# セイヨウスモモにおける突然枯死原因の究明

長岡技術科学大学 〇笹原 僚希, 中澤 駿一 幡本 将史, 山口 隆司, 牧 慎也

### 1.背景

セイョウスモモ (Prunus domestica) はポリフェノールが豊富な果物として注目を浴びている.一方で、島根県の試験圃場ではセイョウスモモが突然枯れる現象 (立ち枯れ) が発生している.一度立ち枯れ病になった果樹はその後,他の果樹にも立ち枯れ症状を伝染させる.しかしながら突然立ち枯れ病になる原因は未だ解明されておらず、具体的な対策がなされていない.

セイヨウスモモと同じ属であるモモの根には青酸配糖体が含まれるが、植物自体には無害である <sup>1)</sup>. しかし、青酸配糖体の分解経路に存在する物質である mandelonitrile, benzaldehyde, benzoic acid がモモの成長を阻害すると予測されている <sup>1)</sup>. さらに、青酸配糖体の分解微生物は、土壌中の細菌や、病原性線虫集団の量を減少させるとの報告がある <sup>2)</sup>.

本研究はセイョウスモモの立ち枯れ症状における 原因物質の特定を目的として,根圏土壌中成分の他 感現象検定及び根部滲出物の定性分析を行った.

### 2.実験方法

## 2.1.根圏土壌中成分の他感現象検定

セイヨウスモモの枯死が土壌中の物質によるものであるか検証するため、土壌を用いてレタスの種子の成長阻害検定を行った。セイヨウスモモの果樹の状態を、異常が見られない(Health)、立ち枯れが進行中(Process)、枯死 (Wilt) のそれぞれ2gの乾燥根圏土壌を、直径 2.4 cm の平底試験管に充填した。充填した土壌に0.7%の寒天を3ml加え固化するまで室温で放冷した。その後、0.7%の寒天を3ml加え室温で放冷した。その後、0.7%の寒天を3ml加え室温で放冷した。その後、0.7%の寒天を3ml加え室温で放冷した。その後、0.7%の寒天を3ml加え室温で放冷した。その後、0.7%の寒天を3ml加え室温で放冷した。その後、0.7%の寒天を3ml加え室温で放冷し固化させた。寒天の表面にレタス(Lactuca sativa)の種子を各試験管に3粒加え、すべて等間隔に置床させた。各サンプルにつき3本ずつ用意した(n=3)。すべての平底試験管を室温25℃の暗所に静置し、3日後の種子の発芽率と幼根長を測定した。発芽は「幼根が種子の全長を超えたとき」と定

義した.

### 2.2.根部滲出物の定性分析

Health, Process, Wilt の状態の果樹より採取したセイョウスモモの各根を  $75^{\circ}$ Cで 72 時間乾燥させたのちすり鉢で摩砕した. 摩砕した根 1 g あたりに, 100 mlの 80%エタノール (v/v) を加え,  $15^{\circ}$ Cで 24 時間振盪抽出した. 抽出液はエバポレーターを用いて  $40^{\circ}$ Cで濃縮乾固し, サンプルをトリフルオロ酢酸と 0.1%アセトニトリルの 7:3 の混合液で希釈した. 希釈液 1 mlに対し, マトリックスとして 20 mg/mlの 2.5-Dihydroxy benzoic acid を 5 ml 加え, MALDI-TOF-MSを用いて定性分析を行った. 検出された化合物の推定には MassBank のマススペクトルデータベースを使用した.

### 2.3.トリヒドロキシアセトフェノンの他感作用検定

2.2.の MALDI-TOF-MS 分析結果よりトリヒドロキシアセトフェノンが立ち枯れに関与していると推定された. トリヒドロキシアセトフェノンが植物に影響を与えているか検証をするため、レタス種子を用いて他感作用検定を行った. 2gの乾燥黒ボク土を平底試験管に充填し、最終濃度 10⁴ M, 10³ M, 10² Mのトリヒドロキシアセトフェノンを加えた 0.7%の寒天を 3 ml 加え、室温で放冷し固化させた. さらに 0.7%の寒天を 3 ml 加え同様に室温で放冷し固化させた. 寒天表面にレタスの種子を各試験管に 3 粒ずつ加え、等間隔で置床させた. なお、トリヒドロキシアセトフェノンを加えない系を Control とした. 各サンプルにつき平底試験管 3 本ずつ用意し、室温 25℃の暗所に静置し、3 日後の種子の発芽率と幼根長を測定した.

