

Y., Mori, S., Dohmae, N., Negishi, H., Yoshida, T., Teraoka, T. and Arie, T.: Differential Analysis of Proteins from Pathogenic and Pathogenic-deficient Strains of *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans* using 2-Dimensional Electrophoresis キャベツ萎黄病菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans* (Cong:1-1) の REMI 法による形質転換によって得られた病原性欠損変異株 (REMI-10) では、アスパラギン酸プロテイナーゼ遺伝子 (*fap1*) がベクターの挿入によって破壊されている (吉田ら, 1999). しかし, Cong:1-1 の *fap1* を破壊しても病原性が失われない (Yosida *et al.*) ことから, REMI-10 では *fap1* 以外の病原性関連因子の異常が示唆されている. 一方, Cong:1-1 は PDA 培地上でフザリン酸を生産するが, REMI-10 は生成しない (有本ら, 2004). これらの, 病原性やフザリン酸生産の違いに関与する因子を解析するため, Cong:1-1 および REMI10 由来のタンパク質の二次元電気泳動による比較を試みている. 今回, Cong:1-1 由来タンパク質では検出されたが REMI-10 では検出できなかった分子量約 48 KD, pI 6.6 付近のスポットについて, リジンで切断した断片のアミノ酸解析を行った結果, *Gibberella zeae* PH-1 の Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH; Fg06257.1) と極めて相同性が高かった. (理研・*東京農大・**農環研・***東京農工大)

(89) 福森庸平・中島雅己・阿久津克己 同一子のう由来の子のう胞子を用いた灰色かび病菌の病原性の解析 Fukumori, Y., Nakajima, M. and Akutsu, K.: The Analysis of the Pathogenicity of *Botrytis cinerea* using Ascospores in the Same Ascus 演者らはこれまでに, *Botrytis cinerea* を用いた *in vitro* 交配実験によって形成された子のうから 8 個の子のう胞子 (外皮層側から No. 1~8) を分離し, これら全ての子のう胞子由来の株における病原性を数種の植物を用いた接種試験によって調査したところ, 病原性が強い株と弱い株が親の形質に準じて 1:1 の割合で見られ, そのうち 2 株 (No. 5, 6) は親株よりも強い病原性を示したことを報告している. 今回, 他の植物を供試し, 各株の病原性についてさらに調査を行った. その結果, 親株の分離植物であるキュウリおよびバラに接種を行ったところ, 病原性が強い株と弱い株が同様に 1:1 の割合で見られ, 前述の 2 株 (No. 5, 6) はいずれの植物においても親株より強い病原性を示した. しかしながらキュウリに強病原性を示した他の 2 株 (No. 1, 2) は, バラに対して弱病原性であった. 逆にバラに強病原性を示す 2 株 (No. 3, 4) は, キュウリに対して弱病原性を示した. これらの結果から多犯性であることが知られている *B. cinerea* の病原性は宿主植物によって異なることが示唆された. (茨城大農)

(90) 平川崇史・中島雅己・阿久津克己 アグロバクテリウム法による *Botrytis* 属菌の形質転換系の確立 Hirakawa, T., Nakajima, M. and Akutsu, K.: Establishment of *Agrobacterium tumefaciens*-mediated Transformation System of *Botrytis* spp. 近年, 菌類を対象にした形質転換法としてアグロバクテリウム法が適用されることが多くなってきている. 本研究では, *Botrytis* 属菌を対象としてアグロバクテリウム法による形質転換系の確立を試みた. バイナリーベクター pBI121 の T-DNA 領域内部をハイグロマイシン B 耐性遺伝子と置換し, 形質転換用ベクターを作製した. 本ベクターを含むアグロバクテリウム懸濁液と *B. tulipae* または *B. cinerea* の分生胞子を共存培養することにより, 安定してハイグロマイシン B 耐性を示す株が得られた. これらの耐性株について, ハイグロマイシン B 耐性遺伝子内の配列より設計した特異的プライマーを用いて PCR を行ったところ, 全ての株において耐性遺伝子の導入が確認された. 形質転換体の出現頻度は, *B. tulipae* の場合分生胞子 10^5 個あたり約 10 株であり, *B. cinerea* の場合胞子 10^6 個あたり約 10 株であった. 他の *Botrytis* 属菌の形質転換については現在検討中である. (茨城大農)

