

アンチエイジング解析を目的とした タバココナジラミ利用システムの検討

瀧川 義浩¹、坂本 純一²、松田 克礼²、
野々村 照雄²、豊田 秀吉²、角谷 晃司³

要 旨

本研究は、アンチエイジング解析を目的として、タバココナジラミを使用した寿命評価システムの確立について検討した。すなわち、異なる寄主植物であるインゲンとキャベツで飼育したタバココナジラミの寿命について、成虫の生存率が100%を下回る時期（ポイントA）、50%ならびに0%に到達した時期（ポイントBおよびC）の飼育日数を調査したところ、幼虫期の環境より、むしろ成虫期における飼育環境がタバココナジラミの生存に影響を及ぼす傾向が認められ、本システムの利用の有効性が確認された。

キーワード：寿命検定、機能性物質

1. 緒 論

老化とは不可逆的に進行する生物現象で、その過程は分子レベルや細胞レベルにおいても複雑であり、老化に伴い身体的活動の減少や病気などに対する身体の抵抗性も弱くなっていく¹⁾。近年、その過程の解析には様々なモデル生物が利用されている¹⁾。筆者らは、これまでトマトなどの主要作物から抗加齢物質をはじめとした機能性物質を探索することを目的として植物病虫害を含めた種々の昆虫を利用した評価系について多方面から検討している。特に、アンチエイジング解析を目的に、植物に存在すると考えられる抗加齢物質の効果を明らかにする場合、実験に用いる供試生物やその生物材料の次世代に及ぼす影響についても詳細に調査することが重要である。一般的に、アンチエイジング解析（寿命なども含めて）を目的とした種々の抗加齢物質成分等の評価には、線虫 *Caenorhabditis elegans* やキイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* などのモデル生物を利用して、その評価が行われていることが多い²⁻⁴⁾。しかしながら、そのような生物を利用した方法は、植物中に含まれる生理活性物質や抗加齢物質などを抽出することなく、直接的に機能性物質の効果を評価することは極めて困難である。特に植物中に存在すると考えられる多様な抗加齢物質の「アンチエイジング解析」を実施する場合、上述のように物質の抽出作業なしに、直接的に評価できるシステムが必要となってくる。そのためには、適したモデル生物（昆虫）の選抜が必要であり、実験に供試する生物（昆虫）材料の生活環の調査、そして機能性物質による寿命延長効果を調査してデータ解析を行わなければならない。そのような観点から筆者らは、タバココナジラミ *Bemisia tabaci* に着目した。

タバココナジラミは、農業作物などに重大な被害を与えている害虫の一つであり、寄主範囲が広いことが知られている^{5, 6, 7, 9)}。タバココナジラミは体長およそ1 mm程度（雄と雌では体長差あり）と非常に小さいが、小さな実験室で大量の個体管理が可能である。一度、飼育環境を構築すればルーチンワークで実験を遂行する事ができる^{5, 8, 9)}。筆者らの研究室においても小さな恒温室内に設置した植物栽培用の棚に寄

原稿受付 2015年2月11日

1. 近畿大学先端技術総合研究所 植物センター 〒642-0017 和歌山県海南市南赤坂14-1
2. 近畿大学農学部 農業生産科学科 植物感染制御工学研究室 〒631-8505 奈良県奈良市中町3327-204
3. 近畿大学薬学総合研究所 機能性植物工学研究室 〒577-8502 大阪府東大阪市小若江3-4-1

主植物を置いて栽培し、タバココナジラミを飼育してきた。タバココナジラミは寄主植物の植物成分を吸汁して生活しているため、植物中の有用物質の効果をその寿命で評価する検定材料としても使用できると考えられる。本研究では植物に含まれる抗加齢物質等のアンチエイジング解析を行うことを主眼に置き、その基礎研究として、タバココナジラミを用いた寿命延長効果の評価モデルシステムの確立について検討を行った。

2. 材料および方法

供試生物と供試作物

本研究には、タバココナジラミ (*Bemisia tabaci*) バイオタイプ Q、および供試植物としてインゲン *Phaseolus vulgaris* (長鶏菜豆) とキャベツ *Brassica oleracea* var. *capitata* (四季まきキャベツ) を用いた。キャベツとインゲンは恒温室 (設定温度 20℃) で生育させ以後の実験に用いた。

