

## 香川県で発生したオンシジウム白絹病と病原菌 *Sclerotium rolfsii* Saccardo の性状および菌糸体和合性

大高伸明・富岡啓介・澤田宏之・青木孝之・佐藤豊三  
(農業生物資源研究所)

### Description and mycelial compatibility of oncidium southern blight pathogen, *Sclerotium rolfsii* Saccardo found in Kagawa Prefecture

Nobuaki OHTAKA, Keisuke TOMIOKA, Hiroyuki SAWADA, Takayuki AOKI and Toyozo SATO (National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba, Ibaraki 305-8602, Japan)

Bulb rot, leaf rot, defoliation and blight were found on potted oncidium (*Oncidium sphacelatum*), an orchidaceous ornamental, in glasshouses in Kagawa Prefecture, Japan, in July 2001. Whitish mycelia and brown sclerotia of the causal fungus appeared on the lesions. Isolated fungus (OS1) from sclerotia on the affected plants was identified as *Sclerotium rolfsii*. Inoculation study demonstrated this fungus was the causal agent of the disease. Pairings of isolate OS1 with other 18 isolates of *S. rolfsii*, which were from various regions and various plant species in Japan to distinguish mycelial compatibility group (MCG) revealed isolate OS1 was compatible with isolates from the same region (Kagawa Pref.) and from other regions (Tokyo Metropolis and Ibaraki Pref.). The MCG containing OS1 possibly distribute relatively wide range of regions and plants in Japan.

### 緒 言

中南米原産のラン科の観賞植物であるオンシジウム (*Oncidium* sp.) は、我が国においても重要な園芸作物の1つである(江尻, 1989)。2001年7月、香川県善通寺市の温室で鉢植え栽培中のオンシジウム (*O. sphacelatum* Lindl.) に株枯性病害を認めた。病斑部には白色の気中菌糸と褐色顆粒状の菌核が観察された。筆者らは、病原の分離・同定および接種試験により、本病害が *Sclerotium rolfsii* Saccardo による白絹病であることを確認した。*S. rolfsii* は多犯性かつ種内に遺伝的多様性を持つことが良く知られ、対峙培養により識別できる菌糸体和合性グループ (MCG: mycelial compatibility group) が存在する (Punja & Grogan, 1983a; Nalim et al., 1995; 岡部, 2002)。同じMCGに含まれる菌株は、遺伝的に同一(クローン)あるいは非常に近縁な菌株と考えられる

(岡部, 2002)。したがって、新たな宿主植物に本菌種による病害が発生した場合、その由来となった菌株ないしMCGが推定できる可能性がある。本稿では、香川県で認めたオンシジウム白絹病菌の性状を中心に詳述するとともに、MCG判定により当該病原菌株の由来についても検討したので報告する。なお、一部の結果については既に報告した(富岡・佐藤 2004)。

### 材料および方法

#### 病原菌の分離

罹病植物上に形成された菌核より菌の分離を行った。採集した菌核を次亜塩素酸ナトリウム水溶液(有効塩素0.1%)で1分間表面殺菌し、滅菌水で洗浄した後、素寒天(WA)培地で培養した。伸長した単菌糸をジャガイモ煎汁・ブドウ糖寒天(PDA: Difco製)培地に移植し、さらに培養して

