

# 分子系統に基づく *Pythium* 属の新分類システム

Agriculture and Agri-Food Canada <sup>うず</sup> 埋 <sup>はし</sup> 橋 <sup>し</sup> 志 <sup>ほ</sup> 穂 <sup>み</sup> 美

## はじめに

ピシウム (*Pythium*) と聞いて皆さんは何を連想されるだろうか。おそらく、畑などで目にする「根腐病」, 「立枯病」, 「苗立枯病」等ではないだろうか。確かに *Pythium* 属には農作物や園芸植物, 水耕作物を中心に病害を引き起こす多数の病原性種が報告されているが, それはこの菌群の有害な面を見ているに過ぎない。*Pythium* 属菌は土壌や水域環境に広く生息する生物群で, 現在世界で 150 種, 日本では約 50 種が報告されている (KIRK et al., 2008)。このうち, 日本では約 40 種が植物病原菌として記録されており (日本植物病理学会, 2000; 日本植物病理学会病名委員会, 2011), このことが, 病原菌としての印象を強くしている要因ともいえる。しかし, なかには病原性の知られていない種も多数存在し, このような菌株を含め, 世界各地で分離された菌株が新種として毎年のように報告されている (UZUHASHI et al., 2009; BALA et al., 2010)。それに伴い, *Pythium* 属の種数は年々増加している。*Pythium* 属菌の種の同定は形態的特徴に基づいて行われるが, 種同定に重要な特徴が類似している種間や培養条件によってその形態が形成されにくい菌株などでは, 形態的特徴のみによる同定は容易ではない。さらに, 種数の増加に伴い同定はますます困難を伴うと考えられる。一方, 近年 DNA 塩基配列を種同定に利用する試みが多くの生物で行われており, *Pythium* 属では rDNA ITS 領域を用いることで, 簡便で迅速な種同定が可能となってきた (ROBIDEAU et al., 2011)。また, ITS 領域に加え, 大サブユニット rDNA (LSU rDNA) やミトコンドリア COX2 遺伝子領域等の塩基配列データを用いた分子系統学的解析も行われ, 様々な視点から多数の報告がある。このうち, *Pythium* 属内に系統学的に支持される複数の系統群が存在すること, さらに, これらの系統群と遊走子のうの形状との相関や, *Phytophthora* 属と近縁な系統群の存在等は複数の研究により示唆されている (MATSUMOTO et al., 1999; MARTIN, 2000; LÉVESQUE and de COCK, 2004; VILLA et al., 2006)。UZUHASHI et al. (2010 b) では, *Pythium* 属の属レベルでの分類学的再

検討の必要性を指摘し, 分類の再編を目的とした分子系統解析, さらに形態学的検討を行い, *Pythium* 属を 5 属に分割する新たな分類システムを提唱している。ここでは, この新分類システムについて紹介したい。また, 主要植物病原性種の新旧学名の対応および同定について近年公開されたデータベースの活用を交えて解説し, ピシウム病害に関する研究の参考に供したい。

## I 分子系統に基づく *Pythium* 属の新分類体系

### 1 *Pythium* 属とは

*Pythium* 属はストラメノパイル生物群に属する卵菌類の一群で, 同生物群のワカメやコンブ等葉緑体を持つ不等毛植物と系統学的に近縁とされ, 子のう菌や担子菌等真菌類とは進化系統的に一線を画する。各土壌や水域環境等広い生息域をもち, 主に無隔壁, 多核の菌糸体により繁殖する。菌糸上には無性器官である遊走子のうが形成され, そこから球のうを生じ, その中で遊走子が分化し放出される。この球のう形成の特徴は, 形態的に類似する点の多い *Phytophthora* 属などでは見られず, *Pythium* 属の同定に有効な形質となる。遊走子のうの形状には外見上大きく異なる球状と糸状の二つのタイプがあり, 球状タイプでは楕円形や卵形等, 糸状タイプでは, 膨潤せず菌糸とは外見上区別のつかないものから球状タイプのものに近い状態まで膨らむものが知られている。この遊走子のうの形状は種同定に有効な形質の一つであり, 遊走子のう形成が観察されない種では, hyphal swellings の特徴が用いられる。降雨時や水分の多い環境下では盛んに遊走子が分化し, これが一次感染源となり得ることから, 本属による病害が水域環境や湿潤な環境下で多発し, 急速に拡大することが多いと考えられる。有性世代では菌糸から生じた造卵器と造精器の受精により, 造卵器内に卵胞子が形成される。造卵器壁は平滑あるいは突起を有するものがあり, 特に突起を有する種では, その突起の数や形状に種間で違いが見られ, これらの特徴も種同定に有効な形質となる。また, 卵胞子は耐久性が高く, 乾燥や低温等繁殖が困難な環境下で長期間生存するのに役立っていると考えられる。

