

会 長 講 演

生物防除研究の現状と展望[†]

百町 満朗*

HYAKUMACHI, M.*: Research on biological control of plant diseases: Present state and perspective



生物防除研究とは「生物を用いて病原菌の感染密度または病気を引き起こす活性を減少させること」を目指したものである (Baker and Cook, 1974). 特に、「フィールドでみられる生物防除の現象を取り入れ、解析し、その機構を生産現場へ応用する」研究に主眼が

置かれている。生物防除剤（微生物農薬）を用いるメリットには、①農薬使用回数にカウントされない、②薬剤耐性菌、耐性虫が発生しにくい、③対難防除病害の突破口となるなどがあるが、これらは2006年の食品衛生法改正に伴う農薬総使用回数の規定、薬剤耐性菌・耐性虫の発生、および土壌病害などの難防除病害対策、といった現在直面している課題を解決する役割を担っている。

日本で農薬登録された微生物農薬は2010年段階で26剤あるが、その内訳は、細菌製剤が15剤、糸状菌製剤が10剤、ウイルス製剤が1剤となっている。細菌では *Bacillus* や *Pseudomonas*, 糸状菌では *Trichoderma* や *Talaromyces*, ウィルスでは弱毒ウィルスが主に用いられている。これら微生物農薬は、ほとんどがここ10年の内に開発されてきている。

害虫を対象とした天敵製剤と病害を対象にした微生物防除剤の、日本における1997年から2006年の売り上げを比較すると、天敵製剤は3倍に伸びているが、微生物防除剤は15倍にまで伸びており、微生物防除剤の利用が近年急速に広まっていることが分かる。

生物防除研究は、基礎研究として①生物防除エージェント (biological control agent: BCA) の探索、②BCAの活性増強・安定化、および③防除機構の解析、があり、応用研究として①製剤技術の開発や②防除体系の確立、があるなど、研究の宝庫である。

微生物を利用した防除戦略には、①生物防除エージェント

となる特定の有用微生物を分離・同定しそれを単独で人為的に導入する方法と、②集団としての理想的な有用微生物群集を作り出す環境条件を整える方法、の大きく2つがある。それらは、いずれも単独あるいは集団で、病原菌を直接的に防除したり、あるいは間接的に植物に抵抗性を誘導したりする戦略である。

ここでは、①植物プロバイオティクスの利用、②発病抑止機構解明の足がかりとなるメタゲノム解析、および③次世代の全身獲得抵抗性 (transgenerational systemic acquired resistance: transgenerational SAR)、の3つのトピック、中でも①の植物プロバイオティクスの利用を中心に取り上げて、生物防除研究の現状と展望を紹介したい。

1. 植物プロバイオティクスの利用

最近、プロバイオティクスという言葉がよく使われている。この言葉は、主に人間や動物が摂取することで健康を促進させる微生物に対して使われている。同じような意味合いで、植物プロバイオティクスという言葉が使われ始めている。これは、植物の生育を促進するとともに病気を防ぐ植物に内生性の有用微生物に対して使われている。植物に内生する有用微生物は、優占して植物体に定着できるため、高い競争・拮抗能を持っており、また、植物との高い親和性により、効果の持続性・安定性が期待されている。

植物との親和性が高い微生物が持つ能力には、例えば、①葉のワックス面への定着能や、②根毛でのバイオフィーム形成能があり、これらは紫外線・雨・温度などに対する環境ストレス耐性や、毒素耐性や毒素分解能、免疫応答の制御能など、有害生物によりもたらされる各種のストレス耐性を、植物に付与する。

植物との親和性が高く、植物プロバイオティクスとして用いられる微生物としては、植物生育促進菌類 (plant growth

[†]平成25年3月27日 平成25年度大会で行われた会長講演の要旨の和文版

* 岐阜大学応用生物科学部 Faculty of Applied Biological Sciences, Gifu University, Gifu 501-1193, Japan

promoting fungi: PGPF), 植物生育促進根圏細菌 (plant growth promoting rhizobacteria: PGPR), 内生菌類, 内生細菌, 内生放線菌, 内生菌根菌, 非病原性菌, などがある。

