

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26292030

研究課題名(和文)植物起源エリシターの組み合わせ処理による植物の被食防衛機構の解明とその応用

研究課題名(英文)Basic and applied studies on the induced defense of plants caused elicitors

研究代表者

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,100,000円

研究成果の概要(和文)：ジャスモン酸類縁体Prohydrojasmon (PDJ)を用いたリママメ防衛誘導研究では、ナミハダニのパフォーマンスの低下を実験室内で実証した。また、露地でPDJを露地ダイコンに処理し、その後の害虫の発生を調査した結果、アブラムシ類の発生を顕著に抑制した。防衛誘導物質の組み合わせ実験では、PDJ処理イネでのみ、顕著な根のバイオマスの減少が認められた。植物揮発性エリシターによる実験では、生育初期のダイズ株にセイタカアワダチソウの匂いを暴露すると、その後の株の防衛能力が向上すること、次世代種子のイソフラボン量が増加することを解明した。セイタカアワダチソウの匂いは、稲に対しても生育に影響を与えた。

研究成果の概要(英文)：When treated with Prohydrojasmon (PDJ), lima bean plants were more defensive against two-spotted spider mites (*Tetranychus urticae*). The effects of PDJ were also tested under field conditions. Japanese radish plants became more defensive against several pest insects, especially aphids. The combined effects of PDJ and other elicitors were tested under greenhouse conditions. Only PDJ treatment resulted in the reduction of the root mass. However, the numbers of seeds were not affected by the treatments. We also focused on the effects of volatiles from mechanically damaged plants as elicitors. We found that volatiles from cut goldenrods reduced the performances of herbivores, and increased the amounts of isoflavone in seeds (next generation). Volatiles from goldenrods also affected the growth of rice plants.

研究分野：化学生態学

キーワード：ジャスモン酸 サリチル酸 イネ リママメ 揮発性物質

1. 研究開始当初の背景

食害では様々な防衛のシグナル伝達系が同時に、あるいは連鎖的に働き、防衛反応を駆動しているが、その全体像はまだ未解明と言える。植物起源のエリシターを処理する事で関与する防衛シグナル伝達系を明らかにする研究手法は有効なものであるが、先行研究のほとんどが単独処理した場合の植物の一つのシグナル系の応答および害虫抵抗性の変化に注目してきた。

研究代表者らは、ハダニ食害で、ジャスモン酸シグナルとサリチル酸シグナルが同時に活性化することを 2000 年に報告した。これは当時両伝達系が拮抗的に働くという通説を覆すものであった。また複数のエリシター処理の最初の研究成果として、ACC (エチレン中間体: 1-aminocyclo propane-1-carboxylic acid) がジャスモン酸と協力作用がある事を報告した (Horiuchi et al. 2001)。さらにポリアミン生合成経路がハダニ食害で活性化することを 2002 年に発表して以来、それらが植物の誘導防衛に与える影響について研究を続け、ジャスモン酸との顕著な協力効果を 2009 年に報告した。このように、防衛のシグナル伝達を活性化する複数の植物起源のエリシターが駆動する植物誘導防衛反応の最先端の研究を行ってきた。さらに、植物成長調整剤として市販されているジャスモメート溶剤 (ジャスモン酸類縁体) がエリシター活性を有する事を発見した。

研究基盤としては、本研究室では、ガスクロマトグラフ質量分析計を 2 台保有している。両分析計ともテナックス等で捕集した揮発性物質を直接導入できるインジェクションブロックを持ち、葉 1 枚レベルでの微量な揮発性物質の解析が可能である。分析データは Wiley のデータベースによって構造を推定し、合成品とのスペクトルと保持時間の比較より構造を決定することができ、本研究を進める基盤となっている。

2. 研究の目的

植物の食害に対する防衛反応は複数のシグナル系によって駆動されているが、それらの関係性には未解明な部分が多く、その解明は被食防衛反応の全体像の構築と農業への応用のための重要な課題である。研究代表者らは、植物の防衛能力は植物起源の外部刺激 (エリシター) によって操作できることを明らかにしてきた。本研究は、複数のエリシターを組み合わせて植物に処理し、複数の防衛シグナル系を操作する事で、シグナル系間の関係性を解明する。さらに、それを有効利用した農作物の防衛能力の強化に関する研究を行う。

3. 研究の方法

ジャスモン酸を基軸に植物起源エリシターの組み合わせ処理によって、これまで未解

明だった防衛シグナル系間の関係性を栽培植物で解明する。植物は主要作物であるイネ科、マメ科、アブラナ科を用いる。野外での処理実験も行い、防衛効果の検証と農業生産応用するための先導的研究も行う。

