

## 野生イネ科植物に寄生する葉枯性病原菌類の採集と同定

Collection and Identification of Fungi Causing Leaf Blight of Wild Gramineous Plants in Japan

月星隆雄<sup>\*1</sup>・鍾 文鑫<sup>\*2</sup>・吉田重信<sup>\*</sup>

Takao Tsukiboshi, Wen H. Chung and Shigenobu Yoshida

## はじめに

野生イネ科植物は畑および水田等で雑草として繁茂し、農業生産に及ぼす影響は大きい。このため、除草剤による防除の対象となるが、近年の化学農薬抑制の流れから、これらの植物に寄生する微生物を除草剤として活用しようとする動きがある。このため、わが国で各種野生イネ科植物に寄生する微生物菌種を把握しておくことは、微生物インベントリーを構築するためにも重要である。ここでは野生イネ科植物に葉枯病性症状を引き起こす、各地で採集した糸状菌類の同定を行うことを目的とする。

## 材料と方法

山形県、茨城県、群馬県、鳥取県、沖縄県の各地で、2000-2003 年にかけて、葉身に病斑を形成した野生イネ科植物を採集し、乾燥標本として保存した。さび病などすでに胞子を形成しているものは、これをかき取り検鏡した。胞子形成の見られなかった標本については、病斑部分を切り取り、常法に従い表面殺菌後、25℃、BLB 光間欠照射下に 3-4 日間置いて胞子を形成させ、形態を観察した(月星, 1999)。

培養可能な菌種については、常法に従って全 DNA を抽出し、プライマー ITS1 および ITS4 を用いて、rDNA の ITS1+5.8s rDNA+ITS2 領域を PCR 法により増幅した(White *et al.*, 1990)。得られた PCR 産物を精製後、Dye Terminator 法でダイレクトシーケンスを行った。シーケンスデータについては、GenBank 上でホモロジー検索を行い、分類学的な位置を検討した。

種名を決定した菌株については、農林水産省農業生物資源微生物ジーンバンクに MAFF 番号を付けて、登録した。

イヌムギを分離源とする *B. sorokiniana* 菌株については接種試験を行い、V8 培地上、25℃、BLB 間欠照射下で培養し、形成された胞子を水中に懸濁して、温室で種子から育苗したコムギ、イヌムギ、オーチャードグラス、ケンタッキーブルーグラス、トールフェスク、イタリアンライグラス、ペレニアルライグラス、エンバク、チモシーに噴霧接種した。1 区につき 5-10 個体の植物を供試し、3 反復した。調査は接種後 10 日後に行った。

\* 農業環境インベントリーセンター 微生物分類研究室 (1 現農研機構花き研究所, 2 現化学環境部)

Microbial Systematics Laboratory, Natural Resources Inventory Center

インベントリー, 第 3 号, p. 3- 8(2004)

## 結果と考察

16 菌株を観察・分離し、うち 11 菌株は種名を、5 菌株は属名を決定した (表 1)。

1. *Bipolaris nodulosa* (Berk. & Curtis) Shoem.

オヒシバのかすれ症状から群馬県で 1 菌株を採集した。オヒシバ葉枯病菌として既に報告されている (西門, 1928)。分生子柄は褐色,  $55.8-178.8 \times 5.3-7.8 \mu\text{m}$ , 分生子は淡褐色～褐色, 卵形～倒棍棒形, 真直,  $22.0-56.8 \times 12.0-25.3 \mu\text{m}$ , 3-6 偽隔壁で, 形態的に原記載とほぼ一致した (図 1A)。rDNA 配列は登録が無く, 形態的に近縁の *B. kusanoi* (Nisik.) Shoem. (AF071352) と 96% の相同性をもっていた。MAFF306655 として登録した。オヒシバへの病原性は未確認。

2. *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem.

