

PGPR物語：今昔そして未来

千葉大学園芸学部植物病理学研究室 ^{しし} 突 ^ど 戸 ^{まさ} 雅 ^{ひろ} 宏

はじめに

PGPRは、Plant Growth-Promoting Rhizobacteriaの頭文字として約20年前にKLOPPERらが提唱した言葉である(KLOPPER and SCHROTH, 1978)。植物生育促進性根圏細菌とも訳されているが、一般にはPGPRと英語の頭文字をそのまま使用する場合が多いようである。この言葉の意味合いからすれば、植物病理学よりも土壤微生物学により深いかわりを持つ研究分野のようにもとれるが、実際にはPGPRに関する研究の中心的部分は植物病理学で行われてきた。それは、KLOPPERら(1980)の研究、すなわち蛍光性*Pseudomonas*属によるジャガイモ軟腐病の抑制効果がシデロフォアによる3価鉄イオンの吸収阻害によるものとしてNatureに掲載されたことによって、PGPRがバイオコントロールの一つの担い手として一躍注目されたことによるものだろう。1980年代のPGPRに関連する研究は、植物根圏に生息する細菌がいかに拮抗的に植物病原菌や植物生育阻害性根圏微生物(Deleterious Rhizosphere Microorganisms=DRMO)に働いているか、そういったことが発病抑止土壌のような現象を説明するに足るかどうか、あるいは分離された細菌はバイオコントロールエージェントとして効果があるのかどうか、といったことが盛んに行われてきた(HANDELSMAN and STABB, 1996)。

一方、*Azospirillum*などいくつかの根圏細菌属は、バイオコントロールの作用を持たずとも空中窒素を固定したり、植物ホルモンを生産したりすることで直接宿主植物の生長を促す例も多々知られており、それらもPGPRに含まれてきた。それらの微生物は植物とゆるやかな共生関係を築いているのであろうが、その生長促進効果が本来の共生微生物とされているマメ科の根粒菌や菌根菌に比べるとかなり小さいので、注目度も低く、知識の蓄積はまだ少ないといわざるを得ない。ただし、こうした半共生的な微生物は再生が困難な林地での植林事業に効果が見られる場合も報告されており(CHANWAY, 1997)、今後の途上国での緑化事業などへの

応用が期待されるところではある。

このようにPGPRは、最終的な効果が植物生長促進であっても、その作用機作から大きく二つのタイプに分けられるので、BASHANら(1998)は、接種効果がバイオコントロールによる細菌をバイオコントロールPGPB(Plant Growth-Promoting Bacteria)、それ以外の植物の生長を直接促す細菌を単にPGPBと呼ぶべきだと提案している。なお、この提案に対してPGPR電子ニュースレターでは意見を募集している。ウェブサイトアドレスは<http://www.ag.auburn.edu/pgpr>である。

さて、バイオコントロールPGPBであってもPGPBであっても、この種の微生物の接種試験には非常に頭の痛い問題が存在していた。接種効果の不安定性の問題である(KLOPPER et al., 1989)。この問題を解決しない限り、PGPRに対する現場での信頼は勝ち得ない。この問題に対して研究者達はどのように対処し、どのような知見を獲得してきたのであろうか。そして、それらの知見はこれからどのように生かされていくのであろうか。

I メカニズムの解明と接種効果の安定性

PGPR関連の研究発表は、この10年余りで4,000件もなされている(BASHAN and HOLGUIN, 1998)。PGPRが世に出てからしばらくは、どのような細菌がPGPRであるのか、といった話題が研究者の関心を引くことも多かったが、バイオコントロールPGPBの多くが*Pseudomonas*属菌や*Bacillus*属菌が占めていることがわかってくると、研究の主眼は防除効果のメカニズムに移っていった。なぜなら、詳細なメカニズムがわかれば、効果の高い菌株と効率の良い手段を組み合わせ防除効果の安定性を高めることが望めるだろうし、それに何より、目に見えないメカニズムの追求は恒常的に科学的过程の根幹でもある(BOULTER, 1999)。また、そのような物質的なアプローチが、これまでの生物生産技術に大きな貢献をしてきたことに疑いの余地はない。

