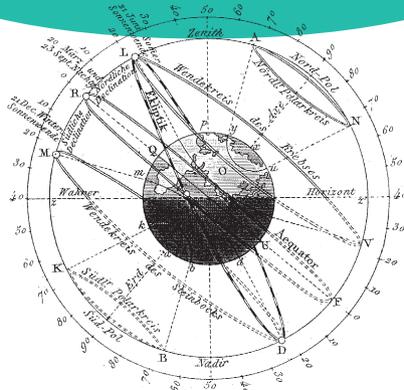


【解説】



【2011年農芸化学研究企画賞】

“フェアリーリング”の化学と“フェアリー化合物”の植物成長調節剤としての可能性

河岸洋和

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現象は「フェアリーリング (fairy ring, 妖精の輪)」と呼ばれている。筆者らは、フェアリーリングを形成するコムラサキシメジが産生するフェアリーの正体 (芝を繁茂させる原因) が2-アザヒポキサンチン (AHX) とイミダゾール4-カルボキシアミド (ICA) であることを突き止めた。また、植物中でのAHXの代謝産物、2-アザ8-オキノヒポキサンチン (AOH) を得ることに成功した。これらの化合物 (フェアリー化合物) は試したあらゆる植物に活性を示すことから、筆者は「これらの化合物は植物自身も作り出しているのでは？」と考えた。そして、それを証明し植物体内での生合成経路も明らかにした。フェアリー化合物はさまざまな作物の収量を増加させ、農業への応用が期待される。

はじめに

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現象が知られている。この現象は

Chemistry of Fairy Ring and Possibility of “Fairy Chemicals” as a Plant Growth Regulator

Hirokazu KAWAGISHI, 静岡大学グリーン科学技術研究所

「フェアリーリング (fairy ring, 妖精の輪)」と呼ばれている⁽¹⁾ (図1)。1675年に発表されたフェアリーリングに関する最初の論述や、それに続く論文が1884年の *Nature* 誌に紹介されて以来、そのフェアリーの正体 (芝を繁茂させる原因) は謎のままであった⁽²⁾。そして、筆者らはそのフェアリーが2-アザヒポキサンチン (AHX) とイミダゾール4-カルボキシアミド (ICA) であることを突き止めた^(3,4) (図2)。その発見の経緯は以前に本誌でも解説した⁽⁵⁾。本稿ではその後の研究の進展を中心に紹介する。ここで述べる多くの結果は、最近、論文として発表し、*Nature* 誌にも紹介された^(6,7)。

もう一つのフェアリー

フェアリーリングを形成する菌は世界中で54種知られている。筆者はその中でコムラサキシメジ (*Lepista sordida*) 選んだ (その理由は後述する)。その菌糸体を培養し、培養液からシバの成長を促すAHXと逆に抑制するICAの単離、同定に成功した^(3,4)。その後、AHXを根から吸収したイネやシロイヌナズナなどは共通の代謝産物を与えることが判明し、その代謝産物の精製に成



図1 ■ 芝に出現したフェアリーリング

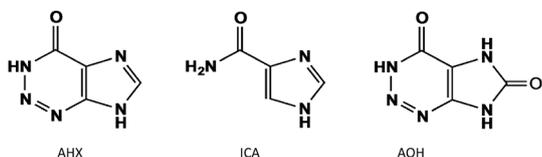


図2 ■ AHX, ICA, AOHの構造

功した。この物質の構造を2-アザ8-オキソヒポキサンチン (AOH) と決定した (図2)。AOHは新規物質であった。この構造が明らかになったとき、筆者はAHXからAOHの酸化はキサンチンから尿酸への反応に酷似していることに気づいた。そこで、キサンチンから尿酸への反応を触媒する市販のキサンチンオキシダーゼでAHXを処理してみると、定量的にAOHが得られた。以上のことから、植物体内で働く「真」のフェアリーはAOHではないかと考えた。そしてバイオアッセイを行ったところ、AOHはAHX同様にシバの成長を促進した⁽⁶⁾。

本稿では、*Nature* 誌の紹介記事のタイトル「Fairy chemicals」をお借りして、AHX, ICA, AOHを“フェアリー化合物 (fairy chemicals)”と呼ぶ⁽⁷⁾。フェアリー化合物の発見の順番はAHX, ICAそしてAOHであるので、これらのうちAHXに関するデータが最も蓄積している。

フェアリー化合物の植物成長活性発現機構

AHXの植物成長活性発現機構については前回紹介したが、以下に要点を記す^(3,5)。

イネDNAマイクロアレイと逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR) 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た。*GST*は植物中での解毒を担い、さらにストレス (低温、塩など) から保護する働きをしている。*GST* 遺伝子を導入

