P23

Trichothecene 類のヤセウツボ (*Orobancha minor*) 種子発芽阻害活性

○山本枝摩、佐藤大祐、米山弘一、竹内安智
(宇都宮大学 野生植物科学研究センター)

【目的】

寄生雑草は、宿主作物から養水分を奪い、生育阻害・子実収量の低下を引き起こす。寄生雑草 *Orobancha* 類・*Striga* 類は多量の種子を生産し、その種子は長期間土壤中中で休眠するため一旦はびこると防除しにくい。現在までに寄生雑草の生態生理や昆虫・糸状菌を用いた生物防除法などが研究されてきたが、効果的な防除法は確立されていない。

我々はヤセウツボ (*Orobancha minor* Smith) 種子発芽試験の際に、強力な発芽阻害作用を示す糸状菌 (Y-2) を見出し、その糸状菌の培養濾液から 2 種の trichothecene 類 (4,15-diacetoxyscirpenol、4,15-diacetylnivalenol) を単離した。

Zonno らは trichothecene 類の寄生雑草 *Striga hermonthica*、*Orobancha ramosa* にたいする発芽阻害活性評価を行っているが、作用機構、寄生雑草・宿主間の感受性差異については検討していない。これらの trichothecene 類が寄生雑草の種子発芽を特異的に阻害するのであれば、寄生雑草種子の発芽メカニズムの解明及び防除などに利用できると考えられる。

そこで本研究ではヤセウツボを含む数種植物種子を用いて trichothecene 類の発芽阻害活性を評価した。

【材料及び方法】

1) 種子発芽阻害活性の評価

ヤセウツボ (*O. minor*)、レタス (*Lactuca sativa* cv. Greatlakes)、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana* cv. Columbia) 種子について、4,15-diacetoxyscirpenol (DAS) 及び 4,15-diacetylnivalenol (DAN) の発芽阻害活性を double disk 法により検定した。DAS 及び DAN の濃度はそれぞれ $1.26 \times 10^{-6} \sim 1.26 \times 10^{-12}$ M、 $1.36 \times 10^{-6} \sim 1.36 \times 10^{-12}$ M とした。ヤセウツボについてはコンディショニング (23°C、暗黒下で 4 日間培養) した後の種子を用いた。

Double disk 法による発芽検定

Trichothecene 類の MeOH 溶液を染み込ませ乾燥させたペーパーディスク (φ6 mm) の上に、種子の乗ったペーパーディスクを重ね、滅菌水 15 µl を染み込ませた。23°C、暗黒下で 4 日間培養後、顕微鏡下で発芽率を調べた。ヤセウツボについては発芽刺激物質として strigol 10^{-9} M 共存下での発芽率を調べた。

2) 種子生存率の調査 (TTC 検定)

発芽検定後の種子について種皮の脱色 (5%次亜塩素酸ナトリウム、10 分間超音波処理) を行った。6 日間 1% TTC (2,3,5-triphenyl-2H-tetrazolium) 水溶液に浸漬した後、染色された種子数から生存率を調べた。

【結果及び考察】

O. minor 種子の発芽を DAS は 1.26×10^{-8} M で 80%以上、 1.26×10^{-7} M では完全に阻害した。DAN Yamamoto, S., D. Sato, K. Yoneyama, Y. Takeuchi : Inhibitory activity of trichothecenes on seed germination of *O. minor*

の活性は DAS に比較すると低い、 1.36×10^{-6} M で完全に阻害した。今まで *Orobanch* 類にたいする DAN の活性検討はなされていない。Zonno らは、nivalenol, deoxynivalenol, T-2 toxin, HT-2 toxin、neosolaniol、DAS は *O. ramosa* の種子発芽を 10^{-7} M で 90%以上、 10^{-5} M で完全に阻害することを報告している。すなわち *O. minor* と *O. ramosa* の trichothecene 類にたいする感受性はほぼ同程度であり、trichothecene 類は *Orobanch* 類の種子発芽を強力に阻害することが明らかになった。

1.36×10^{-6} M DAN 処理後の種子について TTC 検定により生存率を調査したところ、発芽が完全に阻害された種子も染色され、生存していることがわかった。すなわち、DAN の発芽阻害活性は細胞毒性による殺種子効果ではなく、発芽過程における生合成あるいはシグナル伝達の阻害に基づくものと考えられた。

レタス、シロイヌナズナにたいする発芽阻害活性などについては大会で発表する。

Fig. 1 Structures of trichothecenes

Fig. 2 Bioassay for inhibition of *O. minor* seed germination

Fig. 3 Inhibitory activity of trichothecenes on *O. minor* seed germination