

最近のわが国における植物病害の生物防除研究

百町 満朗^{1*}・高橋 英樹²・松原 陽一¹・染谷 信孝³・清水 将文¹・小林 括平⁴・西口 正通⁴

HYAKUMACHI, M.^{1*}, TAKAHASHI, H.², MATSUBARA, Y.¹, SOMEYA, N.³, SHIMIZU, M.¹, KOBAYASHI, K.⁴ and NISHIGUCHI, M.⁴ (2014). Recent studies on biological control of plant diseases in Japan.

Key words: 生物防除エージェント, 有用菌類, 有用細菌, 有用放線菌, 弱毒ウイルス, 作用機作

はじめに

わが国では1980年代には工業化による環境の破壊が進むとともに、都市による人間活動に由来する大気や水の汚染などが顕在化してきた。また、農業分野においても化学肥料や化学薬剤の大量施用により、農地の劣化や周辺環境の汚染が問題になってきた。さらに、薬剤耐性菌が顕在化し、それまで有効であった防除効果の減退がみられるようになった。また、1950年代後半に始まった高度経済成長の中で、経済性の高い作物の専作化を行うようになり、「指定産地制度」の下に主産地の形成が推進され、連作が一般化した。その結果、土壌病害を主要因とする連作障害が顕在化してきた。1970年代以降には多くの主要な野菜産地が土壌病害が原因で同じ作物を生産できなくなるいわゆる“産地崩壊”や、産地を移動せざるを得ない“産地移動”が生じている。このような薬剤耐性菌の問題や土壌病害等の難防除病害の対策として生物的防除法（微生物農薬）の開発が活発化した。

2002年の無登録農薬使用の発覚後、「食品の安全・安心」に対する消費者のニーズが増大した。化学農薬の環境に対する悪影響や毒性問題、あるいは消費者の食の安全・安心志向などを背景として、現代は“環境保全型農業”を推進し、安全な農産物を消費者に提供するとともに、持続的に農業生産活動ができる方向を目指している。環境にやさしく合理的な総合的病害虫管理の研究や微生物を利活用した病気の生物防除研究はその典型である。

生物防除技術としては、植物根圏に高い定着能をもつ植

物生育促進性微生物（plant growth promoting rhizobacteria: PGPR, plant growth promoting fungi: PGPF）や植物内に生息する内生微生物を用いた拮抗作用や植物への抵抗性誘導の研究が活発化した。また、ウイルス間の干渉作用に基づく弱毒ウイルスの利用や非病原性フザリウムを用いた病原性フザリウムへの交叉防除の研究が進んだ。発病抑止作用の機作も精力的に研究が進み、発病抑止は土壌に集積した拮抗微生物（群）の寄生あるいは溶菌による病原菌の死滅、栄養源や感染の場の競合、抗菌物質による毒性作用、のような直接的な作用と、植物への全身的な抵抗性誘導といった間接的作用、によることが明らかにされた。

2010年段階において日本で農薬登録された微生物農薬は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。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。

ここでは、生物防除エージェント（biological control agent: BCA）を菌類、細菌、放線菌、およびウイルスに分けて、わが国で行われてきた生物防除研究について概説する。

1. 菌類を用いた生物防除

前述のように2010年段階で、わが国で農薬登録された菌類による生物農薬は10剤あるが、その内訳は *Trichoderma lignorum*（1剤）、*Tararomyces flavus*（4剤）、非病原性 *Fusarium oxysporum*（1剤）、*Trichoderma asperellum*（3剤）、*Coniothyrium minitans*（1剤）となっている。しかし、その内 *T. lignorum* と非病原性 *F. oxysporum* の2剤はすでに失効しているため、

¹ 岐阜大学応用生物科学部（〒501-1193 岐阜県岐阜市柳戸1-1） Faculty of Applied Biological Sciences, Gifu University, 1-1 Yanagido, Gifu 501-1193, Japan

² 東北大学大学院農学研究科（〒981-8555 宮城県仙台市青葉区堤通雨宮町1-1） Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, 1-1 Amemiyama-cho, Tsutsumi-dori, Aoba-ku, Sendai, Miyagi 981-8555, Japan

³ 農業・食品産業技術総合研究機構北海道農業研究センター（〒082-0081 北海道河西郡芽室町新生南9-4） NARO/HARC, 9-4 Shinsei-minami, Memuro-cho, Kasai-gun, Hokkaido 082-0081, Japan

⁴ 愛媛大学農学部（〒790-8566 愛媛県松山市樽味3-5-7） Faculty of Agriculture, Ehime University, 3-5-7 Tarumi, Matsuyama, Ehime 790-8566, Japan

* Corresponding author (E-mail: hyakumac@gifu-u.ac.jp)

この総説は先に Journal of General Plant Pathology の80巻4号のpp. 287～302に掲載された総説（<http://dx.doi.org/10.1007/s10327-014-0524-4>）の抄訳です。報文としてのプライオリティーはJGPP掲載の総説にありますので、引用の際には本総説ではなくJGPPの総説を用いるようにご注意ください。

生物農薬に用いられている菌類は *T. asperellum*, *T. flavus* および *C. minitans* の3種のみになる。これら3種の菌類はいずれも生物防除の作用機構 (mode of action: MOA) として菌寄生することが知られているが、*T. asperellum* では菌寄生以外にも抗生作用、栄養や感染場所の競合、および、植物への抵抗性誘導が MOA と考えられている。

一方、農業登録には至っていないものの、各種の PGPF、内生菌である *Heteroconium chaetospora* および菌寄生菌の *Pythium oligandrum* が有望な BCA として詳細に研究されている。また、これら以外に、いもち病菌の非親和性レース、ジャガイモ疫病菌の非親和性レース、および内生菌根菌である各種 arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) などが BCA として研究されている。ここでは、BCA として PGPF、非病原性 *F. oxysporum*, *P. oligandrum* および AMF を中心に紹介する。

(1) PGPF

Fusarium 属菌, *Penicillium* 属菌, *Phoma* 属菌, *Trichoderma* 属菌および sterile fungi といった一般的に腐生菌と考えられる種の中には、コムギ、キュウリ、ダイズなどの生育を促進するものが知られ、PGPR に倣って PGPF と提唱された (Hyakumachi, 1994)。なお、前述の内生菌である *H. chaetospora* も、各種植物の生育を顕著に促進することが知られており (Narisawa *et al.*, 1998)、PGPF に含むことができる。

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ことが明らかとなっている (Hyakumachi and Kubota, 2004)、PGPF の多くは植物根に侵入・定着することから、生育促進機構には菌糸を介して植物に直接的に各種ミネラルを輸送、供給するといったシンビオントとしての関与も見逃せない。ハクサイの内生菌である *H. 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、一方、植物からはスクロースを得るという相利共生的な関係を築いていることが明らかにされている (Usuki and Narisawa, 2007)。シンビオントの条件として、植物組織に内生的に定着することがあげられるが、*T. asperellum* はキュウリ根の表面に付着器様の菌糸形態を示し、外部皮層まで侵入することが明らかとなっている (Harman *et al.*, 2004; 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 (Hyakumachi and Kubota, 2004; Kojima *et al.*, 2013)。

PGPF の病害抑制には、菌寄生、抗生、競合、誘導抵抗、などが関わっており、これらが複合的に関与している場合が多い。PGPF の中でも *Trichoderma* 属菌は菌寄生することがよく知られており (Elad *et al.*, 1983)、その主なプロセスは、(i) 宿主の認識、(ii) 酵素の分泌、(iii) 宿主への侵入と蔓延、

