

根寄生植物の種子発芽を刺激する物質

杉本 幸裕*

神戸大学農学部

米山 弘一

宇都宮大学野生植物科学研究センター

要 旨: 根寄生植物は多くの穀物やマメ科作物を宿主とし、世界各地で農業に甚大な被害をもたらしている。根寄生植物種子は宿主植物の根から分泌される信号物質を感受してはじめて発芽する。これは宿主から独立しては生きられない根寄生植物が持つ巧妙な生存戦略と考えられている。根寄生植物種子の発芽を刺激する物質について概説するとともに、宿主認識における発芽刺激物質の重要性および発芽刺激物質を用いた根寄生植物の防除の可能性についてまとめた。

キーワード: 発芽刺激物質, オロバンキ, 根寄生植物, ストライガ

Germination stimulants for the seeds of root parasitic plants : Yukihiro SUGIMOTO and Koichi YONEYAMA

Abstract: The seeds of root parasitic plants only germinate in response to specific chemicals (germination stimulants) secreted from host and some non-host roots. For these parasitic plants, which are totally dependent on a specific association with a host that provides them with nutrients and water, this system ensures that germination only occurs when suitable host roots are available in the close vicinity. Root parasitic plants cause devastating effects on their hosts, which in most cases are cereals and legumes, staple food for people in many parts of the world. This mini-review describes the germination stimulants for root parasitic plants, the importance of the stimulants in host recognition, and possible control measures against root parasitic plants using germination stimulants.

Keywords: germination stimulant, *Orobanchae*, root parasitic plant, *Striga*

はじめに

異種の生物が一緒に生活している現象を共生といい、このうち、一方(寄生者)が利益を受け、他方(宿主)が何らかの害を被っている関係を寄生という。植物-植物間において、寄生植物は吸器と呼ばれる特殊な器官を形成して宿主に侵入し、通導組織を連結し、そこを通して養水分を奪って成長する。宿主との連結部位に応じて、茎寄生植物、根寄生植物と呼ぶ。

根寄生植物のストライガとオロバンキは農業生産に甚大な被害を与えている。ストライガはアフリカ、南アジアの熱帯から亜熱帯の半乾燥地域に分布している。ソルガム、トウモロコシ、ミレットを含む主要な穀物を宿主とするため、アフリカでは農業生産を阻害する最大の生物的脅威となっている(写真1)。オロバンキは地中海沿岸、中東地域を中心として温帯から亜寒帯まで広く分布しており、最近では、ヨーロッパ、オーストラリアでも被害が拡大している。

宿主はマメ科植物、トマト、タバコ、ヒマワリ等幅広く、それらの生産の隘路となっている(写真2)。写真からわかるように、オロバンキはクロロフィルを持たない全寄生性である。ストライガは光合成を営む半寄生性であるが、自らの光合成によって獲得できるエネルギーは生存に必要なエネルギーの70%程度であり、



写真1 ソルガムに寄生し赤い花を咲かせるストライガ

2003年5月20日受付

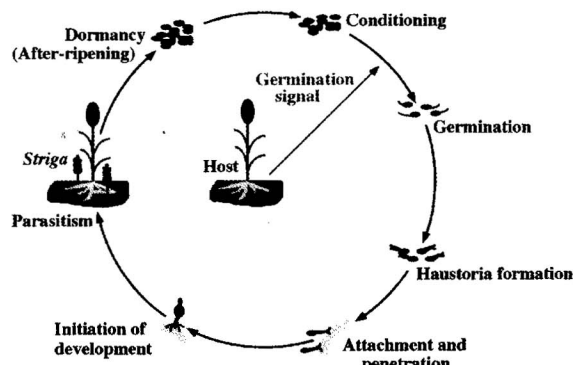
*連絡先 〒657-8501 神戸市灘区六甲台町1 神戸大学農学部生物機能化学科
Fax:078-803-5884 E-mail:yukihiro@kobe-u.ac.jp

オロバンキと同様に宿主から独立しては生存できない。これらの根寄生植物は個体当たり十万粒以上の種子を生産し、種子は土壤中で10年以上生存可能である。種子の長径は0.2-0.4 mmときわめて小さいため、畑にこぼれ落ちたら取り除くことは不可能である。それゆえ、いったん侵入された畑では、長期間にわたり、宿主となる作物を栽培することができなくなる。



