

セジロウカによって誘導されるイネの病害抵抗性機構

九州沖縄農業研究センター地域基盤研究部 佐藤 さとう 雅・菅野 まさる かの ひろお 紘男*

はじめに

第二次世界大戦後に本格的に使用されるようになった化学合成農薬は、農業生産の向上に大きく寄与し、増加し続ける世界の人口を支える安定した食糧の確保のために不可欠な農業生産資材の一つとなっている。一方、化学合成農薬への依存は、残留農薬による環境負荷や食品の安全性への懸念、耐性菌や抵抗性害虫の出現といった問題を産み出す結果となってしまった。その対策として近年、減農薬・環境保全型の農業生産が推進されており、環境への負荷が少ないと考えられる生物農薬やプラントアクチベーターの研究・開発が盛んになっている。プラントアクチベーターは、用語が定着したのが最近10年程度という新しいジャンルの薬剤で、薬剤自体は直接的な抗菌作用をほとんど示さず、植物の生来の防御機構を誘導・発現することによって病害虫を防除しようというものである。このような誘導抵抗性は、様々な物質が作用する複雑な機構によって成立していると考えられており、従来使われてきた殺菌剤とは異なり耐性菌が出現するリスクの低い点も重視されている。

筆者らは本誌第56巻で、寄主植物であるイネを介するセジロウカといもち病菌間の相互作用について報告した(菅野ら, 2002)。セジロウカの吸汁加害によってイネに誘導されるいもち病(葉いもち)に対する抵抗性はその効果が強く、いわば生物農薬とプラントアクチベーターが組み合わされたような非常にユニークな現象である。本稿では、その後の研究で明らかになったこの現象の詳細や、様々な分野の研究者との協力により解明が進む抵抗性の誘導メカニズムについて紹介したい。

I セジロウカの加害による病害抵抗性誘導

セジロウカは、トビロウカとともに、梅雨時に中国大陸から飛来する海外飛来性のウンカとして知られているイネ害虫である。葉鞘の褐変、草丈や穂数の抑制、

The Mechanism of Induced Disease Resistance in Rice Plants Infested with the White-Backed Planthopper. By Masaru SATOH and Hiroo KANNO

(キーワード: セジロウカ, 葉いもち, イネ白葉枯病, 誘導抵抗性, PRタンパク質, ファイトアレキシン)

* 現所属: 名古屋芸術大学教養部生物学研究室

分けつ減少などの被害をイネにもたらすが、通常程度の発生ではトビロウカで見られる「坪枯れ」のような大きな被害をもたらすことはなく、収量に影響を及ぼすことはほとんどない。筆者らは、セジロウカの雌雄10対を5~6葉期のイネに48時間加害させ、ウンカを除去した後にいもち病菌を接種する試験を実施した。その結果、ウンカに加害させたイネでは無加害のイネと比較して葉いもちの進展型病斑数が減少し、発病が著しく抑制される現象を発見した(図-1)。この現象については本誌でも以前に紹介したが、その時点で判明していたことはそのほかに、①セジロウカの雌雄いずれかのみをイネに加害させても葉いもちの発病抑制程度がほぼ同様であったことから、本現象は雌雄共通である吸汁行動に起因すると考えられる、②セジロウカの加害を葉鞘部に限定しても葉身部での発病が抑制されたため、この抵抗性は全身的に誘導される現象であると考えられる、という2点であった(KANNO and FUJITA, 2003)。その後、さらにこの現象について調査を進めた結果、多くのことが明らかになっている。

イネに加害させるセジロウカの頭数を変えて葉いもちの発病抑制程度を調査した結果、わずか2対のウンカが加害しただけでもこの抵抗性は誘導されることがわかった。また、加害頭数との間には平行的関係が見られ、加害頭数が多いほど強力で発現することが明らかになった(図-2)。さらに、この誘導抵抗性がウンカの加害後どの程度の期間持続するかを明らかにするため、セジロウカを48時間イネに加害させて取り除いた後、最大15日間の間隔を空けていもち病菌を接種した。その結