(91) 鈴木幹彦・外側正之・米山千温 *Pythium helicoides* によるイチゴピシウム根腐病 (新称) Suzuki, M., Togawa, M. and Yoneyama, C.: Occurrence of *Pythium* Root Rot of Strawberry Caused by *Pythium helicoides* 2004 年 6 月上旬に静岡県 of イチゴ (とちおとめ) 育苗ほ場 (ロックワール細粒綿培地) において葉の縁より枯れ上がり, 根が暗褐色に腐敗, 枯死する症状が確認された. 症状部位より菌の分離を行ったところ *Pythium* 属菌が高率に分離された. 分離菌をイチゴ (章姫) に接種したところ病徴が再現され, その病斑部から接種菌と同一の菌が再分離された. 病原菌は CMA 培地で綿状の気中菌糸を産生した. 菌糸生長は 35°C で 35.4 mm/24 hr と最も良好であった. 胞子嚢は乳頭状突起を有する楕円形に形成し, 逸出管の先端に形成された球のうより遊走子を放出した. 胞子嚢の底部からの菌糸伸長 (貫生) が認められた. 蔵卵器は単一菌株で形成し, 直径平均 31.8 μ m, 表面平滑であった. 蔵精器は表面平滑で長い円筒形状を呈し, 蔵卵器に 1~3 個付着した. 卵胞子は直径平均 29.0 μ m, 非充満性であった. これらの形態的特徴より *Pythium helicoides* Drechsler と考えられるが, PCR 等によりさらに検討したい. 本菌によるイチゴの病害は未記載であるため, 病名をイチゴピシウム根腐病と提案したい. (静岡農試)

(92) 渡辺秀樹・堀之内勇人・棚橋一雄・* 景山幸二** *Pythium helicoides* によるイチゴピシウム根腐病

(新称)の発生と各種作物に対する病原性 Watanabe, H., Horinouchi, H., Tanahashi, I. and Kageyama, K.: Occurrence of Root Rot of Strawberry Caused by *Pythium helicoides*, and Pathogenicity to Several Crops 2002年7月下旬および2004年8月下旬に、岐阜県内のイチゴ苗生産は場で、下葉が黄化し萎凋枯死する被害が発生した。被害株の根は暗褐色水浸状に腐敗し、クラウンおよび葉柄基部にも病徴の進展が認められた。罹病組織から1種類の *Pythium* 属菌が高率に分離され、接種により病徴が再現された。本菌は乳頭突起を有する楕円形の胞子のうを形成し、蔵卵器の大きさは平均 31 μm 、内部に非充満性の卵胞子1個を形成した。蔵精器は主に異菌糸性、長い円筒形で蔵卵器に付着した。菌糸生育は 10°C から 42°C で認められ、最適温度は 35°C であった。さらに、rDNA-ITS 領域の RFLP 分析およびミトコンドリアにコードされているシトクロームオキシダーゼ II 遺伝子の塩基配列から本菌を *Pythium helicoides* Drechsler と同定した。本菌によるイチゴの病害は未記載であることから、イチゴピシウム根腐病 (*Pythium* Root Rot) と呼称したい。また、本菌の11科15作物に対する病原性について検討した結果、ミニバラ、カラシコエ、ポットマム、ガーベラ、ポインセチア、ダイズに強い病原性が認められた。

(岐阜農技研・*岐阜専技・**岐阜大流域研セ)

