

## バッカクキンの寄生性推定のための分子系統解析

田 中 栄 爾

Eiji TANAKA :

Molecular phylogenetic analysis of ergot fungi to presume the parasitic characteristics

To presume the parasitic characteristics of ergot fungi (*Claviceps* spp.) on crops, molecular phylogenetic analysis approach was used to associate with previous parasitic tests. Ergot fungi found on *Agrostis gigantea*, *Alopecurus aequalis* var. *amurensis* and *Polypogon fugax* in Ishikawa prefecture were morphologically identified as *C. purpurea* var. *alopecuri*. Phylogenetic analysis of *Claviceps* spp. using the ITS1-5.8S rDNA-ITS2 region revealed that *C. purpurea* was divided into at least two groups. These phylogenetic groups were considered to be populations with different host plant preferences. Consequently, the phylogenetic group that included *C. purpurea* var. *alopecuri* was regarded as the population that preferred barley and wheat as host plants.

Key words : 麦角病, 種内変異, 寄主選好性, 寄生性, *Claviceps panicoidearum*, host preference

### 緒 言

バッカクキン *Claviceps* spp. (子囊菌類, バッカクキン科) はイネ科植物を主に宿主とし, 開花期に胚珠に侵入して麦角病を引き起こす。なかでも世界中の温帯域に分布する *C. purpurea* Tul. はムギ類など重要作物を含むイネ科イチゴツナギ亜科 (Pooideae) に主に寄生して, 人畜に対して毒性を持つ菌核を形成するため歴史的大きな被害を与えてきた<sup>5)</sup>。北陸地域では石川県, 富山県においても六条オオムギ (*Hordeum vulgare* var. *hexastichon*), スズメノテッポウ (*Alopecurus aequalis* var. *amurensis*) とスズメノカタビラ (*Poa annua*) の麦角病の発生が報告されている<sup>2,27)</sup>。これらスズメノテッポウとスズメノカタビラのバッカクキン (*C. purpurea*) の分生子を接種するとオオムギが発病することも示されている<sup>2,27)</sup>。このため, 畑地周辺のイネ科植物に寄生するバッカクキンがオオムギ等の作物への伝染源となる可能性が指摘されている。

日本産のバッカクキンについては, 丹田<sup>8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23)</sup>によって網羅的に分類ならびに寄生性試験が行われた。一連の研究の結果, 国内の *C. purpurea* にも形態や寄生性の異なる複数の変種が存在し, 同一の

草種に複数の変種が寄生しうることが示されている。しかし, これらの結果は未整理のままで有効に利用されているとはいえない。近年, Pazoutovaら<sup>3,4,5)</sup>はバッカクキンの体系化を行い, ヨーロッパ, アメリカを中心とした世界各地の *C. purpurea* 菌株を用いて種内変異を整理した。この結果, *C. purpurea* が生息環境, 生産するアルカリド種, 5.8S rDNA領域の塩基配列などで特徴づけられる3つの個体群に分けられ, 各個体群の *C. purpurea* 菌株には宿主選好性にも差異があることが示された。このことから日本産のバッカクキンについても, ITS領域 (ITS1-5.8S rDNA-ITS2) の塩基配列の解析により系統を整理することができると考えられる。したがって, これらの系統ごとに, 既往の寄生性試験の結果を再編成することにより, 系統ごとの寄生性を推測できる可能性がある。

今回, 石川県内の畠地, 水田周辺のバッカクキンの分布を調査し, スズメノテッポウの他にコヌカグサ (*Agrostis gigantea*), ヒエガエリ (*Polypogon fugax*) に麦角病の発生を確認した。コヌカグサとヒエガエリの麦角病については北陸地域からは初報告となる。これらにススキ (*Miscanthus sinensis*) のバッカクキンを加え, 形態的特徴とITS領域の塩基配列による系統解析を行う

