

## *Sclerotinia sclerotiorum* によるエンダイブ菌核病

佐々木静江<sup>1</sup>・井上 幸次<sup>2\*</sup>・多賀 正節<sup>3</sup>・那須 英夫<sup>2</sup>

### ABSTRACT

SASAKI, S.<sup>1</sup>, INOUE, K.<sup>2\*</sup>, TAGA, M.<sup>3</sup> and NASU, H.<sup>2</sup> (2006). Sclerotinia rot of endive caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. Jpn. J. Phytopathol. 72: 150-153.

A sclerotinia disease of endive, *Cichorium endivia* L., was found in Okayama Prefecture in November 2003. The symptoms were water-soaked, blight and soft rot of leaves and stems. The fungus consistently isolated from symptomatic leaves was identified as *Sclerotinia sclerotiorum* on the basis of morphological characteristics. Healthy seedlings were inoculated with the isolated fungus, symptoms of the disease were reproduced, and the fungus was reisolated from the lesions.

(Received October 5, 2005; Accepted March 16, 2006)

**Key words:** Endive, Sclerotinia rot, *Sclerotinia sclerotiorum*

エンダイブ (*Cichorium endivia* L.) は、別名ニガチシャと呼ばれる生食野菜で、周年栽培が可能な作物として近年注目されている。エンダイブに発生する菌核病は、山崎ら (2000) により *Sclerotinia* 属菌と考えられる 2 種類の病原菌によって引き起こされる新病害として提唱されたが、菌核からの子のう盤が未確認であったため、菌の種名については未確定であった。2003年11月、岡山県東部地域で栽培されるエンダイブに発生した菌核病の病原菌を同定したところ、*Sclerotinia sclerotiorum* であることが明らかとなったので報告する。なお、本報告の一部は平成14年度日本植物病理学会大会で発表した (佐々木ら, 2004)。

**病徴および発生状況** 2003年11月、岡山県赤磐市のハウス栽培エンダイブ (品種: エンダイブ, 周年栽培) のうち、同年12月上~中旬収穫予定の作型 (10月4日定植) において、11月上旬から葉や茎が暗緑色の水浸状となり、後に褐変・軟化して萎れる症状が発生した。また、症状の激しい株では中心部が腐敗して枯死するものもみられた (Fig. 1-A)。発病は、茎葉が重なり合った部分から起こる場合が多く、連続降雨などの高湿度条件が続くと、葉縁部から発病して地際部に向かって病斑が拡大し (Fig. 1-B)、罹病部

位に蜘蛛の巣状の菌糸がみられた。発病後期には、株の中心部や地際罹病部に白色綿毛状の菌糸が密生し、黒色の菌核が観察された (Fig. 1-C)。2004年においても、本病は11月上・中旬に、生育後期となった作型で初発生した後に急増し、12月から翌年1月まで被害が拡大した。その後、2月には病勢が一時的に停滞したものの、3月中・下旬から4月まで再び発病株が増加した。発病株率は概ね数%であったが、30%を越える作型もみられた。両年の10月~翌年4月にかけて菌核からの子のう盤形成を観察したところ、子のう盤は11月~2月上旬および3月下旬~4月上・中旬にハウス間通路や発病後放置された株跡に形成された菌核で認められた (Fig. 1-D, E)。これらの結果は山崎ら (2000) の報告による病徴および発生時期とほぼ一致していた。

**病原菌の分離・同定** 罹病組織片や子のう盤を次亜塩素酸ナトリウム溶液 (有効塩素 2%) で表面殺菌した後、滅菌水でよく洗浄して PSA 培地上に置床、25°C で 3~5 日間培養後に菌を分離した。子のう盤および罹病組織から高率に分離された分離菌株のうち、2 菌株 (ap1-1 株および hy-1 株) を供試した。両菌株を 9 cm シャーレ内の PSA 培

<sup>1</sup> 岡山県津山農業普及指導センター (〒708-8506 津山市山下53) Okayama Prefectural Tsuyama Agricultural Extension Center, Sange, Tsuyama, Okayama 708-8506, Japan

<sup>2</sup> 岡山県農業総合センター農業試験場 (〒709-0801 岡山県赤磐市神田沖1174-1) Agricultural Experiment Station, Okayama Prefectural General Agriculture Center, Kouda-oki, Akaiwa, Okayama 709-0801, Japan

<sup>3</sup> 岡山大学大学院自然科学研究科 (〒700-8530 岡山市津島中3-1-1) Graduate School of Natural Science and Technology, Okayama University, Tsushima-naka, Okayama, Okayama 700-8530, Japan

\* Corresponding author (E-mail: kouji\_inoue3@pref.okayama.lg.jp)

