

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23405023

研究課題名(和文) ストライガ低感受性ソルガムの抵抗性・耐性機構の解明

研究課題名(英文) Tolerance and resistance of sorghum to Striga

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) 13,900,000円、(間接経費) 4,170,000円

研究成果の概要(和文)：ソルガムとイネのストライガ感受性機構の解明に取り組んだ。ライゾトロンによるストライガ感受性の評価は、ポット試験、圃場試験の評価結果と良い一致を示すことが判明した。ABAに対する感受性の違いがストライガの養水分収奪を支えていることは確認できたが、ストライガが宿主にABAを輸送することで自らの生存を有利にしていることは検証できなかった。そのため、宿主の耐性にABA代謝不活性化能力が関与しているという仮説の検証には至らなかった。宿主のストライガ抵抗性は、土壌のストライガ密度やストライガ種子の来歴に影響されることが判明した。これらは、安定したストライガ抵抗性品種を選抜する過程で、重要な知見となる。

研究成果の概要(英文)：This study aims to gain knowledge on tolerance/resistance mechanisms of sorghum and rice to *Striga hermonthica*. We clarified that differences in stomatal response to Abscisic acid (ABA) between sorghum and *Striga* induced water and solutes transfer from the host to the parasite. No evidence was found for ABA transfer from *Striga* to sorghum and this is not consistent with the hypothesis that tolerance to *Striga* relates to inactivation of ABA metabolism in host plants. Varietal differences in *Striga* resistance of host plants shown in rhizotron evaluations were confirmed in greenhouse and field experiments. Soil seedbank density and strain of *Striga* affected resistance of rice varieties, providing important information for the durability of *Striga* resistance.

研究分野：農学A

科研費の分科・細目：生物生産化学・生物有機化学

キーワード：ストライガ ソルガム イネ 抵抗性 耐性

## 1. 研究開始当初の背景

根寄生植物ストライガはアフリカ、中東、南アジアに分布している。ソルガム、イネ、トウモロコシ等の主要な作物を宿主とし、アフリカでは病原菌、害虫、鳥を上回り農業生産を阻害する最大の生物的要因となっている。一個体あたり十万粒と高い種子生産能力を有するため、侵入された畑は耕作が困難になり放棄される。種子は宿主植物が分泌する刺激物質を感受してはじめて発芽する。この特性は宿主から独立して生きられないストライガの巧妙な生存戦略と考えられてきた。食文化や栽培環境を鑑みるとサブサハラ地域においてソルガムに代わる主要穀物はないため、ストライガの理想的な防除法は寄生を受けないソルガムの発見・作出である。この性質は抵抗性と呼ばれ、ストライガに寄生されにくい特性であり、受動的には発芽刺激物質の分泌が少ないこと、能動的には接着されても侵入を受けにくいことである。ストライガ種子が混入している土壌でも生産の低下が小さい性質を、抵抗性と区別して、耐性という。研究開始時点までの研究で、ストライガは宿主のソルガムに比べて、土壌乾燥により葉の相対含水率が低下しても、気孔開度を高く保ち、蒸散を高く維持していたことが分かっていた。気孔の開閉には、葉の水分状態以外に植物ホルモンのアブシジン酸（ABA）が関わっていることが知られているので、宿主のストライガ耐性にはABAに対する感受性が関わっていると予想された。

## 2. 研究の目的

本研究では、ソルガム品種のストライガ感受性を、抵抗性・耐性を区別しつつ評価する。耐性については気孔応答で説明できるか

どうかを検証することを目指した。申請後、採択されるまでに、近年、スーダンで導入が進められているイネについて顕著に異なるストライガ感受性を示す品種を見出したため、ソルガムに加えてイネも研究対象とした。具体的には以下の項目に取り組んだ。

(1) プラスチックシャーレにロックウールを詰めてガラス繊維濾紙を敷いて作成したライゾトロンでソルガムおよびイネ品種を生育させ、根系に接種したストライガ種子の発芽率と寄生率を調べ生育初期におけるストライガとの関係の品種間差を明らかにする。