植物プロバイオティクスとしての PGPF PGPF は, 植物の生育を促進するとともに, 根の表面に定着することで土壌病原菌の感染を抑え, 病気を抑制する (Hyakumachi, 1994; Shivanna *et al.*, 1994). また, PGPF を根に処理することで地上部の糸状菌病害, 細菌病害およびウイルス病害をも抑制する (Meera *et al.*, 1994; Koike *et al.*, 2001; Elsharkawy *et al.*, 2012a, 2012b). このことは PGPF が植物に全身的な抵抗性誘導 (induced systemic resistance: ISR) を引き起こすことを示している。

一般に, PGPF はそれらが植物の根に外生的・内生的に定着し競合作用により病原菌を抑制したり, あるいはそれらの代謝物により植物に抵抗性を誘導する。これまでの研究から, 植物組織に内生的に定着し, 植物のシンビオント (symbiont) となることのできる菌類が PGPF の性質を持つ例は多い (成澤・薄, 2003; Harman *et al.*, 2004). PGPF による植物の生育促進にはミネラル化作用が関わっているが (百町, 2000), PGPF が植物根に定着することで, 無機成分, とくにリンの増加が認められるなど, PGPF の菌糸を介して植物に直接的に各種ミネラルを供給している可能性がある (Shivanna *et al.*, 1996). 高い根面着生能力を持つ非病原性の二核 *Rhizoctonia* においても同様な報告があり, 植物体内のカルシウム濃度を増加させ植物の抵抗性を誘導する (Ichievich-Auster *et al.*, 1985). ハクサイの内生菌であり PGPF の特性を有す *Heteroconium chaetospora* は植物自身が吸収することのできないバリンやフェニルアラニンなどのアミノ酸を植物に供給し, 植物からはショ糖を得るという相利共生的な関係を築いている (Usuki and Narisawa, 2007). また, PGPF の *Trichoderma asperellum* はキュウリ根の表面に付着器様の菌糸形態を示しながら外部皮層まで侵入し, 植物の無機成分を増加させることが明らかとなっている (Yedidia *et al.*, 2001). PGPF のうち, *Fusarium* 属菌, *Penicillium* 属菌および *Phoma* 属菌も植物の根に内生的に定着する (百町・久保田, 2004). PGPF の *Fusarium equiseti* は, 表皮においては植物細胞内へ菌糸を伸長させるが, 皮層においては細胞間隙にのみ伸長する (Kojima *et al.*, 2013). また, シロイヌナズナが吸収できないグリシンを供給して生育を促進する。このように, PGPF は植物に窒素を供給し, 一方, 植物からは糖を得るといった栄養授受を行うなど, 互いに相利共生の関係になった結果として植物に耐病性を付与している可能性がある。

異なるキュウリ品種を用いて根への PGPF の着生率と ISR の関係を調べたところ, PGPF の着生率が高い品種ほど抵抗

性が誘導される割合が高かった (Meera *et al.*, 1995a). また, PGPF の接種源を滅菌して処理した場合は抵抗性が誘導されなかった。このことは, これらの PGPF が根に定着する過程で何らかの抵抗性誘導物質 (エリシター) が産生されることを示唆している。一方, 定着能が低い PGPF を用いても抵抗性が誘導されることがあるが, この場合は根への定着率と誘導抵抗の間には相関がみられない (Meera *et al.*, 1995b). 定着能の高低に関わらず, いずれの PGPF もそれらの培養ろ液を処理することで抵抗性が誘導されることから, PGPF が土壌や根の周辺を生育する間に産生されたエリシター物質が植物に抵抗性を誘導するものと考えられる。PGPF の培養ろ液を根に処理後, 病原菌を接種した葉では, 活性酸素種である過酸化水素の集積が無処理の対照に比べて著しいこと (Koike *et al.*, 2001) から, PGPF の培養ろ液にはエリシター活性があることが確認された。

