

特集：バーティシリウム病の現状と課題〔5〕

バーティシリウム属菌研究の海外での動向

千葉大学園芸学部生物生産科学科 ^{なが}長 ^お尾 ^{ひで}英 ^{ゆき}幸

バーティシリウム病は、重要な土壌病害の一つであり、海外では我が国で特に注意が払われている *Verticillium albo-atrum* および *V. dahliae* に加え、*V. tricorpus* や *V. nigrescens* も主要作物の病原菌として採り上げられている。近年の分子生物学的手法による研究は、1994年の第6回国際バーティシリウムシンポジウム開催以降に発表された研究にも、菌の同定や検出法など次々と発表されている。分子生物学的手法による最新の情報については前稿（帯蕃大・小池氏）を参考にいただき、本稿では、栄養体親和性、微小菌核を巡る話題、宿主-寄生者の相互作用、および防除法について昨年アテネで開かれた第7回国際バーティシリウムシンポジウムから話題を紹介する。なお、引用著者名に年号が欠けている文献はすべて、第7回シンポジウム要旨からの引用である。

I 栄養体親和性

1990年に JOAQUIM and ROWE が四つの VCGs を提案し、その後ワタの病原型との関連に関する研究がこの提案を支持してきている。今回の報告でも少なくとも北半球から分離されている *V. dahliae* はほぼこの四つの VCGs に類別されることが示された。このなかでも JOAQUIM and ROWE (1990) が区分した VCG 2 および 4 のサブグループは病原性の点からも支持されている。VCG 2 B はかなりヘテロな宿主より分離されることも報告されている。イギリスやカナダの研究者の中には萩原ら (1990) が提唱している判別植物による菌群に関心を持っている方もいるので、今後判別植物が規格化されれば（感受性品種の選定）、ワタに対する病原性のように VCGs との対応関係も明確になるものと思われる。

我が国の菌株はこのうちの VCG 2 A, 2 B, および 4 に類別され、我が国の判別植物による菌群の類別によるトマト系と非トマト系にはほぼ対応すると考えられる (EBIHARA et al.)。この点に関しては遺伝子レベルからも現在検討中である。

V. nigrescens および *V. tricorpus* についても VCGs

の研究が報告され、両菌とも八つのグループが存在した。しかしこれらの菌は弱病原性菌として知られているように、接種による病徴の再現ができず、残念ながら VCG との対応関係は不明である (NOROLEV et al.)。

II 微小菌核を巡る話題

やはり前回の報告で採り上げたオランダのグループの研究活動 (TERMORSHIZEN のグループ) が注目に値する。第6回シンポジウムの報告 (小池・長尾, 1994) で触れた土壌中の微小菌核の定量法について TERMORSHIZEN のグループはさらに各地のサンプルに基づいた比較結果を報告したが、いまだ定量法の確立には至っていない。定量法の研究と同時に必要なのが選択培地の問題である。特にオランダでは土壌中の検出時に、重要な病原菌である *V. dahliae* とともに対象植物には非病原性の *V. tricorpus* が普通に分離される。そこでエタノール培地やペクチン培地でのコロニーの生育や微小菌核の大きさなどを指標として識別することを議論している (GOUD and TERMORSHUIZEN)。培地上での種間の選択性の問題についてはなお検討を要し、防除法のところでも触れるが、種内の識別も重要な問題として残されている。

また、今回の発表でも微小菌核をめぐる様々な研究を行っている。微小菌核の罹病植物体内での形成と温度条件について検討したなかで (SOESANTO and TERMORSHUIZEN)、胞子形成は残渣上では乾燥に弱いことから起こりにくく、生態的には微小菌核あるいは感染植物の移動が伝搬の主要因と考察している (TERMORSHUIZEN)。この一連の研究の中で、胞子懸濁液を葉面に接種し、そこからの感染も検討した。近年木本植物の感染経路は地下部だけでなく、枝などからも感染が起こるとされているが、草本の場合はやはり地下部からの感染が重要であることを裏付けた。このようなオーソドックスな研究をシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) を用いて行うところに、次の研究のステップが用意されているようである。他方では、微小菌核が形成される前のジャガイモ茎葉部の除去が圃場の接種源密度にどのように影響するかという実際的な観点からも着々と研究しているようであった (LAMERS and TERMORSHUIZEN)。

III 宿主-寄生者の相互作用について

オーストラリアの McFADDEN グループがパーティシリウム病で形質転換植物の試験を報告した (McFADDEN et al.)。オーストラリアではワタのパーティシリウム病だけでなく、フザリウム病も発生しているので、ワタにグルコースオキシダーゼ、キチナーゼ、オスモチンをそれぞれ取り込んだ形質転換植物を作成し、パーティシリウム病およびフザリウム病に対する効果を試験し、ある程度発病を抑えた。また細菌病を起こす *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* から得た非病原性遺伝子を導入し、植物に過敏感反応あるいは全身的な獲得抵抗性を誘導する研究にも取り組んでいる。すでに細菌の遺伝子が植物体中で発現し過敏感反応を起こすことは確認済みなので、形質転換植物体での非病原性遺伝子の発現がどのような影響を作物生産に与えるかを検討中である。