そこで明らかにされてきたのが、シデロフォアやシアン化合物産生のシグナル伝達レベルでのメカニズムであり、また、phenazine-1-carboxylic acid (PCA) に代表されるフェナジン系化合物や2,4-diacetylphloroglucinol (Phl) とか pyoluteorin や pyrrolnitrin のよう

PGPR Story: Past, Present and Future. By Masahiro SHISHIDO

(キーワード: PGPR, PGPB, バイオコントロール PGPB, 根圏微生物群, 接種量-発病抑制曲線)

なポリケチド系化合物産生の分子レベルでのメカニズムでもある(図-1)(THOMASHOW and MAVRODI, 1997)。これらの業績が、筆者らの科学知識の向上に貢献してきたことは間違いないが、PGPR が頼れるバイオコントロール技術として確立していくには、まだ困難な道のりが残っていると思わざるを得ない。なぜなら、土壌や根圏は難培養性微生物も含めて多様な生物間の相互作用が無数に起こっている系であるから、接種した PGPR がうまく働くかどうかはそういった相互作用の最終的な結果として、目的の微生物 vs. 植物、あるいは微生物 vs. (植物 vs. 微生物) の因果関係を成立させなければならないからである。そうだとすれば、De LEIJ ら (1997) が指摘したように根圏での微生物の生態を個々のメンバーではなくコミュニティとしてとらえ、その機能を把握していくことが重要となってくるであろう。

ところが、根圏での微生物コミュニティ機能をとらえることは簡単なことではない。筆者らがカナダの林地土壌で、PGPR である蛍光性 *Pseudomonas* 属 3 菌株と *Bacillus* 属 3 菌株を使って行った実験でも、PGPR 接種によって土壌や根圏の微生物コミュニティの機能的様相(炭素源分解パターン)は変化した、その変化に一定の傾向は見いだされなかった (SHISHIDO and CHANWAY, 1998)。

しかし、これは考えてみれば当然のことかもしれない。土壌や根圏での生物因子はそれぞれ無数にあり、因子間の相互作用を示す関数は無限の行列式となる。しかも、因子同士は強いつながりや弱いつながりといったギルドを形成しており、個々の因子の機能をひっくりめれば全体の機能になるような単純な構造にはなっていない。さらに、これらの因子そのものやギルドは時間と共に変化する。このような複雑系を呈する土壌や根圏において、PGPR のようなインプットに対して微生物コミュニティの反応に安定性を求めるほうが間違っているとも考えられよう。例えば、コムギ根圏で *Pseudomonas aureofaciens* 30-84 が phenazine を生産するには N-acyl-homoserine lactone (AHL) がシグナル物質として使われているが、他の根圏 *Pseudomonas* 属菌の産する AHL によっても 30-84 の phenazine 産生遺伝子が活性化することが示されている (PIERSON et al., 1998)。*in vitro* での実験結果が *in situ* でうまく再現されない問題は今に始まったことではない。しかし、その原因がいまだに大まかな推論でしか説明されていない現実も認識されなければならないだろう。

II 内生菌と誘導抵抗性

この接種効果の不安定性に対処する方策として、近年注目されているのが内生菌と誘導抵抗性である。PGPR が根内に着生できれば土壌や根圏の複雑な相互関係をある程度は回避できるだろうし、しかも、それらの多くが宿主の全身抵抗性を誘導するという報告が相次いでいる(第 4 回 PGPR ワークショップ, 1997)。

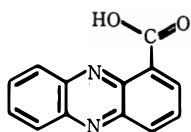
PGPR による抵抗性誘導のメカニズムは、まだ解明しなければならないことが山積している状況であるが、具合が良いのは過敏反応によって誘導される全身獲得抵抗性 (SAR) という比較検討できるモデルの存在である。ただし、PGPR 接種では宿主根の過敏反応による壊死は起こらないから、同じ作用機構というわけにはいかないだろう。例えば、PGPR 接種はファイトアレキシンを蓄積させるのではなく、むしろ PGPR は宿主の感受性を高めて、宿主が病原菌に侵入されたときに産生するファイトアレキシン量を増加させているらしい (VAN PEER et al., 1991)。また、エリシターとしては *Pseudomonas* 属ではシデロフォア類やリボ多糖類が有力視されているが、中には SAR のようにサリチル酸を産生して灰色かび病の発病を抑制する *Pseudomonas* も報告されている (De MEYER and HOFTE, 1997)。しかし、サリチル酸の増加なしに誘導抵抗性の発現が見られた例もあり (PIETERSE et al., 1996)、PR タンパク質が関与せずとも PGPR による誘導抵抗性は発現する (HOFFLAND et al., 1995) ことを考慮すると、やはり PGPR による抵抗性誘導はいわゆる SAR とは違ったシグナル伝達経路で(も)起こっていると考えたほうが良さそうである。

