

走査型共焦点レーザー顕微鏡 LSM
走査型プローブ顕微鏡 SPM/原子間力顕微鏡 AFM

LSM、SPM による 大豆葉毛茸の形状観察・硬さ評価

はじめに

大豆は、品種によって、植食者であるハスモンヨトウの幼虫に対する抵抗性が異なることが知られています。抵抗性を左右する因子のひとつとして、葉の表面に生えている毛茸（もうじょう）が重要な役割を担っていると考えられています。強い抵抗性を示す毛茸の特徴を捉えることは、今後の品種改良の方向性を示す指標となり得ます。そこで、ここでは、4品種の大豆について、走査型共焦点レーザー顕微鏡（LSM）を用いて、毛茸の長さ、角度、半径を測定しました。また、走査型プローブ顕微鏡（SPM）を用いて、毛茸の硬さ（荷重に対する変形量）を測定しました。

K. Kuroda, R. Fuji, S. Moriguchi

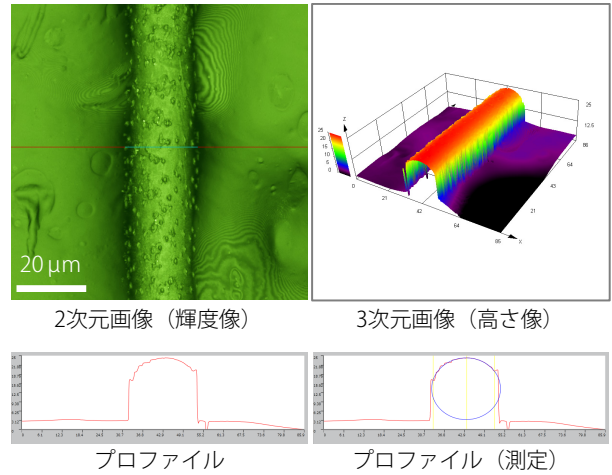


図2 半径の測定例

長さ、角度、半径の測定結果を表1に示します。長さや角度は、それぞれの品種において15本の毛茸の平均値、半径は9本の平均値です。測定結果から、抵抗性が高いほど、毛茸が長く、より垂直に近い角度で生えていることがわかります。半径は、全ての品種で大きく変わらず、抵抗性との関連性は確認されませんでした。

LSMによる毛茸の形状観察

IAC100、ヒメシラズ、タマホマレ、ハウギョクの大豆4品種について、毛茸の長さや角度、半径を測定しました。長さや角度の測定例を図1に、半径の測定例を図2に示します。2次元画像（輝度像）では、毛茸の全体像や、表面の微細な構造の輪郭が確認できます。また、3次元画像（高さ像）から、サイズを測定することができます。

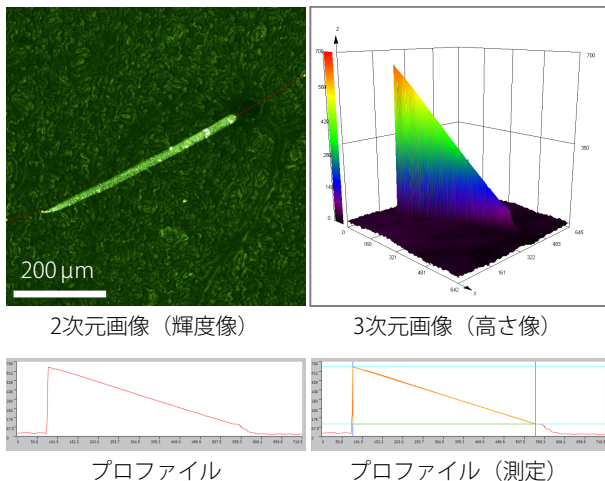


図1 長さや角度の測定例

表1 毛茸の長さ、角度、半径の測定結果

	抵抗性	長さ [μm]	角度 [°]	半径 [μm]
IAC100	強 ↓ 弱	758.2	50.8	10.3
ヒメシラズ		680.3	35.1	10.3
タマホマレ		577.1	6.0	12.4
ハウギョク		547.3	3.2	11.0

■ SPM による毛茸の硬さ（荷重に対する変形量）評価

SPM によるフォースカーブ測定を用いて、毛茸の硬さを評価しました。毛茸は平滑な基板上に横倒しに固定しました。固定された毛茸に対して、垂直方向に探針を押し付けました。探針を押し付けたときの毛茸の変形量を測定しました。測定の手順を図3に示します。

