

第6回パーティシリウム菌に関する国際シンポジウムから

帯広畜産大学畜産学部飼料作物科学講座 こ い ま の
小 池 正 り
なが お ひ 徳
長 尾 で ゆ
千葉大学園芸学部生物生産基礎科学講座 長 尾 英 幸

第6回パーティシリウム菌に関する国際シンポジウムは、1994年6月19日より23日まで、イスラエルの死海沿岸のEn Boqeqで開催された。第5回シンポジウムは旧ソビエト連邦で開かれ、15か国から111名の参加であった(長尾, 1992)。今回は13か国からおよそ80名が参加した(図-1)。シンポジウムの講演題目は表-1に示したとおりである(このシンポジウムの要旨集のコピーは、下記の試験場にも配付されている。農林水産省農業研究センター・萩原 廣氏, 農林水産省野菜・茶業試験場盛岡支場・堀内誠三氏, 東京都農業試験場・飯嶋 勉氏, 群馬県園芸試験場・白石俊昌氏)。

シンポジウムの開催にあたり、オハイオ州立大のRowe教授が近年の研究の流れを概括し、特に分子生物学的手法により得られた情報と病原性や分類の関係についての例を示した(図-2)。

I シンポジウムのトピックス

今回は「パーティシリウム菌研究における分子生物学の役割」というワークショップが夕食後に行われた。Dr. HEALEは分子生物学からの情報の優れた点を積極的に採用することを提案した。彼のグループは、長年倍数体の *V. dahliae* var. *longisporum* について研究を行ってきたが、遺伝子レベルの比較では *V. dahliae* var. *longisporum* と半数体の *V. albo-atrum* が非常に近縁であることを明らかにした。さらに野菜茶試の堀内氏が報告した微小菌核の形態が異なる点を評価し、*V. albo-atrum* の厚膜菌糸が倍数化の過程で縦長の *V. dahliae* var. *longisporum* の菌核に変化したのではないかと推測していた。分子生物学的手法を菌の検出に利用するときの問題点としては、実際に耐久生存している微小菌核のDNAの劣化と検出感度が議論された。

II 分子生物学的手法による研究

シンポジウムでは分子生物学的手法による研究の進展がみられ、この結果は次の2点に要約される。第一点は、RFLP, RAPD, PFGEなどの異なる分析手法を用いた場合、半数体と倍数体の *V. dahliae* と *V. albo-atrum*

は、それぞれいくつかのクラスターを形成した。しかし、半数体の *V. dahliae* と *V. albo-atrum* が異なるグループであることは複数の研究者の結果からも一致した見解であった。またイギリスの別々のグループが、*V. dahliae* var. *longisporum* と半数体の *V. albo-atrum* が非常に近縁であると一致した見解を出していた。このような明快な例に反し、*V. lecanii* は遺伝子レベルでも非常にヘテロな集団から構成され、むしろ寄主(昆虫)に対する寄生性がそれぞれのクラスターに対応していることが示された。このヘテロな特性が菌の生理や形態にも反映しているか否かは、今回の発表では明らかにされなかった。第二点は、*V. dahliae* と *V. albo-atrum* のそれぞれのVCGs (Vegetative Compatibility Groups) のグループと、RFLPによるグループが対応することである。*V. dahliae* の場合、筆者らの研究からは病原性とVCGsにある程度の関連がみられ、*V. albo-atrum* の場合、イギリスのグループとカナダのグループが、病原性とVCGsにある程度の関連性を見いだしている。また、異なる日本産菌株をイギリスのグループがRFLPで、筆者らがRAPDで分析したところ、共に一致した結果を得た(図-3)(小池ら, 1994)。さらに日本産 *V. dahliae* において、RAPD分析で非常に変異の幅が大きい一群として現れた複数の菌株は、複数の病原性グループを包含するVCGJ3に類別される菌株であった。このようにRAPDのレベルで病原性やVCGsとの関連が明らかに



