

サツマイモネコブセンチュウの防除における 植物ホルモン「ジャスモン酸」の応用の可能性

(独)農研機構中央農業総合研究センター ふじもと たけと みずく ぼ たかゆき
藤本 岳人・水久保 隆之

は じ め に

土壌中に生息する植物寄生性線虫は畑作物や野菜類の地下部を加害する。これらの線虫の多くは 1 mm 以下と微小であり肉眼で確認することは難しい。生息場所や分布は広範にわたり、耐久ステージを持つ種は不良環境に強く長期間の生存が可能であり、寄主植物に依存してその密度は高まる。植物寄生性線虫に寄生された植物は通水や養分吸収が阻害される結果、生長が著しく抑制され、はなはだしい場合には枯死に至る。植物寄生性線虫による農作物被害は世界全体で年間数千億円に及ぶと推定されているが、その 4 割以上は土壌中に生息するネコブセンチュウ (*Meloidogyne* 属) によって発生している。特に 700 種以上ともいわれる広範な寄主範囲を持つサツマイモネコブセンチュウ (以下、線虫と略記) は、露地根菜類から施設果菜類に及ぶ作物・植物に極めて深刻な被害を引き起こす。体長わずか 0.4 mm 程度の線虫は植物根に寄生する。線虫に寄生された根の部位はこぶ状に膨らみ、新たな分岐根の発達が止まるとともに養分や通水の阻害を生じる。根菜類は線虫の寄生により可食部が醜くこぶ状となり、市場価値を失う。地上部に実をつける果菜類においても線虫の寄生によって地上部の生長が抑制され、収量・品質が低下する。また、線虫が根に傷をつけて感染・寄生するために、その傷口から土壌病原菌などの侵入が起こり、複合病害が発生することもある。一度圃場で線虫が発生すると根絶は難しく、そのため線虫はもっとも有害な病害虫の一つとされている。

現在、環境への影響が少なく効果的な線虫防除法の開発が課題となっている。近年、環境保全型防除法の有望資材として注目を集めているのが、病虫害抵抗性誘導物質 (植物ホルモン) である。病虫害抵抗性誘導物質は、植物がもともと有する病虫害に対する抵抗力を増強・充進することで耐病性・耐虫性を誘導して、病虫害防除効果を示し、環境負荷も小さい。また、病原体や害虫を直接殺す作用はないことから、殺虫剤使用の際に問題とな

るバイオタイプ出現のリスクが低いメリットがある。そこで、本稿では病虫害抵抗性誘導物質の線虫害抑制への応用可能性について紹介する。

I 線虫防除の現状

従来の線虫防除手段は化学的防除、物理的防除、耕種的防除に分けることができる。主流は化学的防除であり、化学合成農薬の使用である。殺線虫剤としての化学合成農薬は専用・汎用両方があるが、ともに粒剤とくん蒸剤に大きく分けることができる。粒剤としては有機リン剤のホスチアゼート剤、くん蒸剤としては D-D 剤が広く普及している。

物理的防除手段には、ハウスを密閉し耕土を加温する太陽熱土壌消毒やハウス土壌に有機物を混和して密閉・加温する還元土壌消毒、可動式ボイラーから給湯し作土を直接加熱する熱水土壌消毒、耕土の長期間湛水処理等がある。

耕種的防除技術には、栽培すると土壌中の線虫密度を減少させる線虫対抗植物や線虫抵抗性品種の栽培があげられる。線虫対抗植物の主な例としてマリーゴールドの「アフリカントール」や野生エンバクの「ヘイオーツ」がある。

