

# 日本で分離された *Corynespora cassiicola* の病原性と分子系統

高知県農業技術センター <sup>しも</sup>下 <sup>もと</sup>元 <sup>よし</sup>祥 <sup>ふみ</sup>史

## はじめに

*Corynespora cassiicola* (Berk. & M. A. Curtis) C. T. Wei は 100 種を超える *Corynespora* 属菌の基準種であり、Fungal Databases (<http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/index.cfm>) によると、300 種以上の植物に寄生し、葉、莖、根等に障害を引き起こす。

近年、日本では薬剤耐性菌の出現や品種の変遷等の理由により、キュウリ褐斑病、トマト褐色輪紋病等本病原菌による病害の発生が全国的に増加している。さらに、ピーマン黒枯病 (SHIMOMOTO et al., 2008) など本病原菌による新たな病害の発生も報告され、本病原菌による被害が様々な植物に拡大している。

国外では *C. cassiicola* の病原性と分子系統に関する解析が行われ、病害管理や抵抗性品種育成の基礎資料として活用されている (ONESIROSAN et al., 1974; SILVA et al., 1998; DIXSON et al., 2009)。一方、国内の *C. cassiicola* については生態などに関する研究は行われているが (挟間, 1993)、病原性と分子系統に関する詳細な解析はこれまでのところ行われていない。そこで、我が国での病害管理や抵抗性品種育成の基礎資料に供することを目的に、様々な作物由来の *C. cassiicola* 菌株を供試して、他作物に対する病原性を解析するとともに、分子系統解析を行ったので (SHIMOMOTO et al., 2011)、その研究成果を概説する。

## I 供試菌株

日本国内の 13 種作物から分離した *C. cassiicola* 64 菌株を供試した。なお、対照菌株としてアメリカ産およびオランダ産のキュウリ分離菌株ならびにインド産のトマト分離菌株を供試した。

## II 接種試験

菌株それぞれを PDA 培地上で培養して形成された分生子を滅菌水で  $1.0 \times 10^4$  個/ml に調製後、直径 9.0 cm のポリエチレンポットで栽培したピーマン (品種: '京

波'), ナス (品種: '千両 2 号'), トマト (品種: 'ハウス桃太郎'), キュウリ (品種: 'ZQ-7') およびシソ (品種: '青ちりめんしそ') にハイドスプレーを用いて十分量を噴霧接種し、7 日後に発病の有無を調査した。なお、発病は認められるが病斑の拡大が認められない場合については、発病部位を切り取り、メタノールで脱色後、コットンブルーで染色したのち、顕微鏡観察により植物組織内への菌糸の進入の有無を調査し、進入が認められない場合には過敏細胞死と判断した。

その結果、シソから分離した 7 菌株はいずれもシソのみに病原性を示した。キュウリおよびニガウリから分離したそれぞれ 20 菌株および 2 菌株はいずれもキュウリのみに病原性を示した。トマトから分離した 10 菌株はいずれもトマトのみに病原性を示した。サルビアから分離した 2 菌株はいずれもピーマンのみに病原性を示した。ナスから分離した 7 菌株中 5 菌株はナスのみに、残りの 2 菌株はナス、ピーマンおよびトマトに病原性を示した。ピーマンから分離した 9 菌株はいずれもピーマン、ナスおよびトマトに病原性を示した。パパイア、ダイズ、アジサイ、ハス、マンデビラおよびブルメリアから分離した菌株はいずれの作物にも病原性を示さなかった (分離源植物への病原性は確認済み、表-1)。

以上の結果から、日本で分離された *C. cassiicola* は、ピーマンとナスから分離された菌株の一部を除き、宿主特異性が高いと考えられた。

なお、インド産トマト分離菌株 (ATCC26316) はピーマン、ナスおよびトマトに、オランダ産キュウリ分離菌株 (CBS162.60) はピーマン、ナス、トマトおよびキュウリに、アメリカ産キュウリ分離菌株 (ATCC64204) は全作物に病原性を示した。

## III 分子系統解析

供試菌株それぞれからゲノム DNA を抽出して PCR により  $\beta$ -tubulin, Translation elongation factor 1- $\alpha$ , calmodulin および actin 各遺伝子の部分塩基配列を増幅し、塩基配列を解析後、4 遺伝子の配列を結合したのち系統樹を作成した。