第1表 供試菌株の来歴および菌糸体和合性

MAFF番号	登録時の株名	分離源	採集地	和合性*
239290	OS1	オンシジウム <i>Oncidium sphacelatum</i> Lindl.	香川	+
102022	SSc-3	ダイズ <i>Glycine max</i> (L.) Merrill	岐阜	-
238054	SS11	イチゴ <i>Fragaria x ananassa</i> Duch.	香川	-
238055	Phs3	コチョウラン属の1種 (ファレノプシス) <i>Phalaenopsis</i> sp.	香川	+
238056	S101	ダイズ	香川	-
238057	Yb31	クズイモ <i>Pachyrhizus erosus</i> (L.) Urbanと アヒバ <i>Pachyrhizus ahipa</i> (Weddell) Parodi との種間雑種	香川	-
238058	Ts1	マダラハウチワマメ <i>Lupinus mutabilis</i> Sweet	香川	-
238059	ES1	トルコギキョウ <i>Eustoma grandiflorum</i> (Raf.) Shinn.	香川	-
306493	B12	ダイズ	香川	-
306494	W1 (スイカ白絹1)	スイカ <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	香川	-
306495	Y1	ヤーコン <i>Polymnia sonchifolia</i> Poepp. & Endl.	香川	-
328220	S-8/CH91-41	デルフィニウム <i>Delphinium ajacis</i> L.	千葉	-
328229	S-37/CoAt-1	オオバナオケラ <i>Atractylodes ovata</i> D.C.	東京	+
328233	S-43/CR-8923	トウビシ <i>Trapa bispinosa</i> Roxb.	福岡	-
328234	S-44/CR-9001	トウビシ	佐賀	-
328241	S-51	ラッカセイ <i>Arachis hypogaea</i> L.	茨城	-
328242	S-52	ラッカセイ	茨城	-
328243	S-53	ラッカセイ	茨城	+
328244	S-54	ラッカセイ	茨城	-

\*MAFF239290 (OS1) との対峙培養の結果 (+ : 和合性, - : 非和合性)

分離菌株を得た。分離菌株はいずれも同様のコロニー形態を示したため、代表的な1菌株 (OS1) を選定し、以後の実験に用いた。

#### 分離菌株の観察

菌株OS1のコロニー形態、5-40℃ (5℃間隔) での生育温度範囲および培養1週間後のコロニー生育速度 (直径)、菌核形態について、PDA あるいはWA培地を用い、暗黒条件下にて培養し観察した。さらに、菌糸ならびに菌核の形態について、光学顕微鏡による観察を行った。

