

芝草のエンドファイト感染による 病虫害軽減について

農林水産省 草地試験場

主任研究官

古賀博則

1 エンドファイトの発見

エンドファイト(endophyte)という言葉はendo=within と phyte=plant の合成語で、「植物体内で共生的に生活している微生物」という意味です。

エンドファイトは今から百年ほど前に麦畑の雑草であるドクムギの種子で発見され、4,400年前のエジプトのファラオの墓にあった種子からも見出されています。ドクムギはその名が示すように、その当時から家畜に中毒を起こすことが知られていました。しかし、エンドファイトが家畜中毒の原因であることが分かったのは今から十数年前で、アメリカ合衆国やニュージーランドで多大な損害をもたらしているライグラススタグガーやフェスクトキシコーシスと呼ばれている家畜中毒の原因解明によってでした。

その後、研究が進むにつれて、エンドファイトに感染した植物は家畜毒性を持つ反面、病虫害に抵抗性を持つこと、乾燥などの環境ストレスに強くなることが分かってきました。そして、

エンドファイトを生物防除手段として積極的に活用しようという研究が盛んになってきています。

2 エンドファイトとは？

1) エンドファイトの種類

芝草の主要なエンドファイトの種類を表1に示しました。これらのエンドファイトは、その生活史で子座（菌糸が層状や塊となったもので、そこに分生子や子のう胞子を形成します。写真1はチモシーがまの穂病の子座）を形成するかどうかで2つのタイプに分けられます。すなわち、1つは子座を形成することなく、一生を植物体内で過ごす *Acremonium* エンドファイト（写真2）で、もう1つは子座形成のために植物体外で1時期を過ごすことがある子座形成エンドファイトです。

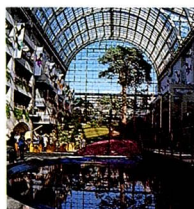
表1 芝草の主要なエンドファイトとそれらの感染によって付与される有用機能

寄主植物（由来）	エンドファイトの種類	付与される有用機能
ペレニアルライグラス	<i>Acremonium lolii</i>	耐虫性・耐乾性
トールフェスク	<i>Acremonium coenophialum</i>	耐虫性・耐線虫性・耐病性・耐乾性
チューイングフェスク	<i>Epichloe typhina</i>	耐虫性
ハードフェスク	<i>Epichloe typhina</i>	耐虫性
イタリアンライグラス	<i>Acremonium like sp.</i>	

牧草と園芸・平成5年(1993年)11月号

目次

第41巻第11号(通巻489号)



国内最大級屋内緑化空間
「サッポロファクトリー
アトリウム」(札幌)
(雪印種苗・緑化造園部施工)

<土壌分析を役立てていますか？>

現場型土壌学をどのように組み立て、どう普及するか…関 祐二…表②

■芝草のエンドファイト感染による病虫害軽減について……………古賀 博則… 1

■乳牛の牛群改良「ABC」……………伊藤 晃… 6

■農薬に頼らない線虫対策

—対抗植物の線虫密度抑制効果、その現状と課題……………鳥越 博明…14

ハイドロカルチャーシステムによる

人工地盤緑化工法・レカオアシス……………鈴木 玲…17

<土壌分析・診断を役立てよう!!>

今の農業現場に必要なのは「土の科学」を

きちんと学べるチャンス……………関 祐二…表③

アルファルファ・コーティング種子……………表④



写真1 チモシーの止葉葉身の下部と葉鞘部にちょうど“がまの穂”のように形成された菌糸層(子座)。この菌は通常はエンドファイトとして植物体内に共生しているが、植物の開花期にこのように出穂を妨げるため、採種圃場で問題となっている