タバココナジラミの累代飼育方法と寄主植物の違いによる寿命検定試験方法

タバココナジラミの飼育には播種後 1 週間目のインゲン苗と播種後 3 週間目のキャベツ苗を寄主植物として用いた。すなわち、これらの植物をプラスチックケースの筒 (先端はネットで密閉) で作製した飼育容器で覆い、その中にタバココナジラミの成虫を放し、恒温室 (設定温度 20℃) で飼育、産卵させた。産卵後、成虫を除き、寄主植物葉上にある卵を上記の環境で管理し、孵化および羽化段階まで飼育したものを以後の実験に用いた。

生存率検定試験には、幼虫期ならびに成虫期で寄主植物の組み合わせを変更し、2つの異なる試験 (ステージ I と II) を実施した。すなわち、ステージ I では、幼虫期をインゲン苗で飼育し、羽化直後の成虫を新しいインゲン、キャベツの苗に各飼育容器あたり 20 匹ずつ放して飼育を行った。ステージ II では幼虫期をキャベツ苗で飼育し、羽化直後の成虫を新しいインゲン、キャベツの苗に各飼育容器あたり 20 匹ずつ放して飼育を行った。いずれのステージにおける試験でも成虫を放したときを飼育 0 日目として、生存しているタバココナジラミの個体数を調査した。成虫の生存率評価には、成虫の生存率が 100% を下回る時期をポイント A、50% および 0% に到達したときをポイント B およびポイント C として、この 3 点の飼育日数を調査し評価を行った。

3. 結果と考察

飼育条件の差異でタバココナジラミの寿命の変化について調査を行ったところ、ステージⅠは成虫期にキャベツで飼育するよりもインゲンを寄主植物に使用して飼育した場合に、飼育日数毎の成虫生存率に差異がある傾向が認められた (Figure 1)。ステージⅡについて検討したところ、ステージⅠと同様に成虫期にキャベツで飼育するよりもインゲンを寄主植物に使用して飼育した場合に成虫の生存率に差異がある傾向が認められた (Figure 2)。

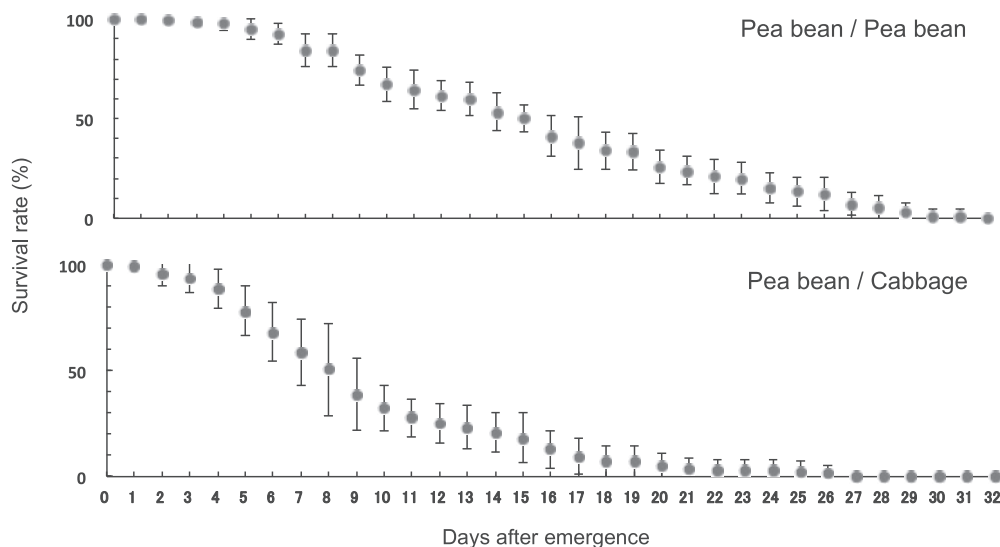


Figure 1. Survival rate of whitefly adults reared on pea bean /pea bean (upper) and pea bean /cabbage plan system (lower). Data were given as means and standard deviation of 9 replications.

