

Rhizoctonia solani菌糸融合群AG-1亜群IBによるオミナエシの苗立枯病(新称)

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者	窪田, 昌春 富岡, 啓介 佐藤, 豊三
巻/号	75巻2号
掲載ページ	p. 116-118
発行年月	2009年5月

Rhizoctonia solani 菌糸融合群 AG-1 亜群 IB によるオミナエシの苗立枯病 (新称)

窪田 昌春^{1*}・富岡 啓介²・佐藤 豊三²

ABSTRACT

KUBOTA, M.^{1*}, TOMIOKA, K.² and SATO, T.² (2009). Damping-off of Dahurian patrinia caused by *Rhizoctonia solani* AG-1 IB in Japan. Jpn. J. Phytopathol. 75: 116-118.

Rhizoctonia solani AG-1 IB was isolated from seedlings of Dahurian patrinia (*Patrinia scabiosaefolia*) with damping-off, and pathogenicity of the fungus was confirmed. This report is the first of damping-off of Dahurian patrinia caused by *R. solani* in Japan.

(Received June 9, 2008; Accepted September 24, 2008)

Key words: Dahurian patrinia, *Rhizoctonia solani* AG-1 IB, damping-off, ornamental crop, new disease

オミナエシ (*Patrinia scabiosaefolia* Fischer) は多年生草本で、本邦においては秋の七草の1つとして親しまれており、観賞用として栽培も行われている。1999年3月、香川県善通寺市のガラス温室で鉢植栽培中のオミナエシ幼苗に、最初、茎葉が腐敗し、やがて株全体が立ち枯れる病害が発生した。本病は、同市内2地区の温室内で育成されていた計300鉢全てで発生した。本病では初め、地際の茎に水浸状の不整形病斑が現れ、病斑が次第に上方に向かって拡大するとともに、植物全体が萎れ、やがて罹病茎葉が乾燥して枯死に至った (Fig. 1A)。病徴が顕著であった苗の罹病茎を0.5~1.0 cmに切り取り、70%エタノールに10秒、次いで次亜塩素酸ナトリウム溶液 (有効塩素濃度0.1%) に30秒浸漬した後、乳酸酸性素寒天培地に置き (佐藤, 2008)、23~25°Cで培養し、発生した単菌糸をデキストロース加用ジャガイモ煎汁培地 (PDA, 栄研化学) に植え継ぎ菌株を得た。6株の罹病苗それぞれから得られた単菌糸分離菌株6菌株はいずれも同様の菌叢となったため、そのうちのPR1を代表として同定し、その病原性を確認した。

PR1をPDA上、25°Cで16日間培養すると、淡褐色の菌叢となり、褐色、類球形で表面が微毛に覆われた、様々な大きさの菌核を形成した (Fig. 1B)。菌核表面には褐色の液体を滲出した。また、スライドガラス上の、PR1の約1 mm角の

PDA培養片にショ糖加用ジャガイモ煎汁 (20%ジャガイモ煎汁、2%ショ糖) を滴下して25°Cで一晩培養して生育した菌糸を、リン酸緩衝生理食塩水 (PBS: 8.1 g/L NaCl, 0.157 g/L NaH₂PO₄ · H₂O, 1.98 g/L Na₂HPO₄ · 12H₂O) で250倍希釈したDAPI溶液 (1 mg/ml, 同仁化学) で染色し、UV励起光 (オリンパス社製フィルターU-MWU使用, 励起: 330~385 nm, 検出: 420 nm以上) を用いた蛍光顕微鏡下で観察した。その結果、菌糸はほぼ直角に分枝し、分枝点がややくびれるとともに、分枝点の近傍に隔壁が認められ、1細胞中には多数の核が認められた (Fig. 1C)。PR1をPDA上25°C、7日間培養した菌叢中の、淡褐色に着色した菌糸の幅の平均は8.1 μmであった。以上より、本菌株を*Rhizoctonia solani* Kühnであると同定した (生越, 1984)。

