

クルクマさび斑病菌の再同定

竹内 純・佐藤豊三*

(環境部・*農業生物資源研究所)

【目 的】

クルクマ(*Curcuma alismatifolia* Hort.)のさび斑病は全国的に発生している深刻な病害であり、1994年にその病原菌を *Acremonium* 属の一種として報告した。一方、米独の研究者らにより1995年に新属新種として *Plectosporium tabacinum* (van Beyma) M.E.Palm, W.Gams & Nirenberg が設立された。その後、命名者の一人である W.Gams によりクルクマさび斑病菌と *P.tabacinum* の類縁関係が指摘された。そこで、クルクマさび斑病菌およびわが国に産する *P.tabacinum* の分類および病原性について検討する。

【試験方法】

1) 供試菌株：東京都農業試験場寄託5菌株を含む農業生物資源研究所微生物ジーンバンク保存20菌株(19菌株は植物病原菌あるいは植物基質由来、1菌株土壌由来)(表1)。
2) 菌叢生育調査：PDA, 20℃, 7日間培養。3) rDNA(ITS領域)の相同性調査：PCR法による増幅、キャピラリー型・ゲル型DNAシーケンサーによる配列決定。4) 形態特性調査：SNAおよびPDA培地を用いたスライドカルチャー法による観察。5) 4菌株を供試し、各分離源宿主への相互接種による病原性分化を確認。

【成果の概要】

- 1) 菌叢生育は2.5～4.4mm/日で Palm et al.(1995)の記載の範囲内にあった(表2)。
- 2) 全菌株とも、Primer ITS1F:5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3' および ITS 4:5'-TCCTCCGCTTATTGATATGCを用いたPCRで増幅産物が得られた。このうち18菌株のDNAシーケンス結果をMAFF238636(IFO 30005)を基準に相同性検索をしたところ92.5～99.8%のhomologyを示した(表2)。また供試菌株の配列をDDBJ(日本DNAデータバンク)のHPで検索したところ、*P.tabacinum*の完全世代である *Plectosphaerella cucumerina* と相同性が認められた。
- 3) 全供試菌株とも、分生子および分生子形成細胞(フィアライド)の形状は類似した。分生子はフィアロ型に形成され、無色、楕円形、平滑、0～1隔壁であった。分生子の大きさは、オモダカ分離菌株では長径の平均値15.1と大型であったが、他の菌株は6.5～10.3の範囲にあった(表3)。フィアライドは先端に円筒形のカラーを有し、ときに尖端部が捻転した。またフィアライドに混在してアデノフィアライドも観察された。
- 4) カボチャ、ランタンキュラス、クルクマおよびオモダカ分離菌株をカボチャおよびクルクマに接種するとカボチャに病原性を示したのはカボチャ分離菌のみで、クルクマに病原性を示したのはクルクマ分離菌のみであり、分離源に特異的に病原性を示した。
- 5) まとめ：以上の結果から全供試菌株とも *P.tabacinum* と判断されるが、分生子がやや大型のオモダカ分離菌についてはなお精査を要する。

表1 供試菌株の来歴

菌株番号	分離源	採集場所
MAFF238627	カボチャ	鹿児島県
MAFF238629	ラナンキュラス葉柄基	香川県
MAFF238633	アネモネ 葉柄基	千葉県
MAFF238634	ピーマン 葉	愛媛県
MAFF238635 (IFO 9985, CBS登録菌株)	ニオイスミレ	エジプト
MAFF238636 (IFO 30005)	干刈湖底質	兵庫県
MAFF238802	クルクマ 葉	沖縄県志川市
MAFF238958 (P1Cu-1-1-H)	クルクマ 葉	東京都八丈町
MAFF238959 (P1Cu-1-B)	クルクマ 葉	東京都小笠原村父島
MAFF238960 (P1Cu-2-O)	クルクマ	東京都大島町
MAFF238961 (P1Cu-3-Y)	クルクマ	東京都江東区
MAFF238962 (P1Cu-6-C)	クルクマ	東京都調布市
MAFF238963 (CCL21)	クルクマ	千葉県富山町
MAFF238964 (MR43)	ダイコン 主根	神奈川県三浦市
MAFF238965 (YR113)	ダイコン 主根	神奈川県横須賀市
MAFF238966 (RP63)	ダイコン 葉	宮崎県
MAFF238967 (T1H2)	トマト 茎基部	香川県大野原町
MAFF238968 (78710=712052)	キュウリ 葉	三重県津市
MAFF238969 (86711=712095)	シロウリ 茎	茨城県
S572	オモダカ 葉	栃木県益子町

