

β -caryophyllene の植物に対する生育促進作用 および耐病性増進作用の解析

山際 泰夫・豊田 和弘・稲垣 善茂・一瀬 勇規
百町 満朗^{a)}・白石 友紀

(応用植物科学コース)

A Volatile Substance, β -Caryophyllene, from *Talaromyces wortmannii* Promotes Growth and Tolerance to Diseases on Several Plants

Yasuo Yamagiwa, Kazuhiro Toyoda, Yoshishige Inagaki, Yuki Ichinose,
Mitsuro Hyakumachi^{a)} and Tomonori Shiraishi

(Course of Applied Plant Science)

A plant growth-promoting fungus, *Talaromyces wortmannii* strain FS2 was isolated from an agricultural field at Okayama Pref. FS2 enhanced seed germination, root elongation and leaf growth of *Brassica rapa* var *perviridis* (Komatsuna). Such plant growth-promoting effect was observed in the same sealed chamber where FS2 was cultured on PDA medium separated from seedlings, suggesting effective volatile compound(s). GC-MS analysis showed that FS2 emitted at least seven terpenoids, of which a volatile was identified as β -caryophyllene. β -caryophyllene alone promoted the growth of cucumber, *Nicotiana benthamiana* and barley. Furthermore β -caryophyllene increased the yield of cucumber fruits. Interestingly, we found that β -caryophyllene conditioned these plants to be resistant to respective diseases caused by *Colletotrichum orbiculare*, *Botrytis cinerea* or *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*. The findings indicate that β -caryophyllene has desirable dual features and therefore, it is available to cultivation of many crops.

Key words : β -caryophyllene, plant growth-promoting, resistance induction, *Talaromyces wortmannii*

緒 言

土壌中には、*Fusarium* 属、*Rhizoctonia* 属、*Verticillium* 属など、植物（作物）の病気を原因する植物病原菌が存在する。これらは、難防除性土壌病原菌とされ、薬剤耐性の発達など化学的防除（薬剤による防除）が困難な例が少なくない。一方、最近、菌根菌や有用な根圏菌類も棲息し、これらは、土壌から植物へのリン酸供給を行い植物の生育を促進すること、病原菌の生育や定着を直接抑制すること、抵抗性誘導により発病を抑制することなど、多数の研究報告がある¹⁾。このように、根圏には植物に害作用を及ぼす微生物だけではなく、農業上有用な微生物も少なくない。

有用な土壌菌としては、*Trichoderma*、*Fusarium*、*Penicillium* および *Phoma* 属の植物生育促進菌類（PGPF, plant growth promoting fungi）が存在するが、これらの一部は、植物の生育を促進するだけでなく、病原菌に対する防御にも関与してことが次第に明らかとなってきた^{2,3,4,5)}。例えば、根圏から分離された PGPF *Penicillium simplicissimum* GP17-2 は、広範囲の穀物の生育を促進し^{2,6)}、土壌病害を効果的にコントロールでき

る²⁾。また、病気に対する全身抵抗性も誘導することも判明した^{3,5)}。*Penicillium frequentans* は、果樹の褐色腐敗病を防除でき⁷⁾、*Penicillium oxalicum* は、トマトに抵抗性を誘導することで、*Fusarium* による病気を低減させるとの報告がある⁸⁾。また、*Talaromyces flavus* は、*Verticillium dahliae* に起因するナス⁹⁾やジャガイモ¹⁰⁾やトマト¹¹⁾の半身萎凋病（立枯れ病）に有効である。

岡山県総社市の農地から単離された PGPF *Talaromyces wortmannii* FS2 は、揮発性のセスキテルペン β -caryophyllene を生成するが、本物質をコマツナと共存させると、コマツナの生育が促進されるだけではなく、アブラナ科炭疽病菌（*Colletotrichum destructivum*）に対する耐病性が増進されることが判明した¹²⁾。これは、1分子が植物の成長促進と耐病性付与という好ましい作用を持つことを明らかにしたもので、その栽培への応用が期待される。そこで、本研究では、環境負荷

Received October 10, 2012

a) 岐阜大学大学院

(Graduate School of Applied Biological Sciences,
Gifu University, Gifu, 501-1193, Japan.)

の小さい、安全・安心かつ農業生産現場で簡便に取扱える生物系資材の開発を目指し、 β -caryophyllene がコマツナ（アブラナ科）のみならず、他種植物（作物）のキュウリ（ウリ科）、タバコ（ナス科）、およびオオムギ（イネ科）に対して生育促進作用および耐病性増進作用を示すか否かについて解析した。

実験材料および方法

1) コマツナ根の生育測定

気化した β -caryophyllene (134 ppm) がコマツナの地上部の生重を有意に増加させることが判明した¹²⁾。この過程で、根の伸長促進作用が観察されたので、液体培養により根の生育の計測を試みた。25°Cの暗所で市販のコマツナ種子（品種：楽天、タキイ種苗）を催芽した。試験管20本に水耕栽培用ホーグランド第1液 [KNO₃ 0.51 g/L (5 mM), Ca(NO₃)₂ · 4H₂O 1.18 g/L (5 mM), KH₂PO₄ 0.136 g/L (1 mM), MgSO₄ · 7H₂O 0.49 g/L (2 mM)]を上部1 cm残して満し、その上部にガラスウールを固定し、発芽した種子を1粒/試験管 播種し、25°C暗所で静置した。播種翌日に、水面より下部をアルミ泊で覆い、23°C 12時間/日の照明下に静置した。播種3日後、子葉展開を確認後、根の長さが約3 cm程度に生育したコマツナ（試験管）を10本ずつ密封容器（容量：6.6 L）に移した。密封容器の内側の上部にろ紙を張り、 β -caryophyllene を1082 μ l 浸み込ませ、自然揮発させて処理した（計算上の濃度は134 ppm）。処理3日後（播種6日後）、 β -caryophyllene の処理を中止し、播種10日後には、培養液を根元まで補充した。播種17日後（ β -caryophyllene 処理14日後）、各区の根の生育（最長根の長さ）を測定した。

