

イネいもち病の細胞学的研究

Ⅲ. いもち病の防除

古賀博則

Hironori KOGA:

Cytological aspects of infection by the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*

Ⅲ. Control of rice blast disease

はじめに

「中頸城郡誌」は越後国頸城郡の歴史を記載したもので、災異に関する諸記録のなかに寶永6年(1709年)と天明3年(1783年)にいもちが大発生し凶作となったことが記されている⁶⁾。特に天明3年は「気候不順。田畑収穫皆無。信州浅間山噴火シ砂石関東ニ降り、煙灰越後ニ及べり」とあり、さらに冷水のかかる村々ではいもち、からげ虫(独立行政法人農業・生物系特定産業技術研究機構中央農業総合研究センター北陸研究センター虫害研究室の高橋明彦氏によれば、イネツトムシと推定される)が発生して大凶作となったと記してある。おそらくこれらの年は、冷害とそれが誘因となって大発生したいもち病によって収穫がほとんど得られなかったと推測される。

このような冷害やいもち病の大発生は過去のことではなく、昭和51, 55, 57, 63年, 平成3, 5年にも起きている。特に平成5年は、収穫皆無に近い圃場が東北各県で見られた。冷害のひどかったところでは、収穫期なのに稔っていない青い穂がまっすぐに立っており、それより標高の少し低いところでは、いもち病ですすきのように真っ白になった穂が一面を覆っているのが諸処で見られた。今後も、このようないもち病の大発生は充分にありうると予測される。

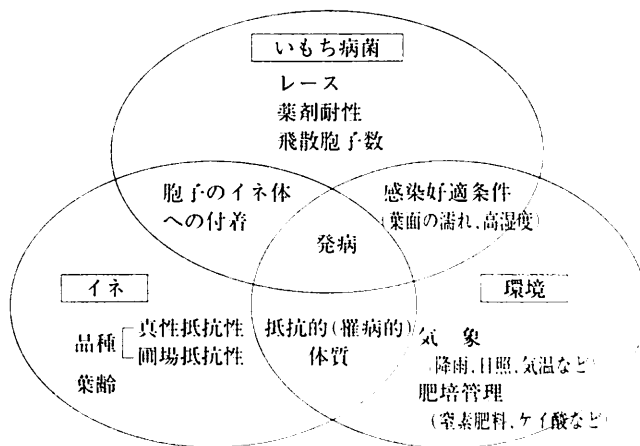
農薬のなかった時代は、神に祈るしかなかったわけで、いもち病をはじめとする種々の病害虫が大発生した時には、どんなに心細かったことであろう。戦後、合成農薬によって病害虫が防除できるようになり、安定した生産が得られるようになってきた。しかし反面、農薬の環境に及ぼす影響が問題視されている。

ここでは、防除に当たっての基本的な考え方を紹介し、現在使用されているいもち病防除薬剤のうちのメラ

ニン合成阻害剤と全身獲得抵抗性の誘導剤について、その作用部位を電子顕微鏡で観察した結果について述べる。

1. いもち病の発生に関わる要因

いもち病が発生する要因として、イネおよびいもち病菌、それに環境要因の3つが大きく関わっている。このことを模式的に示したのが第1図である。これに農薬施用など人為的な制御を加えたのが、圃場での実際の発病経過ということになる。イネそのものの要因としては、真性抵抗性や圃場抵抗性を持っているかどうか? 葉齢はどこまで進んでいるか? それに対して、圃場に存在するいもち病菌はどのレースに属するか? イネの持つ真性抵抗性はレースによって抵抗性となるか感受性となるかが決まっている。薬剤耐性があるかどうか? 薬剤耐性菌であれば、同じ作用機作をもつ農薬の使用は止めて、他の作用機作をもつ農薬に切り替える必要がある。圃場に飛



第1図 いもち病の発病に関わる要因

散している胞子の量はどれだけか？伝染源となる胞子量によって被害量は大きく左右される。

いもち病の感染に著しく影響するのが、環境要因である。とりわけ降雨や気温などの気象要因と土壌中の窒素濃度は発病に多大な影響を及ぼす。いもち病菌がイネ体に侵入するためには、葉面が長時間濡れている必要があるため、降雨時間は侵入率と密接に関わっている¹¹⁾。病斑上に分生子柄ができて、そこに胞子が形成されるためには高湿度が必要である。こういった葉面の濡れや高湿度などは、いもち病菌の感染に不可欠な条件で、発生予察でもっとも重要視されている。

