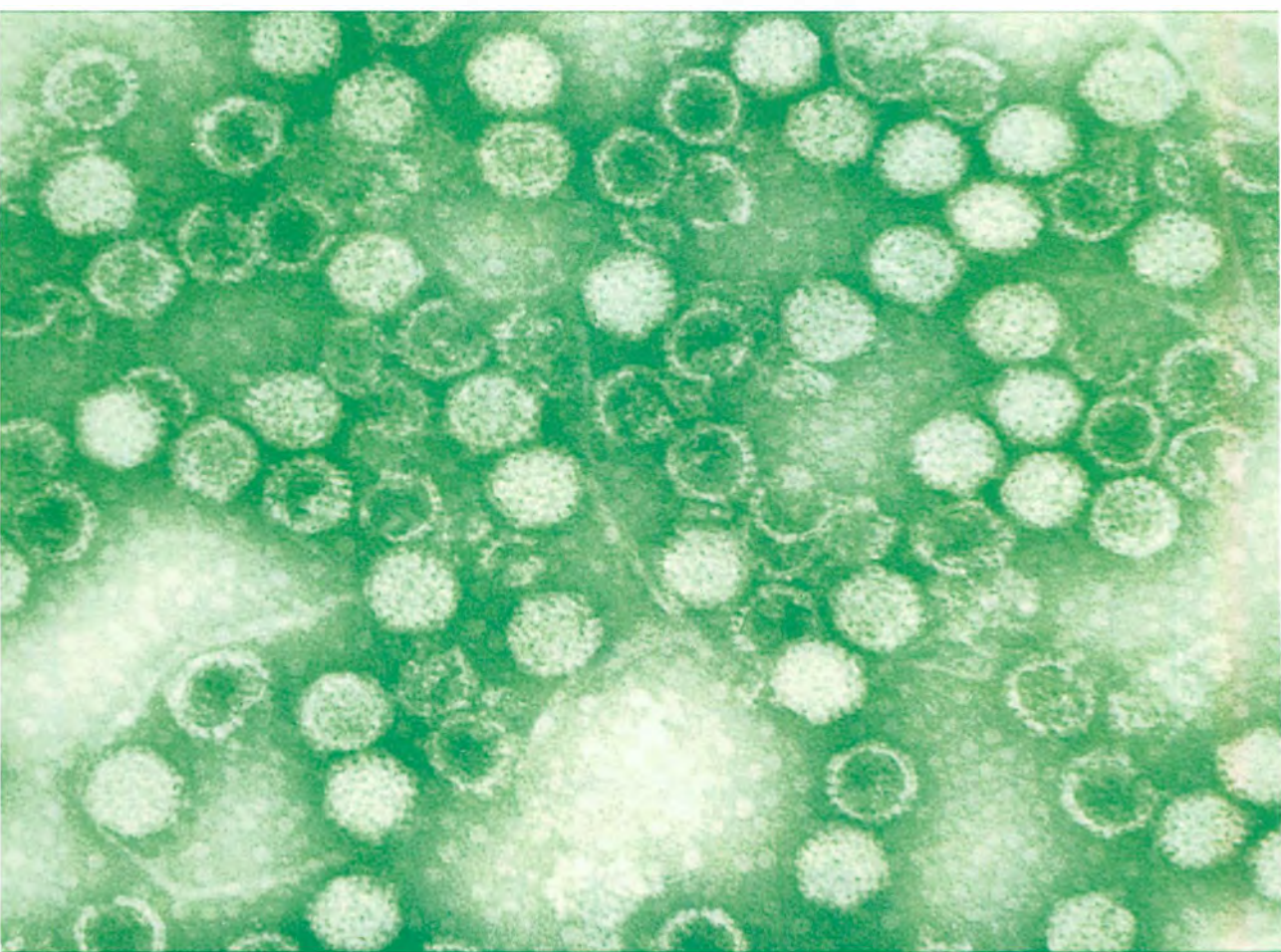


# 植物防疫

特集号

トランスジェニック植物と  
病害虫・雑草防除



1996 **5** VOL 50

# 畑のチャンピオン、ガゼットくん。

野菜・畑作害虫をノックアウト



- 抵抗性コナガ、キスジノミハムシ、ミナミキイロアザミウマなど難防除害虫に優れた効果を示します。
- かんしょやいちごのコガネムシ類(幼虫)、さとうきびのハリガネムシなど土壌害虫にすぐれた効果を示します。
- 優れた浸透移行性により、薬剤のかかりにくい部分でも十分な効果を示します。
- 優れた残効性により防除回数を減らすことが可能です。

## 適用作物

キャベツ、はくさい、ブロッコリー、だいこん、ねぎ、きゅうり、なす、ピーマン、メロン、すいか、かんしょ、ばれいしょ、とうがん、いちご、さとうきび、たばこ、きく、ストック、水稲



# ガゼット® 粒剤

カルボスルファン…3.0%

®は米国FMC社の登録商標です。



日産化学

FMC

原体供給元  
FMCコーポレーション

省力・経済防除。  
 水稻初期害虫を  
 同時にノックアウト。



- ★高い浸透移行作用により、イネミズゾウムシ成虫・幼虫を強力に防除します。
- ★初期害虫であるヒメトビウンカ、ツマグロヨコバイ、イネドロオイムシなどを同時に防除できます。
- ★残効が長いので薬剤の使用回数を減らすことができるので経済的です。
- ★箱施用なので省力的です。薬害が出にくいので田植3日前から直前まで使用できます。



ガゼットくん



**ガゼット<sup>®</sup>粒剤**

カルボスルファン…3.0%

®は米国FMC社の登録商標です。



**日産化学**



原体供給元  
**FMC**コーポレーション

あなたの喜びが、私たちの喜びです。



研究開発のいちばんの大きなテーマは、あなたの満足です。

効果、品質、安全。すべての面において最良の製品であること。

私たちの企業のテーマはここにあります。

そしてそれをよりレベルの高い次元で実現するために、絶え間ない研究開発を続けています。

生産から販売さらには消費という、私たちのお届けする製品が関わるあらゆる場に

喜びをもたらすために、笑顔をもたらすために、私たちは努力を惜しみません。

私たちは日本サイアナミッドです。

## 日本サイアナミッド株式会社

東京本社 東京都港区六本木1-4-30 六本木25森ビル 〒106 TEL.03-3586-9712

田原研究所 愛知県渥美郡田原町大字六連字神ヶ谷16-1 〒441-34 TEL.05312-7-1630

掛川工場 静岡県掛川市細谷字山合635-15 〒436-01 TEL.0537-26-3721

フリーダイヤル

0120-22-3388

●ラベルをよく読んでください。●ラベルの記載以外には使用しないでください。●小児の手の届く所には置かないでください。

# トランスジェニック植物の商品化と安全性評価

(本文 3 ページ参照)



- ① 遺伝子組換えによる農作物（トマト）  
左：病気に強い組換えトマト、右：従来のトマト
- ② 病気に強い組換えイネ（右）
- ③ 隔離温室の組換えトマト
- ④ 隔離温室
- ⑤ 隔離圃場

(写真提供、農林水産省)



# 新しい防除シーン を提案します。

フェロモン製剤は  
新しい防除シーンを  
提案します。

害虫の発生を予測する。  
交信を攪乱して交尾を阻害する。  
大量に誘引して防除する。

害虫の抵抗性を  
発達させることがなく、  
また殺虫剤の  
散布回数を軽減する。

## サンケイ化学のフェロモン製剤

【交信攪乱用製剤】

●コナガコン® (コナガ用)

●ヨトウコン®-S

(シロイチモジヨトウ用)

【大量誘殺用製剤】

●アリモドキコール®

(アリモドキゾウムシ用)

●オキメラノコール®

(オキナワカンシャクシコメツキ用)

【発生予測用製剤】

●コドリングコール® (コドリング用)

●SEルアー (ニカメイガ、コナガ、

シロイチモジヨトウ、カブラヤガ、

モモハモグリガ、キンモンホソガ、

チャノボンガ、シバツツガ、

スジキリヨトウ、ヒメコガネ、

アリモドキゾウムシ用)

※は登録商標



**サンケイ化学株式会社**

本社: ☎890 鹿児島市唐湊4-17-6

☎(0992)54-1161

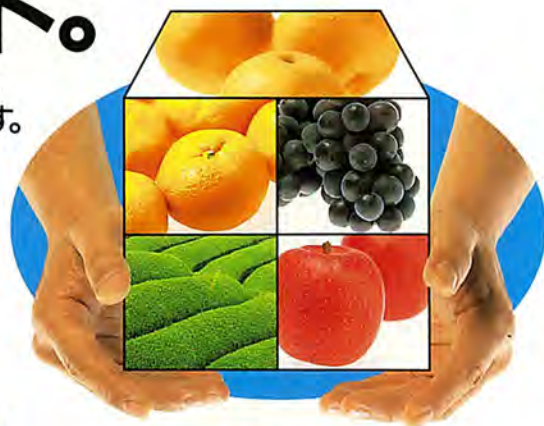
東京本社: ☎110 東京都台東区東上野6-2-1 (都信上野ビル) ☎(03)3845-7951

# タフな効きめで、 しっかりガード。

ぶどう、りんご、なしなどの病害に優れた  
効果を示す、新しいタイプのEBI剤です。

## ●特長

1. 広範な病害の防除
2. 優れた持続力
3. 安定した効果
4. 低薬量・低濃度
5. 難防除病害にも有効



ツイン・アクションの園芸用殺菌剤



**マネーヅ® 水和剤**



北興化学工業株式会社 〒103 東京都中央区日本橋本石町4-4-20

®は北興化学工業の登録商標

# 植物防疫

Shokubutsu bōeki  
(Plant Protection)

第 50 卷 第 5 号  
平成 8 年 5 月 号

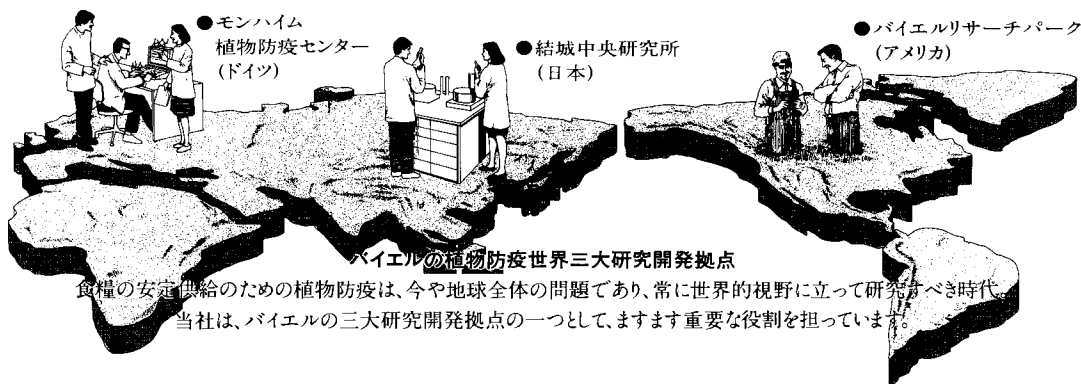
## 目 次

### 特集号：トランスジェニック植物と病害虫・雑草防除

|                                       |                         |              |
|---------------------------------------|-------------------------|--------------|
| トランスジェニック植物の病害虫防除への応用                 | 農林水産省農産園芸局植物防波課         | 1            |
| トランスジェニック植物の商品化と安全性評価                 | 日野 明寛                   | 2            |
| 芝草への Bt 遺伝子導入技術の開発                    | 藤家 梓・伊東靖之・深見正信          | 10           |
| ウイルス抵抗性植物の作出                          | 大平 和幸                   | 14           |
| 抗菌性ペプチドを利用した細菌病抵抗性植物の作出               | 大島正弘・大橋祐子               | 19           |
| イチゴへのキチナーゼ遺伝子の導入                      | 浅尾浩史・西澤洋子・荒井滋・平井正志・日比忠明 | 23           |
| 除草剤耐性作物の開発                            | 與語 靖洋                   | 28           |
| (リレー随筆) 産地の研究室から——地域ブランドを育てる／(8)さんしょう | 坂本 頼宣                   | 33           |
| 新しく登録された農薬 (8.3.1～3.31)               |                         | 47           |
| 中央だより (病害虫発生予察ニュース)                   | 人事消息                    | 35 2, 22, 34 |
| 出版部より                                 | 主な次号予告                  | 36 18        |

## 自然の恵みをより豊かにするために。

「確かさ」を追求…バイエルの農薬



新しい時代のニーズに合った 夢の新殺虫剤

# アドマイヤー®

Bayer 

日本バイエルアグロケム株式会社

東京都港区高輪4-10-8 ☎108

# 美しい穂の仕上げをお手伝いします。

田植から収穫までにいろいろな病原菌が  
イネの生育や米の品質に悪い影響を与えています。  
ブラシン剤は、いもち病・ごま葉枯病をはじめ米の品質を低下させる  
穂枯れ性病害に幅広く作用して美しい穂に仕上がります。



●いもち病・ごま葉枯病・変色米・紅変米に



●殺虫剤・殺菌剤の混合剤も取り揃えています。

いもち病菌

ごま葉枯病菌

すじ葉枯病菌

アルタナリア菌 (褐変穂起因菌)

カーブラリア菌 (変色米起因菌)

エピコッカム菌 (紅変米起因菌)

すみ黒穂病菌

●農業は正しく使いましょう！

- 使用前にはラベルをよく読んで下さい。
- ラベルの記載以外には使用しないで下さい。
- 本剤は小児の手の届く所には置かないで下さい。



新発売

水稻の広域防除に空中散布専用剤

ブラシン<sup>®</sup>ザル

武田薬品工業株式会社 アグロ事業部 東京都中央区日本橋2丁目12番10号

# トランスジェニック植物の病虫害防除への応用

## 農林水産省農産園芸局植物防疫課

近年の遺伝子工学技術の進歩に伴い、病虫害抵抗性についてトランスジェニック植物の病虫害防除への応用のための研究もかなり進んできている。

従来、抵抗性品種の利用は病虫害防除手段の一つとして長い研究の歴史を持ち、数多くの成果を上げてきており、病虫害防除の基本的技術として定着している。例えば、稲の重要病害であるいもち病では、わが国でも十数種の抵抗性遺伝子が同定され、これまで多数の抵抗性品種が育成されている。しかしながら、抵抗性品種の育成までには長い年月が必要であることや、食味等に対する要求が厳しく、市場価値の高い新抵抗性品種の育成は困難であったことに加え、農薬の開発とその普及が急速に進み、病虫害は化学合成農薬で比較的容易に防除できることから、近年では抵抗性品種の利用やその研究が軽んぜられているようにも見受けられるようになった。

植物防疫においては、現在、化学合成農薬だけに頼るのではなく天敵などの利用も含む多様な防除を推進する

方向にある。これはまた、農産物生産における農業用資材費の低コスト化や、人工資材の環境への投入を極力減らそうという観点からも重要であり、病虫害分野でも環境に配慮した防除技術の確立による環境保全型農業の推進が強く求められている。このため、農薬などの化学合成資材の投入を適正なものとするため、発生予察の高精度化、環境負荷に配慮した新農薬や、新しい散布法の開発、防除要否の判断基準の設定などによる農薬の効率的利用と生物的、物理的、耕種の防除技術を組み合わせた防除法の確立などを進め、より効果的で多様な防除技術の確立普及が今後の課題となる。このための先進的防除技術としてのトランスジェニック植物の開発は、今後の技術確立および現場への導入が注目されているところである(表-1)。

これまでのわが国の病虫害防除には、稲を中心に交配による抵抗性品種の開発が進められてきたが、現在までの遺伝子工学の進歩を見れば属を越える遺伝子の導入な

表-1 多様な病虫害防除技術の例

|               | 技術名(事例)                                                                    | 対象作物                            | 対象病虫害                                                    |
|---------------|----------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|----------------------------------------------------------|
| 生物的防除         | ベダリアテントウ(捕食性昆虫)<br>オンシツツヤコバチ(寄生蜂)<br>チリカブリダニ(捕食性)<br>B. t 菌(細菌)<br>顆粒病ウイルス | カンキツ<br>トマト<br>イチゴ<br>野菜類<br>チャ | イセリアカイガラムシ<br>オンシツコナジラミ<br>ハダニ類<br>りん翅目幼虫<br>チャノコカクモンハマキ |
|               | 昆虫病原性糸状菌                                                                   | 野菜類                             | アブラムシ類                                                   |
| 物理的防除         | 太陽熱消毒<br>シルバーマルチ                                                           | イチゴ<br>野菜類                      | 萎黄病<br>アブラムシ類                                            |
| 耕種の防除         | 抵抗性品種<br>抵抗性台木                                                             | キャベツ<br>トマト                     | 根こぶ病<br>青枯病                                              |
| 化学的防除         | 性フェロモン                                                                     | チャ<br>キャベツ<br>果樹類               | ハマキムシ類<br>コナガ<br>コスカシバ                                   |
| 遺伝子工学を利用した防除* | B. t 菌遺伝子<br>稲キチナーゼ遺伝子<br>—<br>—                                           | ベントグラス<br>イチゴ<br>タバコ<br>トルコギキョウ | スジキリトウ等<br>うどんこ病<br>ウイルス病<br>〃                           |

\*：都道府県の試験研究機関が取り組んでいるもの。

ど、交配による抵抗性育種の技術上の困難を大きく軽減するに違いない。例えば、組み込む抵抗性を付与するための遺伝子は何も植物からの遺伝子に限る必要はなく、海外では既に昆虫の病原細菌昆虫毒素産生遺伝子を組み込んだトマト等を害虫抵抗性とすることに成功しているようである。

今後、病虫害防除への応用については基礎研究分野での技術開発が待たれるところではあるが、都道府県の農業試験段階でもかなり実用化に向けた研究が進んでいるものがあると聞いている。例えば、千葉県農業試験場では、ゴルフ場での無農薬管理を推進する目的でベントグラスを対象にして B.t 遺伝子を導入した耐虫性芝草を、奈良県農業試験場では、イチゴの主要品種である「と

よのか」を対象にうどんこ病抵抗性品種の作出に取り組んでいる。また、これらの取り組みは民間研究機関等でもかなり盛んで、特定の除草剤の影響を受けないダイズは一般圃場で、害虫や除草剤の影響を受けないトウモロコシは隔離圃場での試験が安全性の評価試験を終える段階に至っている。

この病虫害抵抗性育種は今後いろいろな対象病虫害に対し、様々なアイデアを利用した開発が考えられるが、いずれにしても遺伝子工学および病虫害分野の研究者の密接な協力が不可欠であることは事実で、我々行政サイドからも情報交換等積極的に支援し、関連分野の研究者相互の密接な協力のもとでこの分野の大きな前進に寄与したいと考えている。

## 人 事 消 息

(3 月 31 日付)

角田佳則氏(中国農試生産環境部病害研主研)は退職(山口県農試環境部病虫害研究室長に)

新垣則雄氏(蚕昆研生体情報部選択情報研主研)は退職(沖縄県農試病虫害害虫研主研へ)

古賀博則氏(東北農試水田利用部水田病害研究室長)は退職(石川県農業短期大学教授附属農業資源研究所に)

岡崎 博氏(農環研資材動態部農薬動態科殺菌剤動態研究室長)は退職

高屋茂雄氏(中国農試生産環境部病害研究室長)は退職

古田要二氏(蚕昆研生産技術部蚕病害研究室長)は退職

根本文宏氏(農研センター病虫害防除部水田病害研)は退職(福島農試病理昆虫部(いもち病指定試験地)へ)

(4 月 1 日付)

松永隆司氏(秋田県総合食品研究所長)は採用・食品総合研究所食品機能部長に

皆川 望氏(農環研環境生物部微生物管理科線虫・小動物研究室長)は農研センタープロジェクト研究第 2 チーム長に

與語靖洋氏(農研センター耕地利用部除草剤研主研)は同研究室長に

荒城雅昭氏(枝会事務局企画調査課課長補佐(広報班担当))は農環研環境生物部微生物管理科線虫・小動物研究室長に

石井英夫氏(果樹試保護部病害第 1 研究室長)は農環研資材動態部農薬動態科殺菌剤動態研究室長に

家城洋之氏(果樹試興津支場病害研究室長は果樹試保護部病害第 1 研究室長に

古谷茂貴氏(枝会事務局研究調査官(要員担当)兼大臣官房企画官, 科技庁科学技術政策局政策課専門調査官)は野菜・茶試盛岡支場栽培生理研究室長に

宮川久義氏(山口県農試環境部病虫害研究室長(牧草病害指定試験地主任))は採用・中国農試生産環境部病害研究室長に

鈴木芳人氏(九州農試地域基盤研究部情報処理研主研)は同研究室長に

早坂昭二氏(蚕昆研生産技術部蚕病害研主研)は同研究室長に

長に

中村匡利氏(枝会事務局連絡調整課課長補佐(環境研究推進班担当))は枝会事務局研究調査官(蚕糸・昆虫担当)に

平野信之氏(枝会事務局研究調査官(目標担当))は同局研究調査官(要員担当)兼科技庁科学技術政策局政策課専門調査官に

平田賢司氏(農環研環境生物部微生物管理科線虫・小動物研)は植物防疫所調査研究部へ

稲生圭哉氏(農薬検査所農薬環境検査課)は農環研資材動態部農薬動態科農薬管理研へ

望月雅俊氏(野菜・茶試茶栽培部虫害研)は野菜・茶試企画連絡室企画科へ(金谷駐在)

植物防疫所(4 月 1 日)

小林敏郎氏(神戸植物防疫所長)は横浜植物防疫所長に

渡邊泰孝氏(横浜・東京支所長)は名古屋防疫所長に

木村伸司氏(名古屋防疫所長)は神戸防疫所長に

石川光一氏(食糧庁総務部検査課品質管理室長)は神戸・大阪支所長に

大川義清氏(横浜植物防疫所長)は退職

剣持秀禧氏(神戸・大阪支所長)は横浜・東京支所長に

香川正明氏(神戸・大阪支所次長)は神戸・関西空港支所次長に

前澤一三氏(神戸・大阪支所岸和田出張所長)は神戸・大阪支所次長に

上田 功氏(神戸・関西空港支所次長)は神戸・広島支所次長に

工藤浩平氏(農産園芸局植物防疫課課長補佐(検疫第一班担当))は横浜・調査研究部付に

弘田祐一氏(神戸・広島支所次長)は退職

植物防疫課(4 月 1 日付)

入江 俊氏(横浜植防調査研究部企画調整課防疫管理官兼植物防疫課)は課長補佐(検疫第一班担当)に

石谷秋人氏(農薬検査所検査第一部企画調整課検査管理官)は課長補佐(農薬第二班担当)に

秋葉一彦氏(富山県砺波農業改良普及センター)は企画班法令係長に

(22 ページに続く)

# トランスジェニック植物の商品化と安全性評価

農林水産省農林水産技術会議事務局バイオテクノロジー課 ひ　　の　　あき　　ひろ  
日　　野　　明　　寛

## はじめに

COHEN et al. (1973) による遺伝子組換え実験の成功から約 20 年が経ち、世界中で作物の品種改良を中心とした農業分野等での利用が急速に進んでいる。1994 年にはアメリカで遺伝子組換えにより開発した日持ちの良いトマト (FLAVR SAVR™ トマト) の販売が世界で初めて開始され、耐カビ性の向上、流通時の扱いの容易さ、固形分増加による加工時の生産性の向上や、消費者にも日持ち性と食味の向上などで、非常に好評と聞いている。このトマト以外にも表-1 に示すような組換え農作物が商品化されており、日本にも輸入される日が近いと予想されている。これらのうち、除草剤の影響を受けない作物は低農薬化、除草作業の軽減、不耕起栽培を可能にし、害虫抵抗性の作物は、現在甚大な被害を受けている作物の生産性向上と殺虫剤使用量の減少を可能にする。このほかにも、組換え技術を利用して、表-2 に示すような多くの医薬品、生分解性プラスチック、工業原料、石油代替燃料等を植物に生産させる分子農業的組換え植物の開発が精力的に行われている。

しかしながら、遺伝子組換え技術の開発当初、この技術により予期せぬ性質を持った生物や病原体ができてくるかも知れない、または組換え体が環境中で制御なしに増殖して有害な影響を与えるのではないかと、といった指摘を受けた。これらの指摘に対して、その当時は知見が少なかったために組換え技術の安全性を十分に証明することができず、世界中の科学者は遺伝子組換え技術の利用の自主的な規制を始め、環境への放出実験も一時期禁止されていた。その後、実験段階の指針から始まった規制は、OECD での検討を通して、遺伝子組換え技術の産業利用における安全性評価システムの構築へと発展した。研究成果の蓄積と、世界的な安全利用のシステム構築の努力の結果、遺伝子組換え技術には当初心配されたような危険はなく、組換え体の性質は基本的に、宿主、ベクター、導入遺伝子の性質から評価できることが理解され、規制は漸次緩和されてきた。しかし、遺伝子組換え技術の実用化に当たっては、漠然とした不安を持っている消費者に受け入れられるよう、安全性の評価とともに、パブリックアクセプタンスを確保していくことが重要な課題となっている。なお、組換え体の安全性評価の