イヌムギの褐点斑点 (群馬県および茨城県), 不明イネ科草の円形斑 (鳥取県) および褐色斑 (京都府) から 4 菌株を採集した。イヌムギ斑点病菌等として既に報告されている (西原, 1991)。分生子柄は淡褐色～褐色,  $53.1-216.1 \times 4.9-8.9 \mu\text{m}$ , 分生子は暗オリーブ褐色, 紡錘形～楕円形, 真直またはやや湾曲し,  $37.2-120.6 \times 15.0-29.2 \mu\text{m}$ , 4-9 偽隔壁で, 形態的に原記載とほぼ一致した (図 1B)。rDNA 配列は GenBank 登録の *B. sorokiniana* (AF158105) と 100% の相同性をもっていた (菌株 No.186)。MAFF306656 (No.186), 306668, 306669 として登録した。イヌムギから分離した MAFF306656 の病原性を調査した結果, イヌムギに最も強い病原性を示し, その他, トールフェスク, イタリアンライグラスにも明確な病原性を示した (表 2)。従って, イヌムギ菌が, これら作物の *B. sorokiniana* による斑点病および夏斑点病の野外での接種源となっていることが示唆された。

3. *Exserohilum monoceras* (Drechsler) Leonard & Suggs

ケイヌビエの葉枯症状から山形県で 1 菌株を採集した。イヌビエ葉枯病菌として既に報告されている (西門, 1928)。分生子柄は褐色,  $297.5-343.6 \times 7.0-7.7 \mu\text{m}$ , 分生子は淡褐色～オリーブ褐色, 紡錘形, 真直または湾曲し,  $70.3-157.6 \times 13.5-23.3 \mu\text{m}$ , 4-7 偽隔壁で, 形態的に原記載とほぼ一致した (図 1C)。イヌビエへの病原性は未確認。

4. *Exserohilum rostratum* (Drechsler) Leonard & Suggs

ヒエ類およびヒゲシバ類のごま葉枯症状 (沖縄県), ノガリヤス類の小斑症状 (鳥取県) 等から 5 菌株を採集した。ギニアグラスおよびバミューダグラス上での葉上生息菌として既に報告した (月星, 2003)。分生子柄はオリーブ褐色,  $75.6-279.6 \times 4.2-7.7 \mu\text{m}$ , 分生子は淡オリーブ褐色～オリーブ褐色, 長楕円形～先端の長く細まった倒棍棒形, 真直または湾曲し,  $61.9-274.7 \times 10.6-24.6 \mu\text{m}$ , 6-16 偽隔壁で, 形態的に原記載とほぼ一致した (図 1D)。rDNA 配列は *E. rostratum* (AF163066) と 99% の相同性をもっていた。MAFF306634, 306635, 306639 として登録した。宿主植物への病原性は未確認。

5. *Uredo* sp.

沖縄県のキビ類, ヒゲシバ類, チガヤ類のイネ科野草およびネズミガヤのさび病斑から 5 菌株を採集した。ヒゲシバ類のさび病はわが国で初めての報告である (Hiratsuka *et al.*, 1992)。キビ類の夏胞子は明褐色, 楕円形, 直径  $23.4-35.2 \mu\text{m}$ , 表面刺状, 発芽孔 2-3 個を散生し, 既報の *Uromyces setariae-italicae* Yoshino と類似する。ネズミガヤの夏胞子はオリーブ褐色, 基端の突き出た楕円形～洋梨形,  $17.8-34.4 \times 12.9-24.9 \mu\text{m}$ , 表面刺状, 発芽孔 2-4 を遠赤道部に形成, 頭状側糸をもち, 既報の *Uromyces muehlenbergiae* S. Ito と類似する (図 1E)。チガヤ類の夏胞子は明褐色, 楕円形,  $19.9-39.5 \times 18.6-33.2 \mu\text{m}$ , 表面刺状, 発芽孔 3-4 個を赤道部近くに形成し, 頭状

側糸をもち、既報の *Puccinia miscanthi* Miura と類似する (図 1F)。ヒゲシバ類の夏胞子は淡黄色～淡褐色、円形～楕円形、直径 14.3-25.0 $\mu$ m、表面刺状、発芽孔 5-7 個を散生し (図 1G)、海外で報告されている *P. cacabata*, *P. chloridis* との異同について検討が必要である。いずれの菌についても、夏胞子しか観察できなかつたため、いずれも *Uredo* sp. とする。