前回のシンポジウムで *V. dahliae* race 2 に対する抵抗性は導管部でのトラッピングサイトでの胞子発芽や形成に何らかの影響を与えているという報告があったが、今回の報告には植物の耐乾性と耐病性の関連に関する仮説が提出された。アメリカの ARBOGAST と POWELSON は、耐乾性のある品種では頂部からの分離率にそれ以外の品種に比べて差異があることを見いだした。蒸散流に乗って移動するという導管病独自のメカニズムを抵抗性あるいは耐病性品種の開発に結びつけようとした点がユニークである。病原菌にとっての物理的な障壁という点でレース分化が起こりにくいことが考えられるので、今後も検討が望まれる。

IV 防除法

今回のシンポジウムでは生物的防除法と耕種の防除法が報告されたが、それぞれ微生物のみあるいは有機物施用のみという方式ではなく、太陽熱利用や湛水を組み合わせた方法が紹介された。

1 生物的防除法

従来より *V. dahliae* に対する生物的防除には *Talaromyces flavus* および *Trichoderma* spp. が検討されている (D'ERCOLE et al.; KERSTEN; SOLARSKJE; ZEISE)。今回の報告ではギリシャの TJAMOS のグループとドイツ Rostock 大学のグループがこれらの糸状菌以外にも根圏細菌に注目し、ナス科作物とセイヨウアブラナ (*Brassica napus* spp. *oleifera*) を用いた試験を紹介した。TJAMOS のグループ報告によれば、パーティシリウム病が侵入するといわれている根端内部より細菌の分離を行い、*Bacillus* sp. や *Paenibacillus alvei* と思われる分離株が

根圏や根内部に定着し、発病の遅延や軽減を示した (TJAMOS et al.)。Rostock 大学のグループによれば、セイヨウアブラナの根圏より *V. longisporum* に対して抗菌性のある 17 種の細菌を分離した (表-1)。セイヨウアブラナの根圏で特に重要である *Stenotrophomonas maltophilia* は、菌株により抗菌作用が異なり、いくつかの異なる抗生物質 (macrocyclic lactam 抗生物質の maltophilin や alteramid A) や拮抗活性 (キチナーゼや β -1,3 グルカナーゼ) の組み合わせが示唆された (BERG)。また、*Serratia plymuthica* もセイヨウアブラナ根圏に住み、植物と密接な関係がある (BERG et al.)。本菌も菌株により抗菌作用が異なり、複数の抗生物質 (prodigiosin や pyrrolnitrin) や拮抗活性 (キチナーゼや β -1,3 グルカナーゼ) の組み合わせが示唆された。ドイツのグループは細菌と植物との関係について抗菌性だけでなく、beneficial bacteria と呼ばれる植物の生育を促進するような細菌の効果も検討している (LOTTMANN et al.)。この細菌は直接的には IAA のような植物ホルモンを生産して植物の生育を促進し、また間接的には拮抗作用を示すように働くと考えられている。ジャガイモ根圏より分離した細菌のうち IAA を生産した株が 27% で、*V. dahliae* に対する拮抗作用を示した株は 8% であった。これらのうち 8 種が *V. dahliae* に対する新たな拮抗細菌であった (表-2)。

2 耕種の防除法

地球規模の環境問題が議論される中で、オゾン層破壊に関与していると考えられるメチルブロマイドの使用が制限される。しかしこのような優れた土壌くん蒸剤に代わり

表-1 セイヨウアブラナパーティシリウム病の生物的防除に活躍が期待される細菌

<i>Agrobacterium radiobacter</i>
<i>Bacillus cereus</i>
<i>B. subtilis</i>
<i>Burkholderia cepacia</i>
<i>Chromobacterium violaceum</i>
<i>Chryseomonas luteola</i>
<i>Flavobacterium indologenes</i>
<i>Pseudomonas aureofaciens</i>
<i>P. chlororaphis</i>
<i>P. fluorescens</i> (異なる biovar を含む)
<i>P. putida</i>
<i>Pantoea agglomerans</i>
<i>Serratia liquefaciens</i>
<i>S. plymuthica</i>
<i>S. rubidaea</i>
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>

表-2 ジャガイモ半身萎ちょう病の生物的防除に活躍が期待される新分離細菌

<i>Actinobacillus ligniersii</i>
<i>Comamonas acidovorans</i>
<i>Enterobacter intermedius</i>
<i>Paenibacillus macerans</i>
<i>Serratia grimesii</i>
<i>Sphingobacterium heparium</i>
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Yersinia frederiksenii</i>