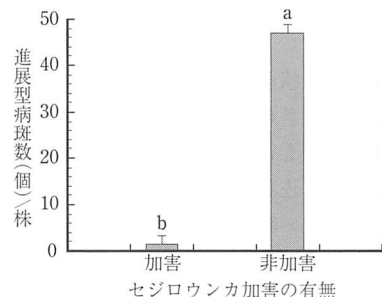


図-1 セジロウカの加害が葉いもちの発病に及ぼす影響

異なるアルファベット間には5%水準で有意差あり。

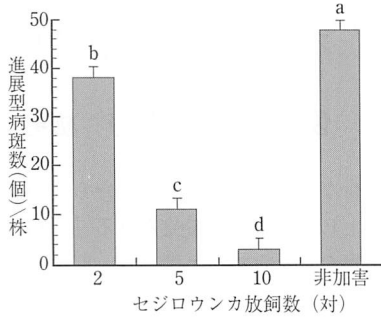


図-2 セジロウカの加害頭数が葉いもちの発病に及ぼす影響
異なるアルファベット間には5%水準で有意差あり.

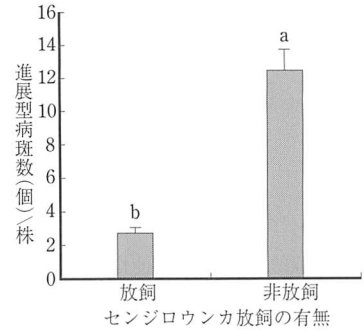


図-4 圃場条件下でセジロウカの放飼が葉いもちの発病に及ぼす影響
異なるアルファベット間には5%水準で有意差あり.

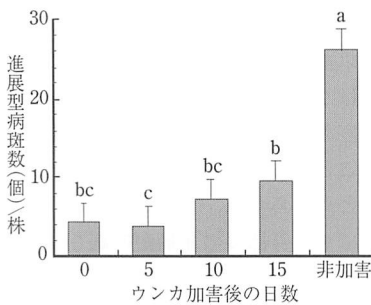


図-3 セジロウカ加害後の時間経過が葉いもちの発病に及ぼす影響
異なるアルファベット間には5%水準で有意差あり.

果、日数が経つとやや病斑数は増加するものの、ウンカ加害15日後でも葉いもちの発病は大きく抑制されることがわかった(図-3)。したがって、この抵抗性誘導現象は、セジロウカの加害後かなり長期にわたって維持されるものと思われる。その他、ウンカの加害を模して針でイネに傷を付けただけでは葉いもちの発病は抑制されなかったことから、この現象はセジロウカの口針挿入という単なる機械的な刺激によって発現するのではなく、セジロウカの唾液などに含まれる物質が主要な原因となっていることが示唆されている(KANNO et al., 2005)。

以上の現象は糸状菌であるいもち病に対する発病抑制効果であったが、さらに細菌病であるイネ白葉枯病に対しても同様の調査を行ったところ、同じような発病抑制効果が見られた(佐藤ら, 未発表)ことから、この誘導抵抗性は比較的広い範囲の病害に対して効果を有する可能性も考えられる。

II 圃場での病害抑制効果

本現象と同様に、植食者の加害により植物に病害抵抗

性が誘導される例はいくつか報告されている。しかしながら、それらの誘導抵抗性はほとんどがあまり強いものではなく、野外でも病害の抑制効果が確認できた例はわずか2例しかない(PADGETT et al., 1994; HATCHER and PAUL, 2000)。セジロウカによる発病抑制効果はそれら2例と比較しても非常に強力なものであることから、当研究センター・地域基盤研究部の中島隆上席研究官の協力により、圃場での病害抑制効果の有無を確かめる試験を実施した。九州沖縄農業研究センター内の水田で栽培した移植40日後のイネ(品種:ヒノヒカリ)にケースを被せ、中にセジロウカ10対を放して48時間加害させた後にいもち病菌を人工接種し、ケースを被せただけの対照区といもちの進展型病斑数を比較した。その結果、ウンカを加害させたイネでは対照区と比べて病斑数が著しく減少し、実験室内での試験と同様に圃場条件下でもこの誘導抵抗性が発現することが確かめられた(図-4)。