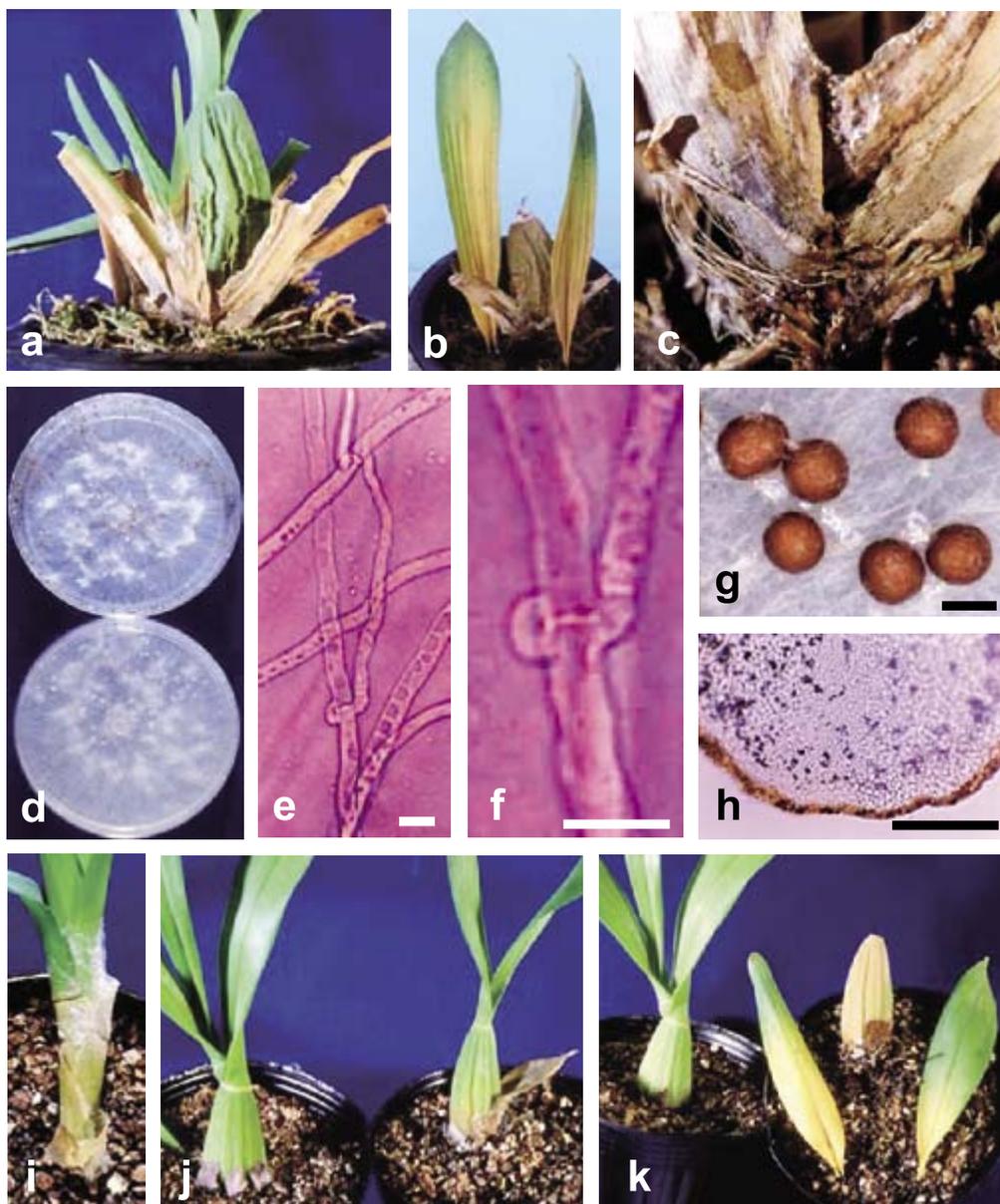
#### 接種試験

健全なオンシジウム (*O. sphacelatum*) に菌株OS1を接種した。PDA培地上、28℃、暗黒条件下にて3日間培養して得た同菌株の含菌寒天片 (1.0-2.0cm<sup>2</sup>) を偽球茎 (バルブ) を有する植物2

個体および偽球茎 (バルブ) が無い植物2個体の基部に貼付接種した。対照として、無菌のPDA培地片を同様に接種した。接種した植物はポリエチレン袋にて被覆後、25-30℃の温室に置床した。2日後、ポリエチレン袋を除去した。以後、植物は温室内で管理し、経過を観察した。病徴再現確認後、上記と同様の方法により接種菌の再分離を行った。

#### MCGの判定

PDA培地上、25℃、暗黒条件下にて菌株OS1と (独) 農業生物資源研究所ジーンバンク所蔵の18菌株をテスター菌株として対峙培養し、MCGを判定した (第1表)。培養開始2週間後に培養コロニーを観察し、対峙させた菌株間に境界線が認められない場合、それらを同一MCG (和合性) と判定した。実験は同一条件で2回反復した。な



第1図 *Sclerotium rolfsii* によるオンシジウム白絹病の病徴および分離菌株OS1の形態

a-c: 自然感染時の病徴

a: 偽球茎と葉の腐敗症状 ; b: 植物全体の枯死 ; c: 菌糸体と菌核

d-h: 分離菌株OS1の各種形態 (PDA培地, 25℃, 暗黒条件)

d: 1週間培養したコロニー (上: 表面, 下: 裏面); e, f: 1日培養後の1次, 2次菌糸およびかすがい連結 (スケールバー: 10 μm); g: 1週間培養後の菌核 (スケールバー: 1 mm); h: 菌核断面 (スケールバー: 50 μm)

i-k: 分離菌株OS1による接種試験

i: 葉の腐敗症状 (接種8日後); j: 偽球茎の腐敗症状 (接種8日後; 右: 菌接種区, 左: 対照区); k: 植物全体の枯死 (接種18日後; 右: 菌接種区, 左: 対照区)

