

植物病害抵抗性の誘導

——アシベンゾラルSメチルを中心として——

農林水産省農業環境技術研究所殺菌剤動態研究室 ^{いし}石 ^い井 ^{ひで}英 ^お夫

はじめに

1999年の7月、「食料・農業・農村基本法」、いわゆる「新農業基本法」が施行された。そこでは、食料の安定供給などとともに、食料の安全性や、農薬等の適正使用の確保について、その必要性がうたわれている。

各種作物における、糸状菌・細菌病の防除にはこれまで、数多くの合成化学物質や一部の抗生物質が、殺菌剤として広く使用されてきた。これらを全く使用しないで作物を栽培した場合に、多大の被害が生じることは、経験的にあるいは圃場試験によって、幾度となく明らかにされてきた。

しかし、それにもかかわらず、殺菌剤など既存の「農薬」を取り巻く情勢には、今日極めて厳しいものがある。内分泌かく乱（環境ホルモン）作用に代表される、人体や環境への影響が懸念されるだけでなく、消費者、栽培者の有機農産物指向が高まっているからである。

このような社会環境のもとで、従来とは異なる、革新的な作物保護技術の開発が必要であることは述べるまでもない。そこで本稿では、現在各方面で話題となっている化合物、アシベンゾラルSメチルを中心として、病害抵抗性の誘導とその機構、抵抗性誘導剤の将来展望などについて考えてみたい。なお、読者諸氏には、最近の拙著総説「農薬が誘導する植物の全身抵抗性」（石井、1999）もご一読の上、ご批判をいただければ幸甚である。

I 植物の免疫現象とその利用

哺乳動物のように抗体産生を伴うものではないが、植物にも生体防御機構が備わっていることは、古くから知られている。病虫害抵抗性なども、この機構によってもたらされると考えられる。しかし、何らかの資材を用いて人為的にこれを活性化させ、実際の農業場面で積極的に利用しようとする試みは、比較的歴史が浅い。

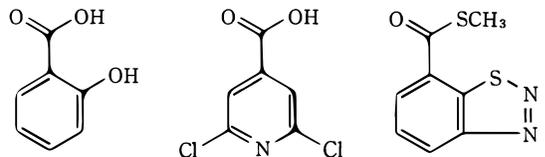
これまでにも、我が国で開発されたイネいもち病防除

のための主幹薬剤、プロベナゾール（商品名：オリゼメート）のように、病原菌には直接作用せず、植物に抵抗性を誘導して、間接的に発病を抑制するものは存在した。プロベナゾールは、年間出荷額が100億円にも達し、国内における代表的な病害防除剤である。しかし、その重要性は、海外では意外にも比較的最近まで認識されていなかった。このため、プロベナゾールの存在を忘れ、あるいは無視して、アシベンゾラルSメチルを、事実上初めての抵抗性誘導剤とする考えがあるほどである。

いずれにしても、アシベンゾラルSメチルの登場によって、昨今、病害抵抗性誘導剤の研究が、基礎・応用を問わず、一種の大きなブームを引き起こしていることは事実であり、この傾向は今後さらに高まると予想される。

II 病害抵抗性誘導剤とアシベンゾラルSメチル（図-1）

ベンゾチアジアゾール系（BTHs）の化合物、アシベンゾラルSメチル（benzo [1,2,3] thiadiazole-7-carbothioic acid S-methyl ester, CGA 245704）は、現在「Bion（バイオン）」という名前で4か国で上市されている。すなわち、コムギうどんこ病に対してドイツとスイスで、マンゴーのbacterial black spot (*Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae*) に対して南アフリカ共和国で、そして、我が国ではイネいもち病に対して登録がある。また、アメリカでは、EPA（環境保護庁）から“Reduced risk compound”に認定され、「Actigard」という名前で、トマトの細菌病やタバコのべと病を対象に、近々商品化が予定されている（辻本、1999）。



サリチル酸

INA

アシベンゾラルSメチル

図-1 植物に病害抵抗性を誘導する化合物

Induction of Disease Resistance in Plants by Acibenzolar-S-methyl. By Hideo Ishii

