

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：14501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24658111

研究課題名(和文) 根寄生植物におけるストライゴラクトンの生合成能と要求性の検証

研究課題名(英文) Dependence of root parasitic plants on host-derived strigolactones

研究代表者

杉本 幸裕 (Sugimoto, Yukihiro)

神戸大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授

研究者番号：10243411

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円、(間接経費) 750,000円

研究成果の概要(和文)：ストライゴラクトン(SL)は植物の形態制御に関わるため、発芽にSLを必要とする根寄生植物は生合成能力を欠失しており、個体の形態も宿主から供給されるSLによって制御されると考えられる。本研究はこの仮説の実証を目指した。培地で生育するストライガ独立個体からSLが検出されなかったこと、および、寄生しているストライガから検出されるSLは宿主と同一であることから、宿主からの流入が示唆された。SL生合成欠損イネ変異体に寄生したストライガ個体の形態には異常が生じた。これらのことから、ストライガのSL生産能力は低く、宿主が供給するSLは発芽だけでなく寄生した個体の形態にも影響していると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Strigolactones (SLs) are a class of plant hormones that regulate plant architecture as well as being known as root-derived signals for symbiosis and parasitism. This study examined 1) whether *Striga hermonthica*, a root parasitic plant, whose seed germination is triggered by SLs, produces SLs, and 2) the effect of SLs provided by the host on morphology of the parasite. The level of SLs in *Striga* plants growing on agar, independent of host, was below the detection limit of LC-MS analysis while SL spectra detected in *Striga* plants were consistent with those in their respective hosts. *Striga* plants growing on SL-deficient rice mutants formed leaves abnormal in shape and number. These results suggest that SL production in *Striga*, if any, is very limited and that SLs provided by host plants regulate not only germination of *Striga* seeds but also the parasite morphology.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・生物生産化学・生物有機化学

キーワード：根寄生植物 ストライゴラクトン 生合成 要求性

1. 研究開始当初の背景

自然界で宿主から独立して生きることができない、ストライガ (*Striga* spp.) とオロバンキ (*Orobanche* spp.) に代表される根寄生植物にとって、宿主の存在しない状況での種子発芽は自殺行為である。自殺発芽を回避するため種子は、宿主となる植物の根から分泌されるストライゴラクトン (SL) を認識してはじめて発芽する。SL あるいはその代謝産物が植物の枝分かれを抑制する新奇な植物ホルモン様物質であることが明らかにされたことにより SL が植物に共通に必要な代謝産物であることが確信された。これを欠損したことにより根寄生植物は SL 要求性に変わるができたと考えらるに至り本研究を計画した。

2. 研究の目的

根寄生植物は SL 生合成能を欠失していること、さらに、そのため宿主植物より供給される SL は発芽だけでなく根寄生植物の形態をも制御していることの実証を目指した。

3. 研究の方法

(1) ストライガ独立個体に含まれる SL を分析した。また、生合成する SL の構造が異なるソルガム 2 品種にストライガを寄生させ、ストライガ植物体に含まれる SL を比較した。SL の分析は次のように行った。まず、植物体をアセトンに浸漬し、アセトンを濃縮した後の水相を酢酸エチルで処理した。酢酸エチル層を濃縮乾固し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで簡易精製を行った。SL の有無は LC-MS/MS で確認した。他の寄生植物についても、宿主に寄生した個体に含まれる SL を分析した。

