

微生物除草剤の歴史と今後の展望

東京農工大学大学院連合農学研究所
泉 真隆・岡崎 伸

はじめに

化学農業は効率的な作物生産を行う現代農業において重要な役割を果たしている。しかしながら、化学農業の連続使用による抵抗性雑草の蔓延や、環境負荷の少ない環境調和型農業への転換の必要性といった観点から、化学農業に依存しない雑草防除手段の開発が求められている。そのような防除手段として微生物農業に注目が集まっているが、微生物殺虫剤・殺菌剤と比較して微生物除草剤の研究開発は進んでいない。本記事では微生物除草剤の歴史や課題をはじめ、近年の研究開発や当研究室の研究について紹介し、微生物除草剤について今後の展望を示すことを試みる。

1. 微生物除草剤の歴史

微生物除草剤とは、一時期に大量の植物病原菌を処理することで雑草防除を行う手法である。1960年代に米国で放牧地におけるアメリカガキ (*Diospyros virginiana*) の防除に用いられた *Acremonium diospyri* や、中国でダイズ栽培におけるネナシカズラ類 (*Cuscuta* sp.) の防除剤として開発された *Colletotrichum gloeosporioides* を有効成分とする Lubao No.1 が、最初期の微生物除草剤と考えられている (郷原 1998)。そして、1970年代の米国において研究開発が盛んにおこなわれ、1980年代初頭に DeVine[®] と Collego[®] の2剤が

上市された。DeVine[®] は1981年に米国で上市された柑橘類栽培における性雑草 *Morrenia odorata* の防除剤であり、*Phytophthora palmivora* を有効成分としている (Kenney 1986)。Collego[®] は1982年に米国で上市された稲作およびダイズ栽培の問題雑草アメリカクサネム (*Aeschynomene virginica*) の防除剤であり *C. gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene* を有効成分とする (Bowers 1986)。これら2剤の反響は大きく、世界的に微生物除草剤の研究開発を活発化させた。その後、1992年にカナダでマルバゼニアオイ (*Malva pusilla*) の防除剤として *C. gloeosporioides* f. sp. *malvae* を有効成分とする BioMal[®] が (Boyetchko *et al.* 2007)、世界的には出遅れた形となったが1997年に日本でもスズメノカタビラ (*Poa annua*) の防除剤として *Xanthomonas campestris* を有効成分とするキャンペリコ液剤TMが上市された(今泉ら 1999)。1990年代には、世界中

で研究開発が盛んにおこなわれるようになり、将来的に微生物除草剤の製品が多く出回り市場が活発化することが期待されていた (郷原 1998)。

世界の微生物除草剤の農業登録数の年次推移を示した (図-1; Morin 2020)。累積登録数は2000年時点で6剤であったが、2019年には15剤まで増加している。しかしながら、実際には農業登録の失効や製造中止が相次ぎ、2019年時点で7剤しか登録が残されておらず、製品が入手可能であるのは2剤に過ぎない。微生物除草剤がこのような状況となった背景として、販売による利益が十分に見込めなかったためと考えられている。以上のように、微生物除草剤の研究開発は活発に行われてきたが、期待されていたような市場形成には至らなかった。

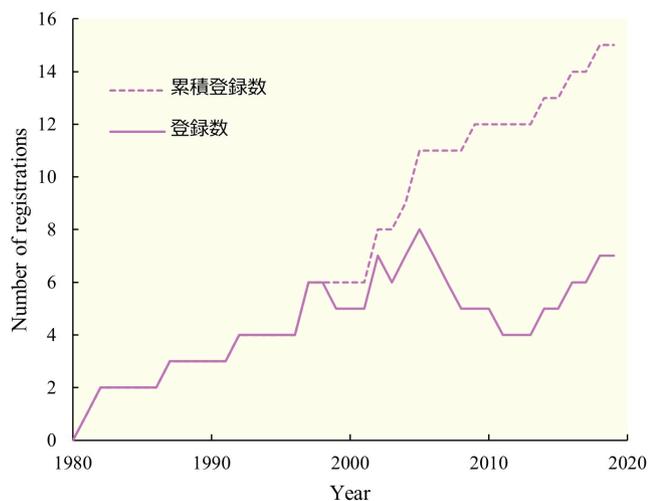


図-1 世界の微生物除草剤の農業登録数の年次推移 (Morin 2020 を基に作成)

