

作物の誘導抵抗性を利用した病害防除

農業環境技術研究所 農薬影響軽減ユニット

石井 英夫

はじめに

作物の病害虫防除は化学合成農薬に大きく依存しているが、これらの代替資材や新しい技術の普及が今日強く求められ、平成 16 年度より開始された農林水産省プロジェクト「生物機能を活用した環境負荷低減技術の開発」では、農薬使用量を削減するための技術開発推進の必要性が強調されている。また、海外特にヨーロッパでは最近、農薬の使用中止や登録抹消が相次いでいる。

一方、安全性試験等に要する経費の増大などから、薬剤の開発コストは増大の一途をたどり、新規骨格をもつ農薬の開発は今後ますます困難になると予想される。その結果、同じグループの薬剤に開発が集中する傾向があるほか、減農薬栽培指向によって防除効果や残効性等に優れた、ストロビルリン系殺菌剤(QoI 剤)やステロール脱メチル化阻害剤(DMI 剤)など特定グループの薬剤に使用が偏る傾向があり、新たな耐性菌問題の発生も危惧される。

これに対して、代表的な病害抵抗性誘導剤プロベナゾール(商品名:オリゼメート、Dr.オリゼなど)は、使用開始から 30 年を経た今日においても、耐性菌問題を生じることなく、イネ病害特にいもち病の防除に重要な役割を果たしている。

病害抵抗性誘導剤は通常病原体には直接作用せず、防御応答機能の活性化によって植物に病害抵抗性を発現させるものであり、そのユニークな作用機構から耐性菌を生じるリスクはほとんどないと考えられる。また、抵抗性誘導剤は環境負荷も少ない次世代型の病害制御剤として各方面で注目されている。そこで、誘導抵抗性を利用した病害防除の現状と環境保全型農業において期待される抵抗性誘導剤の役割、今後の課題等について以下に解説する。

誘導抵抗性を利用した病害防除の現状

いもち病菌の侵入に必須の色素、メラニンの合成を阻害するシタロン脱水酵素阻害剤(MBI-D 剤)カルプロパミド(商品名:ウィンなど)は、移植前イネの育苗箱処理剤として近年急速に普及し、長期残効性によって病害防除作業の省力化や水田への農薬投下量の削減に大きく貢献してきた。しかし、予想外の薬剤耐性菌の出現によって今日困難に直面している。これに対して、世界で最初の病害抵抗性誘導剤であるプロベナゾールは、いもち病防除に安定した効果を発揮して再び売り上げを伸ばしている。

抵抗性誘導剤としてはこのほか、スイスで開発されたベンゾチアジアゾール系(BTH)のアシベンゾラルSメチル(ASM、商品名:バイオン)がよく知られ、糸状菌病から細菌

病、ウイルス病に至る幅広い防除スペクトラムはプロベナゾールをむしろ上回り、内外で大きな関心を集めた。さらに最近では、チアジアゾールカルボキサミド系のチアジニル(商品名:ブイゲット)のほか、生物農薬でも抵抗性誘導作用をもつものが開発されている(表1)。しかしプロベナゾールを除けば、抵抗性誘導剤の現場への普及はいまだ十分とはいええず、従来型の殺菌剤が依然として防除薬剤の主流を占めている。

表1 我が国で農薬登録されている病害抵抗性誘導剤

一般名または含有生物	商品名
化学合成農薬:	
プロベナゾール	オリゼメート、Dr. オリゼなど
アシベンゾラル S メチル	バイオン
チアジニル	ブイゲット
生物農薬:	
シュードモナス フルオレッセンス	セル苗元気
タラロマイセス フラバス	バイオトラスト
非病原性フザリウム	マルカライト

環境保全型農業における抵抗性誘導剤の役割と期待

(1) 全身抵抗性誘導と持続的効果

植物における誘導抵抗性は、局所的なものと全身的なものの2つに大別される。前者は発病抑制効果が抵抗性誘導資材を処理した部位に限られる場合で、オオイタドリ抽出液のキュウリうどんこ病に対するものなどがあげられる。この局所的誘導抵抗性(Locally acquired resistance、LAR)では、効果の持続性という点から実用的には不十分なことが多い。