写真2 アカクローバーに寄生しているオロバンキ

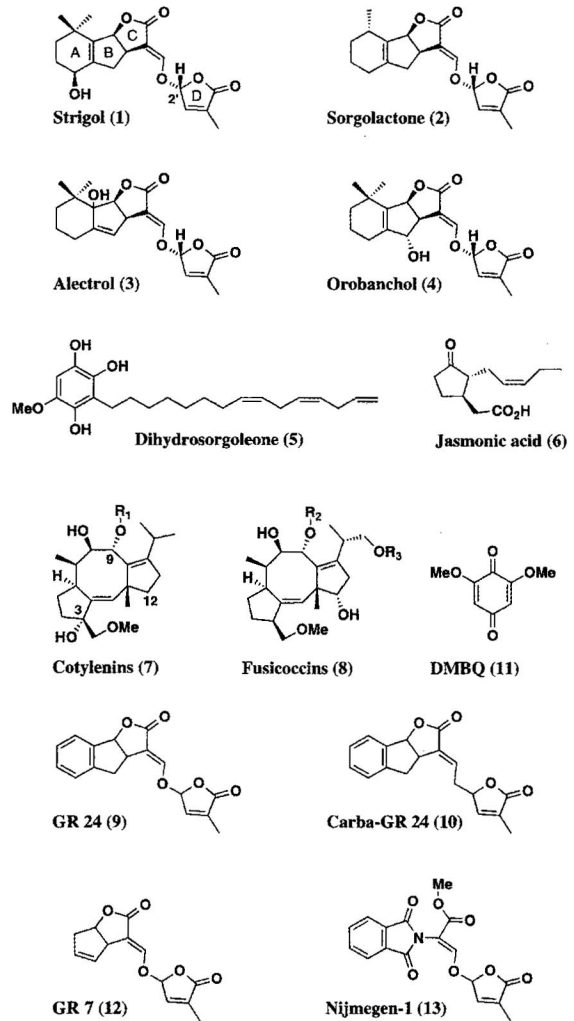
根寄生植物は寄生を確立した後で宿主に養水分を依存するだけではなく、生活環(第1図)の初期の段階において、すでに宿主と密接に関係している。すなわち、種子は適当な温湿度条件下で休眠から醒めた後、宿主(および一部の非宿主)植物の根から分泌される信号物質を受感して発芽する。これは宿主から独立しては生きられない根寄生植物が持つ、宿主の存在を確認してから発芽するという、巧妙な生存戦略と考えられている。防除の観点からはこの特性を利用して、宿主となる植物を播種する前の畑に発芽を刺激する物質を散布し土壤中の根寄生植物種子を強制的に発芽させて枯死させる、いわゆる自殺発芽の誘導というアイデアが提唱されている。



第1図 根寄生植物の生活環

このように根寄生植物の発芽応答はきわめて特徴的であり、かつ、発芽の制御が防除の有力

な方策と考えられるため、発芽を刺激する物質には天然物化学者、植物生理学者、生態学者等をはじめとして多くの研究者が関心を寄せ、その構造、作用機作等について精力的に研究を行っている。本稿では、根寄生植物の発芽を刺激する物質ならびに関連する話題について、我々の最新の知見をまじえながらまとめてみた。化合物の構造は第2図を参照されたい。



第2図 根寄生植物の種子発芽および吸器形成を誘導する物質

発芽刺激物質

オロバンキについては、宿主植物の根の近傍に存在する種子のみが発芽することが19世紀前半に見出されており、ストライガについても種子の発芽が宿主植物の根滲出液によって誘導されることが20世紀前半に報告されている。しかし、発芽刺激物質が単離され、構造が明らかにされたのは20世紀後半になってからである。ワタは宿主植物ではないが、古くから

