

疫病菌類の同定のための 簡易な分離・培養・形態形成法 Ver. 3*

千葉県農林総合研究センター 暖地園芸研究所 植^{うえ} 松^{まつ} 清^{せい} 次^じ

はじめに

Phytophthora 属菌による病害は一般に「疫病」と呼ばれ、農林業上重要な病原菌類である。なかでも多犯性菌として知られている *Phytophthora cinnamomi* だけでも 900 種以上の寄主植物が報告されている (ERWIN and RIBEIRO, 1996)。我が国では約 300 種以上の植物で 50 種以上の「疫病」が発生している (以後、*Phytophthora* 属菌による病害を疫病と呼称する)。

Phytophthora DATABASE によると、*Phytophthora* 属菌は 2014 年 12 月末現在 123 種が報告されている。ERWIN and RIBEIRO (1996) は 64 種をリストアップし、更に近年、分子生物学的手法による研究が行われて (COOKE et al., 2000; BLAIR et al., 2008) 遺伝子情報が蓄積されており、これに基づいて 60 種以上の新種の報告が行われた (KROON, 2012)。

我が国では疫病菌に関するモノグラフや総説があるが (桂, 1971; 鈴井, 1995; 渡邊, 1998)、疫病菌を分離、培養、同定、分類、簡易保存するための方法について詳述したものは少ない。また、疫病菌が属する卵菌類の分類では糸状菌とは異なる用語が多いことや菌株も糸状菌と同様に扱くと死滅しやす。さらに、筆者のもとへ送付された菌株の中にも *Pythium* 属菌や接合菌類と思われるものがしばしば含まれていることから、現場の研究者にとって菌株の取り扱いや形態観察はわかりにくく、扱いにくいように思われる。一方、近年分子系統学的解析による差異から新種候補が急増しているため、ますます形態学的差異を詳細に観察し、記述することがますます重要になっている。

そこで、筆者は本誌に「疫病菌の簡易な分離・培養・形態形成法」(植松, 2003; 2014) をすでに寄稿した。本稿ではその後の知見を加えて再度解説する。

Isolation, Culture and Physiology of Production of Some Morphological Characteristics for Identification of *Phytophthora* Species. By Seiji UEMATSU

(キーワード: 疫病, *Phytophthora*, 分離, 培養, 同定)

* 本誌第 57 巻第 9 号 (2003 年) に掲載したものの改訂 3 版となる。

I 形態による疫病菌の分類体系

1 疫病菌であること

①無隔壁菌糸 coenocytic (nonseptate) mycelium である。②遊走子 zoospore は遊走子のう (胞子のう) sporangium 内で分化し、遊走子のう先端から泳ぎ出す。③遊走子のうは腎臓形～卵形で、体側に 2 本の鞭毛 two flagella を持つ。④細胞壁はセルロースとグルカンからなる。⑤造卵器 oogonium, 造精子器 antheridium を有し、造卵器は卵胞子 oospore を 1 個内包する。⑥厚壁胞子 chlamydospore や菌糸の膨潤 (膨らみ) hyphal swelling 等を形成するものもある。特に、①と②の項の観察は疫病菌による病害の判定を行ううえで必須条件である (表-1)。

2 形態と分子生物学的手法による同定

(1) 形態
種の同定は、原則として原著論文の記載とその後追加された形態的特徴を扱った論文を参考にすが、種ごとに形態、生態、病害事例等が記述されている ERWIN and

表-1 疫病菌の観察項目

器官	観察項目
菌そう	PDA, CMA, V8A における生育, 菌そうの形状
菌糸	幅, 結節, 膨潤の形状, 連鎖性, 集塊の有無
遊走子のう	形, 位置, 乳頭突起の有無と形, 間接発芽, 直接発芽, 脱落性
遊走子のう柄	分岐の仕方, 脱落後の柄の長さ
厚壁胞子	形成の有無, 形, 大きさ, 形成位置
遊走子, 被のう胞子	大きさ (種の同定には使用しない)
造卵器	形, 位置, 大きさ, 色, 表面構造, 突起の有無
造精子器	形, 数, 位置, 大きさ, 形, 隔壁の有無, 間生, 底着, 側着
受精様式	同株性, 異株性
卵胞子	形成の有無, 形, 大きさ, 充満性, 壁の厚さ, 油ほうの数
生育温度	生育温度域, 最適, 最高限界温度