

[成果情報名] バイオフィトンを指標とした「植物免疫」安定化候補資材の検索方法

[要 約] 植物が発するバイオフィトンの強度を指標にした迅速・簡便な検索方法は、アブシジン酸 (ABA) のシグナリング阻害が検出できるため、植物免疫安定化候補資材の選抜に利用できる。

[キーワード] バイオフィトン、植物免疫安定化資材、アブシジン酸、塩ストレス、イネ

[担 当] 静岡農林技研・栽培技術部

[連絡先] 電話 0538-35-7211、電子メール agrisaibai@pref.shizuoka.lg.jp

[区 分] 生産環境 (病害虫)

[分 類] 研究・参考

-----  
[背景・ねらい]

病害抵抗反応を抑制し植物を罹病しやすくさせるアブシジン酸 (ABA) の作用を阻害し、抵抗反応を安定化する物質を植物免疫安定化資材と呼ぶ。環境ストレスを受けている植物は ABA が生成するために、罹病しやすくなるが、この環境要因による農作物の罹病化は大きな生産阻害要因となっており、植物免疫安定化資材の開発が求められている。

現在、植物免疫安定化資材の迅速・簡易・安価な評価方法がなく、この資材の開発阻害要因となっているため、迅速・簡便性に優れた生体情報であるバイオフィトン指標とした検索方法を開発する。

[成果の内容・特徴]

- 1 . ABA は病害抵抗反応にリンクしたバイオフィトンを強く抑制する。図 1 に示すとおり、 $100\ \mu\text{M}$  ABA を 5 日間前処理したイネ培養細胞は、病害抵抗反応のシグナル伝達物質であるジャスモン酸 (JA) とサリチル酸 (SA) が誘導するバイオフィトンや病害抵抗性誘導剤であるアシベンゾラル-S-メチル (ASM) が誘導するバイオフィトンを抑制している。植物免疫安定化資材は ABA シグナリングの阻害物質 (ABA 合成阻害剤と ABA シグナル伝達阻害剤) で、その作用によりこの抑制は回復するため、この現象を利用して植物免疫安定化候補資材を評価できる (図 2)。
- 2 . 植物免疫安定化候補資材の評価は、塩ストレス処理により細胞内に生成誘導した ABA を利用して行う。イネ培養細胞 1g と培養液 2ml をシャーレに秤量し、これに被検物質を処理する。さらに、 $150\text{mM}$  塩化ナトリウムを処理して ABA を 3 時間生成誘導し、その後、病害抵抗反応誘導物質 (JA または ASM) を処理する。被検物質が JA や ASM 誘導性バイオフィトンを回復させれば、ABA シグナリングの阻害活性を持つ可能性が高いと判定する。ABA シグナル伝達阻害剤の評価は、 $100\ \mu\text{M}$  ABA をイネ培養細胞に直接処理することによっても行える。この時、病害抵抗反応誘導物質として JA、SA または ASM が使用できる。
- 3 . ABA の生合成阻害剤であるアバミンは本検索方法により植物免疫安定化資材と評価できる (図 3)。
- 4 . 本検索方法は、培養細胞、シャーレ、病害抵抗反応誘導物質及び ABA または塩化ナトリウムを必要とするだけで、ランニングコストは安価で、かつ、測定方法も簡便である。また、評価は数時間で終了し、迅速性も備えている。

[成果の活用面・留意点]

- 1 . 塩ストレス誘導の ABA を利用する場合は、再現性が悪いため、SA は使用しない。
- 2 . 病害抵抗性誘導物質が誘導するバイオフィトンを適切に発生させるため、液体振とう培養により、対数増殖期の後期に達した培養細胞を評価に使用する。
- 3 . 培養細胞は無菌状態で扱い、温度と水分ストレスもできるだけ与えないようにする。
- 4 . ABA は SA と JA 経路の病害抵抗反応を共に抑制することが知られているが、SA と JA が誘導するバイオフィトンも同様に抑制する。

[具体的データ]

