

我が国の牧野草及び輸入芝草におけるエンドファイト

農林水産省草地試験場 ^こ古 ^が賀 ^{ひろ}博 ^{のり}則

はじめに

エンドファイト (endophyte; endo=within, phyte=plant) とは、植物体内部に寄生する糸状菌や細菌の総称である。ここで述べるエンドファイトは糸状菌の一種で、その多くは *Acremonium* 属の *Albo-lanosa* 節に属するため、*Acremonium* エンドファイトと呼ばれている。

エンドファイトは、今から 100 年ほど前に麦畑の雑草であるドクムギ (*Lolium temulentum* L.) の種子から発見され、4,400 年前のエジプトのファラオの墓にあった種子からも見いだされている。ドクムギはその名が示すように、その当時から人畜に中毒を起こすことが知られていた。なお、ドクムギの種名の *temulentum* は「めまいをおこす」という意味である。しかし、植物の中にあるエンドファイトが家畜中毒の直接の原因であることがわかったのは今から十数年前で、アメリカ合衆国やニュージーランドで多大な損害をもたらしているフェスクトキシコーシスやライグラススタッガーと呼ばれる家畜中毒の原因が、*Acremonium* エンドファイトであることが解明されたことによる (SIEGEL et al., 1987)。ちなみに、アメリカ合衆国ではフェスクトキシコーシスによる被害は現在でも年間 6 億 US ドルにも達すると試算されている (STUEDEMANN, 1988)。

その後、エンドファイトに感染した植物は病害虫に抵抗性になること、乾燥などの環境ストレスに強くなることが明らかにされてきた。そして、エンドファイトを生物農薬として積極的に有効利用しようという研究が盛んになってきている (LATCH, 1993)。特に、飼料に使用されない芝草の場合は家畜毒性を考慮する必要がないため、ペレニアルライグラスやトールフェスクなどの芝草では、既にエンドファイト感染種子が耐虫性品種として我が国に輸入されている。

本稿では我が国の牧野草及び輸入芝草におけるエンドファイトについて、その種類、発生生態そして感染植物の耐病虫性機能について紹介する。

I エンドファイトの種類とその生活史

Acremonium エンドファイトは、イネ科植物の 76 属、カヤツリグサ科の 2 属それにイグサ科の 1 属に感染が認められている (CLAY, 1989)。これらのエンドファイトは、その生活史から二つのタイプに分けられる。一つは子嚢胞子を形成することなく、一生植物体内で過ごす *Acremonium* 属菌 (図-1 の実線部分) で、種子内に菌糸の状態で見つかるエンドファイト (口絵-1) は、種子の発芽そして幼苗の生育と同時に植物体内を伸展し (口絵-5)、植物が種子を結実させると、エンドファイトも種子内へと伸展する。このためエンドファイトは、感染植物の種子産生によって容易に増殖する。ペレニアルライグラス、トールフェスク、メドウフェスクのエンドファイトはこのタイプで、それぞれ *Acremonium lolii* (LATCH et al., 1984), *A. coenophialum* (MORGAN-JOHNES and GAMS, 1982), *A. uncinatum* (GAMS et al., 1990) と命名されている。最近 CHRISTENSEN et al. (1993 a) は、これらのエンドファイトについてアイソザイムパターンやアルカロイド産生の有無などの諸性状なども含めた新しい

