

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：33919

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06434

研究課題名(和文)ゼニゴケの植食者に対する多様な防衛能とそのメカニズムに関する研究

研究課題名(英文) Study on the various defenses of *Marchantia polymorpha* against herbivores and on their mechanisms

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) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ゼニゴケの直接防衛と間接防衛に関して調べ、維管束植物と比較した。ゼニゴケは、チョウ目幼虫に対して発育阻害の効果は低いが高い蛹化阻害効果を有していた。植食者に食害を受けたゼニゴケの匂いは、維管束植物同様に植食者種特異的なものであり、植食者忌避能と天敵誘引能を有していた。ゼニゴケには接触によるふ化抑制能が存在したが、維管束植物でもふ化抑制能が確認された。ゼニゴケは維管束植物同様に匂いで植物間コミュニケーションを行い植食者に対する防衛を向上させた。また、これらゼニゴケの防衛にはOPDAが広く関与していることも明らかとなった。さらに、ゼニゴケは、チョウ目幼虫によって分布拡大している可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物の保護や利用をすることにおいて、対象となる植物がどのようにして生きているかを知ることは非常に重要である。本研究では、植物において初めて陸上に出現したコケ植物のゼニゴケがどのように植食者とその天敵と関わり合っているのかを調べた。その結果、様々な方法でゼニゴケは植食者から直接身を守っているだけでなく、天敵を誘引して間接的に身を守ることが分かった。これらの成果は、植物の進化を紐解く手助けになるだけでなく、害虫防除において新しい技術開発へ発展できる可能性がある。また、ゼニゴケがチョウ目幼虫に摂食されて分布を広げる可能性も発見し、植物の面白い生き方を示すことができた。

研究成果の概要(英文)：The direct and indirect defenses of the liverwort *Marchantia polymorpha* were investigated and compared with those of vascular plants. The liverwort plants were less effective in inhibiting development but more effective in inhibiting pupation of Lepidopteran larvae. Similar to vascular plants, the odor of the liverwort plants infested with herbivores was herbivore species-specific, and had ability to repel herbivores and to attract natural enemies. In addition, the liverwort plants showed the ability to inhibit hatching by contact, and vascular plants also showed that. The liverwort plants, like vascular plants, communicate with other individuals using their odor to improve their defense against herbivores. OPDA was widely involved in the defense of the liverwort plants. Furthermore, it was shown that the liverwort plants could expand their distribution by Lepidopteran larvae.

研究分野：応用昆虫学

キーワード：植物防衛 ゼニゴケ 直接防衛 間接防衛 植物間コミュニケーション

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、植物には植食者の発育・繁殖の低下などの直接抵防衛と天敵誘引の間接防衛が存在することが明らかとなっている。また、植食者に食害された植物において、防衛に關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、これらの結果としての防御物質の生産、天敵誘引性の揮発性物質の放出など多くの研究が報告されている (Arimura et al. 2009)。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御遺伝子の誘導、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。維管束植物が進化の過程でどのように植食者や病原微生物に対して誘導防衛能力を獲得してきたのか議論が進んでいる一方、非維管束植物である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が明らかにされているのみである。さらに、コケ植物が植食者に対してどのような誘導防衛を行っているのかに関しては未解明であった。コケ植物の植食者に対する誘導防衛の研究が進展しない理由として、コケ植物を食べる昆虫やダニ類が少ないことがあげられる。しかし、申請者は、ナミハダニとハスモンヨトウを用いて食害を与えることでゼニゴケの植食者に対する誘導防衛研究を可能とした。

これまでの研究によって、機械傷を受けたゼニゴケの匂いには、ナミハダニとハスモンヨトウ幼虫に対する忌避能とハスモンヨトウ幼虫の発育抑制能を有していることが明らかになってきている。また、ゼニゴケを餌とした場合、ナミハダニは発育と繁殖が低下し、ハスモンヨトウは、終齢幼虫まで発育可能であるが蛹になれないことを明らかにした。このように、ゼニゴケの植食者に対する防衛は、強い殺虫および殺ダニ成分によるものではなく、いくつかの防衛能の組み合わせで成り立っており、間接防衛能などまだまだその他の防衛能を有している可能性が高い。本研究では、コケ植物の防衛能を明らかにし、これら防衛能が維管束植物とどこまで類似するか明らかにする。

