

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月21日現在

機関番号：17201

研究種目：新学術領域研究

研究期間：2009～2011

課題番号：21200066

研究課題名（和文）異種染色体導入コムギを用いたイネ科害虫の寄主決定メカニズムに関する研究

研究課題名（英文）Clarification of the mechanism determining host and non-host plants in insects using wheat-barley chromosome addition lines

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

研究成果の概要（和文）：オオムギ染色体導入コムギ系統、および、コムギは摂食するがオオムギは摂食しないトノサマバッタ、コムギにはゴール（虫こぶ）を形成するがオオムギにはゴールを形成しないフタテンチビヨコバイを用いて、オオムギの有用虫害抵抗性遺伝子を探索することを目的とした。ヨコバイおよびバッタの各オオムギ染色体導入コムギに対する感受性を調べ、ゴール形成や摂食阻害のメカニズムを考察した。また、マイクロアレイによる発現動態解析により関連する植物遺伝子を探索した。

研究成果の概要（英文）： We studied the feeding preference and developmental performance of *Locusta migratoria* and *Cicadullina bipunctata* on wheat-barley chromosome addition lines. We also searched for barley genes related to the inhibition of feeding by *L. migratoria* and to gall induction by *C. bipunctata* by ecological and molecular biological experiments.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	8,200,000	2,460,000	10,660,000
2010年度	7,500,000	2,250,000	9,750,000
2011年度	5,400,000	1,620,000	7,020,000
年度			
年度			
総計	21,100,000	6,330,000	27,430,000

研究分野：生物学，農学

科研費の分科・細目：基礎生物学・植物分子生物・生理学，農学，応用昆虫学

キーワード：代謝生理，昆虫生態

1. 研究開始当初の背景

コムギ・トウモロコシ・イネを中心とするイネ科作物は、人類にとって最も有用な植物資源であり、近年は穀物としての利用のみならず、バイオエタノールとしての需要も急増している。

イネ科作物の代表的な害虫として、相変異を示すバッタ類や、吸汁性のウンカ・ヨコバイ類が挙げられる。これらの昆虫類は、イネ科全般を加害するわけではなく、特定の植物種のみを寄主としている。例えばトノサマバ

ッタは、イネやコムギは摂食するがオオムギは摂食しない。また、フタテンチビヨコバイは、トウモロコシやイネ、コムギなどのイネ科作物にゴール（虫こぶ）を形成して萎縮症を引き起こすが、オオムギにはこれらをまったく引き起こさない。

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る。しかしながら、非寄主植物上でのバイオアッセイ

が不可能であることから、これらの抵抗性遺伝子の探索は困難であった。

そこで本研究では、他種染色体の導入に寛容な栽培コムギ特有の性質を最大限に利用し、オオムギの染色体を導入したコムギ系統を利用することにより、非寄主植物に含まれる多数の有用遺伝子の網羅的な探索を試みることにした。

2. 研究の目的

オオムギの7対の染色体を1対ずつ附加したコムギ系統(1H-7H)、および、コムギは摂食するがオオムギは摂食しないトノサマバッタ、コムギにはゴールを形成するがオオムギには形成しないフタテンチビヨコバイの累代飼育系を用いて、オオムギに含まれる有用な虫害抵抗性遺伝子を網羅的に探索する。そして、植食性昆虫における寄主と非寄主を決定づける植物側の遺伝的、生理的、生化学的基盤を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) トノサマバッタの選好性や発育増殖特性の比較

オオムギ、コムギ、および、染色体導入コムギに対するトノサマバッタの選好性を、バッタの齢期(1~5齢幼虫と成虫)ごとに、選択実験(複数のコムギ系統を同時に与える)と非選択実験(特定の系統のみを与える)により、網羅的に調査した。

(2) トノサマバッタの行動解析

明期間・暗期間を通してバッタの活動性を個体ごとに定量可能なアクトグラフ(赤外線センサーにより昆虫の活動性を数値化する装置)を用いて、オオムギ、コムギ、染色体導入コムギを与えた際のバッタの活動性変化を解析した。