栽培植物を用いた研究では、処理による直接防衛効果を室内操作実験系で評価し、野外試験に展開する。間接防衛に関しては、ガスクロマトグラフ質量分析計を用いて揮発性物質の解析を行い、天敵誘引能は実験室内および野外での操作実験で解明する。

また、揮発性成分がエリシター活性を有することから、揮発性処理における誘導防衛に関する野外および室内実験系を新たに追加した。

4. 研究成果

(1) ジャスモン酸類縁体 Prohydrojasmon (PDJ) を用いた作物防衛誘導

(1)-① 実験室内での評価

リママメに PDJ を処理し、その後ナミハダニを接種し、その後のパフォーマンスを調査した。ナミハダニの死亡率は PDJ 処理株で高くなったが、統計的な有意差は検出できなかった (図 1)。

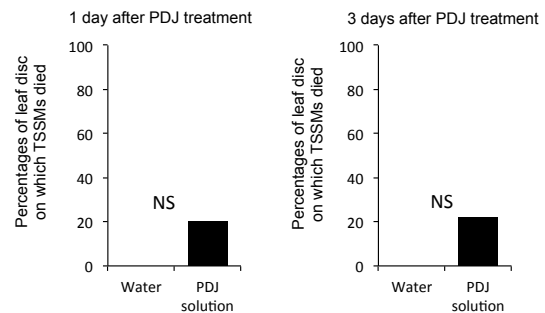


図 1 リママメ葉上でのナミハダニの死亡率

一方、産卵率は PDJ 処理 3 日後には、対象区より有意に低下した。PDJ 処理によるリママメ誘導防衛向上が実証された (図 2)。

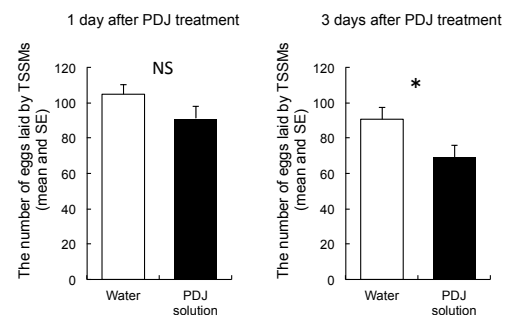


図 2 リママメ上でのナミハダニの産卵数

ナミハダニの産卵数の減少は、ナミハダニが作物上で爆発的に個体群を増やし、作物に害を与える効果を軽減することができ、実用へ展開が期待できる。

(1)-② 露地栽培ダイコンへの PDJ 処理の効果

PDJ を露地ダイコンに処理し、その後の害

虫の発生を調査した。その結果、アブラムシ類、アザミウマ類、ヤサイゾウムシ、ハモグリバエ類の発生を抑えられる可能性が明らかになった。また、アブラムシ類に対しては、大きな防除効果が見られた。一方で、チョウ目類害虫の発生は抑えられなかった(図3-図9)。

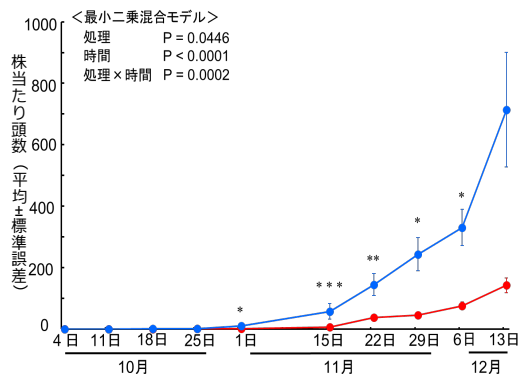


図3 アブラムシの発生数 赤: PDJ 処理区、青: 未処理区 \*:  $0.01 < P < 0.05$ , \*\*:  $0.001 < P < 0.01$ , \*\*\*:  $P < 0.001$  (単純主効果検定)

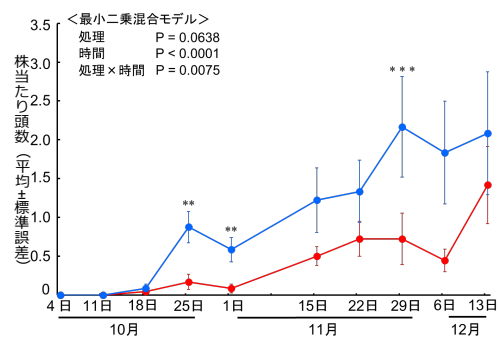


図4 アザミウマの発生数 赤: PDJ 処理区、青: 未処理区 \*\*:  $0.001 < P < 0.01$ , \*\*\*:  $P < 0.001$  (単純主効果検定)

