

日本産コムギ眼紋病菌の性状

竹内 徹*¹

北海道から分離されたコムギ眼紋病菌は、PDA平板上の培養形態から生育が速く菌叢の先端が全縁平滑の菌群 (fast-growing, even-edged type : FE型), 生育が遅く菌叢の先端が不定形羽毛状の菌群 (slow-growing, feathery-edged type : SF型) の2菌群が存在する。日本産のSF型菌の形態は未調査であるため、1989年に道内8支庁管内20市町村から40菌株を採取し形態を調査した。40菌株のうち20菌株がSF型菌, 20菌株がFE型菌であった。SF型菌の分生子は長さ41.2-118.3 (平均70.1) × 幅1.0-2.1 (平均1.6) μm , 3-7個の隔壁を有し、既報の海外産SF型菌の形態と概ね一致した。また、日本産のFE型菌と日本産のSF型菌は分生子の形態が類似し、その形態に基づく識別は困難であった。分離菌のコムギおよびライムギに対する病原性を調査した結果、FE型菌, SF型菌ともにコムギに対しては強い病原性を示したが、ライムギに対してはSF型菌の病原性が強い傾向は認められたものの、ライムギに対する病原性に基づいて2菌群を識別するのは困難であった。

緒言

コムギ眼紋病は、世界各地の比較的冷涼な気象条件にあるコムギ栽培地帯で発生している⁹⁾。本病は地際葉鞘や茎に眼紋状の病斑を形成し、病斑が進展すると稈が腐敗して早期倒伏の原因となるため被害は著しい^{2, 19)}。我が国では、1983年秋田県大潟村において³⁾、またほぼ同時期に北海道でも美瑛市および滝上町で本病の発生が確認された¹⁰⁾。現在まで国内で発生が報告されているのは、この2道県のみである。1990年代に入って秋田県ではほとんど発生がみられなくなっており⁵⁾、現在、国内では北海道でのみ発生と被害がみられる病害である。

わが国で最初に分離されたコムギ眼紋病菌は北海道および秋田県分離菌とも分生子の形態的特徴に基づき *Pseudocercospora herpotrichoides* (Fron) Deighton と同定された^{3, 10)}。その後、北海道分離菌は、PDA平板培地上での培養菌叢と生育速度から生育が速く菌叢の周縁が全縁平滑の菌群 (fast-growing, even-edged type : FE型) と生育が遅く菌叢の周縁が不定形羽毛状の菌群 (slow-growing, feathery-edged type : SF型) の2菌群があることが示された^{4, 15)}。Takeuchi and Kuninaga^{16, 17)} は世界各地から収集したムギ類眼紋病菌を対象にした核DNAの再会合反応によるDNA類縁性およびミトコンドリアDNA

(mtDNA) の制限酵素断片長多型による解析で、これら2菌群は遺伝的に明瞭に独立した別種に相当する関係であることを示した。Crousら¹⁾ はこれら2菌群を5.8sリボゾームDNAを含むinternal transcribed spacer (rDNA-ITS) 領域を用いた分子系統解析に基づき、それぞれ独立種としてFE型菌を *Oculimacula yallundae* (Wallwork & Spooner) Crous & W. Gams およびSF型菌を *Oculimacula acuformis* (Nirenberg) Y. Marin & Crous と位置付け、日本産菌についても竹内ら¹⁸⁾ がこれらの種名を採用している。

古屋³⁾ および宮島・斉藤¹⁰⁾ の国内初発生報告におけるコムギ眼紋病菌は、FE型菌 *O. yallundae* であり、日本産のSF型菌 *O. acuformis* の分生子の形態は調査されていない。また、海外ではコムギ眼紋病菌のライムギに対する病原性による分類が報告されているが^{6, 8, 14)}、日本産のコムギ眼紋病菌の病原性は調査されていない。そこで、日本産のコムギ眼紋病菌についてこれらの性状を明らかにし、海外の報告と比較したので報告する。

試験方法

供試菌株 罹病植物からの分離は以下の方法で行った。1989年6~7月に北海道内のコムギは場から発病株の稈を採集し、冷蔵庫内で保存した。発病サンプルの独立した病斑の病変部と健全部の境を約5mm四方に切り取り、70%エタノールで約30秒間、1%次亜塩素酸ナトリウム水溶液で約30秒間表面殺菌した後、滅菌水で洗浄し、滅菌濾紙上で余分な水分を除去した。この切片をストレブ