である。抗生を示す PGPF としても *Trichoderma* 属はよく知られている。一方、Claydon *et al.* (1987) は、*T. harzianum* が産生する揮発性のアルキルピロンが菌類の伸長を抑制したことを報告している。また、*Trichoderma* 属菌は 12-22 アミノ酸のオリゴペプチドを産生することが報告されている (Rebuffat *et al.*, 1991)。これらのオリゴペプチドは細胞壁の再生を妨げる働きがあることから、寄生の際に分泌する細胞壁分解酵素と相乗的に働いていると考えられている (Lorito *et al.*, 1996)。PGPF のほとんどは *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Sclerotium* などの土壌病原菌に対して競合を示すことが知られている (Hyakumachi and Kubota, 2004)。コムギ立枯病菌をコムギに接種すると皮層から中心柱にまで菌糸が蔓延するが、PGPF である *Phoma* 属菌をコムギに予め接種しておく、コムギ立枯病菌の皮層内への感染が阻害される (Shivanna *et al.*, 1996)。*Phoma* 属菌もまた表層あるいは皮層に蔓延するタイプであることから、病害抑制は感染の場における競合によるものと考えられる。一方、これまでに見いだされた PGPF のほとんどにみられるのが抵抗性誘導である (Elsharkawy *et al.*, 2012; Meera *et al.*, 1994; Yedidia *et al.*, 1999)。PGPF と病原菌を物理的に隔離して植物に接種しても病害抑制効果を得ることが知られ、土壌病原菌から空気伝染性の病原菌、さらにはウイルスにまで幅広い効果が得られている。

植物体に抵抗性が誘導されると、細胞壁の強化、ファイトアレキシンの集積、PR タンパク質の集積などのさまざまな防御機構がはたらく。これらの過程には、活性酸素の生成が関わっている。Koike *et al.* (2001) は、PGPF である *Penicillium simplicissimum* GP17-2 の培養ろ液をキュウリに処理したときの活性酸素の生成をルミノールを介した化学発光量で測定したところ、水処理区に比べて発光量が著しく多くみられたことから、培養ろ液が活性酸素の生成に関与していることを明らかにした。また、培養ろ液の分子量が 12,000 以上の分画および脂質分画の処理区において活性酸素とリグニン集積が高かったと報告している。キュウリに炭疽病菌を接種した場合、予め PGPF を処理したキュウリでは、病原菌の付着器周辺でのリグニン集積が培養ろ液を処理していないキュウリに比べて多い (Koike *et al.*, 2001; Meera *et al.*, 1994)。

P. simplicissimum GP17-2 の培養ろ液をキュウリに処理したときの PR タンパク質の一種であるペルオキシダーゼの生成に着目してみると、培養ろ液を処理した直後から無処理区に比べて高い値で推移し、病原菌を接種した後にさらに増加する傾向を示す (Shimizu *et al.*, 2013)。また、PR タンパク質の発現を遺伝子レベルでみると、培養ろ液処理後 24 時間でペルオキシダーゼとキチナーゼ遺伝子の発現が強く

見られたのに対し、水処理区ではそれらの発現は見られなかった (Shimizu *et al.*, 2013). これらの発現は、炭疽菌接種後にさらに強くなったのに対し、水処理区ではこれらの発現は弱かった. 培養ろ液処理区では β -1,3-グルカナーゼ遺伝子は病原菌を接種する前には発現しなかったが、病原菌接種後には水処理に比べて強く発現した. これらのことは、*P. simplicissimum* GP17-2 の培養ろ液にはプライミング効果があり、病原菌の感染に伴い各種 PR タンパクの発現を強める働きがあることを示している. 同様の効果は PGPF の *Phoma* 属菌でも認められている. また、PGPF による抵抗性誘導のシグナル伝達物質としてサリチル酸、ジャスモン酸、エチレン、アブシジン酸などの各種植物ホルモンが関与している (Hossain *et al.*, 2007).

(2) 非病原性 *F. oxysporum*

非病原性 *F. oxysporum* (non-pathogenic *F. oxysporum*: NPF) は土壌、各種植物の根面・根内、および茎内から分離され、温室実験や圃場実験において、病原性の *F. oxysporum* による各種植物の萎凋病を抑制することが知られている (本多・川久保, 1998; 勝部・赤坂, 1997; 小川・駒田, 1984; Shishido *et al.*, 2005; 手塚・牧野, 1991; Yamaguchi *et al.*, 1992). また、NPF はフランスの Fusarium wilt 抑止土壌に関係している (Alaboubette, 1990). NPF は単系統からなるものではなく、病原性 *F. oxysporum* と同様に多種の祖先から派生した多系統からなっている (Baayen *et al.*, 2000). NPF の MOA としては、栄養競合、根面における感染の場の競合、植物の防御機構の活性化、病原菌厚壁胞子の発芽抑制、が示唆されている (Fravel *et al.*, 2003). 小川・駒田 (1984) は健全なサツマイモの植物体内から分離した NPF を用いることで *F. oxysporum* f. sp. *batatas* によるサツマイモつる割病が圃場においても顕著に抑制されることを世界に先駆けて報告した. 彼らはまた、発病抑制機構として全身的な抵抗性の誘導に関わっていることを報告している (小川・駒田, 1986). 彼らの NPF はわが国で微生物農薬として登録された. 後に、Shimizu *et al.* (2005a) はサツマイモから分離した NPF とソライロアサガオを用いた実験系で、NPF の接種がフェニルプロパノイド生合成経路を活性化し、その結果クマリン化合物であるスコボレチンやその配糖体スコポリンが誘導蓄積されることや、抵抗性誘導にアブシジン酸に応答する経路が関与している可能性を示した.

(3) *Pythium oligandrum*

Pythium oligandrum は土壌生息性の卵菌類であり、作物に病原性を示さずにその根圏に定着し、土壌伝搬性の糸状菌・細菌病害の発生を抑制する (Al-Rawahi and Hancock, 1997; Martin and Hancock, 1987; McQuilken *et al.*, 1990). この *P.*

oligandrum の病害抑制活性は、病原菌への寄生性、病原菌との栄養競合、病原菌に対する抗菌物質の生産などに起因することが知られている (Benhamou *et al.*, 1997, 1999; Martin and Hancock, 1987). さらに最近、植物は、*P. oligandrum* の細胞壁に存在するエリシチン様の糖タンパク質を認識してジャスモン酸・エチレン依存性シグナル伝達系と防御関連遺伝子群の発現を誘導することにより、植物防御システムを活性化させることが明らかになった (Hase *et al.*, 2008; Ikeda *et al.*, 2012; Kawamura *et al.*, 2009; Picard *et al.*, 2000; Takahashi *et al.*, 2006; Takahashi and Takenaka, 2010; Takenaka *et al.*, 2003, 2008, 2011). したがって、*P. oligandrum* は、土壌伝染性病原体との直接的な相互作用に加え、植物の誘導抵抗性を活性化させることにより、安定した病害抑制効果を発揮しているものと推察されている. *P. oligandrum* は微生物防除資材として注目されていることから、低コストな *P. oligandrum* の大量培養法を確立することにより、生物防除剤としての実用化が期待される.