2. 研究の目的

陸上植物の最基部で分岐したコケ植物が植食者に対してどのような防衛能を有しているのかを理解することは、植物防衛の進化について生態学的に重要な知見である。これまでの研究により、ゼニゴケは植食者を即時に殺すような強い防衛能を持っておらず、植食者に対する忌避能、発育抑制能、産卵抑制能などの複数の防衛能を有していることがわかってきた。本研究では、ゼニゴケの植食者に対する防衛の全体像を把握し維管束植物と比較するため、ゼニゴケの直接防衛に加えて、天敵誘引による間接防衛、さらには植物間のコミュニケーションによる防衛に関して研究を行う。また、ゼニゴケの防衛メカニズムに関しては、コケ植物における植物ホルモンと直接防衛の関係を明らかにすることを目的としたが、ゼニゴケがハスモンヨトウ幼虫に摂食を許し発育させる理由を発想したため、研究の方向性を変更してこの研究を進めた。

3. 研究の方法

(1) ゼニゴケにおける植食者防衛の評価

ゼニゴケの植食者に対する防衛が植食者種によって変化するかを明らかにするため、ハスモンヨトウ幼虫とアワヨトウ幼虫にゼニゴケを餌として与え、発育を比較した。植食者への抵抗性に關与するジャスモン酸 (JA) の上流物質である OPDA がハスモンヨトウ幼虫に対する抵抗性に影響しているかを評価するために、OPDA を生産できないゼニゴケを与え、発育を調べた。

(2) ゼニゴケの匂いによる植食者忌避と天敵誘引の評価

ゼニゴケの匂いに植食者に対する忌避性があるのか、天敵に対する誘引性があるのかを風洞を用いて調べた。植食者忌避はナミハダニを用いて、天敵誘引はナミハダニの天敵のチリカブリダニを用いて調べた。匂い源としては、健全ゼニゴケ、機械傷ゼニゴケ、ナミハダニ食害ゼニゴケ、ハスモンヨトウ食害ゼニゴケを用いた。維管束植物では食害により誘導された揮発性物質が天敵誘引などに影響している。そこで、植食者忌避と天敵誘引に關与する揮発性物質が誘導されたものかどうかを評価するために、誘導防衛に關与する JA の上流物質である OPDA を生産できないゼニゴケを匂い源に用いた。さらに、食害による誘導された物質を明らかにするために、健全ゼニゴケ、機械傷ゼニゴケ、食害ゼニゴケの匂い成分をガスクロマトグラフィー質量分析計を用いて分析した。

(3) ゼニゴケのふ化抑制効果

ゼニゴケのナミハダニ卵に対するふ化抑制効果がゼニゴケの匂い成分によるものかどうかを評価するために、ナミハダニの卵をゼニゴケに触れさせて匂いを曝露した場合とゼニゴケに触れさせずに匂いを曝露した場合のふ化率を比較した。ゼニゴケのふ化抑制は植物体表面に触れることで引き起こされることがわかったため、この孵化抑制が維管束植物でも存在するかを評価するために、植物の葉表面に卵を置いた場合にふ化率が低下するかどうかを調べた。さらに、

ナミハダニは網を張って産卵することが知られているが、網上の産卵がふ化抑制回避の効果を持つかどうか評価するために、植物表面上と網上の卵のふ化率を比較した。

(4) ゼニゴケにおける植物間コミュニケーション

ゼニゴケが維管束植物同様に、匂いによる植物間コミュニケーションによって抵抗性を誘導するかどうかを評価するために、ナミハダニに食害されたゼニゴケの匂いを暴露されたゼニゴケ上と健全ゼニゴケの匂いを暴露されたゼニゴケ上のナミハダニの産卵数を比較した。また、この誘導防衛に **OPDA** が関与しているかどうかを評価するために、匂いを暴露されるゼニゴケとして、**OPDA** を生産しないゼニゴケも用いて実験を行った。さらに、植物間コミュニケーションがゼニゴケの生育に影響を及ぼすかどうかを評価するために、食害ゼニゴケの存在する場所の反対側に葉状体をよく成長させるかどうかを調べた。

(5) ゼニゴケのチョウ目幼虫による分布拡大

ゼニゴケは、ハスモンヨトウ幼虫やアワヨトウ幼虫が摂食し、老齢幼虫まで発育することを許すが、蛹化することを妨げる。植物防衛の観点から考えると即座にこれらチョウ目幼虫を死亡させる方が食害による被害が小さく、適応的である。このため、ゼニゴケがチョウ目幼虫に摂食し、発育することを許すには何か利益があると想定され、ゼニゴケは摂食を受けたチョウ目幼虫が移動し、排出した糞から発芽することで分布拡大の利益を得ていると考えた。そこで、ゼニゴケを摂食したハスモンヨトウ終齢幼虫の糞からゼニゴケが発芽するかどうかを確認した。また、ゼニゴケを好んで摂食するかどうかを調べるために、ゼニゴケ、人工飼料、インゲンマメ葉を用いてハスモンヨトウ老齢幼虫の餌選好性を調べた。

