

クレオメに発生した菌核病 (新称)

沖友香・岡田知之
(高知県農業技術センター)

First Report of Sclerotinia Rot of Cleome caused by *Sclerotinia sclerotiorum* in Japan

By Tomoka Oki and Tomoyuki Okada
(Kochi agricultural research center, Hataeda 1100, Nankoku, Kochi 783-0023, Japan)

キーワード: クレオメ, タバコカスミカメ, 温存植物, 菌核病

緒 言

クレオメ (*Cleome spinosa* Jacq.) はフウチョウソウ科の一年草で、一般的に家庭観賞用の花きとして親しまれている。一方、害虫を捕食する雑食性の天敵タバコカスミカメは、クレオメを好み、高知県では主に天敵昆虫を維持するための温存植物として施設栽培などで利用されている (農研機構, 2015)。2015年、南国市および土佐市の施設栽培ほ場でクレオメの地上20cmより上部の茎が褐変し、萎凋枯死する障害が発生した。原因究明を行ったところ、我が国ではこれまで報告されていない *Sclerotinia sclerotiorum* (Libert) de Bary による病害であることを明らかにしたので、その概要を報告する。

なお、本報告の概要は平成28年度日本植物病理学会大会で発表した (沖, 岡田, 2016)。

材料および方法

1. 発生状況および糸状菌の分離

本障害が発生した2ほ場(南国市および土佐市)において、症状を確認するとともに、採取したクレオメの茎の褐変部分および茎内部に形成された菌核から糸状菌の分離を行った。茎の切片および菌核を2%次亜塩素酸ナトリウム溶液で表面殺菌

後、PDA平板培地上に置床し、20℃、2日間培養した。伸長した菌糸の一部を素寒天平板培地に移植して20℃、2日間培養した後、伸長した単一菌糸の先端を切り取ってPDA平板培地上に移植し、単菌糸分離を行った。南国市および土佐市ほ場の障害株から分離した菌株をそれぞれCSN01、CST01とし、以下の試験に供した。

2. 病徴再現試験

接種試験には播種6週間後のクレオメを用いた。各供試菌株をPDA平板培地上で25℃、2日間培養し、コルクボーラーで直径5mmに打ち抜いて菌そうディスクを得た。植物体の下位葉を葉柄ごと切除し、菌そうディスク表面を葉の切除痕に密着させ、プラスチックパラフィンフィルムで貼り付けて接種した。接種後の植物体は25~30℃に設定したガラス温室内で管理し、随時病徴観察を行った。対照としてPDA培地のみを貼り付けた区を設けた。接種部に異常が認められた場合は、接種菌の再分離を試みた。接種は各区3株ずつ行った。

3. 供試菌株の形態および生育温度

各供試菌株をPDA平板培地上で20℃、暗黒条件下で14日間培養したのち、菌そうを観察した。また、生じた菌核を4℃、1ヶ月間冷蔵処理し、

縦幅8 cm × 横幅15 cm × 深さ3.5 cm, 底面に穴を空けたポリスチレン容器に入れた鹿沼土に浅く埋め, 水を十分に浸漬させた。その後, 15°C, ブラックライト (FL20S・BLB 東芝) 照射下で約50日間培養して子のおよび子のう胞子の計測には光学顕微鏡 (ECLIPSE Ni, 株式会社ニコン) および走査型電子顕微鏡 (JSM-6510LV, 日本電子株式会社) を用い, 各供試菌株の子のおよび子のう胞子50個を供試した。さらに, 塩酸ギムザ法により核を染色し, 子のう胞子の核数を調査した。染色法は内藤・尾上 (1968) の方法に従ったが, 胞子の固定には酢酸:99.5% エタノール=1:3を用いた。

また, 菌糸生育温度を調査するため, 各供試菌株を PDA 平板培地上で 4, 15, 20, 25, 30 および 40°C の暗黒下で培養し, 2 日後の菌そう直径から 1 日当たりの菌糸伸長量を求めた。