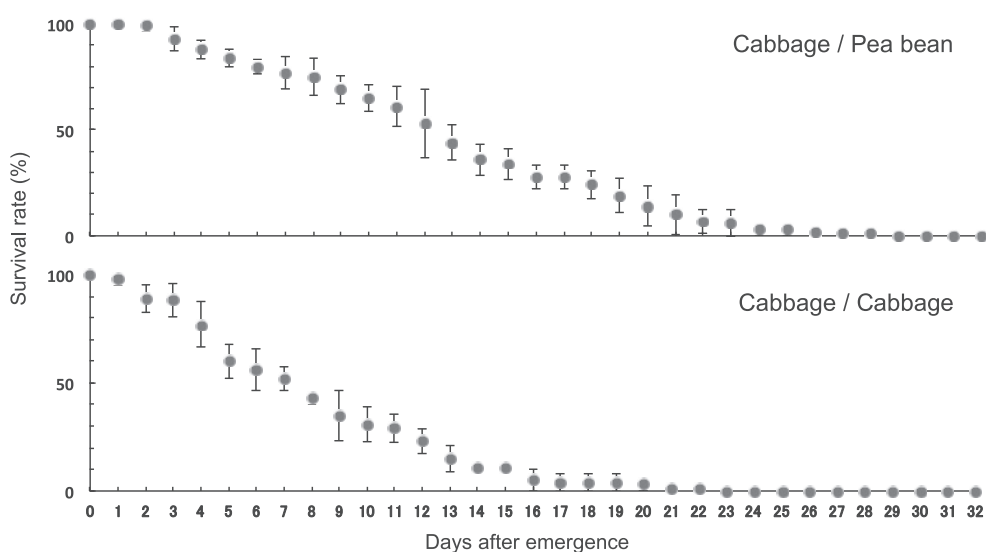


Figure 2. Survival rate of whitefly adults reared on cabbage /pea bean (upper) and cabbage /cabbage plan system (lower). Data were given as means and standard deviation of 5 replications.

次に幼虫期と成虫期の寄主植物の差異が生存率にどのような影響があるかを検討した。すなわち、タバココナジラミの生存率が 100% を下回るポイント A、50% および 0% に到達するポイント B および C について検討したところ、Table 1. の結果を得ることができた。

Table 1. Comparative analysis of survivability of whiteflies on different combinations of host plants before and after emergence

Combination of host plants at pre- and post-emergence	Days required to reach		
	Point A (100% survival)	Point B (50% survival)	Point C (0% survival)
Pea bean-Pea bean	4.9 ± 1.3 a	15.1 ± 1.8 a	28.7 ± 2.4 a
Pea bean-Cabbage	3.6 ± 1.7 a	8.3 ± 1.6 b	22.2 ± 4.2 b
Cabbage-Pea bean	2.8 ± 0.8 b	12.8 ± 1.1 c	25.0 ± 3.5 ab
Cabbage-Cabbage	1.6 ± 0.6 b	7.6 ± 0.9 b	19.8 ± 3.6 b

Data were given as means and standard deviation of 5 to 9 replications.

Different letters on mean values indicate a significant difference ($p < 0.05$) according to Tukey's method.

これらの結果から、幼虫期の環境より、むしろ成虫期における飼育環境がタバココナジラミの生存に影響を及ぼしていると示唆される。また、同様の評価手法を用いて、インゲンおよびキャベツ苗で 5 世代飼育して 6 世代目の羽化直後の成虫を新しいインゲン、キャベツ苗での同様の評価も行ったところ、1 ~ 5 世代のいずれの寄主植物で飼育しても 6 世代目の成虫期にインゲンで飼育した環境がタバココナジラミの生存に影響している傾向にあることも確認している。さらに、雌雄いずれを用いた場合も同様の傾向が認められている。このことから、少なくともタバココナジラミを用いた本システムでは雌雄を区別して評価する必要はないと判断している。本システムは、基本的にはタバココナジラミが寄主植物として生育できることが前提であるが、今後は使用した寄主植物以外の植物上でも同様の実験を検討する必要はある。

本システムの利用により、従来から使用されているモデル生物を利用せずに、植物中に含まれると考えられる種々の抗加齢物質などの機能性物質を抽出作業なしに、直接的に寿命効果を評価できる有用なシステムになると考えられる。このような手法はタバココナジラミ以外の種々の昆虫でも同様の手法は適用できるだろう。

