

特集：芝草病害

リゾクトニア病

—近年報告されたリゾクトニア属菌による芝草病害—

(株)理研グリーン・グリーン研究所 ^は草 ^か川 ^と敏 ^ひ広
 岐阜大学応用生物科学部 ^ひ百 ^ま町 ^み満 ^ろ朗

はじめに

Rhizoctonia 属菌による芝草病害には重要なものが多く、ノシバ (*Zoysia japonica*) やコウシュンシバ (通称「コウライシバ」: *Z. matrella*) などの暖地型芝草に発生する葉腐病 (ラージパッチ) はほぼ全国的に認められ、最も重要な病害とされている。病原菌は以前、*R. solani* AG-2-2 IV とされていたが、現在は *R. solani* AG-2-2 LP とされている (HYAKUMACHI et al., 1998)。また、ノシバやコウライシバには binucleate *Rhizoctonia* による疑似葉腐病もほぼ全国的に発生し、春に発生するものを「リゾクトニア性春はげ症」、夏～秋に発生するものを「象の足跡」と呼称している。病原菌は binucleate *Rhizoctonia* AG-D であるが、菌糸生育の最適温度、培養形態、菌核形成の有無および DNA 解析の結果から、「リゾクトニア性春はげ症」の病原菌は AG-D I、「象の足跡」の病原菌は AG-D II と類別されている (田中ら, 1994; TODA et al., 1999)。

クリーピングベントグラス (*Agrostis stolonifera* var. *palustris*) などの寒地型芝草においては、葉腐病 (ブラウンパッチ) が全国的に発生する。病原菌は *R. solani* AG-2-2 IIIB, AG-1 IA および AG-1 IB であるが、クリーピングベントグラスでは AG-2-2 IIIB によるものが圧倒的に多い (早川ら, 2001)。また、寒地型芝草においても binucleate *Rhizoctonia* による疑似葉腐病が発生し、病原菌は「リゾクトニア性春はげ症」と同じ binucleate *Rhizoctonia* AG-D I である。

近年、国内において、これら以外の *Rhizoctonia* 属菌による病害が報告されているので、それらの研究内容について紹介する。

I *Waitea circinata* var. *circinata* による病害

北林ら (1994) は、国内のゴルフ場のクリーピングベントグラスにブラウンパッチ菌とは異なる多核

Rhizoctonia による病害が発生することを報告している。本病害は 5～11 月 (夏季は除く) に発生し、芝地上で直径約 10～50 cm、黄色や黄褐色のリング状のパッチを呈するが、時に不整形を呈することもある。夏季を中心に発生するブラウンパッチとは発生時期が異なる。また、ブラウンパッチは主に茶褐色を呈し、パッチの内部まで完全に枯れるのに対し、本病害はパッチ外周のリング部分は枯れるが内部は健全な場合が多い。

本病害から分離された *Rhizoctonia* 属菌は多核で、*R. oryzae* および *R. zeae* の標準菌株と菌糸融合したが、培養形態は以下に示すように異なった。なお、*R. oryzae* と *R. zeae* の完全世代は、それぞれ *Waitea circinata* var. *oryzae* と *W. circinata* var. *zeae* である。また、*W. circinata* の変種として、さらにアメリカのアラスカ州から分離されている *W. circinata* var. *circinata* [不完全世代の名前を *R. circinata* var. *circinata* とすることが提唱されている (LEINER and CARLING, 1994)] がある。そこで、分離菌とこれら *W. circinata* の 3 変種とで諸性質について比較を行った。

本菌と var. *circinata* はブドウ糖加用ジャガイモ煎汁寒天 (PDA) 培地において、培地は主に茶褐色を呈し、茶～茶褐色で 1～3 mm の不定形の菌核を形成することから var. *oryzae* や var. *zeae* とは培養形態が異なった (表-1)。また、本菌と var. *circinata* の最適生育温度は 28℃であったが、var. *oryzae* と var. *zeae* は 30℃であった。さらに、本菌と var. *circinata* のクリーピングベントグラスに対する病原性は var. *oryzae* よりも高かったが、var. *zeae* と比較すると低かった (表-2)。RAPD-PCR の結果から作成した系統樹においては、本菌と var. *circinata* は同一のクラスターを形成したが、var. *oryzae* や var. *zeae* とは異なるクラスターを形成した。また、rDNA-ITS 領域の RFLP 解析の結果も、本菌と var. *circinata* は同じであったが、var. *oryzae* や var. *zeae* とは異なっていた。