ことにより作物への寄生性の推定を試みた。

本稿をまとめにあたり助言をいただいた石川県農業総合研究センター森川千春博士、ならびに滋賀県産標本を提供していただいた但見明俊博士に深く感謝する。

### 材料および方法

#### 1. 供試菌

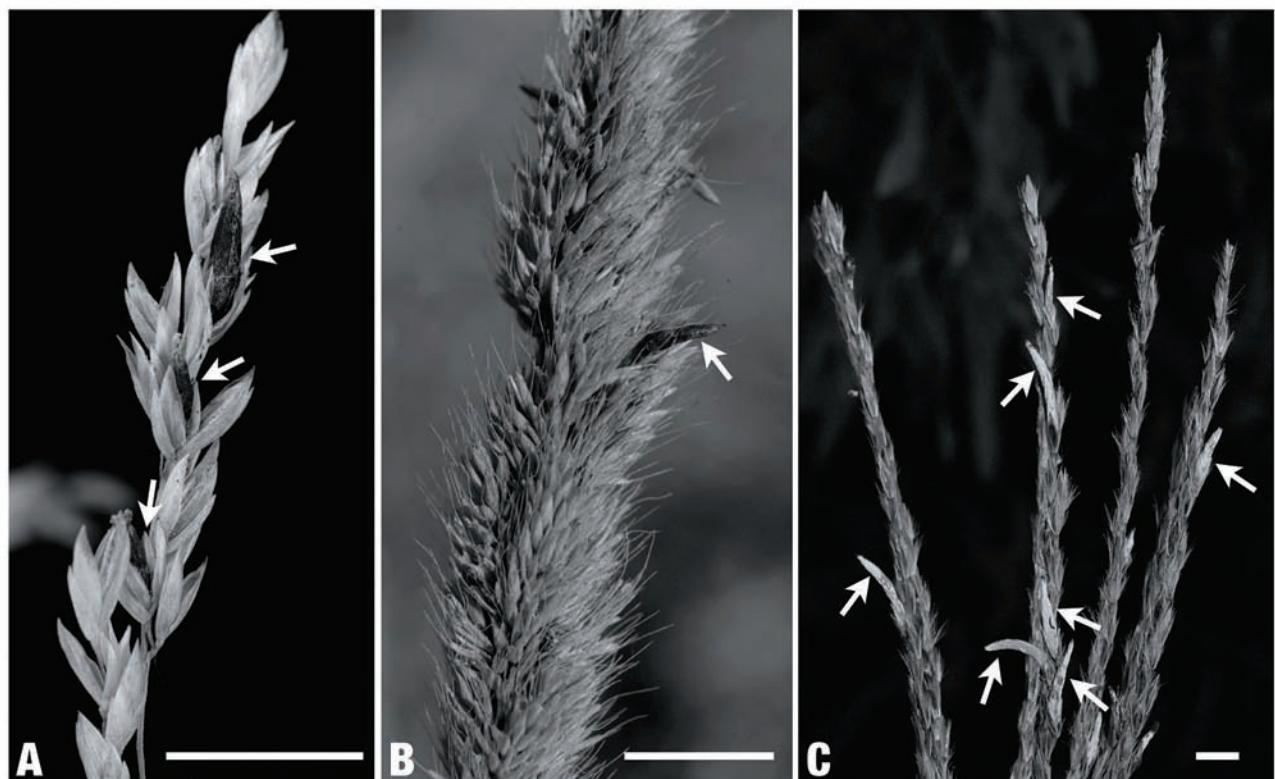
コヌカグサ（第1図A）、スズメノテッポウ、ヒエガエリ（第1図B）のバッカクキンは、すべて石川県内の畑地および水田の周辺で2006年と2007年の6月に採集した（第1表）。スズメノテッポウ、ヒエガエリは休耕田に群生しており、多数の麦角を発生させていた。ススキのバッカクキン（第1図C）は石川県と岐阜県の山地の林道で2007年10月に採集した。また、比較するために滋賀県で採集したクサヨシ (*Phalaris arundinacea*) とトルフェスク (*Festuca arundinacea*) のバッカクキンも供試した。

10%アンモニア水に浸漬した麦角の菌核表面から分生子をかき取り、ラクトフェノール・コットンブルー

[20% (v/v) 乳酸、20% (v/v) フェノール、40% (v/v) グリセロール、20% (v/v) 蒸留水、 $200\mu\text{g}/\text{ml}$  コットンブルー] でプレパラートにマウントして光学顕微鏡下で分生子の大きさを測定した。なお、*Claviceps* spp.の分生子のコットンブルー染色性については、macroconidiaのみ染色されmicroconidiaは染色されないことが示されている<sup>6)</sup>ため、*Claviceps*属の形質の一つである。また、コヌカグサ、ススキ、トルフェスクの麦角の菌核から、内部の擬柔組織を寒天培地 [10 $\mu\text{g}/\text{ml}$  クロラムフェニコール、1% (w/v) グルコース、0.1% (w/v) イーストエキストラクト、0.1% (w/v) トリプトン、1.5% (w/v) 寒天末] に置床し、生育した菌糸を分離した。分離菌株は独立行政法人農業生物資源研究所の農業生物資源ジーンバンクに寄託した（第1表）。

#### 2. 系統解析

バッカクキンのゲノムDNAは菌核もしくは培養菌体を凍結乾燥・粉碎後、QuickGene（フジフィルム）を用いて抽出・精製した。ITS領域 (ITS1-5.8S rDNA-ITS2) の



第1図 バッカクキンの菌核の形成状況。A：コヌカグサ (IPU002), B：ヒエガエリ (IPU004), C：ススキ (IPU006)

注) 括弧内は標本番号、矢印は菌核、スケールは5.0mmを示す。

PCR増幅は、ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'), ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') プライマー<sup>26)</sup> を用い、ExTaq (Takara) を使用した。シーケンス反応はITS4, ITS5プライマーをそれぞれ使用して BigDye Terminator v3.1 Cycle sequencing Kit (Applied Biosystems) を用いた。塩基配列はダイレクトシーケンスにより ABI PRISM 3100-Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA) を用いて解読した。これらの解読結果は日本DNAデータバンク (DDBJ) に寄託した (アクセスナンバーAB371641～AB371644, 第3図)。その他の *Claviceps* spp. と、外群として用いる *Epichloë amarillans* の既往の塩基配列データはDDBJから得た (第3図)。ClustalW<sup>24)</sup> を用いてITS領域の塩基配

列のアライメントを行い、得られた結果はTreeBASEに寄託した (M3922)。系統解析はPAUP 4.0b10<sup>7)</sup> を用い、最大節約法を使用した。分岐の信頼性を推定するためブートストラップ検定<sup>1)</sup> (ヒューリスティック検索、500回反復) を行い、各値を分岐に示した (第3図)。