一方、窒素肥料の施肥が多いとイネは過繁茂して軟弱となる。また、冷害時などのように低温寡照が続くと、やはりイネは軟弱となり、いもち病に対して抵抗力が劣った罹病的体質となることが知られている。逆に、好天が続くとイネは急速に抵抗的体質になる。ケイ酸の施用もイネを抵抗的にすることが報告されている。このように、圃場のイネが抵抗的あるいは罹病的体質であるかどうか発病するか否かを左右する重要な要因となっていると考えられる。いもち病の防除に当たっては、これらの要因を常に念頭においておく必要があるだろう。

2. 防除薬剤の作用機作

戦後の食糧増産の時期に、いもち病の防除薬剤として使用されたのは、有機水銀剤に消石灰を加えた「酢酸フェニル水銀（セレサン）」であった。1953年から使用

が始まり、卓効を示したが、収穫物に水銀が残留することが明らかとなり、人体への影響の恐れから1968年に使用中止となった¹⁰⁾。1965年頃より、農薬の食品中への残留や環境に及ぼす影響などが大きな社会問題となったことから、毒性が小さく、選択性が大きく、かつ環境内で分解されやすく残留しない農薬の開発が行われてきた（第1表）。

農業用抗生物質としてブラストサイジンS剤（商品名：ブラエス）、それに続いてカスガマイシン剤（カスミン）が開発され、ともにいもち病菌のタンパク質合成過程を阻害する。有機リン系統の化合物として、EDDP剤（ヒノザン）とIBP剤（キタジンP）が実用となり、いずれもリン脂質合成を阻害する。有機リンや塩素を含まない有機イオウを含むイソプロチオラン剤（フジワン）も、その作用機作はリン脂質合成の阻害である。

現在いもち病防除薬剤でもっとも多いのが、メラニン合成阻害剤である。このメラニン合成阻害剤はさらに、作用性が還元酵素型であるフサライド剤（ラブサイド）、トリシクラゾール剤（ビーム）、ピロキロン剤（コラトップ）と、脱水酵素型であるカルプロアミド剤（ウイン）、ジクロメット剤（デラウス）、フェノキサニル剤（アチーブ）に分けられる。アゾキシストロビン剤とメトミノストロビン剤はいもち病菌の呼吸を、フェリムゾン剤は膜の透過機能を阻害すると推定されている。これらの薬剤に対して、プロベナゾール剤（オリゼメート）とアシベンゾラルS剤（バイオン）、それにブイ

第1表 作用機作の違いによって分けたいもち病薬剤

作用機作	殺菌剤(商品名)
いもち病菌のタンパク質合成阻害	ブラストサイジンS剤(ブラエス) カスガマイシン剤(カスミン)
いもち病菌のリン脂質合成阻害	EDDP剤(ヒノザン) IBP剤(キタジンP) イソプロチオラン剤(フジワン)
いもち病菌のメラニン生合成阻害 還元酵素阻害型	フサライド剤(ラブサイド) トリシクラゾール剤(ビーム) ピロキロン剤(コラトップ)
脱水酵素阻害型	カルプロアミド剤(ウイン) ジクロメット剤(デラウス) フェノキサニル剤(アチーブ)
いもち病菌の呼吸阻害	アゾキシストロビン剤(アミスター) メトミノストロビン剤(オリブライト)
いもち病菌の膜の透過機能障害(推定)	フェリムゾン剤(ブラシンの成分の一つ)
イネへの全身獲得抵抗性の誘導	プロベナゾール剤(オリゼメート) アシベンゾラルSメチル剤(バイオン) ブイゲット剤(チアジニル)

注) 農薬ハンドブック2001年版 より

ゲット剤（チアジニル）はいもち病菌に直接抗菌性を示すことはなく、宿主のイネに全身獲得抵抗性を誘導することによって、いもち病を防除するという新しい型の防除薬剤である⁷⁾。

3. メラニン合成阻害剤の作用部位の電顕観察

メラニン合成阻害剤の作用部位を電子顕微鏡で最初に観察したのは、Woloshuk et al.⁹⁾であった。彼らは *Bryophyllum pinnatum* (最新園芸大辞典⁸⁾によるとカラコンゴと近縁の植物)の剝離表皮にトリシクラゾールを吸収させると、いもち病菌の付着器がメラニン層を形成しないことを明らかにした。その後、Howards et al.^{1,2)}は人工膜上でメラニン合成欠損の突然変異株に付着器を形成させ、それがメラニン層を形成していないことを電顕観察している。また、侵入部位にかかる膨圧は約80MPa (80気圧)で、大気圧下で生息する生物が発生する圧力としてもっとも高いものであることを明らかにしている³⁾。しかしこれまで、メラニン合成阻害剤を根から吸収させたイネ体で、感染阻害部位を電顕で観察した報告は見当たらない。