うる薬剤は開発されていない。シンポジウムのレビューでも「化学薬剤の時代には有機物施用の効果は忘れられていた」と述べられていた (LAZAROVITS)。その中で今後の重要な課題として、生物的防除や耕種の防除による防除評価を検討すること、例えば微小菌核の定量や微小菌核の生存について土壤中や土壤微生物ポピュレーションを含め検討することが提唱されている。防除評価に当たって、処理区の植物根よりの分離率とモノクローナル抗体を用いた免疫的検出が比較され、後者が微小なコロニーを検出でき、より信頼性のある結果を示すことが報告された (HUISMAN and DAVIS)。しかし *V. dahliae* の種内菌群を考慮しないと、対象作物を侵すポピュレーションを過大あるいは過小評価するおそれも考えられる。今回のシンポジウムでは耕種の防除に関するほとんどの発表がアメリカからであったが、PAPAIVAS らが様々な土壤病害と有機物施用の関係を追求している伝統が今も続いていることが感じられる。

有機物施用の材料としてはスーダングラスが最も多く使われ、対象作物はジャガイモである。輪作作物ごとの *V. dahliae* の定着を比較しても、アルファルファ、トウモロコシ、スーダングラスの順で少ない (DAVIS et al.)。有機物施用の効果は従来報告されているように、糸状菌のポピュレーションを増大させ、その結果農作物の根に感染しようとするバーティシリウム菌の発芽を可能にする栄養を腐生的な糸状菌により競合させることにある。特に *Fusarium* spp. が腐生的なポピュレーションに優占的であると報告されているが、土壤や有機物の種類によっては *Fusarium equiseti* の乾土当たりの cfu とバーティシリウム病の発生や収量と有意な相関を示したが、*F. solani* と *F. oxysporum* の乾土当たりの cfu とバーティシリウム病の発生や収量とは有意な相関が見られないこともある (DAVIS et al.)。カリフォルニアではカリフラワーが重要な生産物であるが、近年 *V. dahliae* による被害が増大している。しかしながらカリフラワーに近

縁なブロッコリーは *V. dahliae* に非感受性で、しかも微小菌核の形成が見られない。また残渣には殺菌成分が含まれていることが知られている。室内実験では新鮮なブロッコリーを添加した場合、乾燥物を添加した場合に比べ微小菌核の密度が低下するので、今後圃場レベルで実用化に向け試験が行われる (KOIKE et al.)。有機物施用と同時に太陽熱処理・湛水などの条件が組み合わされた研究もオランダの TERMORSHUIZEN のグループにより報告されている (TERMORSHUIZEN et al.)。その組み合わせでは、イネ科牧草を有機物として施用し、プラスチックマルチを行った場合が最も効果的に微小菌核の密度を下げている。ブロッコリーよりも効果的であるという点が、試験地の土壤や気象などの環境やそこに生息する微生物の活動を反映していると思われる。地温の上昇は 37°C 以下である。微小菌核の密度の低下要因として、嫌氣的発酵により病原菌の耐久体に毒性を持つ物質が形成されるという仮説が発表されている。さらにスーダングラスを異なる土壤タイプ (Idaho と Washington) に鋤き込んだところ、発病程度に差が見られ、有機物以外の要因が関与していることがうかがえる (PARKS and POWELSON)。

V 菌寄生あるいは線虫寄生菌としての *Verticillium* spp.

Rhizoctonia solani に寄生している *Verticillium biguttatum* (NICOLETTI and LAHOZ) および *V. tricorpus* (PAPLOMATAS et al.) を生物的防除に役立てようという研究が報告された。*V. dahliae* の発病抑止土壤には、*V. tricorpus* の菌密度が非抑止土壤に比べ高いことから、*V. tricorpus* の接種による防除が試みられ、対象区に比べ発病を抑制した。しかし接種菌は定着せず、*V. dahliae* の菌密度並みとなった。抑止土壤のメカニズムは現在も解明中である (DAVIS et al.)。シスト線虫 *Heterodera avenae* および *H. cajani* の線虫密度を *V. chlamydsporium* により軽減する試みが報告された (BHARADWAJ and TRIVEDI)。

参 考 文 献

- 1) Abstracts of 7th International Verticillium Symposium, Cape Sounion, Athens, Greece, October 6-10, 1997.
- 2) 萩原 廣 (1990): 植物防疫 44: 299~303.
- 3) JOAQUIM, T. R. and R. C. ROWE (1990): Phytopathology 80: 1160~1166.
- 4) 小池正徳 (1998): 植物防疫 52: 286~289.
- 5) ———・長尾英幸 (1994): 植物防疫 48: 505~508.