会 長 講 演

境界植物病理学の勧めと戒め —植物病害防除のための新戦略の構築に向けて†

日 比 忠 明*

HIBI, T.*: Invitation to interdisciplinary plant pathology

植物病理学は植物病害防除のための基礎と応用の科学であり、植物病原微生物学、植物感染生理学、植物疫学などによって植物の病気の原因や生態を解明するとともに、これに基づいて実際の病害の診断と防除の指針を示し、また、そのための新技術の開発を図ることがその主な使命

である。従って、植物病理学は、従来から、ウイルス学、細菌学、菌類学、線虫学、植物生理学、細胞学、遺伝学、生化学、分子生物学などの基礎諸科学、応用昆虫学、農薬学、育種学、栽培学などの応用諸科学、さらに最近では、生物工学、環境科学、情報工学などの先端諸科学ともきわめて密接な関連があり、本来、ボーダーレスの植物病害防除のための総合科学として位置づけられている。そこに改めて境界植物病理学などという領域を新たに設定する必要性は必ずしもないが、ここでは基礎植物病理学あるいは応用植物病理学とこれら隣接諸科学との境界にまたがる研究分野のうち、これまでに著者の関わった植物バイオテクノロジーとの境界領域および農薬学との境界領域における研究事例をご紹介します。さらに、境界植物病理学の持つ意義、魅力、そして危うさなどについてもお話して、若い研究者の方々のご参考に供したい。

なお、著者がこれまでに関わった研究の中で、基礎植物病理学的な研究の概要については参考文献 1～8 を、また、境界あるいは応用植物病理学的な研究の概要については参考文献 9～26 を、それぞれご参照いただきたい。

1. 植物バイオテクノロジーとの境界領域

現在の植物バイオテクノロジーの基幹となる技術は、植物組織・細胞培養技術、植物細胞融合技術および植物遺伝子工学技術であるが、そのいずれの技術の確立にもこれまでの植物病理学が大きく貢献している。すなわち、ウイルスフリー化のために開発された生長点培養技術、ウイルス感染実験のために開発された植物プロトプラスト技術、各種植物ウイルスの遺伝子構造の解明、根頭がん腫病菌の病原性の本体に関する知見など、植物病理学分野で得られた基礎的研究の成果やそこで開発された技術が、カリフラワーモザイクウイルスのプロモーターを用いた植物用ベクターや RNA ウイルスベクターの構築、根頭がん腫病菌の Ti プラスミドベクターによる遺伝子導入法、プロトプラストへの直接遺伝子導入法、あるいはプロトプラスト融合法など基本的な植物バイオテクノロジー技術の確立にあたって巧妙に応用されてきた。一方、そうして確立された植物バイオテクノロジー技術が、今度は、病害抵抗性組換え植物など病害防除のための新技術の開発に利用されている。そのうち、ここでは著者がその研究・開発に直接携わった以下の 2 例についてその大略を紹介する。

(1) 植物プロトプラスト実験系の開発とそのウイルス学ならびに植物細胞工学への応用

植物プロトプラストを用いたウイルス感染実験系は、現在では植物ウイルス研究のための主要な実験法のひとつとなっているが、著者らは 1960 年代後半からこの実験系の開発研究に携わり、ペチュニア葉肉プロトプラストの一段階法による調製とそのタバコモザイクウイルス (TMV) に

† 平成 13 年 4 月 2 日 平成 13 年度大会で行われた会長講演の要旨

* 東京大学大学院農学生命科学研究科 Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, Tokyo 113-8457, Japan

よる感染に成功した後、タバコ葉肉プロトプラストにおけるTMVの感染・増殖過程を電子顕微鏡的に明らかにするとともに、ササゲ葉肉プロトプラストの調製法とその数種植物ウイルスによる感染実験系を確立した。次いで、より効率的で迅速・簡便なウイルス核酸感染実験系を開発するため、電気遺伝子導入法に関する研究に着手し、プロトプラストの核酸感染のための最適電気条件を確立した。一方、電気遺伝子導入法とこれとは独立に開発された電気細胞融合法とが原理的には共通であろうとの推測の下に、両技法の実験条件を詳細に比較・検討したところ、遺伝子導入と細胞融合とが本質的にはほぼ同一の電気条件で誘起されることが明らかにされ、これを契機として両技法が技術的に融合することとなった。さらに、両技法の一層の効率化とその細胞育種等への実用化の促進を図ることを目的として、大量の細胞を迅速に処理するための連続電気遺伝子導入法および連続電気細胞融合法の技術を考案し、そのための連続電気細胞操作装置を新たに開発して製品化した。