2) キュウリの生育と耐病性の検定

キュウリ（品種：夏すずみ タキイ種苗）の種子を2粒/ポット（9 cmプラスチックポット、培養土：サカタスーパーミックスとバーミュキライトを1：1の混合）播種し、ハイポネックス500倍を80 ml/ポット 灌水した。計16ポットを23°C、16時間照明の人工気象器で栽培した。播種6日後、子葉の展開を確認し、正常発育したキュウリを1本選抜し、容量4.5 Lのプラスチック製の密封容器3個に、それぞれ4ポットずつ置いた。密封容器内に直径3 cmのガラスシャーレを置き、ろ紙に β -caryophyllene を738 μ l (134 ppm), 7.4 μ l (1.34 ppm)の各量を浸み込ませ、直ぐに密封して、23°C、16時間照明の人工気象器内で生育させた。また、密封容器内にキュウリ苗だけを置く無処理対照区（0 ppm）を設けた。播種32日目に各区のキュウリを株元から切り取り生重量を測定した。

各処理区の葉を切り取りプラスチック容器に並べ、ウリ類炭疽病菌（*Colletotrichum orbiculare* Ellis & Halsted, 104T株；PDA上で23°C、14日培養）の胞子懸濁液（1

×10⁶ spores/ml）を葉面に噴霧接種し（噴霧量は、21×31 = 651 cm² 当り約5 mlとした）、湿度を保って、23°C、12時間照明の人工気象器内に静置した。噴霧接種5日後、病斑を観察・撮影した。病斑面積については、撮影した病斑写真から Assess 2.0 (APSの病斑面積測定ソフト)を用いて計測した。

3) キュウリの収量調査

播種6日後のキュウリ苗を9 Lのデシケーターに移し、136 ppm, 13.6 ppm, 0 ppmの β -caryophylleneで処理した。処理26日後（播種32日後）のキュウリ苗を、サカタソイルミックスを1/2量混入した圃場の土壤に移植し、移植28日後から30日間収穫調査をした。

4) *Nicotiana benthamiana* の生育と耐病性の検定

N. benthamiana の種子を Jiffy pot (No.7) に播種し、7日後に新しい Jiffy (No.7) に3個体ずつ移植した。播種10日後、それぞれ12本の苗（Jiffy pot 4個ずつ）を3つの密封容器（1.22 L）に移し、気化させた β -caryophyllene [0 ppm, 1.34 ppm (2 μ l), 134 ppm (200 μ l)]で処理し、処理21日後（播種31日後）、*N. benthamiana* を株元で切り取り、個体別重量を測定した。また、切取った第1葉、第2葉に灰色かび病菌（*Botrytis cinerea* Bcr 2株）の胞子懸濁液（9 × 10⁵ spores/ml）を6 μ l 滴下接種し、23°C、12時間照明下に静置した。

接種2日後、一部の接種葉を MeOH で固定した。接種4日後、残りの接種葉を撮影し、標本を作成した。

5) オオムギの生育と耐病性の検定

オオムギ品種コピンカタギの種子4粒ずつ Jiffy pot に播種し、4日後に、それぞれ6個の Jiffy pot を密封容器に移し、 β -caryophyllene (0 ppm, 1.34 ppm, 13.4 ppm) で処理し、23°Cで静置した。処理7日後（播種11日後）、各区共にそれぞれの Jiffy pot から20本の苗を株元から切り取り、個体別に重量を測定した。残りの4本の苗には *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* (race1) の胞子を絵筆で接種した。接種48時間後に接種部を切り取り、メタノールで固定脱色した。水洗後、コットンブルーで染色後、光学顕微鏡で第二次菌糸を形成した（感染を成立させた）胞子数を観察し、感染率（第2次菌糸形成胞子数/付着器形成胞子数×100）を求めた。

次に、 β -caryophyllene 処理日数とオオムギの耐病性の関係を調べた。コピンカタギ種子を4粒ずつ Jiffy pot に播種した。播種3日後から、順次、密封容器に Jiffy pot を4個ずつ移し、 β -caryophyllene (0 ppm, 13.4 ppm) で1-5日間処理した。 β -caryophyllene 処理完了後（播種8日後）、オオムギうどんこ病菌の分生胞子を絵筆で接種し、2日後にメタノールで固定、脱色し、コットンブルーで染色した。染色後、光学顕微鏡で第二次菌糸形成胞子数を観察し、感染率（第二次菌糸形成胞子数/付着器形成胞子数×100）を求めた。

結 果

1) コマツナ根の伸長に及ぼす β -caryophyllene の効果

無処理区の根は、主根が相対的に短く先端部の側根があまり発達していなかったが、処理区では、主根が長く先端部まで側根がよく発達していた (Fig. 1). 主根の生育は無処理区と比較して、 β -caryophyllene (volatile) 処理区の方が有意に ($p \leq 0.05$) 伸長することが明らかとなった (Fig. 1). このような根の発達は、地上部の発達を促進する一つの要因になっているものと推測できた.

