
接触刺激による病害抵抗性誘導に基づく耐病性野菜栽培技術の開発

京都府立大学大学院生命環境科学研究科・教授 椎名 隆

■ 目的

農薬使用量を減らした持続可能な農業を目指すために、植物の防御機構を活性化する病害抵抗性誘導剤の開発が進められている。一方、申請者は、接触刺激を受けた植物で、多数の病害抵抗性遺伝子の発現が誘導されることを見出している。この研究結果を基礎に、本研究では、機械刺激を与えることで野菜に病害抵抗性を誘導する新しい栽培技術の可能性を検討する。

■ 方法

シロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*)とレタス(*Lactuca sativa*)を材料に、植物の接触刺激に対する応答を検討した。遺伝子発現応答の解析は、qRT-PCRによる定量的発現解析によって行った。また、細胞内 Ca^{2+} 応答は Ca^{2+} センサー発光タンパク質のイクオリンを細胞質ゾルで発現する形質転換体を用いて測定し、ROS 発生は蛍光マーカーの H2DCF-DA で可視化した。

■ 結果および考察

まずシロイヌナズナを材料に、接触刺激に対する遺伝子発現応答を検討し、表皮細胞のみに作用する弱い接触刺激によっても免疫関係遺伝子の発現がみられるが、エリシターによる発現誘導と同様な強い誘導を起こすには、表皮細胞のみでなく、組織全体に圧力を加える強い接触刺激が必要であることを明らかにした。

さらに、重要なシグナル伝達因子である Ca^{2+} と活性酸素種(ROS)の挙動を解析し、接触刺激に反応して、ROS は Ca^{2+} 応答に数分遅れて主に表皮細胞の細胞外で蓄積することを明らかにした。また、接触刺激に反応した ROS 発生には、RbohF が重要な役割を果たしていることも示した。一方、*rbohF* 変異体の解析から、接触刺激に対する遺伝子発現応答に ROS は直接のシグナル分子として関わっていないことを明らかにした。

今回、接触刺激での ROS 生成は主に表皮細胞で起こるが、その ROS は免疫関係遺伝子発現と直接関係しないことが明らかになった。一方、免疫関係遺伝子の発現を誘導するには、全組織に圧力が加わる強い刺激が必要であることから、遺伝子発現誘導には、表皮細胞でなく葉肉細胞での刺激受容とそれに続く Ca^{2+} 応答が必要である可能性が示唆された。これは、植物の接触刺激受容の分子機構を解明する上で重要な糸口になると期待される。

さらに、実用植物のレタスの免疫関係遺伝子の接触刺激誘導が、シロイヌナズナに比較して弱いことも明らかにした。この結果は、植物種によって、接触刺激による免疫関係遺伝子の発現誘導に大きな差異があることを示唆している。今後、接触刺激に敏感に反応する作物種を選抜して条件を最適化するとともに、接触刺激の与え方について、葉肉細胞にも作用する方法を検討していく必要があると考えられる。

■ 結語

本研究によって、まず植物の接触刺激応答の重要なシグナル伝達因子である Ca^{2+} と ROS の挙動を明らかにし、ROS 生成は表皮細胞で起こるが、この ROS は免疫関係遺伝子の発現誘導に直接関係しないことを示した。一方、免疫関係遺伝子の発現には、全組織に圧力を加える刺激が必要であることを示し、免疫関係遺伝子発現誘導には、葉肉細胞での刺激受容とそれに続く Ca^{2+} 応答が必要である可能性が示された。また、レタスの免疫関係遺伝子の接触刺激誘導が、シロイヌナズナに比較して弱いことも明らかになった。今後、接触刺激に敏感に反応する作物種を選抜して条件を最適化する必要があると考えられる。