歴史とシステムの概要、各国の制度については、文献を参照していただきたい (日野, 1995; バイオインダストリー協会, 1995 a, b, c, d)。

## I 遺伝子組換え技術の安全利用への取り組み

遺伝子組換え技術の利用が始まってから 20 年が経ち、その生產品に対する安全性評価のシステムは国際的に確立されつつある。その運用形態は、国ごとに異なるが使用されている基本的概念は共通である。わが国の組換え体に関する安全性評価システムの概要を図-1 に示した。

### 1 組換え体の研究段階の指針

遺伝子組換え研究の潜在的危険性が指摘され、BERG et al. (1974) による自粛も呼びかけられ、この社会的風潮に答えるために、1975 年に遺伝子操作をめぐる規則問題に関する会議がアメリカで開かれた。有名なアシロマ会議である。この会議の結論 (BERG et al., 1975) に基づいて、1976 年にアメリカ国立衛生研究所 (National Institute of Health, NIH) が遺伝子組換え研究のための実験指針を制定した (引用文献 18)。その後、1976~79 年にかけて先進諸国で NIH 指針に習った自主管理型指針を策定している。

わが国においても、国際的な動きに対応して、1979 年に国 (科学技術庁) が国公立研究機関、民間研究機関等を対象に、文部省が大学、大学付属機関を対象に、ほぼ同じ内容の「組換え DNA 実験指針」を定めた (図-1 の上半分) (引用文献 12)。策定当時アシロマ会議、NIH の指針を反映して、実験の取扱いはかなり厳しいものであった。内容は、いずれも組換え実験を行う際の封じ込めの仕方が、微生物等が外に出ない構造と機能を持った施設で行うなどの物理的封じ込めと、微生物自身の栄養要求性などに基づく生物学的封じ込めを安全度レベルに応じて分類され、安全を確保することが示されている。その後、実験の進展とともに、組換え植物、組換え動物に対する実験段階の考え方が示されるなど、現在までに何度か改訂・緩和がなされている。現在では、意図的に有害性を高めるような操作を行わない限り、組換え体を構成する、宿主、ベクター、導入遺伝子の取扱いの安全性レベルと同等のレベルで実施できることで了解されている。なお、わが国では平成 5 年度で約 11,200 件の組換え DNA 実験が実施されている。

### 2 経済協力開発機構 (OECD) における安全性評価の検討

組換え体の産業利用段階の安全性の在り方は、1980 年

表-1 海外で開発されている組換え体の現状(平成8年2月バイオテクノロジー課調べ)

組換え DNA 技術の進展に伴い、海外を中心に多くの組換え農作物が開発され、急速に実用化が近づいている。一部の組換え農作物は環境、食品、飼料としての安全性評価が終了し、食品等としての販売が開始されている。

この資料は、バイオテクノロジー課が独自に調査しているものであり、網羅しているものではない。

◆外国で安全性評価が終了しているもの

(アメリカ)

- ・日持ちの良いトマト (Calgene 社; アンチセンス側ポリガラクトクロナーゼ (PG) 遺伝子導入)
  - －商品化 (94 年 5 月, カリフォルニア等で MacGregor's の商品名で販売)
- ・日持ちの良いトマト (Zeneca 社; アンチセンス PG 遺伝子導入)
  - －商品化 (アメリカで栽培し, 95 年 12 月, イギリスでビューレとして販売)
- ・日持ちの良いトマト (DNAP 社; エチレン合成系センス側 ACC 酵素遺伝子のコサプレッション利用)
  - －商品化 (95 年 3 月, アメリカで Endless Summer の商品名で販売)
- ・除草剤耐性グイズ (Monsanto 社; グリホサート耐性遺伝子 (エノールピルピルシキミ酸リン酸合成酵素; EPSPS) 導入)
  - －商品化 (95 年産を食用油として限定利用, 96 年から生産開始予定)
- ・除草剤耐性ワタ (Monsanto 社; グリホサート耐性遺伝子 (EPSPS) 導入)
- ・除草剤耐性ワタ (Calgene 社; プロモキシニル耐性遺伝子導入)
- ・ラウリル酸高生産性ナタネ (Calgene 社; チオエステラーゼ遺伝子導入)
  - －商品化 (95 年より栽培開始)
- ・ウイルス抵抗性カボチャ (Asgrow 社; カボチャモザイクウイルス (WMV 2) とズッキーニ黄斑モザイクウイルス (ZYMV) コートタンパク遺伝子を導入)
- ・耐虫性 (甲虫類) バレイショ (Monsanto 社; *Bacillus thuringiensis* (Bt) 産生殺虫タンパク遺伝子導入)
  - －商品化 (95 年は種芋生産が主体, 一部販売, 96 年から生産開始予定)
- ・除草剤耐性トウモロコシ (AgrEvo 社; グルフォシネート耐性遺伝子 (アセチルトランスフェラーゼ; PAT) 導入)
- ・耐虫性 (鱗翅類) ワタ (Monsanto 社; Bt 産生殺虫タンパク遺伝子導入, オーストラリアでも安全性評価終了)
- ・耐虫性 (鱗翅類) トウモロコシ (Ciba Geigy 社; Bt 産生殺虫タンパク遺伝子導入)

(カナダ)

- ・除草剤耐性ナタネ (Monsanto 社; グリホサート耐性遺伝子 (EPSPS), グリホサート酸化還元酵素遺伝子 (GOX) 導入)
  - －商品化予定 (95 年産を食用油として限定利用, 96 年から生産開始予定)
- ・除草剤耐性ナタネ (AgrEvo 社; グルフォシネート耐性遺伝子 (PAT) 導入)
  - －商品化 (95 年産を食用油として限定利用, 96 年から生産開始予定)
- ・除草剤耐性ナタネ (Plant genetic systems 社; 雄性不稔遺伝子, 雄性回復遺伝子, グルフォシネート耐性遺伝子 (アセチルトランスフェラーゼ; bar) 導入)
  - －商品化予定 (96 年から生産開始予定)

(フランス)

- ・除草剤耐性タバコ (Rhone-Poulenc 社; プロモキシニル耐性遺伝子導入)

(オーストラリア)

- ・日持ちの良いカーネーション (Florigene 社; エチレン合成系センス側 ACC 酵素遺伝子のコサプレッション利用)
- ・耐虫性 (鱗翅類) ワタ (Monsanto 社; Bt 産生殺虫タンパク遺伝子導入, アメリカでも安全性評価終了)

代に入って、OECD の科学技術政策委員会を中心に議論がなされ、1986 年には「組換え体の産業利用のための安全性に関する勧告」が加盟国に出されている (引用文献 14)。この勧告に合わせて、1986 年以降、欧米諸国は産業利用のための指針等を策定し、組換え体の利用のための審査体制が整備されてきている。

OECD の勧告の内容は、微生物等の大規模なタンク培養 (生産工程における利用) と農業・環境利用 (開放系利用) に分けられる。生産工程における利用については、組換え体の安全度レベルに合わせて 4 段階の基準に分類、利用を行うことが示されている。また、農業・環境利用については、二つの原則ケース・バイ・ケース (組

換え体ごとの審査) とステップ・バイ・ステップ (実験室、温室、小規模野外試験、大規模野外試験と段階的に移行して産業化する) により利用を行うことが示されている。

さらに、その後国際的に調和のとれたバイオテクノロジーの推進を図るために、OECD の「バイオテクノロジーの安全性に関する専門家会合」で、組換え体の野外試験の在り方、組換え体食品の安全性に関する検討が行われた。この過程で、組換え体の安全性評価に当たっての重要な二つの概念が合意された。一つは「導入された遺伝子の特性が良く分かっていて、元の食品と実質的に同程度に無害であるという科学的な確信が持てる場合に

表-2 分子農業的組換え植物の研究・開発状況(バイオテクノロジー課調べ)

| 宿 主    | 目 的 生 産 物               | 研究・開発国       |
|--------|-------------------------|--------------|
| ナタネ*   | ラウリル酸                   | アメリカ         |
| ナタネ    | ステアリン酸                  | アメリカ         |
| ナタネ    | ホホバ油(鯨油の代替油)            | アメリカ         |
| ナタネ    | エンケファリン(鎮痛剤成分)          | ベルギー         |
| ジャガイモ  | ヒト血清アルブミン               | オランダ         |
| ジャガイモ  | B型肝炎ウイルスエピトープ(ワクチン)     | アメリカ         |
| ジャガイモ  | 大腸菌症抗原(ワクチン)            | アメリカ         |
| タバコ    | インフルエンザウイルスエピトープ(ワクチン)  | 日本           |
| タバコ    | AIDS ウイルスエピトープ(ワクチン)    | 日本           |
| タバコ    | マラリア抗原エピトープ(ワクチン)       | アメリカ         |
| タバコ    | B型肝炎ウイルスエピトープ(ワクチン)     | アメリカ         |
| タバコ    | タンパク質弾性ポリマー(ゴム代替)       | アメリカ         |
| タバコ    | フルクタン(フラクトースのポリマー)      | アメリカ         |
| ササゲ    | 口蹄疫ウイルスエピトープ(ワクチン)      | アメリカ, イギリス   |
| ササゲ    | ヒトライノウイルスエピトープ(ワクチン)    | アメリカ, イギリス   |
| ササゲ    | AIDS ウイルスエピトープ(ワクチン)    | アメリカ, スウェーデン |
| ワタ     | ポリヒドロキシブチレン(生分解性プラスチック) | アメリカ         |
| ナタネ    | 同上                      | アメリカ         |
| ダイズ    | 同上                      | アメリカ         |
| トウモロコシ | 抗腫瘍モノクローナル抗体            | アメリカ         |
| ダイズ    | 同上                      | アメリカ         |

\*1: 1995年アメリカにおいて商品化。他のものは実験段階。

は、その組換え体の安全性については元の食品と同等と考えられる」という“実質的同等性；Substantial Equivalence”の概念による評価を行うことについての合意である(引用文献16)。続いて、「組換え作物の野外利用に当たっては、ステップ・バイ・ステップを原則とし、用いる作物や栽培される環境などについての十分な経験と理解があり、適切な安全確保を図った上で行う」という“ファミリーアリティの原則；The concept of Familiarity”の見解を取りまとめ、公表している(引用文献17)。

これらの検討の中で、組換え体の安全性評価を実施する際、特に環境への放出の際に考慮すべき事項として、(1)遺伝子組換え技術が使われたかで判断するのではなく、作られた組換え体の性質で判断すべきである(プロセスでなくプロダクトによる判断)、(2)組換え体の環境への導入に伴うリスクは従来の生物の持つリスクと同種のものである、(3)組換え体の環境放出時のリスク評価

は生物と導入される環境に基づいて行われるべきである、ことがあげられ、各国の指針等の運用に反映されている。

### 3 実質的同等性とファミリーアリティ

OECDの会合で合意され、組換え体の安全性評価の基本概念となっている二つの概念に簡単に触れたい。まず実質的同等性であるが、OECDの報告書、および厚生省研究班の「平成5年度バイオテクノロジー応用食品等の安全性評価に関する研究報告書」によると、バイオテクノロジーを応用して製造された食品等の安全性の評価は、実質的同等性の概念を用いて、既存の非組換え体由来の食品又は類似の食品を比較対象として用いるべき、という考え方を示している。実質的に同等であるかは、

(1) 伝統的な又は宿主となる生産物、生物の組成と性質についての知識

(2) 以下のような情報に基づく、新しい成分又は形質の特性に関する知識

- ・前駆体、宿主生物で発現する成分や形質
- ・ベクターやマーカー遺伝子を含む形質転換技術
- ・改変により起こり得る二次的な影響
- ・改変された生産物、生物において発現した構成成分や形質の特性

(3) 新しい構成成分又は形質を持つ生産物に関する、既存の食品の食品成分と比較した成分の量又は変動幅も含む知識

等が判断に必要とされている。これらの情報を得ることにより、その食品の安全性評価が行えるのであれば、さらなる安全性又は栄養上の懸念は重要でないとみなされ、既存の非組換え食品と同様の加工、調理等で取り扱われてよいことになる。

ファミリーアリティは、ある特定の環境において新しい植物系統あるいは作物品種のスケールアップに先立って行う、リスク/安全性解析において、以下に示すような項目について知識と経験を持っているかということである(引用文献17)。

- (1) 作物の生殖・生態的性質、育種経験
- (2) 農業的環境、周辺環境
- (3) 導入形質の性質
- (4) これまでに行われた従前の基礎的研究の結果
- (5) 従来の手法によって開発育種された、作物系統のスケールアップの経験
- (6) 他の組換え植物におけるスケールアップの経験
- (7) 交雑の可能性のある植物種の存在と、その近縁種との交雑の可能性
- (8) 以上の知識、経験の相互作用

ファミリーアリティは絶対的なものでなく、知見の集積に伴って増大し、リスク/安全性解析は迅速化され、最終的にはその環境におけるその作物にとっての標準的栽培

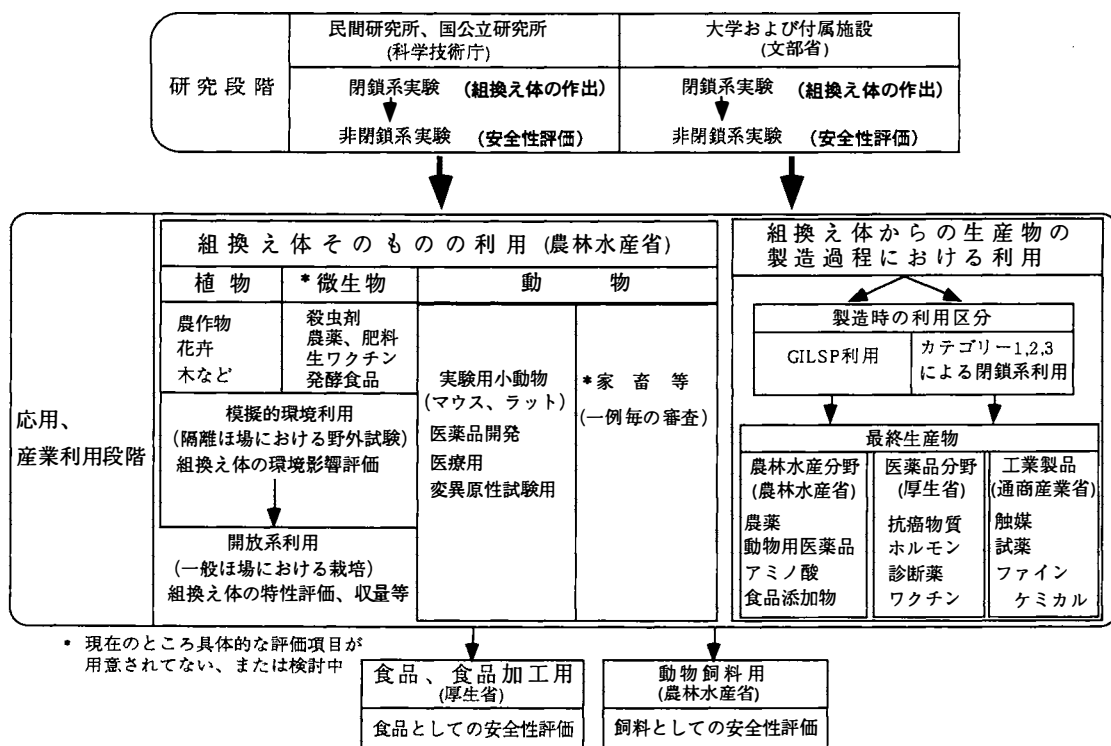


図-1 わが国における組換え DNA 実験、組換え体利用のための指針の体系

技術で管理されて差し支えなくなる。

## II 安全性評価の実際

ここでは、産業利用するために必要とされている安全性評価は実際にどのような項目について実施、判断されているかを説明したい。実験室で開発された組換え体を産業利用する場合には、わが国ではすべて、自主管理型指針に基づいている。これは、遺伝子組換え技術は従来の育種技術の延長線上にある技術であるにとらえ、産業利用等の知見の集積に伴って柔軟な運用を行うためである。厚生省/農林水産省/通産省が策定している指針（引用文献 5, 11, 13）に基づいた安全性評価を行うこととなっている。この指針には前述のように大別して2種類あり、一つは組換え微生物等をタンクで培養して酵素、インターフェロン等の生産を行う場合の、利用と安全性評価の在り方を上記三省が産業分野別に指針を策定している。他の一つは組換え農作物や組換え微生物等を自然環境中で利用する組換え体そのものの利用で、農林水産省が指針を策定している（引用文献 13）。開発者自身は自主的に安全性評価を、これらの指針に基づいて実施し、その安全性評価が指針に適合していることを各省の大臣に確認を求めることができるというシステムになっている。

### 1 生産行程での利用

利用区分として、宿主、ベクターおよび供与 DNA、組換え微生物の安全性レベルに応じて四つの利用段階が定められている。これらのうち、安全性が最も高いレベルで、これまでの知見から通常のタンク培養程度で生産できる Good Industrial Large-Scale Practice (GILSP) 利用から、最も厳しい安全性管理が要求されるカテゴリ1-3までであるが、実際に利用されているのは GILSP のみである。

指針に示されている安全性評価項目を示すと、以下のようになる。

- (1) 宿主となる微生物の分類学的知見、自然界での分布、利用の歴史、増殖様式と遺伝的特性、病原性、有毒物質の産生性
  - (2) 供与 DNA の由来と機能、塩基配列
  - (3) ベクターの構築過程、薬剤耐性マーカーの特性
  - (4) 組換え DNA 分子の構築過程と導入方法、利用する組換え微生物の育成過程
  - (5) 導入遺伝子の細胞内での存在状態、コピー数、発現の安定性
  - (6) 宿主とした微生物との違い
  - (7) 自然界での生存能力、モニター方法
- (1)～(5)は、開発過程で当然知っていなくてはいい

ない事項である。(6)は、導入遺伝子に基づく変化以外の(予期せぬ)変化は起きていないことが重要となる。それは、遺伝的特性、増殖様式、生存性、有毒物質産生性等の変化の情報で判断できるので、工業利用するまでには、十分知見が得られていると考えられる。(7)については、通常、宿主として使用される菌株は複数の栄養要求性が付与され、生存能力は野生株に比較して著しく弱く、また特定物質の産生能力によるモニターも可能であるため、特別の試験は必要ないであろう。

## 2 組換え体そのものの利用

世界的には組換え微生物、組換え生ワクチンの野外試験等も行われているが、わが国では例がないので、組換え植物を例にして説明する。組換え植物の利用区分には模擬的環境利用と開放系利用がある。模擬的環境利用とは、いわゆる小規模野外試験であり、わが国では隔離圃場で行われている。この模擬的環境利用において安全性が確認された組換え植物は開放系利用ができる。開放系利用とは通常の圃場での育種、栽培等の産業利用を意味し、従来の育種技術で開発された植物と同様に扱ってよい段階である。表-3にわが国で野外試験が実施、または終了した組換え植物が示してある。

安全性評価の概念としてはFamiliarityが利用されており、「ある環境において組換え植物の栽培は、リスク/安全性解析を行えるだけの十分な知識と経験を持つ上で、実施する」となっている。つまり、その植物の交雑可能範囲、生育可能環境条件、栽培経験等を考慮して、栽培試験を設計した上で安全評価を実施している。実際の安全性評価項目は、II-1で説明した項目のうち(微生物→植物)、(増殖様式→生殖繁殖様式)、(病原性→雑草性)と読み換え、(7)の項目がないことを除けば、微生物の場合と同じである。(6)については、形態的特性、花粉の飛散性、栽培時の生育特性の比較や、植物抽出液等のクロマトパターンの比較、組換え作物の後作影響等を試験して、導入遺伝子に基づく変化以外の(予期せぬ)変化は起きていないことを示している。

ここで、組換え植物を環境放出する際に慎重な評価を要求される交雑性と雑草性についての考え方に触れてみたい。交雑性は花粉の飛散性、稔性等について、元植物との差異を調べ、また雑草性は越冬性、種子の発芽率、休眠性等について、元植物との差異を調べ、判断している。これらに変化がなければ、交雑性、雑草性も宿主と同程度と考えられるので、開発された組換え植物に導入された遺伝子に基づく性質が環境に新たな負の影響を与えるものでなければ、栽培利用しても問題ないと判断されている。さらに、実際に雑草化する可能性のある植物(ナタネ等)では、野外における雑草競合性について、宿主との比較試験を行っている。宿主を越える交雑性、雑草性があれば環境放出は問題となろうが、これまでの所、

そのような組換え体の報告はない。従来の育種でも、これまでに様々な新形質を多くの農作物に導入してきており、遺伝子組換え技術を利用したからと言って特別な管理、規制等は必要ないと考えられている。

## 3 食品の安全性評価

組換え体の安全性評価の中で、消費者にとって最も敏感な食品としての安全性評価についても、厚生省が1996年2月に組換え体を直接食する場合の安全性評価指針を策定し、運用が開始されようとしている。食品の安全性評価では概念としてSubstantial Equivalenceが利用されており、「導入遺伝子の機能が明確であり、元の食品と実質的に同程度に無害であるという科学的な確信が持てる場合には、その組換え体の安全性については元の食品と同等」と判断し、従来の食品と同様の利用ができることになる。実際の安全性評価項目としては、I-1で説明した(1)~(6)と同じであるが、(6)の宿主とした植物との違いについての情報では、次のような項目が求められている。

- ①遺伝子産物のアレルゲンとなる可能性(文献、物理化学的感受性、予想摂取量、既知アレルゲンとの構造相同性から判断)
- ②遺伝子産物の毒性(生化学的機能、既知のタンパク毒素との構造相同性、人工胃液、人工腸液に対する感受性、代謝経路への影響から判断)
- ③その植物の主要な栄養素、抗栄養素、毒性物質の分析(炭水化物、タンパク質、油分、繊維質、灰分、水分、カロリー計測値、アミノ酸組成、脂肪酸組成等)、加工製品中の主要成分、規格値(Codex 規格等)に関する分析
- ④加工利用方法の変更の有無

以上のような情報を元に、従来の食品と同程度に安全であると判断されれば、従来の食品と同様の産業利用が可能となる。もし、これらの情報でも安全性が十分評価できない場合は、毒性試験などが必要となる。毒性試験については、アメリカ等で安全性評価が終了した組換え作物では要求された例はないので、アレルギー誘発性を否定できない場合などの特殊な場合に限られるであろう。また、組換え体由来の食品を販売する際の表示の必要性についてであるが、これまで述べてきたように、安全性評価を終了した組換え体は、従来の技術で開発されたものと同様に産業利用できるとしている。この考え方に従えば、組換え体または組換え体由来であることを理由に特別な表示を必要としない。ただし、遺伝子組換え技術を使っただけに関係なく、開発された食品が従来の食品に無かった性質(一部の人へのアレルギー性、大幅な栄養成分の変更等)を持つ場合は、その情報を表示させるべきであろう。表示に関する国際規格は現在、WHO とFAO で検討されており、数年以内に結論がでるであら