## 結 果

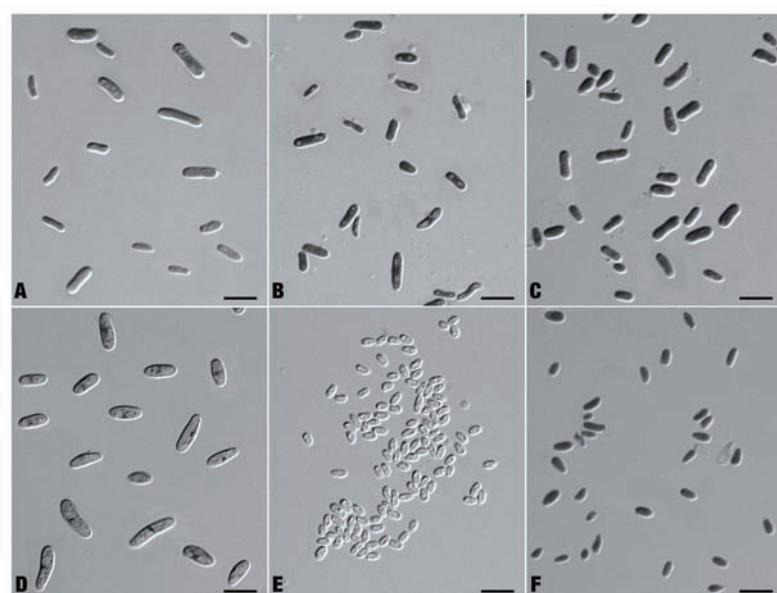
### 1. 形態的特徴

スズメノテッポウ、コヌカグサ、ヒエガエリの麦角病はいずれも近接して発生していた。これらの麦角表面の分生子は单胞、無色、橢円形～卵形で、コットンブルーでよく染色された (第2図A, B, C)。これらの分生子はほぼ同大で、クサヨシの麦角表面の分生子 (第2図

第1表 供試したバッカクキンの菌核

宿主 <sup>a)</sup>	標本番号 <sup>b)</sup>	菌株番号	採集地	採集年月日
<i>Alopecurus aequalis</i> var. <i>amurensis</i>	IPU001		石川県野々市町中林	2007/6/20
<i>Agrostis gigantea</i>	IPU002		石川県野々市町中林	2007/6/10
	IPU003	MAFF240416	石川県内灘町河北渴干拓地	2006/6/9
<i>Polypogon fugax</i>	IPU004		石川県野々市町中林	2007/6/20
<i>Phalaris arundinacea</i>	IPU005		滋賀県米原市	2004/6/26
<i>Misanthus sinensis</i>	IPU006	MAFF240417	石川県白山市尾添岩間温泉	2007/10/13
	IPU007	MAFF240418	岐阜県高山市荘川町中山峰	2007/10/8
<i>Festuca arundinacea</i>	IPU008	MAFF240419	滋賀県彦根市	2004/6/30

<sup>a)</sup> 宿主植物はすべて著者が同定した。 <sup>b)</sup> 石川県立大学微生物生態学研究室の標本番号。



第2図 バッカクキンの菌核上の分生子 (コットンブルー染色)

A : スズメノテッポウ (IPU001), B : コヌカグサ (IPU002), C : ヒエガエリ (IPU004),  
D : クサヨシ (IPU005), E : スacci (IPU006), F : トールフェスク (IPU008)

