

Alternaria 属と *Phoma* 属の野菜類病原菌

窪 田 昌 春

農業・食品産業技術総合研究機構 野菜茶業研究所

1. はじめに

2010年6月現在、日本植物病名目録（日本植物病理学会,2000；<http://www.ppsj.org/pdf/mokuroku-tsuiroku100601.pdf>）によれば、これまでに国内野菜類に発生した病害は25科91作物に及び、その約7割が糸状菌に起因する。植物病原糸状菌による病害の主な症状は、根、茎、葉、果実等の腐敗や褐色病斑、導管侵害による萎凋などである。*Alternaria* 属菌と *Phoma* 属菌は主として葉や茎等の地上部に褐色の病斑を引き起こす重要病原である。本稿では、2010年6月現在、農業生物資源研究所（NIAS）ジーンバンクに登録・公開されている両属の菌種について、その病原菌としての性質や特徴、取り扱い方について解説する。

2. *Alternaria* 属の野菜類病原菌

1) *Alternaria* 属菌の形態等

Alternaria 属菌は不完全糸状菌（hyphomycetes）に分類され、国内では完全世代は見つかっていない。本属菌は分生子座を形成せず、褐色の分生子柄を病斑上に散生して、その先端で分生子を形成する。分生子柄は節で屈曲し、分生子柄の先端や節から褐色3細胞以上の比較的大きな分生子をポロ型で出芽・形成する（図1）。分生子の形は、大型（100 μm以上）の分生子を形成するものでは長棍棒状でしばしば片端に長い嘴細胞（beak）を持つ。小型の分生子では石垣状多細胞となる。一般的に縦隔壁は少ない。これらの分生子の形態は特徴的であり、*Alternaria* 属レベルまでの同定は容易である（小林ら編,1992）。種同定などについては後述するが、最近 Simmons（2007）により出版されたモノグラフやアリゾナ大学の Pryor による *Alternaria* 属菌の情報 Web サイト（<http://ag.arizona.edu/PLP/alternaria/online/index.htm>）が有益である。

2) *Alternaria* 属菌による野菜類の病害

2010年4月現在、日本植物病名目録によると国内で発生が認められた *Alternaria* 属菌による野菜類の病害は、12科25作物で13菌種、種未同定2菌株によるものが報告されている（表1）。その多くは「黒斑病」の病名が付けられ、その症状は葉に褐～黒色病斑を形成するものが一般的である（図2）。*Alternaria* 属菌で強い病原性を持つ菌種は宿主特異的毒素を産生して宿主細胞を侵す、いわゆる殺生菌である。宿主植物の栽培後期等、養分不足の際に発病しやすい。また、本属菌の分生子は耐久性があり、環境中で長期間生存する。分生子が種子感染時に形成された場合には種皮内部等でも生存し、あるいは種子ロットに混入することにより種子伝染を引き起こす（図3）。

3) 分離、培養、保存

上述の通り *Alternaria* 属菌は比較的大きな分生子を宿主植物上でよく形成するので分離しやすい。病斑上の分生子を掻き取り、200 ppm ストレプトマイシン硫酸塩等の抗生物質を含む1.8%寒天に画線することにより単胞子の分離が行え、培養1日後には各分生子の発芽を実体顕微鏡下で確認することも可能である。菌叢生育も比較的速いため、種子を寒天培地に静置し、抗生物質で細菌の発生さえ抑えれば、植物種子からも容易に *Alternaria* 属菌が分離できる（図3D）。ただし、小型の分生子を形成する *A. alternata* (Fr.) Keissl. の

非病原株が種子を含めた植物体上にしばしば認められるとともに高頻度で分離され、さらに、*A. brassicicola* (Schwein.) Wiltshire 等の小型の分生子を形成する病原菌種との間で混同され誤同定を招く恐れがあり、注意が必要である。

分離直後の *Alternaria* 属菌株は、概してどのような培地でもよく生育し、菌叢の着色、気中菌糸の発生とも旺盛である。菌叢は、灰色から褐色、黒色、オリーブ色等になる。菌株によっては、ジャガイモ煎汁ベースの培地では、PDA (20% ジャガイモ煎汁, 2% デキストロース, 1.8% 寒天) 等の炭素源がデキストロースの場合、菌叢生育が抑制され、分生子を形成しにくくなるものがあり、炭素源としてはショ糖の方が望ましい。培地上での形態観察には、PCA (20% ジャガイモ煎汁, 20% ニンジン煎汁, 1.8% 寒天), V8 寒天培地 (8% V8 ジュース, 0.9 g/L CaCO₃, 1.8% 寒天) がよく使われるが、培地上と宿主植物上での分生子の形態が異なる場合もある。一般的には、培地上で形成される分生子は小型になり、大きさや形状が均質化される傾向がある。分生子を作りにくい菌株では、近紫外線 (BLB) を照射することにより分生子の形成が促される。また、富栄養培地上で継代培養を重ねることにより、白色気中菌糸が多発生して菌叢着色が弱くなり、分生子形成能が低下するとともに病原性も低下するといった変質が起こる (図4)。この場合、菌株の病原性を維持するためには、宿主植物への接種、再分離を行うなどの操作が必要となる。培地上で一定時間菌叢生育させた後、菌叢表面を激しくこすって気中菌糸を取り去った後、BLB 照射して培養を続けることにより分生子形成が促される場合もある。継代培養で病原性や分生子形成能を保ったまま菌株を維持するためには、分生子を植え継ぎ、そこか

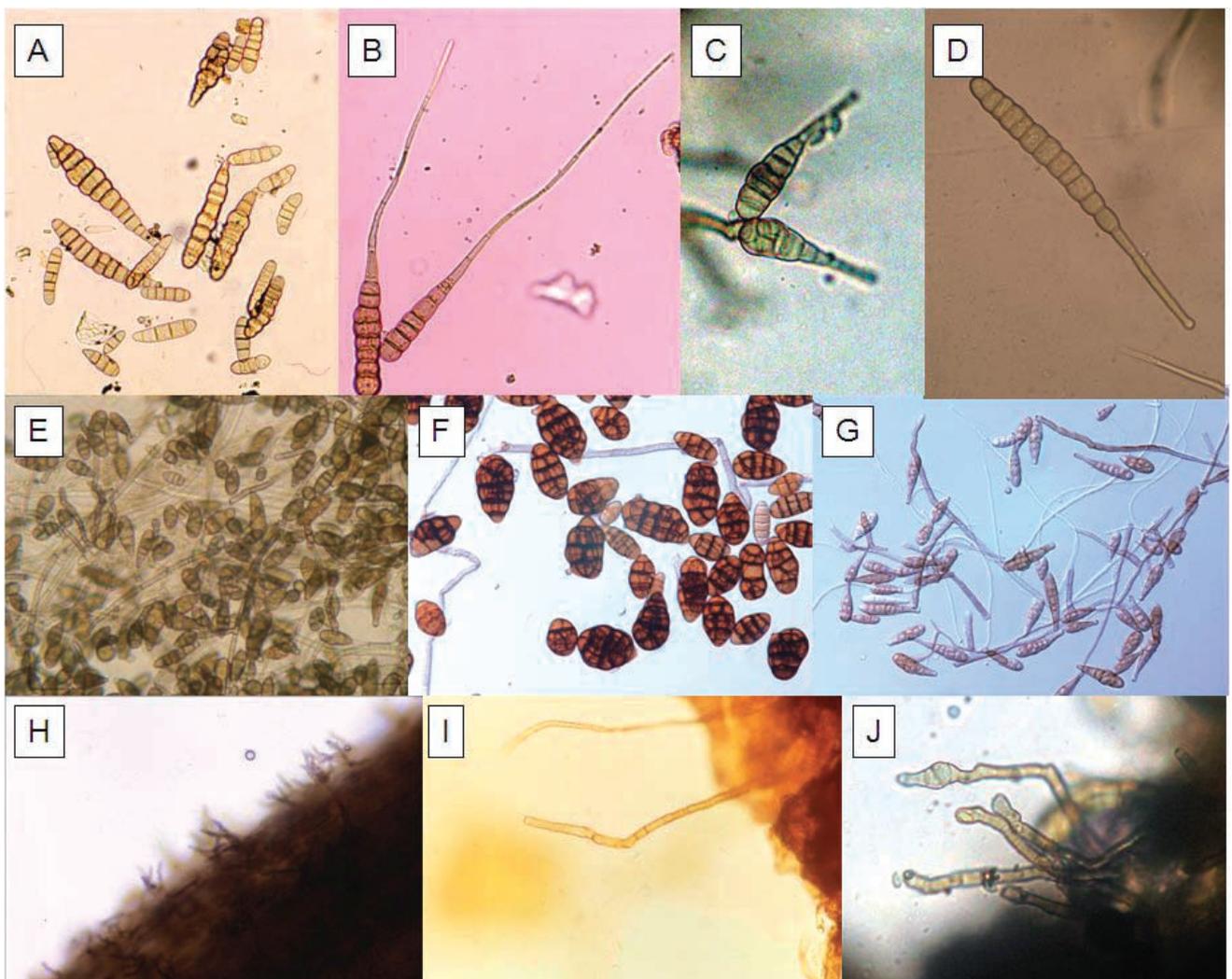


図1. NIAS ジーンバンクに登録されている *Alternaria* 属菌種の分生子 (A ~ G) と分生子柄 (H ~ J)

A, H: *A. brassicicola*, B, I: *A. petasitis*, C, J: *A. solani*, D: *A. brassicae*, E: *A. alternata*, F: *A. radicina*, G: *A. porri* (F, G: 金子繁氏原図)

表 1. 日本植物病名目録に採録された *Alternaria* 属菌による野菜病害

宿主作物		病名	病原菌種
科	作物和名		
ナス	トマト	アルタナリーア茎枯病	<i>A. alternata</i>
		黒斑病	<i>A. tomato</i>
		輪紋病	<i>A. solani</i>
	ナス	褐斑病	<i>A. solani</i>
	トウガラシ	白星病	<i>A. solani</i>
アオイ	オクラ	果実黒斑病	<i>A. alternata</i>
スイレン	ハス	褐紋病	<i>A. nelumbii</i>
アブラナ	キャベツ	黒すす病	<i>A. brassicicola</i>
		黒斑病	<i>A. brassicae</i>
	ブロッコリー	黒すす病	<i>A. brassicicola</i>
	カブ	黒斑病	<i>A. brassicae</i>
	アブラナ科野菜	黒斑病	<i>A. brassicae</i>
	ダイコン	黒斑病	<i>A. brassicae, A. brassicicola, A. japonica</i>
	ハクサイ	黒斑病	<i>A. brassicae, A. brassicicola, A. japonica</i>
	ワサビ	黒斑病	<i>A. brassicae</i>
ウリ	カボチャ	黒斑病	<i>A. cucumerina</i>
	キュウリ	黒斑病	<i>A. cucumerina</i>
アカザ	ホウレンソウ	黒斑病	<i>A. alternata</i>
		灰色斑点病	<i>A. spinaciae</i>
セリ	ニンジン	黒葉枯病	<i>A. dauci</i>
		黒斑病	<i>A. radicina</i>
バラ	イチゴ	黒斑病	<i>A. alternata</i>
ウコギ	ウド	黒斑病	<i>Alternaria sp.</i>
キク	シュンギク	黒斑病	<i>A. solani</i>
	フキ	斑点病	<i>A. petasitis</i>
ユリ	タマネギ	黒斑病	<i>A. porri</i>
		にせ黒斑病	<i>Alternaria sp.</i>
	ニンニク	黒斑病	<i>A. porri</i>
	ネギ	黒斑病	<i>A. porri</i>
	リーキ	黒斑病	<i>A. porri</i>
シソ	メボウキ	黒斑病	<i>A. alternata</i>

日本植物病理学会 (2000), <http://www.ppsj.org/pdf/mokuroku-tsuiroku100601.pdf>による.

