

日本における白絹病菌の遺伝的変異

独立行政法人農業環境技術研究所 ^{おか}岡 ^べ部 ^{いく}郁 ^こ子

はじめに

白絹病菌 [*Sclerotium rolfii* SACCARDO, 完全時代名は *Athelia rolfii* (CURZI) TU & KIMBROUGH] は土壤伝染性の植物病原菌の一つで、日本では主に西南暖地に発生し、ダイズ、ラッカセイ等に被害を与えている。しかし、近年、北陸・東北などの寒冷地でも白絹病の発生が報告されており、これらの地域では *S. rolfii* の近縁種である *S. delphinii* WELCH が原因であると考えられる。さらに、西南暖地の白絹病菌株 (*S. rolfii*) が *S. delphinii* と同じタイプの ITS 領域を持つことを明らかにした。*S. rolfii* と *S. delphinii* は形態学的にも分子分類学的にも極めて近く、両者の間での遺伝的交流が日本の気候・環境条件に適応した病原菌を生み出した可能性も考えられる。本稿では *S. rolfii* と *S. delphinii* の遺伝的類縁関係について、リボソーム RNA 遺伝子の内部転写スペーサー (ITS) 領域の解析から明らかになってきたことを紹介する。

I 白絹病菌とその近縁種

不完全菌 *Sclerotium* 属は胞子を形成せず、菌糸の付着しない菌核を持つ種の集合であり (樋浦, 1983)、完全時代は子のう菌および担子菌類に属するさまざまな種を含む。例えば、*S. oryzae* CATTANEO は子のう菌類 *Magnaporthe salvinii* (CATTANEO) KRAUSE & WEBSTER の不完全時代であり (KRAUSE and WEBSTER, 1972)、*S. cepivorum* BERKELEY は子のう菌類の *Sclerotiniaceae* 科に属すると考えられる (CARBONE and KOHN, 1993)。一方、

S. rolfii はその完全時代の形態から担子菌類の *Athelia* 属に分類される (TU and KIMBROUGH, 1978)。*Sclerotium* 属菌の中で、*S. rolfii* と近縁と考えられるものは *S. delphinii* および *S. coffeicola* STAHEL の2種であるが、これらの完全時代はまだ知られていない。*S. rolfii* とその近縁種は菌核の形態および生育適温がやや異なる (PUNJA and DAMIANI, 1996, 表-1)。

II 日本における白絹病菌の分布

S. rolfii は熱帯から温帯にかけての温暖な地域に発生する。日本では西南暖地におけるダイズ立枯性病害の主な原因の一つとして知られているが (仲川, 1990)、一方で北陸地方などの寒冷地においても白絹病の発生が報告されている (井, 2000)。しかも、寒冷地の菌株の性質は西南暖地の菌株とやや異なっているように思われる。西南暖地の菌株はダイズ、ラッカセイ、ヒシをはじめ種々の植物から分離され、小型・球形の菌核を形成する。それに対し、北陸の菌株の多くはチューリップなどのユリ科植物から分離され、大型・不定形の菌核を生じることから (図-1a, c)、*S. delphinii* に近いと考えた。

S. rolfii と *S. delphinii* は ITS 領域の PCR-RFLP 解析によって区別される (HARLTON et al., 1995)。ITS 領域の PCR-RFLP パターンはまた、*S. rolfii* において種内変異があることも知られており、*S. rolfii* は PCR-RFLP パターンによって I から XII の12グループに分けられる (HARLTON et al., 1995)。日本各地の菌株の ITS 領域を解析したところ、五つのグループに分かれた (表-2)。日本の菌株のグループ1および3は

