

赤色光照射による病害抵抗性誘導と病害防除への応用

島根大学生物資源科学部 ^{あらせ}荒瀬 ^{さかえ}栄・^{うえの}上野 ^{まこと}誠・^{きはら}木原 ^{じゅんいち}淳一

はじめに

植物病害は、病気を起こすことのできる病原体（主因）と病気になり得る植物（素因）の遭遇と、そのときの両者を取り巻く環境（誘因）が発病に好適条件にあるときにのみ発生する。したがって、主因、素因および誘因の3要素のうちどれか一つを取り除くかその機能を低下させることが病害防除の基本となっている。これまでの病害防除は、主因を除くための農薬（主として合成殺菌剤）や素因の機能を低下させるための抵抗性品種の利用を中心に行われてきた。しかし、薬剤耐性菌の出現や抵抗性品種の崩壊等の問題が顕在化し、その対策とともに、このようなリスクを回避するための新たな防除技術の開発が求められている。

光（可視光）は、光合成により生長・生産・生存のためのエネルギーを得ている植物にとっては必要不可欠な因子である。さらに、植物病害の発生における3要素のうち環境（誘因）を構成する重要な因子の一つでもある。したがって光の有効利用は、病害防除を進めるうえでの有用な手段である。光を利用した病害防除については近紫外線による糸状菌の孢子形成の制御機構研究から生まれた「紫外線除去フィルムを利用した防除」がよく知られている。しかし、光による植物の抵抗性発現の制御とそれを利用した病害防除技術の開発に関する研究領域については手が付けられていない状況である。

筆者らは、光と植物の病害抵抗性の関係を研究する中で、病原糸状菌の孢子を噴霧接種した植物を赤色光の付加照射下に保つと発病が強く抑制される現象を見いだした（口絵①～③）。「光誘導抵抗性」の研究は、光を利用した病害防除技術の開発の可能性を強く示唆しただけでなく、その実用化は、現在大きな問題となっている「食の安心・安全」や「環境保全的生物生産」の推進にも応えることができると考える。本稿では、筆者らおよび海外でも報告された光誘導抵抗性の成果を紹介しながら、病害防除への応用について考察してみたい。

I 糸状菌病における光誘導抵抗性

1 殺生病原菌に対する抵抗性

灰色かび病菌（*Botrytis cinerea*）を接種したソラマメ葉を赤色蛍光灯の連続照射下（赤色光区）と暗黒（対照区）に保つと、赤色光区では対照区に比べて赤色斑点病の発病が著しく抑制された（口絵①）。両区における *B. cinerea* 孢子の侵入行動をタマネギ鱗片を用いて調査したが、孢子発芽、付着器形成および侵入菌糸形成はいずれも正常であることより、この発病抑制現象がソラマメの光誘導抵抗性によるものであることが明らかになった（Islam et al., 1998）。光誘導抵抗性の有効波長域を特性波長透過フィルターを用いて調査した結果、赤色光以外に黄色光も有効であることが判明した。赤色光区のソラマメに形成された病斑を光学顕微鏡観察するとソラマメ細胞壁は強く褐変し、病原菌の細胞内への侵入や伸展は対照区のそれに比べると非常に貧弱であった。また、電顕観察によると付着器直下の細胞ではパピラ形成も観察された。*B. cinerea* に対するソラマメの光誘導抵抗性の発現は、光合成阻害剤 DCMU あるいはタンパク合成阻害剤シクロヘキシミドの前処理により失われ、前処理薬では赤色光照射下であっても黒色大型病斑が形成された。このことは、光誘導抵抗性が *de novo* なタンパク質合成や光合成に依存した動的抵抗性の一つであることを示した。ソラマメに発現する光誘導抵抗性は、新病害として登録された斑点病の病原菌 *Alternaria tenuissima* に対しても有効であった（RAHMAN et al., 2003）。

