

Penicillium oxalicum による日本新発生 of トマト青かび病

小板橋 基夫

農業環境技術研究所

[〒305-8604 つくば市観音台 3-1-3]

Blue mold of tomato caused by *Penicillium oxalicum* in Japan

Motoo KOITABASHI

National Institute for Agro-Environmental Sciences

1. 目的

トマト (*Solanum lycopersicum* L.) は、農林水産省の平成 21 年産野菜生産出荷統計 (<http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/sakumotu/>) によると、全国の収穫量が約 72 万トンと、最も収穫量の多い果菜類となっており、非常に重要な作目である。2006 年 8 月に、千葉県長生郡長生村で栽培中のトマト (品種: ハウス桃太郎) において、茎が激しく腐敗する病害が発生した (図 1 a)。病斑には高頻度に青緑色のかびが表生し、病斑部に近い葉の葉脈間がしばしば黄白色にかすれたような症状を呈した (図 1 b)。

病斑上の青緑色のかびは、ペニシリに分生子を連鎖形成する *Penicillium* 属菌であることが判明し、分離菌株の接種試験により原病徴が再現された。*Penicillium* 属菌によるトマトの病害は日本では記載が無いことから、日本新発生病害と判断し、菌種の同定と類似菌の収集を行った。なお、本成果の一部はすでに原著論文で発表している (Umamoto et al., 2009)。

2. 材料および方法

1) 病原菌の分離・同定

罹病植物の病斑部から定法により単孢子分離菌株 060801, 060802 および 060803 を得た。各菌株をジャガイモ蔗糖寒天培地 (PSA) 上, 28°C の定温器中で 7 日間培養して形成された分生子や分生子柄等を光学顕微鏡により観察し、デジタル顕微鏡撮影装置により撮影するとともに、装置に付属する 2 点間距離計測機能を利用して 50 個ずつ各器官の大きさを測定した。また、Pitt (1979) が提唱した *Penicillium* 属菌の判別培地である Czapek yeast agar (CYA) と malt extract agar (MEA) の 2 種の培地にて各菌株を 25°C, 7 日間培養し (各培地につき 5 ペトリ皿), 形成された菌叢の形態を調査した。

