

機関番号： 82401

研究種目： 若手研究(B)

研究期間： 2009～2010

課題番号： 21780044

研究課題名(和文)

寄生植物ストライガ抵抗性に関わるミヤコグサ新規変異体の探索

研究課題名(英文)

Screening of *Lotus japonicus* mutants with altered *Striga hermonthica* resistance

研究代表者

吉田 聡子 (YOSHIDA SATOKO)

独立行政法人理化学研究所・植物免疫研究グループ・研究員

研究者番号： 20450421

研究成果の概要(和文)：

根寄生雑草ストライガは植物の根に寄生し養分を奪って生活する病害植物である。トウモロコシやモロコシ、イネなど主要な穀物を宿主とするため、アフリカ半乾燥地域を中心に甚大な農業被害をもたらしている。本研究では、ストライガに対して非宿主であるモデルマメ科植物ミヤコグサの変異体スクリーニングをおこない、ストライガ抵抗性に変化のある変異体を単離した。その表現型解析により、ストライガ抵抗性の分子メカニズムの一端を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：

The parasitic weeds *Striga* spp. are among the world most devastating pests. *Striga* infests major crops, such as maize and sorghum, and causes drastic yield losses. However, resistance mechanisms against *Striga* have not been well understood. *Lotus japonicus* showed strong resistance to *Striga* infection. I screened mutagenized *Lotus japonicus* M2 generation to find mutants which show altered-resistance to *Striga* infection.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・植物病理学

キーワード：寄生植物、ストライガ、抵抗性、宿主特異性

## 1. 研究開始当初の背景

*Striga hermonthica*(以下本文中でストライガと称する)はイネ科穀物を宿主とするが、双子葉植物には寄生しない。ストライガと宿主植物はシグナル伝達物質を通じて相互を認識し、寄生を成立させる。根寄生植物の発芽は宿主植物より分泌されるストリゴラクトンによって誘導され、宿主根への吸着体である吸器は、宿主細胞壁分解産物と考えられるキノン類によって誘導される。吸器は宿主根に付着し、内部に侵入、通導組織を連結させることにより、宿主の栄養分を吸い取る“寄生”が成立する。近年、植物の枝分かれをコントロールする植物ホルモンであるストリゴラクトンの生合成変異イネがストライガ耐性を示すことを明らかになった。このことは、ストリゴラクトン生合成の調節がストライガ感染のコントロールに有効であることを示すが、同時に植物体自身の生長に影響を与えることを意味する。ストリゴラクトンによる発芽調節以外の抵抗性の機構を解明することがこれからの寄生植物対策にとって重要になってくると考えられる。

ストライガの宿主認識機構を調べるために、ストライガを様々な植物種に感染させたところ、非宿主植物であるササゲやシロイヌナズナにもストライガは侵入し維管束に到達できることを示した。また、ミヤコグサでは皮層細胞においてサフラニンで染色される茶褐色の物質が蓄積し、侵入が阻止されることが明らかになった。この結果から、ミヤコグサはストライガの感染に対して抵抗性反応様の応答を発現しているだろうと考えられた。この反応はササゲでは観察されなかったことから、マメ科植物全般に保存されているものではなく、ミヤコグサが獲得した形質と考えられる。

また、ハマウツボ科半寄生植物コシオガマにストライガを感染させた場合には、ストライガはコシオガマ根付近でも吸器を形成せず、侵入しないことが明らかになった。このことはストライガの表皮への侵入に必要なシグナルをコシオガマが欠損しているか、またはコシオガマがストライガの侵入を防ぐための機構を備えている可能性を示唆している。

これらの解析から、ストライガと非宿主植物の相互作用は植物種により一様ではなく、ミヤコグサはストライガの表皮への侵入に感受性であるが、皮層においてその侵入を阻止する機構を備えていることが示唆された。寄生雑草への抵抗性育種は長年努力が重ねられているが、決定的な成果が得られていないのが実情である。ストライガへの抵抗性のメカニズムを知ることによって、抵抗性品種の分子育種への道が開けると考えられた。

