

Stemphylium 属菌の分類・同定と 同属菌による病害の診断

北海道立総合研究機構法人本部 三 澤 知 央

はじめに

Stemphylium 属菌(完全世代 *Pleospora* 属菌)は,葉枯性の病害を起こす。一般に病原性が弱いとされるが,ヨーロッパのセイヨウナシ(Llorente and Montesinos,2006)や我が国のネギ(三澤,2009)では本属菌による病害が多発し,栽培上の重要な問題となっている。

Index Fungorum には Stemphylium 属菌として 137 種が記載されている (Index Fungorum, 2021)。また、日本植物病名目録には、Stemphylium 属菌および Pleospora 属菌による病害として、病名未提案のものを含め 48 作物の 51 病害が記載されている (日本植物病理学会, 2020)。

本属菌の種同定は、主に分生子の形態に基づいて行われてきたが、2000年代以降、分子系統解析が取り入れられるようになった(Câmara et al., 2002; Inderbrizin et al., 2009; Woudenberg et al., 2017)。

本稿では本属菌の分類の現状と日本産菌株の同定状況、同定手法および本属菌による病害の診断方法について紹介する。

I Stemphylium 属菌による病害の診断

1 罹病葉の顕微鏡観察

罹病部表面を掻き取り、100~200 倍で顕微鏡観察するとネギ葉枯病などでは、視野内に多数の分生子と分生子柄を確認できる(図-1a)。一方、トマト斑点病などでは、視野内の分生子または分生子柄の数は1個未満である(図-1b)。ホウレンソウ白斑病などは、この中間であり、本稿ではこれらを形成量"多・少・中"と定義する。

本属菌と同様に葉枯性の病害を起こす Alternaria 属菌の一部の種は、分生子が本属菌と類似する。Alternaria 属菌のなかにはビークと呼ばれる長い細胞を有する種が存在し(図-1c)、これらの種は本属菌と容易に識別できるが、ビークを持たない種(図-1d)は本属菌と混同されやすい。本属菌の分生子柄先端部は、褐色となり膨潤す

Taxonomy and Identification of *Stemphylium* Species and Diagnose of Diseases Caused by the Genus. By Tomoo Misawa

(キーワード:同定, 診断, Stemphylium)

る。また、分生子は分生子柄先端に単生し、連鎖することはなく、ビークを持たない(図-1e)。一方、Alternaria 属菌の分生子柄の先端部は、透明で膨潤しない(図-1d)。また、分生子が連鎖する種もある(図-1f)。図-1c~f は培地上で観察したものであるが、罹病葉上でも観察・識別可能である。

本属菌による病害は、生育期間中には完全世代を形成しないため(Misawa and Yasuoka, 2012)、診断は不完全世代(分生子と分生子柄)の形態に基づいて実施する。

2 菌の分離と分離菌の形態観察

新鮮なサンプルからの菌の分離は比較的容易である。 筆者は、病変部を約5mm四方に切断し、水道水で洗浄 後、1%次亜塩素酸ナトリウム水溶液で約1分間表面殺 菌し、V8ジュース寒天(V8)培地上で25℃で培養し、 分離している。

形態観察には、分生子形成が良好であることをあらか じめ確認した単胞子由来菌株を供試する。V8 培地とジャガイモニンジン寒天(PCA)培地のいずれか、または 両方で培養する。筆者は 15℃・BLB ライト照射下で培養し、培養 2~4 週間後に形態を観察しているが、培養 温度は 20~25℃でも胞子を形成する種・菌株が多い。

形態観察は、以下の三つの方法で実施している。

- (1) シャーレのふたを開け、培地上に水をマウントせずに直接顕微鏡で40倍程度の低倍率で観察する。この方法で分生子が連鎖していないことを確認する(図-1g)。
- (2) 次に水をマウントしてカバーグラスを乗せ,100~200 倍で観察する。この方法では分生子の着生様式,分生子柄の長さ・幅・色・伸長様式等を測定・観察する(図-1h)。
- (3) 最後に、培養菌叢の表面から小切片を取り出し、スライドガラス上にマウントした水に軽く浸し、分生子懸濁液を作成し、菌叢を回収する。これを200~400倍で観察し、分生子の大きさ・色・縦横の隔壁数・くびれの有無等を測定・観察する(図-1i)。

3 分子系統解析

分子系統解析は, 同定結果を論文化する場合のみ実施