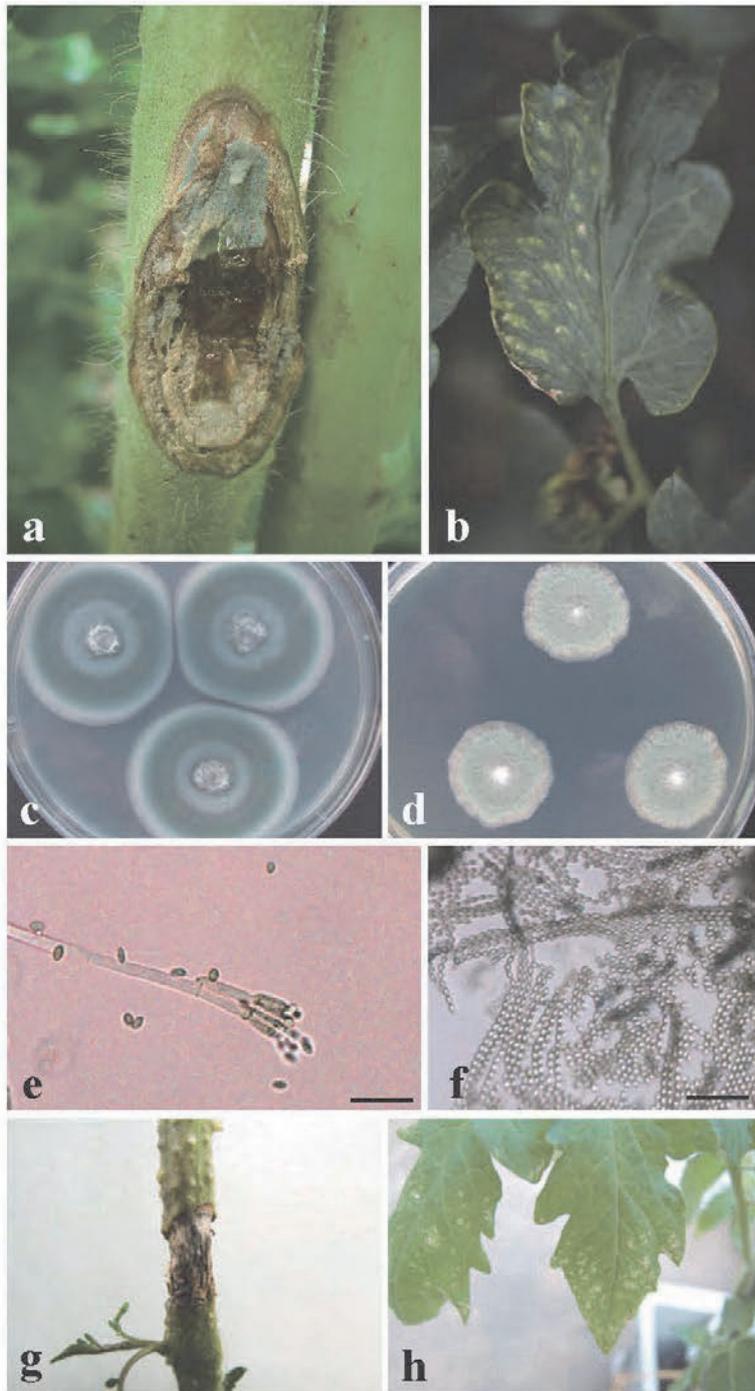


図1. トマト青かび病の病徴と原因菌*Penicillium oxalicum* (MAFF 306723) の形態

- a トマト茎の青緑色の分生子が形成された標徴と腐敗を伴った病徴,
- b トマト葉のクロロシスの斑点,
- c Czapek yeast agarで25°C, 7日間培養した菌叢,
- d malt extract agarで25°C, 7日間培養した菌叢,
- e ジャガイモ蔗糖寒天培地上に形成された分生子柄と分生子 (バー: 40μm),
- f ジャガイモ蔗糖寒天培地上に連鎖して形成された分生子 (バー: 40μm),
- g 接種後10日後のトマト茎の病徴,
- h 接種後14日後に形成されたクロロシス斑点.

2) ITS 領域の塩基配列解析

PSA 培養菌体から, Genomic DNA Purification Kit (Promega, Fitchburg, WI, USA)を用いて全DNAを抽出し, ITS1 および ITS4 プライマー (White et al., 1990) を用いて 5.8S rDNA を含むITS領域をPCR増幅し, ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した.

3) 接種試験

各菌株につき4個体のトマト(品種:ハウス桃太郎, 7葉期)を供試し, 無傷の茎にPSA培養菌叢片(25 mm²)を付着させ, 19~30°Cの温室内で14日間加湿条件で維持した. 無菌のPSA菌叢

片 (25 mm²) を同様に処理した植物を対照とした。

3. 結果

1) 病原菌の同定

分離菌は CYA 培地で暗緑色から灰色がかった青緑色の菌叢 (直径 44~46mm, 平均: 44.6mm) となり, コロニー表面がビロード状で中央部が綿毛状になって所々に水滴を生じた。コロニーの縁が 2~4mm の白くてやや低い菌叢になった (図 1c)。MEA 培地で灰緑色の菌叢 (直径 27~30mm, 平均: 28.4mm) となり, コロニーの表面が綿毛状で平面に生育した (図 1d)。

分離菌は PSA 培地上で, 分生子柄の先端に二輪生で非対称体のペニシリを形成した (図 1e)。メトトレは 18.4~21.1×3.1~4.0 (平均: 19.9×3.6) μm, フィアライドは 10.6~14.5×3.0~3.7 (平均: 12.2×3.4) μm, 分生子は 4.3~5.0×2.3~3.1 (平均: 4.7×2.8) μm で, だ円で表面は平滑であり長く連鎖した (図 1f)。