(3) フタテンチビヨコバイの選好性と発育増殖特性の比較

オオムギ、コムギ、染色体導入コムギに対するフタテンチビヨコバイの選好性を、選択実験と非選択実験により調査した。また、幼虫によるゴール形成能力の検討や、染色体導入コムギ系統を摂食させた場合の発育を調査した。

(4) オオムギ遺伝子の網羅的発現解析

マイクロアレイによる網羅的な発現遺伝子の解析により、昆虫による発育生存に強く影響を与える植物側の遺伝子や、昆虫加害時特異的に発現する遺伝子を探索した。また、フタテンチビヨコバイによるゴール形成との関連で、オオムギ染色体導入コムギ系統における感受性の違いと相関する遺伝子や、ヨ

コバイによる加害密度と相関する遺伝子の探索を実施し、関連遺伝子の絞り込みを試みた。

(5) 微量サンプルからの植物ホルモン一斉定量

LC-ESI-MS/MSなどを用いた染色体導入コムギ微量サンプルからの植物ホルモンの網羅的定量法を確立するとともに、ヨコバイ加害時のコムギ各部位における植物ホルモンの発現動態を網羅的に解析し、ゴール形成および萎縮症発症に関与する植物側の生理的反応を調査した。

4. 研究成果

(1) トノサマバッタの選好性や発育増殖特性の比較

オオムギ、コムギ、および、染色体導入コムギに対するトノサマバッタ幼虫の摂食選好性を明らかにし、関連遺伝子がオオムギのどの染色体上に存在するかを考察した。また、コムギ、オオムギ、および、染色体導入コムギを摂食させた場合のトノサマバッタの生存率や発育速度を比較した。その結果、コムギ各系統間で、バッタの選好性や活動性、生存率や発育速度に有意な差が検出され、有効な遺伝子の探索に向けて有意な成果が得られた。また、トノサマバッタの群生相と孤独相でオオムギに対する感受性を比較した結果、群生相の方が感受性が低い傾向が認められた。このことは、相変異によりトノサマバッタの摂食特性が変化していることを示しており、オオムギに含まれる摂食阻害物質と、それに対するトノサマバッタの感受性について考察する上で重要な知見である。

(2) トノサマバッタの行動解析

ふ化直後の一齢幼虫のオオムギ染色体導入コムギ各系統の選好性を選択実験やアクトグラフを用いた行動性の解析により、各系統を摂食させた際のトノサマバッタの活動性を明らかにした。本実験により、オオムギとコムギを与えた場合のトノサマバッタの活動性が大きく異なることが判明し、オオムギ染色体導入コムギに対しては通常のコムギを与えた場合と同様の反応を示した。したがって、染色体導入コムギはトノサマバッタにとって餌として認識されていることが示唆された。

(3) フタテンチビヨコバイの選好性と発育増殖特性の比較

オオムギ染色体導入コムギ系統間では、フタテンチビヨコバイの選好性に顕著な違い

が見られなかったことから、いずれの系統もフタテンチビヨコバイに餌として認識されていることが示唆された。ヨコバイに対する染色体導入コムギ各系統の感受性を草丈の萎縮程度とゴールの形成程度で評価した結果、2H, 3H, 4H, 5H では草丈が有意に低くなり、6H と 7H では萎縮は確認されなかった。一方、ゴールの形成程度は 2H, 3H, 6H ではコムギと同等かそれ以下であったのに対し、5H ではゴールが激しく形成されるという予想外の結果が得られた。以上の結果から、フタテンチビヨコバイの吸汁により生じる草丈の萎縮とゴール形成は、異なる生理的メカニズムにより誘導されていることが強く示唆された。6H のゲノム上にはヨコバイに対する抵抗性遺伝子が存在すると考えられた。また、ヨコバイ由来のゴール形成因子の探索に際し、感受性がコムギよりも高まる 5H 系統は有用であると考えられた。