ジクロシメット粒剤 (1 kg/10a) を接種23日前に株元に処理し、葉鞘裏面にいもち病菌を接種した試料を固定して、電顕観察したのが第3図である。無施用の対照区では、付着器にメラニン層が形成されており、いもち病菌のイネ体への侵入が認められた (第2図)。それに対して、薬剤施用区ではメラニン層が形成されることはなく、侵入糸の形成も認められなかった (第3図)。侵入糸が表皮細胞の細胞壁を貫穿していれば、表皮細胞内に沈積物 (パピラ) が形成される (第2図) が、薬剤施用区では表皮細胞内に何ら反応は認められなかった (第3図)。このことは薬剤施用区では表皮細胞壁が貫穿を受けていないことを支持している。また、変性、崩壊した付着器も認められたが、それもこの薬剤の作用かどうかについては今後の検討が必要である。

4. 全身獲得抵抗性誘導剤の作用部位の電顕観察

プロベナゾール剤は1974年に農薬登録され、優れたいもち病防除効果によって広く使用されている。これまでの農薬がいもち病菌そのものに直接作用して、侵入や菌糸伸展、それに胞子形成などを阻害するものであった。それに対し、この剤は宿主であるイネに作用して全身獲得抵抗性を誘導させ、その結果いもち病菌の伸展に対して宿主の防御機構が活性化するという特徴がある。これ

までの研究で、プロベナゾール剤を処理したイネでは全身獲得抵抗性のシグナル伝達系がより活性化され、それにより防御反応が速やかに始まり、いもち病菌の伸展を阻害するものと説明されている⁴⁾。

電子顕微鏡による観察では、無処理区では菌糸が葉身全体に蔓延していた (第4図) のに対し、薬剤処理区では侵入菌糸の伸展が抑制されていた (第5図)。被侵入細胞は壊死し、細胞内容物が崩壊することにより、顆粒が形成されていた。

さらに、薬剤の作用過程を明らかにするために、根と葉身を付けた状態の葉鞘の内側にいもち病菌を接種し、経時的に光顕観察した。その結果、コシヒカリのような感受性品種のイネにも抵抗性を起こす機構が存在し、プロベナゾール剤を施用した場合には、この本来備わっている抵抗性が感染の早い時期に強く発現して、いもち病菌の伸展を阻害しているものと推測された⁵⁾。この感受性品種での抵抗性反応と、抵抗性品種で観察される過敏反応との相違などは、今後さらに追究すべき課題である。

おわりに

ここでは、メラニン合成阻害剤と全身獲得抵抗性誘導剤による感染阻害場面を電顕観察した結果の一端を紹介した。農薬の作用がどのように起きているかは、生化学的な研究の他に光学顕微鏡そして電子顕微鏡による詳細な観察を並行して行うことが求められているように思われる。生化学では得られないいもち病菌の変性の状況やイネの細胞反応がそれらによって観察できるからである。

メラニンやリン脂質などの合成系を農薬が阻害することによって防除効果があると報告されている⁷⁾。しかし、投与された農薬が実際の感染場面でどのように分布しているのか? など、分かっていない場合がほとんどであろう。現在、免疫電顕や酵素組織化学などの手法もすでに確立しており、農薬の作用機作をより一層明らかにするためには、こういった方面からもアプローチする必要があるのではないだろうか。この研究は、無駄なく、より効果的に作用する農薬の開発へとつながっていくようにも思われる。

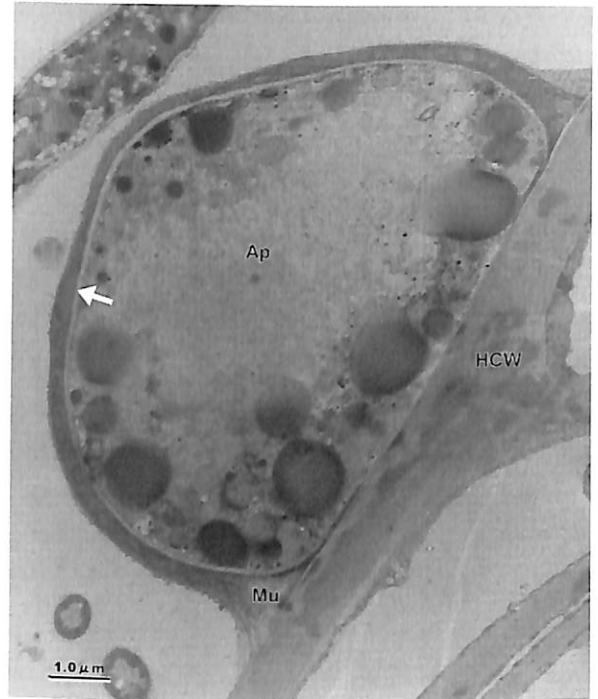
謝辞 資料をご提供いただいた近畿中国四国農研センターの宮川久義室長に感謝の意を表す。



