昆虫寄生性アナモルフ菌類，その新たなる特性

―特に *Beauveria bassiana* と *Lecanicillium* 属菌による植物病害抑制作用について―

帯広畜産大学　小池（こいけ）　正徳（まさのり）・相内（あいうち）　大吾（だいご）

はじめに

2008年6月，イタリアのコモ湖（ベラジオ）において，菌類を扱っている昆虫病理学者および昆虫寄生菌を扱っている菌学者が集まり，ロックフェラー財団のサポートを受け，「Entomopathogenic fungi in sustainable agriculture : use against insects and beyond」というミーティングが開催された（図−1）。奇しくも，コモ湖のあるロンバルディア州は「昆虫病理学の父」と崇められているAgostino Bassiの生まれ育った州である。幸運なことに著者の一人（小池）にも声がかかり，4日間の熱い議論に加わることができた。その成果は“Fungal Ecology”にミニ・レビューとして報告された（Vega et al., 2009）。また，このミーティングがきっかけとなり，今年初めに刊行されたBioControl 55巻1号には「昆虫寄生菌の生態学」の特集が組まれ，その号がSpringer社より“The Ecology of Fungal Entomopathogens”として出版された（Roy et al., 2010）。

昆虫寄生菌（昆虫に寄生する菌類）に関する研究の歴史は長い。しかし，害虫の防除におけるその利用頻度は，同じ昆虫病原性をもつ細菌の *Bacillus thuringiensis* に比べるとまだまだ低いのが現状である。昆虫寄生菌の防除効果に関する研究や個々の菌の病理学，生理・生態学，分子生物学に関する研究は今でも報告はなされている。ところが，上記のミーティングに参加したVegaとBlackwellが編者である“Insect-Fungal associations : Ecology and Evolution”（邦訳は“昆虫と菌類の関係：その生態と進化”，梶村ら，2007）が2005年に出版されて以来，進化学，分類学，防除対象以外の虫に対する影響，天敵や環境との相互作用，土壌中における動態等を含む生態学がまとめられた書籍はおそらく初めてであり，前述の一冊は昆虫寄生菌類を扱っている研究者には必携であろう。

本稿では，特に上記のミーティングで注目された「use against insects and beyond」のbeyondの部分，すなわち，昆虫寄生菌が害虫を防除するだけでなく，植物の病気や植物寄生性センチュウの防除にも用いることができること（Goettel et al., 2008），また微生物防除剤としての新たな可能性について述べる。特に，*Beauveria bassiana* と *Lecanicillium* 属菌についての最近の研究成果を総括する。

Biological Control Agents of Entomopathogenic Fungi（anamorphs：*Beauveria bassiana* and *Lecanicillium* spp.）against Plant Disease.　By Masanori Koike and Daigo Aiuchi

（キーワード：*Beauveria bassiana*, Entomopathogenic Fungi, *Lecanicillium* spp., 生物的防除，デュアルコントロール）

I　*Beauveria bassiana*（昆虫寄生菌，エンドファイト，土壌病原菌に対する拮抗者）

Beauveria は汎世界的な分布をする昆虫寄生菌の一属である。18～19世紀のヨーロッパでは，カイコがミイラ化して死亡する白きょう病が養蚕業を苦しめ壊滅的な被害を与えていた。この病原菌が *Beauveria bassiana* で，種名の *bassiana* はこの病原菌を発見したAgostino Bassiにちなんで命名された。彼は「*Beauveria* が感染性の病原体であり，白きょう病を引き起こす」ことを科学的に解明した。これは，病気の原因が“病原体”であることを示す先駆的な研究であり，科学史上最も重要な理論の一つである（Vega and Blackwell, 2005；梶村ら（訳），2007）。

B.bassiana は宿主範囲が広く700種以上の節足動物に対して病原性をもつことが知られており，本菌を主体とした製剤は世界中で58種類以上もあり，日本においては「ボタニガード®」が販売されている。