2019年12月11日受理

*¹ (地独) 北海道立総合研究機構農業研究本部, 〒069-1395 夕張郡長沼町

トマイシン硫酸塩を300ppm加用したジャガイモ煎汁寒天培地 (PDA; ジャガイモ200gの煎汁, ブドウ糖20g, 寒天15g, 蒸留水1l) に置床して22°Cで2週間培養し, 生育した菌叢先端部をPDA平板培地に移植し, 単孢子分離を行った後に試験に供した。

培養形態 各供試菌株をPDA平板培地上で25°Cで1週間培養し, 直径5mmのコルクボーラーで菌叢を打ち抜き, 別のPDA平板培地に移植した。培養は22°Cで行い, 生育した菌叢の直径を培養3週間後と4週間後に計測し, 1日あたりの菌糸伸長程度を算出した。

分生子の形態 分生子は古屋³⁾の方法にしたがって形成させ, 観察した。すなわち, 供試菌株をPDA平板培地で25°C 2週間培養後に, 菌叢の辺縁部を直径5mmのコルクボーラーで打ち抜き, 菌糸の生育面を上にして素寒天 (WA) 平板培地上に置いて9°Cで培養した。培養約15日後に含菌寒天ディスクの辺縁あるいはWA平板上に形成された分生子の大きさを測定するとともに形態を観察した。

コムギおよびライムギに対する病原性 病原性試験は以下に示したHollinsら⁶⁾の方法にしたがって行った。すなわち, 長さ2~3cmに細断したコムギの稈にジャガイモ煎汁液体培地 (PDB; ジャガイモ200gの煎汁, ブドウ糖20g, 蒸留水1l) を容量比で1:1となるように加えてオートクレーブ殺菌 (121°C 20分) し, 供試菌株のPDA含菌寒天 (直径5mm) を移植し, 22°Cで1ヶ月間培養して接種源とした。人工培土 (くみあい粒状培土: 北海三

共) を充填した直径12cmの素焼き鉢にコムギ (品種「チホクコムギ」) およびライムギ (品種「春一番」) の種子を10粒ずつ播種し, 約10°Cで制御したガラス温室内で1ヶ月間栽培し, 2葉期になったものを検定植物とした。培土の表面に接種源を鉢あたり10gの割合で敷き詰め接種を行った。1菌株あたりコムギおよびライムギそれぞれ4鉢を供試した。接種後も同条件で栽培し, 1ヶ月後に, 全株を抜き取って発病程度を調査した。発病程度はScott¹³⁾ およびHollinsら⁶⁾による以下の調査基準にしたがって調査した。発病指数0: 子葉鞘に病斑, 1: 子葉鞘が貫通, 2: 第一葉鞘に病斑, 3: 第一葉鞘が貫通, 4: 第二葉鞘に病斑, 5: 第二葉鞘が貫通, 6: 第三葉鞘に病斑, 平均発病指数 = Σ (発病程度別茎数 × 指数) / (調査茎数)

結 果

罹病コムギから40菌株のコムギ眼紋病菌を分離した。内訳は第1表に示した。これらの菌株の生育速度は, 20菌株が1.9-3.5 (平均2.6) mm/日, 20菌株が0.5-1.4 (平均0.9) mm/日と菌株間で明瞭な差が認められ, 培養形態 (写真1) から前者をFE型菌, 後者をSF型菌と同定した。

分生子の大きさおよび隔膜数は, FE型菌が長さ35.4-96.0 (平均63.2) × 幅1.0-2.0 (平均1.5) μm および3-7, SF型菌が長さ41.2-118.3 (平均70.1) × 幅1.0-2.1 (平均1.6) μm および3-7で, FE型菌がやや大きかったがその差はわずかであった。分生子の形態 (写真2) は, FE型菌が直線状か