一方、全身誘導抵抗性(Induced systemic resistance、ISRで全身獲得抵抗性 Systemic acquired resistance、SARと呼ばれることもある)は、抵抗性誘導資材を植物体の一部に処理したにもかかわらず、発病抑制効果が植物体全体に及ぶ場合である。アシベンゾラル S メチル(ASM)の例を以下に紹介する。

温室で3葉期程度の鉢植えキュウリ苗を育成し、第1葉(一番下の本葉)をASMの希釈液または対照の蒸留水(DW)に浸漬する(図1)。抵抗性誘導によって発病を抑制するためには通常3ないし7日間程度のlag timeが必要であるが、ASMは例外的に抵抗性誘導に要する時間が著しく短い。そこでASM処理のわずか3時間後、今度はキュウリ植物体全体に病原菌、たとえば炭疽病菌の孢子懸濁液を噴霧接種する。24時間接種装置に入れて感染を促した後、温室に移して、接種1週間後に発病を調査する。

表2に示すように、ASMを処理した第1葉のみならず、処理していない上位葉でも対照のDW区に比べて炭疽病の発生が強く抑えられる。このように、ASMは局所的抵抗性

だけでなく全身抵抗性も強く誘導する。栽培現場では多くの場合、同じ作物に複数の病害が発生するが、キュウリでは炭疽病のほか、うどんこ病、べと病、黒星病、斑点細菌病などに対してもASMは高い発病抑制効果を示し、複合抵抗性を誘導する優れた特性を持つ。参考までに、ASMの幅広い防除スペクトラムを表3に示す。

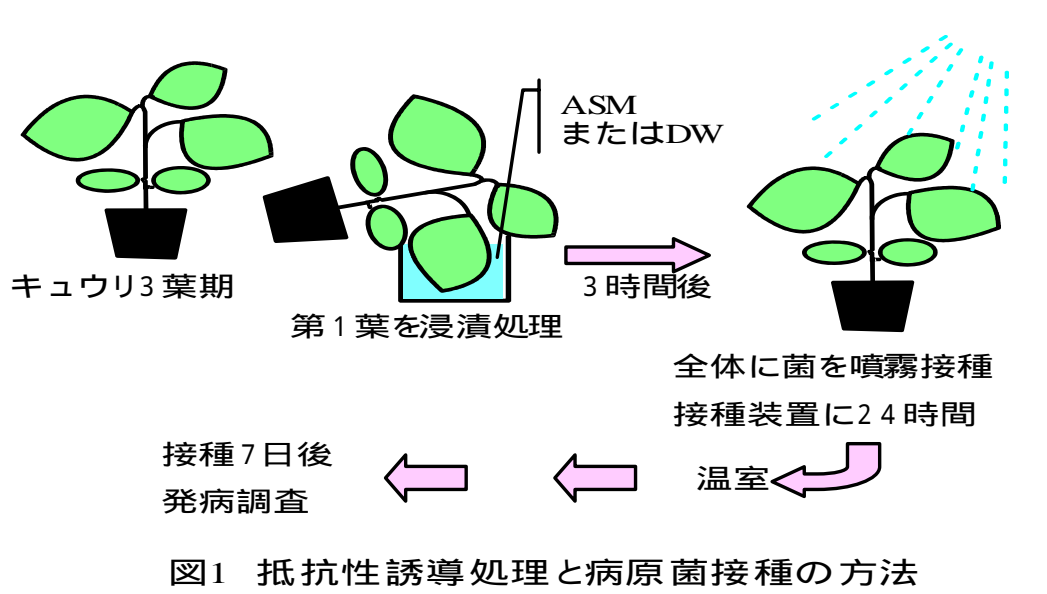


表2 アシベンゾラルSメチルのキュウリ炭疽病に対する発病抑制効果
(第1葉浸漬処理)

