

特集：高品質・安定多収および環境調和をめざした飼料作物病害虫の研究動向

エンドファイトの活用による 病害虫抵抗性牧草の開発について

畜産草地研究所 ^{すがわら}菅原 ^{こうや}幸哉・^{しば}柴 ^{たくや}卓也

はじめに

「エンドファイト (endophyte)」はギリシャ語の「endo (内部の)」と「phyte (植物)」から合成された単語である。その意味は歴史上、何度か変化しているが、現在の生物学では植物体内に生息する微生物一般を指して用いられており、植物内部に住みながら植物に害を与えず、相利共生的に生活している微生物を指して用いられることが多い。カビ (糸状菌, 真菌) の仲間に限っても、エンドファイトとして生活している種は植物界全体にわたる多数の植物から報告されており、細菌、放線菌の仲間からも「エンドファイト」として生活している微生物の報告が相継いでいる。このため近年、相利共生の効果を植物栽培に活用しようとする実用上の観点から、また、生物間相互作用への学術上の関心から、世界的に「エンドファイト」への取り組みが拡大している。イネ科牧草に感染するエンドファイトとしては、*Neotyphodium* 属の糸状菌が知られている。このエンドファイトは、後代植物への種子伝染を通じて世代を超えて植物集団中に維持されるため (図-1)、実質的には植物の遺伝形質の一部として扱うことができる。すなわち、この菌を共生させることにより、昆虫への抵抗性など、植物単独ではもち得ない形質を植物に導入することが可能になる。本稿では、近年、国内外で相次いでイネ科牧草での応用が進められているこの糸状菌エンドファイトを中心に、その病害虫防除に向けた開発状況を紹介したい。

I 家畜毒性と害虫への効果

Neotyphodium (旧名: *Acremonium*) 属のエンドファイトが広く関心を集めるようになったのは、ニュージーランドで発生したパレニアルライグラス (*Lolium perenne*, ホソムギ) を食べた羊の中毒症状 (ライグラス・スタッガー)、および北米で生じたトルフェスク (*Festuca arundinacea*, オニウシノケグサ) を食べた牛

の中毒症状 (フェスク・トキシコース) の原因として 1980 年代に大きく取り上げられたことが端緒である。これらの草地では、エンドファイトに感染したライグラス、フェスクが優占化し、菌が分泌する哺乳類に毒性を示す化合物が、草食家畜が中毒を生じる水準に達していた。感染植物のこうした極端な優占化は、感染種子を含む牧草種子を用いて造成された草地において、ニュージーランドでは害虫 (ゾウムシの一種, *Argentine stem weevil*, *Listronotus bonariensis*) の激しい食害でエンドファイトの感染で耐虫性を得た植物だけが選抜されたため

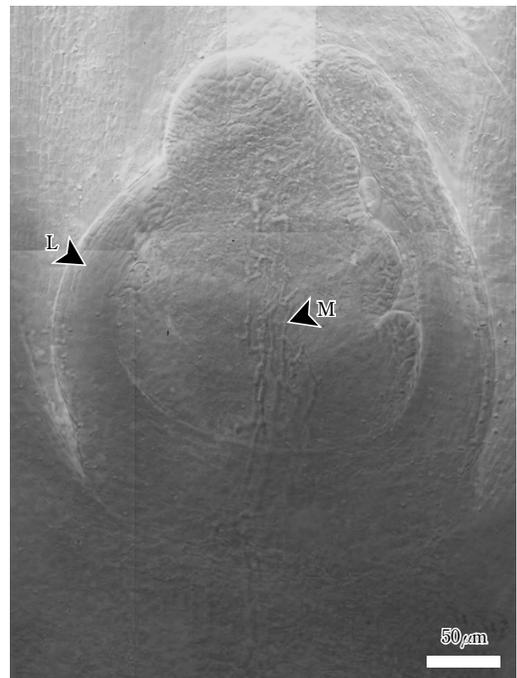


図-1 エンドファイト (*Neotyphodium occultans*) に感染したイタリアンライグラスの茎頂分裂組織 (幼穂への分化が進み始めたもの)

透過処理に酸性フクシン染色を併用。組織中央部、穂軸に分化する部分にエンドファイトが定着していることがわかる。この後、菌は形成される種子の内部へと伸展し、次世代の植物に移行する。L: 葉原基, M: エンドファイト菌糸。

Development of Pest Resistant Forage Grasses Using Endophytic Fungi. By Koya SUGAWARA and Takuya SHIBA