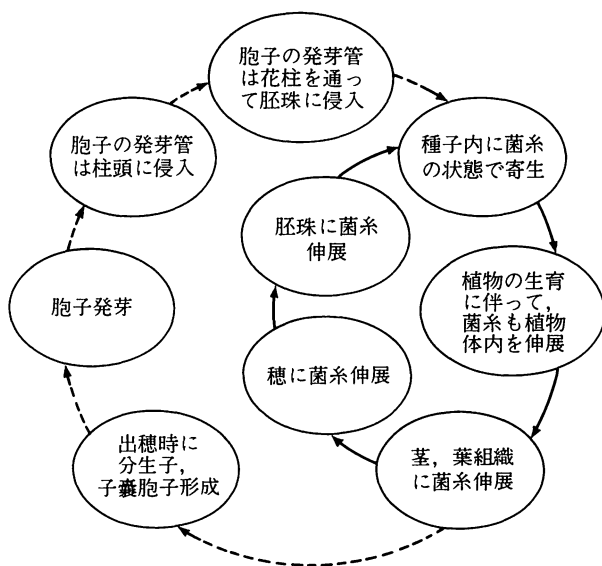


図-1 イネ科植物エンドファイトの生活環

実線は植物体内での無性世代の生活環、点線は有性世代を形成する場合の生活環 (BACON et al., 1986 より引用)

分類法を提唱している。

もう一つは、穂に子嚢胞子を形成するという時期を持つもので(図-1の破線部分)、Clavicipitaceae(麦角菌科) Balansiae 族の *Epichloë* 属, *Balansia* 属, *Balansioopsis* 属, *Atkinsonella* 属及び *Myriogenospora* 属がこれに属する。我が国ではチモシーのがまの穂がよく知られており、開花期の止葉葉身の下部と葉鞘部に子座(菌糸塊)をちょうど「がまの穂」のように形成する。

Acremonium エンドファイトは子嚢菌 *Epichloë* の無性世代と考えられているが、最近 *Acremonium* エンドファイトと *Epichloë* についてリボゾーム RNA 遺伝子及び β -チューブリン遺伝子の塩基配列を検討した結果、両者はきわめて近縁であり、*Acremonium* は *Epichloë* が有性世代を喪失してできたものとする仮説が提唱されている (SCHARDL et al., 1991)。

II 我が国の牧野草及び輸入芝草におけるエンドファイト

我が国の牧野草及び輸入芝草においてエンドファイトの見いだされている植物を表-1にまとめた。また、エンドファイトの検出された牧草エコタイプ(生態系、在来系統)の分布を図-2に示した(古賀ら, 1991 a, b; 古賀ら, 1992 a; 古賀ら, 1993; KOGA et al., 1993 a)。

ペレニアルライグラスでは、牧草エコタイプ2系統及び輸入芝草から *A. lolii* が、また東北地方の牧草エコタイプ3系統からは *Acremonium* 属以外のエンドファイトの一つとして知られている *Gliocladium* 様エンドファイト (LATCH et al., 1984) が分離された(図-2)。

表-1 我が国でエンドファイトの見いだされている牧野草及び輸入芝草とその種類

寄主植物 (由来)	エンドファイトの種類
ペレニアルライグラス (牧草エコタイプ・輸入芝草)	<i>Acremonium lolii</i>
ペレニアルライグラス (牧草エコタイプ)	<i>Gliocladium</i> 様エンドファイト
トールフェスク (牧草エコタイプ・輸入芝草)	<i>A. coenophialum</i>
メドウフェスク (牧草エコタイプ)	<i>A. uncinatum</i>
ハードフェスク (輸入芝草)	<i>Acremonium</i> sp.
チモシー (牧草)	<i>Epichloë typhina</i>
ヤマカモジグサ (野草)	<i>Epichloë typhina</i>

鞘組織内を光学顕微鏡で観察すると *A. lolii* の菌糸は分枝がほとんどなく波状にねじれている(口絵-2)のに対し、*Gliocladium* 様エンドファイトの菌糸は多くの枝分かれがある(口絵-3)ことから容易に区別できる。

トールフェスクでは九州農試で収集された牧草エコタイプ39系統のうち山形県村山市と東根市から採集した2系統と輸入芝草に、*A. coenophialum* が検出された(図-2)。北海道で収集されたメドウフェスクのエコタイプ8系統のうち7系統からエンドファイトが分離され、それらはかぎ型の分生子を形成することから、*A. uncinatum* と同定された(図-2)。この *A. uncinatum* については棒状の分生子を形成する系統があることが最近報告されている (CHRISTENSEN et al., 1993 b)。また、芝草用のハードフェスク SR 3000 からエンドファイトが分離され、分生子の形態から *Acremonium* sp. と同定された。野草の例としては、がまの穂病の病徴を呈していたヤマカモジグサから *Epichloë typhina* が分離された。