お、本実験では、菌株OS1とテスター菌株との和合性を調査し、テスター菌株間のMCG判定は行わなかった。

## 結 果

### 病徴と病原菌

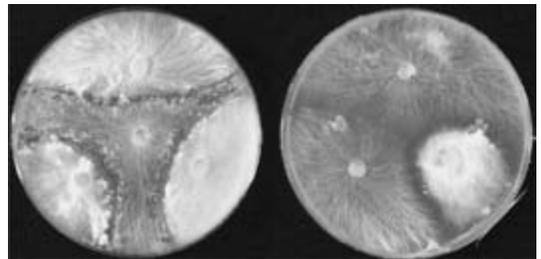
初め、葉や偽球茎の基部に水浸状の不整形病斑が現れた。病斑は次第に上方に向かって拡大するとともに黄色～褐色となり、やがて株全体が腐敗・乾枯した（第1図a, b）。罹病偽球茎上の葉は病斑の進展前に腿緑して早期に脱落した。病斑部には白色気中菌糸と褐色顆粒状菌核が表生した（第1図c）。菌株OS1の菌叢はWA培地あるいはPDA培地上では気中菌糸に富む白色で、表面に病斑上と同様の菌核を生じた（第1図d-g）。1次菌糸は隔壁部にかすがい連結を有し、隔壁間は最長450 $\mu$ m、幅4-6 $\mu$ mであった。1次菌糸隔壁直下から分枝した2次菌糸は幅1-2 $\mu$ mで、初めは1次菌糸に沿って伸長した。1次菌糸以外にかすがい連結は認められなかった。菌核は成熟するに伴い白色から褐色となり、成熟したものは長径0.7-1.5mmの垂球形～卵形で、外皮下は淡褐色の皮層と無色の髓部から成っていた（第1図h）。同菌株はPDA培地上では10-40 $^{\circ}$ Cで生育し、30 $^{\circ}$ Cで最も生育が速く（菌糸伸長速度17.5mm/day）、5 $^{\circ}$ Cでは生育しなかった。胞子や完全世代の形成は認められなかった。以上の形態と培養性状から、同菌株を*Sclerotium rolfsii* Saccardoと同定した（Mordue 1974; Domsch et al. 1993）。なお、同菌株はMAFF239290として、（独）農業生物資源研究所ジーンバンクに寄託・登録した。

### 病原性

病徴は含菌寒天片接種区全てで認められた（第1図i-k）。接種2日後、偽球茎および葉の基部に水浸状不整形病斑が認められた。接種1週間後、病斑部は顕著に腐敗し、接種3週間後には、植物全体が枯死し、原病徴が再現され、病斑部からは接種菌と同一の菌が再分離された。一方、対照区の植物には病徴は認められず、接種部位からは同菌が分離されなかったことから、本菌がオンシジウムに病原性を有することが立証された。

### MCG

菌株OS1とMAFF238055, MAFF328229およびMAFF 328243のコロニーの間には境界線が観察されず、同一MCG（和合性）であると判定した（第1表, 第2図）。MAFF238055は香川県丸亀市（旧町名: 綾歌郡綾歌町）でコチョウラン属の1種（ファレノプシス）（*Phalaenopsis* sp.）から分離され、MAFF328229は東京都小平市でオオバナオケラ（*Atractylodes ovata* D.C.）より、MAFF328243茨城県つくば市でラッカセイ（*Arachis hypogaea* L.）よりそれぞれ分離された菌株であった。その他のテスター菌株と菌株OS1は境界線を生じたことから、異なるMCG（非和合性）であると判定した（第1表, 第2図）。



