

植物ホルモンであるジャスモン酸による ミカンキイロアザミウマの忌避効果

(独)理化学研究所バイオリソースセンター ^{あべ}安部 ^{ひろし}洋・^{こばやし}小林 ^{まさとも}正智
(独)農研機構野菜茶業研究所 ^{おお}大 ^{にし}西 ^{じゅん}純
(独)農研機構中央農業総合研究センター ^{しもだ}下田 ^{たけし}武志・^{つだ}津田 ^{しんや}新哉

はじめに

農業に対して高度な抵抗性を発達させる難防除微小害虫による農作物の被害は世界的な問題となっており、過度の農業に依存しない虫害防除技術開発を目的とした天敵利用などの様々な研究が国内外で行われている。その中でも、害虫食害に対する植物防御応答の利用に期待が集まっている。本稿では、筆者らの研究を中心に、モデル実験植物を用いた基礎研究の現状などを紹介したい。

モデル実験植物のシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) は、2000年に全ゲノム配列が解読されて以来、種々のゲノムリソース（網羅的な実験材料）が急速に整えられてきた。これまでに、シロイヌナズナ全遺伝子の実に約95%以上で遺伝子破壊系統が整備されるに至っている。現在では、このような実験材料は理研バイオリソースセンターをはじめとしたシロイヌナズナのリソースセンターから容易に入手できる状況である。また、シロイヌナズナ全遺伝子の発現データが容易に閲覧できるデータベースなどの情報基盤整備も著しい。このような状況の下、シロイヌナズナを用いて様々な生命現象の解明を目指した研究が精力的に行われている。我々は、アザミウマ虫害に対する植物防御機構の解明、さらには新規虫害防除技術の開発を目指し、シロイヌナズナとミカンキイロアザミウマ (*Frankliniella occidentalis*: 口絵①) のモデル系を基盤とした生物間相互応答の研究を分子レベルで進めている。

ミカンキイロアザミウマは野菜や果物、そして花き類等を食害するだけではなく、トマト黄化えそウイルス (TSWV) などのトスポウイルス媒介虫としても悪名が高い難防除微小害虫であり、その防除法の開発が切望されている。

近年、植物のストレス応答に関する研究が盛んに行わ

れており、植物ホルモンがストレス耐性機構に深くかかわっていることが分子レベルで明らかになってきた。植物の虫害に対する応答機構についても同様で、これまでにジャスモン酸 (JA) が重要な働きをはたしていることが良く知られている (Howe and Jander, 2008)。しかし、これらの報告の多くは鱗翅目害虫の幼虫に対するものである。最近になって吸汁性のアブラムシやコナジラミ等に対する報告も増えてきており、これらの害虫においてはJAに加えてサリチル酸 (SA) の重要性も指摘されている (PEGADARAJU et al., 2005)。

一方で、アザミウマは「やっかいな」難防除害虫であるにもかかわらず、アザミウマの食害に対する植物防御応答機構については、ほとんど解析されていなかった。葉の表面を傷つけ吸汁を行うアザミウマの食害様式は鱗翅目幼虫やアブラムシとは本質的に異なり、それに伴う植物側の防御応答も異なることが予想される。本稿では植物防御にかかわる植物ホルモンに着目することで、これまでに得た植物のアザミウマに対する抵抗性についての知見を概説するとともに、植物の防御機構を利用したアザミウマ類防除素材開発の新たな試みについても紹介したい。

I アザミウマの食害によって引き起こされる 植物防御応答

ミカンキイロアザミウマ (以下、アザミウマと略す) の食害によって引き起こされる植物防御応答についてシロイヌナズナの全遺伝子発現を一度に解析することが可能な Affymetrix 社の ATH1 ゲノムチップを用いて詳細にマイクロアレイ解析したところ、アザミウマの食害によって発現が上昇するシロイヌナズナ遺伝子の多くが JA, SA, およびエチレン (ET) のいずれかに対する発現誘導性を有していることが明らかとなった。一般に植物の病害虫に対する防御応答はJAによって制御されるJA経路, SAによって制御されるSA経路, ETとJAによって制御されるET/JA経路に大別されると考えられている (PIETERSE et al., 2006)。そこで、JA処理, SA処

