

いもち病菌の生成する感染誘導因子

島根大学農学部環境生物学講座 あら せ 荒 瀬 さかえ 栄

はじめに

1891年、CAVARAがイネいもち病菌を *Pyricularia oryzae* CAVARAと命名して以来、本菌に起因するいもち病の研究は世界の多くの研究者によって各方面から多数行われてきた。しかし、それらのうち感染生理学分野の研究は他の病害のそれに比べて立ち遅れており、解明すべき多くの課題が残されている。特に、いもち病菌に対するイネ品種の抵抗性あるいは感受性は、イネ品種と病原菌レースの遺伝的組み合わせ (gene-for-gene relation) により決定される (山田, 1980) が、この品種—レースレベルにおける宿主特異性決定に関与する分子機構については不明な点が多い。一方、*Pyricularia* 属菌にはメヒシバいもち病菌 (*P. grisea*) をはじめとして宿主範囲を異にする多くの種が存在する (八重樫, 1987) が、これら いもち病菌の宿主選択性の発現機構に関する研究は皆無に近い。

ここでは、最近我々が報告してきたイネ及びメヒシバいもち病菌の生成する感染誘導因子について話題提供したい。

I 病原性因子存在の状況証拠

あらかじめ病原菌の親和性レースの侵入を受けた植物細胞は、非親和性レースや非病原菌をも受容するようになることが知られている。同様の現象はイネいもち病においても認められた (ARASE and ITOI, 1981)。すなわち、イネ葉鞘細胞にいもち病菌の親和性レースを一次接種しておく、その後、二次接種したいもち病菌の非親和性レースの細胞内菌糸伸展が促進された。この受容性誘導現象は、病原性失活イネいもち病菌や非病原菌 *Alternaria alternata* の二次接種による葉鞘細胞への侵入菌糸形成でさらに明確になった。ここで得られた細胞レベルでの観察は、いもち病菌親和性レースによって形成された病斑部で、いもち病菌非親和性レースが生育できるといふ、過去の組織レベルの報告とよく一致している。一方、非病原菌 *A. alternata* のイネ細胞への侵入は、一次接種したいもち病菌親和性レースの侵入細胞において多く観察され、その細胞から離れるにしたがって

侵入頻度は低下した。このように、受容性誘導はイネいもち病菌の侵入部位を中心に局在していることが明らかとなった。しかも、胞子発芽から付着器形成に至る過程のいもち病菌を取り除き、非病原菌 *A. alternata* を接種するとイネ細胞へ侵入したことから、この受容性がいもち病菌の宿主細胞内への侵入前に既に誘導されていることが示唆された (ARASE et al., 1990; 荒瀬, 1991)。

また、受容性は熱処理によっても誘導された (ARASE and OKA, 1985; ARASE et al., 1982)。すなわち、55°C、10秒または15秒の温湯処理後、病原性失活イネいもち病菌やイネに病原性を示さないいもち病菌を接種すると、葉鞘での侵入率や細胞内菌糸伸展度の著しい増加あるいは葉身上でのいもち病斑形成と病斑上での胞子形成が観察されるようになる。このような現象は、抵抗性発現の停止を示唆するもので、抵抗性発現が停止した状態下ではいもち病菌は病原性の有無に関係なくイネ組織に侵入できることを意味している。したがって、病原性保有イネいもち病菌は自らの侵入を許容させるために、イネに存在する抵抗性機構の発現・作動を積極的に抑制する仕組みを備えていると考えられる。以上のことは、イネいもち病菌の病原性が *Pyricularia* 属菌すべてに共通した植物体に侵入する非特異的侵略力 (aggressiveness) と宿主植物の抵抗反応系の作動を積極的に抑制する発病力 (virulence) から構成されていることを示唆した。