また，ここ数年で明らかになったことは，*B.bassiana* が，トマト，トウモロコシ，ジャガイモ，ワタ，シロバナヨウシュチョウセンアサガオ，ゴヨウマツ，オナモミ，シデ類，ケシ，ナツメヤシ，バナナ，カカオ，コーヒー等の植物体で，自然状態もしくは人工接種試験においてエンドファイトとして作用することである（Vega and Blackwell, 2005；Vega, 2008）。本菌がエンドファイトとして存在している植物体では，菌による害虫への感染は頻度としてあまり高くなく，実際には菌が感染した植物体で生産される菌の代謝産物が害虫の摂食遅延作用を起こしているようである（Leckie et al., 2008）。

さらに，最近では，*B.bassiana* が植物病原菌の生物的防除資材として作用する可能性が示されている。既に *in vitro* では，コムギ立枯病菌（*Gaeumannomyces*

図－1　Entomopathogenic Fungi in Sustainable Agriculture : Use against Insects and beyond の参加者（ロックフェラー邸，ベラジオ）
左から，Bonnie Ownley, Helen Roy, Meredith Blackwell, Fernando Vega, Judy Pell, Mark Jackson, Mark Goettel, Siegfried Keller, David Chandler, Drauzio Rangel，著者（小池），Arnulfo Monzón.

graminis var. *tritici*），トマト萎凋病菌（*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*），*Armillaria mellea*，白紋羽病菌（*Rosellinia necatrix*），灰色かび病菌（*Botrytis cinerea*），苗立枯れ病菌（*Pythium ultimum*, *P. debaryanum*, *Rhizoctonia solani*）やコムギふ枯病菌（*Septoria nodorum*）等の植物病原菌類に対して，*B.bassiana* が拮抗性を示したり，培養ろ液が植物病原菌の生育を抑制することが報告されている（Bark et al., 1996 ; Clark et al., 2006 ; Vega et al., 2009 ; Ownley et al., 2010）。また，コムギ立枯病やタマネギ乾腐病，トマトやワタの苗立枯病においては，*B.bassiana* を前処理したポット試験による発病抑制効果が認められている。

以上の報告の中で，特筆すべき系統は *B.bassiana*11－98（以下，BB－11－98）である。BB－11－98 は昆虫寄生菌としての作用をもち，生物防除資材として優れていることはもちろんであるが，植物の病害に対しても発病抑制効果のあるデュアルコントロール（害虫と同時に植物病もその発生を防ぐ）資材として注目されている。BB－11－98 の分生子をトマトとワタに種子処理（種子コーティング）すると実生においてエンドファイトとして作用し，苗立枯れ病菌（*Pythium ultimum, Rhizoctonia solani*）の感染や発病を抑制するだけでなく，根部，茎および葉の表面にエピファイト（表面定着者）としても生存し，食害する害虫類に対してもボディーガードとして働く可能性が示された（Ownley et al., 2008 ; 2010）。さらに驚くべきことに，BB－11－98 が内生しているトマトにおいては熱ストレスに対する抵抗性も付与されており，今後のさらなる研究の進展に期待したい。

Ⅱ　*Lecanicillium* 属菌（昆虫および植物寄生性センチュウに対する寄生性，植物病害の発病抑制）

最近まで，*Verticillium* 属菌は節足動物，線虫，植物，菌類など多様な宿主をもつ幅広い種を含んでいた。しかし，リボソーム RNA 遺伝子，βチューブリン遺伝子等のシークエンス解析の結果から，すべての昆虫寄生性の *Verticillium* 属は新規の *Lecanicillium* 属（*L. attenuatum, L. lecanii, L. longisporum, L. muscarium* および *L. nodulosum*）に再分類された（Zare et al., 2000 ; Gams and Zare, 2001 ; Zare and Gams, 2001）。この再分類により過去の報告では複数の種が関与していた可能性が生じており，「最近の論文では，リボソーム RNA 遺伝子のシークエンス解析をせずに，単純に属名を *Verticillium* から *Lecanicillium* へ置き換えている形跡があり，混乱を助長している」と指摘された（Sugimoto et al., 2003；小池ら，2007）。本稿では，これまでの論文で新種名が確認されていないものに限り，旧 *Verticillium lecanii* を *Lecanicillium* 属菌とした。