## 2. 研究の目的

本研究では、遺伝学的な手法を用いてストライガ抵抗性の仕組みの解明を目指す。ストライガの侵入に対して感受性であるが、皮層において抵抗性を示す非宿主植物ミヤコグサの変異体をスクリーニングにより単離する。得られた変異体の表現型解析をおこない、抵抗性を示す遺伝子の性質を知る。

## 3. 研究の方法

### (1) 研究に用いた材料

ストライガ (*Striga hermonthica*) 種子はスーダンの A.G. Babiker 博士より分与してもらったものを用いる。ミヤコグサ種子はエコタイプ Gifu に EMS 処理を施した M2 世代種子をイギリスの John Innes Centre Dr. Wang より分与してもらった。

### (2) 変異体スクリーニング

ミヤコグサ種子は硫酸処理ののち次亜塩素酸溶液にて滅菌処理をした。フィルターペーパー上で発芽させた後、リゾトロンシステムに植物体移した。リゾトロンシステムでは2枚の透明なプラスチック板の間にロックウールとナイロンメッシュをはさみ、メッシュの上で宿主植物を垂直に生育させる。同様に寄生植物コシオガマを 10%次亜塩素酸溶液で滅菌処理をおこない、リゾトロンにミヤコグサと交互に生育させた。およそ 3-4 週間後に感染の有無を調べ、感染に変化がみられるものを変異体候補として、土に移植し次世代種子を得た。種子の出来にくい変異体に関しては、一部枝を切り、挿し木することにより、新たな根を発生させた。次世代種子または挿し木により増やした根を使って、同様に 2 次スクリーニングをおこなった。

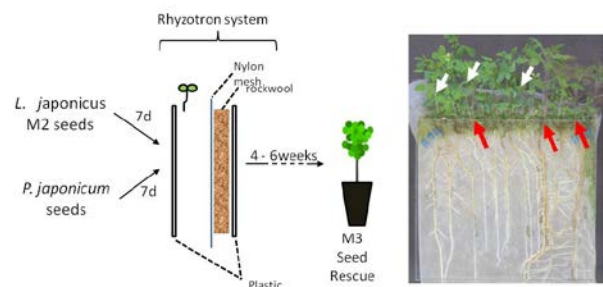


図1. スクリーニングシステム

リゾトロンの模式図(左)と写真(右)。寄生植物コシオガマを用いて一次スクリーニングをおこなった。右パネル白い矢印がミヤコグサを赤い矢印がコシオガマを示す。

### (3) 感染実験

ストライガの感染にはリゾトロンでミヤコグサを2週間生育させた後に、吸水処理をおこなったストライガ種子を根のそばに置いた。この際にストライガ種子はストリゴール処理をおこない、発芽誘導物質生合成の変異体を排除した。オロバンキも同様に滅菌、吸水処理をおこなった

種子をストリゴールにて発芽誘導させ、リゾトロンで生育させたミヤコグサの根の付近に置いた。約2週間後に感染の有無を顕微鏡下で観察した。

#### 4. 研究成果

(1)ミヤコグサと寄生植物の相互作用の解析  
ミヤコグサがストライガの侵入に対して抵抗性様の反応を示すことは明らかになってきたが、他の寄生植物との相互作用は明らかではなかった。そこで、まず始めに、ハマウツボ科寄生植物コシオガマをミヤコグサに感染させ、様子を観察した。ミヤコグサはコシオガマに対しても、ストライガと同様に抵抗性様の反応を示し、その侵入を皮層にて食い止めることが明らかになった。また、その接触面にはサフラニンで染色される茶褐色の物質の蓄積が見られた。

#### (2)変異体のスクリーニング

変異体のスクリーニングをするにあたって、ストライガの小さい種子をひとつひとつ感染させることは非常に時間がかかるため、同様の抵抗性反応の見られるコシオガマを感染し、その感染過程に変化が見られる変異体を単離し、一次スクリーニングとすることにした。EMS 処理を施した 1,836 個体の M1 植物から得られた 20,000 個体以上の M2 世代植物をスクリーニングした。一次スクリーニングでは 160 個体の変異体候補が得られた。一次スクリーニングでは、吸器の形成数が少なくなる変異体、吸器形成が遅くなる変異体、吸器形成が全く見られない変異体、吸器と宿主の接触面の茶褐色化が見られない変異体などの多様な表現型が得られた。しかし、二次・三次スクリーニング後には 10 ラインの変異体がえられ、いずれも吸器の形成数が野生型に比べて少ない表現型を示した。他のラインについては安定的な表現型の再現性を得ることができなかった。これらの 10 個体について、ストライガで感染実験をおこなったところ、そのうちの 2 ラ