表-1 *Sclerotium rolfii*, *S. delphinii* および *S. coffeicola* の比較

	<i>S. rolfii</i>	<i>S. delphinii</i>	<i>S. coffeicola</i>
菌核	直径 約 0.5~1 mm	約 2~3 mm (大きいもので約 5 mm)	約 5~10 mm
生育最適温度	20~35°C	20~30°C	25~30°C
分布地域	世界中の熱帯~温帯地域	アジア・北米の温帯地域	中南米の熱帯地域
宿主植物	マメ科, キク科等 約 100 科の植物	キンポウゲ科, ユリ科等	<i>Coffea</i> 属 (コーヒー) <i>Vismia</i> 属 (オトギリソウ科の樹木)
病徴・標徴	立枯れ, 地際部に菌糸と菌核	立枯れ, 地際部に菌糸と菌核	葉に褐色の病斑 葉裏に針状の菌糸塊

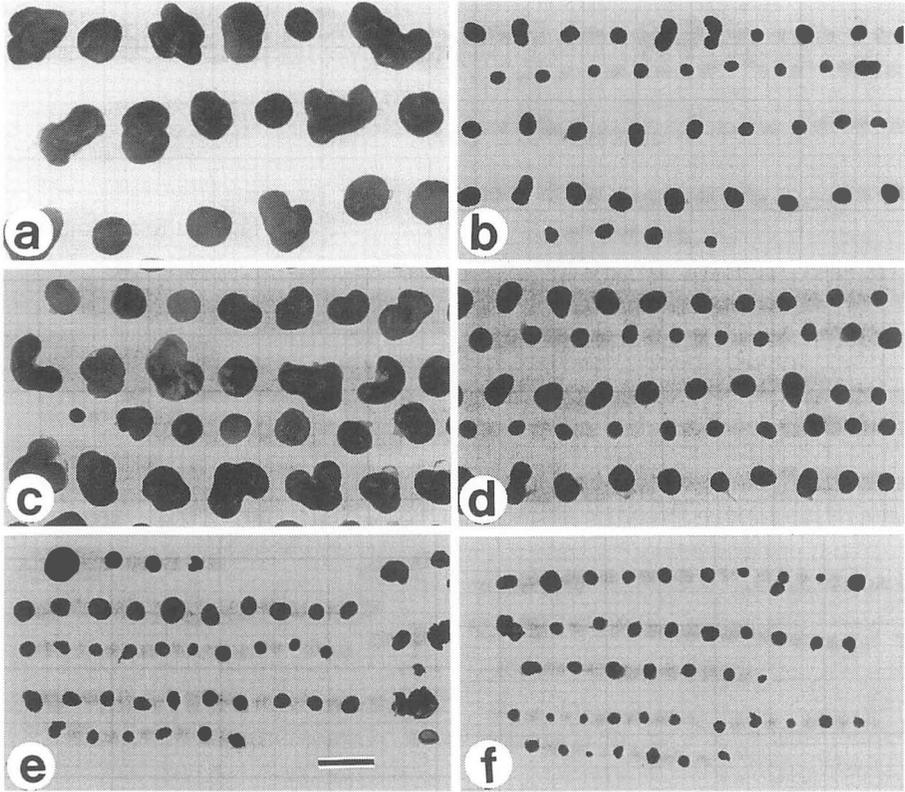


図-1 白絹病菌の菌核

左列 (a, c および e) はグループ4, 右列 (b, d および f) はグループ1, 生育温度は 23°C (上段: a と b), 28°C (中段: c と d) および 33°C (下段: e と f).