実際に抵抗性を誘導する PGPR が圃場でも効果を示すかどうかについては、KLOEPPER のグループが势力的に仕事をしている (1998 年アメリカ植物病理学会要旨集 S2, S65, S102, S103) し、また、日本でも相野 (1999) が、内生 *Pseudomonas* 属菌を使ってトマト青枯病やハクサイ根こぶ病に対して圃場レベルで比較的安定した防除効果をあげている。さらに、最近の傾向としてバイオコントロールエージェンツとして細菌を用いる場合、そのターゲットが地下部から地上部病害にも移ってきた (相野, 1999) ことを考え合わせても、内生菌の利用と抵抗性誘導が、より効果が安定したバイオコントロール技術として期待され、注目されている証しであろう。

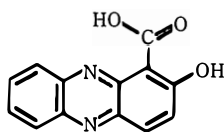
III PGPR の未来

予測力のある土壌生態学を構築することは難しい (古

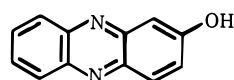
フェナジン系



phenazine 1-carboxylate

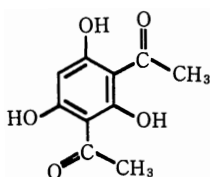


2-hydroxyphenazine 1-carboxylate

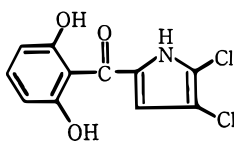


2-hydroxyphenazine

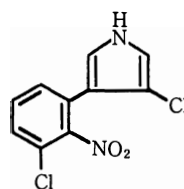
ポリケチド系



2, 4-diacetylphloroglucinol



pyoluteorin



pyrrolnitrin

図-1 PGPRである *Pseudomonas* 属菌が産生する主な抗菌性化合物 (THOMASHOW and MAVRODI, 1997)

屋, 1999)。抵抗性を誘導する内生菌が, PGPR 接種効果の安定のため有望であることは述べた。しかし, 接種効果が安定していることがバイオコントロールの最終目的ではない。バイオコントロールは, 経済的に有効なレベルの防除効果があって初めて有用技術となるのである。接種効果の安定性は, 経済的に有効なレベルの防除効果を予測するための必要条件に過ぎない。仮に非常に効果の安定した PGPR があったとしても, その防除効果が減収許容水準を下回るものであったなら, 一体誰がそんなものを使うだろうか。

そこで, 有効な菌株の防除程度を予測する知識とそれを高める技術が必要となろう。バイオコントロールによる防除効果を帰納的に回帰式で示した例はいくつかある (e. g., RAAIJMAKER et al., 1995; SCHISLER et al., 1997) が, 演繹的に防除効果を予測できるモデルはまだ少ない。MONTESINOS ら (1996) は, 三つのモデル, すなわちマイナス指数関数モデルと飽和双曲線モデルとログノーマル確率分布を基にしたプロビットモデルの有効性を4組の病原菌-バイオコントロールエージェントを使って検証しているが, この三つの中ではマイナス指数関数モデルでパラメータの平均標準誤差が最小であった。

マイナス指数関数モデルは, JOHNSON (1994) が病原菌の接種密度-発病度を予測する指数関数を使ったモデルをバイオコントロールエージェントの影響も含めて,

すなわち二つの指数関数を使って, バイオコントロールエージェントの接種量に対する発病抑制効果を予測するために発展させたものである。その式は,

$$y = 1 - \exp(-kx[1 - A[1 - \exp(-cz)]]]) \quad (1)$$

で表されるが, ここで y は発病度, x と z はそれぞれ病原菌とバイオコントロールエージェントの接種量, k と c は病原菌とバイオコントロールエージェントの効果を示す定数, そして A は漸近線パラメータ, すなわちバイオコントロールエージェントによる防除効果が, 何らかの要因で頭打ちになるときの割合を示している。もし, バイオコントロールエージェントの効果が100%発揮される理想的条件であれば $A=1$ となり, 式(1)は図-2のような曲線を示す。

