

乳酸菌製剤の開発と今後の普及上の課題

農林水産技術センター 生物資源研究センター 木村 重光

1. はじめに

2000年当初、BSEや鳥インフルエンザなど食品の安全性、輸入冷凍ホウレンソウの残留農薬や無登録農薬使用などの農薬に関係する事件が多発した。登録された農薬は、農薬取締法に基づき安全性が証明されており、使用基準を遵守する限り、何ら問題はない。にもかかわらず、2015年の現在でも、多くの消費者が農薬に対する不安を感じているのが現状である（食品安全委員会 HP）。そのような中で、従来の化学農薬に依存した防除から脱却し、様々な防除法を組み合わせた総合的病害虫・雑草管理（IPM：Integrated Pest Management）の確立が求められており、その1つに生物的防除法の利用がある。そこで、この生物防除法に利用する微生物として、ヒトに親しみの深い乳酸菌に注目した。発酵食品や農作物から分離・収集した多数の乳酸菌株を対象にスクリーニングした結果、各種軟腐病に防除効果を示す *Lactobacillus plantarum* BY 株を見出し、世界ではじめて、乳酸菌の微生物農薬ラクトガード®水和剤が誕生した。これまでの研究開発の経緯と本菌株による植物細菌病害防除の作用機構解明について紹介する。

2. 有用乳酸菌株の探索

発酵食品や農作物から 1166 菌株の乳酸菌を分離・収集し、有用乳酸菌の選抜を 2004 年から開始した。1次選抜は、Takahara らの方法（1993）に準じて行った。軟腐病菌 *Erwinia carotovora* MAFF 302818 株と乳酸菌株の混合懸濁液にキャベツ葉ディスクを 24℃、1時間浸漬後、シャーレに並べて 28℃、24時間静置し病徴程度を比較することにより、有望 50 菌株を選抜した。2次選抜は、軟腐病菌株と乳酸菌株との混合懸濁液を、ポット栽培したハクサイ株の中肋（葉柄）に穿刺接種して 10日間栽培後、発病程度を調査し、2菌株に絞り込んだ。さらに、2006年、京都府農林水産技術センター生物資源研究センター圃場でハクサイ軟腐病防除試験（以下、防除試験）を 2回実施して SOK04 株を最終選抜した。SOK04 株は、*Lactobacillus plantarum* と同定された（以下 BY 株、図 1）。本菌株を用いて作成した製剤（以下、BY 製剤）による防除試験の結果、既存の微生物農薬と遜色ない防除効果を示した。



図 1 *Lactobacillus plantarum* BY 株（左：コロニー、右：電子顕微鏡）

3. 乳酸菌製剤の実用性評価

2009～2011年にハクサイ軟腐病に対する薬効・薬害試験を国内6か所で実施したところ、BY製剤は既存の微生物農薬に優る防除効果を示した。軟腐病は多くの農作物に発生する多犯性病害であることから、トマトをはじめとした野菜やいも類の軟腐病に対する試験も実施したところ、化学農薬とほぼ同等の防除効果を認めた。いずれの試験においても、薬害は認めずBY製剤の実用性を確認した(図2)。



図2 BY製剤によるハクサイ軟腐病防除効果(左;無処理区、右:BY製剤処理区)

4. *Lb. plantarum* BY株の防除機構

BY株による軟腐病防除機構を明らかにするために、本菌の抗菌活性、抵抗性誘導能、宿主への定着性について調べた。

1) 抗菌活性

BY株と軟腐病菌との共培養により評価した。その結果、培地上においてBY株のコロニー周囲に明瞭な生育阻止帯が認められたことから本菌が軟腐病菌に対して抗菌活性を持つことがわかった。

2) 抵抗性誘導能

ハクサイにおける既知の防御応答関連マーカー遺伝子の発現挙動を調べることで評価した。その結果、植物の防御応答ホルモンの1つであるサリチル酸の処理によって誘導されるPRタンパク質遺伝子の発現が、BY株処理後の植物体においても同様に認められた。このことから、本菌がハクサイの抵抗性誘導に寄与している可能性が強く示唆された。