ら生育した培養菌叢を保存するのが望ましい。また、NIAS ジーンバンクで行われているように、菌体を 10% グリセロール中で 4℃, 3 日間予備冷却後, -40℃以下で凍結保存し, 必要時に温湯中で急速解凍し培地上に移植することがより望ましい (富岡ら, 2004)。

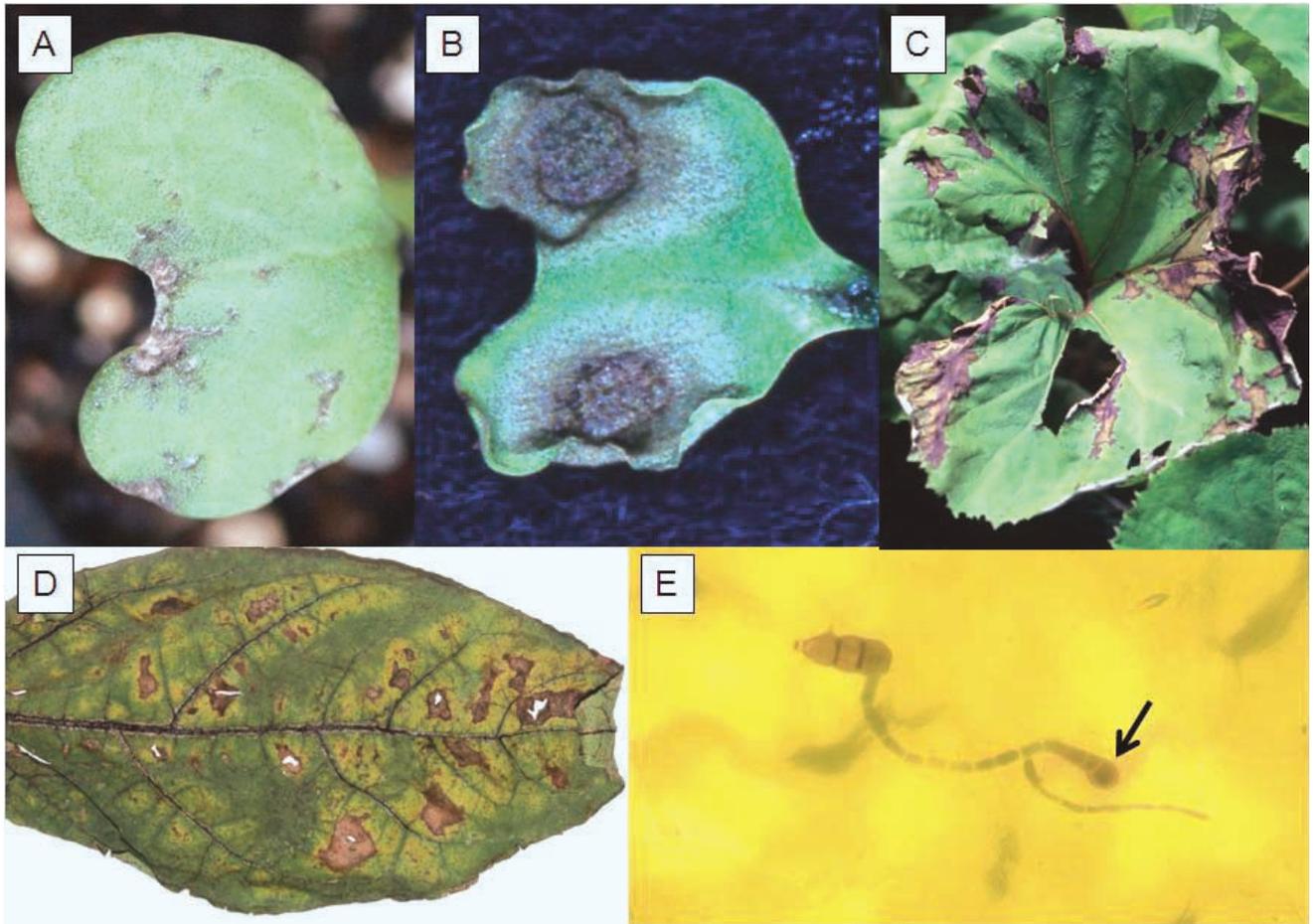


図2. NIAS ジーンバンクに登録されている *Alternaria* 属菌種による病徴(A ~ D)と宿主上での分生子発芽(E)
 A: *A. brassicicola* によるキャベツ黒すす病 (子葉), B: *A. brassicicola* の分生子懸濁液を滴下したキャベツ子葉を高温湿度条件に置いたときの病徴, C: *A. petasitis* によるフキ斑点病, D: *A. solani* によるナス褐斑病, E: *A. brassicicola* のキャベツ葉上における分生子発芽 (矢印: 付着器, コットンブルー染色) ※コットンブルー染色液; 乳酸: フェノール: グリセリン: 水: エタノール=1:1:1:1:8, 0.1% コットンブルー.

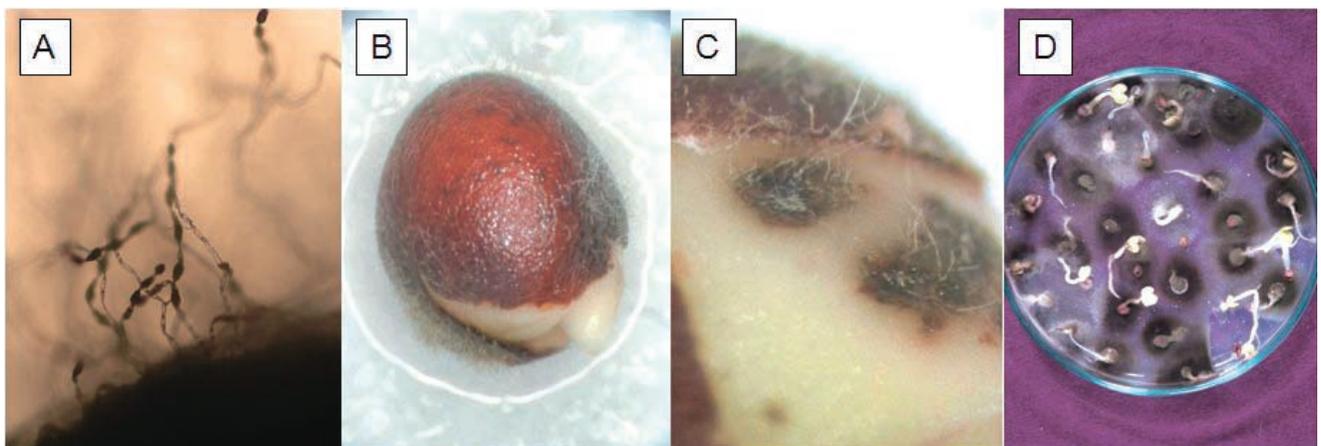


図3. キャベツ種子上の *A. brassicicola*

A: 連鎖する分生子, B: 種皮からの菌糸の発生, C: 種子胚部からの菌糸の発生, D: 抗生物質を含む PSA (20% ジャガイモ煎汁, 2% ショ糖, 1.5% 寒天) 上での種子からの菌発生.

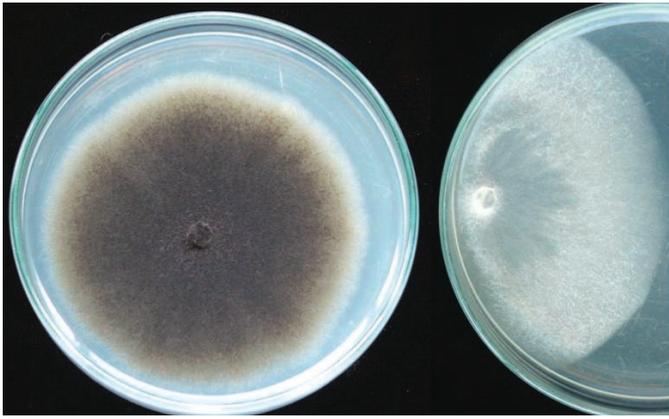


図 4. *A. brassicicola* (左：MAFF 237450, 右：変異して白色化した菌株) の PDA 上の菌叢

4) 種までの同定

形態による *Alternaria* 属菌の種同定では、分生子形成時の連鎖状態と分生子の形状を顕微鏡観察する。分生子が長く連鎖するものは基本的には分生子は短い (< 50 μm) (図 3A)。分生子長が中間的 (50 ~ 100 μm) なものは 2 ~ 3 個の短い連鎖となる。連鎖しないものでは分生子 body (beak を除いた部分) の長さは 100 μm 前後で大型となる。一般的に分生子長が中間以上の種は植物病原性である (西川, 2010)。これらの形態を中心とした分類体系は Ellis (1971) によるものが基盤となり、現在では Simmons (2007) のモノグラフに最も多くの種が網羅されている。しかし、Simmons (2007) による分類では、宿主植物と微細な形態の差違により種が細分化され過ぎている感もあり、筆者は、野菜類の病原菌を同定する場合などには、混乱を避けるためにも、従来から分類同定の基準として広く用いられている Ellis (1971) のモノグラフに基づくのが適当と考える。本モノグラフに形態や宿主が合致しない場合は、Simmons (2007) のモノグラフで検討を加えることを薦める。具体的には、顕微鏡観察によって分生子長、幅、隔壁数、beak 長、幅等を計測し、Ellis (1971) や Simmons (2007) の記載と比較することによって同定を行う。計測値のうち、経験的に分生子長は培養条件等により変異が大きい分生子幅は比較的安定であるとの印象を持っている。

一方、Pryor らが中心となって進めている *Alternaria* 属菌の分子分類においては分生子の連鎖状態と系統は概ね一致するが、Simmons (2007) による種の細分化に対しては検討を要する結果となっている。本属菌の場合、2% グルコース溶液の液面で培養した菌体から、Villa ら (2006) の方法により容易に、PCR に供試可能な DNA が抽出できる (図 5)。本属菌の分子分類では、核リボゾーム遺伝子の internal transcribed spacers (ITS) 1, 5.8S サブユニットと ITS2 を含む領域 (ITS 領域)、ミトコンドリアリボゾームスモールサブユニット遺伝子 (mtSSU rDNA), glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (*gpd*) 遺伝子, Alt a 1 (アレルゲン) 遺伝子の塩基配列を用いて行われており (表 2) (Pryor ら, 2000 ; Pryor ら, 2003 ; Hong ら, 2005)。野菜類の *Alternaria* 属病原菌各種は、単系統となる *A. brassicae* (Berk.) Sacc. を除いて、分生子を長く連鎖する *alternata* と *brassicicola*, 短連鎖の *radicina*, 単生する *porri* の各グループに系統分類される (Hong ら, 2005)。Pryor らや他の研究者により決定された *Alternaria* 属菌遺伝子の塩基配列が National Center for Biotechnology Information (NCBI ; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) に登録されているが、本属全体、あるいはグループ内での十分な系統分類を行うにはまだ不足していると感じる。

5) 植物への接種

Alteranria 属菌では培地上で容易に分生子を形成することから、培養平板に水を注ぎ菌叢表面をこすることによって得た分生子をガーゼなどで濾過し、一定密度の分生子懸濁液を作製し、それを植物体に噴霧接種するのが一般的な接種方法である。菌叢から掻き取った菌糸片懸濁液の噴霧や菌叢片の接触による接種も行われているが、自然界における初期感染のほとんどは分生子によるものと考えられるため、分生子を接種に用いるのが最も合理的である。接種された植物体は、菌の分生子発芽や侵入を促すために、接種直後から 24 ~ 48 時間は温室に保つ必要がある。その後も高湿度条件に保った場合には病徴がよく進展するが、病斑が水浸状に広がり、自然界で見られるような褐変を伴う病斑とは異なる病徴を示す場合がある (図 2B)。