### 2 近縁属との関係および分類学的改変の必要性

*Pythium* 属菌の生息地は, 熱帯から寒帯に至る世界各地の乾燥地や湿地, 河川や海等の広範囲に及び, 多様な

Novel Taxonomic System of the Genus *Pythium*. By Shihomi UZUHASHI

(キーワード: ピシウム属, 分子系統, 分類)

気候あるいは環境条件に適応した生物群と考えられる (van der PLATTS-NITERINK, 1981)。また病原性種も多数知られており、その多くは各種農作物や様々な園芸植物に病害を引き起こす植物病原性であるが、一部には菌寄生性を示したり哺乳類への寄生性を示す種も知られ、その宿主は多岐にわたっている。また、病原性の知られていない種も様々な地域から分離されていることから、生態的に多様な生物群と考えられる。形態的特徴についても、遊走子のうの形状は多様で、糸状タイプは *Lagenidium* 属と、球状タイプは *Phytophthora* 属や *Halophytophthora* 属の遊走子のうとそれぞれ類似しており、これらの属間で分類学的混乱の生じていた種もある (DICK, 2001)。また、遊走子のうの形状に着目した属あるいは亜属レベルでの分類学的再編が試みられたこともあり (FISCHER, 1892; SCHRÖTER, 1897)、*Pythium* 属内での遊走子のうの形態的差異は属レベルの違いに相当すると考えることができる。ITS 領域の DNA 塩基配列では、その配列だけでなく長さも種間で大きく異なり、種間で 300 bp 以上の違いがみられる種もある (埋橋, 2010; ROBIDEAU et al., 2011)。このような属内での ITS 領域の長さの違いは、卵菌類の他の属と比較しても大きく、このことは、*Pythium* 属内に進化速度の異なる、あるいは系統学的に遠縁の生物群が含まれている可能性を意味するとも考えられる。さらに、分子系統解析では、*Pythium* 属内に複数の系統群の存在が報告されており、これらの系統群と遊走子のうの形状との相関も多数の研究により示唆されている。一方、属間の系統解析結果からは、*Pythium* 属内の一部の系統群 (クレード K: LÉVESQUE and de COCK, 2004) と *Phytophthora* 属との間の近縁関係が示され、それに伴いこの系統群の分類学的再検討の必要性についてもしばしば議論されているが、分類の改変には至っていない。

このように、*Pythium* 属は生態的・形態的に多様な生物群であると考えられ、系統学的にも多系統性が示唆されることから、分類学的に異なる複数の生物群を含んでいると考えられる。卵菌類に属する他の属と比較しても、*Pythium* 属内で見られるこのような種間の変異は属レベルの違いに値すると判断でき、本属の属レベルでの分類学的再検討が必要と言える。

### 3 分子系統を反映した分類

分子系統に基づく分類は、系統を反映したいわゆる自然分類の確立を目指した分類とも言える。分類を確立するためには分子系統解析が重要な意味をもつため、解析には多くの点を考慮する必要がある。以下にそのいくつかをあげてみる。①解析生物群の偏り：系統解析には、