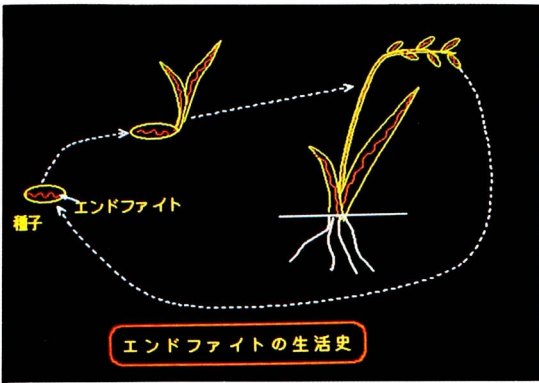


写真2 *Acremonium* エンドファイトの生活史

ペレニアルライグラスとトールフェクスのエンドファイトは *Acremonium* エンドファイトで、家畜中毒の原因となる反面、感染植物に耐虫性や耐乾性を付与するものが見出されています。このため、この両植物のエンドファイトは家畜毒性と耐虫性付与の両面から最も研究されています。

チューイングフェスクやハードフェスクのエンドファイト (*Epichloe typhina*) は子座形成エンドファイトに属します。このタイプのエンドファイトに感染した植物も耐病虫性を持つようになることが報告されています。

イタリアンライグラスにもエンドファイトは見

い出されていますが、それが植物に及ぼす影響についてはまだ分かっていません。

2) エンドファイトの生活環

感染種子内にいる *Acremonium* エンドファイトは写真2のように、種子の発芽そして幼苗の生育と同時に植物体内で伸展し、植物が種子を結実させるとエンドファイトも種子内へと伸展します。このように、エンドファイトは感染種子から植物へ、そこでまた種子に移行するという一生を送ります。このため、エンドファイトは感染種子を採種するだけで容易に増殖することができます。また、エンドファイト感染による耐病虫性などの付与は植物が枯死するまで持続するという利点があります。

子座形成時期を除くと、エンドファイトは植物体内だけにおり、植物体内で胞子を形成することはありません。このため、子座を形成しないエンドファイトは自然界で他の植物に感染することはないと考えられています。

エンドファイトの菌糸は植物体内のほとんどの部位で伸展しています。ただし、根だけは例外で、エンドファイトはほとんどいないといわれています。菌糸は宿主細胞内に侵入することではなく、細胞と細胞のすきま(写真3)や稈や穂くびの髄腔面

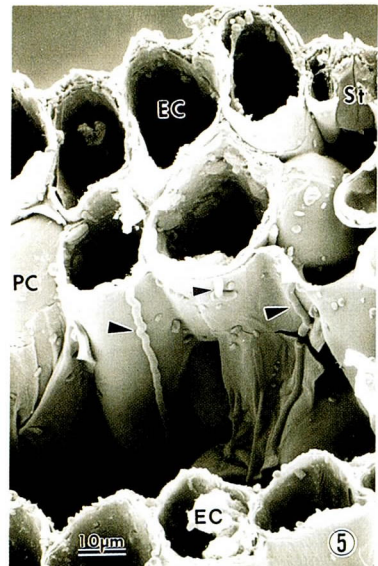


写真3 トールフェスク葉鞘の細胞間隙を伸展しているエンドファイト菌糸(矢印)
EC: 表皮細胞, PC: 葉肉細胞, ST: 気孔

上を伸展しています。しかし、菌糸がその周囲の植物細胞に被害を及ぼしているようには見うけられません。

種子内のエンドファイトは高温・多湿の条件下では短時間で死滅し、常温でも1年間で大部分が死滅してしまいます。しかし、低温・乾燥条件下で保存した種子では、エンドファイトは1年経ってもほとんどが生きており、15年後でも生存していたという報告があります。

3) エンドファイトの検出方法

通常、エンドファイトに感染した植物は病徴を示さないので、エンドファイトの検出は肉眼ではできません。そこで、エンドファイト感染の有無を知る方法として、種子や葉鞘などの植物組織内の菌糸を光学顕微鏡によって観察する方法、ELISA法（酵素標識抗体法）による方法、培地上でのエ

