

# アサガオ類白さび病の国内発生と病原菌の宿主特異性

農業生物資源研究所ジーンバンク 佐藤 豊三・埋橋 志穂美

## はじめに

10 年余り前、筆者の一人が四国から筑波に転勤する間際、旧九州農業試験場より、国内では未報告のアサガオ白さび病が大分県の採種圃場で発生したので、同県と共同で調査して欲しいと依頼が入った。当時の大分県温泉熱花き研究指導センターから異動先に罹病サンプルが送られてきたのは 1999 年の晩秋であった。翌年、新しい職場の仕事の傍ら、接種試験と同定を済ませ、何とか学会発表にこぎつけることができた(佐藤ら, 2000)。しかし、その後優先順位の高い仕事が目白押しとなり、この成果は論文発表できないままになっていた。

2007 年秋、神奈川県立生命の星・地球博物館から、同県内の帰化アサガオに発生した白さび病についてインターネットで検索したところ、佐藤ら(2000)の講演要旨がヒットしたとの連絡が入った。早速、有性世代の形成された採集試料とその発生情報を送っていただいた(出川ら, 2008)。これらの白さび病菌が栽培アサガオにも白さび病を起こすのであれば、本病の伝染源の一部が明らかになると考え、早速交交互接種試験を実施した。しかし、予想は見事にはずれ、栽培アサガオに寄生する白さび病菌と帰化アサガオに寄生する白さび病菌とは全く寄生性を異にしていた(SATO et al., 2009)。ここでは、その概要と新たに明らかになった宿主や分布から栽培アサガオ白さび病の伝染源を推測し防除の参考に供したい。また、分子系統解析の結果などを基に、アサガオ類(*Ipomoea* 属植物)白さび病菌の寄生性分化と形態種との関係についても考察を加え、*Albugo* 属菌の系統分類と同定技術の発展に役立てたい。

## I 発生状況と病徴

### 1 大分県の栽培アサガオ

1997 年 8 月、大分県国東市国見町の竹田津地区でアサガオ(桔梗咲系品種: *Ipomoea nil* (L.) Roth) の露

地採種栽培を行っていた約 40 戸の農家のうち 6, 7 戸において栽培中のアサガオに斑点・葉枯性の病害が発生し、それ以降、年々被害が拡大し問題となった。その後、2007 年 11 月同町、また、08 年 9 月、同県速見郡日出町の個人宅などで他の栽培品種にも同病の発生が確認された。

病徴は、初め葉の表側に直径 3 ~ 10 mm で黄白色の退色斑と裏側に直径 1 ~ 2 mm の白色腫斑が生じ、密集した病斑は互いに融合して不正形大型になることもある(口絵①)。しばらくすると腫斑は裂開して白い粉が飛散する。病勢の著しい場合は、若い茎や葉柄、がくにも同様の腫斑を生じ罹病部の変形や生育不良を起こす(口絵②)。奇形や肥大化は桔梗咲系品種の罹病茎や葉柄で特に著しい(口絵③)。やがて病斑部から葉が枯れ始め(口絵④)、病斑の多い葉では早期落葉に至る。若い茎に発生した場合は上部が衰弱し種子収量の低下を招く。

### 2 他県の帰化アサガオ

これまでに国内で採集・確認された宿主植物はホシアサガオ(*Ipomoea triloba* L.; 神奈川県平塚市)、マメアサガオ(*Ipomoea lacunosa* L.; 神奈川県小田原市、埼玉県さいたま市、千葉県松戸市)、アメリカアサガオ(*Ipomoea hederacea* (L.) Jacq.; 千葉県松戸市、市原市、口絵⑤)、マルバアメリカアサガオ(*Ipomoea hederacea* (L.) Jacq. var. *integruscula* A. Gray.; 小田原市、市原市、口絵⑥)の 3 種 1 変種である。なお、これ以降アメリカアサガオとその変種であるマルバアメリカアサガオを合わせて両アメリカアサガオと呼ぶこととする。

これらの帰化アサガオに発生した白さび病の病徴はおおむね栽培アサガオの場合と同様であるが、多発しても発病茎の上部が枯死、あるいは植物体が極端に衰弱することはまれである。また、ホシアサガオおよびマメアサガオでは、10 ~ 11 月にかけて特徴的な菌えい(gall)が主に花、花柄、葉柄あるいは、茎の表面に形成され、最大で長径約 4 cm に達するものが認められた(口絵⑦)。小田原市産の試料では、地中の根の表面にも形成が確認された。平塚市産のホシアサガオでは、発生初・中期では遊走子のう堆のみが目立ち(口絵⑧)、顕著な菌えいは認められなかったが、発生後期、遊走子のう形成が衰退しつつある花柄や、独立した部位に遊走子のう堆を伴わず新たに形成された菌えいが目立った。一般にマメアサガオでは、ホシアサガオに比べて早くから菌え