したイネが作製され、その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⁽⁸⁾。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、文献にはない高温ストレスに対しても抵抗性を示した。*BBI*は病原菌への抵抗性を付与および塩ストレスからの保護にかかわっている。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。そこで¹⁵NH₄NO₃あるいはNH₄¹⁵NO₃が唯一の窒素源の培地中でイネをAHX処理したところ、¹⁵NH₄NO₃を用いたときのみ、イネ中の¹⁵N含量が大幅に増加していた。以上のことから、筆者らは、「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^(3,5)。

イネやシロイヌナズナに対して、各化合物の活性を示す至適濃度において、AOHによって影響される遺伝子やタンパク質発現のプロファイルはAHXのそれと類似しているが、ICAのそれはAHXとAOHとは逆の場合が多く見られた。それはあたかもAHX, AOHとICAがスイッチのオンオフのように働いているように見える (未発表データ, 論文準備中)。興味深いことに、AHX, AOHとICAにはこのような違いがあるにもかかわらず、さまざまな植物に対するさまざまな実験を通して判断できることは、これら3種のフェアリー化合物は (各化合物の施与濃度に違いはあるものの) いずれも植物に多様なストレス (乾燥, 塩, 高低温など) に対する耐性を付与するということである。

フェアリー化合物の植物での内生の証明

フェアリー化合物は、イネのほかにも、分類学上の科に無関係に試したすべての植物 (コムギ, トウモロコシ, ジャガイモ, レタス, アスパラガス, トマト, コマツナ, シロイヌナズナなど) の成長を促進した。試したあらゆる植物に活性を示すことから、筆者は「これらの化合物は植物自身も作り出しているのでは?」と考えた。そこで、イネとシロイヌナズナの抽出物をLC-MS/MSで分析したところ、どちらにもAHXとAOHが存在することが判明した。しかし、もともとAHXは菌から得られた化合物であるので、周囲の微生物がAHXを生成し、植物に取り込まれた可能性がある。そこで、無菌的にイネとシロイヌナズナを栽培して調べたところ、や

表1 ■ AHXとAOHの内生

サンプル	AHX	AOH
イネ科		
イネ (日本晴れ, 地上部)	d	nd
イネ (日本晴れ, 根)	d	d
イネ (日本晴れ, コシヒカリ; 可食部)	d	d
小麦 (農林61号; 可食部)	d	d
ベントグラス (地上部, 根)	d	d
コウライシバ (地上部)	d	nd
コウライシバ (根)	d	d
ユリ科		
アスパラガス (可食部)	d	nd
ユーカリ科		
ユーカリ (<i>Eucalyptus pellita</i> ; 地上部, 根)	d	nd
ユーカリ (<i>Eucalyptus camaldulensis</i> ; 地上部, 根)	d	nd
ナス科		
トマト (ハウス桃太郎, 麗夏, Endeavour; 地上部)	d	nd
トマト (ハウス桃太郎, 麗夏, Endeavour; 根)	d	d
ジャガイモ (ダンシャク, メーカーイン; 可食部)	d	d
ウリ科		
キュウリ (地上部, 根)	d	nd
ツバキ科		
チャ (地上部)	d	d
チャ (根)	d	nd
アブラナ科		
コマツナ (地上部)	d	nd
コマツナ (根)	d	d
ダイコン (可食部)	d	nd
シロイヌナズナ (地上部)	d	nd
シロイヌナズナ (地下部)	d	d
サトイモ科		
サトイモ (可食部)	d	d
藻類		
クロレラ	d	d
(<i>Chlorella vulgaris</i> ; <i>Parachlorella beyerinckii</i>)		
藍藻 (<i>Synechocystis</i> sp. PCC6803)	d	nd

d: 検出, nd: 未検出

はり, AHXとAOHが検出された。その後, 多くの試料を分析したが, AHXはすべての植物に, AOHも多くの植物に内生が確認された⁽⁶⁾ (表1)。筆者はAOHも植物に普遍的に存在すると予想している。AOHが検出されない植物がある理由は, 現時点においてLC-MS/MSの感度がAHXの数分の1であるためか, あるいは調べた試料のその生育段階ではAOH含量が検出感度限界以下であるため, と考えている。ICAに関しては, 感度の良い分析条件がまだ見つかっておらず, 植物での内生は証明されていない。

フェアリー化合物の植物での生合成経路

AHXは, 5-アミノイミダゾール-4-カルボキサマイド (AICA) から4-ジアゾ-4*H*-イミダゾール-5-カルボキサマイド (DICA) を経て化学合成される⁽⁹⁾。ICAもまた