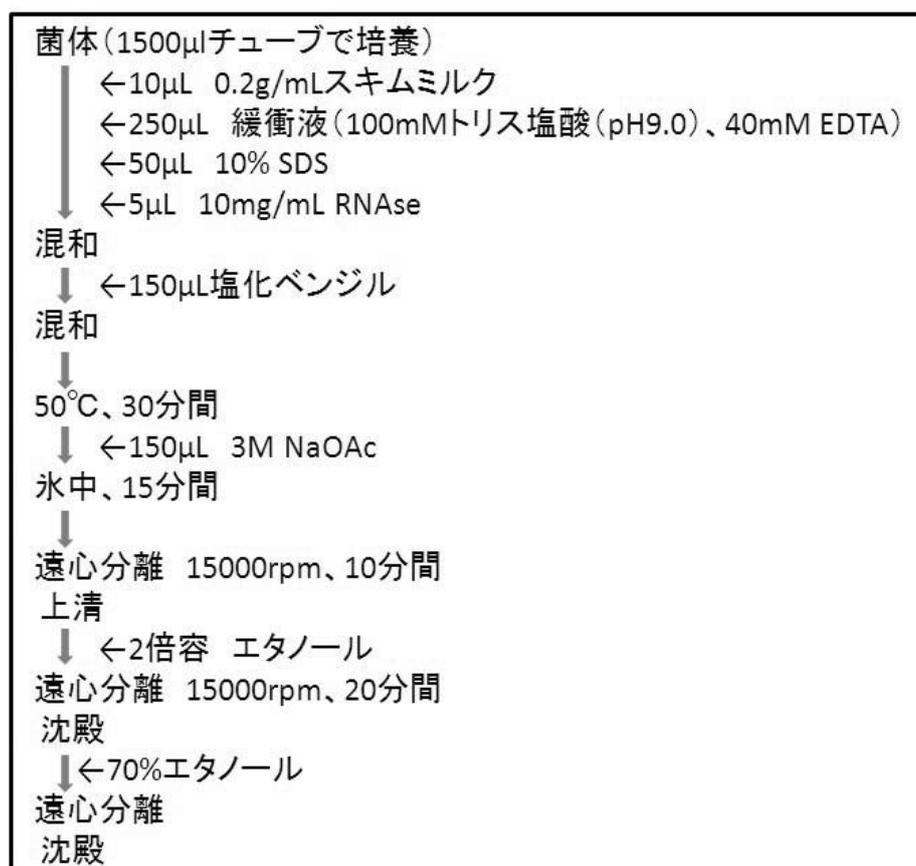


図 5. Villa ら (2006) による DNA 抽出手順

表 2. *Alternaria* 属菌の分子系統分類に使われる遺伝子と PCR プライマー

遺伝子	プライマー	アニーリング温度	文献
ITS	Forward: ITS5= GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG	60°C	Whiteら(1990), Pryorら(2003) Pryorら(2000)
	Reverse: ITS4= TCCTCCGCTTATTGATATGC		
mt SSU	Forward: NMS1= CAGCAGTGAGGAATATTGGTCAATG	60°C	Liら(1994), Pryorら(2003) Pryorら(2000)
	Reverse: NMS2= GCGGATCATCGAATTAATAACAT		
<i>gpd</i>	Forward: <i>gpd</i> 1= CAACGGCTTCGGTCCGATTG	50°C	Berbeeら(1999), Pryorら(2003) Hongら(2005)
	Reverse: <i>gpd</i> 2= GCCAAGCAGTTGGTTGTGC		
Alt a 1	Forward: Alt-for= ATGCAGTTCACCACCATCGC	57°C	Hongら(2005)
	Reverse: Alt-rev= ACGAGGGTGAYGTAGGCGTC		

6) NIAS ジーンバンクに登録された野菜類病原性 *Alternaria* 属菌

2010年6月現在, NIAS ジーンバンクから公開されている *Alternaria* 属菌のうち, 野菜類から分離された菌株は9種(1菌株未同定種)あり, これらのうち *A. solani* Sorauer でナス, *A. alternata* でイチゴ, *A. radicina* Meier, Drechsler & E. D. Eddy と *A. dauci* (J. G. Kühn) J. W. Groves & Skolko でニンジン, *A. brassicicola* と *A. brassicae* でキャベツ, *A. porri* (Ellis) Cif. でネギ, *A. petasitis* M. Kubota, Kishi & Abiko でフキ, *A. cucumerina* (Ellis & Everh.) J. A. Elliott でヘチマに対する病原性が接種により確認されている菌株がある(表3). 以下, 上述の各菌について Ellis (1971) による形態記載と特性等を記す. また, 筆者が未経験の病害の病徴等については岸編(1998), 岸ら(2002)から抜粋する.

① *A. alternata*

菌叢は灰・オリーブ・褐～黒色。菌叢の形状は菌株によって差異が大きく、気中菌糸をほとんど形成せずに菌叢表面が粉状に分生子で覆われるものから、灰色の気中菌糸に厚く覆われ（図 6）、分生子形成がほとんど見られないものもある。分生子形成が盛んな菌株では、分生子は、枝分かれも含めて長く連鎖し、長さ 20～63（平均 37） μm 、幅 9～18（平均 13） μm 、8 以下の横隔壁、数個の縦隔壁を持つ（図 1E）。分生子表面が平滑な菌株と、粗面や小突起に覆われる菌株がある。生育適温は 25 $^{\circ}\text{C}$ 付近。分生子が小さい *Alternaria* 属菌を *A. alternata* としてきた感もあるが、近年の分子系統分類により、小型分生子を形成する *Alternaria* 属菌種の類別がなされてきている（Pryor ら, 2002 ; Roberts ら, 2000）。*A. alternata* 種内や近縁種間での類別に

は、10 mer のランダムプライマーを用いた RAPD (random amplified polymorphic DNA) による系統分類が有効であろう。

病原性が強い菌株で産生される宿主特異的毒素のいくつかは構造決定がなされており（Kohmoto and Otani, 1991）、遺伝学的にもよく研究されている種である。*A. alternata* のこれらの項目について、国内では名古屋大学、鳥取大学、香川大学が先端的な研究を行っている。



図 6. *A. alternata* MAFF 731001 の PDA 上の菌叢
(中島比呂美氏原図)

表 3. NIAS ジーンバンクに登録された野菜由来の *Alternaria* 属菌菌株 (その 1)

MAFF 番号	種名	菌株名	分離源	分離部位	病原性確認 ^{a)}	採集地	文献
731001	<i>A. alternata</i>	M-11	イチゴ	葉	○	岩手県盛岡市	渡辺, 1978
731002	<i>A. alternata</i>	M-14	イチゴ	葉	○	岩手県盛岡市	渡辺, 1978
731003	<i>A. alternata</i>	M-15	イチゴ	葉	○	岩手県盛岡市	渡辺, 1978
731004	<i>A. alternata</i>	M-17	イチゴ	葉	○	岩手県盛岡市	渡辺, 1978
731005	<i>A. alternata</i>	M-20	イチゴ	葉	○	岩手県盛岡市	渡辺, 1978
731006	<i>A. alternata</i>	M-22	イチゴ	葉	○	岩手県盛岡市	渡辺, 1978
731007	<i>A. alternata</i>	M-23	イチゴ	葉	○	岩手県盛岡市	渡辺, 1978
236325	<i>A. alternata</i>	E-1	ニンジン	種子		三重県	
306016	<i>A. alternata</i>	メロン茎9	メロン			東京都小笠原村	佐藤, 1990
712079	<i>A. alternata</i>		カブ	葉		三重県津市	
712096	<i>A. alternata</i>	86714	ワサビ	葉		三重県津市	我孫子ら, 1988
726548	<i>A. brassicae</i>	2/23-13	キャベツ	葉	○	三重県津市	窪田ら, 2000
726549	<i>A. brassicae</i>	2/19-1	キャベツ	葉	○	三重県津市	窪田ら, 2000
237450	<i>A. brassicicola</i>	Ryo-1	キャベツ	種子	○	滋賀県草津市	遠山, 1993 ; 遠山ら, 1992
726527	<i>A. brassicicola</i>	NIVOT-Alt	キャベツ	葉	○	三重県津市	窪田ら, 1998
726687	<i>A. brassicicola</i>	ヒット	キャベツ	種子	○	採種: 長崎県	Kubota ら, 2006
726688	<i>A. brassicicola</i>	中早生富士	キャベツ	種子	○	採種: 奈良県	Kubota ら, 2006
726689	<i>A. brassicicola</i>	黄葉サクセッション	キャベツ	種子	○	採種: 福島県	Kubota ら, 2006
726690	<i>A. brassicicola</i>	夏越	キャベツ	種子	○	採種: 新潟県	Kubota ら, 2006
726691	<i>A. brassicicola</i>	SE89	キャベツ	種子	○	採種: 長野県	Kubota ら, 2006
726692	<i>A. brassicicola</i>	銀山	キャベツ	種子	○	採種: 長野県	Kubota ら, 2006
726693	<i>A. brassicicola</i>	秋島	キャベツ	種子	○	採種: 長野県	Kubota ら, 2006

a) 病原性確認は NIAS ジーンバンクの特性情報による。

表3. NIAS ジーンバンクに登録された野菜由来の *Alternaria* 属菌菌株 (その2)

MAFF 番号	種名	菌株名	分離源	分離部位	病原性確認 ^{a)}	採集地	文献
726694	<i>A. brassicicola</i>	豊春	キャベツ	種子	○	採種：埼玉県	Kubota ら, 2006
726695	<i>A. brassicicola</i>	玉杯	キャベツ	種子	○	採種：千葉県	Kubota ら, 2006
726696	<i>A. brassicicola</i>	早取り錦秋	キャベツ	種子	○	採種：静岡県	Kubota ら, 2006
726697	<i>A. brassicicola</i>	スイートボール	キャベツ	種子	○	採種：静岡県	Kubota ら, 2006
726698	<i>A. brassicicola</i>	天竜	キャベツ	種子	○	採種：静岡県	Kubota ら, 2006
726699	<i>A. brassicicola</i>	さんすい	キャベツ	種子	○	採種：静岡県	Kubota ら, 2006
726700	<i>A. brassicicola</i>	いしずえ	キャベツ	種子	○	採種：愛知県	Kubota ら, 2006
726701	<i>A. brassicicola</i>	あまだま	キャベツ	種子	○	採種：静岡県	Kubota ら, 2006
726702	<i>A. brassicicola</i>	しおさい	キャベツ	種子	○	採種：静岡県	Kubota ら, 2006
726703	<i>A. brassicicola</i>	YR 伊良子	キャベツ	種子	○	採種：静岡県	Kubota ら, 2006
726704	<i>A. brassicicola</i>	寒取3号	キャベツ	種子	○	採種：愛知県	Kubota ら, 2006
726705	<i>A. brassicicola</i>	涼風	キャベツ	種子	○	採種：愛知県	Kubota ら, 2006
726706	<i>A. brassicicola</i>	初雁	キャベツ	種子	○	採種：愛知県	Kubota ら, 2006
726707	<i>A. brassicicola</i>	四季取	キャベツ	種子	○	採種：奈良県	Kubota ら, 2006
726708	<i>A. brassicicola</i>	金力	キャベツ	種子	○	採種：奈良県	Kubota ら, 2006
726709	<i>A. brassicicola</i>	三取	キャベツ	種子	○	採種：京都府	Kubota ら, 2006
744072	<i>A. cucumerina</i>	AC-2	へちま	葉	○	福岡県久留米市	
236327	<i>A. dauci</i>	E-3	ニンジン	種子	○	三重県	
237608	<i>A. dauci</i>	岸 -10(7)	ニンジン	葉		鹿児島県霧島市	
305012	<i>A. dauci</i>		ニンジン			埼玉県	
731033	<i>A. dauci</i>	96-1	ニンジン	葉身	○	岩手県盛岡市	
731034	<i>A. dauci</i>	96-3	ニンジン	葉身	○	岩手県盛岡市	
731035	<i>A. dauci</i>	96-5	ニンジン	葉身	○	岩手県盛岡市	
731036	<i>A. dauci</i>	97-5	ニンジン	葉身	○	岩手県盛岡市	
731037	<i>A. dauci</i>	97-6	ニンジン	葉身	○	岩手県盛岡市	
726546	<i>A. petasitis</i>	HAA1	フキ	葉	○	群馬県赤城村	Kubota ら, 2001
726547	<i>A. petasitis</i>	HAK1	フキ	葉	○	栃木県鹿沼市	Kubota ら, 2001
237561	<i>A. porri</i>	A049	ネギ	葉	○	茨城県美野里町	
237562	<i>A. porri</i>	A050	ネギ	葉	○	茨城県美野里町	
237563	<i>A. porri</i>	A051	ネギ	葉	○	茨城県美野里町	
237564	<i>A. porri</i>	A052	ネギ	葉	○	茨城県美野里町	
237565	<i>A. porri</i>	A053	ネギ	葉	○	茨城県美野里町	
305017	<i>A. porri</i>		ネギ				
306688	<i>A. porri</i>	WAI-1	ネギ	葉		茨城県石下町	
306689	<i>A. porri</i>	WAT-1	ネギ	葉		茨城県つくば市	
306722	<i>A. porri</i>	ApU1	ネギ			長野県上田市	
306731	<i>A. porri</i>	ApM-1	ネギ	葉		群馬県前橋市	
306732	<i>A. porri</i>	A p M-2	ネギ	葉		群馬県前橋市	
712063	<i>A. porri</i>		ネギ	葉		神奈川県	
731080	<i>A. porri</i>	AP-01	ネギ	葉身	○	岩手県盛岡市	
731081	<i>A. porri</i>	AP-02	ネギ	葉身	○	岩手県盛岡市	
236326	<i>A. radicina</i>	E-2	ニンジン	種子	○	三重県	
237454	<i>A. radicina</i>	e-19	ニンジン	種子	○	滋賀県草津市	
712075	<i>A. radicina</i>	76701	ニンジン	根冠		三重県津市	
235972	<i>A. solani</i>		ナス	葉	○	北海道札幌市	
305018	<i>A. solani</i>	A-103	トマト			千葉	
305019	<i>A. solani</i>	A-104	トマト			千葉	
238251	<i>Alternaria</i> sp.	T.Kobayashi-44(2)	アーチチョーク	葉		茨城県つくば市	

a) 病原性確認は NIAS ジーンバンクの特性情報による。

植物に病原性がない、あるいは弱い菌株も植物体上や住環境中でごく普通に存在し、これらを菌叢接触等の接種原密度の高い方法で植物に接種すると病斑を形成する場合があります、自然界でもこれらの菌株が植物に日和見的に感染すると考えられる。neotypeである菌株 EGS 34.016 の DNA 塩基配列のいくつかと、epitypeである CBS916.96 の ITS 領域の塩基配列が NCBI のデータベースに登録されている。

