

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 22 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25850011

研究課題名(和文)根寄生雑草ストライガの宿主養水分収奪戦略におけるアブシジン酸の重要性の解明

研究課題名(英文)Role of ABA on host assimilates up-take by root parasitic weed *Striga hermonthica*

研究代表者

井上 知恵 (Inoue, Tomoe)

神戸大学・研究基盤センター・研究支援推進員

研究者番号：30403380

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：根寄生雑草ストライガは気孔閉鎖に関わるアブシジン酸(ABA)濃度が宿主よりも高く、ストライガ寄生により宿主ABA濃度は増加する。本研究では、ストライガがABAを合成し宿主へ輸送しているかを調べた。ストライガ独立個体のABA濃度はソルガムに寄生したストライガと同様であったことから、ストライガ自身がABAを合成していることが分かった。ストライガ独立個体のABA濃度は浸透ストレスの影響は受けなかった。一方、重水素で標識されたABAをストライガの葉に塗布して宿主ソルガムへの輸送を調べたが、分析データのばらつきが大きく、ストライガからソルガムへのABAの移動を確認するには至らなかった。

研究成果の概要(英文)：Striga hermonthica, a root hemiparasitic weed, is a threat to food security in sub-Saharan Africa. The parasite is connected to the host root xylem, and withdraws host assimilates through the transpiration stream. Although stomatal closure of most of the plant species is regulated by abscisic acid (ABA), stomata of Striga is little responded to ABA and Striga infection increases host ABA concentration. Experiments were conducted to clarify if Striga synthesizes ABA and translocate it to the host. ABA concentration in single Striga was as high as that of Striga parasitism on sorghum. ABA concentration in single Striga was unaffected by osmotic potential, and higher under dark than under light. To confirm if ABA translocates from Striga to the host, d6-ABA was applied on Striga leaves. The d6-ABA was detected in leaf of Striga-infected sorghum, but also in untreated Striga-infected sorghum. Thus translocation of ABA from Striga to the host did not confirmed by this approach.

研究分野：作物生理学

キーワード：ソルガム ストライガ *Striga hermonthica* アブシジン酸 根寄生雑草 国際研究者交流 スーダン

1. 研究開始当初の背景

根寄生雑草ストライガ (*Striga hermonthica*) はソルガムやミレット、トウモロコシなどのイネ科の主要作物を宿主とするため、アフリカの半乾燥地の農業生産を制限する最大の生物学的要因となっている。ストライガの寄生により作物の生育が損なわれ、全く子実が得られなくなることもある。宿主の成長が著しく損なわれるか生殖成長の終盤に差しかかると、ストライガは速やかに生殖成長に移行し、開花・結実させる。これまでに、ストライガによる被害は、乾燥条件下でより深刻化することが報告されている。

ストライガは葉緑体を持つ半寄生雑草であるが、光合成速度は低く、その旺盛な生育を維持するために宿主の同化産物に依存している。ストライガは、吸器と呼ばれる器官で宿主植物の根と通導組織を連結し、蒸散流により宿主から同化産物を収奪する。

従来、ストライガ寄生により宿主作物で気孔の閉鎖に関わる植物ホルモンのアブシジン酸 (ABA) 濃度が増加するが、増加した ABA は宿主自身で生産されたものであると考えられてきた。しかし、一定期間内の各部位の ABA 濃度の変化等を基にしたモデル解析に基づく推察であり、実験的証拠はない。ストライガで高濃度に検出される ABA の由来についても全く知見はない。

これまでに、土壤水分条件に関わらずストライガの蒸散速度および気孔コンダクタンスがソルガムよりも高いことを見出した。また、土壤乾燥条件下で、ストライガはソルガムに比べて葉の相対含水率の低下が大きいにもかかわらず、気孔コンダクタンスの低下が小さいことを見出した。さらに、ストライガに寄生されたソルガムでは、ABA 濃度が土壤水分条件に関わらず増加することを確認している。一方、ストライガでは、宿主ソルガムよりも約 8 倍も ABA 濃度が高いにもかかわらず、気孔コンダクタンスをソルガムよ