(4) AMF (arbuscular mycorrhizal fungi)

AMF は植物根に感染し、主に土壌中のリン吸収を促すことにより宿主生長を促進する共生菌である. AMF による植物病害の生物防除について、国外では近年、疫病 (Alejo-Iturvide *et al.*, 2008)、フザリウム病 (Hu *et al.*, 2010)、半身萎ちょう病 (Garmendia *et al.*, 2006)、炭疽病 (Richter *et al.*, 2011) 等が報告されている. 一方、国内では耐病性機構も含め知見が少ないが、ここでは園芸植物における検討事例について紹介する. Split root system におけるイチゴでは、AMF (*Glomus mosseae*) 共生体で萎黄病菌の増殖抑制効果を有する共生特異的な数種の遊離アミノ酸の増大 (GABA 及びアルギニン) により、誘導抵抗性を伴う萎黄病耐性が示唆されている (Matsubara, 2011). また、AMF 共生による耐病性誘導と抗酸化機能 (SOD・APX 活性、抗酸化物質・DPPH ラジカル捕捉能) 増大との関連がイチゴ炭疽病、アスパラガス立枯病、シクラメン炭疽病・萎ちょう病において報告されている (Li *et al.*, 2010; Maya and Matsubara, 2013; Nahiyan and Matsubara, 2012; Okada and Matsubara, 2012). 一方、組織学的側面として、アスパラガス根では AMF 菌糸の entry point となる複相外皮の短細胞でのフザリウム菌との感染競合が耐病性因子になっていることが示唆されている (Matsubara, 1999). アスパラガスではさらに、AMF による根のペクチン質増大がフザリウム菌の感染防御及び耐病性誘導に関連することが報告されている (Matsubara *et al.*, 2003). また、AMF 共生ナスでは半身萎ちょう病菌汚染圃における耐病性が確認され、AMF による根細胞のリグニン化促進が耐病性因子として示唆されている (Matsubara *et al.*, 1995). 以上のように、

数種園芸植物におけるAMFによる耐病性誘導が確認されており、酸化ストレス応答に関わる抗酸化機能及び遊離アミノ酸といった生理学的共通因子や、感染に関与する組織学的因子が耐病性誘導に関与することが示されている。

2. 細菌を用いた生物防除

細菌による植物病害の生物防除は古くから研究されており、現在では細菌を有効成分とする微生物殺菌剤も10剤を越える(有江・国見, 2010)。また、実用化には至らずとも数多くの細菌株が生物防除資材としての可能性および特性について研究されてきた。本稿では日本における細菌による生物防除研究事例について紹介する。

(1) 病原性を欠失した病原細菌株の利用

本来、植物病原性細菌であるが、変異等により病原性を欠失した細菌株は優れた生物防除資材になる場合がある。非病原性株は病原性株とその生態的特性が一致するために、栄養および生態的ニッチの競合で病原細菌の増殖および発病を抑制すると考えられている(小川ら, 2012; 高原, 2003)。その他、抗菌物質産生やファージ媒介により病原細菌を抑える例も報告されている(井上ら, 2009; 川口・井上, 2012)。

(2) *Bacillus* 属

Bacillus 属は環境中に普遍的に分布しており、生物防除資材として有効な菌株が数多く見出されてきた。我が国で市販化された細菌を有効成分とする微生物殺菌剤としては最も剤数が多い(有江・国見, 2010)。生物防除資材としての本属の優れた特性として、芽胞を形成し、様々な環境条件下で生存することが可能であるため、製剤適性に優れる点あげられる(三宅, 2005)。また本属についてはMOAの研究も進んでいる。多くの場合は宿主植物周辺における栄養および生態的ニッチの競合が主要因であるとされているが、一部菌株では抗菌物質産生能および宿主植物への病害抵抗性誘導作用なども重要な役割を果たしている(鈴木, 2009; 横田, 2012)。

(3) *Pseudomonas* 属

Pseudomonas 属は、植物および農耕地土壌など環境中に広く分布している。本属は様々な種で構成され、植物病原性株を含む種も多いが、一方で生物防除資材となる有用菌株も数多く見出されてきた。本属細菌株を有効成分とする微生物殺菌剤は*Bacillus* 属に次いで多い(有江・国見, 2010)。本属による生物防除効果も競合、抗生、および宿主植物への病害抵抗性誘導によると考えられている(相野, 2009; 土屋・染谷, 2009)。また海外事例ではあるが、病害抑止土壌において本属の特定種および系統が病害抑止性に関与することが報告されている(豊田, 2011)。

(4) その他属種の細菌による生物防除

上記以外の属種の細菌株では、*Burkholderia* 属および *Variovorax* 属の細菌株から微生物殺菌剤として実用化されたものがある(有江・国見, 2010)。その他、様々な属種の細菌株が生物防除資材としての効果および作用機構などが検討されており、今後の実用化が期待されている(土屋・染谷, 2009)。

(5) 細菌による生物防除研究の最新知見と新たな試み

我が国では数多くの研究者が細菌による植物病害の生物防除について研究してきた。研究内容としては病害防除効果、MOA解明、資材化技術、施用法、群集解析およびリスク評価など多様である(井上, 2002; 石川ら, 2006; 小木曾, 2006; 田口, 2006)。また遺伝子組換え技術による生物防除資材への機能付与および効果増強の可能性も検討された時期があるが、現在では機能解明等の研究目的以外での利用は行われていない(沼田・阿久津, 2009)。

生物防除細菌株のMOAとしては、競合、抗生、溶菌および宿主植物への全体的病害抵抗性誘導などがよく知られている。個々のMOA、特に抗生物質の生合成およびその調節機構については分子生物学的追求から極めて詳細な仕組みが明らかにされつつある(竹内, 2012; 横田, 2012)。また植物への病害抵抗性誘導についても、宿主植物側の認識機構、シグナル伝達系における植物ホルモン制御および関連遺伝子群発現制御など、植物生理学的追求からその機構が解明されつつある(長谷, 2005; 東山ら, 2012; 百町, 2013)。ただし、個々の作用機構が主要因となる場合もあるが、実際の農業現場では複数の作用機構による総合的作用が生物防除効果として現れていると考えられている。

また、近年、上記以外の新規な作用機構による生物防除の可能性が検討されている。例えば、植物病原細菌の中には、その病原性発現にクオラムセンシングと呼ばれる菌体密度依存機構が関与することが知られている。本機構のシグナル分子を分解もしくは攪乱することで病原細菌を殺さずに病原性を抑止するという新規な生物防除法の可能性が検討されている(篠原, 2006)。また植物病原性糸状菌において宿主植物表皮への付着は、感染機構における重要形質である。この付着に必要な糸状菌分泌物を分解する細菌株を生物防除に利用する試みも検討されている(池田, 2012)。

最後に生物防除という技術全般的なことではあるが、周辺環境がその成否に影響する可能性は大きい。実際の農業現場に施用された生物防除資材の機能発現には、栄養、温湿度および光条件等の非生物的環境要因はもちろん、植物周辺の多様な微生物叢との相互作用が影響するためである。特に後者については、投入した生物防除資材に対して、様々な

環境微生物が阻害的もしくは協調的という複面的な作用が想定される他、作物周辺の微生物叢全体が関わってくる問題でもある(福井, 2002; 染谷・阿久津, 2005; 吉田, 2009). また植物への病害抵抗性誘導については、その時点での宿主植物自身の生理的状态に依存する可能性も大きい. そのため、農業環境での避けられない周辺環境の影響を有効的に活用するためには、微生物叢管理を含めた作物の栽培管理技術との体系的な生物防除法の利用が重要だと考えられる.