Outbreak of White Rust on *Ipomoea* spp. in Japan and Host Specificity of Its Pathogens. By Toyozo SATO and Shihomi UZUHASHI

(キーワード: *Ipomoea* spp., *Albugo ipomoea-panduratae*, *Albugo ipomoea-hardwickii*, 栽培アサガオ, 帰化アサガオ類, 宿主特異性, 分子系統解析)

いが見られたが、遊走子のう堆と共存する例は少なく、独立して形成されるものが多かった。花に生じた菌えいは白色で若いうち柔らかかったが、茎上の菌えいは多くは緑色から淡褐色、中実で組織は固い（出川ら，2008）。

## II 病原菌の形態と同定

### 1 栽培アサガオ上の無性世代

腫斑は宿主の主に葉裏面、茎、花柄、果実の表面に塊をなして不規則に分布し、饅頭〜クッション形で初めは宿主の表皮に覆われているが、成熟すると表皮を破って白色の遊走子のうを散布する。罹病葉上の腫斑を切片にして観察した結果、連鎖状の遊走子のうと基部の遊走子のう柄（形成細胞）からなる遊走子のう堆が確認された（口絵⑨）。遊走子のう柄は無色、棍棒形で真っすぐかやや湾曲し、長さ  $22 \sim 40 \mu\text{m}$ 、幅  $11 \sim 18 \mu\text{m}$ 、壁厚は  $0.5 \sim 1 \mu\text{m}$  で遊走子のうを内生的に連続形成する（図-1）。遊走子のうは短円筒形〜亜球形、無色で、表面は平滑、大きさは  $13 \sim 21 \times 12 \sim 18$ （平均： $17.2 \times 14.7$ ） $\mu\text{m}$ 、壁厚は  $0.5 \mu\text{m}$  で赤道部が厚くなる場合が多く、遊走子のう間に連結部を伴う（図-2）。スライドガラス上の滅菌水にこの遊走子のうを浮かべ、暗黒下で  $20^\circ\text{C}$  付近に保つと、不等毛の2鞭毛をもった直径  $8 \sim 11 \mu\text{m}$ 、球形〜扁平楕円形の遊走子が遊走子のうから6〜8個ずつ塊となって放出された。散開した遊走子は遊泳後スライドガラスの表面に定着して被のう化し、発芽管を伸ばした。変形、肥大した茎や葉柄の罹病部を切片にして観察しても造卵器などの有性世代は確認できなかった。

### 2 帰化アサガオ上の無性・有性世代

#### （1）ホシアサガオ、マメアサガオ上白さび病菌

遊走子のう柄および遊走子のうの形態は栽培アサガオ上のものとはほぼ同じで、前者の大きさは  $23 \sim 40 \times 11 \sim 18 \mu\text{m}$ 。後者は  $13 \sim 21 \times 12 \sim 19$ （平均： $16.0 \times 14.4$ ） $\mu\text{m}$ （図-3）。卵胞子はこれら両宿主上の菌えい組織内に形成される。造卵器は球形〜長球形、直径  $21 \sim 34 \mu\text{m}$ 、表面は当初平滑だが、次第にジグソーパズル様の不規則な網模様を生じる（図-4）。造精器は扁平もしくは亜球形で直径  $10 \mu\text{m}$  に達し、造卵器の側面に接着し受精管を伸長の後、造卵器内に卵球を生じる。卵胞子は成熟時、球形で直径  $20 \mu\text{m}$  に達し、表面はほぼ平滑、胞子壁は肥厚して約  $3 \mu\text{m}$  に達し、透明〜成熟時にはわずかに褐色に着色、胞子中央に球形の油滴様物質が見られる（出川ら，2008；図-5）。