4. 供試菌株の塩基配列の解析

各供試菌株の rDNA-ITS 領域の解析を行うため, PDA 平板培地上で培養した各供試菌株の菌糸を少量かきとって 1.5 ml チューブに入れ, 5 分間煮沸処理し, DNA を粗抽出した。ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') (White *et al.*, 1990) および NL4 (5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3') (O'Donell, 1993) のプライマーセットで PCR を行い, 得られた増幅産物の塩基配列をシーケンサー (3500/3500xL Genetic Analyzer, Applied Biosystems) で解析した。得られた分離菌株の塩基配列と既知菌株の相同性を NCBI (National Center for Biotechnology Information) のホモロジー検索プログラム (BLAST) により比較検討した。

結果および考察

1. 発生状況

2015年5月20日, 高知県南国市の施設栽培ナスほ場において発生したクレオメの障害株は, 地際付近の茎は正常であったが, 地上20cmの茎の一

部から上部にかけて枯死しており, 茎内部にネズミの糞状の菌核が認められた。また, 同年6月1日にも土佐市の施設栽培キュウリほ場にて同様のクレオメの障害株を認めた。

2. 供試菌株の病原性

南国市および土佐市ほ場の障害株から分離した菌株をクレオメに接種し, 2~3日後には接種部位を中心に茎が褐色水浸状に変化し, やがて白色綿毛状の菌糸が生じた。また, 接種10日後には接種部より上部が枯死し, 接種部付近の茎表面および茎内部に黒いネズミ糞状の菌核の形成を確認した (第1図)。接種により生じた障害部からは接種菌と同一の糸状菌が再分離された。一方, PDA 培地のみを貼り付けた区では発病は認められなかった。これらの結果から, 供試菌株が病原菌であることが確認された。



第1図 クレオメ菌核病の症状
左: 萎凋した茎葉
右: 茎表面に形成された菌核

3. 供試菌株の形態および菌糸生育温度

供試菌はいずれもほぼ同様の形態を示した。PDA 平板培地上における菌そうは白色綿毛状を呈し, 分生子の形成は認められなかった。菌核は黒色, 楕円形~不整形のネズミ糞状, 大きさ1.4~5.4×1.1~4.9 (平均3.7×3.0) mm で, しばしば隣接する菌核と融合する形で生じた。子のう盤は, カップ状で有柄, 頭部は円盤状に窪み, 断面は褐色~茶褐色, 頭部の直径は2.0~5.9 (4.2) mm, 柄長1.1~4.1 (2.2) mm であった。子の

第1表 供試菌株と既報の *Sclerotinia sclerotiorum* の形態比較

項目	供試菌株		<i>S. sclerotiorum</i>		
	CSN01	CST01	漆原ら(1999)	堀江・星(2002)	嶋田ら(2006)
菌核の大きさ(mm)	1.4~5.1	3.1~5.4	1.5~10	2.1~13.3	3.4~9.1
	×	×	×	×	×
	1.1~3.7 (3.2×2.4)	2.5~4.9 (4.1×3.5)	1~5 (3.0×2.6)	0.7~3.3	1.7~4.0 (2.3×4.7)
子のう盤(mm)	2.0~5.9(4.0)	2.6~5.8(4.5)	1~5	2.8~6.8(4.1)	2.2~5.6(3.0)
子のう盤の柄(mm)	1.1~2.3(1.7)	1.7~4.1(2.8)		3.1~9(5.7)	2.6~6.9(4.1)
子のう(μm)	100~151	91~119	110~148	122.5~165	123~173
	×	×	×	×	×
	5.8~13.0 (131.9×8.9)	4.5~11.0 (103.3×7.5)	6~10 (128.8×7.9)	7.5~10 (150.3×8.1)	8.1~10.6 (150×9.4)
子のう胞子(μm)	11.9~16.2	7.1~21.0	9~15	10~15	10~15.6
	×	×	×	×	×
	4.9~8.3 (14.0×6.7)	2.9~11.2 (11.6×5.6)	4~6 (11.2×4.8)	5~6.3 (12.4×5.1)	5~7.5 (13.0×6.3)
子のう胞子の核数	2	2	2	2	2

()内は平均値を示す。

うは、無色、円筒状で91~151×4.5~13.0 (117.6×8.2) μm、子のう胞子を単列に8個内包していた。子のう胞子は無色、単胞、楕円形で、2核を有し、表面は平滑、大きさは7.1~21.0×2.9~11.2(12.8×6.2) μmであった(第1表、第2図)。

以上の形態的特徴は、漆原ら(1999)、堀江・星(2002)、嶋田ら(2006)による *Sclerotinia sclerotiorum* (Libert) de Bary の記載とほぼ一致した。