処理	葉位別防除価					平均
	第1葉	第2葉	第3葉	第4葉	第5葉	
ASM 100ppm	100	100	98.4	100	100	99.6
DW	(9.3) ^a	(15.3)	(40.7)	(51.7)	(4.0)	(24.2)

^a 1葉当たりの病斑数。

次に、ASMの全身抵抗性誘導効果がどれくらいの期間持続するかを温室試験で調べたところ、キュウリ炭疽病に対しては、第1葉の浸漬処理後少なくとも1ヶ月間は効果が持続した(表4)。栽培様式や時期、病害の発生状況などによって大きく異なるものの、キュウリでは生育期間中、1週間から10日間隔くらいで殺菌剤が散布されることが多いことから、ASMの持続的な発病抑制効果には目を見張るものがある。

表3 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（抜粋、引用省略）

作物	病害
イネ	いもち病、白葉枯病
コムギ	うどんこ病、赤さび病
ジャガイモ	疫病、モザイク病
ダイズ	菌核病
エンドウ	褐紋病
タバコ	べと病、角斑病、モザイク病
ワタ	黒斑病
ヒマワリ	べと病
カシュー	炭疽病
トマト	疫病、うどんこ病、萎凋病、モザイク病、黄化えそ病
ナス	半身萎凋病
ピーマン	斑点細菌病
キュウリ	炭疽病、黒星病、うどんこ病、べと病、苗立枯病、 斑点細菌病
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	黒点細菌病
パパイヤ	疫病

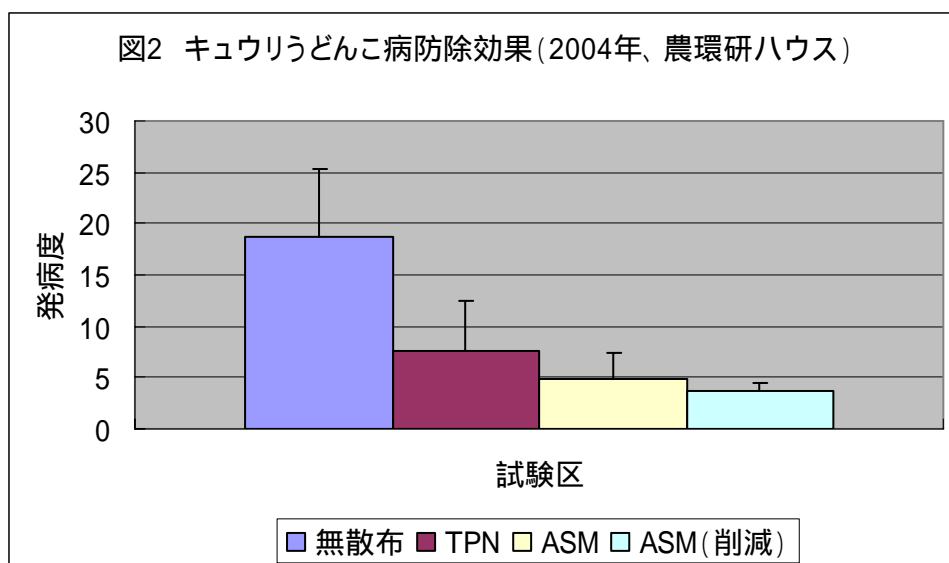
表4 アシベンゾラルSメチルのキュウリ炭疽病に対する抵抗性誘導効果の持続性
（第1葉浸漬処理）

処理	防除価			
	処理後、病原菌接種までの期間（週）			
	1	2	3	4
ASM 100ppm	98.4	97.0	97.8	79.6
DW	(36.4) ^a	(13.3)	(22.4)	(38.2)

^a 1葉当たりの病斑数。

(2) 全身抵抗性誘導化合物による薬剤散布回数の削減

温室試験におけるASMの高い発病抑制効果やその持続性が、どの程度実際の圃場でも再現されるかを数年間にわたって調べた。ビニールハウス内にキュウリ苗を定植し、その翌日から約2週間間隔でASMまたは対照薬剤を計3~4回散布した。ASMは回数削減区も設けた。発病調査の結果、ハウス栽培ではASMによる全身抵抗性誘導の持続的効果により、通常の薬剤散布回数に比べて1/2~1/3に削減しても、うどんこ病やべと病の効果的な防除が期待できることが明らかになった(図2)。