注) 括弧内は標本番号、スケールは10 μmを示す。

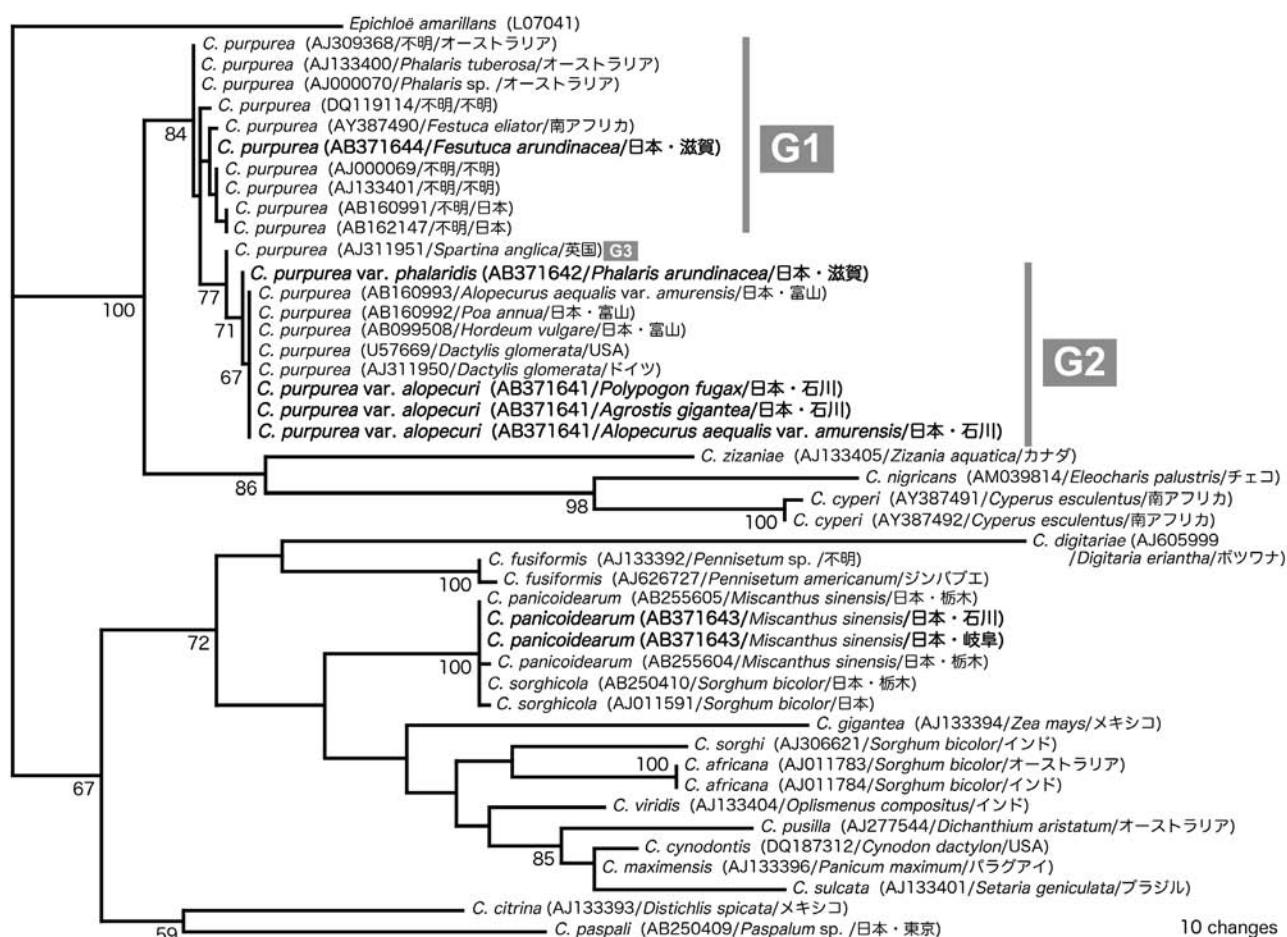
D) に比べてやや小さく、トルフェスクの麦角表面の分生子（第2図F）より明らかに大きかった（第2表）。また、コヌカグサから分離した菌株の菌叢は白くわずかに灰色がかったり、典型的なバッカクキンの菌叢のように淡紫色を呈しなかった。一方、ススキの麦角菌核は分生子に覆われ白く見えた（第1図C）。この麦角表面から得た分生子（第2図E）は单胞、無色、円形で、コットンブルーでは染色されず（第2図E），明らかに小さかった（第2表）。

## 2. 分類学的所属

バッカクキンの形質のうち、分生子の大きさ、子座の発生時期、子囊殻、子囊、子囊胞子の大きさなどは安定性が高いが、子座の大きさや菌核の大きさは宿主によつ

て著しく変化する<sup>11)</sup>。本試験では、このうち分生子の大きさと宿主植物によって同定を試みた。

スズメノテッポウとヒエガエリに寄生する日本産のバッカクキンは*C. purpurea* var. *alopecuri* Tanda とされる<sup>8,16)</sup>。コヌカグサを含むヌカボ属のバッカクキンは*C. purpurea* var. *purpurea* Tanda もしくは*C. purpurea* var. *alopecuri* と推定されている<sup>12)</sup>。今回供試したスズメノテッポウ、コヌカグサ、ヒエガエリから分離したバッカクキンは、分生子の大きさ（第2表）と宿主草種が*C. purpurea* var. *alopecuri* と一致した。また、培養菌株の菌叢は、*C. purpurea* var. *purpurea* にみられる淡紫色ではなく、*C. purpurea* var. *alopecuri* にみられるように白色であつたことからも、スズメノテッポウ、コヌカグサ、ヒエガエリのバッカクキンは*C. purpurea* var. *alopecuri* と同



第3図 *Claviceps* spp.の最大節約系統樹

ITS1-5.8S rDNA-ITS2領域の塩基配列を基に得られた58個のほぼ同じ樹形の系統樹のうちの一つ。枝長 (Length)=704, 一致指数 (CI)=0.696, 保持指数 (RI)=0.837, 補正一致指数 (RC)=0.582。

注) 太字は本解析で使用した菌株, カッコ内は DDBJ/GenBank/EMBLのアクセスション番号/宿主/採集地を示す。各分岐に付した値はブートストラップ値(500回反復)を表す(最大節約法で50%以上ののみを示す)。枝長の距離尺度は配列(675サイト)あたりの塩基置換数を示す。

第2表 バッカクキンの菌核表面の分生子の大きさ

標本番号 <sup>a)</sup>	分生子の大きさ ( $\mu\text{m}$ ) <sup>b)</sup>	平均 ( $\mu\text{m}$ )	コットンブルー染色 <sup>c)</sup>
IPU001	(5.7)6.1–13.1(14.4)×(2.2)2.4–3.9(4.4)	8.6×3.0	+
IPU002	(6.1)6.3–12.7(14.5)×(1.7)2.0–3.5(3.7)	8.5×2.9	+
IPU003	(5.7)6.1–14.0(15.3)×2.2–3.5(3.9)	8.3×3.0	+
IPU004	(4.8)5.7–9.6(10.5)×2.6–3.7(4.4)	7.7×3.3	+
IPU005	(8.3)8.8–14.5(17.5)×(3.5)3.9–5.2	10.6×4.3	+
IPU006	(3.7)3.9–5.7(6.1)×(1.8)2.2–2.6(3.0)	4.4×2.3	–
IPU007	(3.0)3.5–5.3(6.0)×(1.8)2.2–2.6(3.0)	4.4×2.3	–
IPU008	(3.5)4.4–7.0(7.9)×(2.2)2.4–3.5(3.9)	5.8×2.8	+
<i>Claviceps purpurea</i>			
var. <i>purpurea</i> <sup>14)</sup>	3.7–9.4×1.9–4.6	5.8×3.0	
var. <i>alopecuri</i> <sup>14)</sup>	5.0–11.3×2.6–5.0	8.1×3.7	
var. <i>phalaridis</i> <sup>14)</sup>	6.0–16.9×3.6–5.9	10.3×4.3	
<i>C. panicoidearum</i> <sup>21,22)</sup>	2.5–5.9×1.8–2.5	4.0×2.1	