表-3 わが国における組換え植物の野外試験実施状況(平成7年11月)

|    | 組換え植物             | 開発者                                              | 特徴・導入遺伝子                                      | 開発段階(年) |      |      |      |
|----|-------------------|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------|---------|------|------|------|
|    |                   |                                                  |                                               | ①       | ②    | ③    | ④    |
| 1  | トマト               | 農業環境技術研究所<br>農業生物資源研究所<br>農業研究センター               | ウイルス病抵抗性(タバコモザイクウイルス<br>外被タンパク質遺伝子)           | 1988    | 1989 | 1991 | 1992 |
| 2  | ペチュニア             | サントリー(株)                                         | ウイルス病抵抗性(キュウリモザイクウイル<br>ス外被タンパク質遺伝子)          | 1990    | 1991 | 1993 | 1994 |
| 3  | イネ<br>(日本晴)       | 農業研究センター<br>農業生物資源研究所                            | ウイルス病抵抗性(イネ縞葉枯ウイルス外被<br>タンパク質遺伝子)             | 1990    | 1992 | 1993 | 1994 |
| 4  | イネ<br>(キヌヒカリ)     | 農業環境技術研究所<br>(株)植物工学研究所                          | ウイルス病抵抗性(イネ縞葉枯ウイルス外被<br>タンパク質遺伝子)             | 1990    | 1992 | 1993 | 1994 |
| 5  | メロン<br>(プリンス)     | 農業生物資源研究所<br>農業研究センター                            | ウイルス病抵抗性(キュウリモザイクウイル<br>ス外被タンパク質遺伝子)          | 1990    | 1992 | 1993 |      |
| 6  | タバコ               | 日本たばこ産業(株)                                       | ウイルス病抵抗性(キュウリモザイクウイル<br>スのサテライト RNA の cDNA)   | 1988    | 1992 | 1994 |      |
| 7  | イネ<br>(キヌヒカリ)     | 三井東圧化学(株)                                        | 低アレルゲンイネ(イネアレルゲン遺伝子の<br>アンチセンス側)              | 1992    | 1993 | 1994 |      |
| 8  | イネ<br>(アキヒカリ)     | (株)加工米育種研究所                                      | 酒造米用低タンパク質イネ(イネグルテリン<br>遺伝子のアンチセンス側)          | 1991    | 1993 | 1994 |      |
| 9  | ジャガイモ<br>(メークイン)  | (株)北海道グリーンバイオ研究<br>所                             | ウイルス病抵抗性(ジャガイモ葉巻ウイル<br>ス外被タンパク質遺伝子)           | 1992    | 1993 | 1994 |      |
| 10 | ダイズ               | 日本モンサント(株)<br>(アメリカ Monsanto 社開発)                | 除草剤耐性(グリホサート耐性遺伝子)                            | *       | 1994 | 1995 |      |
| 11 | トマト(タイムリー)        | 野菜・茶業試験場                                         | ウイルス病抵抗性(キュウリモザイクウイル<br>ス外被タンパク質遺伝子)          | 1992    | 1994 | 1995 |      |
| 12 | (サターン)            |                                                  |                                               |         |      |      |      |
| 13 | ナタネ               | 日本モンサント(株)<br>(アメリカ Monsanto 社がカナ<br>ダで開発)       | 除草剤耐性(グリホサート耐性遺伝子及び、グ<br>リホサート分解酵素遺伝子)        | *       | 1994 | 1995 |      |
| 14 | トマト(ICI9)         | カゴメ(株)                                           | 日持ちの改良(ポリガラクトクトロナーゼ遺伝<br>子のアンチセンス側)           | 1991    | 1994 | 1995 |      |
| 15 | (ICI 13)          | (アメリカ Zeneca 社と開発)                               |                                               |         |      |      |      |
| 16 | トマト               | キリンビール(株)<br>(アメリカ Calgene 社開発)                  | 日持ちの改良(ポリガラクトクトロナーゼ遺伝<br>子のアンチセンス側)           | *       | *    | 1994 |      |
| 17 | カーネーション           | サントリー(株)<br>(オーストラリア Florigene 社<br>と開発)         | 日持ちの改良(エチレン合成酵素遺伝子によ<br>るコサプレッション)            | *       | 1994 | 1995 |      |
| 18 | ナタネ<br>(Topas)    | ヘキスト・シェーリング・アグ<br>レボ(株)<br>(カナダで開発)              | 除草剤耐性(グルフォシネート分解酵素遺伝<br>子)                    | *       | *    | 1995 |      |
| 19 | ナタネ               | PLANT GENETIC SYS-<br>TEMS 社(ベルギー企業)<br>(カナダで開発) | 除草剤耐性(グルフォシネート分解酵素遺伝<br>子)<br>雄性不稔(花粉生産阻害遺伝子) | *       | *    | 1995 |      |
| 20 | ナタネ<br>(AC Excel) | ヘキスト・シェーリング・アグ<br>レボ(株)<br>(カナダで開発)              | 除草剤耐性(グルフォシネート分解酵素遺伝<br>子)                    | *       | *    | 1995 |      |
| 21 | トウモロコシ            | ヘキスト・シェーリング・アグ<br>レボ(株)<br>(アメリカで開発)             | 除草剤耐性(グルフォシネート分解酵素遺伝<br>子)                    | *       | *    | 1995 |      |
| 計  |                   |                                                  |                                               | —       | 21   | 21   | 4    |

(注)・①は閉鎖温室実験, ②は一般温室実験, ③は隔離圃場試験, ④は一般圃場での栽培を示す。

・\*は, 海外において作出・安全性評価されたことを示す。

う。また、同様の理由で、未加工の組換え農作物であれば製造物責任(PL)法の対象とはならない(北川, 1995)。

### III 食糧問題と技術移転

西暦 2050 年には地球上の人口は現在の約 1.7 倍の 100 億人に達すると推定されている。しかし、このままの食糧供給体制では 80 億人しか賄えず、エネルギーも現在と同じ消費が続くのであれば、100 億人分の供給はほとんど不可能に近く、我々の生活が維持できなくなることが示されている。そのため、単に生産活動・消費の抑制に歯止めをかけるといった後ろ向きの姿勢でなく、環境を維持しながら積極的に生産性の向上につながる技術の開発、物質の生産と管理を進めることが必要であろう。病虫害耐性作物、耐塩性・耐乾燥性植物等の画期的開発が可能となる遺伝子組換え技術の利用は、単収の増加、農耕地面積の拡大を可能とし、農作物の生産性の飛躍的な向上を推進できる 21 世紀のキーテクノロジーとして期待されている。そして、食糧・エネルギー問題を解決するためには、豊富な生物資源、遺伝資源を持ち、かつ深刻な食糧問題を抱えている発展途上国へ遺伝子組換え技術を移転し、豊富な生物資源を持続的に利用し、効率的な農業生産を行う必要があり、そのための仕組みを国際的にいかに構築していくかが重要な課題となるであろう。

現在、一部の発展途上国でも遺伝子組換え実験、組換え体の環境放出についての制度が整えられつつあり、着実に組換え体の安全性評価システムは世界レベルで定着してきている。実際に FLAVR SAVR トマトは、南米諸国、タイ等で既に栽培が開始されており、近い将来は開発された組換え農作物が、幅広く栽培されるようになるであろう。しかし、1992 年 6 月の国連環境開発会議で日本を含む 157 か国が署名した生物多様性条約(1993 年 10 月に発効)において、バイオテクノロジーを用いて作出された生物の利用の安全性を確認するための規制に係る議定書の必要性が一部の国から指摘された。現在、締約国会議での合意に基づいた専門家会合が開かれ、その取扱いが検討されており、OECD 諸国は遺伝子組換え産物が過剰な法制度等の対象とならないように努力している。バイオ技術を途上国に移転する際には、その技術の正しい理解と管理(規制)体制についても移転する必要があるであろう。

### IV パブリックアクセプタンスの推進

遺伝子組換え技術は 1970 年代に登場した新しい技術であり、理解するために専門的知識を必要とすることから一般国民に馴染みが薄く、今まで自然界になかった遺伝子の組合せを人為的に行うことができるという技術的

革新性ゆえに、この技術を用いて開発された製品のパブリックアクセプタンス(Public Acceptance; PA)をどのように進めていくかが、重要な課題になっている。

これらの不安を解消するためには、(1)科学的に裏打ちされた安全評価の実行と情報の公開、(2)広く国民にも理解できるように分かりやすい形で説明する工夫と努力、(3)学校におけるバイオテクノロジーを初めとした科学技術の基礎知識の習得が、生徒に魅力あるものとなるような教育を行う必要がある。また、研究開発に当たっては、必要な時期あるいは部位においてのみ導入遺伝子が機能する特異的プロモーター等の開発や、食しても問題のないマーカー遺伝子の開発等の研究を進め、食品として消費者に受け入れられやすいものを開発当初から考慮していく必要があると思われる。

さらに欧米諸国の組換え体の PA 推進の状況が我が国に大きな影響を及ぼすこと、PA 確保と密接に関係する安全性確保のための指針等について開発途上国を含めて幅広い国際的な調和を図る必要があること等から、欧米諸国における PA の推進状況等の動向把握にとどまらず、わが国との関係の深い東南アジア、中国等の開発途上国との情報交換や意見交換を行っていく必要があるであろう。

### 引用文献

- 1) バイオサイエンスとインダストリー (1995 a) : 53, 52~58.
- 2) 同上 (1995 b) : 53: 151~157.
- 3) 同上 (1995 c) : 53: 349~350.
- 4) 同上 (1995 d) : 53: 434~439.
- 5) バイオテクノロジー応用医薬品承認申請の手引き, 日本公定書協会 (1991).
- 6) BERG, P. D. et al. (1974) : Science, 185, 3034.
- 7) BERG, P. D. et al. (1975) : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 72: 1981.
- 8) COHEN, S. et al. (1973) : ibid. 70: 3240.
- 9) 日野明寛 (1995) : 遺伝子ターゲティングの基礎と応用, コロナ社, 東京, 150 pp.
- 10) 北川俊光 (1995) : 法政研究 61(3, 4) : 1125~1186.
- 11) 組換え DNA 技術工業化指針の解説, 通商産業省バイオインダストリー室監修, バイオインダストリー協会 (1987).
- 12) 組換え DNA 実験指針一解説・Q&A (第一法規) (1991) : 科学技術庁ライフサイエンス課監修.
- 13) 農林水産分野等における組換え体の利用のための指針関係通達集 (1995).
- 14) Recombinant DNA Safety Considerations (93 86 02 1). OECD Publications (1986).
- 15) Safety Considerations for Biotechnology : Scale-up of Crop Plants (93 93 08 1), OECD Publications (1983).
- 16) Safety Evaluation of Foods Derived by Modern Biotechnology, Concepts and Principles (93 93 04 1), OECD Publications (1993).
- 17) (社)農林水産先端技術振興センター編 (1994) : OECD 報告バイオテクノロジーに関する安全性考察 : 作物のスケールアップ及び組換え植物の野外試験の分析 : 1986~1992.
- 18) 59 FR 34496-34547 1994. 7. 5.

# 芝草への Bt 遺伝子導入技術の開発

千葉県農業試験場 <sup>ふじいえ</sup> 藤家 <sup>あずさ</sup> 梓・伊東 <sup>いとう</sup> 靖之・深見 <sup>やすゆき</sup> 正信 <sup>ふかみ まきのぶ</sup>

## はじめに

害虫の防除方法を多様化し、化学農薬の使用量を減らしていこうという試みは古くからあり、防除理論「総合防除」あるいは「総合的害虫管理」の根底にもなっている考え方である(藤家, 1985)。化学農薬に依存したいわゆる化学的防除技術にかわる防除法として、生物的・物理的・生態的防除技術に関連した技術開発も盛んに行われており、最近では生物農薬も次々に実用化されている。また、これらの防除技術の基盤となる害虫対策として、害虫抵抗性品種の育種にも大きな期待がよせられている。近年、DNA の組換え技術の進展に伴い、多くの害虫抵抗性トランスジェニック作物が作出されている。それらの多くには、土壌細菌 *Bacillus thuringiensis* の殺虫タンパク遺伝子 (Bt 遺伝子) が導入されている (BARTON et al., 1987; FISCHOFF et al., 1987; VAECK et al., 1987; DELANNAY et al., 1989; PERLAK et al., 1990; FUJIMOTO et al., 1993)。

一方、芝草に対する実用遺伝子の導入例としては、トールフェスク (WANG et al., 1992)、ペントグラス (HARTMAN et al., 1994) およびレッドフェスク (SPANGENBERG et al., 1994) への微生物系除草剤抵抗性遺伝子 (bar 遺伝子) の導入が報告されているだけである。千葉県農業試験場では化学農薬に依存しない芝草管理技術の開発をめざしてプロジェクト研究を実施しているが、その一環として Bt 遺伝子導入による害虫抵抗性芝草の育成を試みている。現在、鱗翅目害虫に対する抵抗性芝草の育成を目指した技術開発を実施中であるが、ペントグラスの細胞培養系を確立し、Bt 遺伝子の導入に成功した(伊東ら, 1995)。そこで、これまでの研究経過についてその概要を報告する。なお、芝草のバイオテクノロジー育種の全般については、浅野 (1995) の総説を参照されたい。

本技術開発の実施に当たっては、千葉大学園芸学部の浅野義人助教授から研究全般にわたってご指導いただいた。また、北海道大学農学部の高橋敏彦教授からは Bt 遺伝子をご恵与いただいた。さらに、(株)ジャパン ターフ

グラスには共同研究を通して協力いただき、農林水産省農業研究センター、農業生物資源研究所からは遺伝子の構築や導入に関してご指導いただいた。

## I ペントグラスの細胞培養系の確立

### 1 カルスの誘導と培養

遺伝子導入法として、PEG 法、ポリカチオン法、アグロバクテリウム法、エレクトロポレーション法、パーティクルガン法等が知られているが、本プロジェクトではエレクトロポレーション法を用いることにした。

この方法では、遺伝子を導入したプロトプラストを植物体にするための安定した培養系を必要とする。そこで、ペントグラス *Agrostis palustris* (品種: ペンクロス) の完熟種子を MS 培地 (5 mg/l 2,4-D, 3% シュークロース, 0.8% 寒天添加, pH 5.8) に置床することにより、カルスを誘導した。しかし、再分化能の高いカルスは数%しか出現しなかったため、カルス誘導培地に 1 mg/l BA (ベンジルアデニン) あるいは 1.15 g/l L-プロリンをさらに加えた。BA の添加効果は高く、植物体(アルビノを除いた緑色個体)の再生率は 55.9%と対照の 10 倍にも高まった(表-1)。

再分化能の高いカルスを N6 AA 液体培地 (2 mg/l 2,4-D, 0.5 mg/l BA, 3% シュークロース, 3% ソルビトール添加, pH 5.8) に移し、増殖率の高い培養系を選抜しながら継代した。しかし、再分化能の高い培養系は増殖率が低く、プロトプラストの単離も難しかった。培養過程で裏ごし操作(農業生物資源研究所大槻義昭博士のご教示による)を加えながら増殖率を高め、6 か月にわたって選抜・継代した結果、プロトプラストの単離可能な数系統の培養系を得ることができた。増殖率およびプロトプラスト収量と再分化能は裏腹の関係にあり、前者が上昇するに従い後者は低下傾向を示した。しかし、この点に関しても培地に BA を添加することにより再分化能を改善することができた。

### 2 プロトプラストの単離と培養

酵素処理の前処理として、培養系の継代カルスを MS 培地 (2 mg/l 2,4-D, 6% シュークロース添加) で 6 日間培養した。この前処理の効果はイネでも知られている(大槻ら, 1988)が、ペントグラスでは 6% シュークロースを 3% グルコースにかえることにより、さらに高いプロトブ

表-1 *Agrostis* 属芝草の再分化に及ぼすカルス誘導培地への BA および L-プロリンの添加効果(伊東ら, 1992)

| 種 名                 | 品 種 名   | カルス形成率(%) |      |      | 植物体再生率(%) |      |     |
|---------------------|---------|-----------|------|------|-----------|------|-----|
|                     |         | BA        | プロリン | 対照   | BA        | プロリン | 対照  |
| <i>A. palustris</i> | ベンクロス   | 74        | 64   | 72   | 57        | 6    | 3   |
| 〃                   | サウスショア  | 50        | 46   | 57   | 53        | 5    | 5   |
| 〃                   | ベンリンクス  | 91        | 87   | 89   | 50        | 4    | 4   |
| 〃                   | ナショナル   | 87        | 87   | 83   | 40        | 14   | 11  |
| 〃                   | ペンイーグル  | 76        | 81   | 81   | 64        | 16   | 7   |
| 〃                   | SR 1019 | 76        | 69   | 74   | 44        | 4    | 6   |
| 〃                   | エメラルド   | 69        | 71   | 78   | 44        | 10   | 4   |
| 〃                   | シーサイド   | 71        | 66   | 70   | 30        | 3    | 7   |
| 〃                   | SR 1020 | 54        | 65   | 50   | 28        | 4    | 4   |
| 〃                   | コブラ     | 58        | 64   | 53   | 61        | 7    | 2   |
| 〃                   | バター     | 32        | 54   | 56   | 31        | 2    | 3   |
| <i>A. tenuis</i>    | ハイランド   | 91        | 92   | 88   | 62        | 17   | 8   |
| 〃                   | アストリア   | 92        | 79   | 81   | 54        | 12   | 3   |
| <i>A. alba</i>      | レッドトップ  | 94        | 82   | 80   | 76        | 24   | 11  |
| 平 均                 |         | 72.2      | 71.7 | 72.1 | 55.9      | 9.0  | 5.6 |

1)カルス誘導培地として MS 培地を用いた。対照区では 5 mg/l 2,4-D を添加し, BA 区ではさらに 1 mg/l BA, プロリン区ではさらに 1.15 g/l L-プロリンをそれぞれ添加した。

2)再分化培地として, 1/2 MS 培地(3%シュクロース, 1.6%ゲルライト, ホルモンフリー)を用いた。

3)植物体再生率の算出に際しては, アルビノ個体を除いた。

4) *Agrostis palustris* をペントグラスと呼んでいる。

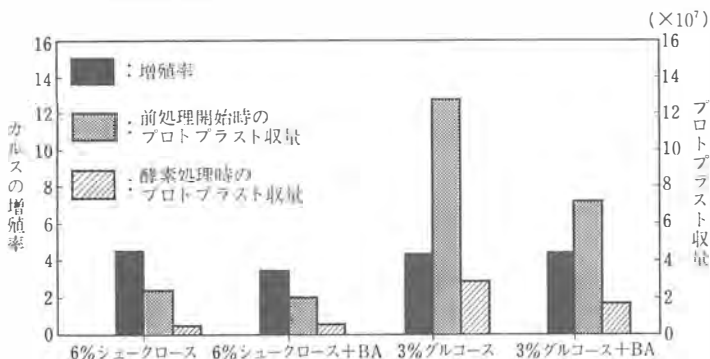


図-1 ペントグラスのプロトプラスト収量に及ぼす前処理の影響(伊東ら, 1993)

BA を 0.5 mg/l 添加した。

カルス 1 g 当たりのプロトプラスト数で収量を示した。

6 日間培養し, 培養前後のカルスの重量比で増殖率を示した。

ラスト収量を得られることが明らかになった(図-1)。

プロトプラストを単離するため, 酵素液(2%セルラーゼオノズカ RS, 0.05%ペクトリアーゼ Y-23, 0.01%  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0.1%デキストラン硫酸カリ, 9%マンニトール, pH 5.6)にカルスを浸漬し, 30°C で 3~4 時間振とう(40 rpm)した。単離したプロトプラストを 5~1.0 × 10<sup>6</sup> 個/ml に調整し, K 8 P アガロース培地(1 mg/l 2,

4-D, 0.2 mg/l BA, 10%グルコース, 1.2% Seaplaque agarose 添加)に包埋した。その後, アガロース断片を K 8 P 液体培地に移し, 培養を続けた。最初の 2 週間ナース細胞を加え, アガロース濃度を 2.4% に高めることにより, 10~20% という高いコロニー形成率を得ることができた。

プロトプラストの分裂により形成されたコロニーは, 1~2 か月で直径 1 mm 以上に生長した。植物体の再生には, 炭素源としてマルトースが有効であることが確認された(表-2)。そこで, 生長したカルスを 3%マルトースを含んだ 1/2 MS 再分化培地(1 mg/l BA, 0.8%ゲルライト, pH 5.8)に移し, 植物体を再生させた。

## II エレクトロポレーション法による導入

### 1 ベクターの構築

抗生物質耐性遺伝子(npt II)を選抜用のマーカーとした植物発現ベクターの npt II 部分を制限酵素で切り出し, かわりに *Bacillus thuringiensis* var. *sotto* の *cryIA(a)* 遺伝子の殺虫活性のある部分(29-618 番目のアミノ酸をコード)をつなぎ, Bt 遺伝子のベクター pFFBT を構築した。pFFBT と npt II を持つベクターと一緒にプロトプラスト懸濁液に入れ, 同時に導入する方法(co-transformation 法)により遺伝子導入実験を行った。

### 2 遺伝子の導入

ペントグラスのプロトプラスト(1~2 × 10<sup>6</sup> 個/ml)を DNA(pFFBT と npt II のベクター各 10~20 μg/ml, キャリア DNA 20~40 μg/ml)とともに緩衝液(70 mM アスパラギン酸, 5 mM グルコン酸カルシウム, 5 mM MES, 0.4 M マンニトール, pH 5.8)に懸濁した液を作った。この懸濁液を 20 ml ずつ導入実験に用いた。

遺伝子導入にはエレクトロポレーション装置(BTX

表-2 ベントグラスの植物体再生への培地中の炭素源の影響(ASANO ら, 1994 を改変)

| 炭素源    | 供試カルス数 | グリーンスポットカルス数 | 未分化カルス数 | 植物体再生カルス数 |
|--------|--------|--------------|---------|-----------|
| シュクロース | 196    | 82           | 49      | 65        |
| ラクトース  | 196    | 40           | 7       | 149       |
| マルトース  | 196    | 7            |         | 183       |

1)カルス継代培地として N 6 AA 培地(2 mg/l 2,4-D)を用いた。  
2)再分化培地として, 1/2 MS 培地(1 mg/l BA)を用いた。シュクロース, ラクトース, マルトースをそれぞれ 3 %添加した。

社製 ECM-600, チャンバー：島津製作所製 FTC-54)を用いた。電気ショックを与えた後, プロトプラストの生存率を約 50%に保てるような条件を試行錯誤的に探索した。その結果, 電界強度 550 V/cm, パルス幅 38~40 ms が好適条件であると考えられた。

III 遺伝子導入処理をした細胞の培養

1 耐性コロニーの選抜

遺伝子導入処理をしたプロトプラストを培養し, 処理の 2 週間後に抗生物質で耐性コロニーを選抜した。選抜に先立ち, 抗生物質 G 418 を用いて好適な濃度を調査した。G 418 を添加することによって細胞の増殖は 10 μg/ml までは直線的に抑制され, 20 μg/ml ではほとんど増殖しなくなった。したがって, 10~20 μg/ml が選抜には好適濃度であると判断した。

遺伝子導入処理をしたプロトプラストを 5~10×10<sup>5</sup> 個/ml の濃度で K 8 P アガロース培地に包埋し, K 8 P 液体培地でナース培養した。2 週間後にナース細胞を除去し, G 418 10 μg/ml を添加した N 6 AA 液体培地にコロニーをアガロース片とともに移した。さらに 2 週間後には G 418 の濃度を 20 μg/ml に高め, 以後 2 週間間隔で継代培養した。培養 5~6 週間後には肉眼で確認できるコロニーが出現した。これらは, 抗生物質に対する耐性コロニーであると判断した。

2 植物体の再生

選抜したコロニーを 1 個ずつマイクロプレートに移し, さらに培養した。植物体を再生させるため, 増殖したカルスを再分化培地 (1/2 MS, 1 mg/l BA, 3%マルトース, 0.8%ゲルライト, pH 5.8) に移した。培養中のエスケープを防ぐため, 抗生物質による選抜圧をかけ続け, 植物体を得た (図-2)。

IV 形質転換体の確認

1 導入遺伝子の検出

PCR 法と PCR 法により増幅した遺伝子を用いたサザンハイブリダイゼーション (PCR-サザン法) によって,

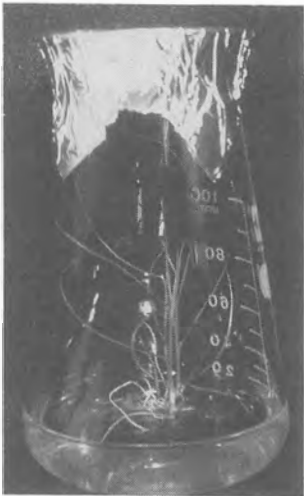


図-2 再生したベントグラスの植物体 (伊東, 原図)

導入遺伝子のベントグラスのゲノムへの組込みを確認した (図-3)。植物体の生葉 1~3 g から CTAB 法によりゲノム DNA を抽出し, プライマー (おのおの 20~25 塩基) とともに PCR 装置 (アテックス製 PC-700) で反応させた。反応条件はディネーチャー 95℃で 1 分, アニーリング 55℃で 0.5 分, エクステンション 72℃で 2 分, 30 サイクルとした。さらに, Digoxigenin 標識法を用いてサザンハイブリダイゼーションを行った。npt II を対象としては, Dot blot assay によって酵素活性の検出も行った。その結果, cryIA (a), npt II のいずれの遺伝子の導入も確認された。また, npt II では酵素活性により発現も確認された。

2 生物検定

cryIA (a) の発現を確認するため, 芝草に甚大な被害 (図-4) を及ぼすシバツトガやスジキリヨトウの幼虫を用いて生物検定を実施した。しかし, これまでのところ実用的な抵抗性を示す植物体は得られていない。