第2図 無施用対照区のイネ葉鞘裏面表皮細胞（接種25時間後）

付着器（Ap）の原形質膜と細胞壁の間には電子密度の高いメラニン層（MLの矢印）が認められる。付着器の下部の中央から侵入糸（PP）が突出し、細胞壁（HCW）を貫穿しており、宿主表皮細胞（EC）内には沈殿物（WA）が形成されている。Cu：クチクラ層、HPM：宿主原形質膜、M：ミトコンドリア、Mu：粘質物、N：核

（Koga, H. (1994). Can. J. Bot. 72 : 1463~1477より）



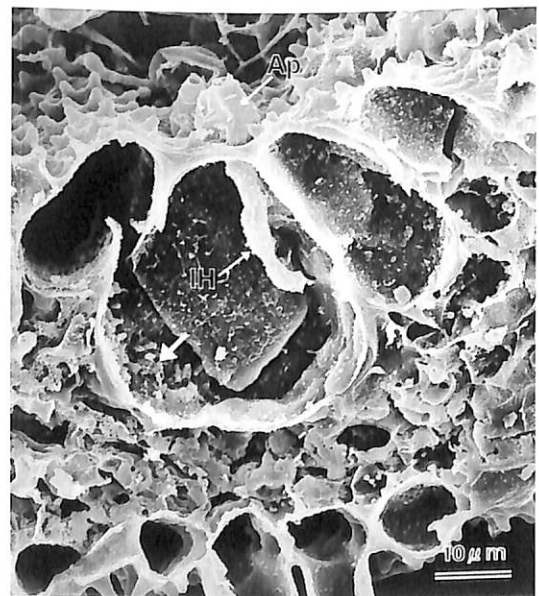
第3図 ジクロメット剤（1 kg/10a）を株元処理したイネ葉鞘裏面表皮細胞（接種25時間後）

付着器にメラニン層（矢印）の形成は認められない。また、侵入糸の形成も表皮細胞内での沈積物の形成も認められない。



第4図 無施用対照区のイネ葉身（接種72時間後）

表皮及び葉肉細胞で、いもち病菌の侵入菌糸（IH）が伸展している。Ap：付着器



第5図 プロベナゾール剤20%粒剤（1 kg/10a）水面施用のイネ葉身（接種72時間後）

侵入菌糸は葉肉細胞まで伸展することなく表皮細胞で止まっている。一方、被侵入表皮細胞は壊死し、細胞内容物が崩壊することにより、顆粒（矢印）が形成されている。

引用文献

- 1) Howard, R. J. (1994) Cell biology of pathogenesis. *In* Rice blast disease. (edited by Zeigen, R. S, Leong, S. A. and Teng, P.S.), 3~22, CAB International & IRRI, University Press, Cambridge.
 - 2) Howard, R. J., Bourett, T. M. and Ferrari, M. A. (1991) Infection by *Magnaporthe* : an in vitro analysis, *In* Electron microscopy of plant pathogens. (edited by Mendgen, K. and Lesemann, D.-E.), 251~264, Springer-Verlag Berlin, Germany.
 - 3) Howard, R. J., Ferrari, M. A., Roach, D. H. and Money N. P. (1991) Penetration of hard substrates by a fungus employing enormous turgor pressures. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88 : 11281~11284.
 - 4) 岩田道顕 (2003) プロベナゾール, 日本の農薬開発 (佐々木満ら編), 195~208, ソフトサイエンス社, 東京.
 - 5) 古賀博則・中谷内 修 (2002) イネいもち病菌の感染に対するプロベナゾールの全身獲得抵抗性の非切断葉鞘裏面接種法による細胞学的解析. *日植病報* 69 : 57.
 - 6) 新潟県中頸城郡教育会 (1941) 中頸城郡誌第4巻, 第7章 災異に関する諸記録 1524~1531.
 - 7) 農薬ハンドブック2001年版編集委員会編 (2001) 農薬ハンドブック2001年版, pp.941, 日本植物防疫協会, 東京.
 - 8) 最新園芸大辞典編集委員会 (1983) カランコエ属 最新園芸大辞典 第6巻, 138~143, 誠文堂新光社, 東京.
 - 9) Woloshuk, C. P., Sisler, H. D. and Vigil, E. L. (1983) Action of the antipenetrant, tricyclazole, on appressoria of *Pyricularia oryzae*. *Physiol. Plant Pathol.* 22 : 245~259.
 - 10) 山口 勇 (2003) 2. 殺菌剤の変遷. 日本の農薬開発 (佐々木満ら編), 18~32, ソフトサイエンス社, 東京.
 - 11) 吉野嶺一 (1987) 感染生態. 稲いもち病 (山中達・山口富夫編), 77~100, 養賢堂, 東京.
-