(キーワード: 植物内生菌, 共生, イネ科牧草, 抵抗性付与)

に、また、北米では、乾燥した放牧地が多く、エンドファイトの効果で耐乾性が高まった植物株が選抜されたために生じたと考えられている。その後の研究で、動物毒性に関与する化合物はエンドファイトが植物中に分泌するアルカロイドであることが判明し、ペレニアルライグラスではその共生菌、*N. lolii* が分泌するインドールジテルペノイドアルカロイドの一種「ロリトレム B」が、トールフェスクの例では共生する *N. coenophialum* が分泌するエルゴアルカロイド「エルゴバリン」が、家畜中毒の主因と判明した。こうした知見とともに、分泌されるアルカロイドには、これら哺乳類への強い毒性をもつ 2 種に加え、哺乳類への毒性は低い、主に昆虫などの無脊椎動物に毒性をもつピロリチジンアルカロイド（ロリンアルカロイド）およびピロロピラジナルカロイド（ペラミン）の、あわせて 4 群が存在すること、また、菌種・菌株によって分泌するアルカロイドの組み合わせや量などが異なることも明らかになった（CLAY and SCHARDL, 2002）。家畜毒性を問題にしなくてもよい芝用や緑化植物用の品種では、早くからエンドファイトに感染した植物系統の利用・育種が進められたが（古賀・篠崎, 1998）、牧草としての利用には、上記 4 群のアルカロイドのうち、少なくとも哺乳類に強い毒性を示す前二者を合成しない菌・感染植物の選抜・作出が必要とされ、当初、作業は困難であった。

最初にこれに成功したのはニュージーランドの研究グループで、エンドファイトを分離培養して新しい宿主植物に人工接種する手法を開発するとともに、世界各地から菌株の収集を行って家畜毒性のない菌株の選抜を進め、植物生育への有用性の高い菌株を牧草品種に接種して、エンドファイトに感染した飼料用ペレニアルライグラス品種を開発した（FLETCHER and EASTON, 2001; EASTON, 2007）。この品種はエンドファイトが分泌するペラミンの効果で Argentine stem weevil への抵抗性をもちながら、家畜への毒性を示さない牧草として、現在、ニュージーランドとオーストラリアで市販されている。その後、この研究グループは、米国の種苗会社との共同事業で飼料用感染トールフェスク品種の実用化にも成功している。こちらは主に既存の家畜に有毒な感染フェスクとの置き換えによる家畜中毒防止を主眼として米国内での普及が図られているが、植物線虫への抵抗性の向上など、害虫や不良環境への耐性向上も期待できる（TIMPER, 2005）。その後、実験的には菌の遺伝子組換えによる家畜毒性アルカロイド合成遺伝子の破壊なども行われているが（PANACCIONE et al., 2002）、今のところ組換えエンドファイトを導入した感染植物の実用化には至っていない。

日本国内でも 2008 年末、飼料用ライグラスとしては国内初のエンドファイト感染品種として、イタリアンライグラス ‘びしゃもん’ が品種登録された。この品種は、メドウフェスク (*Festuca pratensis*, ヒロハノウシノケサ) から分離したエンドファイト、*N. uncinatum* を人工接種でイタリアンライグラスに導入（笠井ら, 2004; 図-2）、その後、4 世代の母系選抜を経て品種化を図ったもので（佐々木ら, 2008）、2012 年の販売開始に向けて現在種子増殖が進められている（佐々木, 私信）。また、畜産草地研究所でも、我が国の野生化したイタリアンライグラス集団から見いだした自然感染のエンドファイト (*N. occultans*) を活用した飼料用感染品種の育成が進められている（荒川ら, 2009）。*N. uncinatum* は多くの牧草用メドウフェスク品種で、また、*N. occultans* は南米の半自然草地の野生化したライグラスなどで広く自然感染が認められ、両者とも給餌・放牧された家畜への悪影響の報告がないこと、また、家畜中毒が問題になっている *N. lolii* や *N. coenophialum* に感染した植物から見いだされた家畜毒性アルカロイド（エル