理, ET 処理を行った植物体を用いて再びマイクロアレイ解析を行い, アザミウマ食害を受けた植物の遺伝子発現プロファイルと比較したところ, アザミウマ食害は JA 処理を行った際の遺伝子発現プロファイルと高い相関が認められることがわかった。

このように, シロイヌナズナを用いる利点の一つはゲノムチップを用いたマイクロアレイ解析などの研究手法を効率的に行えることである。これに加えて, 豊富に存在する様々な変異体を利用した比較解析を行うことも可能である。そこで, JA に対する感受性を失った *coi1-1* 変異体を用いてさらに詳細な解析を行うことにした。解析は JA 経路のマーカー遺伝子 (*VSP2*, *LOX2*) に加え, ET と JA が協調的にかかわる ET/JA 経路のマーカー遺伝子 (*PDF1.2*, *CHIB*) の遺伝子発現を検出することで進めた。シロイヌナズナ野生株においては上記すべての遺伝子発現がアザミウマ食害により誘導された (図-1)。一方で, *coi1-1* 変異体においてはこれら遺伝子の発現誘導性が消失, あるいは極端に減少していた (図-2A)。

このことにより, アザミウマ食害で誘導される遺伝子発現の多くは確かに JA により制御されていることが明らかとなった。続いて, ET 感受性を失った *ein2-1* および *ein3-1* 変異体を用いて同様な解析を行うと, ET/JA 経路の発現誘導は減少する一方で JA 経路の発現誘導は逆に増大する傾向にあった (図-2B)。これは JA 経路においては JA と ET が拮抗的に作用しているというこれまでの報告と一致するものであると考えられた (O'DONNELL et al., 1996)。以上のことより, アザミウマ食害を受けた植物体の防御応答においては JA が中心的な働きをしている可能性が高いと結論できる。このことはアザミウマ食害を受けた植物体中で JA の産生量自体が顕著に増大していたことから支持された (ABE et al., 2008 a)。そこで, 野生株と *coi1-1* 変異体, *ein2-1* 変異体のロゼット葉よりリーフディスクを作成し, 1頭のアザミウマ雌成虫より受けた食害量 (食害面積) を数値化することで被害程度を直接比較することとした。その結果, *coi1-1* 変異体では野生株に比べて, 食害量が