芝草での生物検定に先立ち, 大腸菌で発現させた cryIA (a) のタンパクを用いてスジキリヨトウ, シバツト



図-3 PCR-サザン法による再生したベントグラスの植物体からの Bt 遺伝子 (*cryIA(a)*) の検出 (深見, 原図)



図-4 シバツトガによるベントグラスの被害(藤家, 原図)

ガおよびカイコガを対象に生物検定を行った。*cryIA(a)* のタンパクはいずれの種にも有意な殺虫性を示した。しかし、カイコガに対する殺虫性は極めて高かったにもかかわらず、他の 2 種に対する殺虫性は比較的低かった。

*B. thuringiensis* var. *kurstaki* 由来の Bt 遺伝子 *cryIA(c)* は、鱗翅目害虫の幼虫に *cryIA(a)* より高い殺虫活性を示すことが期待されるので、その導入実験も行っている。また、野生型の Bt 遺伝子を直接植物体に導入した場合、その発現率は低いことが知られている(表-3)。そこで、殺虫性を高めるための遺伝子改変も試みている。

## おわりに

害虫抵抗性品種の有効利用は、総合防除の基盤的な技術であると位置づけられる。あらゆる防除技術の前提として害虫抵抗性品種が用いられるべきであるが、従来の技術では品種開発は容易ではなかった。しかし、DNA 組換え技術による害虫抵抗性遺伝子の導入により、品種開発の可能性が大きく高まった。芝草管理における害虫対策においても、害虫抵抗性品種が開発されることによっ

表-3 Bt 遺伝子の発現率の比較 (PERLAK ら, 1991 を改変)

| 遺伝子                  | 害虫抵抗性株率(%) |     |
|----------------------|------------|-----|
|                      | タバコ        | トマト |
| <i>cryIA(b)</i> 野生型  | 6          | 26  |
| <i>cryIA(b)</i> 部分改変 | 60         | 63  |
| <i>cryIA(b)</i> 全面改変 | 55         | 58  |

1) tobacco hornworm の幼虫で検定した。

て生物的・物理的・生態的防除技術をより容易に適用することができるようになる。

しかし、問題点もある。導入用の害虫抵抗性関連の遺伝子として使えるのは、今のところ Bt 遺伝子のほかには昆虫の消化酵素の阻害物質遺伝子ぐらいしかない。Bt 遺伝子も *Bacillus thuringiensis* の系統によって殺虫活性に違いがあるだけでなく、導入する植物の種類によって発現の効率に違いがあるようである。今後これらの点に対応するため、遺伝子の改変や芝草での発現をよくするためのベクターの改良を行わなければならない。さらに、遺伝子組換え芝草を品種として実用化するには、科学技術庁や農林水産省のガイドラインにしたがった安全性評価試験や栽培試験を実施する必要がある。防除方法の多様化は総合防除の実践において不可欠である。各種の防除技術の開発が望まれるが、その基盤技術として害虫抵抗性品種の開発技術を早急に確立したいと考えている。

## 引用文献

- 1) ASANO, Y. et al. (1994): Plant Cell, Tissue and Organ Culture 39: 101~103.
- 2) 浅野義人 (1995): 芝草研究 24: 64~76.
- 3) BARTON K. A. et al. (1987): Plant Physiol. 85: 1103~1109.
- 4) DELANNAY, X. et al. (1989): Bio/Technology 7: 61~64.
- 5) FISCHOFF D. A. et al. (1987): ibid. 5: 807~813.
- 6) 藤家 梓 (1985): 植物防疫 39: 449~454.
- 7) FUJIMOTO et al. (1993): Bio/Technology 11: 1151~1155.
- 8) HARTMAN, C. H. et al. (1994): ibid. 12: 919~923.
- 9) 伊東靖之ら (1992): 育種 42(別 2): 6~7.
- 10) ——— (1993): 芝草学会春季大会講演要旨 p. 72~73.
- 11) ——— (1995): 芝草研究 23: 128~133.
- 12) 大槻義昭ら (1988): 育種 38 (別 1): 78~79.
- 13) PERLAK, F. J. et al. (1990): Bio/Technology 8: 939~943.
- 14) PERLAK, F. J. et al. (1991): Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 3324~3328.
- 15) SPANGENBERG, G. et al. (1994): Plant Science 97: 83~94.
- 16) VAECK, M. et al. (1987): Nature 328: 33~37.
- 17) WANG, Z. et al. (1992): Bio/Technology 10: 691~696.

# ウイルス抵抗性植物の作出

サントリー株式会社基礎研究所植物工学・育種グループ      おお   ひら   かず   ゆき  
大   平   和   幸

## はじめに

植物のウイルス病は、世界中で農作物に深刻な被害を与えている。しかし、ウイルスに直接作用して、ウイルス病を防除する有効な薬剤はまだ開発途上である。交配育種によりウイルス抵抗性を付与することが可能な場合もあるが、すべてのウイルスに対して抵抗性の育種母本が存在するわけではなく、また、交配育種ではウイルス抵抗性のみを付与することは不可能で、それ以外の不必要な形質も同時に導入され、さらに育種年数がかかるといった問題点があった。そこで他の有用な形質を変化させずに、ウイルス抵抗性のみを短期間に付与する方法の開発が待たれていた。

このような状況の中で、1970 年代に開発された組換え DNA 技術により遺伝子の単離が可能となり、RNA ウィルスの cDNA を逆転写によりクローン化する技術も確

立された。一方、多くの植物組織は分化全能性を持っており、*Agrobacterium tumefaciens* の Ti プラスミドを利用したベクター系等遺伝子導入技術の開発により多数の植物で形質転換が可能となった。これらの技術を組み合わせ、ウイルス由来の遺伝子を植物に導入することにより、多くの植物で様々なウイルスに対する抵抗性が付与されており、実用化に耐えるレベルのものも作出されている。

ここでは、筆者らが行ったキュウリモザイクウイルス (CMV) 抵抗性サフィニアの作出を中心に、その手法についても紹介する。

## I ウイルス抵抗性植物の作出方法

ウイルス抵抗性を付与する方法は、現在までに多種多様な方法が開発されている (表-1)。そのうち、まず、ウイルス由来遺伝子を用いる方法について簡単に説明す

表-1 ウイルス抵抗性トランスジェニック植物の作出例

| 供与遺伝子                        | 適用ウイルス             | 参考文献 <sup>a)</sup>         |
|------------------------------|--------------------|----------------------------|
| ウイルス由来遺伝子                    |                    |                            |
| CP                           | TMV, CMV 等         | POWELL-ABEL et al. (1988)  |
| 複製酵素                         | TMV, CMV 等         | ANDERSON et al. (1992)     |
| 細胞間移行タンパク質                   | TMV 等              | LAPIDOT et al. (1993)      |
| プロテアーゼ                       | TVMV               | MAITI et al. (1993)        |
| サテライト RNA                    | CMV                | HARRISON et al. (1987)     |
| ウイルス由来遺伝子以外                  |                    |                            |
| ヨウシュヤマゴボウの抗ウイルスタンパク質         | PVX, PVY 等         | LODGE et al. (1993)        |
| S-アデノシルホモシステインハイドロレーズ        | TMV, CMV, PVY, PVX | MASUTA et al. (1995)       |
| GTP-結合タンパク質                  | TMV                | SANO et al. (1994)         |
| N 遺伝子                        | TMV                | DINESH-KUMAR et al. (1995) |
| dsRNase (PacI)               | TMV, CMV, PVY      | 小川(1994)                   |
| 抗体                           | AMCV               | TAVLADORAKI et al. (1993)  |
| 2'-3'oligoadenylate synthase | PVX                | TRUE et al. (1993)         |

a) : 参考文献は多数な数が存在するので代表的なもののみを掲載した。

略号 : TVMV : tobacco vein mottling virus ; PVY : ジャガイモ Y ウイルス ; PVX : ジャガイモ X ウイルス。他は本文参照。

る。

### 1 ウイルス由来の遺伝子を用いる方法

ウイルスゲノムの一部分を導入することにより、そのウイルスに対する抵抗性の植物が得られる場合が多数報告されている。この現象は病原体由来抵抗性 (pathogen-derived resistance: PDR) と呼ばれている (LOMONOSOFF, 1995)。

#### (1) 外被タンパク質 (CP) 導入によるウイルス抵抗性

PDR の最初の報告は、当時ワシントン大学の BEACHY (現 Scripps Research 研究所) らによるタバコモザイクウイルス (TMV) の CP 遺伝子導入により得られた (POWELL-ABEL et al., 1986)。それ以来、多数のウイルス CP 導入トランスジェニック植物が作られ、その普遍的有効性が証明されている (FITCHEN and BEACHY, 1993)。最初に開発された言わば古典的な方法ではあるが、ほとんど完全な抵抗性を示すことから、現在でも最も有効な方法の一つであり、サントリーで作出したウイルス抵抗性サフィニアもこの方法を採用している。

#### (2) 複製酵素遺伝子を用いる方法

ウイルスの複製酵素遺伝子の導入によっても、PDR が得られることが示されている。この場合も TMV により最初に証明された。この方法は tobam-, cucumo-, potex-, tombus および potyvirus についても有効であることが示されている (CARR and ZAITLIN, 1993)。

#### (3) その他の遺伝子を用いる方法

ウイルスゲノムの他の部分も、ウイルス抵抗性を付与できることが示されている。そのような部分としては、potyvirus の NIa プロテアーゼ (MAITI et al., 1993)、介助遺伝子 (helper component, VARDI et al., 1993)、tobamo-, bromo-, potexviruses の細胞間移行に関与するタンパク質 (BECK et al., 1994; LAIBOT et al., 1993; MALYSHENKO et al., 1993)、tymovirus の 3'-noncoding region (ZACCOMER et al., 1993) が報告されている。サテライト RNA、弱毒ウイルスの全ゲノム導入によってもウイルス抵抗性が得られている (HARRISON et al., 1987; YAMAYA et al., 1988)。これらのことから、ウイルス遺伝子のどの部分も PDR の可能性を秘めていると考えられる (LOMONOSOFF, 1995)。

また、タンパク質の発現を伴わない RNA-mediated resistance も最近注目されている (LINDBO and DOUGHERTY, 1992)。

このように、PDR についてはウイルスゲノムの各部分または全部を用いる方法が開発されているが、現在、最も実用化に近い方法は依然として CP を用いる方法であ

る。ここでは、筆者らが 1989 年から東京大学植物病理学研究室と共同で開発したウイルス抵抗性サフィニアについて安全性試験の結果も含めて紹介する。

## II ウイルス抵抗性サフィニアの作出

サントリー株式会社、京成バラ園芸株式会社の共同開発したペチュニアの新品種サフィニアは病気に強く、開花期が長く、多数の花をつけるという特徴を持っている。しかし、CMV に感染しやすいという問題があった。CMV 抵抗性を交配育種により導入することは困難であったので、CP を利用して CMV 抵抗性サフィニアを作出することにした。純化 CMV-Y 粒子よりゲノム RNA を調製し、cDNA を常法によりクローニングした。そのうち、CP のコード領域を Ti プラスミド由来のバイナリーベクター pBI 121 の  $\beta$ -グルクロニダーゼ (GUS) 遺伝子と置換したプラスミド pBI 121 CMV-Y を構築した。このプラスミドを三親交雑により *A. tumefaciens* に移し、葉共存培養法によりサフィニアの一品種、パープルを形質転換した。得られたカナマイシン (300 mg/l) 抵抗性カルスから通常の組織培養の方法 (タバコと同じ方法) を用いて再分化、発根、馴化させ、完全な植物個体を得た。得られた植物体には、すべて遺伝子が導入されていることがサザン解析により確認された。そのうち、CP の発現量が最も多かったクローン MCB 2 を用いて CMV-Y に対する抵抗性を検討した。元株および MCB 2 の植物体を挿し芽により増殖し、各接種濃度について 10 個体を用いて、0.8, 4, 20 mg/l の濃度で接種試験を行った。その結果、MCB 2 は機械的な接種に対し、0.8, 4 mg/l の接種濃度ではまったく発病が認められなかった。これに対し、無処理の元株は各接種濃度において 60%~70% の感染性を示した。また、20 mg/l の高濃度接種においても元株は 100% 発病したが、組換え体は 70% のみが病徴を示した。さらに、組換え体では感染した植物個体



図-1 CMV 抵抗性サフィニア  
接種後 3 週間目。左が元株、右が形質転換体

においても病徴の軽減が認められた(大平ら, 1991)。これらのことから CMV-Y CP 発現サフィニアは CMV-Y に対して抵抗性であることが明らかとなった (図-1)。

### Ⅲ 安全性評価

このようにして CMV 抵抗性サフィニアが得られたが、一般の植物と同様に扱うためには科学技術庁の指針に基づく閉鎖系、非閉鎖系試験、農林水産省の指針に基

表-2 組換えペチュニアの安全性評価における調査項目と結果の概要

| 調査項目            | 閉鎖系<br>実 験 | 非閉鎖<br>系実験 | 模 擬 的<br>環境利用 | 調査方法                                                          | 結果の概要                              |
|-----------------|------------|------------|---------------|---------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| 1.分類学上の位置と由来    |            |            |               | 文献調査                                                          | 南米大陸およびアメリカ南部原産, 日本には同属の野生種はない。    |
| 2.繁殖様式          |            |            |               |                                                               |                                    |
| 風媒による交雑率        | ○          | ○          |               | 強制送風により, 花粉の飛散性および風媒による結実性を調べた。                               | 花粉の飛散はほとんどなく, 風媒による結実は観測されない。      |
| 虫媒による交雑率        |            | ○          | ○             | 温室内での蜜蜂による交雑と隔離圃場での自然交雑を調べた。                                  | 模擬的環境利用での虫媒による結実が認められたが宿主植物との差異なし。 |
| 訪花昆虫相の調査        |            |            | ○             | 隔離圃場のペチュニアを訪花した昆虫類の観察を行った。                                    | 11 種 19 個体を観察。                     |
| 和合性, 結実性        |            | ○          |               | 人工交配による結実性や結実果実中の種子数および発芽率を調べた。                               | 弱い自家不和合性で, 宿主植物と差異なし。              |
| 花粉の稔性           | ○          |            |               | 開花当日採取した花粉をアセトカーミン染色し, 稔性を調査した。約長および約幅を測定した。                  | 宿主植物と差異なし(稔性は 90 % 程度)。            |
| 花粉寿命の調査         |            |            | ○             | 保管した花粉の寿命を人工受粉により調査した。                                        | 宿主植物と差異なし(2 日間は完存)。                |
| 種子発芽率の調査        |            |            | ○             | 結実種子の発芽率を MS 平板培地上で調査した。                                      | 播種後 1 週間で平均 95 % の発芽率。宿主植物と差異なし。   |
| 3.生育状況          | ○          | ○          | ○             | 栽培を通して, 生育速度, 草丈, 花付き等の調査を行った。                                | 宿主植物と差異なし。                         |
| 越冬性の調査          |            |            | ○             | 冬期間における植物の生育状況を観察した。                                          | 冬期間は生育できず越冬性の可能性は低い。宿主植物と差異なし。     |
| 4.有毒物質産生性       |            |            |               |                                                               |                                    |
| 植物体内成分          |            | ○          |               | 植物を磨砕後抽出し, 高速液体クロマトグラフィーにより分析した。                              | 宿主植物と差異なし。                         |
| 揮発性成分           | ○          |            |               | 植物体を水蒸気蒸留し, エーテル抽出後の精油成分をガスクロマトグラフィーにより分析した。                  | 宿主植物と差異なし。                         |
| 根からの浸出物         | ○          | ○          |               | 水耕栽培後の栽培液をエーテル抽出し, HPLC により分析した。また, 栽培液を用いてレタスの発芽試験と生育試験を行った。 | 宿主植物と差異なし。栽培液はレタスの発芽・生育に影響なし。      |
| 植物体の土壌混入試験      |            | ○          |               | 乾燥した植物体を粉砕後土壌に混和し, キュウリの種の生育を観察した。                            | 2 % 未満で弱い生育阻害が認められるが宿主植物と差異なし。     |
| 5.アグロバクテリウムの残存性 | ○          |            |               | 組換え植物体を磨砕し, 希釈平板法によりアグロバクテリウムの検出を行った。                         | アグロバクテリウムの残存は認められない。               |
| 6.土壌微生物相        |            | ○          | ○             | 植物栽培土壌中の微生物相を希釈平板法により調べた。                                     | 宿主植物と差異なし。                         |
| 7.周辺植物相         |            |            | ○             | 隔離圃場周辺の植物相について調査した。                                           | ペチュニア属と交雑可能な植物はない。                 |
| 8.ウイルス抵抗性       | ○          | ○          | ○             | CMV ウイルスの接種実験を行い, 病徴を観察した。                                    | 閉鎖系および非閉鎖系実験では抵抗性あり。               |
| 9.外被タンパク質検出     | ○          |            |               | ELISA 法により, 葉での CMV 外被タンパク質の発現量を調べた。                          | 組換えペチュニアからは検出。                     |

づく隔離圃場、一般圃場栽培試験が必要とされる。そこでまず、閉鎖系実験室、非閉鎖系温室における安全性試験を行った。試験項目は表-2のとおりである。その結果、ウイルス抵抗性を除くすべての項目について元株と差は認められなかった。そこでさらに、農林水産省の農業環境技術研究所の隔離圃場において、1993年5月から1994年3月にかけて栽培試験を行った(農業環境技術研究所、農林水産先端技術産業振興センター(STAFF)、サントリー株式会社、東京大学との共同研究)。その結果、組換え植物と元株とで栽培性、越冬性、微生物相等について有意な差は認められなかった(表-2、山田・大平, 1994)。これらの結果から、安全性に問題は認められなかったため一般圃場における栽培試験を行った。一般圃場としてはサントリー研究センターの一角を用いた。その結果、栽培性には特に問題は認められなかった。

以上の結果から、ウイルス抵抗性トランスジェニックサフィニアは指針上は一般消費者に販売可能となっている。しかし、社会的受容性、特許、消費者メリットが小さいこと等の問題があり、販売には至っていない。社会的受容性については、本年秋に組換えナタネ、ダイズ、トウモロコシが輸入、販売される見通しであり、これらの組換え体が一般消費者に受け入れられれば状況が変化する可能性もありうる。

#### IV PDR 以外のウイルス抵抗性トランスジェニック植物の作出方法

CPをはじめとするPDRを用いる方法は上述のように有効ではあるが、以下の点から環境に与える影響が危惧されている。すなわち、(1)導入遺伝子と感染ウイルス間でのRNA-RNA組換えによる新規ウイルスの出現、(2)導入CPによる感染ウイルスRNAのパッケージング(heteroencapsidation)による伝搬経路の変化、(3)サテライトRNAを利用した場合の、サテライトRNAの急速な拡散等の可能性、が指摘されている(Tepper, 1993)。これに対して、ウイルス遺伝子を利用しない以下の方法はそういった不安がないため社会的には受け入れられやすいというメリットを持つ(表-1)。

##### 1 植物由来遺伝子を用いる方法

植物由来の遺伝子を用いる方法としては、ヨウシュヤマゴボウの抗ウイルスタンパク質(Lodge et al., 1993)、タバコのs-アデノシルホモシステインハイドロレース(SAHH; Masuta et al., 1995)を発現させることにより、多種のウイルスに対する抵抗性を付与できることが報告されている。

また、イネのRas関連タンパク質であるGTP-結合タ

ンパク質(Sano et al., 1994)を過剰発現させることによりTMVに対する抵抗性が高まることが示されている。

さらに最近では、植物自体の持つ抵抗性遺伝子の利用も報告されている。DINESH-KUMAR et al. (1995)はタバコのN遺伝子をタバコSR1に導入することにより、N遺伝子を持つタバコと同様の抵抗性を示すことを示した。この遺伝子は細菌に抵抗性を示すRPS2(MINDRINOS et al., 1994)、カビに抵抗性を示すL6(LAWRENCE et al., 1995)と相同性を持っていることから、ウイルス、カビ、細菌に対する抵抗性のメカニズムに共通または類似のシグナル伝達経路が関与する可能性が考えられ、興味深い。

##### 2 酵母由来遺伝子を用いる方法

小川(1994)は、分裂酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)の二本鎖RNAを特異的に分解する酵素(dsRNase: pacI)を発現させることにより、TMV, CMV, PVYの発病が遅延することを示した。

##### 3 動物由来遺伝子を用いる方法

TAVLADORAKI et al. (1993)は、artichoke mottled crinkle virus (AMCV)のCPに対するモノクローナル抗体の可変領域と保存領域を、一つのペプチドに連結した抗体を導入した植物がAMCVに対して抵抗性になることを報告した。この場合、抗原決定部位の選定が重要であることが示唆されている。

TRUE et al. (1993)はラットの2'-5'oligoadenylate synthetase(動物のインターフェロンによる抗ウイルス作用を引き起こす酵素)をジャガイモに導入することにより、ウイルス濃度がCP導入個体よりも減少することを報告している。

#### おわりに

このように、CPを利用したウイルス抵抗性植物が作出されて、およそ10年の間にウイルス抵抗性を付与する研究は長足の進歩を遂げてきた。ウイルス抵抗性植物の作出は、植物バイオテクノロジーにおける成功例の一つとなっている。

しかし、様々な手法が開発されてきたにもかかわらずすべてのウイルスに実用レベルの抵抗性を付与するような方法はまだ開発されていない。感染するすべてのウイルスに実用レベルの抵抗性を付与しなければ、消費者サイドからみてウイルス抵抗性とはいえないと思われる。

多種のウイルスに、抵抗性を付与する方法を探索するためには植物ウイルスの研究のみならず、宿主植物、動物、酵母における抵抗性のメカニズムが解明されることが重要であろう。PDRは一般に特異性が高いが、宿主植物あるいは動物、酵母の遺伝子を利用する方法の中には

上述のように多種のウイルスに効果のある方法が多い。また、先述のタバコ *N* 遺伝子は細菌、カビ抵抗性遺伝子と相同性を持つことが見いだされている (LAWRENCE et al., 1995)。もし類似の機構によってウイルス、細菌、カビに対する抵抗性が発現するとすれば、異なる種類の病気に対しても抵抗性を付与できる可能性が出てくる。

また、多種の病気に対する抵抗性を付与するもう一つの方法として、昨年、海老沼ら (1995) により報告されたマーカー遺伝子除去の方法が利用できるかもしれない。この方法を用いれば形質転換後、マーカーを除去することにより何度でも同じマーカーを用いて形質転換できることから、対象植物に感染するすべてのウイルスのCPを導入することも理論的には可能である。

最近宿主生物由来の抵抗性遺伝子が次々とクローン化されてきた。また、上述のような新たな形質転換系、効率の良い再分化系などが開発されつつある。植物の遺伝子操作は近い将来、革新的な新品種を生み出すと予想される。

CMV 抵抗性サフィニアの作出に当たっては、社内外の多数の方々にお世話になった。ウイルスの精製、cDNA クローニング、ウイルス接種試験に当たっては東京大学農学部植物病理学研究室土崎常男前教授、難波成任助手 (当時、現東京大学農学部教授)、模擬的環境利用における安全性試験においては農業環境技術研究所岡田 斉 環境研究官 (当時)、同原田二郎植生管理科長 (当時)、同松村 雄 昆虫分類研究室長、STAFF 山田 実 部長、サントリー基礎研究所芦刈俊彦主席研究員らに大変お世話になった。ここに記して深く感謝する次第である。

#### 引用文献

1) ANDERSON, J. et al. (1992): Proc. Natl. Acad. Sci.

