

天然植物免疫誘導物質の利用による 植物病害防除について

中央農業総合研究センター ^{はな}花 ^だ田 ^{かおる}薫

はじめに

「植物免疫」とは、植物が病害虫などから身を守るためにもともと持っている高い防御システムのことである。病原体が植物に感染する前に、何らかの処理、例えば化学合成剤や天然物質などの散布により、生まれつき植物がもっている植物免疫を活性化することによって病害を防除することができる。比較的容易に利用できる植物免疫として誘導抵抗性があり、その研究は広く進められている。既に誘導抵抗性を利用した病害防除に関しては多くの解説が掲載されているので、詳しい説明はそちらを参照されたい(石井, 2003; 有江・仲下, 2007)。一言でいうと、誘導抵抗性とは病原体には直接作用することなしに植物がもっている植物免疫力を活性化することによって、植物に病害抵抗性を発現させるものである。特に天然の素材による誘導抵抗性を利用した防除法の開発は環境負荷の少ない次世代型の病害制御法として期待されており、今後の実用技術開発が待たれている分野である。そこで、2009年度から農業・食品産業技術総合研究機構では植物免疫誘導物質に関する新規プロジェクトを開始した。

I 化学合成物質による作物への免疫誘導

植物への免疫誘導作用を示す化学合成物質は、プラントアクティベーターとも呼ばれている。これらの物質は病原に対する直接的な殺菌作用は有しておらず、植物の生来の免疫を活性化するために、耐性菌が出現しにくいこと、効果が持続すること、有効スペクトラムが広いこと等の大きな利点を有している。プラントアクティベーターとしては、長い間にわたって我が国でプロベナゾールのみが利用されてきたが、その後海外でアシベンゾラル S メチルが利用されるようになり、最近になって国内でバリダマイシン、チアジニールやイソチアニルなど各種の新規化合物が市販され、病害防除への利用が拡大してきている。これまでのところ、プラントアクティベーターの利用は、糸状菌病や細菌病の防除に関するもの

がほとんどであり、ウイルス病防除への利用はあまり検討されていない。

免疫誘導作用を示す天然物質の解説に入る前に、研究が進んでいる化学合成剤の特性や利用の現状について、あまり研究されていないウイルス病防除への利用の可能性を含めて概要を紹介する。

(1) プロベナゾール (オリゼメート)

1974年に我が国で農薬登録されたプロベナゾールは、いもち病防除効果が高く、かつその効果が長期にわたって持続するという特徴をもっており、今日でも有効ないもち病防除剤でありつづけている (IWATA et al., 1979; 岩田, 2004)。本剤は糸状菌病ばかりではなく、細菌病にも有効で、イネ白葉枯病、レタス腐敗病、キャベツ黒腐病等やピーマン、キュウリ、ネギ、トウガラシ等の病害にも効果があり、多くの病害について実際に農薬登録も取得されており防除に利用されている。使用開始から30年以上経過した現在でも本剤に対する耐性いもち病菌の出現が認められていないというのは、殺菌剤ではないことに由来すると考えられる。

植物ウイルスへの効果については、本剤の処理によってタバコでのタバコモザイクウイルス (TMV) の病徴が消失したと報告されている (KOGANEZAWA et al., 1998) ことから、ウイルス病の防除にも工夫次第で利用できる可能性はあるものと思われるが、具体的な防除への検討の報告例はまだない。

(2) アシベンゾラル S メチル (ASM, バイオン)

ASMは幅広い病害に効果があるとして外国で開発されたものであり、日本では1998年に登録された。国内の研究でもキュウリうどんこ病、ナシ黒星病、キク白さび病、ほかの病害にも防除効果を示すことが報告されており、キュウリうどんこ病に対しては100 ppmの濃度で有効であることが報告されている (石井, 2003)。