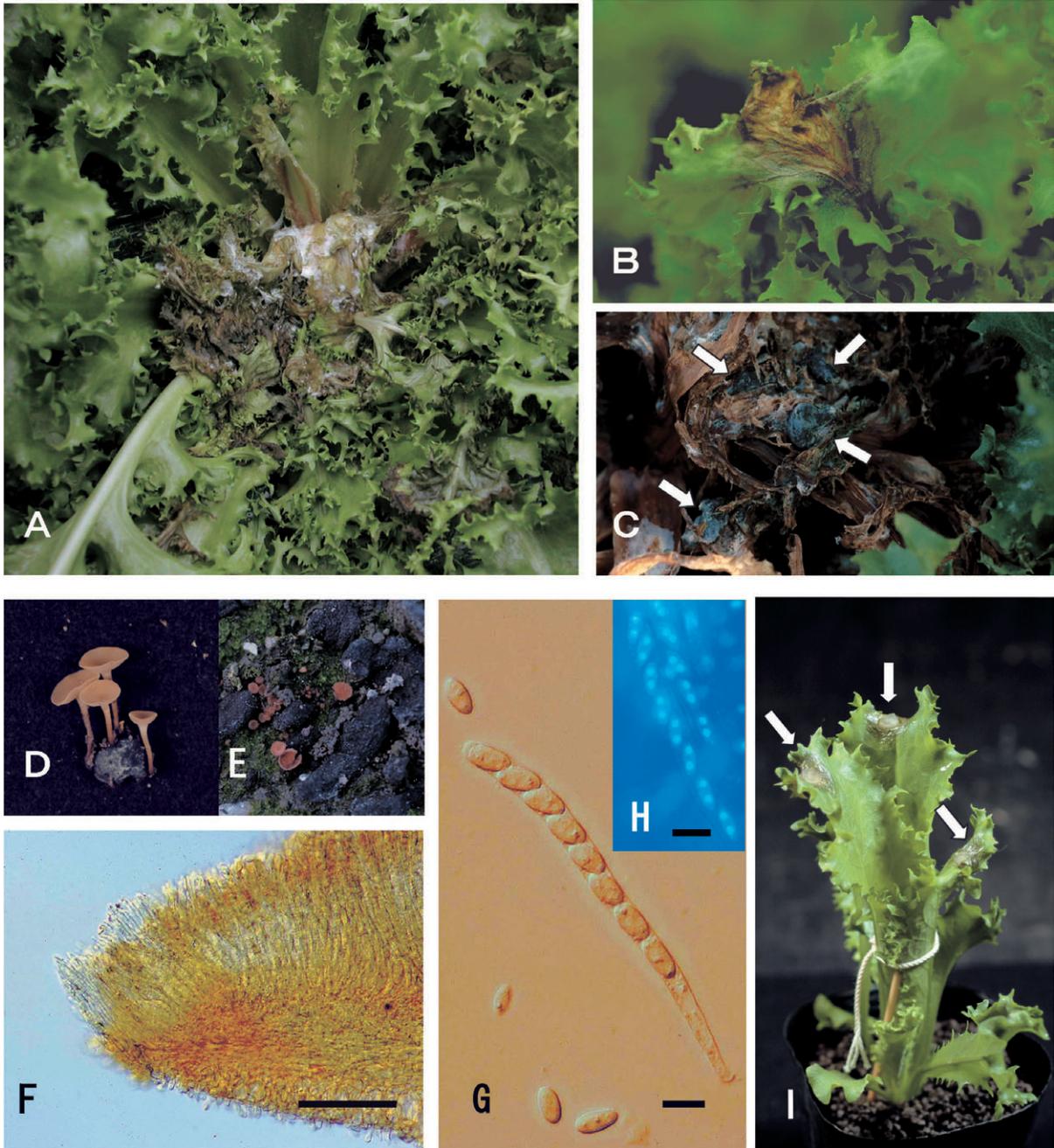


Fig. 1. A. Soft rot on endive plant naturally infected by *Sclerotinia sclerotiorum* in the field.  
 B. Blight on leaf of endive plant after natural infection.  
 C. Sclerotia (arrows) produced on an endive plant after natural infection.  
 D, E. Apothecia produced from sclerotia in the field.  
 F. Cross-section of apothecium (scale bar: 100  $\mu$ m).  
 G. Ascus and ascospores of *S. sclerotiorum* (scale bar: 10  $\mu$ m).  
 H. Ascospores stained with nuclear stain DAPI (scale bar: 10  $\mu$ m).  
 I. Water-soaked lesions (arrows) on unwounded leaves appeared after inoculation with isolate (apl-1).