(キーワード：全身獲得抵抗性, 非殺菌性化合物, プラントアクティベーター, 植物免疫, 生体防御機構)

表-1 アシベンゾラルSメチルによって発病が抑制される作物病害(一部)

作物	病害
イネ	いもち病
コムギ	うどんこ病
ジャガイモ	疫病, モザイク病
キュウリ	炭疽病, 黒星病, うどんこ病, 苗立枯病, 斑点細菌病
トマト	疫病, うどんこ病, 萎凋病
キャベツ	べと病, 苗立枯病
リンゴ	Fire blight (火傷病)
ナシ	黒星病, 赤星病
マンゴー	Bacterial black spot
パパイヤ	疫病
ダイズ	菌核病
タバコ	べと病, 角斑病, モザイク病

この化合物が実用場面に登場する前には、同じくノバルティス社のイソニコチン酸誘導体、INA (2,6-dichloroisonicotinic acidでDCIAとも呼ばれる)などの開発試験が行われていたが、作物に対する葉害の問題等で、それらの化合物は陽の目を見なかった。

アシベンゾラルSメチルの処理によって発病が抑制される、主要な作物と病害の組み合わせを表-1に示した。前述のプロベナゾールも、いもち病のほか、イネの白葉枯病、もみ枯細菌病やレタス腐敗病などの細菌病の防除に利用できる。しかし、アシベンゾラルSメチルの防除スペクトラムは、それよりさらに広いものであろう。糸状菌や細菌による病害に一定の防除効果が期待できること、また実用性の有無はともかく、一般に防除が困難な土壌病害(線虫害も含む)やある種のウイルス、害虫、抵抗性誘導の試験例が少ない果樹病害の一部にも有効とされることは、これから述べる作用機構とも関連して、大変興味深い。

III アシベンゾラルSメチルの抵抗性誘導機構

1 非殺菌性化合物による生体防御機構の活性化

従来の殺菌剤の中にも、ホセチル-アルミニウム(商品名:アリエッティ)や、最近登場した、いもち病防除用のメラニン合成阻害剤カルプロパミド(商品名:ウィン)のように、ある種のファイトアレキシン生成を植物に誘導し、病害抵抗性の増強が報じられるものもある(倉橋ら, 1999)。しかし、現在のところ、それらの作用は二次的、補完的なものと考えるのが妥当であろう。

アシベンゾラルSメチルは既存の殺菌剤とは、その病害防除特性が大きく異なり、対象となる病原菌に対して、直接的な抗菌活性を示さない。その一方で、処理さ

れた植物に、局部的獲得抵抗性 (locally acquired resistance, LAR) のみならず、全身獲得抵抗性 (systemic acquired resistance, SAR) をも誘導することから、「プラントアクティベーター (植物活性物質)」などとも呼ばれる。なお、ある物質がプラントアクティベーターとして備えるべき条件として、以下の五つが提示されている (OOSTENDORP et al., 1998)。

すなわち、(1)生物因子により誘導される SAR と同じ防除スペクトラム、つまり同じ病害に有効であること、(2)SAR の生物学的な誘導の場合と同じ生化学的変化が植物体内に起こること、(3)SAR の情報伝達系を欠く植物の変異体では効果がないこと、(4)植物の抵抗反応の開始に一定の誘導時間が必要なこと、そして、(5)それ自体、直接的な抗菌活性がなく、また活性を持つ代謝物にも変換しないこと、である。

(1)の具体例として、筆者らのデータを紹介する。まず、キュウリの第1葉に、炭疽病菌の孢子懸濁液を点滴接種する。また、別のキュウリの第1葉にはアシベンゾラルSメチルを処理する。孢子を接種した葉には、やがて病斑が形成される。そこで次に、植物体全体に炭疽病菌の孢子懸濁液を噴霧接種して、その後の発病を観察した。すると、孢子を前接種したキュウリの上位葉では防除価 83.1、また、アシベンゾラルSメチルを前処理した場合にも防除価 91 が得られた。すなわち、生物学的な SAR の誘導が見られたのと同じ炭疽病に対して、アシベンゾラルSメチルが高い発病抑制効果を示した。