通常種同定された菌株が用いられることが多いが、*Pythium* 属には培養下で同定や種を確立するために必要な形態を形成しにくいために観察できない等の理由から、種が同定できない菌株も多数存在する。したがって、これらが解析から除かれることにより、供試菌種に偏りが生じる可能性が考えられる。②属間での解析：これまで、卵菌類では単一の属を対象とした解析が多く行われてきているが、属レベルでの分類を行うためには系統学的に近縁な周辺属を含む解析が必要である。解析に用いる配列は、データベースに登録されている配列データを用いることができるが、属間で共通の領域データが登録されている必要があるためその領域は限られてくる。③解析領域・解析方法の検討：*Pythium* 属や周辺属の系統解析で広く用いられている ITS 領域は *Pythium* 属菌の種間で長さの違いが大きいため、系統解析に有効な領域の減少や解析における信頼性が懸念され、属レベルでの解析を行うためには進化速度のより遅く長さの違いの少ない領域の検討が必要である。また、解析結果の妥当性を高めるため、複数の異なる領域を用いたり、様々な解析方法を試すことも必要となるが、この場合もデータベースに登録されている領域を考慮する必要がある。

### 4 UZUHASHI et al. (2010 b) による新分類システム

UZUHASHI et al. (2010 b) では、前述の点について考慮した分子系統解析に基づき分類学的検討がなされている。つまり、供試菌株には、同定種に加え著者らが分離した形態的特徴のみからは同定の困難な種も含まれ、さらにデータベースより *Pythium* 属を含む多数の近縁属菌群の塩基配列を入手することで、解析種群の偏りを少なくするよう検討されている。また、解析には、rDNA LSU D1/D2 領域およびミトコンドリア COX2 遺伝子領域の異なる 2 領域を使用し、さらに複数の解析法を検討している。これらの解析から得られた分子系統樹では、*Pythium* 属内に複数の単系統群が検出され、さらに系統と形態的特徴の比較により遊走子のうの形状と各系統群との間に関係性を認めており、過去の報告を支持する結果が得られている。なお、この結果は、供試験菌株数は少ないものの、小サブユニット rDNA (SSU rDNA) の塩基配列を用いた解析によっても、支持されている (UZUHASHI et al., 2010 a)。これらの結果から、遊走子のうの形状を重要な分類形質と判断し、この形態により支持される各系統群をそれぞれ別属とする分類学的再編を行った。これにより、従来の *Pythium* 属は 4 新属を含む 5 属に分割された (図-1)。