また、フィプロニル剤あるいはイミダクロプリド剤の育苗箱施用によりセジロウカの発生を抑えた水田と、無防除の水田を用意し、それぞれの水田のイネにいもち病菌を人工接種する試験も実施した。その結果、薬剤を施用してウンカを防除した水田では、無防除の水田と比較して進展型病斑数が増加するという結果が得られた(表-1)。これは、セジロウカを防除したためにイネへの加害が抑制された結果、病害抵抗性の誘導までもが抑制されてしまったためと考えられる(佐藤ら, 2005)。この試験以外にも、宮崎県においてフィプロニル剤またはイミダクロプリド剤のみを施用し、いもち病の防除は行わなかった圃場で葉いもちが多発した例が報告されている。この報告では、同時にイネの茎葉数に関する調査も実施したが、葉いもちの発生を助長した要因を解明することはできなかった(田村ら, 1998)。この例も、セ

表-1 長期持続型殺虫剤の育苗箱処理による防除がイもちの発病に及ぼす影響

(a) フィプロニル剤処理 (2002 年実施)

いもち病菌 接種日	株当たり進展型病斑数 (個)	
	処理水田	無処理水田
7月16日	29.2 ± 2.8	11.2 ± 1.9
7月23日	13.2 ± 2.0	9.8 ± 2.3

(b) イミダクロプリド剤処理 (2003 年実施)

反復	株当たり進展型病斑数 (個)	
	処理水田	無処理水田
反復 1	1.4 ± 0.3	0.1 ± 0.1
反復 2	2.8 ± 0.9	0.5 ± 0.3

注) (b)は7月10日にいもちを接種。(a)と(b)で病斑数が大きく異なるのは、セジロウカの発生数の差(2003年は前年より多発)が主な原因と思われる。

ジロウカの防除により加害が抑えられ、そのために病害抵抗性の誘導が抑制されてしまった結果であろうと考えられる。

なお、現時点では予備試験の段階であるが、いもち病と同様に白葉枯病についても、圃場条件下でセジロウカの加害によって発病が抑制されることが考えられる試験結果が得られており、セジロウカの加害によって誘導された病害抵抗性は、水田内において様々な病害の発生に抑制効果を及ぼしている可能性も示唆されている。

III 病害抵抗性誘導メカニズム

植物は病原体や植食者の攻撃を受けると、積極的に発動してそれらの攻撃に対抗する、能動的な防御機構を有している。有名なところでは、病原体の攻撃を受けた細胞やその隣接した細胞が、急激な細胞死を起こして病原体を封じ込める過敏反応 (hypersensitive reaction ; HR) がこの能動的な防御機構に含まれる。HR を起こした植物では、その後様々な病原体に対する非特異的な抵抗性が植物体全身に誘導されて再感染に備える現象が見られるが、これは全身獲得抵抗性 (systemic acquired resistance ; SAR) と呼ばれている。また、HR 近傍の未感染部位には、SAR の誘導よりも早く、SAR よりも強い抵抗性が誘導されるが、これは局部獲得抵抗性 (local acquired resistance ; LAR) と呼ばれている。SAR や LAR を起こした植物では、サリチル酸 (salicylic acid ; SA) や、感染特異的タンパク質 (pathogenesis-related protein ; PR タンパク質) と総称される一群の防御タン

パク質の蓄積が観察される。SA は、抵抗性関連遺伝子の発現を誘導するシグナル伝達系に関わる重要な物質として知られており、PR タンパク質はキチナーゼやグルカナーゼなどの様々な活性をもつタンパク質群で、SAR や LAR で特徴的に誘導される物質である。

一方、植食者による食害や傷害によって誘導される抵抗性も存在する。草食昆虫の消化酵素を阻害する、プロテイナーゼインヒビターによる虫害抵抗性がよく知られているが、食害や傷害によって全身的な病害抵抗性が誘導される例も報告されている。これらの抵抗性は SAR とは異なり、ジャスモン酸 (jasmonic acid ; JA) やエチレンに関わるシグナル伝達系を介していると考えられている。JA やエチレンのシグナル伝達系によっても PR タンパク質は誘導されるが、SAR で誘導される PR タンパク質が酸性タンパク質であるのに対して、JA やエチレンのシグナル伝達系によって誘導される PR タンパク質は塩基性のタンパク質であり、異なるタンパク質であることも明らかになっている (図-5) (光原ら, 2003)。