#### （2）両アメリカアサガオ上白さび病菌

遊走子のう柄および遊走子のうの形態は栽培アサガ



図-1 アサガオ白さび病菌の遊走子のう柄（バー： $20 \mu\text{m}$ ）

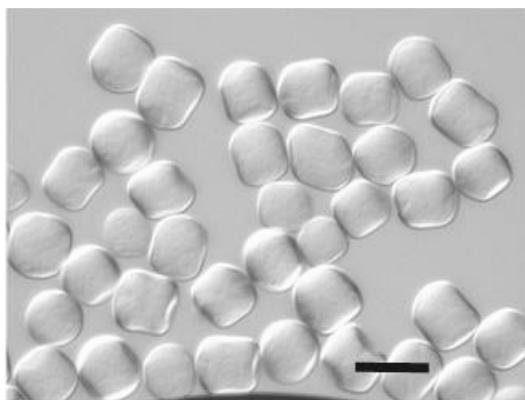


図-2 アサガオ白さび病菌の遊走子のう（バー： $20 \mu\text{m}$ ）

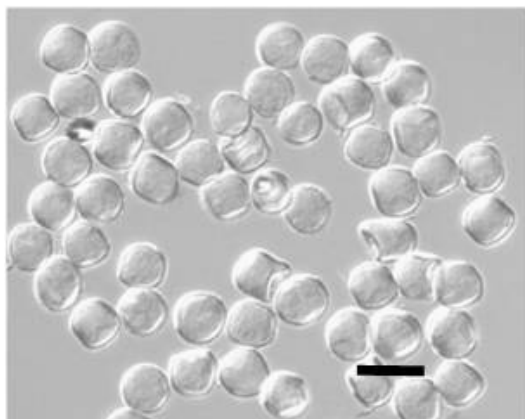


図-3 マメアサガオ白さび病菌の遊走子のう（バー： $20 \mu\text{m}$ ）

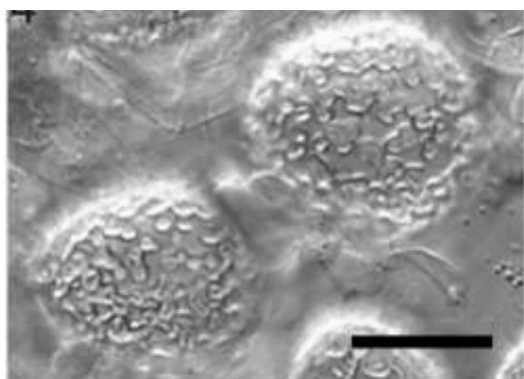


図-4 マメアサガオ白さび病菌の造卵器表面 (バー: 20 $\mu$ m; 出川洋介氏原図)

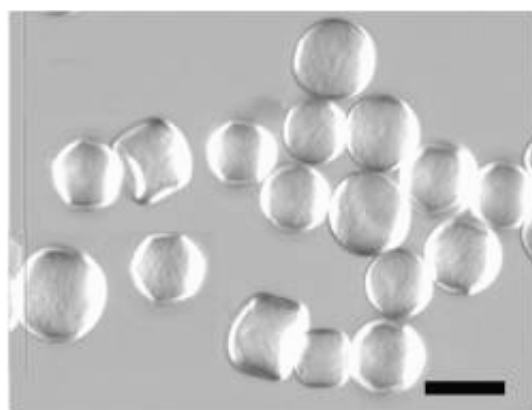


図-6 マルバアメリカアサガオ白さび病菌の遊走子のう (バー: 20 $\mu$ m)

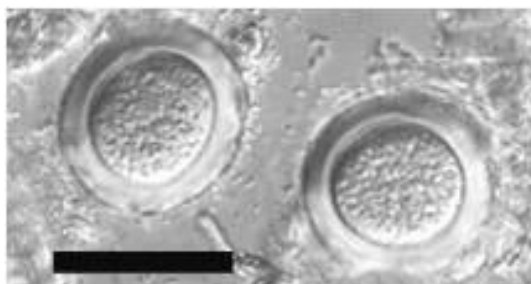


図-5 マメアサガオ白さび病菌の卵胞子 (バー: 20 $\mu$ m; 出川洋介氏原図)

オ, ホシアサガオおよびマメアサガオ上のものとはほぼ同じで, 前者の大きさは  $27 \sim 50 \times 14 \sim 21 \mu\text{m}$ 。後者は  $16 \sim 25 \times 13 \sim 21$  (平均:  $19.3 \times 17.2$ )  $\mu\text{m}$  (図-6)。両宿主上では菌えいの形成は観察されず, 有性世代は確認できなかった。