菌株あたり30個の分生子の大きさを測定した。

<sup>a)</sup> 菌種に付した番号は文献番号を表す。<sup>b)</sup> 長さ×幅。カッコ内は例外的な値。<sup>c)</sup> + : 染色性, - : 非染色性。

定した。

同様に、分生子の大きさ（第2表）と宿主草種から、今回供試したクサヨシのバッカクキンは*C. purpurea* var. *phalaridis*<sup>14)</sup> と同定し、トールフェスクのバッカクキンは*C. purpurea* var. *purpurea*と同定した。日本産のススキのバッカクについては、丹田<sup>22)</sup>が*C. panicoidearum* Tandaとして記載しており、今回供試したススキのバッカクキンについても、白粉状の菌核、分生子の大きさ（第2表）、宿主草種が一致し、*C. panicoidearum*と同定した。

### 3. 塩基配列と系統解析

スズメノテッポウ、コヌカグサ、ヒエガエリから得た4菌株のバッカクキン*C. purpurea* var. *alopecuri*のITS領域の塩基配列は完全に一致した（AB371641）。また、富山県の六条オオムギ（AB099508）、スズメノカタビラ（AB160992）由来の*C. purpurea*とも完全に一致した。クサヨシのバッカクキン*C. purpurea* var. *phalaridis*とは1塩基の変異があった（AB371642）。トールフェスクのバッカクキン*C. purpurea* var. *purpurea*（AB371644）とは7塩基の変異（転位5、転換2）と3塩基の挿入あるいは欠失があった。供試した菌株のITS領域の塩基配列のうち、制限酵素EcoR1サイトはトールフェスクのバッカクキンにのみ存在していた（後述）。

ススキから得た2菌株のバッカクキン間での塩基配列は完全に一致した（AB371643）。既往の*C. panicoidearum*の塩基配列（AB255604）とは1菌株で完全一致、もう1菌株で1塩基の転位（AB255605）があった。ところが、ソルガム（*Sorghum bicolor*）のバッカクキン

*C. sorghicola* Tsukiboshi Shimanuki & Uematsuと比較したところ、1塩基の欠失（AB250410）、あるいは1塩基の欠失と1塩基の転換（AJ0115891）の変異のみであった。

系統解析の結果、*C. purpurea*は単系統群を作った（第3図）。この単系統群の中に*C. purpurea* var. *alopecuri*と*C. purpurea* var. *phalaridis*を含む下位の単系統群が存在し、それ以外の*C. purpurea* var. *purpurea*を含む側系統群と分かれた。一方、*C. panicoidearum*は*C. sorghicola*と極めて遺伝距離の近い単系統群を作った（第3図）。

### 考 察

今回のITS領域の塩基配列を用いた分子系統解析によって、*C. purpurea*について、少なくとも2つの種内系統群が識別された。石川県の*C. purpurea* var. *alopecuri*は、*C. purpurea* var. *phalaridis*と富山県の六条オオムギやスズメノカタビラに発生した*C. purpurea*とともに単系統群を形成した（第3図）。Pazoutovaら<sup>3,4,5)</sup>は、それまでの知見を統合し*C. purpurea*を大きくG1、G2、G3の個体群に分けている。これらは、生息環境、生産するアルカロイド種、菌核が水に浮く形質、5.8S rDNA配列中のEcoR1サイトの有無、分生子の大きさに共通した特徴を持ち、自然感染宿主にも差異がみられる（第3表）。Pazoutovaら<sup>3)</sup>は*C. purpurea* var. *alopecuri*と*C. purpurea* var. *phalaridis*が分生子の大きさからG2個体群に含まれることを示唆している。今回の系統解析の結果においても、供試した*C. purpurea* var. *alopecuri*と*C. purpurea* var. *phalaridis*はG2個体群にあたる菌株と单

系統群を作ったことから、日本産の *C. purpurea* var. *alopecuri* と *C. purpurea* var. *phalaridis* はすべて G2 個体群に属すると判断される。一方で、トールフェスクのバッカクキン *C. purpurea* var. *purpurea* は EcoR1 サイトの存在と系統解析の結果（第 3 図）から、G1 個体群に属するのみなせる。