りも高く保っていた。

これらの学術的背景から、ストライガの宿主養水分収奪戦略に ABA が重要な役割を果たしていることが予想された。すなわち、ストライガは ABA 生合成能力を高く保ち、宿主植物に ABA を転流させて気孔を閉じさせ、同時に、自らは ABA に対する感受性を低下させて気孔を開くことで、宿主からの蒸散流を高く保つと考えられた。

自然界では、ストライガは宿主無しでは生育できないが、人工的な環境下でストライガ独立個体の栽培が可能になった。また、ポット栽培では、各ポットに混入するストライガ種子数を一定にすることはできるが、寄生率を揃えることはできないという欠点があった。一方、ライゾトロン法は、ロックウールを詰めたシャーレでソルガムとストライガを栽培するため、これまで行ってきたポット実験と異なりストライガの寄生を非破壊で観察できる。そのため、ポット実験に比べてストライガの寄生率および生育の揃った個体を測定に供することができる利点がある。宿主と寄生関係にある個体 (ライゾトロン法) およびストライガ独立個体の両方が得られるようになったことで、上述の仮説を検証する実験系が整った。

2. 研究の目的

ストライガ寄生により宿主作物で ABA 濃度が増加する原因は、1) ストライガが水ストレス条件下でも効率的に宿主養水分を収奪するために能動的に ABA を合成し宿主へ輸送していると予想したが、2) 蒸散流により受動的に宿主由来の ABA を蓄積している可能性も否定できない。そこで本研究では、異なる水分条件下で栽培したストライガとストライガ感受性ソルガム品種 Dabar および Abu70 を用いて、以下の項目に取り組んだ。(1) 寄生関係の有無がソルガムとストライガの ABA 濃度と気孔応答に与える影響：人

人工気象器内でライゾトロン法で栽培したソルガムとストライガ、およびゲランガム培地で栽培したストライガ独立個体の ABA 濃度および気孔開度を調べ、宿主への寄生の有無がストライガ中の ABA 濃度に与える影響を明らかにする。

(2) ストライガ - 宿主作物間での ABA の移動：ストライガから宿主ソルガムへ ABA が逆に輸送されているかどうかについて、ライゾトロン法で栽培したソルガムとストライガを用いて、d6-ABA を用いたトレーサー実験で検証する。また、申請後、トウモロコシの ABA 生合成欠損株を入手し、増殖することができた。そこで、ABA 生合成欠損株とその野生株を用いて、ストライガ寄生により気孔応答と ABA 濃度に変化がみられるかどうかを検証する。

(3) 寄生関係にあるソルガムとストライガ、およびストライガ独立個体の水耕栽培法の確立：可能な限り環境の等しい実験系で栽培した個体で ABA の生合成およびその輸送について調査できるようにするために、水耕栽培法の確立を目指す。

3. 研究の方法

(1) ソルガム品種を用いたライゾトロン試験

寄生関係の有無がソルガムとストライガの ABA 濃度と気孔応答に与える影響を調べるため、ライゾトロン法での試験を行った。プラスチック製シャーレにロックウールを詰め、その上にガラス繊維濾紙を敷いてライゾトロンを作成した。ソルガムは発芽後 4 日間水耕し、ライゾトロンに移植した。移植後 2 日目のソルガムの根系に合成ストライゴラクトン GR24 で発芽誘導したストライガ種子 20 粒を接種した。接種後 21 日目（ストライガの草丈約 4 cm 程度）に、ライゾトロン当たり寄生関係が成立したストライガ個体が 1 個体となるように間引いた。ライゾトロン内

の水分量を制限する水ストレス処理を開始し、湿潤区（ロックウールの最大含水量の 70-100%）と乾燥区（同 30-60%）の 2 処理区を設けた。接種後 40 日目にストライガおよびソルガムの葉の気孔コンダクタンスを測定した。また、ストライガからソルガムへ ABA が輸送されているかどうかを調べるため、接種後 4 週目に、ストライガの葉に d6-ABA (0, 0.1, 1 μ mol) を含む 50%アセトン水溶液 50 μ l を塗布した。なお、d6-ABA 処理前に、ソルガムとストライガはアルミホイルで覆った厚紙で仕切り、ストライガへ処理した d6-ABA が直接ソルガムの葉へ接触するのを防いだ。塗布 6 時間後にソルガム最上位展開葉を採取し、ABA 分析に供した。

