

アシタバ葉腐病菌の完全世代 *Thanatephorus cucumeris* の形成確認星 秀男¹・堀江博道

(東京都農業試験場)

First Observations on the Teleomorph of the Leaf Blight Fungus of *Angelica keiskei*, *Thanatephorus cucumeris* in JapanHideo HOSHI² and Hiromichi HORIE

摘 要

2003年、東京都八丈島において、アシタバ葉腐病罹病株に子実層が観察された。子実層は形態的特徴から、*Rhizoctonia solani* の完全世代である *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk と同定された。担子孢子由来および罹病組織由来の *R. solani* の菌群はいずれも AG-1 (B) であり、両者が同根関係にあることが示された。

2003年7月、東京都八丈町(八丈島)において、アシタバ葉腐病(病原菌: *Rhizoctonia solani* AG-1 (B), 久保田ら, 1994) が多発し、病原菌の子実層が観察された。子実層は形態的特徴から *Thanatephorus cucumeris* と同定され、担子孢子より分離された *Rhizoctonia* 属菌の菌群から、アシタバ葉腐病菌の完全世代であることが明らかとなったので報告する。

材料および方法

1. 発生状況および病徴

葉腐病の発生および子実層の形成状況を観察し、記録した。

2. 病原菌の分離

罹病葉の病斑部から切片を作成し、10%次亜塩素酸ナトリウム水溶液の20倍液で表面殺菌し、直ちに素寒天平板培地(WA)に置床した。15℃で2日間培養後、組織片から伸長した菌糸を単菌糸分離し、ブドウ糖加用ジャガイモ煎汁寒天培地(PDA)に移植して供試菌株RsAn-1TおよびRsAn-4Tを得た。

また、子実層を形成しているアシタバ葉柄を10mm程度に切断し、WA培地を流し込んだペトリ皿の蓋内側に、素寒天片を用いて子実層形成面を下向きに貼り付

けた。15℃、暗黒化に1昼夜静置し、WA培地上に落下した単一の担子孢子を生菌培地に移植して、供試菌株RsAn-3BおよびRsAn-5Bを得た。

3. 分離菌および担子孢子的病原性の確認

上記4分離菌をPDA平板培地で7日間培養し、コルクボーラーで打ち抜いた直径6mmの培養菌叢片をポット植えアシタバの葉に束ねた針を熱し、焼き傷を付け、または無傷で貼付け接種した。また、ポット植えのアシタバをポリバケツに入れ、上部を金網で覆い、金網の上に子実層を形成しているアシタバ茎を子実層形成面を下向きに置き、24時間温室に保持し、担子孢子を生菌培地を落下させて接種した。担子孢子的落下を確認するために、アシタバ葉上に約18mm四方の素寒天片を数カ所に置いた。

4. 病原菌の同定

分離菌をWA培地で培養し、菌糸の形態的特徴を光学顕微鏡で観察した。また、菌糸先端細胞の核数をギムザ塩酸染色により調査した。子実層の観察にあたっては、子実層を形成しているアシタバ葉柄を10mm程度に切断し、WA培地を流し込んだペトリ皿の蓋内側に、素寒天片を用いて子実層形成面を下向きに貼り付け、

1 現在、東京都病害虫防除所

2 Address: Tokyo Metropolitan Plant Protection Office, Fujimi 3-8-1, Tachikawa, Tokyo 190-0013, Japan

2004年4月30日受領

15 , 暗黒化に1昼夜静置し, 担子胞子の落下を確認した後に, 形態的特徴を記録した。

菌群の決定は, 分離菌と*R.solani*標準菌株(農業環境技術研究所より分譲)をWA培地上で対峙培養し, 菌糸融合の有無により菌糸融合群の類別を行い, PDA平板培養における培養菌叢の特徴と生育適温から培養形を判別した。分離菌の生育温度は, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 37および40 の各温度下でPDA平板培養し, 3日後の菌叢直径により, 生育温度範囲および生育適温について調査した。

結果および考察

1. 発生状況および病徴

2003年7月, 八丈島において, アシタバ葉腐病が多

発した。病徴は, 初め展葉間もない柔らかい葉に, 暗黒色, 水浸状の病斑を生じた。病斑はすぐに葉全面に拡大し, 葉腐れ症状を呈する。降雨や高湿度条件が連続すると, 病斑部からくもの巣状の菌糸が発生し, 周囲の葉に伸張して, 次々と病斑を形成した。