以上から、電気遺伝子導入法は植物プロトプラストへのウイルス核酸感染法として、また、広く異種遺伝子を植物細胞に直接導入する方法として、従来の方法に比べ、より迅速かつ高効率であることが示された。本法は、現在では、植物ウイルス学、植物分子生物学、植物細胞工学などのための重要な実験技術のひとつとして、日常的に用いられるようになった。一方、電気細胞融合法も、その後、動植物ともに細胞融合法の主流となり広く普及するに至ったが、植物分野ではやがてバイオテクノロジー育種の潮流が細胞融合から遺伝子組換えに移行したため、一時代前ほどには利用されなくなっているのが現状である。

なお、電気遺伝子導入法は遺伝子工学技術と組み合わせることによって、各種遺伝子の機能解析に利用することができるが、著者らは本法によって新種の2本鎖DNAウイルスであるダイズ退緑斑紋ウイルス(SbCMV)のプロモーターを新たに同定し、さらに、このプロモーター断片が組換えイネにおいても安定的に機能することを示した。

(2) 植物の防御応答遺伝子の単離とその導入による菌類病抵抗性組換え植物の開発

病害防除技術のひとつの主要な柱は病害抵抗性品種の利用であるが、従来の交雑育種による抵抗性品種の育成では、病原菌の変異による抵抗性の崩壊と抵抗性遺伝子源の枯渇が深刻な問題となっている。このような状況の突破口を開くものとして大きな期待を担って登場してきたのが、遺伝子工学を用いて開発された病害抵抗性組換え植物である。この技術によれば、従来の交雑育種では不可能であった他生物からの抵抗性遺伝子の導入や導入遺伝子の人為的

な改良と発現制御が可能になるとともに、育種に要する期間を大幅に短縮できる。

著者らは植物病害の約7割を占める菌類病に対する抵抗性組換え植物の開発を目的として、イネの防御応答遺伝子のひとつであるキチナーゼ遺伝子に着目し、本遺伝子を単離して構造を解析した後、これを各種植物に導入した結果、いもち病抵抗性組換えイネをはじめとして、各種病原菌類に対する抵抗性が増強したタバコ、イチゴ、キュウリ、ブドウ、キクなどの各種組換え植物が得られた。また、イネの β -1,3;1,4-グルカナーゼ遺伝子を再導入したイネにおいても、いもち病および白葉枯病に対する抵抗性の増強が認められたが、この場合には過敏反応を伴うことが示された。これらの組換え植物のうち、キチナーゼ遺伝子再導入イネの有望系統について、現在、その抵抗性増強の分子機構を解析するとともに、後代検定と圃場試験を進めている。従来の組換え植物の開発では、異種の外来遺伝子の導入ということに目を奪われがちであるが、一方、植物自身に生来備わっている自己防御機構を感染時特異的により迅速、強力に発現させるような遺伝子工学的工夫をこらすという研究方向も、今後、重要性を増すのではないだろうか。

2. 農薬学との境界領域

植物病害防除剤の作用機構やこれら薬剤に対する耐性機構の研究は、従来から植物病理学と農薬学との境界領域であり、特に目新しい分野ではないが、病害防除技術のもうひとつの主要な柱である薬剤防除において、現在、薬剤耐性菌の出現とその蔓延が大問題となっている。著者らはこれに対処する新技術を開発する上でその基礎となる分子生物学的知見を得ることを目的として、数種植物病原菌における薬剤耐性の分子機構について解析をおこなった。ここでは、得られた研究成果のうち、これまで報告のなかった機構の事例を簡単にご紹介することにしたい。

植物病原菌における薬剤耐性機構としては、従来から、薬剤解毒酵素による耐性、薬剤標的タンパク質の変異による耐性、薬剤の菌体内透過阻止による耐性などの機構が知られていたが、著者らは薬剤標的タンパク質の過剰発現による耐性機構を新たに見いだすとともに、薬剤に対する基本的な耐性には薬剤を菌体外に排出するABCトランスポーターが必須であることを初めて証明した。前者はカンキツ緑かび病菌のDMI剤耐性が本剤の標的酵素であるP450-14デメチラーゼの過剰発現によっており、さらにこの過剰発現が本遺伝子上流のプロモーター領域に存在する重複エンハンサーの転写促進作用によることを明らかにし