(2)と(3)の条件については、後ほど述べることにして、(4)に進めよう。抵抗性誘導に用いる資材が化合物であれ、微生物のような生物因子であれ、植物に処理してから、効果を表すまでには、通常一定の時間が必要とされる。抵抗性誘導活性があるものでも、処理後直ちに病原菌を接種したのでは、十分な効果が得られないことが多い。しかし、アシベンゾラルSメチルに関しては、処理数時間後にキュウリ炭疽病菌や黒星病菌を接種しても、LARのみならず、SARまで誘導される (ISHII et al., 1999; NARUSAKA et al., 1999 a)。つまり、アシベンゾラルSメチルは、速やかに抵抗性誘導のための引き金を引く化合物である。ただし、これは必ずしも、病原菌の宿主認識の初期行動が抑えられることを意味しない。

最後の条件(5)に関して、筆者は、アシベンゾラルSメチルがメロンつる枯病菌の多くに培地上で、菌糸生育を抑えることを見いだした (ISHII et al., 1999) が、これは唯一の例外であり、通常この化合物は、培地上での菌糸生育やスライドグラス上での孢子発芽、発芽管伸長に

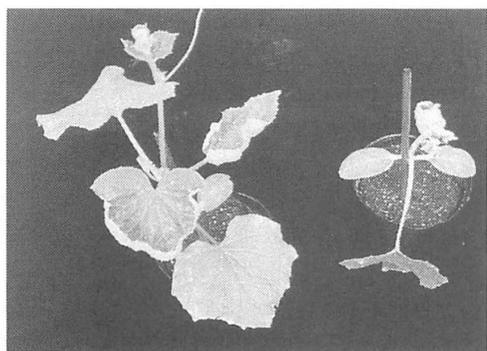


図-2 アシベンゾラル S メチルのキュウリ黒星病に対する抵抗性誘導
右：蒸留水処理，左：化合物処理（石井原図）

ほとんど影響しない。代謝物についても同様であるといわれている。それでは、植物体上ではどうであろうか？

2 植物の感染・発病の制御

キュウリの第 1 葉のみにアシベンゾラル S メチルを処理し、その後植物体全体に黒星病菌を接種した場合にも、SAR の誘導、発現が見られる（図-2）。そこで、顕著な発病抑制が見られた第 3 葉について、黒星病菌の感染行動を経時的に光学顕微鏡で観察した。その結果、分生胞子の発芽や発芽管の伸長は全く影響されなかった。さらに侵入後の菌糸形成も、わずかに遅延したり、抑制されたりする場合はあったものの、大きく阻害されることはなかった（ISHII et al., 1998）。したがって、キュウリと黒星病菌の組み合わせにおいては、侵入による菌糸伸長から病斑形成に至る過程で、抵抗性が実際に発現すると考えられた。

イネいもち病菌などでも、アシベンゾラル S メチルの処理によって、付着器形成までは阻害されないものの、その後の侵入や菌糸の進展が阻止される（加治ら, 1997）。しかし、菌の感染行動への影響や防御反応の性質は、病原菌や植物の種類によって異なることもあったと考えられる。

3 抵抗性誘導の分子機構

アシベンゾラル S メチルや INA は、その化学構造がサリチル酸に類似することから、植物に対する病害抵抗性の誘導機構を考えると、サリチル酸アナログとして捉えることが多い。しかし、微生物や無機化合物による SAR の誘導過程で、しばしば重要な役割を果たすとされるサリチル酸の生成量が、アシベンゾラル S メチル処理で増大したという報告はない。タバコなどで、アシベンゾラル S メチルはサリチル酸生合成に影響しない（FRIEDRICH et al., 1996）。

サリチル酸ヒドロキシラーゼをコードする *nahG* 遺伝

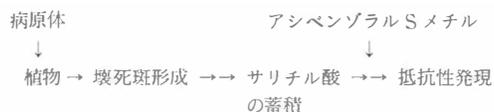


図-3 SAR のシグナル伝達系とアシベンゾラル S メチルの作用部位に関するモデル (LAWTON et al., 1996)