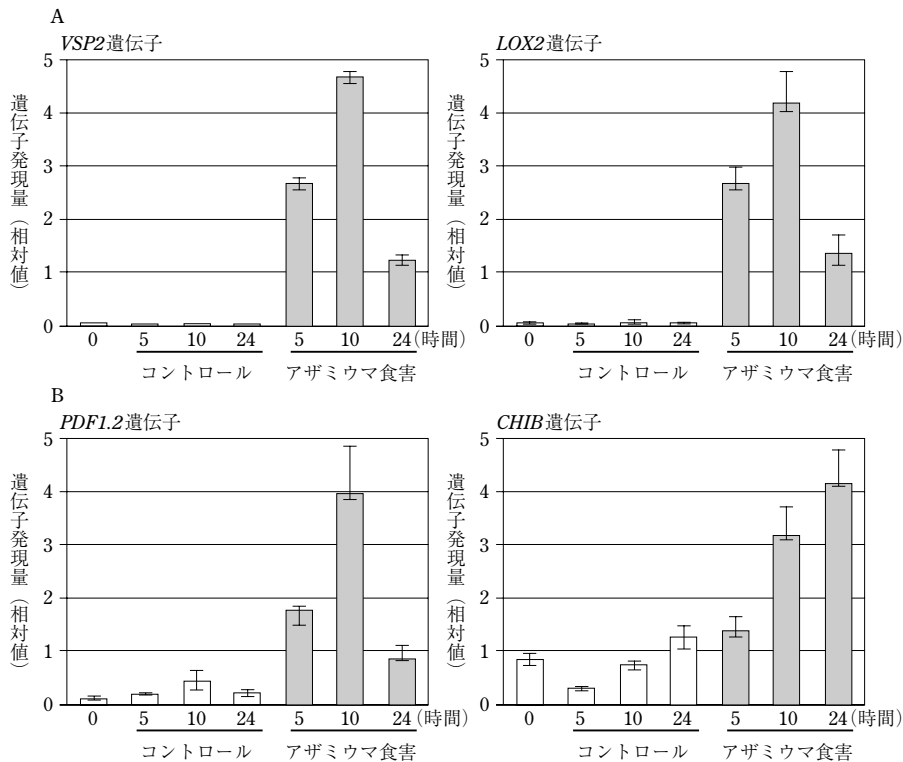


図-1 アザミウマ食害によって誘導されるシロイヌナズナ野生株の防御応答
播種後3週間のシロイヌナズナ植物に20頭のアザミウマ雌成虫を放飼 (コントロールは無放飼) し, 5時間, 10時間, 24時間後にそれぞれサンプリングし, 定量 RT-PCR 法により植物防御応答をマーカー遺伝子発現により評価した (ABE et al., 2008 a より改変)。

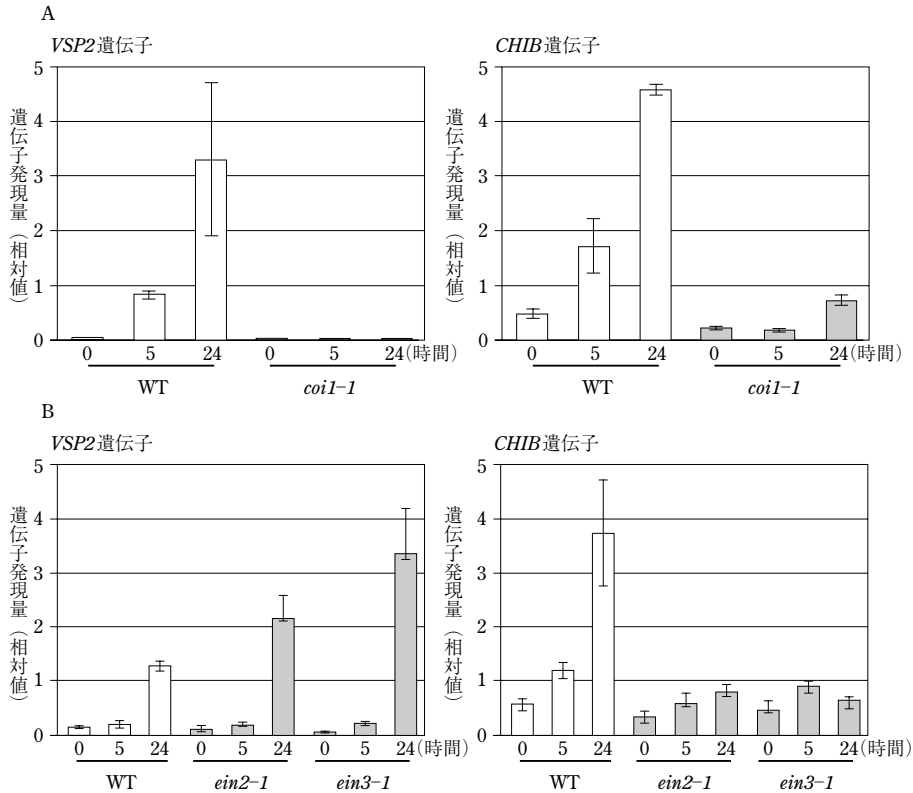


図-2 アザミウマ食害に対する変異体の植物防御応答

播種後3週間のシロイヌナズナ野生株, および変異体 (*coi1-1*, *ein2-1*, *ein3-1*) に20頭のアザミウマ雌成虫を放飼し, 5時間, 24時間後にそれぞれサンプリングし, 定量RT-PCR法により植物防御応答をマーカー遺伝子発現により評価した (Abe et al. 2008 a より改変)。