以上の結果から、本菌は *W. circinata* var. *circinata* であることが明らかになった。本菌によるクリーピングベントグラスの病害は「Brown ring patch」として報告されている (TODA et al., 2005)。現時点では、国内で本菌による病害の正式な病名はないため、病名の申請が必要

Rhizoctonia Diseases. By Toshihiro HAYAKAWA and Mitsuro HYAKUMACHI

(キーワード: 芝草病害, *Waitea circinata*, binucleate *Rhizoctonia* AG-D)

表-1 *W. circinata* var. *circinata*, var. *oryzae*, var. *zeae* および NP 株の形態的特徴

変種名および グループ名	核数	菌糸の幅 (μm)	培地の色 ^{a)}	菌核 ^{a)}		
				大きさ (mm)	形	色
<i>circinata</i>	3 ~ 9	6.4	茶褐色	1 ~ 3	不定形	茶~茶褐色
<i>oryzae</i>	3 ~ 8	6.3	白~桃色	1 ~ 3	不定形	桃色
<i>zeae</i>	3 ~ 10	6.4	赤橙色	0.5 ~ 1	亜球形	橙色
NP 株 ^{b)}	3 ~ 10	6.3	白~淡黄色	1 ~ 3	不定形	茶褐色

^{a)} PDA 培地で、25℃の暗所で 30 日間培養、^{b)} 赤褐色葉腐症状株から分離した菌。

表-2 *W. circinata* var. *circinata*, var. *oryzae*, var. *zeae* および NP 株のクリーピングベントグラスに対する病原性

変種名および グループ名	発病程度 (%) ^{a)}	再分離率 (%) ^{b)}
<i>circinata</i>	15.5 b ^{c)}	93.3
<i>oryza</i>	0.5 a	40.0
<i>zeae</i>	32.1 b	76.3
NP 株 ^{d)}	63.5 c	83.0
無接種	0.0 a	0.0

^{a)} 発病程度は、0% = 無病徴、1% = 軽微な葉枯、5% = 10% 未満の葉枯、30% = 10 ~ 50% の葉枯、75% = 50% 以上の葉枯、100% = 枯死を示す。^{b)} 再分離率(%) = *Rhizoctonia* 属菌の出現個体数/供試 20 個体 $\times$ 100。^{c)} Kruskal-Wallis 検定 ($p < 0.01$) により同一英文字間にはそれぞれ有意差がないことを示す。^{d)} 赤褐色葉腐症状株から分離した菌。

と考えられる。なお、国内のクリーピングベントグラスに発生するとされる白葉腐病の病原菌は *R. oryzae* とされていた (反保ら, 1990) が、再検討の結果 *W. circinata* var. *circinata* と同定されている (Toda et al., 2005)。

W. circinata var. *circinata* による病害の発生頻度は、多核 *Rhizoctonia* による寒地型芝草の病害全般の中で 18.7% を占めており (早川ら, 2001)、近年発生が目立っている。本病の防除薬剤については検討中であるが、ポット試験、圃場試験およびゴルフ場での実施例より、メプロニル含有薬剤、テブコナゾール含有薬剤およびイミノクタジナルベシル酸塩・ポリオキシシン剤などブラウンパッチに適用のある殺菌剤がおおむね有効であることが確認されている。

II *Waitea circinata* var. *agrostis* (仮称) による病害

早川ら (2001; 2002) は、国内のゴルフ場のクリーピングベントグラスやケンタッキーブルーグラス (*Poa pratensis*) に *W. circinata* の既知の 3 変種とは異なる新たな変種による病害が発生することを報告している。本病害は 6 ~ 9 月に発生し、芝地上で直径数十 cm ~ 1 m、赤褐色や淡褐色の類円形や不整形を呈する。パッチの内