子を導入して、サリチル酸をカテコールに分解するようになった植物では、SAR 関連遺伝子の発現も SAR も見られなかった（LAWTON et al., 1995）。そこで、サリチル酸の蓄積が SAR に必須であり、これこそが植物体を移動するシグナルと考えられた。しかし、サリチル酸の重要性は認識されつつも、その全身移行性については、今日懐疑的な見方が強い。アシベンゾラル S メチルによる SAR の誘導は、この *nahG* 遺伝子による組換え植物でも見られることから、この化合物はむしろ、サリチル酸の下流に作用して、SAR を発現すると考えられている（LAWTON et al., 1996; 図-3）。

キュウリでは、アシベンゾラル S メチルの処理により、SAR が誘導されるが、それに伴って、上位葉でもパーオキシダーゼ、キチナーゼおよびグルカナーゼ遺伝子の転写活性が増大した（NARUSAKA et al., 1999 a）。実際にパーオキシダーゼ活性が増大することは、基質を用いた試験で（ISHII et al., 1998）、またキチナーゼが速やかに蓄積することも、抗体を用いたウェスタンブロットティングで確かめられた（NARUSAKA et al., 1999 a）。一方、同様の方法でサリチル酸を処理した場合、キチナーゼの蓄積は処理葉のみにとどまり、アシベンゾラル S メチルとの違いが見られた（NARUSAKA et al., 1999 b）。

キチナーゼやグルカナーゼは、炭疽病菌を前接種したキュウリから精製され、菌糸伸長に抑制作用をもつことが既に調べられている（JI and KUČ, 1996）。また、キチナーゼ遺伝子による組換え植物では、数種の病害に耐病性が増すことも知られている（Tabei et al., 1998）。したがって、アシベンゾラル S メチルによる抵抗性の誘導と発現に、キチナーゼが関与する可能性は高い。

オオイトダリの葉の抽出物を処理したキュウリからは、フェノール性の（DAAYF et al., 1997）、またケイ酸を処理したものは、フラボノール系の抗菌性物質（FAWE et al., 1998）が、それぞれファイトアレキシンとして報告されている。また、アシベンゾラル S メチルを処理すると、バイオオートグラフィーでキュウリ黒星病菌に抗菌活性を示す、ベンジルヒドロペルオキシドという物質が生成されることも、その後明らかになった（HORIO et al., 1998）。しかし、これら複数の抗菌性物質

が、抵抗性に実際に関与しているのかどうか、またどのような役割を果たしているのかについては、今後の検討課題として残されている。

アシベンゾラルSメチルの処理で、トウモロコシのべと病抵抗性が誘導されるが、これと平行して、タバコなどで見られる感染特異的タンパク質、PR-1やPR-5遺伝子の発現が高まった (MORRIS et al., 1998)。また、パセリでは、アシベンゾラルSメチルがエリシターの存在下で、フェニルプロパノイド経路のPAL (フェニルアラニンアンモニアリアーゼ) 遺伝子を活性化する (KATZ et al., 1998) ほか、コムギでは、リポキシゲナーゼ遺伝子や新規の遺伝子の発現も見られている (GÖRLACH et al., 1996)。

シロイヌナズナの *nim* (non-inducible immunity) 変異体では、サリチル酸のみならず、INA やアシベンゾラルSメチルによってもSARが見られない (LAWTON et al., 1996)。これは、これらの化合物が共通のシグナル伝達系に働くことを示唆する。タバコで、サリチル酸結合タンパク質が同定され、これにアシベンゾラルSメチルが拮抗的に結合することが示されている (Du and KLESSIG, 1997)。すなわち、サリチル酸やアシベンゾラルSメチルに共通するレセプターの存在が想定されるので、その特性解明が重要な課題であろう。

また、アシベンゾラルSメチルの直接の代謝物もSARを誘導することは既に知られている (KUNZ et al., 1997) が、これらの化合物の植物体での挙動はどうか？ 最近イスラエルで開かれた、第14回国際植物保護会議では、この問題も議論され、SARが誘導されるためには、植物体のその部位にアシベンゾラルSメチルが存在していなければならないとする見解も述べられた。しかし、もしそうならば、それはSARではなく、正しくはLARの誘導ということにならないか？