A. lolii, *A. coenophialum* 及び *A. uncinatum* の培地上での菌叢の生育はきわめて遅く、25°Cに2か月保っても菌叢直径は2~3cmで、それに対して *E. typhina* は若干速い(口絵-4)が、通常の植物病原菌と比較すると遅いという特徴がある。

走査電子顕微鏡での観察結果、上記のいずれのエンドファイトも植物の細胞間げきや髄腔に面した組織上を伸展し、植物細胞内に侵入することはなかった(口絵-5, KOGA et al., 1993 a)。さらに透過電子顕微鏡で観察すると、エンドファイト菌糸と植物の細胞間げきとの間には



図-2 牧草エコタイプ収集地点とエンドファイト感染の有無

intercellular matrix が存在し、これを媒介して代謝産物の授受が行われていることが示唆された (KOGA et al., 1993 b)。

III エンドファイトによる耐病虫性及び環境ストレス耐性の付与

1 耐虫性付与

ニュージーランドではペレニアルライグラスの育成上最も大きな障害の一つは Argentin stem weevil (オサゾウムシの一種) による被害である。この害虫による被害は甚大で、草地を維持できないことさえあると言われている。この害虫に対して *Acremonium* エンドファイトに感染した植物は、強い耐虫性を発揮して生き残ることができる。これがエンドファイト感染植物が耐虫性を付与されたことを示した最初の例 (PRESTIDGE et al., 1982) であるが、その後耐虫性及び耐線虫性の事例が多数報告されている (LATCH, 1993, 表-2)。

我が国ではエンドファイトに感染したペレニアルライグラスやトールフェスクが、芝草の重要害虫であるシバツトガに、またエンドファイトに感染したメドウフェスクがムギクビレアブラムシに顕著な耐虫性を示すことが明らかにされた (神田ら, 1992 a, b)。圃場及び飼育容器内での調査の結果、シバツトガの幼虫 (口絵-6) による被害はエンドファイト感染率の高い品種では少なく、感染率の低い品種では多かった (口絵-7)。

エンドファイトに感染した植物が耐虫性を持つ機構については、ムギミドリアブラムシやオサゾウムシの一種などに対しては、菌の産生するアルカロイドの一種であるペラミンが忌避効果を示すことが、またムギクビレアブラムシやオオヨコバイの一種などに対してはロリンアルカロイドが摂食阻害を起こすことが明らかにされている (SIEGEL et al., 1987)。しかしシバツトガに対する忌避物質については、現在のところ上述の既知物質と同一物質か否か明らかにされていない。

2 病害抵抗性の付与

病害抵抗性の付与については耐虫性に比べてまだ事例が少ないが、これまでいくつかの報告がなされている。*A. coenophialum*, *A. lolii* 及び *A. uncinatum* を、植物病原菌である *Cladosporium cladosporioides*, *Rhizoctonia cerealis* などと対峙培養すると阻止円を形成し、抗菌性を示す (WHITE and COLE, 1985; SCHMIDT, 1990, CHRISTENSEN et al., 1991; SIEGEL et al., 1991)。GWINN and GAVIN (1992) は *A. coenophialum* に感染したトールフェスクが *Rhizoctonia zea* に対して抵抗性を示すようになることを報告している。我が国では島貫 (1987) 及び但