② *A. solani*

菌叢は白～灰色で白色気中菌糸を生じ、培地に褐色色素を分泌する（図 7）。分生子は単生し、beak が全長の半分以上を占める。分生子の全長は 150～300 μm で幅 15～19 μm 、9～11 の横隔壁で隔壁部のくびれは小さく、縦隔壁はわずかである（図 1C は未熟な分生子）。beak の幅は 2.5～5 μm 。菌の生育適温は 25℃付近。Pryor らの系統樹では porri グループに属する（Hong ら, 2005）。ナス、トマト、シュンギクにおける病徴は葉の灰～褐色の円形病斑や茎の病斑であるが（図 2D）、トウガラシ類では葉の白色円形の小白点である。

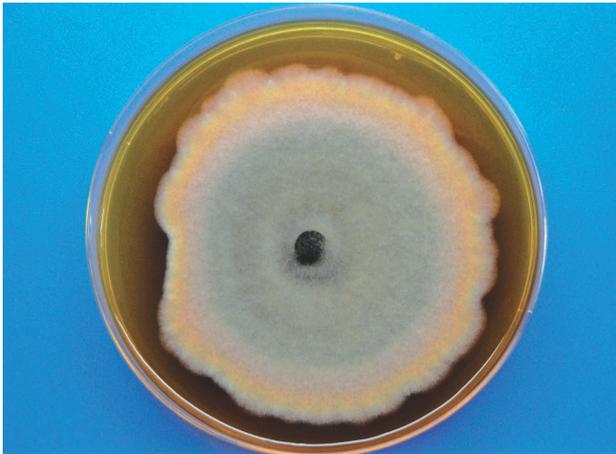


図 7. *A. solani* MAFF 235972 の PDA 上の菌叢
(中島比呂美氏原図)

③ *A. radicina*

菌叢は気中菌糸が少なく、褐～黒色となる（図 8）。分生子は単生、または短連鎖（2～3 個）する。分生子の形は多様で 3～7 横隔壁、1～数個の縦隔壁を持ち、分生子長は 27～57（平均 38） μm 、幅 9～27（平均 19） μm で beak がない（図 1F）。生育適温は 28℃。ニンジンにおいて種子伝染し、発芽直後の幼苗で葉の褐色病斑や茎の腐敗を起こし、さらに立ち枯れにまで至らせ、被害が大きい。本菌のニンジンにおける種子伝染について、国際種子検査協会（ISTA）によって、凍結プロッター法による種子検査法が規定されている。本菌検査のための凍結プロッター法では、種子 400 粒を、水を染み込ませた濾紙上で 20℃、3 日間培養した後、-20℃で 1 晩凍結させて種子の発芽を抑え、さらにその後 7 日間 20℃で培養を続け、形成された分生子の形態により、本菌による汚染を検出する。Ellis (1971) によるとセリ科野菜のセルリー、ディルおよびアメリカボウフウでも同菌による病害が発生している。タイプ標本 ATCC6503 の ITS 領域（Access No. AF307014）、mt SSU（Access No. AF307016）塩基配列が NCBI に登録されている。生育が進んだニンジンでは主に根や茎の地際部を侵し、根では黒色の大型病斑を形成し、内部の空洞化にまで至る場合もある。



図 8. *A. radicina* MAFF 237454 の PDA 上の菌叢
(中島比呂美氏原図)

④ *A. dauci*

菌叢は白～灰色で白色気中菌糸を生じ、紅色の色素を培地に分泌する（図 9）。分生子は単生する。beak が長く分生子全長の 3/4 以上となる。分生子の全長は 100～450 μm 、幅 16～25（平均 20） μm で基部がやや太い。7～11 の横隔壁、1～数個の縦隔壁を持ち、beak が分枝する。beak の幅は 5～7 μm で末端で細くなる。生



育適温は28℃。Pryorらの系統樹では porri グループに属する (Hong ら, 2005)。ニンジンの茎葉に褐色病斑を形成する。 *A. radicina* と同様に種子伝染して苗立ち枯れを起こす。本菌についても、 *A. radicina* と同様の方法で、ISTAによる種子検査法が規定されている。

図9. *A. dauci* MAFF 731036 の PDA 上の菌叢
(中島比呂美氏原図)

⑤ *A. brassicicola*

菌叢はオリーブ～黒色で、表面は粉状に分生子で覆われる (図4)。分生子は枝分かかれは少ないが長く連鎖し (図3A)、各分生子の長さ18～130 μm、幅8～20 μm、1～11の横隔壁 (多くは6以下) を持ち、縦隔壁は少ない (図1A)。beakは短く、幅が6～8 μm。横隔壁部でのくびれが大きく団子型に見える。末端の細胞は球状となり、分生子表面は平滑。菌叢、分生子とも *A. alternata* の分生子形成の旺盛な菌株と形状が似るが、 *A. alternata* では菌叢の色が褐色味を帯びるほか、beak幅が狭く先端の丸みが弱い傾向が見られることから、両菌種を見分けられる。生育適温は25℃付近。

本菌分離用の選択培地が考案されているが (Wu ら, 1984)、固まらない場合があるため、筆者はPSA (20% ジャガイモ煎汁, 2% ショ糖, 1.5% 寒天) に当選択培地と同様の抗生物質 (100 ppm ベノミル, 100 ppm クロラムフェニコール) を添加した培地を用いている。

A. brassicicola は主に種子伝染によりアブラナ科作物に感染する (図3)。市販種子では相当高い汚染率のロットも報告されている (Kubota ら, 2006)。アブラナ科作物では *A. brassicicola* の他に *A. brassicae*, *A. japonica* (*A. brassicae* の異名) による病害が報告されているが、キャベツ、ブロッコリー等 *Brassica oleracea* L. では *A. brassicicola* による被害が最も大きい。キャベツにおける結球期以降の病徴は主に外葉の褐色病斑であり、この場合、収穫物への被害はほとんどないが、秋～冬季に収穫された結球内部に黒色の小病斑を形成することがある。ブロッコリーでは、春以降、花蕾の水浸状病斑から黒色粉状の分生子を生じ、収穫不能となる場合がある。いずれの作目でも育苗時にはよく発病し目立った被害となる。その病徴は子葉の褐色病斑や茎の腐敗であり、立ち枯れに至る場合もある (窪田ら, 1998; 1999; 2000; 2006) (図2A, 10)。同菌は病斑上で大量に分生子を形成して、水滴のはねあげなどによって二次伝染する。

A. brassicae よりも生育、発病適温が高く、病徴の進展が速い (窪田ら, 1998)。宿主特異的毒素はタンパク質であり (Otani ら, 1998)、国内では毒素の誘導因子も含めた研究が鳥取大学で行われている。また、同菌はモデル植物として知られるアブラナ科の *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. にも病原性があり、殺生性 (necrotrophic) 病原菌と宿主植物との相互作用の研究材料として盛んに用いられていることから、同菌に関する分子生物学、生化学的な知見が急速に得られつつある。



図10. キャベツセル成型苗における *A. brassicicola* による子葉から胚軸部の病徴

⑥ *A. brassicae*

菌叢は灰色で気中菌糸が多く、継代培養により菌叢が白色化して分生子形成能を失いやすい (図 11). 分生子は単生, まれに 4 個まで鎖生する. 分生子は 6 ~ 19 (通常 11 ~ 15) の横隔壁, 0 ~ 8 の縦隔壁を持ち, 色が薄く灰色がかかる (図 1D). 分生子の長さは 75 ~ 350 μm で幅 20 ~ 30 (ときに ~ 40) μm であり, beak が全長の 1/3 ~ 1/2 となる. 分生子は他の *Alternaria* 属菌のものよりも大柄な印象を受ける. 生育適温は 20°C

付近. アブラナ科作物で種子伝染するが病勢進展が遅く, *B. oleracea* の幼苗では黒すす病ほどは目立たない (窪田ら, 2000; 2006). しかし, ハクサイ種子からは *A. brassicae* が *A. brassicicola* より高頻度で分離される (Tohyama ら, 1995). Pryor らの系統樹では単系統となる (Hong ら, 2005).

本菌の宿主特異的毒素は環状ペプチドの destruxin B と homodestruxin B である (Bains ら, 1987).

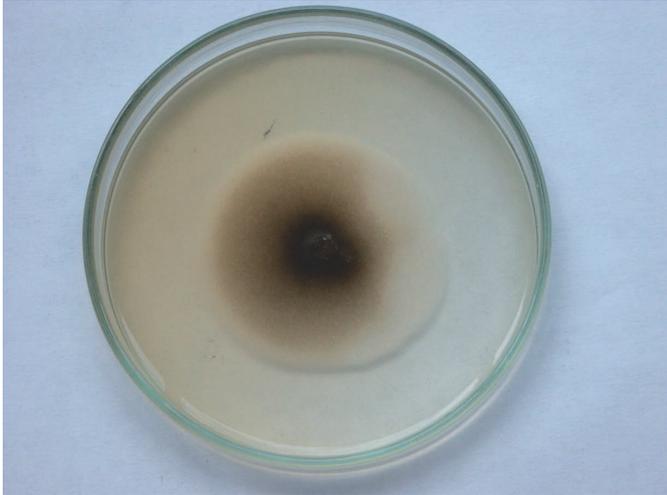


図 11. *A. brassicae* MAFF 726548 の PDA 上の菌叢

⑦ *A. porri*

菌叢は白~灰色で白色気中菌糸を生じ, 黄褐色色素を培地に分泌する菌株もある (図 12). 分生子は単生し, その body は beak に向かって細くなる (図 1G は未熟な分生子). beak が全長のほぼ半分となり, 分生子全体の色は薄い. 分生子全長は 100 ~ 200 μm , 幅 15 ~ 20 μm で, 8 ~ 12 の横隔壁, 0 ~ 数個の縦隔壁を持つ. beak の幅は 2 ~ 4 μm である. 生育適温は 25°C 付近. ネギ類の葉に黄~白褐色のハローを伴う紡錘形の病斑を形成する.



図 12. *A. porri* MAFF 306731 (左), MAFF 731080 (右) の PDA 上の菌叢 (中島比呂美氏原図)

⑧ *A. petasitis*

国内で 2001 年に報告された新種で MAFF 726547 が ex-type であり (Kubota ら, 2001), Simmons (2007) のモノグラフに取り上げられている. MAFF 726547 では, 菌叢は気中菌糸を伴い, 灰~黒色で黄褐色の色素を培地に分泌する (図 13). MAFF 726546 では色素が薄く黄色を呈し, 菌叢は不整形となる. 菌叢生育は遅い. 生育適温は 25°C. 宿主上の分生子は単生し, 分生子の長さは 100 ~ 360 (平均 220) μm , 幅が 9 ~ 22 (平

均 17) μm , 横隔壁を 2 ~ 10 (平均 6.5) 持ち, beak の長さが 30 ~ 280 (平均 150) μm となり, beak にも 3 ~ 13 (平均 7.8) の横隔壁を持つ (図 1B). 培地上では分生子を形成しにくく, BLB を照射した場合にわず



かに認められる. 液体培養した場合にも毒素を生成し, 培養濾液を宿主のフキの葉に有傷接種すると褐色病斑を形成する. 形態的には, *Alternaria* 属から *Nympha* 属に転属された *N. gomphrenae* (Togashi) E. G. Simmons との類似点があり, 分子系統解析による類縁関係の検討が必要である.