(2) ポット実験を行い、ライゾトロンで観察された初期生育におけるストライガとの関係が、全生育期間を通して認められるか検証する。さらに、ストライガが寄生した状態で異なる水分処理およびABA 処理を施し、宿主植物とストライガの気孔応答が養水分の動態に及ぼす影響を明らかにする。

(3) ストライガ抵抗性に関して、栽培の継続による安定性、および、来歴の異なるストライガ種子に対する応答の違いを検証する。

## 3. 研究の方法

(1) 発芽刺激活性評価：宿主植物を試験管で水耕し、一週毎に水耕液を採取した。湿潤条件下、30℃暗所で10日間インキュベートしたストライガ種子に、水耕液を滴下し24時間後に発芽率を計測することで、発芽刺激活性を評価した。

(2) 寄生感受性の評価：プラスチック製の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。宿主個体を発芽後3日間試験管で水耕し、ライゾトロンに移植した後10日目の根系に、合成ストライゴラクトン GR 24 で発芽誘導し

たストライガ種子 30 粒を接種した。接種後、一週毎にストライガの生育を調査した。ストライガの生育は、宿主根に侵入できなかったもの、侵入し吸器形成したもの、寄生が成立し地上部の伸長を開始したもの、寄生成立後に枯死したものの、の 4 段階に区分して評価した。特に強い抵抗性を示したイネ品種には、由来の異なるストライガ種子を用いた評価も行った。

(3) ポット試験：スーダンにおいて、ストライガ混入の有無を設定したポットでソルガムとイネを栽培した。ソルガムでは、播種後 53 日目から灌水処理を開始し、湿潤区（土壌水分率 21-27%）と乾燥区（12-18%）を設けた。播種後 59 日目にソルガムとストライガの最上位完全展開葉の、光合成・蒸散速度、葉内 CO<sub>2</sub> 濃度、気孔コンダクタンスを測定した。その後、葉を ABA 濃度測定用に採取した。また、外生 ABA の転流を確認するため、ストライガの葉に d6-ABA を塗布し、4 時間後にソルガム最上位完全展開葉を採取した。播種後 56-59 日目に、<sup>13</sup>C<sub>2</sub> 処理を行った。イネでは、ストライガ種子密度を 4 水準に設定し、ライゾトロンで抵抗性また感受性と判断された品種を栽培した。各ポットからのストライガ出現数を定期的に観察し、収穫期にはイネの地上部乾物重を測定した。

(4) 圃場試験：ライゾトロンでストライガへの反応が異なっていたイネ 6 品種を、スーダンの圃場で栽培した。栽培にはストライガ汚染圃場と汚染のない圃場を用いた。汚染圃場では、ストライガ種子密度の不均一さを補うため、イネの播種孔に 1 mg のストライガ種子を加えた。現地の推奨栽培法に従って施肥、灌水管理を行い、ストライガ出芽個体数の観察とイネの乾物重の測定を行った。

(5) ABA 分析：粉砕した凍結乾燥葉をメタノールに浸漬し、内部標準として d6-ABA を加えた。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% MeOH に溶解し固相抽出で粗精製した後、ABA を LC-MS で分析した。

(6) <sup>13</sup>C の転流：ソルガムの最上位完全展開葉よりも下位の葉は全て切除した。<sup>13</sup>C 標識炭酸ナトリウム 0.214 g (2 mmol) を入れたコンテナを内包するポリ袋で、最上位完全展開葉あるいはストライガ個体全体を密閉した。外部から注射器で 1.5 mL の乳酸をコンテナに注入してポリ袋内に <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> を発生させた。播種後 60 日目に <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> 処理した個体と未処理の個体をサンプリングし、凍結乾燥した。これを試料として <sup>13</sup>C 安定同位体比 (atom%) を測定した。

#### 4. 研究成果

(1) ライゾトロンによる初期生育におけるストライガ感受性の評価

① 発芽刺激活性：ソルガム 17 品種およびイネ 31 品種を水耕栽培し、根滲出物のストライガ発芽刺激活性を評価した。ソルガム品種では Umbinan22、Arfa Gadamac、Tabat、IS4225、SRN39 の発芽刺激活性が低いことから、これらの品種は高い接触前ストライガ抵抗性を持つと判断した。イネ品種について、アフリカでの導入が進められている 18 品種の NERICA は、NERICA4 および NERICA5 を例外として、全て接触前抵抗性が高いと判断された。