2. 微生物除草剤の課題と現状の解決策

これまで述べたように、微生物除草剤の研究開発は盛んに行われたものの、期待されたような市場形成には至らなかった。その原因としては、雑草に対する殺草スペクトラムや除草効果、作用速度、製造性、製剤化、安全性、保存性や、それに伴う低い利益水準が挙げられている (Duke *et al.* 2022 ; Duke 2024)。本稿では紙面の都合上、殺草スペクトラムと除草効果について取り上げ、現状の解決策と併せて以下に述べる。

・殺草スペクトラム

微生物除草剤における課題として、殺草スペクトラムが狭いことが挙げられる (Duke 2024)。一般的に除草剤は多くの雑草種を防除可能な方が付加価値は高いと考えられるため、商業的にも重要な点である。しかしながら、殺草スペクトラムを広げるとは、作物選択性や非標的生物への安全性の観点からはリスクが高まる。そのため、高い宿主特異性を維持したままスペクトラムを広げる試みや、広い殺草スペクトラムであっても環境中に流出しない仕組みを考えるというアプローチが採られている。

高い宿主特異性を維持したまま殺草スペクトラムを広げる試みとして、複数微生物の混用が研究されている。*Alternaria cassiae* と *Phomopsis amaranthicola*, *Fusarium udum*, *Colletotrichum dematium*

はそれぞれ高い宿主特異性を有する微生物であるが、4種を混用することで同時に3種の雑草を防除可能なことが示されている (Chandramohan and Charudattan 2003)。また、界面活性剤を加えることで、微生物除草剤の殺草スペクトラムが拡大するという報告もある (Boyette *et al.* 2019)。これらの手法は作物や非標的生物への安全性を維持しやすい手法であると考えられる。

一方で、許容可能なリスクを定めたくて使用条件を規制し、殺草スペクトラムの広い微生物を用いるという考え方もある。一定期間の後に、自然環境における微生物と同程度の存在量になるのであれば、許容可能であるという考えである (Bourdôt and Casonato 2024)。微生物除草剤の処理によって定着・拡散する微生物の量を数理的なモデルを用いて推定し、基準を設定する。このアプローチは殺草スペクトラムが広い微生物の利用可能性が広がるが、複数微生物の混用等と比較すると環境へのリスクが存在するように思われる。

・除草効果

微生物除草剤における最も重要な課題として、十分な除草効果が得られないことが挙げられる (Duke 2024)。除草効果の向上は投下薬量の削減に繋がるため、商業的にも重要である。上述の通り安全性の観点からは、微生物除草剤として利用する微生物は高い宿主特異性を有することが望ましいが、高い宿主特異性と強い除草効果を両立する微生物は環境中で生存するのが難

しく、その単離は期待しにくいと考えられている (Gressel 2024)。非標的生物への安全性と十分な除草効果を両立する微生物除草剤を創製するためには、環境中から有望な微生物を発見した後に、人為的な病原力強化を行うことが重要である。

病原力の強化は遺伝子組み換えによって取り組まれてきた。*Fusarium oxysporum* と *F. arthrosporioides* にインドール酢酸の生合成遺伝子を導入した結果、オーキシン系除草剤と同様に Egyptian broomrape (*Orobanche aegyptiaca*) の成長を野生株より強く阻害したという報告がある (Cohen *et al.* 2002)。また、*Colletotrichum coccodes* に植物毒素をコードする *NEPI* を導入することで、イチビ (*Abutilon theophrasti*) に対する除草効果の向上が示されたという報告もある (Amsellem *et al.* 2002)。しかしながら、それら遺伝子の過剰発現により病原力が向上するかどうかは微生物に依存しており、未だ不明な点も多い (Meir 2009)。以上のように、遺伝子組み換えによる病原力の強化は除草効果の向上に大きく寄与する可能性があるが、技術としては未確立である。加えて遺伝子組み換え生物の野外放出は生態系攪乱への懸念があるため、実用化の障壁は高いように思われる。