部まで完全に枯れる場合が多いが、まれにリング状を呈することもある。発生時期はブラウンパッチとほぼ同じである。本病害では葉身や葉鞘が赤褐色に腐敗するため、症状は var. *circinata* によるものよりも激しい。

腐敗症状を呈した芝草から分離した *Rhizoctonia* 属菌 (ここでは NP 株とする) は多核で、*W. circinata* の 3 変種と菌糸融合をしたが、培養形態が明らかに異なった。NP 株は PDA 培地において、培地は白~淡黄色を呈し、茶褐色で 1 ~ 3 mm の不定形の菌核を形成した。菌核の形態は var. *oryzae* や var. *zeae* とは異なったが、var. *circinata* とは類似していた。しかしながら、NP 株の場合、培地は白~淡黄色を呈するのに対して、var. *circinata* は茶褐色を呈する点が異なった (表-1)。NP 株の最適生育温度は 28 ~ 30℃であった。また、クリーピングベントグラスに対する病原性は、*W. circinata* の既知の 3 変種よりも明らかに高かった (表-2)。NP 株内および *W. circinata* の 3 変種内の rDNA-ITS 領域の塩基配列相同性は高かったが、NP 株と *W. circinata* の各変種との相同性は低かった。さらに、rDNA-ITS 領域の塩基配列の結果から作成した系統樹において、NP 株と *W. circinata* の 3 変種はそれぞれ異なるクラスターを形成した (図-1)。また、RAPD-PCR の結果から作成した系統樹においても、NP 株は *W. circinata* の 3 変種とはそれぞれ異なるクラスターを形成した。

これらの結果から、NP 株は *W. circinata* の 3 変種とは明らかに異なる菌であると考えられた。なお、本研究内容に関しては、現在、論文を投稿中であり、NP 株を *W. circinata* の新変種 *Waitea circinata* var. *agrostis* (仮称) とし、本菌によるクリーピングベントグラスとケンタッキーブルーグラスの病害を赤褐色葉腐病 (*Waitea* reddish-brown-patch) とすることを提唱している。また、論文が受理された時点で国内で病名申請をしたいと考えている。

多核 *Rhizoctonia* による寒地型芝草の病害全般の中で、本病害が占める発生頻度は 24.6% であり (早川ら, 2001)、var. *circinata* による病害と同様に近年発生が目立っている。本病の防除薬剤については検討中であるが、ポット