(4) オオムギ遺伝子の網羅的発現解析

ヨコバイによるゴール形成時に特異的に発現する植物側の遺伝子をマイクロアレイによる発現動態解析により探索した結果、系統間における症状の程度と相関した発現パターンを示す遺伝子が 455 個見いだされた。また、ヨコバイの加害密度に応じた発現パターンを示す遺伝子が 469 個見つかった。これらの多くは病害応答に関連する遺伝子であったが、植物ホルモン生合成や応答遺伝子についても遺伝子発現に変化が見られた。有効遺伝子の絞り込みに向けて有益な成果が得られた。

(5) 微量サンプルからの植物ホルモン一斉定量

フタテンチビヨコバイが吸汁した植物体における植物ホルモン量の変化を網羅的に定量した結果、ヨコバイ処理によりアブシジン酸や ζ 型サイトカイニンが増加し、ジベレリンやオーキシンが減少する傾向が認められた。抵抗性系統では、このような変化は見られなかったため、これらの植物ホルモンが加害による草丈伸長の調節とゴール形成に関与していることが示唆された。

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 3 件)

1. Matsukura, K., Matsumura, M., and Tokuda, M. (2012) Host feeding by an herbivore improves the performance of offsprings. *Evolutionary Biology* 査読あり 39: 印刷中.
2. Kumashiro, S., Matsukura, K., Kawaura, K.,

Matsumura, M., Ogihara, Y., and Tokuda, M. (2011) Effect of barley chromosome addition on the susceptibility of wheat to feeding by a gall-inducing leafhopper. *Naturwissenschaften* 査読あり 98: 983-987. (2011年)

3. Matsukura, K., Matsumura, M., and Tokuda, M. (2010) Both nymphs and adults of the maize orange leafhopper induce galls on their host plant. *Communicative and Integrative Biology* 3: 388-389.

[学会発表] (計 22 件)

1. 軸丸裕介 (他 6 名) Comprehensive hormone analysis in wounded and distal leaves. 第53回日本植物生理学会年会. 2012年3月16日、京都産業大学.
2. 神代 瞬 (他 3 名) フタテンチビヨコバイにおける産卵選好性と発育パフォーマンス. 九州病害虫研究会第82回研究発表会、2011年11月9日、大分県労働福祉会館.
3. 軸丸裕介 (他 6 名) 誘導体化による LC-ESI-MS/MS を用いたジベレリン分析の高感度化. 植物化学調節学会第46回大会、2011年11月1日、宇都宮大学.
4. 吉田圭祐 (他 7 名) オオムギ染色体導入コムギを用いたゴール形成昆虫の寄主反応に関わる遺伝子の探索 2. 日本育種学会第120回講演会、2011年9月23日、福井県立大学.
5. 徳田 誠 (他 4 名) 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選好性と発育に及ぼす影響. 日本昆虫学会第71回大会、2011年9月18日、信州大学.
6. 松倉啓一郎 (他 1 名) Cultural control of maize wallaby-ear symptom: damage avoidance by earlier planting of forage maize. XVII International Plant Protection Congress, 2011年8月8日、ハワイ国際会議場.
7. 徳田 誠 (他 4 名) Effect of barley chromosome addition to wheat on feeding preference and growth performance of the migratory locust *Locusta migratoria* (Orthoptera: Acrididae). XVII International Plant Protection Congress, 2011年8月6日、ハワイ国際会議場.
8. 神代 瞬 (他 5 名) Effect of barley chromosome addition on the susceptibility of wheat to feeding by gall-inducing leafhopper, *Cicadulina bipunctata* (Hemiptera: Cicadellidae). XVII International Plant Protection Congress, 2011年8月6日、ハワイ国際会議場.
9. 徳田 誠 Morphological and physiological manipulation of host plants by gall-inducing insects. 第44回日本発生生物学会大会 (シンポジウム招待講演)、2011年5月21日、沖縄

