

北海道でのイネ科植物寄生性 *Bipolaris*, *Drechslera*, *Exserohilum* 属菌の収集

農業環境技術研究所 農業環境インベントリーセンター

微生物分類研究室

月星隆雄

Collection of Graminicolous *Bipolaris*, *Drechslera* and *Exserohilum* in Hokkaido

Takao TSUKIBOSHI

Microbial Systematics Laboratory, National Resources Inventory Center,
National Institute for Agro-Environmental Sciences
Kannondai 3-1-3, Tsukuba, Ibaraki 305-8604, Japan

1. 目的

イネ科植物には多種の *Bipolaris*, *Drechslera* および *Exserohilum* 属菌が寄生することが知られ、これらは葉や葉鞘に斑点、葉枯などの病徴を引き起こす。このことからイネ科作物の重要病害として研究されてきたが、最近ではイネ科雑草を枯らすことから、イヌビエ葉枯病菌 (*E. monoceras*) などが微生物除草剤、生物防除剤として研究・利用されている^{2,5)}。

Bipolaris [=有性世代: *Cochliobolus*]、*Drechslera* [=*Pyrenophora*] および *Exserohilum* [=*Setosphaeria*] の3属菌は子のう菌門、小房子のう菌綱、プレオスポラ科に属する。いずれもかつての *Helminthosporium* 属を細分した属で、イネ科植物を中心に寄生・生息するなど類縁性が高い。また、*Drechslera* 属菌は冷涼地に分布する C3 型イネ科植物を中心に、*Bipolaris* および *Exserohilum* 属菌は温暖地に分布する C4 型イネ科植物を中心に寄生することが知られる¹⁾。イネ科作物に寄生するこれらの菌については精力的に研究が進められ、著者も沖縄県で同属菌を採集したが⁴⁾、北海道など日本の冷涼地域での採集研究は不十分である。

冷涼地域のイネ科植物での上記3属菌の生息状況を明らかにすることは、防除に役立つ生態的な情報を得ると共に、イネ科野草の生物防除剤としての生物資源を得る上で重要である。そこで、イネ科牧草および野草を中心に寄生する *Bipolaris*, *Drechslera* および *Exserohilum* 属菌を探索して、イネ科植物の病害防除およびイネ科雑草の生物防除に資する遺伝資源として収集することを目的とし、3属菌の調査収集がまだ十分に行われていない北海道下でのサンプル収集を行った。

2. 探索概要

Bipolaris, *Drechslera* および *Exserohilum* 属菌の罹病サンプルは、北海道内で8月25日から29日の5日間にわたって採集した(表1)。釧路市周辺では釧路湿原を中心に2カ所で、網走市では2カ所で、訓子府町では道立北見農試を中心に3カ所で収集を行い、さらに上川町および札幌市でも採集した(図1)。

収集したサンプルは農業環境技術研究所に持ち帰り、葉身の病斑部分を切り取り、これをBLB光間欠照射下の湿室に3日間保ち、形成された分生胞子をV-8ジュース培地に移植して培養し、単胞子分離株を得ると同時に、分生子柄および分生胞子の光学顕微鏡下での形態観察を行った。分離株は変異を避けるために、既報の方法に従い乾燥シリカゲル粒上で保存した³⁾。種が確定した菌株については、MAFF微生物ジーンバンクに登録した。

一部の菌株については全ゲノムを抽出後、プライマーITS1およびITS4によりrDNA ITS領域を増幅した。これを精製後、ダイプライマー法により塩基配列を決定し、Web上で登録されている*Bipolaris*, *Drechslera* および *Exserohilum* 属菌データとの相同性を決定した。

表1. 探索・収集日程

年月日	行程	行動内容
H15.8.25	つくば市→ 釧路市	移動(空路)
26	釧路市 → 網走市	移動(陸路), 釧路市, 網走市周辺を探索
27	網走市 → 北見市	移動(陸路), 道立北見農試圃場および周辺を探索
28	北見市 → 上川市	移動(陸路), 足寄町, 上川町周辺を探索
29	上川市 → 札幌市	移動(陸路), 札幌市周辺を探索
	札幌市 → つくば市	移動(空路)