PGPF のような日和見的な共生菌 (opportunistic symbiont) は多くの場合, 菌糸は表皮細胞に入り込むが, 皮層部では細胞内には入らずに細胞間隙を進展する。しかし, 植物の活性が低い場合やあるいは逆に微生物の活性が高い場合には日和見共生菌があたかも病原菌のようにふるまい, 植物に「壊死」をもたらすことも多い。PGPF は顕著な活性酸素種の生成を誘導するなど SAR で認められる特性を示し, 壊死反応は伴わないまでもこれに近い特性を誘導するものと考えられる。このことは, PGPF が日和見共生菌として植物との間に腐生, 寄生, 共生の関係を絶妙なバランスの上に成り立たせているためかもしれない。

幅広い病原菌の攻撃に対して抵抗性を示すという ISR の表現型は, 病原菌により誘導される SAR と類似しているが, ISR と SAR の発現機構はこれまで異なるものとして区別して考えられてきた。それは, 先行研究された PGPR による ISR の特性が, SAR でみられる壊死反応を伴わないことや, SAR でみられる全身的な内生サリチル酸 (SA) の増加とそれに伴う感染特異的蛋白質の遺伝子群を活性化しなかったためである (Pieterse *et al.*, 1996). PGPR では, SA の代わりにジャスモン酸 (JA) やエチレン (ET) が ISR のシグナル伝達経路に深く関わっていた。しかし, その後, シロイヌナズナの系を用いた PGPR による ISR の詳細な機構解明が進むにつれ, ISR のシグナル伝達経路は SA のみでなく, JA や ET に依存する例も数多く見出されるなど, ISR のシグナル伝達経路は多岐にわたっていることが明らかになってきた。PGPF による ISR のシグナル伝達経路においても, SA に依存するもの, JA や ET に依存するもの, あるいはマルチプルにそれら両者に依存するものなど, いろいろな伝達経路があることが明らかになってきている (Hossain *et al.*, 2007, 2008;

Sultana *et al.*, 2008, 2009).

ISRは幅広い病害スペクトラムに対して有効であるが、植物の産生するエネルギーをBCAと共有することや防御応答にとともに様々な物質を産生するのにエネルギーコストがかかるなど、負の側面が懸念される。van Hulten *et al.* (2006)は、 β -aminobutyric acid (BABA)を用いて、プライミングとコストのモデル試験を行っている。BABAは高濃度で処理すると、処理直後からPR-1を発現する直接的な防御応答を誘導するのに対し、低濃度で処理すると、病原菌接種前にはPR-1を発現せず、接種後に強く発現するプライミング効果を示した。また、興味深いことに、プライミングを誘導する処理濃度でも、直接的な防御応答を誘導する合成SAR誘導剤のbenzothiadiazole (BTH)と同等の防除効果を示したとともに、処理により植物の生育や種子の形成に負の影響はみられなかった。ISRは病原菌の攻撃に対してプライミングを伴う防御応答をすることから、低コストである可能性が高い。しかしながら、PGPFなどの生物防除エージェントは植物に日和見的な共生関係を結ぶことにより抵抗性を誘導することから、ISRによる利益とコストとのバランスが生物防除の成否に大きく関与していることも考慮する必要がある。