- コンベンションセンター。
10. 吉田圭祐 (他 6 名) オオムギ染色体導入コムギを用いたゴール形成昆虫の寄主決定に関わる遺伝子の探索. 日本育種学会第119回講演会、2011年3月30日、横浜市立大学。
 11. 神代 瞬 (他 3 名) フタテンチビヨコバイの産卵選好性とゴール形成の適応的意義. 第 5 5 回日本応用動物昆虫学会大会、2011年3月28日、九州大学。
 12. 徳田 誠 (他 6 名) コムギへのオオムギ染色体導入がトノサマバッタの選好性と適応度に及ぼす影響. 第 5 5 回日本応用動物昆虫学会大会、2011年3月27日、九州大学。
 13. 神代 瞬 (他 5 名) フタテンチビヨコバイの加害に対するオオムギ染色体導入コムギ各系統の感受性. 第 8 0 回九州病害虫研究会、2010年11月10日、ニューウェルシティー宮崎。
 14. 神代 瞬 (他 7 名) オオムギ染色体導入コムギを用いた昆虫による植物形態操作機構へのアプローチ. 第 1 2 回日本進化学会大会、2010年8月2日、東京工業大学。
 15. 徳田 誠 (他 4 名) Quantitative analysis of plant hormones related to gall induction by *Cicadulina bipunctata* (Homoptera: Cicadellidae) on poaceous crops. 13th International Auchenorrhyncha Congress, 2010年7月2日、Vaison-la-Romaine, France.
 16. 松倉啓一郎 (他 2 名) Host plant manipulation by feeding of the maize orange leafhopper. 13th International Auchenorrhyncha Congress, 2010年6月29日、Vaison-la-Romaine, France.
 17. 軸丸裕介 (他 8 名) An update on the method for plant hormone analysis by LC-MS/MS. 20th International plant Growth Substrate Association, 2010年6月28日、Tarragona, Spain.
 18. 徳田 誠 Host plant manipulation by gall-inducing insects. 林業試験所 (Taiwan Forestry Research Institute) 専題講演 (招待講演)、2010年2月25日、台北市。
 19. 徳田 誠 (他 4 名) フタテンチビヨコバイによるトウモロコシへのゴール形成と関連する植物ホルモンの一斉分析. 第 78 回九州病害虫研究会、2009年11月9日、佐賀市。
 20. 松倉啓一郎 (他 1 名) 飼料用夏播き作物に対するフタテンチビヨコバイ加害の影響. 第 78 回九州病害虫研究会、2009年11月9日、佐賀市。
 21. 松倉啓一郎 (他 2 名) Feeding by the orange leafhopper, *Cicadulina bipunctata* improves nutritional conditions in the host plant. Fifth Asia Pacific Conference on Chemical Ecology, 2009年10月18日、Honolulu, Hawaii, USA.
 22. 徳田 誠 (他 4 名) フタテンチビヨコバ

イによるイネ科作物へのゴール形成と関連する植物ホルモンの一斉分析. 日本植物学会第 73 回大会、2009年9月18日、山形大学。

〔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〕

ホームページ等
該当なし

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

軸丸 裕介 (JIKUMARU YUSUKE)
独立行政法人理化学研究所・生長制御研究グループ・特別研究員
研究者番号：90442970

川浦 香奈子 (KAWAURA KANAKO)
横浜市立大学・木原生物学研究所・助教
研究者番号：60381935

松倉 啓一郎 (MATSUKURA KEIICHIRO)
独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・九州沖縄農業研究センター・九州沖縄農業研究センター・研究員
研究者番号：50414800

(3) 連携研究者

神谷 勇治 (KAMIYA YUJI)
独立行政法人理化学研究所・生長制御研究
グループ・グループディレクター
研究者番号：30100051

荻原 保成 (OGIHARA YASUNARI)
横浜市立大学・木原生物学研究所・教授
研究者番号：40185533

松村 正哉 (MATSUMURA MASAYA)
独立行政法人農業・食品産業技術総合研究
機構・九州沖縄農業研究センター・グルー
プ長

研究者番号：00370619
田中 誠二 (TANAKA SEIJI)
独立行政法人農業生物資源研究所・昆虫科
学研究領域・上席研究員
研究者番号：50370664