② 寄生抵抗性の品種間差異：ライゾトロン法により接触後抵抗性を評価した。ソルガム 17 品種間でのストライガの寄生率は 18.7 -

62.0%と押し並べて高く、ソルガムとストライガが共進化してきたという説を裏付ける結果が得られた(図1)。一方、イネ52品種に対する寄生率は1.3 - 63.3%と品種間で顕著な差異が認められた(図2)。これまでに高いストライガ抵抗性を持つと報告されている水稻品種日本晴に対するストライガの寄生率は5.3%であり、日本晴より低い寄生率を示した品種は9品種認められた。Kasarathは高感受性品種と報告されているが、より高い寄生率を示す品種が多数認められた。一部の陸稲品種では、寄生成立後のストライガが枯死する現象が観察された。

(2) ポット試験および圃場試験におけるストライガ感受性の評価

寄生関係にあるソルガムとストライガを比較し、土壤乾燥による気孔コンダクタンスおよび蒸散速度の低下がストライガの葉でソルガムの葉より小さいことを確認した。

ソルガムの内生ABA濃度は、ストライガの

寄生により増加した(図3)。ソルガムに比べて、ストライガのABA濃度は約10倍も高かった。また、出芽前のストライガのABA濃度は出芽後の個体よりも低く、ソルガムと同程度であった。このことから、水ストレスや外生および内生ABAに対するストライガの気孔応答の鈍さが宿主ソルガムからの同化産物の転流の維持に関与していると考えられた。ストライガの寄生によるソルガムのABA濃度の増加がストライガからの転流によるものかどうかを検証するため、ストライガ葉にd6-ABA溶液を塗布し4時間後にサンプリングを行った。その結果、12反復中4つのソルガム個体でd6-ABAが検出されたが、残りの8個体では検出限界以下であった。ストライガからソルガムにABAが転流されているかどうかについては、今後、d6-ABAの処理時期やサンプリング時期等を検討する必要がある。