表-2 日本各地の白絹病菌株のITS-RFLPによる分類

	グループ				
	1	2	3	4	5
秋田県	0	0	0	0	2
富山県	0	0	0	6	0
石川県	0	0	1	0	0
福井県	0	0	0	0	2
群馬県	1	0	0	0	0
栃木県	0	0	0	1	1
茨城県	5	0	0	0	1
千葉県	6	4	0	0	1
埼玉県	2	1	0	0	0
東京都	5	1	0	2	1
岐阜県	1	0	0	0	0
三重県	4	1	0	0	0
広島県	1	0	0	0	0
香川県	3	0	0	0	0
徳島県	1	0	0	0	0
佐賀県	6	3	0	0	0

表中の数字は菌株数を示す。

HARLTON et al. (1995) のグループIIおよびXIに相当し、日本のグループ4は *S. delphinii* と同じパターンを示した。また、日本のグループ2および5は HARLTON et al. (1995) の報告に見られない、新しいグループであった。西南暖地の菌株はグループ1あるいは2に属し、グループ4および5の菌株は北陸・東北・北関東に多かった。また、大型の菌核を形成した菌株はグループ4および5に属していた。まとめると、日本で発生する白絹病の病原菌には2種あって、西南暖地では *S. rolfsii* が発生し、北陸を中心とする寒冷地では *S. delphinii* が発生していると考えた (OKABE et al., 1998)。

III 白絹病菌菌株間の遺伝的類縁関係

日本で *S. delphinii* が発生していることが、従来、それほど認識されていなかった理由は *S. rolfsii* と *S. delphinii* の区別が明確でなかったためと思われる。グループ4の菌株の菌核の形態は培養条件によって変化し、高温条件下ではグループ1と同様の小型・球形の菌核を形成した (図-1 e)。罹病植物上に見られる病徴・標徴か

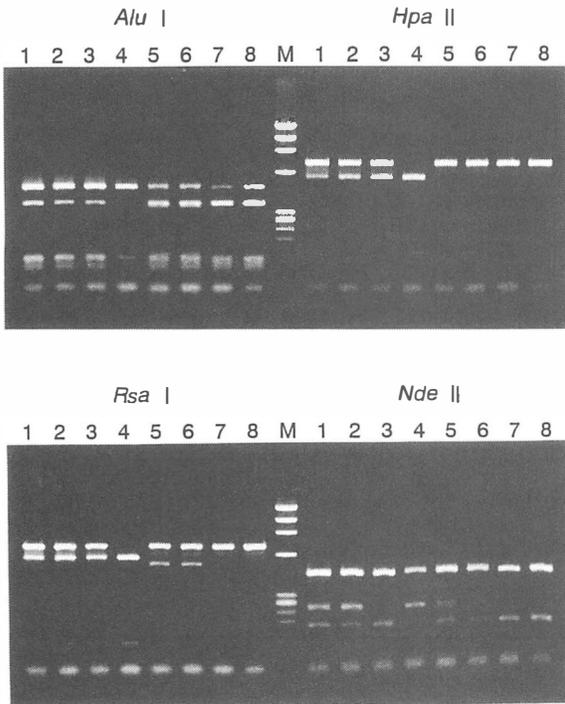


図-2 白絹病菌のITS領域のPCR-RFLPパターン
 レーン1および2はグループ1, レーン3はグループ2, レーン4はグループ3, レーン5および6はグループ4, レーン7および8はグループ5, レーンMは分子量マーカー (ϕ X 174/Hae III).

らも両菌の区別は難しい。

ITS領域のPCR-RFLPパターンにおいても、両菌の間に共通点が多い(図-2)。白絹病菌のITS領域の解析には *Alu* I, *Hpa* II, *Rsa* I および *Mbo* I の四つの制限酵素を用いるが、その中の *Mbo* I による RFLP パターンではグループ1 (*S. rolfisii*) と4 (*S. delphinii* か?) が同じであり、グループ1と2あるいは3(いずれも *S. rolfisii*) は異なる。また、*Hpa* II による PCR-RFLP ではグループ1および2のパターンはグループ3のパターンとグループ4またはグループ5のパターンを重ね合わせたものとなっていて、グループ1あるいは2のバンドの断片長を合計すると、ITS領域の大きさの約2倍となる。これは、グループ1あるいは2の菌株には2種類のITS領域が含まれていることを示す。