ところで, バイオコントロールエージェントである非病原性 *Fusarium oxysporum* Fo-B2 菌株 (雨宮ら, 1993) を使って, トマト萎凋病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*) に対する接種量-発病抑制曲線をプロットしてみたのが図-3である。残念ながら, これはPGPRを使った試験ではないが, バイオコントロールエージェントとしての参考にはなるであろう。図-2と図-3を比較すると確かに接種量に対する発病抑制度は帰納的にもマイナス指数関数的な様相を呈する。特に病原菌の接種濃度が高い (10^6 spores/ml) とによりモデルと一致しているようである。この傾向は MONTESINOS ら (1996)

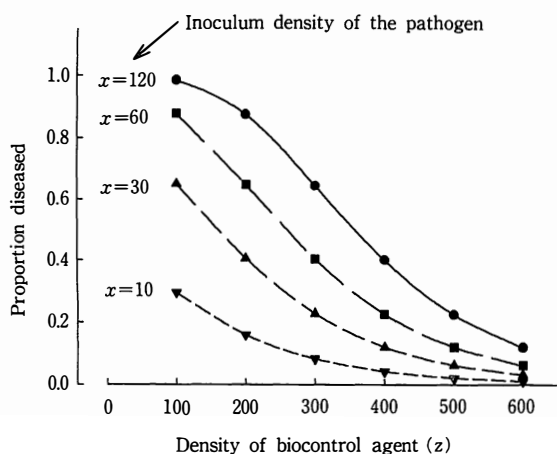


図-2 マイナス指数関数モデル [式(1)] を使ったときのバイオコントロールエージェント接種量-発病抑制曲線 (JOHNSON, 1994)

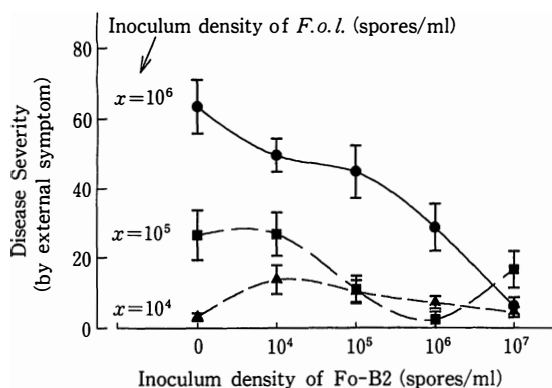


図-3 非病原性フザリウム Fo-B2 をトマト萎凋病に対してバイオコントロールエージェントとして使ったときの接種量-発病抑制曲線

の PGPR である *Pseudomonas* 属菌を使った結果とも合致している。ちなみに、Fo-B2 の k と c はそれぞれ $1.006 \times 10^{-6}/\text{spores}$ と $2.001 \times 10^{-6}/\text{spores}$ であり、 A は 0.9349 であった。

この漸近線 A が比較的高いのは、この実験が温室内で殺菌土壌を使ったためと考えられる。では、もしこの A が圃場のような環境でどんどん下がっていったら、バイオコントロールの効果はどうなるであろうか。それをプロットしたのが図-4 である。図を見れば明らかに、この A をいかに高めておくかが、バイオコントロールエージェントが実際に役立つレベルの防除効果を示すためのキーポイントとなるはずである。

最近、*P. fluorescens* CHA0 を使った実験で、 Zn^{2+} や $\text{NH}_4\text{MO}^{2+}$ 、それにグルコースが豊富にあると Phl の産生が促されること、一方 pyoluteorin は Zn^{2+} や Co^{2+} 、