赤色光区では病原菌の侵入菌糸の伸展が貧弱であったことから菌糸の生育を阻害する物質の存在が示唆された。そこで、赤色光区および対照区のソラマメ葉から滴下接種した孢子懸濁液を所定の時間後に回収し、それらの液中で *B. cinerea* 孢子を発芽させた。その結果、赤色光区の回収液に孢子発芽を強く抑制する活性が認められ、抗菌物質の生成・蓄積が明らかとなった（Islam et al., 1999）。これまで、ソラマメのファイトアレキシンとしては低分子のワイロン酸が知られているが、我々の見いだした抗菌物質は分子量、TLC 展開されたプレート上での挙動および紫外線照射下の呈色反応はいずれもワイロン酸の文献情報とは異なり、新規の化合物である可能性を示した。その後の研究で、本物質はガラクトー

Red Light-Induced Resistance of Plants against Pathogens and its Utilization in Plant Protection. By Sakae ARASE, Makoto UENO and Junichi KIHARA

（キーワード：赤色光，抵抗性誘導，病害防除）

ス、マンノースおよびグルコースをもつ分子量 38.5 kDa の糖タンパク質であることが明らかとなった (ISLAM et al., 2002)。

ソラマメ葉の *B. cinerea* に対する赤色光誘導抵抗性は、サリチル酸 (SA) の前処理により濃度依存的に抑制された。また、上述の抗菌物質の生成も SA の処理濃度に依存して低下した。SA 処理葉を赤色光区に保つと、処理後 6 時間から過酸化水素の検出試薬であるジアミノベンチジン (DAB) に対する陽性反応が認められ、反応はその後の *B. cinerea* 接種によりさらに強くなった。これらの結果は、SA 前処理葉では過酸化水素が生成されていることを示唆した。

SA と同様の赤色光誘導抵抗性の抑制は、カタラーゼの阻害剤であるアミノトリアゾールや過酸化水素の前接葉においても認められた。しかし、SA やアミノトリアゾールによる抵抗性の抑制効果はアスコルビン酸や NADPH オキシダーゼの阻害剤 diphenylene iodonium (DPI) の存在下では打ち消された。また、ソラマメ葉におけるカタラーゼ活性を調査すると、SA 無処理葉においては高い値を示したが、SA 処理葉ではその活性は著しく低下していた。これらの結果は、SA 前処理葉における過酸化水素生成はカタラーゼ活性の低下によるものであり、このことが結果として殺生性病原菌である *B. cinerea* の感染を促進させたと考えられる。

これまでの結果を基にソラマメの光誘導抵抗性の発現機構を考察すると次のように考えられる。すなわち、① *B. cinerea* は、光条件に関係なく孢子発芽時に少なくと

も感染を誘発するサプレッサーと抵抗性を誘導するエリシターという二つの異なる代謝産物を生産する。②赤色光下ではエリシター活性がサプレッサー活性より優先的に作用して抵抗性が誘導される。③SA 処理ソラマメ葉では、カタラーゼ活性の低下による過酸化水素の蓄積が起り、ソラマメ葉では細胞死が誘導され、このことが殺生性病原菌である *B. cinerea* の感染を促進させたと考えられた (図-1) (KHANAM et al., 2005 a; 2005 b)。

2 半活性病原菌に対する抵抗性

半活性病原菌であるいもち病菌に対するイネの光誘導抵抗性は、疑似病斑形成変異イネ関口朝日に形成される大型の関口病斑の研究から明らかにされた。3～4 葉期の若いイネにいもち病菌を接種すると、暗黒ではいもち病斑や褐点病斑が多数形成される野生型反応を示すのに対して、赤色光照射下ではいもち病斑より大型の関口病斑が形成される変異型反応を示す。しかも、形成される関口病斑は、野生型反応で形成されるいもち病斑や褐点病斑に比べると形成数が著しく減少する。さらに、関口病斑における菌糸伸展はほとんど認められず、病斑上の孢子形成に至っては皆無である。関口病斑部からは、いもち病菌の孢子発芽、付着器形成および侵入菌糸形成を阻害するトリプタミン (Try) が単離された。