たものである。一方、後者はカンキツ緑かび病菌の ABC トランスポーター遺伝子 *PMR1* および *PMR5* についての遺伝子破壊実験から、*PMR1* が DMI 剤、オリゴマイシン、フロレチンなどの、*PMR5* がベンズイミダゾール剤、ジチアノン、レスベラトロールなどの、細胞外排出にそれぞれ必須で、本菌の各種薬剤や毒性物質に対する基本的な耐性を分担して決定している遺伝子であることを示したものである。

3. 境界植物病理学の勧めと戒め

以上、境界植物病理学領域における著者の研究事例を紹介したが、特に新興の先端的境界領域では、一般に過去の研究実績が少ないことから、もし幸運に恵まれれば、新規で独創性があり波及効果も比較的大きい成果が得られる可能性が高いという魅力がある反面、参考にすべき文献や競争すべき研究者の数も少なく、他からの適切な助言や批判も得られにくいために、いわば独学に近い形で暗中模索せねばならず、研究テーマによっては、泥沼や迷路にはまり込んでその突破口が開けず、結局、まったくの徒労に終わったり、あるいは自己満足に陥っているだけで、関連する既存の学問分野のどちらからもあまり理解も評価もされず、孤立無援の状態に追い込まれるという危険性も高い。また、その時の一時的な科学や技術の流行に支配されやすく、研究基盤も脆弱で、将来の発展性もまったく不透明であり、多くの場合、やがては既存の学問分野に吸収されて消滅する運命にあるという点で、かなり冒険的な側面が強い。境界領域に限らず、科学は、本来、知的冒険の世界ではあるが、以上のようなことからすれば、できればやはり、確固とした伝統と実績を持つ植物病理学の主流で落ち着いてひとつの研究テーマを深く着実に追求するというのが正統な行き方であろう。しかしながら、現在ではそうした恵まれた研究環境に安定していられるような幸福な研究者の数は限られており、研究体制の変革や時代の要請に応じて、不本意ながら研究テーマの変更を余儀なくされる場合も少なくない。そうした立場におかれた研究者にとっては、この境界植物病理学領域を指向するものひとつの選択肢になろう。この領域は未開の先端分野への挑戦という大きな魅力にあふれているが、植物病理学の専門研究者がこの領域に足を踏み入れた時には、それまでのバックグラウンドである植物病理学の知識と経験を生かしながら、あくまでも軸足は植物病理学側に置いて、その境界を拡げるといった基本姿勢を保ち、そこで得られた成果は直ちに植物病理学分野に還元あるいは応用するという道を選ぶのが、賢明な態度なのかもしれない。もちろん、この境界領域を自

身の新たな専門分野と定めてそこに定着するか、そこからさらに飛躍して他の既存の専門分野に鞍替えするという行き方もあるが、いずれの場合でも、自身の研究者としての自己規定を明確にしておかないと、やがて学問上の放浪者となってしまう危険性がある。

さて、前述のように、植物病害の主要な防除手段は病害防除剤の施用と病害抵抗性品種の利用であるが、これらの薬剤や品種の開発は病原体の変異や進化との絶えざる競争に晒されており、不断の開発努力を続けなければ、病原体の跳梁を制御していくことはできない。従来、基礎植物病理学における成果が、そのまま直接的に新たな薬剤や品種の開発に結びつくという例は比較的少なかったが、分子生物学的成果を直ちに遺伝子工学的に応用する道が開かれたことから、それが可能な状況となった。医学領域においては、基礎研究の成果を臨床に活かす医療は開発型医療と呼ばれており、現在、ヒトゲノムの解読の完了を受けて、遺伝子治療やゲノム創薬などの先端的研究が急速な展開を見せている。植物病理学分野においても、遺伝子診断など新たな診断技術の開発では基礎と応用の連動が顕著であるが、防除技術の開発、特に病害抵抗性組換え品種の開発に関しては、育種学分野と連携をとりながら、この開発型防除技術をさらに迅速に進展させる必要がある。組換え作物の開発と実用化にあたっては、環境や食品としての安全性に慎重な配慮が必要なことはいくまでもないが、地球環境を守りながら生産性を維持して人類を養っていかなければならないという今後の農業にとって、組換え作物の開発とその利用がやはりひとつの大きな技術的柱となることは否めない。病原体は決してその進化を止めることがない。従って、我々専門研究者が、農業も組換え作物も反対という今の世論の潮流にただ従って、これらの分野の研究開発の努力を怠っていれば、いずれ21世紀の農業生産とその環境を安定して支えていくことが困難となるような事態を招来する可能性も懸念される。境界植物病理学を勧める所以のひとつはここにもある。