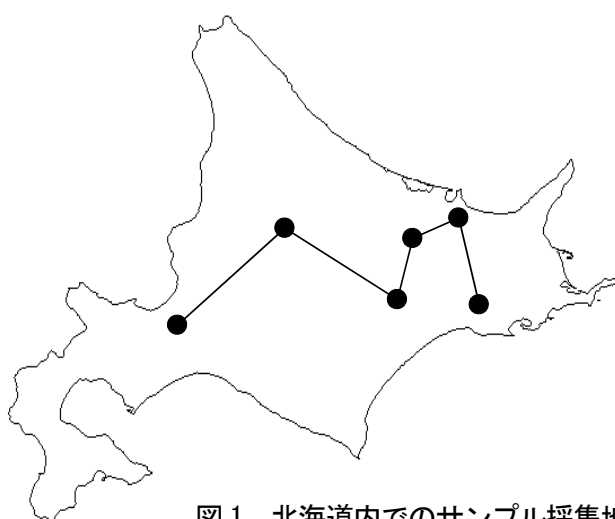


図1. 北海道内でのサンプル採集地点

3. 収集成果

北海道内での採集の結果、12種の植物から8種12菌株を得た(表2)。各分離菌株の分生胞子を図2に示す。分生子柄および分生胞子の形態に基づいて分類・同定した菌種は以下の通りである。

1) *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem. [= *Cochliobolus sativus* (Ito & Kurib.) Drechsler ex Dastur]

網走市, 釧路市, 訓子府町および札幌市でコムギ, オーチャードグラス, 不明イネ科野草から分離した (H-2, 3, 5, 11 菌株)。既報の菌であり, 形態から *B. sorokiniana* と同定した (図 2A)。ITS 配列はいずれの菌株も本種登録データと 99%以上の相同性を示した。なお, オーチャードグラスに H-5 菌株を接種したところ, 強い病原性を示し (図 2B), これまで本菌種による病害は報告されていないため, オーチャードグラス夏斑点病 (仮称) とする。

2) *Bipolaris zeicola* (Stout) Shoem. [= *Cochliobolus carbonum* Nelson]

網走市でトウモロコシから分離した (H-4 菌株)。既報の菌であり, 形態から *B. zeicola* と同定した (図 2C)。ITS 配列は本種登録データと 99%の相同性を示した。本菌はトウモロコシ北方斑点病菌であるが, レースは不明である。

3) *Drechslera avenacea* (Curtis ex Cooke) Shoem. [= *Pyrenophora chaetomioides* Speg.]

上川市でエンバク葉枯病サンプルから分離した (H-9 菌株)。既報の菌であり, 形態から *D. avenacea* と同定した (図 2D)。ITS 配列は本種登録データと 99%の相同性を示した。

4) *Drechslera bromi* (Died.) Shoem. [= *Pyrenophora bromi* (Died.) Drechsler]

訓子府町道立北見農試内でスムーズブロムグラス葉身および葉鞘上の褐色, 紡錘形, 5~10×1~3 mm, 周囲に黄色のハローを形成する病斑から分離した (口絵, H-6 菌株)。本菌の分生子柄は黄褐色, 100.8~220.6×7.6~13.4 μm, 分生胞子は半透明~淡黄褐色, 真直, 円柱形~先端に向かってごくわずかに漸尖し, 82.3~213.5×16.5~20.7 μm, 4~8 偽隔壁であった。以上の形態から *D. bromi* と同定した (図 2E)。ITS 配列も本種登録データと 100%の相同性を示した。本病は 1961 年に報告された褐斑病であり, 圃場の広い範囲で発生しており, 被害は大きかった。

菌株	菌種	宿主	症状	採集場所	rDNA 相同性	採集日	MAFF
H-1	<i>D. dictyoides</i>	不明イネ科野草		釧路, 達古武	AY004806, 100%	8/26	
H-2	<i>B. sorokiniana</i>	不明イネ科野草 (シバムギ?)		釧路, 茅沼	AF158105, 99%	8/26	
H-3	<i>B. sorokiniana</i>	コムギ	斑点病	網走		8/26	
H-4	<i>B. zeicola</i>	トウモロコシ		"	AF158110, 99%	8/26	
H-5	<i>B. sorokiniana</i>	オーチャードグラス	斑点	訓子府	AF158105, 100%	8/27	
H-6	<i>D. bromi</i>	スムーズブロム	褐斑病	訓子府, 道立農試	AY004809, 100%	8/27	306641
H-7	<i>D. phlei</i>	チモシー	葉枯病	"		8/27	306642
H-8	<i>D. tritici-repentis</i>	カモジグサ属	条斑	北海道, 足寄	AF071348, 99%	8/28	306661
H-9	<i>D. avenacea</i>	エンバク	葉枯病	上川, 道立農試	AY004796, 99%	8/28	306644
H-10	<i>D. dictyoides</i>	フェスク (<i>Festuca pratensis</i> ?)	網斑病	札幌	AY004806, 99%	8/29	306645
H-11	<i>B. sorokiniana</i>	不明イネ科野草	斑点	"	AF158105, 99%	8/29	
H-12	<i>E. monoceras</i>	イヌビエ	葉枯病	"		8/29	306646

5) *Drechslera dictyoides* (Drechsler) Shoem. [= *Pyrenophora dictyoides* Paul & Parbery]

釧路市の不明イネ科野草および札幌市のフェスク網斑病サンプルから分離した (H-1, 10 菌株)。既報の菌であり、形態から *D. dictyoides* と同定した (図 2F)。ITS 配列は本種登録データと 99% 以上の相同性を示した。

6) *Drechslera phlei* (Graham) Shoem.

