

〔農業生物資源ジーンバンク事業（微生物部門）委託研究〕
東京都の園芸作物に発生した本邦初産属種を含む植物病原菌類の特性評価

竹内 純・廣岡裕吏*・嶋田竜太郎
(安全環境科・*東京農業大学)

【要 約】ヒペリカム褐紋病菌を本邦初産属種の*Diploceras hypericinum*と同定、ITS領域の塩基配列を決定、サラセニア褐斑病菌を本邦初産種の*Cylindrocladium theae*、ケンチャヤシ褐斑病菌を*Calonectria ilicicola*、ツボサンゴ株枯病菌を*Cylindrocladium canadense*と同定した。

【目 的】

東京都の園芸作物で今までに発生した希少な植物病原菌類について各種特性を解明し、そのデータとともに農業生物資源研究所ジーンバンクに寄託する。本年度はヒペリカム褐紋病菌を中心に、サラセニア褐斑病菌、ケンチャヤシ褐斑病菌、ツボサンゴ株枯病菌の4種植物病原菌に関する各種特性を明らかにし、診断および防除対策の資料とする。

【方 法】

1) 各病原菌の接種による宿主範囲の解明。2) 病原菌の培養特性。3) 分類学的検証。

【成果の概要】

- 1) ヒペリカム褐紋病菌：本菌の病原性はオトギリソウ科の*Hypericum*属のみに認められた（表1）。本病原菌は本邦初産属種の*Diploceras hypericinum*と同定され、ヒペリカム属植物のみに特異的に病原性を有した。PDA培地上における本病原菌の生育は5-35℃で認められ、適温は25-30℃であった。培養培地としてはPDA,PSA培地において菌叢生育、分生子殻形成とも良好であった（表2）。本菌のrDNAをプライマーITS1（5'TCCGTAGGTGAACCTGCGC 3'）,ITS4（5'TCCTCCGCTTATTGATATGC 3'）によりPCR増幅し、塩基配列を決定、BLAST（DDBJ）で相同性検索した結果、高いhomologyを示す塩基配列の登録は認められなかった（表3）。本菌は病斑上では表皮下に偏球形～レンズ形の分生層を形成する。分生子は、無色円筒形の分生子殻内壁細胞からアネロ型に形成され、4細胞性、円筒形で湾曲し、中央2細胞は淡褐色、上下2細胞は無色、大きさ14.5-20×3.5-5.5μm、付属糸は無色糸状で、頂部と基部にそれぞれ1~3本（殆どが各2本）、頂部10-22μm、基部6.5-20μm。本菌は本邦初産属種の*Diploceras hypericinum*（Cesati）Diedicであり、本菌のrDNAの配列はDDBJに未登録であった。
- 2) サラセニア褐斑病菌：本病原菌は本邦初産種の*Calonectria indusiata*の不完全世代*Cylindrocladium theae*と同定され、接種試験の結果多犯性の植物病原菌と判断された。
- 3) ケンチャヤシ褐斑病菌は*Calonectria ilicicola*と同定され、接種試験の結果多犯性の植物病原菌と判断された。
- 4) ツボサンゴ株枯病菌は*Cylindrocladium canadense*と同定され、2004年に栃木県で発生したイチゴ苗立枯病菌と同種であった。
- 5) まとめ：本研究課題において4種植物病原菌の特性が解明された。本データは菌株とともにジーンバンクに寄託され、公開される予定である。