2) キュウリの生育と耐病性に及ぼす β -caryophyllene の効果

播種32日後 (β -caryophyllene 処理26日後) のキュウリ苗の生重量は、 β -caryophyllene 134 ppm 処理区が最も大きく、平均で5.24 g/苗 ($n=4$) であった. 1.34 ppm 処理区は2.21 g/苗、無処理対照区1.92 g/苗と比較して顕著な生育の差が認められ、 t 検定により有意差 ($p \leq 0.001$) が確認された (Fig. 2 A). また、134 ppm の β -caryophyllene で処理されたキュウリ葉にウリ類炭疽病菌を噴霧接種し、5日後の病斑面積を計測した結果、

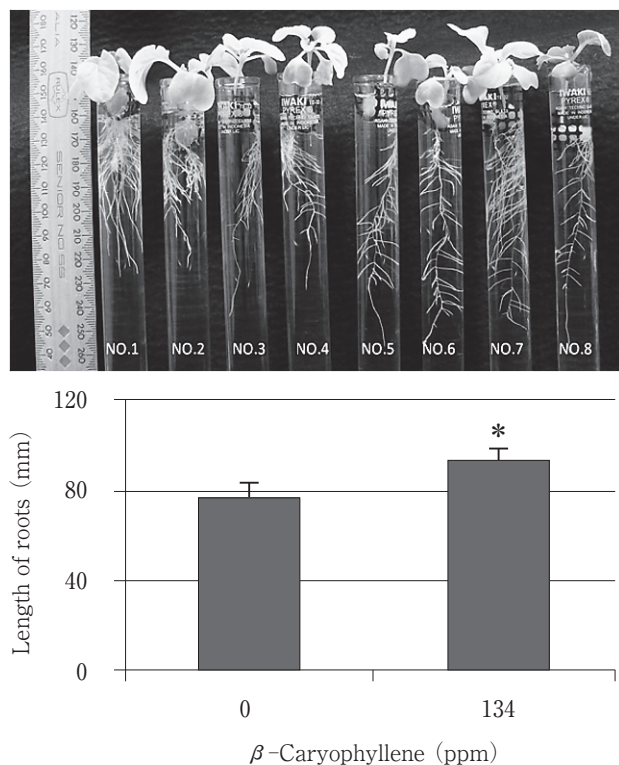


Fig. 1 Effect of volatile β -caryophyllene on the growth of Komatsuna roots.

The 3-day-old Komatsuna seedlings were treated with volatile β -caryophyllene for 4 days. The root length was measured 17 days after sowing. Nos. 1-4, 0 ppm; Nos. 5-8, 134 ppm. ($n=7$; *, $p \leq 0.05$)

無処理区の病斑面積率 (病斑面積/葉面積 $\times 100$) の平均は64.6%に対して、1.34 ppm 処理区12.2%, 134 ppm 処理区3.0%となり、明らかに病斑の拡大・進展が抑制された ($p \leq 0.05$) (Fig. 2 B). 以上のように、 β -caryophyllene 処理により、キュウリにも生育促進と耐病性が付与されることが明らかとなった.

さらに、 β -caryophyllene 13.6 ppm および136 ppm 処理区における、30日間のキュウリの総本数および総重量は、共に1% EtOH 処理区と比較して有意に大きかった (Fig. 3). 累計本数で表すと、1% EtOH 処理区が4.5

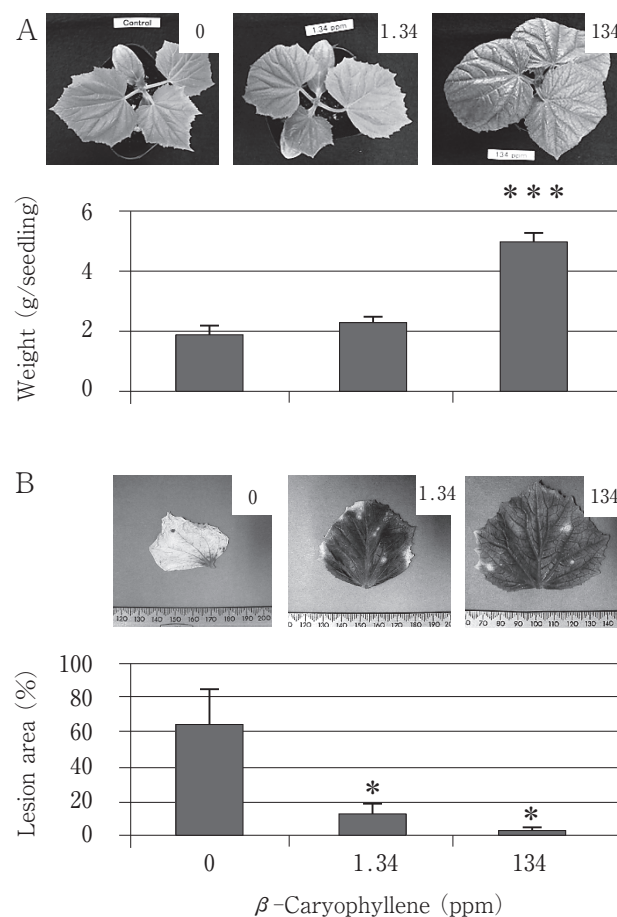


Fig. 2 Effect of volatile β -caryophyllene on the growth of cucumber seedlings (A) and on the lesion formation by *Colletotrichum orbiculare* on cucumber leaves (B).