また、突然変異による病原力の強化も過去に取り組まれてきた。突然変異による病原力の強化は、検出力やスループット性に優れる評価系や有用微生物を取得するための選択圧の設定が

重要であるが、遺伝子組み換え生物の使用と比較して実用化しやすいと思われる。*Beauveria bassiana* への紫外線照射により高い殺虫効果を有する突然変異株を取得した事例があり (Sun *et al.* 2023), 除草効果の向上にも有効であることが期待される。実際に、近年、*Fusarium oxysporum* の突然変異株の選抜によって病原力の強化に成功し、高い除草効果を実現した末に製品化にまで至った Kichawi Kill™ という事例が存在する (Baker *et al.* 2024)。

以上のように、微生物除草剤の殺草スペクトラムや除草効果といった性能の向上に向けた基礎的な知見は蓄積しつつあるが、その多くは未だ発展途上であり実用化に繋がるほどの力強いアプローチとは考えにくい。微生物のポテンシャルを最大限引き出すためにも、マイクロバイオーム解析や SynCom といった微生物コミュニティを扱う技術を取り入れ、技術的なブレイクスルーをもたらす必要があると考えられる (Fulcher *et al.* 2024; Hadayat *et al.* 2024)。一方で、除草効果の向上によって製品化まで至った Kichawi Kill™ は微生物除草剤の新たな成功例として非常に重要であるため、その詳細について次章で述べる。

3. Kichawi Kill™ の製品化

上述の通り、突然変異株の選抜で高い除草効果を実現し、2021年に製品化されたのが Kichawi Kill™ である。本製品は微生物除草剤の新たな成功例

として重要であると考えられるため、その特徴や病原力向上の方法について説明する。

・ Kichawi Kill™ の特徴

Kichawi Kill™ は *Fusarium oxysporum* f. sp. *strigae* Foxy T14 株を有効成分とする微生物除草剤であり、寄生雑草ストライガ (*Striga hermonthica*) の防除剤としてケニアの Toothpick Company 社から販売されている (Baker *et al.* 2024)。作物を播種する際に、種子と同時に Kichawi Kill™ を植え込むことで処理を行う。微生物によるチロシン・ロイシンの分泌でストライガの成長を抑制し、加えてストライガの発芽誘導能を持つエチレンへ変換されるメチオニンを土壤中で分泌することで埋土種子の削減も行う。ストライガはアフリカのサブサハラ地域における主要穀物のトウモロコシやソルガムの栽培で著しい収量減少をもたらす雑草であり、有効な防除手段の開発が強く求められていたことから本剤の製品化の社会的意義は非常に大きい。

・ 病原力の向上

上述の通り、環境中から単離される微生物は除草効果が不十分な場合が多く、除草効果の向上に向けた病原力強化を行う必要がある。Kichawi Kill™ の研究開発では、ケニア西部における萎れたストライガから単離された *F. oxysporum* を出発点とし、病原性の強化が行われた。