第1表 供試菌株の分離地^{a)}

| 菌群 | | | | 菌群 | | | |
|--|-------|----|------|--|-------|----|-------|
| FE型菌 | | | | SF型菌 | | | |
| 培養形態 ^{b)} | | | | 培養形態 ^{b)} | | | |
| 生育が速く全縁平滑 (fast-growing, even-edged type) | | | | 生育が遅く不定形羽毛状 (slow-growing, feathery-edged type) | | | |
| 番号 | 菌株名 | 地域 | 市町村 | 番号 | 菌株名 | 地域 | 市町村 |
| 1 | 9-1 | 石狩 | 当別町 | 1 | 19-4 | 石狩 | 千歳町 |
| 2 | 52-2 | 空知 | 沼田町 | 2 | 71-1 | 留萌 | 苫前町 |
| 3 | 74-1 | 留萌 | 羽幌町 | 3 | 125-2 | 空知 | 滝川市 |
| 4 | 119-1 | 留萌 | 遠別町 | 4 | 164-5 | 上川 | 士別市 |
| 5 | 145-1 | 空知 | 月形町 | 5 | 185-5 | 胆振 | 厚真町 |
| 6 | 243-3 | 後志 | 共和町 | 6 | 248-4 | 後志 | 留寿都村 |
| 7 | 245-3 | 後志 | 京極町 | 7 | 187-2 | 日高 | 平取町 |
| 8 | 303-2 | 上川 | 旭川市 | 8 | 227-1 | 網走 | 常呂町 |
| 9 | 403-1 | 桧山 | 今金町 | 9 | 53-1 | 上川 | 美瑛町 |
| 10 | 409-1 | 胆振 | 伊達市 | 10 | 109-1 | 上川 | 下川町 |
| 11 | 427-2 | 空知 | 美瑛市 | 11 | 206-1 | 網走 | 美幌町 |
| 12 | W1 | 桧山 | 北桧山町 | 12 | 209-2 | 網走 | 斜里町 |
| 13 | 10-2 | 空知 | 奈井江町 | 13 | 217-1 | 網走 | 北見市 |
| 14 | 110-2 | 空知 | 長沼町 | 14 | 230-1 | 網走 | 白滝村 |
| 15 | 89-4 | 胆振 | 穂別町 | 15 | 232-1 | 網走 | 佐呂間町 |
| 16 | 157-3 | 石狩 | 江別市 | 16 | 250-2 | 後志 | 真狩村 |
| 17 | 13-1 | 石狩 | 新篠津村 | 17 | 307-3 | 上川 | 東川町 |
| 18 | 113-4 | 空知 | 南幌町 | 18 | 316-1 | 上川 | 上富良野町 |
| 19 | 176-2 | 日高 | 平取町 | 19 | 436-1 | 十勝 | 新得町 |
| 20 | 196-4 | 胆振 | 厚真町 | 20 | 439-1 | 十勝 | 池田町 |

a) 1989年に分離

b) PDA平板上

らややカーブするもの、SF型菌は直線状のものが多かったが、連続的な差であった(第2表)。これらの分生子の大きさおよび形態から両者を明確に区別するのは困難であった。

FE型菌およびSF型菌のコムギにおける発病指数はそれぞれ2.3~5.4(平均3.5) および2.5~4.3(平均3.3) と

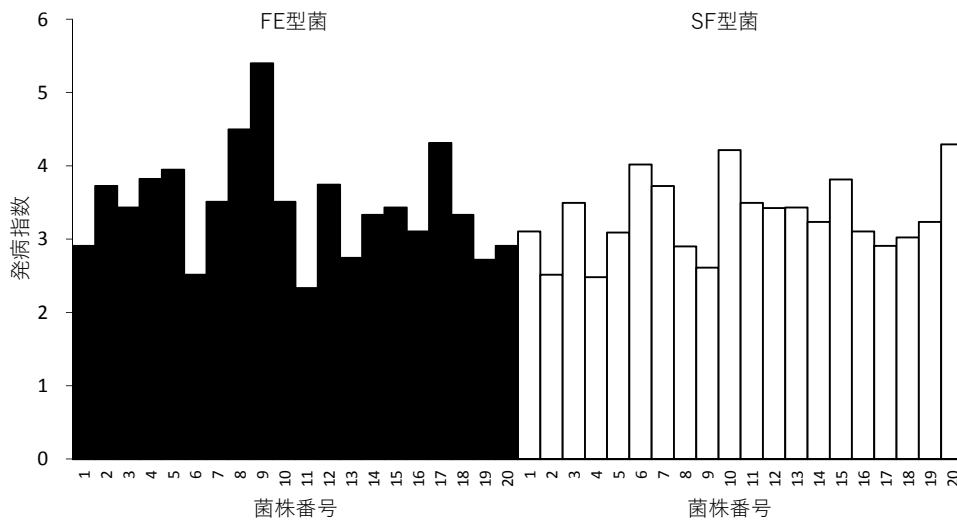
両菌群ともに強い病原性を示した。一方、ライムギにおける発病指数はコムギに比べて低く、FE型菌が0.1~1.1(平均0.6)、SF型菌が0.5~2.2(平均1.3) とSF型菌で病原性が強い傾向が認められたが、両菌群の発病指数は一部の菌株で逆転していた(第1図、第2図)。