これらの系統群は、Pazoutova ら<sup>3,4,5)</sup> が示した宿主選好性が異なる個体群に対応すると考えられた。そのため、その系統群の自然発生宿主や既往の寄生性試験の結果を参考することにより、その系統群の宿主選好性を推定することができる。国内において *C. purpurea* var. *alopecuri* が野外で発生した草種は、丹田によると、スズメノテッポウウ<sup>8)</sup>、チモシー (*Phleum pratense*)<sup>9)</sup>、カニツリグサ (*Trisetum bifidum*)<sup>11)</sup>、ヌカボ (*Agrostis clavata*)、コヌカグサ<sup>12)</sup>、ヤマアワ (*Calamagrostis epigeios*)、ヒメノガリヤス (*C. hakonensis*)<sup>13)</sup>、クサヨシ<sup>14)</sup>、シラゲガヤ (*Holcus lanatus*)<sup>15)</sup>、ヒエガエリ<sup>16)</sup>、カモジグサ (*Agropyron tsukushense* var. *transiens*)<sup>17)</sup>、カモガヤ (オーチャードグラス, *Dactylis glomerata*)<sup>18)</sup>、スズメノカタビラ、ナガハグサ (ケンタッキー・ブルーグラス, *Poa pratensis*)、イチゴツナギ (*Poa sphodrolodes*)<sup>21)</sup> である。これらの *C. purpurea* var. *alopecuri* 菌株について、寄生性試験が行われたものを第 4 表にまとめた。その結果、*C. purpurea* var. *alopecuri* はキツネガヤ (*Bromus remotiflorus*)、カモガヤ、ナガハグサ、*Aegilops triuncialis*、アオカモジクサ (*Agropyron ciliare* var. *minus*)、カモジグサ、二条オオムギ (*Hordeum distichum*)、六条オオムギ、ライムギ (*Secale cereale*)、*Secale montanum*、コムギ (*Triticum aestivum*) に容易に

感染して菌核を形成する。一方で、*Lolium* 属、ヒロハウシノケグサ (*Festuca elatior*) 等には全く感染しない。すなわち、今回供試したコヌカグサ、スズメノテッポウウ、ヒエガエリの *C. purpurea* var. *alopecuri* についても、同様な寄生性を持ち、オオムギやコムギへの伝染源になると推測できる。実際に、ITS 領域の塩基配列が一致した六条オオムギとスズメノカタビラのバッカクキンが互いの宿主に感染可能であることが示されている<sup>2)</sup>。

一方で、G1 個体群に含まれる *C. purpurea* var. *purpurea* が国内において野外で発生した草種は、丹田によると、チモシー<sup>9)</sup>、オオカニツリ (*Arrhenatherum elatius*)<sup>10)</sup>、ヤマヌカボ<sup>12)</sup>、カモガヤ<sup>18)</sup>、*Festuca* 属<sup>19)</sup> や *Lolium* 属<sup>20)</sup>、*Poa* 属<sup>21)</sup> である。そのうち、多数は *C. purpurea* var. *alopecuri* が感染しない *Lolium* 属や *Festuca* 属からの発生である。チモシーやカモガヤのように、*C. purpurea* var. *alopecuri* と *C. purpurea* var. *purpurea* のいずれの変種も感染する草種もある。分生子の大きさに関しては中間的な性質を示す菌株もあるため、これらの草種に発生したバッカクキンが *Lolium* 属や *Festuca* 属に感染する系統かどうか推測するには、ITS 領域を用いた系統解析が有用な手段となる。

今回、ススキのバッカクキン *C. panicoidearum* はソルガムのバッカクキン *C. sorghicola* と ITS 領域の塩基配列において差異がほとんどみられなかった。両者は白色にみえる菌核を形成する点や有性生殖世代の形態などの特徴もほぼ一致する。しかし、両者は分生子の大きさ、生産するアルカロイド種が異なる他、*C. panicoidearum* はススキ属以外ではチゴザサ (*Isachne globosa*) にのみ感染性を持つ<sup>22,23)</sup> こと、*C. sorghicola* はススキへの感染性はない<sup>25)</sup> ことなど差異がみられる。以上の点より、この 2 種につ

第 3 表 Pazoutova<sup>3,4,5)</sup> による *Claviceps purpurea* の種内個体群の違い

主要な特徴	個 体 群		
	G1	G2	G3
生息環境	開けた草原	日陰、湿地	塩性沼沢
分生子の大きさ	5–8 μm	7–10 μm	10–12 μm
生産するアルカロイド種	Ergotamine, various Ergotoxines	Ergosine, Ergocristine, (Ergocryptine)	Ergocristine, Ergocryptine
菌核の性質	水に沈む	水に浮かぶ	水に浮かぶ
5.8S rDNA配列中のEcoR1サイト	1	0	1
自然感染する典型的な宿主植物 <sup>a)</sup>	<i>Bromus</i> spp. <i>Elytrigia repens</i> <i>Festuca pratensis</i> <i>Lotium</i> spp. <i>Secale cereale</i> <i>Helictotrichon pubescens</i>	<i>Calamagrostis</i> spp. <i>Holcus</i> spp. <i>Molinia</i> spp. <i>Phalaroides</i> spp. <i>Phragmites</i> spp.	<i>Spartina</i> spp.

