ナス黒枯病菌の再同定

下元 祥史^{1,2*}・森田 泰彰¹・竹内 繁治³・曳地 康史²・木場 章範²・佐藤 豊三⁴

ABSTRACT

SHIMOMOTO, Y.^{1,2}, MORITA, Y.¹, TAKEUCHI, S.³, HIKICHI, Y.², KIBA, A.² and SATO, T.⁴ (2011). Reidentification of the causal fungus of black blight of eggplant. Jpn. J. Phytopathol. 77: 105–108.

The pathogen of black blight of eggplant (*Solanum melongena* L.) was previously described as *Corynespora melongenae* Takimoto in Japan, but there was no Latin description of the fungus. We collected the fungus again in Shimane and Kochi prefectures, the western regions of Japan and reidentified them as *C. cassiicola* based on the morphological characteristics and sequences of rDNA-ITS regions after confirming their pathogenicity on eggplant. We propose to replace *C. melongenae* Takimoto *nom. inval.* with *C. cassiicola* as the pathogen of black blight in eggplant in Japan.

(Received May 14, 2010; Accepted November, 16, 2010)

Key words: eggplant, black blight, reidentification, *Corynespora melongenae*, *Corynespora cassiicola*

ナス黒枯病はナス栽培における主要な病害の一つである(我孫子・石井, 1988; 山本ら, 1975). 葉には紫黒色から黒褐色, 円形から不整形の病斑が形成される. 枝と茎では果梗の切り口から発病し, 褐色不整形のくぼんだ病斑が形成され, 後に枝と茎は枯死する. 果実には赤褐色から褐色のくぼんだ病斑を生ずる(瀧元, 1938).

日本植物病名目録(日本植物病理学会編, 2000)によると, ナス黒枯病の病原菌は, 瀧元(1938, 1939)の報告に基づき *Corynespora melongenae* Takimoto [*Helminthosporium* sp.] とされている. しかし, これらの原典には *Helminthosporium* 属菌との記載があるだけで本学名は記載されていない. そこで筆者らは, ナス黒枯病菌 *Helminthosporium* sp. を *Corynespora* sp. に変更すべきことを提案した後藤(1950)以降の文献について詳細な調査を行った結果, 最新改訂 作物病害図鑑(瀧元, 1957)において, 当該病害の病原菌として初めて *C. melongenae* Takimoto が挙げられていることを見出した. しかし, 同文献には, 本学名のラテン語記載文がないことから, 本学名は命

名規約 ICBN (McNeill *et al.*, 2006) にしたがって提案されておらず(ICBN Art 36. 1), 非正当名(*nomen invalidum*)であると判断された. また, *C. melongenae* Takimoto の発表の基となった標本が指定, 保存されていないため, その学名の正当性も科学的に検証できない. 一方, 菌類学名の世界的データベースである Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp>) には *C. melongenae* Takimoto が掲載されておらず, インドのナス葉から分離された *Corynespora melongenae* Sharma & Srivastava が取り上げられている. そこで, ナス黒枯病菌の再同定を行うとともに, 本菌と *C. melongenae* Sharma & Srivastava との異同を明らかにしたので, 報告する.

供試菌株 S, K1, K2 および MAFF712045 株の4菌株を供試した. S は2005年に島根県内で, K1 と K2 は2007年に高知県内でそれぞれ採取された黒枯病の病徴(瀧本, 1938)を示すナス葉の病斑部から定法により分離された菌株である. また, MAFF712045 株は1975年に高知県内のナスから分離され, 農業生物資源研究所ジーンバンクにおいて *C.*

¹ 高知県農業技術センター (〒783-0023 高知県南国市廿枝 1100) Kochi Prefectural Agricultural Research Center, 1100 Hataeda, Nankoku, Kochi 783-0023, Japan

² 高知大学植物工学研究室 (〒783-8502 南国市物部乙 200) Laboratory of Plant Pathology & Biotechnology, Kochi University, 200 Monobe, Nankoku, Kochi 783-8502, Japan

³ 高知県環境農業推進課 (〒780-8570 高知県高知市丸ノ内 1-2-20) Kochi Prefectural Environmental Agriculture Promotion Division, Marunouchi 1-2-20, Kochi, Kochi 780-8570, Japan

⁴ 農業生物資源研究所 (〒305-8602 茨城県つくば市観音台 2-1-2) National Institute of Agrobiological Sciences, 2-1-2 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8602, Japan