PR1と菌糸融合群AG-1の標準菌株B-19 (亜群IB) またはCs-Ka (亜群IA) を1.5%寒天上、25°Cで対峙培養したところ、それぞれの標準菌株と菌糸融合し、かつ細胞死 (融合反応カテゴリーC2) が観察されたため、PR1は菌糸融合群AG-1に属すると考えられた (国永, 2003)。また、PR1をPDA上、5、10、15、20、25、30、35または40°Cで培養すると、生育適温は25°C付近であり、25°Cにおける菌糸伸長速度は22.3 mm/日であった (Fig. 2)。現在AG-1群には4つの亜群 (IA, IB, ICおよびID) が報告されているが、IBは

¹ 農業・食品産業技術総合研究機構野菜茶業研究所 (〒514-2392 三重県津市安濃町草生360) National Institute of Vegetable and Tea Science, 360 Kusawa Ano Tsu 514-2392, Japan

² 農業生物資源研究所 (〒305-8602 茨城県つくば市観音台2-1-2) National Institute of Agrobiological Science, 2-1-2 Kannondai Tsukuba 305-8602, Japan

* Corresponding author (E-mail: kubota@affrc.go.jp)

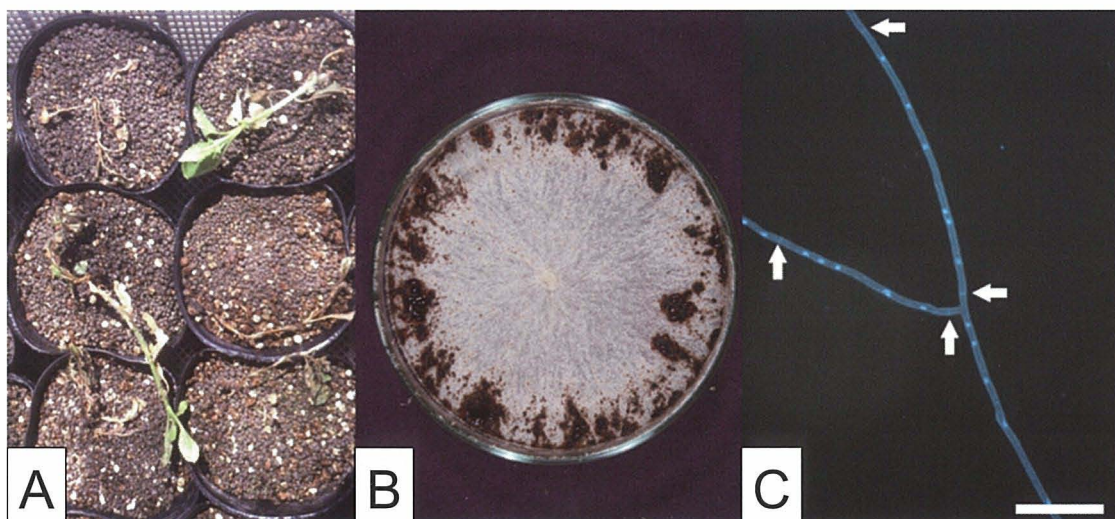


Fig. 1. Symptoms of damping-off of seedlings of Dahurian patrinia caused by *Rhizoctonia solani* and morphology of a pathogenic isolate (PR1) isolated from margin of lesion on stem.

A. Death of naturally infected seedlings.

B. Colony appearance of PR1 incubated on potato dextrose agar (PDA) at 25°C for 16 days.

C. Fluorescence micrograph of a slide culture of hyphae of PR1 from Dahurian patrinia, stained with DAPI (bar: 50 μ m). Arrows are pointing to septa.

