

植物防疫基礎講座：植物病原菌の分子系統樹—そのシステムと見方—(4)

Cochliobolus 菌

花き研究所 生産利用部 つき ぼし たか お
月 星 隆 雄

はじめに

Cochliobolus 属菌は子のう菌門小房子のう菌綱プレオスポラ科に属する糸状菌で、多くはイネ科植物に寄生し、葉身や葉鞘あるいは穂に斑点、葉枯れ、穂枯れなどを引き起こす重要な病原菌である。また、インドゴムノキ、サボテン、バナナなどにも寄生し、主にイネ科植物上あるいは土壌中から腐生菌として分離される典型的な農業環境生息菌でもある。さらには、本属菌による人間の褐色糸状菌症 (phaeohyphomycosis) が熱帯地域で発生する。我が国で発生する代表的な植物病害としては、イネおよびトウモロコシのごま葉枯病、コムギ、オオムギおよびイネ科牧草の斑点病、バミューダグラスの白枯病などがある (西原, 1991)。本属は当初 *Ophiobolus* とされていたが、DRECHSLER により *Cochliobolus* 属に移され、現在に至っている (SIVANESAN, 1987)。本属の形態的特徴は、以下の通りである。黒褐色から黒色、垂球形から球形の偽子のう殻を支持組織内に一部埋没して形成し、頂部にはよく発達した孔口をもつ。内部には偽側糸と無色、二重壁、円柱形から長棍棒形の子のうを多数形成する。子のう内には無色、糸状、多隔壁の子のう胞子が1~8本、らせん形に巻いた形で形成される。無性時代は暗色線菌科の *Bipolaris* および *Curvularia* で、これらの分生子を必ず形成することが最も顕著な形態的特徴となる。*Bipolaris* 属の形態的特徴は、しばしば曲がった暗色、表面平滑な分生子柄上に、淡褐色から暗褐色、楕円形から紡錘形、表面平滑、2個以上の偽隔壁をもつポロ型分生子を着生痕上に連続的に形成する。*Curvularia* 属は、暗色、しばしば表面粗の分生子柄上に、淡褐色から暗褐色、楕円形から紡錘形、しばしば湾曲、表面平滑 (まれに粗)、中間細胞は暗色、膨大することが多く、3個以上の偽隔壁をもつポロ型分生子を着生痕上に連続的に形成する。両者は形態的に類似していることも多く、区別が難しいことがある。また、*Cochliobolus* 有性時代を形成しない菌種も多く、これらの菌種は無性時代名

Bipolaris および *Curvularia* で表記される。

近年発達してきたリボゾーム RNA (rDNA) 遺伝子による分子系統解析が、本属菌にも応用されており、種間の類縁関係が明らかになりつつある。BERBEE et al. (1999) は 5.8S rDNA とその前後の ITS (Internal transcribed spacer) 領域の塩基配列をもとに分子系統解析を行い、本属菌が大型分生子を形成する *Bipolaris* 属菌のグループおよび小型分生子を形成する *Bipolaris* 属菌と *Curvularia* 属菌のグループに大別できるとしている。また、OLIVIER et al. (2000) は *Helminthosporium* 属および *Stemphylium* 属などを含めたプレオスポラ科全体での解析で、ZHANG and BERBEE (2001) は *Drechslera* 属も含めた解析で同様の結果を得ている。rDNA-ITS 領域以外にも、アルデヒド3-リン酸デヒドロゲナーゼ遺伝子配列 (BERBEE et al., 1999) あるいはメラニン生合成関連遺伝子配列 (SHIMIZU et al., 1998) を用いた解析も行われており、これらの配列はウェブで公開されている。

本稿では *Cochliobolus* 属菌の rDNA-ITS 領域の塩基配列に基づく系統解析結果を示すとともに、分子系統によるグループ化と胞子形態、毒素産生能等との詳細な関係を紹介したい。