訓子府町道立北見農試内でチモシー (*Phleum pratense* L.) の葉枯病サンプルから分離した (H-7 菌株)。本菌の分生子柄は黄褐色, 125.6~281.7×6.6~8.5 μm, 分生胞子は半透明~淡黄褐色, 真直, 円柱形~先端に向かってごくわずかに漸尖し, 61.1~129.7×12.2~18.6 μm, 偽隔壁であった。既報の菌であり、形態から *D. phlei* と同定した (図 2G)。

7) *Drechslera tritici-repentis* (Died.) Shoem. [= *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechsler]

足寄町でカモジグサ属植物 (*Agropyron* sp.) の条斑症状から分離した (H-8 菌株)。分生子柄は淡黄褐色, 181~306.7×6.6~9.5 μm で, 分生胞子は半透明~黄褐色, 両端の丸い円筒形で先端細胞は蛇頭形, 67.3~108.2×12.5~17.8 μm, 1~9 偽隔壁, 真直あるいはわずかに湾曲していた (図 2H)。ITS 配列は本種登録データと 99% の相同性を示した。本菌はコムギ黄斑病菌であり、カモジグサ属植物から採集されたのは本邦初だが、病原性は不明である。

8) *Exserohilum monoceras* (Drechsler) Leonard & Suggs [= *Setosphaeria monoceras* Alcorn]

札幌市でイヌビエ葉枯病サンプルから分離した (H-12 菌株)。既報の菌であり、形態から *E. monoceras* と同定した (図 2I)。

4. 所感

今回の調査で 10 種の寒地型イネ科植物および 2 種の暖地型イネ科植物から 8 種 12 菌株の *Bipolaris*, *Drechslera*, *Exserohilum* 属菌を得たが、このうち 1 種は新病害、オーチャードグラス夏斑点病 (仮称) であった。その他の菌株については形態および rDNA ITS 配列から種を同定し、北海道での上記 3 属菌の分布について一定の知見を得た。採集菌株はいずれも種を同定し、一部を MAFF 登録した。また、スムーズブロムグラス褐斑病の発生実態を初めて報告した。イネ科野草から得た数種の糸状菌は、イネ科雑草の防除に利用できる可能性がある。