これまでの観察結果は、いもち病菌においても宿主特異的毒素 (以下、HST と略す) やサブプレッサー (OKU et al., 1994) のような病原性因子が存在し、それによるイネの抵抗性発現の停止が、被侵入細胞と一部隣接細胞における非親和性レースや非病原菌などの受容現象として観察されたと考えることができる。しかも、そのような因子は胞子発芽時から既に生成・放出されていることを示している。一方、病原性失活菌株のうち付着器形成の良好な菌株はこのような因子の生合成能を欠損した菌株と考えたい。古く、高橋 (1955) は、そのような因子の存在を予言している。すなわち、微細なガラス針でイネ葉鞘裏面表皮の細胞にわずかな傷を付けると、その細胞はイネいもち病菌の接種時にみられる抵抗反応に酷似した変質を起こすが、傷を付ける際にイネいもち病罹病型病斑の磨砕液を処理しておく、そのような変質は起きないことを観察している。

II イネいもち病菌の感染誘導因子と特異性

これまで、いもち病菌から病原因子が発見されていない理由として、次のようなことが考えられた。すなわち、①これまでのいもち病研究に用いられてきたイネ品種は活性物質に対する反応性が非常に低く、検出のための検定植物に適していない、②感染場面の材料（例えば、孢子発芽液や感染初期のイネ組織）を用いた実験はなされていない、③植物毒性以外の生物検定法（例えば、感染誘導活性）による検出は検討されていない。そこで筆者らは、これらの点を考慮しながら実験を進めた。

その結果、孢子発芽液中には、イネ種子の幼根伸長阻害及びイネ品種関口朝日の葉にえ死斑を誘起する生理活性物質の存在することが明らかとなった。さらに、発芽液に非病原菌 *A. alternata* の分生孢子を懸濁後、イネ品種関口朝日の切り取り葉に噴霧接種すると、48時間後に *Alternaria* による大型の関口病斑が形成された (ARASE et al., 1990)。我々は、この活性物質を感染誘導因子 (Susceptibility-inducing factor, 以下、SIF と略す) と呼び、調査を続けた。発芽液中の SIF は酢酸エチルで抽出され、その活性は、朝日、関東 51 号、新 2 号あるいは蒙古稲など関口朝日以外のイネ品種に対しても有効で、それは、*Alternaria* による微小な褐点病斑の形成として認められた。このことは、活性物質の感染誘導活性が関口朝日に対する特異的活性ではなく、イネに対しては品種に関係なく発揮されることを示唆した (ARASE et al., 1994)。しかも、このような感染誘導活性は、発芽前の分生孢子抽出物では認められず、孢子的発芽後の時間経過

に伴って増高した (図-1)。したがって SIF は発芽直後から生成・放出されていると考えられる。調査に用いた病原性保有菌株の発芽液にはすべて感染誘導活性が認められた (ARASE et al., 1989) ことより、SIF がいもち病菌の孢子発芽時の普遍的代謝産物であることが示唆された。

ところで、イネいもち病に対する抵抗性あるいは感受性反応が品種とレースの組み合わせにより決まることはよく知られている。一方、植物への感染が成立するためには病原菌と植物の間に基本的な親和関係 (basic compatibility) のあることが第一条件であると提唱されている (HEATH, 1981; BUSHNELL et al., 1981)。このような観点から、本研究で初めて明らかとなった SIF は大変興味深い。すなわち、発芽液中の SIF が、レース一品種レベルにおける感染の可否をも支配するような病原因子であるか、あるいは basic compatibility に関与するものであるかという点である。先にも述べたが、病原性保有菌株はレースに関係なくすべて SIF を生成した。しかし、これら菌株といもち病抵抗性遺伝子 *Pi-a* を持つ関口朝日 (KIYOSAWA et al., 1971) 間の親和性の違いを SIF の感染誘導活性で説明することはできない (表-1) (荒瀬, 1993)。一方、イネいもち病菌は、イネ以外の植物 (オオムギ、コムギ、イタリアンライグラス、ペレニアルライグラス) にも病原性を示したが、SIF の感染誘導活性はこれらの感受性植物に対しても認められた (図-2)。しかし、非宿主植物 (トウモロコシ、シコクビエ、ハトムギ、エノコログサなど) に対しては感染誘導活性を示さなかった (ARASE et al., 1994)。これらの結果は、病原性保有イネいもち病菌が分生孢子発芽時に生成する SIF は、イネいもち病菌の植物種レベルにおける宿主識別において重要な役割を果たしていることを強く示唆している。後述するメヒシバいもち病菌の SIF についても同様のことがいえる。