セジロウカの加害によって誘導される病害抵抗性にも、上記のようなシグナル伝達系が関与している可能性があるため、シグナル物質や PR タンパク質などの解析を実施した。まず、当研究センター・育種工学研究室の木村貴志氏の協力により、PR タンパク質である β -1,3-グルカナーゼの遺伝子のうち、*Gns4* および *Gns5* について RT-PCR を実施した結果、ウカが加害したイネでこれらの遺伝子の発現が誘導されていることを確認した (図-6) (Kanno et al., 2005)。そこで、農業生物資源研究所・生理機能研究グループの耐病性研究チームとの共同研究により、ノーザンブロットやマイクロアレイを実施し、セジロウカの加害によりイネで発現する遺伝子群を解析した。その結果、PR タンパク質やフェニルアラニンアンモニリアーゼなどの多数の病害抵抗性関連遺伝子やストレス関連遺伝子を含む、非常に多くの遺伝子が発現することが明らかになった。また、マイクロアレイの結果からは、この誘導抵抗性には JA で発現する遺伝子群が大きく関与している可能性も示唆された。さらに、いくつかの PR タンパク質についてウェスタンブロットにより解析した結果、PR-1 や β -1,3-グルカナーゼ、タウマチン様タンパク質が誘導されていることも確認している (佐藤ら, 未発表)。また、茨城大学農学部の児玉治教授・長谷川守文助手との共同研究により、セジロウカの加害によって抗菌物質であるファイトアレキシン的一种、モミラクトン A およびサクラネチンがイネ体内で生成されるほか、SA や JA も増加していることも明らかになっている (菅野ら, 未発表)。

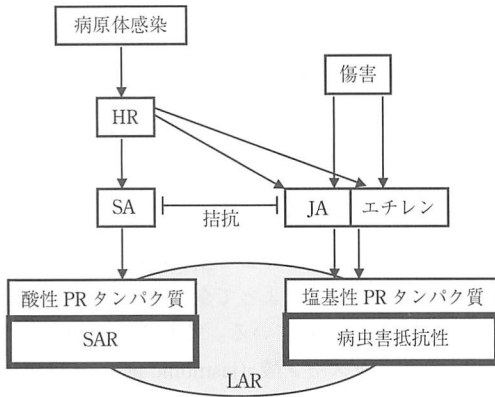


図-5 モデル植物における誘導抵抗性のシグナル伝達経路

シロイヌナズナやタバコでの例。SAとJA(およびエチレン)のシグナル伝達系は互いに拮抗している。LARでは、酸性和塩基性の両方のPRタンパク質群が検出される。

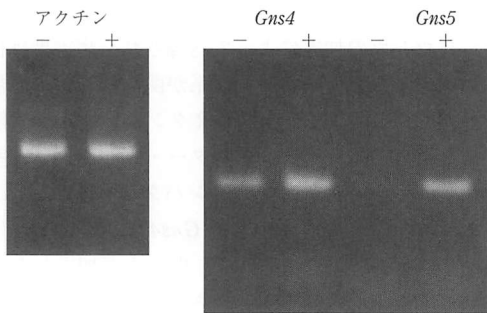


図-6 セジロウカ吸汁を受けたイネにおける、 β -1,3-グルコナーゼ遺伝子(*Gns4*, *Gns5*)の発現
+ : ウンカの吸汁を受けたイネ, - : コントロール。
アクチン遺伝子は内部標準。

これらの結果から、この誘導抵抗性のメカニズムの概要が徐々に明らかになってきている。すなわち、セジロウカがイネを吸汁すると、抵抗性誘導の引き金となる何らかの物質(エリシター)がイネの体内に注入される。このエリシターを認知したイネは、SAやJAなどのシグナル伝達系を活性化させ、その結果PRタンパク質やファイトアレキシンなどの耐病性関連物質を生成することにより病害に対する抵抗性を誘導するというものである。

ただし、このメカニズムを考えるうえで、いくつか注意を要する点がある。

イネの病害抵抗性誘導現象としては、世界で初めて実用化されたプラントアクチベーターであり、発売開始から既に30年経っているにもかかわらずいまだに我が国の主要なもち病の防除剤として使われているプロベナ