多かったのに対し, *ein2-1* 変異体では食害量が野生株に比べて少なかった (図-3 A, C)。続いて, 野生株の葉に JA あるいは ET 前駆体である ACC を処理したところ, JA を処理した際には食害量が減少する一方で, ACC 処理では食害量が増大した (図-3 B, D)。*coi1-1* 変異体に JA 処理を行ってもアザミウマ食害に対する影響はなかったことから, 植物のアザミウマ抵抗性は JA 経路により正に制御されており, JA 経路に対して阻害的に働く ET は逆に負に作用することが示唆された。

SA についても解析を加えたところ, 野生株において JA 処理によって認められた食害量の減少は SA を同時に処理することによって認められなくなることが明らかとなった (ANTONIO et al., 2009)。このことは JA 処理によって高められた JA 経路が SA により拮抗的に抑えられたことに起因すると考えられる。JA と SA の拮抗作用についてはこれまでも多くの報告がなされており (NIKI et al., 1998), アザミウマ食害においても同様であるこ

とがわかった。SA 感受性の多くを失った *npr1-1* 変異体は野生株と同等なアザミウマ抵抗性を示した (ANTONIO et al., 2009)。

II 植物防御応答がアザミウマ個体群の増殖に与える影響

以上の結果からアザミウマに対する植物の抵抗性は JA により主に制御されていることが明らかとなった。これまでもシロイヌナズナ変異体を用いることで鱗翅目害虫の幼虫などに対する抵抗性などが JA によって制御されているという報告がある (REYMOND et al., 2004)。しかし, 食害量の多い鱗翅目害虫の幼虫の場合, たとえ1頭でも, 短期間のうちにシロイヌナズナを食べ尽くしてしまうため, 害虫の世代を超えた個体群レベルでの解析例はほとんどない。一方で, 食害量の少ない微小なアザミウマの場合, 植物の防御応答が害虫の世代を超えてどのように影響するか, またその逆に, 害虫が世代を超え

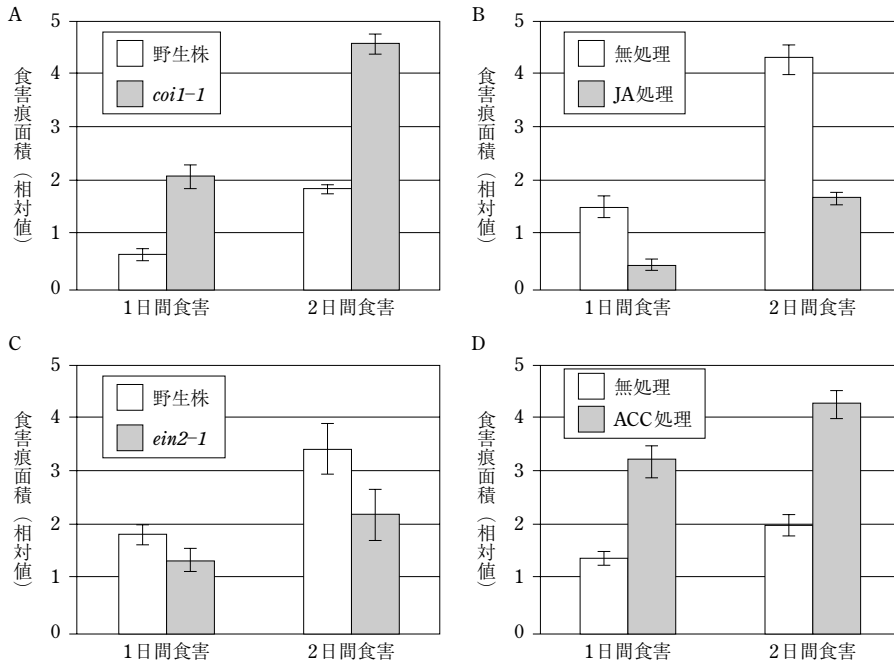


図-3 植物防御応答とアザミウマ抵抗性の関係

播種後3週間のシロイヌナズナ野生株、および *coi1-1* 変異体、*ein2-1* 変異体よりリーフディスクを作成し、1頭のアザミウマ雌成虫により1日間、および2日間食害させた後に、食害痕の面積を計測した。JA処理、およびACC処理は、それぞれ100 μ M、および50 μ Mにて行った (ABE et al., 2008 a より改変)。