さらに、生物的な誘導と化合物による誘導では、蓄積する遺伝子の転写産物が異なることが、コムギで報告されている (SCHAFFRATH et al., 1997; MOLINA et al., 1999)。すなわち、別々のシグナル伝達系の関与が考えられる。

IV 抵抗性誘導研究の今後

アメリカ、ケンタッキー大学を近年退職された Dr. KUC の有名なモデル実験をはじめ、抵抗性誘導とその機構に関しては、既に多数の研究論文が世に送り出されている。しかし、PRタンパク質の蓄積だけでは、SARの現象を説明できないとする考えがあるほか、最近 Dr. HEATH (1999) が述べているように、SARのマーカーとしてしばしば利用されるPR-1についても、依然その

機能は明らかではない。双子葉植物と異なり、コムギでは、PR-1遺伝子は、抵抗性誘導のマーカーではないともいわれる (MOLINA et al., 1999)。

また、細菌やウイルスに対する抵抗性は、キチナーゼやグルカナーゼのようなPRタンパク質では説明がつかないのではないかと。そして、一体何が、このような複数病害に対する非選択的な抵抗性を誘導・発現するのであろうか？

このように考えると、アシベンゾラルSメチル (もしくはその代謝物) に限らず、抵抗性誘導物質の受容からSARの誘導、発現に至る一連の情報伝達系と、それぞれの機能についての全容の解明は、まだこれからであろう。それは、壮大な研究になると予想されるが、より自然に近い、新たな作物保護技術の開発という視点に立てば、大きな可能性をもつものではないだろうか。

V 抵抗性誘導剤の魅力と将来展望— IPMにおける役割

我が国では、アシベンゾラルSメチルはイネの育苗箱処理剤として実用化されている。従来は水面施用されていたプロベナゾールについても、最近、育苗箱処理剤が発売されている。アシベンゾラルSメチルは、キュウリその他では種子処理でも、発病抑制効果を発揮する。このように、抵抗性誘導剤は効果が持続的であることから、作業の省力化や、病害防除のための薬剤散布回数削減が期待できる。

施設栽培や傾斜地での、農薬による病害虫防除は一般に過酷な作業であることから、栽培者の高齢化が深刻な我が国において、農業の担い手不足の一因ともなっている。また、農薬による生態系のかく乱の一例として、薬剤耐性・抵抗性の問題が、新たに開発された薬剤に次々と現れて、防除を困難にしている。

プロベナゾールが、過去20年以上にもわたって広汎に使用されているにもかかわらず、全く耐性菌問題を生じていないことから、抵抗性誘導剤が耐性菌対策の一つとして、いかに有効であるかは、想像に難くない。

現在、作物保護の大半は、有害生物を直接標的とする化学防除に依存しているが、これまで述べたような病害抵抗性誘導剤を、バイオテク利用も含む抵抗性育種や、通常の殺菌剤と併用することによって、sustainable disease controlの実現がより容易になると期待される。そして、農薬使用量や生産コストの削減、農薬の環境影響の低減、農産物の安全性の向上、防除作業の軽労化、耐性菌問題の解消など、種々の問題の解決と環境保全型病害制御技術の開発をもたらしものと期待される。

前述のように、抵抗性誘導の研究は今日一つのブームとなっている。そして、生物防除資材や天然物、あるいはポストハーベスト果実の物理的防除と抵抗性誘導との関連もしだいに明らかになっている。したがって、プロベナゾールやアシベンゾラルSメチルとは異なる、新しい抵抗性誘導剤も将来市場に出回るものと思われる。

なお、ここで紹介した内容の一部は、筆者が所属する農業環境技術研究所において鳴坂義弘（現、国際農林水産業研究センター）、堀尾 剛の両研究員と、また茨城県農業総合センター園芸研究所の富田恭範氏、JA 全農営農技術センター、中澤靖彦氏（現、JA 全農東京支所）ほかと共同で行ったものである。さらに、ノバルティスアグロ(株)、辻本一幸氏や理化学研究所、山口 勇主任研究員、岐阜大学農学部、百町満朗教授には、有益なアドバイスをいただいた。これらの方々に、併せてお礼を申し上げる。