I リボゾーム DNA-ITS 領域の配列に基づく系統樹

我が国で発生している *Cochliobolus* 属の植物病原菌を主な対象に、日本 DNA データバンク (DDBJ) から取得した 34 種の ITS1 + 5.8S rDNA + ITS2 配列データおよび新たに解析した 4 種 (*Cochliobolus nodulosus*, *C. setariae*, *C. stenospilus*, *Curvularia panici*) の配列データをもとに、分子系統解析を行った。塩基配列のアラインメントは公開ソフトウェア Clustal X で行い、近隣結合 (NJ) 法による分子系統樹は解析ソフト NJ plot により作成した。Outgroup は *Alternaria alternata* とした。その結果、*Cochliobolus* 属は一つの大きなグループにまとまり、近縁種である *Setosphaeria* (無性時代: *Exserohilum*) および *Pyrenophora* (無性時代: *Drechslera*) とは別のグループに分類された (図-1)。また、*Cochliobolus* 属は *Curvularia* と *Bipolaris* 小型分生子群 (グループ 1~7) および *Bipolaris* 大型分生子

Phylogenetic Analysis of Japanese *Cochliobolus* Species. By Takao TSUKUBOSHI

(キーワード: *Cochliobolus* 属菌, rDNA-ITS, 分子系統解析, 分生子形態)

群 (グループ 8 ~ 13) に分かれ, 既報と一致した。津田が創設した *Pseudocochliobolus* 属はすべてグループ 1 ~ 7 に含まれる。さらに, 本属はセスタテルペン類の宿主非特異的毒素オフィオボリン A およびその関連物質を産生するが, 既報によれば産生菌はすべて *Bipolaris* 大型分生子群に分類される (TSUKIBOSHI et al., 2004)。

系統樹を詳しく見ると, さらにいくつかのグループに細分でき, それぞれが特徴的な分生子形態をもつため, 試論ではあるが, それぞれについて解説を行いたい。

Curvularia と *Bipolaris* 小型分生子群 (グループ 1 ~ 7)

このグループには *Curvularia* 属と *Bipolaris* 属が混在する。いずれの種もオフィオボリン類を産生しないか報告がない。

(1) *Curvularia panici* と *Cu. inaequalis*

長形, へそ突出 *Curvularia* 型分生子。 *Cu. panici* (口絵 A) は最近筆者らがイネ科キビ属植物上の新種として

報告した (CHUNG and TSUKIBOSHI, 2005)。隔壁 5 ~ 10 と *Curvularia* としては非常に長く, 両端が淡色化して曲がり, へそが突出するのが特徴である。 *Cu. inaequalis* (イネ褐色米菌) も 4 隔壁で, へそもわずかだが突出する。

(2) *Pseudocochliobolus australiensis*, *Ps. hawaiiensis* (口絵 B) および *Ps. spicifer*

短形, へそ沈在 *Bipolaris* 型分生子。いずれも *Pseudocochliobolus* 有性時代をもち, 楕円形, 3 ~ 5 隔壁で, へそは沈在する分生子を形成する。イネ科植物の葉上生息菌として分離され, 我が国では病原菌としての報告はない。このグループはブートストラップ値 96% で支持され, グループ内の類縁性は高い。

(3) *Curvularia gladioli* と *Cu. trifolii*

短形, へそ突出 *Curvularia* 型分生子。いずれも典型的な 3 隔壁 *Curvularia*。 *Cu. gladioli* (グラジオラス赤斑病菌) は *Cu. trifolii* (クローバ汚斑病菌他) の一分化型とされたこともあり, 類縁性は高い。

(4) *Pseudocochliobolus verruculosus* (口絵 C)

短形, へそ沈在, 表面粗 *Curvularia* 型分生子。表面が小疣状で他種とは異なる。ローズグラスに褐点病を引き起こす。

(5) *Cochliobolus nodulosus* と *Co. kusanoi*

倒棍棒形, へそ沈在 *Bipolaris* 型分生子。 *Co. nodulosus* (オヒシバ葉枯病菌, 口絵 D) と *Co. kusanoi* (ズメギヤ葉枯病菌) は, いずれも長卵形 ~ 倒棍棒形, 先端に向かって漸尖する中型分生子を形成する。このグループはブートストラップ値 100% で支持され, 両者の類縁性は極めて高い。

(6) *Curvularia clavata* と *Pseudocochliobolus eragrostidis*

短形, へそ沈在 *Curvularia* 型分生子。3 隔壁だが, 両種ともあまり曲がらない。 *Cu. clavata* はイネ褐色米菌, *Ps. eragrostidis* は病原菌としての報告はない。このグループはブートストラップ値 100% で支持された。