表-2 エンドファイト感染植物が活性を示す昆虫及び線虫の種類^{a)}

学名	和名
昆虫	
甲虫目 (Coleoptera)	
<i>Chaetocnema pulicaria</i>	トビハネムシの一種
<i>Heteronychus arator</i>	コガネムシの一種
<i>Listronotus bonariensis</i>	オサゾウムシの一種
<i>Sphenophorus parvulus</i>	オサゾウムシの一種
<i>Sphenophorus inaequalis</i>	オサゾウムシの一種
<i>Sphenophorus minimus</i>	オサゾウムシの一種
<i>Sphenophorus venatus</i>	シバオサゾウムシ
<i>Tribolium castaneum</i>	コクヌストモドキ
鱗翅目 (Lepidoptera)	
<i>Agrostis segetum</i>	カブラヤガ
<i>Graphania mutans</i>	ヤガ科の一種
<i>Spodoptera frugiperda</i>	ツマジロクサヨトウ
<i>Spodoptera eridania</i>	ヤガ科の一種
<i>Crambus</i> spp.	ウスギンツトガの近縁種
半翅目 (Hemiptera)	
異翅亜目 (Heteroptera)	
<i>Balanococcus poae</i>	コナカイガラムシの一種
<i>Blissus leucopterus hirtus</i>	ナガカメムシの一種
<i>Oncopeltus fasciatus</i>	ナガカメムシの一種
同翅亜目 (Homoptera)	
<i>Agallia constricta</i>	ヒロズヨコバイの一種
<i>Draeculacephala antica</i>	オオヨコバイの一種
<i>Endria inimica</i>	ヒメヨコバイの一種
<i>Diuraphis noxia</i>	アブラムシの一種
<i>Rhopalosiphum padi</i>	ムギクビレアブラムシ
<i>Schizaphis graminum</i>	ムギミドリアブラムシ
直翅目 (Orthoptera)	
<i>Acheta domesticus</i>	コオロギの一種
線虫	
<i>Helicotylenchus dihystrera</i>	ナミラセンセンチュウ
<i>Meloidogyne marylandi</i>	ネコブセンチュウの一種
<i>Paratrichodorus minor</i>	ヒメユミハリセンチュウ
<i>Paratylenchus projectus</i>	ピンセンチュウの一種
<i>Paratylenchus scribneri</i>	スクリブナーネグサレセンチュウ
<i>Tylenchorhynchus acutus</i>	イシユクセンチュウの一種

a) LATCH (1993) を一部改変した。

見 (1991) が、がまの穂病に感染したチモシーは斑点病やさび病に対して抵抗性を持つようになることを明らかにし、KOSHINO et al. (1987, 1989) は同菌から抗菌活性のある物質として5員環セスキテルペノイド chokol 類や数種の不飽和ヒドロキシ脂肪酸を単離し、化学構造を決定している。

3 環境ストレス耐性の付与

エンドファイトに感染している植物は乾燥などの環境

ストレスに強くなることが多い。特にエンドファイトに感染しているトールフェスクは、乾燥に強くなることが知られている。この原因としては、エンドファイト感染植物は、気孔抵抗が高まるなどの生理的变化が起き、また葉が細く厚くなり、早めに巻くなど形態的变化が起きることによって、水分の保持を良くしている (ARACHEVALETA, M. et al., 1989)。また、土壌線虫がエンドファイト感染植物では著しく少なくなるため、根の張りが良くなることも、耐乾性付与に関与している (WEST, 1987)。さらに、エンドファイトに感染した植物は一般に嗜好性が低下するため、放牧牛は地際部まで摂食することはない。一方、エンドファイトに感染していない植物は、地際部まで食い尽くしてしまう。このため、エンドファイト感染植物のほうが、非感染植物より乾燥に対して強いという結果になる (LATCH 私信)。

おわりに

エンドファイトを他の植物に人工接種することによって、あたかも遺伝子組換えしたかのように、その有用機能を他の植物に付与することができる。筆者らは、シバツトガに対して耐虫性を示したペレニアルライグラスやトールフェスクからエンドファイトを分離・培養し、これを非感染の同種の植物に接種した結果、接種したエンドファイトの菌糸は植物全体に広がり (古賀ら, 1992b)、その植物はシバツトガに対して耐虫性を示すようになった (平井ら, 1993)。

牧草にエンドファイトを利活用しようとする、家畜中毒という問題がある。しかし、家畜毒性はないが耐虫性のみあるエンドファイトが、最近自然界で見いだされている (LATCH and TAPPER, 1988)。現在、このエンドファイトを牧草に人工接種することによって、家畜毒性のない耐虫性牧草を育成する研究が行われている (DAVIS et al., 1993)。

