

# *Pythium arrhenomanes* によるトウモロコシ根腐病 (病原追加) <sup>1</sup>

舟久保太一・景山幸二\*

(山梨県総合農業技術センター・\*岐阜大学流域圏科学研究センター)

## Browning Root Rot of Corn Caused by *Pythium arrhenomanes* Drechsler

Taichi FUNAKUBO<sup>2</sup> and Koji KAGEYAMA

### 摘 要

2009 年 6 月, 山梨県の未成熟トウモロコシ (スイートコーン) 産地でトウモロコシ根腐病と同様の症状が多発した。分離菌の病原性を確認し, 同定の結果 *Pythium arrhenomanes* Drechsler であることが判明した。国内におけるトウモロコシ根腐病の病原菌として *Pythium graminicola* Subramaniam の報告はあるが, *P. arrhenomanes* の報告はない。よって, トウモロコシ根腐病の病原として, *Pythium arrhenomanes* Drechsler の追加を提案する。

山梨県における未成熟トウモロコシ (スイートコーン) 栽培は盛んであり, 生産量は国内でも上位に位置する。作型は 5~6 月収穫の 2 重及び一重のトンネル栽培と夏秋取り栽培が行われている。

2009 年 6 月, 一重のトンネル栽培スイートコーンが, 収穫間際に雌穂が垂れ下がり, 株が枯れ上がる症状が多発した。圃場によっては発病率が 30%におよぶ場合もあり, 大きな被害となった。本障害はトウモロコシ根腐病と同様の症状であるが, 病原菌がこれまで未報告のものであることから, ここに報告する。

#### 材料および方法

##### 1. 発生状況および病徴

発生状況および病徴について観察調査した。調査時期は一重トンネル栽培の収穫期である 6 月に行い, 調査場所は甲府盆地南のスイートコーン産地 (甲府市, 笛吹市) で行った。

##### 2. 菌の分離

発症部位を検鏡すると多くの菌糸や卵胞子などが観察されたため, 常法により糸状菌の分離を行った。分離培地は素寒天培地を用い, 単菌糸分離を行い, PDA 斜面培地に移植した。

##### 3. 病原性の確認

1/5000a ワグネルポットに滅菌土を入れスイートコーン (品種: ゴールドラッシュ) を播種し, 7 葉期に接種した。接種源は, あらかじめ CMA 平板培地で培養しておいた分離菌 S-1 株の菌叢を 100m l の滅菌水に 1 シャーレ (直径 9 cm) 分加えホモジナイズして準備した。作成した菌体懸濁液を 1

ポットに対し 1 シャーレ分をかん注接種した。接種後 25°C に保温した接種室内で 7 日間管理し, その後ガラスハウス内で管理した。

##### 4. 分離菌の同定

分離菌 S-1 株について, 芝草葉培養 (Waterhouse, 1967) と CMA 平板培地を用いて形態的特徴について調査した。

形態と合わせ, rDNA-ITS 領域の塩基配列を次の方法で決定した。分離菌を V8 ジュース寒天培地で 25°C, 7 日間培養後, 気中菌糸を少量取り, PrepMan Ultra Reagent (Applied Biosystems Japan) を用いて DNA を抽出後, Levesque et al. (2004) の方法に準じユニバーサルプライマーである UN\_UP18S42(5'-CGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAAC-3'), UN\_Lo28S576B(5'-CTCCTTGGTCCGTGTTTCAAGACG-3') を用いて, PCR (Gene Amp PCR System 2700, Applied Biosystems, Japan) で増幅した。得られた PCR 産物を GenElute PCR Clean-Up Kit (SIGMA) により純化し, ユニバーサルプライマー ITS2 (5'-TCCTCCGCTTATTGAGC-3'), ITS4 (5'-CTTCCGTCAATTCCTTTAAG-3'), UN\_UP18S42 (White., 1990) を用いてシーケンス反応を行った。エタノール沈殿によりプライマーを除去した後, ABI 3100 DNA Sequencer (Applied Biosystems, Japan) により塩基配列を決定した。得られた塩基配列は DDBJ の BLAST 検索により相同性検索を行った。

また生育温度と適温について, あらかじめ培養しておいた分離菌を直径 4 mm のコルクボーラで打ち抜き, CMA 平板培地に置き, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40°C で 24 時