しかしながら、これらの防除方法にはそれぞれ少なからず問題が内包されている。例えば、有機リン酸系化学合成農薬は作物への残存が確認され社会問題化しており、土壌くん蒸剤も人体への健康に及ぼす影響、土壌微小生物相の破壊とかく乱、地下水汚染等の環境負荷を起こす。化学的防除と物理的防除は、概して劇的な防除効果を示すものの線虫は耕土深層に残存しているため、1 作ないしは 2 作後には速やかに線虫密度が回復し、かえって線虫害が助長される場合もある。耕種的防除である対抗植物の栽培は、作物栽培の中断や除草の手間、他の病害虫の誘発等の問題を持つ。線虫抵抗性植物は市場性がないことも多く、ウリ科野菜など抵抗性品種が存在しない野菜もある。また、以上の線虫防除手段は、化学的、物理的、生物的手法を問わず、線虫の直接致死もしくは不活化をねらったものであり、植物の防御反応を強化するような手法ではない。このように、従来の線虫防除方法にはそれぞれ一長一短あり、いずれも決め手に欠け

Possible Application of Jasmonic Acid to Root-Knot Nematode Management. By Taketo FUJIMOTO and Takayuki MIZUKUBO

(キーワード: サツマイモネコブセンチュウ, ジャスモン酸, 植物防御応答)

る。特に、化学的防除や物理的防除は環境に与える負荷が大きい。近年、IPM (Integrated Pest Management) や環境保全型農業、持続的農業等といった環境に配慮した農業体系の構築が望まれており、環境負荷の大きな防除方法からの転換が求められている。そこで、従来の防除方法に代わる環境に優しい防除方法の応用可能性を探るために、今回、病虫害抵抗性誘導物質の線虫害抑制効果を検証した。

II 病虫害抵抗性誘導物質の線虫害抑制への応用可能性

植物は生育環境の変化や病原菌の感染、昆虫などによる食害などのさまざまなストレスに常にさらされている。これらのストレスへ対処するために、植物は独自の防御機構を発達させてきた。防御機構を発現させるためには植物ホルモンと呼ばれる低分子化合物がシグナル伝達物質として重要な役割を果たす。例えば、環境の変動(乾燥・低温・高塩濃度等)に対してはアブシジン酸(ABA)を、病原菌の感染にはサリチル酸(SA)を、昆虫の摂食などを受けるとジャスモン酸(JA)を植物は体内で生合成し、これらのストレスに耐えるためのタンパク質の合成等を行うことが知られている(FUJITA et al., 2006)。特に、病虫害に関する植物の防御応答はJAによって制御されるJA経路、SAによって制御されるSA経路、エチレン(ET)とJAによって制御されるET/JA経路によって大きく分けることができるとされている(PIETERSE et al., 2006)。このような病虫害抵抗性に関与する植物ホルモンを用いると、従来よりも環境負荷を軽減した防除方法の構築が可能ではないか、と考えられている。

線虫は植物の根に傷をつけて、根内部へと侵入し、寄生する。地下部での植物防御応答に関してはいまだ不明な点が多いが、このとき、植物体内ではなんらかの防御応答が起きているものと予想される。地上部では傷害や害虫摂食を受けた場合、植物は体内でストレスホルモンであるジャスモン酸を生産し、それをシグナル伝達物質として、速やかに防御反応を誘起する。さらに、ジャスモン酸を散布された植物が微小害虫であるアザミウマによる摂食害を軽減することも知られている(ABE et al., 2008)。そこで、今回、植物地上部の害虫に対する防御応答と似た現象が地下部の線虫に対しても生じていると仮定し、ジャスモン酸を利用した線虫防除の可能性を検証した。

供試植物はトマト(桃太郎)を使用した。桃太郎は線虫抵抗性遺伝子(*Mi-gene*)を持っており、線虫抵抗

性品種として知られている。しかし、主なトマトの生産地では、この抵抗性遺伝子を打破できる線虫系統が既にまん延している。この抵抗性を打破できる系統の線虫の防除は重要な課題である。そのため、今回は抵抗性打破系統の線虫と線虫抵抗性遺伝子を保持するトマト品種との組合せにおいて、トマトへのJA処理が線虫の寄生をどのように変化させるか解析した。