3. 放線菌を用いた生物防除

放線菌とは「高 GC 含量グラム陽性菌」の総称であり、環境中の至るところに分布し、とりわけ土壤中に多く生息している. 放線菌は多種多様な抗生物質等の二次代謝産物や分解酵素を産生する優れた能力をもつことから、植物病害に対する BCA の素材として古くから注目されてきた. とくに、乾燥や高温に対して比較的強い耐性をもつ胞子を形成し、分離・培養が容易な *Streptomyces* 属菌が生物防除に利用されることが多い. 海外では、土壤伝染性病原菌を中心とする様々な植物病原菌に防除活性を示す *Streptomyces* 菌株が土壤や根圏より分離されており、それらの幾つかはフィンランドやアメリカ、韓国などの国々ですでに微生物殺菌剤として上市されている. わが国では土壤放線菌を用いた生物防除はあまり研究されてこなかったが、*Streptomyces* 菌株によるダイコン萎黄病 (Takaki *et al.*, 1992) やジャガイモそうか病 (Kobayashi *et al.*, 2012) の生物防除の事例などが報告されている.

一方で近年、植物に内生する放線菌が新規の BCA として注目され始め、国内外で盛んに研究されている. これまでに、畑作物や薬用植物、樹木などから多種多様な内生放線菌が数多く分離されており、陸上植物のほぼ全てに放線菌が内生しているものと推測されている (Shimizu, 2011). 大抵は、土壤と同様に *Streptomyces* 属が分離されることが多いが、植物によっては *Microbispora* 属や *Actinoplanes* 属などのいわゆる希少放線菌が優先的に分離されることもある. それらの内生放線菌が植物の生長や生存において如何なる役割を担っているのかはほとんど解明されていないが、分離された内生放線菌の中には植物ホルモン様物質を分泌して植物生長を促進したり、植物病害を顕著に抑制したりする能力をもつものが少なからず存在している (Cao *et al.*, 2004; Coombs *et al.*, 2004; El-Tarabily *et al.*, 2009; Hasegawa *et al.*, 2006; Inderiati and Franco, 2008).

内生放線菌を用いた生物防除は Shimizu *et al.* (2001) によって初めて報告された. 彼らは、ジャクナゲから分離した拮抗性の内生 *Streptomyces* 菌株を、無菌培養中のジャクナゲ組

織培養苗に定着させることで、定着苗がペスタロチア病に耐病化することを明らかにした. さらにその後の研究で、ジャクナゲとカルミアの組織培養苗に同様の方法で内生 *Streptomyces* 菌株を定着させることにより、*Phytophthora cinammomi* や *Rhizoctonia* sp. による馴化過程での苗の枯死被害を防ぐことに成功したと報告している (Meguro *et al.*, 2004; 清水, 2007). このユニークな手法は、国内の園芸企業でツツジ科の鉢物生産に現在も実用されている (Hasegawa *et al.*, 2006). この他にも、キャベツセル苗に発生する種子伝染性の黒すす病やイチゴ炭疽病 (Shimizu *et al.*, 2013), キュウリ炭疽病 (Shimizu *et al.*, 2009) に対して高い生物防除活性を示す内生 *Streptomyces* 菌株が発見されており、実用化が期待されている.

他の生物防除微生物と同様に、内生放線菌の MOA は様々である. 上述したように放線菌は多様な抗生物質を産生することから、主たる作用機作は抗生作用であると思われるが、実際には抗生作用は必ずしも重要な要因ではないと考えられている (Coombs *et al.*, 2004; Inderiati and Franco, 2008; Shimizu *et al.*, 2006). これまで報告されている内生放線菌の MOA の 1 つが全身抵抗性の誘導であり、内生 *Streptomyces* 菌株を植物に接種することで防御関連遺伝子群が活性化することが確認されている (Conn *et al.*, 2008; Meguro *et al.*, 2012; Shimizu *et al.*, 2005b). その他にも、内生放線菌が病原糸状菌に菌寄生することで発病を抑制する事例も報告されている. キャベツ由来の *Streptomyces* sp. MBCN152-1 株は、素寒天上およびキャベツ苗上でキャベツ黒すす病菌 (*Alternaria brassicicola*) の菌糸に巻きつき、キチナーゼを分泌して 1 週間以内には菌糸を完全に溶菌してしまうことが明らかにされている (Shimizu *et al.*, 2013).

4. 弱毒ウイルスによるウイルス病の防除

作物におけるウイルス病の防除に干渉作用 (クロスプロテクション) が利用されている. これは、一度ウイルスに感染した植物は同じ種類あるいは類似のウイルス・系統に感染しにくくなるという現象である. この現象は、動物におけるワクチンによる予防に類似しているが、植物においては抗体遺伝子が存在しないので、異なる機構である. その機構として、RNA サイレンシングや外被たんぱく質による脱外被阻害などがあるが、まだ他の機構の可能性もあり、十分に解明されているとは言えない (夏秋, 2009; Nishiguchi and Kobayashi, 2011; Ziebell and Carr, 2010). この現象はタバコモザイクウイルス (TMV) の異なる病徴を示す 2 系統を用いた研究によりはじめて報告され (Mckinney, 1929), さらにジャガイモ X ウイルスの弱毒系統の接種によりジャガイモに

において強毒系統による感染を防ぐ実験が行われた (Salaman, 1933). Holmes (1934) は TMV の masked 系統を 35°C の高温に保ったトマトから単離したタバコのモザイク病防除試験を行った。その後、多くの植物とウイルスの組み合わせで、弱毒ウイルスによるウイルス病防除実験が行われ、トマト、キュウリ、カカオ、パパイア、カンキツ、ヤマノイモなどで報告がある (Gal-On and Shibolet, 2006; 小坂, 2009; Nishiguchi and Kobayashi, 2011; Ziebell and Carr, 2010)。

わが国においては、野菜などの園芸作物で実績があり、トマトモザイクウイルスの弱毒系統 ($L_{11}A$) がビニールハウスなどのトマト栽培圃場で利用され (Oshima, 1981), 今日でも一部利用されている。また、スイカ緑斑モザイクウイルス (CGMMV) の弱毒系統が亜硝酸処理および紫外線処理により作出され (Motoyoshi and Nishiguchi, 1988), 温室栽培のマスクメロンで利用されている (大沢, 1990)。ズッキーニ黄斑モザイクウイルスの弱毒株 (ZYMV-2002) が低温処理により作出されキュウリの凹凸果実や萎凋症状などの抑制に利用され (Kosaka *et al.*, 2006), 生物農薬、弱毒株水溶液【ZY-02】、として 2008 年に登録された (登録番号 22152)。トウガラシ微斑ウイルス (PMMoV) でもいくつかの弱毒系統 (Pa18 および C-1421) がトウガラシ栽培で利用されたが (後藤ら, 1984; Nagai, 1987), 最近では弱毒の L3-163 株が単離され、トウガラシの PMMoV 抵抗性遺伝子 L^3 をもつトウガラシ品種に利用され防除効果が観察されている (Ogai *et al.*, 2013)。本株は生物農薬として 2012 年に登録された (登録番号 23136)。また、ダイズモザイクウイルスの弱毒系統 (Ala-15) が単離され、ダイズに利用されている (Kosaka and Fukunishi, 1993)。キュウリモザイクウイルス (CMV) 感染の予防に弱毒サテライト RNA を含む CMV を接種することが、トマト、リンドウなどで実施されている (佐山, 1996)。

