

代謝解析による寄生雑草防除法の開発

岡澤 敦司^{*1}・若林 孝俊²

植物バイオテクノロジーで解決すべき地球規模の課題の一つが食料問題であることは、誰もが認めるところであろう。とりわけ、農業にはきわめて厳しい環境を有し、いまだ飢餓問題が顕在化している地域においては、植物バイオテクノロジーに対する期待が大きいと推察される。特にサハラに代表されるアフリカの乾燥地域においては、厳しい環境に加えて複雑な社会的要因により、地域の経済的自立の基盤となる食料生産が十分に行われていないとは言い難い状況にある。

アフリカをはじめとする世界の乾燥地での農業に甚大な被害を与えている生物的要因の一つに寄生雑草があげられる。日本国内ではこれらの寄生雑草が食料生産に影響を与えている事例はほとんどなく、その存在も一般的にはあまり知られていないと思われるが、実際には帰化植物であるヤセウツボ (*Orobanche minor*) が、関東地域を中心にその分布域を広げている。今のところその拡散を制御する有効な手段はなく、外来生物法で要注意外来生物に指定されている (図1)。

農業に被害を及ぼしている寄生雑草は、宿主に寄生す

ることしかその生活環を全うできない絶対寄生種であり、進化の過程で寄生に適した生活環を確立させてきたため、その発達過程や生理応答が一般的な植物種とはかなり異なっている。一例として、筆者らはヤセウツボの発芽における光応答がきわめて特徴的であり、寄生に適したものに变化していることを見いだしている^{1,2)}。本稿では、寄生雑草の代謝的な特徴を理解し、得られた知見をその防除に応用しようとする、最近の筆者らの取組みとその成果を紹介する。

ハマウツボ科寄生雑草

世界で問題となっている寄生雑草のほとんどはハマウツボ科に属する根寄生雑草である。特にアフリカでソルガムやトウモロコシなどの主要穀物に影響を与えているのが、寄生能とともに光合成能も維持するストライガ属の植物種 (*Striga* spp.) である。これらのうちもっとも大きな被害を与えている *Striga hermonthica* によって、アフリカの農業において年間およそ70億ドルの損失が生じていると見積もられている³⁾。また、地中海沿岸地域ではハマウツボ属の植物種 (*Orobanche* spp.) が問題となっている。これらの植物種は光合成能を喪失しており、すべての炭素源を宿主に依存している。光合成能の有無より、進化的にはストライガ属からハマウツボ属が派生したと考えられる⁴⁾。いずれも宿主の根に寄生し、その栄養や水分を奪うことで生育する。

前述のように、これらの寄生雑草は進化の過程で寄生に適した生活環を確立してきた。寄生雑草は個体当たり数十万粒もの極微小の種子 (0.1 mm 程度) を生産する。したがって、一度環境中に放出されてしまった種子を回収するには多大な労力を必要とする。この種子は、宿主の非存在下では土壤中で十数年の間生存可能である。一方、貯蔵物質に乏しいため、発芽後はすみやかに寄生を確立させる必要がある。このため、これらの根寄生雑草は宿主の根より分泌される化学物質を受容してはじめて発芽する。すなわち、宿主の根が近傍にあることを、化学信号を用いて感知している。ストリゴラクトンはストライガの発芽刺激物質として初めて単離構造決定されたが、現在では普遍的な植物ホルモンとして認知されている⁵⁾。



図1. 要注意外来生物に指定されている寄生雑草ヤセウツボ (*Orobanche minor*)。

* 著者紹介 ¹大阪府立大学大学院生命環境科学研究科応用生命科学専攻 (准教授) E-mail: okazawa@plant.osakafu-u.ac.jp
²大阪大学大学院工学研究科生命先端工学専攻