- USA 89: 8759~8763.  
 2) BECK, D. L. et al. (1994): ibid. 91: 10310~10314.  
 3) CARR, J. P. and M. ZAITLIN (1993): Semin. Virol. 4: 339~347.  
 4) DINESH-KUMAR, S. P. et al. (1995): Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92: 4175~4180.  
 5) 海老沼宏安ら (1995): 第18回日本分子生物学会年會講演要旨集, 2D-01.  
 6) FITCHEN, J. H. and R. N. BEACHY (1993): Annu. Rev. Microbiol. 47: 739~763.  
 7) HARRISON, B. D. et al. (1987): Nature 328: 799~802.  
 8) LAPIDOT, M. et al. (1993): Plant. J. 4: 959~970.  
 9) LAWRENCE, G. J. et al. (1995): Plant Cell 7: 1195~1206.  
 10) LINDBO, J. A. and W. G. DOUGHERTY (1993): Virology 189: 725~733.  
 11) LODGE, J. K. et al. (1993): Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 7089~7093.  
 12) LOMONOSOFF, G. P. (1995): Annu. Rev. Phytopathol. 33: 323~343.  
 13) MAITI, I. B. et al. (1993): Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6110~6114.  
 14) MALYSHENKO, S. I. et al. (1993): J. Gen. Virol. 74: 1149~1156.  
 15) MASUTA, C. et al. (1995): Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92: 6177~6121.  
 16) MINDRINOS, M. et al. (1994): Cell 78: 1089~1099.  
 17) 大平和幸ら (1991): 日植病報 57: 441~442.  
 18) 小川俊也 (1994): ウイルス 44(1): 69~76.  
 19) POWELL-ABEL, P. et al. (1986): Science 232: 738~743.  
 20) RITTER, E. et al. (1991): Mol. Gen. Genet. 227: 81~85.  
 21) SANO, H. et al. (1994): Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91: 10556~10560.  
 22) TAVLADORAKI, P. et al. (1993): Nature 366: 469~472.  
 23) TEPPER, M. (1993): Bio/Technology 11: 1125~1129.  
 24) TRUVE, E. et al. (1993): ibid. 11: 1048~1052.  
 25) VARDI, E. et al. (1993): Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 7513~7517.  
 26) 山田 実・大平和幸 (1994): TechnoInnovation 4: 61~63.  
 27) YAMAYA, J. et al. (1988): Mol. Gen. Genet. 215: 173~175.  
 28) ZACCOMER, B. et al. (1993): Gene 136: 87~94.

#### 主な次号予告

次6月号は、下記原稿を掲載する予定です。  
 農薬危害防止運動月間にちなんで (仮題) 大森正和  
 スクミリングガイの生態と防除 菖蒲信一郎  
 マレーシアとタイにおけるスクミリングガイの発生  
 実態と防除対応 平井剛夫  
 東南アジアにおけるイネ紋枯病シミュレーションモ  
 デル (BLIGHTASIRRI) の開発とモデルによる予  
 測 小林 隆・羽柴輝良・井尻 勉・T. W. MEW  
 灰色かび病菌の人工交配法と薬剤感受性の遺伝解析  
 への応用 山田正和

果樹園における光反射シートマルチによるアザミウ  
 マ類の防除 土屋雅利・増井伸一  
 カンキツグリーニング病の推定病原体の研究の現状  
 と課題 大津善弘  
 (植物防波基礎講座)  
 灰色かび病菌 (*Botrytis cinerea*) の選択分離培地  
 を用いた空中孢子密度測定法 岡田清嗣  
 (リレー随筆) 産地の研究室から——地域ブランドを  
 育てる (9) / らっきょう 本多範行  
 ネオニコチノイド——作用機構と創製研究 山本 出

定期購読者以外のお申込みは至急前金にて本会へ  
 定価1部800円 送料76円

# 抗菌性ペプチドを利用した細菌病抵抗性植物の作出

農林水産省農業生物資源研究所    おおしま    まさひろ    おおはし    ゆうこ  
大島    正弘・大橋    祐子

## はじめに

バイオテクノロジーによって植物を病害から守るため様々な試みが行われている。その中で害虫、糸状菌、ウイルスについては他の筆者が解説するような方法論の有効性が認識され、実用化に向けて研究が進められているところである。一方、バクテリアによって引き起こされる病害については農業上重要な問題であるにもかかわらず、これを防除するのは容易ではなく、通常は罹病株を抜き取って焼き捨てるか抗生物質等の薬剤の使用しかないのが現状である。また従来の育種手法によって抵抗性品種を作出することも、適当な交配母本を選択することが難しい。

筆者らは遺伝子組換えの手法を用いて、細菌病に抵抗性の植物を作出することができないかと考え、研究を行っている。その戦略として、異種の生物から殺菌活性を持ったタンパク質の遺伝子を取り出し、これを植物に導入することによって植物自体が細菌を侵入のごく早い段階で殺してしまうような能力をもつことができれば、それによって細菌病抵抗性を付与することができるのではないかと考えた。このような殺菌活性を持ったタンパク質はこれまでに各種の昆虫をはじめ、哺乳類まで多くの生物から見いだされており (LEE et al., 1989; KIMBEL, 1991), かなり普遍的な存在であると考えられる。中でも昆虫は、免疫系を持たない代わりに、自己防御のための様々なメカニズムを発達させていると考えられており、実際、様々な種類から様々な性質を持つ抗菌活性タンパク質が発見されていて、未開封の宝箱といえる。抗菌活性タンパク質遺伝子を、遺伝子組換えによってモデル植物に導入した例としては、既にアメリカスタンフォード大学のグループが発表したヤマユグの一種から得た抗菌性ペプチドを利用し、青枯病抵抗性のタバコを作出した研究が知られている (JAYNES et al., 1993)。しかし、これはまだ実用化のレベルには達しておらず、世界的にも発展途上の技術である。本稿では、筆者らの行ったザルコトキシニン IA を用いた、細菌病抵抗性のタバコ作出経過の概要について紹介したい。

## I ザルコトキシニン IA 殺菌活性タンパク質について

筆者らが殺菌性タンパク質の遺伝子素材として用いたのは、わが国に普遍的に生息するハエの一種であるセンチュウバエ (*Boettcherisca peregrina*) から東京大学薬学部の名取俊二教授らによって単離されたザルコトキシニン IA である (OKADA and NATORI, 1983; OKADA and NATORI, 1985)。これは図-1 に示すように、39 個のアミノ酸から構成されるごく短いタンパク質なので、以下では抗菌性ペプチドと呼ぶこととしたい。既に三次元構造が決定されており、それによると、ザルコトキシニン IA は二つの  $\alpha$  ヘリックス領域を持ち、ヘリックスの片側が親水性、反対側が疎水性という顕著な性質を持っている。このような性質を両親媒性といい、昆虫由来の殺菌性タンパク質の一部に見られる特徴的な構造である。このタンパク質はバクテリアの細胞膜にイオノフォアとして働き、膜に穴を開けることで殺菌活性を示すと考えられている。そのため、このような殺菌活性タンパク質に対して、バクテリアが耐性を獲得するのはかなり困難であると考えられ、これを利用することができれば有効な技術になることが期待される。

このタンパク質の遺伝子を植物に導入するのに先だって、これが植物の病原細菌にも有効であるか否かを検討した結果を表-1 に示す。これは、各種の植物病原細菌に対する殺菌活性を阻止円法で検定したものである。この

Met-Asn-Phe-Gln-Asn-Ile-Phe-Ile-Phe-Val-Ala-Leu-Ile-Leu-Ala-Val-Phe-Ala-Gly-Gln-Ser-Gln-Ala-Gly-Trp-Leu-Lys-Lys-Ile-Gly-Lys-Lys-Ile-Glu-Arg-Val-Gly-Gln-His-Thr-Arg-Asp-Ala-Thr-Ile-Gln-Gly-Leu-Gly-Ile-Ala-Gln-Gln-Ala-Ala-Asn-Val-Ala-Ala-Thr-Ala-Arg-Gly

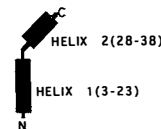


図-1 ザルコトキシニン IA の一次構造および三次元構造の模式図

アミノ酸配列のうち、斜線で示した部分はシグナルペプチドでありペプチド自体の成熟に伴って除去される。また C 末端のグリシンも除去され、アミド化されたアルギニンが C 末端となっている。( ) 内の数字は N 末端の Met を 1 としたときの数値。

表-1 ギャロコトキシン IA が有効な植物病原細菌のリスト

|                                                    |              |
|----------------------------------------------------|--------------|
| <i>Pseudomonas cichorii</i>                        | (レタス腐敗病菌)    |
| <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tabaci</i>      | (タバコ野火病菌)    |
| <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>vitians</i>   | (レタス斑点細菌病菌)  |
| <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>pruni</i>     | (モモせん孔細菌病菌)  |
| <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>oryzae</i>    | (イネ白葉枯病菌)    |
| <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>citri</i>     | (カンキツかいよう病菌) |
| <i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i> | (ハクサイ軟腐病菌)   |
| <i>Escherichia coli</i> (大腸菌)                      |              |

ペプチドは元来大腸菌に増殖阻害作用を持つことがわかっていて、検定の結果、このリストにある植物病原細菌にも同程度もしくはそれ以上に有効であることがわかった。青枯病菌 (*Pseudomonas solanacearum*) に対しては無効であったが、この理由については今のところ不明である。

次の実験として、このペプチドの植物に対する安全性を確認した。タバコおよびイネの培養細胞に添加したところ、100  $\mu\text{g/ml}$  という高濃度であって、細胞の外に存在する時には、植物細胞の増殖になんら影響を及ぼさないことがわかり、このペプチドを抵抗性植物作出という目的で用いることが有効であると予想された。

## II 殺菌活性タンパク質の植物への導入

本遺伝子を用いて細菌病抵抗性の植物を作出するため、実験植物としてタバコを用い、通常のバイナリーベクター法を用いて導入した。その際、予備的な実験から、植物の形質転換実験でよく用いられるカリフラワーモザイクウイルス 35S 遺伝子 (以下、35S と略す) のプロモーターを用いた実験では、ほとんど抵抗性が認められなかったことから、発現量を高めることが非常に重要であろうと判断し、当所で開発した双子葉植物用高発現プロモーター (光原ら, 1996) を用いて改変した。このプロモーターは、35S プロモーター内のエンハンサーを含むと考えられる領域を二つタンデムにつなぎ、さらにタバコモザイクウイルスゲノム上の非翻訳領域に存在する翻訳促進配列 ( $\Omega$  配列) をつないだものであり、元のプロモーターの発現特性を反映して、植物体のほとんどの組織で恒常的に、元のプロモーターに比べて十倍以上の高い発現を起こすことができる。図-2 に、このようにして作製したキメラ遺伝子の構造を示した。この遺伝子をタバコに導入し、ノーザンブロッティングによってその発現が確認できた植物の自殖次世代の植物群を用意して、これらを対象として細菌病抵抗性の検定を行った。

|       |       |      |          |     |            |      |
|-------|-------|------|----------|-----|------------|------|
| En35S | En35S | P35S | $\Omega$ | Sig | Sarcotoxin | Tnos |
|-------|-------|------|----------|-----|------------|------|

図-2 タバコに導入されたギャロコトキシン IA 遺伝子の構造

En 35 S は 35 S プロモーターのうち、エンハンサーを含むと考えられる-419 から-90 まで、P 35 S はコアプロモーター (-90 から-1 まで) を示す。 $\Omega$  はタバコモザイクウイルスの翻訳促進領域、Tnos は Ti プラスミド上のノパリン合成酵素遺伝子のターミネーター配列であり、Sig は PR-IA 遺伝子のシグナルペプチド、Sarcotoxin は成熟ペプチドの配列を示す。

## III 野火病菌の感染に対する抵抗性の検定

野火病はタバコの細菌病の一つであり、*Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* によって引き起こされる。この細菌は、増殖する際にタブトキシンと呼ばれる特有の毒素を生産するため、感染部位周辺に黄色のハローができるのが特徴であり、気象条件等によっては激しいまん延をもたらすことがあり、しばしば大きな問題となる病害である。しかし一方では、この病気の特徴として感染が罹病部に留まり、肉眼的にも観察しやすいこと、またすぐには全身感染による供試株の枯死を起こさないことから、抵抗性検定に適した細菌であると考えられた。

このような研究では適切な検定法の開発が重要であるので、農林水産遺伝子バンク保存の菌株から適当な株を選び、さらに様々な接種条件を検討した。その結果、最も強い病原性を示した株をインジケーターとし、鋭利な針を植え込んだ接種器具を用いて、完全に展開した葉の中で最上位にあたる葉に穴を開け、そこに  $10^8$  細胞/ $\text{m}^2$  の濃度に調整した菌懸濁液を接種することで安定的に病徴を出せることがわかったので、以後この条件で抵抗性の検定を実施した。このような検定を多数の形質転換植物を対象に計 4 回行い、常に抵抗性を示した株を選抜した。図-3 および図-4 はその結果の一部であり、接種後約 10 日経った接種部位である。コントロールの植物では図-3 のように感染が進行し、明瞭なハローが形成されるが、遺伝子導入植物では図-4 に示すように、接種に用いた針の傷跡が残るのみで感染は成立していないと考えられる。実際の実験では、この両者の中間の様々な程度の罹病性/抵抗性を示す個体が認められた。抵抗性を示した株ではウェスタンブロット分析によりタンパク質レベルでギャロコトキシン IA が発現していることを確認している。

## IV 軟腐病抵抗性の検定

先に野火病抵抗性を示した個体について、別の細菌病である軟腐病に対する抵抗性の検定を行った。この病気



図-3 タバコ野火病菌接種約10日後の接種部位  
(コントロールとして用いた非形質転換植物)

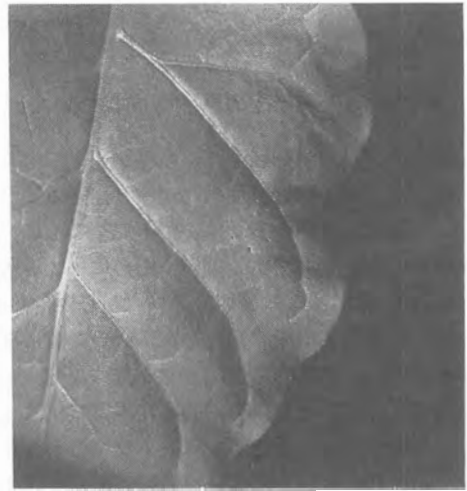


図-4 タバコ野火病菌接種約10日後の接種部位  
(形質転換植物での結果)

はハクサイ、キャベツ、その他種々の作物の病害で、*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* によって引き起こされ、葉や葉柄などが軟化・腐敗し、独特の悪臭を発する重要病害である。この細菌は先の野火病菌と異なり、接種部位から全身に急速に拡大する危険性があり、また安定した病徴発現のためには高い湿度が必要である。そこで、植物体についた状態の葉に直接接種する代わりに切離葉に対して野火病菌と同様な方法で接種した後、湿らせたペーパータオルの上にのせ、密閉チャンバー中で27℃でインキュベートすることによって病徴発現（接種部位の腐敗化）の程度を評価した。図-5 にその結果の一部を示した。コントロールの植物あるいは抵抗性に関係と考えられる大腸菌の  $\beta$ -グルクロニダーゼ (GUS) を導入した植物では、図-5 のように急速に病徴が出現・拡大し、腐敗症状を示しているのに対し、先に野火病に対して抵抗性を示した個体では明らかに病徴発現の程度が軽減されていた。

さらに定量的な評価をするため、葉の一部を切り出し軟腐病菌懸濁液の中でインキュベートしたところ、遺伝子導入植物のうち、先の実験で抵抗性を示した個体では軟腐症状の出現が明らかに遅れることが確認でき、この菌に対しても抵抗性であることが示された。

また、先の殺菌活性の検査で無効と判断された青枯病菌についても、様々な条件の下で抵抗性検定を行ってみたが予想どおり無効であり、この菌に対しては抵抗性を示さないことが確認できた。

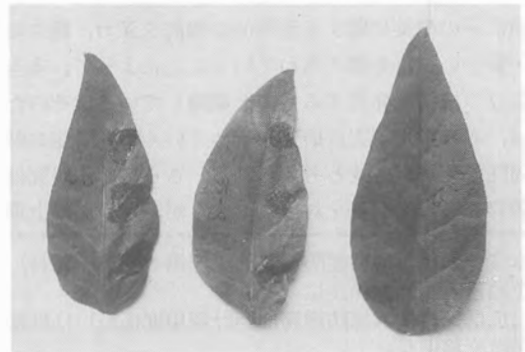


図-5 軟腐病菌接種部位に生じた病徴  
左はコントロールとして用いた非形質転換植物、中はGUS 遺伝子を導入した形質転換植物、右はザルコトキシシン1A 遺伝子を導入した形質転換植物。

## V 遺伝子の発現レベルと抵抗性の関係

抵抗性を示した形質転換植物と、コントロールの植物を交配し、遺伝学的な解析を行った結果、強い抵抗性を示した植物はザルコトキシシン遺伝子をホモで(2個)持っているものであることがわかった。これらの植物と野生型タバコとの戻し交配で得られた植物は弱い抵抗性しか示さず、ゲノム当たりの遺伝子の数によって規定されるザルコトキシシンの発現量の差が抵抗性発現に重要であることが示唆された。この知見は35Sプロモーターを用いてもほとんど抵抗性が観察されなかったことと符合する。このことを踏まえ、今後さらに導入遺伝子の発現量を増加させたり、植物体内での安定性を増加させるなど

の方策を取ることによって、抵抗性をより強化することが可能ではないかと考えている。

### おわりに——今後の展開方向について

この研究により、当初に考えた戦略が有効であり、この方法によって細菌病抵抗性植物が作り出せることが示された。しかし、今回の実験はまだ不完全なものであって、今後この方法を実用化していくためには、導入遺伝子の発現強化、発現様式についての検討が必要であろう。すなわち、全身的・構成的発現から、必要な時に罹病部およびその周辺に誘導的に生産させる方法など、より自然界で起こる現象に近く、実用的な発現方式に改良していくことが望ましい。またザルコトキシンのような異種生物由来であり、しかも非常に短いペプチドを効率的、安定的に発現させるための技術も工夫する必要がある。遺伝子組換え技術を用いて植物に低分子量のタンパク質やペプチドを作らせるような研究の歴史はまだ浅い。導入遺伝子の構築に関する理論的な検討を深め、種々の経験・新しい試みを積み重ねていくことによって、本当に役に立つ技術に発展するものと期待している。そのためには、あせらず着実に研究を進めていく研究者側の熱意と周囲の理解が必要と考えられる。さらに、本研究は実験植物であるタバコを対象に行ったが、他の農業上重要

な植物への適用が次の段階で必要であり、現在計画中である。このペプチドは動物が自己防御のために作り出す動物版の抗生物質とも考えられ、類似のものが哺乳類の小腸からも検出されている。この点も踏まえて安全性の観点からも有用かどうかの判断をする必要がある。その上で、今後この技術を種々の作物に適応・発展させることができれば、省農薬、省エネルギーで細菌病を克服するための新技術となることが期待されるであろう。

本研究は東京大学薬学部名取俊二教授、東亜合成化学(株)つくば研究所岡本雅次博士、農業環境技術研究所西山幸司博士、農業生物資源研究所加来久敏博士、並びに岐阜県農業研究センター沢野定憲氏との共同研究で行われたものであり、ここに記して感謝の意を表したい。

### 引 用 文 献

- 1) JAYNES, J. M. et al. (1993): Plant Science 89: 43~53.
- 2) KIMBEL, D. A. (1991): BioEssay 13: 657~663.
- 3) LEE, J. -Y. et al. (1989): Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 9159~9162.
- 4) OKADA, M. and S. NATORI (1983): Biochem. J. 211: 727~734.
- 5) ——— (1985): J. Biol. Chem. 260: 7174~7177.
- 6) MITSUHASHI, I. et al. (1986): Plant Cell Physiol. 37: 49~59.

杉本俊一郎氏 (横浜植防疫務部国際第一課第一係長) は企画班企画調整係長に  
三村広信氏 (横浜植防疫務部会計課用度係長) は庶務班場所庶務係長に  
鶴崎一郎氏 (企画班法令係長) は農薬第一班安全指導係長に  
土井茂幸氏 (農薬第二班生産係長) は農薬第二班取締係長に  
橋本浩明氏 (農薬検査所検査第一部企画調整課取締企画係長) は農薬第二班生産係長に  
大村克己氏 (横浜植防疫務部企画調整課防疫管理官) は植防疫兼任に  
松崎 晃氏 (横浜植防疫務部調査課) は植防疫兼任に  
楠川雅史氏 (採用・農薬検査所検査第二部農薬残留検査課) は植防疫兼任に  
中澤広行氏 (採用・横浜植防疫務部国際第一課) は植防疫兼任に  
神戸昌仁氏 (植防疫庶務班場所庶務係長) は農産園芸局婦人・生活課庶務係長に  
工藤浩平氏 (植防疫課課長補佐 (検査第一班担当)) は横浜植防疫調査研究部付に  
阪本 剛氏 (植防疫課課長補佐 (農薬第二班担当)) は農薬検査所調整指導官に  
塚本和彦氏 (植防疫企画班企画調整係長) は横浜植防疫務部国際第一課防疫管理官に  
山峯喜美夫氏 (植防疫課農薬第二班取締係長) は農薬検査

所検査第二部化学課検査管理官に  
鈴木 修氏 (植防疫課農薬第一班安全指導係長) は農薬検査所検査第一部毒性検査課安全基準係長に  
岩井朋久氏 (横浜植防疫調査研究部企画調整課兼植物防疫課) は併任解除  
真壁貞夫氏 (横浜植防疫調査研究部調査課兼植物防疫課) は併任解除  
松本 翠氏 (植防疫課兼普及教育課) は農産園芸局企画課企画班企画第一係長に  
農産園芸局 (4月1日付)  
田中淳子氏 (環境庁水質保全局土壌農薬課) は普及教育課就農推進班就農企画係長に  
森田富幸氏 (総務課総括班総括第二係長) は通商産業省工業技術院技術調査課課長補佐 (調査班担当) に  
瀧澤直樹氏 (肥料機械課) は環境庁出向 (水質保全局土壌農薬課へ)  
農政局関係 (4月1日付)  
東 義裕氏 (九州農政局企業流通課農政調整官) は九州農政局生産流通部農産普及課課長補佐 (土壌) に  
池田淳一氏 (農薬検査所検査第二部農薬残留検査課残留第二係長) は関東農政局生産流通部農産普及課植物防疫係長に  
島袋智志氏 (那覇植物防疫事務所国内課) は沖縄総合事務局農林水産部農産園芸課植物防疫係長に  
坂 治己氏 (関東農政局生産流通部農産普及課植物防疫係長) は技会事務局国際研究課技術協力係長に  
(34 ページに続く)

# イチゴへのキチナーゼ遺伝子の導入

|                 |                    |                   |                    |                  |
|-----------------|--------------------|-------------------|--------------------|------------------|
| 奈良県農業試験場        | あさ<br>浅<br>にし<br>西 | お<br>尾<br>ざわ<br>澤 | ひろ<br>浩<br>よう<br>洋 | し<br>史<br>こ<br>子 |
| 農林水産省農業生物資源研究所  | あら<br>荒            | い<br>井            |                    | しげる<br>滋         |
| 奈良県農業試験場        | ひら<br>平            | い<br>井            | まさ<br>正            | し<br>志           |
| 農林水産省野菜・茶業試験場   | ひ<br>日             | び<br>比            | ただ<br>忠            | あき<br>明          |
| 東京大学農学部植物病理学研究室 |                    |                   |                    |                  |

## はじめに

人間は有史以来、自分たちに都合が良い作物を求めて野生の植物を元に何代にもわたって交配を繰り返しながら、病気に強く収穫量が多く、しかも食味の良い品種を育種してきた。その結果、数多くの有用な植物が育成されてきたが、このような伝統的な品種改良技術にも欠点と限界がある。仮に良い形質を持ったもの同士を交配しても他にも様々な形質を合わせ持っているため、必要な遺伝形質のみならず不要な形質も持ち込まれ、特定の遺伝子だけを導入するのは困難である。そのため、一つの品種を育成するには長い時間と莫大な労力を必要とする。また、近縁の植物間でしか交配はできず、利用できる遺伝形質には限界があり、新しい植物の育種が制限される場合が多々ある。しかし、植物遺伝子工学技術の急速な進歩により、特定の遺伝子を単離し、他の生物に導入することが可能となった。この技術を用いれば、目的とする品種の育成効率が非常に高まり、伝統的育種における問題点を解決する上で有効である。実際、遺伝子工学によって病害抵抗性遺伝子を導入した耐病性植物や、アンチセンス RNA によって目的遺伝子の翻訳を抑制した植物などの作出が盛んに行われている。また、地球規模で議論されている環境破壊や食糧不足の問題解決に貢献するような植物を分子育種する研究も活発に行われている。

高等植物はその構成成分としてキチンを持たないにもかかわらず、キチンを分解する酵素、キチナーゼを産生する。このキチナーゼの産生は病原菌の感染や傷害に加え、植物ホルモンのエチレン、化学物質のサリチル酸などによっても誘導される。これらのキチナーゼは植物の過敏反応に伴って作られる PR タンパク質（感染特異的タンパク質）の一つであることが明らかにされている。

さらにキチナーゼは、多くの植物病原菌の細胞壁の構成成分であるキチンを溶解して直接菌類の生育を阻害すると同時に、このように低分子化された菌体細胞壁のキチンオリゴマーが、ファイトアレキシンの産生やプロテアーゼインヒビターの合成など、一連の防御反応を誘導する。