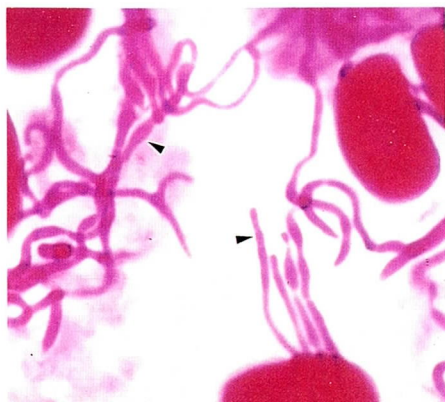


写真4 トールフェスク種子の糊粉層上のエンドファイト（矢印）の光学顕微鏡写真

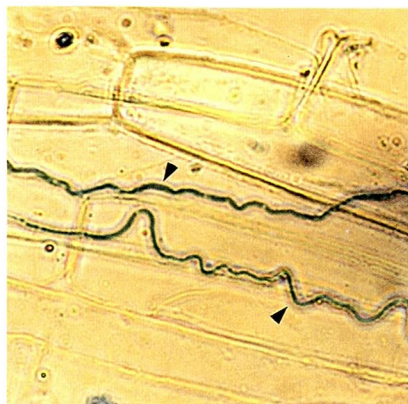


写真5 ペレニアルライグラス葉鞘内の *Acremonium* エンドファイト（矢印）の光学顕微鏡写真

ンドファイトの分離・培養による方法など数種の検出方法があります。

種子内のエンドファイトを観察するためには、一晚5%水酸化ナトリウム水溶液に浸し、水洗後に染色して観察します（写真4）。この方法だと、すでに死んでしまったエンドファイトも検出されてしまいます。生きているエンドファイトのみを検出するためには、幼苗の葉鞘裏面を剥離して観察します（写真5）。

しかし、植物があまりにも細いとか小さい場合には、葉鞘裏面の剥離が難しく、顕微鏡観察ができない場合があります。また、顕微鏡観察では組織内に伸展しているエンドファイトの菌体量を定量化することができません。この点、ELISA法はこれらの欠点を補うことができ、抗エンドファイト抗血清を作製することにより、ELISA法でエンドファイト感染の有無を感度よく迅速に判定することができます。

また、表面殺菌した植物組織からエンドファイトを分離・培養する方法があります。この方法はエンドファイト菌糸の伸展が極めて遅いため月日がかかりますが、エンドファイトの分離・同定には欠かせません。写真6は移植後64日目のエンドファイトの菌叢です。菌叢上には多くの場合、分類の決め手となる分生子が形成されます。

このほかに、代謝産物を検出する方法や昆虫を利用してエンドファイト感染の有無を検出する方

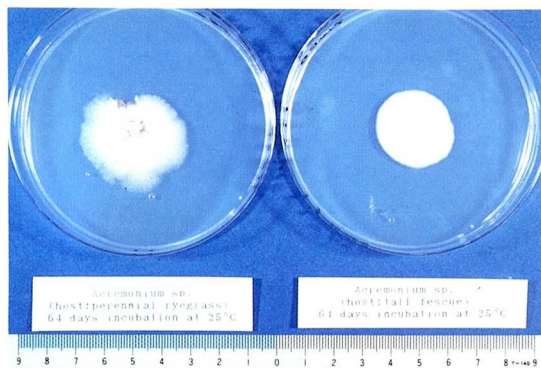


写真6 エンドファイトの菌叢（PDA培地上で25°Cで64日間培養）

左：ペレニアルライグラスから分離した *Acremonium lolii*

右：トールフェスクから分離した *A. coenophialum*

法があります。エンドファイトに感染した植物はある特定の昆虫に対して摂食阻害や殺虫作用を示すため、これを利用してエンドファイト感染の有無を知ることができます。

3 耐虫性付与

エンドファイトに感染した植物は多種の害虫に耐虫性を持つことが知られています(表2)。わが国ではエンドファイトに感染したペレニアルライグラスやトールフェスクが芝草の重要害虫であるシバツトガに顕著な耐虫性を示すことが明らかにされました(神田ら, 1992)。圃場および飼育容器内での調査の結果、シバツトガ幼虫(写真7)による被害はエンドファイト感染率の高い品種では少なく、感染率の低い品種では被害が多かった(写真8)。エンドファイトに感染した植物が耐虫性を

