OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Searching for potential targets in selective control of root parasitic weeds in Orobanchaceae
Author(s)	若林, 孝俊
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/53963
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　若林　孝俊　）	
論文題名	Searching for potential targets in selective control of root parasitic weeds in Orobanchaceae （ハマウツボ科根寄生雑草選択的防除のための防除標的の探索）

論文内容の要旨

根寄生雑草は他の植物の根へ寄生することで養分･水分を吸収し成長する植物である. ハマウツボ科 (Orobanchaceae) の根寄生雑草であるオロバンキ (*Orobanche* spp.) とストライガ (*Striga* spp.) は，アフリカを中心とした世界の乾燥～半乾燥地域における農業へ甚大な被害を及ぼしているが，効果的な防除法は未だ確立されていない．近年，ヤセウツボ (*Orobanche minor*) 種子の発芽過程におけるメタボロミクスが行われ, ヤセウツボの発芽時に種子中の構造未知の三糖が減少することが見出された. さらに, 糖質加水分解酵素の阻害剤であるノジリマイシン亜硫酸付加物 (NJ) により，ヤセウツボの発芽が選択的に抑制されることが明らかとなった．このことから，構造未知の三糖はヤセウツボの発芽に重要であり，NJ が当該三糖代謝に影響を及ぼし発芽を阻害している可能性が考えられた.

そこで本論文では，三糖代謝経路が根寄生雑草の選択的発芽阻害のための新規防除標的となると考え，構造未知三糖の発芽における役割を解明し，NJ が及ぼす発芽阻害と三糖代謝への影響の関係性を評価することを目的とした (第二章，第三章). さらに，ヤセウツボ種子のトランスクリプトーム解析を通じた，三糖代謝経路以外の新たな防除標的の探索を試みた (第四章).

第一章では緒論として，根寄生雑草による被害，根寄生雑草の生活環，これまでに提案された防除戦略および過去の研究から明らかとなったヤセウツボ発芽時の三糖代謝経路の存在と NJ の阻害効果について紹介し，本研究を着想するに至った経緯を記述した.

第二章では，三糖の構造決定を実施し，さらに，ヤセウツボ発芽時の三糖代謝を明らかにすることを目的とした種子中の糖の定量分析を実施した．本著者は三糖をプランテオース (α-d-galactopyranosyl-(1→6)-α-d-glucopyranosyl-(1→2)-β-d-fructofuranoside) と同定し，プランテオースがヤセウツボ発芽時に速やかに分解され，発芽の進行に伴ってその構成単糖であるグルコースおよびフルクトースが蓄積することを見出した．さらにプランテオースは *S. hermonthica* などの他のハマウツボ科根寄生雑草種子中にも含まれており，プランテオースがこれらの根寄生雑草種子に幅広く存在していると示唆された.

第三章では，NJ によるヤセウツボの発芽阻害効果と発芽時のプランテオース代謝への影響を精査した．NJ を処理した種子中ではスクロースの異常な高蓄積が確認され，NJ は発芽時のスクロース分解を阻害していることを明らかにした．また，NJ による発芽阻害はグルコースの外部投与によって回復したことから，NJ はプランテオース代謝経路中のスクロース分解を阻害し，発芽に必須なグルコースの供給を遮断することで発芽を阻害していると考えられた．さらにこのスクロースの蓄積は，スクロースの分解酵素の一つであるインベルターゼ活性の低下が原因であることが強く示唆された．さらに，ヤセウツボと近縁種である *S. hermontica*，および種子中にプランテオースを含むことが知られている非寄生性の植物について，NJ が及ぼす発芽への影響を調査した．NJ はヤセウツボの発芽のみを阻害したが，他の植物においても根の伸長の抑制作用を示した．この NJ の阻害効果はヤセウツボと近縁の植物でより強く現れた．NJ の効果の植物種間での違いから， NJ の阻害作用点は寄生性獲得の進化の過程に関連して確立された生理学的機能に存在すると考えられた．本章では，NJ がプランテオース代謝経路を阻害し，選択的にヤセウツボの発芽阻害したことから，プランテオース代謝経路が新たな防除標的として有効であることを示した.

第四章では，*de novo* RNA-Seq を用いたトランスクリプトーム解析よる，新たな防除標的の探索を実施した．NJ 処理したヤセウツボ種子では，糖輸送体，多糖の分解や合成に関わるタンパク質をコードする遺伝子の発現が下方制御されていた．またキナーゼをコードする遺伝子の発現が発芽刺激処理後，短時間で下方制御されており，これは発芽を制御するシグナル経路に関わると考えられた．これらの NJ 処理により変動する遺伝子はヤセウツボの発芽において重要な役割を果たしていると考えられ，根寄生雑草の発芽制御のための新たな防除標的として期待された.

以上，本著者はヤセウツボ発芽時のプランテオース代謝の重要性を示し，NJ が本代謝経路を阻害することで発芽を抑制することを明らかにするとともに，本代謝経路の新規防除標的としての有用性を示した．第五章では結論として第二章から第四章までを総括するとともに，根寄生雑草選択的防除の今後の展望について記述した.