このように、植物の生体防御において、重要な役割を果たしていると考えられるキチナーゼ遺伝子を導入することによって、病害抵抗性のトランスジェニックイチゴを作出したので、その概要について紹介したい。なお、本研究は奈良県農業試験場と農業生物資源研究所の微生物機能利用研究室および野菜・茶業試験場の育種第一研究室との共同で行った（地域バイオテク事業）。

## I イチゴにおける遺伝子組換え技術の有効性

わが国においてイチゴの育種は長年行われているが、現在の主要品種は“とよのか”、“女峰”および“宝交早生”である。これらの品種は食味は良いが、“とよのか”はうどんこ病に、“女峰”は炭そ病に、“宝交早生”は萎黄病にそれぞれ弱いという欠点がある。特に、日本で作付面積が最も多い“とよのか”は、うどんこ病に対して罹病性であるため、農家に薬剤散布労力の負担がかかっており本病抵抗性品種の開発が望まれている。しかし、8 倍体であるイチゴでは一般の種子繁殖性植物とは異なり、交配により耐病性など一部の形質を既存の品種に付加するのは困難であるので、目的とする一つの遺伝子を付加することが可能な遺伝子組換え技術が有効であると考えられる。

イチゴの組織からの再生系については幾例の報告 (NEHRA et al., 1989; 1990) はあるが、その品種間差が大きく、日本の品種においては効率の良い再生系が確立されていなかった。そこで、奈良県農業試験場では数年前から日本の主要イチゴ品種の培養系 (荒井・浅尾, 1993) や *Agrobacterium tumefaciens* を用いたイチゴの遺伝子

導入技術(浅尾ら, 1994)の開発に取り組み, それらの技術を確立した。次いで, イチゴに NISHIZAWA・Hibi (1991) がイネから単離した酸性クラス I キチナーゼ遺伝子を導入することによって, うどんこ病抵抗性イチゴを作出することを試みた。うどんこ病菌の分生孢子が植物体の表面に付着すると, 発芽後に付着器を経て養分の摂取器官である吸器を形成する。吸器によって植物から栄養分を得た菌は, 新たに第二次菌糸を伸ばし近くの表皮細胞に再び吸器を形成するというサイクルを繰り返し, 最後には菌糸上に分生孢子を作ってうどんこ病菌が広まっていく。IKEDA et al. (1991) は, イチゴうどんこ病菌 *Sphaerotheca humuli* の吸器が形成されたイチゴ細胞へキチナーゼを注入することにより吸器が分解することを確認した。これは, イチゴにキチナーゼ遺伝子を導入・発現させることにより, うどんこ病抵抗性個体が作出される可能性を示唆するものである。

## II イチゴへのキチナーゼ遺伝子の導入

### 1 遺伝子導入の手法

無菌的に大量増殖(藤本ら, 1987)した“とよのか”の葉片と葉柄片をカルス形成液体培地(MS培地にシヨ

糖3%, BA 2 mg/l および 2,4-D 0.2 mg/l を添加し, pH 5.8 に調整したもの)に1日間浸漬し, 供試材料とした。一方, イネ由来キチナーゼ遺伝子を GUS 遺伝子を削除したバイナリーベクター pBI 121 中の CaMV 35S プロモーターの下流に連結し, これを *A. tumefaciens* LBA 4404 株に導入した菌を用意した。カナマイシン 50 mg/l を添加した YEB 培地で一晚振とう培養した *A. tumefaciens* の 1/10 希釈液に外植片を 10~30 分間浸して菌を接種し, カルス形成培地で2日間培養した。その後, 除菌のためのカルペニシリン 100 mg/l と形質転換カルス選抜のためのカナマイシン 50 mg/l を添加したカルス形成培地に移植した。次に, 形成したカルスを前記抗生物質を含んだ再分化培地(カルス形成培地から 2,4-D を除いたもの)に移植して不定芽を形成させた。葉片 4,000 個から 246 個 (6.15%) のカルスが, 葉柄片 4,128 個から 298 個 (7.21%) のカルスがそれぞれ形成されて, それらのカルスから 123 個の植物体が得られた(図-1, 表-1)。

これらの再分化個体中の導入遺伝子の確認は次のようにして行った。すなわち, 再分化したイチゴの葉片を 400  $\mu$ l の緩衝液 (200 mM Tris-HCl, pH 7.5, 250 mM NaCl, 25 mM EDTA, 25 mM DTT, 0.5% SDS) と少量の海砂が入ったエッペンドルフチューブの中ですりつぶし, 遠心分離後, 上清 300  $\mu$ l を新しいエッペンドルフチューブへ移して, イソプロパノール 300  $\mu$ l を加えて室温で2分間放置した。これを遠心分離した後, 沈殿物を乾燥させ, 100  $\mu$ l の TE 緩衝液に溶かし DNA 溶液とした。得られた DNA の 10~30 ng を鋳型として, キチナーゼ遺伝子の翻訳領域および NOS ターミネーター部の塩基配列と相補的な配列を持つプライマーを用いて PCR を行った。なお PCR は, 94°C・2分保温の後, 変性 94°C・30秒, アニーリング 60°C・2分, 伸長反応 72°C・3分を 45 サイクル反復した後, 72°C・7分保温の条件で行った。増幅産物は, 1  $\mu$ g/ml エチジウムブロミドを含む 1.5% アガロースゲル電気泳動により分析した。その結果プラスミド DNA を鋳型とした場合と同じ約 320 bp の DNA 断片が増幅され, これらの個体がキチナーゼ遺伝子を持つ形質転換体であることが確認された。

表-1 アグロバクテリウムを用いた形質転換イチゴ(“とよのか”)の作出

| 供試部位  | 外植片数  | カルス形成数    | 再分化個体数    |
|-------|-------|-----------|-----------|
| 葉     | 4,000 | 246(6.2%) | 36(0.9%)  |
| 葉柄    | 4,128 | 298(7.2%) | 87(2.1%)  |
| Total | 8,128 | 544(6.7%) | 123(1.5%) |

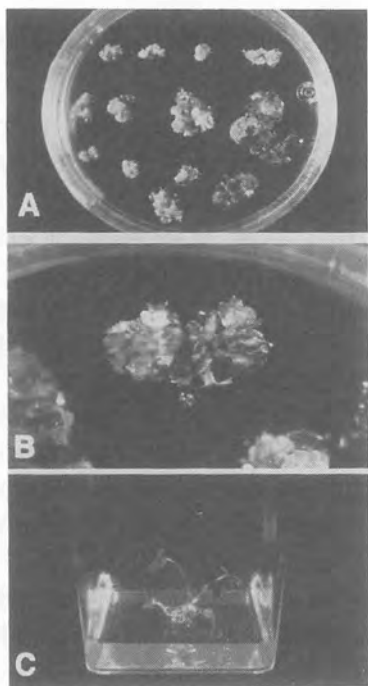


図-1 形質転換イチゴの作出

A: カルスからの茎葉水分, B: 茎葉の伸長, C: 植物体

2 形質転換体におけるキチナーゼ活性とうどんこ病に対する抵抗性

(1) 形質転換体のキチナーゼ活性

各個体 0.5 g の新鮮葉を 0.02 M citric acid-0.04 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 緩衝液 (pH 6.8) でホモジナイズし、遠心分離後、上清を一晩透析し、不溶物を遠心分離で除き、上清を前記緩衝液で 10 ml/ にして粗酵素抽出液とした。次に、基質としてのカルボキシメチルキチン 20 mg を 0.05 M citric acid-0.1 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 緩衝液 (pH 6.8) 1 ml/

に懸濁し、粗酵素抽出液 1 ml/ を加えて 37℃ で 1 時間振とう反応させ、トリクロロ酢酸で反応を停止後、酵素反応液 1.5 ml/ とシャーレス変法試薬 (IMOTO and YAGISHITA, 1971) 2 ml/ を混合して 15 分間沸騰水浴中で加熱した。その後、420 nm の吸光度で *N*-アセチル-*D*-グルコサミン量を測定した。その結果調査した 5 個体のうち 2 個体は対照個体と比較して約 5 倍量の *N*-アセチル-*D*-グルコサミンが検出でき、キチナーゼ遺伝子を導入することによりキチナーゼ活性が向上したものと考えられた。

表-2 形質転換“とよのか”の小葉へのうどんこ病菌の接種試験結果(1週間後)

| 葉位        | 小葉番号 | 対照個体             |    | 形質転換個体 |   |   |   |   |   |   |   |   |
|-----------|------|------------------|----|--------|---|---|---|---|---|---|---|---|
|           |      |                  |    | A      |   |   | B |   |   | C |   |   |
| 新生<br>第1葉 | 1    | ++ <sup>1)</sup> | +  | +      | + | + | + | + | + | + | + | + |
|           | 2    | ++               | ++ | +      | + | + | + | + | + | + | + | + |
|           | 3    | +                | +  | +      | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 新生<br>第2葉 | 1    | +                | +  | +      | + | + | + | + | + | + | + | + |
|           | 2    | ++               | +  | +      | + | + | + | + | + | + | + | + |
|           | 3    | +                | +  | +      | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 新生<br>第3葉 | 1    | +                | +  | +      | + | + | + | + | + | + | + | + |
|           | 2    | +                | +  | +      | + | + | + | + | + | + | + | + |
|           | 3    | +                | +  | +      | + | + | + | + | + | + | + | + |

- 1) 病徴程度  
- : 病徴が認められない  
+ : 肉眼では判定できないが、顕微鏡下で孢子形成が認められる  
++ : 肉眼で菌叢が認められる

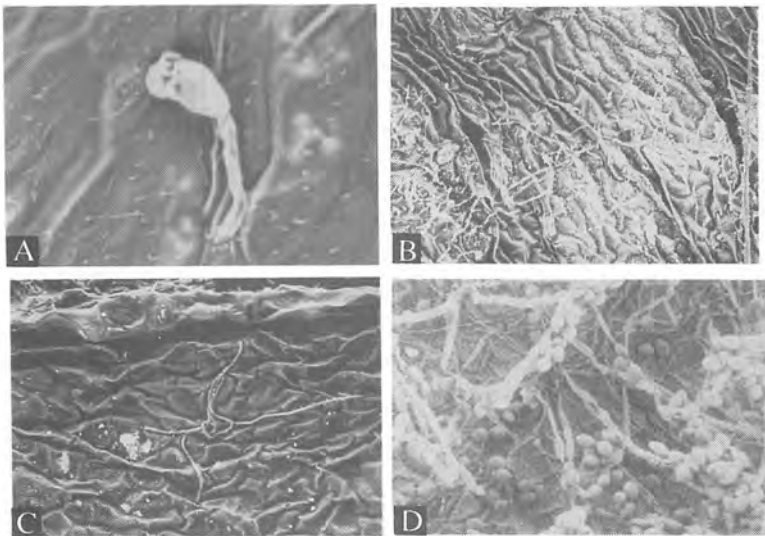


図-2 イチゴ葉上における接種うどんこ病菌の走査電顕像  
A : とよのかの形質転換体 (800 倍) B, D : とよのか (200 倍)  
C : 宝交早生  
A, B : 接種 3 日後 C, D : 接種 12 日後

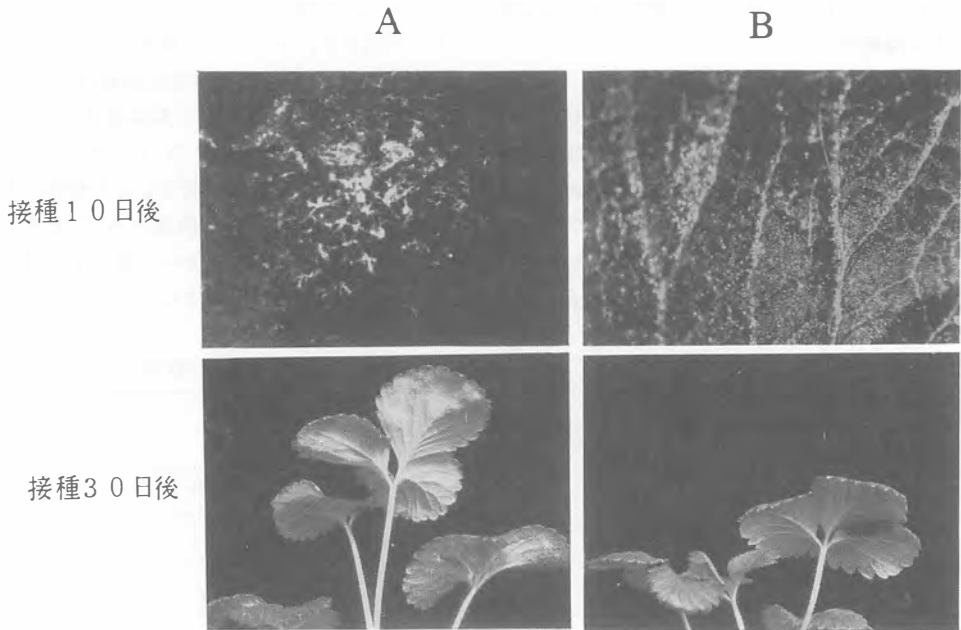


図-3 うどんこ病菌を接種した形質転換イチゴ（とよのか）の病徴

A：対照，B：形質転換体

## (2) 小葉へのうどんこ病菌の接種

形質転換していない“とよのか”，“女峰”および“宝交早生”の新生第2葉の小葉3枚を沱紙を敷いたシャーレに置き，うどんこ病菌 (*S. humuli*) の孢子 (数個) を接種して1週間後に病徴を観察した。次に，形質転換“とよのか”と非形質転換“とよのか”の新生第1葉から新生第3葉までの小葉3枚を沱紙を敷いたシャーレに置き，うどんこ病菌の孢子 (数個) を各小葉につき3点に接種して1週間後に病徴を観察した。形質転換していない3品種にうどんこ病菌を接種した場合，“とよのか”では孢子が旺盛に発芽しコロニーが観察されたが，“女峰”と“宝交早生”では病徴は観察されなかった。一方，うどんこ病菌を接種した3個体の形質転換体のうち1個体は対照の“とよのか”と同様な病徴を示したが，あとの2個体は抵抗性を示した (表-2)。

走査電子顕微鏡による観察の結果，イチゴの葉にうどんこ病菌を接種すると，抵抗性品種の“宝交早生”では菌糸が吸器を形成できず渦を巻きながらさまよっている (図-2C) のに対して，“とよのか”では接種12日目でも多数の数珠状孢子を形成した (図-2D)。一方形質転換“とよのか”では，接種初期における菌糸の伸長は観察されず，コントロールと比較して明らかにうどんこ病菌に対して抵抗性を示した。時間の経過と共に形質転換“とよのか”でも菌糸は伸長したが，“宝交早生”のように菌糸

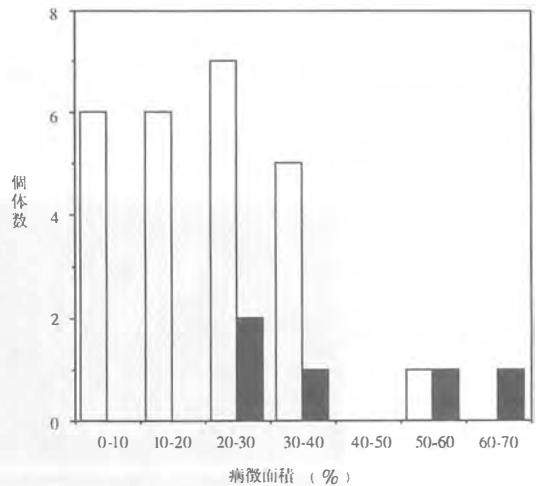


図-4 形質転換イチゴのうどんこ病抵抗性

□：形質転換体 (25 個体)

■：対照個体 (5 個体)

が渦を巻くようなことはなかった。このように，形質転換“とよのか”では病徴発現が遅延したが，この抵抗性は“宝交早生”とは異なったメカニズムによるものであると考えられる。

## (3) 閉鎖系温室での接種試験

閉鎖系温室内で育成した形質転換体および非形質転換

体の“とよのか”にうどんこ病菌の孢子 ( $10^5$  個/ml) を接種し, 30 日後に各個体の新生第 1 葉から新生第 4 葉までの各葉における病徴発現の程度を, 葉の全面積に対する菌叢面積の率を調査することによって算出した。形質転換体の菌叢面積率の平均は, 非形質転換体の“とよのか”より低かったが, いずれの系統においても個体差が大きかった。形質転換体の中には菌叢面積率が 2.5% あるいは 3.8% と非常に低い値を示した個体があり, うどんこ病に対してかなり強度の抵抗性があると考えられた (図-3, 図-4)。

#### (4) 形質転換体の安全性評価

ベクターに用いた *A. tumefaciens* の残存性を調査するため, 試験管内で生育させた形質転換体の茎葉部, 根部および乳鉢で磨砕した茎葉組織に, 各供試材料の 20 倍量の滅菌蒸留水を加えて 2 時間振とうした後, その上清を 0 mg/l および 50 mg/l カナマイシンを含む YEB 培地に塗布し 28°C で 5 日間培養した。また, 形質転換体の花粉の飛散性を調査するため, 閉鎖温室内で植物体の後部から風 (4 m/s) を送り, 花粉発芽用培地 (0.2% ゲルライト) を植物体から 0 cm から 150 cm に置き, 6 時間放置後花粉を検鏡した。その結果, 形質転換体の茎葉表面, 根部表面および茎葉組織内のいずれからも *A. tumefaciens* は検出されなかった。一方, 形質転換体および非形質転換体とも 40 cm の距離までは花粉の飛散は認められたが飛散量は少なく, かたまって飛散した花粉が観察された。これは, イチゴが虫媒花であることに起因していると考えられる。

次に, 形質転換体の根からの分泌物および茎葉からの揮発性成分を調査するため, 発根しかけている形質転換体と非形質転換体をペーパーブリッジ法で支持して根を蒸留水 10 ml に浸漬させ, 移植後 14 日目の蒸留水を採取し, 高速液体クロマトグラフィーで根からの分泌物を分析した。また, 2~3 枚の複葉を展開している形質転換体と非形質転換体をホルモンフリーの 1/2 MS 培地に移植してクリーンベンチ内で 1 時間開栓し, 密栓後 21 日目に気相を採取してガスクロマトグラフィーで茎葉からの揮発性成分を分析した。これらの分析の結果, 検出ピークの位置や高さに有意な差は認められず, 形質転換体において特異的に産生される物質はないと考えられた。

## お わ り に

BROGLIE et al. (1991) は, インゲンマメのキチナーゼ遺伝子をタバコに導入し, 苗骨折病抵抗性個体を作出した。西澤ら (1992) はイネのキチナーゼ遺伝子をタバコに導入し, うどんこ病抵抗性個体を作出した。ZHU et al.

(1994) はイネのキチナーゼ遺伝子とアルファルファのグルカナゼ遺伝子をタバコに導入し, 白星病抵抗性個体を作出した。また最近, LIN et al. (1995) はイネのキチナーゼ遺伝子をイネ (インディカ) に導入して, 紋枯病抵抗性個体を作出した。このように, キチナーゼのような植物の溶菌酵素遺伝子を植物に導入することによって菌類病に強い植物が作出したという報告が増えてきているが, 本研究においても, イチゴの菌類病抵抗性植物を育種するうえでキチナーゼ遺伝子を用いた遺伝子組換え技術が有効であることが証明された。以上にみられるように, 植物へのキチナーゼ遺伝子やグルカナゼ遺伝子の導入は, キチンや  $\beta$ -1, 3-グルカンが細胞壁の主要骨格である病原菌類の防除には有効であると考えられる。

ここ数年いくつかの病害抵抗性遺伝子が新たに単離されていることから, 耐病性植物の育成において遺伝子組換え技術はさらに有効な手段となるであろう。現在までに, *Pto* (MARTIN et al., 1993), *RPS2* (BENT et al., 1994), *RPM1* (GRANT et al., 1995), *N* (WHITHAM et al., 1994), *Cf-9* (JONES et al., 1994), *Xa21* (SONG et al., 1995) などの抵抗性遺伝子の単離が報告されている。*Pto* を除く他の抵抗性遺伝子にはロイシンリッチリピート (LRRs) 構造が共通して存在しており, *Xa21* と *Pto* の遺伝子産物はプロテインキナーゼをコードしている。今後, 分子生物学的解析の深化により, 植物細胞における病原菌の認識機構やシグナル伝達機構の詳細がより明らかにされるとともに, それらの知見を応用した病害抵抗性トランスジェニック植物の作出がさらに盛んになることが期待される。

## 引用文献

- 1) 荒井 滋・浅尾浩史 (1993) : 奈良農試研報 24 : 19~24.
- 2) 浅尾浩史ら (1994) : 植物組織培養 11(1) : 19~25.
- 3) BENT, A. F. et al. (1994) : Science 265 : 1856~1859.
- 4) BROGLIE, K. et al. (1991) : ibid. 254 : 1194~1197.
- 5) 藤本まなみら (1987) : 奈良農試研報 18 : 65~71.
- 6) GRANT, M. R. et al. (1995) : Science 269 : 843~846.
- 7) IKEDA, S. et al. (1991) : Ann. Phytopathol. Soc. Japan 58 : 780~783.
- 8) IMOTO, T. and K. YAGISHITA (1971) : Agr. Biol. Chem. 35(7) : 1154~1156.
- 9) JONES, D. A. et al. (1994) : Science 266 : 789~793.
- 10) LIN, W. et al. (1995) : Bio/Technology 13 : 686~691.
- 11) MARTIN, G. B. et al. (1993) : Science 262 : 1432~1436.
- 12) NEHRA, N. S. et al. (1989) : J. Amer. Soc. Hort. Sci. 114 : 1014~1018.
- 13) ——— et al. (1990) : Science 66 : 119~126.
- 14) NISHIZAWA, Y. and T. HIBI (1991) : Plant Science 76 : 211~218.
- 15) 西澤洋子ら (1992) : 植物防疫 46(13) : 500~506.
- 16) SONG, W. Y. et al. (1995) : Science 270 : 1804~1806.
- 17) WHITHAM, S. et al. (1994) : Cell 78 : 1101~1115.
- 18) ZHU, Q. et al. (1994) : Bio/Technology 12 : 807~812.

