

フェアリーリング (fairy ring, 妖精の輪) を作る 「妖精」の正体解明とその農業への応用の可能性

静岡大学創造科学技術大学院統合バイオサイエンス部門
(兼)農学部応用生物化学科 河岸洋和

1) はじめに

ー研究の契機、フェアリーリングとはー

著者は静岡大学キャンパス内の職員用宿舎に住んでいる。数年前、その前庭の芝が弓状に繁茂していることに気づいた(図-1)。そして後に食用キノコであるコムラサキシメジ (*Lepista sordida*) が発生した。キノコに関する天然物化学を専門とし、これまでに25年間キノコの産生する化合物と向き合ってきた著者ではあるが、このような自然現象に初めて出会い、文献を調べてみた。そして、この現象は「フェアリーリング (fairy rings, 妖精の輪)」と呼ばれ、「公園、ゴルフ場、住宅街などで、芝が輪状に周囲より色濃く繁茂し、時には成長が抑制されたり枯れたりし、後にキノコが発生する」ことであり、植物病理学の分野では、病気(フェアリーリング病)として認知されていた(図-2)。西洋の伝

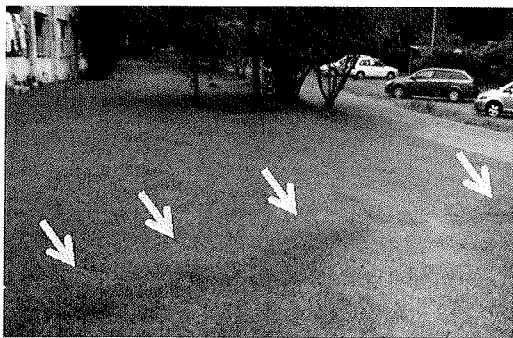


図-1 静岡大学キャンパス内教職員宿舎芝生に現れたコムラサキシメジによるフェアリーリング

説では、妖精が輪を作り、その中で踊ると伝えられている。1884年のNature誌に、1675年に発表されたフェアリーリングに関する最初の科学的論文(この論文は古すぎるのか入手不可能)やそれに続く論文が紹介されて以来、その妖精の正体(芝を繁茂させる原因)は、一応の定説はあるものの謎のままであった¹⁾。その定説とは、「芝に感染した胞子が菌糸(キノコになる前のカビの状態)となり、それが同心円状に成長し、最も代謝が活発な先端の菌糸が枯れ草や土壌中の蛋白質を分解し、植物が利用しやすい形態(硝酸等)に窒素成分を変え、植物の成長を促す」ということである²⁾。しかし、私はこの定説に疑問を持ち、「この成長促進は菌が特異的な植物成長調節物質を産生しているからではないか?」と考えた。そして、この研究が始まった。



図-2 千葉県農林総合研究センター芝草試験圃場に現れたコムラサキシメジによるフェアリーリング
(琉球大学 寺嶋芳江教授提供)

2) “妖精”の正体

文献上、現象を起こす菌類は数十種知られているが、当然ながら著者自身が観察したフェアリールリングを惹起したコムラサキシメジを選び、研究を開始した。まず始めに、入手したコムラサキシメジの菌株が、実際にシバの成長を促すか否かの確認を行った。そして、液体培養した菌をシバに人工感染させたところ、シバの成長促進が確認された(図-3)。そこで、シバ成長促進物質を精製するために、この菌を液体培地で大量培養し、培養濾液と菌糸体に分け、それぞれを各種有機溶媒で抽出した。シャーレ中でのシバの幼苗の成長に対するその各抽出物の影響を検討したところ、培養濾液の酢酸エチル可溶部が成長促進を示した。この活性を指標に酢酸エチル可溶部の分画を進め、カラムクロマト

グラフィー、再結晶等によって、シバの成長を促す物質 2 - アザヒポキサンチン (2 - azahypoxanthine, AHX) を得ることに成功した(図-4)³⁾。この化合物は合成品として知られていたが、天然からは初めての発見であった。

AHXは液体培地で培養した菌から得られたものである。時として菌は自然界と培養器内では異なった代謝産物を産生する。そこで、土中でのシバと菌との相互作用に、そしてシバの成長にAHXが本当に関わっているのかを確かめた。図-3のようにこの菌が感染し、シバに成長促進が見られた根近傍の土を水で抽出しHPLCで分析したところ、AHXが高濃度(T2の場合、土1g当たり0.22 mmol)で検出された(図-5)。さらに顕微鏡を見ると根と菌は直に接しており、AHXは直接、菌から根へ吸収されている可能性

