

(第1回植物病害生態研究会報告)

## 病原菌の適応度をめぐって

——病原菌の系統交替はなぜ起きるか——

農林水産省東北農業試験場 <sup>いし</sup>石 <sup>くろ</sup>黒 <sup>きよし</sup>潔

## はじめに

平成10年度日本植物病理学会大会は、本年5月20～22日に札幌市の北海道大学で開催されたが、それに先立つ5月19日に同市内の北海道農業試験場において同学会第1回植物病害生態研究会が本表題をメインテーマとして開催された。本稿では、今回研究会が発足するに至った経緯とねらいを紹介するとともに、今回研究会で討議された内容について概要を紹介したい。この分野に興味のある方々への参考となれば幸いである。

植物病理学は植物の疾病現象の本質を究明し、その知見を疾病的確な防除に応用するための学問といえよう。そのカバーすべき範囲は広く、病原学、診断学をはじめ、感染過程や植物の抵抗現象の解明、防除法の開発・検討など多方面にわたり、近年ではこれらの研究分野の細分化がさらに進行している。しかし、国内の研究活動を見ると、活発な研究分野にかなり偏りが見られ、生態学あるいは疫学の研究勢力はかなり手薄である。もちろん、農業現場に近い研究者ではこれらの分野の研究が行われているが、研究が散発的で現場対応的に終始し、着実な基礎研究の成果に立脚した骨太さには欠ける印象がある。このような問題意識から、10年近くにわたり有志による研究会が持たれていた。しかし、病害に関する生態学的研究の振興を国内の病害研究者全体の問題としてとらえ、分野全体の底上げを図る活動が重要であるとの認識に至り、今回病害生態研究会を発足することにした。

植物病理学は応用科学であり、既存の科学理論や手法を応用目的に導入、あるいは応用目的に新しい理論や手法を構築する研究が重要である。そこで、本研究会では、農業現場で重要となっている研究課題のうち、生態学的アプローチが必要と考えられる課題を念頭に置き、まずその解決のために導入が有用と考えられる理論あるいは手法を正しく理解できる機会を設けるよう配慮した。次に、それらを利用して行われている病害研究の例

があれば、それらを検討することとした。さらに、上記の理論あるいは手法を有効に活用して研究の発展が期待できる可能性がある具体的な研究課題の例を紹介する、という構成をとることとした。つまり、端的な表現をとると、「農業現場で解決が必要とされているこういう課題は、しかるべき理論あるいは手法を用いて研究すると解決の糸口が見つかる可能性がある」ということを研究会を通して勉強していこうというものである。

今回は、農業現場で重要性の高い問題として、新しい殺菌剤の使用開始あるいは新しい抵抗性遺伝子をもった作物品種の導入による薬剤耐性菌や新しい病原性系統の出現とまん延、それらの事態に対応して薬剤使用や品種作付を中止した場合における優先病原菌系統の頻度の再変化の予測と、それに応じた対策を確立するための研究を取り上げた。特に後半部分に当たる薬剤使用や品種作付の中止による病原菌の系統再交替の可能性を予測するためには、病原菌系統の「適応度 (fitness)」という概念を正しく把握して研究計画を立案しなくてはならない。しかし、これまで病害研究者の間で病原菌の「適応度」という用語が使用されることはあっても、正しい定義で用語が使用されているのか、あるいは受け取り手が正しく理解できているか不明確な場合が多かったように見受けられた。そこで、「適応度」という概念を正しく理解できるよう、また正しい理解に基づいて有意義な研究を行えるよう、導火線となる講演を下記の各氏にお願いした。

北海道大学低温科学研究所の大串隆之氏には、「なぜ適応度を測るのか?」と題して、生態学の専門家としての立場から、この用語の概念あるいは関連する基礎的枠組みの解説をお願いした。農水省北海道農業試験場の加藤雅康氏には「適応度」という概念を用いて進めておられる本人の研究テーマを「ジャガイモ疫病菌の交配型A2系統の分布拡大とその要因——系統間の適応度の違いは知りうるか——」と題して講演していただき、病原菌系統間の適応度比較を試みた研究の実例を示していただいた。薬剤耐性菌対策の現場に近い立場で研究を進めておられる全農営農・技術センターの中沢靖彦氏（現全農東京支所）およびイネいもち病菌の真性抵抗性品種導入に伴ういもち病菌のレース変動機構の研究に長年従事

Fitness of Plant Pathogens: Why are Strains Displaced?  
By Kiyoshi ISHIGURO

(キーワード: 生態学, 適応度, 系統交替, 進化)