A, The 6-day-old cucumber seedlings were treated with 0, 1.34 or 134 ppm volatile β -caryophyllene in respective plastic containers (4.5 L) for 26 days. After treatment, the seedlings were detached on the ground and weighed. ($n=4$;***, $p \leq 0.001$)

B, The 32-day-old cucumber leaves were inoculated with spores of *C. orbiculare* (1×10^6 spores/mL) after treatment with volatile β -caryophyllene for 26 days. Lesion was observed 7 days after inoculation and the lesion area was calculated with Assess 2.0. ($n=4$;*, $p \leq 0.05$).

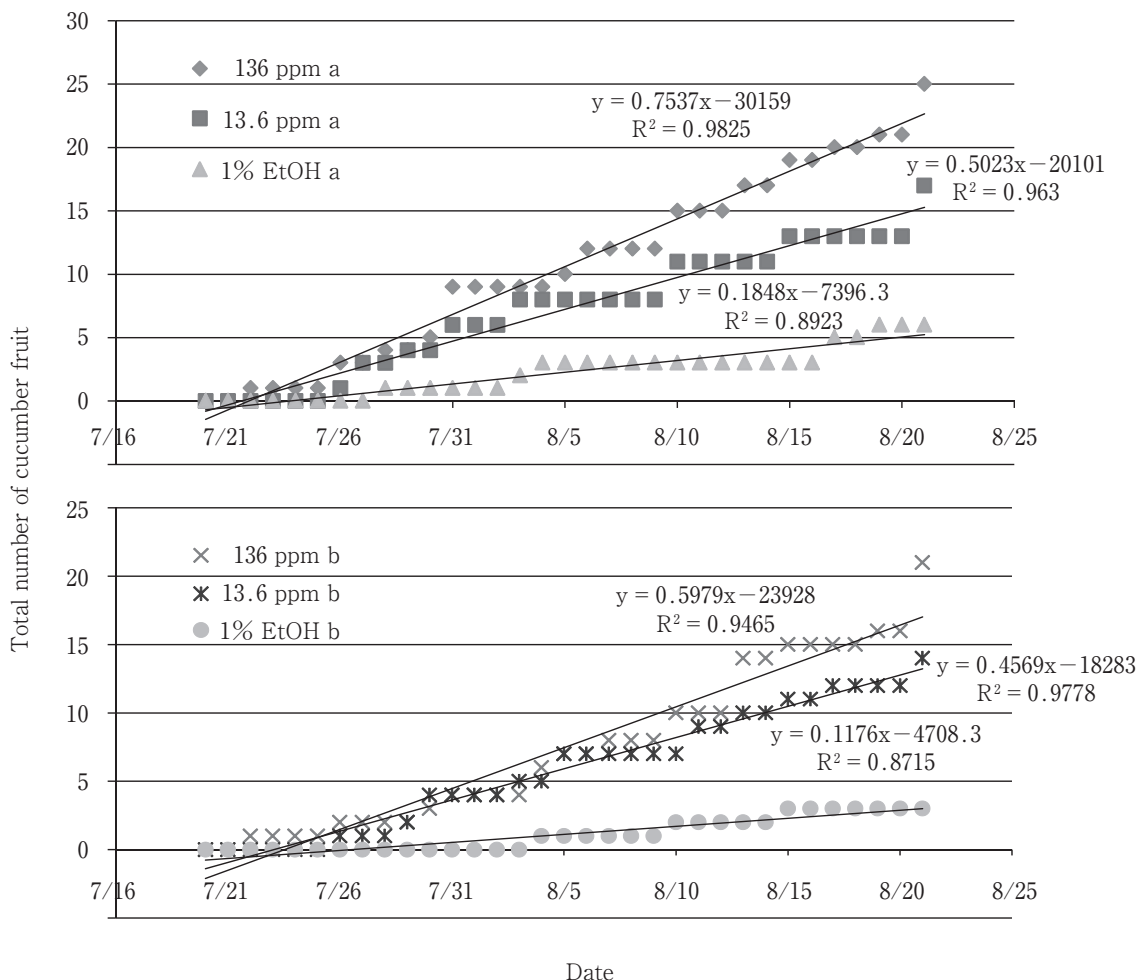


Fig. 3 Periodical change in the number of cucumber fruits collected from respective cucumber plants treated with volatile β -caryophyllene.

Cucumber seedlings were transplanted to the field after treatment with volatile β -caryophyllene for 26 days. The yield of cucumber fruits was measured for one month from 28 days after transplanting.

本に対して、13.6 ppm 処理区は15.5本、136 ppm 処理区は23本となり、明確に収量の増加 ($p \leq 0.01$) が確認できた (Fig. 3)。すなわち、 β -caryophyllene で処理されたキュウリは生育が促進され、その結果、収穫時期が早まり収量が増加した、いわば促進的な効果によると考えられた。

3) *Nicotiana benthamiana* の生育と耐病性に及ぼす β -caryophyllene の効果

無処理区の平均生重量343 mg/苗と比較して、1.34 ppm 処理区は384 mg/苗、134 ppm 処理区は604 mg/苗と *N. benthamiana* においても生育が促進された (Fig. 4 A)。無処理対照区と1.34 ppm 間では生重量に有意差がなかったが、無処理対照区と134 ppm 間及び1.34 ppm と134 ppm 間では生重量に有意差 ($p \leq 0.01$) が認められた。