イモなどの地下作物や果樹のような栄養繁殖作物においては、ウイルスが常に保持されるので、弱毒ウイルスの利用価値は高い。イチョウイモおよびナガイモについて、それぞれヤマノイモモザイクウイルス (JYMV-T3) およびヤマノイモえそモザイクウイルスの弱毒系統 (ChYIMV-KM3) が単離され、それぞれのウイルス感染による被害回避に利用された (Kajihara *et al.*, 2008; Kondo *et al.*, 2007)。サツマイモ斑紋モザイクウイルス (SPFMV) は、サツマイモに帯状粗皮病を引き起こすが、その弱毒系統 (I-O) が圃場から分離され、帯状粗皮病の抑制に効果が得られた (Yamasaki *et al.*, 2009)。果樹の分野では、我が国では *Citrus tristeza virus* によるハッサク萎縮病やネーブルオレンジなどのステムピッキングの予防のために、弱毒系統の作出とその防除効果が報告され (Ieki *et al.*, 1997; 佐々木, 1974), その後もいくつ

かの系統が分譲され、試験されている。

以上のように、我が国では弱毒ウイルスを利用したウイルス病の防除が試験研究機関を介して実用化され、実績が積み重ねられてきた。一部は生物農薬として、あるいは弱毒ウイルス接種苗として市販されている。弱毒ウイルスによるウイルス病防除は、環境汚染の心配のない、安全な手法として、今後とも、適用できる対象作物ならびにウイルスの組合せが増加していくものと考えられる。

おわりに

今世紀内には、世界人口は 100 億人を超えるとされている。私たちは、将来を見越した地球環境保全に留意し、今以上に農業生産活動を高め、食糧を大量に増産していかなければならない。同時に、安全・安心な食品を求めている消費者にクオリティーの高い農作物を供給する課題がある。生物防除剤を用いた生物防除技術を駆使すれば、化学薬剤の使用を制限しながら植物病害を抑制するとともに、消費者からの要望に見合った有機農産物の生産を高めることができる。

前述したように環境保全型の農業生産体系の重要な位置を占める生物防除剤の役割は大きい。しかしながら、生物防除剤を用いた生物防除の研究がこれまでに多く進められてきたにもかかわらず、我が国で農業登録されている生物防除剤の販売量は農業全体のわずか 1% にも達していないのが現状である。生物防除技術が生産者のレベルまで広く浸透しない問題点を克服し、より多くの微生物防除剤が実用化されることを望みたい。

最近の分子生物学的手法の目覚ましい発展により、土壤中、植物の根圏・根面、葉面さらには植物体内に生息する膨大な数の微生物を網羅的に扱う研究が行われるようになった。また、防除剤として利用できる微生物の特性、防除作用メカニズムの解明、抵抗性誘導に関わるシグナル伝達経路の解析などの研究が現在精力的に行われている。

微生物防除剤のこれまでの歴史あるいは取り組みから分かるように、この 10 年足らずの間に数々の生物防除剤が農業登録され商品化されるなど、微生物を用いた防除技術は目覚ましい発展を遂げてきた。しかし、実際の生物防除剤の使用場面は限られており、化学薬剤に代わるまでには程遠い状況にあるのが現状である。化学薬剤の種類は多く、重要な植物病害を対象とした剤がほぼ網羅されているのに対し、現在、我が国において農業登録されている生物防除剤の数はあまりに少ない。現存する生物防除剤のみの使用で農業生産を推し進めるには無理がある。この状況を打開するには、現在農業登録されている生物防除剤の作用範囲を拡大するとともに、新たな効用を示す新規微生物を積極的に探