ワタの根滲出液がストライガの発芽を刺激すること、および、ワタを混植するとストライガによる宿主作物の被害が軽減されることが経験的に知られていた。このような背景があるため、非宿主植物でありながらワタの根滲出液を材料として発芽刺激活性を有する物質が探索され、活性本体としてストリゴール (strigol, 1) が単離された (Cook et al., 1966)。しかし、宿主植物由来でないことから、宿主植物が生産する発芽刺激物質もストリゴール様の物質であるかどうかは疑問視されていた。1990年代になって、ストリゴールと類似の構造を有するソルゴラクトン (sorgolactone, 2) とアレクトロール (alectrol, 3) がそれぞれストライガの宿主植物であるソルガム (Hauck et al., 1992) とササゲ (Müller et al., 1992) の根滲出液から相次いで単離され、ストリゴールを含めてストリゴラクトンと総称される物質が、自然界で根寄生植物の宿主認識に関わる発芽刺激物質であることが認知された。ストリゴラクトンはストライガのみならずオロバンキの発芽をも誘導することから、オロバンキの発芽にも関わっていると推測されていた。このことはオロバンキの宿主であるアカクローバーの根滲出液から第4の天然ストリゴラクトンとしてオロバンコール (orobanchol, 4) が単離されたことで実証された (Yokota et al., 1998)。ストリゴラクトンはストライガおよびオロバンキの発芽を 10^{-10} – 10^{-7} M程度で誘導する。このため精製過程において生物検定による検出は容易である。しかし、含水溶媒系での安定性が乏しいため、クロマトグラフィーに用いる溶出溶媒の選択には十分気をつけなくてはならない。信号物質として機能するためには不安定であることは重要な性質であるが、結果として単離される量が僅少であったため構造の確定は困難をきわめた。幸いストリゴールは結晶として得られたため、X線結晶解析によって構造が決定され (Cook et al., 1972)、合成により確認された。ソルゴラクトン、アレクトロール、オロバンコールについては、ストリゴールとの各種スペクトルの比較に基づき推定構造が提出され、ソルゴラクトンとオロバンコールの構造は最終的に合成によって確定した。アレクトロールの推定構造に基づき合成された一連の化合物はいずれも天然物とは一致せず、現在もアレクトロールの構造は不明なままである。

ストリゴラクトンの他にも、ソルガムの根滲出液に含まれるジヒドロソルゴレオン (dihydrosorgoleone, 5) (Chang et al., 1986)、

植物ホルモンあるいはシグナル伝達物質として重要なジャスモン酸 (jasmonic acid, 6) (Yoneyama et al., 1998a)、微生物代謝産物のコチレニン (cotylenin, 7)、フシコクシン (fusicoccin, 8) (Yoneyama et al., 1986b) 等、様々な天然物が根寄生植物種子の発芽を誘導することが報告されているが、いずれも活性はストリゴラクトンの数千～数万分の一程度である。また、エチレングス (Eplee, 1975) およびエチレン生成を促す物質がストライガの発芽を誘導するが、オロバンキの発芽に対するエチレンの関与はよくわかっておらず、ある種のオロバンキの発芽に対してエチレンが阻害的に作用するとの報告もある。

ストリゴールの発見以来、膨大な数の類縁体が合成され、ストライガおよびオロバンキ種子に対する発芽刺激活性が評価されてきた。その結果、ストリゴラクトンの活性の発現にはC環、D環およびそれらを結ぶエノールエーテルが必須であり、B環およびA環を備えることで活性は上昇する。また、D環の2'位の立体配置が活性の発現に重要であることが明らかにされた (Sugimoto et al., 1998)。合成ストリゴラクトンで最も高い活性を有するのはGR 24 (9) であり、オランダナイメヘン大学のZwanenburg教授のグループが合成し分譲に応じているので、多くの根寄生植物研究者によって標準発芽刺激物質として使われている。なお、ストリゴラクトンの構造の中で最も不安定な部分であるエノールエーテルの酸素原子をメチレン基で置換したcarba-GR 24 (10) は全く活性を示さなかった。さらに、この物質がGR 24の活性を阻害しなかったことから、エノールエーテル部分の酸素原子がストリゴラクトン受容体への結合に必須であると考えられている (Thuring et al., 1997)。

根寄生植物の宿主認識

発芽刺激物質の構造がまだ判明していなかった時代に、興味深い実験結果が報告されている (Dale and Egle, 1971)。それによると、さまざまな湖沼や河川の水および身近な植物の茎切片の滲出液のそれぞれ70%以上に、ストライガの発芽を刺激する活性が認められている。このことは、発芽刺激物質が自然界のいたるところに存在していることを示唆しているが、前述のように、根寄生植物が発芽刺激物質を介して宿主の存在を認識しているという生存戦略の「もつともらしさ」のために、前述のワタを除

けば非宿主植物が生産する発芽刺激物質が研究対象となることはほとんどなかった。筆者らが根寄生植物に興味を持ったきっかけのひとつは、種子の発芽応答の特異性であったが、実験を重ねるにつれて、発芽刺激物質を介した宿主認識の厳密さに疑問を感じるようになってきた。