図 13. *A. petasitis* の PDA 上の菌叢
(左 : MAFF 726546, 右 : MAFF 726547)

⑨ *A. cucumerina*

菌叢は白~灰色で (図 14), 分生子は単生し, beak の長さがしばしば全長の半分以上となり, 分生子の表面は平滑~粗面で, その全長は 130 ~ 220 (平均



180) μm , 幅 15 ~ 24 (平均 20) μm で, 6 ~ 9 の横隔壁を持ち, 縦隔壁も比較的多い. 分生子の色は薄く, beak の幅が 4 ~ 5 μm で先端が細い. 生育適温は 27°C. Pryor らの系統樹では porri グループに属する (Hong ら, 2005). カボチャ, キュウリでは葉に小型の褐色病斑を形成し, 多数の病斑が形成されると, 葉が枯れ上がる被害に至る.

図 14. *A. cucumerina* MAFF 744072 の PDA 上の菌叢 (中島比呂美氏原図)

3. *Phoma* 属の野菜類病原菌

1) *Phoma* 属菌の形態等

Phoma 属菌は, 分生子果不完全菌 (coelomycetes) に分類されている. 分生子殻が培地中に埋め込まれるように形成され, 直径およそ 100 ~ 300 μm で, 褐~黒色, 表面平滑, 球・楕円・フラスコ型等であり, 複数の分生子殻が融合する場合もあるが, 周囲に厚い菌組織 (子座) は発達しない (図 15). 分生子殻は頂部で開口して内部で形成された分生子を放出する. 分生子殻壁の最内層は石垣状の分生子形成細胞より成り, 単~2細胞, とときに 3細胞で付属物のない無色分生子を内出芽により形成する. なお, *Phomopsis* 属菌の中には糸状ないし釣針状のベータ型分生子を形成しない種や菌株も多く, アルファ型分生子のみでは *Phoma* 属菌と見分けにくい, 分生子殻を潰してその内壁を鏡すると *Phomopsis* 属菌の分生子形成細胞は細長い蠟燭状であることから容易に識別できる. *Phoma* 属菌による病害か否かは, 病斑中心部に形成された分生子殻と, 分生子殻を水浸した場合等に頂口から噴出する分生子の形状から容易に分かる.

Phoma 属菌の有性世代は子のう菌の *Didymella* 属や *Leptosphaeria* 属とされており, ウリ科作物のつる枯病病原菌は日本植物病名目録では *D. bryoniae* (Fuckel) Rehm とされている.

同様の分生子殻を形成し, 2細胞の分生子を形成する菌株の多くが *Ascochyta* 属菌と同定されているが, そのほとんどは *Phoma* 属菌に転属できると思われる. 大まかには, 単細胞の分生子が全く見られない菌株につ

いては *Ascochyta* 属菌の可能性はあるが、厳密に *Ascochyta* と *Phoma* 属菌を識別するには電子顕微鏡を用いて、分生子隔壁の構造を観察する必要がある (Boerema ら, 2004)。

2) *Phoma* 属菌による野菜類の病害

国内で発生が認められた *Phoma* 属菌による野菜の病害は、9科23作物で、11菌種、未同定種2菌株によるものが報告されている (表4)。*P. exigua* var. *exigua* Desm. の異名とされる *A. phaseolorum* Sacc. による輪紋病もオクラ、キュウリ、ナスで報告されている。また、ウリ科作物のつる枯病菌 *D. bryoniae* は *P. cucurbitacearum* (Fr.) Sacc. の有性世代である。それらの主な病徴は茎や葉など地上部の褐色病斑で、毒素生成が推測される (図16)。葉では円形に病斑が広がる場合が多い。一方、レタス株枯病等、茎等の地際部が侵されて植物体全体が萎凋、枯死に至る病徴もある。*P. exigua* var. *exigua* や *P. macrostoma* Mont. 等、多犯性の病原菌もあるが、多くの種には宿主植物の科レベル程度の緩やかな宿主特異性があるようである。

Phoma 属菌による病害の一次伝染源は植物残渣等に形成された分生子と考えられるが、種子伝染も多くの種で報告されている。

3) 分離, 培養, 保存

野菜類に病原性を持つ *Phoma* 属菌は培地での培養が可能であるが、菌種によって生育速度が異なる。菌叢の色や形状も様々で、*Phoma* 属菌共通の特徴を見いだすのは難しい。分生子殻についても、培地上で形成する菌株、しない菌株があり、形成する場合でもその形成程度は様々である。同種と同定される菌株間でもこのような性質の差違が認められることがある。

菌の分離は、定法に従って、70% エタノール、1% 次亜塩素酸 Na で順次表面殺菌して水洗した後の罹病組織片を素寒天や、細菌を抑えるための 200 ppm ストレプトマイシン等の抗生物質を含む寒天培地上に置床し、

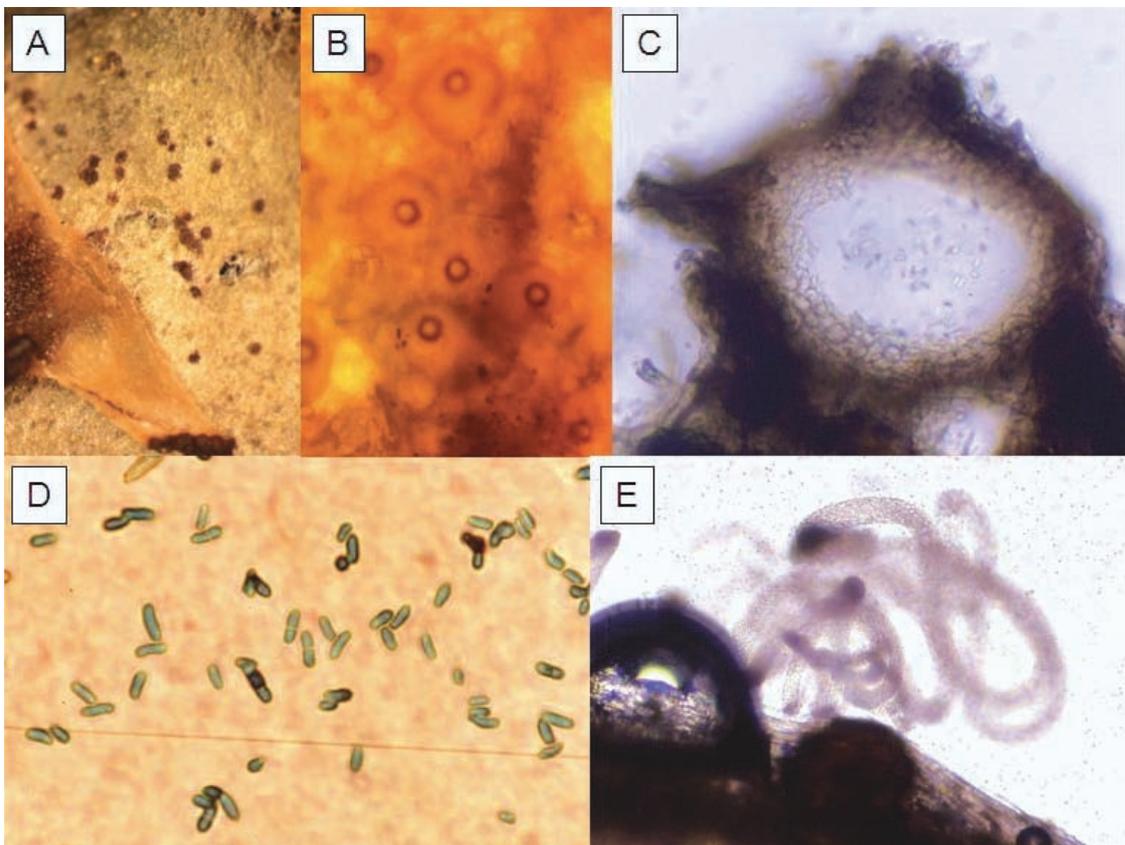


図 15. NIAS ジーンバンクに登録された *Phoma* 属菌の分生子殻と分生子

A, B, C : *P. macrostoma* var. *incolorata* によるアーチチョーク葉上の分生子殻 (A : 実体顕微鏡撮影, B : 光学顕微鏡撮影, C : 断面) と分生子 (D), *P. lingam* の分生子殻から押し出された分生子角 (E)。

発生した菌糸を植え継ぐことで可能である。傷みが少ない罹病組織ならば、水浸して分生子懸濁液を作製して細菌を抑える抗生物質を含んだ寒天培地に画線することにより単胞子分離菌株を得ることも可能である。

菌種を同定するには OA (2% オートミール煎汁, 1.5% 寒天) 上での形態, MEA (40% malt extract, 1.5% 寒天) での色素産生等による (古川, 2010)。寒天培地で分生子形成が認められない場合には、熱湯に浸けて数十秒間表面殺菌したサクラやアジサイの葉を素寒天上に置いて接種すると分生子形成する場合がある (岸, 1995)。BLB 照射で分生子殻と分生子の形成が促される場合もある。本属菌も多くの糸状菌と同様に、栄養が豊富な培地での継代培養では菌叢の白色化や気中菌糸の増加、病原性の低下等の変質が起こる。これを避けるためには、*Alternaria* 属菌と同様に、10% グリセロール中での凍結保存が有効である (富岡ら, 2004)。

4) 種までの同定

Phoma 属菌は様々な植物、特に樹木類の病原菌であり、過去には宿主毎に別種が立てられてきており、世界的には膨大な数の種が記載されている。1990 年代より Boerema らが *Phoma* 属菌の整理を進めてきたが、今のところ、分子系統分類によっても明確な系統分類ができず、Boerema らも、培地上での形態分類にとどめている。現状では Boerema ら (2004) の検索表・モノグラフを基準とするのが妥当と思われる。

表 4. 日本植物病名目録に採録された *Phoma* 属菌による野菜病害

宿主作物		病名	病原菌種
科	作物和名		
ウコギ	ウド	萎凋火傷病	<i>P. araliae</i> var. <i>microspora</i>
ナス	トマト	円紋病	<i>P. destructiva</i> , <i>P. exigua</i> , <i>P. lycopersici</i>
	ナス	褐色輪紋病	<i>P. lycopersici</i>
		輪紋病	<i>Ascochyta phaseolorum</i>
	トウガラシ	輪紋病	<i>P. exigua</i>
セリ	ニンジン	褐斑病	<i>P. dauci</i>
キク	レタス	株枯病	<i>P. exigua</i>
	ゴボウ	根黒斑病	<i>P. exigua</i> , <i>Phoma</i> sp.
		黒斑病	<i>A. phaseolorum</i>
	アーチチョーク	輪紋病	<i>P. macrostoma</i> , <i>P. exigua</i>
アカザ	フダンソウ	じゃのめ病	<i>P. betae</i>
アブラナ	ワサビ	墨入病	<i>P. wasabiae</i>
	コマツナ	斑葉病	<i>P. wasabiae</i>
	キャベツ	根朽病	<i>P. lingam</i>
アオイ	オクラ	斑点病	<i>P. okra</i>
		輪紋病	<i>A. phaseolorum</i>
スイレン	ハス	斑点病	<i>P. nelumbii</i>
ウリ	ニガウリ	実腐病	<i>Phoma</i> sp.
		つる枯病	<i>Didymella bryoniae</i>
	キュウリ	輪紋病	<i>A. phaseolorum</i>
		つる枯病	<i>D. bryoniae</i>
	カボチャ	つる枯病	<i>D. bryoniae</i>
	シロウリ	つる枯病	<i>D. bryoniae</i>
	スイカ	つる枯病	<i>D. bryoniae</i>
	トウガン	つる枯病	<i>D. bryoniae</i>
	マクワウリ	つる枯病	<i>D. bryoniae</i>
	メロン	つる枯病	<i>D. bryoniae</i>
ユウガオ	つる枯病	<i>D. bryoniae</i>	

A. phaseolorum : *P. exigua* var. *exigua* の異名.

D. bryoniae : *P. cucurbitacearum* の完全世代.

日本植物病理学会 (2000), <http://www.ppsj.org/pdf/mokuroku-tsuiroku100601.pdf> による.