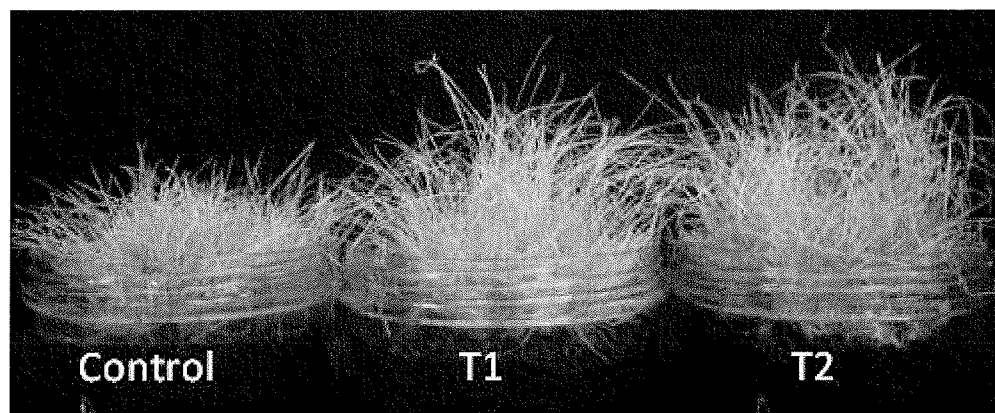


図-3 コムラサキシメジによるシバの成長促進
シバ(ペントグラス)を植えたシャーレに、菌糸(T1, 湿重量0.5g; T2, 湿重量1.5g)を移植し、3週間培養

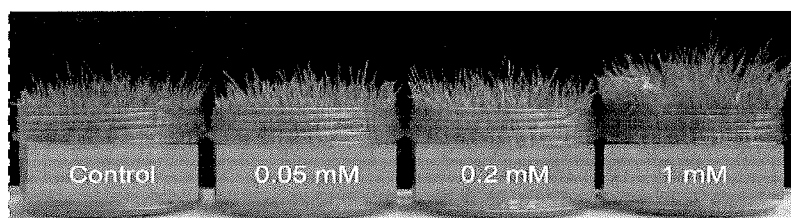
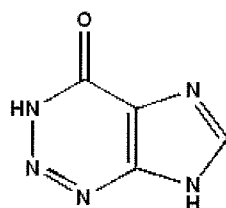


図-4 AHXの構造とシバに対する成長促進活性

も示唆された。以上のことから、AHX はシバが繁茂するフェアリーリングを作り出す唯一の（少なくとも主な）“妖精”であると結論した。

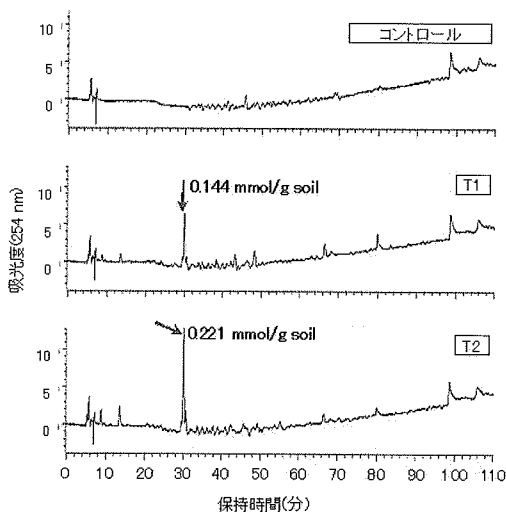
3) “妖精”の活性発現機構

AHX はイネの幼苗にも成長促進活性を示した。シバもイネ科であることから、その成長促進活性発現の分子機構についてイネを用いて詳細に検討した。

イネDNAマイクロアレイにおいて、AHX処理によって、主に3つの遺伝子、GST (glutathione S-transferase)、BBI (Bowman-Birk type proteinase inhibitor)、アクアポリンの1種 *TIP2;1* の発現量が大きく増大していた。これらの増大は逆転写ポリメラーゼ連鎖反応によっても確認された³⁾。GSTは、植物を解毒、ストレス（低温、塩など）から保護する働きをし、BBI は病原菌への抵抗性を付与及び塩ストレスからの保護に関わっている⁴⁵⁾。GST 遺伝子を導入したイネは低温や塩ストレス