砂を充てんしたポットにトマトを播種し、発芽後、本葉が2枚展開した時点でJA類縁体であるジャスモン酸メチル(MeJA)を葉面に散布した。このとき、低濃度(0.1 mM)と高濃度(1.0 mM)のいずれかを処理した。各濃度のMeJAを葉面散布した2日後に200頭の線虫を株元に接種した。線虫の接種から1週間もしくは2週間後にトマト地下部を採取し、根内部の線虫を染色することで線虫の侵入個体数を測定した。

その結果、低濃度のMeJA処理では線虫の感染が抑制されることはなかったが、高濃度を処理した植物では1週間後の結果において線虫の感染が有意に抑制された(図-1A)。ただし、線虫接種から2週間経過すると高濃度MeJA処理によって見られた線虫感染抑制効果も認められなくなり、無処理と比べても線虫感染数に差がなくなった(図-1B)。

線虫接種後1週間での線虫感染数の結果からMeJA処理濃度によって線虫抑制効果に差があることが判明した。そこで、JAの生成や作用に関与する植物遺伝子群の発現がJA処理濃度によって変化しないか経時的に解析した。その結果、高濃度MeJA処理植物ではJA経路が活性化されたが、低濃度MeJA処理植物ではJA経路があまり活性化されなかった。JA経路の活性化が線虫の侵入抑制効果との間に正の相関をもたらすことが示唆された。さらに、MeJA処理後1週間ほどで高濃度MeJA処理植物においてもJA経路の活性化は収まり、それとともに線虫感染抑制効果も認められなくなった。このことからJA経路の活性化が線虫感染抑制効果をもたらすことが裏付けられたといえる。なかでも、すでに虫害防御にかかわることが知られているプロテナーゼインヒビターやマルチシスタチン等の遺伝子が強く発現したとき、線虫の侵入は抑制され、そのほかのJA関連遺伝子よりも顕著な相関を見出すことができた(図-2)。これら特に深い相関を得ることができた遺伝子は、いずれも植物体内において酵素反応阻害を司るとされている遺伝子であり、線虫が根へと感染した後に定着・寄生できないよう制限するために重要な遺伝子だとこれまででは考えられてきた(URWIN et al., 2004)。今回、これらの遺伝子が植物体内で発現している間に線虫を接種すると感

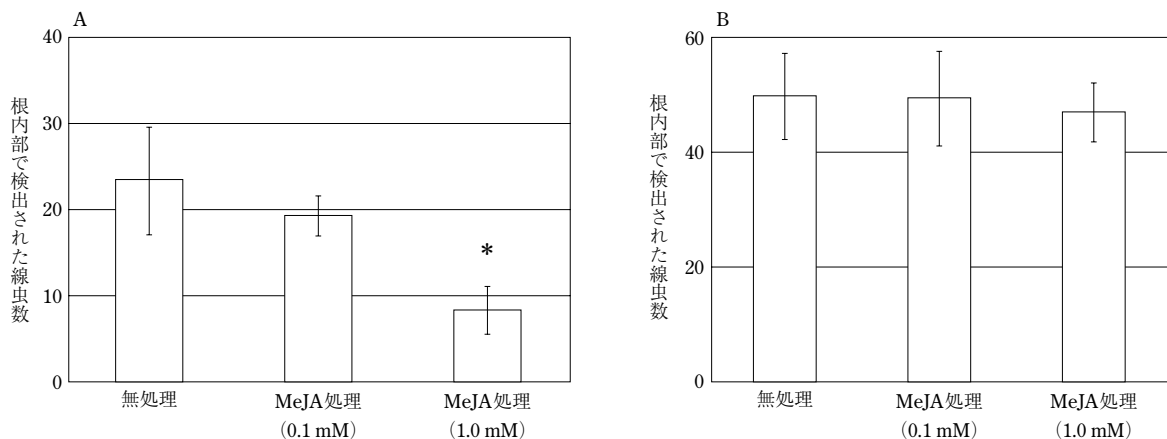


図-1 0.1 mM もしくは 1.0 mM のジャスモン酸メチル (MeJA) をトマト葉面にスプレー散布して 2 日後に 200 頭の線虫を接種した

線虫接種から 1 週間もしくは 2 週間経過後にトマト根への線虫侵入数を評価した。*は無処理との有意差があることを示す (Fujimoto et al., 2010 を改変)。

