

薬用植物に発生した菌類病に関する研究

柴田, 葵 / Shibata, Aoi

(出版者 / Publisher)

法政大学大学院理工学・工学研究科

(雑誌名 / Journal or Publication Title)

法政大学大学院紀要. 理工学・工学研究科編 / 法政大学大学院紀要. 理工学・工学研究科編

(巻 / Volume)

58

(開始ページ / Start Page)

1

(終了ページ / End Page)

5

(発行年 / Year)

2017-03-31

(URL)

<https://doi.org/10.15002/00014376>

薬用植物に発生した菌類病に関する研究

FUNGAL DISEASES OF MEDICINAL PLANTS IN JAPAN

柴田 葵

Aoi SHIBATA

指導教員 石川成寿

法政大学大学院理工学研究科生命機能学専攻植物医科学領域修士課程

During 2014 to 2016, a large number of fungal diseases of medicinal plants at the Tokyo Metropolitan Medicinal Plant Botanical Garden in Japan were recorded. Sixty-eight fungal genera found on 218 plant species belonging to 162 genera, 75 families, in the garden were identified based on morphological and molecular analyses. Likewise, several fungal diseases on medicinal plants at Tanegashima Division, Research Center for Medicinal Plant Resources were observed in July, 2016. Twenty-four fungal genera found on 33 plant species belonging to 33 genera, 25 families, in the garden were identified. Some additional diseases requested as diagnosis around Japan were also conducted. Pathogenicity test and detail identification of pathogens for six diseases i.e., six fungal diseases on *Alisma plantago-aquatica* var. *orientale*, *Rehmannia glutinosa* forma *hueichingensis*, *R. glutinosa* var. *purpurea*, *Datura innoxia* and *Benincasa hispida*, were especially examined. From these results, all six diseases were recorded as new diseases in Japan.

Key Words : *New plant disease, Medicinal plant, Sclerotium rolfsii, Plectosphaerella alismatis, Heterophoma sp.*

1. 緒言

近年、医療現場における漢方薬の需要が増加傾向にあり、それに伴って薬用植物の国内生産が推進されつつあることから、栽培現場での病害対策のニーズが高まると予想される。しかし、国内で利用される生薬のうち、国産は約1割のみであり、栽培実績のある薬用植物は限られ、さらに防除手段として重要な登録農薬も少ない等から、栽培が普及しにくい現状にある。

本研究は、東京都薬用植物園、国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所／薬用植物資源研究センター種子島研究部（以下、薬植資源研究センター）および一般の診断依頼で得られた薬用および有用植物の植物病害相と病原菌を調査し、病害リストの整理・作成および未記録病害の原因菌の究明を行うことにより、今後の病害防除対策の基礎知見を得ることを目的に行った。

2. 実験方法

(1) 東京都薬用植物園の植物病害相

2014年4月～2016年11月に、月1～2回の野外調査を実施した。現地における発生状況の記録、病原菌の分離・培養、腊葉標本の作成、菌体の形態観察および計測、菌株が得られた場合は遺伝子解析を行い、それら結果を既知文

献等と比較することで病名や病原菌を同定した。

(2) 薬植資源研究センターの植物病害相

2016年7月に同センターにおいて発生した菌類病害について野外調査を実施した。方法は(1)と同様に行った。

(3) 未記録病害の原因究明

2015年に東京都薬用植物園および沖縄県西表島において未記録と考えられる病害が発生した。分離菌株を用いて各宿主に対する病原性再現試験、温度別菌叢生育試験、遺伝子解析等を実施し、病原菌の詳細な分類学的所属の検討に取り組んだ。

3. 結果および考察

(1) 東京都薬用植物園の植物病害相

同園において89科197属278種（計619サンプル）の罹病植物を採集した。このうち確認された病原菌は68属に及び、多くの薬用草本および木本から多様な菌類が検出された。特に年間を通して罹病葉等にうどんこ病菌（13属6節）、さび病菌（8属）、斑点や葉枯れを引き起こす *Colletotrichum* 属菌や *Cercospora* 関連菌等の発生が多く確認された（表1）。

表1 東京都薬用植物園における主な植物病原菌類相

病原菌	罹病植物内訳
うどんこ病菌群	38科 62属 74種
さび病菌群	17科 27属 36種
<i>Colletotrichum</i> 属菌	27科 34属 40種
<i>Cercospora</i> 関連菌	20科 24属 28種
<i>Phyllosticta</i> 属菌	14科 15属 17種
<i>Phoma</i> 様菌類	12科 16属 17種