表2 供試菌株の菌叢生育とITS(rDNA)相溶性

菌株番号	菌叢生育 ^{b)} ITS HOMOLGY ^{c)}
MAFF238627	4.0mm/日 94.2%
MAFF238629	4.0 98.9
MAFF238633	4.4 99.8
MAFF238634	4.2 92.4
MAFF238635	3.9 94.3
MAFF238636	4.2 100.0
MAFF238802	2.7 95.9
MAFF238958	3.1 93.7
MAFF238959	3.3 92.3
MAFF238960	3.3
MAFF238961	3.4 94.2
MAFF238962	3.4 94.5
MAFF238963	3.2 93.1
MAFF238964	4.7 97.0
MAFF238965	4.7 99.0
MAFF238966	4.5 93.1
MAFF238967	4.7 96.4
MAFF238968	4.2 99.8
MAFF238969	4.1 92.5
S572	2.5
<i>Plectosporium tabacinum</i> ^{a)}	2~6

a) Palm, Gams & Nirenberg (1995), b) 20°C, PDA
 c) MAFF238636 (IFO 30005) との相溶性数値
 Primer ITS1F: 5'-CTTGGTCATTAGAGGAAGTAA-3'
 Primer ITS 4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC

表3 供試菌株の形態的特徴

菌株番号 (分離源)	培地	分生子の大きさ 長径×短径 (平均) μm		0隔壁 分生子の 検出率 (%)	フィアライドの大きさ (平均) μm	
		1隔壁型	0隔壁型		長さ×最大幅	先端幅
MAFF238627 (カボチャ)	SNA	5~11×1.2~2.7(8.2×1.9)	4~6×2(5×2)	4.8	3~28×1~2.5(14.7×1.9)	0.5~1(0.8)
	PDA	7~12.5×1.7~3(9.3×2.2)	7~8.5×1.5(7.5×1.5)	7.0	5~32×1.5~3.3(12.8×2)	0.5~1.5(1.1)
MAFF238629 (ラナンキュラス)	SNA	5.5~11×1.2~2.5(8.4×1.7)	4~6×1(5×1)	7.0	5~26×1~3.5(12.8×1.6)	0.5~1(0.7)
	PDA	7~13×1.7~3(10.5×2.4)	観察されず	0	5~25×1~2.5(12.5×1.6)	0.5~1.2(0.8)
MAFF238633 (アネモネ)	SNA	6~10×1.2~3(7.9×1.9)	3.5~8.5×1~2.5(5.5×1.4)	20	5~23×1~2.5(13.5×1.8)	0.5~1(0.8)
	PDA	6~14×1.2~3(8.6×2.3)	3.5~6.5×1.2~3.7(5.4×2)	13.0	5~30×1~3(20.3×2.1)	0.5~1.5(1.1)
MAFF238634 (ピーマン)	SNA	5~9.5×1~2.7(7.4×1.6)	4~4.5×1(4.3×1)	5	4~27×1~3(14.9×1.9)	0.5~1(0.7)
	PDA	6~11×1.2~3(8.4×2.3)	3~7×1~2.2(5.3×1.4)	18.4	7~32×1~2.7(18×1.9)	0.5~1.5(1.1)
MAFF238635 (土壌)	SNA	5.5~10.5×1.2~2(8.1×1.6)	4~8×1~2(5.3×1.2)	20	4~20×1~2(11.0×1.3)	0.5~1(0.6)
	PDA	6.5~11×1.5~3(9×2.3)	12.5~8×1.5~2(6.4×1.9)	21.6	6~32×1~2.2(16.9×1.6)	0.5~1.2(0.9)
MAFF238636 (ニオイスミレ)	SNA	5.5~11.5×1.2~2.5(7.4×1.9)	3~5×1~2(3.6×1.2)	16.7	6~21×0.7~2.7(13.8×1.6)	0.5~1(0.7)
	PDA	6~11.5×1.7~3.5(8.6×2.2)	7×2(7×2)	2.4	6~29×1~2.5(18.2×1.9)	0.7~1.5(1.2)
MAFF238802 (クルクマ)	SNA	6~10×1.7~5(8×2.7)	4.5~8.5×2~3.5(5.7×2.5)	32.2	6~26×1~2(13.8×1.6)	0.5~1(0.7)
	PDA	7~12.5×2.2~4(8.7×2.9)	5.5~9×2.2~3.5(7.4×2.8)	16.7	5~38×1~3(20.3×2.1)	0.5~1.5(1)
MAFF238958 (クルクマ)	SNA	7.5~11×2~5.5(9.4×2.7)	5~7.5×1.2~3.5(6.4×2.8)	23.1	6~29×1~2.5(12.7×1.5)	0.5~1(0.7)
	PDA	7~12×2~3.5(9.8×2.7)	6.5~9.5×2~3.3(8×2.6)	28.6	6~36×1.5~2.5(19.3×1.8)	0.7~1.5(1.2)
MAFF238959 (クルクマ)	SNA	6~10.5×1.7~3(8.6×2.3)	5~8×1.7~2.5(6.1×2.1)	18.4	5~26×1~2.5(15.6×1.5)	0.5~1(0.8)