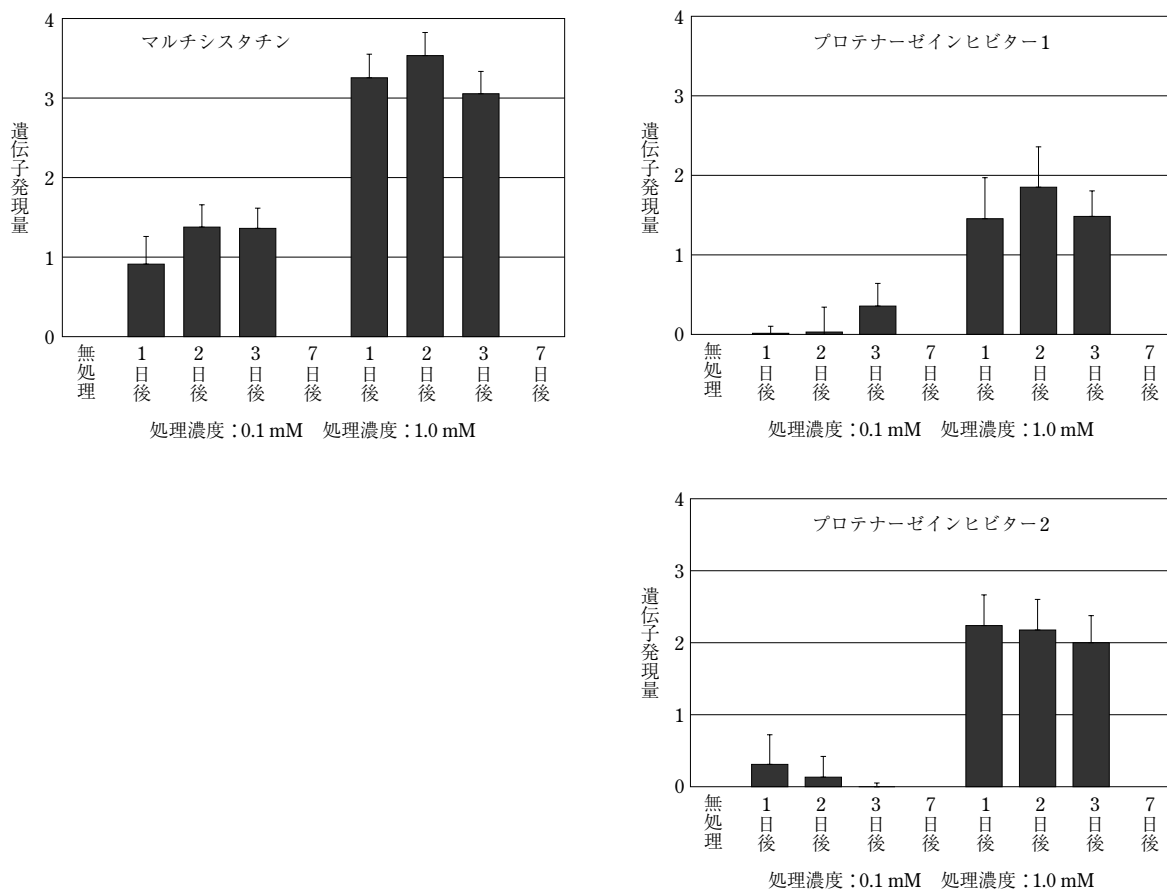


図-2 0.1 mM もしくは 1.0 mM のジャスモン酸メチル (MeJA) をトマト葉面にスプレー散布して 1 日, 2 日, 3 日, 7 日後にそれぞれの根をサンプリングし, 定量 RT-PCR 法によりジャスモン酸関連遺伝子の発現を評価した (Fujimoto et al., 2010 を改変)