#### 参考文献

- 1) Hiratsuka, N. *et al.* (1992): The rust flora of Japan, 1205p., 筑波出版会, つくば
- 2) 西原夏樹(1991): 日本産イネ科牧草のヘルミントスポリウム病. 草地試研究資料 2, 草地試験場
- 3) 西門義一(1928): 日本産禾本科植物の「ヘルミントスポリウム」病に関する研究. 大原農業研究所特別報告 4, 大原奨農会
- 4) 月星隆雄(1999): イネ科植物寄生性 *Drechslera*, *Bipolaris*, *Exserohilum* 属菌. 微生物遺伝資源利用マニュアル, 6, 1-29, 農業生物資源研究所
- 5) 月星隆雄(2003): 沖縄県でのイネ科植物寄生性 *Bipolaris*, *Curvularia*, *Exserohilum* 属菌の収集. 微探収報, 15, 21-28
- 6) White, T. J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J. (1990): Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics., 315-322, Academic Press, New York

表1. 野生イネ科植物に寄生する糸状菌類の種名と来歴

菌株番号	MAFF番号	菌種名	症状	宿主和名	宿主学名	採集場所	採集年月日
178	306655	<i>Bipolaris nodulosa</i>	かすれ状	オヒシバ	<i>Eleusine indica</i>	群馬県高崎市	2001/11/12
186	306656	<i>B. sorokiniana</i>	褐色小斑点	イヌムギ	<i>Bromus catharticus</i>	群馬県富士見村	2001/11/13
Tuk-1		<i>B. sorokiniana</i>	褐色斑点	イヌムギ	<i>Bromus catharticus</i>	茨城県つくば市観音台	2002/10/30
460	306668	<i>B. sorokiniana</i>	円形斑	イネ科草		鳥取県鳥取市湖山池	2003/10/27
500	306669	<i>B. sorokiniana</i>	褐色斑	イネ科草		京都府船井郡和知町	2003/10/29
333		<i>Exserohilum monoceras</i>	葉枯病	ケイヌビエ	<i>Echinochloa crus-galli</i> var. <i>aristata</i>	山形県山形市	2002/9/19
198	306635	<i>E. rostratum</i>	ごま葉枯	ヒエ類	<i>Echinochloa</i> sp.	沖縄県石垣市宮良	2002/2/18
204		<i>E. rostratum</i>		チヂミザサ類	<i>Oplismenus</i> sp.	沖縄県石垣市名蔵	2002/2/19
OKI-12	306634	<i>E. rostratum</i>		オヒシバ	<i>Eleusine indica</i>	沖縄県名護市	2000/7/8
252	306639	<i>E. rostratum</i>	ごま葉枯	ヒゲシバ類	<i>Chloris</i> sp.	沖縄県石垣市大里	2002/2/21
474		<i>E. rostratum</i>	小斑	ノガリヤス類	<i>Calamagrostis</i> sp.	鳥取県鳥取市多鯨ヶ池	2003/10/28
213		<i>Uredo</i> sp.	さび病	キビ類	<i>Panicum</i> sp.	沖縄県石垣市真栄里川	2002/2/19
218		<i>Uredo</i> sp.	さび病	ネズミガヤ	<i>Muhlenbergia japonica</i>	沖縄県石垣市真栄里川	2002/2/19
229		<i>Uredo</i> sp.	〃	〃	<i>Muhlenbergia japonica</i>	沖縄県竹富町大原	2002/2/20
222		<i>Uredo</i> sp.	さび病	チガヤ類	<i>Imperata</i> sp.	沖縄県石垣市開南	2002/2/19
248		<i>Uredo</i> sp.	さび病	ヒゲシバ類	<i>Chloris</i> sp.	沖縄県石垣市三和	2002/2/21

表2. *Bipolaris sorokiniana* イヌムギ菌株(MAFF306656)の各種植物への病原性

植物	品種	病原性*
イヌムギ		2.7
コムギ		1.7
オーチャードグラス	ワセミドリ	1.0
	アキミドリ	1.9
ケンタッキーブルーグラス		0.1
トールフェスク		2.0
イタリアンライグラス		2.3
ペレニアルライグラス		0.3
エンバク	ニューオーツ	1.3
	ニューオールマイティ	1.8
	太豊	1.2
チモシー		0.0

\*: 病原性 (0: 無病徴, 1: 小型病斑を少数形成, 2: 小型病斑を中程度形成, 3: 大型病斑を多数形成)