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名	（若林　孝俊）

論文審査担当者	（職）	氏　名
主査	教　授	村中　俊哉
副査	教　授	福﨑　英一郎
副査	教　授	藤山　和仁
副査	教　授	紀ノ岡　正博
副査	教　授	大竹　久夫
副査	教　授	原島　俊
副査	教　授	渡邉　肇
副査	教　授	福井　希一
副査	教　授	金谷　茂則
副査	教　授	仁平　卓也
副査	教　授	永井　健治
副査	准教授	岡澤　敦司（大阪府立大学）

論文審査の結果の要旨

根寄生雑草は他の植物の根へ寄生することで養分・水分を吸収し成長する植物である。ハマウツボ科の根寄生雑草であるオロバンキ (*Orobanche* spp.) とストライガ (*Striga* spp.) は、アフリカを中心とした世界の乾燥～半乾燥地域における農業へ甚大な被害を及ぼしているが、効果的な防除法は未だ確立されていない。学位申請者の論文対象研究以前に、ヤセウツボ (*Orobanche minor*) 種子の発芽過程におけるメタボロミクスが行われ、ヤセウツボの発芽時に種子中の構造未知の三糖が減少することが見出された。さらに、糖質加水分解酵素の阻害剤であるノジリマイシン亜硫酸付加物 (NJ) により、ヤセウツボの発芽が選択的に抑制されることが明らかとなっていた。本論文で学位申請者は、構造未知の三糖はヤセウツボの発芽に重要であり、NJ が当該三糖代謝に影響を及ぼし発芽を阻害しているのではないかとの仮説のもと、三糖代謝経路が根寄生雑草の選択的発芽阻害のための新規防除標的となると考え、構造未知三糖の発芽における重要性とともに NJ が及ぼす発芽阻害と三糖代謝への影響を明らかにしている。

第一章では緒論として、根寄生雑草による被害、根寄生雑草の生活環、これまでに提案された防除戦略および過去の研究から明らかとなったヤセウツボ発芽時の三糖代謝経路の存在と NJ の阻害効果について紹介し、本研究を着想するに至った経緯を記述している。

第二章では、構造未知であった三糖の構造決定を実施し、プランテオース (α-d-galactopyranosyl-(1→6)-α-d-glucopyranosyl-(1→2)-β-d-fructofuranoside) と同定した。さらに、ヤセウツボ発芽時の三糖代謝を明らかにすることを目的とした種子中の糖の定量分析により、プランテオースがヤセウツボ発芽時に速やかに分解され、発芽の進行に伴ってその構成単糖であるグルコースおよびフルクトースが蓄積することを見出した。また、プランテオースは *S. hermonthica* などの他のハマウツボ科根寄生雑草種子中にも含まれることを明らかにし、プランテオースがこれらの根寄生雑草種子に幅広く存在していることが示唆された。

第三章では、NJ によるヤセウツボの発芽阻害効果と発芽時のプランテオース代謝への影響を精査している。NJ を処理した種子中ではスクロースの異常な高蓄積が確認され、NJ は発芽時のスクロース分解を阻害していることを明らかにしている。また、NJ による発芽阻害はグルコースの外部投与によって回復したことから、NJ はプランテオース代謝経路中のスクロース分解を阻害し、発芽に必須なグルコースの供給を遮断することで発芽を阻害していると予測した。さらにこのスクロースの蓄積は、スクロースの分解酵素の一つであるインベルターゼ活性の低下が原因であることを強く示唆する結果が得られた。また、ヤセウツボと近縁種である *S. hermontica*, および種子中にプランテオースを含むことが知られている非寄生性の植物について、NJ が及ぼす発芽への影響を調査した。NJ は

ヤセウツボの発芽のみを阻害したが、他の植物においても根の伸長の抑制作用を示しており、この NJ の阻害効果はヤセウツボと近縁の植物でより強く現れるという結果を得た。NJ の効果の植物種間での違いから、NJ の阻害作用点は寄生性獲得の進化の過程に関連して確立された生理学的機能に存在すると考察した。本章では、NJ がプランテオース代謝経路を阻害し、選択的にヤセウツボの発芽阻害したことから、プランテオース代謝経路が新たな防除標的として有効であることを示した。

第四章では、*de novo* RNA-Seq を用いたトランスクリプトーム解析より、新たな防除標的を探索した。NJ 処理したヤセウツボ種子では、糖輸送体、多糖の分解ならびに合成に関わるタンパク質をコードする遺伝子の発現が下方制御されるという結果が得られた。またキナーゼをコードする遺伝子の発現が発芽刺激処理後、短時間で下方制御されており、これは発芽を制御するシグナル経路に関わることが予測された。これらの NJ 処理により変動する遺伝子はヤセウツボの発芽において重要な役割を果たしていると考えられ、根寄生雑草の発芽制御のための新たな防除標的として期待される。

第五章では結論として第二章から第四章までを総括するとともに、根寄生雑草選択的防除の今後の展望について記述された。

以上のように、本論文からヤセウツボ発芽時のプランテオース代謝の重要性および、NJ が本代謝経路を阻害することで発芽を抑制するという重要な知見が得られた。また、本論文ではプランテオース代謝経路の新規防除標的としての有用性が示されており、この知見は根寄生雑草の選択的防除法の確立に貢献すると期待される。

よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。