以上の形態・培養特性は, 既報の *Penicillium oxalicum* Currie et Thom (Currie and Thom 1915; Pitt 1979; Tzeah et al. 1994) の記載と一致したため, 分離菌を *P. oxalicum* と同定した。

2) ITS 領域の塩基配列解析

DDBJ/EMBL/GenBank の BLAST で各菌株の ITS 領域の配列 (060801 (accession AB378505), 060802 (AB485602), 060803 (AB485603)) を解析したところ, いずれの菌株も, *P. oxalicum* として登録された菌株の同領域配列データ (AF034455 および DQ123663) と 100% の相同性を示した。

3) 分離菌の病原性

分離菌を接種した全てのトマトの茎には, 原病徴と同様な暗褐色の病斑が形成され, 青緑色の分生子の形成が認められた (図 1g)。また, 各菌株で葉にクロロシスの斑点が観察された (図 1h)。各菌株を接種した発病部から病原菌の分離を行ったところ, 接種菌が再分離された。対照では病徴は認められず, 接種菌は再分離されなかった。以上のことから *P. oxalicum* のトマトに対する病原性が立証された。

4. 考察

今回認めた *P. oxalicum* によるトマトの病害は, これまで日本では未報告である。そこで, 我々は, 本病の病名として青かび病 (Blue mold) を提案した (Umemoto et al., 2009)。本病は 2008 年に韓国でも発生が報告されており (Kwon et al., 2008), 日本と地理的に近い同国で, ほぼ同時に *P. oxalicum* による病害が発生したことになる。韓国では果実のみの発生である点など, 今回の病害とは様相が異なっており大変興味深い。病原菌は Korean Agricultural Culture Collection に KACC No. 42460 として登録されているので, 入手が可能であれば, 今後の診断・防除対策の構築のために比較試験を計画したい。今回収集した菌株のうち, 060801 を MAFF 306723 として NIAS

ジーンバンクに登録した。本病害は、現在は千葉県以外での発生の報告はないが、今後は全国での発生に注意を払いたい。

5. 謝辞

本研究の菌株探索は、千葉県農林総合研究センターの梅本清作氏、大嵩洋子氏、竹内妙子氏と共同で行われた。また、農業環境技術研究所の吉田重信氏および對馬誠也氏にはご助言をいただいた。各関係者に厚く御礼申し上げる。

6. 参考文献

- Currie, J. M., and Thom, C. (1915). An oxalic acid producing *Penicillium*. *J. Biol. Chem.* 22: 287-293.
- Kwon, J., Shen, S. and Jen, J. (2008). Occurrence of blue mold on tomato caused by *Penicillium oxalicum* in Korea. *Plant Pathol. J.* 24: 87-89.
- Pitt, J. I. (1979). The genus *Penicillium* and its telemorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces*. Academic Press, London, UK.
- Tzeah, S. S., Chiu, S. C., Chen, J. L., Shiu, S. H., Lin, G. H., Liou, G. Y., Chen, C. C. and Hsu, W. H. (1994). *Penicillium* and related teleomorphs from Taiwan. *Mycological Monograph* 9. pp. 67-68, Food Industry Research and Development Institute, Hsinchu, Taiwan.
- Umemoto, S., Odake, Y., Takeuchi, T., Yoshida, S., Tsushima, S. and Koitabashi, M. (2009). Blue mold of tomato caused by *Penicillium oxalicum* in Japan. *J. Gen. Plant Pathol.* 75:399-400.
- White, T. J. Bruns, T., Lee, S. B. and Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In* PCR protocols: a guide to methods and applications (Gelfand, M., Sninsky, D. and White, T., eds.). pp. 315-322, Academic Press, San Diego.

Summary

Rotting of stems was found on tomato in Chiba Prefecture, Japan, in August 2006. Bluish green mold appeared on the lesions. The mold was conidiophores and conidia of *Penicillium oxalicum* that was the causal fungus. The pathogenic isolates reproduced the natural symptoms after artificial inoculation of tomato plants, and were reisolated from symptomatic plant tissues. *Penicillium oxalicum* is the pathogen causing blue mold on tomato, new to Japan.