現在では，害虫防除のため，*Lecanicillium* 属菌を有効成分とした生物農薬は世界において少なくとも 15 種

類の製剤が流通もしくは開発中である（de Faria and Wraight, 2007）。*L. attenuatum* はポーランドではイモムシ，アメリカ合衆国では落葉（Zare and Gams, 2001），および韓国ではアブラムシから分離された（Kim et al, 2007）。また *L. lecanii* は，主にカタカイガラムシ科の一種の病原体として分離され（Zare and Gams, 2001），*L. nodulosum* は様々な昆虫類とダニ類，および朽木を栄養源とする（Zare and Gams, 2001）。

さらに *L. muscarium* は，広い宿主範囲をもち様々な分離源（主に昆虫類や菌類）に由来しており，コナジラミとアザミウマに対し Mycotal®，コナジラミとアブラムシ，ダニに対して Verticillin®が生物農薬として製剤化され販売されている。また，*L. longisporum* ではアブラムシに対し Vertalec®，コナジラミとアザミウマに対して Vertirril®が製剤化されている。Zare and Gams（2001）は，“Vertalec” として移譲された株が *L. longisporum* か *L. muscarium* のどちらかを有効成分とすることを証明した。これにより，販売当初の Vertalec は *L. muscarium* を有効成分としていたが，後に *L. longisporum* に代わったか，もしくは菌株が異なるにもかかわらず Vertalec として各国で販売されたことが推測される。しかし，製造元によると，Vertalec はより小さな分生子を形成する *L. muscarium* を有効成分としたことはなく，よって *L. muscarium* として同定された “Vertalec” は別種の混入があったか，もしくは誤同定であったと考えられている。すなわち，Vertalec は Zare and Gams（2001）に *L. longisporum* として同定された CBS102072 株のみを有効成分とし，Mycotal は *L. muscarium* のみを有効成分としている（W. Ravensberg，私信）。

Lecanicillium 属菌は，植物寄生性線虫に対しても寄生性を示し，線虫防除資材としても製剤化が期待されている。*L. psalliotae*, *L. antillanum* および他の *Lecanicillium* 属菌はネコブセンチュウ *Meloidogyne incognita* の卵に寄生する（Gan et al., 2007 ; Nguyen et al., 2007）。さらに，実験室や温室レベルでは *Lecanicillium* 属菌がダイズシストセンチュウ *Heterodera glycines*（SCN）の雌成虫，シストおよび卵に対し寄生することで，線虫密度を低下させることが認められた（Meyer et al., 1997）。また，紫外線照射によって得られた変異株は SCN に対する防除効果を増大させた（Meyer and Meyer, 1996）。さらには SCN2 期幼虫（J2）を含む成熟卵に比較すると未熟卵は菌に高い感受性を有することが示された（Irving and Kerry, 1986 ; Kim and Riggs, 1991 ; Chen and Chen, 2003）。また，Meyer et al.（1990）は *Lecanicillium* 属菌（*V. lecanii* として記載されている）のある系統は SCN 黄色雌成虫体内における健全卵数を減少させるが，シスト内の卵には影響を与えないことを示した。この系統は SCN 卵に定着することなく生育を阻害するが，他の系統でこのような現象は確認されていない。

Lecanicillium 属菌は，キュウリなどのうどんこ病（Verhaar et al., 1997; Askary et al., 1998 ; Kim et al., 2008），ムギ類のさび病（Leinhos and Buchenauer, 1992），青かび病（Benhamou and Brodeur, 2000），および苗立枯れ病（Benhamou and Brodeur, 2001）等の植物病原菌類に対して発病抑制効果を示す。*Lecanicillium* 属菌は，抗生や寄生を通して植物病原菌を防除する可能性があるとされている（Kiss et al., 2003）。また，*Lecanicillium* 属菌のある系統はうどんこ病菌の菌糸や分生子に付着し，キチナーゼなどの酵素を産出することによって，うどんこ病菌の胞子や菌糸に侵入して病原菌の生育阻害を引き起こす（Askary et al., 1998）。Leinhos and Buchenauer（1992）は，いくつかの *Lecanicillium* 属菌がライグラス冠さび病 *Puccinia coronato* の夏胞子の胞子嚢への侵入を通して葉の表面に定着可能であったことを報告した。さらに，青かび病菌 *Penicillium digitatum* に対する作用機作は，*Lecanicillium* 属菌が接触する前の宿主となる病原菌の細胞の変化にあると考えられた（Benhamou and Brodeur, 2000）。すなわち，苗立枯れ病 *P. ultimum* では植物病原菌への寄生に加え，エンドファイトとして作用し，植物の全身誘導抵抗性を引き起こすと考えられている（Benhamou and Brodeur, 2001）。