以下にこの分類システムの概要と、各属の特徴を簡単に示す。

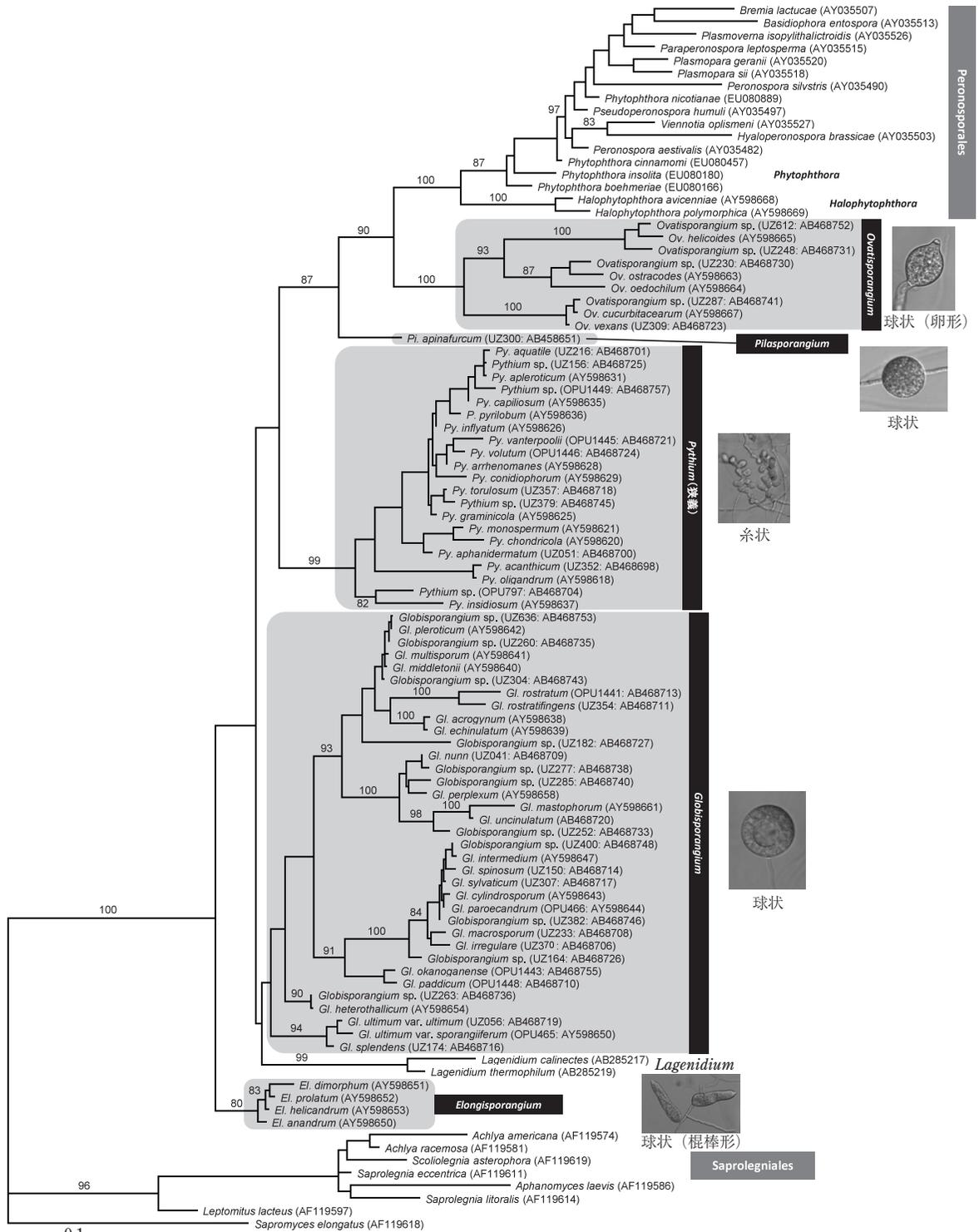


図-1 rDNA LSU D1/D2 領域の塩基配列に基づく分子系統樹 (UzHASHI et al. 2010 b を参考に改変)

枝数の数値はブートストラップ確率を示す (80%以上).

## 属の検索表

- |   |   |   |   |
|---|---|---|---|
| 1 | 遊走子のうは糸状あるいは膨状<br>糸状遊走子のうは形成しない                           | 狭義 <i>Pythium</i>                               | 2 |
| 2 | 遊走子のうは通常球形<br>遊走子のうは大部分が球~洋ナシ形, 時々不整形                     |   | 3 |
|   |   | <i>Ovatisporangium</i>                          |   |
|   | 遊走子のうは棍棒形あるいは長円形, しばしば伸長する                                | <i>Elongisporangium</i>                         |   |
| 3 | しばしば Proliferation を形成<br>Proliferation は見られない。二次菌糸は複雑に分岐 | <i>Globisporangium</i><br><i>Pilasporangium</i> |   |

### *Pythium* 属 (狭義)

*Pythium* Pringsh. のうち, 糸状タイプの遊走子のうを形成する種が *Pythium* 属として再定義された。遊走子のうは, 膨らみがなく外見上菌糸と区別がつかないものから, 膨潤するものがある。大部分の種で遊走子形成が観察され, 球のう形成時には, 他属に比べ比較的長い逸出管を形成する。

### *Ovatisporangium* 属

球状タイプの遊走子のうを形成し, その形状は球形~卵形あるいは不整形で, しばしば乳頭状突起様形態をもち, *Phytophthora* 属や *HaloPhytophthora* 属のそれと類似している。分子系統学的にも *Phytophthora* 属との間で分類学的な議論が行われてきた系統群にあたり, その近縁関係が示唆されるが, 遊走子形成時に球のうが形成される点は明白に異なる。

### *Globisporangium* 属

球状タイプの遊走子のうを形成するが, 他属と比較し遊走子形成が観察されず, 球状の hyphal swellings のみが観察される種も多い。単系統性を支持する値は低いものの, 系統学的に互いに近縁な生物群から構成され, 他の系統群とは系統学的に明らかに異なることが示されている。しかし, 後述する *Pilasporangium* 属と胞子のうの形状が類似していることから, 今後更なる分類学的検討が必要とされる。

### *Elongisporangium* 属

棍棒形あるいは長円形, 時に伸長性の遊走子のうを形成し, しばしば Proliferation (貫生: 空の遊走子のうの内側に新たな遊走子のうができ, それが繰り返される) が観察される。有性器官が確認されている種では, 造卵器壁に種間で類似する突起を形成する。単系統性は高い値で支持されている。