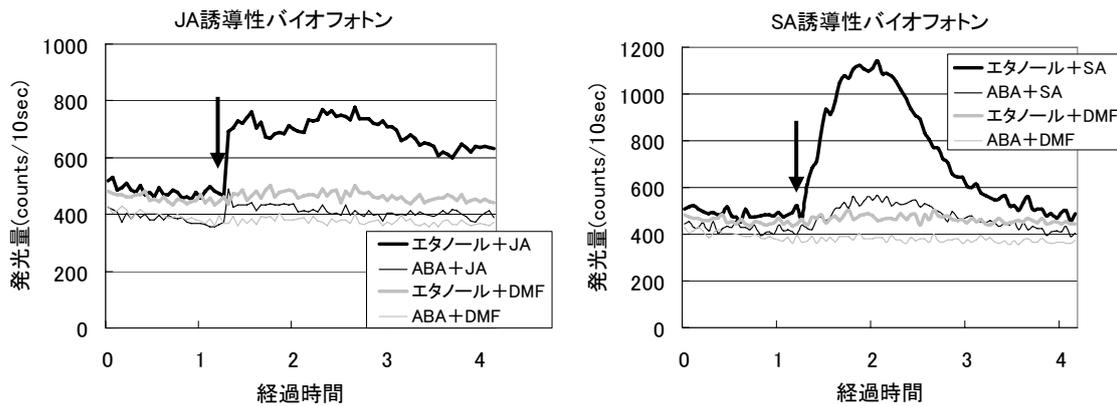


図1 ABA 処理による JA、SA 誘導性バイオフオンの抑制

イネ培養細胞に 100 μM ABA(対照は 0.1%エタノール)を 5 日間処理した。その後、200 μM JA または 200 μM SA (対照はそれぞれ 1% *N,N*-dimethylformamide)を添加した。JA と SA の添加時期は図中の で示した。

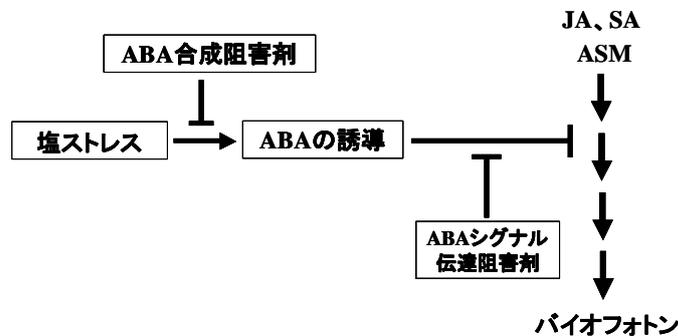


図2 バイオフィオンを指標にした植物免疫安定化候補資材の評価原理

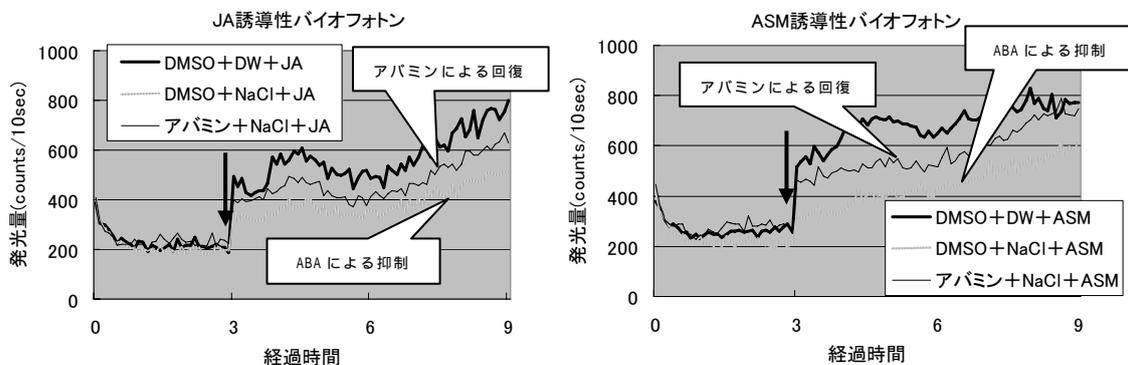


図3 塩ストレス処理による JA、ASM 誘導性バイオフオンの抑制とアバミンによる回復

イネ培養細胞への 10 μM アバミン(対照は 2.5%dimethyl sulfoxide)処理の 5 分後に、150mM 塩化ナトリウム(対照は滅菌蒸留水)を添加した。その処理の 3 時間後に 400 μM JA または 200 μM ASM を添加した。JA と ASM の添加時期は図中の で示した。

[その他]

研究課題名: バイオフィオンの発生メカニズムの解明とその利用技術の開発

予算区分: 研究高度化事業

研究期間: 2006 ~ 2010 年度

研究担当者: 加藤公彦、貫井秀樹、伊代住浩幸、仲下英雄 (理研)、浅見忠男 (理研)

発表論文等: 加藤ら (2007), 「植物免疫安定化資材の評価方法及びキット」. 特許出願 2007-309394 .