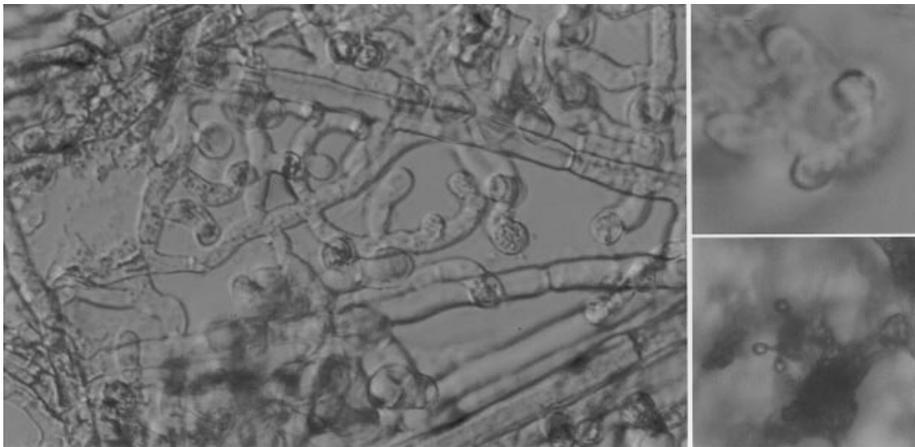
子実層は, 白色~淡褐色, 膜状で, 葉柄表面上の地際から高さ50cm程度の間に観察された。葉, 病斑上および病斑周辺, 土壌表面などには子実層は形成されず, また, 子実層形成部分に病変は認められなかった(第1図)。

2. 病原菌の分離および分離菌の病原性

葉の罹病組織からは, すべて*Rhizoctonia*属菌が分離された。また, 子実層上に形成された担子胞子からの



第1図 アシタバ葉腐病の病徴と罹病株に形成された子実層
左: 新葉に発生した病斑, 右: 葉柄上に生じた病原菌の子実層



第2図 子実層(完全世代)の形態
左: 担子柄, 右上: 担子柄上に伸長する小柄, 右下: 小柄上に形成された担子胞子

単孢子分離菌は、すべて*Rhizoctonia* 属菌であった。組織分離 2 菌株 (RsAn-1T, RsAn-4T) および担子孢子分離 2 菌株 (RsAn-3B, RsAn-5B) を供試して、アシタバの葉に焼き傷を付し、または無傷で培養菌叢貼付け接種を行い、温室に保持した。いずれの接種方法でも、接種 1 日後には菌叢ディスクから無色の菌糸が発生した。焼き傷を付した場合には、接種 2 日後に接種部分から黒色、水浸状の病斑が発生し、4 日後には葉全面に拡大し、葉腐れとなった。無傷で接種した場合には、初期病斑は接種部位からやや離れた部位や葉縁に発生することが多かったが、その後の病気の進行や症状に焼き傷を付した場合と差異は認められなかった。

担子孢子を下ろさせて接種した場合、葉上の素寒天片上では担子孢子的落下および発芽が確認され、菌糸片の落下は認められなかった。接種 7 日後に、葉縁から黒色、水浸状の病斑が発生したが、病斑の拡大は、上記菌叢貼付け接種と比較して緩慢であり、病斑の拡大は 20mm 程度で停滞した。同時に葉全体が黄化、枯死し、自然発生や菌叢貼付け接種で観察された葉腐れ症状には至らなかった。

3. 病原菌の形態

不完全世代の形態：供試した分離 4 菌株はほぼ同様の性状と形態を示した。WA 培地上における菌糸の性状は、無色～淡褐色で、主軸菌糸の幅は 6.9～12.5 (平均 9.8) μm 、菌糸先端細胞の隔壁下でほぼ直角に分岐

する。また、分岐点付近でくびれ、ドリポア隔壁を生じる。かすがい連結、分生子および完全世代の形成は認められなかった。菌糸先端細胞の核数は 3～17 (平均 8.4) 個であった (第 1 表)。

完全世代の形態：子実層は白色～淡褐色で、幅 5～8.8 μm の菌糸が密に絡まり合い、担子柄を生じる。担子柄は樽型、倒棍棒形で、大きさ 10.6～12.5 \times 5～10 (平均 12.8 \times 7.6) μm で、中央でくびれない。小柄は、無色で、担子柄あたり 4 本生じ、初め担子柄先端の隅が鈍こぶ状に盛り上がり、角状に伸長した後、先端に担子孢子を各 1 個形成する。小柄の大きさは 3.8～13.8 \times 1.3～3.8 (平均 8.5 \times 2.4) μm 、小柄と担子柄の長さの比 (S/B 比) は 0.66 であった。担子孢子は、楕円形で小嘴状の突起を有し、無色で、大きさは 6.3～12.5 \times 4.4～8.8 (平均 9.6 \times 6.7) μm 、発芽して二次孢子を形成する場合は観察された (第 2 図、第 2 表)。

分離 4 菌株 (不完全世代) の形態的特徴は、横山 (1978)、Domsh et al. (1993) および久保田ら (1994) による *Rhizoctonia solani* Kühn の記載と一致する。したがって、分離菌をいずれも同種と同定した。また、子実層 (完全世代) の形態的特徴は、鬼木ら (1986) および星ら (1994) による *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk の記載とほぼ一致するので、同種と同定した。

