

大学研究室紹介

リ レ ー 随 筆

キャンパスだより(25)

茨城大学農学部
植物生体防御学研究室あくつ かつみ なかじま まさみ
阿久津 克己・中島 雅己

所在地：茨城県稲敷郡阿見町中央3-21-1

Message from Laboratory of Plant Pathology, Ibaraki University. By Katsumi AKUTSU and Masami NAKAJIMA

(キーワード：植物病理学，薬剤耐性，生物防除，灰色かび病，病原性，病害抵抗性)



コミュニティ広場から臨む農学部研究棟

は じ め に

茨城大学は、1950年5月旧制水戸高等学校、茨城師範学校、茨城青年師範学校及び多賀工業学校を母体として、文理学部、教育学部及び工学部からなる新制大学として発足した。農学部は、1946年に霞ヶ浦海軍航空隊の土地と建物を転用して財団法人霞ヶ浦農科大学として発足し、1950年には茨城県立農科大学となり、1952年4月に国に移管されて茨城大学農学部となった。当初は農学科と畜産学科の2学科であったが、1961年に農芸化学が、さらに1969年には農業工学科が設置された。その後、学部改組を重ねて現在の農学部は、生物生産科学、資源生物科学、地域環境科学の3学科体制をとり、学生を受け入れ、教育・研究指導を行っている。

農学部は、茨城県南部の霞ヶ浦に面し、筑波山を望む阿見キャンパスにあり、東京から60km、水戸キャンパスからも60kmの位置にある。阿見キャンパスには、実験・研究棟、図書館・講義棟、福利厚生施設、学生寄宿舎、遺伝子実験施設など1994年以降に改修された比較的新しい施設群と、隣接する広大な附属フィールドサイエンス教育研究センターがある。

植物生体防御学研究室は、国立移管後、2回の学部改組により植物病理・昆虫学研究室から植物資源保護学研究室を経て、現在の研究室へと変遷を遂げている。その間、6名の教官(教員)が植物病理学分野を担当している。松浦義教授(1951～70年)、高橋錦治助手(1952～60年)は主に土壌菌類病に関する研究に、奥山哲教授(1960～96年)、坂ひとみ助手(1973～81年)は主に植物ウイルス病に関する研究に取り組み、数多くの研究成果をあげている。現在の研究室は、阿久津克己教授(1982年～)と中島雅己

准教授(1997年～)の2名の教員と15名の学生(博士課程3名、修士課程4名、学部4年生8名)で構成され、毎年10月には新たに学部3年生が加わり、例年20名を超える賑やかな陣容となる。研究は灰色かび病に関する研究を中心にすえ、環境にやさしい持続的な防除法を開発するために4つの研究テーマを掲げ、複数の研究機関との共同研究も立ち上げつつ研究室が一丸となって取り組んでいる。

I 植物病原菌の薬剤耐性機構の解析

我が国で発生が認められている植物の病気は約6,500種類あると言われ、その70%以上は灰色かび病をはじめとする菌類の病気である。現在、これらの菌類病に対する防除手段の主力は殺菌剤の使用であるが、1970年代以降、ヒトに対する安全性はもとより地球環境や生態系の保護という点が重要視されるようになり、低毒性で選択性の高い殺菌剤が開発され、広



図-1 植物生体防御学研究室メンバー(研究棟入口ロビーにて)

く普及するようになった。しかしながら、それに伴ってこれらの薬剤に対して耐性を獲得した病原菌株が次々に出現して広く蔓延するようになり、防除効果の低下とそれに伴う複数薬剤の多量投与による環境汚染といった農業上ならびに環境上、極めて深刻な問題が生じている。残念ながら、21世紀の今日においても、農業生産を確保する上で導入が避けられない薬剤防除に伴うこれらの問題を解消する目処は立っていないのが現状である。

本研究では、巨額な費用と長い年月を掛けて開発される安全性の高い新薬剤を短期間のうちに無力化させてしまう耐性菌の出現とその急速な蔓延を抜本的に解決するために、これまでに明らかにされているような薬剤のみに特化した耐性機構ではなく、生物が地球環境下で生存するために根本的に進化の過程で獲得した環境ストレス全般に対応する応答機構に注目して病原菌における薬剤耐性化のメカニズムを分子レベルで解析することを目的としている。本研究によって耐性化抑止剤や耐性菌の出現で使用困難に追い込まれた多数の薬剤の再利用を可能にする耐性克服剤あるいは耐性菌の蔓延を抑止する耐性誘発阻害剤など、従来の薬剤とは異なる安全かつ持続性の高い新規薬剤を創製するための突破口が見出せることを期待している。