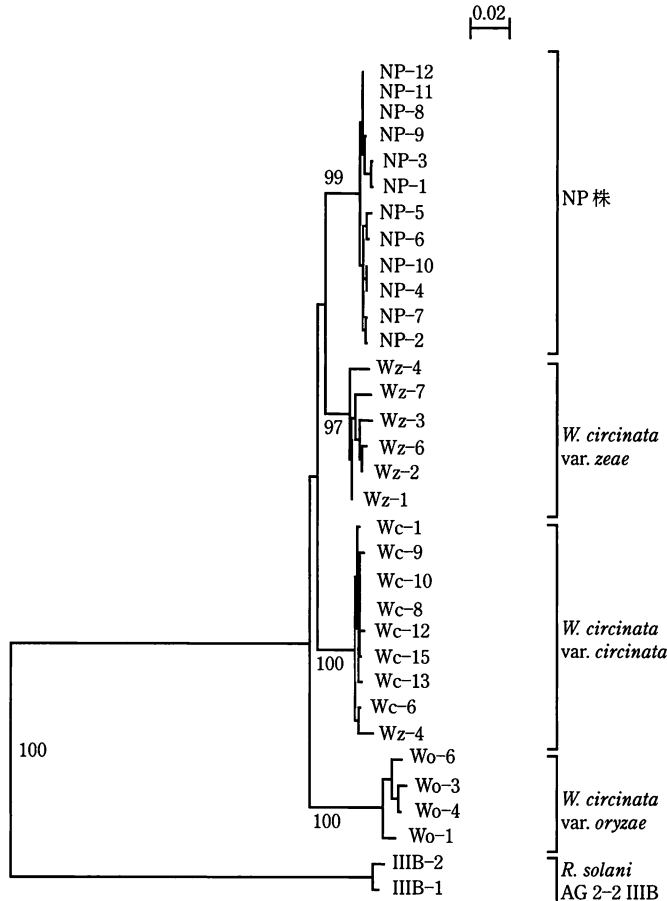


図-1 *Waitea circinata* の変種間の分子系統樹

rDNA-ITS 領域について近隣結合法を用いて作成した。NP 株は赤褐色葉腐症状から分離した菌を示す。枝の横にある数値はブートストラップ確率を示す（90%以上のみ表示）。バーは 100塩基中 2 塩基の違いを示す。

試験およびゴルフ場での実施例より、var. *circinata* による病害と同様にブラウンパッチに適用のある殺菌剤がおおむね有効と考えている。

III binucleate *Rhizoctonia* AG-D III による病害

早川ら（2004）は、静岡県内のゴルフ場のノシバに、リゾクトニア性春はげ症の病原菌 binucleate *Rhizoctonia* AG-D I や象の足跡の病原菌 binucleate *Rhizoctonia* AG-D II とは異なる binucleate *Rhizoctonia* AG-D による病害が発生したことを報告している。また、2006 年にはコウライシバでの発生も確認している。本病害は 2002 年から確認され、冷涼な高冷地の春季（特に晩春）に発生が認められている。芝地上で直径数十 cm ～ 1 m、赤褐色で類円形や不整形を呈する。パッチの内部まで完全

に枯れる場合が多いが、リング状を呈することもある。罹病芝の葉鞘が腐敗して葉身が赤褐色に変色するため、症状はラージパッチに似ている。

腐敗症状を呈した芝草から分離した *Rhizoctonia* 属菌は 2 核で、菌糸融合群 AG-D と融合した。本菌は PDA 培地において淡黄色を呈するため、茶～茶褐色を呈する AG-D I とは培養形態が異なっていた。また、本菌は茶褐色で径 1 ～ 3 mm の菌核を形成したが、菌核の大きさが径 1 mm 程度の AG-D I や白色で 4 ～ 5 mm の菌糸塊を形成する AG-D II とは明らかに形態が異なった。本菌の最適生育温度は 20℃で、各温度における菌糸伸長速度は AG-D I や AG-D II よりも遅く、特に、25℃では本菌と AG-D I や AG-D II との菌糸伸長速度の差が顕著であった（図-2）。接種試験において、ノシバに対する病原性は AG-D I や AG-D II よりもやや低かった

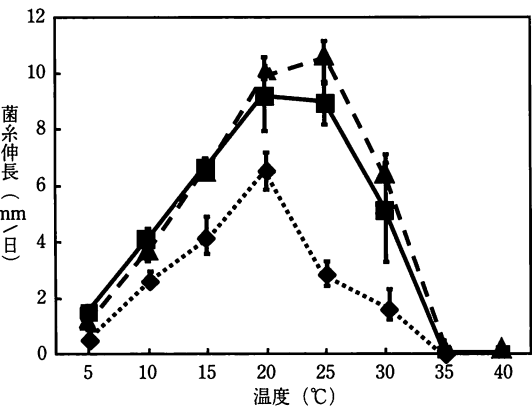


図-2 binucleate *Rhizoctonia* AG-D のサブグループの生育温度
—■— : AG-D I, -▲- : AG-D II, ..◆.. : AG-D III を示す。