4. 研究成果

(1) ゼニゴケにおける植食者防衛の評価

ハスモンヨトウとアワヨトウ幼虫に対する防衛比較

ゼニゴケを餌とした場合、ハスモンヨトウ幼虫と同様にアワヨトウ幼虫も蛹化できず、3 齢から 5 齢の間に死亡した。ゼニゴケ摂食の影響は、餌を人工飼料に変更すればハスモンヨトウ幼虫では見られなかったが、アワヨトウ幼虫は摂食量が減少したままで発育が悪くなり、アワヨトウの方がハスモンヨトウよりゼニゴケの直接抵抗性が高いと考えられた。

植物ホルモン **OPDA** がハスモンヨトウ幼虫に対する防衛に及ぼす影響

ハスモンヨトウ幼虫の 5 齢に進めた割合は、人工飼料に比べて野生株を餌とした場合は有意に低かったが、ジャスモン酸の前駆体である **OPDA** を生産できないゼニゴケを餌とした場合は有意差が認められず、**OPDA** の関与した誘導防衛がゼニゴケの発育阻害能に関与していることが明らかとなった。

(2) ゼニゴケの匂いによる植食者忌避と天敵誘引の評価

ゼニゴケの植食者に対する忌避能

ナミハダニは、健全ゼニゴケの匂いに対して反応を示さないが、機械傷ゼニゴケと同種のナミハダニが食害したゼニゴケの匂いを忌避した。一方、ハスモンヨトウ幼虫が食害したゼニゴケの匂いにナミハダニは忌避性を示さなかった。このため、ゼニゴケは維管束植物同様に植食者種により匂い成分を変化させることと、ナミハダニの忌避性は食害する植食者種により変化することが明らかとなった。

OPDA が生産できないゼニゴケを匂い源にしてナミハダニの忌避性を確認した。その結果、機械傷を受けたゼニゴケの匂いにはナミハダニに対する忌避性が確認できた。しかし、ナミハダニ食害を受けたゼニゴケの匂いは、ナミハダニに対する忌避性が確認できなくなった。これらのことから、ゼニゴケの害虫忌避に関わる匂い成分は、**OPDA** により誘導される匂い成分と **OPDA** が関与しない匂い成分が存在することが明らかとなった。

機械傷ゼニゴケの匂いをナミハダニは忌避するが、ハスモンヨトウ幼虫の吐き戻し液を機械傷に塗ったゼニゴケの匂いに対してナミハダニは忌避性を示さなかった。このため、ハスモンヨトウが摂食する際のだ液にゼニゴケのセスキテルペンの放出を抑える効果がある可能性が示された。しかし、機械傷に水を塗ったゼニゴケの匂いもナミハダニは忌避性を示さなかったため、だ液中の成分ではなく、だ液中の水分が傷を覆うことでセスキテルペンの放出を抑制した可能性もあると考えられた。

ゼニゴケの天敵に対する誘引能

チリカブリダニは、健全ゼニゴケと機械傷ゼニゴケの匂いに対して反応を示さないが、餌であるナミハダニが食害したゼニゴケの匂いを選好した。さらに、ゼニゴケのチリカブリダニに対する誘引性は、餌でないハスモンヨトウ幼虫の食害では認められず、ゼニゴケにおいて植食者種特異的な天敵の誘引性が確認できた。このことは、ゼニゴケは、維管束植物と同様に植食者種により匂いを変化させ、誘引する天敵種を変化させる能力を持つ可能性を示した。

OPDA が生産できないゼニゴケを匂い源に用いてナミハダニの天敵であるチリカブリダニの誘引を調べたところ、チリカブリダニに対する誘引性は認められなかった。このため、ゼニゴケの天敵誘引は、**OPDA** が関与した誘導防衛であることが明らかとなった。

ゼニゴケの匂い分析

ゼニゴケの匂いを分析したところ、ゼニゴケは機械傷を受けると健全なゼニゴケと比べて大量のセスキテルペンが放出されることが明らかになった。また、ナミハダニ食害を受けたゼニゴケではモノテルペンが特異的に放出されており、チリカブリダニの誘引はモノテルペ

ンが影響していると考えられた。面白いことに、ナミハダニとハスモンヨトウ幼虫が食害するとセスキテルペンの放出が抑えられ、モノテルペンの放出が増加し、ゼニゴケは食害特異的な匂いの放出をすることが分かった。