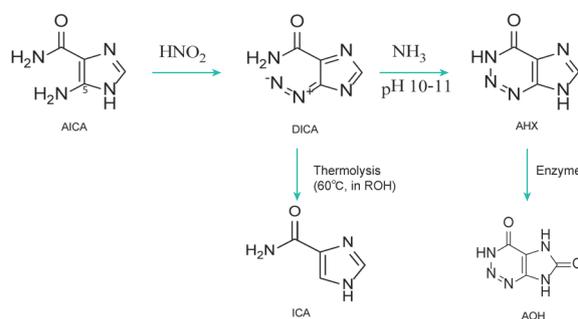


図3 ■ AHX, ICA, AOHの化学合成法

DICAを経て化学合成可能である (図3)。また, 前述のとおり, AOHはAHXから酵素反応で得られる。筆者は, 植物体内でのフェアリー化合物の生合成においても, 化学合成同様の, AICAからAHXそしてAOHへの経路が存在すると考えた。なぜなら, AICAは微生物, 植物, 動物すべてのプリン代謝経路上にある化合物であり, しかも, AICAからAHXへの変換は植物体内に存在しうるHNO₂とNH₃との反応だからである (図3)。また, AICAのリボチド (AICAR) は, イノシン, ヒポキサンチン, キサンチン, 尿素などの生合成前駆体である (図4)。しかしながら, すべての生物においてAICAのさらなる代謝は全く知られていなかった。この仮説を証明するために, 共同研究者である静岡県立大学・菅 敏幸教授グループによって合成された5位が¹³CでラベルされたAICA (図3) をイネ幼苗の培養液に添加して栽培した。その結果, ラベル化AICAは根から吸収され, AHXを経てAOHに変換されたことを証明した。さらに, イネ幼苗を抽出した粗酵素液によってAICAからAHXが生成することも証明した⁽⁶⁾。すなわち, 筆者らは植物における新しいプリン代謝経路を発見したのである (図4)。しかしながら, 筆者はこのルートだけでなく, AICARからAHXリボチドを経てAOHリボチドが存在すると予想している。あるいは, この経路が主要経路かもしれない。

フェアリー化合物の農業への応用の可能性

筆者らは2008年からフェアリー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年から2010年には, イネの定植 (田植え) 期, 分けつ期, 穂肥期, あるいは実肥時に5μM AHXを2週間与えるだけで, 玄米収量がそれぞれ6.5%, 20%, 17%, 13%増加した。また, 5μM AHXあるいは2μM ICAを与え続けることでそれぞれ25.5%と26.0%の玄米の増収を記録した^(3, 5, 10)。