第2表 日本産コムギ眼紋病菌の分生子の大きさと形態

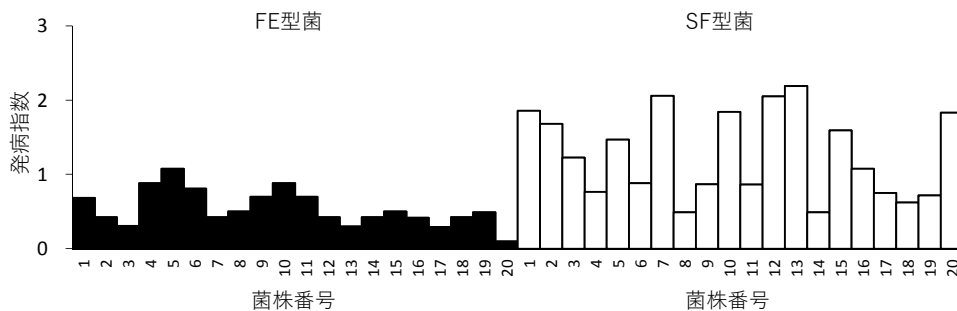
| 菌群または菌種 | 長さ(μm) | 幅(μm) | 隔膜数 | 形態 |
|--|-----------------------------------|---------|-----|----------|
| FE型菌 | 35.4-96.0 (63.2) ^{a)} | 1.0-2.0 | 3-7 | 直線状~カーブ状 |
| SF型菌 | 41.2-118.3 (70.1) | 1.0-2.1 | 3-7 | 直線状 |
| <i>Pseudocercospora herpotrichoides</i> var. <i>herpotrichoides</i> ^{b)} | 35.0-80.0 (51.7) | 1.5-2 | 4 | 直線状~カーブ状 |
| <i>Pseudocercospora herpotrichoides</i> var. <i>acuformis</i> ^{b)} | 43.0-120.0 (65.8) | 1.2-2.3 | 4-6 | 直線状 |
| <i>Pseudocercospora anguioides</i> ^{b)} | 80.0-200.0 (152.0) | 1.0-1.5 | 6-8 | 直線状 |
| <i>Pseudocercospora aestiva</i> ^{b)} | 15.0-32.0 (23.6) | 1.0-1.5 | 3 | カーブ状 |

a) 平均値

b) Nirenberg (1981)



第1図 日本産コムギ眼紋病菌のコムギに対する病原性



第2図 日本産コムギ眼紋病菌のライムギに対する病原性

考 察

Lange-de la Camp⁸⁾ は、ライムギに対する病原性の強弱を基本的な類別基準としてムギ類眼紋病菌 *Cercospora herpotrichoides* Fron (syn. *Pseudocercospora herpotrichoides*) をW (wheat) タイプとR (rye) タイプに分けることができるとした。Scott¹⁴⁾ は、コムギおよびライムギに対する病原性試験をもとにこのことを改めて確認するとともに、この類別の重要性を指摘した。また、WタイプはFE型菌、RタイプはSF型菌に概ね対応するが、例外も報告されている⁶⁾。

これまで日本産菌の病原性は明らかにされていなかったが、本研究でSF型菌がFE型菌よりライムギに強い病原性を示す傾向が認められ、海外の報告と一致した。しかし、2菌群の発病程度は重複していて差は明確でなく、ライムギに対する病原性をもとに2菌群を識別するのは困難であり、この点も海外の知見と一致した⁹⁾。

Nirenberg¹¹⁾ は主に分生子の形態的な差異に基づいて *Pseudocercospora herpotrichoides* を2つの亜種、すなわち var. *herpotrichoides* および var. *acuformis* と呼ぶことを提唱した。両亜種は培養上の性質から、*P. herpotrichoides* var. *herpotrichoides* はFE型菌、*P. herpotrichoides* var. *acuformis* はSF菌に概ね対応し、それぞれWタイプとRタイプに対応していると考えられる^{7, 12)}。