灰色かび病菌 (*B. cinerea*) の接種試験の結果、無処

理区の感染率が74%に対し、1.34 ppm 処理区の感染率は62%、134 ppm 処理区の感染率は45%で、134 ppm 処理区の感染は、無処理区と比較して有意 ($p \leq 0.001$) に抑制された (Fig. 4 B)。また、無処理区は接種部位に明瞭な灰色かび病菌 (*B. cinerea*) の病斑が観察されたが、1.34 ppm 及び134 ppm 処理区の病斑は微細であった。写真を用いて病斑面積を Assess 2.0 で計測した結果、無処理区の平均の病斑面積が5.89 mm²/病斑に対し、1.34 ppm 処理区の平均の病斑面積は1.06 mm²/病斑、134 ppm 処理区の平均の病斑面積は0.68 mm²/病斑で、1.34 ppm 及び134 ppm 処理区の病斑面積は、無処理区と比較して有意 ($p \leq 0.01$) に抑制されることが判明した (Fig. 7)。すなわち、 β -caryophyllene 処理により、*N. benthamiana* (ナス科) においても生育が促進され、灰色かび病に対する耐病性が増進した。

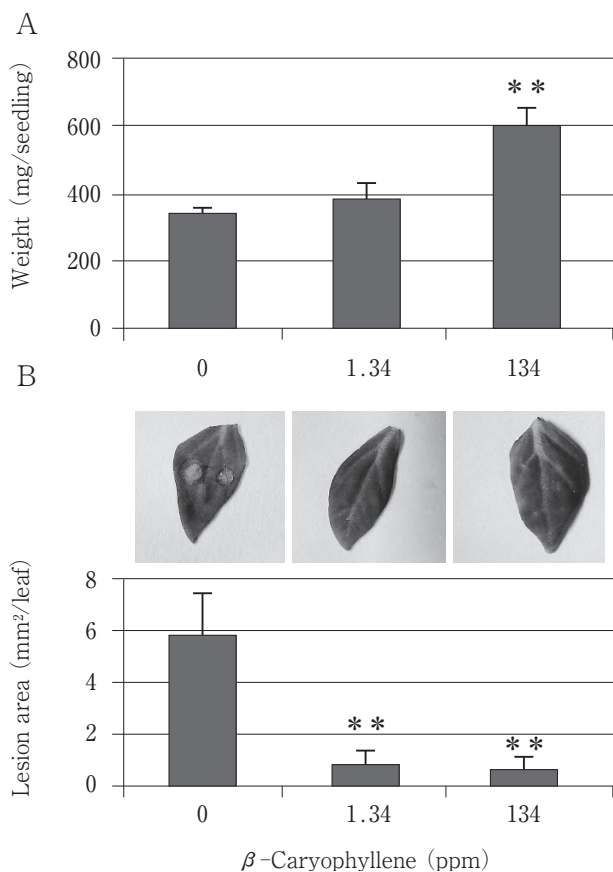


Fig. 4 Effect of β -caryophyllene on the growth of *Nicotiana benthamiana* (A) and on the lesion formation by *Botrytis cinerea* on the leaves (B).

A, The 10-day-old seedlings were treated with volatile β -caryophyllene for 21 days, and then, the seedlings were detached on the ground. (n=4; **, $p \leq 0.01$)

B, The 31-day-old seedlings were inoculated with spores of *B. cinerea* (1×10^6 spores/mL) after treatment with volatile β -caryophyllene for 21 days. Lesion was observed 4 dpi. (n=16; **, $p \leq 0.01$)

4) オオムギの生育と耐病性に及ぼす β -caryophyllene の効果

無処理区の平均生重量が206 mgと比較して、1.34 ppm 処理区は235 mg/苗、13.4 ppm 処理区は243 mg/苗と生育が促進された (Fig. 5 A). 統計処理の結果、無処理対照区と1.34 ppm には生重量に有意差がなかったが、無処理対照区と13.4 ppm 間には有意差 ($p \leq 0.05$) が認められた。オオムギうどんこ病菌の感染率は、無処理区が65.3% に対して、1.34 ppm 処理区は48.9% ($p \leq 0.01$)、13.4 ppm 処理区は31.5% ($p \leq 0.001$) となり、無処理区と比較して、有意差が認められた (Fig. 5 B). 以上のように、オオムギにおいても β -caryophyllene (volatile) 処理により生育が促進され、うどんこ病に対する耐病性が付与された。

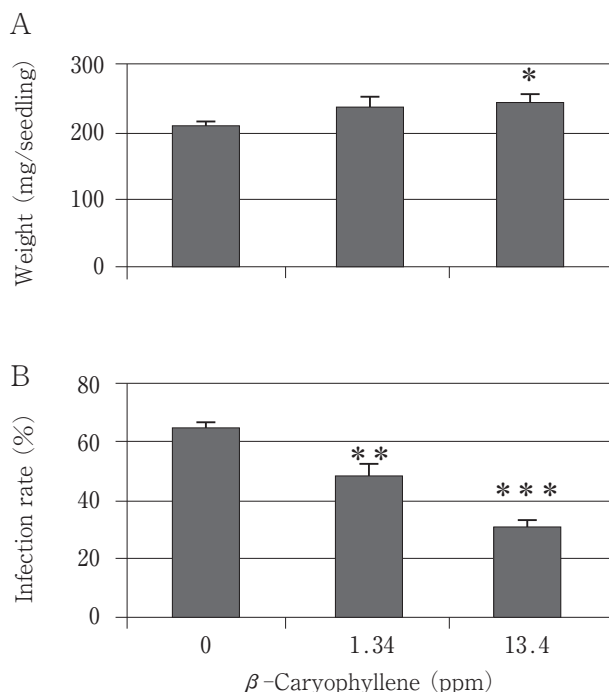


Fig. 5 Effect of volatile β -caryophyllene on the growth of barley (*Hordeum vulgare* L) (A) and on the infection by *Blumeria graminis* f. sp. *hordai* on the leaves (B).