Kichawi Kill™ の研究開発は、病原性物質として必須アミノ酸を用いることにより、合理的な病原力の強化を実

現した点が特徴的である (Sands and Pilgeram 2009)。植物のアミノ酸合成経路は生成物のアミノ酸によるフィードバック制御機構を有し、アミノ酸は植物に対して種特異的な成長抑制を示す。トウモロコシには影響がないが、ストライガの成長抑制に繋がるアミノ酸としてチロシンやロイシンが (Nzioki *et al.* 2016)、土壤微生物の働きでストライガの発芽を促進するエチレンに変換される前駆体としてメチオニンが明らかにされていた (Primrose 1976; Logan and Stewart 1991)。よって、ストライガの成長抑制物質としてチロシンとロイシン、埋土種子削減の物質としてメチオニンを菌体外に分泌する微生物の選抜が行われた。微生物の選抜方法として、チロシンとロイシン、メチオニンのアナログを高濃度で処理し、そこで生存するコロニーが「アミノ酸を菌体外へ分泌する耐性変異株の候補」として選抜された。結果として、ストライガ選択的に毒性を示すロイシンやチロシン、埋土種子削減に寄与するメチオニンを多く分泌する病原力強化株が創出された。実際に、選抜された T14 株を用いて約 500 件の圃場試験が実施され、ストライガ発生量の約 80 ~ 90% 減少、作物収量の約 50% 増加が確認された。

Kichawi Kill™ の研究開発は、必須アミノ酸を病原性物質として用いたことにより合理的な突然変異株取得が可能になった点に加えて、アミノ酸の分泌による成長抑制という除草作用機構に着目して病原力の向上を行っている



図-2 *Methylobacterium indicum* によるイネ (*Oryza sativa*) の白化作用



図-3 *Methylobacterium indicum* による圃場環境でのイネの白化作用

点が特徴である。このことは、微生物による除草作用機構が明らかになることで、病原力向上に繋がる可能性を示唆している。

4. 新規微生物除草剤の開発へ向けた当研究室における取り組み

これまで述べてきたように、環境中から有用微生物を単離し、その除草作用機構を明らかにすることは、病原力向上に向けた基盤整備や製品化に繋がることが期待される。しかしながら、Kichawi Kill™ は化学除草剤での防除が浸透していないストライガ剤としての製品化である。究極的に目指すべき化学除草剤に依存しない雑草防除体系の実現には、ユーザーが化学除草剤に求める性能を微生物によって実現し、化学除草剤を代替していくことが重要であると筆者らは考える。当研究室では、化学除草剤としても需要の大きい「高葉齢のイネ科雑草を速効的に防除可能な茎葉散布剤」としてのポテンシャルを有する *Methylobacterium indicum* VL1 株(以下、VL1 株)の単離・同定に成功してきた(図-2; Lai *et al.*

2020)。微生物除草剤としての実用性向上を目標として、VL1 株の除草作用機構の解析に取り組んでいるため、その研究内容について紹介する。

Methylobacterium 属細菌は α -プロテオバクテリアに属するグラム陰性細菌であり、メタノール等の C1 化合物も炭素源として利用可能な通性メチロトロフである(由里本・阪井 2015)。また、カロテノイド色素を生産するため、様々なストレスに耐性があることが知られている(Mo *et al.* 2023)。そして、植物体表面に存在するメタノールの利用能力や、ストレス耐性から、葉面等に定着していると考えられている。また、植物成長促進の観点からであるが、*Methylobacterium* 属細菌の茎葉散布処理は圃場でも有効性が確認されており(Yurimoto *et al.* 2020)、茎葉散布型の農業資材としての適用が期待されている。

VL1 株はベトナムのイネより単離された、同属で初めて報告された植物病原菌である(Lai *et al.* 2020)。VL1 株はカロテノイド生合成阻害型の化学除草剤と類似した白化作用を有し、従来の遅効的な微生物除草剤とは異なり

処理数日後から植物を白化させる(Lai *et al.* 2021)。加えて、圃場環境でもイネの分けつ個体に対する白化が確認されており(図-2, 3)、圃場で高葉齢のイネ科植物を防除できる高い除草効果が期待される。また、白化物質を含む上清は、著しい抵抗性発達から新剤開発が望まれる難防除雑草ネズミムギ(*Lolium multiflorum*)等のイネ科雑草にも有効である(unpublished)。すなわち、VL1 株は化学除草剤としても需要の大きい「高葉齢のイネ科雑草を速効的に防除可能な茎葉散布剤」として、化学除草剤の代替に向けた応用が期待される。そして、VL1 株の白化作用機構を明らかにすることは微生物除草剤開発の第一歩として重要であると考えられる。