植物プロバイオティクスとしての内生細菌 有用微生物、とくに内生細菌の中には植物の根から分泌される有機酸に誘引されて、根にバイオフィームを形成し、病害抵抗性を誘導することが知られている。トマト斑葉細菌病菌 (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) がシロイヌナズナの葉に感染するとリンゴ酸トランスポーターの発現が誘導されることで、根からリンゴ酸が放出され、その放出されたリンゴ酸に内生細菌である *Bacillus subtilis* が誘引され、バイオフィームを形成し、ISRが生じるとの報告がある (Rudrappa *et al.*, 2008)。また、トマトを用いた実験からも、内生性の *Bacillus* 属菌のバイオフィーム形成能とトマト青枯病の発病抑制効果には密接な関係があり、バイオフィームを形成するものが青枯病を抑制することが明らかになってきた (都築ら, 2012)。トマトの根にバイオフィームを形成する *Bacillus amyloliquefaciens* はトマト斑葉細菌病菌の感染に関わらずシロイヌナズナの根にバイオフィームを形成し、トマト斑葉細菌病菌による病気を抑制した。また、バイオフィームの形成能力を低下させた変異株は各種防御関連遺伝子 (各種 PR gene や PDF1.2 gene) の発現が低下し、親株に比べ 1/2 から 1/4 に減少した。

植物の根とそれに密接に関連する内生性の有用微生物との相互関係をより詳細に調べることは、地上部や地下部の病害を抑制する手段を見出す上でより重要になるであろう。

2. 発病抑止機構解明の足がかりとなるメタゲノム解析

現在、PhyloChip、DGGEあるいは次世代シーケンシング技術等を用いたメタゲノム解析により、微生物群集の構造と機能解明が精力的に行われている。土壌病原菌は大きく移動型病原菌と待機型病原菌とに分かれ (Garrett, 1970)、これら病原菌のタイプによって発病抑止機構が異なることが知られている。*Rhizoctonia solani* や *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* などの移動型病原菌の場合は病原菌の菌糸の周辺に拮抗微生物が集積して発病抑止が生じるのに対して、*Fusarium* や *Verticillium* などの待機型病原菌の場合は抵抗性品種の連作やネギ類の混作で発病抑止が生じる。発病抑止土壌の一つに発病衰退現象があり (Baker and Cook, 1974)、主に移動型病原菌でみられている。発病衰退現象とは、同一作物を連作すると始め激しく病害が発生したのが、連作を続けているうちに病気が衰退し、収量が回復するといった現象であり、これまでに、コムギ立枯病、テンサイ根腐病、ハツカダイコン立枯病などで報告されている (Gerlagh, 1968; Shipton, 1977; Henis *et al.*, 1978; Hyakumachi *et al.*, 1990)。この現象には、土壌に集積する微生物群集が発病抑制に関わっていることが以前からいろいろな研究で明らかにされてきた (Hornby, 1979; Rovira and Wildermuth, 1981; Mghalu *et al.*, 2007) が、メタゲノム解析によりその詳細がより明確になってきた。例えば、Mendes *et al.* (2011) はPhyloChipを用いたメタゲノム解析を行って、テンサイ根腐病に対する抑止土壌と助長土壌の微生物の違いを調べ、連作に伴って生じる発病衰退に関わる微生物群を特定した。また、感染の広がりを防ぐ目的で植物は発病抑止をもたらす土壌微生物のコンソーシアムを作り出すことを明らかにした。今後は、移動型病原菌の菌糸周辺での微生物群集の構造や機能、また、抵抗性品種の連作やネギなどを混植したときの微生物群集の構造や機能、がメタゲノム解析で解明され、発病抑止機構の全容が明らかになるものと思われる。

3. 次世代の全身獲得抵抗性 (Transgenerational SAR)

シロイヌナズナとべと病の系を用いた研究から、トマト斑葉細菌病菌をシロイヌナズナに4日ごとに5回連続して繰り返し接種して得た種子から育てた植物は、シロイヌナズナべと病菌 (*Hyaloperonospora arabidopsidis*) に対する基礎抵抗性が向上する、との報告が出された (Luna *et al.*, 2012)。すなわち、SARが次世代にまで受け継がれることが明らかになった。また、面白いことに、次世代のSARは、その後は病原菌を接種しなくとも持続するとされる。次世代のSARがあるということは次世代のISRがあることを示唆している。我々の予備的な研究からも、キュウリにPGPFを処理する