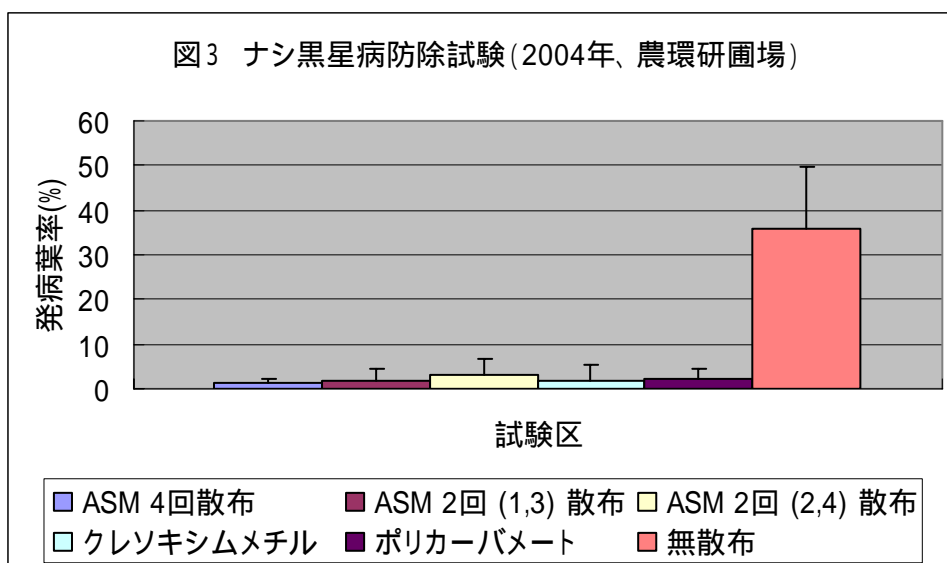
(石井ほか、未発表)

一方、キュウリの露地栽培、特に病害の多発生条件下ではASMの防除効果は不安定で、効果が高い場合と低い場合とがあった。さらに温室試験の結果から、近年各地で発生が増加している褐斑病に対しては、ASMの効果は低いと予想された。なお、ASMは抵抗性誘導という作用特性から、高い効果を発現させるためには感染前の予防散布によってキュウリの防御機能を活性化させておくことが不可欠である。また、ASMは現在キュウリに農薬登録がなく、農家が商業栽培にこれを使用することはできない。

果樹、特にナシの栽培では病害防除に殺菌剤を多用する傾向が強いが、最近になって病害の精細な発生予測や薬剤の残効性をふまえた防除体系の立案によって、薬剤散布回数削減が各地で試みられ、一定の効果を上げている。ASMについても、ナシの落花後から2週間間隔で計4回散布したところ、黒星病に対して対照薬剤と同等の十分な防除効果が得られた(図3)。また、ハウス栽培のキュウリ同様露地のナシにおいても、誘導抵抗性の利用による薬剤散布回数削減の可能性が示唆された。

以上のように、ASMは多くの植物病原菌に対して全身かつ持続的な抵抗性を誘導し、その効果は散布回数の削減を通じて環境保全型農業の推進に貢献すると期待され

る。



(石井ほか、未発表)

全身抵抗性誘導のメカニズム

ASMは我が国ではイネいもち病と白葉枯病にしか農薬登録がなく、しかも同じく抵抗性誘導剤として汎用されるプロベナゾールに比べると、現場での使用実績は遠く及ばない。しかし、イネでは播種時あるいは育苗段階で長期残効型薬剤を処理することが既に広く普及しており、本田における薬剤使用回数の削減がかなり進んでいる。また、新潟県におけるようにマルチライン(イネのいもち病抵抗性同質遺伝子系統)の栽培が広がれば、さらに大幅な農薬削減にもつながる。このため、むしろ一般に薬剤散布回数が多い施設野菜や果樹でこそ、全身抵抗性を誘導する薬剤の適用が望まれる。

