルスは、昆虫自体またはそれらの内因性微生物と相互作用することによって、媒介昆虫の植物嗜好性へ影響を与えられている。しかし、タバココナジラミが罹病植物と健康な植物を、どのように区別するかはまだ明らかにされていない。

トバモウイルスは最も研究されているウイルス性病原体である。トマトに感染するトマトモザイクウイルス (ToMV) は、罹病トマトの果実収量および商品価値を低下させるとともに、深刻な成長抑制を示す。また、ToMV は、タバココナジラミによって媒介されるウイルスではない。

そこで、本課題では、モデル実験系を構築して、植物-病原体(ウイルス)-昆虫の相互作用を解析した。本研究計画は、構築した実験系を用いて、植物の複合ストレスに対する防御応答の解析をすることで、植物がそれぞれのストレスに対して効果的な抵抗性を発現することができる、防御応答の量的な調節を明らかにすると考えられた。

2. 研究の目的

農薬の使用量を抑える手段の一つとして、植物自身が元々持っているストレス防御機構の活用が注目されている。病気や害虫が個別に発生した際の植物の応答はよく研究されており、この2つの自己防衛反応は互いに打ち消しあう関係にあることが知られている。屋外の植物は病原菌や害虫から同時にストレスを受ける場合も多いが、この場合どの様に応答しているかの知見は限られていた。

本研究では、トマト、タバココナジラミ、および ToMV からなる、植物 昆虫 ウイルス三者間相互作用の実験系を構築した。構築した実験系を用いて、ウイルス感染および健康な植物に対する、タバココナジラミの産卵嗜好性およびウイルス感染植物に対する生育パフォーマンスを調べた。この解析を通して、タバココナジラミの産卵嗜好性と生育パフォーマンスに影響する植物の機構を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

植物は、遺伝情報が豊富であり、変異株や形質転換体の作成が可能なトマトを用いた。病原体は、トマトの代表的な病気であるトマトモザイクウイルス。食害虫は、トマトを含む多くの作物に食害を及ぼし、かつ難防除食害虫である、タバココナジラミ(吸汁食害)を用いた。なお、タバココナジラミは、ToMV を媒介しないため、実験系が単純化できる。

(1) 各処理植物の調整

嗜好性試験に供する植物を準備するため、トマト植物体を4週間育て、下から数えて第4本葉に、各処理を行った。

罹病植物は、調整した ToMV 溶液をカーボランダムと共に擦りつけ感染させ、ToMV のモザイク病徴が確認できた感染処理7日後の植物体を、嗜好性試験に供した。

サリチル酸処理植物は、1mM に調整したサリチル酸溶液をスプレーで噴霧処理し、処理2日後の植物体を選択性試験に供した。

タバココナジラミ処理植物は、タバココナジラミ5匹を覆いに入れ、あらかじめ食害させた。食害処理3日後の植物体を選択性試験に供した。

対照は、ToMV やサリチル酸溶液の代わりに緩衝液を処理した植物や、覆いだけの処理を行った植物を用いた。

(2) 産卵嗜好性試験

タバココナジラミがどのような植物に好んで産卵するかを調べるために、産卵嗜好性試験を行った。準備した植物を、600mm × 350mm × 300mm のアクリル製容器に設置し、それぞれの植物体から等距離からタバココナジラミを25匹放飼した(図1)。放飼7日後に、

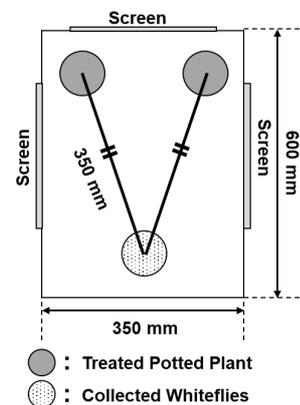


図1 実験系

植物体を回収し、植物上に産卵されたタバココナジラミの卵の総数を計数した。選好性試験は少なくとも6回以上試行した。

(3) 生育パフォーマンス解析

産卵選好性試験の結果から、タバココナジラミは健全な植物を選択した。健全植物を選択する工程を明らかにするために、健全植物および罹病植物上でのタバココナジラミの生育パフォーマンスを解析した。ToMV 感染処理をした葉の上位葉に、タバココナジラミを2匹処理し、1日産卵させた。この罹病植物上に産卵したタバココナジラミの卵のふ化率、および羽化率を観察によって、計数した。