SIF の作用機構は今後の研究を待たねばならないが、SIF を含む発芽液の酢酸エチル可溶画分による関口朝日の葉でのえ死斑形成が、暗黒下では著しく抑制されるに

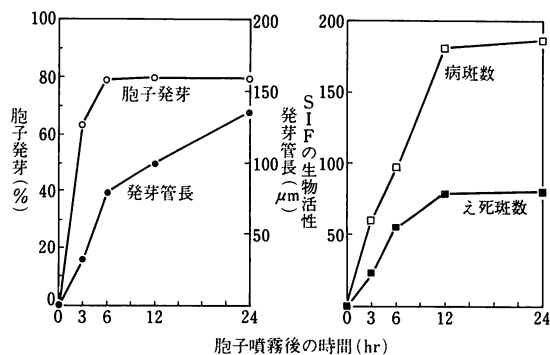


図-1 ペーパータオル上におけるイネいもち病菌孢子的発芽、発芽管伸長及びそれによる SIF 放出
え死斑数：発芽液の酢酸エチル抽出物の水溶液を関口朝日の葉に噴霧し、現れたえ死斑数。病斑数：同水溶液に *A. alternata* の孢子を懸濁後、関口朝日の葉に噴霧接種し、現れた病斑数。

表-1 いもち病菌 SIF の関口朝日に対する感染誘導活性

菌株(レース)	関口朝日との親和関係	1 葉当たりの病斑数 ^{a)}
稲 168(101)	I	46.5
研 54-04(003)	C	54.2
長 69-150(007)	C	46.5
0528-2(333)	C	34.0
SH85-125(001)	I	29.0

a) *A. alternata* の孢子を SIF 溶液に懸濁後、関口朝日の葉に噴霧接種し、24 時間後に形成された病斑を数えた。

I: 非親和性, C: 親和性。

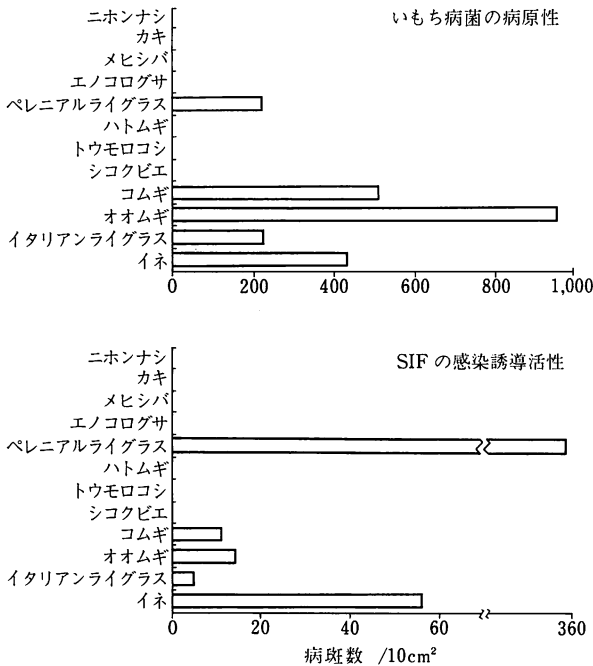


図-2 いもち病菌の病原性と SIF の感染誘導活性の関係

もかかわらず感染誘導活性自体は暗黒下でも認められたことから、菌の受容にイネ細胞のえ死は必ずしも必要でないことが示唆された。このことは、*Botrytis* 属菌 (KODAMA et al., 1989), *A. solani* (LANGSDORF et al., 1990), *Mycosphaerella pinodes* (OKU et al., 1994) の胞子発芽液中の感染誘導物質が植物毒性がないにもかかわらず、強い感染誘導効果をもつことと何か類似したところがありそうである。さらに、SIF を含む発芽液の酢酸エチル可溶画分をイネ葉に減圧浸透処理後、顕微鏡観察すると、処理 12 時間後 (え死斑は 72 時間後から観察可能) に既にミトコンドリアの変性が観察された (植原ら, 1994)。病原菌の受容に細胞死以前のわずかな細胞内器官の変性が関係していることが HST の研究において証明されている (PARK, 1994) が、いもち病の場合もイネ細胞の異物受容に SIF による細胞内器官のわずかな機能破壊が関係している可能性がある。