植物ウイルスに関しては、ASMとイミダクロプリド混合処理がタバコでトマト黄化えそウイルス (TSWV) に対して圃場レベルで防除効果をもつことを PAPU et al. (2000) が報告しており、その後、MANDAL et al. (2008) は、温室のタバコを用いて詳細に解析し、ASMが単独でTSWV防除に効果があることを確認した。我が国においても一部研究がなされており、小金澤・笹谷 (2003)

Effective Control of Plant Diseases Using Natural Substances
Inducing Plant Immunization. By KAORU HANADA

(キーワード: 植物免疫, 誘導抵抗性, 病害防除)

がTMVやキュウリモザイクウイルス(CMV)に対して、ASMが発病抑制効果をもつことを報告した。具体的には、タバコを50 ppmのASMで処理したところ、TMVやCMVによる発病率が低下し、発病に要する日数も長くなるようになった。また、CMVとキュウリの系でも同様の傾向が認められ、発病が抑制された。ASMは花田の予備試験でもトマトとCMVの系で安定した発病抑止効果を示している。神余ら(2002)はレタスのASM処理がレタスビッグベイン病の発病遅延効果を示すことを報告しており、ASM処理が本病原ウイルスを媒介する*Olpidium*の休眠孢子形成数には影響しないとしていることから、ASMは媒介菌に影響しているのではなく、直接ウイルスの病徴発現を抑制していると思われる。

ただし、ASMは作物によっては葉害を生じる場合があることが報告されており、また現在では日本での農薬としての登録はない。アメリカでのトスポウイルスに対する防除効果試験でも、葉害軽減のために、現実的には防除に最適な濃度より低い濃度での利用を勧めている(MANDAL et al., 2008)。

II 天然物質による作物への免疫誘導

天然の植物免疫誘導物質またはその候補物質として、これまでに病害防除効果が確かめられているものには、酵母抽出液、キチン、セルラーゼ等がある。酵母抽出液は酵母の細胞壁の自己分解物で、キチン、N-アセチルグルコサミンオリゴマー、 β -グルカン、グリコペプチド、エルゴステロール等を含む。キチンは未分解キチンとその分解物を含む資材の総称。セルラーゼはセルロースを分解する酵素で、植物組織の崩壊や溶解などを目的に食品加工などで利用されている。以下に各素材について病害防除効果に関して、これまでに得られている知見を紹介する。

(1) 酵母抽出液

酵母抽出液や酵母抽出物として多くのものが既に市販されているが、アグリボEXや豊作物語などのように作物の賦活剤としての利用が主で、病害防除効果をもつ農薬としての利用はまだされていない。しかし、酵母抽出液はいくつかの作物において、複数の病害に対して防除効果を示すことが報告されている。難防除病害であるトマト青枯病に酵母抽出液処理が有効であることを中保ら(2007)が報告した。酵母抽出液は、それ自身に抗菌活性はなく、天然素材のプラントアクティベーターと考えられ、チャやタバコの糸状菌、トマトの細菌病にも高い防除効果を示す(吉田, 2007)。また、最近になって酵

母抽出物が糸状菌病であるトマト褐色根腐病(高崎ら, 2008)や、トマトのかいよう病に対する抑制効果も誘導することが明らかとなり(菊原・中保, 2009)、酵母抽出液の防除スペクトラムは確実に広がっている。

タバコ葉片のアグリボ酵母抽出液への浸漬処理によって、塩基性PRタンパク質(PR-1, -2, -6)が誘導されてエチレン生成が促進されること、この酵母抽出液からもエチレンが産生されることが明らかとなっている(小原ら, 2007)。また、この処理によってタバコ立枯病細菌や腰折病菌の増殖が抑制されるが、これらの病原に対する抗菌性はないことが判明した。少なくともこの酵母抽出液は、エチレンシグナル伝達系を介して抵抗性を誘導していると結論している。また、南ら(2008)は発光リポーター遺伝子を用いてシロイソナズナで検討し、酵母抽出液処理後初期においては分子量5K以下の低分子画分に強い活性が認められることを報告している。