A, The 4-day-old seedlings were treated with volatile β -caryophyllene for 7 days, and then, the seedlings were detached on the ground and weighed. (n=19; *, $p \leq 0.05$)

B, The 4-day-old seedlings were treated with volatile β -caryophyllene for 7 days, and, were inoculated with *Blumeria graminis* f. sp. *hordai*. Infection was observed 2 dpi. (**, $p \leq 0.01$; ***, $p \leq 0.001$)

次に、 β -caryophyllene 処理日数とオオムギの耐病性の関係を調べた。13.4 ppmの β -caryophyllene の1日処理区 (61.1%) では、無処理区 (65.3%) と比較して感染率の有意な低下は認められなかった (Fig. 6)。しかし、2日処理区 (41.5%) では、無処理区と比較して感染率が有意 ($p \leq 0.01$) に低下した。さらに、 β -caryophyllene の3日 (32.1%), 4日 (36.4%), 5日 (31.5%) 処理区は、無処理区と比較して、感染が有意 ($p \leq 0.001$) に抑制された。このように、本組み合わせでは、処理後2日目には有意に耐病性が誘導され、処理3日後には、耐病性 (抵抗性) はほぼプラトーに達することが明らかとなった。Yamagiwa et al.¹²⁾によれば、 β -caryophyllene 溶液でコマツナ葉面を処理すると、1日後には処理部は抵抗化することから、気化した β -caryophyllene で処理した場合は、効果が現れるまでに時間が必要なのかもしれない。

付記するならば、134 ppmの β -caryophyllene 処理により、うどんこ病に対する耐病性は促進されたが、オオムギの茎葉が黄変あるいは褐変した。従って、本実験で

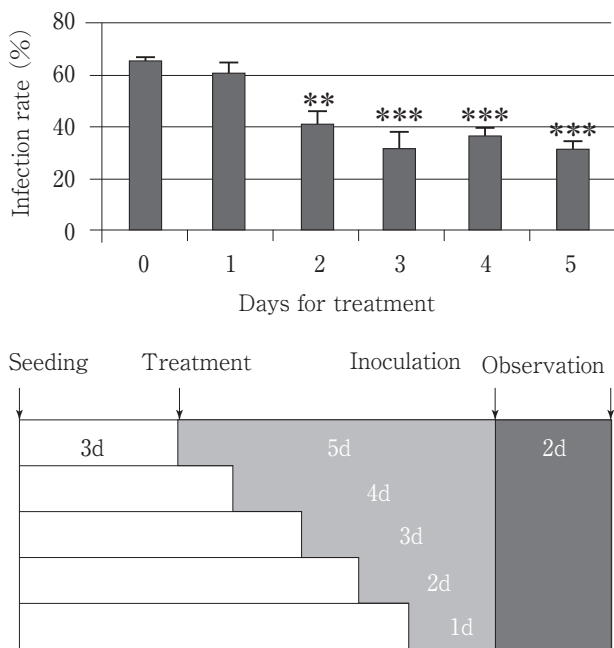


Fig. 6 Effect of the time for treatment of barley seedlings with volatile β -caryophyllene on the infection by *Blumeria graminis hordei* (race 1).

Infection was observed 2 dpi. (**, $p \leq 0.01$; ***, $p \leq 0.001$)

は最高濃度として13.4 ppmを用いている。これは、今回の実験で供試した双子葉植物よりもオオムギの β -caryophylleneに対する感受性が高いこと、換言するならば、本セスキテルペンは、オオムギにはアレロパシー的作用を有することが示唆される。

考 察

Penicillium spp. (*Talaromyces* spp.) が耐病性に関わる種々の代謝産物を生産することは良く知られている。例えば、*P. simplicissimum* GP17-2の培養ろ過液や12-kDa画分の両方ともキュウリの病気を抑制する効果を示すと報告されている³⁾。*P. chrysogenum*の菌糸の水溶性抽出物は、サリチル酸(SA)やジャスモン酸(JA)情報伝達系の抵抗性を誘導する¹³⁾。*Talaromyces convolutus*から抽出したTalaroconvolutinsは、*Candida albicans*に対する抗菌性を示すと報告されている¹⁴⁾。また、*T. flavus* (Klocker)は、活性酸素生成酵素の一つであるグルコースオキシダーゼを生産するが¹⁵⁾、この働きによって根圏で生産された過酸化水素は、半身萎凋病菌*Verticillium dahliae*を抑制できることが示唆されている¹⁶⁾。また、*T. flavus*培養濾液由来のグルコースオキシダーゼは、*in vitro*では、*V. dahliae*の発芽を抑制した¹⁶⁾。この他、*T. flavus*の培養濾液由来のプロテアーゼはソラマメ赤色斑点病の原因菌*Botrytis fabae*に抗菌活

性を示す¹⁷⁾。この様に*Penicillium*属菌由来の多くの物質が、病害の制御に関与するようである。

しかし、顕著な抗菌活性を持たない β -caryophylleneで処理された植物の生育が促進され、耐病性が増進されるという報告は、Yamagiwa et al.¹²⁾を除いては見当たらない。コマツナ(品種楽天)では、気化した β -caryophylleneで処理すると、生育(生体重)とアブラナ科炭疽病に対する耐病性が充進した。そこで、コマツナの根の生育に及ぼす β -caryophylleneの効果を調べた結果、根の伸長と分岐が有意に促進されることが明らかとなった(Fig. 1)。すなわち、 β -caryophylleneのコマツナ地上部に対する生育促進効果は、 β -caryophylleneが根の生育と栄養吸収を促進した結果と考えられる。