# 除 草 剤 耐 性 作 物 の 開 発

農業研究センター除草剤研究室

興

語

靖

洋

## は じ め に

作物生産において、除草剤は化学的手段として雑草管理（防除）の飛躍的効率化に多大の貢献を果たしてきた。例えば日本の水稲栽培場面において、除草剤使用以前（1949年）は雑草管理に対して、10a当たり50.6時間費やしていたのに対し、1992年においては2時間と除草剤使用前の4%にまで減少した（植調協会、1995）。また除草剤は、その作用機構に関する研究を中心に、植物生理生化学分野の発展にも寄与してきており、特に作用点に関しては、多くの薬剤で酵素や遺伝子レベルまで解明されている。一方、植物バイオテクノロジー分野の進歩も、近年目覚ましいものがあり、増殖促進、物質生産、育種法など様々な場面で、実用化が進んでいる。中でもトランスジェニック（組換え体）植物の作出技術は、既に病害虫・雑草管理分野と関連した研究開発も盛んに行われている。ここでは、これらの成果の一つである除草剤耐性作物に関して、その考え方から実用化技術までを概説

する。

## I 除草剤の選択性に対する考え方

除草剤の基本は、非農耕地を除き、薬剤に対する作物・雑草間の反応の差（「選択性」）である。その選択性の幅は、各薬剤の所定濃度と各草種（葉齢・処理部位を含む）との間で、本質的にはほぼ一定の関係にあると考えてよい（図-1）。しかし実際場面では、人為的にコントロールできる品種、栽培法、灌水などや、人為的にコントロールできない気象、土壌、雑草の発生活長などによってその幅は変動する。除草剤の使用基準は、それらを総合的に判断した結果として作成されるわけだが、規定した条件を逸脱した場合に、選択性の範囲からはずれ、効果が不十分だったり、薬害を引き起こすこともある。

一方、選択性を除草剤の植物体内挙動からとらえたのが、図-2である。植物の除草剤に対する反応の程度は、薬剤の活性本体が植物体内の作用点に到達する量と滞留時間、さらにかく乱（阻害）の強さにより決定されると

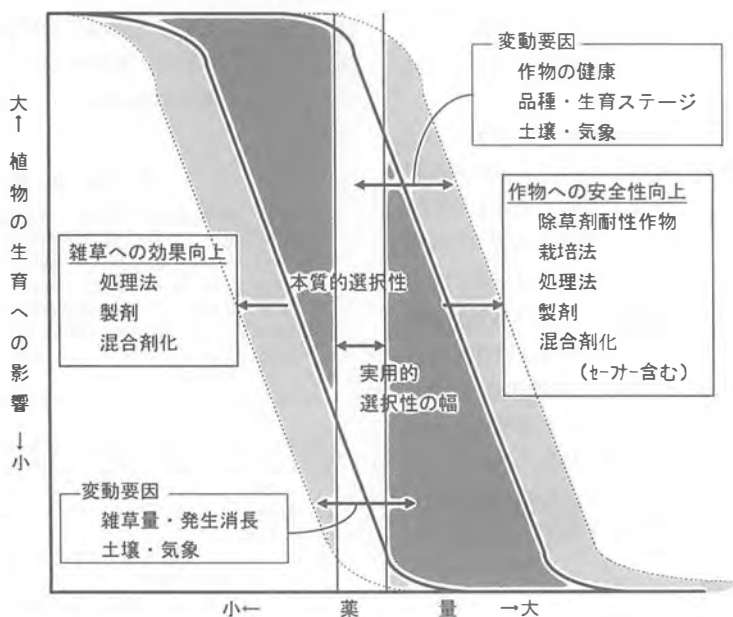


図-1 除草剤と植物の間の選択性

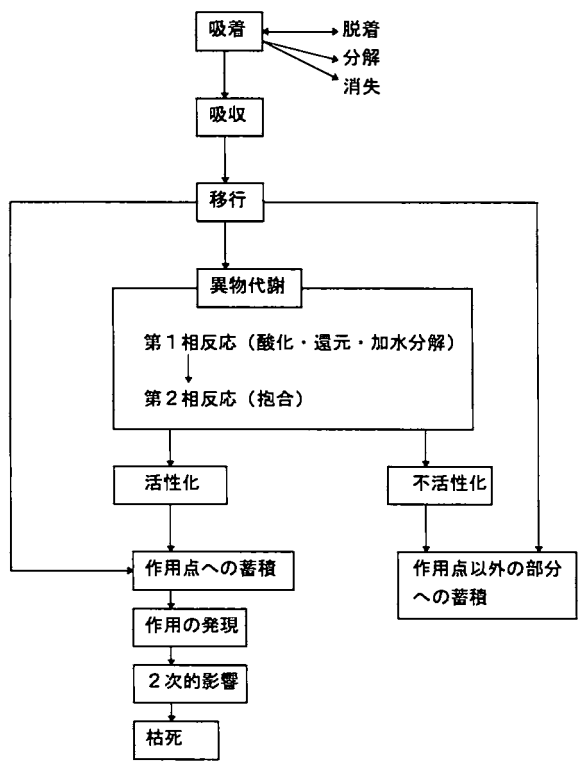


図-2 植物体内における除草剤の選択作用機構

考えてよい。このことを踏まえ、作物への安全性に対する既存の技術を若干紹介すると、畝間処理や不耕起栽培における播種後茎葉処理などの施用法、また徐放性製剤や界面活性剤などの製剤技術により、作物に入る薬剤量を減少させる（図-2の吸着・吸収段階）ことが可能である。一方、同じ薬量が入っても、作物が薬剤の影響を受けにくくする方法として、セーフナー<sup>\*1</sup>や除草剤の一部には、作物の薬剤解毒能力を向上させる（図-2の薬剤代謝段階）ものもある。いずれの技術によっても、選択性の幅を人為的にある程度広げることができる。

Ⅱ 除草剤耐性作物の特徴

病害や虫害におけるトランスジェニック植物を考えた場合、それらは防除対象に対する直接的忌避・防衛手段であったのに対し、除草剤耐性植物は、防除手段である除草剤に対する耐性の付与であり、除草剤を使用することを前提に、図-2で示した諸段階を遺伝的に操作し、薬剤に対する作物の安全性を高めるものである。これは除草剤が作物－雑草という同じ植物界、時には属内での選

<sup>\*1</sup> 現在上市されているセーフナーが、作物の解毒能力を高めるものが多いこともあって、日本語では「解毒剤」と訳している。

表-1 トランスジェニック技術を用いた除草剤耐性作物利用における有用性と危険性

|     | 用途・目的                    | 成果                       |
|-----|--------------------------|--------------------------|
| 有用性 | 同一薬剤の連年施用の回避             | 抵抗性雑草出現の防止<br>環境負荷軽減     |
|     | 機械除草の代替                  | 作業の軽労化                   |
|     | 草種の拡大                    | 難防除雑草の根絶<br>野生種混入防止      |
|     | 薬剤の低投入化                  | 環境負荷軽減                   |
|     | マイナー作物や新規栽培法(直播水稲など)への適用 | 雑草管理手段の早期対策<br>および作業の軽労化 |
|     | 不耕起栽培への適用                | 土壌侵食防止・作業の軽<br>労化        |
| 危険性 | 問題点                      | 危険性の大きさ(対策など)            |
|     | 自然交配などによる抵抗性雑草の出現        | 小(作用性の異なる薬剤による防除)        |
|     | 耐性作物の落実による自然発生           | 小(同上)                    |
|     | 生物多様性への影響                | 皆無                       |
|     | 非標的生物への影響                | 皆無                       |
|     | 薬剤使用量の増加による環境負荷増大        | 小(使用者への啓蒙など)             |
|     | 収量・品質の悪化                 | 皆無                       |
|     | 食用にすることの危険性              | 皆無                       |
|     | 社会的認容(PA)                | あり(消費者への啓蒙)              |
|     |                          |                          |

択性を目指しているという点で、他の農薬（殺虫剤・殺菌剤）と大きく違うことに起因している。除草剤耐性作物の利用においては、有用性と危険性の両面が考えられる（表-1）。両者は多くの場合、表裏一体の関係にあり、実際場面においては他の栽培技術と組み合わせた総合的技術として考える必要があり、その点では既存除草剤や生物農薬、さらには病害虫を対象としたトランスジェニック作物と同様である。

一方、選択性という視点で見ると、除草剤に対する耐性を付与することで作物への安全性が増大するため、薬剤使用量が増え、結果的に環境負荷が増大すると誤解されやすい。しかし除草剤耐性作物を利用した場合においても、あくまでも雑草を実用的に求められる水準（要防除水準）まで制御する、つまり選択性の幅の低薬量側を慣行施用量とするのが原則であり、薬剤の使用基準もそれに伴い定められるため、除草剤耐性作物を栽培したからといって、環境負荷が増大することにはならない。ただし、実際の利用場面では、使用者の意識が求められることは言うまでもない。

### Ⅲ 除草剤耐性作物作出方法の変遷

上記の詳細については、小林ら (1983)、久島 (1983)、石毛 (1991)、宮本 (1993)、大川 (1994)、Powles (1994) などの成書があるので参考にさせていただき、ここでは、これまでの成果をごく簡単に紹介するにとどめる。

除草剤耐性作物の作出は、表-2 に示したように、耐性因子の入手・選抜・導入および固定方法により分類でき、それらの組み合わせにより行う。1970 年代には、すでにパラコート耐性のペレニアルライグラスやタバコが開発され、品種育成にまで到達している。前者は除草剤ストレスによる実生や葉からの組織培養により、後者は培養細胞に X 線照射することで作出された。この時期には、

他に 2,4-D やベンタゾン耐性植物についての研究も進められたが、作出方法の中心は、植物組織や細胞に耐性を獲得させ、それらを再分化させる技術である。1980 年代に入ると、細胞融合技術が発展し、異種間の形質導入が可能となった。トリアジン系除草剤、2,4-D などに加えて、グリホサート耐性のタバコ、ニンジン、クローバなどが開発された。しかし再分化した植物が不稔であったり、不要な形質まで導入したりして、実用化に至ったものは少ない。1980 年後半から現在までは、目的の形質だけを、求める作物に導入するいわゆるトランスジェニック作物の時代であり、遺伝子銃 (パーティクルガン) などの導入により、イネ科を含む広い範囲の作物における耐性植物の作出、および異生物界からの形質導入が可

表-2 除草剤耐性作物の作出方法

| 遺伝形質 | 個体レベル                                                | 組織・細胞レベル                         | 遺伝子レベル                         |
|------|------------------------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|
| 入手   | 品種・種内変異<br>抵抗性雑草<br>突然変異誘発<br>(放射線・薬品)<br>除草剤によるストレス | 突然変異誘発<br>(放射線・薬品)<br>除草剤によるストレス | 左記からクローニング                     |
| 選抜   | 除草剤によるストレス                                           | 除草剤によるストレス                       | サザンブロット法など                     |
| 導入   | 交配(種内のみ)                                             | 細胞融合(種間)                         | Ti プラスミド<br>DNA 直接導入<br>(遺伝子銃) |
| 固定   | 種子の入手・確認                                             | 個体レベルへ                           | 個体レベルへ                         |

表-3 欧米諸国におけるトランスジェニック除草剤耐性作物の現状

| 国       | 作物     | 除草剤     | 耐性機構など            | 開発段階                    | 開発元                        |
|---------|--------|---------|-------------------|-------------------------|----------------------------|
| アメリカ合衆国 | ダイズ    | グリホサート  | 耐性作用点導入           | 1994 食用油限定<br>1996 生産開始 | Monsanto<br>Asgrow&Pioneer |
|         |        | グルホシネート | 分解酵素導入            | 1997 生産開始               | AgrEvo                     |
|         | ワタ     | グリホサート  | 耐性作用点導入           | —                       | Monsanto                   |
|         |        | プロモキシニル | 耐性作用点導入           | 商品化                     | Calgene                    |
|         | トウモロコシ | グリホサート  | 耐性作用点導入           | 1998 生産開始               | Monsanto                   |
|         |        | グルホシネート | 分解酵素導入            | 1997 生産開始               | AgrEvo                     |
| カナダ     | ナタネ    | グリホサート  | 耐性作用点導入           | 1995 食用油限定<br>1996 生産開始 | Monsanto                   |
|         |        | グルホシネート | 分解酵素導入            | 1995 食用油限定<br>1996 生産開始 | AgrEvo                     |
|         |        | グルホシネート | 雄性不稔遺伝子<br>分解酵素導入 | 1996 生産開始               | Plant Genetic System       |
| EC      | ダイズ    | グルホシネート | 分解酵素導入            | 1998 生産開始               | Van Der Have               |
|         | テンサイ   | グリホサート  | 耐性作用点導入           | 1998 生産開始               | Maribo                     |
|         | タバコ    | プロモキシニル | 耐性作用点導入           | —                       | Rhone-Poulenc              |

表-4 日本におけるトランスジェニック除草剤耐性作物の現状

| 作物      | 除草剤      | 耐性機構など            | 開発段階(1995)                 | 開発元      |
|---------|----------|-------------------|----------------------------|----------|
| ダイズ     | グリホサート   | 耐性作用点導入           | 農環研 隔離圃場試験                 | Monsanto |
| トウモロコシ  | グルホシネート  | 分解酵素導入            | 北農試                        | AgrEvo   |
| ナタネ     | グリホサート   | 耐性作用点導入           | 農環研 隔離圃場試験                 | Monsanto |
|         | グルホシネート  | 分解酵素導入            | 北農試(HCN 92)<br>北農試(HCN 25) | AgrEvo   |
|         |          | 雄性不稔遺伝子導入         | 北農試                        | PGS      |
| カーネーション | クロロスルフロン | 耐性作用点導入<br>日持ち性導入 | 野茶試                        | サントリー    |

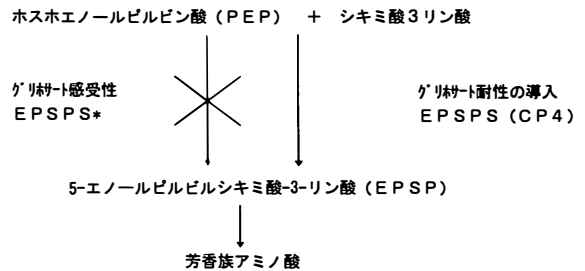
略記：農環研(農業環境技術研究所)，北農試(北海道農業試験場)，  
野茶試(野菜・茶業試験場)

能となった。また非選択性除草剤<sup>\*2</sup> 耐性作物の開発が盛んになったのもこの時期である。

#### IV 非選択性除草剤耐性作物の開発

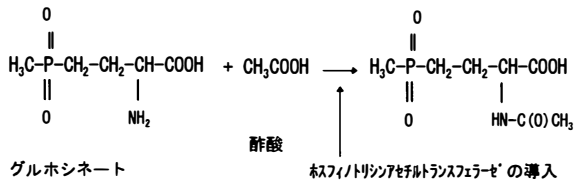
近年除草剤耐性作物は、欧米を中心に開発が進められ、一部は欧米諸国の民間会社により既に実用化されている(表-3)。一方、日本における開発は、その耐性作物から実用化への登録指針まで、欧米の技術導入が中心であり、また最も進んでいるものでも平成7年度においても、まだ隔離圃場試験段階であり(表-4)、様々な意味で欧米に比べ一歩も二歩も遅れている。以下に、非選択性除草剤耐性作物の代表例について、その作出方法および耐性機構を示す。

グリホサート耐性作物(グリホサートの影響を受けない作物<sup>\*3</sup>、真鍋、1995)は、当初サルモネラ菌・大腸菌などを利用した微生物のスクリーニングやペチュニアの細胞選抜から見いだされたグリホサートに耐性の5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素(EPSPS、グリホサートの作用点)の作物への導入も試みられた。しかし現在は、土壤微生物のスクリーニングから *Agrobacterium* CP4 株を選抜し、Ti プラスミドや遺伝子銃を用いて、ダイズ、ナタネ、ワタなどにグリホサート



\*:5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素

図-3 グリホサート耐性作物の作用機構



(ホスフィノトリシン)  
活性本体

(PAT)  
不活性体

図-4 グルホシネート耐性作物の作用機構

ト耐性 EPSPS 遺伝子を導入している。その耐性機構は、導入した EPSPS により一種のバイパスをつくり、グリホサートによる芳香族アミノ酸合成阻害が起こらないようにするものである(図-3)。図-2においては、作用点の除草剤との親和性を低下させることと理解してよい。

一方、グルホシネート(=ホスフィノトリシン)の場合、本剤をアセチル化する酵素の働きにより、作物の解毒代謝能を高めることで抵抗性を増している(図-4)。アセチルトランスフェラーゼは自然界に広く存在するが、この耐性酵素、ホスフィノトリシンアセチルトランスフ

<sup>\*2</sup> 実際は、慣行量を施用した場合に広い殺草スペクトラムを持つ除草剤のことであり、すべての植物に同程度影響する除草剤は今のところ存在しない。ただし一般にこのような除草剤を「非選択性除草剤」としているため、ここでもこの表現を用いる。

<sup>\*3</sup> 「II 除草剤耐性作物の特徴」の最後のところで述べたが、作物が除草剤に対し「耐性」とか「抵抗性」を持つという表現だと、使用者が、慣行施用量以上の薬量を処理する恐れがあるため、特に民間会社ではこの表現を使っている。商標名として、欧米では「ラウンドアップレディー作物」が使われている。ここでは便宜上「耐性」という表現を使う。

ェラーゼ (PAT) は、グルホシネートに対し、高い基質特異性を有している。耐性作物の作出には、放線菌の *Streptomyces* から選抜されたグルホシネートを解毒する PAT 遺伝子を、形質転換によりトモロコシなどに導入する方法をとっている。日本でも、PAT 遺伝子と葉において特異的に発現するプロモーターを組み込んだ bar 遺伝子を、ジャガイモに導入し、天然の抗生物質ピアラホスに対する耐性を導入することに成功している (石毛, 1991; 桐明ら, 1995)。なお、グルホシネートはピアラホス中の活性成分である。

## V 今後の課題・問題点

除草剤耐性作物としては、このほかにもいくつか存在するが、作物の薬物解毒能力を全般的に高めることも考えられよう。生物は一般に異物代謝として、第1相反応 (酸化・還元・加水分解) および第2相反応 (抱合) を有している。P 450 は前者の酸化酵素の代表例である。後者の代表例としてはグルタチオン-S-トランスフェラーゼがあり、双方とも化学構造や用途の異なる農薬に対して、広く解毒代謝による耐性を持つ可能性がある。ただし、両者ともアイソザイムが多く存在することが示唆されており、組換え体作物作出以前に、植物における異物代謝の研究のさらなる発展が求められる。

またトランスジェニック技術の導入までは至っていないが、作物のアレロパシー (他感作用, 藤井, 1995) や形態的特性・生長速度の向上により、雑草の生育を抑える研究も近年進められている。これらは病害虫同様、防除対象である雑草に対する耐性を作物へ導入することであり、除草剤の低投入化をより直接的に進められる技術として注目されている。

一方、既に実用化段階にある非選択性除草剤耐性作物に関しては、前述 (表-1) したように、耐性作物の種子

と適用薬剤を抱き合わせた形で導入した場合の、雑草防除全体としての経済性、連年施用による弊害をさけるための作付け体系や防除暦の指針、さらにはいわゆる社会的認容 (パブリックアクセプタンス, PA) など多方面からの検討が急がれる。

## おわりに

除草剤は、毒性など詳細に調べられているにもかかわらず、「天然物だから安全」という神話のもとに、「毒」扱いをされ、また人為的に操作された遺伝子は危険であると評価されるなど、科学的裏付けのない批判が世間的常識になっている。確かに除草剤耐性作物を含むこれら技術には、先に述べたように解決すべき問題がいくつかある。その意味で 100%安全とは言い切れない。しかし世の中に 100%安全といえる技術は、存在しないこともまた事実である。トランスジェニック植物に関しても、消費者から生産者までが協力して、科学的かつ多面的にリスク (危険性) とベネフィット (利益) を分析し、そのバランスの中からよりよい作物栽培方法を見いだし、生活環境や地球環境の向上に努めたいものである。

## 引用文献

- 1) 藤井義晴 (1995): 植調 29(4): 152~159.
- 2) 石毛光雄 (1991): 同上 25(6): 249~255.
- 3) 桐明彰ら (1995): 雑草研究 40(別): 154~155.
- 4) 小林央住ら (1983): 薬剤抵抗性, ソフトサイエンス社, 東京, 349~352.
- 5) 久島繁 (1983): 薬剤抵抗性, ソフトサイエンス社, 東京, 383~403.
- 6) 真鍋忠久 (1995): 関東雑草研究会報 6: 18~22.
- 7) 宮本純之 (1993): 新しい農薬の科学, 廣川書店, 東京, 221~226.
- 8) 大川秀郎 (1994): 農業と環境から農薬を考える, ソフトサイエンス社, 東京, 125~137.
- 9) Powles S. B. et al. (1994): Herbicide resistance in plants, CRC press, USA, 353pp.
- 10) 日本植物調節剤研究協会編 (1995): 植調三十年史, 全国農村教育協会, 東京, 276~278.

## 新刊紹介

### 「カビの不思議」

椿啓介 著

B 6 判, 211 ページ, 図 60,  
ちくまプリマーブックス 87

定価 1,100 円筑摩書房発行

最近、椿啓介氏の著「カビの不思議」を読んだ。実に面白かった。また多くのことを数えられた。同じカビ (菌類) を相手にしていても、私など植物病理学関係者には、ともすると、害菌、つまり敵 (カタキ) として映ってしまうが、椿さんには、カビは親友か恋人のように見えるらしい。林の中の落葉 (それも新しいものと古いものでは、まるで違うらしい) の 1 枚一枚にルーペをあてながら、カビを探すかと思うと、山の中の瀧つぼのアワを採

集したり、残雪を取って来たりして、その中のカビの姿に驚異の目を見張る。面白いカビがありそうだと思うと遠路を夜行で出かけたり、知らない人にもツテを求めて訪ねたりする。新しいカビ、またその変わった生態を求めて活動する、その情熱が誠にうらやましい。

椿さんは筑波大学生物系の元教授で、菌類とくに不完全菌類の分類については世界的権威である。カビを通じて世界の学者達とも交友が深く、平成 5 年には、「菌類系統分類学の研究」で、南方熊楠賞を受賞している。

カビを敵と見ず、可愛い生物として、いわば純科学的な気持で接することが、ひいては植物病理学の発展に、また病害防除の研究につながる近道ではないかとも思われる。椿さんの「カビの不思議」は、そんな思想の転換に、ひと役買ってくれそうに考えられるので、ここに紹介する。

(小野小三郎)

## 産地の研究室から/地域ブランドを育てる(8)

## リレー随筆

## さんしょう

(和歌山県農林水産部みかん園芸課肥料防疫班

さかもとよりのび  
坂本頼宣)

## はじめに

さんしょうは、「小粒でピリリと辛い」といわれるように、その用途は香辛料または薬用として古くから利用されている。さんしょうは全国各地の山地に自生しており、みかん科に属し雌雄異株の落葉性低木樹であるが、樹高は大きいもので3m程度のものもみられる。

ここでは日本一の産地である、和歌山県有田郡清水町のさんしょう栽培並びに今日までの取り組みについて、その概要を紹介する。

清水町は和歌山県の中央部を流れる有田川の上流にあり、年平均気温が14℃で降雨量が2,000～2,300ミリと多く、林野率90%の山村である。当地方は、特産の「ぶどうさんしょう」栽培とともに、夏季の涼やかな気候を利用してシシトウガラシ、トマトの抑制栽培が定着し、これらが基幹品目となっている。

## ぶどうさんしょうの特性

清水町のさんしょうの歴史は古く、古文書によると、700年前に綿、くず、茶、はぜ等とともに地域の特産物としての記録が残されている。

ぶどうさんしょうは、当町の野生種から派生したと言われており、他産地で栽培されている「あきくらさんしょう」に比べ、果実は豊産性で果粒は大型である。乾山椒として品質が特に優れ、香辛料、生薬の原料としては世界一の品種と高く評価されている。



ぶどうさんしょう

## 産地形成の経緯

今から150年前に長峰山脈に自生していたさんしょうを植えたのが始まりと推定されており、昭和48年にさんしょう生産組合を設立し産地化に取り組み、さらに生産拡大を図ろうと、昭和53年からさんしょう増産5年計画により苗木の補助、並びに事業導入による団地造成等に取り組み、現在では乾果生産を中心とした日本一の産地となっている。

## 販路の開拓

生産物の販売は当初、仲買商人への個人販売のみであり、このため、安値で取り引きされ、収入が安定しなかった。そこで農協と生産組合が一体となり、集荷販売に取り組んだところ、今度は問屋が非協力的となり、新たな販売ルートの開拓が困難なことから、品質が良いにもかかわらず安売りせざるを得なかった経緯もある。

しかし、しだいにぶどうさんしょうの品質評価が高まり、今では「清水町のぶどうさんしょう」という地域ブランドが確立され、産地問屋や香辛料メーカーが、農協や生産組合と直接取引で価格を決定する方式が確立されている。

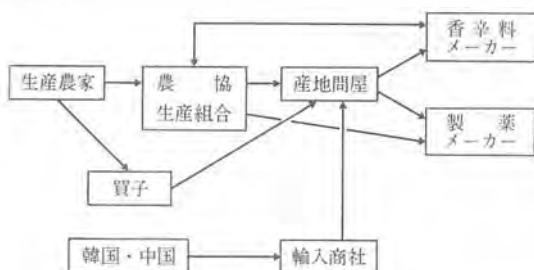
## 試験研究の取り組み

地域特産物であることから、栽培に関する資料が少なく、農業改良普及センター、農協、篤農家の経験等を聞きながら、農業試験場の支援のもと、昭和45年頃に施肥設計の現地試験に取り組んだのが試験研究の始まりである。

その後、生産安定のためには病虫害防除が問題となった。中でも植栽3年目以降の結実を始める頃から株際が腐り、立枯れ症状を呈する木が散見されるようになり、その原因究明と対策が急がれた。昭和48年、果樹園芸試験場支援のもとに立枯性障害対策試験圃を設置して検討された。その結果、疫病菌によるものと判



果樹園芸試験場本場



明し、防除対策が講じられた。

また、昭和54年頃から収穫期に近付くと果実や葉が茶色になる原因不明の症状の発生があり、品質が著しく低下し、関係者で発生原因について検討したが、病害であるか、虫害によるものかさえわからず、最終的に農薬の効果から原因を解明しようと、57年から「すす斑症現地防除試験」が実施された。3年目にある農薬を散布した区で、果実や葉が青々として被害が出なかった。このことからその原因について検討した結果、チャノキロアザミウマの被害であることが判明した。当時、果樹園芸試験場に2本のさんしょうがあり、



すす斑症現地防除試験

サンゴジュ、イヌマキでチャノキロアザミウマの発生消長を調査した結果、さんしょうへの飛来が多いことが判明した。

主な病害虫は立枯病、さび病、ハダニ類、チャノキロアザミウマ、カイガラムシ等であり、昭和60年に県果樹園芸試験場の、当時の病虫部長山本省三氏から防除法についての指導を受けた。