II 植物病害のバイオコントロールに関する研究

ポジティブリスト制度の導入により IPM の重要性が再認識され、生物防除に対する期待は益々高まっている。本研究では、有用なエージェン微生物の探索ならびに有用形質を付加した組換えエージェンットの作出に取り組んでいる。これまでに、トマトかいよう病菌に抗菌活性を示す細菌としてトマト葉面から分離され、高いキチン分解能を持つ *Serratia marcescens* B2 株の菌類病に対する防除効果について報告している。茨城県下で栽培が盛んな花卉の一つであるシクラメンに発生する菌類病について検討し、苗立枯病、炭疽病、萎凋病および灰色かび病に効果を示すことを確認した。また、イネの重要病害であるいもち病および紋枯病に対しても防除効果を示すことを明らかにしている。本菌株の抗菌活性要因にはエキソ型キチナーゼとエンド型キチナーゼに加え、赤色色素であるプロディギオシンやキレート物質のシデロフォア、揮発性抗菌物質が関与することが示唆されている。

拮抗微生物を利用した病害防除技術に関する報告はこれまで多くなされているが、実用化にまで至っているものはまだ少ないのが現状である。実験室内では顕著な抗菌活性を示す微生物であっても実際の防除場面でその効果が低下する現象が多く知られている。この

理由として、導入環境における様々な影響を受けることで抗菌物質の発現が抑制される、導入環境にうまく定着できない等の問題が指摘されている。このような問題点を克服する手段として、遺伝子組換え技術を利用することで環境中でも確実に有用形質を発現する新規バイオコントロールエージェンットの作出に取り組んでいる。これには葉表面に高い定着性を示す *Erwinia ananas* を使用し、前述の *S. marcescens* B2 株のキチナーゼ遺伝子を導入した形質転換株を作出した。このとき、導入遺伝子を葉面上でも効率よく発現させるために、GFP をレポーターとしたプロモータートラップベクターによって低栄養条件下で高発現するプロモーターを *E. ananas* のゲノム DNA から単離して使用した。こうして得られた形質転換株は葉面上に野生株と同等の高い定着性を持ち、イネいもち病ならびにキュウリ灰色かび病に対して安定した防除効果を示すことを報告している。

III 灰色かび病菌の病原性機構の解析

灰色かび病など多くの種類の植物に発生が見られる多犯性病害は、抵抗性品種の導入など耕種的防除が困難なことから、殺菌剤による化学的防除に依存してきた。このことは選択性の高いより安全な薬剤の普及と相まって薬剤耐性菌の出現を助長し、病害防除において深刻な問題を引き起こしており、新たな防除法の開発が求められている。本研究は植物病原菌における病原性発現の分子機構を解析し、その発現系をターゲットにした非殺菌性の新薬剤設計を目的としている。灰色かび病菌 *Botrytis cinerea* の宿主感染は、本菌が侵入時に形成する感染器官である付着器の形態分化に強く依存していることから、付着器形成の分子機構を解析することに取り組んでいる。本菌は液体培地を用いて振とう培養した場合は全く付着器を形成しないが、プラスチック表面上で静置培養することにより宿主の



図-2 クリーンベンチでの無菌操作

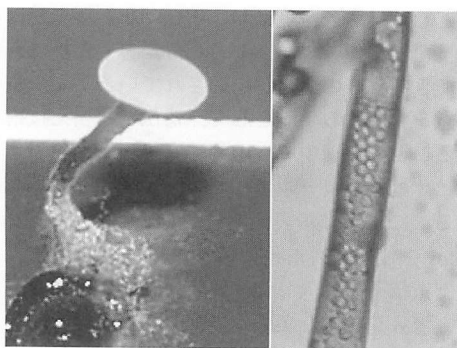


図-3 灰色かび病菌 (*Botrytis cinerea*) 日本分離株間の受精によって菌核(雌性器官)上に形成された子のう盤(左)と菌糸内に形成された小型分生孢子(雄性器官)(右)