* Corresponding author (E-mail: yoshifumi_shimomoto@ken2.pref.kochi.lg.jp)

melongenae Takimoto として保存されている菌株である。

病原性の確認 上記の4菌株をそれぞれオートミール寒天平板培地 (Difco) に移植後, 25°C で上方約 30 cm からブラックライトブルー (松下電器産業) を用いた近紫外線光の連続照射条件下で 10 日間培養し, 形成された分生子を滅菌水に懸濁して, 分生子懸濁液 (1.0×10^4 個/ml) を調製した。同液と対照として滅菌水十分量を噴霧接種した本葉5葉期のナス (*Solanum melongena* L: 品種 ‘千両2号’) をポリエチレン袋で覆い, 25°C, 暗黒下, 多湿条件に2日間保った後, 袋から取り出して, 最低 20°C, 最高 30°C のガラス室内で7日間栽培した。その結果, 各菌株の分生子懸濁液を散布したナスの葉に黒枯病の病徴が認められ (Fig. 1A), さらに病斑部から分生子柄および分生子の形態が接種菌とほぼ同じである菌が再分離された。滅菌水を散布した株では発病は認められず, 病原菌も分離されなかった。

病原菌の同定 前項の病原性確認試験後の発病ナス株を, 同様にガラス室内において, 多湿条件で管理することにより形成させた分生子柄および分生子の形態を観察した。分生子柄はいずれの菌株も単生し, 分枝せず褐色で, 頂部がやや膨らみ, 先端の分生子離脱痕から貫生による分生子柄の再伸長が認められた (Fig. 1B)。分生子柄の基部に子座は認められなかった (Fig. 1F)。供試した4菌株の分生子柄の大きさは $105 \sim 1030 \times 5 \sim 10 \mu\text{m}$, 隔壁数は $1 \sim 16$ であった (Table 1)。分生子はいずれの菌株も分生子柄の頂端より内出芽ボロ型に単生または鎖生し (Fig. 1C), 淡褐色, 倒棍棒形~円筒形で真直ないしやや湾曲し (Fig. 1E), 連鎖した分生子間には介在細胞が認められた。分生子は両端から発芽した。4菌株の分生子の大きさは $75 \sim 390 \times 10 \sim 20 \mu\text{m}$, 偽隔壁数は $1 \sim 18$ であった (Table 1)。これらの形態的特徴を Ellis (1957) と比較した結果, 4菌株はいずれも *Corynespora cassiicola* (Berk. & M. A. Curtis) C. T. Wei と同定された (Table 1)。

さらに, 4菌株それぞれのリボソーム RNA 遺伝子 (rDNA) 内の Internal transcribed spacer (ITS) 領域 (5.8S rDNA を含む) を, ITS4 と ITS5 (White *et al.*, 1990) をプライマーとして用いて増幅し, それらの塩基配列を決定した (accession no. AB553829, AB553830, AB553831 および AB553832)。その結果, 4菌株の ITS 領域の塩基配列は完全に一致し, DDBJ/EMBL/GenBank に登録されている *C. cassiicola* の当該領域の塩基配列 FJ852574 および FJ852601 (Dixon *et al.*, 2009) との相同性はそれぞれ 99.3% および 99.2% と高く, 形態による同定結果が支持された。

病原の学名変更 瀧元 (1938) が報告したナス黒枯病と同じ病徴を示すナス葉から分離後, 本研究に供試した4菌株は, いずれの菌株も *C. cassiicola* と同定されたことから, *C. cassiicola*

Fig. 1. Symptoms and causal fungus of black blight on eggplant. A. Symptoms reproduced by an inoculation with the isolate K1. B. Conidiophore of the isolate S (scale bar: 100 μm). C. Conidium and conidiophore of the isolate K2 (scale bar: 50 μm). D. Conidia and conidiophores of *C. melongenae* Takimoto *nom. inval.* reprinted from Takimoto (1957) (permitted by Yokendo Co. Ltd.). E. Conidium of MAFF712045 (scale bar: 20 μm). F. Conidiophore base of MAFF712045 (scale bar: 20 μm).

がナス黒枯病の病原菌であることが明らかとなった。一方, 本病の病原菌とされている *C. melongenae* Takimoto は, 非正当名 (*nom. inval.*) であることから使用すべきではない。また, *C. melongenae* Takimoto の初報告の基となった標本は残っていないが, 瀧元 (1938, 1957) の報告に記載された形態的特徴より, *C. melongenae* Takimoto は *C. cassiicola* と同一種である可能性が極めて高いと判断された (Table 1; Fig. 1D)。 *C. melongenae* Sharma & Srivastava もナスの病原菌であるが, 同菌の分生子は隔壁部で大きくくびれること, 分生子の偽隔壁数が少ないこと, および臍部 (hilum) が顕著でないこと等が瀧元 (1938) の報告する *C. melongenae* Takimoto および今回供試した *C. cassiicola* と異なり (Table 1), これらの菌とは別種であると判断された。また, 日本国内のナスから *C. melongenae* Sharma & Srivastava の特徴を持つ病原菌は分離, 報告されていない。以上より, 本病の病原菌を *C. cassiicola* に変更することを提案する。また, 本病の英名は Black rot とされているが (日本植物病理学会編, 2000), 本病の病徴は茎葉および果実における黒斑症状であり腐敗は認められないことから, Black blight に変更することをあわせて提案す