ウイルスに関する酵母抽出液の効果を検定した例として小原ら(2007)の報告があり、この結果ではタバコとタバコモザイクウイルス(TMV)の系を用いて検討した結果、抵抗性の増強は認められなかった。一方、かなり以前の報告であるが、都丸ら(1975)および久保ら(1971)が酵母抽出液にTMV抑制効果があると報告している。今後、ウイルスに対する効果の有無を確認していく必要がある。

(2) キチン

キチンについては、MITCHELL(1963)が純化精製したキチンの土壌施用によってインゲンマメ根腐病への防除効果があることを示し、その機構として、キチン施用により増殖した微生物が放出するキチナーゼが病原菌の細胞壁を分解するためであるとした。YAMADA et al.(1993)はイネ培養細胞を用いて、キチンの断片であるキチンオリゴ糖が、生体防御反応を強く誘導するエリシター活性をもつことを報告し、またKAKU et al.(2006)はキチンオリゴ糖が結合するイネの受容体タンパク質の存在を明らかにした。

エビやカニ殻から作られるキチンを含む資材が比較的安定した病害防除効果をもつことが知られている。門田ら(2003)は、初めにカニ殻粉砕粉末資材のキャベツ萎黄病に対する防除効果を検討したところ、施用量が多くなると発病抑制効果も大きくなったが、土壤中の病原菌密度は変化が認められなかった。ここでキチンのエリシター活性は7~8量体で顕著に強くなることが報告されていたことから、門田らはこれらの分子量約1,500に比較的近い3,000~50,000のサイズのキチンを多く含む資材(LMC)を作製して、それを用いて検討を行った。

その結果、LMCの水懸濁液をキャベツポット苗の株元に灌注処理することによって萎黄病に対する顕著な発病抑制効果を示すことが判明し、圃場でもこの抑制効果は確認された(図-1)。

また、EVANS et al. (1993) はポット試験によって、土壌へのキチン混和がキャベツ根こぶ病の発病を強く抑制することを報告している(門田・永坂, 2008)。この原因はキチンの分解によって生じるアンモニアと周囲にいる微生物が生産するキチナーゼによって、根こぶ病の休眠胞子が死滅するためとした。そこで、門田ら(2004)はLMCを用いた検討を行い、LMCの水懸濁液を移植キャベツ苗の株元に灌注することで、根こぶ病の発病がわずかに抑制されることを報告した。

キチンが植物ウイルスの不活化やウイルス病防除に効果があったという報告はこれまでのところないと思われる。今後の検討課題である。

(3) セルラーゼ

セルラーゼについては、起源や精製度の異なる多くのものが市販されているが、病害防除に使用するために

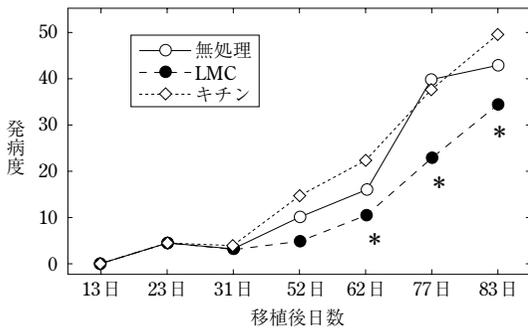


図-1 キャベツ萎黄病に対するキチンおよびLMCの発病抑制効果

*: 無処理に対して有意差があることを示す。

は、特にコストの面から、牧草サイレージ用として市販されているアクレモスプレーが実用であると思われるので、その利用法の検討を進めている。アクレモスプレーは *Acremonium* 属糸状菌由来セルラーゼと *Trichoderma* 属糸状菌由来セルラーゼとの混合物で雪印種苗(株)から市販されている。