(2) 薬植資源研究センターの植物病害相

25科 33属 33種 (計 46 サンプル) において菌類を検出した。これら検出菌のうち、主に観察されたものは表2にまとめた。前項の薬用植物園と同様に *Colletotrichum* 属菌, *Cercospora* 関連菌, *Phoma* 様菌類の発生が多いが, *Fusarium* 属菌による土壌病害が確認された点が異なった。今後は分離菌株の病原性確認を行った後に詳細な分類に取り組む必要がある。

表2 薬植資源研究センターにおける主な病原菌類相

病原菌	罹病植物内訳
<i>Colletotrichum</i> 属菌	7科 7属 7種
<i>Pestalotiopsis</i> 関連菌	7科 7属 7種
<i>Fusarium</i> 属菌	6科 6属 6種
<i>Neofusicoccum</i> 属菌	4科 4属 4種
<i>Cercospora</i> 関連菌	3科 4属 4種
<i>Phoma</i> 様菌類	3科 3属 3種
<i>Diaporthe</i> 属菌	3科 3属 3種

(3) 未記録病害の原因究明

2015年に東京都薬用植物園および沖縄県西表島において未記録と考えられる病害が発生した。各サンプルから菌類が分離され、それぞれ健全植物に接種試験を行ったところ、病原性が確認された (表3)。

表3 2015年に発生し新たに病原性が確認された菌類

宿主 - 和名	宿主 - 科	病原菌 - 学名	採集地
トウガン	ウリ	<i>Plectosphaerella cucumerina</i>	東京都
サジオモダカ	オモダカ	<i>Sclerotium rolfsii</i>	沖縄県
サジオモダカ	オモダカ	<i>Plectosphaerella alismatis</i>	東京都
アカヤジオウ	ジオウ	<i>Heterophoma</i> sp.	東京都
カイケイジオウ	ジオウ	<i>Heterophoma</i> sp.	東京都
ケチョウセンアサガオ	ナス	<i>Botrytis cinerea</i>	東京都

a) サジオモダカ白絹病 (新称) (図1, 表4)

本病は2015年4月, 沖縄県西表島竹富町の水田の一部で試験栽培中のサジオモダカに発生した。株全体が黄化褐変, 罹病葉柄および塊茎に白色菌糸が這い, その周辺に褐色の菌核が多数浮遊した。罹病組織から得られた分離菌株の菌糸は無色, 主軸菌糸幅は (3.3~) 4.0~10.8 μ m, かすがい連結

を生じた。PDA 上の菌核は直径 0.6~1.4mm. 本菌は PDA において 10~35 $^{\circ}$ C で生育し, 最適温度は 32.5 $^{\circ}$ C, 菌糸は 3 日間で 9cm シャーレ全体に広がり, 生育は非常に速かった [1, 2]. 病原菌から得られた DNA の ITS 領域を増幅後, クローニング株を作製し, 同領域の相同性を検索したところ, 本菌は *Athelia rolfsii* と 100% を示した。以上の結果から, 病原菌は *A. rolfsii* の不完全世代である *Sclerotium rolfsii* Saccardo と同定し, 病名として白絹病 (Southern Blight) を提案した [3].

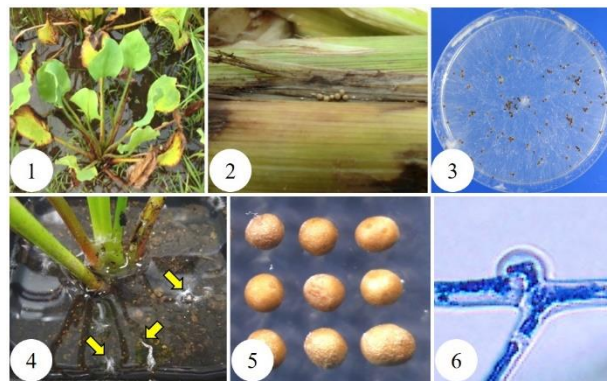


図1 サジオモダカ白絹病の症状および形態的特徴

- ①罹病株 ②罹病葉柄上の菌核 ③PDA 培養菌叢
- ④水面に菌糸を伸ばす菌核 (矢印) ⑤菌核
- ⑥かすがい連結

b) サジオモダカさび斑病 (新称) (図2, 表5)