	PDA	6~10.5×2~3.7(8.4×2.6)	6.5×2(6.5×2)	2.4	5~27×1.2~2.5(14.1×1.8)	0.5~1(1)
MAFF238960 (クルクマ)	SNA	7~10.5×1.2~4(8.1×2.4)	4~8×1~2.2(6.1×1.5)	16.7	6~23×1~2.5(13.3×1.7)	0.5~1.2(0.9)
	PDA	5.5~10.5×1.2~3.3(7.5×2.2)	6~7.5×1~1.5(6.8×1.3)	4.8	4~24×1~2(12.8×1.5)	0.5~1(0.7)
MAFF238961 (クルクマ)	SNA	6~12×1.5~4.5(8.4×2.8)	5.5~7.5×2.5~3.5(6.5×2.9)	20	5~26×1~2(13.1×1.4)	0.5~1(0.6)
	PDA	6~10.5×2.2~3.5(8.4×2.7)	4~6.5×1.2~3(5×2.2)	11.1	5~21×1.2~2.5(13.2×1.7)	0.7~1.5(0.6)
MAFF238962 (クルクマ)	SNA	6.5~11×1.5~3.5(8.4×2.2)	4.5~8×1~3(6.1×2)	16.7	9~28×1~2.5(14.6×1.5)	0.5~1(0.8)
	PDA	6~10.5×1.7~3.5(8.5×2.5)	5~8×1.8~3(6.1×2.2)	16.7	4~32×1~2.5(13.6×1.8)	0.5~1.5(1)
MAFF238963 (クルクマ)	SNA	6~11×1.5~2.5(8.4×2.1)	4.5~7×1.5~3(6.5×2)	11.1	4~27×1~2.5(14.8×1.7)	0.5~1(0.9)
	PDA	5.5~12.5×1.7~3.7(8.2×2.4)	4×2.5~3(4×2.5)	2.4	6~28×1~2(14.7×0.7)	0.5~1(0.7)
MAFF238964 (ダイコン)	SNA	4~9.5×1.2~3(7.7×1.8)	3~6.5×1~1.5(4.4×1.1)	24.5	2~27×1~2.5(13.5×1.7)	0.5~1(0.7)
	PDA	7~11.2×1.5~3(9×2.3)	3.5~8×1.2~3(6.2×2.1)	11.1	8~35×1~2(13.1×1.4)	0.7~1.5(1.1)
MAFF238965 (ダイコン)	SNA	4~10×1~2.7(6.5×1.7)	1.5~4×1~2.7(2.7×1.2)	25.9	5~22×1~2.5(12.5×1.7)	0.5~1(0.6)
	PDA	6~12×2~2.7(9.6×2.3)	5.5×3.5(5.5×3.5)	2.4	5~29×1~2.2(13.4×1.7)	0.5~1.5(0.9)
MAFF238966 (ダイコン)	SNA	4~8×1.3~2.5(6×1.8)	2.5~4.5×1~2.5(3.5×1.7)	13.0	4~18×0.7~2.5(11.3×1.6)	0.5~1(0.7)
	PDA	5~9.5×1~2.5(7×1.6)	4×1~1.7(4×1.4)	4.8	4~27×1~2.5(14.2×1.9)	0.5~1.2(0.7)
MAFF238967 (トマト)	SNA	6~11×1~2.5(8.2×1.7)	4~5.5×1.5~2.5(4.8×2)	13.0	5~20×1~2.5(10.9×1.3)	0.5~1(0.6)
	PDA	7~13×2~3.5(10.3×2.5)	5~6×2~2.2(5.5×2.1)	4.8	5~25×1.2~2.7(12.9×1.7)	0.5~1.2(0.9)
MAFF238968 (キュウリ)	SNA	6~10.5×1~3(8.9×1.9)	4.5~5×1(4.8×1)	7.0	4~25×1~3(14.9×1.9)	0.5~1(0.7)
	PDA	7~13×1.5~2.5(9×2)	4~11×1.2~2(6.3×1.7)	27.3	4~29×1.5~2.5(19.5×1.9)	0.7~1.5(1.1)
MAFF238969 (シロウリ)	SNA	6.5~11×1~3.5(8.8×1.9)	4.5~8.5×1~1.2(6×1.0)	9.1	4~25×1~2.5(13×1.6)	0.5~1(0.7)
	PDA	7~11×1.5~3(9.5×2.2)	5.5~7.5×1.5~2.7(6.5×1.8)	13.0	4~31×1.5~2.7(19.6×1.9)	0.7~1.5(1.1)
S572 (オモダカ)	SNA	10~18.5×2.5~4(15.1×3)	10×2.7(10×2.7)	2.4	5~25×1~3.5(14.3×1.7)	0.5~1(0.7)
	PDA	11~17.5×2.2~3.5(15.1×2.7)	観察されず	0	7~34×1.5~3(18.1×2.1)	0.5~1.5(1.1)
<i>Plectosporium tabacinum</i> ^{a)}	SNA	7.3~13.6×2.3~2.7~3.6	4.6~10.9~13.6×2.3~2.7~3.6		2.3~5.5~28.8~45×1.4~1.8~3.1~3.6	1.1~1.8
	PDA	7.3~10.9~11.2×1.8~2.3~2.7	5~5.5~9.6~10.9×1.8~2.3~2.7		2.3~5.5~28.8~31.5×1.4~1.8~3.1~3.6	1.1~1.8

a) Palm, Gams & Nirenberg (1995)