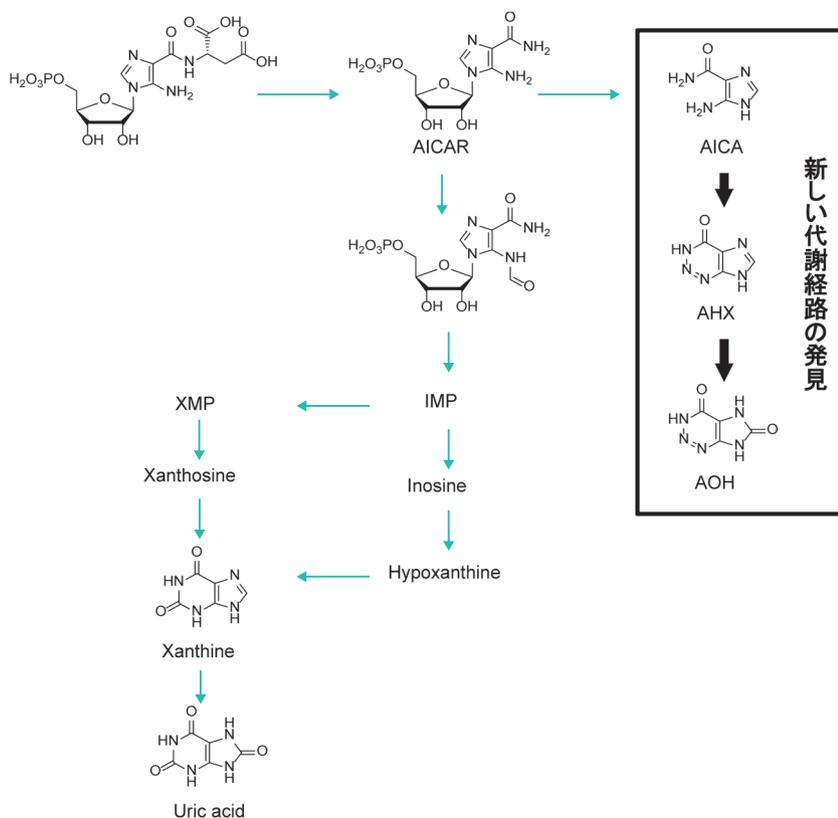


図4 ■ 植物における新しいプリン代謝経路

表2 ■ 圃場におけるAHXのイネに対する効果

処理	植物体穂数	稈長 (cm)	穂長 (cm)	地上部乾燥重量 (g)	玄米重量 (g/1,000粒)	玄米収量 (g)
無処理	11.4±2.5 ^{a*}	65.6±2.5 ^a	21.0±1.4 ^a	50.9±4.5	21.6±0.2 ^a	18.2±2.1 ^a
AHX 処理						
苗箱処理	13.1±2.3 ^b	66.1±2.5 ^{ab}	21.5±1.5 ^a	54.4±5.6 ^b	21.6±0.4 ^a	20.0±2.0 ^b
(増加率%)	(14.9)	(0.7)	(2.7)	(6.9)	(0)	(9.9)
定植期	13.1±2.5 ^b	66.9±2.9 ^{ab}	20.9±1.5 ^a	54.0±3.7 ^b	21.8±0.5 ^a	19.3±1.0 ^b
(増加率%)	(4.6)	(2.1)	(-0.3)	(6.1)	(0.9)	(6.0)
幼穂形成期	11.8±2.4 ^{ab}	67.3±2.2 ^b	21.0±1.2 ^a	54.0±3.6 ^b	21.9±0.2 ^a	19.3±1.9 ^{ab}
(増加率%)	(3.5)	(2.6)	(0.1)	(6.1)	(1.4)	(6.0)

*異なったアルファベット間に有意差あり ($p < 0.05$) Turkey's test

2010年には静岡大学農学部附属地域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、AHXを定植(田植え)期あるいは幼穂形成期に一度だけ水田に施与するだけで玄米収量をとともに6%増加させた。また、田植え前に苗箱で苗を2週間だけAHX溶液に浸漬し、田植え後は通常栽培を行っても、9.9%増収した。AHXによって、米粒当たりの重量や穂につく粒数は変わらなかったが、植物体当たりの穂数が増加した⁽¹⁰⁾(表2)。

コムギについても圃場での栽培実験を行っている。2010年から2011年にかけての結果では、苗をAHXまたはICAで2週間処理しただけで収量がそれぞれ10.2%、5.6%増加した(表3)。この結果を見て、苗よりもさらに早い生育段階での処理の効果を試した。すなわち、発

芽前の種子をAHXあるいはICA溶液に36時間浸漬するだけの処理を行った。その結果、AHX処理では20.4%、ICAでは9.8%収量が増加した⁽¹¹⁾(表2)。コムギの場合も、粒当たりの重量や穂につく粒数は変わらなかったが、植物体当たりの穂数が増加した。

圃場でのイネとコムギの栽培実験は毎年行っている。コントロール(無処理)の収量は、天候などの自然条件によって変動するが、AHXあるいはICAの処理区では毎年一定の高収量を得られている。AOHについても同様の結果が得られている(未発表データ、投稿準備中)。すなわち、フェアリー化合物によって、天候条件(環境からのストレス)に左右されずに、穀物に対して一定の高収量を得ることができるのである。また、トウモロコ

表3 ■圃場におけるAHXとICAの小麦に対する効果

2011年					
	無処理	苗箱処理			
		AHX		ICA	
		濃度 (mM)			
		1.0		0.1	
種子			増加率%		増加率%
粒重 (g/m ²)	336.6±43.4	371.1±46.6*	(10.2)	355.5±40.8	(5.6)
穂数 (/m ²)	217.0±23.3	240.2±27.6*	(10.7)	228.4±26.5	(5.3)
粒重 (g/1,000粒)	38.3±2.0	36.9±0.8	(-3.7)	36.6±1.4	(-4.5)
粒重 (g/穂)	1.55	1.54	(-0.4)	1.56	(0.3)
植物体					
穂長 (cm)	79.8±4.7	81.7±3.1*	(2.4)	80.6±3.4	(1.0%)
穂長 (cm)	9.0±0.5	9.2±0.6	(2.5)	8.8±0.7	(-2.0%)
乾燥重量 (g/植物体)	55.6±7.5	61.0±7.1*	(9.7)	57.9±6.5	(4.0%)
2012年					
	無処理	種子浸漬処理			
		AHX		ICA	
		濃度 (mM)			
		1.0		0.1	
種子			増加率%		増加率%
粒重 (g m ⁻²)	500.6±100.2	602.5±120.8*	(20.4)	549.4±95.9	(9.8)
穂数 (m ⁻²)	375.8±73.0	454.2±116.5*	(20.8)	422.5±90.8	(12.4)
粒重 (g/1,000粒)	36.4±2.5	36.5±3.0	(0.4)	35.1±2.8	(-3.4)
粒重 (g/穂)	1.33	1.33	(-0.4)	1.30	(-2.4)
植物体					
穂長 (cm)	76.1±3.0	77.6±3.2	(1.9)	78.1±4.2	(2.6)
穂長 (cm)	8.5±0.6	9.2±0.7*	(8.4)	8.6±0.8	(1.8)
乾燥重量 (g/植物体)	41.0±6.8	48.5±8.5*	(18.3)	45.1±6.9	(10.1)