III メヒシバいもち病菌の SIF

メヒシバいもち病菌の胞子懸濁液をイネ、イタリアンライグラス、オオムギ、ペレニアルライグラス、シコクビエ、トウモロコシ及びハトムギに噴霧接種すると、イネ及びシコクビエを除く植物では紡錘形あるいは褐点型の病斑が形成された。しかも、ハトムギを除く植物では病斑上に多数の胞子も形成された。胞子発芽液の酢酸エ

表-2 メヒシバいもち病菌の病原性と発芽液酢酸エチル抽出物 (E) の感染誘導活性

植物	<i>P. grisea</i> ^{a)}		E + <i>A. alternata</i> ^{b)}	
	病斑形成	胞子形成	侵入菌糸形成	病斑形成
イネ	—	—	調査せず	—
イタリアンライグラス	+	+	+	+
オオムギ	+	+	+	+
シコクビエ	—	—	—	—
トウモロコシ	+	+	+	(+)
ハトムギ	+	+	—	(+)
ペレニアルライグラス	+	+	+	+

a) メヒシバいもち病菌胞子を噴霧接種し、5 日後に病斑と胞子の形成を調査した。+：形成あり。—：形成無し。

b) メヒシバいもち病菌の胞子発芽液の酢酸エチル抽出物 (E) に *A. alternata* 胞子を懸濁後、各植物の切り取り葉に噴霧接種した。72 時間後に、侵入菌糸と病斑の形成を調査した。+：形成あり。—：形成無し。(+)：+ ほど病斑が明りょうでなく接種部がわずかに変色。

チル抽出物の感染誘導活性をイネいもち病菌の場合と同様にして調査すると、メヒシバいもち病菌が病原性を示したイタリアンライグラス、オオムギ及びペレニアルライグラスでは非病原菌 *A. alternata* による褐色～濃褐色の病斑が形成された。また、トウモロコシ及びハトムギでは接種部のわずかな変色が観察された。さらに、ハトムギ以外の植物では侵入菌糸の形成も認められた (表-2)。しかし、病原性を示さなかったイネやシコクビエでは、侵入菌糸及び病斑の形成は認められなかった (荒瀬ら, 1994)。これらの結果は、メヒシバいもち病菌もイネいもち病菌同様に基本的親和関係の決定に関与する SIF を生成していることを示唆した。最近、アワやキビのいもち病菌の胞子発芽液からも病斑進展を誘導する物質のあることが報告された (松中ら, 1993; 加藤, 1994)。

おわりに

Pyricularia 属菌の中でイネ及びメヒシバのいもち病菌は病理学的にも、菌学的にも主要な位置を占める病原菌であることはいうまでもない。これら病原菌での基本的親和性の成立に関与する SIF の発見と今後の研究は、病原菌の感染機構解明という感染生理学分野の重要課題の解明のみにとどまらないように思われる。例えば、イネいもち病菌及びメヒシバいもち病菌のイネとメヒシバに対する病原性の違いは非常に明りょうであるにもかかわらず、両菌はイタリアンライグラスとペレニアルライグラスに対して共に病原性を示し、しかも発芽液中の SIF の活性も共に陽性であった。これら複雑なメカ

ニズムの解明は、病原菌の発芽液中に含まれる SIF 数の推定とそれらの作用特性の研究や、それによる菌株間の類縁関係の解析あるいは現在 *Magnaporthe grisea* (HEBERT) BARRに統一されつつあるいもち病菌を、病原性という面から整理する一助になりはしないだろうか。そのためには SIF の純化と化学構造の決定が待たれる。