図-1 第6回パーティシリウム菌に関する国際シンポジウムの参加者

表-1 第6回国際バーティシリウム菌シンポジウムのプログラム

- June 20 OPENING CEREMONY : A. Nachmias (Organizer)
D. Steinberg (Israeli phytopathological Society)
M. Cirulli
The PATHOGEN (Part I) : Chairperson, R. Rowe
- * Opening review (R. Rowe)
 - * Verticillium species specific molecular probes and their application for biological assay and phylogenetic studies. (D. Rouše)
 - * Molecular studies and relationship between isolates of *V. dahliae* and *V. albo-atrum*. (D. Barbara)
 - * Genome analysis of isolates of *V. albo-atrum*, *V. dahliae* and *V. lecanii*. (D. Roberts)
 - * RAPD analysis of *V. dahliae* in five different pathogenicity groups in Japan. (M. Koike)
 - * Characteristics of English isolates of *V. dahliae*. (D. Harris)
- THE PATHOGEN (Part II) : Chairperson, D. Harris
- * Verticillium wilt of cauliflower : a new disease in California. (S. Koike)
 - * Vegetative compatibility groups in Japanese isolates of *V. dahliae* using nitrate-nonutilizing mutants. (H. Nagao)
 - * Use of DNA hybridization and vegetative compatibility groups for the detection and differentiation of *Verticillium* species. (E. Paplomatas)
 - * Cell wall degrading enzymes and toxins of *V. dahliae* (cotton isolate) from India. (H. Dube)
 - * Recovery of Verticillium-infected ash trees. (J. Hiemstra)
- POSTER SESSION
- * A comparative study of resistance mechanism to Verticillium and Fusarium wilt in cotton. (S. Eldon)
 - * Effect of rye intercropping-enhanced fluorescent pseudomonads on the control of Verticillium wilt in hops. (E. Solarska)
 - * The threat posed to wilt susceptible crops in the U. K. by lined cultivars. (D. Harris)
 - * Antagonistic properties of wild-types and mutants of *Talaromyces flavus* against *V. dahliae*. (I. Melo)
 - * Use of isolated cells to detect phytotoxic activity of *V. dahliae* culture extracts on *Solanum melongena*. (I. Melo)
 - * *Arabidopsis thaliana* as an experimental host of haploid isolates of *V. dahliae*. (D. Barbara)
 - * Vegetative compatibility and pathogenicity groupings within *V. albo-atrum*. (D. Barbara)
 - * Influence of crop rotation on population of defoliating and nondefoliating pathotypes of *V. dahliae* in field soils. (J. Melero-Vara)

- * Verticillium colonization in selected resistant, tolerant and susceptible alfalfa plants as determined by PCR-base assay. (J. Gold)
 - * Field assessment of wilt resistance in hop. (D. Harris)
 - * Lectine role in Verticillium wilt of cotton. (L. Ten)
 - * Cotton research and development corporation funded research into Verticillium wilt of cotton in Australia. (S. Allen)
 - * Verticillium wilt comparison of the tolerance phenomenon in potato to Ve Gene resistance in tomato. (L. Tsror (Lahkim))
 - * Formaldehyde as a soil disinfectant for control of *V. dahliae* in crop rotation. (G. Maharshak)
 - * Methyl Bromide as a soil disinfectant for control of *V. dahliae* in crop rotation. (G. Maharshak)
 - * Mechanism, caused a tolerance of plants to wilt. (R. Shadmanov)
 - * Physiological, pathological and molecular characterization of *V. albo-atrum* strains isolated from potato and alfalfa. (C. Richard)
 - * Use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) to characterize cotton defoliating and nondefoliating isolates of *V. dahliae*. (R. Jimenez-Diaz)
- WORKSHOP : The role of molecular biology techniques in Verticillium research. Moderator, J. Heale
- June 21 EPIDEMIOLOGY : Chairperson, G. Lazarovits
- * Survival of *V. albo-atrum* in alfalfa seeds. (H. Huang)
 - * The effects of various cultural practices on the epidemiology of Verticillium wilt of cotton in New South Wales. (S. Allen)
 - * The production of microsclerotia of *V. dahliae* for use in studies of survival. (G. Lazarovits)
 - * The influence of plant roots on the germination behaviour of microsclerotia of *V. dahliae* in the soil. (L. Mol)
 - * The search for the recovery in detection methods microsclerotia of *V. dahliae*. (A. Termorshuizen)
 - * Enhancement of Verticillium infection in potato under stress conditions. (A. Nachmias)
 - * *V. dahliae* incidence of potatoes grown after a monoculture of onions, forage maize, flax, kidney beans, peas or field beans. (J. Lamers)
- RESISTANCE : Chairperson E. Tjamos
- * The role of melanin in the survival of microsclerotia in *V. dahliae*. (G. Lazarovits)
 - * Studies on the resistance of cocoa to vascular wilt caused by *V. dahliae* Kleb. (R. Cooper)
 - * The role of tannins and multiple phytoalexin response in the resistance of cocoa to *V. dahliae* Kleb. (M. Resende)