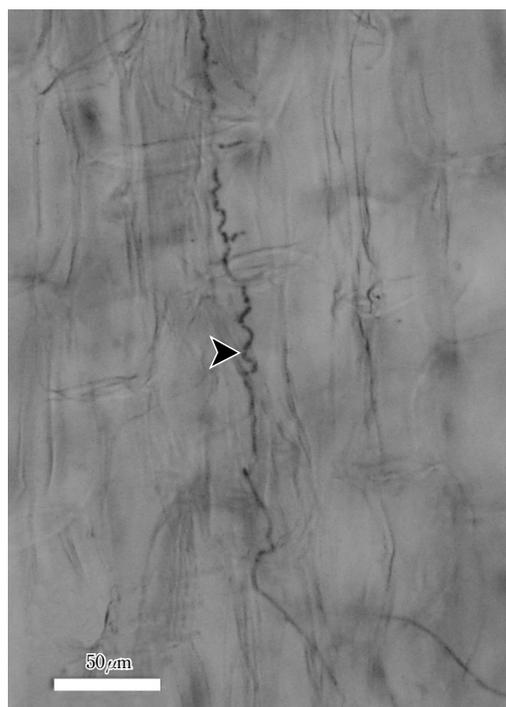


図-2 イタリアンライグラスの新品種 ‘びしゃもん’ に感染するメドウフェスクのエンドファイト *Neotyphodium uncinatum* 矢印：エンドファイトの菌糸、宿主植物の葉梢表皮の細胞間隙に共生している。

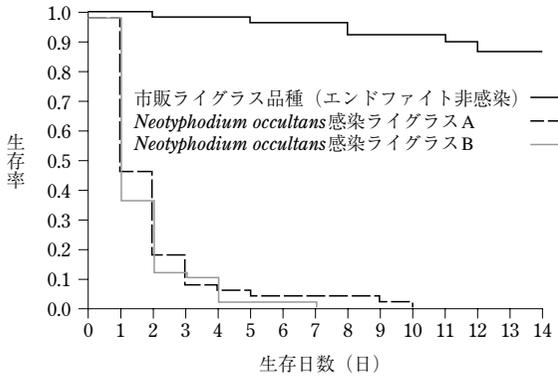


図-3 エンドファイト (*Neotyphodium occultans*) に感染したイタリアンライグラスを給餌した場合のアカヒゲホソミドリカスミカメ (*Trigonotylus caelestialium*) の生存曲線【柴ら (2008) より作図】

感染ライグラスを餌とした飼育では生存個体数が急激に減少する。

ゴバリンおよびロリトレム B) の含有が認められないこと (佐々木ら, 2000; SUGAWARA et al., 2006) から, 飼料用牧草に導入・活用できると考えられた。これらのエンドファイトに感染したライグラスでは, エンドファイトが分泌するロリンアルカロイドの効果により, 斑点米カメムシの一種, アカヒゲホソミドリカスミカメ (*Trigonotylus caelestialium*) への抵抗性が向上していることが報告されており (柴ら, 2004; 2008; SHIBA and SUGAWARA, 2009) (図-3), 牧草畑, 放牧地等でのこうした害虫の増殖を防ぐ効果が期待されている (口絵)。また, こうした感染植物の種子はコオロギ類やゴミムシ類など, 種子を食害する昆虫からの被害を受けにくいことが示唆されており (丸山ら, 2009), 採草地・牧草地での播種後の苗立ちを向上させることも期待される。*Neotyphodium* 属のエンドファイトが効果を発揮する害虫の種類は, チョウ目の幼虫, 甲虫目, カメムシ目, バッタ目, また, 一部の線虫類等, 多岐にわたる (古賀・篠崎, 1998)。しかし, 前述したように菌が分泌するアルカロイドの組み合わせや量などが菌種・菌株によって異なること (CLAY and SCHARDL, 2002), また, 植物体内における菌の生育状況や, 害虫側のアルカロイドへの感受性が齢や生育条件などによって異なることから, 特定の菌種の農業上の有用性の検討と利用には, 植物種および, 害虫ごとの検討が必要である。