一方，筆者らは *L. muscarium* の blastospore をキュウリ根部へ接種すると，全身誘導抵抗性を引き起こすことを見いだした。*L. muscarium* を前接種した植物は対照区に比べ，うどんこ病の病斑は明らかに小さく，発生程度も軽減した（Hirano et al., 2008）。さらには，*L. muscarium* の根部処理は，土壌病害（トマト−*Verticillium dahliae*，ダイコン−*V. dahliae*，およびメロン−*Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*）において，発病率や萎凋程度を減少させることも明らかにした（楠木ら，2006；Koike et al., 2004 ; 2007）。

III *Beauveria bassiana* と *Lecanicillium* 属菌の植物病害の発病抑制機構の違い

B.bassiana と *Lecanicillium* 属菌はともに昆虫寄生菌でありながら植物病害の発病抑制効果をも担うデュアルコントロールが可能である。これらの菌は新しいタイプの生物的防除資材としての力を秘めている。さらに，その発病抑制のメカニズムは *B.bassiana* と *Lecanicillium* 属菌で異なることもわかってきた（図−2）。

図-2　昆虫寄生菌の植物病害発病抑制作用の比較（Ownley et al, 2010 より）

B.bassiana（*Beauveria* 属菌）は一連の生物活性を示す代謝産物を生産する。そして，これらの産物が *in vitro* での植物病原菌の生育を抑制すると考えられている。また，植物を用いた実験系では，土壌病原菌（*Pythium, Rhizoctonia, Fusarium*）による苗立枯れ病の発病を抑制する。*B.bassiana* は単子葉および双子葉植物の広範囲の植物種にエンドファイトとして作用することは第 II 章に述べた。さらには，ワタの種子処理によって，葉で生じる細菌性の病害に対しても全身誘導抵抗性（Induced Systemic Resistance）を導くことが明らかになった（Ownley et al., 2010）。

既に記したように，*Lecanicillium* 属菌もうどんこ病やさび病等の病害の発病を抑制することが知られている。また，植物体内にエンドファイトとして存在し，*B.bassiana* と同様にキュウリにおいてはうどんこ病に対して全身誘導抵抗性を示す。しかしながら，*Lecanicillium* 属菌は菌寄生（Mycoparasitism）が植物病原菌に対する一次的作用であるのに対し，*B.bassiana* では菌寄生作用が観察されていないのが一つの大きな違いである。

さらに，Ownley et al.（2010）は，*Beauveria* 属菌，*Lecanicillium* 属菌の植物病原菌および植物に対する作用を，植物病原菌の生物防除資材として多くの報告がある *Trichoderma* 属菌と比較した。（*Trichoderma* 属菌も *Lecanicillium* 属菌と同様に菌寄生の性質をもっているが，）彼女らは，*Beauveria* 属菌には *Trichoderma* 属菌の植物に対する作用といくつかの共通性（①広範囲の植物に内生できること，②ハイドロフォビンもしくはハイドロフォビン様分子の産出，③感染過程における MAP キナーゼの関与，④細菌性病害に対する抵抗性の付与）があることを示した。今後，これらの昆虫寄生菌における植物病害抑制機構に関する研究が進展することを期待する。

お　わ　り　に

本稿においては，筆者らが開発した *Lecanicillium* 属菌の細胞融合系統のダイズシストセンチュウに対する作用などは紙面の都合上，あえて記さなかった。これらに関する記述は BIO INDUSTRY 誌 2010 年 9 月号に掲載されているので（小池・相内，2010），そちらも参照されたい。