表2 エンドファイト感染によって耐虫性付与が報告されている植物およびその加害虫¹⁾

昆 虫	植 物 ²⁾	エンドファイト ²⁾
<i>Crambus spp.</i> (ツトガの一種)	PRG ³⁾	A.I.
<i>Listronotus bonariensis</i> (オサゾウムシの一種)	PRG, TF ³⁾	A.I., A.c.
<i>Sphenophorus parvulus</i> (オサゾウムシの一種)	PRG ³⁾	A.I.
<i>Spodoptera frugiperda</i> (ツマジロクサヨトウ)	PRG, TF	A.I., A.c.
<i>Acheta domesticus</i> (コオロギの一種)	PRG, TF	A.I., A.c.
<i>Rhopalosiphum padi</i> (ムギクビレアブラムシ)	TF	A.c.
<i>Schizaphis graminum</i> (ムギリドリアブラムシ)	PRG, TF, HF, CF	A.I., A.c., E.t.,
<i>Oncopeltus fasciatus</i> (カメムシの一種)	TF	A.c.
<i>Blissus leucopterus hirtus</i> (カメムシの一種)	CF ³⁾	E.t.
<i>Heteronychus arator</i> (コガネムシの一種)	PRG ³⁾	A.I.
<i>Draculacephala antica</i> (オオヨコバイの一種)	TF ³⁾	A.c.
<i>Chaetocnema pulicaria</i> (トビハムシの一種)	TF ³⁾	A.c.

1) Siegelら(1987)より引用。

2) TF: トールフェスク, PRG: ペレニアルライグラス, CF: チューイングフェスク, HF: ハードフェスク, A.c.: *Acremonium coenophialum*, A.I.: *A. lolii*, E.t.: *Epichloe typhyna*.

3) 圃場調査に基づいた結果。



写真7 シバツトガの幼虫
(提供・農水省草地試験場 平井剛夫氏)

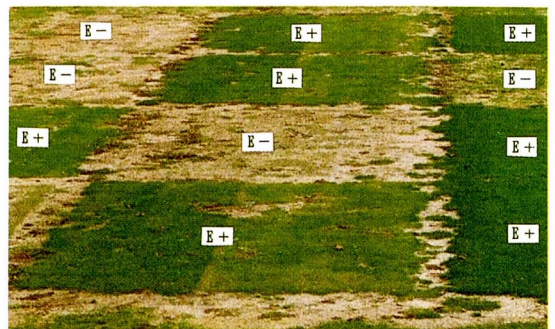


写真8 シバツトガの加害を受けたペレニアルライグラスの品種試験圃場。エンドファイト感染率の高い品種(E+)はほとんど被害を受けていなかったが、エンドファイトが感染していない品種(E-)はシバツトガに食べ尽くされていた

持つ機構については、ムギミドリアブラムシやオサゾウムシの一種などに対してはアルカロイドの一種であるペラミンが忌避効果を示すことが実験的に証明されています。また、ムギクビレアブラムシやオオヨコバイの一種などに対しては、ロリンアルカロイドが摂食阻害を起こすことが知られています。しかし、シバツトガに対する耐虫性物質については、現在のところ、上述の既知物質と同一物質か否か明らかにされていません。

4 病害抵抗性の付与

島貫(1987)と但見(1991)は、エンドファイトに感染したチモシー(子座形成時期は写真1のようにがまの穂病となる)が斑点病や黒さび病に対して抵抗性になることを明らかにしました。最近、エンドファイトに感染したトールフェスクが