に耐性ができたという報告もある⁶⁾。この遺伝子導入イネに関する文献同様の方法でイネの成長に対するAHXの効果を試してみたところ、AHX処理によってイネは、GST 遺伝子導入イネと同様に、低温や塩ストレス下での成長が回復した³⁾。また、*TIP2;1* はアンモニア/アンモニウムイオンの輸送に関与している^{7,8)}。そこで同位体でラベルした窒素を用いて窒素の吸収を検討した。その結果、 $^{15}\text{NH}_4\text{NO}_3$ あるいは $\text{NH}_4^{15}\text{NO}_3$ を唯一の窒素源の培地中でイネをAHX処理したところ、 $^{15}\text{NH}_4\text{NO}_3$ を用いた時に、イネ中の ^{15}N 含量が大幅に増加していた³⁾。以上のことから、我々は、「AHXによって、植物（少なくともイネ）は多様で継続的な環境からのストレスに対する抵抗性を獲得し、さらにアンモニア態窒素の吸収を増加させ、成長が促される」と結論した³⁾。

AHXと既知の植物ホルモンとの関係をチャ細胞を用いて検討した。チャ細胞の成長にはサイトカイニンとオーキシンが必要である。この2つのホルモンの共存下でAHXを加えたが、チャ細胞の成長には何の影響も観察されなかった。また、どちらか一つのホルモンだけで培養すると成長は抑制されるが、AHXを加えても、欠けているホルモンの代替とはならなかった。ところが、AHX単独で培養すると、2つのホルモン添加時に比べて成長は遅いものも、濃度依存的に成長が促進された。このことは、AHXの作用はサイトカイニンやオーキシンなどの植物ホルモンとは無関係で、あたかも別のホルモンのように挙動したことを示す³⁾。イネDNAマイクロアレイ解析でも、AHXは植物ホルモンの発現にほとんど影響を及ぼさなかった³⁾。



図－5 コムラサキシメジが感染したイネ根付近の土の抽出物のHPLC分析
シバ（ペントグラス）を植えたシャーレに、菌糸（T1、湿重量 0.5g；T2、湿重量 1.5g）を移植し、3週間培養

4) もうひとつの“妖精”？

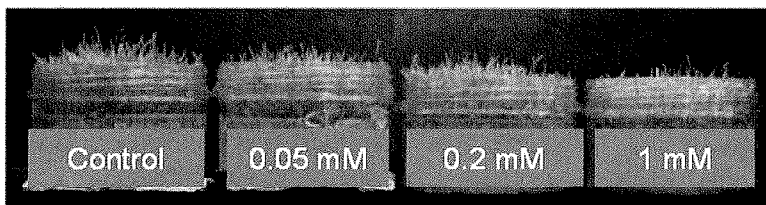
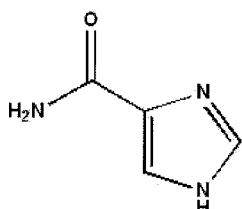
前述したように、時として、輪状に枯れたり生育が抑制されたりしているフェアリーリングが現れる。著者自身が見たコムラサキシメジによるフェアリーリングではそのような現象は観察されなかったが（図－1）、図－2の千葉県農林総合研究センター芝草試験圃場に出現した同じキノコによるフェアリーリングは輪状に生育が悪くなっている。そこで、シバの成長を抑制する活性を指標に、この菌の培養濾液抽出物のクロマトグラフィーを繰り返し、AHXの発見に約1年遅れて、AHXとは逆にシバの成長を抑制するイミダゾール-4-カルボキシアミド(imidazole-4-carboxamide, ICA)を得ることに成功した（図－6）⁹⁾。この化合物も合成品として知られていたが、天然からは初めての発見

であった。ICAに関しても分子レベルでの検討が進行中である。

5) 農業への応用の可能性

AHXとICAは、イネの他にも、分類学上の科に無関係に試した調べた全ての植物（コムギ、ジャガイモ、レタス、アスパラガス、トマト、シロイヌナズナ等）の成長を調節した¹⁰⁻¹³⁾。

我々は2008年からこれら化合物の農作物の収量に対する効果を検討している。イネのポット栽培において、2009年には5 μ M AHXあるいは2 μ M ICAを与え続けることでそれぞれ25%と26%の玄米の増収を記録し、短期間の施与でも増収がもたらされた（表－1）^{3,9-13)}。米粒の大きさは変わらず、この増収は粒数の増加によった。2010年には静岡大学農学部附属地域