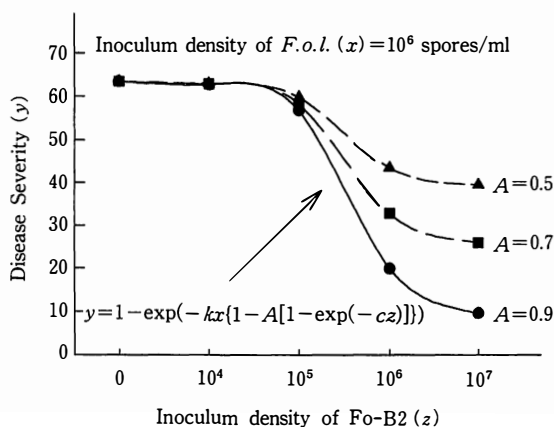


図-4 マイナス指数関数モデル [式(1)] をあてはめたときのトマト萎凋病に対する非病原性フザリウム Fo-B2 の接種量-発病抑制曲線

グリセロールの存在下で産生が活発化すること、pyrrolnitrin 産生はフルクトースやマンニトール、そして Zn^{2+} と $\text{NH}_4\text{MO}^{2+}$ の混合物で増加すること、さらにサリチル酸は $\text{NH}_4\text{MO}^{2+}$ やグリセロール、グルコースで産生が増加することなどが判明し、炭素源と他の必須元素のバランスがバイオコントロール関連物質の産生に強く影響していることも示唆された (DUFFY and DEFAGO, 1999)。このような抗菌性や誘導抵抗性関連物質の産生に関する環境条件の知見が集積すれば、漸近線 A を高めに保持しておく技術もやがて可能になるであろう。

おわりに…未来を超えた物語

‘未来を超えた’ などと書くといざが訝しがられるだろうが、要するに「過去・現在・未来」の次元の話ではないということである。PGPR 技術が生産者に受け入れられるためには、生産者自身が PGPR 技術を受け入れなければならない。これは禅問答でも何でも無い。使うかどうかを決定するのは科学的な知識そのものではなく、生産者自身の判断なのだと言いたいだけである。どんな高尚な科学理論に基づく予測でも必ず不確実性をはらんでいる (HUGHES et al., 1999)。そんなときは客観的な確率論に基づく判断よりも、当事者の主観的な判断のほうが役に立つのではないだろうか。厳密には決して不確実性から逃れられない系を相手にしている以上、当てになるのは精密な学説よりもむしろ当事者自身の常識的な判断のほうである。要するに、PGPR に防除効果があるかどうか疑心暗鬼するよりも、うまく効かせる自信のある人だけが使えばよいのである。なぜなら PGPR は物質ではなく生き物なのだから。ちなみに、これは PGPR に限らずバイオコントロール技術全般にいえることでもあ

ろう。

本稿を作成するに当たり、有益な助言をいただいた千葉大学園芸学部・雨宮良幹教授に謝意を表する。

引用文献

- 1) 相野公孝 (1999) : バイオコントロール研究会レポート 6 : 29~36.
- 2) 雨宮良幹ら (1993) : 日植病報 59 : 98.
- 3) BASHAN, Y. and G. HOLGUIN (1998) : Soil Biol. Biochem. 30 : 1225~1228.
- 4) BOULTER, D. (1999) : Phytochem. 50 : 1~7.
- 5) CHANWAY, C. P. (1997) : Forest Sci. 43 : 99~112.
- 6) DE LEIJ, F. A. A. M. and J. M. LYNCH (1997) : Proc. 4th Int. Workshop PGPR. Sapporo, Japan, pp. 38~43.
- 7) DE MEYER, G. and M. HOFTE (1997) : Phytopathology 87 : 588~593.
- 8) DUFFY, B. K. and G. DEFAGO (1999) : Appl. Environ. Microbiol. 65 : 2429~2438.
- 9) 古屋廣光 (1999) : 土と微生物 53 : 1~2.
- 10) HANDELSMAN, J. and E. V. STABB (1996) : Plant Cell 8 : 1855~1869.
- 11) HOFFLAND, E. et al. (1995) : Physiol. Mol. Plant Path. 46 : 309~320.