本病は2015年5月, 東京都薬用植物園で展示栽培中のサジオモダカに発生した。葉に褐色, 数 mm 大の楕円状斑点を多数生じ, やがて病斑同士が融合して葉枯れを生じた。分離菌株の分生子は無色, 楕円形~鎌形, 隔壁を 0~1 個有し, 11.9~18.1 \times 1.6~2.5 μ m. 厚壁胞子は連鎖し, 無色, 球形~楕円形, 7.1~14.9 \times 5.5~9.1 μ m. 生育温度は 10~35 $^{\circ}$ C, 最適温度は 30 $^{\circ}$ C, 菌糸は 6cm シャーレ全体に広がるまで 20 日間を要し, 生育は遅かった [4, 5, 6, 7]. LSU および ITS 領域の相同性検索結果は, *Plectosphaerella alismatis* の ex タイプと相同性 100% を示した。以上の結果から病原菌を *P. alismatis* (Oudem.) A.J.L. Phillips, Carlucci & M.L. Raimondo と同定し, 病名をさび斑病 (Leaf Spot) と提案した [3].

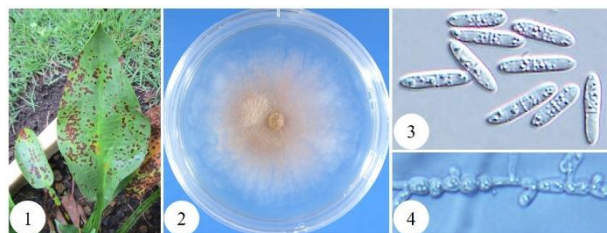


図2 サジオモダカさび斑病の症状および形態的特徴

- ①罹病葉 ②PDA 培養菌叢 ③分生子 ④厚壁胞子

c) ジオウ類に発生した斑点症状 (図 3, 表 6)

本病は 2015 年 7 月, 同園で展示栽培中のアカヤジオウおよびカイケイジオウに発生した。症状は葉に褐色円形～不整形の病斑が多数生じ, 後に葉枯れを引き起こした。両植物の罹病組織からは *Phoma* 様菌類が分離された。両分離菌株を用いた宿主植物への接種試験の結果, 病徴が再現され病原菌が再分離された。また, 相互接種においても病原性が確認された。病原菌は OA 上で球形～亜球形, 大きさ 71~441×55~253 μm , 剛毛を持たず, 表生または埋生した分生子殻を形成した。分生子形成細胞は無色, フィアロ型, フラスコ形。分生子は無色, 単細胞, 楕円形～円筒形, 大きさ 2.9~5.2×1.3~2.1 μm , 両端に油滴が 2 個見られた。OA および MEA 上の菌糸生育温度は 5~35 $^{\circ}\text{C}$, 最適温度は 27.5 $^{\circ}\text{C}$ 。さらに, LSU, ITS, *rpb2* および *tub2* 遺伝子領域の解析を行い最尤法により系統樹を作成したところ, *Heterophoma* 属内で単独のクレードを形成した。両分離菌株は本属の既知種と形態においても異なる点があった [8, 9, 10]。以上の結果から, 本菌は *Heterophoma* 属の未知種と考えられた [11]。今後は本菌の種を決定後に病名を提案したい。

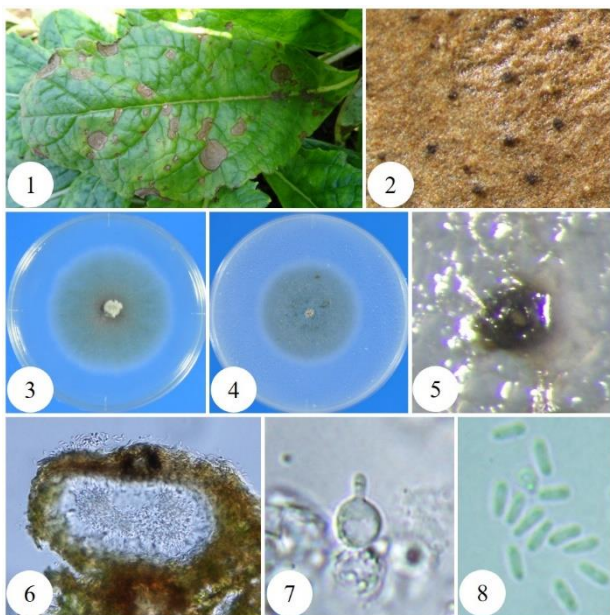


図 3 ジオウ類斑点症状および形態的特徴

- ①罹病葉 ②病斑上の菌体 (分生子殻) ③MEA 培養菌叢
④OA 培養菌叢 ⑤分生子殻 (OA 培地上)
⑥分生子殻内部 (病斑上) ⑦分生子形成細胞 ⑧分生子