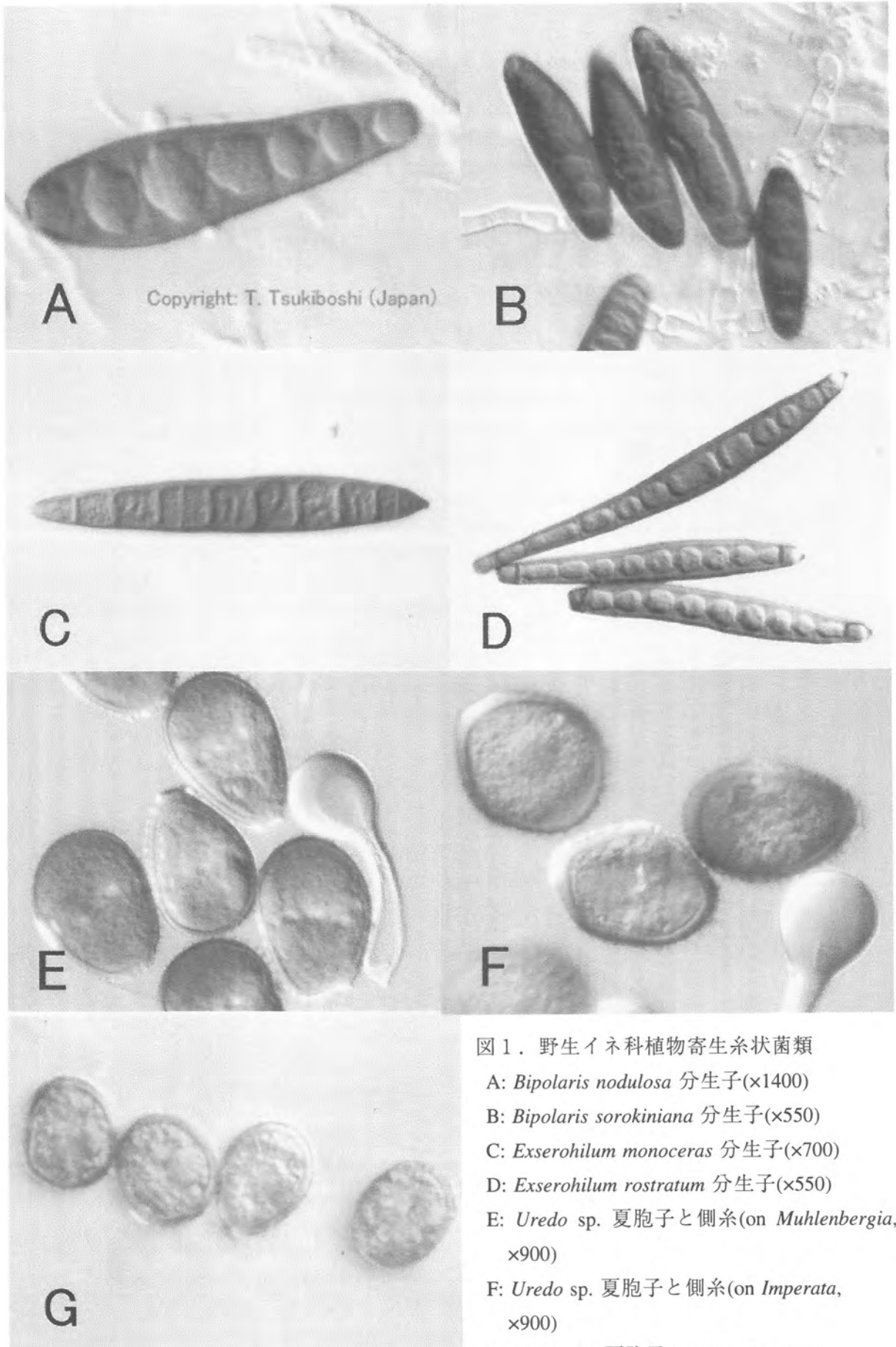


図1. 野生イネ科植物寄生糸状菌類  
A: *Bipolaris nodulosa* 分生子(×1400)  
B: *Bipolaris sorokiniana* 分生子(×550)  
C: *Exserohilum monoceras* 分生子(×700)  
D: *Exserohilum rostratum* 分生子(×550)  
E: *Uredo* sp. 夏胞子と側糸(on *Muhlenbergia*, ×900)  
F: *Uredo* sp. 夏胞子と側糸(on *Imperata*, ×900)  
G: *Uredo* sp. 夏胞子(on *Chloris*, ×900)