

Verticillium tricornus による レタスバーティシリウム萎凋病の発生

千葉大学大学院園芸学研究科 宇佐見 俊 行
兵庫県立農林水産技術総合センター 神 頭 武 嗣

は じ め に

2002 年 1 月に兵庫県内の圃場において、レタスの下位葉が黄化および萎凋してクラウン部が褐変する病害が発生した（口絵①）。罹病株からは分生子柄上にフィアライドが輪生する糸状菌が分離され（口絵②）、その形態、培養性状およびリボソーム DNA の ITS（internal transcribed spacer）領域の塩基配列に基づいて *Verticillium tricornus* と同定された（神頭ら，2003；2005）。また、これが前述したレタス病害の原因菌であることが示され、本病害はレタスバーティシリウム萎凋病と命名された（神頭ら，2003）。本病害による被害は隣県の香川県においても認められており、周辺のレタス産地においては警戒すべき病害の一つとなっている。日本では *V. tricornus* による病害の発生は珍しく、また、レタスに感染性を持つ *V. tricornus* は世界的にも例が少ない。そこで本稿では、レタスバーティシリウム萎凋病を引き起こす *V. tricornus* の諸性質について解説する。

I 植物病原性 *Verticillium* 属菌について

不完全菌類である *Verticillium* 属には、数種の重要な植物病原菌が含まれる。*V. dahliae* は、その宿主範囲の広さと病原性の強さ、そして広範な地域において被害の発生が認められる点から、国内外で最も警戒されている種である。また、*V. albo-atrum* は *V. dahliae* に比べて冷涼な環境を好むために温暖な地域における被害の発生は少ないものの、同様に広い宿主範囲と強い病原性を持つ。両種とも典型的な道管病菌で、ナス科、キク科、ウリ科、バラ科、アブラナ科等を含む多様な植物の根から感染して道管にまん延し、多くの場合は萎凋性の病害を引き起こす。これまで我が国において、*V. albo-atrum* による病害の発生は北海道に限られている。本州以南では *V. dahliae* による各種植物の病害に加え、*V. longisporum* によるアブラナ科植物の病害も発生しているが、

海外では本種を独立した種として認めない立場の研究者も少なくない。

一方、*V. tricornus* は従来我が国には分布しないとされていた種であり、かつては特定重要病害虫に指定されて海外からの侵入に対して厳重な警戒がなされてきた。しかし、1998 年に国産のジャガイモ塊茎より本種が初めて分離されたことにより、本種が日本国内にも分布していることが明らかとなった（EBIHARA et al., 2003）。ただし、この分離株をジャガイモ、ハクサイ、ナス、ピーマン、ラークスパー、パセリ、キンギョソウ、ダイズ、タバコおよびトマトに接種しても、明確な病原性は認められなかった（EBIHARA et al., 2003）。これに対して、築尾ら（2000）は宮城県内のデルフィニウムに発生した萎凋性病害が *V. tricornus* によるものであることを示し、デルフィニウム半身萎凋病と命名した。これが、国内において *V. tricornus* が植物病原菌として報告された最初の例となった。その後、前述したように兵庫県内で *V. tricornus* によるレタスバーティシリウム萎凋病が発生し、これが二例目となった。

余談ではあるが、従来 *V. nigrescens* および *V. theobromae* とされていた種については、遺伝的類縁性を根拠に *Verticillium* 属から除外され、それぞれ *Gibellulopsis nigrescens* および *Musciellum theobromae* に改名された（ZARE et al., 2007）。

II *V. tricornus* の特徴

Verticillium 属菌は、メラニンにより黒く着色した耐久生存体を形成し、土壤中に長期間生存することが知られている。ただし、形成する耐久生存体の種類は種ごとに異なる。*V. dahliae*（および *V. longisporum*）は微小菌核と呼ばれる団塊状の耐久体を作る。一方で *V. albo-atrum* は、暗色休眠菌糸と呼ばれる菌糸状の耐久体を作る。さらに、かつて *V. nigrescens* と呼ばれていた *G. nigrescens* は、厚膜胞子（厚壁胞子）と呼ばれる単生または少数が連鎖した耐久体を作る。これに対して *V. tricornus* は、上記三種類の耐久生存体をすべて形成するため（口絵②）、それぞれ一種類の耐久生存体しか形成しない他種と区別できる。また、*V. tricornus* を平板培地

Occurrence of Verticillium Wilt on Lettuce Caused by *Verticillium tricornus*. By Toshiyuki USAMI and Takeshi KANTO