引　用　文　献

1）Askary, H. et al.（1998）: Biocon Sci Tech. **8** : 23 ～ 32.
2）Bark, Y. G. et al.（1996）: Korean J. Plant Pathol. **12** : 245 ～ 250.
3）Benhamou, N. and J. Brodeur（2000）: Phytopathology **90** : 932 ～ 943.
4）――――・――――（2001）: Physiol Mol Plant Pathol. **58** : 133 ～ 146.
5）Chen, S. and F. Chen（2003）: J. Nematol. **35** : 271 ～ 277.
6）Clark, M. M. et al（2006）: Phytopathology **96** : S25.
7）de Faria, M. and S. Wraight（2007）: Biol Control **43** : 237 ～ 256.
8）Gams, W. and R. Zare（2001）: Nova Hedwigia **72** : 329 ～ 337.
9）Gan, Z. et al.（2007）: Appl. Microbiol. Biotechnol. **76** : 1309 ～ 1317.
10）Goettel, M. et al.（2008）: J. Invertebr Pathol. **98** : 256 ～ 261.
11）Hirano, M. et al.（2008）: Res Bull Obihiro Univ. **29** : 83 ～ 95.
12）Irving, F. and B. Kerry（1986）: Nematologica **32** : 474 ～ 485.
13）Kim, D. and D. Riggs（1991）: J. Nematol. **23** : 275 ～ 282.
14）Kim, J. et al.（2007）: Biol Control **40** : 327 ～ 332.
15）――――（2008）: ibid **45** : 404 ～ 409.
16）Kiss, L. et al.（2003）: Pest Manag Sci. **59** : 475 ～ 483.
17）Koike, M. et al.（2004）: IOBC wprs Bulletin **27** : 41 ～ 44.
18）――――― et al.（2007）: US National Phase Appl. No. 11/568, 369, 371(c).
19）小池正徳ら（2007）: 応動昆 **51** : 234 ～ 237.
20）――――・相内大吾（2010）: BIO INDUSTRY **27** : 34 ～ 41.
21）楠木　芳ら（2006）: Res Bull Obihiro Univ. **27** : 99 ～ 107.
22）Leckie, B. et al.（2008）: Biocont Sci. Tech. **18** : 697 ～ 710.
23）Leinhos, G. and H. Buchenauer（1992）: Z Pflanzenkr Pflanzenschtz **99** : 482 ～ 498.
24）Meyer, S. et al.（1990）: J. Nematol. **22** : 532 ～ 537.
25）――――― et al.,（1997）: ibid. **29** : 282 ～ 288.
26）――――― and R. Meyer（1996）: Fundam. Appl. Nematol. **19** : 305 ～ 308.
27）Nguyen, N. et al.（2007）: Biocontrol Sci. Tech. **17** : 1047 ～ 1058.
28）Ownley, B. et al.（2008）: J. Invertebr Pathol. **98** : 267 ～ 270.
29）――――― et al.（2010）: BioControl **55** : 113 ～ 128.
30）Roy, H. et al. ed.（2010）: The Ecology of Fungal Entomopathogens, Springer, 198 pp.
31）Sugimoto, M. et al.（2003）: J. Invertbr Pathol. **82** : 176 ～ 187.
32）Vega, F. and M. Blackwell ed.（2005）: Insect-Fungal associations : Ecology and Evolution, Oxford University Press（梶村ら訳，2007，昆虫と菌類の関係：その生態と進化，共立出版）.
33）――――（2008）: J. Invertbr Pathol. **98** : 277 ～ 279.
34）――――― et al.（2008）: Biological Control **46** : 72 ～ 82.
35）――――― et al.（2009）: Fungal Ecol **2** : 149 ～ 159.
36）Verhaar, M. et al.（1997）: Biocontrol Sci. Tech. **7** : 543 ～ 551.
37）Zare, R. et al.（2000）: Nova Hedwigia **71** : 465 ～ 480.
38）――――― and W. Gams（2001）: Nova Hedwigia **73** : 1 ～ 50.