- 12) HUGHES, G. et al. (1999) : Plant Pathol. 48 : 147~153.
- 13) JOHNSON, K. B. (1994) : Phytopathology 84 : 780~784.
- 14) KLOEPFER, J. W. and SCHROTH, M. N. (1978) : Proc. 4th Int. Conf. Plant Pathog. Bact. Angers, France, pp. 879~882.
- 15) ——— et al. (1980) : Nature 286 : 885~886.
- 16) ——— et al. (1989) : TIBTECH. 7 : 39~44.
- 17) MONTESIONS, E. and BONATERRA, A. (1996) : Phytopathology 86 : 464~472.
- 18) PIERSON, E. A. et al. (1998) : Mol. Plant-Microbe Interact. 11 : 1078~1084.
- 19) PIETERSE, C. M. J. et al. (1996) : Plant Cell 8 : 1225~1237.
- 20) RAAIJMAKER, J. M. et al. (1995) : Phytopathology 85 : 1075~1081.
- 21) SCHISLER, D. A. et al. (1997) : ibid. 87 : 177~183.
- 22) SHISHIDO, M. and C. P. CHANWAY (1998) : Biol. Fertil. Soils 26 : 179~186.
- 23) THOMASHOW, L. S. and D. V. MAVRODI (1997) : Proc. 4th Int. Workshop PGPR. Sapporo, Japan, pp. 108~115.
- 24) VAN PEER, R. et al. (1991) : Phytopathology 81 : 728~734.

書評

『種子伝染病の生態と防除』

——健全種子生産をめざして——

大畑貫一・國安克人・高橋廣治・

栃原比呂志・長尾記明 共編

B5判, 289ページ

定価 9,030 円(本体価格+税), 送料 380 円

日本植物防疫協会 発行

種子伝染病と聞いてすぐ思い出すのは、いちばんホットな去年のスイカ果実汚斑細菌病騒動、少し古くは1973, 74年のスイカ台木用ユウガオつる割病の突発、さらに古く1966~68年のキュウリ、スイカのCGMMVの大発生、などであろう。三回とも発生した当初は、被害の凄さとそのあとの心配とで、関係者をそれこそ震撼させたものだった。幸いなことに、そのつどの適切な研究や行政上の対応によって、数年の間に下火となり大事に至らずに済んで来た。しかしその一方で、種子伝染病に関する体系的な研究やこれに関する啓蒙的な成書の必要性が強く叫ばれて来た。幸い、今回日本植物防疫協会の主導で本書が出版されたことは、文字どおり時宜を得た大ヒットというべきであろう。本書をとりまとめられた編者、執筆者のみなさんと、これを推進された協会当局の熱意に、心から敬意を表したい。

さて内容であるが、概説した限り、類書が全くなかったわが国で、今の時点できりまとめられたものとしては、これ以上望むべくもないほどの出来栄である。大きく総論と各論に分けられているが、どちらかと云えば総論に力点がおかれ、内外の文献を参考に、大胆に体系化が試みられている。Seed pathologyに対する体系的な研究がほとんどなされて来なかったわが国の事情を考えれば、これは極めて適切な選択ということができよ

う。本書によって原型ができたので、今後はあとに続く人達が、形を修正しながら次々と肉づけして行っていたきたいものである。

執筆者の人達は先刻ご承知のことだが、わが国では、全体の耕地面積が少なく、それぞれの耕地も細切れで、その上ハウス栽培なども加わり、連作や“隣作”が行われやすい。そのために大多数の病原体にとって厳密な意味での処女地というものはほとんどなく、汚染種子によって処女地に病原体が持ち込まれる危険性は外国からの侵入以外全くないような状態である。種子伝染の重要性やSeed pathology研究の必要性が、頭では分かっているつもりで軽視されて来たのはそのためである。しかし本書の中でも強調されているように、また過日名古屋で開かれたシンポジウムでも論ぜられたように、これはむしろわが国の特殊な事情によるもので、世界の情勢は全く異なっている。国際化がいま以上に進む来世紀には、種子の健全性に関しても当然国際的な高水準が求められることになるが、このことについても本書では随所で指摘されている。

各論では33種(および種類)の作物の96病害について、それぞれの専門家が健筆を振っている。梅原によるイネばか苗病菌の伝染・汚染経路の記述や、国安によるウリ類つる割病とくにユウガオつる割病菌に関する記述などは、さすがにオリジナルな研究者による記述らしく、読んでいてももっと詳しく聞かせて欲しいような内容である。その他の病害についても、それぞれの執筆者が既往の研究をよく調べて、詳しく解説してくれているのは大変ありがたい。

本書が種子伝染病に関するはじめてのまとまった専門書として、植物病理学関係者だけでなく、園芸や種苗産業界など幅広い分野の人々によって愛用されることを願って止まない。

((財)農業技術協会々長 岸 國平)