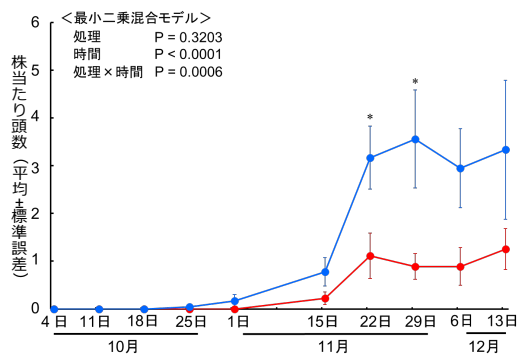


図5 ヤサイゾウムシの発生数 赤: PDJ 処理区、青: 未処理区 \*:  $0.01 < P < 0.05$  (単純主効果検定)

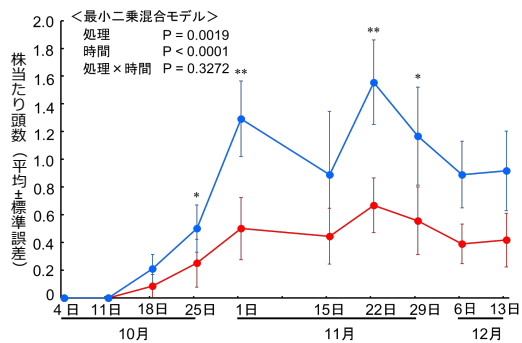


図6 ナモグリバエの発生数 赤: PDJ 処理区、青: 未処理区 \*:  $0.01 < P < 0.05$ , \*\*:  $0.001 < P < 0.01$  (単純主効果検定)

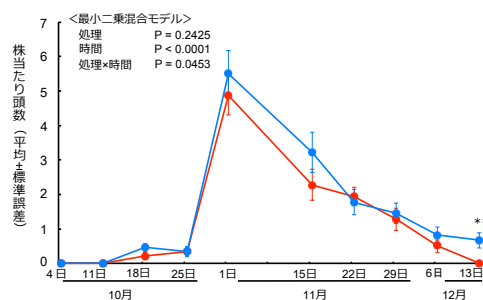


図7 アオムシの発生数 赤: PDJ 処理区、青: 未処理区 有意差なしただし、最終調査日のみ有意 \*\*:  $0.001$  (単純主効果検定)

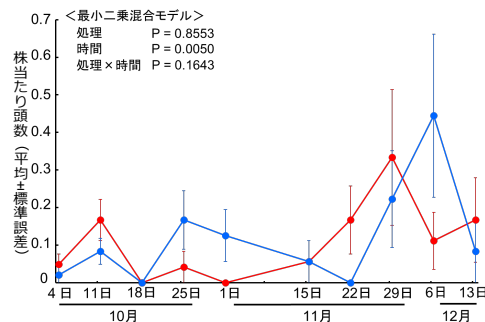


図8 ウワバの発生数 赤: PDJ 処理区、青: 未処理区 有意差なし

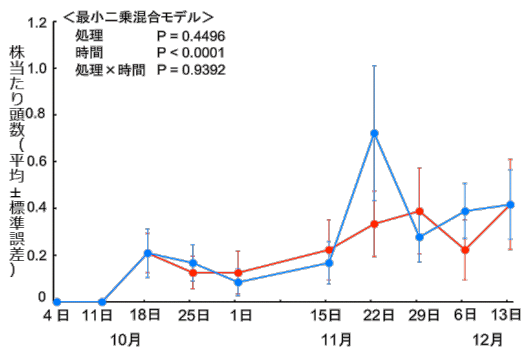


図9 ヨトウ類の発生数 赤: PDJ 処理区、青: 未処理区 有意差なし

アブラムシの減少に関して、アブラバチ(天敵)の寄生数とPDJ処理との間には、相関が認められず、間接防衛は処理によって強化されなかった。勅瀬藤防衛に関して、室内操作実験を行った。アブラムシはPDJ処理のダイコン株を水処理のダイコン株より忌避することはなく、PDJによるアブラムシの減少は、ダイコンが直接防衛を強化した結果と考えられた(図10)。

