

活性物質スクリーニングのターゲットとしての雑草の可能性

静岡県農林技術研究所 農村植生管理プロジェクト 稲垣栄洋

1. はじめに

「キノコからの植物の病害抵抗性誘導物質の探索」。これが私の研究チームに与えられた課題である。ところが、この研究の中から「雑草の抽出液のキュウリ炭そ病菌に対する抑制効果」を評価することができた。本稿ではその成果である。Weed Biology and Management 誌に掲載された論文「Inagaki et al., 2008. Screening of weed extracts for antifungal properties against *Colletotrichum lagenarium*, the causal agent of anthracnose in cucumber. Weed Biol. Manag. 8:276-283」の内容を紹介したい。

それにしても、どうしてキノコではなく雑草であり、病害抵抗性誘導物質ではなく炭そ病菌の抑制効果だったのだろう。

「植物が分類できるなら、キノコだけでなく植物を対象にしてもいいぞ」というのが私の上司の提案だった。キノコは植物に寄生したり、共生したりすることから、植物に影響する物質を産出する可能性は推察されていた。これに対し、植物の有する物質が、他種の植物の病害抵抗性誘導に関わる生態学的な意味はない。しかし、実際にはハウレンソウやルバーブなどシュウ酸を含む植物の抽出液が病害抵抗性を誘導することが報告されており (Doubrava et al. 1988; Daayf et al. 1997; Toal and Jones 1999)、植

物がもつ物質の中に病害抵抗性を誘導する物質が見つかる可能性はゼロではない。

また、病害抵抗性誘導と抗菌活性とは、植物病原菌を防ぐという点で共通した現象として観察されることから、病害抵抗性誘導物質のスクリーニングの過程では、ある程度、抗菌活性も評価することができる。そこでキノコの研究の合間に研究所内に見られる雑草種203種を対象として、スクリーニングを進めたのである。

2. 研究の目的と方法

研究の第1の目的は、病害抵抗性誘導物質を探索することにある。病害抵抗性誘導物質とは、病原菌を殺菌するのではなく、植物自身の病原菌に対する防御応答を早めたり、高めたりする物質である。病原菌に直接的に作用するわけではないので、薬剤耐性菌の出現が問題となることはなく、また低毒性であることが期待される (Hunt et al. 1996; Ryals et al. 1996; Sticher et al. 1997; Vallad and Goodman 2004)。実際にこれまで殺菌作用と思われていた薬剤のいくつかは、植物の病害抵抗性誘導に作用していたことが明らかとなり、病害抵抗性誘導農薬も数剤が開発されている。この抵抗性誘導農薬のリード化合物となる物質をキノコなどの天然物から探索するというのがチームに課せられたミッションだったのである。

試験にはキュウリとキュウリ炭そ病菌によるバイオアッセイを用いた。キノコや植物の磨砕液 (2gFW/10mL) をキュウリ実生苗の子葉に塗布し、その2日後に子葉と子葉の上位にある本葉第1葉にキュウリ炭そ病菌を接種するのである。

磨砕液は処理していない本葉が、キュウリ炭そ病の病徴を抑制したとすれば、キュウリの植物体全体に病害抵抗性が誘導されている可能性がある。ただし、抗菌活性を持っている物質が植物体内を移動した可能性もあることから、バイオアッセイで炭そ病を抑制したものについては、キュウリの葉の病害抵抗性関連遺伝子が発現しているかどうかについて確認を行った。

じつはこのバイオアッセイでは、病害抵抗性誘導以外の活性も推察ができる。もし、磨砕液を処理した子葉だけで炭そ病が抑制され、処理していない本葉が炭そ病に感染したとすれば、処理をした磨砕液が抗菌活性を示した可能性が高い。