(2) 根寄生植物の SL 要求性を検証するため、

イネ品種シオカリの SL 生合成欠損変異体にストライガを寄生させ、宿主からの SL の供給がない場合のストライガの生育および形態への影響を調査した。

(3) ストライガの独立培養系を構築し、宿主から独立したストライガに異なる濃度の SL を与えて生育への影響を調査した。

4. 研究成果

(1) 独立個体および宿主に寄生したストライガ個体に含まれる SL

S. hermonthica の独立個体 (2 g) のアセトン抽出物 (1/10 量) を LC-MS/MS 分析を行なったが、5-deoxystrigol (DS) を含め、既知の SL は検出されなかった。その一方で、土壌で栽培したソルガム品種 Dabar の根 (1~2 g) のアセトン抽出物 (1/20 量) を LC-MS/MS 分析に供したところ、DS が検出された。ソルガムには sorgomol 生産品種や sorgolactone 生産品種も存在する。そこで他の SL も生合成していないか確認するために、同品種を水耕栽培して得た根滲出物を同様に分析したところ、DS のみ検出され、sorgomol や sorgolactone は検出限界以下であった。また同ソルガム品種に寄生していたストライガを分析したところ、出現前 (0.2-0.5 g)、地上出現後 (1.5-2.5 g) 共に DS の存在が確認された。分析にはアセトン抽出物 1/20 量を用いたが、検出量が少なかったため定量することはできなかった。これらの結果より、*S. hermonthica* において SL 生合成能はソルガムと比較して著しく低いこと、またソルガムで生合成された SL が *S. hermonthica* に流入していることが示唆された。

つづいて、異なる SL を生成しているソルガム品種に *S. hermonthica* を寄生させ、SL の流入を再度確認した。Sorgomol を生合成してい

るソルガム品種 Sudax に *S. hermonthica* を寄生させた。地表出現前(0.3 g)及び出現後(約0.8-1 g)の *S. hermonthica* 個体を回収、アセトンに浸漬し、上述のように簡易精製を行った。精製サンプルを 100-150 μ L のアセトニトリルに溶解し、LC-MS/MS で SL の定性分析を行った。Sorgomol 生産品種である Sudax に寄生したすべての *S. hermonthica* から DS が検出されただけでなく、出現後の個体からは sorgomol (図、矢印)も検出された。一方上述の、DS 生産品種の Dabar に寄生した *S. hermonthica* からは DS のみ検出された。これらの結果より、宿主ソルガムが生合成した SL が寄生雑草 *S. hermonthica* へ流入していることが確認された。

この他、ライゾトロン法によりヒマワリ及びアサガオの根に寄生した *S. gesnerioides* (出芽直後から開花直前: 0.32 ~ 0.9 g) から SL を抽出し分析を行ったが、既知の SL は検出限界以下であった。またヒマワリの根(0.9 g)からも SL は検出されなかった。一方アサガオの根(0.27 g)からは alectrol と natural orobanchol が検出された。しかしいずれも微量であったこと、またヒマワリの水耕液からは SL が検出されたことから、多くの試料を用いることで検出が可能になると思われる。神

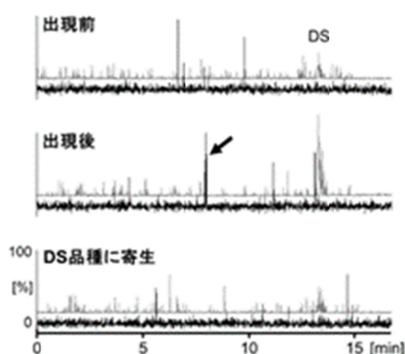


図 ストライゴラクトンの LC-MS 分析

奈川県横浜市で自生していたアカクローバーの根と寄生していた *O. minor* から SL を抽出して分析を行ったところ、アカクローバーの根(1.5 g)から alectrol が検出されたが、*O. minor* (2 g)からは検出されなかった(1/20量を分析)。

(2) 宿主の SL 生産性がストライガ個体の形態に及ぼす影響

ライゾトロン内で栽培したイネの野生型シオカリ(WT)、SL 受容体欠損変異体(d3, d14)および SL 生合成欠損変異体(d10, d27)の根系にストライガを寄生させた。ストライガは WT および全ての変異体に寄生し地上部を発達させたが、大部分のストライガ個体では、茎長が 5 cm に達する以前に伸長を停止し茎頂が黒化した。主茎の伸長が停止すると複数の側芽の伸長が見られる場合もあったが短期間で停止した。茎長が 5 cm 程度のストライガ個体の形態を、宿主と関連付けることはできなかった。一方、二つの変異体(d14, d27)にそれぞれ寄生したストライガ 2 個体は茎長が約 15 cm に達するまで生育を続けた。この 2 個体の形質に明確な差が認められた。変異体 d14 に寄生したストライガ個体では葉身が正常に発達し、葉身長は最大で 2.6 cm に達した。一方、d27 に寄生したストライガ個体では、葉身長が 0.5 cm に達する前に葉身の発達が止まり、葉先から黒化した。両ストライガの茎長は同程度であったが、地上部新鮮重は d14 に寄生したものが 1.5 g、d27 に寄生したものは 0.28 g と約 5 倍の差が見られた。変異体 d14 は SL 受容体欠損変異体であり、SL を生合成している。一方、d27 は SL 生合成欠損変異体であることから、宿主から SL が供給されなかったため、ストライガの正常な生育が阻害された可