て植物にどのような食害インパクトを与えるかを比較研究するのに適している。そこで、野生株とJAに対する感受性を失った *coi1-1* 変異体に各20頭のアザミウマ雌成虫を放飼し、雌成虫および次世代個体が各植物体に及ぼす影響を観察した。その結果、3週間後には *coi1-1* 変異体が食べ尽くされてしまったのに対し、野生株の被害は一定レベルに抑えられ、植物は生長を続けることで花をも咲かせるという大きな差異が認められた (口絵②)。野生株と *coi1-1* 変異体で観察された顕著な違いは20頭の雌成虫による食害だけでは説明が難しいと考えられたことから、植物の防御応答がアザミウマ個体群に与える影響を解析することとした。野生株と *coi1-1* 変異体に各20頭のアザミウマ雌成虫を放飼し、3週間後の次世代幼虫数、蛹数を測定したところ、*coi1-1* 変異体には200頭近い幼虫が生存していたにもかかわらず、野生株には20頭に満たない幼虫しか存在しなかった (図-4)。2週間という期間では蛹にまで至った個体数は少なかったが、蛹数においても同様な傾向が認められた。このことは植物の防御応答によってアザミウマの繁殖が抑えられていることを示唆している。そこ

で、1頭のアザミウマ雌成虫による産卵数を野生株と *coi1-1* 変異体のロゼット葉で比較したところ、アザミウマ雌成虫は *coi1-1* 変異体に多くの卵を産出することが明らかとなった (ABE et al., 2009)。加えて、興味深いことに、*coi1-1* 変異体では20頭放飼した雌成虫のうち14頭が2週間後にも生存していたが、野生株では4頭しか生存していなかった。*coi1-1* 変異体上ではアザミウマ成虫は長生きできるようなのである。このように、JAによって制御される植物防御応答はアザミウマの寿命短縮やその結果としての産卵数の減少等様々な要因に直接影響を及ぼすことでアザミウマ個体群内の増殖を抑えているのであろう。

III 植物防御応答がアザミウマの行動に与える影響

次に、JAによって制御される植物防御応答がアザミウマの行動にどのように影響しうるのかについて解析を行った。細長い鉢の左右両側に野生株と *coi1-1* 変異体を播種し、生育させた。また、茶色のミカンキイロアザミウマをより明確に確認するために、培養土の上に白い

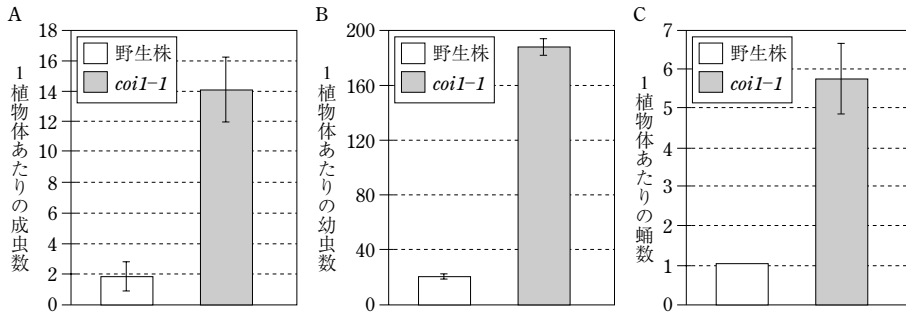


図-4 植物防御応答とアザミウマの繁殖の関係

播種後2週間のシロイヌナズナ野生株, および *coi1-1* 変異体に20頭のアザミウマ雌成虫を放飼し, 2週間後に, 成虫数, 幼虫数, 蛹数をそれぞれ計測した (ABE et al., 2009 より改変)。