(4) 植物のストレス応答解析

各処理を行った植物がどのような応答を行っているか解析するために、ストレス応答遺伝子の発現、植物ホルモンおよびストレス応答物質の定量を行った。遺伝子発現を解析するために、各処理植物から RNA を抽出し、ストレス応答に特徴的な遺伝子である *PIN2*、*PR4*、*SOD* の発現を qRT-PCR によって定量した。植物がストレス応答で蓄積するジャスモン酸やサリチル酸を植物から抽出し、GC-MS によって分析、定量した。

4. 研究成果

(1) タバココナジラミは ToMV 感染植物よりも健全な植物を選択し産卵した(図2)。本研究では、虫によって媒介されないウイルスを用いているため、ToMV 感染に対するトマトの応答が、タバココナジラミの選好性に影響を与えたと考えられた。罹病植物ではなく、健全植物への選好性を示す理由を解析するために、それぞれの植物がタバココナジラミの生育に与える影響を解析した。各処理植物における卵の孵化率および成虫の出現率を比較すると、罹病植物上の卵は、健全植物上の卵より孵化が遅くなった。また、健全植物における成虫タバココナジラミへの羽化率もまた、罹病植物における羽化率よりも有意に高かった(図3)。

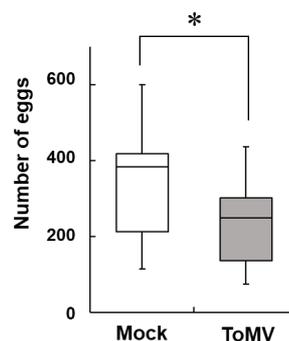


図2 健全植物と罹病植物に対するタバココナジラミの産卵選好性

(2) ToMV 感染に対するトマトの応答を解析するために、遺伝子発現と植物ホルモンなどのストレス応答物質を定量した。ストレス応答遺伝子として、*PIN2*、*PR4*、および *SOD* の mRNA レベルを評価した。SA シグナルのマーカー遺伝子である *PR4* の mRNA レベルは、ToMV 接種時に有意に増加した。一方、傷害応答のマーカー遺伝子である *PIN2*、および酸化ストレスのマーカー遺伝子である *SOD* の発現レベルは、各処理間で差がなかった。この結果を裏付けるように、SA の蓄積が、ToMV 罹病植物の葉で観察された(図4)。反対に、JA の蓄積は ToMV 罹病によって起こらなかった。

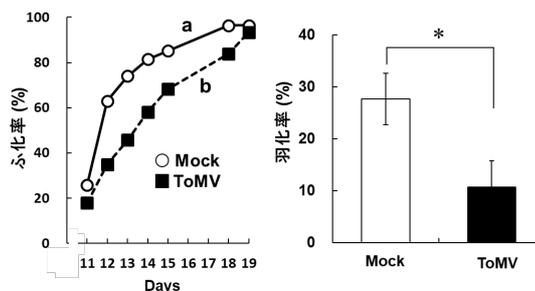


図3 健全植物と罹病植物上でのタバココナジラミの生育パフォーマンス

(3) タバココナジラミは、外因的に SA を処理した植物上への産卵を忌避した。さらに、SA を蓄積することができない形質転換体(NahG トマト)に ToMV を感染させた罹病植物と健全植物を産卵選好性試験に使用すると、タバココナジラミは健全植物と罹病植物との間で産卵選好性を示さなかった。従って、SA の蓄積が健康な植物と非媒介性のウイルス感染した罹病植物に対するタバココナジラミの産卵選好性を決定する因子であると結論づけた。