II 病害への効果

害虫への効果が古くから多数報告されているのに対

し, エンドファイトの植物病害への効果は, その評価・把握が難しいためか, まだ研究例・報告例が少ない。日本国内では島貫ら (2000) が *N. lolii* に感染したペレニアルライグラスで夏斑点病 (*Bipolaris sorokiniana*) など, いくつかの病害への抵抗性が向上していることを報告しているが, そのメカニズムについてはまだわかっていない。*Neotyphodium* 属やその近縁菌が他の糸状菌に対する抗菌活性を示す例はかなりの報告があり, 菌が分泌する各種の抗菌性化学物質の効果と推察されている。近年では, *Neotyphodium* 属と近縁であるチモシー (*Phleum pratense*, オオアワガエリ) のがまの穂病菌 (*Epichloë typhina*) の分泌物中から新規の環状ペプチド“エビクリシン”が見いだされ, チモシー斑点病菌 (*Cladosporium phlei*) の胞子発芽を阻害する活性もつことが明らかになった (Seto et al., 2007)。*E. typhina* は「がまの穂病」としての病徴を発現する開花期以外はエンドファイトとして生活しており, この化合物は生活の場である宿主植物を他の病原菌の侵入から守る働きをしている可能性がある。また, やはり近年になって中国の野草 (*Achnatherum inebrians*, 酔馬草) から見いだされた共生菌 (*N. gansuense*) が *Bipolaris sorokiniana*, *Curvularia lunata*, *Fusarium acuminatum*, *Alternaria alternata* 等の病原性糸状菌に対して抗菌性を示すことが報告されている (Li et al., 2007)。この菌は家畜への強い毒性を示す可能性があり, 直ちに牧草や飼料作物に応用することはできない。しかし, キツネガヤ (*Bromus pauciflorus*) など, 日本国内の野草にも *N. gansuense* が共生していると推定されたこと (菅原ら, 2009) などから, 国内でもこの種の研究が進展することを期待したい。

おわりに

前章までに紹介したように, 現在のところ, *Neotyphodium* 属のエンドファイトの牧草への利用は, 家畜中毒問題との兼ね合いから重点的に研究が進められたライグラス類およびフェスク類に限られている。しかし, この菌が非常に多様なイネ科植物と共生していること (CLAY and SCHARDL, 2002), 菌の検出や識別, 菌種・菌系間の遺伝的な相互関係の把握が, 近年の分子生物学的な解析によって急速に進みつつあること (菅原, 2005) 等から, 今後, その病虫害防除効果についても利用範囲の拡大が期待される。

Neotyphodium 属のエンドファイトの生態や研究史については, CLAY and SCHARDL (2002), EASTON (2007) をはじめ, 多くの英文総説が出されている。また和文の総

説としても、畜産草地研究所から関連の研究資料（菅原・柴，2005）が刊行されているので、興味のある方は筆者までご連絡いただきたい。

本稿の執筆に当たり、(社)日本草地畜産種子協会飼料作物研究所の佐々木亨博士に多数の有益なご助言と関係資料のご提供をいただいた。記して厚く御礼申し上げる。

引用文献

1) 荒川 明ら (2009) : 日草誌 55(別) : 67 (講要).
 2) CLAY, K. and C. L. SCHARDL (2002) : Amer. Natur. 160(suppl.) : S99 ~ S127.
 3) EASTON, H. S. (2007) : Euphytica 154 : 295 ~ 306.
 4) FLETCHER, L. R. and H. S. EASTON : (2001) Proceedings of the 4th international *Neotyphodium*/Grass interactions symposium (Eds. PAUL, V. H. and P. D. DAPPRICH) Universität - Gesamthochschule Paderborn, Soest, Germany : 149 ~ 162.
 5) 笠井恵里ら (2004) : 日草誌 50 : 180 ~ 186.
 6) 古賀博則・篠崎 聡 (1998) : 芝草と品種一育種と利用のための選択一, ソフトサイエンス社, 東京, p. 82 ~ 99.

7) LI, C. et al. (2007) : Mycological Research 111 : 1220 ~ 1227.
 8) 丸山啓輔ら (2009) : 日草誌 55(別) : 65 (講要).
 9) PANACCIONE, D. G. et al. (2002) : Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98 : 12820 ~ 12825.
 10) 佐々木亨ら (2000) : 日草誌 46(別) : 160 ~ 161 (講要).
 11) ———ら (2008) : 同上 54(別) : 442 ~ 443 (講要).
 12) SETO, Y. et al. (2007) : Biosci. Biotechnol. Biochem. 71 : 1470 ~ 1475.
 13) 柴 卓也ら (2004) : 日草誌 50(別) : 226 ~ 227 (講要).
 14) ———ら (2008) : 同上 54(別) : 406 ~ 407 (講要).
 15) SHIBA, T. and K. SUGAWARA (2009) : Entom. Experim. Appl. 130 : 55 ~ 62.
 16) 島貫忠幸ら (2000) : 草地飼料作物研究成果最新情報 15 : 39 ~ 40.
 17) 菅原幸哉 (2005) : 植物防疫 59 : 432 ~ 435.
 18) ———・柴 卓也 (2005) : 畜草研資料 7 : 47.
 19) SUGAWARA, K. et al. (2006) : Grassl. Sci. 52(4) : 147 ~ 154.
 20) 菅原幸哉ら (2009) : 日植病報 75 (印刷中, 講要).
 21) TEMPER, P. (2005) : Tall Fescue On-line Monograph [Online], <http://forages.oregonstate.edu/is/tf/is/book.cfm?PageID=366&andchapter=20&andsection=0>