(3) ゼニゴケのふ化抑制効果

ゼニゴケのナミハダニに対する孵化抑制

ナミハダニ卵のふ化抑制がゼニゴケの匂いで起こっているのか評価するために、ゼニゴケ上とゼニゴケに置かれたパラフィルム上のナミハダニ卵のふ化率を比較した。その結果、パラフィルム上のふ化率はゼニゴケ上のふ化率より非常に高く、ゼニゴケのふ化抑制はゼニゴケの匂いで起こっておらず、植物体上の物質に卵が触れることによって起こっていることが示唆された。

孵化抑制に対する維管束植物との比較

インゲンマメ、スイートバジル、トマトの葉を用いて、ナミハダニ卵のふ化抑制効果を調べたところ、トマト葉片にも植物体に触れることによる孵化抑制効果が存在することが明らかとなった。このため、この孵化抑制能はゼニゴケだけでなく維管束植物にも存在することが明らかとなった。

ナミハダニの網上産卵の効果

ゼニゴケと維管束植物において植物に触れて卵を産卵することはナミハダニにとって孵化を低下させる要因となる。ナミハダニは網を張って産卵する行動が確認されていることから、網上への産卵が植物のふ化抑制の回避になるかを調べた。その結果、ゼニゴケとトマトの両方において网上的卵の方が植物上の卵よりふ化率が高かった。したがって、ナミハダニがゼニゴケ上に張った網上に産卵することでゼニゴケのふ化抑制を回避できることが明らかとなった。

(4) ゼニゴケにおける植物間コミュニケーション

植物間コミュニケーションがゼニゴケの植食者抵抗性に及ぼす影響

ゼニゴケも維管束植物と同様に植物間コミュニケーションを行うかどうかを調べた結果、ナミハダニ食害ゼニゴケの匂いを暴露されたゼニゴケ上のナミハダニは、健全ゼニゴケの匂いを暴露されたゼニゴケ上と比べて産卵数が減少した。このことから、ゼニゴケは、維管束植物と同様に植物間コミュニケーションを行い抵抗性を向上させる能力があることが明らかとなった。

匂いを曝露されるゼニゴケとして、**OPDA** を生産しないゼニゴケも用いて実験を行った結果、ゼニゴケの抵抗性の向上が確認されなかった。このため、ゼニゴケの植物間コミュニケーションによる抵抗性向上に **OPDA** が関与していることが明らかとなった。

植物間コミュニケーションがゼニゴケの生育に及ぼす影響

ゼニゴケの生育に植物間コミュニケーションが影響しているかを調べたところ、他のゼニゴケが健全である場合は他のゼニゴケが存在する方へ葉状体をより伸ばす傾向がわずかにあり、他のゼニゴケがナミハダニに食害を受けていたら他のゼニゴケが存在しない方に葉状体をわずかに伸ばす傾向が見られた。このため、植物間コミュニケーションがゼニゴケの生育に影響を与える可能性がわずかにあることが示唆された。

(5) ゼニゴケのチョウ目幼虫による分布拡大

ハスモンヨトウ幼虫の糞内のゼニゴケの組織断片が発芽できるか調べたところ、回収した組織断片の **10** から **20**%程度が発芽した。また、ゼニゴケに対するハスモンヨトウ終齢幼虫の好みを調べたところ、人工飼料 > ゼニゴケ > インゲンマメ葉の順となった。このため、ハスモンヨトウ幼虫がゼニゴケを餌として嫌っておらず、遭遇すれば摂食し、ゼニゴケから移動後に排出された糞から発芽することでゼニゴケは分布を拡大できることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 松原芳乃・小澤理香・松井健二・高林純示・山岸健三・上船雅義
2. 発表標題 ゼニゴケにとって食害は損ばかりなのか？－植食者による分布拡大－
3. 学会等名 第65回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鎌井恵美・樋口優太・高田悠斗・小澤理香・松井健二・高林純示・山岸健三・上船雅義
2. 発表標題 コケ植物-ハダニ-天敵間の匂いを介した相互作用
3. 学会等名 第64回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 飯坂真衣・肥塚崇男・小澤理香・松井健二・高林純示・山岸健三・上船雅義
2. 発表標題 ゼニゴケがハスモンヨトウ幼虫の発育と摂食行動に及ぼす影響
3. 学会等名 第63回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鎌井恵美・小澤理香・松井健二・高林純示・山岸健三・上船雅義
2. 発表標題 ナミハダニの網作製の適応的意義－網による孵化向上効果－
3. 学会等名 第63回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	高林 純示 (Takabayashi Junji) (10197197)	京都大学・生態学研究センター・教授 (14301)	
研究 分担者	小澤 理香 (Ozawa Rika) (90597725)	京都大学・生態学研究センター・研究員 (14301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------