このように、試験研究機関の協力を得ながら栽培指針が作成され、生産安定が図られ産地の強化が進み、今では県内を初め県外の関係者の間で、さんしょうと言えば清水町、と言うように名前が知られている。

後藤誠太郎氏（沖縄総合事務局農林水産部農産園芸課植物防疫係長）は神戸植防疫務部国際第三課防疫管理官に

農薬検査所（4月1日付）

渡辺 信氏（調整指導官）は退職（3月31日付）

田盛直一氏（検査第二部有用生物安全検査課長）は検査第二部化学課長に

西内康浩氏（総理府公害等調整委員会事務局審査官補佐）は検査第二部有用生物安全検査課長に

阪本 剛氏（農産園芸局植物防疫課課長補佐（農薬第二班担当））は調整指導官に

百 弘氏（検査第二部化学課長）は農林水産研修所教務指導官に

## 新刊紹介

### 「植物ダニ学」

江原昭三・真梶徳純 編

A5判, 419頁 定価 6,500円

全国農村教育協会

ダニ学におけるバイブル的存在であった「農業ダニ学」（江原・真梶著）が出版されて20年が経過した。この間のダニ学の進歩は著しいものがあり、前書を引き継ぐ形の成書の出版が待たれていた。本書はこれに相当し、植物に見られるダニ類とこれらを捕食するダニ類の最新の知見が盛られている。第1章の総論に続く各章では、ハダニ類、フシダニ類、カブリダニおよびナガフシダニ類、その他の植物ダニ類が、また最終の第6章では採集、飼育、防除薬剤などの実験法が詳しく論じられている。

執筆は各分野の最前線の研究者14名（編者を含む）が分担しているが、各種ダニ類の分類上の記述や、図表、

引用文献などは章、節をこえてよく整理、統一されて読みやすく、編者、執筆者の苦労がうかがわれる。

各章はおおむね形態と分類、生態、防除法（捕食性ダニ類では利用法）といった節で構成されるが、第2章のハダニではこれらに加えて行動、個体群動態、生理生化学、天敵、被害と発生予察などの節が設けられるなど、最近の日本のダニ学に関わる研究者層の充実ぶりが随所にうかがわれる。執筆者には国・地方研究機関の研究者も7名含まれ、基礎、応用両分野が過不足なく取り上げられており、第5章では、最近農業上問題となることの多いホコリダニ、ムキダニ、コナダニのほか、生態系活用型農薬を展開する上で無視できないササラダニが取り上げられている。

こうした内容からみて本書は、ダニ学を学ぼうとする者のほか、府県の研究機関、農業改良普及センター、農協の営農指導部門、防除業などで、時にダニ類を扱わざるをえない立場にある者にとっても必携の書と言える。（井上雅央・奈良県果樹振興センター）

中央だより

# 病/害/虫/発/生/予/察/ニ/ュ/ー/ス/

(8.3.7～4.17)

## ◆果樹カメムシ類

比較的暖かい日が続いた3月とは一転して、4月の平均気温は全国的にかなり低い傾向が続いています。前回以降発表された注意報、特殊報は以下のとおりですが、引き続き九州、近畿等では果樹カメムシに関して注意報が発表されています。来月以降、果樹園での被害が懸念されますので、今後は果樹園への飛来に十分注意を払い、各県の発生予察情報に留意し適時適切な防除を行って下さい。

## 【注意報の一覧】計10件

| 発表年月日 | 県名  | 作物名                                    | 病害虫名                 | 発生量 |
|-------|-----|----------------------------------------|----------------------|-----|
| 3/19  | 岩手  | 水稻                                     | もみ枯細菌・苗立枯病           |     |
| 4/01  | 長崎  | ハウスミカン、ナシ、モモ等                          | カメムシ類                | 多   |
|       |     | 2月の越冬量調査で、越冬密度は平成6年に比べ約5倍。5月以降に飛来に注意   |                      |     |
| 01    | 長崎  | 茶                                      | クワシロカイガラムシ           | 多   |
|       |     | 越冬雌成虫密度高い。ほ場のふ化状況を確認し、幼虫のふ化盛期に薬剤防除。    |                      |     |
| 03    | 熊本  | ウメ、スモモ、モモ、ナシ                           | カメムシ類                | 多   |
|       |     | 越冬数多い。7月以降のかんきつ類への被害も予想され、ほ場の初期防除を徹底。  |                      |     |
| 04    | 沖縄  | さとうきび                                  | カンシャワタアブラムシ          |     |
| 03    | 沖縄  | メロン、トマト、ニガウリ                           | うどんこ病                |     |
| 09    | 鹿児島 | ナシ、モモ、ウメ、ビワ                            | カメムシ類(チャバネ、ツヤアオカメムシ) |     |
|       |     | 越冬数及び予察灯の誘殺数多い。ビワは袋かけされていても他同様注意必要。    |                      |     |
| 12    | 青森  | リンゴ                                    | モニリア病                |     |
| 12    | 和歌山 | ウメ、スモモ等                                | カメムシ類(チャバネ、ツヤアオカメムシ) |     |
|       |     | 越冬数は、県中南部で特に多い。防除は早めに行うが、必要以上の薬剤散布に注意。 |                      |     |
| 15    | 福井  | 水稻                                     | 苗立枯病                 |     |

## 【特殊報の一覧】10件

| 発表年月日 | 県名  | 作物名                                            | 病害虫名        | 発生量 |
|-------|-----|------------------------------------------------|-------------|-----|
| 3/07  | 青森  | ミニトマト                                          | トマトサビダニ     | 初確認 |
| 14    | 宮城  | グラジオラス                                         | グラジオラスアザミウマ | 初確認 |
| 14    | 宮城  | にんにく                                           | チューリップサビダニ  | 初確認 |
| 14    | 宮城  | にんにく                                           | イモグサレセンチュウ  | 初確認 |
| 14    | 宮城  | サトイモ、トマト、イチゴ等                                  | ハスモンヨトウ     |     |
|       |     | 7年秋にフェロモントラップで多数誘殺され、仙台湾岸のシクラメン、イチゴ等施設で広く被害確認。 |             |     |
| 21    | 群馬  | ミニトマト                                          | トマトサビダニ     | 初確認 |
| 26    | 長野  | 西洋なし                                           | セイヨウナシ腐らん病  |     |
|       |     | リンゴ、ナシ相互感染。ナシ病斑はリンゴと酷似。防除は近隣のリンゴも併せて実施         |             |     |
| 25    | 宮城  | 宿根カスミソウ                                        | うどんこ病(仮称)   | 初確認 |
| 25    | 宮城  | トマト                                            | トマトすすかび病    | 初確認 |
| 4/10  | 鹿児島 | ハクサイ                                           | 輪紋病         | 初確認 |
|       |     | 結球期後、葉に褐色輪紋状病斑が発生。黒・白斑病等とは分生子殻生成する点で区別。        |             |     |

## 新しく登録された農薬 (8.3.1~8.3.31)

掲載は、種類名、有効成分及び含有量、商品名(登録年月日)、登録番号(製造業者又は輸入業者)、対象作物：対象病害虫：使用時期及び回数など。ただし、除草剤については、適用雑草：使用方法を記載。(…日…回は、収穫何日前、何回以内散布の略)。(登録番号 19162~19170 までの 9 件、有効登録件数は 5563 件)

なお、アンダーラインの付いたものは新規化合物で、〔 〕内は試験段階時の薬剤名である。

### 「殺菌剤」

#### フェリムゾン・フサライド水和剤

フェリムゾン 15.0%，フサライド 15.0%

ブラシンフロアブル (8.3.12)

19165 (武田薬品)，19166 (北興化学)，19167 (サンケイ化学)

稲：いもち病・ごま葉枯病・穂枯れ (ごま葉枯病菌)：21 日 2 回

### 「除草剤」

#### グリホサートトリメシウム塩・ジクワット液剤

グリホサートトリメシウム塩 32.0%，ジクワット 1.9%  
オルゼット液剤 (8.3.12)

19162 (ゼネカ)，19163 (大塚化学)

りんご・なし・かんきつ：一年生雑草・多年生雑草：雑草生育期 (草丈 30 cm 以下、但し収穫 30 日前まで)：3 回以内：雑草茎葉散布、公園・庭園・堤とう・駐車場・道路・運動場・宅地・のり面等：一年生雑草・多年生雑草：雑草生育期 (草丈 50 cm 以下)：3 回以内：雑草茎葉散布

#### グリホサートイソプロピルアミン塩液剤

グリホサートイソプロピルアミン塩 1.0%

ラウンドアップ除草スプレー (8.3.26)

19168 (日本モンサント)

道路・宅地・公園・運動場・駐車場・堤とう・のり面等：一年生雑草・多年生雑草：雑草生育期：3 回以内：雑草茎葉散布

#### グリホサートイソプロピルアミン塩液剤

グリホサートイソプロピルアミン塩 41.0%

グリホサート液剤 (8.3.26)

19169 (三共)

道路・鉄道・宅地・公園・運動場・駐車場・堤とう・のり面等：一年生雑草・多年生雑草：雑草生育期：3 回以内：雑草茎葉散布

#### ペラルゴン酸乳剤〔JT-101〕

ペラルゴン酸 52.0%

グラントリコ乳剤 (8.3.26)

19170 (日本たばこ)

ばれいしょ：畑地一年生雑草：雑草生育期 (草丈 15 cm 以下) 植付後萌芽前：1 回：雑草茎葉散布、らっかせい：畑地一年生雑草：雑草生育期 (草丈 15 cm 以下) 生育期畦間処理：雑草茎葉散布：関東以西、公園・堤とう・駐車場・道路・運動場・宅地・鉄道・のり面等：一年生雑草：雑草生育期 (草丈 15 cm 以下)：3 回以内：雑草茎葉散布

### 「その他」

#### 展着剤〔 〕

ソルビタン脂肪酸エステル 70.0%，ポリオキシエチレン  
樹脂酸エステル 5.5%

スカッシュ (8.3.12)

19164 (花王)

殺菌剤・殺虫剤：野菜類・かんきつ：添加

### ○出版部より

#### ☆「植物防疫」バックナンバーのお知らせ

後付広告ページに、本誌バックナンバーのお知らせを掲載しております。本誌ではその時々で問題になってい

る事柄について、特集 (ミニ特集) や特集号で適宜取り上げてきております。また、毎号の各論文につきましても、引用文献の充実ぶりを本誌の特徴の一つとしております。この機会に是非ご照会・ご購入ください。

## 植 物 防 疫

平成 8 年

5 月号

(毎月 1 回 1 日発行)

＝ 禁 転 載 ＝

第 50 卷

平成 8 年 4 月 25 日印刷

第 5 号

平成 8 年 5 月 1 日発行

編 集 人 植物防疫編集委員会

発 行 人 岩 本 毅

印 刷 所 三 美 印 刷 (株)

東京都荒川区西日暮里 5-9-8

定価 800 円 送料 76 円  
(本体 777 円)

平成 8 年分購読料  
前金 9,000 円 後払 9,600 円  
(共にサービス、消費税込み)

### —— 発 行 所 ——

東京都豊島区駒込 1 丁目 43 番 11 号 郵便番号 170

社団法人 日本植物防疫協会

電 話 (03) 3944-1561~6 番

FAX (03) 3944-2103 (出版部)

振 替 0 0 1 1 0 - 7 - 1 7 7 8 6 7 番

# 効きめ 抜群！



## コロマイト<sup>®</sup>乳剤

効きめ、速攻…分解が早く、環境にやさしい殺ダニ剤。

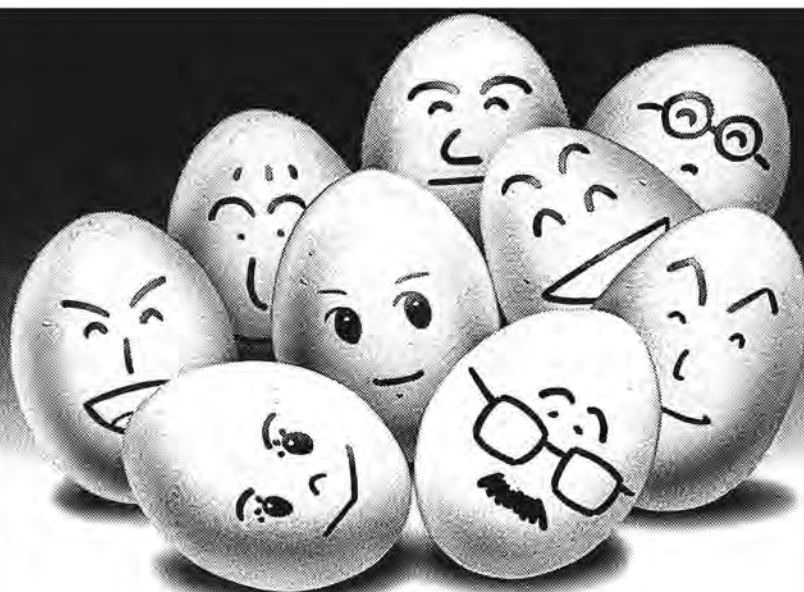
なし、もも、……………  
きゅうり、なす、すいか、いちご(親株床)、  
あずき、宿根かすみそうのハダニ退治に！

●使用前にはラベルをよく読んでください。  
●ラベルの記載以外には使用しないでください。●本剤は小児の手の届く所には置かないでください。



**三共株式会社**

農薬開発普及部  
東京都中央区銀座2-7-12 〒104



●殺虫剤／トレボン・オフナック・アニバース ●除草剤／シンザン ●殺菌剤／ネビジン  
●殺虫・殺菌剤／ドクロロール・クロールピクリン ●植物生長調整剤／純グリーン

多様な個性。  
多彩な発想。



**三井東圧化学**

TEL 03-3592-4617  
FAX 03-3592-4282



**三井東圧農薬**

TEL 03-3231-0666  
FAX 03-3231-0699

しつこい害虫も即OK!

ミナミキイロアザミウマ、コナガ、ネギハモグリバエ等

**難防除害虫に卓効!**

**オンコル<sup>®</sup> 粒剤 5**

いっしょにたたかおう!!



**特長**

- 1 浸透移行性：速やかに浸透移行し、植物全体を害虫から守ります。
- 2 残効性：残効期間が長いので、薬剤散布回数を減らすことができます。
- 3 広い殺虫スペクトル：広範囲の害虫に効果を示し、一剤で同時防除ができます。

※新たにキスジノミハムシ、アオムシ、アブラムシ等の害虫にも、登録が拡大され更に使い易くなっております。



**大塚化学株式会社**

大阪市中央区大手通3-2-27  
農薬部 / Tel.06(946)6241

**麦・りんご・かんきつ等の病害防除に**

**ベフラン<sup>®</sup>**

液剤25  
塗布剤3

**ディクタジン<sup>®</sup>**

**塗布剤**

- 幅広い抗菌スペクトラムを有しています。
- 耐性菌に対して有効で、すぐれた予防効果・残効性があります。



頼りになすもた

- 大切な梨を胴枯病から守ります。
- 固着性・残効性もバツグンです。



ベフラン普及会  
クミアイ化学工業株式会社・三共株式会社・八洲化学工業株式会社・サンケイ化学株式会社  
事務局 **大日本インキ化学工業株式会社**  
東京都中央区日本橋3-7-20 ☎03(5203)7870

△ラベルをよく読んでください。△ラベルの記載以外には使用しないでください。△小児の手の届く所には置かないでください。

え!?

# スギナも ラウンドアップ®

NEW



「ラウンドアップ、  
スギナにも認可」

平成八年一月十九日、農林水産省農薬登録において、ラウンドアップのスギナへの適用範囲拡大が認可されました。



スギナさえ  
根まで枯らします。  
新ラウンドアップ。

雑草を根まで枯らすのが、  
ラウンドアップです。  
スギナを根まで枯らしてしまえば、  
長期間抑えられます。

ラウンドアップでスギナを枯らす  
4つのポイント。

- (1) 25倍液をしつとり濡れるように。
- (2) 春、目立ってきたら散布適期。  
(草丈20cmぐらいが目安)
- (3) 他の草と混成しているところでは、  
スギナに着くよう丁寧に。
- (4) 散布後の雨に注意。

葉から入って根まで枯らすので60日以上効果。

ラウンドアップ

©日本モンサント株式会社

※詳しい資料をご希望の方は、ハガキに資料請求券を貼付して、〒101-91 千代田区神田郵便局私書箱195号「日本モンサントお客様係」までご請求ください。  
TEL.03-3252-4225/FAX.03-3252-9081

資料請求券  
R-補助ス

## 雑誌「植物防疫」バックナンバーのお知らせ

月の後は特集号の題名、( )内は特集の題名、価格は1部(送料・消費税込)の値段

購読者各位よりたびたびバックナンバーのお問い合わせがありますので、現在在庫しております巻号をお知らせいたします。この機会に是非お取り揃え下さい。

### 42巻(63年)〔全号揃〕

|                     |      |
|---------------------|------|
| 1, 2, 4, 7, 10, 12月 | 566円 |
| 3月:(ネズミ)            | 566円 |
| 5月:微生物による病害防除       | 618円 |
| 6月:(寄生昆虫の生物学)       | 566円 |
| 8月:(動物のモニタリング)      | 566円 |
| 9月:(害虫・線虫と病害)       | 566円 |
| 11月:害虫管理            | 618円 |

### 43巻(平成元年)〔全号揃〕

|                               |      |
|-------------------------------|------|
| 2, 3, 10, 12月                 | 648円 |
| 1月:(植物病理学最近の進歩(ICPPシンポジウムより)) | 648円 |
| 4月:(熱帯の害虫獣)                   | 648円 |
| 5月:植物ウイルス研究の進歩                | 669円 |
| 6月:(イネいもち病の多発生)               | 648円 |
| 7月:(ハダニ類)                     | 648円 |
| 8月:(熱帯作物の病害(1))               | 648円 |
| 9月:(熱帯作物の病害(2))               | 648円 |
| 11月:新農薬の開発をめぐる                | 669円 |

### 44巻(平成2年)

|                       |      |
|-----------------------|------|
| 1, 2, 10月             | 651円 |
| 3月:(アリモドキゾウムシとイモゾウムシ) | 651円 |
| 4月:花と緑の害虫虫            | 671円 |
| 5月:(ムギの病害)            | 651円 |
| 6月:(果樹コナカイガラムシ類)      | 651円 |
| 7月:(病原菌の病原性の分化)       | 651円 |
| 8月:(施設野菜栽培における害虫管理)   | 651円 |
| 9月:(薬剤抵抗性)            | 651円 |
| 12月:(線虫学)             | 651円 |

### 45巻(平成3年)

|                 |      |
|-----------------|------|
| 1, 2, 4月        | 651円 |
| 3月:(作物病害の生物防除)  | 651円 |
| 5月:病害虫発生予察      | 671円 |
| 6月:(シロイチモジトウ)   | 651円 |
| 7月:(植物病原体の分子進化) | 651円 |
| 8月:(果樹の根頭がんしゅ病) | 651円 |
| 9月:(熱帯のイネウンカ類)  | 651円 |
| 10月:(ウリ類の病害)    | 651円 |

|                 |      |
|-----------------|------|
| 11月:高品質生産と病害虫防除 | 671円 |
|-----------------|------|

### 46巻(平成4年)〔全号揃〕

|                       |      |
|-----------------------|------|
| 2, 3, 7, 10, 12月      | 700円 |
| 1月:(フェロモンによる発生予察)     | 700円 |
| 4月:(平成3年のイネいもち病の発生状況) | 700円 |
| 5月:イネウンカ類             | 700円 |
| 6月:(サツマイモのウイルス病)      | 700円 |
| 8月:(RFLP解析とその応用)      | 700円 |
| 9月:(イチモンジセリ)          | 700円 |
| 11月:環境保全型農業と病害虫防除     | 700円 |

### 47巻(平成5年)〔全号揃〕

|                   |      |
|-------------------|------|
| 1, 4, 6, 7, 9月    | 700円 |
| 2月:(花の新病害)        | 700円 |
| 3月:(微小害虫の生態と防除)   | 700円 |
| 5月:新しい農薬創製をめざして   | 700円 |
| 8月:(土壌微生物と農薬)     | 700円 |
| 10月:(施設環境制御と病害防除) | 700円 |
| 11月:性フェロモン        | 700円 |
| 12月:(ミバエ類の根絶)     | 700円 |

### 48巻(平成6年)〔全号揃〕

|                     |      |
|---------------------|------|
| 1, 4, 6, 7, 10, 12月 | 800円 |
| 2月:(ニカメイチュウ)        | 800円 |
| 3月:(平成5年の異常気象といもち病) | 800円 |
| 5月:農薬の新施用技術         | 800円 |
| 8月:(昆虫バイオ/イチゴ炭そ病)   | 800円 |
| 9月:(発生予察とシミュレーション)  | 800円 |
| 11月:害虫の微生物的防除       | 800円 |

### 49巻(平成7年)〔全号揃〕

|                        |      |
|------------------------|------|
| 1, 2, 3, 5, 9, 10, 12月 | 800円 |
| 4月:(昆虫ホルモン研究の現状と問題点)   | 800円 |
| 6月:(水稻の直播栽培と病害虫・雑草)    | 800円 |
| 7月:化学物質のリスク評価          | 800円 |
| 8月:(地域発生予察による病害虫防除)    | 800円 |
| 11月:昆虫産業               | 800円 |

### 50巻(平成8年)

|           |        |
|-----------|--------|
| 1~12月(前納) | 9,000円 |
| (後納)      | 9,600円 |

在庫僅少のものもありますので、ご希望の方はお早めに郵便振替・小為替・現金など(切手でも結構です)で直接本会へお申し込み下さい。42巻(63年)以前のものについては、出版部までお問い合わせ下さい。

上記の定価、送料につきましては、43巻3月以前発行のものについては、消費税導入以前の料金が印刷されておりますのでお含みおき下さい。

送料は実費となります。

ばか苗病・ごま葉枯病  
いもち病

もみ枯細菌病・褐条病  
苗立枯細菌病

を

# まとめて防ぐ。

さきがけの稲用種子消毒剤

日産

## スポルタック<sup>®</sup>

## スターナ<sup>®</sup>SE

- 糸状菌および細菌による病害の同時防除が可能で、混用の手間がかかりません。
- 本剤のSE(Suspo-Emulsion)は粘性の低い液状タイプなので、取り扱いが簡単です。
- 本剤は主溶剤に水を用いているため安全性の高い製剤です。
- 本剤成分のプロクロラズおよびオキシリニック酸は水稻苗に対する安全性が高いことが実証されています。

® スポルタックはアグレボUK社。

® スターナは住友化学工業株式会社の登録商標です。



### 日産化学工業株式会社

本社 東京都千代田区神田錦町 3-7-1

緑の鼓動——たくましく。

穂いもち防除

プラスアルファ

登熟歩合向上



**フジワン<sup>®</sup>粒剤**

# おいしい笑顔の応援団

アグロ・カネショウがお手伝い。



連作障害に!!

刺激臭が少なく、散布が簡単。  
使いやすい土壌消毒剤。

® **バスアミド** 微粒剤

®ドイツ国BASF社の登録商標で、  
本剤は同社で製造されたものです。

バスアミドはオゾン層にやさしい土壌消毒剤です。



アグロ・カネショウ株式会社

〒107 東京都港区赤坂4-2-19

# 新しい茎葉処理タイプの水稲倒伏軽減剤

新発売



液剤タイプの水稲倒伏軽減剤

**ビビフル  
フロアブル**

©:クミアイ化学工業(株) 登録商標

土壌条件や水管理を気にせず  
生育を見ながら出穂直前まで散布できます。



足腰の強いソウガメ



JAグループ  
農協



経済連



自営にアビ 自営を7る

クミアイ化学工業株式会社

本社：〒110-91 東京都台東区池之端1-4-26 TEL 03(3822)5131

①使用前にはラベルをよく読んでください。②ラベルの記載以外には使用しないでください。③小児の手の届く所には置かないでください。

平成 平成 平成  
昭和 八 八 八  
二十四 年 年 年  
九 五 四  
月 月 月  
九 一 二  
日 日 五  
第 三 行 印  
三 種 刷  
種 月 (每 植  
郵 一 月 物  
便 回 防  
物 一 疫  
認 日 第  
可 行 五  
号

定価 八〇〇円(本体七十七円)(送料七六円)

# 軽さが使いやすい 差。新登場!



大きな効き目を  
60gにパック  
より軽く、コンパクトに。



イネミスゾウムシ・イネドロオイムシの防除に

**シクロパック粒剤**

シクロサルU粒剤普及会/三共株・塩野義製薬株・日本農薬株  
北興化学工業株・三笠化学工業株・全農・長瀬産業株  
事務局/日本化薬株式会社  
東京都千代田区富士見1-11-2 〒102 TEL 03-3237-5223