以上の背景から、VL1 株の白化作用機構を明らかにするために、病原性遺伝子と白化物質、標的因子の同定を試みている(泉ら 2024)。VL1 株と同種の非病原性株である SE2.11^T 株の全ゲノムが解読されているため(Chaudry 2016; Lai *et al.* 2021)、株間の比較解析を基本的な方針として研究を進めている。antiSMASH な

どの *in silico* 解析を用いた二次代謝産物生合成遺伝子クラスターの推定や (Blin *et al.* 2023), 代謝物を網羅的に解析するノンターゲットメタボローム解析を活用しながら (Sakurai *et al.* 2023), 白化作用機構の解析を進めている。今後, 病原性遺伝子や白化物質, 標的因子, VL1 株の感染機構などを解明することで, より効果的な微生物除草剤への改良にもつながることが期待できる。

おわりに

微生物除草剤は, 化学除草剤の代替手段として有望であるにもかかわらず, 未だ発展途上の研究分野となっている。しかしながら, Kichawi Kill™ の製品化などから, 除草作用機構などの科学的知見に基づいた病原力強化により, 微生物除草剤の実用化に繋がる可能性が見えてきた。今後は, 化学除草剤の代替に繋がる高性能な微生物除草剤の開発を見据えつつ, 最先端の技術を駆使して除草作用機構等の知見を蓄積することで, 環境負荷が小さいのみならず, 高い除草効果でユーザーからも支持される優れた微生物除草剤が誕生することを期待する。

謝辞

本研究の一部は科研費特別研究員奨励費「微生物除草剤の研究基盤構築を目指した植物病原菌の発病機構解明」(24KJ1012), 科研費基盤研究 (B)「ベトナムで発生するイネ白化病の発生状

況調査と病原体の解析」(17H04618)の支援を受けたものである。

引用文献

- Amsellem, Z. *et al.* 2002. Engineering hypervirulence in a mycoherbicidal fungus for efficient weed control. *Nat. Biotechnol.* 20, 1035-1039.
- Baker, C.S. *et al.* 2024. The Toothpick Project: commercialization of a virulence-selected fungal bioherbicide for *Striga hermonthica* (witchweed) biocontrol in Kenya. *Pest Manag. Sci.* 80, 65-71.
- Blin, K. *et al.* 2023. antiSMASH 7.0: new and improved predictions for detection, regulation, chemical structures and visualization. *Nucleic Acids Res.* 51, W46-W50.
- Bourdôt, G.W. and Casonato, S.G. 2024. Broad host-range pathogens as bioherbicides: managing nontarget plant disease risk. *Pest Manag. Sci.* 80, 28-34.
- Bowers, R.C. 1986. Commercialization of Collego™—an industrialist's view. *Weed Sci.* 34, 24-25.
- Boyetchko, S.M. *et al.* 2007. Development of the mycoherbicide, BioMal. In *Biological Control: A Global Perspective*, ed. Vincent, C. *et al.* pp. 274-83. Wallingford, UK: CABI
- Boyette, C.D. *et al.* 2019. Extending the host range of the bioherbicidal fungus *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene*. *Biocontrol Sci. Technol.* 29, 720-726.
- Chandramohan, S. and Charudattan, R. 2003. A multiple-pathogen system for bioherbicidal control of several weeds. *Biocontrol Sci. Technol.* 13, 199-205.
- Chaudry, V. *et al.* 2016. *Methylobacterium indicum* sp. nov., a facultative methylotrophic bacterium isolated from rice seed. *Syst. Appl. Microbiol.* 39, 25-32.
- Cohen, B.A. *et al.* 2002. Transgenically enhanced expression of indole-3-acetic acid confers hypervirulence to plant pathogens. *Biochem. Cell Biol.* 92, 590-596.
- Duke, S.O. 2024. Why are there no widely successful microbial bioherbicides for weed management in crops? *Pest Manag. Sci.* 80, 56-64.
- Duke, S.O. *et al.* 2022. The potential future roles of natural compounds and microbial bioherbicides in weed management in crops. *Adv. Weed Sci.* 40, 1, e020210054.
- Fulcher, M.R. *et al.* 2024. Importance of pathobiomes to the success of microbial weed biocontrol agents. *Biol. Control.* 192, 105498.
- 郷原雅敏 1998. 生物除草剤の現状と展望. *植物防疫* 52, 10, 429-431.
- Gressel, J. 2024. Four pillars are required to support a successful biocontrol fungus. *Pest Manag. Sci.* 80, 35-39.
- Hadayat, A. *et al.* 2024. Integrated application of synthetic community reduces consumption of herbicide in field *Phalaris minor* control. *Soil Ecol. Lett.* 6, 230207.
- 泉真隆ら. 2024. 微生物除草剤の研究開発基盤構築に向けた *Methylobacterium* 属細菌による植物白化作用の分子機構解析. *日本雑草学会第 63 回大会講演要旨*, 90.
- 今泉誠子ら 1999. 植物病原細菌によるスズメノカタビラの生物防除に関する研究. *雑草研究* 44, 361-369.
- Kenney, D.S. 1986. DeVine®—The Way It Was Developed—An Industrialist's View. *Weed Sci.* 34, 15-16.
- Lai, K. *et al.* 2020. Diversity of *Methylobacterium* spp. in the rice of the Vietnamese Mekong Delta. *Microbes Environ.* 35, 1.
- Lai, K. *et al.* 2021. Leaf bleaching in rice: a new disease in Vietnam caused by *Methylobacterium indicum*, its genomic characterization and the development of a suitable detection technique. *Microbes Environ.* 36, 4.