セルラーゼのウイルス病防除への利用の端緒となったのは、PMMoVに感染したピーマンの根を含む土壌に種々の有機物を加えておいてみたところ、セルロースのみがウイルスの不活化を促進したという発見であった(岡ら, 2004)。PMMoVは土壌伝染するために被害が大きく、その防除も困難となっているピーマンの重要ウイルス病であり、セルロースの添加のみがPMMoVの土壌中での分解・不活化を促進したのである。さらにセルラーゼを土壌に加えると添加直後からウイルスの不活化が認められたことから、より直接的に防除するために種々のセルラーゼを用いてさらに検討を行った(Oka et al., 2008)。まず接種葉でのウイルス増殖への効果を知るために、PMMoVとグルチノーザの局部感染実験系を用いて検討した結果、2種の *Trichoderma* 属糸状菌由来のセルラーゼやアクレモスプレーが高い局部病斑形成阻害能をもつことが判明した。次に、各種のセルラーゼについてウイルスが全身感染するピーマンとトウガラシモザイクウイルス(PMMoV)の系で検討を行って、これらのセルラーゼの多くがPMMoV接種の3時間前の処理によって、PMMoVに対する発病抑制効果をもつことを明らかにした(表-1)。処理後の防除効果の持続性、接触伝染への効果など、現場での具体的な防除にかかわる要因については、現在、検討を進めているところである。

III 今後の展望

天然物質を用いた抵抗性誘導による病害の防除は、化学農薬に頼らない病害防除法として今後の発展が様々な

表-1 各種セルラーゼ処理によるPMMoV感染阻害効果(Oka et al., 2008より)

セルラーゼの由来	濃度 (g/l)	苗の感染状況 (感染苗数/検定苗数)			
		I	II	III	IV
水: 対照	0	23/24	16/24	23/24	11/24
<i>Torichoderma resei</i>	1	5/24	0/24	3/24	1/24
アクレモスプレー	1	2/24	NT	0/24	NT
<i>Aspergillus niger</i>	1	16/24	NT	10/24	NT

供試ピーマンには播種5~6週間の‘ニュー土佐ひかり’を用いた。各セルラーゼ処理3時間後に10 μ g/ml純化PMMoVを接種し、接種3週間後に発病の有無をELISA法により検定した。

分野から期待されているところである。しかしながら、これらの物質を用いて複数の病害を防除する試みはまだ行われていない。2009年度から農業・食品産業技術総合研究機構のプロジェクトとして「植物免疫誘導物質を用いた抵抗性誘導による病害防除」に関するプロジェクトを開始した。このプロジェクトの中では、天然物質であるキチン、酵母抽出液、セルラーゼの三つのみを用いたトマトやピーマンの主要病害の防除法の開発を行うこととしている。これらの資材については、各種資材が市販されているが、まずコスト面とこれまでの効果の安定性から以下の資材を検討対象とすることとしている。酵母抽出液ではアグレボ EX、キチンでは分子量約 3,000～50,000 のサイズのキチンを多く含む資材 (LMC)、セルラーゼについてはアクレモスプレーである。

これら選定 3 剤については比較的スペクトラムの広い防除効果が期待できると考えている。つまり、これら 3 剤の単独または複数での、同時あるいは連続施用について、施用時期・方法・部位・濃度等を検討することによって、糸状菌病、細菌病、ウイルス病の防除に共通して有効な防除資材およびその具体的な処理法の開発が可能になることを期待して研究を進めているところである。これまでの研究によって、これら 3 天然素材は植物に異なるメカニズムによって抵抗性誘導を引き起こしていると考えられるので、組み合わせることによって、より効果の高い、スペクトラムの広い防除効果が期待できると考えている。もちろん、複数の抵抗性誘導によって植物に過度の負担をかけることになると、葉害や収量への影響が問題となりうるので、実際に複合利用をするためにはその点の検討も重要になると思われる。

現在、用法については、従来の水溶液の散布、粒剤の施用などのほかに、門田らが最近になって開発した微量注入法を用いたより効率的かつ有効な手法についても検討を進めている。ウイルス病については、セルラーゼによる PMMoV 防除効果のハウスレベルでの防除効果確認試験を行っている。また、植物免疫プロジェクトの中で、トマト黄化えそウイルスおよびキュウリモザイクウイルスに対するこれら 3 物質の有効性の検討を進めているところである。トマトやピーマンにおける種子処理の有効性についても検討する。本プロジェクトの中では、さらに広範な利用への道を開くために、防除に有効な処理方法が明らかになったものについては、それらの処理に伴う植物側の遺伝子レベルの変化の解析による抵抗性誘導機構の解明を進めることとしている。