ストライガに寄生されたソルガムの最上位完全展開葉に<sup>13</sup>CO<sub>2</sub>処理を行い、土壤乾燥処

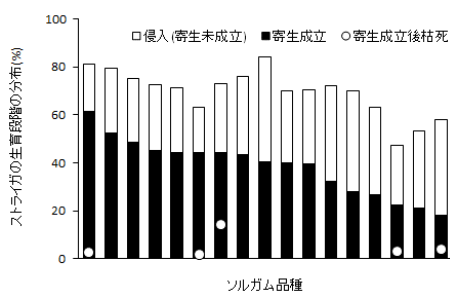


図1 ソルガムに接種したストライの生育段階の分布

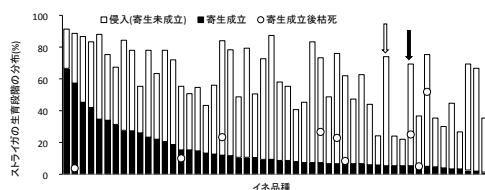


図2 イネに接種したストライの生育段階の分布  
黒矢印は日本晴、白矢印はKasalath

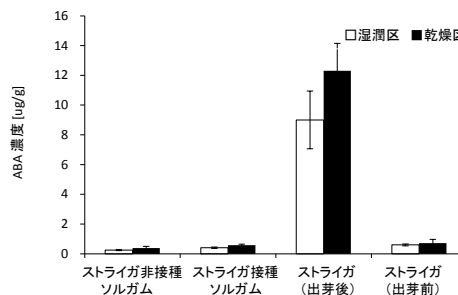


図3 ソルガムとストライガのABA濃度

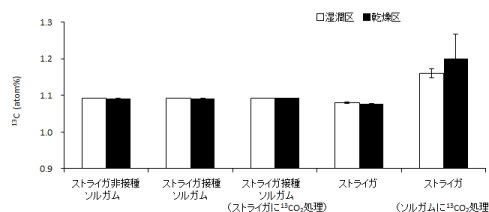


図4 ソルガムとストライガの葉の<sup>13</sup>C同位体比

理が同化産物の分配に及ぼす影響を調査した結果、ソルガムからストライガへ転流された<sup>13</sup>Cは土壌水分条件に関わらずほぼ一定であった。また、ストライガに<sup>13</sup>CO<sub>2</sub>処理を処理した場合には、ソルガムの葉では<sup>13</sup>Cの転流は認められなかった(図4)。したがって、土壌乾燥条件下でソルガムは光合成速度が低下するのに加えて、ストライガへの同化産物の転流が維持されるために、ストライガの寄生による被害が深刻化すると考えられた。

ライゾトロンでストライガ抵抗性または感受性と評価されたイネ品種を用いてポット試験(図5)および圃場試験を行った。SATREPS1とNERICA5は、ライゾトロン、ポット、圃場の三つの評価試験において安定したストライガ抵抗性を示した。NERICA13は、この2品種と比較するとストライガに寄生されやすかったが、寄生による穂重の低下が少ないことから、ストライガ耐性品種である可能性が示唆された。一方、NERICA4とNERICA18は常に高いストライガ感受性を示した。興味深い知見として、SATREPS1では寄生したストライガが高頻度で枯死した。このストライガの枯死はNERICA5では見られなかったことから、両品種のストライガ抵抗性機構は異なる可能性がある。接触前抵抗性が高いソルガム品種SRN39がポット試験でもストライガに寄生されにくいことも確認した。

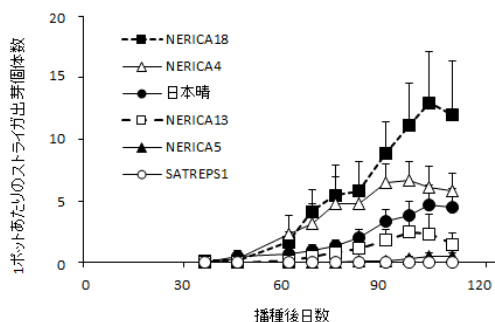


図5 イネ6品種のポットからのストライガ出芽個体数

### (3) ストライガ抵抗性の安定性

選抜されたイネ品種 SATREPS1 と NERICA5 のストライガ抵抗性の安定性を評価するため、両品種を土壌中のストライガ種子密度を0、0.84、1.69、2.53 seeds cm<sup>-3</sup>の4水準に設定したポットで栽培した。種子密度に関わらず1ポットあたりのストライガ出芽個体数はほぼ一定であったことから、SATREPS1とNERICA5はストライガの種子密度が増加した場合でも、安定したストライガ抵抗性を示すと判断された。しかし、現地で感受性と認識されているソルガム品種 Dabar と抵抗性と認識されているソルガム品種 Haqiqa のストライガ応答をポット試験で比較した場合、1ポットあたりのストライガ出芽個体数は土壌中のストライガ種子密度が低い条件(0.42 seed cm<sup>-3</sup>)では、Dabarで15.8、Haqiqaで0.5個体と両品種間に有意な差異が認められたが、種子密度が高い条件(0.84 seeds cm<sup>-3</sup>)では認められなかった。したがって、抵抗性品種の選抜にあたって土壌中のストライガ種子密度を考慮する必要があると示唆された。

ここまでに述べたソルガムおよびイネ品種の水耕液の種子発芽刺激性および個体のストライガ抵抗性の評価には、全てソルガム由来の(ソルガムに寄生したストライガから採取した)ストライガ種子を用いて行った。抵抗性の安定性に関するさらなる知見を得るた

