

完全な非侵襲的かつ高特異性、正確度の高い ストレス検知を目指して： イメージングと薄膜高分子による非侵襲的な植物のストレス計測

木下 奈都子*

**Non-invasive, Real-time Plant Stress Measurement by Applying Ultra-thin Electrodes
Using Flexible Thin Polymer Films and Combining Fluorescence Imaging**

Natsuko KINOSHITA*

Despite the need to increase food production as the world's population grows, the goal of “zero hunger,” one of the UN SDGs goals, has yet to be achieved. The potential yield loss due to pests and diseases has not even crossed the 25% barrier. In this reality, we are also facing a new problem: the northward migration of pests due to global warming and the acceleration of their life cycles. Accelerated life cycles accelerate the emergence of pests that are resistant to pesticides and genetically modified crops, and the experience of farmers is no longer sufficient to deal with pests that have moved northward, where they have not previously appeared. Therefore, we aimed to develop a non-invasive method to detect pest stress in plants and to develop a stress response by pests, i.e., an early damage monitoring technique. We succeeded in detecting stress by fluorescent signals and independent mechanisms. Our findings contribute to the specificity and certainty of stress monitoring with new technologies.

1. はじめに

FAO（国連食糧農業機関）によれば、世界人口の9人に1人が飢餓に苦しんでいます。この現実の中で、病害虫による潜在収量の損失は25%に上ります。組換え作物は一時的に成果を上げましたが、耐性のウイルスを含む病害虫が既に発生しています。このため、新しい原理の植物保護法の開発は喫緊の課題です。

特にウイルス病は、感染後の回復が不可能であり、破滅的な被害をもたらすことが多い傾向にあります。特に害虫が媒介するウイルスの場合、被害が速いスピードで地域全体に及びます。植物病原菌の蔓延のうち半数はウイルス性であり、その多くが昆虫によって媒介されています。

このように、遺伝子組換え作物や合成化学農薬を過剰に使用した際の組換え作物または農薬に耐性を示す病害虫の出現を回避する解決法の一つは、モニタリングである。これは、組換え作物や農薬が抗生物質のように病害虫の生育を阻害するものでないため、これを打破して抵抗性を示す系統が生まれる確率は非常に低い。

2. 低分子シグナル因子

この研究では、ウイルス感染時の反応として、まずウイルスが侵入する際に利用する植物組織への入り口となる傷害部位に関わる害虫ストレスに着目しました。このストレスシグナルを伝達する低分子シグナル伝達因子をプローブとして植物のストレス反応を解析しました。ストレスとしては、ウイルスの侵入経路となる傷害ストレスです。植物のライフサイクルでは、常に他の生物との接触や傷害ストレスを受けます。

本研究では、傷害ストレス下において植物細胞や植物の器官間（つまり、直接被害を受けていない器官でのストレス応答反応）での情報伝達メカニズムの解析を行った。（図1-図2）具体的なストレスとして、害虫によるストレスを採用した。植物にはモデル植物であるシロイヌナズナ、小松菜、大豆を用いた。

蛍光シグナル強度（恣意的ユニット）

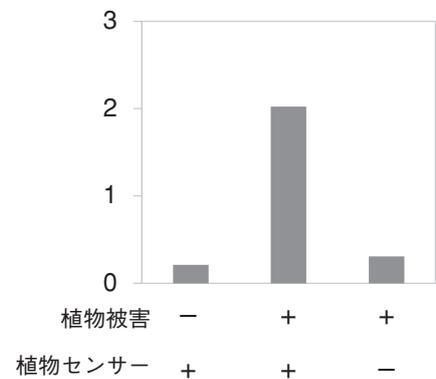


図1 ジェネラリストによる被害とその検出。

2024年3月28日 受理

* 豊田理研スカラー

筑波大学生命環境系農学学位プログラム

まず、ジェネラリスト植食性昆虫での反応を蛍光シグナルで経時的に調べた。ジェネラリスト昆虫とは、植物の種類などを特異的に選択せず、広い範囲の植物を加害できる昆虫である。