ジルコニアビーズを敷きつめた。両植物の中央位置に100頭のアザミウマ雌成虫を吸い込んだチップを静置し, 2日後にアザミウマがどちらの植物に取り付いているのかどうかを確認した。その結果, 驚くべきことに, ほとんどのアザミウマが *coi1-1* 変異体に取り付いていた (図-5)。今回の解析においては2日後に至るまでのアザミウマの挙動の過程を解析していなかったため, どのような経過を経て, ほとんどのアザミウマが *coi1-1* 変異体に取り付いたのかは不明であり, 今後の課題となる。現在, 我々はJA経路による植物防御応答がアザミウマに対する誘引性や忌避性にどのように影響するのか? また影響するとしたら, どのような成分がかかわっているのか? について解析を進めている。これまで, 植物と昆虫との相互作用において, 植物に対する誘引性や忌避性といった選好性にかかわる植物成分に関しては様々な解析がなされている (KAPPERS et al., 2001)。その中でも特に植物由来の揮発性成分においては多くの解析がなされており, 我々も注目しているところである。

IV JA経路による植物防御応答の利用に関する今後の可能性

以上, シロイヌナズナを用いた解析からJA経路による植物防御応答がアザミウマの寿命や産卵数, アザミウマの選好性等に影響することで, アザミウマに対する植物の抵抗性に積極的にかかわっていることを概説してきた。しかし, これらのことはあくまでもモデル実験植物であるシロイヌナズナで明らかとなったことにすぎない。そこで, 実際に作物においてJA経路による虫害防御応答の重要性を解析することとした。我々は, まず, シロイヌナズナと同じアブラナ科に属するハクサイを用いて解析を行った。その結果, ハクサイにおいてもアザ

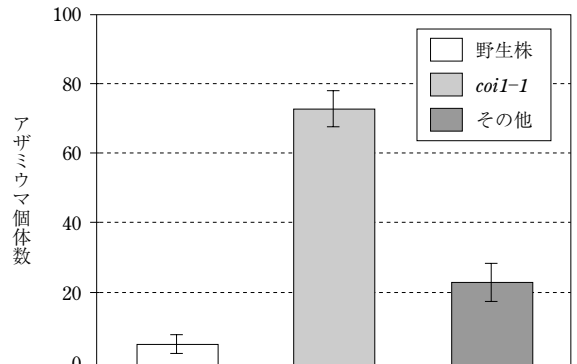


図-5 植物防御応答とアザミウマの選好性

細長の鉢の両側にそれぞれ播種した3週間目のシロイヌナズナ野生株, および *coi1-1* 変異体を用いた。両植物の真ん中に100頭のアザミウマ雌成虫を放飼し, 2日後にどちらの植物に取り付いているのか調べた。どちらの植物にも取り付いていなかったアザミウマはその他として示した (ABE et al., 2009 より改変)。

ミウマ食害によって, JA経路の遺伝子発現が誘導されること, JA量が顕著に増大することが明らかとなった (ABE et al., 2009)。そこで, JA処理がアザミウマ食害に及ぼす影響を調べることにした。その結果, JA処理により, アザミウマ食害が明らかに軽減され, ハクサイ上に生存しているアザミウマ数が減少することが見出された (口絵③, 図-6)。この時, ハクサイ葉中へのアザミウマ産卵数も減っていた。このようなJA処理によるアザミウマ被害の軽減は, トマトにおいても確認できている。