(2) トウモロコシ ABA 生合成欠損株を用いたライゾトロン試験

Maize Genetics Cooperation Stock Center から分譲された種子から得た個体を自家受粉させ、登熟前に収穫して過湿状態に置き、穂発芽した種子をライゾトロンに移植して育てた。栽培条件および乾燥処理は、(1)と同様とした。ABA 濃度が極めて低く、乾燥条件下で ABA が増加せず、気孔が閉じない個体を選抜し、ストライガ発芽種子を接種した。接種後 35 日目に、トウモロコシの気孔コンダクタンスを測定した。その後、トウモロコシの葉をサンプリングし、ABA 分析に供した。

(3) ストライガ独立個体を用いた試験

栽培条件がストライガ独立個体の ABA 濃度に与える影響を調べるため、異なるポリエチレングリコール (PEG) 濃度 (0, 20%) の 1/2 MS ゲランガム培地でストライガ独立個体を人工気象器内の明あるいは暗条件下で約 1 カ月間栽培した。ストライガ独立個体の一部はその後 1 週間異なる光条件下で栽培した。暗および明条件下で各 1 週間栽培した個体の一部は、再度暗条件下で 1 週間栽培した。明・暗処理開始 1 週間後に、ストライガをサンプリングし、ABA 分析に供した。

(4) ABA 分析

粉碎した葉およびストライガ独立個体（シユート）をメタノールに浸漬し、内部標準として d6-ABA を加えた。なお、d6-ABA の移動を検証するためにストライガの葉に d6-ABA を処理した宿主ソルガムの葉のサンプルの分析では、内部標準の d6-ABA は加えなかった。残渣を濾別してメタノールを減圧下で留去した。メタノール抽出物を弱アルカリ性条件でヘキサンと分配した後、水相を弱酸性にして酢酸エチルで抽出し、酸性画分を得た。これを 10%メタノールに溶解し、固相抽出で粗製した後、ABA を LC-MS で分析した。

4. 研究成果

(1) ソルガム品種を用いたライゾトロン試験

ライゾトロン法で栽培したソルガムの気孔コンダクタンスは、湿潤区に比べて乾燥区で 38%低下したのに対し、ストライガの気孔コンダクタンスには乾燥処理による影響は認められなかった。また、ストライガの寄生により、ソルガムの気孔コンダクタンスは、湿潤条件下で 64%、乾燥区で 50%も低下した。以上のように、ライゾトロン法での実験結果は、ストライガの気孔は乾燥ストレスにตอบสนองしにくく、宿主ソルガムはストライガの寄生により気孔が閉鎖するというこれまでの野外でのポット栽培試験での結果を支持した。

そこで、ストライガの寄生により宿主植物で生じる気孔の閉鎖が、ストライガから輸送された ABA によるものか同化を検証するため、ライゾトロン法を用いてソルガムとストライガを栽培し、ストライガの葉に d6-ABA を塗布して、6 時間後にソルガムの葉をサンプリングし、d6-ABA の移動を調べた。その結果、ストライガの葉に 0.1 μmol d6-ABA を処理したソルガムの葉から最も高い d6-ABA が検出された。しかし、0 μmol d6-ABA 処理

区のソルガムの葉からも d6-ABA が検出されたことから、本方法では ABA がストライガからソルガムへ輸送されていることを確認することができなかった。

(2) トウモロコシ ABA 生合成欠損株を用いたライゾトロン試験

ソルガムに寄生したストライガに d6-ABA を処理した前述の実験では、ABA がストライガからソルガムへ輸送されていることを確認することができなかったことから、ライゾトロン法で ABA を生産しない宿主であるトウモロコシの ABA 生合成遺伝子欠損変異体 (*vp14*) およびその野生株を用いてストライガから宿主へ ABA が輸送されているかどうかを検証した。トウモロコシ ABA 生合成遺伝子欠損株変異体 (*vp14*) の気孔コンダクタンスは、乾燥条件下で低下しなかったが、ストライガの寄生により 74%低下した。しかし、ストライガの寄生の有無に関わらず、トウモロコシ ABA 生合成遺伝子欠損株変異体 (*vp14*) の ABA 濃度は、個体間差異が大きかった。そのため、ストライガ接種によるソルガムの気孔閉鎖の結果が ABA 濃度の増加に原因するかどうかは検証できなかった。