能性が考えられた。

(3) SLの添加がストライガ独立個体の形態に与える影響

ショ糖濃度 2%、寒天濃度 1.2%の GM 培地上に散布したストライガ種子に GR24 を与えることで、宿主に寄生することなく独立して生育するストライガ植物体を得た。培地にストライガ種子を直接散布するのではなく、種子を乗せたガラス繊維濾紙ディスクごと培地に置くことで、作業手順を減らすことができた。さらに、ディスクが GR24 溶液を保持するため、種子を直接散布した場合と比較して、容器内の全てのストライガ種子に対してより均一な GR24 処理を施すことができた。独立個体は、30 に設定したインキュベーター内で、光照射下でも遮光条件下でも 40 日程度は生長を維持することを確認した。

個体培地に GR24 を 0, 1, 10 ppm の濃度で加え、宿主に寄生することなく独立して生育するストライガ植物体の生育を観察した。各濃度の培地からランダムに 100 個体を回収し生育を観察した。枝分かれが見られた個体数はそれぞれ 100 個体中 19, 9, 15 個体であり、GR24 の有無で明確な差は確認できなかった。しかし、茎長は 0, 1, 10 ppm 濃度の培地でそれぞれ 4.7, 3.9, 4.0 cm となり、GR24 を加えない培地で有意に茎長が長くなった。SL の有無がストライガの生育に影響を及ぼす可能性が示唆された。

5 . 主な研究論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

Nomura, S., Nakashima, H., Mizutani, M., Takikawa, H., Sugimoto, Y.: Structural requirements of strigolactones for germination induction and inhibition of *Striga gesnerioides* seeds, Plant Cell Reports,

32 (6), 829-838, 2013.査読有

Motonami, N., Ueno, K., Nakashima, H., Nomura, S., Mizutani, M., Takikawa, H., Sugimoto, Y.: Bioconversion of 5-deoxystrigol to sorgomol by the sorghum, *Sorghum bicolor* (L.) Moench, Phytochemistry, **93**, 41-48, 2013.査読有

〔学会発表〕(計 4 件)

Sugimoto, Y., Nomura, S., Nakashima, H., Mizutani, M., Takikawa, H.: Structural requirements of strigolactones for germination induction and inhibition of *Striga gesnerioides* seeds, 12th World Congress of Parasitic Plants (2013.7.15-20, Sheffield, UK)

Ueno, K., Motonami, N., Nakashima, H., Nomura, S., Mizutani, M., Takikawa, H., Sugimoto, Y.: The bioconversion of 5-deoxystrigol to monohydroxylated strigolactones by plants, 12th World Congress of Parasitic Plants (2013.7.15-20, Sheffield, UK)

Mizutani, M., Hiragakiuchi, M., Nakashima, H., Motonami, N., Ueno, K., Takikawa, H., Sugimoto, Y.: Oxidative Bioconversion of a Synthetic Strigolactone Analog GR24 in the Root Cultures of *Menispermum dauricum*, 10th International Congress on Plant Molecular Biology (2012.10.21-26, Jeju, Korea)

Motonami, N., Nakashima, H., Ueno, K., Mizutani, M., Takikawa, H. Sugimoto, Y.: Oxidation of 5-deoxystrigol in sorghum, *Sorghum bicolor* (L.) Moench, 10th International Congress on Plant Molecular Biology (2012.10.21-26, Jeju, Korea)

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

杉本 幸裕 (SUGIMOTO YUKIHIRO)

神戸大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号 1 0 2 4 3 4 1 1