第2図 対峙培養によるMCG判定例（PDA培地入9cmシャーレ、25 $^{\circ}$ C、暗黒条件下、2週間培養）

- 左：中央の菌株OS1と周囲の3菌株が異なるMCG（非和合性）であった例
- 右：上部の菌株OS1と左下部の菌株が同じMCG（和合性）、右下部の菌株とは異なるMCG（非和合性）であった例

## 考 察

我が国においては、白絹病の発生は夏季に多い（岡部, 2002; 竹内, 2007）。菌株OS1の生育適温も30 $^{\circ}$ Cと高温であった。オンシジウムは熱帯域に自生し、我が国においても比較的高温を維持した環境で栽培する（江尻, 1989）。高温での栽培条件がオンシジウム白絹病の発生に有利に働いていたことは明らかである。

*Sclerotium rolfsii*の完全世代は、現在、*Athelia rolfsii* (Curzi) C.C. Tu & Kimbrough とされている（Tu and Kimbrough, 1978）。しかし、完全

世代の形成は実際の圃場では観察されることはなく、感染源は菌糸体もしくは菌核と考えられている (Punja and Grogan, 1983b; Punja and Sun, 2001)。これらの感染源は、たとえば風媒性の孢子とは異なり移動性に乏しい (岡部, 2002)。以上の生活環および生態的特徴から、白絹病菌には、交配による遺伝的変異が乏しく、地理的隔離以後、体細胞突然変異やパラセクシャルサイクルなどによる、ゆるやかな遺伝的変異を起こした集団が認められる。すなわち、圃場から圃場への感染源を含む土壌や罹病作物の人為的な移動を伴わない限り、白絹病の発生は圃場内でははじめ局所的であり、かつMCGに代表される遺伝的変異は比較的少なく、均質になりやすい (岡部, 2002)。何らかの要因で他所に拡散した白絹病菌は、宿主植物や土壌環境などの淘汰圧、適応、突然変異などにより、異なるMCGとなると考えられる (Punja and Sun, 2001)。本研究で得た菌株OS1は香川県産MAFF238055、東京都産MAFF328229および茨城県産MAFF 328243と同じMCGであった。このうち、香川県で得られたMAFF238055菌株OS1はそれぞれ隣接する善通寺市および丸亀市産であるだけでなく、どちらもラン科植物由来であることから、香川県で発生したオンシジウムとファレノプシスの白絹病は同じ伝染源に起因した可能性が考えられた。一方、OS1と同じMCGと判定された他の2菌株はそれぞれ東京都および茨城県産で宿主植物も異なり、同MCGは比較的広範囲に分布するグループであると考えられた。これらの菌株が関東で鉢植えラン類に感染し四国に持ち込まれた可能性も否定できないため、伝染源の特定には同菌株の宿主範囲や当該オンシジウムの移動経路などについて更に調査が必要である。Punja and Sun (2001) は、世界各地から得られた白絹病菌132菌株のMCGを調べ、71グループに分かれたと報告した。その結果、単一の地域および作物のみで認められたMCGや、アメリカ合衆国カリフォルニア州、ジョージア州、ノースカロライナ州、メキシコ合衆国において複数の作物種から最大13年間にわたって同じMCGと判定されたものや、カリフォルニア州とパキスタン・イスラム共和国で同一のMCGが得られた場合もあった (Punja and Sun, 2001)。広範囲にMCGが分布する理由として、罹病作物、菌汚染土壌、農

機具の人為的移動が考えられた (Punja and Sun, 2001)。すなわち、本研究で認められたMCGの広域分布は珍しいことではなく、一般的に認められることであるが、特徴的な点は、ひとたび白絹病菌による病害が発生すると、クローン (同一MCG) が長期間その圃場で発生し続けることである。