と、次世代の植物が炭疽病に抵抗性を示した結果を得ている (Meera, 1994). 有用微生物を処理した植物の次世代が、対照の有用微生物を処理しなかった次世代に比べ、ISRが高いかどうかは非常に興味を持たれる。昔から、土作りが病気の抑制に密接な関わりがあるといわれているが、このこともあるいは土壌に集積した有用微生物により植物に次世代のISRが生じたことと関係しているのかもしれない。

4. おわりに

植物の生育を促進するとともに病気を抑制する PGPR や PGPF の存在が明らかになってすでに30年以上が経過した。興味深いことに、PGPRとして報告された細菌の大半は植物に抵抗性誘導能を示さないのに対し、PGPFはそのほとんどが抵抗性誘導能を示す。このことは、菌類は細菌と異なり植物体の中に能動的に侵入できる能力を備えていることと関係があるのかもしれない。わが国ではPGPFの中でこれまでに微生物農薬として登録されたものは少ないものの、PGPFの特性を持つ魅力ある菌類が数多く見出されており、中には内生菌根菌と同じように宿主植物と明確な相利共生関係を結ぶものさえある。今後、そうした菌類の中から実用化に向けて微生物農薬登録に耐えうるような有望な菌株が少なからず見出されるものと期待している。

EUにはIOBC (International Organization for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants) という生物防除に関する組織が存在する。この組織の前身は1948年に遡り、1971年にIOBCとして発足した。現在は世界中に下部組織が出来上がり、日本は1999年に発足したAsia and the Pacific Regional Section (APRS) に組み込まれている。

IOBCは生物防除ワークショップと抵抗性誘導ワークショップをそれぞれ隔年ごとに開催しており、昨年、開催された生物防除ワークショップの標語は「From field to the lab and back again」であり、また、今年開催される抵抗性誘導のワークショップの標語は「Leaping from success in the lab to success in the field」となっている。このように両ワークショップの目的は、実験室で得た生物防除のメカニズムを圃場に応用しようというところにある。

生物防除研究の躍進が低環境負荷型病害虫コントロールの実現を可能にする。植物を取り巻く微生物と植物との相互関係を調べることは、前述したように、研究の宝庫である。是非、若い研究者がこの分野に興味を持って、生物防除研究を深めていただければ、と思う次第である。