しておられる農水省北陸農業試験場藤田佳克氏には、それぞれ「薬剤耐性菌、感受性菌の適応度に関する研究の問題点と展望」および「イネいもち病菌病原レースの適応度に関する研究の問題点と展望」と題して、病原菌の適応度の概念を正しく理解することにより今後発展が期待される研究課題を例示していただいた。以下、各演者の講演内容を概略する。

## I 「なぜ適応度を測るのか？」

(大串隆之氏)

大串氏は、まず生態学全体の発展過程を概観して、個々の生物の生きる態様を記述する古典的な記述生態学から、今世紀初頭には植生の遷移と極相に関する理論等の勃興、戦後になると生物集団あるいは群集を対象とした個体群生態学の確立、さらに生物進化の概念を取り入れた進化生態学へと生態学が発展してきた過程を示した。「適応度」は進化生態学の枠組みの概念である。

「進化」とは、生物集団内における各遺伝子の頻度が世代の経過に従い変化する現象で、換言すれば、生物集団内における対立遺伝子の拡散プロセスと見なすことができる。この現象は自然選択、遺伝的浮動および突然変異の生成という3種の機構のいずれによっても起こるが、ここで考察の対象とするのは「自然選択」の作用である。自然選択が作用するのは、ある生物の特定の形質に関して集団内に変異があり、その変異に「適応度」の差があり、かつその形質の変異が遺伝する場合である。例えば、ある形質に関して集団内に大小の個体が存在し、大きい個体ほど（あるいはその逆）適応度が高く、かつ大きい個体から大きい個体が生まれる場合に、自然選択は作用する。「適応度」とは、一個体が次世代に残す繁殖個体数と定義される。つまり、繁殖を通じた個体の次世代への貢献度ということになる。したがって、ある個体の「適応度」を測定し、他の遺伝子型の個体と比較することにより、自然選択の働き方を予測することができる。

適応度を測定するには、定義に従い各個体およびその子孫を追跡調査する直接的な方法がある。直接的な方法は正確であるが一般に手間がかかり、測定が実際には不可能な場合もある。間接的に、相関関係から自然選択の存在の有無を検出する方法として、(1)種々の環境とそこに生息する集団の形質との相関を調べる（「寒い所の個体ほど大きい」など）、(2)同所的な近縁種の形質との比較、(3)類似した環境の非近縁種との比較、などの方法がある。(1)の方法では弱い証明にしかならない欠点がある。(2)では、両者に相互作用がなければいずれの

種でも形質は一定方向に収斂し、相互作用がある場合には競合を避けるため逆の傾向になる。このほか、(4)対象とする集団を長期の世代にわたってモニタリングする方法、もある。この場合、ある形質が長期にわたって安定なら安定化選択、特定方向に変化しているようなら方向性選択の存在が示唆される。さらに、(5)自然の集団をかく乱して、その後の形質の推移を調べる人為的実験、も可能である。この場合、集団をかく乱後にある形質が一定方向に収斂すれば、その形質に関して自然選択が働いている因果関係が示唆される。

異なる系統の適応に関する研究を行うに当たっては、(1)影響を受けそうな形質を見つけること、(2)その形質に自然選択が作用していることを明らかにすること、(3)その因果関係を示すこと、(4)直接的に適応度の測定が困難な場合には複数の検出・測定方法を組み合わせること、が重要である。

## II 「ジャガイモ疫病菌の系統交替の機構」

(加藤雅康氏)

ジャガイモ疫病菌は、日本国内において長らく交配型A1の系統しか存在しなかったが、ここ20年以内でほとんどがA2系統に交替してしまった。同様のことが世界的にも起こった。加藤氏は、この交替現象は両系統の適応度の差に起因する、との作業仮説を設けて検証を試みた。圃場における疫病菌の無性生殖サイクル全体を追跡して直接的に適応度を測定することは困難であったので、繁殖過程を多くの構成要素に分割して、それぞれの量的差異を計測した。例えば、病斑面積、病斑上における孢子囊の形成能、潜伏期間、殺菌剤に対する耐性、ジャガイモ塊茎における越冬能力などを比較した。その結果、個々の構成要素ごとに系統の差が認められる場合と判然とした差が認められない場合があり、差がある場合でもその傾向が一定しなかった。そのため、総体的に見てA2系統の適応度がA1系統より明らかに高いという明確な結論を下せなかった。このような系における適応度の測定方法には、さらに工夫が必要なが示唆された。

このような結果が出た場合のデータの解釈について討論が行われ、各構成要素の寄与度を多変量解析等により明らかにして、主要な少数の構成要素に関するデータに絞って結論を出すべきであるという意見がでた。なお、関連する文献はKATO et al. (1997) およびGOODWIN (1997) を参照されたい。