*S. rolfii* はきわめて多犯性の病原であることが良く知られている (Domsch et al., 1993)。今回、*O. sphacelatum*での病害が認められたが、竹内 (2007)は東京都八丈島において*Oncidium hybrid*での発生、Pratt et al. (2003) はアメリカ合衆国フロリダ州において*Brassidium hybrid* (*Brassidium*は*Brassia* x *Oncidium*の人工属) での同病害の発生を報告した。これらのことから、同菌はオンシジウム属のみならず、その近縁属へも広範に病原性を有する可能性が高いと考えられた。これまで未報告のラン科植物への感染にも注意する必要がある。鉢植え栽培においては、過去に栽培された作物の種類を問わず、白絹病が発生した圃場の土壌や発生施設の資材は用いないか、十分に消毒するなどの対策が必要である。

## 摘 要

香川県で発生したオンシジウム白絹病とその病原菌の性状について詳述した。本病害は初め、葉や偽球茎の基部に水浸状不整形病斑が現れ、病斑が拡大し、やがて株全体が腐敗・枯死した。その際、病斑部には白色気中菌糸と褐色顆粒状菌核が表生した。病徴、菌核より分離した菌株OS1のコロニーや菌糸、菌核の観察により、本菌を*Sclerotium rolfii*と同定した。分離菌株OS1を健全植物に接種すると、病徴が再現され、罹病部より接種菌が再分離された。日本各地より得られた他の同種菌株との対峙培養により菌糸体と合性グループ (MCG) を調査したところ、菌株OS1は他の香川県産、東京都産および茨城県産の菌株と同一のMCGと判定され、比較的広範囲に分布するグループに属すると考えられた。

## 謝 辞

本研究を行うにあたり、MCG判定に関して貴

重なご助言を賜った, (独) 農業・食品産業技術総合研究機構 畜産草地研究所 飼料作環境研究チーム 岡部郁子博士に心より御礼申し上げます。

## 引用文献

- Domsch, K.H., W. Gams and T.H. Anderson (1993) : Compendium of soil fungi. Vol. 1. IHW - Verlag, Eching, Germany:125-129.
- 江尻光一 (1989) : オンシジウム属. 世界有用植物事典 (堀田満ら編), 平凡社, 東京 :739.
- Mordue J.E.M. (1974) : *Corticium rolfsii*. CMI Descriptions of pathogenic fungi and bacteria No. 410, Kew, Surrey, U.K.
- Nalim, F.A., J.L. Starr, K.E. Woodard, S. Segner and N.P. Keller (1995) : Mycelial compatibility groups in Texas peanut field populations of *Sclerotium rolfsii*. Phytopathology 85 : 1507 - 1512.
- 岡部郁子 (2002) : わが国における白絹病菌の遺伝の変異. 農環研報 21:1-39.
- Pratt, T.B., R.T. McMillan Jr. and W.R. Graves (2003) : First report of *Sclerotium rolfsii* on *Brassidium* hybrid orchid. Pl. Dis. 87:446.
- Punja, Z.K. and R.G. Grogan (1983a) : Hyphal interactions and antagonism among field isolates and single-basidiospore strains of *Athelia* (*Sclerotium*) *rolfsii*. Phytopathology 73 : 1279-1284.
- Punja, Z.K. and R.G. Grogan (1983b) : Germination of and infection by basidiospores of *Sclerotium* (*Athelia*) *rolfsii*. Pl. Dis. 67 : 875-878.
- Punja, Z.K. and L.J. Sun (2001) : Genetic diversity among mycelial compatibility groups of *Sclerotium rolfsii* (teleomorph *Athelia rolfsii*) and *S. delphinii*. Mycol. Res. 105:537-546.
- 竹内純 (2007) : 東京都で確認された園芸作物の初発生糸状菌病害. 東京農総研研報 2:1-106.
- 富岡啓介・佐藤豊三 (2004) : *Sclerotium rolfsii* Saccardoによるオンシジウム白絹病 (新称) . 日植病報 70:45.
- Tu, C.C. and J. W. Kimbrough (1978) : Systematics and phylogeny of fungi in the *Rhizoctonia* complex. Bot. Gaz. 139:454-466.