ITS領域の塩基配列を調べたところ、グループ1の菌株に含まれる2種類のITS領域のうちの一つはグループ3のITS領域と同じ配列を持ち、もう一つはグループ5に極めて似ていることが確認された。しかも、それぞれのタイプのITS領域は異なる核に存在する(OKABE et al., 2001)。

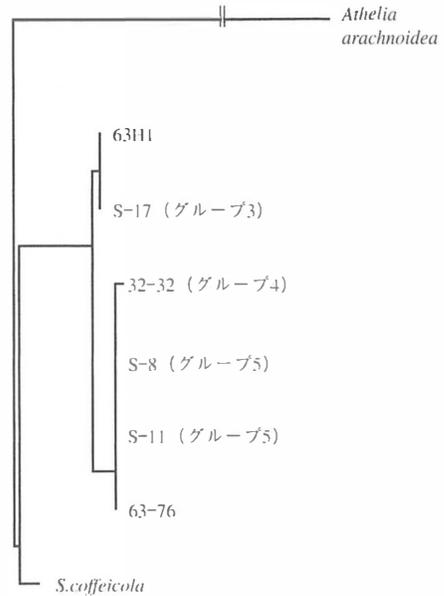


図-3 白絹病菌菌株とその近縁種のITS領域による系統樹

担子菌類の二次菌糸細胞は2核あるいは多核であるが、単菌糸分離(MASUDA, 1995)あるいはプロトプラスト化(仲川, 2001)等の方法によって単一種類の核を持つ菌株(ホモカリオン)を得ることができる。グループ1に属する *S. rolfisii* 菌株 S-63 から得られた二つのホモカリオン菌株 63 H 1 および 63-76 のITS領域の塩基配列をグループ3,4 および5の菌株と比較したところ、63 H 1 はグループ3と同一の配列を持ち、63-76 はグループ4 および5と類似していた(図-3)。すなわち、グループ1の菌株はグループ3 (*S. rolfisii*) と同じITS領域を持つ核とグループ4または5 (*S. delphinii*) に近いITS領域を持つ核を併せ持ち、両グループの交配によって生じた可能性を示している。

日本の白絹病菌株が諸外国の *S. rolfisii* に比べて *S. delphinii* に近い性質を持っていることが既に指摘されているが(CURZI, 1931), 今後、外国の *S. rolfisii* および *S. delphinii* 菌株も含めて白絹病菌の系統を整理する必要があるだろう。その時にはITS領域だけでなくミトコンドリアDNA等に含まれる情報も必要になると思われる。

おわりに

日本の寒冷地に発生している白絹病は *S. delphinii* が病原菌であると考えられる。また、白絹病菌の中で、日本の西南暖地に最も多く見られるグループ1が *S. rolf-*

sii と *S. delphinii* との間の雑種である可能性も示された。これらのことから、*S. delphinii* は日本の白絹病菌個体群の成立に大きく関与していると考えられる。日本の菌株の多くがグループ1に属することから、*S. rolfsii* と *S. delphinii* の遺伝的交流が日本の気候・環境条件に適した系統を生み出したことも想像される。

白絹病菌の伝染源は主に菌核と菌糸体であるため、その移動能力は大きくないと考えられてきた。しかし、近年はガーデニングが盛んになり、鉢花や苗の流通が増加したことによって、鉢土とともに白絹病菌が長距離を移動する可能性も出てきた。東京都ではグループ3を除くすべてのグループが見つかっているが(表-2)、これらの菌株の宿主植物に観賞用植物が多いことから、苗の流通による他地域からの持ち込みが考えられる。その地域に存在しなかったグループの白絹病菌が侵入する機会が増えることによって、宿主植物や発生時期が従来と異なる