ゾールによるものが知られており、その作用機序については様々な研究がなされている(岩田, 1999)。それ以外にも、傷害によってイネに誘導される病害抵抗性についての研究もあるが(SCHWEIZER et al., 1998)、イネの誘導抵抗性については不明部分がまだまだ多い。一方、植物の誘導抵抗性に関する研究は、タバコやシロイヌナズナなどのモデル植物を中心に進められており、既存の知見の多くはこれら双子葉植物での研究により得られている。しかし、単子葉植物であるイネの誘導抵抗性については、双子葉植物での知見とは異なる部分が存在する可能性も指摘されている。特にSAに関しては、イネにおいては誘導抵抗性への関与について否定的な見解も見受けられる(SILVERMAN et al., 1995)。イネでは体内に含まれているSAが非常に多く、タバコでは通常SA量は生葉1g当たり100~200ngであるのに対し、イネでは100倍近い37 μ gも存在する。これは、他の様々な植物と比較しても少なくとも1桁は上回っている大きな数値であり、HRを起こしたタバコの葉に蓄積されるSA量にすら匹敵する。我々の研究で確かめられた、セジロウカがイネを吸汁加害した際のSAの増加は、もともと存在する大量のSA量と比較すれば1.5倍程度であり、タバコでは病斑形成部位から離れたSARを示す部位でもSA量が通常5倍以上になることを勘案すると、決して多いとは言えない増加割合ではある。それでも増加量としては相当なものであることから、今後もSAの関与の可能性について検討する必要がある。

また、一般に植物のSAとJAは拮抗関係にあり、どちらかが増えるともう片方が減少することが知られている(THALER et al., 2002)。ところが、既に述べたようにセジロウカが加害したイネではSAとJAの両方が増加している。ただし、SAとJAの拮抗関係についても、やはり主にタバコやシロイヌナズナなどの双子葉植物を材料として得られた知見である。さらに、セジロウカの加害は吸汁という特殊な様式でなされている点も考慮する必要がある。大多数の植食性昆虫の加害様式である咀嚼の場合には、植物側が受ける傷は大きい一方で、昆虫の口器と植物が接触する時間はごく短時間であるが、吸汁の場合には逆に、植物側が受ける傷は小さく、口器は植物中に挿入されて長時間接触し続けることになる。吸汁性の昆虫の加害が、咀嚼性の昆虫の加害とは異なる反応を植物に引き起こす例がいくつか報告されており(WALLING, 2000; ZHU-SALZMAN et al., 2004)、SA量が非常に多いイネが吸汁という特殊な摂食様式で加害を受けた場合には、既存の知見とは相容れない反応を引き起こしている可能性もあり、今後の重要な検討事項の一つと考えている。

おわりに

セジロウンカによる病害抵抗性誘導は、水田においても十分に効果を発揮する現象である。しかしながらセジロウンカは本来イネの害虫であり、これを放してイネの病害を防除するというのは、話としては面白いが現実的とは言い難い。筆者らは、現在セジロウンカに由来するエリシターの解明に取り組んでいるが、この抵抗性を誘導するエリシター物質が明らかになれば、その物質を基にしたプラントアクチベーターの開発に繋がる可能性もある。また、この誘導抵抗性のメカニズムの解明に取り組むことにより、イネの誘導抵抗性のメカニズム全般についても多くの知見が得られるものと考えている。現在は、抵抗性誘導メカニズムの解明が主要な研究テーマとなっているが、それ以外にも、ウイルス病などその他の病害に対する効果や、セジロウンカ以外のイネウンカ類による抵抗性誘導の有無など、現象面についても取り組

むべき課題が山積している。幸いにして、多くの研究機関・研究者の方々のご助力を受けて研究を進められる状況にあるので、興味深い知見をさらに得ることができるものと期待している。