ヤセウツボの発芽に関わる代謝

我々は寄生雑草に特徴的な発芽過程を詳細に解析し、固有の代謝経路を明らかにすることで、寄生雑草に選択的な除草剤の防除標的を設定することが可能となると考えた。そこで、国内で容易かつ大量に入手可能なヤセウツボの種子を生体試料として、その発芽過程のメタボローム解析を行った。ガスクロマトグラフィー-質量分析計 (GC-MS) を用いた親水性代謝物の網羅的検出、ならびに、得られたデータについての主成分分析を行ったところ、データベース検索によって同定できない成分の含量が、発芽刺激物質処理後、ヤセウツボ種子が発芽にいたるまでに大きく変動することが明らかになった。この変動は発芽刺激物質で処理をしない限り観察できなかった。GC-MSのマスペクトルからこの成分が三糖であると予想されたため、大量のヤセウツボ種子よりこの三糖を単離精製し、強酸による完全加水分解産物のGC-MS分析による構成糖の決定、ならびに、核磁気共鳴 (NMR) 分析によって、これがプランテオースであることを明らかにした (図2)。ハマウツボ科の植物種においてプランテオースを検出したのは、本研究が初めてである。ヤセウツボ乾燥種子中のプランテオースの含量を定量したところ、他の糖質と比較してかなり多量に含まれていることが明らかとなったため、この糖が貯蔵糖として蓄えられている可能性が示された。また、この糖

が *S. hermonthica* など他の寄生種の乾燥種子にも含まれていることが確認されたことから、プランテオースはハマウツボ科の根寄生雑草の種子に共通して存在していると示唆された (若林ら、投稿中)。

プランテオースの代謝が発芽に関わる可能性が示唆されたため、さまざまな糖質加水分解酵素阻害剤が発芽に及ぼす影響を調べたところ、ノジリマイシン (NJ) が低濃度でヤセウツボの発芽を阻害することが明らかに

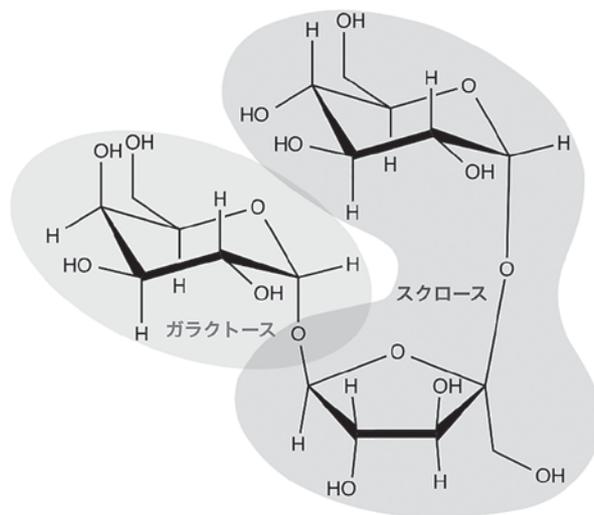


図2. ヤセウツボの乾燥種子より単離したプランテオース (スクロースのフルクトース部分にガラクトースが $\alpha 1 \rightarrow 6$ 結合したガラクトシルスクロースの一種) の構造。