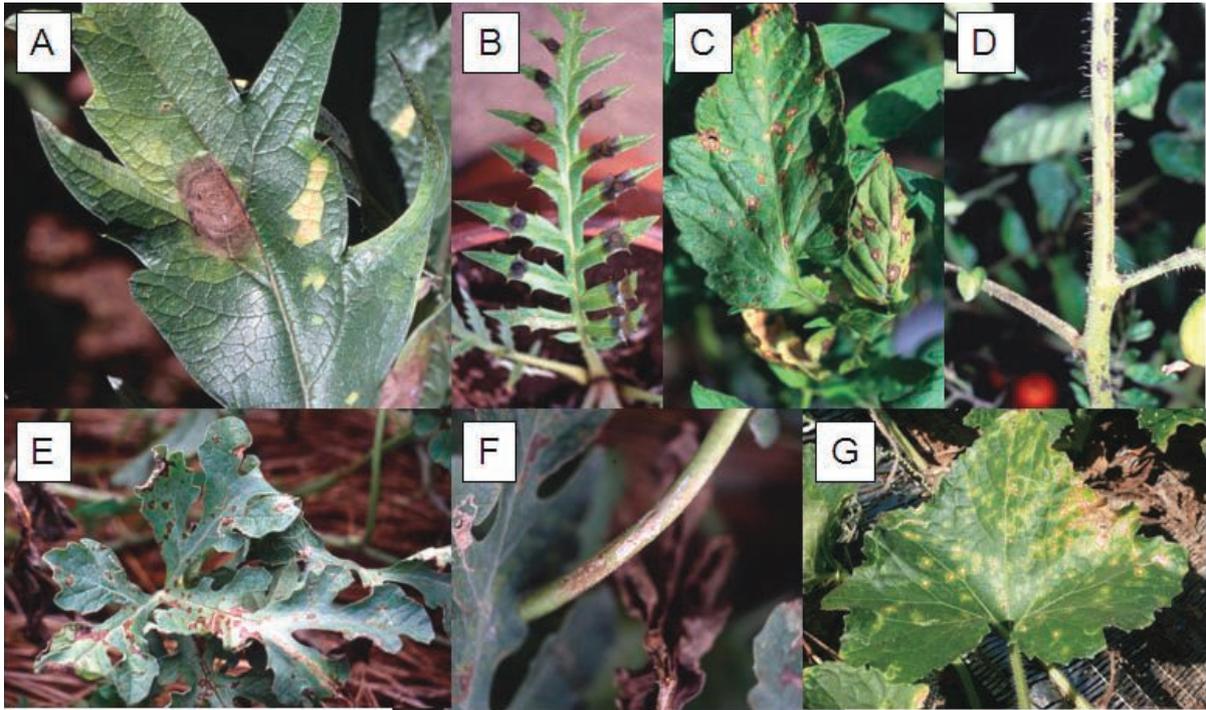


図 16. NIAS ジーンバンクに登録された *Phoma* 属菌種による病徴

A : *P. macrostoma* var. *incolorata* によるアーチチョーク輪紋病, B : *P. macrostoma* var. *incolorata* 菌叢を接種して温室に保ったときの病徴, C, D : *P. lycopersici* によるトマト円紋病 (C : 葉, D : 茎), E, F : *D. bryoniae* によるスイカつる枯病 (E : 葉, F : 茎), G : *D. bryoniae* によるトウガンつる枯病.

上述の培地を用いて 20 ~ 22°C で培養し、菌叢生育速度、菌叢の形状、分生子の大きさと形、厚膜胞子の有無と形状、さらに培地に 1M NaOH を滴下したときの変色を観察する (図 17)。主に分生子殻の形態から属内の 9 section にグループ分けし、次に分生子の大きさにより種を類別する。ただし、分生子サイズも検索表・モノグラフにおける境界値付近となる菌株も多く、検索表のキーとなっている他の性質と合わせて判断することが肝要である。

上述の通り *Phoma* 属菌では分子系統分類は今のところ有効ではないが、NCBI には *Phoma* 属菌の DNA 塩基配列が相当数登録されており、相同性検索に用いることにより同定時の参照とすることができる。PCR 用の DNA 抽出は、*Alternaria* 属菌と同様の方法で可能である (図 5) (Villa ら, 2006)。

5) 植物への接種

自然界における植物への第一感染は分生子の付着から始まるものと考えられるため、接種試験には基本的に分生子を用いるのが適当である。上記の培地上で分生子殻を形成した菌叢を、水浸、激しく振とうして得た分生子懸濁液をガーゼ等で濾過し、分生子密度を調整後、植物に噴霧接種する。接種後、分生子発芽や感染を促すため、高湿度条件下に 2 日間ほど保つ。なお、本属菌は毒素を産生することが推察されるため、植物組織に菌叢片を高湿度条件下で接触させ、接種源周辺に水浸状のハローの拡大を認めることで、病原性の簡易検定も行える (図 16B)。

6) NIAS ジーンバンクに登録された野菜類病原性 *Phoma* 属菌

NIAS ジーンバンクには野菜類から分離された 21 菌株が登録されており、そのうち 11 菌株の病原性が接種試験を通じて確認されている (表 5)。その内訳は、*P. exigua* の 2 菌株がレタス、1 菌株がアーチチョーク、*P. lycopersici* Cooke の 1 菌株がトマト、*P. lingam* (Tode) Desm. の 4 菌株がキャベツ、*P. macrostoma* var. *incolorata* (A.S. Horne) Boerema & Dorenb. の 3 菌株がアーチチョークに病原性を示す。*P. exigua* 菌株は分離源 (宿主植物種) から推測すると、いずれも var. *exigua* と考えられる。これらの菌種に加え、*Phoma* 属

菌の有性世代 *Didymella* 属菌であるウリ科作物のつる枯病菌 *D. bryoniae* と、日本植物病名目録に病害の報告がある、トマトを分離源とする *P. destructiva* Plowr. について紹介する。なお、アスパラガスから分離された *P. asparagi* Sacc. は、*Phomopsis* 属菌であることが明らかとなったため、本稿では触れない。

① *P. exigua* var. *exigua*

分生子殻壁が薄く、厚膜胞子を形成せず、2細胞分生子を形成する *Phyllostictoides* section に属する。

菌叢の形状は様々で、OA 上では7日で直径5～8.5 cm まで生育する。菌叢の周縁はホタテガイ殻状 (scalloped)、裂片状 (lobed) 等で、白～灰色の気中菌糸を生じ、菌叢の内部は無色から灰・オリーブ色、黒色となる。分生子殻は分散して形成される。分生子塊の色は白～黄またはピンク～ワインカラー。分生子は油滴を含み、大きさは単細胞では4～7×2～3.5 μm、2細胞では7～10×2.5～3.5 μm である。培地に1M NaOH を滴下すると青緑に変色し、後に赤褐色に変化する。NaOH に対する反応は弱い菌株もある。生育適温は25℃付近。MAFF 726585 の菌叢は黒色で、灰色の気中菌糸を生じ (図 21)、NaOH に対する反応は陽性ながら弱い (図 17B)。

本菌は多犯性で様々な植物器官に毒素による病斑を形成する。トマト、トウガラシ、アーチチョーク、オクラ、キュウリでは葉に大きく拡大する円形の褐色病斑を形成する。レタスでは下葉の縁から発病し、茎や根まで侵される (竹内ら, 2007)。ゴボウでは茎や根に病斑が形成される根黒斑病と葉の病斑を病徴とする黒斑病が報告されている (粕山ら, 2008)。MAFF 726585 の 18S rDNA の部分塩基配列が NCBI に登録されている (Acces. No. AB454232)。

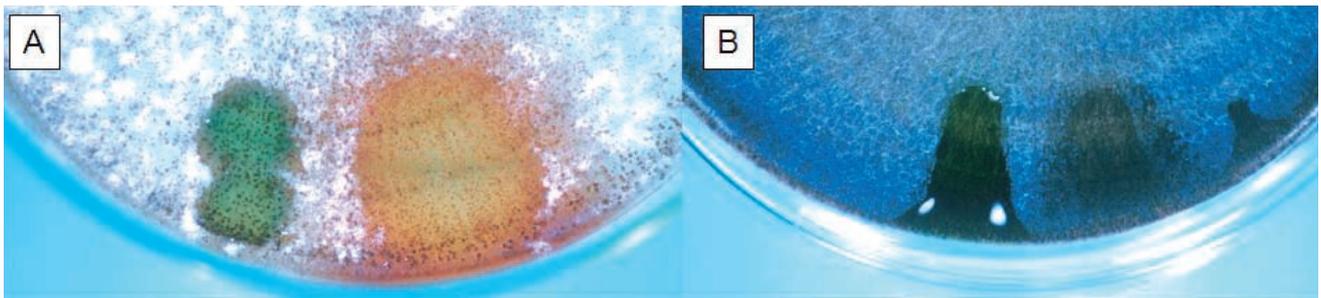


図 17. 1M NaOH を滴下した *P. macrostoma* var. *incolorata* (A) と *P. exigua* var. *exigua* (B) 菌叢の培地の変色 ※それぞれ左が滴下直後、右が経時後。

② *P. lycopersici*

本種も、*P. exigua* と同様に *Phyllostictoides* section に属する。

MAFF 726550 では、OA 上の菌叢は灰～黒色で白色の周縁を持つ (図 18)。菌叢表面に垂直に立ち上がる菌糸束を形成し、分生子殻を散生する。菌叢生育は速い。1M NaOH の滴下による培地の変色はない (陰性)。PDA 上ではオリーブ色を帯びた黒色の菌叢となる。生育適温は25℃。分生子は小油滴を複数含み、大きさが

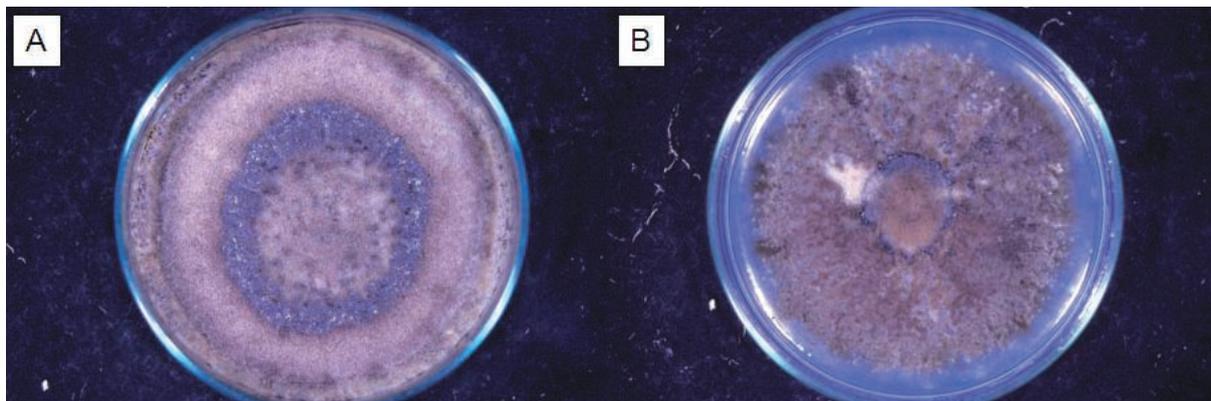


図 18. *P. lycopersici* (MAFF 726550) の OA (A)、PDA (B) 上の培養 14 日後の菌叢

表 5. NIAS ジーンバンクに登録された野菜由来の *Phoma* 属菌菌株 (その 1)