図－6 ICAの構造とシバに対する成長抑制活性

表－1 土耕栽培におけるイネ (*Oryza sativa* L. cv. 日本晴れ) に対する AHX と ICA の効果

処理	コントロール	50 μ M AHX (定植期)	50 μ M AHX (分けつ期)	50 μ M AHX (穂肥期)	50 μ M AHX (実肥時)	5 μ M AHX (常時施与)	2 μ M ICA (常時施与)
玄米							
玄米収量 g (増加率%)	36.9 $\pm$ 6.43	39.3 $\pm$ 4.31 (6.5)	44.4 $\pm$ 5.59 (20)	43.1 $\pm$ 5.03 (17)	41.8 $\pm$ 7.18 (13)	46.3 $\pm$ 4.07* (25)	46.5 $\pm$ 6.27* (26)
玄米重量 (g/100 粒)	2.19 $\pm$ 0.04	2.17 $\pm$ 0.06	2.22 $\pm$ 0.03	2.24 $\pm$ 0.06	2.19 $\pm$ 0.07	2.22 $\pm$ 0.07	2.21 $\pm$ 0.05
水分含量%	11.8 $\pm$ 0.19	11.6 $\pm$ 0.26	12.3 $\pm$ 0.39*	11.8 $\pm$ 0.27	12.0 $\pm$ 0.23	11.8 $\pm$ 0.05	11.8 $\pm$ 0.15
植物体							
穂長 (cm)	20.7 $\pm$ 0.56	22.2 $\pm$ 3.78	20.3 $\pm$ 1.21	20.9 $\pm$ 1.54	21.2 $\pm$ 0.75	20.8 $\pm$ 1.44	22.1 $\pm$ 3.06
稈長 (cm)	84.6 $\pm$ 6.52	86.0 $\pm$ 4.56	85.9 $\pm$ 2.94	85.2 $\pm$ 5.68	86.7 $\pm$ 3.85	89.8 $\pm$ 2.68	87.2 $\pm$ 5.05
植物体穂数	27.3 $\pm$ 3.78	31.5 $\pm$ 2.17	30.8 $\pm$ 2.71	28.5 $\pm$ 4.97	28.0 $\pm$ 3.34	30.8 $\pm$ 2.04	30.5 $\pm$ 2.35
地上部(g)	134 $\pm$ 15.5	141 $\pm$ 0.44	148 $\pm$ 11.2	144 $\pm$ 10.4	149 $\pm$ 7.89	150 $\pm$ 0.19	152 $\pm$ 7.32

30日間培養した苗をポット (1/5000 a) に移植し、平成21年6月10日から9月29日まで静岡大学農学部温室で土耕栽培を以下の7種類条件で行った。①コントロール、②定植期に2週間、50 μ M AHXを4L処理(6月10日から6月23日まで)、③分けつ期に2週間、50 μ M AHXを4L処理(6月30日から7月13日まで)、④穂肥期に2週間、50 μ M AHXを4L処理(7月29日から8月11日まで)、⑤実肥時に2週間、50 μ M AHXを4L処理(8月31日から9月13日まで)、⑥5 μ M AHXを継続処理、⑦2 μ M ICAを継続処理。* p < 0.05 (平均 $\pm$ 標準偏差, サンプル (ポット) 数 = 各6)。

フィールド科学教育研究センターの水田で栽培試験を行い、これら化合物は、ポット栽培同様、ある特定の時期に短期間与えるだけで増収効果を示し、苗をAHXまたはICAで2週間処理しただけでも玄米収量がそれぞれ9.6%, 6.3%増加した。また、昨年(2010年)から今年にかけてはコムギに関しても栽培実験を行った。その結果、苗をAHXまたはICAで2週間処理しただけでも収量がそれぞれ10.2%, 5.6%増加した(未発表データ)。これらの栽培は一度しか行っておらず施与時期、濃度等でさらなる収量増加が可能になるであろう。その他にも、AHXによって、ジャガイモ(男爵, ポット土耕栽培)では19%, レタス(ポット土耕栽培)で21%, アスパラガス(水耕栽培)で100%の重量増加を示した^{3,9-13)}。