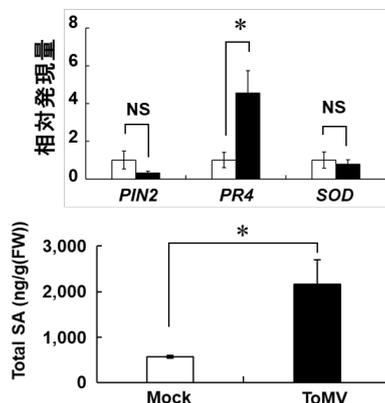


図4 健全植物と罹病植物の応答解析

(4) タバココナジラミの食害によっても、SA 蓄積や SA に関連する応答を誘導することを確認した。そこで、あらかじめタバココナジラミの食害することによって誘導された SA の蓄積が、後から接種されたタバココナジラミの選好性に影響を及ぼすかどうかを解析した。タバココナジラミは、タバココナジラミ食害を受けた植物よりも未被害植物への産卵を有意に好んだ(図5)。しかしながら、SA が蓄積されないよう改変された植物(NahG

トマト)では、タバココナジラミの産卵数が有意に減少した(図5)。これらの結果から、SA の蓄積がタバココナジラミの産卵選好性を決定する因子であると結論づけた。

生産誘導株)を使用すると、この選好の違いは観察されなかった。

(5) タバココナジラミが、タバココナジラミによる被食害植物を回避(図5)し、SA蓄積した植物上での生育パフォーマンスが低下した(図3)。さらに、SA蓄積が不十分である NahG トマトに対しては、産卵選好性が観察されなかった(図5)。これらの結果から、SAがToMV感染またはタバココナジラミに食害、定着されたトマト植物に対する産卵選好性を負に制御する重要な分子であることを示している。タバココナジラミが罹病や食害のストレスを受けていない植物を選択することは、タバココナジラミがより質の高い食品を探し、他のタバココナジラミと競合して子孫の成長に不利となり得る植物を回避するためとも考えられ、合理的である。しかし、タバココナジラミがSA蓄積植物をどのように認識しているかは、まだ不明である。SA蓄積やSA応答によって変化した味、匂い、または他の要因を解析することは興味深い。さらに、他の食害虫と植物の相互作用、吸汁ではなく咀嚼様式の食害虫に対して、SAが同様の影響を与えるかどうかを明らかにしていきたい。

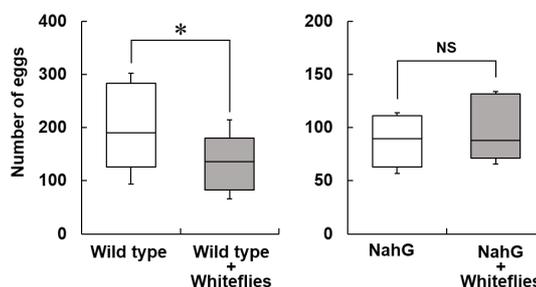


図5 タバココナジラミ処理が産卵選好性に与える影響

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計1件)

Hirokazu Ueda, Soichi Kugimiya, Jun Tabata, Hiroko Kitamoto and Ichiro Mitsuhashi, Accumulation of salicylic acid in tomato plant under biological stress affects oviposition preference of *Bemisia tabaci*, Journal of Plant Interactions, 査読有、Vol. 14, No. 1, 2018, pp73-78

DOI: 10.1080/17429145.2018.1550220

[学会発表](計3件)

植田浩一、釘宮聡一、田端純、北本宏子、光原一郎、タバココナジラミに同種の食害トマトやToMV感染トマトが及ぼす影響、第63回日本応用動物昆虫学会大会、2019

植田浩一、釘宮聡一、田端純、北本宏子、光原一郎、トマト植物に蓄積したサリチル酸が、タバココナジラミの産卵嗜好性に影響する、日本農芸化学会2019年度大会、2019

植田浩一、釘宮聡一、田端純、光原一郎、北本宏子、植物の罹病応答が食害虫の嗜好性に与える影響の解析、日本農芸化学会2017年度大会、2017

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(2)研究協力者

研究協力者氏名：釘宮 聡一

ローマ字氏名：(KUGIMIYA, soichi)

研究協力者氏名：田端 純

ローマ字氏名：(TABATA, jun)

研究協力者氏名：北本 宏子

ローマ字氏名：(KITAMOTO, hiroko)

研究協力者氏名：光原 一郎

ローマ字氏名：(MITSUHARA, ichiro)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。