索し、それらを生物防除剤として農薬登録することを精力的に促進する必要があるだろう。

引用文献

- 相野公孝 (2009). トマト根面・根内定着による生物防除. 微生物と植物の相互作用—病害と生物防除— (百町満朗・対馬誠也編). pp. 282–287, ソフトサイエンス社, 東京.
- Alabouette, C. (1990). Biological control of Fusarium wilt pathogens in suppressive soils. *In* Biological Control of Plant Pathogens. (Hornby, D., ed.). pp. 27–43, CAB, Wallingford.
- Alejo-Iturvide, F., Márquez-Luci, M.A., Morales-Ramírez, I., Vázquez-Garcidueñas, M.S. and Olalde-Portugal, V. (2008). Mycorrhizal protection of chili plants challenged by *Phytophthora capsici*. *Eur. J. Plant Pathol.* 120: 13–20.
- Al-Rawahi, A.K. and Hancock, J.G. (1997). Rhizosphere competence of *Pythium oligandrum*. *Phytopathology* 87: 951–959.
- 有江 力・国見裕久 (2010). 微生物農薬使用の現況と将来展望. *バイオインダストリー* 27(9): 7–17.
- Baayen, R.P., O'Donnell, K., Bonants, P.J.M., Cigelnik, E., Kroon, L.P.N.M., Roebroeck, E.J.A. and Waalwijk, C. (2000) Gene genealogies and AFLP analyses in the *Fusarium oxysporum* complex identify monophyletic and non-monophyletic formae speciales causing wilt and rot disease. *Phytopathology* 90: 891–900.
- Benhamou, N., Rey, P., Cherif, M., Hockenhull, J. and Tirilly, Y. (1997). Treatment with the mycoparasite *Pythium oligandrum* triggers induction of defense-related reactions in tomato roots when challenged with *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Phytopathology* 87: 108–122.
- Benhamou, N., Rey, P., Picard, K. and Tirilly, Y. (1999). Ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction between the mycoparasite *Pythium oligandrum* and soilborne plant pathogens. *Phytopathology* 89: 506–517.
- Cao, L., Qiu, Z., You, J., Tan, H. and Zhou, S. (2004). Isolation and characterization of endophytic *Streptomyces* strains from surface-sterilized tomato (*Lycopersicon esculentum*) roots. *Lett. Appl. Microbiol.* 39: 425–430.
- Claydon, N., Allan, N.M., Hanson, J.R. and Avent, G. (1987). Antifungal alkyl pyrones of *Trichoderma harzianum*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 88: 503–513.
- Conn, V.M., Walker, A.R. and Franco, C.M.M. (2008). Endophytic actinobacteria induce defense pathways in *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 21: 208–218.
- Coombs, J.T., Michelsen, P.P. and Franco, C.M.M. (2004). Evaluation of endophytic actinobacteria as antagonists of *Gaeummonomyces graminis* var. *tritici* in wheat. *Biol. Control* 29: 359–366.
- Elad, Y., Chet, I., Boyle, P. and Henis, Y. (1983). Parasitism of *Trichoderma* spp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*—scanning electron microscopy. *Phytopathology* 73: 85–88.
- Elsharkawy, M.M., Shimizu, M., Takahashi, H. and Hyakumachi, M. (2012). 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.
- El-Tarabily, K.A., Nassar, A.H., Hardy, G.E.St.J. and Sivasithamparan, K. (2009). Plant growth promotion and biological control of *Pythium aphanidermatum* a pathogen of cucumber, by endophytic actinomycetes. *J. Appl. Microbiol.* 106: 13–26.
- Fravel, D., Olivain, C. and Alabouvette, C. (2003). *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. *New Phytol.* 157: 493–502.
- 福井 糧 (2002). 微生物相の制御による病原微生物抑制. *土と微生物* 56: 85–93.
- Gal-On, A. and Shibolet, Y.M. (2006). Cross-protection. *In* Natural Resistance Mechanisms of Plants to Viruses. (Loebenstein, G. and Carr, J.P., eds.). pp. 261–288, Springer, Berlin.
- Garmendia, I., Aguirreolea, J. and Goicoechea, N. (2006). Defence-related enzymes in pepper roots during interactions with arbuscular mycorrhizal fungi and/or *Verticillium dahliae*. *BioControl* 51: 293–310.
- 後藤忠則・飯塚典男・小餅昭二 (1984). タバコモザイクウイルス・トウガラシ系統の弱毒ウイルス作出とその利用. *日植病報* 50(2): 221–228.
- 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.
- 長谷 修 (2005). 非病原性根圏細菌によって誘導される植物の全身誘導抵抗性. 新しい作物保護の展開—バイオサイエンスへのかけはし— (羽柴輝義編). pp. 285–288, ソフトサイエンス社, 東京.
- Hase, S., Takahashi, S., Takenaka, S., Nakaho, K., Arie, T., Seo, S., Ohashi, Y. and Takahashi, H. (2008). Involvement of jasmonic acid signaling in bacterial wilt disease resistance induced by biocontrol agent *Pythium oligandrum* in tomato. *Plant Pathol.* 57: 870–876.
- Hasegawa, S., Meguro, A., Shimizu, M., Nishimura, T. and Kunoh, H. (2006). Endophytic actinomycetes and their interactions with host plants. *Actinomycetologica* 20: 72–81.
- 東山みや子・大原裕美子・城戸 剛・西ゆり子・坂井玲央葉・相野公孝・中屋敷均 (2012). *Pseudomonas fluorescens* FPT9601 による誘導全身抵抗性機構. *土と微生物* 66: 43–46.
- Holmes, F.O. (1934). A masked strain of tobacco-mosaic virus. *Phytopathology* 24: 845–873.
- 本多範行・川久保幸雄 (1998). 非病原性フザリウム菌によるラッキョウ乾腐病の生物的防除. *土と微生物* 50: 13–18.
- 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.
- Hu, J.L., Lin, X.G., Wang, J.H., Shen, W.S., Wu, S., Peng, S.P. and Mao, T.T. (2010). Arbuscular mycorrhizal fungal inoculation enhances suppression of cucumber Fusarium wilt in greenhouse soils. *Pedosphere* 20: 586–593.
- Hyakumachi, M. (1994). Plant growth-promoting fungi from turfgrass rhizosphere with potential for disease suppression. *Soil Microorg.* 44: 53–68.
- Hyakumachi, M. and Kubota, M. (2004). Fungi as plant growth promoter and disease suppressor. *In* Mycology Series. Volume 21. Fungal Biotechnology in Agricultural, Food, and Environmental Applications (Arora, D.K., ed.). pp. 101–110, Marcel Dekker, New York.
- 百町満朗 (2013). 生物防除研究の現状と展望. *日植病報* 79: 123–127.
- Ieki, H., Yamaguchi, A., Kano, T., Koizumi, M. and Iwanami, T. (1997). Control of stem pitting disease caused by citrus tristeza virus using protective mild strains in navel orange. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 63: 170–175.
- 池田健一 (2012). 病原菌を剥離させるアプローチによるイネいもち病生物防除法の開発. *バイオコントロール研究会レポート* 12: 67–75.
- Ikeda, S., Shimizu, A., Shimizu, M., Takahashi, H. and Takenaka, S. (2012). Biocontrol of black scurf on potato by seed tuber treatment with *Pythium oligandrum*. *Biol. Control* 60: 297–304.
- Inderiati, S. and Franco, C.M.M. (2008). Isolation and identification of endophytic actinomycetes and their antifungal activity. *J. Biotechnol. Res. Trop. Reg.* 1: 1–6.
- 井上博喜 (2002). CAB—02 水和剤と農薬を用いたイネ種子消毒技術. *農業および園芸* 77: 602–607.
- 井上康宏・松浦貴之・畔上耕児 (2009). バクテリオファージと非病原性細菌を利用したキャベツ黒腐病の防除技術. 生物機能を活用した病害虫・雑草管理と肥料削減: 最新技術集 (宮井俊一ほか編). pp. 125–128, 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構, つくば.
- 石川浩一・相野公孝・橋本好弘 (2006). 微生物を生きたまま種子にコーティングし保存可能にする技術の開発. *農林水産技術研究ジャーナル* 32(2): 31–34.
- Kajihara, H., Kameya-Iwaki, M., Oonaga, M., Kimura, I., Sumida, Y., Ooi, Y. and Ito, S. (2008). Field studies on cross-protection against *Japanese yam mosaic virus* in Chinese yam (*Dioscorea opposita*) with an attenuated strain of the virus. *J. Phytopathol.* 156: 75–78.
- 勝部和則・赤坂安盛 (1997). 非病原性 *Fusarium oxysporum* 利用によるホウレンソウ萎ちょう病の防除. *日植病報* 63: 389–394.
- 川口 章・井上幸次 (2012). 非病原性 *Rhizobium vitis* AR-1 株によるブドウ根頭がんしゅ病の防除. *土と微生物* 66: 51–54.
- Kawamura, Y., Hase, S., Takenaka, S., Kanayama, Y., Yoshioka, H., Kamoun, S. and Takahashi, H. (2009). INF1 elicitor activates jasmonic acid- and ethylene-mediated signalling pathways and induces resistance to bacterial wilt disease in tomato. *J. Phytopathol.* 157: 287–297.
- Kobayashi, Y.O., Kobayashi, A. and Takenaka, S. (2012). Isolation of antagonistic *Streptomyces* sp. against a potato scab pathogen from a field cultivated with wild oat. *J. Gen. Plant Pathol.* 78: 62–72.
- 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 the plant growth-promoting fungi *Fusarium equiseti* GF19-1. *J. Oleo Sci.* 62: 415–426.
- Kondo, T., Kasai, K., Yamashita, K. and Ishitani, M. (2007). Selection and discrimination of an attenuated strain of *Chinese yam necrotic mosaic virus* for cross-protection. *J. Gen. Plant Pathol.* 73: 152–155.
- Kosaka, Y. and Fukunishi, T. (1993). Attenuated isolates of soybean mosaic virus derived at a low temperature. *Plant Dis.* 77: 882–886.
- Kosaka, Y., Ryang, B.-S., Kobori, T., Shiomi, H., Yasuhara, H. and Kataoka, M. (2006). Effectiveness of an attenuated *Zucchini yellow mosaic virus* isolate for cross-protecting cucumber. *Plant Dis.* 90: 67–72.
- 小坂能尚 (2009) ウイルス病害の生物防除. 微生物と植物の相互作用—病害と生物防除— (百町満朗・対馬誠也編). pp. 329–334, ソフトサイエンス社, 東京.
- Li, Y., Yanagi, A., Miyawaki, Y., Okada, T. and Matsubara, Y. (2010). Disease tolerance and changes in antioxidative abilities in mycorrhizal strawberry plants. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 79: 174–178.
- Lorito, M., Woo, S.L., D'Ambrosio, M., Harman, G.E., Hayes, C.K., Kubicek, C.P.