### III 「薬剤耐性菌、感受性菌の適応度」

(中澤晴彦氏)

中沢氏は、まず薬剤耐性菌の定義を明らかにした上で、その薬剤耐性菌の適応度に関する研究のトピックを紹介した。薬剤耐性菌とは、既存の菌(薬剤感受性菌)と比較して明らかに感受性が低くて別グループと区別され、その低感受性は遺伝し、かつ感受性の低下により防除の実用上問題となる菌のこと、と定義される。薬剤耐性菌はベンゾイミダゾール系薬剤が開発されて以来、新しい殺菌剤が開発されるたびに頻繁に出現して深刻な問題となっている。そのため多くの病害では薬剤による防除法を検討するにあたって、耐性菌対策を考慮しなければならない。

農業現場において薬剤耐性菌に関連する焦眉の課題として、(1)新規に開発された殺菌剤に対する耐性菌出現の可能性の予測、と、(2)薬剤耐性菌と既往の感受性菌の適応度の比較、が挙げられる。耐性菌出現の予測は *in vitro* で突然変異系統をスクリーニングして行われることとなるが、そのときに検出される耐性菌の適応度は、既存の感受性菌よりかなり劣る場合がほとんどである。この場合には耐性菌が自然界でまん延する可能性は低いと予想されるにもかかわらず、薬剤が使用されると比較的短期間に耐性菌が出現し、かつその適応度は既存の感受性菌と遜色ない場合が多い。このような事例から、薬剤の開発時に耐性菌出現の可能性を予測することが大変困難であることが示唆される。

いったん耐性菌がまん延しても、耐性菌の適応度が感受性菌より低い場合には、当該薬剤の使用をしばらく中止するだけで耐性菌の頻度が低下するので、薬剤の使用を再開することができる。実際、薬剤の使用をしばらく中断したり、別系統の薬剤とのローテーションや混合散布によって実用上の防除効果を保っている例もある。これらのことから、自然界で出現した薬剤耐性菌は、耐性獲得の代償により一般的に感受性菌より適応度が劣るとする考えもあるが、反例も多い(GEORGOPOULOS, 1982; PEEVER et al., 1994)。

これに関連して、ペノミル耐性菌の例は興味深い。ペノミル耐性菌は *in vitro* で比較的容易に作出される。ペノミルは病原菌細胞の  $\beta$  チューブリンに結合して機能を阻害することにより殺菌効果を発揮する。そのため作出された耐性菌の多くは  $\beta$  チューブリン遺伝子の種々の部位の塩基配列に突然変異が生じており、そのため薬剤が  $\beta$  チューブリンに結合できないようになったと推察される。しかし、自然界では特定の1, 2箇所の塩基

が変異した耐性菌しか検出されない。また、ペノミル耐性菌が出現した後に薬剤の使用を中止しても耐性菌の頻度が減少しなかったテンサイ褐斑病菌の例が有名である(GEORGOPOULOS, 1982)。これらのことから、以下のような可能性が考えられる。すなわち、 $\beta$  チューブリン遺伝子の変異によって薬剤耐性は獲得できるが、その変異によって多くの場合  $\beta$  チューブリンの機能自体も低下する。そのため、菌の適応度が大きく低下し、多くの *in vitro* 耐性菌の系統は自然界でほとんど存続できない。ところが、その遺伝子の特定の塩基に変異が起きた場合、薬剤耐性は獲得できるが適応度の低下はほとんどなく、自然界で存続可能となる。この推測が正しいとすると、一般論として「薬剤耐性菌の適応度が常に低い」と仮定することは困難であろう。

出現した耐性菌の相対的な適応度は、薬剤の使用を中止した際の頻度変化を調べれば明らかとなる。これを実験的に予測するため、孢子の形成能力や病原性など、適応度に関係する要因の差を調べても、それらに明らかな差が検出されることは少ない。耐性菌と感受性菌を混合して十数世代程度の継代接種をする競合試験によりようやくその差がうかがえることが多い。この理由は明確ではないが、適応度に関係する個々の構成成分単独の比較試験では検出できない程度の適応度の差であっても、実際にはこれに意味があって、これは競合試験によらなければ検出されないのではなかろうか。今後の研究が待たれるところである。

### IV 「イネいもち病菌病原レースの適応度」

(藤田佳克氏)