地上に置床し、25°C、自然光下で菌核を形成させ、その形態を調査するとともに、栽培圃場で採集した菌核上の子のう盤、子のうおよび子のう胞子についても光学顕微鏡によ

る形態観察を行った。子のう盤の外皮層外側細胞については徒手切片標本を観察した。また、3%ホルマリン液で室温固定した子のうを4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI)

染色液 [1 µg/ml, Johnson and Araujo (1981) の抗退色剤に溶解して使用] を用いて染色し, 子のう胞子中の核を蛍光顕微鏡で観察した. 病原菌の生育については, 供試2菌株の菌叢片 (直径6 mm) を9 cm シャーレ内のPSA培地に接種後, アルミホイルに包んで暗黒条件下とし, 5~30°Cの定温器に3枚ずつ入れて培養し, 48時間後の菌糸伸長を測定した.

これらのエンダイブ分離株について他の *Sclerotinia* 属菌との比較を Table 1 に示した. 形態観察の結果, 供試した2菌株の形態はほぼ同じで, PSA培地上で白色綿毛状の菌叢を生じ, 直径1.5-3.9 mmの黒色菌核を形成した. 野外から採集した菌核は, 黒色鼠糞状で宿主組織を含まず, 1菌核あたり1~5個の子のう盤を形成した. 子のう盤は淡褐色で漏斗状を呈し, 外皮層外側細胞は球状であったが, 周縁部の外皮層外側細胞は菌糸状であった (Fig. 1-F). 子のうは無色, 115.0-160.0×7.5-10.0 µmの棍棒状で, 頂端に弁がなく, 8個の斉一な子のう胞子を有していた (Fig. 1-G). 子のう胞子は無色で単胞, 10.0-15.0×5.0-7.5 µmの楕円形で, 2核性であった (Fig. 1-H). 大型分生子は認められなかった. 生育は5~30°Cで認められ, 生育最適温

度は約25°Cであった.

以上の結果を成田 (1966), Willetts and Wong (1980) などの既報の記載と比較したところ, 菌核, 子のう盤, 子のう, 子のう胞子の形態的特徴が *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary の形態と一致したので, 今回採集・分離した菌を *S. sclerotiorum* と同定した.

分離菌の病原性 供試2菌株 (apl-1株, hy-1株) について, 本葉7葉期の苗を各5~6ポット供試した. 苗毎に3~5葉を選び, 直径6 mmの菌叢片 (PSAで培養した菌叢の周縁部) を, 葉当たり1カ所ずつ有傷 (針5本を束ねてせん刺) および無傷で貼り付けて接種した後, 20°Cの湿室条件下で接種5日後まで発病の有無を調査した. なお, 対照としてPSA培地片のみを同様にして接種した. また, 発病適温を調べるため, 有傷接種した株を5~30°Cの湿室条件下に置き, 24時間後の発病程度を調査した.

その結果, 2菌株は有傷, 無傷接種区ともに1日後には水浸状の病斑を形成した (Fig. 1-I). 2日後には高率に原病徴が再現され (Table 2), 5日後には軟化腐敗が観察された. 病斑の形成は5~30°Cの温度条件で認められ, 発病適温は20~25°Cであった. また, 発病部位からは接種菌

Table 1. Morphological comparison of *Sclerotinia* sp. from endive with the known species of *Sclerotinia*

Characters	<i>Sclerotinia</i> sp. on endive	<i>S. sclerotiorum</i>	<i>S. trifoliorum</i>	<i>S. minor</i>
<b>Sclerotia</b>				
Color, shape	Black, hemispheroid	Black, hemispheroid <sup>a)</sup>	Rounded to irregularly shaped, lower surface concave <sup>b)</sup>	Black <sup>e)</sup> , mostly rounded <sup>b)</sup>
Size (mm)	1.5-3.9×1.3-3.3 (ave. 2.8×2.3)	5-15×3-5 <sup>a)</sup>	2-10 <sup>c)</sup>	≤0.5-4 <sup>e)</sup>
<b>Apothecia</b>				
Color, shape	Pale brown, funnel-shaped	Pale brown, funnel-shaped <sup>a)</sup>	Brown, concave <sup>d)</sup>	Pale reddish brown, funnel-shaped <sup>e)</sup>
Size (mm)	5.0-13.0 (ave. 7.4)	4-8 <sup>a)</sup>	Up to 8 <sup>d)</sup>	0.5-2 <sup>e)</sup>
Cells of ectal excipulum at apothecial margin	Prosenchymatous	Prosenchymatous <sup>b)</sup>	Not given <sup>b)</sup>	Globose cell <sup>b)</sup>
<b>Asci</b>				
Color, shape	Hyaline, clavate	Hyaline, clavate <sup>a)</sup>		Hyaline, cylindric <sup>e)</sup>
Size (µm)	115-160×7.5-10.0 (ave. 136.5×8.5)	100-160×6-11 <sup>a)</sup>	151-195×8.7-10.9 <sup>c)</sup>	115-165×6.5-10 <sup>e)</sup> (ave. 144.1×9.6)
<b>Ascospores</b>				
Color, shape	Hyaline, ellipsoid, unicellular	Hyaline, ellipsoid, unicellular <sup>a)</sup>		Hyaline, ellipsoid <sup>e)</sup>
Size (µm)	10.0-15.0×5.0-7.5 (ave. 12.4×6.1)	8.0-15.0×4.0-7.5 <sup>a)</sup>	13.7-16.3×8.0-10.0 <sup>c)</sup>	10-17×5-8 <sup>e)</sup> (ave. 13.5×6.8)
Number of nuclei	2	2 <sup>b)</sup>	4 <sup>b)</sup>	4 <sup>b)</sup>
Morphological uniformity in ascus	Uniform	Uniform in size <sup>b)</sup>	Dimorphic in size (4:4) <sup>b)</sup>	Uniform in size <sup>b)</sup>