引用文献

- 1) HATCHER, P. E. and N. D. PAUL (2000): *New Phytol.* 146: 325 ~ 333
- 2) 岩田道顕 (1999): 今月の農業 43: 33 ~ 37.
- 3) 菅野紘男ら (2002): 植物防疫 56: 463 ~ 465.
- 4) KANNO, H. et al. (2005): *Appl. Entomol. Zool.* 40: 91 ~ 97.
- 5) ——— and Y. FUJITA (2003): *Entomol. Exp. Appl.* 107: 155 ~ 158.
- 6) 光原一朗ら (2003): 植物細胞工学シリーズ 19「新版 分子レベルから見た植物の耐病性 ポストゲノム時代の植物免疫研究」, 秀潤社, 東京, p. 126 ~ 135.
- 7) PADGETT, G. B. et al. (1994): *J. Entomol. Sci.* 29: 110 ~ 119
- 8) 佐藤 雅ら (2005): 応動昆 49 (印刷中).
- 9) SCHWEIZER, P. et al. (1998): *Plant J.* 14: 475 ~ 481.
- 10) SILVERMAN, P. et al. (1995): *Plant Physiol.* 108: 633 ~ 639.
- 11) 田村逸美ら (1998): 九病虫研報 44: 111.
- 12) THALER, J. S. et al. (2002): *Oecologia* 131: 227 ~ 235.
- 13) WALLING, L. L. (2000): *J. Plant Growth Regul.* 19: 195 ~ 216.
- 14) ZHU-SALZMAN, K. et al. (2004): *Plant Physiol.* 134: 420 ~ 431.

登録が失効した農薬 (17.8.1 ~ 8.31)

掲載は、種類名、登録番号：商品名（製造業者又は輸入業者）登録失効年月日。

「殺虫剤」

- DDVP 乳剤
17629: アグロス DDVP 乳剤 75 (住友化学) 2005/08/03
- マラソン粉剤
17627: アグロスマラソン粉剤 1.5 (住友化学) 2005/08/03
- マラソン・CYAP 粉剤
17625: アグロスサイアソン粉剤 (住友化学) 2005/08/03
- ピリダフェンチオン・プロチオホス乳剤
15825: ソビー T-7.5 乳剤 (井筒屋化学) 2005/08/10
- ピリダフェンチオン・BPMC 粉粒剤
17632: オフナックバッサ微粒剤 F (協友アグリ) 2005/08/20
- BT 水中和剤
20236: 日曹レピタームフロアブル (日本曹達) 2005/08/27
- ヤシマ DC 油剤
15367: D-D 剤 (協友アグリ) 2005/08/24

「殺虫殺菌剤」

- ピリダフェンチオン・BPMC・フサライド粉剤
15835: ラブサイドオフナックバッサ粉剤 DL (協友アグリ) 2005/08/28
- エトフェンプロックス・ピリダフェンチオン・イミノクタジン酢酸塩・フサライド粉剤
17634: ヤシマラブサイドベフランオフトレボン粉剤 DL (協友アグリ) 2005/08/20
- エトフェンプロックス・チフルザミド粒剤
20209: グレートムトレボン粒剤 (三井化学) 2005/08/20

「除草剤」

- アシユラム液剤
14681: ローヌ・プーランアーザラン液剤 (バイエルクロッ

プサイエンス) 2005/08/0

- DCMU 粉剤
12200: 一農 DCMU 粉剤 (第一農薬) 2005/08/20
- アジムスルフロン・インダノファン・ベンスルフロンメチル粒剤
20213: 三菱クサストップ A1 キロ粒剤 36 (日本農薬) 2005/08/24
- インダノファン・ベンスルフロンメチル粒剤
20216: 三菱クサストップ 1 キロ粒剤 51 (日本農薬) 2005/08/24
- 20219: 三菱クサストップフロアブル (日本農薬) 2005/08/24
- 20222: 三菱クサストップ L フロアブル (日本農薬) 2005/08/24
- インダノファン・ピラゾスルフロンエチル水中和剤
20228: 三菱グラッシー顆粒 (日本農薬) 2005/08/24
- 20229: グラッシー顆粒 (日産化学工業) 2005/08/24
- 20230: 大塚グラッシー顆粒 (大塚化学) 2005/08/24
- インダノファン水中和剤
20232: 三菱トレビエース水中和剤 (日本農薬) 2005/08/27
- ジメタメトリン・ピラゾレート・プレチラクロール・プロモブチド粒剤
17639: アグロススラッシュヤ粒剤 (住友化学) 2005/08/31

「その他」

- ピリダフェンチオン複合肥料
15820: オフナック苦土入り複合硝加磷安 S121 号 (北海道東庄) 2005/08/10
- 展着剤
13409: サンケイチック (サンケイ化学) 2005/08/26