発芽刺激物質が宿主に特異的な代謝産物ではないという考え方は、少なくとも数年前までは支持されなかった。しかし、筆者らは最近ワタ以外にも非宿主植物がストリゴラクトンを生産していることを明らかにした。保有する一連の植物培養組織、培養細胞について調べたところ、2種の非宿主植物、コウモリカズラとタマサキツツラフジの根の培養液に顕著な発芽刺激活性を認めた。精製の結果、両培養根ともに各種クロマトグラフィーで同一の挙動を示す活性成分を生産しており、量が多いコウモリカズラ由来の成分をストリゴールと同定した(Yasuda et al., 2003)。従来、非宿主植物のワタがストリゴールを生産することが例外的と考えられてきたが、コウモリカズラとタマサキツツラフジもストリゴールを生産していることが判明したことから、ストリゴラクトンは当初考えられていたほど宿主に特異的な物質ではなく、植物に広く分布している二次代謝産物と確信するにいたった。なお、天然のストリゴラクトンはいずれも植物の水耕液から単離されており、水耕液は無菌に保たれているわけではないので、真に植物の代謝産物であるかどうか疑問視する声もあった。しかし、無菌の培養系から再単離されたため、この問題に終止符が打たれた。ストリゴラクトンの幅広い分布はLC/MS/MSを用いたストリゴラクトンの迅速微量分析法の開発によって容易に検証されるようになった。この方法によれば数ピコグラムの既知のストリゴラクトンを同定できる。これにより、さらにいくつかの非宿主植物の根浸出液中にストリゴラクトンが確認されたことに加えて、新規な発芽刺激物質の存在も示された(Sato et al., 2003)。

前述の報告(Dale and Egle, 1971)において水サンプルや茎浸出液に含まれる活性成分は同定されていないが、活性の強弱を問わなければ自然界に発芽刺激活性を有する物質は広く存在している。この点で、根寄生植物の宿主認識における発芽刺激物質の役割は従来、過大に評価されてきたかもしれない。言い換えれば、根寄生植物の種子の近傍には宿主植物以外にも、非宿主植物あるいは植物以外に由来する発芽刺激活性を有する物質が存在する可能性があり、また、種子の生産力の高さからストライガでは1

平方メートル当たり2-3個体が発生し結実するだけで土壤中のシードバンクは維持されると推定されているので、土壤中で自殺発芽はある程度の頻度で起こっていても不思議ではない。

では、根寄生植物は生活環のどの段階で宿主、非宿主を認識しているのだろうか。発芽に続いて吸器形成にも化学シグナルが関与しており、その本体はストライガではDMBQ(2,6-dimethoxy-p-benzoquinone, 11)と考えられている。発芽したストライガの種子をこの物質で処理すると10時間以内に吸器が形成される。しかし、DMBQは植物細胞壁のリグニンの分解物としてありふれた物質であり、根寄生植物の幼根が分泌する分解酵素によって宿主の根の表皮組織が分解され生成すると考えられている。このことに加えて、非宿主植物の細胞や根の培養液に広く吸器誘導活性が認められたことから(Sugimoto et al., 2001)、吸器形成段階において宿主が認識されているとは考えにくい。一方、予備的な実験結果であるが、オロバンキの宿主となる、あるマメ科植物の根にストライガを接種したところ、2, 3日で接点において顕著な組織の褐変が認められた。マメ科植物とストライガの間で通導組織は連結されず、ストライガの幼植物は間もなく枯死した。それに対して、オロバンキを接種した場合には接点が膨らみ、やがてそこから不定根と茎葉が分化してくる。寄生の成立しない組み合わせにおいて、寄生を受ける側の根と寄生する側の根端のどちらかで褐変が起こっているのか光学顕微鏡による観察だけでは判然としないが、前者が後者を異物もしくは外敵と認識して過敏反応や防御反応を起こしていると考えられる。接触してから寄生が確立するまでの過程における宿主と寄生植物との相互作用は今後の興味深い研究課題である。

発芽刺激物質を用いた 根寄生植物防除の可能性

根寄生植物の種子は先述のように小さく、貯蔵栄養分も少ないため、いったん発芽すると宿主の根に寄生できない場合には数日間で枯死する。そこで、宿主となる植物が存在しない畑で発芽を誘導すれば、根寄生植物の埋土種子を自殺に追い込むことができる。自殺発芽の誘導には、土壤中で安定で活性の高い刺激物質が必要である。また、根寄生植物が問題になっている地域が発展途上国に多いことを考えれば、安価に供給できることが望まれる。自殺発芽誘導の唯一