白さび病発生数にPDJ処理が及ぼす影響についても調査したが、処理による影響は、期間全体では認められなかった(図11)。

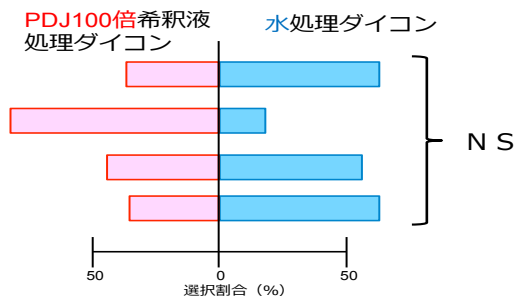


図10 Y字型オルファクトメーター内でのアブラムシの揮発性物質に対する選好性  
ピンク: PDJ処理ダイコン、水色: 未処理ダイコン

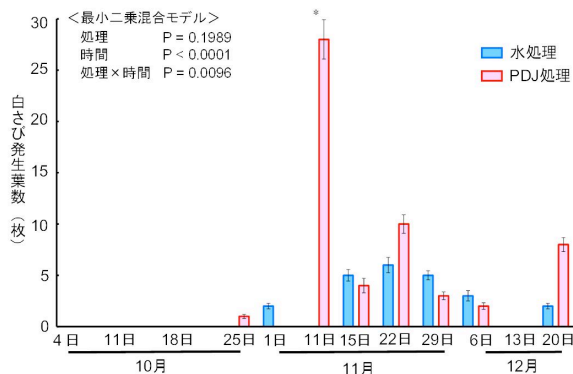


図11 白さび病発生数にPDJ処理が及ぼす影響 有意差なし

これらの結果は、露地におけるPDJ単独処理による広範囲のアブラナ科害虫防除が可能になることを示している。ただし、チョウ目幼虫に効果が無かったことより、揮発性物質エリシター等、他のチョウ目に有効なエリシターとの併用処理が望まれる。

(1)-③ エリシター混合処理の影響

植物ホルモン類が、イネの防衛形質や栄養・繁殖成長に及ぼす影響を野外網室で評価した。

使用した植物ホルモン類

・植物ホルモン [ジャスモン酸 (JA) の類縁体であるポリヒドロジャスモン (PDJ)、サリチル酸メチル (MeSA)、スペルミン (SPM) を用いた。

・植物ホルモンについては組み合わせ処理に注目して以下の形質について評価した。

- 1 イネの器官別乾燥重量
- 2 葉の硬さ
- 3 葉緑素量 (光合成量の指標)
- 4 草丈・分けつ数
- 5 C/N
- 6 出穂開始日
- 7 揮発性物質成分 (食害・病害)
- 8 ホルモン量 (JA, SA)
- 9 ファイトアレキシン

PDJ処理イネで顕著な根のバイオマスの減少が認められた。一方、穂の数はかわらなかった点は新規の知見である。今後この点について、さらに検討が必要である。このような効果はPDJ単独処理特異的で、PDJ+MeSA処理区、PDJ+SPM処理区、PDJ+MeSA+SPM処理区では認められなかった。

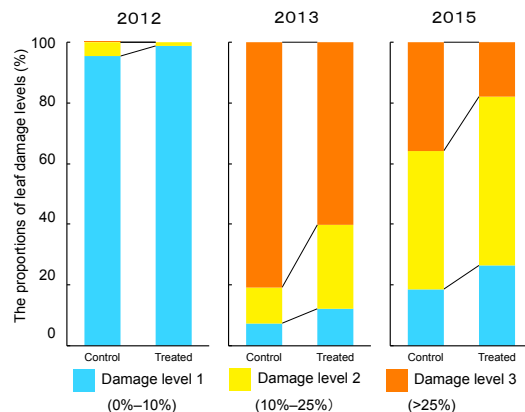
植物ホルモン分析では、苗時のJA量はPDJ処理で増えるがSAやSPMの存在下でその効果はなくなった。また、PDJ処理でSA量に対する影響はなかった。ファイトアレキシンに関しては、現在解析中である。

(2) 揮発性エリシターによる作物防衛誘導

(2)-① 野外調査 1

クロダイズ・シロダイズの生育初期に、刈り取ったセイタカアワダチソウの匂いを受容させると、匂いを受容した区(処理区)では

(a) treatment  $P < 0.0001$ , year  $P < 0.0001$ , treatment x year  $P = 0.1089$