MAFF 番号	菌株名	種名	分離源	分離部位	病原性確認 ^{a)}	採集地	文献
240232	Pumpkin isolate	<i>D. byoniae</i>	カボチャ	つる		神奈川県横浜市	Furukawa ら, 2007
237607	岸 -10(6)	<i>D. byoniae</i>	キュウリ	茎		栃木県鹿沼市	
240231	cucumber isolate	<i>D. byoniae</i>	キュウリ	つる		神奈川県横浜市	Furukawa ら, 2007
305161	A-108	<i>D. byoniae</i>	キュウリ			千葉県	
712060	83Z10	<i>D. byoniae</i>	キュウリ	茎		三重県津市	
744015		<i>D. byoniae</i>	キュウリ	茎		福岡県久留米市	
240230	Y1-isolate	<i>D. byoniae</i>	ニガウリ	茎		神奈川県横浜市	Furukawa ら, 2007
235932	K Kita 15	<i>D. byoniae</i>	メロン	茎	○	北海道札幌市	
235933	K Kita 16	<i>D. byoniae</i>	メロン	茎	○	北海道札幌市	
235934	K Kita 18	<i>D. byoniae</i>	メロン	茎	○	北海道札幌市	
235935	K Kita 17	<i>D. byoniae</i>	メロン	果実	○	北海道石狩町	
235936	K Kita 19	<i>D. byoniae</i>	メロン	果実	○	北海道石狩町	
235937	K Kita 20	<i>D. byoniae</i>	メロン	果実	○	北海道石狩町	
235938	K Kita 21	<i>D. byoniae</i>	メロン	果実	○	北海道石狩町	
235939	K Kita 22	<i>D. byoniae</i>	メロン	果実	○	北海道石狩町	
235940	K Kita 23	<i>D. byoniae</i>	メロン	果実	○	北海道石狩町	
235941	K Kita 33	<i>D. byoniae</i>	メロン	果実	○	北海道札幌市	
235942	K Kita 34	<i>D. byoniae</i>	メロン	果実	○	北海道石狩町	
712094	86528	<i>D. byoniae</i>	メロン	茎		三重県津市	
744016		<i>D. byoniae</i>	メロン	茎		福岡県久留米市	
744045		<i>D. byoniae</i>	ネットメロン	茎	○	福岡県久留米市	
744046		<i>D. byoniae</i>	ネットメロン	茎	○	福岡県久留米市	
744047		<i>D. byoniae</i>	ネットメロン	茎	○	福岡県久留米市	
744048		<i>D. byoniae</i>	ネットメロン	茎	○	福岡県久留米市	
744049		<i>D. byoniae</i>	ネットメロン	茎	○	福岡県久留米市	
744050		<i>D. byoniae</i>	ネットメロン	茎	○	福岡県久留米市	
744051		<i>D. byoniae</i>	ネットメロン	茎	○	福岡県久留米市	
744053		<i>D. byoniae</i>	ネットメロン	茎	○	福岡県久留米市	
744054		<i>D. byoniae</i>	ネットメロン	茎	○	福岡県久留米市	
744055		<i>D. byoniae</i>	ネットメロン	茎	○	福岡県久留米市	
744056		<i>D. byoniae</i>	ネットメロン	茎	○	福岡県久留米市	
744057		<i>D. byoniae</i>	ネットメロン	茎	○	福岡県久留米市	
744058		<i>D. byoniae</i>	ネットメロン	茎	○	福岡県久留米市	
744059		<i>D. byoniae</i>	ネットメロン	茎	○	福岡県久留米市	
305182	A-107	<i>P. destructiva</i>	トマト			千葉県	
305980	leaf2	<i>P. destructiva</i>	トマト			東京都	Motohashi ら, 2009 ; 佐藤, 1990
237610	岸 -10(9)	<i>P. exigua</i>	ゴボウ	葉		宮崎県都城市	
238885	PmLa-1-1	<i>P. exigua</i>	レタス	葉	○	東京都町田市	
238886	PmLa-2-2	<i>P. exigua</i>	レタス	葉	○	東京都町田市	
726585	B2-1	<i>P. exigua</i> var. <i>exigua</i>	アーチチョーク	葉	○	三重県津市	Kubota ら, 2002 ; Motohashi ら, 2009
726528	NIVOT-Ph	<i>P. lingam</i>	キャベツ	茎	○	三重県津市	窪田ら, 1998
726579	980210-18	<i>P. lingam</i>	キャベツ	茎	○	三重県津市	窪田ら, 1999
726580	980210-15	<i>P. lingam</i>	キャベツ	茎	○	三重県津市	窪田ら, 1999
726581	971016-1	<i>P. lingam</i>	キャベツ	茎	○	三重県津市	窪田ら, 1998
726712	1013味春 (9/27)1-2	<i>P. lingam</i>	キャベツ	茎		三重県津市	窪田ら, 2006
726550	PhLyc	<i>P. lycopersici</i>	トマト	葉	○	宮崎県高千穂町	窪田ら, 2000 ; Motohashi ら, 2009
240233	Gunma isolate	<i>P. lycopersici</i>	ナス	葉		群馬県前橋市	Furukawa ら, 2007

a) 病原性確認は NIAS ジーンバンクの特性情報による。

表 5. NIAS ジーンバンクに登録された野菜由来の *Phoma* 属菌菌株 (その 2)

MAFF 番号	菌株名	種名	分離源	分離部位	病原性確認 ^{a)}	採集地	文献
726582	B1D1	<i>P. macrostoma</i> var. <i>incolorata</i>	アーチチョーク	葉	○	三重県津市	Kubota ら, 2002
726583	B1D2	<i>P. macrostoma</i> var. <i>incolorata</i>	アーチチョーク	葉	○	三重県津市	Kubota ら, 2002 ; Motohashi ら, 2009
726584	B3-1	<i>P. macrostoma</i> var. <i>incolorata</i>	アーチチョーク	葉	○	三重県津市	Kubota ら, 2002
237122	岸 -2(2)	<i>Phoma</i> sp.	オクラ	葉		東京都立川市	
237095	岸 -1(5)	<i>Phoma</i> sp.	トマト	葉		千葉県東金市	
237237	Kishi-5(1)	<i>Phoma</i> sp.	トマト	葉		長野県原村	
237241	Kishi-5(5)	<i>Phoma</i> sp.	フキ	葉		東京都立川市	

a) 病原性確認は NIAS ジーンバンクの特性情報による。

5.7 ~ 6.1 × 2.7 ~ 3.5 μm である。同菌株はトマトの葉や茎の褐色病斑から分離され (図 16C, D), 接種試験によりその病原性が確認されている。ナスにも病原性を示し, さらに人工接種によりダイズ, アズキ, エンドウの豆類の葉にも病斑を形成する。MAFF 726550 の 18S rDNA の部分塩基配列が NCBI に登録されている (Acces. No. AB454230)。

③ *P. lingam*

本菌は, 壁が厚い分生子殻を形成する *Plenodomus* section に属し, 雌雄異菌株性 (heterothallic) による有性世代が認められており, *Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. & De Not. とされている。

菌叢は多様で, 白色から灰~オリーブ色系または黄~褐色系で, 周縁が不規則に生育する菌株もある (図 19)。気中菌糸は, 菌叢全体に一樣に発生する。生育は遅く, 7 日で直径 2.5 cm までとされている。NIAS ジーンバンクに登録されている菌株は, 古い検索表 (Sutton, 1980) による, 分生子殻の形成, アブラナ科作物への感染と分生子サイズ (3.5 ~ 4.5 × 1.5 ~ 2.5 μm) のみに従って同定されており, Boerema ら (2004) の検索表・モノグラフで改めて同定を確認する必要がある。そこでは, 分生子殻の形態や菌叢生育速度により, 弱病原性の *P. sublingam* Boerema (完全世代: *L. submaculans* L. Holm), *L. biglobosa* Soemaker & H. Brun (不完全世代: *P. lingam* の非病原株) との異同を確認する必要がある。*P. sublingam* では, 古くなった分生子殻の頂口が *P. lingam* と比較して大きく, 突出が短い等の特徴があり, *L. biglobosa* は菌叢生育が速い。今後は ITS 領域等を用いた分子系統解析に基づく同定・分類も必要と思われる。なお, MAFF 726579 は病原性が弱く, また ITS 領域の塩基配列より, 完全世代は *L. biglobosa* と同定された。



図 19. PDA 上の *P. lingam* 菌叢 (左から MAFF 726528, 726579, 726580, 726581)

P. lingam による病害の一般的な病徴はアブラナ科作物の茎地際部の乾腐であるが、葉にも病斑形成する場合がある。国内では種子伝染によるキャベツのセル成型育苗での発病が目立つ（窪田ら, 1998 ; 1999 ; 2000a ; 2006 ; 中野, 1998）。NIAS ジーンバンクに登録されている5菌株も、キャベツセル成型苗の罹病部から分離された菌株である。本菌の種子伝染については、ISTAによる種子検査法が規定されている。本法では、1000粒の種子を、水を染み込ませた濾紙上で20°C 11日間培養し、分生子殻の形成の有無によって汚染を検出する。*P. sublingam*, *L. biglobosa*も種子伝染するとされている（Boeremaら, 2004）。一方、欧米ではナタネ（*Brassica napus* L.）の重要病害であり、レース分化や薬剤耐性も調べられているが、キャベツからの分離菌との関係は不明である。

④ *P. destructiva*

単細胞の分生子のみを形成する菌株は、Phoma sectionの*P. destructiva* var. *destructiva*であり、2細胞の分生子を形成するものはPhyllostictoides sectionの*P. destructiva* var. *diversispora* Gruyter & Boeremaに分類される。MAFF 305182はvar. *destructiva*である。var. *destructiva*の菌叢はオリーブ～黒色で、灰色の気中菌糸を生じ、分生子殻を散生する（図20）。分生子の大きさは $3.5 \sim 6 \times 2 \sim 2.5 \mu\text{m}$ で、*P. lycopersici*のものよりも細身の印象を受ける。本菌はトマトの葉や果実に病原性があり、*P. lycopersici*と同様の病徴

を現すが*P. lycopersici*よりも病原性は弱い。MAFF 305980の18S rDNAの部分塩基配列がNCBIに登録されている（Acces. No. AB454203）。

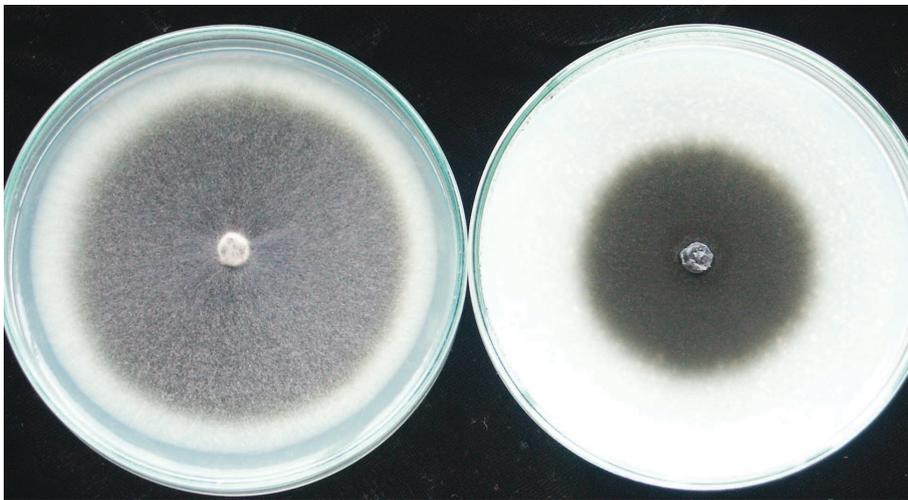


図 20. *P. destructiva* MAFF 305182 の菌叢
（左：PDA上，右：OA上）

⑤ *P. macrostoma* var. *incolorata*

2細胞の分生子を形成し、Phyllostictoides sectionに属する。*P. macrostoma* var. *macrostoma*との違いは、菌糸細胞への赤～紫色素の沈着であり、var. *incolorata*では色素沈着が認められない。菌叢生育は速く、7日で直径4.5～6cmまで生育する。菌叢の形状は多様で、白～灰、オリーブ、黒色となり、周縁もscalloped, lobedとなる菌株もある。気中菌糸は白～灰色で、豊富なものからほとんど認められないものがある。分生子殻の形成状況も様々で、大量に形成し融合するもの、中央付近に散生するもの等がある。NIAS ジーンバンクに登録されている3菌株もそれぞれ菌叢が異なる（図21）。分生子の大きさは、単細胞では $5 \sim 8 \times 2 \sim 3 \mu\text{m}$ 、2細胞以上では $8.5 \sim 14 \times 2.5 \sim 4 \mu\text{m}$ となる。Boeremaら（2004）によると、var. *incolorata*では1M NaOHを滴下した場合の培地の変色はない（陰性）とされているが、登録菌株では青色を呈した後に無色となり、var. *macrostoma*と同様の陽性反応と思われる（図17A）。

NIAS ジーンバンクに登録の3菌株はいずれもアーチチョークの葉の病斑から分離された菌株であり、培地に形成された分生子の接種により病原性が確認されている。また、液体培養後の培養濾液を有傷接種した場合にも病斑が形成され、毒素産生が推測される。本種の毒素の構造が解析されており、除草剤開発のデザインに利用することが研究されている（Grauperら, 2003）。MAFF 726583の18S rDNAの部分塩基配列がNCBIに登録されている（Acces. No. AB454231）。