1 本報の要旨は第 57 回関東東山病害虫研究会 (2010 年 2 月 26 日, 静岡県静岡市) において発表した。

2 Address: Yamanashi Prefectural Agritechology Center, 1100 Simoimai, Kai-shi, Yamanashi 400-0105, Japan

2010 年 5 月 13 日受領

2010 年 9 月 8 日登載決定

間培養し、菌叢半径を測定した。

### 結果および考察

#### 1. 発生状況および病徴

一重トンネル栽培の収穫間際（6月）に発生が見られた。多い圃場では発症株率が30%程度の被害となった。症状は雌穂が垂れ下がり、株全体が枯れあがった。地際部の内部は軟化腐敗し、根は褐色に腐敗していた（第1図A, B）。症状は佐藤ら（1984）の報告したトウモロコシ根腐病と酷似していた。

#### 2. 菌の分離

発症部位から同一の卵菌類が高頻度で分離された。

#### 3. 病原性の確認

接種20日後に枯れ始め、根は褐色に腐敗し、地際部の軟化腐敗も認められ、原病徴が再現された。さらに、発症部からは接種菌と同一の菌が再分離されたことから、本菌による病害であると考えられた。

#### 4. 分離菌の同定

分離菌は膨状胞子のうを形成し、付着器細胞はしばしば連鎖した。造卵器は球形、平滑で主として頂生であった。大きさは直径21.6~33.6 $\mu\text{m}$ （平均26.5 $\mu\text{m}$ ）。造精器は円筒状、糸状または鉤形でひとつの造卵器に複数が側着し、10個以上が観察される場合もしばしば認められた。卵胞子は球形で充満または未充満であった。大きさは21.6~31.2 $\mu\text{m}$ （平均25.7 $\mu\text{m}$ ）であった。菌糸生育は5 $^{\circ}\text{C}$ ~35 $^{\circ}\text{C}$ で認められ、適温は25~30 $^{\circ}\text{C}$ であった（第1表、第1図）。以上の形態的特徴および培養特性はvan der Plaats-Niterink（1981）による*Pythium arrhenomanes* Drechslerと一致した。rDNA-ITS領域の塩基配列の相同性検索の結果、*Pythium arrhenomanes*と99%以上の相同性があった。

以上の結果から、分離菌は*Pythium arrhenomanes* Drec

-hslerと同定した。

我が国におけるトウモロコシ根腐病の報告は佐藤（1984）や橋本ら（1985）の報告がある。病原菌は*Pythium graminicola* Subramaniamであり、*Pythium arrhenomanes*によるトウモロコシ根腐病については未記載である。今回山梨で発生した症状は佐藤ら、橋本らの報告と酷似し、病徴では判別が難しいと考えられるため、トウモロコシ根腐病の病原として*Pythium arrhenomanes* Drechslerを追加することを提案する。

なお、海外ではトウモロコシのPythium root rotの病原体として*P. arrhenomanes*が報告されており（I. W. Deep et al., 1996）、症状もよく似ている。山梨では、以前からこのような症状は見られたとの農家の話はあるものの確認しておらず、2009年の発生では*P. graminicola*は確認していない。これらのことから、今後山梨の菌種をさらに調査する必要がある、山梨の優占種は*P. arrhenomanes*なのか、または双方が混在し、何らかの要因で優占種の変遷が起こっているかなどについて調査する必要がある。

### 引用文献

橋本光司ら（1985）関東病虫研報32：56-58.

Deep, I. W. et al. (1996) Crop Protection Vol. 15. No.1. pp. 85-90.