同様に、キュウリ苗を β -caryophylleneで処理すると、生育が促進され(Fig. 2 A)、ウリ類炭疽病菌に対する耐病性が高まった(Fig. 2 B)。また、 β -caryophylleneで処理されたキュウリ苗を圃場に定植すると、収穫時期が早まり、定植後28日目から1ヵ月間の収量が増加した(Fig. 3)。すなわち、 β -caryophylleneで処理することによって、促成的な効果が得られるようである。

*N. bentamiana*においても、 β -caryophylleneで処理すると、生育が促進され(Fig. 4 A)、*B. cinerea*に対する耐病性充進が認められた(Figs. 4 B)。また、イネ科植物のオオムギ(品種コピンカタギ)においても β -caryophyllene処理により生育の促進と、うどんこ病に対する耐病性の充進が認められた(Fig. 5)。さらに、 β -caryophylleneで処理されたオオムギにおけるうどんこ病菌の感染は、処理3日後までは、処理時間が長いほど感染が抑制された(Fig. 6)。このように、 β -caryophylleneによる耐病性付与は誘導的である。なお、今回の実験では、特に侵入阻害作用を調べたが、うどんこ病菌(接種4日後以降)の孢子形成や病斑拡大に対する作用(拡大抵抗性)については、今後明らかにする必要がある。

以上を、総合すると β -caryophylleneは、双子葉植物(アブラナ科、ウリ科、ナス科)のみならず単子葉植物であるオオムギ(イネ科)など広汎な植物に対する生育促進作用を示すことが明らかとなった。また、これら全ての供試植物に、それぞれの病害に対する耐病性を付与する作用も認められた。付与された耐病性は、hemibiotrophに限らず necrotrophや biotrophにも有効であることが判明した。すなわち、 β -caryophylleneは、広範な病害(あるいはストレス)に対する耐性と生育促進という作物栽培にとって極めて有用な二つの性質を、広範な作物に与えることができる物質であると結論できる。なお、 β -caryophylleneによる生育促進作用と耐病性付与作用を比較すると、耐病性付与作用がより低濃度で強く現れる傾向であった。これはYamagiwa et al.¹²⁾

がコマツナで行った実験とも一致するが、その詳細な機構は今後の課題である。

微生物由来の揮発性有機物質(VOCs)の抗菌性や植物生育への影響に関する報告は少なくない。葉面糸状菌の一種 *Irpex lacteus* (ウスバタケ) が生産する揮発性物質、5-(4-pentenyl)-2-furaldehyde と 5-pentyl-2-furaldehyde はパセリやコムギのうどんこ病菌に抗菌性を示し、発病を抑制することが知られている^{18,19)}。土壌菌 *Fusarium oxysporum* strain MSA35 が放出する α -humulene は、病原性の *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* の病原性関連遺伝子 *fmkl* や *chsv* の発現を抑制し、また、有害な *Penicillium* sp. や *Aspergillus* sp. などに抗菌活性を示すという²⁰⁾。この他、微生物農薬として利用される *Trichoderma harzianum* の 1 系統は、抗菌活性と生育促進の両方の作用のある harzianic acid を生産する²¹⁾。また、PGPFs である *Cladosporium* sp. や *Ampelomyces* sp. 由来の methylbenzol や methylcresol (両者は抗菌性を有する) は、*A. thaliana* の induced systemic resistance (ISR) を誘導するという²²⁾。これらの病害抑制力は、病原菌に対する直接的な抗菌活性 (物質によっては、抗菌性に加えて抵抗性誘導) によるものと考えられる。一方、生物農薬として用いられる細菌 *Bacillus subtilis* から放出される 3-hydroxy-2-butanone (acetoin) や 2,3-butanediol (弱い細胞毒性が知られている) は、*A. thaliana* の生育促進や抵抗性誘導作用を備えていることが報告された^{23,24)}。このように、植物生育促進菌類や植物生育促進根圏細菌により放出される VOCs のあるものは、抗菌性、生育促進作用、また、生物ストレスに対する抵抗性を誘導する活性を示すようであり、VOC によっては、生育促進と抗菌性、生育促進と抵抗性誘導という複数の好ましい活性を示すことが判ってきた。しかし、これらの物質の人体や環境に対する安全性については今後詳細に調べる必要がある。

β -caryophyllene は、LD50 が 300 mg/kg 以上で、化粧品やアロマセラピーにも利用され、抗アレルギー剤としての特許も取得されている。このような知見を合わせるならば、 β -caryophyllene が広汎な植物病害の制御と生育促進に加えて、心身の保全に資する、有用な農業資材としての利用価値は高い。以上、 β -caryophyllene 単体の植物体に対する二重の有用な作用に関する知見は、これまで全く報告されておらず、本論文で始めて公表されたものである。

要 約

岡山県総社市の圃場から分離した植物生育促進菌 *Talaromyces wortmannii* FS2 が生産する β -caryophyllene は、コマツナ (アブラナ科) のみならず、キュウリ (ウリ科)、タバコ (ナス科) およびオオムギ (イネ科) など広汎な植物に対して、生育促進作用お