- June 23
- * Regulation of resistance to *V. albo-atrum* in Alfalfa. (B. Pennypacker)
 - * A possible source of resistance to *V. dahliae* Race 2 in tomato. (J. Gold)
 - * Progress in search for Verticillium wilt-resistant artichoke. (F. Ciccarese)
 - CONTROL: Chairperson, D. Fravel
 - * Variability in virulence among pathotypes of *V. dahliae* and possible implications of IPM programs for potato early dying. (R. Rowe)
 - * Prospects for managing irrigation water to suppress potato early dying. (M. Powelson)
 - * Soil suppressiveness of *V. dahliae* infection on potato cropping practices. (J. Davis)
 - * Inhibitory effects of volatile compounds from rapeseed meal to *V. dahliae*. (H. Melouk)
 - * Augmentation of performance of *talaromyces flavus* by combination with sublethal metham sodium or heat. (D. Fravel)
 - * Distribution of establishment of *talaromyces flavus*, a biocontrol against *V. dahliae* in soil and roots of solanaceous crops. (E. Tjamos)
 - * *Talaromyces flavus* as potential biocontrol agent for controlling *V. dahliae* in potatoes. (M. Nagtzaam)
 - * Control of Verticillium wilt with Methyl Bromide at reduced dosage using virtually impermeable films. (A. Gamliel)
- CONCLUDING SESSION: Chairperson, J. Katan



図-2 近年の研究を概括するオハイオ州立大の Rowe 教授

なったことと同様に、今後アイソザイムグルーピングや特定酵素の遺伝子によるグルーピングが展開されれば、パーティシリウム菌の病原性の獲得あるいは寄生性の分化について、さらに研究の深まりが期待できそうである。

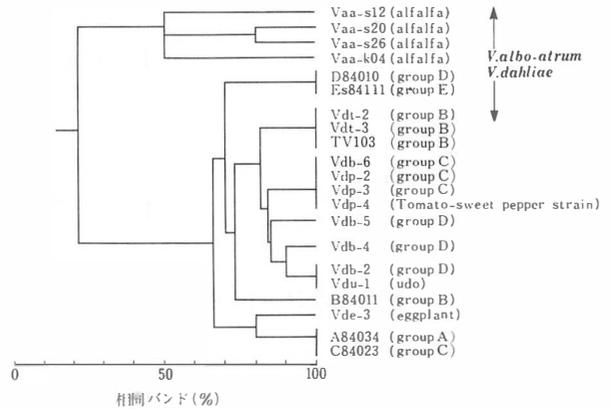


図-3 RAPD法による *Verticillium* 属菌のクラスター分析 (群平均法)

III 微小菌核の検出手法

今回のシンポジウムでも、土壤中の微小菌核検出または菌密度の測定法は、やはり今後に残されている大きな問題点であった。以下に、論議された測定法の問題点を取り上げた。菌密度の測定法として、指標植物を用いた感染試験、アンダーセンサンプラーの使用が従来法として知られているが、それぞれ精度という点であらゆる場面に適用することには問題が残されている。塩化セシウムによる密度勾配法は、費用の点から多数のサンプルの検討には好適ではない。このような障害を乗り越えるのに、分子生物学的手法の利用が考慮されているが、先述のワークショップの項で触れたように、まだ方法として十分検証されてはいないようである。

新たな試みとしては、オランダのグループによる非破壊検査法の検討が挙げられよう。これは超長作動距離レンズをつけた顕微鏡装置により、ガラス箱内で生育させた根とその近傍の微小菌核の発芽と進展を直接観察する。今後の改良次第によっては、感染の現場を観察する方法として、他の微生物との競争・拮抗関係なども検討できることが考えられる。

IV 木本植物のパーティシリウム萎ちょう病

果樹のパーティシリウム萎ちょう病(オリーブ、ピスタチオ、アーモンド、モモ)では、いったん本病が発病し萎ちょう症状が現れても、数年後に回復する現象が知られていた。アテネ農業大学の TJAMOS 教授のグループの研究では、この回復過程は、年輪の形成で感染部位が隔離され、徐々に実際の通道組織より離れていく木本植物の独特の生育様式によるものであるという。しかし、植