の実施例はエチレンガスを用いた土壌薫蒸である。これは米国におけるストライガの駆除には大いに貢献したが、オロバンキのみならずストライガの中にもエチレンガスによって発芽が誘導されにくい種があることに加えて、特殊な薫蒸装置の入手が困難なことやエチレンガスが高価である等の問題があり、他の地域では実施されていない。エチレンの利用に関わるこれらの問題を克服する試みとして、エチレンを放出する微生物を利用したストライガの生物学的防除も検討されている。

一方、ストリゴラクトンを用いればほとんどのストライガとオロバンキの種子発芽を誘導できると考えられるが、製造コストの問題に加えて化学的な不安定さのため、自殺発芽を誘導する薬剤としての実用化は容易ではない。合成ストリゴラクトン GR 24 および GR 7 (12) は高温下、アルカリ性土壌中で急速に分解したため、特にストライガが猛威を振るっているアフリカ諸国での応用は困難と考えられてきた (Babiker et al., 1987, 1988)。しかし、近年、活性は若干劣るものの簡便に合成できる Nijmegen-1 (13) が開発され、これを乳化した製剤がオロバンキに侵されたタバコ畑に試験的に散布された。その結果、Nijmegen-1 製剤によりタバコへのオロバンキの寄生が有意に抑えられ、ある試験区では土壌表層の埋土種子量が 75% も減少する等、顕著な効果が認められた (Mwakaboko, 2003)。現在、大規模な圃場試験の実施が計画されており (Zwanenburg, 私信)、今後の進展が期待される。

発芽刺激物質を生産分泌するが宿主とはならない植物を栽培することにより自殺発芽を誘導することも可能である。この方法をトラップクローピングと呼ぶ。スーダンでワタはトラップクロープとして利用されており、輪作の重要な作物として組み入れられている。しかし、根寄生植物が問題となっている様々な地域でそれぞれの栽培環境に適合し、かつ経済性も備えているトラップクロープが見出されているわけではない。ストライガは痩せた土壌でより問題になるので、そのような栽培環境に導入できるトラップクロープの選抜が望まれる。この観点から、西アフリカ地域で栽培されている作物について発芽刺激物質生産性が調べられている (Bernier and Williams, 1998)。

自殺発芽誘導とは全く逆の防除法も考えられている。根寄生植物の発芽が刺激物質によって誘導されるということは、宿主がそれを生産分泌しなければ根寄生植物による被害が軽減され

ると期待できる。ストライガの種子を包埋した寒天上に一本の根を置き発芽を誘導できる距離を測定するという生物検定に基づいて、発芽刺激物質低生産ソルガムが選抜された (Hess et al., 1992)。この品種はストライガに汚染された畑で、在来種に比べて有意に寄生を免れたが、穂が小さいためにストライガの汚染が軽微な畑における生産性が在来種に比べて低く農民に受け入れられなかった。ストリゴラクトンがそれを生産する植物にとってどういう機能を担っているか全くわかっていない現状では、ストリゴラクトン生産能が低いことと穂が小さいことを、この一例を以て関連付けるのは早計であろう。現在の技術をもってすれば、ストリゴラクトンの生合成に関わる重要な酵素またはその遺伝子を単離し、宿主植物のストリゴラクトン生産能を制御することは可能である。ストリゴラクトンは構造からセスキテルペンと考えられているが、実験的裏付けは全く得られていない。ストリゴラクトン生合成経路の解明ならびにそれに関わる遺伝子の探索に、ストリゴールを生産するコウモリカズラ培養根は有用であると期待される。

おわりに

発芽刺激物質の探索に始まった根寄生植物の生活環の制御に関する筆者らの取り組みは、宿主と寄生植物との相互作用ならびにストリゴラクトン生合成経路の解明に向かおうとしている。吸器の侵入から寄生の確立に至るまで詳細に電子顕微鏡で観察されているが (Dörr, 1997)、生化学レベルでの知見は全くと言っていいほど得られていない。また、ストリゴラクトン生合成に関する報告もない。本稿が根寄生植物に関する諸兄の関心を喚起し有益なご助言を賜るきっかけになれば幸甚である。

引用文献

- Babiker, A. G. T., Hamdoun, A. M., Rudwan, A., Mansi, N. G., Faki, H. H. 1987. Influence of soil moisture on activity and persistence of the strigol analogue GR24. *Weed Research* 27: 173-178.
- Babiker, A. G. T., Ibrahim, N. E., Edwards, W. G. 1988. Persistence of GR7 and *Striga* germination stimulant(s) from *Euphorbia aegyptiaca* Boiss. in soils and in solutions. *Weed Research* 28: 1-6.
- Berner, D. K., Williams, O. 1998. Germination stimulation of *Striga gesnerioides* seeds by hosts and non-