分離 4 菌株は、*R. solani* 標準菌株との対峙培養において、*R. solani* AG-1 とのみ菌糸融合を生じたことから、

第 1 表 アシタバ葉腐病罹病組織および担子孢子からの分離菌株 (*Rhizoctonia* 属菌) と既知種の形態比較

菌株・種名	分離源	主軸菌糸の幅 ^{d)} (μm)	ドリポア隔壁	かすがい連結	菌糸先端細胞の核数 ^{d)}
RsAn-1T	罹病組織	7.5～12.5 (9.8)	有	無	3～15 (8.1)
RsAn-4T	罹病組織	8.1～12.5 (9.9)	有	無	3～15 (8.1)
RsAn-3B	担子孢子	7.5～11.9 (9.4)	有	無	3～16 (8.3)
RsAn-5B	担子孢子	6.9～12.5 (9.9)	有	無	3～17 (9)
<i>Rhizoctonia solani</i> ^{a)}		6.2～10.8 (8.7)	有	記載なし	4～8
<i>Rhizoctonia solani</i> ^{b)}		5～17 主に 7～12	有	無	2～18 主に 4～8
<i>Rhizoctonia solani</i> ^{c)}		6～14 (9.3)	有	無	5～12 (7.6)

a) 横山 (1978), b) Domshetal. (1993), c) 久保田ら (1994), d) () 内は平均値

第2表 アシタバ葉腐病罹病組織上の完全世代と既知種の形態比較

菌・種名	担子柄 ^{c)} (μm)	小柄		S/B比	担子胞子 ^{c)} (μm)
		本数	大きさ(μm)		
本病菌	10.6~16.9 \times 5~10 (12.8 \times 7.6)	4	3.8~13.8 \times 1.3~3.8 (8.5 \times 2.4)	0.66	6.3~12.5 \times 4.4~8.8 (9.6 \times 6.7)
<i>Thanatephorus cucumeris</i> ^{a)}	10.1~20 \times 7.2~11.3 (15.1 \times 9.1)	(2~)4(~5)	3.1~17.2 (9.9)	記載なし	5.4~11.8 \times 3.9~7.2 (8.5 \times 5.5)
<i>Thanatephorus cucumeris</i> ^{b)}	9~22.5 \times 6.5~11.5 (14.9 \times 8.9)	(3~)4	9~17.5 \times 2.5~4 (11.8 \times 3.5)	0.79	6.5~11.5 \times 5~7.5 (8.9 \times 6.1)

a) 鬼木ら(1986), b) 星ら(1994), c) ()内は平均値

分離菌の菌糸融合群はいずれもAG-1に類別された。PDA上の菌叢は初め白色~淡褐色、後に褐色なり、輪紋は形成しない。菌叢表面に大型、不整形の菌核を多数形成する。菌核表面は羽毛状の菌糸で覆われ、培養日数が長くなると、菌核表面から褐色の水滴を分泌する。この培養菌叢の特徴は、渡辺・松田(1966)によるB型に一致した。分離菌の各温度下培養2日後の菌叢生育は5~35, 37以上では生育せず、適温は25であった。以上の結果から、分離菌の菌群は、組織分離菌株および担子胞子分離菌株のいずれも菌糸融合群AG-1, 培養型Bと判断した。

4. 病原菌の所属

2003年に八丈島で発生したアシタバ葉腐病の病原菌は、*Rhizoctonia solani* Kühn AG-1(B)であり、久保田ら(1994)の報告と同一であった。罹病株に観察された子実層は、*R. solani*の完全世代である*Thanatephorus cucumeris* (Frank)Donkと同定された。さらに、その担子胞子分離菌株は*R. solani*であり、菌群は罹病組織分離菌と同一のAG-1(B)であったことから、罹病

株に形成された子実層は、罹病組織から分離された*R. solani*と同根関係にあり、本病菌の完全世代であることが判明した。しかしながら、担子胞子の病原性について、本試験における接種では、葉腐れ性の病原力は確認できず、本病の自然発生における担子胞子の役割については明らかにできなかった。この点については、今後の検討課題である。

引用文献

- Domsh, K. D. et al (1993) Compendium of Soil Fungi 1. IHW-Verlag, Eching, Germany. pp. 703 - 709.
 星 秀男ら(1997) 東京農試研報 27: 17 - 46.
 久保田まやら(1994) 関東病虫研報 41: 129 - 131.
 生越 明(1976) 農技研報告 C30: 1 - 63.
 鬼木正臣ら(1986) 日植病報 52: 169 - 174.
 渡辺文吉郎・松田 明(1966) 指定試験報告(病害虫) 3: 1 - 131.
 横山竜夫(1978) 菌類図鑑 下(宇田川俊一ほか編). 講談社. 東京. pp. 802 - 804.