*有意差あり $p < 0.05$ (Dunnnett's test)

シ、トマト、ピーマン、コマツナなどの栽培実験でも有意な増収効果が得られている（未発表データ、一部論文準備中）。

筆者らはフェアリー化合物の実用化も一つの目標としてさまざまな検討を行っている。しかし、植物成長調節剤として実用化しようとする、農薬扱いとなり医薬に準じる安全性試験が必須である。また各作物ごとの最適施与方法の決定なども必要である。これらの検討には多額の費用と時間を要し、大学に属する研究者では到底できないことである。筆者らにとってありがたいことに、国内外の企業が実用化を目指した研究に着手した。

おわりに

筆者は、これらフェアリー化合物が新しい「植物ホルモン」であると信じている。イネ馬鹿苗病菌から得られたジベレリンが後に植物ホルモンとして認知された歴史

をたどることを夢見ている。そして、それを証明すべくさまざまな検討を行っている。

この研究は、筆者の住んでいる静岡大学職員用宿舎の芝生にコムラサキシメジによるフェアリーリングが現れたことが契機となった。このキノコは美味であり、その芝生で発生したものは味噌汁に入れて食べた。しかし、妻や子どもたちは私のキノコ鑑識眼を疑い一切口にせず、同じ宿舎の住人は芝生に這いつくばりキノコを観察し採取している私を怪しそうに見、それを食べたのを知って驚いていたらしい。1985年に助手として静岡大学に赴任して以来キノコに関する天然物化学的研究を続けてきた筆者であるが、恥ずかしながら、2004年のこの経験まで「フェアリーリング」という自然現象を知らなかった。偶然の出会いが、筆者のライフワークになろうとしている。

謝辞：本研究は、農芸化学会研究企画賞，生研センターイノベーション創出基礎的研究推進事業，科研費・新学術領域研究「天然物ケミカルバイオロジー」によって経済的に支えられました。深謝いたします。

文献

- 1) <http://en.wikipedia.org/wiki/File:FairyRingSchoolField.jpg>
- 2) H. Evershed: *Nature*, **29**, 384 (1884).
- 3) J.-H. Choi *et al.*: *ChemBioChem*, **11**, 1373 (2010).
- 4) J.-H. Choi *et al.*: *J. Agric. Food Chem.*, **58**, 9956 (2010).
- 5) 崔 宰熏, 河岸洋和: *化学と生物*, **49**, 299 (2011).
- 6) J.-H. Choi *et al.*: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **53**, 1552 (2014).
- 7) A. Mitchinson: *Nature*, **505**, 298 (2014).
- 8) F. Zhao *et al.*: *Mol. Breed.*, **9**, 93 (2002).
- 9) K. Vaughan *et al.*: *Magn. Reson. Chem.*, **40**, 300 (2002).
- 10) T. Asai *et al.*: *Jpn. Agric. Res. Q.*, in press.
- 11) H. Tobina *et al.*: *Field Crops Res.*, **162**, 6 (2014).

プロフィール



河岸 洋和 (Hirokazu KAWAGISHI)

<略歴> 1985年北海道大学大学院農学研究科博士課程修了(農学博士)／同年静岡大学農学部助手(農芸化学科)／1989年同大学農学部助教授(応用生物化学科)／1998～1999年文部省在外研究員(米国ハーバード大学化学・化学生物学科)／1999年静岡大学農学部教授(応用生物化学科)／2006年同大学創造科学技術大学院教授(統合バイオサイエンス部門)／2011年同大学卓越研究者(現在に至る)／2013年同大学グリーン科学技術研究所(現在に至る)<研究テーマと抱負>生物，特にキノコにかかわるあらゆる生命現象を「化合物」で説明したい<趣味>読書，家庭菜園，2月から5月までのタケノコ掘り

Copyright © 2014 公益社団法人日本農芸化学会