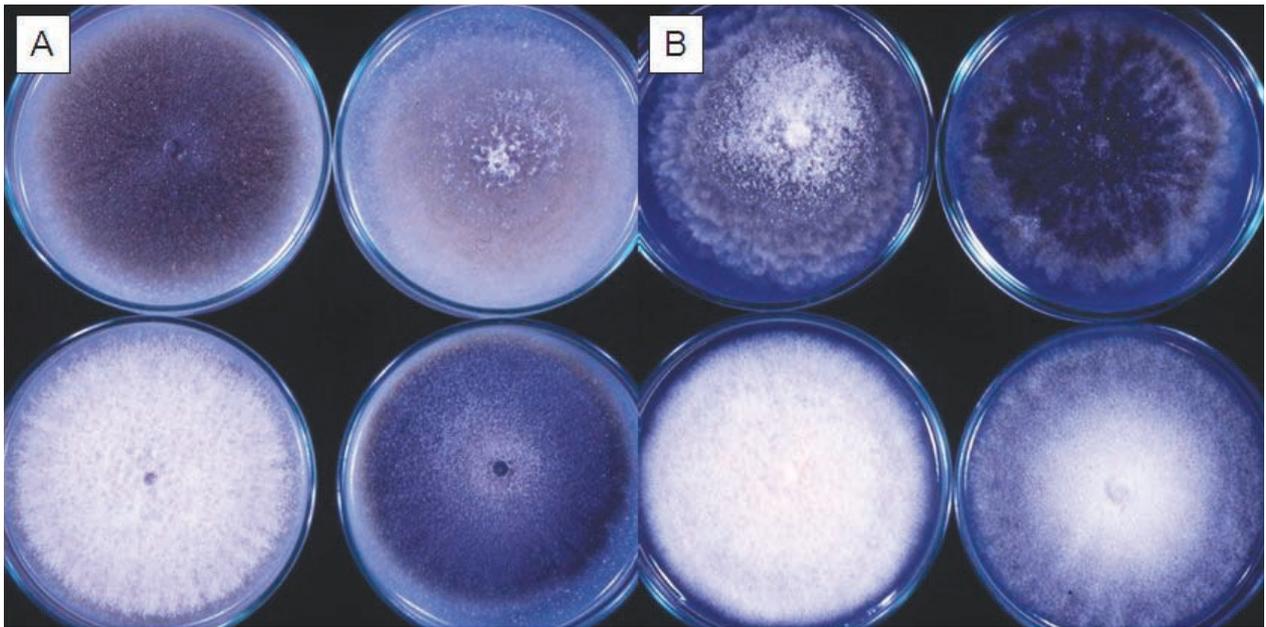


図 21. アーチチョーク輪紋病菌の OA (A), PSA (B) 上の菌叢

右下(A, B): *P. exigua* var. *exigua* (MAFF 726585), 他は *P. macrostoma* var. *incolorata* で A 左上・B 右上: MAFF 726583, A・B 左下: MAFF 726584, A 右上・B 左上: MAFF 726582.

⑥ *D. bryoniae*

2細胞の分生子が形成され、Phyllostictoides section に属する。近年、不完全世代が *Ascochyta cucumis* Fantrey & Roumeguère から *P. cucurbitacearum* とされた (Furukawa ら, 2007)。菌叢は灰～オリーブ色となり生育が早く、7日で直径9cmのシャーレ全体に広がる。灰色の気中菌糸が生じる。分生子は $4 \sim 8 \times 2 \sim 3 \mu\text{m}$ であり、宿主植物組織上に子のう殻、子のう胞子を形成する。子のう胞子は、2細胞で $14 \sim 18 \times 4 \sim 6 \mu\text{m}$ 。ウリ科作物の茎、葉、果実等全ての組織を侵し、つる枯病との病名が付けられている。茎ではくぼみが少ない白褐～褐色病斑を形成する。葉では、円形の病斑となる (図 16E～G)。第一感染は種子伝染による場合が多いと考えられる。

4. 引用文献

我孫子和雄・小林享夫・岸國平 (1988) 野菜の新病害 (1). 関西病虫研報30: 75.

Bains, P.S. and Tewari, J.P. (1987) Purification, chemical characterization and host-specificity of the toxin produced by *Alternaria brassicae*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 30: 259-271.

Berbee, M.L., Pirseyedi, M. and Hubbard, S. (1999) *Cochliobolus* phylogenetics and the origin of known, highly virulent pathogens, inferred from ITS and glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase gene sequences. *Mycologia* 91: 964-977.

Boerema, G.H., de Gruyter, J., Noordeloos, M.E. and Hamers, M.E.C. (2004) *Phoma* Identification Manual, pp.1-470. CABI Publishing, Wallingford, UK

Ellis, M.B. (1971) *Alternaria*, Dematiaceous

Hyphomycetes, pp.464-497. Common Wealth Mycological Institute (CMI), Kew, UK

Furukawa, T., Ono, Y. and Kishi, K. (2007) Gummy stem blight of balsam pear caused by *Didymella bryoniae* and its anamorph *Phoma cucurbitacearum*. *J. Gen. Plant Pathol.* 73: 125-128.

古川聡子 (2010) *Phoma*の分類について—*Phoma*って本当に分類できるんでしょうか?—, 現場で使える植物病原菌類解説—分類・同定から取り扱いまで—, pp.145-147. 植物病原菌類談話会, つくば

Graupner, P.R., Carr, A., Clancy, E., Gilbert, J., Bailey, K.L., Derby, J-A. and Gerwick, B.C. (2003) The macrocidins: novel cyclic tetramic acid with herbicidal activity produced by *Phoma macrostoma*. *J. Nat. Prod.* 66: 1558-1561.

- Hong, S.G., Cramer, R.A., Lawrence, C.B. and Pryor, B.M. (2005) Alt a 1 allergen homologs from *Alternaria* and related taxa: analysis of phylogenetic content and secondary structure. *Fung. Genet. Biol.* 42: 119-129.
- 粕山新二・桐野菜美子・谷名光治・那須英夫 (2008) *Phoma exigua* Desm. var. *exigua*によるゴボウ根黒斑病 (新称). *日植病報*74: 343-345.
- 岸國平 (1995) 寒天葉片法による柄子殻, 柄胞子の大量形成について. *植物防疫*49: 129-130.
- 岸國平 編 (1998) 日本植物病害大事典, pp.1-1276. 全国農村教育協会, 東京
- 岸國平・我孫子和雄 (2002) 野菜病害の見分け方—診断と防除のコツ—, pp.1-364. 全国農村教育協会, 東京
- 小林享夫・勝本謙・我孫子和雄・阿部恭久・柿島真編 (1992) 植物病原菌類図説, pp.1-685. 全国農村教育協会, 東京
- Kohmoto, K. and Otani, H. (1991) Host recognition by toxigenic plant pathogens. *Experientia* 47: 755-764.
- Kubota, M., Abiko, K., Yanagisawa, Y. and Nishi, K. (2006) Frequency of *Alternaria brassicicola* from commercial cabbage seeds in Japan. *J. Gen. Plant Pathol.* 72: 197-204.
- Kubota, M., Kishi, K. and Abiko, K. (2001) *Alternaria petasitis* sp. nov., causing *Alternaria* leaf spot of Japanese butterbur in Japan. *Mycoscience* 42: 29-32.
- 窪田昌春・我孫子和雄 (1998) キャベツのセル成型苗に発生した病害. *関西病虫研報*40: 55-63.
- 窪田昌春・我孫子和雄 (1999) 1~4月に育苗されたキャベツのセル成型苗に発生した病害. *関西病虫研報*41: 89-90.
- 窪田昌春・我孫子和雄 (2000a) 育苗施設のキャベツセル成型苗における病害の発生実態. *野茶試報*15: 1-10.
- 窪田昌春・岸國平・我孫子和雄 (2000b) *Phoma lycopersici* Cooke によるトマトの病害とその病名について. *日植病報*66:12-17.
- 窪田昌春・中筋智子・清水将文・西和文 (2006) 2004年8月~2005年3月に三重県内の育苗施設でキャベツセル成型苗に発生した病害. *関西病虫研報*48: 41-43.
- Li, K.N., Rouse, D.I. and German, T.L. (1994) Differentiation of ascomycetes with PCR primers. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 4324-4331.
- Motohashi, K., Inaba, S., Anzai, K., Takamatsu, S. and Nakashima, C. (2009) Phylogenetic analysis of Japanese species of *Phyllosticta sensu stricto*. *Mycoscience* 50: 291-302.
- 中野智彦 (1998) 機械移植栽培におけるキャベツ根朽病の伝染経路遮断による発生抑止. *関西病虫研報*40: 89-90.
- 日本植物病理学会 編 (2000) 日本植物病名目録, pp.1-857. 日本植物防疫協会, 東京
- 西川盾士 (2010) *Alternaria*とその関連属菌の分類・同定, 現場で使える植物病原菌類解説—分類・同定から取り扱いまで—, pp.173-178. 植物病原菌類談話会, つくば
- Otani, H., Kohno, A., Kodama, M. and Kohmoto, K. (1998) Production of a host-specific toxin by germinating spores of *Alternaria brassicicola*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 52: 285-295.
- Pryor, B.M. and Gilbertson, R.L. (2000) Molecular phylogenetic relationships amongst *Alternaria* species and related fungi based upon analysis of nuclear ITS and mt SSU rDNA sequences. *Mycol. Res.* 104: 1312-1321.
- Pryor, B.M. and Bigelow, D.M. (2003) Molecular characterization of *Embellisia* and *Nimbya* species and their relationship to *Alternaria*, *Ulocladium* and *Stemphylium*. *Mycologia* 95: 1141-1154.
- Pryor, B.M. and Michailides, T.J. (2002) Morphological, pathogenic, and molecular characterization of *Alternaria* isolates associated with *Alternaria* late blight of pistachio. *Phytopathology* 92: 406-416.
- Roberts, R.G., Reymond, S.T. and Andersen, B. (2000) RAPD fragment pattern analysis and morphological segregation of small-spored *Alternaria* species and species groups. *Mycol. Res.* 104: 151-160.
- 佐藤豊三 (1990) 小笠原諸島の亜熱帯農業環境における菌類遺伝資源の収集および特性解明, 微生物遺伝資源探索収集調査報告書. pp. 1-19.
- Simmons, E.G. (2007) ALTERNARIA An Identification Manual, pp.1-775. CBS Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, the Netherlands
- Sutton, B.C. (1980) *Phoma*, The Coelomycetes, pp.378-388. CMI, Kew, UK
- 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. *東京農総研報*2: 1-106.
- Tohyama, A. and Tsuda, M. (1995) *Alternaria* on cruciferous plants. 4. *Alternaria* species on seeds of some cruciferous crops and their

- pathogenicity. *Mycoscience* 36: 257-261.
- 遠山明 (1993) 真菌の分離と分類・同定35 *Alternaria* 属. 防菌防黴21: 107-115.
- 遠山明・西口由佳・嵯峨崎町子・椎橋由里子・津田盛也 (1992) *Alternaria brassicicola* (Sch.) Wiltshireによるダイコン黒斑病. 滋賀短大学誌42: 20-28.
- 富岡啓介・永井利郎・飯田元子・佐藤豊三 (2004) 植物病原菌類の保存法. 微生物遺伝資源利用マニュアル17: 23-32.
- Villa, N.O., Kageyama, K., Asano, T. and Suga, H. (2006) Phylogenetic relationships of *Pythium* and *Phytophthora* species based on ITS rDNA, cytochrome oxidase II and beta-tubulin sequences. *Mycologia* 98: 410-422.
- 渡辺康正 (1978) イチゴの黒斑病について. 今月の農業22(8): 14-18.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J. (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, PCR protocols: a guide to methods and application (Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J. and White, T.J. eds.), pp. 315-322. Academic Press, London, UK

生 物 研 資 料

平成 22 年 12 月

December, 2010

微生物遺伝資源利用マニュアル (30)

2010 年 12 月 24 日 印刷

2010 年 12 月 25 日 発行

編集兼
発行者 独立行政法人農業生物資源研究所

National Institute of Agrobiological Sciences

〒 305-8602 茨城県つくば市観音台 2-1-2