植物病原菌である *Rhizoctonia zea* に対して抵抗性になることが報告されています。

エンドファイト感染による耐病性付与の例は、現在のところ、害虫の場合のように多くはありません。しかし、シャーレ内での対峙培養試験によって、抗菌性を持つエンドファイトが多数見出されていることから、今後、耐病性付与の例は増えていくものと考えられます。

5 人工接種による耐病虫性付与

耐病虫性など有益な機能を持ったエンドファイトは、植物への人工接種にいったん成功すれば、その植物は枯死するまでその機能を発揮するものと考えられます。また、先に述べたように、その植物を結実させることによって、エンドファイト感染種子を容易に殖やすことができます(写真2)。エンドファイトの人工接種は通常の植物病原菌で行われている方法では成功例がなく、現在のところ、幼苗の分裂組織に菌体を付傷接種する方法とカルスに接種する方法で成功しています。写真9に幼苗の分裂組織に培地上で培養したエンドファイトの菌糸(写真6)を付傷接種する方法を示しました。この方法でペレニアルライグラスとトールフェスクから分離したエンドファイトを非感染のそれぞれの植物に接種した結果、7~33%の植物に感染が認められ、それらはシバツタガに対して耐虫性を発揮することが確認されました。カルス接種でも、エンドファイトをペレニアルライグラスとトールフェスクに感染させることができたことが報告されています。

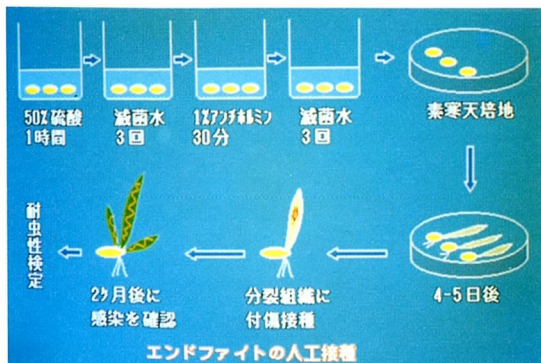


写真9 エンドファイトの人工接種の模式図

このように、エンドファイトの人工接種はペレニアルライグラスやトールフェスクなど一部の植物に対しては成功しています。しかし、わが国で主要な芝草であるベントグラス、コウライシバ、ノシバなどでは、エンドファイトは見い出されておられません。したがって、今後、これらの植物に人工接種によってエンドファイトをいかに感染させるかが課題となっています。

6 今後の利用展望

エンドファイトに感染したペレニアルライグラスやトールフェスクなどは、先に述べましたように、家畜中毒の原因となります。これらの植物は芝草としても、また、牧草としても利用されています。したがって、エンドファイトに感染した芝草の種子が牧草地に入り込まないように細心の注意を払うのは言うまでもないことです。

最近、家畜毒性がなくて耐虫性のみあるエンドファイト(このようなエンドファイトは家畜に安全=safeということから、エンドセーフ=end-safeと呼ばれています)が自然界で見い出されました。現在、このエンドファイトを牧草に人工接種することによって、耐虫性の牧草を育成しようという研究が行われています。このようなエンドセーフが芝草でも利用されるようになれば、芝草種子の牧草地への混入も特に問題とならないようになるでしょう。

エンドファイトはイネ科植物の76属250種という多くの植物で見い出されており、今後も、この数は増えていくものと思われます。しかし、ごく一部のエンドファイトを除いては、ほとんど研究されていないのが実状です。

今後の研究によって、種々のエンドファイトについて、それらの持つ有益な機能が明らかにされていくものと思われます。

さらに、エンドファイトの耐病虫性などの有益面を支配する遺伝子を解明できれば、作物への遺伝子組換えも夢ではありません。

今後、エンドファイトは芝草に有用機能を付与する微生物遺伝資源として、幅広く貢献するものと考えられます。