変異イネにおける光誘導抵抗性は、トリプトファンからインドール酢酸が合成される過程 (トリプタミン経路) に介在するトリプトファン脱炭酸酵素 (TDC) やトリプタミン酸化酵素 (MAO) の活性増大による過酸化水素生成による DNA の断片化を伴った細胞死誘導は、半

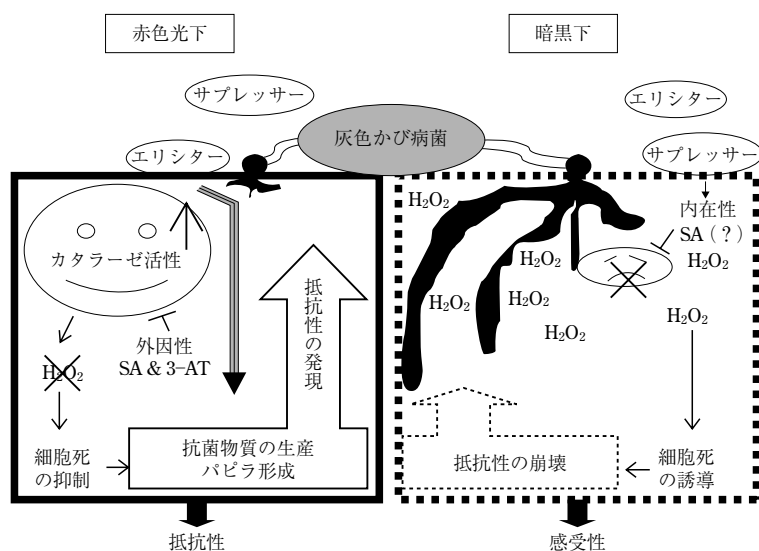


図-1 灰色かび病菌に対するソラマメの光誘導抵抗性の発現モデル

活物寄生菌であるイネいもち病菌とイネ細胞の初期共生関係の成立を阻害するためにイネいもち病菌感染は不成立に終わると考えられた (荒瀬ら, 2007)。

その後の研究で光誘導抵抗性は、変異イネに限らず野生型イネにおいても認められたが、変異イネとは大きく異なり赤色光下では形成される病斑はいもち病斑から褐点病斑へと変化した (口絵②)。野生型イネにおいても TDC および MAO の活性は光依存的に増加したが、変異イネのそれに比べると非常に低く、TDC 遺伝子の発現解析によれば、変異イネでは接種後、経時的に発現量が増加したのに対して、野生型イネでは感染初期に一過的に増加しただけであった。このことは、野生型イネの光誘導抵抗性発現には変異イネとは異なり Try 経路以外の経路が関与している可能性が高い。野生型イネではフェニルアラニンアンモニアリアーゼ (PAL) 活性が光依存的に増加し、感染葉には桂皮酸がいもち病菌の胞子発芽や侵入を抑制するのに十分な量蓄積していることが判明した。

また、オオムギにおいてもいもち病菌に対する光誘導抵抗性が確認され、PAL、TDC や MAO の活性増大や Try 蓄積が観察されている。

II 線虫病および細菌病における光誘導抵抗性

最近、赤色光照射が線虫病や細菌病の抑制にも有効であることを示す興味ある結果がシロイヌナズナで報告されている (Islam et al., 2008)。すなわち、赤色蛍光灯下で 4 週間生育させた野生型と *NahG* 型のシロイヌナズナの根部に根こぶ線虫を接種すると、両タイプにおける根こぶ形成が白色蛍光灯下で生育させたそれらに比べて著しく抑制されている。また、赤色光照射は、シロイヌナズナの葉身部における *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 の増殖と発病も強く抑制した。