（キーワード：レタス，バーティシリウム萎凋病，土壤病害，系統解析）

で培養するとしばしば菌叢が黄色またはオレンジ色に着色するが、このような着色は *V. dahliae* や *V. albo-atrum* の場合には認められない。ただし、培養条件によってはいずれか一種類の耐久生存体しか形成されない場合や、黄色またはオレンジ色の色素が生産されない場合もある。特に、色素を全く生産しない菌株はしばしば存在する。したがって、*V. tricornis* の菌株を一見して *V. dahliae* や *V. albo-atrum* と判断してしまうケースもあるため、注意が必要である。

V. dahliae, *V. albo-atrum* および *V. tricornis* においては、温度に対する感受性が種ごとに異なることも知られている。*Verticillium* 属菌は概して高温を好まないが、*V. dahliae* はここに挙げた三種の中では最も高温耐性があり、生育適温は 22～25℃付近で、30℃でもある程度生育することができる。これに対して *V. albo-atrum* の生育適温は 20～22℃付近で、30℃では全く生育できない。このように、*V. albo-atrum* は *V. dahliae* よりも冷涼なコンディションを好む。これは、*V. albo-atrum* による病害が日本においては北海道に限って発生する理由の一つと考えられる。*V. tricornis* の生育適温は *V. albo-atrum* と同様に 20～22℃付近である。しかし、*V. tricornis* は 30℃でもわずかに生育することができ、この点においては *V. albo-atrum* と異なっている。

III レタスを宿主とする *V. tricornis*

V. tricornis は ISAAC (1953) により萎凋したトマトから分離されたのが最初であるが、これまで世界各地において、キンギョソウ、ジャガイモ、ミント、カンタロープ、ワタ、アーティチョーク、デルフィニウムのほか、数種のキンポウゲ科植物や各種雑草等からも分離されている(築尾ら, 2000; 海老原ら, 2000; HUISMAN, 1988; ISAAC, 1956; ISAAC and HARRISON, 1968; KOROLEV and KATAN, 1999; MACGARVIE and HIDE, 1966; QIN et al. 2008; SKOTLAND, 1971)。しかし、QIN et al. (2008) の報告があるまでは、レタスは *V. tricornis* の分離源として一切知られていなかった。米国カリフォルニア州において世界で初めてレタスから *V. tricornis* が分離されたのは、1997年である。カリフォルニアでは *V. dahliae* によるレタスの病害が発生しており、この罹病株から *V. dahliae* とともに *V. tricornis* も分離されたのである。この *V. tricornis* はレタスに対して病原性を示さなかったが、同菌を接種したレタスにおける菌の再分離率は非常に高かった。したがって、この *V. tricornis* はレタスに対して高い親和性を持つと考えられた。

米国において世界で初めてレタスから *V. tricornis* が

分離され、そのわずか五年後の 2002 年に、兵庫県において *V. tricornis* によるレタスバーティシリウム萎凋病が発生した。しかも米国はレタス種子の主要な生産国であり、米国産の種子は日本でも盛んに利用されている。このことから、レタスに感染性のある *V. tricornis* が種子を介して米国から日本に持ち込まれた可能性も疑われた。

IV 日本産 *V. tricornis* の分子系統解析

USAMI et al. (2011) は、米国のレタスから分離された *V. tricornis* と日本で発生したレタスバーティシリウム萎凋病菌との関係を調査するため、これらを含む *V. tricornis* の各菌株について分子系統学的解析を行った。translation elongation factor 1- α 遺伝子 (*EF1 α*) の塩基配列に基づいて最大節約法により構築した分子系統樹を図-1に示した。系統樹中に菌株名(分離源植物・分離地)のみを示したものはすべて *V. tricornis* の菌株である。日本産レタス分離株については黒い背景に白字で、米国産レタス分離株については灰色の背景に黒字で記した。これによれば、築尾ら(2000)の報告したデルフィニウム半身萎凋病菌(MAFF 712235, MAFF 712236)や、EBIHARA et al. (2003) が日本で初めて分離した CE98Vt1 等、レタス分離株以外の日本産菌株はすべて米国産レタス分離株と同じ配列となり、同一のクレード内に配置された。一方、すべての日本産レタス分離株はこれらの菌株とは配列が大きく異なり、異なるクレードを形成した。ちなみに、*EF1 α* の塩基配列に基づいて近隣結合法および非加重結合法により系統樹を構築した場合も、図-1と同様のトポロジーとなった。また、リボゾーム DNA の internal transcribed spacer (ITS) 領域や、DNA 依存型 RNA polymerase II largest subunit 遺伝子 (*rpb1*) の塩基配列を用いて、最大節約法、近隣結合法および非加重結合法により系統樹を構築した場合も、同様のトポロジーとなった。したがって、日本産と米国産のレタス分離株は、間違いなく遺伝的に異なる菌であると考えられた。以上のことから、日本で発生したレタスバーティシリウム萎凋病菌が米国から持ち込まれたものである可能性は否定された。

