

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：10105

研究種目：基盤研究(C) (特設分野研究)

研究期間：2018～2021

課題番号：18KT0086

研究課題名(和文)植物予防医療的ウイルス病抑制技術

研究課題名(英文)Plant preventive medicinal technique for controlling plant virus disease

研究代表者

相内 大吾 (Aiuchi, Daigo)

帯広畜産大学・グローバルアグロメディシン研究センター・准教授

研究者番号：50552783

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：組織培養用培地のカルシウム濃度を变化させることで、ジャガイモ植物体中のカルシウム含量をコントロールする技術を開発した。これらのジャガイモ組織培養植物を用いて、アブラムシの吸汁行動および嗜好性を評価したところ、高カルシウムジャガイモで吸汁阻害が起こり、アブラムシは低カルシウムジャガイモを好む傾向を示した。また、カルシウム含量の異なるジャガイモを用いてジャガイモYウイルス(PVY)の植物体内移行を観察したところ、抵抗性品種が高温ストレスを受けた際のPVY抵抗性を補強する効果が認められた。さらに、カルシウム含量を变化させた際に、カリウムおよびマグネシウム含量も連動して増加することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、カルシウム施肥の効果として、ベクターの発生量を抑制することが明らかとなっているが、その抑制メカニズムや病原体の伝播抑制への寄与に関しては不明である。本研究課題では、カルシウム施肥による植物体の頑健化によるベクターの病原体の伝播抑制効果を評価した。昆虫行動学的なアプローチにより、ベクター行動制御におけるカルシウムの役割について理解を深め、予防的な手法でウイルス病から植物を保護する技術の創発へつなげることを目的とした。本研究結果をもとに、植物の栄養状態を管理することによって、害虫被害や病原体伝搬効率を低減する、全く新しい防除技術の確立につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：A technique to control calcium content in tissue culture potato was developed by changing calcium concentration in tissue culture medium. The evaluations of aphid feeding behaviors and preference were done by using tissue culture potatoes which adjusted calcium content. As a result, feeding inhibition was detected on high calcium plant and higher preference was observed on low calcium plant. The transition of potato virus Y in calcium adjusted potatoes was observed, and the effect of enhancing PVY resistance when resistance varieties were subjected to high temperature stress was detected. Furthermore, it was clarified that potassium and magnesium contents were also increased by increasing of calcium content.

研究分野：応用昆虫学

キーワード：カルシウム ジャガイモ アブラムシ 植物ウイルス 行動制御

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

大規模栽培が行われるジャガイモ生産では、化学農薬以外の防除技術の選択肢は限定的で、化学農薬抵抗性の植物ウイルス病ベクターの出現が問題となっている。近年、カルシウム施肥の効果として、ベクターの発生量を抑制することが明らかとなっているが、その抑制メカニズムや病原体の伝播抑制への寄与に関しては不明であった。一方、申請者はこれまで、感染症媒介ベクターの吸血行動を制御することで、病原体の伝播を抑制する研究を進めていた。本研究課題では、この「ベクターの行動制御による病原体の伝播抑制」のコンセプトをカルシウム施肥による植物体の頑健化という生物現象に外挿した。カルシウム施肥のベクターや植物ウイルス病に対する抑制効果に関する学術的理解を深化させることは、農業資源として全く新しいカルシウムの機能を明らかにするものであり、その重要性の再発見は病害虫防除技術や施肥技術の多様性の向上に貢献するものと考えられた。

### 2. 研究の目的

本研究課題は、ベクターの行動制御による病原体の伝播抑制という概念を、カルシウム施肥による植物体の頑健化という生物現象に外挿することで、ベクター防除におけるカルシウムの役割に対する学術的理解を深め、植物ウイルス病から植物を予防医療的に保護する技術の創発へつなげることを目的とした。つまり、植物へのカルシウム施肥により植物体を頑健化することで、植物ウイルスベクターの宿主植物探索行動や吸汁行動、宿主植物の嗜好性などの行動に影響を与え、結果として行動学的に植物ウイルスの伝播を防ぐことが期待された。この病原体の媒介能に着目した防除技術が植物ウイルス媒介ベクターにおいても達成されれば、他の植物ウイルスを媒介ベクターに適用することで、植物ウイルス病を抑制する全く新しいプロアクティブな防除技術確立へのブレークスルーとなることが期待され、植物ウイルス病抑制に向けた研究基盤として重要な研究対象と考えられた。

### 3. 研究の方法

カルシウム濃度の異なる培地上で生育させた組織培養ジャガイモの植物体中のカルシウム含量を、原子吸光高度計を用いて測定した。次に、高低カルシウム含量のジャガイモを用いて、アブラムシの吸汁行動量をElectric Penetration Graphを用いて測定した。同様に高低カルシウム含量のジャガイモを用いて、チョイステストによるアブラムシの嗜好性試験を実施し、産子数へ与える影響も評価した。