分離菌株の菌糸生育は15、20、25、30℃で認められ、4℃および40℃では生育しなかった。生育適温は25℃付近と考えられた(第3図)。

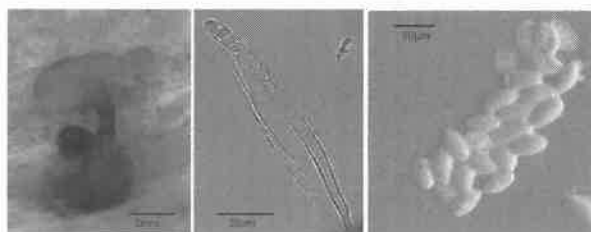
4. 病原菌の遺伝子解析

各供試菌株の rDNA-ITS 領域の塩基配列を解析したところ、既知の *S. sclerotiorum* (GenBank: KP292616) の登録塩基配列と100%の相同性を示し(データ省略)、形態観察による同定結果が支持された。

5. 病原菌の同定および病名

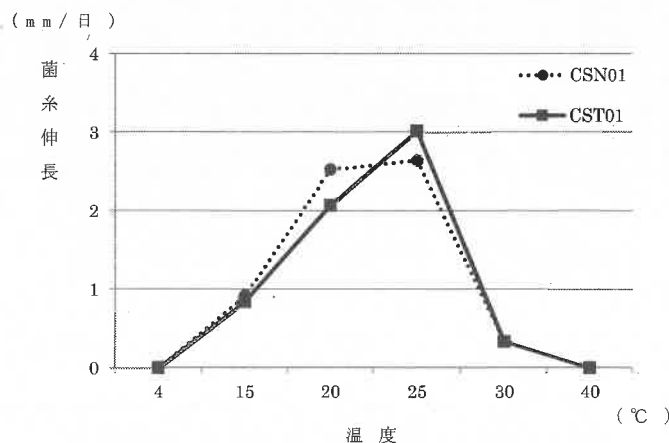
以上のことから、今回の分離菌を *S. sclerotiorum* と同定した。

クレオメでは本菌による病害は未記録であるた



第2図 供試菌株の形態

左：菌核上に生じた子のう盤
中：子のう
右：子のう胞子



第3図 供試菌の各温度における菌糸伸長

め、病名として菌核病 (Sclerotinia rot) を提案する。

摘 要

2015年に高知県南国市および土佐市の施設栽培ほ場において、クレオメの茎が褐変し、萎凋枯死する障害を確認した。障害株の茎内部にはネズミの糞状の黒色菌核が形成されていた。分離菌をクレオメに接種すると原病徴が再現され、接種菌が再分離された。分離菌の子のう盤および子のう胞子の形態的特徴から *S. sclerotiorum* と同定され、rDNA-ITS 領域の解析結果でも支持された。本菌によるクレオメの病害は国内では未報告のため、*S. sclerotiorum* によるクレオメ菌核病 (Sclerotinia Rot) と提案する。

引 用 文 献

- 堀江博道・星 秀男 (2002) : プーバルジア菌核病 (新称) の発生. 関東東山病虫研報, 49 : 69~71.
- 内藤中人・尾上孝利 (1968) : 3種のさび病菌夏胞子の fusion body および infection structure における核. 日植病報, 34 : 103~108.
- 農研機構 (2015) : 施設キュウリとトマトにおける IPM のためのタバコカスミカメ利用技術マニュアル
- O' Donnell K. (1993) : Fusarium and its near relatives, The Fungal Holomorph (D. R. Reynolds and J. W. Taylor, eds.) Mitotic, Meiotic and Pleomorphic Speciation in Fungal Systematics, CAB International, Wallingford. : 225~233.
- 嶋田竜太郎・星秀男・竹内純 (2006) : コマツナに発生した菌核病 (新称). 関東東山病虫研報, 53 : 69~71.
- 漆原寿彦・酒井宏・萩原廣・井智史・浅見暁子 (1999) : ラナンキュラスの菌核病 (新称). 関東東山病虫研報, 46 : 61~62.
- White, T. J., T. Bruns, S. Lee and J. Taylor (1990): Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics (M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky and T. J. White, eds.) PCR Protocols. a guide to methods and applications, academic press, New York. : 315~322.