a) Narita (1966), b) Willetts and Wong (1980), c) Purdy (1955), d) Dennis (1968), e) Ikata (1928)

Table 2. Pathogenicity of *Sclerotinia sclerotiorum* isolates on leaves of endive plants

Isolates	Origin	Wounded	Unwounded
apl-1	Apothecium	18/18 <sup>a)</sup>	17/17
hy-1	Affected leaf	15/15	17/17
Control <sup>b)</sup>		0/18	0/18

a) Number of leaves diseased / total number of leaves 2 days after inoculation.

b) PSA pieces were used to inoculate for control.

が再分離された。

以上の結果から、岡山県に発生したエンダイブの病害は、*S. sclerotiorum* による菌核病であることが明らかになった。*S. sclerotiorum* は多犯性で、野菜類や豆類などを侵す重要病害である(成田, 1966; 赤井, 1983; 挟間ら, 1989)。米国においても Farr ら(1989)によるアメリカ植物病理学会の病名リストやアリゾナ州で発生する病害リスト(Anonymous, 2000)に *S. sclerotiorum* による病害として、エンダイブ菌核病(Watery soft rot)が記載されている。さらに、Farr ら(1989)のリストには *Sclerotinia* sp. (Leaf burn) も病原菌とされている。我が国においても、山崎ら(2000)がエンダイブ菌核病菌として1-2 mmと3-8 mmの大きさの異なる菌核を形成する2種の *Sclerotinia* 属菌を報告しているが、本試験の供試菌株は大きな菌核を形成する菌株に該当すると考えられる。

## 引用文献

- 赤井 純 (1983). *Sclerotinia* (菌核病菌) 総論. 北海道畑作物の土壤病害 (宇井格生監修). pp. 137-146, 北海道畑作物の土壤病害刊行会, 札幌.
- Anonymous (2000). *Sclerotinia* disease, white mold or watery soft rot. In Report on Plant Disease No. 1008, p 8, Department of crop sciences, University of Illinois at Urbana-Campaign, Urbana.
- Dennis, R. W. G. (1968). British ascomycetes. pp. 455. J. Cramer, Stuttgart.
- Farr, D. F., Bills, G. F., Chamuris, G. P. and Rossman, A. Y. eds. (1989). *Fungi on plants and plant products in the United States*. p 65, APS Press, St. Paul.
- 挟間 渉・三浦猛夫・森田鈴美・加藤徳弘 (1989). *Sclerotinia* 属菌によるゴボウ菌核病(仮称)について. 九防虫研会報 35: 12-19.
- 鑄方末彦 (1928). 除蟲菊の病害に就て. 日植病報 2: 140-158.
- Johnson, G. D. and Araujo, G. M. (1981). A simple method of reducing the fading of immunofluorescence during microscopy. *J. Immunol. Methods* 43: 349-350.
- 成田武四(1966). *Sclerotinia sclerotium* (Lib.) de Bary による豆類, その他作物の菌核病に関する研究総説. 北海道十勝農試資料第2号. pp. 1-42.
- Purdy, L. H. (1955). Broader concept of the species *Sclerotinia sclerotiorum* based on variability. *Phytopathology* 45: 421-427.
- 佐々木静江・井上幸次・那須英夫 (2004). 岡山県に発生したエンダイブ菌核病について. 日植病報 70: 223 (講要).
- Willettts and Wong (1980). The biology of *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. trifoliorum*, and *S. minor* with emphasis on specific nomenclature. *The Botanical Review* 46: 103-165.
- 山崎裕司・植松清次・長尾英幸・柿蔦 眞 (2000). エンダイブ菌核病(新称)について. 日植病報 66: 271 (講要).