赤色光区に保った野生型シロイヌナズナでは、全身獲得抵抗性の指標となる *PR-1* 遺伝子の発現量が葉身および根ともに、白色蛍光灯下に比べて 20 倍以上になっているのに対して、*NahG* 型ではわずかに 0.4 倍にしかっていない。したがって、シロイヌナズナの細菌病抵抗性にはサリチル酸依存的経路が重要であるが、根こぶ形成は *NahG* 型変異体においても抑制されたことより、根こぶ線虫病に対する抵抗性には従来のサリチル酸依存的経路とは異なる経路が関与しているようである。

III 病害防除への応用

Islam et al. (2002) は、赤色蛍光灯の連続照射下で 3～4 週間栽培したトウガラシ、カボチャおよびトマトを自

然光下に移した後、疫病菌 (*Phytophthora capsici*) を接種し、発病を調査している。その結果、赤色光下で生育させたこれら植物ではいずれも立枯病の発生が著しく抑制されることを確認している。これは、前章で述べたシロイヌナズナと根こぶ線虫の系の結果と同様、光誘導抵抗性の効果が未照射の地下部にも及んでいることを示しており、光が全身誘導抵抗性の誘導因子になり得ることを示す成果である。

我々は、最近問題となっているキュウリ褐斑病の病原菌 *Corynespora cassiicola* の胞子を切り取り葉に接種すると、赤色光照射下では発病が抑制されることを見いだした (口絵③)。圃場での赤色光の利用を目指して赤色蛍光灯を 24 時間連続点灯させたハウスと蛍光灯を点灯していないハウスでキュウリを栽培し、発病を比較した。その結果、蛍光灯を点灯させていない対照のハウスでは、褐斑病の発生が栽培日数の経過に伴って増加したのに対して、赤色光区での発生は明らかに抑制された (口絵④、図-2)。同一ハウス内に自然光区および赤色光区を設けてキュウリを栽培した場合も赤色光区では発病は抑制された (図-3)。また、接種源量の影響を除くために、褐斑病の自然発生が見られない時期にハウスで栽培したキュウリの株間に褐斑病菌を接種したキュウリ株を置き発病を調査した場合も、同様の抑制効果が蛍光灯点灯区では認められた (表-1) (RAHMAN et al., 2010)。以上の結果は、褐斑病の発病抑制が環境条件や接種源量の違いによるものではなく、赤色光照射によるキュウリの誘導抵抗性によるものであることを示している。

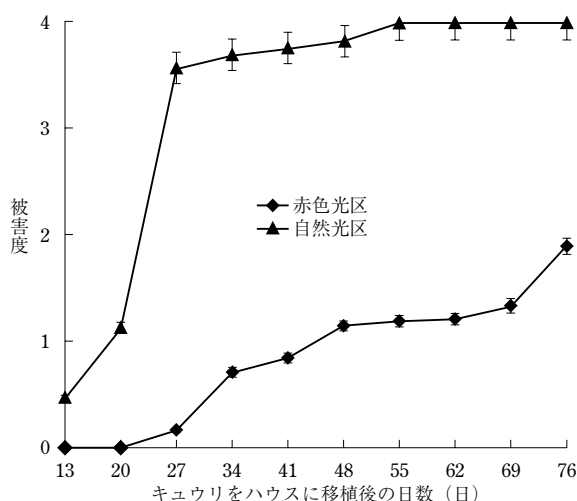


図-2 キュウリ褐斑病の発生に及ぼす赤色光照射の影響
被害度は、SHANER and FINNEY (1977) の方法により求めた。

表-1 褐斑病罹病キュウリをもち込んだハウス内で栽培したキュウリにおける褐斑病発生に及ぼす赤色光照射の影響

部位	光	キュウリ株									1 葉当たりの 病斑数
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
主茎	赤色光区	4.6	4.2	1.4	2.5	1.7	1.3	4.7	5.6	1.4	3.0 ± 1.6 *
	自然光区	21.4	17.0	15.0	20.0	10.1	23.6	15.0	13.0	6.9	15.7 ± 5.0
側枝	赤色光区	2.0	13.8	5.0	2.8	3.8	2.0	2.0	4.8	3.0	4.4 ± 3.7 *
	自然光区	32.2	40.0	61.7	38.8	19.0	31.8	33.0	29.0	10.0	32.8 ± 11.5