謝辞：ここで紹介した私達の研究成果は、岐阜大学植物病理学研究室に在籍した多くの学生諸氏及び教員の方々の多

大な協力と努力に支えられて得られたものである。皆様から感謝の意を表します。私達の研究の多くは、文部科学省、日本学術振興会からの研究費により行われた。

引用文献

- Baker, K.F. and Cook, R.J. (1974). *Biological Control of Plant Pathogens*. pp. 433, Freeman and Company, San Francisco.
- Elsharkawy, M.M., Shimizu, M., Takahashi, H. and Hyakumachi, M. (2012a). Induction of systemic resistance against *Cucumber mosaic virus* by *Penicillium simplicissimum* GP17-2 in *Arabidopsis* and tobacco. *Plant Pathol.* 61: 964–976.
- Elsharkawy, M.M., Shimizu, M., Takahashi, H. and Hyakumachi, M. (2012b). The plant growth-promoting fungus *Fusarium equiseti* and the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* induce systemic resistance against *Cucumber mosaic virus* in cucumber plants. *Plant Soil* 361: 397–409.
- Garrett, S.D. (1970). *Pathogenic Root-Infecting Fungi*, Cambridge University Press, London and New York.
- Gerlagh, M. (1968). Introduction of *Ophiobolus graminis* into new polders and its decline. *Netherlands J. Plant Pathol.* 74 (Suppl. 2): 1–97.
- Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I. and Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species—opportunistic avirulent plant symbionts. *Nat. Rev. Microbiol.* 2: 43–56.
- Henis, Y., Ghaffar, A. and Baker, R. (1978). Integrated control of *Rhizoctonia solani* damping-off of radish: Effect of successive plantings, PCNB, *Trichoderma harzianum* on pathogen and disease. *Phytopathology* 68: 900–907.
- Hornby, D. (1979). Take-all decline: a theorist's paradise. *In Soil-Borne Plant Pathogens* (Schippers, B. and Gams, W., eds). pp. 133–156, Academic Press, London and New York.
- Hossain, M.M., Sultana, F., Kubota, M., Koyama, H. and Hyakumachi, M. (2007). The plant growth-promoting fungus *Penicillium simplicissimum* GP17-2 induces resistance in *Arabidopsis thaliana* by activation of multiple defense signals. *Plant Cell Physiol.* 48: 1724–1736.
- Hossain, M.M., Sultana, F., Kubota, M. and Hyakumachi, M. (2008). Differential inducible defense mechanisms against bacterial speck pathogen in *Arabidopsis thaliana* by plant-growth-promoting fungus *Penicillium* sp. GP16-2 and its cell free filtrate. *Plant Soil* 304: 227–239.
- Hyakumachi, M., Kanzawa, K. and Ui, T. (1990). Rhizoctonia root rot decline in sugarbeet monoculture. *In Biological Control of Soil-Borne Plant Pathogens* (Hornby, D., Cook, R.J., Henis, Y., Ko, W.H., Rovira, A.D., Schippers, B. and Scott, P.R., eds.). pp. 227–247, CAB International, Walingford.
- Hyakumachi, M. (1994). Plant growth-promoting fungi from turfgrass rhizosphere with potential for disease suppression. *Soil Microorg.* 44: 53–68.
- 百町満朗 (2000). 植物生育促進微生物の利用。「微生物の資材化：研究の最前線」(鈴木孝仁, 岡田齊夫, 国見裕久, 牧野孝宏, 斎藤雅典, 宮下清貴編). pp. 81–92, ソフトサイエンス社, 東京.
- 百町満朗・久保田真弓 (2004). 植物生育促進菌類を用いたバイオコントロール. 植物病の探求 (高松 進, 小林一成, 吉岡博文, 豊田和弘編). pp. 124–129, 「植物病の探求」出版