謝辞および成果の公表

本研究を行うにあたり, ご指導・ご援助いただいた廣岡裕吏先生・堀江博道先生を始め, 東京都薬用植物園 荒金眞佐子様・職員の皆様, 北里大学薬学部 福田達男様, 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所/薬用植物資源研究センター種子島研究部 林 茂樹様・安食奈穂子様, 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 遺伝資源センター 佐藤豊三様, 法政大学植物医科学専修の皆様に厚く御礼申し上げます。なお, 本研究における主要成果は平成 27 年度日本植物病理学会関東部会, 日本菌学会第 60 回大会において報告した。

参考文献

- 1) Domsch, K.H., Gams, W. & Anderson, T.H. : Compendium of Soil Fungi Second edition, IHW-Verlag, Eching, Germany, pp.100-102, 2007
- 2) 岡部郁子 : わが国における白絹病菌の遺伝的変異, 農環研報, 21, pp.1-39, 2002
- 3) 柴田葵ら : 薬用植物サジオモダカに発生した白絹病およびさび斑病 (新称), 日植病報, 82 (1), pp.25, 2016
- 4) Pitt, W.M. & Gams, W. : A redescription of *Plectosporium alismatis* (hyphomycetes with glomerellaceous affinities), Nova Hedwigia, 81 (3-4), pp.311-323, 2005
- 5) Negishi, H. : A New Species of *Cylindrocarpon* Causing Leaf Spot on Old-world Arrowhead (*Sagittaria trifolia*), 日植病報, 62, pp.495-497, 1996
- 6) 佐藤豊三 : 近年国内で各種病害を起こすことが明らかとなった不完全糸状菌 *Plectosporium tabacinum*, 植物防疫, 62 (9), pp.490-495, 2008
- 7) 廣岡裕吏ら : 我が国における植物寄生性 *Plectosphaerella* 様菌類の分子系統解析, 日植病報, 82 (1), pp.26, 2016
- 8) Chen, Q. et al. : Resolving the *Phoma* enigma. Studies in Mycology, 82, pp.137-217, 2015
- 9) De Gruyter, J. et al. : Contributions towards a monograph of *Phoma* (Coelomycetes) - I. 2. Section *Phoma*: additional taxa with very small conidia and taxa with conidia up to 7 μm long, Persoonia, 15, pp.369-400, 1993
- 10) De Gruyter, J. & Noordeloos, M.E. : Contributions towards a monograph of *Phoma* (Coelomycetes) - I. 1. Section *Phoma*: Taxa with very small conidia in vitro, Persoonia 15, pp.71-92, 1992
- 11) 柴田葵ら : ジオウ類斑点症状から分離された *Heterophoma* 属菌の分類学的所属, 日本菌学会 60 周年記念大会要旨集, pp.75, 2016

表4 サジオモダカ株枯れ症状由来菌株と既報の白絹病菌の形態・温度特性比較

病原菌	かすがい 連結	主軸菌糸幅 (μm)	菌核 形態/大きさ(平均) (mm)		生育温度 ($^{\circ}\text{C}$)	最適温度 ($^{\circ}\text{C}$)
			PDA	植物体		
株枯れ症状由来菌株 (MAFF 245606)	有	(3.3~) 4.0~10.8	褐色, 小型, 類球形		10~35	32.5
			0.6~1.4×0.7~1 (0.9×0.8)	0.7~1.1×0.7~1 (0.9×0.8)		
<i>Athelia rolfsii</i> ^{a)}	有	4.5~9	黄土色~褐色, 小型, 球形 1~2 (1.2)		8~37	30
<i>Sclerotium rolfsii</i> ^{b)}	有	-	小型, 球形		10~36	30
			0.5~1			
<i>S. rolfsii</i> var. <i>delphinii</i> ^{b)}	有	-	大型, 不定形		10~36	28
			2~3			

a) Domsch et al. (2007), b) 岡部 (2002)