(7) *Curvularia brachyspora* と *Cochliobolus intermedius*

短形, へそ沈在, 中央壁厚 *Curvularia* 型分生子。3 隔壁だが, 両種とも中央隔壁がやや肥厚する。 *Cu. brachyspora* は我が国では報告がなく, *Co. intermedius* (口絵 E) はイネ褐色米菌, ソルガム緑葉枯病菌。両者の類縁性は高い。

Bipolaris 大型分生子群 (グループ 8 ~ 13)

このグループは *Bipolaris* 属のみで構成される。多くの種はオフィオボリン類を産生するが, 一部の種は産生しないか報告がない。

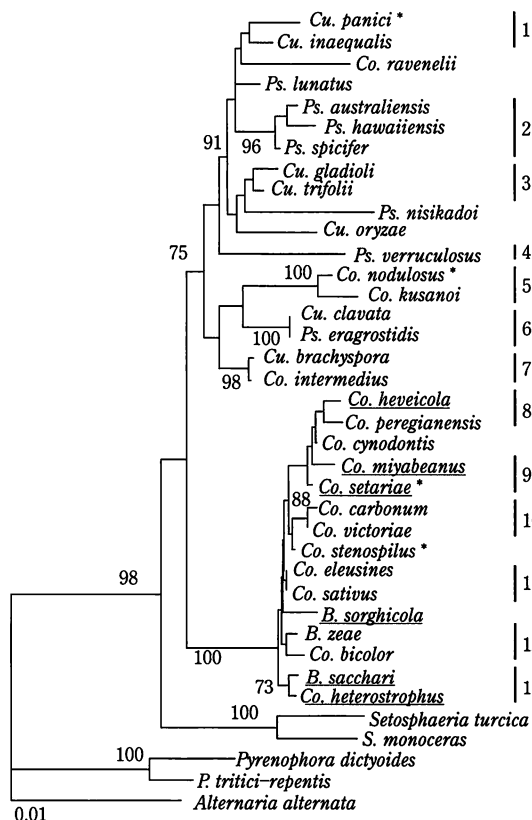


図-1 *Cochliobolus*, *Pseudocochliobolus*, *Bipolaris* および *Curvularia* 属菌の rDNA-ITS 領域に基づく NJ 法による分子系統樹 (分岐点の数値: ブートストラップ確率, 下線部: オフィオボリン産生種, *: 新たに解析した種)

(8) *Cochliobolus heveicola* と *Co. peregrinensis*

分生子形態に共通の特徴はないが、近傍に落ちてきた *Co. cynodontis* とともにいずれもシバ（ノシバ、バミューダグラスなど）に病原性があるのは興味深い。*Co. heveicola*（口絵 F）は海外ではインドゴムノキの病原菌として知られるが、我が国ではシバ褐条葉枯病を引き起こす（TSUKIBOSHI et al., 2005）。*Co. peregrinensis* は我が国でバミューダグラスに発生（未発表）、*Co. cynodontis*（口絵 G）はバミューダグラス白枯病菌。*Co. heveicola* はオフィオボリンを産生する。

(9) *Cochliobolus miyabeanus* と *Co. setariae*

明褐色、紡錘形～長楕円形、やや湾曲する分生子。*Co. miyabeanus*（口絵 H）はイネごま葉枯病菌、アシカキ葉枯病菌、マコモ斑点病菌。*Co. setariae* はアワごま葉枯病菌。両種ともオフィオボリンを産生する。

(10) *Cochliobolus carbonum* と *Co. victoriae*

明褐色～暗褐色、長楕円形～円筒形、わずかに湾曲する分生子。*Co. carbonum*（口絵 I）はトウモロコシ北方斑点病菌、*Co. victoriae* はエンバクに寄生するが我が国では未発生。いずれも宿主特異的毒素（HC 毒素およびピクトリン）を産生するが、オフィオボリン類は産生しないか報告がない。このグループはブートストラップ値 88% で支持され、両者の類縁性は高い。