5. 謝辞

採集に際し、北海道立北見農業試験場牧草科の方々にご協力をいただいた。記して、深く感謝の意を表す。

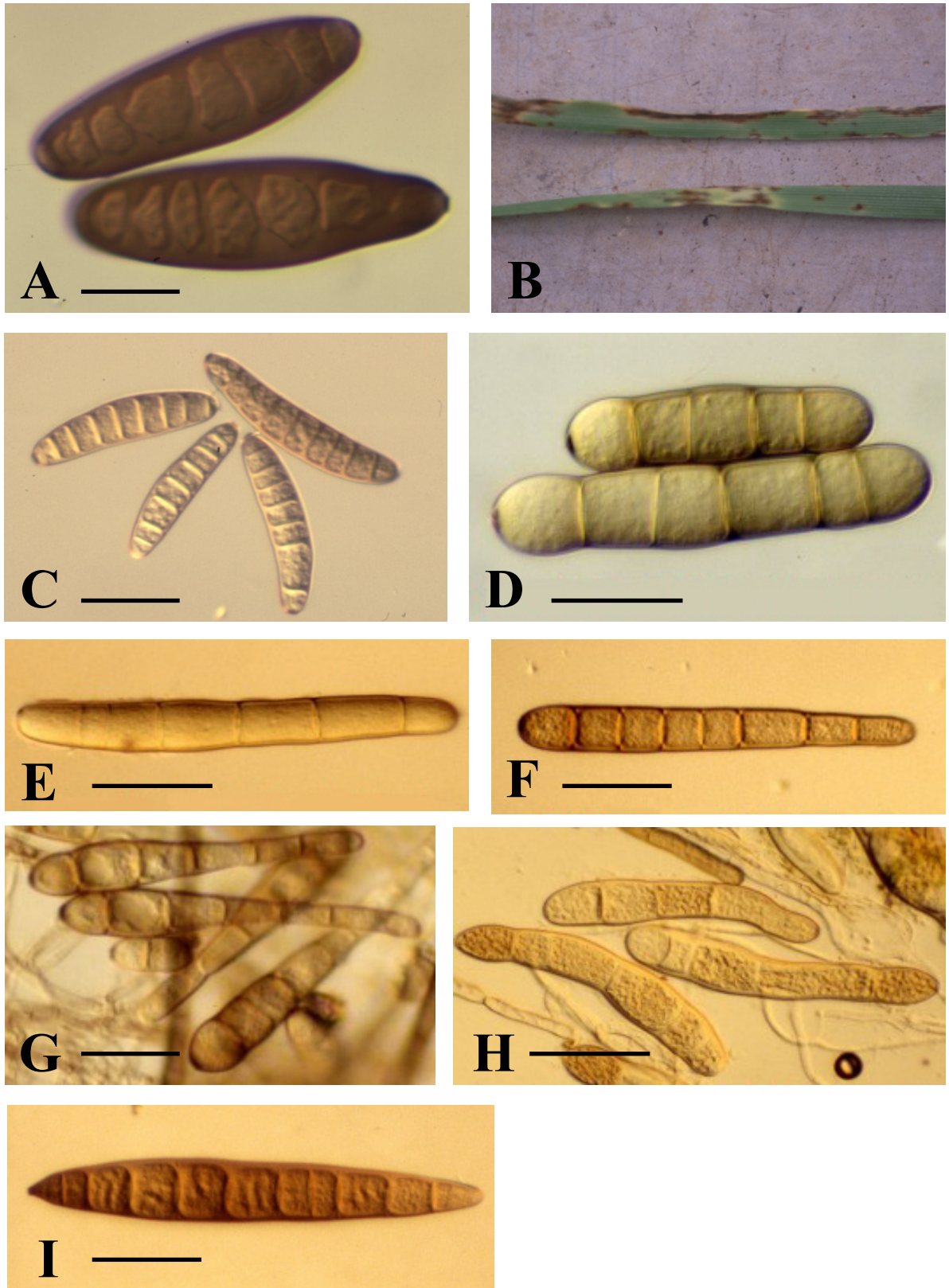


図2. 北海道で採集した *Bipolaris*, *Drechslera*, *Exserohilum* 属菌の分生胞子と宿主の病徴
 A: *B. sorokiniana* (bar=20 μm), B: *B. sorokiniana* によるオーチャードグラスの接種病徴,
 C: *B. zeicola* (40 μm), D: *D. avenacea* (30 μm), E: *D. bromi* (40 μm), F: *D. dictyoides*
 (30 μm), G: *D. phlei* (30 μm), H: *D. tritici-repentis* (40 μm), I: *E. monoceras* (30 μm)

6. 参考文献

- 1) 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. 草地試資料 2: 1-124.
- 2) Tsukamoto, H., Tsutsumi, F., Onodera, K., Yamada, M. and Fujimori, T. (1999). Biological Control of Rice Leaf Blast with *Exserohilum monoceras*, a Pathogen of *Echinochloa* Species. Ann. Phytopath. Soc. Japan 65: 543.
- 3) 月星隆雄 (1999). イネ科植物寄生性 *Drechslera*, *Bipolaris*, *Exserohilum* 属菌. 農業生物資源研究所微生物遺伝資源マニュアル第 6 号 29 p.
- 4) 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.
- 5) 渡邊寛明, 内野 彰, 橘 雅明 (2002). ヒエ病原菌 *Drechslera monoceras* の除草効果と他の抑制法との組み合わせ効果. 共通基盤研究成果情報 平成 13 年度 92-93.

Summary

Fungal isolates of the genera, *Bipolaris*, *Drechslera* and *Exserohilum*, causing leaf spot and blight in various cool season grasses were collected in Hokkaido. Twelve isolates of 8 species of the fungal genera were obtained from 12 kinds of gramineous plants. Four isolates identified as *B. sorokiniana* based on their morphologies and the sequences of rDNA ITS regions were newly found to cause summer leaf spot of orchardgrass (*Dactylis glomerata*) and resumed to be a new disease. Other isolates were identified as *B. zeicola*, *D. avenacea*, *D. bromi*, *D. dictyoides*, *D. phlei*, *D. tritici-repentis* and *E. monoceras* and some of the isolates were deposited in MAFF genebank. The occurrence of leaf spot on smooth brome grass caused by *D. bromi* was reported in detail for the first time.

微生物の探索収集プロフィール



北海道で見られたスムーズブロムグラス上の *Drechslera bromi* (Died.) Shoem.による病斑(月星)



香川県で見られたキュウ立枯れ症状
(伊藤・築尾)



新潟県で見られたダイズシストセンチュウ
によるダイズ被害根 (相場)



American Type Culture Collection (ATCC)
(竹内・飯田)