赤色光区の値に付いた星印 (*) は Aspin-Welch test ($P < 0.05$) により自然光区における値との間に有意差のあることを示す。

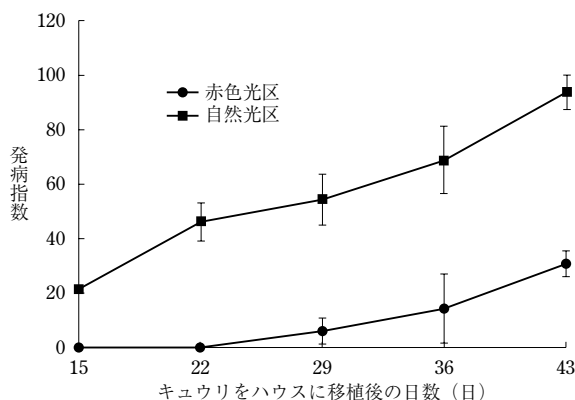


図-3 同一ハウス内に設けた自然光区および赤色光区でのキュウリ褐斑病の発病差異
発病指数は, SHANER and FINNEY (1977) の方法により求めた。

お わ り に

植物は, 糸状菌, 細菌, ウィルス等の多様な病原体の攻撃から身を守るための様々な抵抗性機構をもっており, その発現機構が分子生物学的レベルで解明されつつある。我々の成果は, 植物が光を利用して異物から身を守るための抵抗性発現機構をもっていることを示した。

植物の誘導抵抗性の発現にはジャスモン酸とサリチル酸を介した経路がそれぞれ重要な役割を果たしており, 前者は殺生性病原菌に, また後者は活活性病原菌に有効であることが報告されている。光誘導抵抗性の発現においてもこのような経路の関与が示唆されており, 今後詳細な解明を進めたい。

光誘導抵抗性の基礎研究から, 「赤色光を利用した病害防除技術の開発」という新たな研究領域が生まれてきた。今後は, 各種植物における光誘導抵抗性の普遍性とその発現機構, 有効病原菌あるいは赤色光の照射時間, 照射方法等を明らかにし, 実用化の方法を考えたい。

引 用 文 献

- 1) 荒瀬 栄ら (2007): 植物感染生理談話会論文集 **43**: 67 ~ 76.
- 2) ISLAM, S. Z. et al. (1998): J. Phytopathol. **146**: 479 ~ 485.
- 3) ——— et al. (1999): ibid. **147**: 65 ~ 70.
- 4) ——— et al. (2002): Mycoscience **43**: 471 ~ 473.
- 5) ——— et al. (2002): HortScience **37**: 678 ~ 681.
- 6) ——— et al. (2008): J. Phytopathol. **156**: 708 ~ 714.
- 7) KHANAM, N. N. et al. (2005 a): Physiol. Mol. Plant Pathol. **66**: 20 ~ 29.
- 8) ——— et al. (2005 b): J. Gen. Plant Pathol. **71**: 285 ~ 288.
- 9) RAHMAN, M. Z. et al. (2003): J. Phytopathol. **151**: 86 ~ 91.
- 10) ——— et al. (2010): ibid. **158**: 378 ~ 381.
- 11) SHANER, G. and R. E. FINNEY (1977): Phytopathology **67**: 1051 ~ 1056.

農林水産省プレスリリース (22.6.16 ~ 22.7.15)

農林水産省プレスリリースから, 病害虫関連の情報を紹介します。

<http://www.maff.go.jp/j/press/syouan> の後にそれぞれ該当のアドレスを追加してご覧下さい。

- ◆ プラムボックウイルスによる植物の病気の発生調査について (6/16)
/syokubo/100616_1.html
- ◆ 平成 22 年度病害虫発生予報第 3 号の発表について (6/17)

- /syokubo/100617.html
- ◆ 平成 22 年度病害虫発生予報第 4 号の発表について (7/8)
/syokubo/100708.html