染自体が抑制されたことから、初期の侵入を防ぐためにもこれらの遺伝子発現が重要であることが判明した。ただし、遺伝子発現そのものが植物への線虫の侵入を抑制したかどうかは判然としておらず、遺伝子発現に伴って線虫忌避物質が放出された、もしくは線虫誘引物質の放出が停止した可能性があるため、今後より深く精査する必要があると考えられる。

以上の結果から、低濃度の MeJA 処理では線虫の感染を抑制することはできないが、高濃度の MeJA 処理では感染を抑制することが判明した。しかし、その抑制効果は約 1 週間しか持続しないことも判明した。では、1 週間おきに高濃度の MeJA を処理し続けると線虫の感染は抑制され続けるのだろうか。この疑問を検証するために、1 週間おきに 1.0 mM の MeJA を散布し続け、線虫の感染の抑制を調べた。その結果、1 週間おきに MeJA を散布すると線虫感染抑制効果が回復した (図-3 A)。また、線虫の 1 世代が終了するまでおよそ 1 か月間毎週 MeJA を散布し続けた場合、根に付着する卵の数も有意に低下した (図-3 B)。線虫接種前に 1 回 MeJA を処理しただけであっても卵のう数は有意に低下し、さらに、遺伝子発現が収まる頃合いを見計らって 1 週間おきに複数回 MeJA を処理すると、より卵のう数が低下した。MeJA 処理によって JA 経路が活性化し、プロテナーゼインヒビターやマルチシスタチン等の遺伝子が発現し続ける状態を意図的に作ったことで、初期の感染を防いだことに加え、感染した線虫に対しても根への定着・寄生の阻止効果があったと考えられる。

このように、MeJA を適切な濃度で、かつ適切なタイ

ミングで植物に処理し続けると、線虫の感染や寄生を有意に減少させることが可能であった。さらに、前述のとおり、JA 経路の活性化は地上部害虫の防除にも有効であるとされており、JA (MeJA) を上手に利用することができれば、地上部・地下部両方の害虫防除を同時にこなすことができるかもしれない。

しかし、MeJA の植物への処理は線虫感染を抑制するなどのメリットだけではなく、デメリットも存在する。JA は植物ホルモンであり、その施用によって、他の植物ホルモンが示すのと同様、それ以外の植物ホルモンの機能や内在量の変化を引き起こし、結果として、施用した作物が生長・分化異常などの農業上好ましくない形質を現す可能性がある。特に、JA 経路は虫害抵抗性誘導のみならず、生長を司る経路でもあるとされている。事実、高濃度で処理した場合、生長抑制が見られる。また、ある一定以上の高濃度の MeJA を処理された植物は葉焼け症状を引き起こすなど薬害の問題も認められた。

III JA 経路による植物防御を利用した線虫害抑制への応用可能性

MeJA を処理し、JA 経路が活性化されたトマトにおいて、線虫の感染が抑制されることが明らかとなった。そこで、JA 経路の存在自体が線虫の感染に影響を及ぼすか評価した。トマトでは遺伝子変異体の作出が比較的難しいため、替わってシロイヌナズナを供試植物とした。シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) は、モデル実験植物として様々な分野で利用されており、2000 年に全ゲノム配列が解読済みであるために遺伝子破壊系統