## 3.実験結果及び考察

### 3.1. 根圏土壌中成分の他感現象検定

検定に用いたレタス種子の発芽率及び幼根長を示す (図 1). 発芽率は Control が 89±9%, Health が 44± 24%であり、Process、Wilt の土壌では全ての種子が発芽しなかった。 発芽したレタスの幼根長は、Control が  $2.9\pm0.3$  cm、Health が  $1.7\pm0.2$  cm だった。 寒天層

により土壌の物理特性を無視できるため、Process と Wilt にはレタスの種子の発芽およびその成長を阻害 する物質が含まれていることが示唆された.

## 3.2. 根部滲出物の定性分析

MALDI-TOF-MS 分析で得られたマススペクトルは、立ち枯れの進行度により差がみられた (図 2). Health で見られなかったピーク a,b,c,e,f が Process から検出され、Wilt からはピーク c,e,f が検出された. マスペクトルデータベースより Process にのみ存在しているピーク a はトリヒドロキシアセトフェノンに近い化合物であると予測された. 一方、Wilt ではピーク a が検出されなかったことから、枯死後は土壌中で分解され消失していることが読み取れる. 本実験ではトリヒドロキシアセトフェノンに着目して他感作用検定を行った.

## 3.3.トリヒドロキシアセトフェノンの他感作用検定

トリヒドロキシアセトフェノンの他感作用検定によるレタスの種子の発芽率、発芽したレタスの幼根長を示す (図 3). 発芽率は Control が  $89\pm9\%$ , 土にトリヒドロキシアセトフェノンを  $10^4$  M 加えた系が  $78\pm9\%$ ,  $10^{-3}$  M 加えた系が  $78\pm16\%$  であり、 $10^{-2}$  M 加えた系が  $33\pm16\%$ だった。また、発芽したレタスの幼根長は、Control が  $3.4\pm0.4$  cm、 $10^{-4}$  M 加えた系が  $2.8\pm0.4$  cm、 $10^{-3}$  M 加えた系が  $2.9\pm0.2$  cm であり、 $10^{-2}$  M 加えた系が  $1.5\pm0.0$  cm だった。よって  $10^{-2}$  M のトリヒドロキシアセトフェノンにおいてレタスの成長阻害効果が確認された。

## 4.結論

Process 中に特異的に検出されたトリヒドロキシアセトフェノンは 10<sup>-2</sup> M の濃度でレタス種子への発芽及び成長阻害作用が確認された. Process で突然発生したトリヒドロキシアセトフェノンは立ち枯れ病の原因物質であることが推測された.

#### 参考文献

- 1) 水谷房雄; 杉浦明; 苫名孝. モモのいや地に関する研究. 園芸学会雑誌, 1977, 46.1: 9-17.
- 2) Israel DW, Giddens JE, Powell WW. Plant Soil. 1973;39(1):103-112

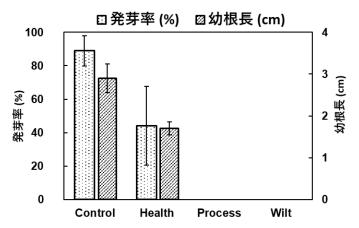


図 1 セイョウスモモの根圏土壌がレタスの種子の 発芽率及び幼根長に及ぼす影響

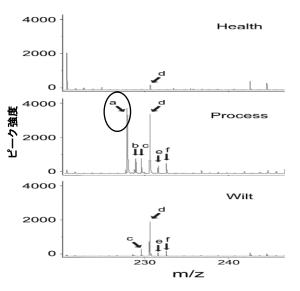


図 2 根部滲出物質の MALDI-TOF-MS 分析で得られた各サンプルのマススペクトル

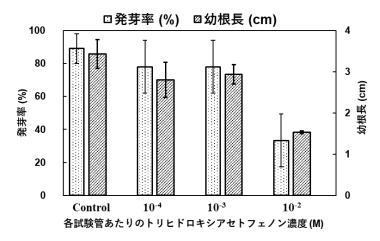


図 3 トリヒドロキシアセトフェノンがレタスの種子の発芽率及び幼根長に及ぼす影響