表-3 binucleate *Rhizoctonia* AG-D I, AG-D II および AG-D III のノシバに対する病原性

サブグループ名	発病程度 (%) ^{a)}	再分離率 (%) ^{b)}
AG-D I	97.5 c	77.5
AG-D II	98.8 c	77.5
AG-D III	48.8 b ^{c)}	77.5
無接種	0.0 a	0.0

a) 発病程度は、0% = 無病徴、5% = 10%未満の葉枯、30% = 10 ~ 50%の葉枯、75% = 50%以上の葉枯、100% = 枯死を示す。
b) 再分離率(%) = binucleate *Rhizoctonia* の出現個体数/供試 20 個体 × 100. c) Kruskal-Wallis 検定 ($p = 0.05$) により同一英文字間にはそれぞれ有意差がないことを示す。

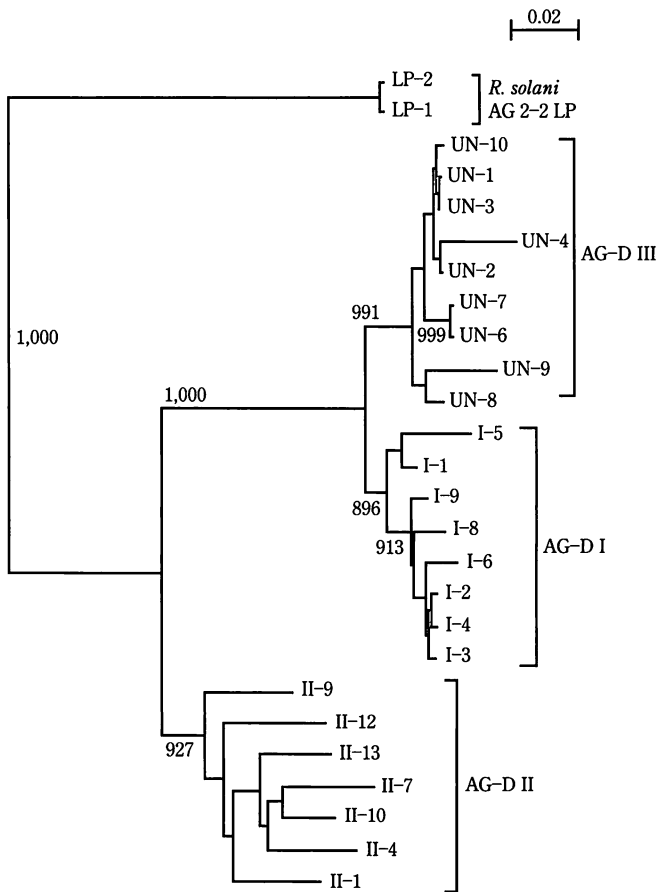


図-3 binucleate *Rhizoctonia* AG-D のサブグループの分子系統樹
rDNA-ITS 領域について近隣結合法を用いて作成した。枝の横にある数値はブートストラップ (1,000 個) 解析の値を示す (70% 以上のみ表示)。バーは 100 塩基中 2 塩基の違いを示す。

表-4 これまでに報告されている芝草のリゾクトニア性病害

病原菌	国内での病名（通称）	芝草の種類	報告例 ^{a)}	
			日本	海外
<i>R. solani</i> AG-2-2 LP	葉腐病（ラージパッチ）	暖地型芝草	○	○
<i>R. solani</i> AG-2-2 IIIB	葉腐病（ブラウンパッチ）	寒地型芝草	○	○
<i>R. solani</i> AG-1 (IA, IB)	葉腐病（ブラウンパッチ）	寒地型芝草	○	○
<i>W. circinata</i> var. <i>oryzae</i>	—	暖地型芝草	— ^{b)}	○
<i>W. circinata</i> var. <i>zeae</i>	—	暖地型および寒地型芝草	—	○
<i>W. circinata</i> var. <i>circinata</i>	検討中	寒地型芝草	○	—
<i>W. circinata</i> var. <i>agrostis</i> （仮称）	検討中	寒地型芝草	○	—
binucleate <i>Rhizoctonia</i> AG-D I	疑似葉腐病（リゾクトニア性春はげ症）	暖地型芝草	○	—
	疑似葉腐病（イエローパッチ）、株腐病 ^{c)}	寒地型芝草	○	○
binucleate <i>Rhizoctonia</i> AG-D II	疑似葉腐病（象の足跡）	暖地型芝草	○	—
binucleate <i>Rhizoctonia</i> AG-D III	疑似葉腐病（春腐症）	暖地型芝草	○	—