具体的な本プロジェクトの目標は、これら 3 剤を用

いたトマト主要病害の防除法の開発である。防除対象としているトマト病害は、青枯病、かきよう病、斑点細菌病、疫病、輪紋病、CMV である。一方、ピーマンについては対象を主要ウイルス病にしばっており、それらは土壌伝染性 PMMoV およびアブラムシ伝搬性 CMV やアザミウマ伝搬性トスポウイルスである。世界的に見てもこれまで抵抗性誘導を用いた実用的な防除法がほとんど検討されていないウイルス病について、セルラーゼなどを用いたピーマンでの PMMoV、3 剤を用いたトマトおよびピーマンの CMV やトスポウイルスについて、実用的な防除技術の開発を目指すこととしている。

これまでの検討によって、トマト苗の酵母抽出液処理によって青枯病およびかきよう病に同時に防除効果を示すことが期待できる。また、予備的な試験の結果から、キチンはトマトの複数病害に防除効果が認められており、セルラーゼもウイルス以外の一部病原にも有効と思われる。本プロジェクトの全体としての目標は、トマトやピーマンのできるだけ多くの重要病害について、キチン、酵母抽出液、セルラーゼの単独または組み合わせ処理によって、できるだけ簡便な防除法を開発することである。それは、これら 3 剤の最適処理法・濃度・タイミング等を検討することで進めていく。

引用文献

- 1) 有江 力・仲下英雄 (2007): 植物防疫 61:1～6.
- 2) 石井英夫 (2003): 今月の農業 10:13～18.
- 3) IWATA, M. et al. (1979): Ann. Phytopath. Soc. Japan 45:192～200.
- 4) 岩田道頭 (2004): 分子レベルからみた植物の耐病性 (島本 功ら編), 秀潤社, 東京, p.150～154.
- 5) 小原直美ら (2007): 日植病報 73:94～101.
- 6) 門田育生ら (2003): キチン・キトサン研究 9:164～165.
- 7) ———ら (2004): 同上 10:180～181.
- 8) ———ら (2007): 日植病報 73:258.
- 9) ———・永坂 厚 (2008): 農林水産技術研究ジャーナル 31:19～22.
- 10) KAKU, H. et al. (2006): PNAS 103:11086～11091.
- 11) 神余暢一ら (2002): 四国植防 37:15～21.
- 12) 菊原賢次・中保一浩 (2009): 平成 21 年度日本植物病理学会大会講演要旨集:98.
- 13) KOGANEZAWA, H. et al. (1998): Ann. Phytopath. Soc. Japan 64:80～84.
- 14) 小金澤頌城・笹谷孝英 (2003): 四国植防 38:9～13.
- 15) 久保 進ら (1971): 日植病報 37:208.
- 16) MANDAL, B. et al. (2008): Phytopathology 98:196～204.
- 17) 南 太一ら (2008): 日植病報 74:186.
- 18) MITCHELL, R. (1963): Phytopathology 53:1068～1071.
- 19) 中保一浩ら (2007): 日植病報 73:276.
- 20) 岡 紀邦ら (2004): 土肥誌 75:673～677.
- 21) OKA, N. et al. (2008): J. Phytopathology 156:65～67.
- 22) PAPU, H. R. et al. (2000): Crop Prot. 19:349～354.
- 23) 高崎智子ら (2008): 日植病報 74:276.
- 24) 都丸敬一ら (1975): 同上 41:296.
- 25) YAMADA, A. et al. (1993): Biosci. Biotech. Biochem. 57:405～409.
- 26) 吉田克志 (2007): 植物防疫 61:542～546.