- and Scala, F. (1996). Synergistic interaction between cell wall degrading enzymes and membrane affecting compounds. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 9: 206–213.
- Martin, F.N. and Hancock, J.G. (1987). The use of *Pythium oligandrum* for biological control of preemergence damping-off caused by *P. ultimum*. *Phytopathology* 77: 1013–1020.
- Matsubara, Y., Tamura, H. and Harada, T. (1995). Growth enhancement and verticillium control by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus inoculation in eggplant. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 64: 555–561.
- Matsubara, Y. (1999). Characteristics of arbuscular mycorrhizal fungal infection in dimorphic exodermis of feeder roots in asparagus seedlings. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 68: 1149–1151.
- Matsubara, Y., Hasegawa, N. and Ohba, N. (2003). Relation between fiber and pectic substances in root tissue and tolerance to fusarium root rot in asparagus plants infected with arbuscular mycorrhizal fungus. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 72: 275–280.
- Matsubara, Y. (2011). Tolerance to fusarium wilt and changes in antioxidative ability and free amino acid content in mycorrhizal strawberry plants. In *Genomics, Transgenics, Molecular Breeding and Biotechnology of Strawberry* (Husaini, A.M. and Mercado, J.A., eds.). pp. 126–131, Global Science Books, United Kingdom, ISBN: 1749-0383.
- Maya, M.A. and Matsubara, Y. (2013). Tolerance to Fusarium wilt and anthracnose diseases and changes of antioxidative activity in mycorrhizal cyclamen. *Crop. Protect.* 47: 41–48.
- McKinney, H.H. (1929). Mosaic diseases in the Canary Islands, West Africa and Gibraltar. *J. Agric. Res.* 39: 557–578.
- McQuilken, M.P., Whipps, J.M. and Cooke, R.C. (1990). Control of damping-off in cress and sugar-beet by commercial seed-coating with *Pythium oligandrum*. *Plant Pathol.* 39: 452–462.
- 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.
- Meguro, A., Hasegawa, S., Shimizu, M., Nishimura, T. and Kunoh, H. (2004). Induction of disease resistance in tissue-cultured seedlings of mountain laurel after treatment with *Streptomyces padanus* AOK-30. *Actinomycetologica* 18: 48–53.
- Meguro, A., Toyoda, K., Ogiyama, H., Hasegawa, S., Nishimura, T., Kunoh, H. and Shiraishi, T. (2012). Genes expressed in tissue-cultured seedlings of mountain laurel (*Kalmia latifolia* L.) with colonizing *Streptomyces padanus* AOK30. *J. Gen. Plant Pathol.* 78: 303–310.
- 三宅 裕 (2005). *Bacillus* 属細菌を用いた病害防除. 新しい作物保護の展開—バイオサイエンスへのかけはし— (羽柴輝義編). pp. 174–177, ソフトサイエンス社, 東京.
- Motoyoshi, F. and Nishiguchi, M. (1988). Control of virus diseases by attenuated virus strains. Comparison between attenuated strains of cucumber green mottle mosaic virus and tobacco mosaic virus. Gamma field symposium, Institute of Radiation Breeding, Nat. Inst. Agrobiol. Resour. 27: 91–109.
- Nagai, Y. (1987). Production of C-1421, an attenuated mutant of pepper strain of tobacco mosaic virus. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 53: 168–174.
- Nahiyani, A.S.M. and Matsubara, Y. (2012). Tolerance to Fusarium root rot and changes in antioxidative ability in mycorrhizal asparagus plants. *HortSci.* 47: 356–360.
- Narisawa, K., Tokumatsu, S. and Hashiba, T. (1998). Suppression of clubroot formation in Chinese cabbage by the root endophytic fungus, *Heteroconium chetospora*. *Plant Pathol.* 47: 206–210.
- 夏秋知英 (2009). 弱毒ウイルスの防除機構. 微生物と植物の相互作用—病害と生物防除— (百町満朗・対馬誠也編). pp. 134–141, ソフトサイエンス社, 東京.
- Nishiguchi, M. and Kobayashi, K. (2011). Attenuated plant viruses: preventing virus diseases and understanding the molecular mechanism. *J. Gen. Plant Pathol.* 77: 221–229.
- 沼田慎一・阿久津克己 (2009). 細菌、菌類の加水分解酵素の増強. 微生物と植物の相互作用—病害と生物防除— (百町満朗・対馬誠也編). pp. 110–115, ソフトサイエンス社, 東京.
- Ogai, R., Kanda-Hojo, A. and Tsuda, S. (2013). An attenuated isolate of *Pepper mild mottle virus* for cross protection of cultivated green pepper (*Capsicum annuum* L.) carrying the L3 resistance gene. *Crop. Prot.* 54: 29–34.
- 小川 圭・駒田 旦 (1984). 非病原性 *Fusarium oxysporum* によるサツマイモつる割病の生物防除. *日植病報* 50: 1–9.
- 小川 圭・駒田 旦 (1986). 非病原性 *Fusarium oxysporum* によるサツマイモつる割病に対する全身的な抵抗性の誘導. *日植病報* 52: 15–21.
- 小川晃一郎・森 太郎・松崎弘美・松添直隆 (2012). 非病原性 *Ralstonia solanacearum* の定着がナス青枯病発病抑制効果に及ぼす影響. *園学研* 11: 399–403.
- 小木曾秀紀 (2006). シュードモナス・フルオレッセンス製剤によるレタス腐敗病, キャベツ黒腐病の防除. *今月の農業* 50(11): 44–46.
- Okada, T. and Matsubara, Y. (2012). Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and sodium chloride on tolerance to Fusarium root rot and antioxidative abilities in asparagus plants. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 81: 257–262.
- 大沢高志 (1990). 弱毒 CGMMV による防除. 農業有用微生物—その利用と展望— (梅谷献二・加藤 肇編). pp. 48–57, 養賢堂, 東京.
- Oshima, N. (1981). Control of tomato mosaic disease by attenuated virus. *Jpn. Agr. Res. Quart.* 14: 222–228.
- Picard, K., Ponchet, M., Blein, J.-P., Rey, P., Tirilly, Y. and Benhamou, N. (2000). Oligandrin. A proteinaceous molecule produced by the mycoparasite *Pythium oligandrum* induces resistance to *Phytophthora parasitica* infection in tomato plants. *Plant Physiol.* 124: 379–396.
- Rebuffat, S., Prigent, Y., Auvin-Guette, C. and Bodo, B. (1991). Tricholignins BI and BII, 19-residue peptaibols from *Trichoderma longibrachiatum*. Solution structure from two-dimensional NMR spectroscopy. *Eur. J. Biochem.* 201: 661–674.
- Richter, J., Baltruschat, H., Kabrodt, H.K. and Schellenberg, I. (2011). Impact of arbuscular mycorrhiza on the St. John's wort (*Hypericum perforatum*) wilt disease induced *Colletotrichum gloeosporioides*. *J. Plant Dis. Prot.* 118: 109–118.
- Salaman, R.N. (1933). Protective inoculation against a plant virus. *Nature* 131: 468.
- 佐々木篤 (1974). ハッサク萎縮病に関する研究. 広島県果樹試験場特別報告 2: 1–106.
- 佐山春樹 (1996). 弱毒キュウリモザイクウイルスを利用したウイルス耐性トマトの苗生産. *植物防疫* 50: 20–25.
- Shimizu, B., Miyagawa, H., Uneno, T., Sakata, R., Watanabe, K. and Ogawa, K. (2005a). Morning glory systemically accumulates scopoletin and scopolin after interaction with *Fusarium oxysporum*. *Z. Naturforsch.* 60: 83–90.
- Shimizu, K., Hossain, M.M., Kato, K., Kubota, M. and Hyakumachi, M. (2013). Induction of defense responses in cucumber plants by cell free filtrate of plant growth-promoting fungus *Penicillium simplicissimum* GP17-2. *J. Oleo Sci.* 62: 613–621.
- Shimizu, M., Fujita, N., Nakagawa, Y., Nishimura, T., Furumai, T., Igarashi, Y., Onaka, H., Yoshida, R. and Kunoh, H. (2001). Disease resistance of tissue-cultured seedlings of rhododendron after treatment with *Streptomyces* sp. R-5. *J. Gen. Plant Pathol.* 67: 325–332.
- Shimizu, M., Suzuki, T., Mogami, O. and Kunoh, H. (2005b). Disease resistance of plants induced by endophytic actinomycetes. In *Genomic and Genetic Analysis of Plant Parasitism and Defense* (Tsuyumu, S., Leach, J.E., Shiraishi, T. and Wolpert, T., eds.). pp. 292–293, APS Press, St. Paul.
- Shimizu, M., Meguro, A., Hasegawa, S., Nishimura, T. and Kunoh, H. (2006). Disease resistance induced by nonantagonistic endophytic *Streptomyces* spp. on tissue-cultured seedlings of rhododendron. *J. Gen. Plant Pathol.* 72: 351–354.
- 清水将文 (2007). 内生放線菌利用の最前線. バイオコントロール研究会レポート 10: 82–91.
- Shimizu, M., Yazawa, S. and Ushijima, Y. (2009). A promising strains of endophytic *Streptomyces* sp. for biological control of cucumber anthracnose. *J. Gen. Plant Pathol.* 75: 27–36.
- Shimizu, M. (2011). Endophytic actinomycetes: Biocontrol agents and growth promoters. In *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Growth Responses* (Maheshwari, D.K., ed.). pp. 201–220, Springer, Berlin.
- Shimizu, M., Hyakumachi, M., Kubota, M. and Kuroda, K. (2013). Biocontrol of *Alternaria brassicicola* on cabbage seedlings and *Glomerella cingulata* on strawberry seedlings by endophytic *Streptomyces* spp. *IOBC/WRPS Bull.* 86: 213–218.
- 篠原 信 (2006). 病憎んで菌を憎まず—クオラム・センシングを利用した新規な病害防除法. *化学と生物* 44: 364–372.
- Shishido, M., Miwa, C., Usami, T., Amemiya, Y. and Johnson, K.B. (2005). Biological control efficiency of *Fusarium* wilt of tomato by nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo-B2 in different environments. *Phytopathology* 95: 1072–1080.
- Shivanna, M.B., Meera, M.S. and Hyakumachi, M. (1996). Role of root colonization ability of plant growth promoting fungi in the suppression of take-all and common root rot of wheat. *Crop Prot.* 15: 497–504.
- 染谷信孝・阿久津克己 (2005). 植物病害のバイオコントロール—課題と新展開. *化学と生物* 43: 321–327.
- 鈴木俊二 (2009). 新規微生物 KS1 株を用いたブドウ病害防除剤の開発. *今月の農業* 53: 21–26.
- 田口義広 (2006). バチルスズブチリス製剤による野菜類の病害防除と散布法. *今月の農業* 50: 36–42.
- 高原吉幸 (2003). 非病原性 *Erwinia carotovora* による野菜類軟腐病の防除. 拮抗微生物による作物病害の生物防除—我が国における研究事例・実用化事例— (百町満朗監修). pp. 65–76, クミアイ化学工業株式会社, 東京.
- Takahashi, H., Ishihara, T., Hase, S., Chiba, A., Nakaho, K., Arie, T., Teraoka, T., Iwata, M., Tugane, T., Shibata, D. and Takenaka, S. (2006). Beta-cyanoalanine synthase as a molecular marker for induced resistance by fungal glycoprotein elicitor and commercial plant activators. *Phytopathology* 96: 908–916.
- Takahashi, H. and Takenaka, S. (2010). “Defense system induced by elicitor-like proteins of biocontrol agent *Pythium oligandrum*”. In *Genome-enabled Integration of Research in Plant-pathogen Systems* (Walpert, T., Shiraishi, T., Akimitsu, K. and Glazebrook, J., eds.). pp. 39–46, APS Press, St Paul, Minnesota, USA.