物の齡が若い場合には、この機構が十分働く前に感染により枯死することもある。詳細については現在研究中である。実際の防除法は、抵抗性台木を導入する方向になっているようである。

オランダの樹木(トネリコ)にもパーティシリウム萎ちょう病の回復現象が報告され、樹木の場合、根部からの感染だけでなく、枝や幹での感染も考慮を要することが示唆された(RUIKERS et al., 1992)。

V 新病害及び抵抗性品種

アメリカ・カリフォルニア州で栽培されているカリフラワーにパーティシリウム萎ちょう病が発生した。現在までのところすべての品種が罹病性であった。またこの分離菌は、パクチョイ、キャベツ、ハクサイにも感染し、病気を起こした。しかしブロッコリーには病気を起こさない。

1980年代になってから、南アメリカのブラジルとコロンビアでココアのパーティシリウム萎ちょう病が報告された。本病は既に1961年に東アフリカのウガンダで報告されている。ココアの接種試験でも、枝への接種法が根からの接種法と良好な相関を示したことから、木本植物の場合と同様、感染経路の検討が重要な課題であると考えられる(RESENDE et al., 1994)。

トマト半身萎ちょう病菌 *V. dahliae* race 2 に抵抗性があると報告されている品種 IRAT は、導管部での胞子トラッピングサイトで、胞子形成の抑制や胞子発芽の減少を引き起こした。このような反応は Ve 遺伝子を持つ抵抗性品種ではみられなかったため、Ve 遺伝子とは異なるメカニズムが働いていることが明らかになり、今後の育種素材として有望であろう。しかしながら、実用的な品種はまだ育成されていない。

VI 複合病害

イスラエルのネゲブ砂漠で栽培されているジャガイモは、高温、干害、塩害、そしてネグサレセンチュウの1種(*Pratylenchus mediterraneus*)の寄生などのストレスにさらされている。実験では、いずれのストレスも *V.*

dahliae の感染を増大させ、維管束帯内での *V. dahliae* の菌密度の増加、発病の助長、そしてジャガイモ収量の減少を招くことが報告された。アメリカのジャガイモ栽培におけるジャガイモ半身萎ちょう病菌は、*nit* 突然変異株を用いた親和性反応より VCG4A と VCG4B に区分されるが、これらの両菌はそれぞれ同程度の病原力を発揮した。しかし VCG4A に類別される菌株は、キタネグサレセンチュウ(*Pratylenchus penetrans*)が存在すると半身萎ちょう病の被害を著しいものにし、さらにジャガイモの収量低下を招いた。このジャガイモ半身萎ちょう病菌の VCG4A と VCG4B 菌株について、それぞれ浸根接種区と土壌への微小菌核接種区を設け、発病程度を比較したところ、浸根接種区では VCG4A 菌株の発病程度のほうが VCG4B 菌株を接種した場合よりも高かった。一方、微小菌核接種区では差はみられなかった。これらの結果より、浸根接種ではなんらかの傷がジャガイモにストレスを与えていることが考えられた。そこで、圃場レベルでの VCG4A による半身萎ちょう病の発病程度が高いのは、ネグサレセンチュウによる傷害がストレスとなっている可能性が考えられた。

VII 総 括

最終日には Dr. KATAN による総括と総合討議が行われた。前回のシンポジウムに比べ、研究発表の取りまとめを行うというよりは、今後の研究のネットワーク化が議論された。主な項目としては、①菌株保存と交換、②遺伝子解析結果のデータベースへの登録、③土壌中の微小菌核の分析方法の比較検討、などである。オランダの大学院生らによる活発な討議が目立ったように、今回は特に研究者の年齢層が若返ったという印象であった。

参 考 文 献

- 1) 小池正徳(1994):平成6年度日本植物病理学会大会講演要旨予稿集, p.64.
- 2) 長尾英幸(1992):千葉大園報 46:249~252.
- 3) RESENDE, M. L. et al. (1994): Plant Pathology 43: 104~111.
- 4) RUIKERS, A. J. M. et al. (1992): Neth. J. Pl. Path. 98: 261~264.