図 2. 寄生植物に感染されにくい変異体。ストライガが感染した野生株(WT)とストライガの吸器形成が起こりにくい変異体 (SL764.1) .感染部位を矢尻、吸器が形成されなかったストライガの根端を矢印で示す。

インでストライガの感染率も下がることになった。

#### (3)変異体の表現型解析

得られた 2 ラインの表現型を詳細に観察した。まずこれらの変異体をストライガ、コシオガマ、オロバンキに感染させ、寄生植物の侵入が起こるかどうかを確かめた。興味深いことに、ストライガとコシオガマの吸器の形成数は野生株に比べて減少したが、オロバンキは野生株と同様に感染できることが分かった。また、この変異体ラインの付近でのストライガの発芽率を調べたところ、野生株と変わらなかったため、発芽誘導物質の生産には変化はないと考えられた。

また、アガープレートアッセイにより、ストライガの吸器誘導距離を調べたところ、変異体では、野生型よりも吸器の誘導距離が長くなる傾向が見られたが、個体間のばらつきが大きく統計的に有意である証拠は得られなかった。

また、スクリーニングからはミヤコグサへのストライガ感染時に特異的に観察される接触部の黒色化が見られない変異体を得ることはできず、ミヤコグサにおける抵抗性の発現は機能が重複する複数の遺伝子によって支配されている可能性が考えられた。

今後はこの表現型の遺伝的解析をおこない、遺伝子の単離へ向けての研究を進める予定である。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

① Satoko Yoshida, Juliane K. Ishida, Nasrien Kamal, Abdelbagi M. Ali, Shigeto Namba, Ken Shirasu. A full-length enriched cDNA library and expressed sequence tag analysis of the parasitic weed, *Striga hermonthica*. *BMC Plant Biol.*, 10:55, 2010 (査読有)

② Satoko Yoshida, Shinichiro Maruyama, Hisayoshi Nozaki, Ken Shirasu. Horizontal gene transfer by the parasitic plant *Striga hermonthica*., *Science*, 328:1128, 2010 (査読有)

③ 白須賢, 吉田聡子, 植物を襲う植物—寄生植物ストライガとの攻防. 生物の科学・遺伝, 64:46-51, 2010 (査読なし)

[学会発表] (計 6 件)

① Satoko Yoshida, Life as a parasite: host recognition by the parasitic plant *Striga hermonthica*., Memorial Symposium for the 26<sup>th</sup> international prize for biology, 8, December, 2010, at Tsukuba, Japan

② 吉田聡子, 寄生植物ストライガの生存戦略と共生シグナル～新しい植物ホルモン・ストリゴラクトンの寄生と共生における役割～, 日本植物学会

2010 年度年会, 2010 年 9 月 10 日, 春日井市

③ Satoko Yoshida, Nuclear horizontal gene transfer by the parasitic witchweed, *Striga hermonthica*. 21<sup>st</sup> International Conference on Arabidopsis Research, 6-10, June, 2010, at Yokohama.

④ 吉田聡子、宿主植物から寄生植物への核遺伝子の水平伝播、第 51 回日本植物生理学会年会、2010 年 3 月 18 日-21 日、熊本

⑤ 吉田聡子、イネのストリゴラクトン生合成・受容変異株におけるアーバスキュラー菌根菌共生、植物微生物研究会第 19 回研究交流会、2009 年 9 月 8-10 日、松本

⑥ Satoko Yoshida, Multiple layers of nonhost incompatibility to *Striga hermonthica*., The 10<sup>th</sup> world congress on parasitic plants., 8-12. June, 2009, at Turkey.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

吉田 聡子 (YOSHIDA SATOKO)

独立行政法人理化学研究所・植物免疫研究グループ・研究員

20450421