(93) 清水伸一・矢野 隆・三好孝典・橋 泰宣
Pythium 属菌によるキウイフルーツ根腐病 (新称)
Shimizu, S., Yano, T., Miyoshi, T. and Tachibana, Y.: First Report of Kiwifruit Root Rot Caused by *Pythium* spp. 近年、愛媛県内のキウイフルーツ成木園において、立枯症状がしばしば認められている。原因解明のため2003および2004年に発症した松山市および吉田町の成木および苗木の罹病組織から菌の分離を試みたところ、両者から白色の菌そうを呈する糸状菌が高頻度で分離された。分離菌は無隔壁の菌糸で、胞子のうの発芽形態から *Pythium* 属菌の可能性が考えられた。そこで rDNA ITS 領域塩基配列を決定し系統樹解析したところ、調査株すべてが *Pythium* 属菌に区分され、松山市分離株は *P. vexans* と吉田町分離株は *P. helicoides* と類縁な株であることが判明した。さらに接種試験により病原性を検討したところ、*P. vexans* および *P. helicoides* のいずれも健全根では軟腐症状が、また播種後約6カ月生育させたキウイ実生苗では根腐症状が認められ、両者とも発症に関与していることが明らかとなった。キウイフルーツにおける *Pythium* 属菌の病害は未報告であることから、病名をキウイフルーツ根腐病 (Kiwifruit Root Rot) と提案する。なお、病原菌の種名は他の分離菌を含め検討中である。

(愛媛果樹試)

(94) 河原崎秀志・後藤正夫・奈良吉主・木嶋利男
Pythium aphanidermatum によるマツバギクのピシウム腐敗病 (新称) Kawarazaki, H., Goto, M., Nara, Y. and Kijima, T.: *Pythium* Rot of Figmarigold (*Lampranthus spectabile*) Caused by *Pythium aphanidermatum* 静岡県田方郡大仁町で、2004年6月、野菜畑の畦畔斜面に植栽されていたマツバギクに茎葉部が軟腐し、坪枯れ状に枯死する病害が発生した。水浸状病斑を顕鏡すると、無隔膜の菌糸体が多数認められ卵胞子が観察された。罹病組織から常法により分離を行ったところ、気中菌糸がクモの巣状に生育する糸状菌が高率に分離された。分離菌株は膨状胞子嚢を形成し、単独培養で有性器官を形成した。雌雄同菌糸性または異菌糸性、蔵卵器は球状でその表面は平滑、頂生し、大きさは平均 26.1 μm 、蔵精器は袋状で間生または頂生し、蔵卵器に対して1個側着し、大きさは平均 13.0 \times 11.2 μm 、卵胞子は蔵卵器内に1個形成され、球状で非充満、大きさは平均 20.8 μm であった。10~40°C で生育し、最適温度は 35°C であった。形態的特徴および培養的性質から *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzpatrick と同定した。健全株に接種すると原病徴が再現され接種菌が再分離された。本菌によるマツバギクの病害は未記載である。病徴は軟化腐敗することからピシウム腐敗病と新称することを提案する。(微応研)

(95) 中筋智子・窪田昌春*・西 和文*・清水将文
キャベツセル成型苗で発見された *Pythium ultimum* var. *ultimum* による病害 Nakasuji, S., Kubota, M., Nishi, K. and Shimizu, M.: *Pythium* Rot of Cabbage Plug Seedlings, Caused by *Pythium ultimum* var. *ultimum* 2004年10月に三重県久居市内の育苗施設のキャベツセル成型苗で、子葉基部がくびれて水浸状に腐敗した病害が発生した。罹病部からは *Pythium* 属菌が分離された。分離菌株を滅菌したベントグラス葉で培養したところ、多数の有性器官を形成したが、遊走子の形成は認められなかった。造卵器は、平均直径 22.7 μm の球状で、表面は平滑であった。観察した180個の造精器は袋状で、85%が同菌糸性、15%が異菌糸性で、85%が造卵器に側着した。卵胞子は、造卵器あたり1個形成され、球形で平均直径は 18.4 μm であった。これらの形態的特徴から本菌を *Pythium ultimum* var. *ultimum* と同定した。PDA培地上の菌叢をキャベツの子葉に接種し、温室に保つと、水浸状から黒色の病斑を形成し、病徴が激しい場合には株全体の枯死に至った。また、菌叢を胚軸に接種した場合は、低率ながら茎がくびれて苗立枯れを引き起こした。本菌の発病適温は 25°C であった。これまで本菌によるキャベツの病害は未報告であるが、病徴から本病