他方、磨砕液を処理した子葉が、炭そ病菌と無関係に萎れて枯れてしまうこともある。その場合は、磨砕液が除草活性を有している可能性が推察されるのである。

このような考え方で、キノコ1200種と、雑草203種を含む植物600種を対象に磨砕液を作成し、バイオアッセイを行った。

ここでは、雑草種203種のキュウリ炭そ病菌に対する抗菌活性の結果について報告したい。

3. 雑草種からの抽出液の抗菌活性

同じ科の中でも強い抗菌活性を示す雑草種と抗菌活性を示さない雑草種が見られ、科による明確な傾向は認められなかったが、いくつかの科では、特徴的に抗菌活性を示す雑草種が多い

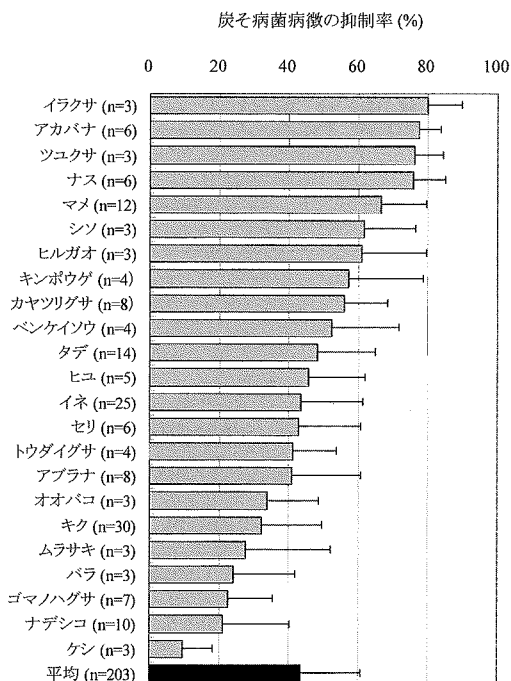


図-1 供試した雑草種の科ごとキュウリ炭そ病菌の病徴の抑制率の平均値 (%)
バーは標準偏差

傾向が見られた。

図-1は科ごとのキュウリ炭そ病の抑制率の平均値であるが、供試した植物種が平均的に高い抑制率を示しているものとして、イラクサ科、アカバナ科、ツユクサ科、ナス科の4つの科があげられる。

供試した203種の雑草種のうち、74種で明確なキュウリ炭そ病菌の抑制効果が見られた。そのうち、無処理に比して60~80%のやや弱い抑制効果を示したものが26種あり、80%以上の強い抑制効果を示したものが48種あった。一覧表については本稿の元となった論文を参照いただきたいが、ここでは90%以上の極めて強い抑制効果を示した21種の雑草種を示した (表-1)。

特に、ギョウギシバ、ヨメナ、アメリカイヌホオズキの3種は、ほぼ完全にキュウリ炭そ病菌

表-1 キュウリ炭そ病菌の病徴を90%以上抑制した雑草の抽出液

科	雑草名	子葉(処理葉)	本葉(未処理葉)
イラクサ	ヤブマオ	90.3 **	57.1
	カラムシ	92.6 **	67.6 *
タデ	サナエタデ	95.7 **	65.7 *
	イタドリ	90.2 **	42.1
ナデシコ	ムシトリナデシコ	95.2 **	0.0
キンボウゲ	ウマノアシガタ	90.8 **	60.9 *
	タガラシ	90.0 **	83.0 **
アブラナ	タネツケバナ	90.2 **	21.1
マメ	クサネム	90.8 **	34.8
	コマツナギ	90.3 **	28.6
アカバナ	メマツヨイグサ	92.6 **	0.0
セリ	オヤブジラミ	96.2 **	0.0
ヒルガオ	ヒルガオ	90.3 **	0.0
ナス	アメリカイヌホオズキ	97.8 **	0.0
キク	コセンダングサ	91.2 **	0.0
	チチコグサ	94.3 **	3.8
	ヨメナ	99.1 **	19.1
	イヌムギ	94.3 **	0.0
イネ	ギョウギシバ	100.0 **	0.0
	スズメノテッポウ	96.2 **	71.7
カヤツリグサ	フトイ	90.9 **	36.2