- 会, 三重.
- Ichievich-Auster, M., Sneh, B., Koltin, Y. and Barash, I. (1985). Suppression of damping-off caused by *Rhizoctonia* species, by nonpathogenic isolate of *R. solani*. *Phytopathology* 75: 1080–1084.
- Koike, N., Hyakumachi, M., Kageyama, K., Tsuyumu, S. and Doke, N. (2001). Induction of systemic resistance in cucumber against several diseases by plant growth-promoting fungi: lignifications and superoxide generation. *Europ. J. Plant Pathol.* 107: 523–533.
- Kojima, H., Hossain, M.M., Kubota, M. and Hyakumachi, M. (2013). Involvement of the salicylic acid signaling pathway in the systemic resistance induced in *Arabidopsis* by plant growth-promoting fungi *Fusarium equiseti* GF19-1. *J. Oleo Sci.* 62: 415–426.
- Luna, E., Bruce, T.J.A., Roberts, M.R., Flors, V. and Ton, J. (2012). Next generation systemic acquired resistance. *Plant Physiol.* 158: 844–853.
- Meera, M.S. (1994). Induction of systemic resistance in cucumber against anthracnose using plant growth promoting fungi. PhD thesis of The United Graduate School of Agricultural Sciences, Gifu University.
- Meera, M.S., Shivanna, M.B., Kageyama, K. and Hyakumachi, M. (1994). Plant growth promoting fungi from zoysiagrass rhizosphere as potential inducers of systemic resistance in cucumbers. *Phytopathology* 84: 1399–1406.
- Meera, M.S., Shivanna, M.B., Kageyama, K. and Hyakumachi, M. (1995a). Persistence of induced systemic resistance in cucumber in relation to root colonization by plant growth promoting fungal isolates. *Crop Prot.* 14: 123–130.
- Meera, M.S., Shivanna, M.B., Kageyama, K. and Hyakumachi, M. (1995b). Responses of cucumber cultivars to induction of systemic resistance against anthracnose by plant growth promoting fungi. *Europ. J. Plant Pathol.* 101: 421–430.
- Mendes, R., Kruijt, M., de Bruijn, I., Dekkers, E., van der Voort, M., Schneider, J.H.M., Piceno, Y.M., DeSantis, T.Z., Andersen, G.L., Bakker, P.A.H.M. and Raaijmakers, J.M. (2011). Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. *Science* 332: 1097–1100.
- Mghalu, M.J., Tsuji, T., Kubo, N., Kubota, M. and Hyakumachi, M. (2007). Selective accumulation of *Trichoderma* species in soils suppressive to radish damping-off disease after repeated inoculations with *Rhizoctonia solani*, binucleate *Rhizoctonia* and *Sclerotium rolfsii*. *J. Gen. Plant Pathol.* 73: 250–259.
- 成澤才彦・薄 史暁 (2003). 根部エンドファイトによるハクサイ根こぶ病の防除. 拮抗微生物による作物病害の生物防除 (百町満朗監修). pp. 193–199. クミアイ化学工業株式会社, 東京.
- Pieterse, C.M.J., van Wees, S.C.M., Hoffland, E., van Pelt, J.A., and van Loon, L.C. (1996). Systemic resistance in *Arabidopsis* induced by biocontrol bacteria is independent of salicylic acid accumulation and pathogenesis-related gene expression. *Plant Cell* 8: 1225–1237.
- Rovira, A.D. and Wildermuth, G.B. (1981). The nature and mechanism of suppression. *In* *Biology and Control of Take-all* (Asher, M.J.C. and Shipton, P.J., eds). pp. 385–415, Academic Press, London.
- Rudrappa, T., Czymmek, K.J., Paré, P.W. and Bais, H.P. (2008). Root-secreted malic acid recruits beneficial soil bacteria. *Plant Physiol.* 148: 1547–1556.
- Shipton, P.J. (1977). Monoculture and soilborne plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 15: 387–407.
- Shivanna, M.B., Meera, M.S. and Hyakumachi, M. (1994). Sterile fungi from zoysiagrass rhizosphere as plant growth promoters in spring wheat. *Can. J. Microbiol.* 40: 637–644.
- Shivanna, M.B., Meera, M.S. and Hyakumachi, M. (1996). Growth promotion ability of zoysiagrass rhizosphere fungi in consecutive plantings of wheat and soybean. *Mycoscience* 37: 163–168.
- Sultana, F., Hossain, M.M., Kubota, M. and Hyakumachi, M. (2008). Elicitation of systemic resistance against the bacterial speck pathogen in *Arabidopsis thaliana* by culture filtrates of plant growth-promoting fungi. *Can. J. Plant Pathol.* 30: 196–205.
- Sultana, F., Hossain, M.M., Kubota, M. and Hyakumachi, M. (2009). Induction of systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* in response to a culture filtrate from a plant growth-promoting fungus, *Phoma* sp. GS8-3. *Plant Biol.* 11: 97–104.
- 都築佳大・西村光由・清水将文・小山博之・百町満朗 (2012). *Bacillus amyloliquifaciens* MWO-t1 のリンゴ酸への走化性, シロイヌナズナ根へのバイオフィーム形成および全身的抵抗性の誘導. *日植病報* 78: 50–51. (講要)
- Usuki, F. and Narisawa, K. (2007). A mutualistic symbiosis between a dark septate endophytic fungus, *Heteroconium chaetospora*, and a non-mycorrhizal plant, Chinese cabbage. *Mycologia* 99: 175–184.
- van Hulten, M., Pelser, M., van Loon, L.C., Pieterse, C.M.J. and Ton, J. (2006). Costs and benefits of priming for defense in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 103: 5602–5607.
- Yedidia, I., Srivastva, A.K., Kapulnik, Y. and Chet, I. (2001). Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plant Soil* 235: 235–242.