[成果情報名] トルコギキョウにおけるネギアザミウマとえそ輪紋病の発生活消長および IYSV 感染植物

[要 約] アイリスイエロースポットウイルス ( IYSV ) を媒介するネギアザミウマは 3 月以降に誘殺が確認され、その後増加傾向で推移する。えそ輪紋病は本種の誘殺数増加に伴って多発する。また、これまでに報告のない作物 5 種、雑草 17 種が野外で IYSV に自然感染している。

[キーワード] トルコギキョウ、ネギアザミウマ、えそ輪紋病、IYSV、感染植物、伝染源

[担 当] 静岡農林技研・生産環境部・植物保護研究

[連絡先] 電話 0538-36-1557、電子メール agriseisan@pref.shizuoka.lg.jp

[区 分] 生産環境 ( 病害虫 )

[分 類] 技術・参考

-----  
[背景・ねらい]

近年、静岡県内のトルコギキョウ産地では、IYSV を病原としネギアザミウマによって媒介されるトルコギキョウえそ輪紋病の発生が問題となっている。本病は 1996 年に初めて本県で確認された比較的新しい病害であり、知見が不足している。そこで、静岡県における本病およびネギアザミウマの発生活消長や保毒実態、野外の IYSV 感染植物を調査する。

[成果の内容・特徴]

1. ネギアザミウマは、浜松市内のハウス内において 3 月中旬以降に青色粘着トラップへの誘殺が確認され、5 月以降は急増する傾向がある ( 図 1 )。IYSV 保毒ネギアザミウマは 4 月上旬以降に確認され、その後保毒率は増加傾向で推移する ( 図 1 )。
2. ネギアザミウマは、浜松市内のハウス周辺において 5 月上旬以降に青色粘着トラップへの誘殺が確認され、その後急増する傾向がある ( 図 2 )。IYSV 保毒ネギアザミウマは 5 月下旬以降に確認され、その後保毒率は増加傾向で推移する ( 図 2 )。
3. えそ輪紋病は、浜松市内のハウスにおいて 3 月中旬以降、ネギアザミウマの青色粘着トラップへの誘殺数増加に伴って多発する ( 図 3 )。
4. トルコギキョウハウス周辺において、これまでに報告のない作物 5 種 ( ダイコン、ハクサイ、ブロッコリー、ミズナ、ニンジン )、雑草 17 種 ( オランダミミナグサ、ノボロギク、ホトケノザ等 ) から IYSV が検出される ( 表 )。

[成果の活用・留意点]

1. ネギアザミウマと IYSV の発生活消長は静岡県浜松市における調査結果であり、地域の気象や環境により、異なった発生活消長を示すことも考えられる。
2. IYSV が検出された作物・雑草については伝染源植物としての可能性が考えられる。
3. トルコギキョウハウス周辺においては、IYSV 伝染源となっている可能性がある作物 ( ネギ属作物、ダイコン、ハクサイ、ブロッコリー、ミズナ、ニンジン ) の作付を避ける必要がある。
4. トルコギキョウハウス周辺において、IYSV の伝染源となっている可能性がある雑草 ( コハコベ、オランダミミナグサ、ノボロギク、ホトケノザ等 ) の除去を徹底する必要がある。

[具体的データ]

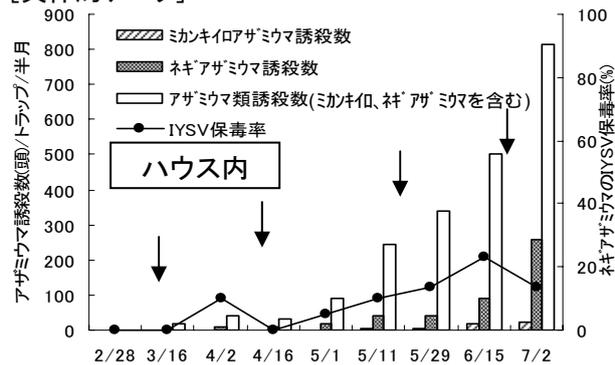


図1 トルコギキョウハウス内におけるアザミウマ類の発生消長とネギアザミウマの IYSV 保毒率

注) 調査は 2007 年に行い、IYSV 保毒の有無は ELISA 法で確認。ハウス開口部に 1.0mm 目合い防虫ネットを設置。矢印は殺虫剤(エマメクテン安息香酸塩乳剤)散布時期。