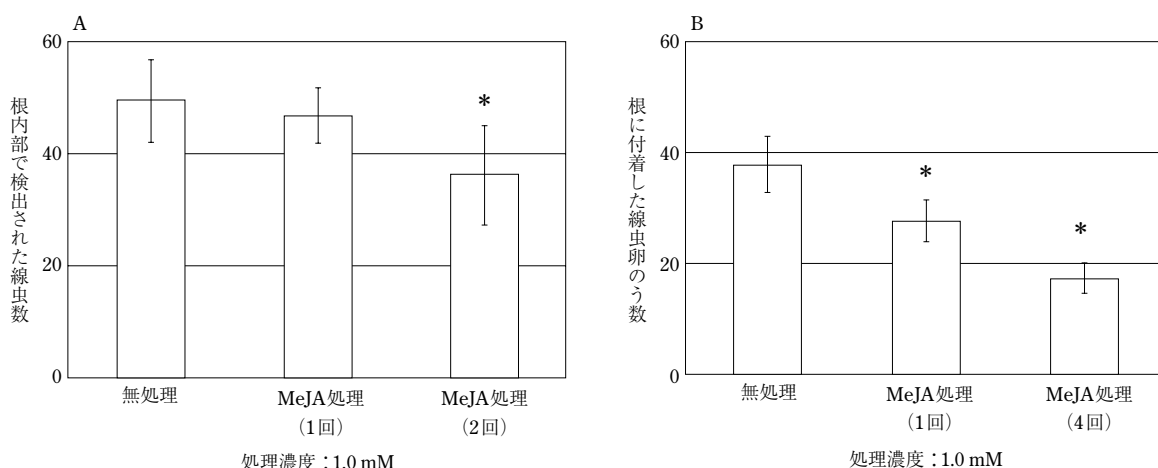


図-3 1.0 mM のジャスモン酸メチル (MeJA) をトマト葉面にスプレー散布して2日後に200頭の線虫を接種した
この時、MeJA の散布回数によって線虫感染数に差が出るか評価するため、1 週間おきに MeJA を散布する処理区を設けた。
*は無処理との有意差があることを示す (Fujimoto et al., 2010 を改変)。

や遺伝子過剰発現系統が整備されている。これらの系統は理化学研究所バイオリソースセンターをはじめとしたシロイヌナズナのリソースセンターから容易に入手できる。本研究においても理化学研究所より遺伝子破壊株などの種子を適宜提供していただいた。

使用した系統は野生株と JA に対する感受性を消失した *coi1-1* 変異体, JA に対する感受性が高く JA 無処理時においても JA 経路が活性化している *sa* 変異体である。*sa* 変異体は JA 処理するとさらに JA 経路が活性化される。

砂を充てんしたポットにシロイヌナズナを播種し、発芽後、葉が十分に展開した時点で MeJA を処理した。シロイヌナズナはトマトに比べて JA に対する感受性が高いため、0.1 mM の MeJA を処理した。MeJA の処理から 2 日後に 200 頭の線虫を株元に接種した。線虫の接種から 1 週間後に地下部を採取し、根内部の線虫を染色することで線虫の侵入個体数を測定した。

その結果、シロイヌナズナにおいても MeJA 処理によって JA 経路が活性化すると線虫の侵入を抑制することが明らかとなった。MeJA を処理せずとも JA 経路が活性化している *sa* 変異体においても線虫の侵入は野生株の MeJA 無処理に比べて有意に抑制された (図-4)。ただし、MeJA を処理したとしても *sa* 変異体における線虫侵入数に差は見られなかった。遺伝子発現量がある一定の水準を超えると線虫感染抑制効果に差が見られなくなることが明らかとなった。このとき、野生株, *sa* 変