(11) *Cochliobolus eleusines* と *Co. sativus*

明褐色～暗褐色、紡錘形～長楕円形、やや湾曲する分生子。*Co. eleusines* は我が国ではオヒシバに発生し（未発表）、*Co. sativus*（口絵 J）はムギおよびイネ科牧草の斑点病菌。両者は ITS から形態的にも類似する。オフィオボリン類は産生しない。

(12) *Bipolaris zeae* と *Cochliobolus bicolor*

暗褐色、紡錘形～長楕円形、わずかに湾曲する分生子。*B. zeae* は我が国では未発生、*Co. bicolor* はカゼクサ葉枯病菌。オフィオボリン類は産生しないか報告がない。

(13) *Bipolaris sacchari* と *Cochliobolus heterostrophus*

淡褐色～明褐色、紡錘形～長楕円形、やや湾曲する分生子。*B. sacchari*（口絵 K）はサトウキビ眼点病菌、*Co. heterostrophus*（口絵 L）はトウモロコシごま葉枯病菌。いずれもオフィオボリン類を産生する。両者の類縁性は形態等からも高い。

II *Cochliobolus* 属と *Pseudocochliobolus* 属

Pseudocochliobolus 属は 1977 年に津田らが創設した属

で、*Bipolaris* および *Curvularia* 属を不完全時代にもつ（TSUDA et al., 1977）。*Cochliobolus* 属との形態的な違いは、偽子のう殻が組織に埋没せずに菌核様の柱状体上に形成され、子のうは細長い円筒状で中央部が膨れず、子のう胞子は並列あるいは緩く絡み合って配列する（津田, 2000）。ALCORN（1983）および SIVANESAN（1987）は本属を否定し、すべて *Cochliobolus* 属のシノニムとした。しかし、近年になって分子系統解析が行われ、本稿でも示したように本属が単系統ではなく、分生子の形状で大きく 2 群に分かれ、*Pseudocochliobolus* 属は *Curvularia* および *Bipolaris* 小型分生子群に含まれることが明らかになった。BERBEE et al.（1999）も分子系統解析の結果、*Pseudocochliobolus* 属を支持した。したがって、今後は小型分生子群で *Cochliobolus* 属として報告された種について、形態を詳細に観察し、*Pseudocochliobolus* 属への移行を検討する必要がある。

おわりに

rDNA-ITS 領域による分子系統解析により、*Cochliobolus* 属および *Pseudocochliobolus* 属の形態および系統とおおむね一致した分類が可能であることを紹介した。しかし、分子系統と形態が合致しない種も多く、さらに検討が必要である。また、筆者らは他の菌属でしばしば用いられている 28S rDNA (large subunit) 領域を用いた系統解析を試みたが、これまで明らかになった系統を反映した系統樹は作成できなかった（未発表）。したがって、現在のところ本属の系統解析には rDNA-ITS 領域が最適と考えられる。今後は、ITS 以外の領域も検討し、形態あるいは系統をより良く反映する系統分類体系を構築する必要がある。

引用文献

- 1) ALCORN, J. L. (1983): *Mycotaxon* 16: 353 ~ 379.
- 2) BERBEE, M. L. et al. (1999): *Mycologia* 91: 964 ~ 977.
- 3) CHUNG, W. H. and T. TSUKIBOSHI (2005): *Mycotaxon* 91: 49 ~ 54.
- 4) 西原夏樹 (1991): 草地試験場資料 2: 1 ~ 124.
- 5) OLIVIER, C. et al. (2000): *Mycologia* 92: 736 ~ 746.
- 6) SHIMIZU, K. et al. (1998): *J. Gen. Appl. Microbiol.* 44: 251 ~ 258.
- 7) SIVANESAN, A. (1987): *Mycol. pap.* 158: 1 ~ 261.
- 8) TSUDA, M. et al. (1977): *Mycologia* 69: 1109 ~ 1120.
- 9) 津田盛也 (2000): 日菌報 41: 105 ~ 118.
- 10) TSUKIBOSHI, T. et al. (2004): The 12th NIAS International Workshop on Genetic and Functional Diversity of Agricultural Microorganisms: 111 ~ 112.
- 11) ——— et al. (2005): *Mycoscience* 46: 17 ~ 21.
- 12) ZHANG, G. and M. L. BERBEE (2001): *Mycologia* 93: 1048 ~ 1063.