本研究でFE型菌の分生子の形態はNirenberg¹¹⁾ の報告および国内の報告^{3, 10)} とほぼ一致した。これまで形態が調査されていなかった日本産のSF型菌の分生子の大きさおよび隔膜数は、海外の報告におけるSF型菌 *P. herpotrichoides* var. *acuformis* の形態と概ね一致した¹¹⁾ (第2表)。しかし、FE型菌とSF型菌は分生子の形態は類似し、これらに基づく識別は困難であった。

本研究によって、我が国で分離され、培養形態から類別したFE型菌 (*O. yallundae*) およびSF型菌 (*O. acuformis*) の分生子の形態およびライムギに対する病原性で類別するのは困難で、これらの性状は海外での報告^{8, 11, 14)} と一致することが示された。

謝 辞 本論文を発表するにあたり、北海道立総合研究機構三澤知央博士には有益なご助言を賜った。ここに記して厚く御礼申し上げる。

引用文献

1) Crous, P. W., Groenewald, J. Z. and Gams, W. Eyespot of cereals revisited: ITS phylogeny reveals new species relationships. *Eur. J. Plant Pathol.* 109, 841-850 (2003)
2) Fitt, B. D. L., Goulds, A. and Polley, R. W. Eyespot (*Pseudocercospora herpotrichoides*) epidemiology

in relation to prediction of disease severity and yield loss in winter wheat—a review. *Plant Pathol.* 37, 311-328 (1988)

- 3) 古屋廣光. わが国における *Pseudocercospora herpotrichoides* (Fron) Deighton によるコムギ眼紋病 (新称) の発生. *日植病報* 50, 77-81 (1984)
4) 古屋廣光, 高野仁孝, 井上 悟, 松本 勤. 我が国におけるムギ類眼紋病菌のfast-evenタイプとslow-featheryタイプの発生. *北日本病虫研報* 44, 16-19 (1993)
5) 古屋廣光, 松本 勤. コムギ眼紋病の本州北部日本海側 (秋田県) における発病の経過. *日植病報* 62, 194-198 (1996)
6) Hollins, T. W., Scott, P. R. and Paine, J. R. Morphology, benomyl resistance and pathogenicity to wheat and rye of isolates of *Pseudocercospora herpotrichoides*. *Plant Pathol.* 34, 369-379 (1985)
7) King, J. E. and Griffin, M. J. Survey of benomyl resistance in *Pseudocercospora herpotrichoides* on winter wheat and barley in England and Wales in 1983 *Plant Pathol.* 34, 272-283 (1985)
8) Lange-de la Camp, M. Die Wirkungsweise von *Cercospora herpotrichoides* Fron, dem Erreger der Halmbruchkrankheit des Getreides. I. Feststellung der Krankheit, Beschaffenheit und Infektionsweise des Erregers. *Phytopathol. Z.* 55, 34-66 (1966)
9) Lucas, J. A., Dyer, P. S. and Murray, T. D. Pathogenicity, host-specificity, and population biology of *Tapesia* spp., causal agents of eyespot disease of cereals. *Adv. Bot. Res.* 33, 225-258 (2000)
10) 宮島邦之, 齊藤 泉. *Pseudocercospora herpotrichoides* によるコムギのeyespot (仮称) の発生. *日植病報* 50, 97-98 (1984)
11) Nirenberg, H. I. Differentiation of *Pseudocercospora* strains causing foot rot disease of cereals. 1. Morphology. *Z. Pflanzenkrankh. Pflanzensch.* 88, 241-248 (1981)
12) Priestley, R. A., Dewey, F. M., Nicholson, P. and Rezanoor, H. N. Comparison of isoenzyme and DNA markers for differentiating W-, R- and C-pathotypes of *Pseudocercospora herpotrichoides*. *Plant Pathol.* 41, 591-599 (1992)
13) Scott P. R. The effect of temperature on eyespot (*Cercospora herpotrichoides*) in wheat seedlings. *Ann. appl. Biol.* 68, 169-175 (1971)
14) Scott, P. R., Hollins, T. W. and Muir, P. Pathogenicity of *Cercospora herpotrichoides* to wheat, barley, oats and rye. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 65, 529-538 (1975)
15) 竹内 徹, 田村 修, 児玉不二雄, 角野晶大. コムギ眼紋病菌 *Pseudocercospora herpotrichoides* のW