USAMI et al. (2011) は、Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) による各菌株の遺伝的解析も行った。その結果、16種類のプライマーのうちいずれを用いた場合にも日本産レタス分離株と米国産レタス分離株のバンドパターンは大きく異なった。これは、両者が遺伝的に異なるものであることを示す分子系統解析の結果(図-1)を支持するものである。一方、*EF1 α* などの塩基配列においては日本産のレタス以外の分離株は米国産レタ

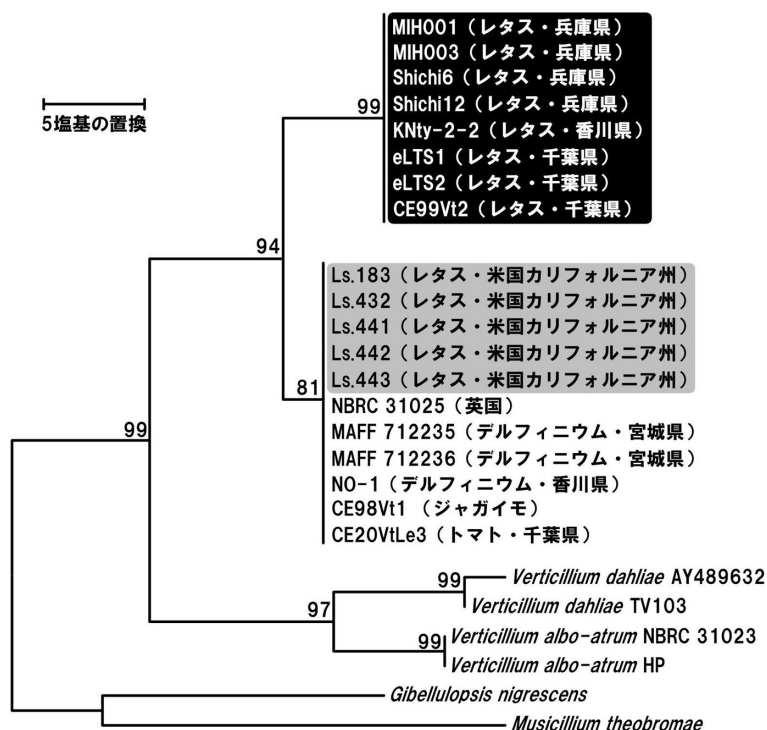


図-1 各菌株の translation elongation factor 1- α 遺伝子の配列に基づいて最大節約法により作成した系統樹

rDNA-ITS 領域や DNA 依存型 RNA polymerase II 遺伝子の配列に基づいた場合でも、あるいは他の系統樹作成法（近隣結合法、非加重結合法）を用いた場合でも、系統樹のトポロジーは同様であった。種名を記載していないものはすべて *Verticillium tricornis* の菌株である。日本産レタス分離株は黒で、米国産レタス分離株は灰色で、それぞれ着色した。枝上には、1,000 回繰り返しのブートストラップ値（最大 100）を示した。

ス分離株に類似していたが、RAPD 解析の結果では分離源および分離地ごとに様々なバンドパターンとなり、必ずしも類似しなかった。この結果は、*V. tricornis* の種内における遺伝的多様性の高さを示していると言える。

ところで、現在のところ *V. tricornis* によるレタスバーティシリウム萎凋病は兵庫県および香川県以外では発生していない。しかし、図-1 に示した系統樹の中には千葉県のレタス分離株も含まれている。実は、これらの菌株は 2002 年に兵庫県でレタスバーティシリウム萎凋病が発生する以前に分離されたものである。CE99Vt2 は 1999 年に、eLTS-1 および eLTS-2 は 2000 年に千葉県農林総合研究センターの海老原克介氏が分離したものを筆者（宇佐見）が保管しており、後年になって改めて遺伝的解析を行ったところ、兵庫県や香川県で発生したレタスバーティシリウム萎凋病菌と同様の塩基配列を持つことが判明した。これらの菌株の分離源となったレタ

スの葉は若干黄化していたそうであるが、明確な病害と認識されてはいなかった。また、現在までに千葉県内においてはレタスバーティシリウム萎凋病の発生は報告されていない。しかし、レタスバーティシリウム萎凋病菌と同じ遺伝的特徴を持った菌がすでに千葉県内に存在し、しかもレタスから分離されていることは重大な事実である。あるいはこのような菌が、すでに日本国内に広く分布している可能性も考えられる。ISAAC (1956) は、水分の多い土壌は *V. tricornis* による病害を誘発すると指摘しており、発病の有無が各産地における栽培環境に依存していることも十分に考えられる。その場合、条件によっては今後千葉県などの産地でレタスバーティシリウム萎凋病が発生する可能性もあるため、十分な注意を払う必要がある。