引用文献

- 1) 荒瀬 栄 (1991) : 植物感染生理学最近の進歩, 植物感染生理学最近の進歩刊行会, 名古屋, pp. 45~54.
- 2) ——— (1993) : 化学と生物 31 (4) : 235~241.
- 3) ARASE, S. and S. ITOI (1981) : Ann. Phytopath. Soc. Japan 47 : 269~271.
- 4) ——— et al. (1982) : ibid. 48 : 544~546.
- 5) ——— and T. OKA (1985) : ibid. 51 : 490~493.
- 6) ——— et al. (1989) : Host-Specific Toxins : Recognition and Specificity Factors in Plant Disease (KOHMOTO, K. and R. D. DURBIN eds.), Tottori Univ., Tottori, p. 59~73.
- 7) ——— et al. (1990) : Ann. Phytopath. Soc. Japan 56 : 322~330.
- 8) ——— et al. (1994) : Host-Specific Toxin : Biosynthesis, Receptor and Molecular Biology (KOHMOTO, K. and O. C. YODER eds.), Tottori Univ., Tottori, pp. 141~152.
- 9) 荒瀬 栄ら (1994) : 平成 6 年度日植病大会講要集 : p. 7.
- 10) BUSHNELL, W. R. and J. B. ROWELL (1981) : Phytopathology 71 : 1012~1014.
- 11) HEATH, M. C. (1981) : ibid. 71 : 1121~1123.
- 12) 加藤 肇 (1994) : 日植病報 60 : 266~268.
- 13) KIYOSAWA, S. (1971) : Bull. Natl. Inst. Agric. Sci., D21 : 61~72.
- 14) KODAMA, M. et al. (1989) : Host-Specific Toxins : Recognition and Specificity Factors in Plant Disease (KOHMOTO, K. and R. D. DURBIN eds.), Tottori Univ., Tottori, pp. 33~34.
- 15) LANGSDORF, G. et al. (1990) : J. Phytopathology 128 : 271~282.
- 16) 松中 洋ら (1993) : 日植病報 59 : 81 (講要) .
- 17) OKU, H. et al. (1994) : Host-Specific Toxin : Biosynthesis, Receptor and Molecular Biology (KOHMOTO, K. and O. C. YODER eds.), Tottori Univ., Tottori, pp. 49~59.
- 18) PARK, P. (1994) : ibid. pp. 97~108.
- 19) 高橋善夫 (1955) : 栃内・福士還暦記念論文集, 還暦記念論文集刊行会, 札幌, pp. 245~248.
- 20) 植原珠樹ら (1994) : 平成 6 年度日植病大会講要集 : p. 6.
- 21) 八重樫博志 (1987) : 稲いもち病 (山中達・山口富夫編) 養賢堂, 東京, p. 22~49.
- 22) 山田昌雄 (1980) : イネのいもち病と抵抗性育種 (山崎義人・高坂淳爾編), 博友社, 東京, pp. 341~367.

本会発行図書

農薬適用一覧表 (平成 5 農薬年度)

農林水産省農薬検査所 監修

定価 3,000 円 (本体 2,913 円) 送料 380 円

A 5 判 394 ページ

平成 5 年 9 月 30 日現在, 当該病害虫 (除草剤は主要作物) に適用のある登録農薬をすべて網羅した一覧表で, 殺菌剤, 殺虫剤, 除草剤, 植物成長調整剤に分け, 各作物ごとに適用のある農薬名とその使用時期, 使用回数を分かりやすく一覧表としてまとめ, 付録として, 毒性及び魚毒性一覧表及び農薬商品名・一般名対比表を付した。農薬取扱業者の方はもちろんのこと病害虫防除に関係する方の必携書として好評です。

本会発行図書

『応用植物病理学用語集』

濱屋悦次 (前農林水産省農業環境技術研究所微生物管理科長) 編著 B 6 判 506 ページ

定価 4,800 円 (本体 4,660 円) 送料 380 円

植物病理学研究に必要な用語について, 植物病理学はもちろん, 農薬, 防除, 生化学, 分子生物学などについても取り上げ (約 6,800 語), 紛らわしい用語には簡単な説明を付けそれぞれを英和, 和英に分けてアルファベット順に掲載し, また, 付録には植物のウイルス, 細菌, 線虫の分類表を付した用語集です。植物病理学の専門家はもちろん広く植物防疫の関係者にとってご活用いただきたい用語集です。

お申し込みは前金 (現金書留・郵便振替・小為替など) で直接本会までお申し込み下さい。