藤田氏は、イネいもち病菌の病原レースの動態に関して観察されてきた多くの興味ある現象のうち、病原菌の適応度に関係する可能性のある事例を示した。また、適応度が変化する機構の一つとして菌の準有性的組換え(parasexual recombination)の可能性を指摘した。なお、我が国におけるイネいもち病の研究者で、適応度という用語を用いていたのは清沢氏らのグループに限られ、多くの研究者は同じ概念に他の用語を当てていたようである。

いもち病に対する真性抵抗性遺伝子を導入した高度抵抗性のイネ品種が普及して広範囲で栽培され始めると、数年を経ずしてその品種に対して病原性をもついもち病菌の新レースが出現して品種の崩壊(break down)が起こる例を何度も経験してきた。一方、その抵抗性品種の作付けを中止すると、新レースの頻度は低下してしまう例も多く経験している。後者の現象は、他の地域から

の病原菌の移動 (migration) などの要因を考慮しなければ、新レースの適応度が既存のレースより劣るので生じると考えることが可能である。このような現象が見られることから、新レースは新たに病原性を得た代償により適応度が低下するとする考え (fitness cost) が、VANDERPLANK (1963) によって安定化淘汰 (stabilizing selection) 説\*として唱えられた。しかし、この考えは多くの論争を呼んでおり、無批判に受け入れることは危険で、今後注意深い実証的研究が必要である (ANTONOVISC et. al., 1989)。

藤田氏は、上記の例とは逆に、いもち病菌の新レースが出現した地域はいもち病菌個体群を経時的にサンプリングした結果、当初低かった新レースの適応度が年々高くなった事例 (藤田・鈴木, 1982) も紹介した。この場合、新レースの適応度が高まった理由としては、(1)突然変異、(2)適応度の高い遺伝子型の個体との準有性的組換え (いもち病菌では自然界で有性生殖が認められていない)、(3)同一レースではあるが適応度のより高い遺伝子型の優先化あるいは系外からの移入の可能性がある (馴化は「遺伝しない形質」であることから、考察からは排除されなければならない)。このうち、藤田は準有性的組換えの可能性を仮説として取り上げている。これまで準有性的組換えが自然界で生じたことが示唆される状況証拠や、培地上で準有性的組換えが起きることを示した例はあるが、実際の圃場で確実にどの機構でこのような現象が起こっているという証拠はまだ得られていない。しかし、この現象の有無はいもち病の防除対策上極めて重要で、今後の検討が待たれる。

## おわりに

本研究会の総合討論では、いくつかの議論がなされた。戦後に生態学から個体群動態を研究する分野が現れたとき、植物防疫の隣接分野である応用動物・昆虫学か

らはその分野に多くの研究者が参入し、生態学の進歩に伴い、進化生態学のアプローチも比較的受け入れられるように見受けられる。それと比較し、我が国の植物病理学分野が異なった発展をしたのは、病原菌個体群の定量や個体のマーキングなどの手法が導入困難であったことも一因であろう、という意見が出された。応用動物・昆虫学と植物病理学が必ずしも同じアプローチをとる必要はないが、現場で問題となっている課題解決に有用な理論・手法を導入できる可能性があれば、隘路を切り開く努力も意味があろう。

自然選択は、個体のある形質 (phenotype) に対して働くが、究極的には個々の遺伝子とその対象となっているとも見なせる。したがって、薬剤耐性あるいは病原性に関与する遺伝子が、病原菌個体の適応度に影響を及ぼすか、という問いは意味がある。しかし、他の遺伝子との連鎖非平衡等の可能性を排除して当該遺伝子のみの影響を調べなければ結論は下せない。にもかかわらず、あたかも上記の遺伝子が適応度に関係することを前提とした議論がこれまでになされたことがあったようである。今後は厳密な議論が必要であろう。

最後に、この研究会開催までには、関西学院大学加藤肇教授のご助言とご尽力があった。ここに謝意を表したい。

## 引用文献

- 1) ANTONOVISC, J. and H. M. ALEXANDER (1989): Plant Disease Epidemiology, vol. 2. McGraw-Hill, New York. pp. 185~214.
- 2) 藤田佳克・鈴木穂積 (1982): 日植病報 48: 290~294.
- 3) GEORGIOPOULOS, S. G. (1982): Fungicide resistance in crop protection. Pudoc, Wageningen, pp. 187~194.
- 4) GOODWIN, S. B. (1997): Phytopatology 87: 462~473.
- 5) KATO, M. et al. (1997): ibid. 87: 973~978.
- 6) PEEVER, T. L. and M. G. MILGROOM (1994): ibid. 84: 515~519.
- 7) VANDERPLANK, J. E. (1963): Plant Diseases: Epidemics and control, Academic Press, New York. 349 pp.

\*この用語は個体群遺伝学としては誤用である (筆者注)。