我が国でのエンドファイト研究はまだ始まったばかりであり、このため海外では自然界でのエンドファイト感染が報告されているが、日本ではまだ見いだされていない植物も多い。そのなかにはイタリアンライグラスやオーチャードグラスなどの主要な牧草も含まれている。また、これまでのエンドファイトの研究は主に牧草・芝草などに限定されているが、エンドファイトは熱帯から寒帯までの多種多様の植物からも見いだされている (CLAY, 1989)。それらのエンドファイトは未知の有用機

能を持っている可能性を秘めており、有用微生物遺伝資源として実際の農業生産に幅広く貢献するものと考えられる。

引用文献

- 1) ARACHEVALETA, M. et al. (1989) : Agron. J. 81: 83~90.
- 2) BACON, C. W. et al. (1986) : Agron. J. 78: 106~116.
- 3) CHRISTENSEN, M. J. et al. (1991) : Mycological Research 95: 918~923.
- 4) ——— et al. (1993 a) : Mycological Research (in press).
- 5) ——— et al. (1993 b) : Proc. 2nd Int. Symp. *Acremonium/Grass Interactions*. pp. 39~42.
- 6) CLAY, K. (1989) : Mycol. Res. 92: 1~12.
- 7) DAVIS, E. et al. (1993) : Ibid., pp. 72~76.
- 8) GAMS, W. et al. (1990) : Mycotaxon 37: 67~71.
- 9) GWINN, K. D. and A. M. GAVIN (1992) : Plant Dis. 76: 911~914.
- 10) 平井剛夫ら (1993) : 平成5年度日本応用動物昆虫学会講演要旨集, pp. 82.
- 11) 神田健一ら (1992 a) : 日植病報 58: 587.
- 12) ———ら (1992 b) : 関東東山病害虫研究会年報 39: 191~192.
- 13) 古賀博則ら (1991 a) : 日植病報 57: 78.
- 14) ———ら (1991 b) : 日植病報 57: 403.
- 15) ———ら (1992 a) : 日植病報 58: 586~587.
- 16) ———ら (1992 b) : 日植病報 58: 587.
- 17) ———ら (1993) : 平成5年度日本草地学会大会講演要旨集, pp. 115~116.
- 18) KOGA, H. et al. (1993 a) : Ann. Phytopath. Soc. Japan 59: 180~184.
- 19) ——— et al. (1993 b) : Mycological Research (in press).
- 20) KOSHINO, H. et al. (1987) : Tetrahedron Lett. 28: 73.
- 21) ——— et al. (1989) : Agric. Biol. Chem. 53: 789~796.
- 22) LATCH, G. C. M. et al. (1984) : Mycotaxon 20: 535~550.
- 23) ——— and B. A. Tapper (1988) : Proc. Jpn. Assoc. Mycotox., Suppl., 1: 220~223.
- 24) ——— (1993) : Agric. Ecosyst. & Envir. 44: 143~156.
- 25) MORGAN-JONES, G. and W. GAMS (1982) : Mycotaxon 15: 311~318.
- 26) PRESTIDGE, R. A. et al. (1982) : Proc. N. Z. Weed Pest Control Conf. 35: 119~122.
- 27) SCHARDL, C. L. et al. (1991) : Pl. Syst. Evol. 178: 27~41.
- 28) SCHMIDT, D. (1990) : Proc. Int. Symp. *Acremonium/Grass Interactions*. pp. 52~57.
- 29) 島貫忠幸 (1987) : 北海道農試研報 148: 1~56.
- 30) SIEGEL, M. R. et al. (1987) : Ann. Rev. Phytopathol. 25: 293~315.
- 31) ——— and G. C. M. LATCH (1991) : Mycologia 83: 529~537.
- 32) STUEDEMANN, J. A. (1988) : J. Prod. Agric. 1: 39~44.
- 33) 但見明俊 (1991) : 植物防疫 45: 106~108.
- 34) WEST, C. P. et al. (1987) : Arkansas Farm Research 36: 3.
- 35) WHITE, J. F. Jr. and G. T. COLE (1985) : Mycologia 77: 487~489.