タバココナジラミには本研究で使用したバイオタイプ Q のほかにバイオタイプ B が知られている^{5, 8, 9)}。これらを形態的に区別することは困難であるが、寄主植物の差異で、タバココナジラミのバイオタイプ Q ならびに B で生存率を含めた発育適正が異なることが報告されている^{5, 8, 9)}。これら報告されている結果は、寄主植物の成分が直接的にタバココナジラミの代謝に作用していると判断できる。また、本研究で示したデータについては実験手法などの種々の条件により結果の差異はあると考えられるが、その傾向は大きく変わるものではないと考えられる。しかしながら、本研究のシステムの有効性についてはさらなる検討が必要であると思われる。このようにタバココナジラミは主要作物の害虫ではあるが、本研究で示した寄主植物の違いが反映する飼育日数毎の生存率の差、ならびに報告されている発育適正の差異^{5, 8, 9)} は、アンチエイジング解析の観点からみると極めて興味深い。結論として、タバココナジラミを用い、本研究で示し

た3つのポイントを検討することで植物中に含まれるアンチエイジング物質の探索ならびにその効果をタバコナジラミの寿命（生存率）で評価できるシステムの基礎が構築できたと考えられる。今後は3つの評価ポイントのそれぞれのタバコナジラミを使用し、分子生物学的手法による解析が今後の課題であると思われる。

4. 参考文献

1. Fontana, L., Partridge, L., Longo, V. D. (2010). Extending healthy life span-from yeast to humans. *Science*, 328: 321-326.
2. Wang, C., Wheeler, C. T., Alberico, T., Sun, X., Seeberger, J., Laslo, M., Spangler, E., Kern, B., de Carbo, R., Zou, S. (2013). The effect of resveratrol on lifespan depends on both gender and dietary nutrient composition in *Drosophila melanogaster*. *AGE*, 35: 69-81.
3. Bass, T. M., Weinkove, D., Houthoofd, K., Gems, D., Partridge, L. (2007). Effects of resveratrol on lifespan in *Drosophila melanogaster* and *Caenorhabditis elegans*. *Mechanisms of Ageing and Development*, 128: 546-552.
4. Wood, J. G., Rogina, B., Lavu, S., Howitz, K., Helfand, S. L., Tatar, M., Sinclair, D. (2004). Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. *Nature*, 430: 686-689.
5. Chu, D., Tao, Y. L., Chi, H. (2012). Influence of plant combinations on population characteristics of *Bemisia tabaci* biotypes B and Q. *Journal of Economic Entomology*, 105: 930-935.
6. Li, S. J., Xue, X., Ahmed, M. Z., Ren, S. X., Du, Y. Z., Wu, J. H., Cuthbertson, A. G. S., Qiu, B. L. (2011). Host plants and natural enemies of *Bemisia tabaci* (hemiptera: aleyrodidae) in china. *Insect Science*, 18: 101-120.
7. Brown, J. K., Coats, I. D., Bedford, P. G. M., Bird, J., Frohlich, D. R. (1995). Characterization and distribution (Genn) (Homoptera: Aleyrodidae). *Biochemical Genetics*, 33: 205-214.
8. Jiao, X., Xie, W., Wang, S., Wu, Q., Zhou, L., Pan, H., Liu, B., Zhang, Y. (2012). Host preference and nymph performance of B and Q putative species of *Bemisia tabaci* on three host plants. *J. Pest. Sci.*, 85: 423-430.
9. Iida, H., Kitamura, T., Honda, K. (2009). Comparison of egg-hatching rate, survival rate and development time of the immature stage between B- and Q-biotypes of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) on various agricultural crops. *Applied Entomology and Zoology*. 44: 267-273.

英文抄録

Analysis of whitefly longevity aiming at the establishment of simple experimental systems for studying anti-aging mechanisms

Yoshihiro Takikawa¹, Junichi Sakamoto², Yoshinori Matsuda²,
Teruo Nonomura², Hideyoshi Toyoda² and Koji Kakutani³

In the present study, we described that whitefly was suitable to study anti-aging mechanisms. Moreover, we examined point A, B and C represent the days showing the survival rates of 100, 50 and 0%. In comparative analysis of survivability of the whitefly on different combinations of host plants before and after emergence and stage I and II, there was difference in the test points between pea bean and cabbage seedlings in adult stage.

Key words: longevity, whitefly

1. Plant Center, Institute of Advanced Technology, Kinki University, Wakayama, Japan

2. Laboratory of Plant Protection and Biotechnology, Department of Agricultural Science and Technology, Kinki University, Nara, Japan

3. Pharmaceutical Research and Technology Institute, Kinki University, Osaka, Japan