表1 ヒペリカム褐紋病菌の病原性

接種植物名 (科名)	接種菌株 ^a	
	DipHyan050921-M1	DipHyan050921-M2
ヒペリカム・アンドロサエマム (オトギリソウ科)	++	++
ヒペリカム・インドアナ (オトギリソウ科)	++	++
ヒペリカム・カリシナム (オトギリソウ科)	+	+
ビョウヤナギ (オトギリソウ科)	+	+
イチゴノキ (ツツジ科)	-	-
カナメモチ (バラ科)	-	-
フッキソウ (ツゲ科)	-	-
ソヨゴ (モクセイ科)	-	-
アジサイ (ユキノシタ科)	-	-

a) + : 病斑が形成される, ++病斑が拡大する, - : 病原性なし

表2 ヒペリカム褐紋病菌の5種培寒天培地上における菌叢生育と分生子殻形成

培地	菌株	培養7日後 菌叢直径mm	分生子殻形成状態
Czapek	DipHyan050921-M1	20.3	無
	DipHyan050921-M2	19.2	
CMA	DipHyan050921-M1	29.5	少
	DipHyan050921-M2	32.7	
PDA	DipHyan050921-M1	45.5	多
	DipHyan050921-M2	42.7	
PSA	DipHyan050921-M1	44.0	多
	DipHyan050921-M2	42.9	
V8A	DipHyan050921-M1	40.0	少
	DipHyan050921-M2	37.5	

表3 ヒペリカム褐紋病菌の rDNA (ITS 領域^a)における塩基配列および相同性検索

供試菌株 : DipHyan050921-M1 (ヒペリカム褐紋病菌)
 TGG AAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGGGATCATTATAGAGTTATCTAACTCCCAAACCCATGTGAACTTACC
 ATTGTTGCCTCGCAGAACCTACCCGGTACCTACCCTGTAACGAGCTACCCGTAGCGACTACCCGGGAACGGCCACCTTGTAGCGTGTG
 CCGGTGGACTTCTAACTCTGTTATTTATTGTAATCTGAGCGTCTATTTTAATAAGTCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGG
 CATCGATGAAGAACGACGAGGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGAGAAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCATTA
 GTATTCTAGTGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCTTAAAGCCTAGCTTAGTGTTGAGAATCTACTGTATTGTAGTTCTCTAAATCC
 AACGGCGGATCTGTGGTATCTCTGAGCGTAGTAATTTTTATCTCGCTTTTGGTTGGTCTGCAGCTCTCGGCCGCTAAACCCCAATTTTT
 AATGGTGACCTCGGA

供試菌株 : DipHyan050921-M2 (ヒペリカム褐紋病菌)
 TGG AAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGGGATCATTATAGAGTTATCTAACTCCCAAACCCATGTGAACTTACC
 ATTGTTGCCTCGCAGAACCTACCCGGTACCTACCCTGTAACGAGCTACCCGTAGCGACTACCCGGGAACGGCCACCTTGTAGCGTGTG
 CCGGTGGACTTCTAACTCTGTTATTTATTGTAATCTGAGCGTCTATTTTAATAAGTCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGG
 CATCGATGAAGAACGACGAGGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGAGAAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCATTA
 GTATTCTAGTGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCTTAAAGCCTAGCTTAGTGTTGAGAATCTACTGTATTGTAGTTCTCTAAATCC
 AACGGCGGATCTGTGGTATCTCTGAGCGTAGTAATTTTTATCTCGCTTTTGGTTGGTCTGCAGCTCTCGGCCGCTAAACCCCAATTTTT
 AATGGTGACCTCGGA

Homology^b : DipHyan050921-M1および DipHyan050921-M2とも同一スコア

Discostroma fuscillum 18S ribosomal RNA gene...	868	0.0
Fungal endophyte EMS68 internal transcribed ...	777	0.0
Discosia sp. HKUCC 6626 18S ribosomal RNA ge...	771	0.0
Discostroma tricellulare 18S ribosomal RNA g...	728	0.0
Amphisphaeria sp. Kobayashi 6-(4) 18S riboso...	726	0.0
Amphisphaeria sp. MAFF235878 18S ribosomal R...	704	0.0
Monochaetia sp. PSH2004I-1032 18S ribosomal ...	694	0.0

a: プライマー : ITS1 (5' TCCGTAGGTGAACCTGCGC 3'), ITS4 (5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3')

b: 相同性検索 : DDBJ (日本DNAデータバンク)