おわりに

モデル植物であるシロイヌナズナは, 非常に便利な実験材料である。その一因として, 場所をとらないという

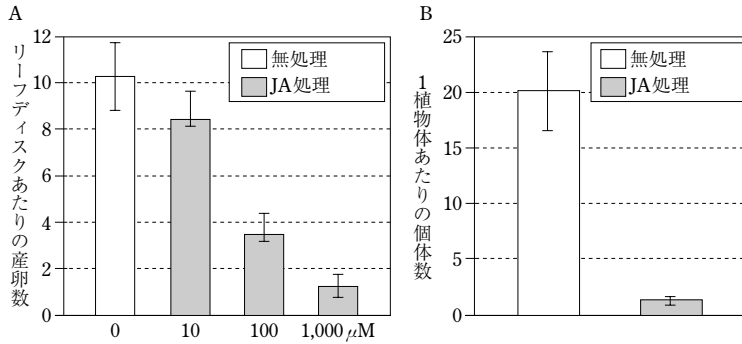


図-6 アブラナ科作物における JA 処理の防除効果

A. 様々な濃度の JA 処理 (0, 10, 100, 1,000 μM) を行った播種後 2 週間目のハクサイ (京都三号: タキイ種苗) よりリーフディスクを作成し, 1 頭のアザミウマ雌成虫による産卵数を 3 日後に測定した。

B. 100 μM の濃度で JA 処理を行った播種後 2 週間目のハクサイに 20 頭のアザミウマ雌成虫を放飼し, 2 週間後のアザミウマ個体数を調べた (Abe et al., 2009 より改変)。

小さな植物サイズが挙げられるが, そのことが災いしてか, 他の研究分野に比べて虫害研究分野での利用はあまり進んでいない。確かにシロイヌナズナにヨトウガなどをつけると短期間のうちに食べ尽くされてしまい長期的な研究に向いていないことが伺える。今回, 我々は微小害虫であるアザミウマに着目し, シロイヌナズナを用いた解析を進めた。体長 1 ~ 2 mm しかないミカンキロアザミウマはシロイヌナズナを用いた解析に非常に適しており, 今後の研究の発展が期待される (Abe et al., 2008 b)。アザミウマ類は直接, 植物を食害するだけでなく, トスポウイルスの媒介虫としても農業上重要性の高い害虫種である。ウイルスを保毒したアザミウマと保毒していない健全なアザミウマによる食害では植物の防御応答に違いがあるのか, ウイルス病に罹病することで JA 経路による植物防御に何か影響がでるのか, 等, 今

後明らかにしていくべき課題は多い。また, 今回, 我々はミカンキロアザミウマを用いて解析を行ったが, 近年, 重要度が増しているネギアザミウマなど, 他のアザミウマ類の解析については未知の領域である。今後の新たな研究展開が待ち望まれる。

引用文献

- 1) Abe, H. et al. (2008 a) : *Plant Cell Physiol.* **49** : 68 ~ 80.
- 2) ——— (2008 b) : *Plant Signaling & Behav.* **3** : 446 ~ 447.
- 3) ——— (2009) : *BMC Plant Biol.* **9** : 97.
- 4) Antonio, L. R. et al. (2009) : *Plant Physiol.* **149** : 1797 ~ 1809.
- 5) Howe, G. A. and G. Jander (2008) : *Annu. Rev. Plant Biol.* **59** : 41 ~ 66.
- 6) Kappers, I. F. et al. (2001) : *Science* **23** : 2070 ~ 2072.
- 7) Niki, T. et al. (1998) : *Plant Cell Physiol.* **39** : 500 ~ 507.
- 8) O'Donnell, P. J. et al. (1996) : *Science* **274** : 1914 ~ 1917.
- 9) Pegadaraju, V. et al. (2005) : *Plant Physiol.* **139** : 1927 ~ 1934.
- 10) Pieterse, C. M. J. et al. (2006) : *Multigenic and Induced Systemic Resistance in Plants*, Springer, New York, p. 166 ~ 196.
- 11) Raymond, P. et al. (2004) : *Plant Cell* **12** : 707 ~ 719.

発生予察情報・特殊報 (23.2.1 ~ 2.28)

各都道府県から発表された病虫害発生予察情報のうち, 特殊報のみ紹介。発生作物: 発生病虫害 (発表都道府県) 発表月日。都道府県名の後の「初」は当該都道府県で初発生の病虫害。

※詳しくは各県病虫害防除所のホームページまたは JPP-NET (<http://www.jpnn.net/>) でご確認ください。

■ ポインセチア: タバコナジラミバイオタイプ B (岩手県: 初) 2/16

■ プルーン: リンゴサビダニ (鳥根県: 初) 2/16

■ マンゴー: マンゴーキジラミ (鹿児島県: 初) 2/25