その結果、供試菌株は三つのグループに分けられた (グループ A, B, C)。グループ A にはシソ、キュウリ

表-1 日本で分離された *Corynespora cassiicola* 菌株の病原性

供試菌株名	病原性 <sup>1)</sup>				
	シソ	キュウリ	トマト	ピーマン	ナス
MAFF242443, MAFF242445, MAFF242446, MAFF242448, PC95010, PC9810-2, MAFF305093	+	-	-	-	-
MAFF242433, MAFF242434, MAFF242435, MAFF242438, MAFF242431, 1-1 jppa, KE1, KE3, 02-C-ST-H1-2, C-KM2-11-2, MAFF306176, 1-5, 4-3, MC1, KS, KI1, KI5, CC041125, MAFF744073, IbCor1481, MAFF240444, MB	-	+	-	-	-
MAFF242452, 02-T-NS1-3, 02-T-TD18-3, KTO, GCC1, GCC2, MT1, LC93009, LC93020, NBRC100170	-	-	+	-	-
MAFF240205, MAFF240206	-	-	-	+	-
MAFF242442, MAFF242440, MAFF242441, Shimane eggplant 1	-	-	-	-	+
Kurashiki No.17, MAFF242444, MAFF242451, MAFF242447, MAFF242437, MAFF242432, MAFF242449, MAFF242450, TK, MAFF240207, MAFF242436, MAFF242439	-	-	+	+	+
MAFF240443, MAFF305087, MAFF305088, MAFF240792, Nelumbo04, ACC001, MAFF240496	-	-	-	-	-

<sup>1)</sup> + : 病原性あり, - : 病原性なし.

およびニガウリから分離されたすべての菌株, すなわちシソのみおよびキュウリのみに病原性を示す菌株が属した。また, パパイア, ダイズ, アジサイおよびハスから分離された菌株も属した。グループ B にはトマトおよびサルビアから分類されたすべての菌株, すなわちトマトのみおよびピーマンのみに病原性を示す菌株が属した。また, マンデビラから分離された菌株も属した。グループ C にはナスおよびピーマンから分離されたすべての菌株, すなわちナスに病原性を示す菌株が属した。またプルメリアから分離された菌株も属した (図-1)。

以上の結果から, 日本産 *C. cassiicola* 菌株の病原性と分子系統の間には相関が認められた。

なお, オランダ産キュウリ分離菌株および米国産キュウリ分離菌株はいずれもグループ A にインド産トマト分離菌株はグループ B に属した (図-1)。

## おわりに

DIXSON et al. (2009) は米領サモア, ブラジル, マレーシアおよびアメリカでそれぞれ分離した *C. cassiicola* 菌株をバジル, インゲンマメ, ササゲ, キュウリ, パパイア, ダイズ, サツマイモおよびトマトに接種して病原性を評価しており, トマト, キュウリおよびパパイアから分離された菌株はトマトとキュウリに病原性を示すと報告している。さらに, ONESIROSAN et al. (1974) はナイジェリアと北アメリカでそれぞれ分離した菌株をトマト,

パパイア, キュウリ, ダイズ, ゴマ, ナス, ワタおよびササゲに接種して病原性を評価しており, トマト分離菌株がトマトとナスに病原性を示すと報告している。一方, 本研究結果から明らかになった日本産菌株の病原性を国外産菌株と比較すると, ピーマン, ナスおよびトマトに病原性を示したピーマンおよびナス分離菌株を除き, 宿主特異性が高かったことから, 伝染環は比較的単純である可能性が示唆され, この結果は, 病害管理上, 有用な知見であると考えられた。

*C. cassiicola* は宿主特異的毒素 (HST) を生産する (BARTHE et al., 2007)。これまで, 品種レベルで特性を示す HST が介在する病害では, 果樹を除いて容易に抵抗性品種が育成されているが, 種や科レベルの特異性を示す HST が介在する病害では, 抵抗性品種を見いだすのは非常に困難であることが予想される (尾谷, 2008)。本研究結果より, ピーマンから分離された菌株のすべておよびナスから分離された菌株の一部の病原性は少なくとも属レベルに及んでおり, 抵抗性品種の育成は容易ではないと考えられた。

国内産 *C. cassiicola* 菌株の病原性と分子系統の間には一定の相関が認められた。さらに, 接種試験ならびに rDNA-ITS 領域, 二つの random hypervariable loci (*caa5* および *ga4*) および *act1* の塩基配列を解析している DIXSON et al. (2009) の報告, およびゴム分離菌株を用いたゴムのクローンに対する接種試験と ISSR 解析を行っ