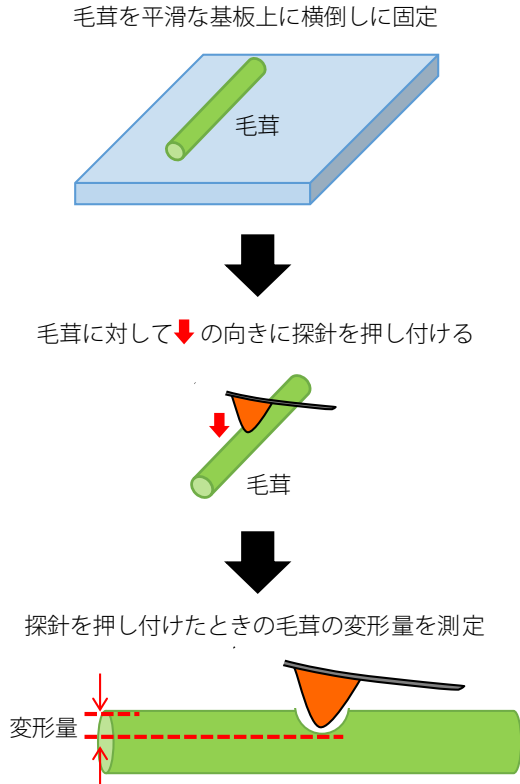


図3 測定の手順

フォースカーブ測定から得られた荷重 - 変形量曲線を図4に示します。縦軸は毛茸に加えられた荷重、横軸は毛茸の変形量です。

同じ大きさの荷重をかけた場合に、IAC100 が最も大きく変形していることが分かります。ヒメシラズはIAC100に次いで変形が大きく、タマホマレは他の2品種と比較してあまり変形しませんでした。つまり、毛茸が荷重に対してより柔軟に変形するほど、植食者であるハスモンヨトウの幼虫に対して強い抵抗性を示す傾向が見られました。

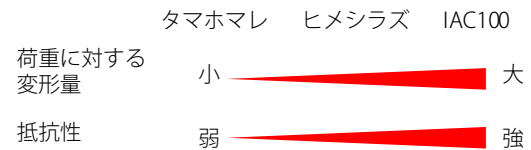
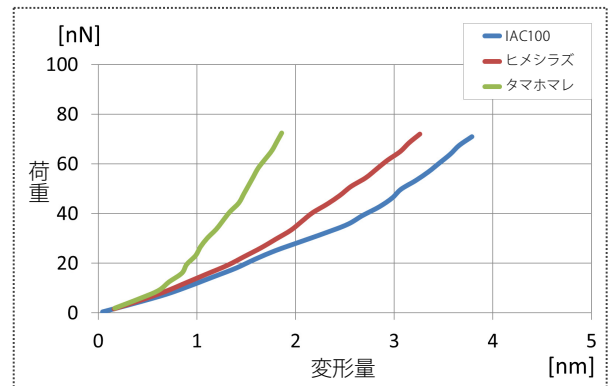


図4 荷重 - 変形量曲線と、変形量と抵抗性の相関

■ まとめ

毛茸は、植食者であるハスモンヨトウの幼虫に対する大豆の抵抗性を左右する因子のひとつと考えられています。そこで、毛茸について、長さ、角度、半径、硬さ（荷重に対する変形量）を測定しました。その結果、より強い抵抗性を示す、長さ、角度、硬さの特徴を捉えることができました。

試料ご提供：
京都大学大学院 農学研究科応用生命科学専攻 森 直樹 先生
文部科学省新学術領域研究「生物多様性を規範とする革新的材料技術」総括班

<参考文献>
中田 隆、木村 有希、山本 卓志、森口 志穂、吉永 直子、森 直樹；
ハスモンヨトウ幼虫に対する抵抗性大豆と毛茸の化学的・物理的特性、
島津評論 Vol. 73、No.1・2 (2016.9) 29 - 39

■ 参考（フォースカーブ測定について）

今回の硬さ（荷重に対する変形量）評価では SPM によるフォースカーブ測定を用いました。フォースカーブ測定の動作原理を図5に示します。③の部分で硬さ評価を行います。

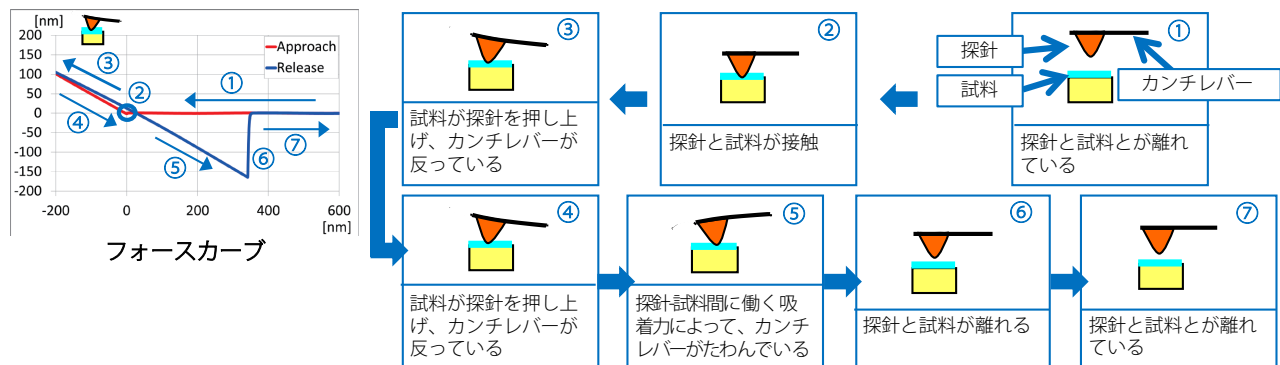


図5 フォースカーブの動作原理