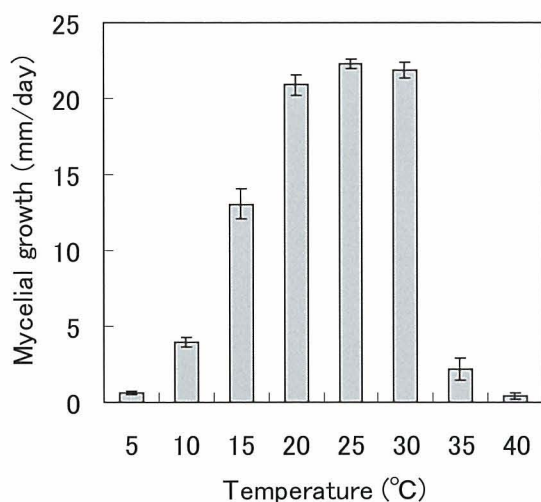


Fig. 2. Mycelial growth of *Rhizoctonia solani* isolate PR1 from Dahurian patrinia at various temperatures on PDA. Error bars represent one-standard error ($n=6$).

35°Cではほとんど生育できず、一方、他の亜群は高温性を示す(国永ら, 2003)。また、IBは褐色で大きさ1 mm以上の表面が毛羽立った菌核を形成する。したがって、PR1は、菌叢および生育温度の両性質より、培養型IB、即ち菌糸融合群AG-1亜群IBと考えられた(渡辺・松田, 1966; 国永, 2003)。

PR1と、前出の標準菌株B-19, Cs-Kaを酵母エキス・ペプトン液体培地(0.5%酵母エキス, 1%ペプトン)で振とう培養して得た菌糸から、Raeder and Borda (1985)に従ってDNAを抽出し、さらに国永(2003)に従って、菌糸融合群AG-1亜群

IBに特異的なプライマー(Forward: TGTAGCTGGCCTTTTAAC, Reverse: GGACTATTAGAAGCGGTTTCG)を用いてPCR(増幅条件: 94°C 2分, (94°C 40秒, 58°C 1分, 72°C 1分) × 30回, 72°C 5分)を行い、その生成物を泳動バッファー(5.4 g/L トリス, 2.75 g/L ホウ酸, 0.37 g/L EDTA・2Na)中の1.4%アガロース内で電気泳動し、臭化エチジウムで染色後にUV下で観察したところ、PR1とB-19では菌糸融合群AG-1亜群IBに特異的な約580 bpのバンドが認められたが、Cs-Kaではバンドは認められなかった。以上の結果より、PR1は菌糸融合群AG-1亜群IBに属することが確認された。

PR1の1 cm角のPDA培養菌叢を、本葉約10枚まで生育した健全なオミナエシ(品種: 飛鳥)の茎の地際部に貼り付け接種し、2日間、25°Cの湿室に置いた後、23~28°Cのガラス温室内で栽培を続けたところ、原病徴と同様の茎葉腐敗が4日目に認められ、10日目には株全体の立ち枯れが再現された。また、病斑部から上述と同様に菌を分離したところ、PDA上で接種菌と同様の菌叢を形成する糸状菌株が再分離され、接種菌株の病原性が確認された。*R. solani*によるオミナエシの病害は、本邦では未報告であり、本病を苗立枯病と命名したい。

標準菌株を分譲していただいた花き研究所 築尾嘉章博士、野菜茶業研究所においてご協力いただいた藤本秀美氏、西和文博士(現: 日本くん蒸技術協会)、大西純博士に厚く御礼申し上げます。

引用文献

- 国永史朗 (2003). *Rhizoctonia solani* における菌糸融合による分類の現状. 植物防疫 57: 219-222.
- 生越 明 (1984). 新版土壌病害の手引 (「新版土壌病害の手引」編集委員会編). pp. 94-97, 日本植物防疫協会, 東京.
- Raeder, U. and Borda, P. (1985). Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. Letters in Applied Microbiology 1: 17-20.
- 佐藤豊三 (2008). 新病害究明の手順とキーテクニック・小道具類. 植物防疫 62: 223-227.
- 渡辺文吉郎・松田 明 (1966). 畑作物に寄生する *Rhizoctonia solani* Kühn の類別に関する研究. 農林水産技術会議指定試験 (病虫害) 7: 1-131.