### *Pilasporangium* 属

1種 (*Pilasporangium apinafurcum*) のみがこの属に分類されている。遊走子のうは球状で, *Globisporangium*

属のそれと類似するが, 系統学的に明らかに異なるため, 別属として定義された。*Pilasporangium apinafurcum* は複雑に分岐する二次菌糸が特徴的とされているが, 今後この属に含まれる種が新たに発見されることにより, 本属を特徴付ける新しい形態形質が見いだされることが望まれる。

## II 植物病原性種の同定と

### 「日本植物病名データベース」等の利用

#### 1 植物病原性種と新分類

従来の *Pythium* 属には農作物に経済上重要な病害を引き起こす植物病原性種が多数含まれている。新しい分類システムの導入により, これまで *Pythium* 属とされていた生物が他の属へ移され広く浸透した名前が変わることは, 研究現場だけでなく農業現場にも混乱をもたらす可能性が考えられる。しかし, 一方で新分類体系に基づきそれぞれを別の属とみなすことにより, これまで同属と考えられてきたときには気づかなかったような属内の共通性質や, 属間で異なる性質が見いだされることも期待できる。例えば, 形態性状では, 属の分類形質とされていることから明らかなように, 遊走子のうの形状が属間で異なる。この遊走子のうは無性器官であり, 多くの菌株で培養により容易に観察できるため, 属までの同定は比較的容易に行える。さらに, 病原性状や環境適応性の観点からも, 属内で類似のあるいは属間で異なる傾向が見いだされている (東條, 2011)。このように, 各属の特徴がより明確になれば, 病原の同定はより単純化され, 迅速かつ的確な病害防除へとつながる可能性も期待できる。

#### 2 植物病原性種の検索および同定

日本でこれまでに報告されている植物病害は, 日本植物病理学会編集の日本植物病目録およびその追録にまとめられ出版されている (日本植物病理学会編, 2000; 日本植物病理学会病名委員会編, 2011)。近年, これらの情報に基づき農業生物資源ゾーンバンクより日本植物病名データベースが公開され ([http://www.gene.affrc.go.jp/databases-micro\\_pl\\_diseases.php](http://www.gene.affrc.go.jp/databases-micro_pl_diseases.php)), より簡便で効率的に多くの情報が入手できるようになった。ここでは, 各種病害の詳細情報が, 宿主植物名, 病名あるいは病原名から検索できる。例えば, 病原名「*Pythium*」で検索してみると, 広義の *Pythium* 属による病害 201 件がヒットする。この中には, 病原種まで同定されている病害から, *Pythium* sp. のように属まで同定されているもの, さらに, *Pythium* 属を含む複数の病原による病害も含まれており, *Pythium* 属に関連する多くの病害の情報が一

度で簡便に得られる。表-1では、この検索結果を基に、従来の *Pythium* 属による主な病害のいくつかをあげ、さらに各病原の新属との対応を示した。新5属のうち、*Elongisporangium*, *Pilasporangium* の2属には、植物病原性種はほとんど知られておらず、*Pythium* (狭義)、*Globisporangium*, *Ovatisporangium* の3属にのみ主な病原性種が含まれることがわかる。これら3属は糸状、球状、卵形の遊走子のうにより互いに区別され、容易に属レベルでの識別ができる。種の同定にはより詳細な形態観察が必要となるが、例えば *P. spinosum* や *P. uncinulatum* のように造卵器壁に特徴的な突起を形成するような場合には、これらの形態が観察できれば比較的同定はしやすい。一方、種特有の形態が観察できない場合や、種間でその特徴が類似する種が存在する場合には種同定が

難しいこともある。このような場合、あるいは迅速な同定が必要な場合は、ITS領域の塩基配列を利用できれば種同定あるいは種の推定が可能である。農業生物資源データベースに保存されている多くの菌株については、筆者らにより形態とITS領域の塩基配列に基づいて同定が妥当であるか確認されている。その際解析されたITS領域の塩基配列、さらに一部の菌株では、rDNA LSU (D1/D2) あるいはSSU (一部) の配列も公開されており、同機関の菌株検索サイト ([http://www.gene.affrc.go.jp/databases-micro\\_search.php](http://www.gene.affrc.go.jp/databases-micro_search.php)) からそれらの情報を得ることができる(表-1)。これらの情報を比較対照として活用することで、より簡便で迅速な同定が可能となる。なお、分子同定の結果を形態により検証するには、van der PLATTS-NITERINK (1981) の広義 *Pythium* 属のモノ