<sup>a)</sup> G1, G2 両個体群の自然感染がみられる宿主植物として、*Alopecurus pratensis*, *Ammophila arenaria*, *Arrhenatherum elatior*, *Dactylis* sp., *Festuca ovina*, *F. rubra*, *Phleum* sp., *Poa pratensis* が挙げられている。

第4表 丹田による*Claviceps purpurea* var. *alopaeuri*ならびに*C. purpurea* var. *phalaridis*の寄生性試験

接種植物	変種名 原宿主	<i>C. purpurea</i> var. <i>alopaeuri</i>						var. <i>phalaridis</i> ,	
		<i>Alopecurus</i> <i>aqualis</i> var. <i>amurensis</i> <sup>8)</sup>	<i>Phleum</i> <i>pratense</i> <sup>9)</sup>	<i>Trisetum</i> <i>bifidum</i> <sup>11)</sup>	<i>Calamagrostis</i> <i>hakonensis</i> <sup>13)</sup>	<i>Polygon</i> <i>fugax</i> <sup>16)</sup>	<i>Poa</i> spp. <sup>21)</sup>	<i>Calamagrostis</i> spp. <sup>13)</sup>	<i>Pharalis</i> <i>arundinacea</i> <sup>14)</sup>
<i>Aegilops caudata</i>				++					++
<i>Aegilops crassa</i>				+					++
<i>Aegilops triuncialis</i>			++	++			++	++	++
<i>Agropyron ciliare</i> var. <i>minus</i>	+			++	++	+	++	+	++/-
<i>Agropyron tsukushense</i> var. <i>transiens</i>	++		++	++	-		++	+	++/-
<i>Anthonoxanthum odoratum</i>	++		-	++	+		++	-	++
<i>Arrhenatherum elatius</i>	+	+	+	+	+		+		-
<i>Avena fatua</i>									-
<i>Brachypodium distachyon</i>				-				-	-
<i>Brachypodium sylvaticum</i>				-	-	-			-
<i>Bromus japonicus</i>							-		-
<i>Bromus remotiflorus</i>	++			++	++	++	++	-	-
<i>Calamagrostis arundinacea</i>									
<i>Dactylis glomerata</i>	++	++	+	++	++	++	-		-
<i>Elymus mollis</i>				+		+	++		+
<i>Festuca elatior</i> = <i>F. pratensis</i>	-	-	-	-	-			-	-
<i>Festuca ovina</i>						+	+		++
<i>Festuca parviflora</i>					++	+	+		
<i>Hakonechloa macra</i>							-		
<i>Holcus lanatus</i>		-							++
<i>Hordeum distichum</i>			+	++	++	++	+		++
<i>Hordeum murinum</i>				++					-
<i>Hordeum vulgare</i> var. <i>hexastichon</i>	+	++	++	-		++	++		++
<i>Lolium multiflorum</i>	-	-	-	-		-	-		-
<i>Lolium perenne</i>	-	-	-	-	-	-	-		-
<i>Lolium remotum</i>			-				-		-
<i>Lolium rigidum</i>			-				-		-
<i>Lolium temulentum</i>			-				-		-
<i>Milium effusum</i>	+		+	+	+	+			+
<i>Phalaris tuberosa</i>			-						++
<i>Poa annua</i>							++		
<i>Poa pratensis</i>	+	+	+	++	++	++			++
<i>Secale cereale</i>	+	++	++	+	-	+			++
<i>Secale montanum</i>	++		++	++		++	++		++
<i>Trisetum bifidum</i>	-		++	+	-	-			-
<i>Triticum aestivum</i>	++	++	++	++	++	++	++		++

注) ++ : 菌核形成, + : 感染, - : 感染せず。

いては、ITS領域を用いた系統解析では区別が困難である。

以上の結果から、バッカクキン *C. purpurea*については、ITS領域の塩基配列の系統解析を行うことによって、寄生する植物を推定できる可能性が明らかになった。丹田による日本産のバッカクキンには、*C. purpurea* var. *sasae*や*C. purpurea* var. *agropyri*のように生息環境や分生子の大きさからはG1, G2, G3個体群に当てはまらない変種や、*C. microcephala*のように*C. purpurea*に統合されると考えられる種も存在する。今後、既往の寄生性試験の結果を有効に利用するためにも、これら日本産の

バッカクキンを整理し、塩基配列情報を充実させることが必要になる。また、*C. panicoidearum*のようにITS領域では種レベルの識別ができないものもあったため、ITS領域以外の情報も検討することが必要になる。

## 摘要

バッカクキン *Claviceps* spp. の作物への寄生性を推定するため、系統解析と既往の寄生性試験の結果との対応を試みた。まず、石川県の水田および畑地周辺のスズメノテッポウ、ヒエガエリ、コヌカグサに発生したバッカクキンを形態的特徴から*C. purpurea* var. *alopaeuri*と同定

した。次に、*Claviceps* spp. のITS1-5.8S rDNA-ITS2領域を用いた分子系統解析を行ったところ、*C. purpurea*は少なくとも二つの系統群に分かれた。既往の寄生性試験と対応させた結果、これらの系統群は寄主選好性に対応している個体群と考えられた。以上、*C. purpurea* var. *alopecuri*を含む系統はオオムギやコムギに寄生することが推測された。