引用文献

- 1) DAAYF, F. et al. (1997) : Plant Physiol. 113: 719~727.
- 2) DU, H. and D. F. KLESSIG (1997) : ibid. 113: 1319~1327.
- 3) FAWE, A. et al. (1998) : Phytopathology 88: 396~401.
- 4) FRIEDRICH, L. et al. (1996) : The Plant Journal 10:

- 61~70.
- 5) GÖRLACH, J. et al. (1996) : The Plant Cell 8: 629~643.
- 6) HEATH, M. C. (1999) : PMPP 55: 75.
- 7) HORIO, T. et al. (1998) : Abstracts of the 7th International Congress of Plant Pathology: 1.4.10.
- 8) 石井英夫 (1999) : 今月の農業 43 (6) : 22~27.
- 9) ISHII, H. et al. (1998) : Abstracts of the 7th International Congress of Plant Pathology: 1.4.9.
- 10) ——— et al. (1999) : European Journal of Plant Pathology 105: 77~85.
- 11) JI, C. and J. KUĆ (1996) : Physiological and Molecular Plant Pathology 49: 257~265.
- 12) 加治 真ら (1997) : 日植病報 63: 222~223 (講要).
- 13) KATZ, V. A. et al. (1998) : Plant Physiol. 117: 1333~1339.
- 14) KUNZ, W. et al. (1997) : Pestic. Sci. 50: 275~282.
- 15) 倉橋良雄ら (1999) : 農薬誌 24: 204~216.
- 16) LAWTON, K. et al. (1995) : MPMI 8: 863~870.
- 17) ——— et al. (1996) : Proc. Brighton Crop Protection Conference: 967~972.
- 18) MOLINA, A. (1999) : MPMI 12: 53~58.
- 19) MORRIS, S. W. et al. (1998) : ibid. 11: 643~658.
- 20) NARUSAKA, Y. et al. (1999 a) : Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 65: 116~122.
- 21) ——— et al. (1999 b) : Plant Cell Physiol. 40: 388~395.
- 22) OOSTENDORP, M. et al. (1998) : 第13回報農会シンポジウム集: 9~21.
- 23) SCHAFFRATH, U. et al. (1997) : MPMI 10: 779~783.
- 24) TABEL, Y. et al. (1998) : Plant Cell Reports 17: 159~164.
- 25) 辻本一幸 (1999) : 今月の農業 43 (6) : 38~42.

■ 農薬に関する唯一の統計資料集

■ 登録のある全ての農薬名を掲載

1998年版 (平成9農薬年度)

農 薬 要 覧

農林水産省農産園芸局植物防疫課 監修

主な目次

- I 農薬の生産、出荷—種類別生産出荷数量・金額／製剤形態別生産数量・金額／主要農薬原体生産数量／種類別会社別農薬生産・出荷数量／など
- II 農薬の流通、消費—県別農薬種類別出荷金額／農薬の農家購入価格の推移／など
- III 農薬の輸出、輸入—種類別輸出数量／種類別輸入数量／仕向地別輸出金額／など
- IV 登録農薬—平成9年9月末現在の登録農薬一覧／農薬登録のしくみ／など
- V 新農薬解説
- VI 関連資料—9年度農作物作付(栽培)面積／主要病害虫の発生面積・防除面積／など
- VII 付 録—農薬の毒性及び魚毒性一覧表／関係機関等名簿／登録農薬索引／など

- ◆ B6判・719ページ
- ◆ 定価 本体7,000円(税別)
- ◆ 送料サービス

バックナンバー

- 1997年版—7,350円 送料サービス
 - 1995年版—5,505円 //
 - 1994年版—5,301円 //
 - 1989年版—4,485円 送料340円
- ※定価は税込価格です。

■ 品切絶版

1963~82, 83~88, 90~93, 96年版

■ ご注文は、個人は前金(現金・振替)で、機関購入は後払いも可、本会へ