その結果、長距離および短距離で被害に応答した反応が見られた。その速度は、大凡100分程度であり、目視で被害を確認できないような微細なレベルで反応していることがわかった。これは、我々が採用したストレスマーカーが感度よく反応していることを表している。今後は、我々が採用したストレスマーカーよりもさらに上流で機能しているものを探索する。このためには経時的にサンプリングした植物組織を用いてRNAseqを行う予定である。また、下流においてもさらに著しく反応するマーカーを同じくRNAseq法にて探索する。

次にスペシャリスト昆虫、つまり特定の種や科に特化した害虫を用いて解析を行った。その結果、スペシャリストの植食性昆虫でも同様の反応を得ることができました。ジェネラリストの場合は若干シグナルの強度は低かったものの、これは利用したジェネラリスト昆虫がスペシャリスト昆虫よりも体のサイズが大きいため植物を消費する速度が速かったためであり、食性による違いではないと結論づけました。さらに、アブラナ科の植物は二次代謝成分としてグルコシノレート（辛子油配糖体）を生合成します。同時に、細胞の異なる部位で物理的に隔離された状態でミロシナーゼという加水分解酵素を発現しています。つまり、傷害ストレスや害虫ストレスなどの条件下で細胞が崩壊すると、この細胞内のコンパートメントも崩れるため、グルコシノレートはミロシナーゼによって加水分解されてイソチアシアネートに変換されます。この化合物はジェネラリスト昆虫にとって忌避物質となります。一方、スペシャリスト昆虫では、この化合物を解毒または弱毒化できる酵素などを発現することでアブラナ科の植物を餌としています。本解析からは、スペシャリストとジェネラリストで同様の応答が観察されたことから、イソチアシアネートの解毒に関するプロセスはおそらく関与していないことを強く示唆することができました。スペシャリスト昆虫に関しては、アブラナ科以外の植物を用いることで、アブラナ科以外ではどうなっているのか、つまりグルコシノレートを生合成しない植物でも同じことが起こるのかを解析する予定である。

また、今回の報告書では咀嚼性の害虫の例を取り上げたが、ウイルスの感染にはアブラムシやアザミムシなどの吸汁性の媒介虫による被害が非常に大きな問題になっている。ウイルスを直接植物に注入できるからである。しかも、ウイルスに感染した植物は特異的な揮発性有機化合物を空気中へ放出し、この揮発性有機化合物が誘引剤となって未感染の媒介昆虫が感染済みの植物へ誘引されることも知られている。今後は、ウイルス媒介昆虫に関する解析をさらに進める予定である。

蛍光シグナル強度（恣意的ユニット）

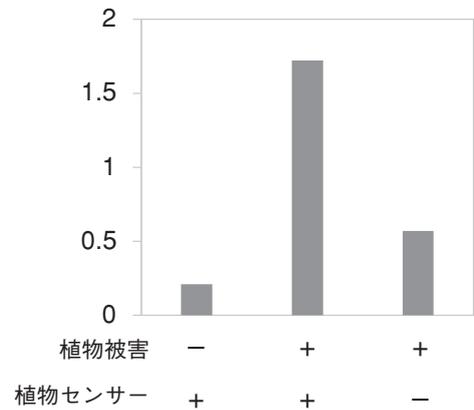


図2 スペシャリストによる被害とその検出。

3. 独立したストレスの長距離伝達機構を用いたストレス応答機構

より特異性が高く、確実性、信頼性を備えたマーカーを開発する一つの方法として、1.で用いたマーカーとは完全に独立したマーカーを利用する方法が考えられる。我々はこの可能性に関しても探索を行った。その結果、非侵襲的な手法でストレスを検知できることがわかった。2.で用いた手法では、1.で用いた手法よりも時間に関する解像度が高いため、その点でもストレスをより早く検知できる可能性を秘めている。今後は1.と2.の手法を完全にマージした形でストレス検出の特異性を検討する。

4. 最後に

この研究を可能にいただきました豊田理化学研究所からの御助成に深く感謝申し上げます。