白絹病が発生する可能性もある。今後、白絹病菌による新病害には注意を要するだろう。

引用文献

- 1) CARBONE, I. and L. M. KOHN (1993): *Mycologia* 85: 415~427.
- 2) CURZI, M. (1931): *Rendic. R. Accad. Lincei* 14 Ser. 6: 233~236.
- 3) HARLTON, C. E. et al. (1995): *Phytopathology* 85: 1269~1281.
- 4) 樋浦 誠 (1983): 植物病原菌類解説第16版, 養賢堂, 東京, p. 317.
- 5) 井 智史 (2000): 今月の農業 44(10): 20~25.
- 6) KRAUSE, R. A. and R. K. WEBSTER (1972): *Mycologia* 64: 103~114.
- 7) MASUDA, P. et al. (1995): *Mycoscience* 36: 413~420.
- 8) 仲川晃生 (1990): 農及園 65: 841~848.
- 9) ——— (2001): 日植病報 67: 107~115.
- 10) OKABE, I. et al. (1998): *Mycoscience* 39: 399~407.
- 11) ——— et al. (2001): *ibid.* 42: 107~113.
- 12) PUNJA, Z. K. and A. DAMIANI (1996): *Mycologia* 88: 694~706.
- 13) TU, C. C. and J. W. KIMBROUGH (1978): *Bot. Gaz.* 139: 454~466.

新農薬紹介

「殺菌剤」

非病原性フザリウム・オキシスポラム水和剤 (14.6.18)

本剤は1980年に農林水産省農事試験場病害第2研究室の小川奎博士が健全なカンショの導管内に生息する非病原性フザリウムを分離し、エーザイ生科研(株)および茨城県が農薬として製剤化、エーザイ生科研により上市されたかんしょつる割病用の微生物農薬である。本剤の作用機作は、本菌をカンショ組織に接種することにより、弱い感染症状を引き起こし、この刺激に反応して抵抗性が全身的に誘導されることによる。この抵抗性の誘導は、つる割病菌の分生子発芽の抑制や病徴軽減などの複合作用機作によるものと考えられる。

商品名: マルカライト

成分・性状: 製剤は、非病原性フザリウム・オキシスポラム菌 (101-2) 株を 5×10^8 cfu/g を含む類白色水和性細粒である。本菌の生育温度範囲は10~30°C (最適生育温度は25~30°C)、最適生育pHは6.5~7.0であり、自然土壤中では腐生生活、植物体内の導管中では共生生活を行っている。

分類学上の位置

門: 真菌門 (Eumycota)

網: 不完全菌亜門 (Deuteromycotina)

目: 分生子褥菌目 (Tuberculariales)

科: 分生子褥菌科 (Tuberculariaceas)

属: フザリウム属 (*Fusarium*)

種: オキシスポラム種 (*oxysporum*)

菌株: No. 101-2

和名: 非病原性フザリウム オキシスポラム (101-2)

適用作物・適用病害名及び使用方法 (表-1)

- ① 本剤は、直射日光を避け、冷涼で乾燥した所 (約5°C) に密封して保存すること。
 - ② 薬液は、30°C以下の水で直射日光が当たらない場所で調整し、調整後はできるだけ速やかに使い切ることを。
 - ③ 本剤の有効成分は生菌なので、他の殺菌剤との混用は避けること。
 - ④ 本剤は、微生物がカンショ苗に侵入・定着することにより効果を発揮するため、所定の浸漬時間を守ることを。
 - ⑤ 本剤の使用に当たっては、使用量、使用方法などを誤らなように注意し、特に初めて使用する場合には病虫害防除所等関係機関の指導を受けることが望ましい。
- 毒性: 一
- ① 眼に入らないように注意すること。万一眼に入った場合には、ただちに水洗いすること。
 - ② 使用の際は不浸透性手袋などを着用すること。
- (魚毒性): 一
通常的使用方法ではその該当がない。

表-1

作物名	適用病害虫名	希釈倍数	使用時期	本剤の使用回数	使用方法
カンショ	つる割病	500倍	植付前	1回	17時間苗の切り口を浸漬