### 3 形態に基づく同定

アサガオ類 (*Ipomoea* 属) を含むヒルガオ科植物に寄生する *Albugo* 属菌としては, アジアでは *Albugo ipomoeae-panduratae* (Schwein.) Swingle, *A. ipomoeae-hardwickii* Sawada, *A. ipomoeae-aquaticae* Sawada の3種が (澤田, 1919; 1922; 1927; 伊藤, 1936), また, ヨーロッパでは *A. ipomoeae-panduratae* のほかにゲンバイヒルガオ (*Ipomoea pes-caprae* (L.) Sweet) にのみ寄生する *A. pes-caprae* Ciferri が報告されている (Ciferri, 1928)。上記のホシアサガオおよびマメアサガオ上の有性・無性世代は, そのうち *A. ipomoeae-panduratae* の記載 (澤田, 1919; 伊藤, 1936; Mukerji and Critchett, 1975) にほぼ一致したため, 本種と同定した (出川ら, 2008; Sato et al., 2009)。また, 栽培アサガオ

上の白さび病菌では有性世代は確認できなかったが, その無性世代が *A. ipomoeae-panduratae* の記載およびホシアサガオ・マメアサガオ上の無性世代と形態的に差が認められなかったため (表-1), 同じく本種と判断した。さらに, 両アメリカアサガオ上の白さび病菌も有性世代が観察できなかったが, その遊走子のう柄と遊走子のうが前2者より概して大きく, 特に遊走子のうはホシアサガオ・マメアサガオ上のものより明らかに大きかった (表-1; 図-3, 6)。*A. ipomoeae-hardwickii* (澤田, 1927; 伊藤, 1936) および *A. ipomoeae-aquaticae* (澤田, 1922; 伊藤, 1936; Ho and Edie, 1969) は *A. ipomoeae-panduratae* および *A. pes-caprae* より大きな遊走子のうをもつが, 両アメリカアサガオ上の白さび病菌は, *A. ipomoeae-hardwickii* の記載に近似していることから, 暫定的にこの種に同定した (表-1; Sato et al., 2009)。

## III 宿主特異性と宿主範囲および伝染源

### 1 交互接種

表-2 に挙げた宿主上の遊走子のうを接種源として, 自家栽培アサガオ以外の同じ宿主植物およびサツマイモ (*Ipomoea batatas* L., 品種 ‘ベニアズマ’) に対し, 一部の菌株を除いてろ紙法 (佐藤ら, 1983) により総当たり接種を行った。1回の接種で1菌株につき3個体以上の苗を供試し, 最低2回反復接種した。また, 対照区として遊走子のうの付いていないろ紙片を接種源として用いた。その結果, 各接種源は寄生していた宿主と同一種に対してのみ白さび病を発生させた。なお, 互いに変種の関係にあるアメリカアサガオとマルバアメリカアサガオ由来の接種源 (*A. ipomoeae-hardwickii*) はお互いの