表-1 広義 *Pythium* 属の病原菌種と分割された新属との対応関係、該当菌株および塩基配列データ

病原		主な宿主 (病名) <sup>a)</sup>	農業生物資源データベース所蔵	
新属名	旧学名		全菌株数 (病原性株)	塩基配列データ 数/菌株数
<i>Pythium</i> (狭義)	<i>Pythium afertile</i>	チューリップ (ビシウム葉枯病), セリ (葉腐病)	2 (1)	4/2
	<i>Pythium aphanidermatum</i>	スイカ・キュウリ (綿腐病), ホウレンソウ (立枯病), キャベツ (ビシウム腐敗病), メロン (根腐萎凋病), ゼラニウム (莖腐病), トリトマ (苗立枯病), オユコ (腰折病)	44 (19)	35/34
	<i>Pythium arrhenomanes</i>	トウモロコシ・サトウキビ (根腐病)	2	2/2
	<i>Pythium deliense</i>	カーネーション (根腐病)	6	2/2
	<i>Pythium dissotocum</i>	キク・チューリップ (ビシウム葉枯病), トマト (根腐病)	10 (3)	9/9
	<i>Pythium graminicola</i>	イネ (苗立枯病), シバ (ビシウム病)	14 (7)	11/11
	<i>Pythium myriotylum</i>	キュウリ・トマト (根腐病), ベルゲランツス (腐敗病)	4 (4)	6/4
	<i>Pythium periplocum</i>	シバ (ビシウム病)	1	1/1
	<i>Pythium scleroteichum</i>	サツマイモ (白腐病)	2 (2)	2/2
	<i>Pythium vanterpoolii</i>	オオムギ・コムギ (褐色雪腐病), シバ (ビシウム病)	11 (7)	10/8
<i>Pythium zingiberis</i>	ミョウガ (根莖腐敗病), キャベツ (苗立枯病)	1 (1)	1/1	
<i>Globisporangium</i>	<i>Pythium debaryanum</i>	テンサイ (苗立枯病), タバコ (舞病)	6 (6)	6/6
	<i>Pythium irregulare</i>	イネ・インゲンマメ (苗立枯病), レタス (立枯病), トルコギキョウ・チューリップ (根腐病)	32 (5)	31/29
	<i>Pythium iwayamai</i>	オオムギ・コムギ (褐色雪腐病)	1	2/1
	<i>Pythium megalacanthum</i>	キャベツ (苗立枯病)	3 (3)	4/2
	<i>Pythium spinosum</i>	イネ (苗立枯病), オオムギ (黄枯病), ダイズ (苗立枯病)	30 (4)	26/25
	<i>Pythium splendens</i>	ペペロミア (腐敗病)	14 (1)	5/4
	<i>Pythium sylvaticum</i>	イネ・トウモロコシ (ビシウム苗立枯病), チューリップ (ビシウム葉枯病)	21 (7)	18/17
	<i>Pythium ultimum</i> var. <i>ultimum</i>	ブロッコリー (ビシウム腐敗病), イチゴ (果実腐敗病), ホウレンソウ (立枯病)	17 (4)	13/12
	<i>Pythium uncinulatum</i>	レタス (ビシウム萎凋病)	2 (2)	無
	<i>Ovatisporangium</i>	<i>Pythium helicoides</i>	キク (ビシウム立枯病), ベゴニア・バラ類・エリカ類・キウイフルーツ・カランコエ (根腐病), ガーベラ・イチゴ (ビシウム根腐病), アルストロメリア (根莖腐敗病)	6 (2)
<i>Pythium vexans</i>		トマト (苗立枯病), キウイフルーツ (根腐病)	5 (2)	3/3