^{a)} ○は報告あり、—は報告なしを示す。^{b)} ベントグラス白葉腐病菌とされていた *W. circinata* var. *oryzae* は、*W. circinata* var. *circinata* と再同定されたので除外した。^{c)} 主な寒地型芝草での病名は疑似葉腐病であるが、ライグラスでの病名は株腐病である。

（表-3）。また、AG-D IやAG-D IIは主に葉身が白色に枯れる特徴があったが、本菌には葉鞘が徐々に腐敗して葉身が赤褐色に変色する特徴があった。今回分離した菌株間のrDNA-ITS領域の塩基配列相同性は高かったが、AG-D IやAG-D IIとの相同性は低かった。rDNA-ITS領域の塩基配列の結果から作成した系統樹において、本菌はAG-D IやAG-D IIとは異なるクラスターを形成した（図-3）。また、RAPD-PCRの結果から作成した系統樹においても、本菌はAG-D IやAG-D IIとは異なるクラスターを形成した。

これらの結果より、本菌を binucleate *Rhizoctonia* AG-D の新たなサブグループ「AG-D III」とし、疑似葉腐病（春腐症「spring rot」）と呼ぶことを提唱している（HAYAKAWA et al., 2006）。

本病の防除薬剤については検討中であるが、圃場試験およびゴルフ場での実施例より、トルクロホスメチル剤およびテブコナゾール含有薬剤など「リゾクトニア性春はげ症」に適用のある殺菌剤を晩秋期に散布すると有効であることがわかっている。

おわりに

これまでに報告されている芝草のリゾクトニア性病害を表-4にまとめた。

海外において *W. circinata* var. *circinata* と var. *agrostis*（仮称）による芝草病害の報告例はないため、これらの病害の世界的な発生分布について興味をもたれる。また、国内で芝草以外の植物における病害の報告例はない

ため、宿主範囲についても興味をもたれる。さらに、海外では var. *oryzae* と var. *zeae* は芝草病原菌とされているが、国内では両菌による芝草病害の正式な報告例はない。これら両菌が国内で芝草に病害を引き起こしているかどうか今後調査したい。なお、*W. circinata* の変種の同定に際しては、不完全世代の培養形態の観察が重要であるが、より正確な同定には分子生物学的手法を併用することが望ましい。

binucleate *Rhizoctonia* AG-D III による病害については、現時点では静岡県内の冷涼な地域でのみ発生が確認されているが、本病の発生分布に関しては興味をもたれる。他県でも、春の冷涼な期間が長い高冷地では発生する可能性があるため、今後も調査を行いたい。なお、サブグループの同定に際しては培養形態の観察のみでは難しい場合があるため、菌糸の生育温度を調べることも重要である。特に、25℃における生育速度を比較することは有効である。さらに、正確な同定には分子生物学的手法を併用することが望ましい。

引用文献

- 1) 早川敏広ら (2001): 芝草研究 30(別1): 110 ~ 111.
- 2) ————ら (2002): 日植病報 68: 82.
- 3) ————ら (2004): 同上 70: 75.
- 4) HAYAKAWA, T. et al. (2006): Plant Dis. 90: 1389 ~ 1394.
- 5) HYAKUMACHI, M. et al. (1998): Plant Pathol. 47: 1 ~ 9.
- 6) 北林久登ら (1994): 芝草研究 23: 74.
- 7) LEINER, R. H. and D. E. CARLING (1994): Plant Dis. 78: 385 ~ 388.
- 8) 田中明美ら (1994): 日植病報 60: 344.
- 9) TODA, T. et al. (1999): Eur. J. Pl. Pathol. 105: 835 ~ 846.
- 10) ———— et al. (2005): Plant Dis. 89: 536 ~ 542.