ICAはイネやシバの幼苗に成長抑制活性を示したが、前述のように様々な作物に対してはAHX同様の効果を示した。これまでの結果から言えることは、どちらの化合物でも有効な作物と、どちらかがより有効な作物がある。現在、施与時期、濃度などより詳細な検討を行っている。

AHXがイネに取り込まれた後速やかに代謝されるが、ごく最近、その代謝産物の構造が判明した(化合物Xと仮称)。検討の結果、AHXはイネばかりでなく、他の数種の植物中での化合物Xに変換されることが判明した。そして、化合物Xはイネやシバに対してはAHX同様の活性を示した。このことは、前述のAHXの成長促進は、植物体内では化合物Xが担っていた可能性を示している(特許出願済み、論文準備中)。

6) 終わりに

今回、我々は、フェアリーリングを作り出す“妖精”の正体を明らかにした。そして、その妖

精は、農業(作物増産)への応用が可能であることを示した。AHX, ICA, そして(あるいは)化合物Xは、おそらく同じ生合成経路・代謝経路にあると著者は考えている。現在、生合成経路・代謝経路・活性発現機構の解明を鋭意試みており、実用化の検討にも着手した。

謝辞

この研究は、科学研究費(特定領域研究)「生体機能分子の創製」、財団法人しずおか産業創造機構地域イノベーション促進研究開発事業、JST育成研究費によって支えられた。ここに深謝する。

参考文献

- 1) H. Evershed : Nature, 29, 384 (1884).
- 2) H. L. Shantz & R. L. Piemeisel : J. Agric. Res., 11, 191 (1917).
- 3) J-H. Choi, K. Fushimi, N. Abe, H. Tanaka, S. Maeda, A. Morita, M. Hara, R. Motohashi, J. Matsunaga, Y. Eguchi, N. Ishigaki, D. Hashizume, H. Koshino & H. Kawagishi : ChemBioChem, 11, 1373 (2010).
- 4) L. J. Qu, J. Chen, M. Liu, N. Pan, H. Okamoto, Z. Lin, C. Li, D. Li, J. Wang, G. Zhu, X. Zhao, X. Chen, H. Gu & Z. Chen : Plant Physiol., 133, 560 (2003).
- 5) L. Shan, C. Li, F. Chen, S. Zhao & G. Xia : Plant Cell Environ., 31, 1128 (2008).
- 6) T. Takesawa, M. Ito, H. Kanzaki, N. Kameya & I. Nakamura : Mole. Breed., 9, 93 (2002).
- 7) D. Loque, U. Ludewig, L. Yuan & N. von Wieren : Plant Physiol., 137, 671 (2005).
- 8) T. P. Jahn, A. L. Moller, T. Zeuthen, L. M.

Holm, D. A. Klaerke, B. Mohsin, W.

Kuhlbrandt & J. K. Schjoerring : FEBS Lett.,
574, 31 (2004).

- 9) J-H. Choi, N. Abe, H. Tanaka, K. Fushimi,
Y. Nishina, A. Morita, Y. Kiriwa, R.
Motohashi, D. Hashizume, H. Koshino &
H. Kawagishi : J. Agric. Food Chem., 58,
9956 (2010).

10) 河岸洋和, 森田明雄: 植物成長調節剤及び植

物成長調節方法, 特開 2009-1558

11) 河岸洋和, 森田明雄: 主食作物生産増収方
法, 特願 2009-173724

12) 河岸洋和, 森田明雄, 崔宰熏: 主食作物生産
増収方法, 特願 2009-207916

13) 河岸洋和, 森田明雄, 崔宰熏: 主食作物生産
増収方法, PCT出願, 出願番号PCT/JP2010/
062351

豊かな稔りに...



確かな技術で、ニッポンの米作りを応援します。

高葉齢のノビエにすぐれた効き目!
フルセットスルフロ

NEW 石原の新規水稻除草剤

スケガチ® 1キロ粒剤

フルチャージ® 1キロ粒剤
ジャンボ

フルフォース® 1キロ粒剤

フルニング® 1キロ粒剤

オクスミドリ® 1キロ粒剤

アンカーマン® DF

ハードパンチ® DF

安全に安心してご利用ください
農薬等、農薬（農薬取締法）
使用時は、使用回数を守りましょう
石原は「食の安全」を大切にします



石原産業株式会社
石原バイオサイエンス株式会社

〒112-0004 東京都文京区後楽1丁目4番14号

TEL 03-3847-7777 <http://www.iskweb.co.jp/jp/>