異体ともに、トマトと同様、シスタチンなどの遺伝子発現と線虫侵入数の抑制との間に相関が見られた (図-5)。ここから線虫の感染抑制には植物種を問わず、JA 関連遺伝子、特にシスタチンなどの酵素反応に関連する遺伝子の発現が関与することが示唆された。一方、MeJA による JA 関連遺伝子の発現が誘導されない *coi1-1* 変異体における線虫の侵入数は野生株よりも有意に少なかった。*coi1-1* 変異体は JA 経路自体が活性化することがない変異体であるため、MeJA を処理しても JA 経路が活性化することはない (図-5)。それにもかかわらず、線虫の侵入数は野生株の MeJA 処理時と同等であった (図-4)。線虫の侵入が野生株よりも抑制されたことから、線虫が根への侵入の際に JA 経路を利用しており、JA 経路が存在しないと、感染を成立させることができない可能性が考えられた。これらの結果から、線虫の根への侵入とその抑制は JA 経路が深く関与しているとともに、JA 経路の存在やその活性化により線虫の侵入が制御されていることが示唆された。

おわりに

JA 経路の遺伝子群の活性化とネコブセンチュウ侵入抑制に関連があることを明らかにした。また、JA 経路自体が欠損していても侵入が抑制されることも判明した。しかしながら、ジャスモン酸はその製造にかかるコストが高いため、コスト削減という観点から見れば現時点では実用レベルの防除剤候補にはなりえないと思われ

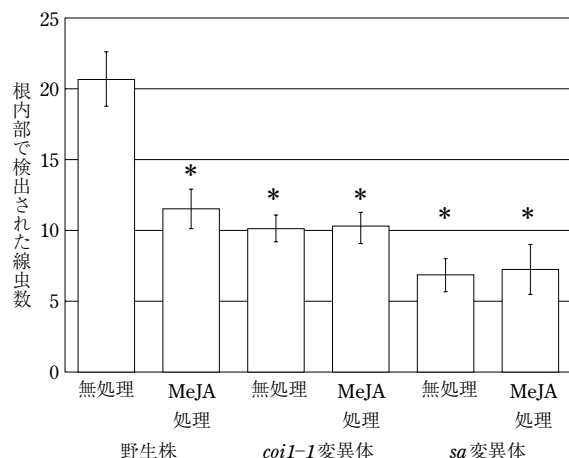


図-4 0.1 mM のジャスモン酸メチル (MeJA) をシロイヌナズナ野生株, *coi1-1* 変異体, および *sa* 変異体に処理して 2 日後に 200 頭の線虫を接種した。線虫接種から 1 週間経過後にシロイヌナズナ根への線虫侵入数を評価した。* は野生株の無処理との有意差があることを示す (Fujimoto et al., 2011 を改変)。

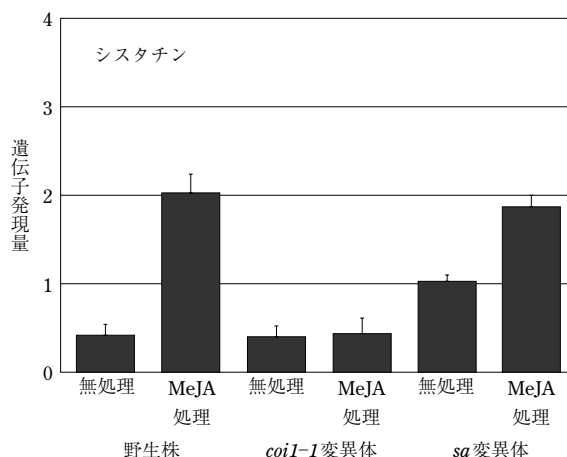


図-5 1.0 mM のジャスモン酸メチル (MeJA) をシロイヌナズナ野生株, *coi1-1* 変異体, および *sa* 変異体に処理して 2 日後にそれぞれの根をサンプリングし、定量 RT-PCR 法によりジャスモン酸関連遺伝子の発現を評価した (Fujimoto et al., 2011 を改変)

る。JA 経路が欠損した品種の作出も現時点では現実的な手法とはいえない。したがって、線虫に対する有効な抵抗性誘導剤を開発するためには、ジャスモン酸経路を活性化させるジャスモン酸およびその類縁体以外の化合物を探索することが重要であると考えられる。今回の試験によって、線虫の感染抑制効果と有意な相関を持つ遺伝子をいくつか得ることができた。これら遺伝子の発現が直接線虫の感染抑制効果をもたらしたとは考えにくく、遺伝子発現に伴う植物体内の物質放出量や蓄積量の変化によって線虫の感染が抑制された可能性が高い。このような物質の変化を線虫が敏感に察知し、侵入しなくなったことが考えられるため、今後はジャスモン酸処理