- タイプとRタイプの培養的性質，胞子の形態，病原性およびEBI剤に対する感受性. 日植病報58, 543 (1992)
- 16) Takeuchi, T. and Kuninaga, S. Genetic relationship in *Pseudocercospora herpotrichoides* determined from DNA relatedness. Mycol. Res. 98, 1059-1064 (1994)
- 17) Takeuchi, T. and Kuninaga, S. Determination of relationships in *Pseudocercospora herpotrichoides* by analysis of mitochondrial DNA. Mycol. Res. 100, 693-701 (1996)
- 18) 竹内 徹, 角野晶大, 田中文夫. コムギ眼紋病菌 *Oculimacula yallundae*, *Oculimacula aciformis*の北海道における分布とDMI剤に対する感受性および防除効果. 日植病報84, 275-281 (2018)
- 19) 竹内 徹. コムギ眼紋病の発病とコムギの収量および品質の関係. 北日本病虫研報69, 35-38 (2018)

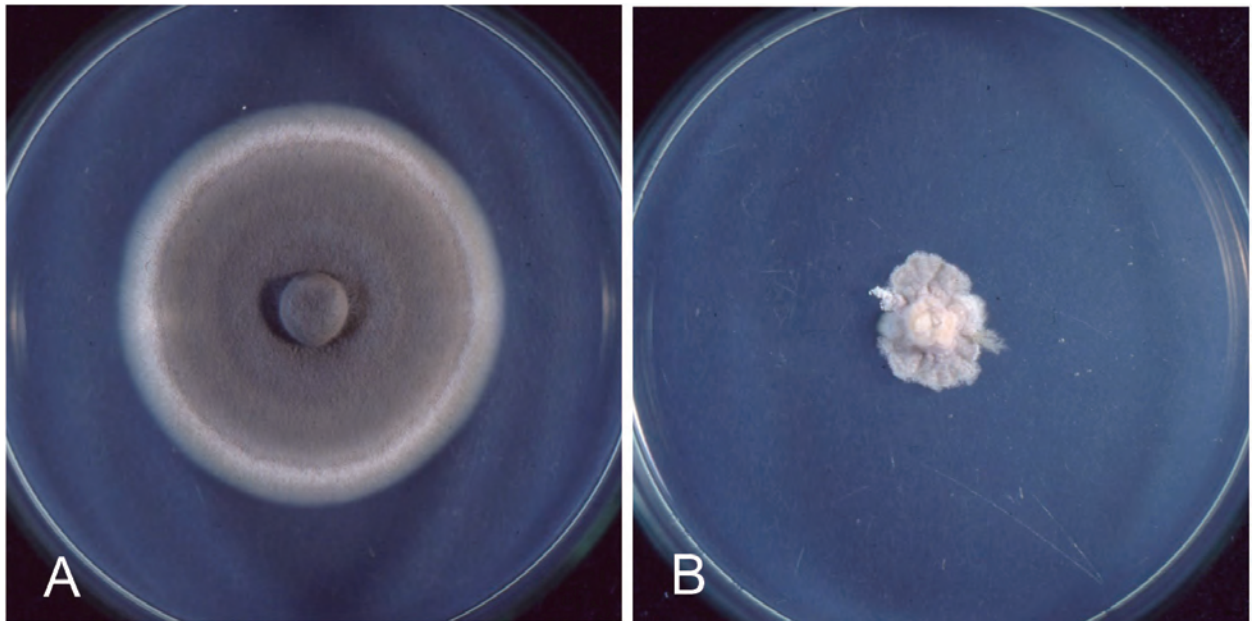


写真1 コムギ眼紋病菌の培養形態

- A. FE型菌
- B. SF型菌

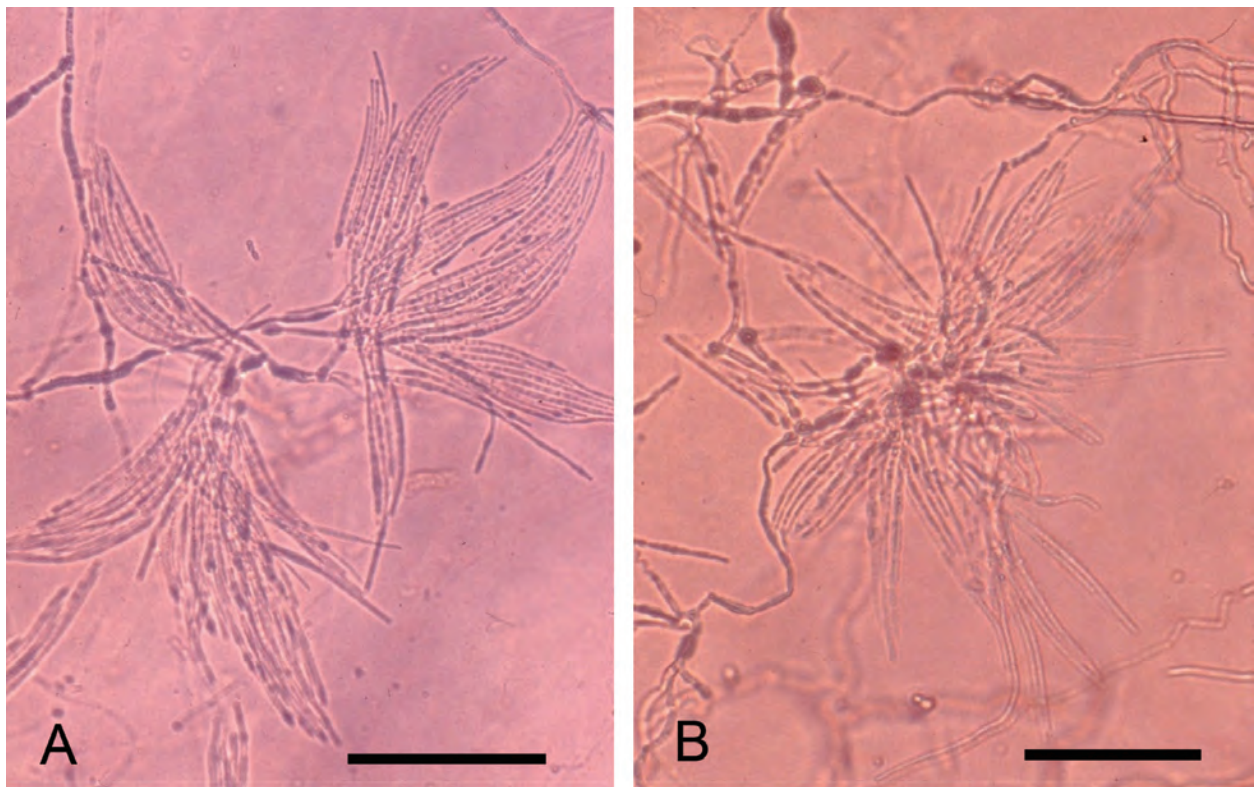


写真2 コムギ眼紋病菌の分生子の形態

バーは50 μ mを示す

- A. FE型菌
- B. SF型菌

Characteristics of wheat eyespot pathogen in Japan

Toru TAKEUCHI^{*1}

Summary

Isolates of the eyespot pathogen collected from the wheat fields in Hokkaido, Japan, were divided into two groups based on colony morphology on PDA: fast-growing, even-edged (FE) and slow-growing, feathery or uneven-edged (SF). We investigated conidial morphology and the pathogenicity to rye of these isolates. The morphological characteristics of conidia of FE and SF groups were almost identical to *Pseudocercospora herpotrichoides* var. *herpotrichoides* and *P. herpotrichoides* var. *acuformis* described by Nirenberg (1981), respectively. Pathogenicity to wheat and rye seedlings was determined for FE and SF isolates. FE and SF isolates were about equally pathogenic to wheat; SF isolates were more pathogenic to rye than FE isolates. Thus, in morphology and pathogenicity FE isolates conformed to the published descriptions of W-types, while SF isolates conformed to the descriptions of R-types. However, these two groups of the pathogens could not be clearly distinguished by conidial morphology and the pathogenicity to rye.

^{*1} Hokkaido Research Organization Agricultural Research Department, Naganuma, Hokkaido, 069-1395, Japan
E-mail: takeuchi-toru@hro.or.jp