参考文献

1. 日比忠明 (1982). 植物2本鎖RNAウイルスとそのゲノム. 化学と生物 20: 141-143.
2. Hibi, T. and Furuki, I. (1985). Melon necrotic spot virus. AAB Descriptions of Plant Viruses No. 302.
3. Hibi, T. and Kameya-Iwaki, M. (1988). Soybean chlorotic mottle virus. AAB Descriptions of Plant Viruses No. 331.
4. 日比忠明 (1991). 植物ウイルスの分子進化. 植物防疫 45: 275-283.
5. 日比忠明 (1995). 2本鎖DNAウイルス. 植物病理学事

- 典. pp. 364-367, 養賢堂, 東京.
6. 渡辺貴斗・日比忠明 (2000). 植物プラス 1 本鎖 RNA ウイルスの RNA 複製酵素. ウイルス 50: 103-118.
 7. Hibi, T. (2001). Genus *SbCMV-like viruses*. The Springer Index of Viruses. Springer, Berlin. (in press).
 8. 日比忠明 (2001). 植物ウイルス. 新農学大事典. 養賢堂, 東京. (印刷中).
 9. 本田要八郎・日比忠明 (1984). 植物ウイルスの電子顕微鏡観察法. 野菜のウイルス病. pp. 447-467, 養賢堂, 東京.
 10. 日比忠明 (1984). DIBA 法による植物ウイルスの検出法. 植物防疫 38: 380-384.
 11. 兼松誠司・夏秋知英・日比忠明 (1990). 非放射性核酸プローブによる植物病害の遺伝子診断法. 植物防疫 44: 549-556.
 12. 平八重一之・矢野 博・日比忠明 (1992). 植物病原細菌の RFLP. 植物防疫 46: 320-325.
 13. 鈴木 匡・山下修一・日比忠明 (1999). 植物病原微生物学. 実験生産環境生物学. pp. 121-140, 朝倉書店, 東京.
 14. 日比忠明 (1976). 植物プロトプラストとウイルス. 化学と生物 14: 363-377.
 15. 日比忠明 (1977). 植物プロトプラストの調製法. 組織培養 3: 107-113.
 16. 日比忠明 (1988). 電気遺伝子導入法. 組織培養 14: 345-349.
 17. 長谷川勝二・日比忠明 (1988). 静電界による細胞融合・遺伝子導入技術. 静電気学会誌 12: 347-353.
 18. Hibi, T. (1989). Electrotransfection of plant protoplasts with viral nucleic acids. Adv. Virus Res. 37: 329-342.
 19. Hibi, T. (1989). Plant protoplast fusion by electro-manipulation. Adv. Cell Culture 7: 147-160.
 20. 日比忠明 (1990). エレクトロポレーションによる遺伝子導入. 組織培養 16: 2-7.
 21. 日比忠明 (1992). 細胞融合による抵抗性品種の作出. 病害防除の新戦略. pp. 125-131, 全国農村教育協会, 東京.
 22. 日比忠明 (1993). 植物プロトプラストならびに電気細胞操作法を用いた植物ウイルス感染実験系の開発に関する研究. 日植病報 59: 237-239.
 23. 西沢洋子・阿久津克己・日比忠明 (1992). 植物溶菌酵素遺伝子の導入による菌類病抵抗性植物の作出. 植物防疫 46: 500-506.
 24. 日比忠明 (1994). 植物遺伝子工学への微生物の利用. 微生物と農業. pp. 386-418, 全国農村教育協会, 東京.
 25. 西沢洋子・鈴木 匡・日比忠明 (1999). 病害抵抗性トランスジェニック植物の開発はどこまで進んだか. 化学と生物 37: 295-305, 385-392.
 26. 中畝良二・阿久津克己・日比忠明 (1999). 植物病原菌類の多剤耐性機構. 植物防疫 53: 181-184.