表5 斑点症状由来菌株と *P. alismatis* および *P. tabacinum* の形態比較

病原菌	斑点症状由来菌株 MAFF 245605	<i>Plectosphaerella alismatis</i> CBS 113362 ^{a)}	<i>Plectosporium</i> <i>tabacinum</i> ^{a)}	<i>Plectosphaerella</i> sp. MAFF 239928 ^{b), c), d)}	
分離源植物	サジオモダカ	オモダカ類	ランタンキュラス等	オモダカ	
PDA 菌叢の色	淡クリーム~サーモンピンク色	淡クリーム~橙褐色	淡クリーム色	-	
生育温度 ($^{\circ}\text{C}$)	10~35	9~33	-	-	
最適温度 ($^{\circ}\text{C}$)	30	24~27	21~27	-	
21 $^{\circ}\text{C}$ 9 日後の菌叢 直径 (mm)	18.1~18.5	20~24	41~48	-	
分生子	形態	楕円~鎌形 0~1 隔壁	楕円~鎌形 1 隔壁	楕円~ボート形 1 隔壁は 50%以下	円筒形 1 隔壁
	大きさ (μm)	(PCA) 11.9~18.1×1.6~2.5 (SNA) 12.1~17.8×1.8~3.1	13~19.5×2.5~3(~5)	8~12×2~2.5(~3)	10~20×3~4
厚壁孢子	形態	有 連鎖状, 球形~楕円形	有 連鎖状	無 -	無 -
	大きさ (μm)	(PCA) 7.1~14.9×5.3~9.1 (SNA) 6.1~10.9×4.7~7.7	4.5~14	-	-

a) Pitt & Gams (2005), b) Negishi (1996), c) 佐藤 (2008), d) 廣岡ら (2016)

表6 ジオウ類分離菌株と既知 *Heterophoma* 属菌の形態比較

病原菌		ジオウ類 分離菌株	<i>Heterophoma</i> <i>adonidis</i> ^{a)}	<i>H. sylvatica</i> ^{a)}	<i>H. novae- verbascicola</i> ^{b)}	<i>H. poolensis</i> ^{b)}	<i>H. nobilis</i> ^{c)}
分生子殻	形態	球形～亜球形	亜球形～不規則形	球形～亜球形	球形	球形～亜球形	球形
	大きさ (μm)	71~441×55~253	(85~)100~400(~450) ×(80~)100~245	110~330	70~225	60~170	250~450
分生子形成細胞		フィアロ型, フラスコ形	フィアロ型, フラスコ～瓶形	フィアロ型, 瓶形	球～瓶形	球～瓶形	フィアロ型, 球形
分生子	形態	楕円～円筒形, 単細胞	2細胞が多い	円筒～ソーセ ージ形, 単細胞	円筒形	円筒形	楕円～腎臓形, 1～多細胞
	大きさ (μm)	2.9~5.2×1.3~2.1	10.5~16.5×3~4	3.5~6×1~2	4~6×2~6	3.6~5.2×1.6~2	3.8~5.4×1.4~2.4
厚壁孢子		肥大化菌糸	無	無	無	無	有
OA	形状	羊毛状, 表: 淡 灰オリーブ～ 暗緑, 裏: 同色	羊毛状, 表: 白～淡 オリーブ, 裏: 淡黄 色	羊毛状, 表: 淡 灰オリーブ, 裏: 同色	羊毛状, 表: 淡 オリーブ, 裏: 無～緑オリー ブ	羊毛状, 表: 無 ～オリーブ, 裏: 同色～緑オ リーブ	羊毛～フェルト 状, 表: 無～緑 オリーブ～くす んだ緑, 裏: 同 色
	20℃・ 7日後 (mm)	46~50	-	-	62~68	67~68	47~48
	25℃・ 7日後 (mm)	58~60	35~40	65~75	-	-	-
MEA	形状	羊毛状, 表: 淡 灰オリーブ～ くすんだ緑, 裏: 同色	気中菌糸は薄く, 表: 淡オリーブ色, 裏: 白	羊毛状, 表: く すんだ緑～淡 灰オリーブ, 裏: 緑オリーブ ～くすんだ緑, 淡黄	羊毛状, 表: 無 色, 裏: 無～淡 オリーブ	羊毛状, 表: 灰 オリーブ, 裏: 黒オリーブ～ 緑オリーブ	羊毛～フェルト 状, 表: くすん だ緑, 淡オリー ブ, 裏: 同色～ やや暗
	20℃・ 7日後 (mm)	51~61	-	-	59~63	69~71	54~67
	25℃・ 7日後 (mm)	61~67	40~45	60~65	-	-	-
NaOH 反応		陰性	暗褐色から赤色	緑色後に赤色	黄緑色後に赤 色	黄緑色後に赤 色	陰性

a) Chen et al. (2015), b) De Gruyter et al. (1993), c) De Gruyter & Noordeloos (1992)