<sup>a)</sup> 農業生物資源データベースに病原性株が所蔵されている病害を太字で示した。

グラフや渡辺 (1984) の国産種に関する分類同定の解説が有用である。

### おわりに

UZUHASHI (2010 b) による新分類システムは, *Pythium* 属を5属に分割する点で大胆な分類学的再編と言えるかもしれない。さらに, *Glovisporangium* 属や *Pilasporangium* 属のように, データの蓄積やそれに伴うより詳細な解析が必要とされる属もあり, 今後は, この新分類をたたき台にして, あらゆる角度からのさらなる議論・検討が望まれる。そのためにも, ここで紹介した日本植物病名データベースやDNA塩基配列データベース等, 誰もが利用できる有効な検索サイトを通して多くの情報を共有していくこと, また, それらに新たなデータが蓄積されていくことが必要となるだろう。そのようなデータベースはまた, 病原菌の分類同定研究の成果が新病害の究明に始まる病害防除の研究や防除技術の発展に活かされる基盤となるにちがいない。

### 引用文献

- BALA, K. et al. (2010): *Persoonia* 25: 22 ~ 31.
- DICK, M. W. (2001): *The Mycota VII Part A, Systematics and Evolution*. Springer Verlag, Berlin, p. 39 ~ 72.
- FISCHER, A. (1892): *Phycomycetes*. Rabenhorst's Kryptogamenflora 1: 505.
- KIRK, P. M. et al. (2008): *Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi*, 10th edn, CAB International, Wallingford, UK, 771 pp.
- LÉVESQUE, C. A. and A. W. A. M. de Cock (2004): *Mycol. Res.* 108: 1363 ~ 1383.
- MARTIN, F. N. (2000): *Mycologia* 92: 711 ~ 727.
- MATSUMOTO, C. et al. (1999): *Mycoscience* 40: 321 ~ 331.
- 日本植物病理学会編 (2000): 日本植物病名目録, 日本植物防疫協会, 東京. p. 1 ~ 857.
- 日本植物病理学会病名委員会編 (2011): 日本植物病名目録追録, <http://www.ppsj.org/pdf/misc-tsiuroku110601.pdf>.
- ROBIDEAU, G. P. et al. (2011): *Mol. Ecol. Resour.* in press.
- SCHRÖTER, J. (1897): *Saprolegniineae III Pythiaceae*, Engler & Prantl nat PflFam 1, Abt. 1: 104 ~ 105.
- 東條元昭 (2011): 植物防疫 65: 71 ~ 76.
- UZUHASHI, S. et al. (2009): *Mycoscience* 50: 281 ~ 290.
- et al. (2010 a): *IMC9 abstract*: P4. 196.
- et al. (2010 b): *Mycoscience* 51: 337 ~ 365.
- 埋橋志穂美 (2010): 微生物資源学会誌 26: 19 ~ 27.
- van der PLAATS-NITERINK, A. J. (1981): *Stud. Mycol.* 21: 1 ~ 242.
- VILLA, N. O. et al. (2006): *Mycologia* 98: 410 ~ 422.
- 渡辺恒雄 (1984): 植物防疫 37: 215 ~ 222.

# 農薬ハンドブック 2011

社団法人 日本植物防疫協会 編

B5判 720ページ

価格: 9,450円(税込), 送料サービス

## ◆ 登録農薬\*の原体471成分について詳しく解説

\*2010年7月31日現在

内容: 殺虫剤: 182成分, 殺菌剤: 121成分, 除草剤: 125成分, 植物成長調整剤: 33成分, その他: 10成分 (展着剤は1成分としてカウント) について以下の内容を詳しく解説しました。  
開発会社, 開発の経緯, 登録年月, 物理化学性状, 作用特性, 主な製剤・用途, 主な使用上の注意事項, 安全性 (哺乳類, 水生生物, 鳥類, その他有用生物)

付録: 化学農薬の作用分類及び各種基準値等一覧表  
化学農薬の構造式一覧表  
毒物劇物の判定基準



### お問い合わせとご注文は

社団法人 日本植物防疫協会 支援事業部

郵便振替口座 00110-7-177867

ホームページ: <http://www.jpfa.or.jp/>

〒114-0015 東京都北区中里2-28-10

TEL 03-5980-2183 FAX 03-5980-6753

Eメール: [order@jpfa.or.jp](mailto:order@jpfa.or.jp)