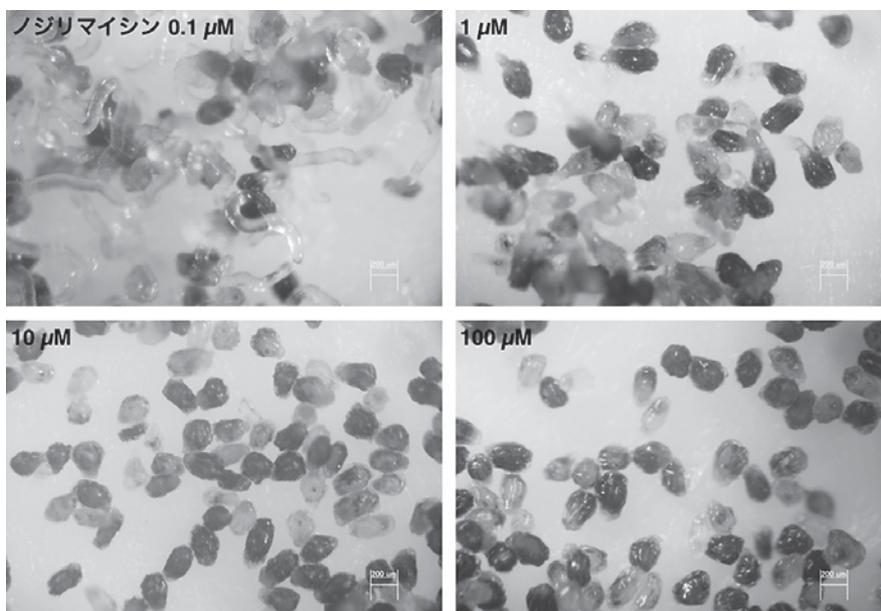


図3. ノジリマイシンによるヤセウツボの発芽阻害. 0.1 μM のノジリマイシン処理で確認される発芽が10 μM でほぼ完全に阻害された。

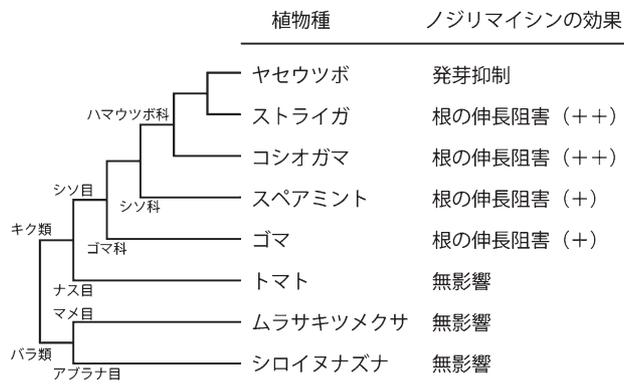


図4. 植物の進化とノジリマイシンの関係. シソ目のうちヤセウツボに近縁種になるに従って、ノジリマイシンの影響が強くなることを示した。

なった(図3)。そこで、複数種の植物の発芽に対するNJの効果を調べたところ、その効果が寄生雑草の進化と関連していることを示唆する興味深い傾向が見いだされた(図4)。ヤセウツボと同じハマウツボ科で光合成能を維持しているストライガ属 *S. hermonthica* の発芽は抑制されなかったものの、NJ処理による幼根の伸長阻害が観察された。また、同じハマウツボ科で、寄生能を有するものの独立栄養的にも生存可能な条件の寄生植物であるコシオガマについても、NJ処理による幼根の伸長阻害が確認された。さらに、ハマウツボ科と同じシソ目で種子中にプランテオースを含んでいることが知られているゴマおよびスペアミントでもNJによる根の伸長阻害が確認されたが、その効果には高濃度のNJを必要とした。プランテオースを含んでいることが報告されているナス目のトマト、プランテオースを含まないシロイヌナズナ、ヤセウツボの宿主であるムラサキツメクサに対してはNJによる影響は確認されなかった(若林ら、投稿中)。

ヤセウツボの発芽種子中のプランテオース代謝経路

これまでに植物中のプランテオース代謝についてはほとんど知見が得られていない。NJによるヤセウツボの発芽阻害効果とプランテオース代謝との関連を調べるために、プランテオースの代謝物と想定される糖質の外部投与によってNJによる発芽阻害が回復されるかを検討したところ、グルコースによってのみ発芽率が著しく回復することが明らかとなった。また、NJ処理を行った種子と未処理のものとの糖質の含有量を比較したところ、NJ処理によってスクロースが蓄積し、逆にグルコースとフルクトースの含量が減少していた。この際のスク

ロースの蓄積量は、もともと乾燥種子に含まれていたプランテオースとスクロースの合計とほぼ等しかった。これらを総合して考えると、プランテオースの代謝経路に関して以下のように推測される。プランテオースからまずガラクトースが、 α -ガラクトシダーゼによって加水分解され、スクロースが生じる。次に、スクロースがインベルターゼによりグルコースとフルクトースに代謝される。NJはこの反応を阻害することで、発芽に必須のグルコースの供給量を減少させ、結果としてヤセウツボの発芽が進まなくなる(若林ら、投稿中)。

ノジリマイシンの作用機構

近年、インベルターゼは植物の発達過程、ホルモン応答、あるいは、生物間相互作用などに関わる重要な酵素として注目を集めているが⁶⁾、植物に普遍的に含まれているため、上記の分析結果のみからでは、なぜNJがヤセウツボの種子発芽を選択的に阻害するのか説明ができない。そこで、ヤセウツボの発芽種子より粗酵素液を調製し、この酵素活性に対するNJの影響を調べた。

インベルターゼには局在の異なる三つのタイプが知られている。細胞質で働くSNIs (soluble neutral invertases)、液胞で働くSAIs (soluble acid invertases)、ならびに、細胞壁(アポプラスト)で働くCWiS (cell-wall invertases) である。各タイプの粗酵素液を調製し、その活性を測定したところNJによる阻害効果は確認できなかった。したがって、予想に反してNJはインベルターゼを直接阻害しているわけではないということが示された。