葉表面に形成するものと同様の付着器を形成する。この培養系を用いて付着器形成時に特異的に発現する遺伝子群の解析を行っている。

また、当研究室では本菌の日本分離株での人工交配に成功しており、近年、これによって得られた子のう孢子由来株の中から、病原性の極度に低下した菌株が得られた。本菌株を用いて数種の植物体に接種試験を行ったところ、全ての供試植物において病斑の形成は認められなかった。本菌株の接種部位を観察したところ、侵入菌糸の見られる付着器直下の表皮細胞において過敏細胞死に酷似した細胞死が観察され、そのような表皮細胞には蛍光物質の蓄積も認められた。一方、病原菌の感染行動を観察するのに容易なタマネギ鱗片表皮を用いて接種試験を行ったところ、本菌株の侵入菌糸は野生株のそれと同様に組織内に伸展したことから、本菌株における病原性の低下は宿主植物が発現する抵抗反応に対する感受性に起因するものと推察している。本菌株と植物の相互作用を野生株のそれと比較解析することにより、灰色かび病菌の感染機構が明らかとなり、この成果が多犯性メカニズム解明の一助となることを期待している。

IV 遺伝子組換えによる病害抵抗性植物の作出に関する研究

これまでに、イネのキチナーゼ遺伝子を導入した組換えキュウリにおいて灰色かび病に対する抵抗性が発現することを明らかにしている。抵抗性強度の異なる系統を用いた解析により、その強度はイネ・キチナーゼの発現量に相関していること、さらに、導入遺伝子の発現量は導入される染色体上の位置や染色体そのものによっても影響されることを報告している。このことから予想されるように、組換えキュウリにおける灰

色かび病抵抗性には導入したイネ・キチナーゼによる溶菌作用が関与することが明らかになった。しかしながら、それだけではなく抵抗性キュウリには低分子の抗菌活性物質が産生されていることが確認された。さらに、キュウリの病原性関連タンパク質の発現を調査したところ、クラス III キチナーゼ遺伝子等の発現が誘導されていることが確認されたことから、導入されたイネ・キチナーゼの恒常的な発現によってキュウリ内在性の抵抗反応が誘導されていることが推察された。次にキュウリのキチナーゼ遺伝子を恒常的に発現するように再導入した組換えキュウリを作出してその効果を検討したところ、灰色かび病に対する抵抗性の増強が確認され、イネ・キチナーゼ導入キュウリと同様に低分子の抗菌活性物質産生が誘導されていることが明らかとなった。これらの研究により得られた知見を基礎として、現在、発現制御型で生態系負荷の小さい組換え植物の創成を目指す研究に取り組んでいる。

おわりに

今回、植物生体防御学研究室が進めている環境負荷の少ない持続的な植物病害防除法の開発を目指す4つの研究戦略を紹介し、これからの病害防除のあり方を追及する上での1つの方向性を提示した。しかしながら、これまで人類が叡智を絞って開発してきた数々の化学薬剤あるいは多くの病害抵抗性品種も、導入後僅かな期間で病原菌の変異により効力を失うことは多々あり、農生態系では、このような現象が比較的簡単に、そして頻繁に起こりやすいことは実証済みである。人類は、農生態系を作り出すことで安定した食糧生産体制を構築し、今日の繁栄を築いてきたが、その代償として本来自然の生態系が持つ生物の多様性を保持するための生態バランスを失ってきた。そのために人類は、これから永遠に不安定な農生態系を支えるために叡智を結集して、より自然の摂理にあった植物病害の防除体系を追求し、少しでも農生態系の安定化を図るための努力を続けていかなければならないと思う(阿久津, 2003)。

私たちの研究室で、この人類が抱える困難な課題にチャレンジしてみませんか。挑戦者大歓迎!!

植物生体防御学研究室 HP:

<http://shokubutu.agr.ibaraki.ac.jp/Phytopathology/index.htm>

引用文献

- 1) 阿久津克己(2003): 拮抗微生物による作物病害の生物防除—我が国における研究事例・実用化事例—, クミアイ化学工業株式会社, 全国農村教育協会, 東京, p. 85 ~ 96.