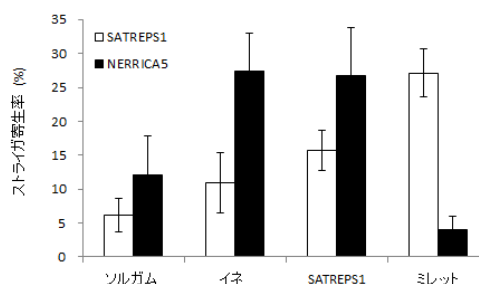


図6 由来の異なるストライガのイネ2品種への寄生率

めに、由来の異なるストライガ種子に対する抵抗性イネ品種の反応も調査した(図6)。ソルガム由来のストライガの SATREPS1 に対する寄生率が 6.2% であるのに対して、感受性イネ品種群由来および SATREPS1 由来のストライガの寄生率はそれぞれ 11.0 および 15.7% に増加した。さらに、ミレット由来のストライガの SATREPS1 に対する寄生率は 27.1% に達した。NERICA5 に対しても、由来の異なるストライガの寄生率は 3.3~27.3% と変動した。したがって、由来が異なるストライガ種子に対して、SATREPS1 と NERICA5 が抵抗性を示さない場合があると考えられた。このことは、抵抗性品種の選抜にあたって様々な生態型のストライガを評価すること、および品種導入の際に圃場の作付履歴を考慮することの重要性を示す。さらに、栽培の継続に伴い抵抗性が崩壊する可能性も示唆している。

## 5. 主な研究論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① Inoue, T., Yamauchi, Y., Amani Aamed Eltyeb, Samejima, H., Abdel Gabar Eltaybe Babiker, Sugimoto, Y.: Photosynthetic capacity and stomatal response of root hemi-parasite *Striga hermonthica* and sorghum under short-term soil water stress, *Biologia Plantarum*, **57** (4), 773-777, 2013.査読有

[学会発表] (計 8 件)

- ① 鮫島啓彰、Abdel Gabar Babiker、杉本幸裕：ストライガの土壤中種子密度および生態型が陸稲品種の抵抗性に及ぼす影響、日本作物学会 (2014.3.29-30、千葉大学)
- ② Samejima, H., Yoshimoto, C., Mustafa, A. L., Babiker, A. G., Sugimoto, Y.: Evaluation of resistance of upland rice varieties to *Striga hermonthica* through laboratory, pot and field experiments. The 3<sup>rd</sup> Pest Management Conference of the Sudan (2014.2.3-4, Wad Medani, Sudan)
- ③ Samejima H., Yoshimoto C., Babiker A. G. T., Sugimoto Y.: Evaluation of resistance of upland rice varieties to *Striga hermonthica*

through laboratory, pot and field experiments, 12<sup>th</sup> World Congress of Parasitic Plants (2013.7.16-19, Sheffield, UK)

- ④ 鮫島啓彰、吉本千壽、Abdel Gabar Babiker、杉本幸裕：ライゾトロン法でストライガ抵抗性を示した陸稲品種の野外試験での評価、日本作物学会 (2013.3.27-29、明治大学)
- ⑤ Samejima, H., Yoshimoto, C., Babiker A. G. T., Sugimoto, Y.: Evaluation of resistance of upland rice varieties to *Striga hermonthica* through laboratory, pot and field experiments, International Seminar on SATREPS Project for Striga Management (2012.9.23, Khartoum, Sudan)
- ⑥ Inoue, T., Yamauchi, Y., Amani, H. E., Samejima, H., Ueno, K., Babiker A. G. T., 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 for *Striga* Management (2012.9.23, Khartoum, Sudan)
- ⑦ Inoue, T., Yamauchi, Y., Amani Aamed Eltyeb, Samejima, H., Abdel Gabar Eltaybe Babiker, Sugimoto, Y.: Gas exchange and stomatal response of root parasitic weed *Striga hermonthica* and sorghum under water stress, The 12<sup>th</sup> Symposium of International Society of Root Research (2012.6.26-29, Dundee, UK)
- ⑧ 井上知恵、山内靖雄、Amani Hamad Eltayeb、鮫島啓彰、上野琴巳、Abdel Gabar Babiker、杉本幸裕：土壌乾燥条件下での根寄生雑草ストライガとソルガムのガス交換と気孔反応、植物化学調節学会第46回大会 (2011.11.1-2、宇都宮大学)

## 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

### (2) 研究分担者

井上 知恵 (INOUE TOMOE)

鳥取大学・乾燥地研究センター・プロジェクト研究員

研究者番号 3 0 4 0 3 3 8 0