そこでさらに、NJで処理した種子中のインベルターゼ活性を測定したところ、その活性が未処理の種子中のものと比較して著しく低下していることが明らかとなった。その低下は液泡型SAIs、細胞壁型CWiSで顕著であった。したがって、NJはこれらのインベルターゼの転写、翻訳、あるいは、翻訳後修飾のいずれかの過程を阻害していると考えられた(若林ら、投稿中)。

今後の展望

NJは数種の放線菌が生産する抗生物質として単離構造決定された⁷⁾。しかし、水溶液中で不安定であるため、同様の活性を持ち、より安定なデオキシ体であるデオキシノジリマイシン(DNJ)が利用されることが多い。興味深いことに、筆者らが行った実験ではDNJはヤセウツボに対する発芽阻害活性を示さなかった。これまでにDNJが0.5 mMという高濃度でオオムギなどの根の伸長

阻害活性を示すことが明らかになっている⁸⁾。ヤセウツボにおいても高濃度のDNJによる根の伸長阻害効果が確認できたが、この際のDNJの濃度は、発芽阻害に必要なNJの濃度の100~1000倍程度であった(若林ら、投稿中)。この結果とNJの効果の植物種間での違いを考えると、NJの作用点は寄生雑草の進化に関連して確立された生理生化学反応中に存在するという仮説が導かれる。前述のようにNJは水溶液中で不安定であり、その作用スペクトルも多岐にわたることから、実際に寄生雑草選択的な除草剤として展開することは難しいと考えている。これを達成するためには、まず、第一にNJの作用点を明らかにすること、そして、第二にNJと同様の活性をもつ化合物をスクリーニングすることのできる簡便な実験系を構築することが必要である。現在、これらの課題を克服するためにNJを処理したヤセウツボ種子のRNA-seqによるトランスクリプトーム解析などの研究を進めている。

現在、国内外の研究者が寄生雑草の防除法の確立を目指した研究を展開している。たとえば、宿主の根から放出される発芽刺激物質の受容を攪乱させる戦略や⁹⁾、宿主の寄生雑草に対する抵抗性そのものを増強させる戦略¹⁰⁾が立案され、実際に研究レベルでは相応の成果が得られている。効果的な寄生雑草防除のためには、複数の方法を組み合わせた総合的な戦略を構築する必要があると考えられる。網羅的代謝解析による寄生雑草の発芽過程の理解を起点とすることで得られた知見をもとに、

地球規模の課題である寄生雑草防除法の確立に貢献することが植物バイオテクノロジーに関わる生物工学者としての当面の目標である。

謝 辞

本研究は、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)・平成21年度産業技術研究助成「グローバルな食糧確保に貢献する寄生雑草制御技術の開発」(平成21年度から平成25年度)および、独立行政法人科学技術振興財団(JST) - 独立行政法人国際協力機構(JICA)・平成21年度地球規模課題対応国際科学技術協力プログラム(SATREPS)「根寄生雑草克服によるスーダン乾燥地農業開発」(平成21年度から平成26年度)の研究助成により行われた。SATREPSの研究代表者である神戸大学の杉本幸裕教授をはじめ、多くの共同研究者の方々に深謝申し上げる。

文 献

- 1) Takagi, K. *et al.*: *New Phytol.*, **182**, 965 (2009).
- 2) 岡澤敦司, 高木一輝: 植物の生長調節, **45**, 15 (2010).
- 3) Parker, C.: *Pest Manag. Sci.*, **65**, 453 (2009).
- 4) Westwood, J. H. *et al.*: *Trends Plant Sci.*, **15**, 227 (2010).
- 5) Xie, X. *et al.*: *Ann. Rev. Phytopathol.*, **48**, 93 (2010).
- 6) Roitsch, T. and González, M.-C.: *Trends Plant Sci.*, **9**, 606 (2004).
- 7) Inouye, S. *et al.*: *Tetrahedron*, **23**, 2125 (1968).
- 8) Mega, T.: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **69**, 1353 (2005).
- 9) Zwanenburg, B. *et al.*: *Pest Manag. Sci.*, **65**, 478 (2009).
- 10) Aly, R.: *In Vitro Cell. Develop. Biol.-Plant*, **43**, 304 (2007).