(3) ストライガ独立個体を用いた試験

ストライガ自身が ABA を生産しているかどうか、およびストライガの ABA 生合成が光や浸透ストレス等の環境要因によって変化するかどうかを明らかにするために、1/2 MS ゲランガム培地で栽培したストライガ独立個体について、異なる PEG 濃度処理および明・暗処理を行い、ABA 濃度を調べた。その結果、ストライガ独立個体でも、野外でのポット栽培でソルガムに寄生したストライガと同程度の ABA 濃度（明条件下で 81.1 ng/g FW）であることが分かった（図 1）。また、暗条件下のほうが明条件に比べて、約 1.6 倍 ABA 濃度が高かった。暗条件から明条件に光条件を変化させたところ、ABA 濃度は 75% 低下した。PEG による浸透圧ストレスのスト

ライガの ABA 濃度への影響は認められなかった (図 2)。

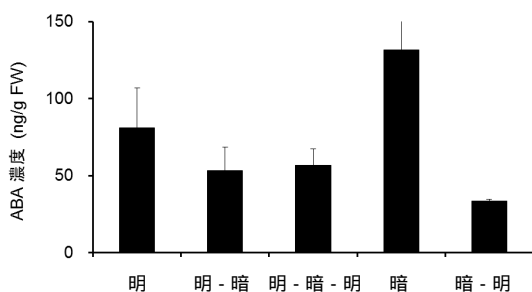


図 1 . 光条件がストライガ独立個体のアブシジン酸 (ABA) 濃度に及ぼす影響

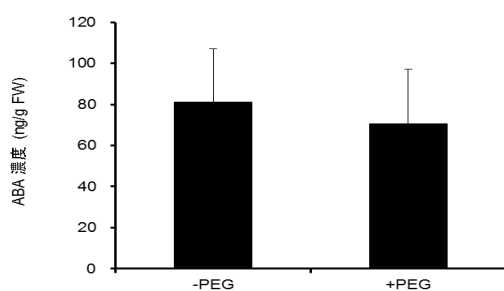


図 2 . ポリエチレングリコール (PEG) による浸透ストレス処理がストライガ独立個体のアブシジン酸 (ABA) 濃度に及ぼす影響

以上のように、本研究では、ストライガ自身が ABA を生合成していること、およびストライガ独立個体の ABA 生合成は明条件に比べて暗条件下で高く、浸透ストレスの影響を受けないことが示された。しかし、ストライガの寄生により、宿主植物で増加する ABA がストライガ由来かどうかまでは解明することができなかった。

また、本研究期間中には、予定していた寄生関係にあるソルガムとストライガ、およびストライガ独立個体の水耕栽培法の確立にまでは至らなかった。今後、同じ栽培条件(水耕法)下で栽培した寄生関係にある宿主とストライガおよびストライガ独立個体の ABA と気孔応答について、調べる必要がある。また、d-ABA の処理方法およびトウモロコシ ABA 生合成遺伝子欠損変異体の個体数を増やして再試験を行う必要がある。

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)

[学会発表](計 2 件)

井上知恵、鮫島啓彰、上野琴巳、Abdel Gabar Babiker、杉本幸裕：根寄生雑草ストライガの宿主からの同化産物の収奪にはアブシジン酸に対する気孔応答の異常が関与している．植物化学調節学会第 50 回記念東京大会、2015 年 10 月 23 - 25 日、東京都文京区 (2015)

Inoue, T., Yamauchi, Y., Eltyeb, A.A., Samejima, H., Ueno, K., Babiker, A.G.E., Sugimoto, Y.: Translocation of host materials to parasite: Stomatal response and photosynthetic capacity of *Striga hermonthica* and sorghum under water stress. International Seminar on SATREPS Project on *Striga* Management, 15 September 2014, Khartoum, Sudan (2014)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

井上 知恵 (INOUE, Tomoe)

神戸大学・研究基盤センターアイソトープ部門・研究支援推進員

研究者番号：30403380

(2)研究協力者

Abdel Gabal Babiker