に伴う植物から放出される物質の変化に焦点をあて、線虫感染抑制効果を持つ物質が存在しないか検証を行う予定である。この試みは、よりダイレクトな線虫防除効果を持ち、応用可能性も高い物質の同定につながる事が期待できる。

引用文献

- 1) ABE, H. et al. (2008) : Plant Cell. Physiol. **49** : 68 ~ 80.
- 2) FUJITA, M. et al. (2006) : Curr. Opin. Plant Biol. **9** : 436 ~ 442.
- 3) FUJIMOTO et al. (2010) : J. Plant Physiol. IN PRESS (doi : 10.1016/j.jplph.2010.12.002).
- 4) ——— et al. (2011) : Nematol. Res. IN PRESS.
- 5) PIETERSE, C. M. J. et al. (2006) : Multigenic and Induced Systemic Resistance in Plants, Springer, New York, p. 166 ~ 196.
- 6) URWIN, P. et al. (2004) : Planta. **204** : 472 ~ 479.

登録が失効した農薬 (23.5.1 ~ 5.31)

掲載は、**種類名**、登録番号：商品名（製造者又は輸入者）登録失効年月日。

「殺虫剤」

● DDVP くん蒸剤

7543：園芸用バボナ殺虫剤（アース製薬）11/05/13

「殺虫殺菌剤」

● MEP・チオファネートメチル粉剤

14611：住化スミトップ M 粉剤（住友化学）11/05/29

● BPMC・MPP・EDDP 粉剤

18365：バイエルヒノバイジットパッサ粉剤 DL（バイエルクロップサイエンス）11/05/19

18368：バイエルヒノバイジットパッサ粉剤 25DL（バイエルクロップサイエンス）11/05/19

「殺菌剤」

● バリダマイシン粉剤

12192：バリダシン粉剤（住友化学）11/05/02

● TPN 水和剤

16825：武田ダコニール 1000（住友化学）11/05/20

「除草剤」

● フェンメディファム乳剤

9919：ベタナール乳剤（ホクサン）11/05/08

● DCMU 水和剤

12339：カーメックス-D（第一農薬）11/05/04

● DCMU 水和剤

12427：サンケイカーメックス D（琉球産経）11/05/04

● シメトリン・ベンフレート・MCPB 粒剤

20592：三共ザーベックス SM 粒剤（三井化学アグロ）11/05/12

発生予察情報・特殊報 (23.5.1 ~ 5.31)

各都道府県から発表された病害虫発生予察情報のうち、特殊報のみ紹介。**発生作物：発生病害虫**（発表都道府県）発表月日。都道府県名の後の「初」は当該都道府県で初発生の病害虫。

※詳しくは各県病害虫防除所のホームページまたは JPP-NET (<http://www.jpnpn.ne.jp/>) でご確認ください。

■ コマツナ：アヤトビムシ科の一種（東京都：初）5/2

■ トマト：茎えそ病（仮称）（鹿児島県：初）5/2

■ ニンジン：キクノネハネオレバエ（香川県：初）5/11

■ ダリア：ポテスピンデルチューバーウィロイド (PSTVd) の感染（千葉県：初）5/13

■ ビーマン：炭疽病（兵庫県：初）5/16

■ イチジク：モザイク病（福岡県：初）5/20

■ クロスグリ：スグリコスカシバ（岩手県：初）5/24

■ トマト：黄化萎縮病（仮称）（福島県：初）5/31

■ ダリア：ポテスピンデルチューバーウィロイド (PSTVd) による病害（福島県：初）5/31