- Logan, D.C. and Stewart, G.R. 1991. Role of ethylene in the germination of the hemiparasite *Striga hermonthica*. *Plant Physiol.* 97, 1435–1438.
- Meir, S. *et al.* 2009. Transforming a *NEPI* toxin gene into two *Fusarium* spp. to enhance mycoherbicide activity on *Orobanche* – failure and success. *Pest Manag Sci.* 65, 588-595.
- Mo, X.H. *et al.* 2023. Characterization of C30 carotenoid and identification of its biosynthetic gene cluster in *Methylobacterium extorquens* AM1. *Synth. Syst. Biotechnol.* 527-535.
- Morin, L. 2020. Progress in biological control of weeds with plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 58, 201–23.
- Nzioki, H.S. 2016. *Striga* biocontrol on a toothpick: a readily deployable and inexpensive method for smallholder farmers. *Front. Plant Sci.* 7, 1121.
- Primrose, S.B. 1976. Ethylene-forming bacteria from soil and water. *J. Gen. Microbiol.* 97, 343–346.
- Sakurai, N. *et al.* 2023. The Thing Metabolome Repository family (XMRs): comparable untargeted metabolome databases for analyzing sample-specific unknown metabolites. *Nucleic Acids Res.* 51, D660-D677.
- Sands, D.C. and Pilgeram, A. L. 2009. Methods for selecting hypervirulent biocontrol agents of weeds: why and how. *Pest Manag. Sci.* 65, 581-587.
- Sun, Y.X. *et al.* 2023. UV-induced mutagenesis of *Beauveria bassiana* (Hypocreales: Clavicipitaceae) yields two hypervirulent isolates with different transcriptomic profiles. *Pest Manag Sci.* 79, 2762-2779.
- Yurimoto, H. *et al.* 2020. Methanol bioeconomy: promotion of rice crop yield in paddy fields with microbial cells prepared from natural gas-derived C1 compound. *Microb. Biotechnol.* 14, 1385-1396.
- 由里本博也・阪井康能．2015. C1 微生物 - 植物共生系による C1 炭素固定と植物生長促進．*光合成研究*，25, 92-99.