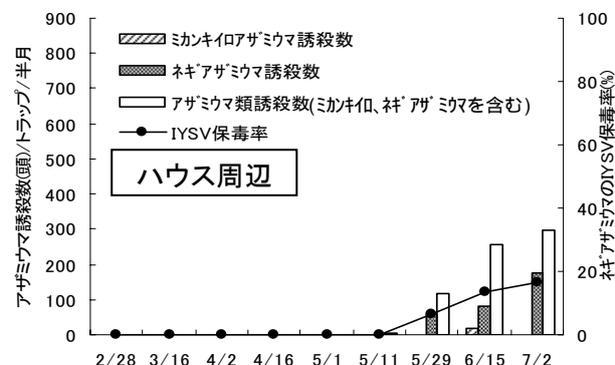


図2 トルコギキョウハウス周辺におけるアザミウマ類の発生消長とネギアザミウマの IYSV 保毒率

注) 図1のハウス周辺。図1と同様の方法で調査。

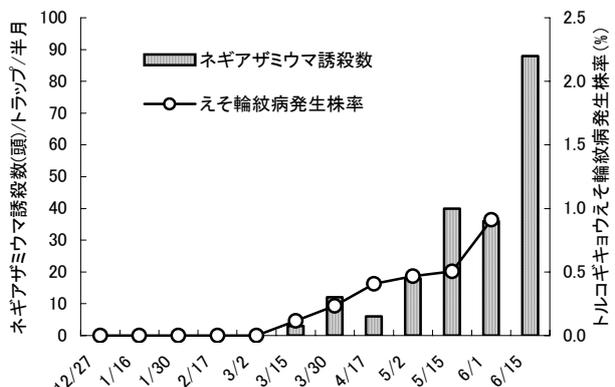


図3 トルコギキョウハウス内におけるネギアザミウマ誘殺数とえそ輪紋病の発生株率

注) 調査は 2005 年 12 月～2006 年 6 月に実施。えそ輪紋病の発生株数を肉眼観察により調査。

表 トルコギキョウハウス周辺における IYSV 検出植物と検出頻度

科	植物名	IYSV 検出頻度
ユリ	タマネギ	7 / 9
	ネギ	7 / 9
	ニンニク	3 / 7
	ラッキョウ	2 / 4
アブラナ	ダイコン	1 / 7
	ハクサイ	1 / 7
	ブロッコリー	1 / 3
セリ	ミズナ	1 / 2
	ニンジン	1 / 5
アブラナ	イヌガラシ	1 / 1
	スカシタゴボウ	2 / 6
	タネツケバナ	2 / 11
	ナズナ	3 / 7
カタバミ	カタバミ	1 / 1
キク	チチコグサモドキ	2 / 11
	ノボロギク	4 / 10
ゴマノハグサ	オオイヌノフグリ	1 / 2
	トキワハゼ	2 / 4
シソ	ホトケノザ	4 / 10
スベリヒユ	スベリヒユ	1 / 2
スミレ	パンジー	1 / 1
ナデシコ	コハコベ	5 / 10
	オランダミミナグサ	6 / 12
ヒガンバナ	ノミノフスマ	1 / 2
	スイセン	1 / 4
マメ	ヤハズエンドウ	1 / 7
ユリ	ジャノヒゲ	3 / 7
	オオバジャノヒゲ	1 / 2

注) 2006 年 2～12 月に静岡県西部の IYSV 常発トルコギキョウハウス 6 箇所周辺から作物・雑草を病徴の有無に関わらず採集し、SDT-RT-PCR 法により IYSV 感染の有無を確認。

[その他]

研究課題名：ウイルス病に打ち勝つトルコギキョウ健全栽培システムの構築

予算区分：国補(高度化)

研究期間：2005～2007年度

研究担当者：内山徹、米山千温(静岡西部農林)、外側正之、鈴木幹彦、夏秋知英(宇都宮大農)