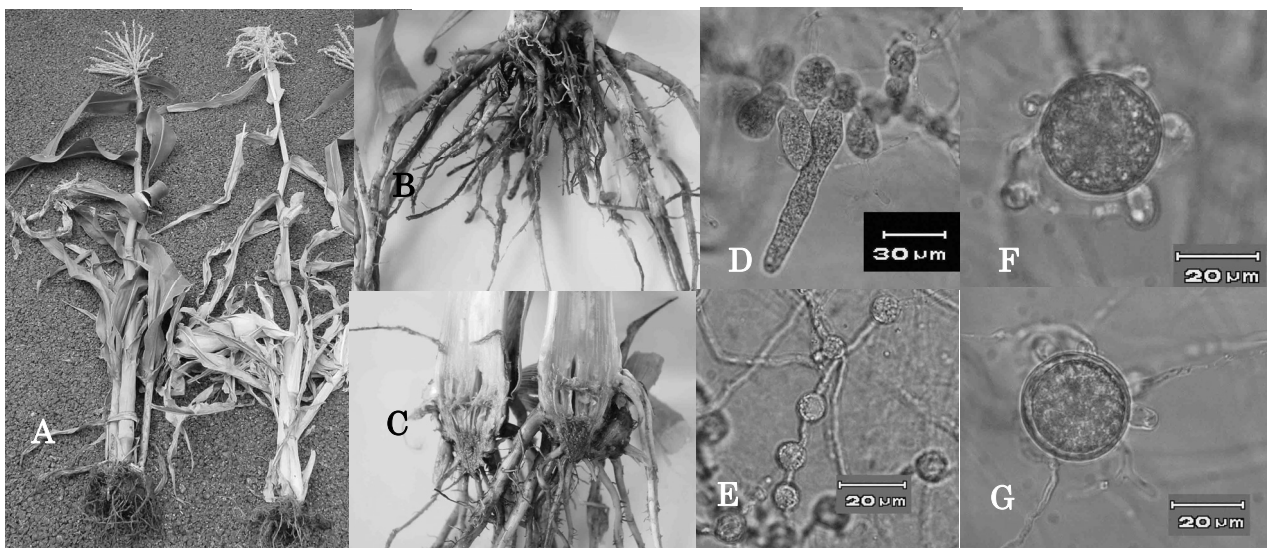
Levesque, C. A. et al. (2004) Mycol. Res. 108(12) : 1363-1383.

佐藤 徹ら（1984）日植病報50：137.

van der Plaats-Niterink, A. J. (1981) Stud. Mycol. 21 : 1-241.

Waterhouse G. M. (1967) Mycol. Pap. 109 : 1-15.

White, T. J. et al. (1990) PCR Protocols : a guide to Methods and applications (M.A. Innis et al. eds.) . Academic Press, New York. pp. 315-322.



第1図 スイートコーンの病徴および病原菌

A : 株の萎凋 (右) B : 根の褐変腐敗 C : 地際部の軟化腐敗 D : 膨状胞子のう E : 連鎖する付着器細胞  
F, G : 造卵器, 造精器, 卵胞子

第1表 分離菌の形態的特徴と生育温度

|      | 分離菌 S-1   | <i>P. arrhenomanes</i> <sup>a)</sup>                            | <i>P. graminicola</i> <sup>a)</sup>           | <i>P. graminicola</i> <sup>b)</sup> |
|------|---|---|---|-------------------------------------|
| 遊走子  | 未形成   | 形成しにくい  | 形成しにくい  | 容易に形成                               |
| 胞子のう | 膨状, 不整形, 分岐   | 膨状, 不整形, 分岐   | 膨状, 不整形, 分岐                                   | 膨状, 不規則に分岐                          |
| 付着器  | しばしば連鎖  | しばしば連鎖  | しばしば連鎖  |                                     |
| 造卵器  | 主として頂生, 球形, 平滑<br>直径 21.6~33.6 μm<br>(平均 26.5 μm)             | 主として頂生, 球形, 平滑<br>直径 24~36 μm<br>(平均 32.5 μm)                   | 頂生, 間生, 球形, 平滑<br>直径 20~25 μm<br>(平均 22.3 μm) | 球形, 直径 17~35 μm<br>(平均 26.4 μm)     |
| 造精器  | 円筒形, 糸状または鉤型<br>2~10 個以上/造卵器<br>12~19.2×7.2~12 μm<br>主として同菌糸性 | 円筒形, 糸状または鉤型<br>多数(しばしば 15-20) /造卵器<br>12~15×6~9 μm<br>主として同菌糸性 | 円筒形, 糸状または鉤型<br>1~6 個/造卵器<br>主として同菌糸性         | 棍棒状<br>1~8 個/造卵器                    |
| 卵胞子  | 球形, 充満または未充満<br>直径 21.6~31.2 μm<br>(平均 25.7 μm)               | 球形, 充満または未充満<br>直径 22~33 μm<br>(平均 27 μm)                       | 球形, 充満  | 球形, 充満                              |
| 生育温度 | 5~35℃ (適温 25~30℃)   | 5~35℃ (適温 25~30℃)   | 5~38℃ (適温 30℃)                                | (適温 25~30℃)                         |

a) Plaats-Niterink (1981)

b) 佐藤ら (1984)