カルシウム濃度の異なる培地上で生育させた組織培養ジャガイモを用いて、ジャガイモウイルス(PVY)の植物体内移行とカルシウムの関係を調査した。培地中のカルシウム含量を1000 $\mu$ M(低カルシウム)と10000 $\mu$ M(高カルシウム)に調整した供試植物にPVYを感染させ、それぞれ1日、10日、20日が経過した植物からTotal-RNAを抽出し、RT-PCRを用いてPVYを検出した。また、PVY抵抗性品種(西海35号)に同様の処理に加えて生育温度を生育適温(20 $^{\circ}$ C)と、PVY抵抗性が失われるとされる高温環境(28 $^{\circ}$ C)でそれぞれ生育させ、同様の方法でPVY-RNAの検出を行った。

これまで、カルシウム施肥を行うことで、カルシウム含量の高い植物体を作り出し、ベクターの行動制御にのみ着目して研究を進めてきた。しかし、カルシウム施肥を行うことで、植物体中のその他の元素含量にも影響を与える可能性が考えられた。それらの元素の動態を把握することで初めて、カルシウム施肥がどのように植物体を頑健化するのかを総体的に理解するこ

とができる。そこで、植物中の主要元素である窒素、リン、カリウム、マグネシウム含量が、カルシウム施肥量の変化に伴ってどのように変化するかを調査した。加えて、培地中の窒素含量およびリン濃度を变化させた培地で生育した植物体のカルシウム含量についても測定した。

#### 4. 研究成果

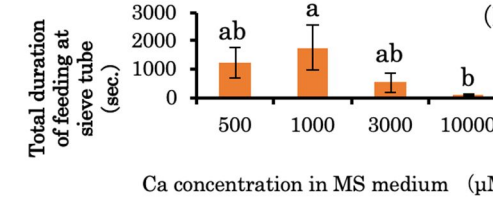
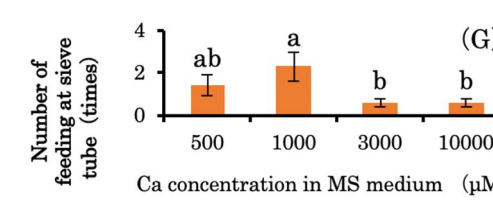
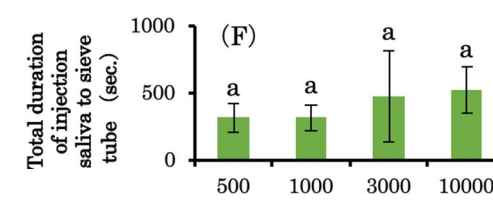
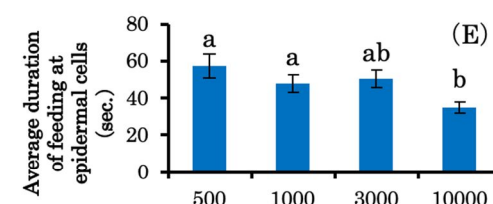
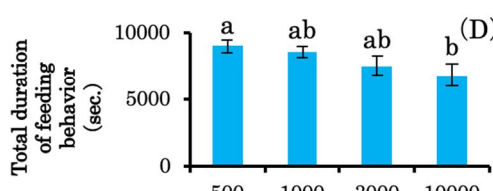
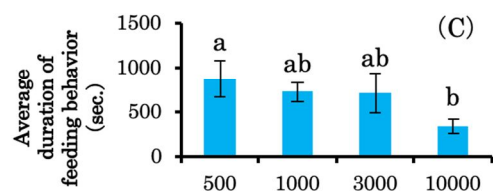
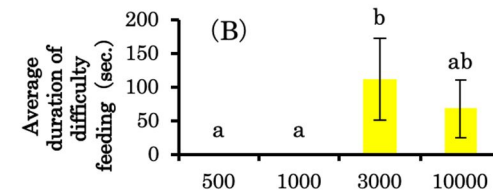
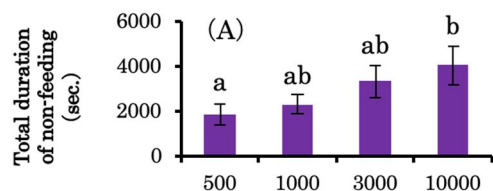
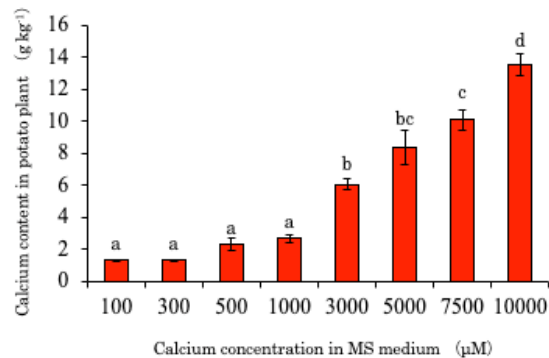
培地中のカルシウム濃度を100~10000 $\mu$ Mに調整したところ、植物体中のカルシウム含量は1.5~12 g/kgと培地中の濃度上昇に伴って植物体中のカルシウム含量も増加した。