そこで筆者らはキュウリとナシを研究対象に選び、上述した応用試験とは別に全身抵抗性誘導の分子機構を研究している。ASMとキュウリ、炭疽病菌の組み合わせで、これまでに明らかになったことを図4にまとめてみた。

ASMによる全身抵抗性誘導の過程で、キュウリ上位葉にはパピラ形成(カロス生成)やフェノール類、リグニン、感染特異的たんぱく質(PR-たんぱく質)酸性キチナーゼの生成やパーオキシダーゼ、リポキシゲナーゼ活性の増大などが観察され、炭疽病菌のキュウリ表皮細胞への侵入も阻止されていた。また過酸化水素の速やかな生成、蓄積がみられ、その全身抵抗性誘導シグナルとしての役割が示唆された。さらに、ASM処理によりキュウリ葉における-1,3-グルカナーゼ、PR-1、フェニルアラニンアンモニアリアーゼ遺伝子や機能未知の遺伝子2種の転写量が増大した。

ナシ葉ではASM処理とナシ黒星病菌の接種によって、カロスや酸性キチナーゼ、PR-10の生成増大がみられたほか、ロイシンに富んだ繰り返し配列を持ち、病害抵抗性

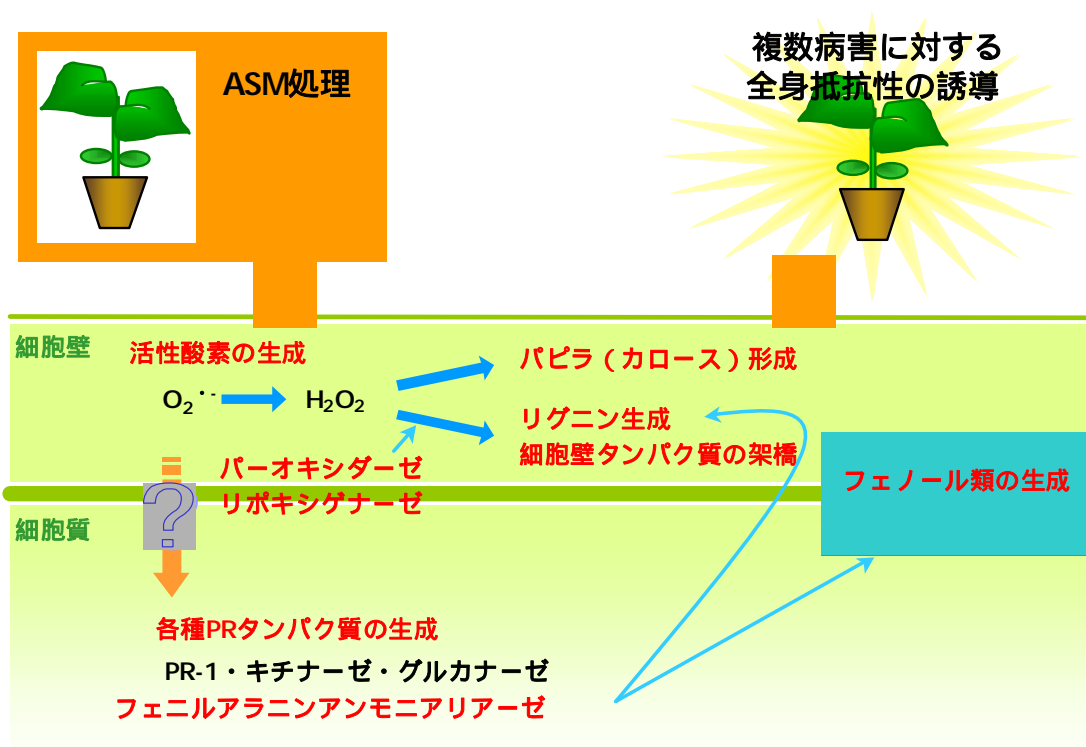


図1 アシベンゾラルSメチル (ASM) のキュウリにおける全身抵抗性誘導機構

遺伝子との関連でも興味深い *PGIP* (ポリガラクトツロナーゼ阻害たんぱく質遺伝子) やロイシンリッチリピート受容体様たんぱく質りん酸化酵素遺伝子 (*LRPK*) の発現量が増大した。