よび耐病性増進作用を示したことから、有用な農業資材として利用可能であるものと考察した。

引用文献

- 1) 百町満朗 監修 : 拮抗微生物による作物病害の生物防除クミアイ化学工業株式会社 p. 245 (2003)
- 2) Hyakumachi M. : Plant growth promoting fungi from turf-grass rhizosphere with potentials for disease suppression. *Soil Microorg* **44** : 53-68 (1994)
- 3) Koike N, Hyakumachi M, Kageyama K, Tsuyumu S, Doke N. : Induction of systemic resistance in cucumber against several diseases by plant growth-promoting fungi : lignification and superoxide generation. *Eur J Plant Pathol* **107** : 523-533 (2001)
- 4) Muslim A, Horinouchi H, Hyakumachi M. : Control of Fusarium crown and root rot of tomato with hypovirulent binucleate *Rhizoctonia* in soil and rock wool systems. *Plant Dis* **87** : 739-747 (2003)
- 5) Shivanna MB, Meera MS, Hyakumachi M. Role of root colonization ability of plant growth promoting fungi in the suppression of take-all and common root rot of wheat. *Crop Protect* **15** : 497-504 (1996)
- 6) Shivanna MB, Meera MS, Hyakumachi M. : Sterile fungi from zoysiagrass rhizosphere as plant growth promoters in spring wheat. *Can J Microbiol* **40** : 637-644 (1994)
- 7) Guijarro B, Melgarejo P, Torres R, Lamarca N, Usall J, De Cal A. : *Penicillium frequentans* population dynamics on peach fruits after its applications against brown rot in orchards. *J Appl Microbiol* **104** : 659-671 (2008)
- 8) De Cal A, Pascual S, Melgarejo P. : Involvement of resistance induction by *Penicillium oxalicum* in the biocontrol of tomato wilt. *Plant Pathol* **46** : 72-79 (1997)
- 9) Fahima T, Henis Y. : Quantitative assessment of the interaction between the antagonistic fungus *Talaromyces flavus* and the wilt pathogen *Verticillium dahliae* on eggplant roots. *Plant Soil* **176** : 129-137 (1995)
- 10) Tjamos EC, Fravel DR. : Distribution and establishment of the biocontrol fungus *Talaromyces flavus* in soil and on roots of solanaceous crops. *Crop Protect* **16** : 135-139 (1997)
- 11) Dutta BK. : Studies on some fungi isolated from the rhizosphere of tomato plants and the consequent prospect for control of *Verticillium* wilt. *Plant Soil* **63** : 209-216 (1981)
- 12) Yamagiwa Y, Toyoda K, Inagaki Y, Ichinose Y, Hyakumachi M, Shiraishi T. : *Talaromyces wortmannii* FS2 emits β -caryophyllene, which promotes plant growth and induces resistance. *J Gen Plant Pathol* **77** : 336-341 (2011)
- 13) Thuerig B, Felix G, Binder A, Boller T, Tamm L. : An extract of *Penicillium chrysogenum* elicits early defense-related responses and induces resistance in *Arabidopsis thaliana* independently of known signalling pathways. *Physiol Mol Plant Pathol* **67** : 180-193 (2006)
- 14) Suzuki S, Hosoe T, Nozawa K, Kawai K, Yaguchi T, Udagawa S. : Antifungal substances against pathogenic fungi, talaroconvolutins, from *Talaromyces convolutus*. *J Nat Prod* **63** : 768-772 (2000)
- 15) Stosz SK, Roy S, Murphy C, Wergin W, Fravel DR. Localization of glucose oxidase with immunocytochemistry in the biocontrol fungus *Talaromyces flavus*. *Phytopathology* **88** : 576-581 (1998)

- 16) Stosz SK, Fravel DR, Roberts DP.: In vitro analysis of the role of glucose oxidase from *Talaromyces flavus* in biocontrol of the plant pathogen *Verticillium dahliae*. *Appl Environ Microbiol* **62** : 3183-3186 (1996)
- 17) Haggag WM, Kansoh AL, Aly AM. : Proteases from *Talaromyces flavus* and *Trichoderma harzianum* : purification, characterization and antifungal activity against brown spot disease on faba bean. *Plant Pathol Bull* **15** : 231-239 (2006)
- 18) Koitabashi M, Iwano M, Tsushima S. : Aromatic substances inhibiting wheat powdery mildew produced by a fungus detected with a new screening method for phylloplane fungi. *J Gen Plant Pathol* **68** : 183-188 (2002)
- 19) Koitabashi M, Kajitani Y, Hirashima K. : Antifungal substances produced by fungal strain Kyu-W63 from wheat leaf and its taxonomic position. *J Gen Plant Pathol* **70** : 124-130 (2004)
- 20) Minerdi D, Bossi S, Gullino ML, Garibaldi A. : Volatile organic compounds : a potential direct long-distance mechanism for antagonistic action of *Fusarium oxysporum* strain MSA 35. *Environ Microbiol* **11** : 844-854 (2009)
- 21) Vinale F, Flematti G, Sivasithamparam K, Lorito M, Marra R, Skelton BW, Ghisalberti EL. : Harzianic acid, an antifungal and plant growth promoting metabolite from *Trichoderma harzianum*. *J Nat Prod* **72** : 2032-2035 (2009)
- 22) Kiyohara D, Hyakumachi M. : Signal transduction pathways of ISR by fungal volatiles methyl benzoate and m-cresol (Abstract in Japanese). *Japan J Phytopathol* **76** : 56 (2010)
- 23) Ryu CM, Farag MA, Hu CH, Reddy MS, Wei HX, Pare´ PW, Kloepper JW . : Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA* **100** : 4927-4932 (2003)
- 24) Ryu CM, Farag MA, Hu CH, Reddy MS, Kloepper JW, Pare´ PW. : Bacterial volatiles induce systemic resistance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* **134** : 1017-1026 (2004)