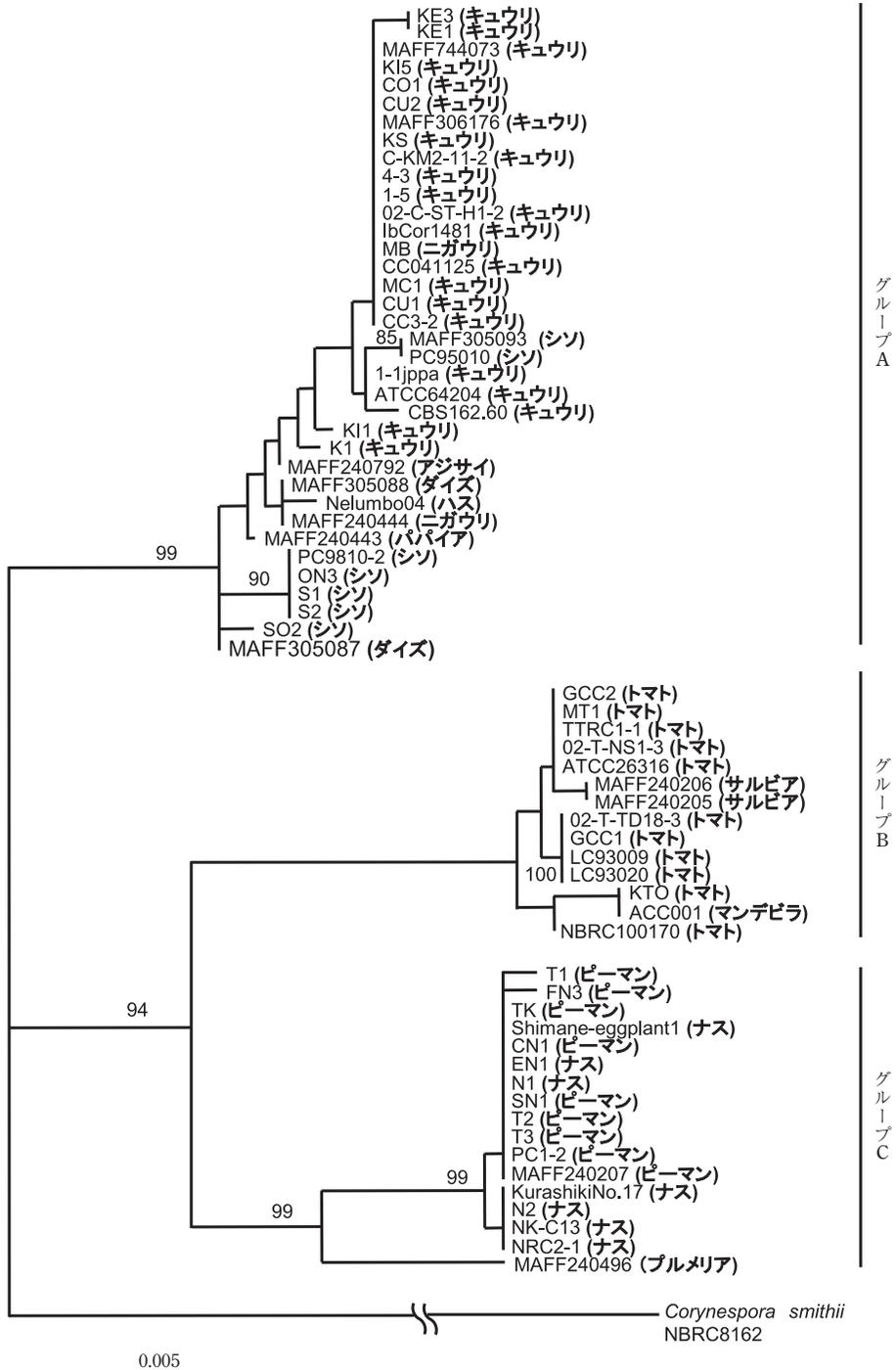


図-1 日本で分離された *Corynespora cassiicola* の分子系統

注1)  $\beta$ -tubulin, Translation elongation factor 1- $\alpha$ , calmodulin および actin 各遺伝子の部分塩基配列を解析して結合後, 近隣結合法により作製した.

注2) 括弧内は分離源植物を示す.

ている NGHIA et al. (2008) の報告においても、病原性と分子系統解析の結果には一定の相関が認められている。しかし、本研究結果では系統樹のそれぞれのクレードには複数の病原性を示す菌株が属したことから、病原性の進化速度は本研究において解析したハウスキーピング遺伝子の進化速度よりも早いかもしれない。さらに、本研究に供試した菌株は日本各地から様々な年代に分離されたものであるが、ナスを除き分離源の植物種内において病原性および分子系統に差異は認められなかったことから、本病原菌は植物や種子の移動により分布を拡大させたものと推察された。

今後、本研究結果が *C. cassiicola* による病害の防除対策に役立てられることを期待する。

末筆ながら、本研究を実施するにあたり高知大学農学部 の 曳地康史教授、農業生物資源研究所の佐藤豊三博士にはご助言をいただいた。また多くの方に菌株を分譲いただいた。厚く御礼申し上げる。