対照区よりも害虫による被害が低くなった(図12)。

図12 クロダイズの被害率の比較 各年度の左バーは無処理区、右バーは処理区。処理区で虫害が低下する。

また、イネ育苗時に周辺雑草の匂いを受容させた場合も、ダイズと同様に被害率が処理区で対照区よりも低くなり、さらに収穫量においても処理区で高くなった。これらの被害率の低下の原因を明らかにするため、室内生物検定を行った結果、ダイズにおいてはセイタカアワダチソウ被害株の匂いを受容したことによる耐虫性の向上が明らかになった。室内実験系で、セイタカアワダチソウ匂い

の主成分がハスモンヨトウの生育を遅延させる効果を持つことを明らかにした。

## (2)-② 野外調査 2

傷つけたススキ株、あるいは傷つけたセイタカアワダチソウ株の匂いを育苗期に受容させたイネのパフォーマンスについて、圃場ならびに室内での比較実験を行った。その結果、匂いを受容していないイネに比べ、ススキの匂いを受容したイネでは収穫量が高まり、一方、セイタカアワダチソウの匂いを受容したイネでは収穫量が低くなった。また、害虫抵抗性においても違いが見られた。このことから、どの雑草種の匂いも作物にとって有効に働くのではないことが明らかになった。雑草の匂いを利用する栽培技術の確立に向けて、雑草種特異性の解明が重要と考えられる。

草刈り由来の匂いが野外で作物の防衛を誘導するという生態機能を有することを実証した点が独創的な結果である。また、一般人に対しては、これまでの草刈りに対する認識を大きく変える成果である。さらに、害虫管理への応用という面で新しいシーズになる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計3件)

① Kaori Shiojiri, Rika Ozawa, Ken-Ichi Yamashita, Masayoshi Uefune Kenji Matsui, Chigen Tsukamoto, Susumu Tokumaru and Junji Takabayashi, Weeding volatiles reduce leaf and seed damage to field-grown soybeans and increase seed isoflavones *Scientific Reports* 査読有、7巻、2017、41508  
<https://www.nature.com/articles/srep41508>  
/doi:10.1038/srep41508

② Maja Šimpraga, Junji Takabayashi and Jarmo K. Holopainen, Language of plants – Where is the word? *Journal of Integrative Plant Biology*, 査読有、58巻、2016、343-349  
[www.wileyonlinelibrary.com/journal/jipb/](http://www.wileyonlinelibrary.com/journal/jipb/)  
DOI: 10.1111/jipb.12447

③ Masayoshi Uefune, Rika Ozawa and Junji Takabayashi, Prohydrojasmon treatment of lima bean plants reduces the performance of two-spotted spider mites and induces volatiles *Journal of Plant Interactions*, 査読有、9巻、2014、69-73  
<http://dx.doi.org/10.1080/17429145.2012.763146> / DOI: 10.1080/17429145.2013.839165

〔学会発表〕(計4件)

① 塩尻かおり、小澤理香、高林純示、雑草と作物との植物間コミュニケーションを用いた栽培技術の確立に向けて  
日本応用動物昆虫学会第61回大会、2017年3月27日、東京農工大学(東京都府中市)

② 茂木敦史、河村奈央子、宮本皓司、山根和久、小澤理香、高林純示、Ivan Galis、新屋友規、野尻秀昭、岡田憲典、ジャスモン酸応答性転写因子 RERJ1 はイネ虫害抵抗性においてリナロールの生産を抑制する  
日本農芸化学会2016年度大会 2016年3月27日、札幌コンベンションセンター(北海道札幌市)

③ 吉田健吾、上船雅義、小澤理香、高林純示、露地大根における害虫の個体群動態にプロヒドロジャスモン処理が与える影響  
日本応用動物昆虫学会第60回大会、日本昆虫学会第76回合同大会、2016年3月26日、大阪府立大学中百舌鳥キャンパス(大阪府堺市)

④ 塩尻かおり、齋藤隆満、塚本知玄、高林純示、山下賢一、植物間コミュニケーションを用いた農業技術開発(3)-水田・ダイズ圃場における実証試験-  
日本応用動物昆虫学会第59回大会、2015年3月28日、山形大学(山形県鶴岡市)

〔図書〕(計2件)

松井健二、高林純示、東原和成、生きものたちをつなぐ「かおり」～エコロジカルボラタイルズ～ フラグランスジャーナル社、2016、211

有村源一郎、矢崎一史、高林純示、川北篤、植物アロマサイエンスの最前線 -植物はなぜ香りを発するのか-、フラグランスジャーナル社、2014、167

〔産業財産権〕

該当なし

〔その他〕

ホームページ

<http://www.ecology.kyoto-u.ac.jp/~junji/index.htm>

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

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