(新しく登録された農薬 37 ページからの続き)

●カフェンストロール・ダイムロン・ベンスルフロンメチル・ベンゾピシクロン粒剤

22408 : MIC シロノック L ジャンボ (三井化学アグロ) 09/07/08

カフェンストロール : 7.1%, ダイムロン : 14.3%, ベンスルフロンメチル : 1.5%, ベンゾピシクロン : 5.7%

移植水稲 : 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ミズガヤツリ, ウリカワ, ヒルムシロ, クログワイ (北陸, 関東・東山・東海, 近畿・中国・四国), オモダカ (北陸, 関東・東山・東海, 近畿・中国・四国), セリ, アオミドロ・藻類による表層はく離 (関東・東山・東海を除く)

直播水稲 : 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ミズガヤツリ, ウリカワ

●カフェンストロール・ダイムロン・ベンスルフロンメチル・ベンゾピシクロン水和剤

22409 : MIC シロノック L フロアブル (三井化学アグロ) 09/07/08

カフェンストロール : 5.5%, ダイムロン : 10.0%, ベンスルフロンメチル : 1.0%, ベンゾピシクロン : 4.0%

移植水稲 : 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ミズガヤツリ, ウリカワ, クログワイ (北陸, 関東・東山・東海, 近畿・中国・四国), オモダカ (北陸, 関東・東山・東海, 近畿・中国・四国), ヒルムシロ, セリ (北陸を除く), アオミドロ・藻類による表層はく離 (北陸を除く)

直播水稲 : 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ミズガヤツリ, ウリカワ

●ピラゾレート・ペントキサゾン水和剤

22420 : MIC スウィープフロアブル (三井化学アグロ) 09/07/22

ピラゾレート : 20.0%, ペントキサゾン : 4.0%

移植水稲 : 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ヘラオモダカ (北海道, 東北), ミズガヤツリ (北海道を除く), ウリカワ, クログワイ (北海道, 東北を除く), オモダカ (近畿・中国・四国を除く)

●ジメタメトリン・ピラゾレート・プレチラクロール・プロモブチド粒剤

22421 : MIC スラッシュ粒剤 (三井化学アグロ) 09/07/22

ジメタメトリン : 0.20%, ピラゾレート : 4.0%, プレチラクロール : 1.5%, プロモブチド : 2.0%

移植水稲 : 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ウリカワ, ミズガヤツリ, ヘラオモダカ, ヒルムシロ, アオミドロ・藻類による表層はく離

●シハロホップブチル・シメトリン・ベンフレセート・MCPB 粒剤

22422 : MIC ザーベックス DX 1 キロ粒剤 (三井化学アグロ) 09/07/22

シハロホップブチル : 1.5%, シメトリン : 4.5%, ベンフレセート : 6.0%, MCPB : 2.4%

移植水稲 : 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ヘラオモダカ (北海道, 東北, 九州の早期), ミズガヤツリ (北海道を除く), ウリカワ (東北を除く), クログワイ (東北, 関東・東山・東海, 近畿・中国・四国), オモダカ (九州の早期を除く), ヒルムシロ (東北, 北陸を除く), エゾノサヤヌカグサ (北海道), シズイ (東北), アオミドロ・藻類による表層はく離 (東北, 北陸を除く)

直播水稲 : 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ミズガヤツリ, ウリカワ, ヒルムシロ, アオミドロ・藻類による表層はく離

●シメトリン・ベンフレセート・MCPB 粒剤

22423 : MIC ザーベックス SM 粒剤 (三井化学アグロ) 09/07/22

シメトリン : 1.5%, ベンフレセート : 2.0%, MCPB : 0.80%

移植水稲 : 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ウリカワ, ミズガヤツリ, ヘラオモダカ, オモダカ, クログワイ, シズイ (東北), ヒルムシロ, エゾノサヤヌカグサ

〔植物成長調整剤〕

●デシルアルコール・ブトルアリン乳剤

22412 : イエローリボン (エスディーエスバイオテック) 09/07/22

22413 : ニューファムイエローリボン (ニューファム) 09/07/22

デシルアルコール : 48.7%, ブトルアリン : 8.12% (有効成分含量記載を中央値に変更)

たばこ : わき芽抑制