#### 引用文献

- 1) BARTHE, P. et al. (2007): J. Mol. Biol. **367**: 89 ~ 101.
- 2) DIXSON, L. J. et al. (2009): Phytopathology **99**: 1015 ~ 1027.
- 3) 挟間 渉 (1993): 大分農技セ特別研究報告 **2**: 1 ~ 103.
- 4) NGHIA, N. A. et al. (2008): Mycopathologia **166**: 189 ~ 201.
- 5) ONESIROSAN, P. T. et al. (1974): Phytopathology **64**: 1364 ~ 1367.
- 6) 尾谷 浩 (2008): 平成 20 年度日本植物病理学会関西西部会プログラム・講演要旨集: 5.
- 7) SHIMOMOTO, Y. et al. (2008): J. Gen. Plant Pathol. **74**: 335 ~ 337.
- 8) \_\_\_\_\_ et al. (2011): Plant Pathology **60**: 253 ~ 260.
- 9) SILVA, W. P. K. et al. (1998): ibid. **47**: 267 ~ 277.

(新しく登録された農薬 5 ページからの続き)

**豆類 (未成熟, ただし, さやえんどう, 未成熟そらまめを除く)**: ヨトウムシ類, ウラナミシジミ, フキノメイガ, マメシンクイガ: 収穫 14 日前まで

**未成熟そらまめ**: ヨトウムシ類, ウラナミシジミ, フキノメイガ, マメシンクイガ: 収穫 7 日前まで

**さやえんどう**: ヨトウムシ類, ウラナミシジミ: 収穫前日まで

**だいず**: マメシンクイガ: 収穫 7 日前まで

**あずき**: フキノメイガ: 収穫 7 日前まで

**しそ**: ハスモンヨトウ: 収穫 5 日前まで

**オクラ**: ハスモンヨトウ: 収穫前日まで

**つるむらさき**: ヨトウムシ: 収穫 7 日前まで

**やまのいも**: ヤマノイモコガ: 収穫 7 日前まで

**さといも**: ハスモンヨトウ: 収穫 7 日前まで

**かんしょ**: イモコガ: 収穫 7 日前まで

**茶**: チャノコカクモンハマキ, チャノホソガ: 摘採 14 日前まで

**花き類・観葉植物 (はぼたんを除く)**: ハマキムシ類, ヨトウムシ類: 発生初期

● **クロチアニジン液剤** ※新製剤

23121: ベニカベジフルスプレー (住友化学園芸) 12/09/26  
クロチアニジン: 0.0080%

**ぶどう**: コナカイガラムシ類: 収穫前日まで

**うめ**: アブラムシ類: 収穫 3 日前まで

**かき**: カキノハタムシガ: 収穫 7 日前まで

**かんきつ**: アブラムシ類, ミカンハモグリガ: 収穫 7 日前まで

**きゅうり**: アブラムシ類, コナジラミ類: 収穫前日まで

**なす**: アブラムシ類, ハモグリバエ類: 収穫前日まで

**トマト**: アブラムシ類: 収穫前日まで

**ミニトマト**: アブラムシ類: 収穫前日まで

**ピーマン**: ミナミキイロアザミウマ: 収穫前日まで

**だいこん**: アブラムシ類: 収穫 7 日前まで

**キャベツ**: アオムシ, コナガ: 収穫 3 日前まで

**ブロッコリー**: アオムシ: 収穫 3 日前まで

**えだまめ**: カメムシ類: 収穫 3 日前まで

**だいず**: カメムシ類: 収穫 7 日前まで

**オクラ**: アブラムシ類: 収穫前日まで

**ばれいしょ**: テントウムシダマシ類: 収穫 7 日前まで

**花き類・観葉植物 (ガーベラ, カトレアを除く)**: アブラムシ類: —

**ガーベラ**: アブラムシ類: —

**カトレア**: アブラムシ類: —

#### 「殺虫殺菌剤」

● **ジノテフラン・テブフェノジド・カスガマイシン・トリシクラゾール・バリダマイシン粉剤** ※新混合剤

23113: **イッカツエース粉剤 DL** (北興化学工業) 12/09/26

ジノテフラン: 0.35%, テブフェノジド: 0.75%, カスガマイシン—塩酸塩: 0.34%, トリシクラゾール: 0.50%, バリダマイシン A: 0.30%

**稲**: いもち病, 紋枯病, 穂枯れ (ごま葉枯病菌), もみ枯細菌病, 内類褐変病, ウンカ類, ツマグロヨコバイ, カメムシ類, コブノメイガ, フタオビコヤガ, ニカメイチュウ, イネツトムシ: 穂揃期まで

#### 「殺菌剤」

● **イソプロチオラン粉剤** ※新製剤

23110: **フジワンパック** (日本農薬) 12/09/12

イソプロチオラン: 36.0%

**稲**: いもち病葉いもちに対しては初発 7 ~ 10 日前 穂いもちに対しては出穂 10 ~ 30 日前 但し, 収穫 14 日前まで (50 ページに続く)