- hosts. *Plant Disease* 82: 1242-1247.
- Chang, M., Netzly, D. H., Butler, L. G., Lynn, D. G. 1986. Chemical regulation of distance: characterization of the first natural host germination stimulant for *Striga asiatica*. *Journal of the American Chemical Society* 108: 7858-7860.
- Cook, C. E., Whichard, L. P., Turner, B., Wall, M. E., Egley, G. H. 1966. Germination of witchweed (*Striga lutea* Lour.): isolation and properties of a potent stimulant. *Science* 154: 1189-1190.
- Cook, C. E., Whichard, L. P., Wall, M. E., Egley, G. H., Coggon, P., Luhan, P. A., McPhail, A. T. 1972. Germination stimulants. II. The structure of strigol - a potent seed germination stimulant for witchweed (*Striga lutea* Lour.). *Journal of the American Chemical Society* 94: 6198-6199.
- Dale, J. E., Egley, G. H. 1971. Stimulation of witchweed germination by run-off water and plant tissues. *Weed Science* 19: 678-681.
- Dörr, I. 1997. How *Striga* parasitizes its host: a TEM and SEM study. *Annals of Botany* 79: 463-472.
- Eplee, R. E. 1975. Ethylene: a witchweed seed germination stimulant. *Weed Science* 23: 433-436.
- Hauck, C., Müller, S., Schildknecht, H. 1992. A germination stimulant for parasitic flowering plants from *Sorghum bicolor*, a genuine host plant. *Journal of Plant Physiology* 139: 474-478.
- Hess, D. E., Ejeta, G., Butler, L. G. 1992. Selecting sorghum genotypes expressing a quantitative biosynthetic trait that confers resistance to *Striga*. *Phytochemistry* 31: 493-497.
- Müller, S., Hauck, C., Schildknecht, H. 1992. Germination stimulants produced by *Vigna unguiculata* Walp cv Saunders Upright. *Journal of Plant Growth Regulation* 11: 77-84.
- Mwakaboko, A. S. 2003. Synthesis and biological evaluation of new strigolactone analogues as germination stimulants for the seeds of the parasitic weeds *Striga* and *Orobanche* spp. PhD thesis, Nijmegen University.
- Sato, D., Awad, A. A., Chae, S. H., Yokota, T., Sugimoto, Y., Takeuchi, Y., Yoneyama, K. 2003. Analysis of strigolactones, germination stimulants for *Striga* and *Orobanche*, by high-performance liquid chromatography/ tandem mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 1162-1168.
- Sugimoto, Y., Wigchert, S. C. M., Thuring, J. W. J. F., Zwanenburg, B. 1998. Synthesis of all eight stereoisomers of the germination stimulant sorgolactone. *The Journal of Organic Chemistry* 63: 1259-1267.
- Sugimoto, Y., Miyamoto, M., Inanaga, S., Ahmed, N. E. 2001. Non-host plant tissue cultures produce haustorial inducing substance for root parasitic weed *Striga hermonthica*. *Recent Research Development of Phytochemistry* 5: 1-10.
- Thuring, J. W. J. F., Nefkens, G. H. L., Zwanenburg, B. 1997. Synthesis and biological evaluation of the strigol analogue carba-GR24. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 1409-1414.
- Yasuda, N., Sugimoto, Y., Kato, M., Inanaga, S., Yoneyama, K. 2003. (+)-Strigol, a witchweed seed germination stimulant, from *Menispermum dauricum* root culture. *Phytochemistry* 62: 1115-1119.
- Yokota, T., Sakai, H., Yoneyama, K., Takeuchi, Y. 1998. Alectrol and orobanchol, germination stimulants for *Orobanche minor*, from its host red clover. *Phytochemistry* 49: 1967-1973.
- Yoneyama, K., Ogasawara, M., Takeuchi, Y., Konnai, M., Sugimoto, Y., Seto, H., Yoshida, S. 1998a. Effect of jasmonates and related compounds on seed germination of *Orobanche minor* Smith and *Striga hermonthica* (Del.) Benth. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 62: 1448-1450.
- Yoneyama, K., Takeuchi, Y., Ogasawara, M., Konnai, M., Sugimoto, Y., Sassa, T. 1998b. Cotylenins and fusicoccins stimulate seed germination of *Striga hermonthica* (Del.) Benth and *Orobanche minor* Smith. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 1583-1586.