以上のように、ASM によってもたらされるそれぞれの作用は多分さほど強くはないものの、それらが複合的に連携しあうことによって、結果として病害抵抗性を効果的に発現すると考えられるので、病原菌がこれら1つ1つに打ち勝って耐性菌を生じることは難しいと思われる。反対に、QoI 剤や MBI-D 剤のような特異作用点阻害型の殺菌剤、あるいは作物の単一優性抵抗性遺伝子のように単一因子のみに頼る場合は、薬剤耐性菌の発生や新たな病原菌レースによる病害抵抗性遺伝子の打破が起こりやすい。

農薬の生態影響軽減と抵抗性誘導化合物

最近フランスでは、我が国でも使われる有名な殺虫剤と蜜蜂の大量死との因果関係をめぐって、大きな議論がわき起こっている。近年開発される殺菌剤は一般に人畜毒性が低く、病原菌に選択的に作用するものが多い。しかし薬剤の中には、病原菌のみならず非標的微生物にも作用して微生物相の単純化すなわち多様性の低下や、リサージェンス (拮抗微生物の減少による病原菌の誘導多発生) あるいは薬剤耐性菌やかび毒産生菌の増加などを引き起こすものもある。

農薬の生態影響調査には、魚類や水生昆虫、藻類などが対象とされることが多く、微生物

物とりわけ植物の葉面糸状菌相にスポットを当てた研究例は少ない。そこで筆者らの研究室では現在、露地栽培のキュウリとナシを用いて、新規薬剤や各種資材が葉面糸状菌相に及ぼす影響を形態学及び分子生物学的手法により解析している（表5）。

ナシの生育期に4回（ASMは2回区も設けた）散布したところ、防除スペクトラムの広いジチオカーバメート系殺菌剤ポリカーバメート（商品名：ビスダイセン）区では、無散布区に比べて葉面糸状菌相の多様性が顕著に低下していた。これに対して、ASM散布区ではそのような現象は観察されなかった。これは、ASMが糸状菌や細菌に直接的な抗菌作用を示さないためと考えられ、病害防除における誘導抵抗性の利用には農薬の環境負荷、生態影響の軽減という観点からも興味深いものがある。