Table 1. Morphological characteristics of *Corynespora* isolates S, K1, and K2 from diseased eggplant *C. cassiicola* in the present study, and *C. melongenae* Takimoto and *C. melongenae* Sharma & Srivastava

	S	K1	K2	<i>C. melongenae</i> MAFF712045	<i>C. cassiicola</i> ^{a)}	<i>C. melongenae</i> Takimoto <i>nom. inval.</i> ^{b)}	<i>C. melongenae</i> Sharma & Srivastava ^{c)}
Conidiophore	medium brown	medium brown	medium brown	medium brown	pale to medium brown	pale to dark brown	light to dark olivaceous brown
shape	erect, simple, mononematous, no stromata	erect, simple, mononematous, no stromata	erect, simple, mononematous, no stromata	erect, simple, mononematous, no stromata	erect, simple, no stromata	simple, mononematous or caespitose	erect, simple, mononematous or mononematous, no stromata
size (µm)	330–1030×5–8	105–1010×5–10	190–850×5–10	280–450×7–10	110–850×4–11	200–400×4–11	124–316×7–9
septa	1–16	1–12	1–9	2–8	1–9	— ^{d)}	2–3
Conidium	pale olivaceous brown	pale olivaceous brown	pale olivaceous brown	pale olivaceous brown	subhyaline to pale olivaceous brown	pale to dark brown	olivaceous brown
shape	straight or curved, obclavate or cylindrical, smooth	straight or curved, obclavate or cylindrical, smooth	straight or curved, obclavate or cylindrical, smooth	straight or curved, obclavate or cylindrical, smooth	straight or curved, obclavate or cylindrical, smooth	obclavate	straight to slightly curved, ellipsoidal or obclavate, smooth, constriction present
conidium formation	singly or in chain	singly or in chain	singly or in chain	singly or in chain	singly or in chain	singly or in chain	singly
size (µm)	80–390×10–20	95–325×10–18	75–170×10–20	137–230×13–20	40–220×9–22	80–210×10–14	80–210×10–15
pseudosepta	1–16	5–18	2–12	6–14	4–20	1–16	0–8

a) Ellis 1957; b) Takimoto 1935; c) Sharma and Srivastava 2003; d) no description.

る。なお、菌株 S, K1 および K2 は農業生物資源研究所ジーンバンクに MAFF241220, 241218 および 241219 として寄託・登録した。

本研究を実施するに当たり、菌株を分譲頂いた島根大学上野 誠博士および学名調査にご協力頂いた（社）緑の安全推進協会梶原敏宏博士に厚く御礼申し上げる。

引用文献

- 我孫子和雄・石井正義 (1988). ナス黒枯病の発病に及ぼす温度並びに湿度の影響. 野茶試研報 A2: 93–98.
- Dixon, L. J., Schlub, R. L., Pernezny, K. and Datnoff, L. E. (2009). Host specialization and phylogenetic diversity of *Corynespora cassiicola*. *Phytopathology* 99: 1015–1027.
- Ellis, M. B. (1957). Some species of *Corynespora*. *CMI Mycol. Pap.* 65: 1–16.
- 後藤和夫 (1950). *Corynespora* 属菌による我邦栽培植物の病害. 日植病報 15: 34–35 (講要).
- McNeill, J., Barrie, F. R., Burdet, H. M., Demoulin, V., Hawksworth, D. L., Marhold, K., Nicolson, D. H., Perado, J., Silva, P. C., Skog, J. E., Wiersema, J. H. and Turland, N. J. (2006). International Code of Botanical Nomenclature (Vienna Code) adopted

- by the Seventeenth International Botanical Congress, Vienna, Austria, July 2005. *Regnum Vegetabile* 146: 1–568.
- 日本植物病理学会編 (2000). 日本植物病名目録. pp. 255–256, 日本植物防疫協会, 東京.
- Sharma, N. and Srivastava, S. (2003). An Appraisal of morpho taxonomic species diversity in *Corynespora* Güssow in Indian sub-continent. *In* *Frontiers of Fungal Diversity in India* (Festschrift, K., ed.). pp. 607–638, Motilal Banarsidass, Lucknow.
- 瀧元清透 (1938). 植物病害実験録 (8) 茄の黒枯病. 病虫雑 25: 281–286.
- 瀧元清透 (1939). 花卉及温室作物の病害 (中田覚五郎ほか編). p. 155, 養賢堂, 東京.
- 瀧元清透 (1957). 最新改訂 作物病害図編 (中田覚五郎ほか編). pp. 185–186, 養賢堂, 東京.
- 山本 勉・福西 務・川尻啓介 (1975). ナス黒枯病の発生病消長および発生環境 (ハウス栽培のナス黒枯病に関する研究 I). 徳島農試報 14: 49–57.
- White T. J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In* *PCR Protocols: A guide to methods and applications*. (Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J. and White, T. J., eds.). pp. 315–322, Academic Press, San Diego.