次に、アブラムシの吸汁行動を

Electric Penetration Graphを用いて測定

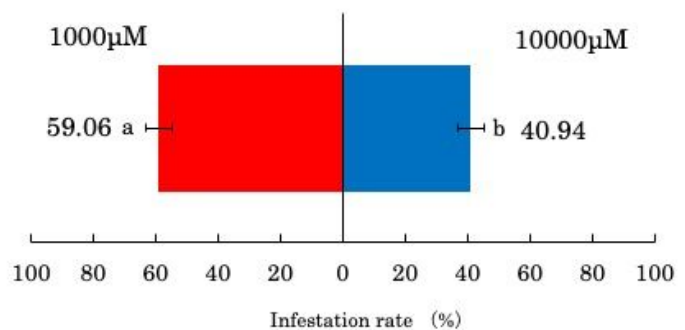
したところ、合計および平均吸汁行動時間が、低カルシウムジャガイモに比べ高カルシウムジャガイモで有意に短くなった。また、吸汁困難の行動は高カルシウムジャガイモのみで検出された。師管への唾液分泌の合計時間は高カルシウムジャガイモ

で増加傾向で、合計師管吸汁時間および師管吸汁回数は高カルシウムジャガイモで減少傾向を示した。



さらに、カルシウム濃度1000 $\mu$ Mと10000 $\mu$ Mの培地上で生育したジャガイモを用いてアブラムシの嗜好性試験を実施したところ、アブラムシは低カルシウムジャガイモをより好むことが明らかとなった。また、高カルシウムジャガイモで有意に低い産子数を示すことも明らかとなった。

カルシウム濃度の異なる培地上で生育させた組織培養ジャガイモ内での、PVYの植物体内移行とカルシウムの関係を調査したところ、PVY感受性品種（男爵）にPVYを感染させた試験では、カルシウムの含量とPVY体内移行の間に関連性はみられなかった。一方、PVY抵抗性品種（西海35号）に同様の処理に加えて生



育温度を生育適温（20℃）と、PVY抵抗性が失われるとされる高温環境（28℃）でそれぞれ生育させ、同様の方法でPVY-RNAの検出を行った。生育適温環境下では、カルシウム含量に関わらずPVYの長距離移行は確認されなかったが、高温環境下では低カルシウム含量の植物体でのみPVYの長距離移行が確認された。これらの結果から、カルシウムはPVYの植物体内移行に直接影響を及ぼさないが、抵抗性品種が高温ストレスを受けた際のPVY抵抗性に対して抵抗性を補強する作用がある可能性が示された。

カルシウム施肥を行うことで、植物体中のその他の元素含量にどのような影響を与えるかを把握するため、植物中の主要元素である窒素、リン、カリウム、マグネシウム含量が、カルシウム施肥量の変化に伴ってどのように変化するかを調査した。その結果、培地中のカルシウム濃度を1000、3000、10000 μMと変化させると、カリウムおよびマグネシウムの吸収量が有意に増加し、元素含量も変動する事が明らかとなった。加えて、培地中の窒素含量およびリン濃度を変化させた培地で生育した植物体のカルシウム含量についても測定したところ、高窒素植物では、カルシウム含量が低下し、高リン植物では、カルシウム含量が増加する事が明らかになった。以上の結果から、単独の元素含量の変化に伴って、他の元素も含有量変動することを見出し、今後はこれらの複雑な相互関係を考慮した上で、植物の頑健化を論じる必要性があるものと考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 ムントリ チャンディオナ, 森本春暢, 大西一光, 小池正徳, パルタ ジワン, 木下林太郎, 相内大吾
2. 発表標題 Establishment of model plant nutrition control system and effects of plant nutrition on Aphis gossypii (Glover) host preference
3. 学会等名 第65回日本応用動物昆虫学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森本春暢, 三上翔, 朝倉幸太, 小池正徳, 木下林太郎, パルタ ジワン, 谷昌幸, 相内大吾
2. 発表標題 ジャガイモ中のカルシウム含量がワタアブラムシの産子数に及ぼす影響
3. 学会等名 第65回日本応用動物昆虫学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森本春暢, 三上翔, Jiwan Palta, 木下林太郎, 谷昌幸, 相内大吾
2. 発表標題 ジャガイモのカルシウム含量がワタアブラムシの吸汁行動と寄主嗜好性に及ぼす影響
3. 学会等名 第64回日本応用動物昆虫学会
4. 発表年 2020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
連携研究者	谷 昌幸  (Tani Masayuki)  (00271750)	帯広畜産大学・グローバルアグロメディシン研究センター・教授    (10105)	

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			
米国	ウィスコンシン大学マディソン校			