表5 薬剤散布がナシ葉面糸状菌相の多様性に及ぼす影響（2004年、農環研圃場：鍾ほか、未発表）

散布区	反復	分離された糸状菌の属名(菌株数/葉4枚から採取したディスクの総数)
無散布	I	<i>Aureobasidium</i> (1/12), <i>Alternaria</i> (3/12), <i>Cladosporium</i> (1/12), <i>Stagonospora</i> (1/12)*
	II	<i>Aureobasidium</i> (2/12), <i>Alternaria</i> (1/12), <i>Cladosporium</i> (3/12), <i>Myrothecium</i> (2/12)*
	III	<i>Aureobasidium</i> (2/12), <i>Antiomyces</i> (1/12), <i>Stagonospora</i> (1/12)*, <i>Venturia</i> (1/12)
ASM (1~4回)	I	<i>Alternaria</i> (4/12), <i>Epicoccum</i> (2/12), <i>Myrothecium</i> (2/12)*, <i>Ascomycete</i> (1/12)*
	II	<i>Aureobasidium</i> (1/12), <i>Cladosporium</i> (2/12), <i>Myrothecium</i> (3/12)*,
	III	<i>Alternaria</i> (2/12), <i>Myrothecium</i> (1/12)*, <i>Elsinone</i> (1/12)
ASM (1, 3回目)	I	<i>Aureobasidium</i> (1/12)
	II	<i>Alternaria</i> (2/12), <i>Cladosporium</i> (3/12), <i>Epicoccum</i> (1/12)
	III	<i>Myrothecium</i> (12/12)*
ASM (2, 4回目)	I	<i>Alternaria</i> (6/12), <i>Myrothecium</i> (12/12)*
	II	<i>Alternaria</i> (1/12), <i>Cladosporium</i> (3/12), <i>Epicoccum</i> (1/12), <i>Ascomycete</i> (1/12)*
	III	<i>Aureobasidium</i> (1/12), <i>Epicoccum</i> (1/12)
植物抽出物(1~4回)	I	<i>Cladosporium</i> (1/12), <i>Torula</i> (1/12), <i>Myrothecium</i> (1/12)*, <i>Venturia</i> (1/12)
	II	<i>Cladosporium</i> (2/12), <i>Alternaria</i> (1/12), <i>Cercospora</i> (1/12)*
	III	<i>Alternaria</i> (1/12), <i>Myrothecium</i> (3/12)*
微生物発酵資材(1~4回)	I	<i>Cladosporium</i> (6/12), <i>Aureobasidium</i> (4/12), <i>Alternaria</i> (2/12), <i>Epicoccum</i> (4/12), <i>Pyricularia</i> (1/12)*
	II	<i>Cladosporium</i> (3/12), <i>Aureobasidium</i> (4/12), <i>Alternaria</i> (5/12), <i>Podospora</i> (1/12)*, <i>Apiosporina</i> (1/12)*
	III	<i>Cladosporium</i> (1/12), <i>Aureobasidium</i> (2/12), <i>Alternaria</i> (1/12), <i>Epicoccum</i> (2/12)
ポリカーバメート(1~4回)	I	<i>Myrothecium</i> (1/12)*
	II	分離されず
	III	<i>Cladosporium</i> (1/12)*
クレソキシムメチル(1~4回)	I	<i>Cladosporium</i> (6/12), <i>Aureobasidium</i> (1/12), <i>Papularia</i> (1/12), <i>Phomopsis</i> (1/12)*, <i>Myrothecium</i> (2/12)*
	II	<i>Phomopsis</i> (1/12)*
	III	<i>Alternaria</i> (1/12)

抵抗性誘導剤の課題と今後の取り組み

以上述べたように数々の優れた特性を持ち合わせていながら、ASMの適用拡大や新規抵抗性誘導剤の開発は期待したほど進んでいない。その理由として重要なものが、作物に対する薬害の問題である。資材によっては、処理濃度や処理方法、作物の種類等により生育不良をはじめとする薬害を引き起こし、これが農業現場への実用化を妨げている。

したがって、環境低負荷型の農業用資材として大きな可能性を持つ抵抗性誘導剤を今後広く普及させるためには、徐放性を持たせた製剤の開発や有効な処理方法の検討などによる、薬害軽減化対策の確立が不可欠である。また、抵抗性誘導剤のスクリーニングは依然として、温室で育成した植物を用いた煩雑な菌の接種試験に依存しており、ハイスループットスクリーニングシステム（多検体・迅速処理が可能な選抜系）の開発なくして、抵抗性誘導剤の大きな発展は望めない。そこで筆者らは、これらの方面での取り組みにも着手している。

参考文献

1. 石井英夫 (2002) 新たな抵抗性誘導剤による作物病害防除の可能性, 農業および園芸 77, 361-367.
2. 岩田道顕 (2003) Plant activator, 安部 浩ほか編, 次世代の農薬開発 (ソフトサイエンス社, 東京), 161-170.
3. 石井英夫 (2003) 植物防疫における病害抵抗性誘導利用の現状と展望, 今月の農業 47 (10), 13-18.
4. 石井英夫 (2004) 果樹病害における新たな薬剤耐性菌出現の可能性とその回避対策 - 抵抗性誘導剤の利用も含めて -, 寒冷地果樹研究会資料 (果樹研), 59-66.