おわりに

*V. tricolor*によるレタスパティシリウム萎凋病は、兵庫県において2002年に突然発生した。その五年前には米国においてレタスに寄生性を示す *V. tricolor* が初めて分離されたが、遺伝的解析の結果、両者に関連性がないことが明らかとなった。では、レタスパティシリウム萎凋病はなぜ突然発生したのであろうか。現在のところ詳しい伝染経路などは明らかになっていないが、1999～2000年に同様の遺伝的特徴を持つ菌が千葉県で分離されていることから、菌自体は従前から日本に広く存在していた可能性も否定できない。日本産のレタス分離株は、それ以外の *V. tricolor* の菌株と比較して遺伝的に大きく離れており、特異な位置付けにある。このように特異な菌株が、病原性においても特異な性質を持つことは奇異なことではない。したがって、レタスに強い病原性を持つ新たな菌が発生したと見ることもできる。しかし、レタスの品種や栽培環境等も視野に入れたうえで本病害の発生原因を追求し、今後の発生拡大を防止する必要があるだろう。レタスにおいては、今まで報告さ

れていなかった *V. dahliae* による病害が突如として発生する事例も報告されているため (GARIBALDI et al., 2007; QIN et al., 2008; 金田ら, 2011; 宇佐見ら, 2011), 警戒が必要である。

引用文献

- 1) 築尾嘉章ら (2000): 日植病報 66: 303.
- 2) EBIHARA, Y. et al. (2003): Mycoscience 44: 481 ~ 488.
- 3) 海老原克介ら (2000): 日植病報 66: 274.
- 4) GARIBALDI, A. et al. (2007): Plant Dis. 91: 770.
- 5) HUISMAN, O. C. (1988): Phytopathology 78: 708 ~ 716.
- 6) ISAAC, I. (1953): Trans. Br. Mycol. Soc. 36: 180 ~ 195.
- 7) ——— (1956): Ann. Appl. Biol. 44: 105 ~ 112.
- 8) ——— and J. A. C. HARRISON (1968): Ann. Appl. Biol. 61: 231 ~ 244.
- 9) 金田真人ら (2011): 平成23年度日本植物病理学会大会講演要旨予稿集 P011.
- 10) 神頭武嗣ら (2003): 日植病報 69: 63.
- 11) ———ら (2005): 同上 71: 214 ~ 215.
- 12) KOROLEV, N. and T. KATAN (1999): Mycol. Res. 103: 65 ~ 76.
- 13) MACGARVIE, Q. D. and G. A. HIDE (1966): Plant Pathol. 15: 72 ~ 75.
- 14) QIN, Q.-M. et al. (2008): Plant Dis. 92: 69 ~ 77.
- 15) SKOTLAND, C. B. (1971): Phytopathology 61: 434 ~ 436.
- 16) USAMI, T. et al. (2011): J. Gen. Plant Pathol. 77: 17 ~ 23.
- 17) 宇佐見俊行ら (2011): 平成23年度日本植物病理学会大会講演要旨予稿集 P012.
- 18) ZARE, R. et al. (2007): Nova Hedwigia 85: 463 ~ 489.

植物防疫 特別増刊号 No.14

アザミウマ類の見分け方

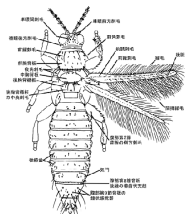
(社)日本植物防疫協会 編

9月発売予定

B5判 約70ページ 口絵カラー
 価格未定
 送料80円 (メール便)

【掲載内容】

- ・農作物のアザミウマの見分け方
- ・野菜栽培で問題となるアザミウマの見分け方
- ・チャヤ果樹栽培で問題となるアザミウマ類の生態的特徴からの見分け方
- ・カキ・モモ・イチジク栽培で問題となるアザミウマ
- ・日本産 *Frankliniella* 属5種の識別
- ・遺伝子診断によるアザミウマの見分け方
- ・植物検疫で発見されるアザミウマ類
- ・他



◆農作物を加害する重要害虫「アザミウマ」について野菜、果樹、茶、花等の作物ごとに、その重要種を各研究者が詳しく解説しています。

【主な掲載種】

- 塘 忠顕氏
 柴尾 学氏
 井村岳男氏
 多々良明夫氏
- 森下 正彦
 榎本雅身氏、岡島秀治氏
 土田 聡氏
 榎本 雅身氏
- ネギアザミウマ
 ヒラズハナアザミウマ
 ミカンキイロアザミウマ
 チャノキイロアザミウマ
 ミナミキイロアザミウマ
 ダイズウスイロアザミウマ
 キイロハナアザミウマ
 ハナアザミウマ
 ピワハナアザミウマ
 他

お問い合わせは下記へ

〒114-0015 東京都北区中里 2-28-10
 (社)日本植物防疫協会 支援事業部 出版担当
 TEL 03-5980-2183 FAX 03-5980-6753
<http://www.jpapa.or.jp/> order@jpapa.or.jp