*, **は無処理区との間にそれぞれ5%, 1%水準で有意な差異があることを示す。

の病徴を抑制した。

これらの雑草種の抽出液は、作物に噴霧する利用のほか、さらに抽出液に含まれる活性成分を同定することによって、新たな殺菌剤の基本骨格となる可能性もある。

他方、アレロパシー活性が高いとされるセイタカアワダチソウや、イチビ、マンジュシャゲはキュウリ炭そ病菌に対する抗菌活性は高くなかった。このことから、アレロパシー活性の強い雑草種とキュウリ炭そ病菌の抑制効果が高い雑草種とは必ずしも一致しない傾向にあることがわかる。

また、ここで紹介した21の雑草種のうち1種の磨砕液は、実際には抗菌活性によってキュウリ炭そ病菌を抑制したのではなく、キュウリ葉の磨砕液を塗布した部分のみに局所的に植物の病害抵抗性が誘導されていることが後の調査で

明らかとなった。

それでは、雑草抽出液の抵抗性誘導活性はどうだったのだろうか？

調査の結果、供試した203種のうち11種で、磨砕液を処理していない本葉でも、キュウリ炭そ病菌が有意に抑制される傾向が示された(図表省略)。これは抗菌物質が上位葉に移動した可能性と、病害抵抗性が誘導された可能性があるが、その後の調査によりいくつかの雑草抽出液については、キュウリの病害抵抗性関連遺伝子を発現させていることを確認した。ただし、この結果については未発表であることから、残念ながら本稿ではお示しできない。

4. おわりに

古来より、人々は「うじ殺し」や「ネズミ除け」や「食物の腐敗防止」などに、さまざまな植物が

もつ天然成分を巧みに使ってきた。しかし、現在ではその知恵の多くが失われ、身の回りに生えている植物はおしなべて雑草と呼ばれている。

植物が含有する物質の活性物質の評価は、もうさんざんやられており、身近な雑草など、すでにやられているようにも思えたが、実際には植物からの活性物質の探索はハーブや薬草などを中心に行われており、身近に見られる雑草種は、あまり対象とされていないようである。

また、雑草種については、アレロパシー活性や殺虫効果は評価されているものの、病原菌に対する抗菌活性等の対象とした研究は少ない。

しかしながら、本稿で示した結果からは、ありふれた雑草種の中からも有用な未知の活性成分が見つかる可能性があることを改めて知らされた。

弘法大師は「医王の目には途に触れて皆薬なり」と言った。つまり、優れた名医の目から見れば道端に生える雑草はどれも薬草であるといったのである。雑草研究に取り組む我々に求められているのは、まさに医王の目を持つことなのかも知れない。

参考文献

- Doubrava N. S., Dean R. A. and Kuc J. 1988. Induction of systemic resistance to anthracnose caused by *Colletotrichum lagenarium* in cucumber by oxalate and extracts from spinach and rhubarb leaves. *Physiol. Mol. Plant. Pathol.* 33: 69-79
- Hunt M.D., Neuenschwander U.H., Delaney T.P., Weymann K.B., Friedrich L.B., Lawton K.A., et al. 1996. Recent advances in systemic acquired resistance research-a review. *Gene* 179, 89-95.
- Ryals J.A., Neuenschwander U.H., Willits M.G., Molina A., Steiner H-Y. and Hunt M.D. 1996. Systemic acquired resistance. *Plant Cell* 8, 1809-1819.
- Sticher L., Mauch-Mani B. and Mettraux J.P. 1997. Systemic acquired resistance. *Annual Rev. Phytopathol.* 35, 235-270.
- Toal E. S. and Jones P. W. 1999. Induction of systemic resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* by oxalic acid in oilseed rape. *Plant Pathol.* 48: 759-767
- Vallad G.E. and Goodman R.M. 2004. Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture. *Crop Sci.* 44, 1920-1934.