### 引用文献

- 1) Felsenstein, J. (1985). "Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap." *Evolution* 39 : 783~791.
- 2) 向畠博行・松崎卓志 (1997) オオムギ麦角病に対する有効薬剤. 北陸病虫研報 45 : 45~51.
- 3) Pazoutova, S., Olsovská, J., Linka, M., Kolinska, R. and Flieger, M. (2000) Chemoraces and habitat specialization of *Claviceps purpurea* populations. *App. Environ. Microbiol.* 66 : 5419~5425.
- 4) Pazoutova, S., Cagas, B., Kolinska, R. and Honzatko, A. (2002) Host specialization of different populations of ergot fungus (*Claviceps purpurea*). *Czech J. Genet. Plant Breed* 38 : 75~81.
- 5) Pazoutova, S. (2003) . The evolutionary strategy of *Claviceps*. In "Clavicipitalean fungi. Evolutionary biology, chemistry, biocontrol and cultural impacts. eds. White, J. F. Jr., Bacon, C. W., Hywel-Jones, N. L. and Spatafora J. W. New York, Marcel Dekker Inc. pp. 329~354.
- 6) Pazoutova, S., Kolarik, M. and Kolinska, R. (2004) Pleomorphic conidiation in *Claviceps*. *Mycol. Res.* 108 : 126~135.
- 7) Swofford, D. L. (2002) PAUP: phylogenetic analysis using parsimony (and other methods) 4.0 beta. Sinauer Associates, Sunderland, MA, USA  
(<http://paup.csit.fsu.edu/>)
- 8) 丹田誠之助 (1977) 日本列島所産の麦角 (第3報) スズメノテッポウの麦角菌病. 東京農大農学集報 22 : 293~299.
- 9) 丹田誠之助 (1978) 日本列島所産の麦角 (第4報) オオアワガエリ (チモシー) に発生する *Claviceps purpurea* Tul. の 2 変種. 東京農大農学集報 23 : 141~150.
- 10) 丹田誠之助 (1978) 日本列島所産の麦角 (第5報) オオカニツリ (トール・オートグラス) の麦角病菌. 東京農大農学集報 23 : 151~157.
- 11) 丹田誠之助 (1979) 日本列島所産の麦角 (第6報) カニツリグサに発生する *Claviceps purpurea* Tul. var. *alopecuri* Tanda の 1 生理系統. 東京農大農学集報 23 : 207~214.
- 12) 丹田誠之助 (1979) 日本列島所産の麦角 (第7報) - 3 種のヌカボ属 (*Agrostis*) 植物よりえた麦角病菌. 東京農大農学集報 23 : 215~221.
- 13) 丹田誠之助 (1979) 日本列島所産の麦角 (第8報) ノガリヤス属植物 (*Calamagrostis* spp.) の麦角病菌. 東京農大農学集報 24 : 67~78.
- 14) 丹田誠之助 (1979) 日本列島所産の麦角 (第9報) クサヨシ属植物 (*Phalaris* spp.) より得た *Claviceps purpurea* Tul. の 2 変種とその生理的系統. 東京農大農学集報 24 : 79~95.
- 15) 丹田誠之助 (1979) 日本列島所産の麦角 (第10報) シラゲガヤ (ペルベットグラス) の麦角病菌. 東京農大農学集報 24 : 145~148.
- 16) 丹田誠之助・川谷豊彦 (1980) 日本列島所産の麦角 (第11報) ヒエガエリの麦角病菌. 日菌報 21 : 97~101.
- 17) 丹田誠之助 (1981) 日本列島所産の麦角 (第14報) カモジグサ属植物 (*Agropyron* spp.) の麦角病菌. 東京農大農学創立90周年記念論文集 85~114.
- 18) 丹田誠之助 (1981) 日本列島所産の麦角 (第16報) カモガヤ (オーチャードグラス) の麦角病菌. 東京農大農学集報 25 : 263~271.
- 19) 丹田誠之助 (1981) 日本列島所産の麦角 (第17報) ウシノケグサ属植物 (フェスク, *Festuca* spp.) の麦角病菌. 東京農大農学集報 26 : 82~100.
- 20) 丹田誠之助 (1981) 日本列島所産の麦角 (第18報) ドクムギ属植物 (ライグラス, *Lolium* spp.) の麦角病菌. 東京農大農学集報 26 : 101~114.
- 21) 丹田誠之助 (1981) 日本列島所産の麦角 (第19報) イチゴツナギ属 (*Poa*) 5 種より得た麦角病菌. 東京農大農学集報 26 : 179~192.
- 22) 丹田誠之助 (1991) 日本列島所産の麦角 (第23報) ススキ属 (*Miscanthus*) 植物に発生した麦角病菌の諸特徴と分類学的所属の再検討. 東京農大農学集報 33 : 213~229.
- 23) Tanda, S. and Harada, Y. (1989) Mycological studies on the ergot in Japan (XXII). A new ergot parasitic

- on *Isachne globosa*. Trans. Mycol. Soc. Japan 30 : 105  
~109.
- 24) Thompson, J. D., Higgins, D. G. and Gibson, T. J.  
(1994) CLUSTAL W: improving the sensitivity of  
progressive multiple sequence alignment through  
sequence weighting, position-specific gap penalties  
and weight matrix choice. Nucleic Acids Res. 22 :  
4673~4680.
- 25) Tsukiboshi, T., Shimanuki, T. and Uematsu, T.  
(1999) *Claviceps sorghicola* sp. nov., a destructive  
ergot pathogen of sorghum in Japan. Mycol. Res. 103  
: 1403~1408.
- 26) White, T. J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J. (1990)  
Amplification and direct sequencing of fungal  
ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR  
protocols: a guide to methods and applications (eds.  
Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J. and White,  
T. J.). 315~322, Academic Press, New York.
- 27) 八木敏江 (2002) 才才ムギ麦角病. 北陸病虫研報  
50 : 222~226.

(2008年6月23日受理)