3) 宿主への定着性

ハクサイ葉の無傷部および有傷部にそれぞれBY株を噴霧した後の菌密度を経時的に測定したところ、無傷部では処理後数日で検出されなくなる一方で、有傷部では処理7日後においても検出された。このことから、BY株はハクサイの有傷部において安定的に定着すると考えられた。傷口は軟腐病菌の主要な感染経路であることから、傷部へのBY株の定着は、軟腐病菌の侵入に対して抑制的に働くことが推測される。特に有傷部ではBY株が傷部より漏出した植物由来の細胞内容物を獲得して増殖し、抗菌物質の1つである乳酸を菌体外に放出することで、軟腐病菌の増殖を抑制している可能性も考えられる。

以上のことから、BY株の軟腐病菌に対する抗菌活性、ハクサイに対する抵抗性誘導、およびハクサイ有傷部における定着が軟腐病の発病抑制に寄与していると考えられた。

5. 現地普及に向けて

生物農薬全般に言えるのは、化学合成農薬のように散布によってクリアな効果が得られるとは限らないということ。生物農薬は散布時の気象条件や作物の生育ステージ、状態に大きな影響を受けることがある。生産者が実際に使用する生産現場は、千差万別であって散布時の細かい条件まで同一にすることはできないが、開発に当たって、安定的に効果を発揮するために必要な条件は、データとして明確にしておくことが重要と考えられる。

今回の乳酸菌製剤では解明した防除機構から、予防効果を重視した散布を必要とする。発病前からの散布により、抗菌活性や抵抗性誘導により、菌の侵入や繁殖を抑制すること、さらに植物体に傷が付き、軟腐病菌が傷口から侵入する場合でも、定着性の高いBY株により侵入が防げることがわかっている。図3のようにBY株が無傷の葉面で3~4日定着し、傷口があれば増殖して長期間定着する知見からは、予防散布のためにいつ、どの程度の間隔で散布すべきかイメージができる。このように技術者へ防除機構の知見を開示することは、軟腐病菌の侵入経路でもある傷口が生じるであろう事象が予想される時、あるいは生じた時に本剤の散布を速やかにおこなう必要性への理解を深めるものであろう。できるだけ詳しい防除機構の開示は、技術者がその利用を考える時に使い方のアイデア創出に役立つと考えられるし、実際の指導場面でも役立つ。そのために、乳酸菌製剤については、農業セミナー（11月19日綾部市）、成績報告会（12月2日精華町）を開催し、開発サイドとして開発紹介だけでなく使い方の啓発・宣伝に努めているところである。

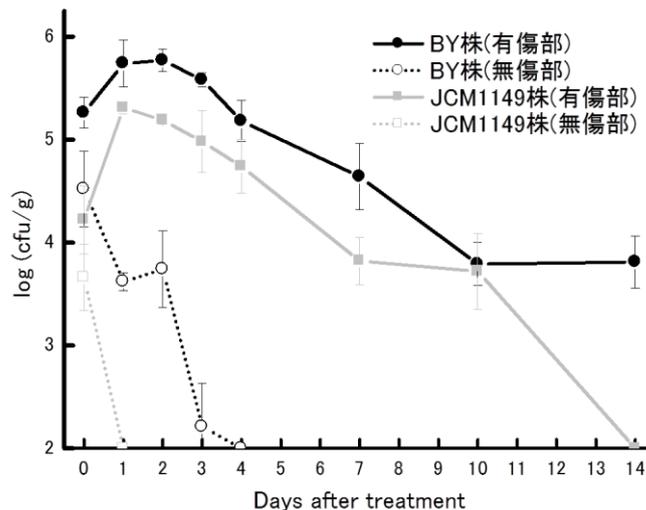


図3 乳酸菌 JCM1149 株および BY 株散布後のハクサイへの定着性

6. おわりに

各種の薬効・薬害試験および安全性試験の結果、*Lb. plantarum* BY 株を有効成分とする「ラクトガード®水和剤」が微生物農薬として 2015 年 5 月 27 日に登録され、来年より Meiji Seika ファルマ株式会社より上市予定である。本剤が、安定した作物生産に寄与する IPM 技術の有効な 1 手段として利用され、生産者のみならず消費者にも安心な、軟腐病を予防する農薬として受け入れられることを願っている。

本研究は、京都府農林水産技術センター、京都府立大学大学院および Meiji Seika ファルマ株式会社が共同で実施した、農林水産省の先端技術を活用した農林水産研究高度化事業「人の健康に有益な乳酸菌を使った世界初の微生物農薬を開発する（2005～2007 年）」において実施。