- Takaki, S., Kitamura, A. and Marumoto, T. (1992). Control of Fusarium disease using antagonistic actinomycetes I. Screening of antagonistic actinomycetes to *Fusarium oxysporum*. Soil Microorg. 39: 35–40.
- Takenaka, S., Nishio, Z. and Nakamura, Y. (2003). Induction of defense reactions in sugar beet and wheat by treatment with cell wall protein fractions from the mycoparasite *Pythium oligandrum*. Phytopathology 93: 1228–1232.
- Takenaka, S., Sekiguchi, H., Nakaho, K., Tojo, M., Masunaka, A. and Takahashi, H. (2008). Colonization of *Pythium oligandrum* in the tomato rhizosphere for biological control of bacterial wilt disease analyzed by real-time PCR and confocal laser-scanning microscopy. Phytopathology 98: 187–195.
- Takenaka, S., Yamaguchi, K., Masunaka, A., Hase, S., Inoue, T. and Takahashi, H. (2011). Implications of oligomeric forms of POD-1 and POD-2 proteins isolated from cell walls of the biocontrol agent *Pythium oligandrum* in relation to their ability to induce defense reactions in tomato. J. Plant Physiol. 168: 1972–1979.
- 竹内香純 (2012). 細菌の力を生かして植物を守る—拮抗細菌の small RNA の発現を指標にして. バイオサイエンスとインダストリー 70: 23–26.
- 手塚信夫・牧野孝弘 (1991). 非病原性 *Fusarium oxysporum* によるイチゴ萎黄病の生物的防除. 日植病報 57: 506–511.
- 豊田剛己 (2011). 発病抑止土壌に関する最近の研究動向. 土づくりとエコ農業 43: 31–37.
- 土屋健一・染谷信孝 (2009). 抗生. 微生物と植物の相互作用—病害と生物防— (百町満朗・對馬誠也編). pp. 36–43. ソフトサイエンス社, 東京.
- Usuki, F. and Narisawa, K. (2007). A mutualistic symbiosis between a dark septate endophytic fungus, *Heteroconium chaetospora*, and a nonmycorrhizal plant, Chinese cabbage. Mycologia 99: 175–184.
- Yamaguchi, K., Sano, T., Arita, M. and Takahashi, M. (1992). Biocontrol of Fusarium wilt of tomato and Verticillium wilt of eggplant by non-pathogenic *Fusarium oxysporum* MT0062. Ann. Phytopathol. Soc. Japan 58: 188–194.
- Yamasaki, S., Sakai, J., Kamisoyama, S., Goto, H., Okuda, M. and Hanada, K. (2009). Control of russet crack disease in sweet potato plants using a protective mild strain of *Sweet potato feathery mottle virus*. Plant Dis. 93: 190–194.
- Yedidia, I., Benhamou, N. and Chet, I. (1999). Induction of defense response in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. Appl. Environ. Microbiol. 65: 1061–1070.
- Yedidia, I., Srivastava, 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.
- 横田健治 (2012). 拮抗性 *Bacillus* 属細菌を利用した植物病害の生物防除—機能性物質とその防除メカニズムを中心に. 土と微生物 66: 27–31.
- 吉田重信 (2009). 異種微生物間の相互作用およびその生物防除への活用の可能性. 植物防疫 63: 619–623.
- Ziebell, H. and Carr, J.P. (2010). Cross-protection, a century of mystery. Adv. Virus Res. 76: 211–264.