表-1 日本産アサガオ類白さび病菌と既報のヒルガオ科寄生性 *Albugo* 属菌の遊走子のう（無性）世代の形態比較

| 宿主 (MAFF 番号 <sup>a)</sup> / 種名 (文献)                              | 採集地<br>(分布)     | 遊走子のう柄            |          | 遊走子のう                                |  | ITS 配列<br>タイプ |
|------------------------------------------------------------------|-----------------|-------------------|----------|--------------------------------------|--|---------------|
|                                                                  |                 | 長さ×幅 (μm)         | 形態       | 長径×短径 [平均] (μm)                      |  |               |
| 採種用アサガオ (240546) '07                                             | 国東市             | 25 ~ 40 × 11 ~ 14 | 短円筒～垂球形  | 15 ~ 21 × 12 ~ 18 [17.1 × 14.5]      |  |               |
| 自家用アサガオ (241874) '07                                             | 国東市             | 27 ~ 39 × 12 ~ 16 | 短円筒～垂球形  | 15 ~ 20 × 14 ~ 18 [17.5 × 15.6]      |  |               |
| 自家用アサガオ (241089) '08                                             | 日出町             | 26 ~ 35 × 16 ~ 18 | 短円筒～垂球形  | 13 ~ 20 × 13 ~ 17 [17.6 × 15.2]      |  | I             |
| 自家用アサガオ '08                                                      | 佐伯市             | 29 ~ 40 × 13 ~ 15 | 短円筒～垂球形  | 13 ~ 21 × 12 ~ 17 [17.0 × 14.8]      |  |               |
| アメリカアサガオ (241098) '08                                            | 松戸市             | 36 ~ 50 × 14 ~ 21 | 角球～短円筒形  | 17 ~ 22 × 14 ~ 21 [19.7 × 17.4]      |  | I             |
| アメリカアサガオ (241827) '09                                            | 市原市             | 27 ~ 48 × 14 ~ 18 | 角球～短円筒形  | 17 ~ 20 × 13 ~ 17 [18.2 × 15.7]      |  | I             |
| マルバアメリカアサガオ (241738) '09                                         | 市原市             | 27 ~ 45 × 13 ~ 20 | 角球～短円筒形  | 16 ~ 22 × 14 ~ 20 [19.4 × 16.8]      |  | I             |
| マルバアメリカアサガオ (241090) '08                                         | 小田原市            | 33 ~ 44 × 15 ~ 19 | 角球～短円筒形  | 17 ~ 25 × 15 ~ 20 [19.8 × 18.7]      |  | I             |
| マルバアメリカアサガオ '08                                                  | 国東市             | 22 ~ 35 × 13 ~ 17 | 短円筒～垂球形  | 14 ~ 21 × 12 ~ 15 [16.8 × 13.6]      |  |               |
| ホシアサガオ (241092) <sup>b)</sup> '07                                | 平塚市             | 29 ~ 40 × 11 ~ 17 | 短円筒～垂球形  | 13 ~ 19 × 12 ~ 19 [15.1 × 14.1]      |  | II a          |
| マメアサガオ (241091) <sup>b)</sup> '07                                | 小田原市            | 23 ~ 39 × 13 ~ 18 | 短円筒～垂球形  | 13 ~ 19 × 12 ~ 17 [16.2 × 14.3]      |  |               |
| マメアサガオ (241875) '07                                              | さいたま市           | 27 ~ 36 × 12 ~ 16 | 短円筒～垂球形  | 14 ~ 21 × 12 ~ 17 [16.7 × 15.2]      |  | II b          |
| マメアサガオ (7241732) '09                                             | 松戸市             | 24 ~ 39 × 12 ~ 17 | 短円筒～垂球形  | 13 ~ 18 × 12 ~ 18 [15.8 × 13.9]      |  |               |
| <i>Albugo ipomoeae</i> – <i>panduratae</i>                       |                 |                   |          |                                      |  |               |
| on <i>I. chryseides</i><br>(澤田, 1919; 伊藤, 1936)                  | (台湾)            | 30 × 15           | 短円筒～球形   | 14 ~ 20 × 12 ~ 18 [— <sup>c)</sup> ] |  |               |
| on <i>I. batatas</i> (サツマイモ)                                     | (中東以外)          | 30 ~ 40 × 12 ~ 15 | 角球, 短円筒形 | 12 ~ 20 × 12 ~ 18 [—]                |  |               |
| on <i>I. purpurea</i> (マルバアサガオ)<br>(MUKERJI and CRITCHETT, 1975) | 世界的)            |                   | 成熟時は球形   |                                      |  |               |
| <i>A. ipomoeae</i> – <i>hardwickii</i>                           |                 |                   |          |                                      |  |               |
| on <i>I. hardwickii</i> (ガクアサガオ)<br>(澤田, 1927; 伊藤, 1936)         | (台湾)            | 28 ~ 48 × 16 ~ 19 | 角球～短円筒形  | 17 ~ 24 × 16 ~ 21 [20.0 × 18.3]      |  |               |
| <i>A. ipomoeae</i> – <i>aquatica</i>                             |                 |                   |          |                                      |  |               |
| on <i>I. aquatica</i> (エンサイ)<br>(澤田, 1922; 伊藤, 1936)             | (台湾, 東<br>南アジア) | 32 ~ 72 × 18 ~ 23 | 短円筒形     | 18 ~ 26 × 16 ~ 23 [21.0 × 18.9]      |  |               |
| (Ho and EDIE, 1969)                                              | (香港)            | —                 | —        | 17.1 ~ 24.8 × 16.5 ~ 21.5 [—]        |  |               |
| <i>A. ipomoeae</i> – <i>pes-caprae</i>                           |                 |                   |          |                                      |  |               |
| on <i>Ipomoeae pes-caprae</i><br>(CIFERRI, 1928)                 | (イタリア)          | —                 | 球～角球形    | 直径 8 ~ 19 [13]                       |  |               |

SATO et al. (2009) の Table 3 を和訳し一部追加・改変. <sup>a)</sup> 太字は DNA 塩基配列の比較に供試, <sup>b)</sup> 有性世代に基づき *Albugo ipomoeae-panduratae* と同定 (出川ら, 2008), <sup>c)</sup> —: 記述なし.

宿主植物に病原性を示した。いずれの接種源もサツマイモには病原性を示さなかった (表-2)。以上の結果から、各宿主植物上の白さび病菌を宿主特異的系統と判断し、以下のとおり、分化型を提唱した。すなわち、栽培アサガオ寄生性系統: *A. ipomoeae-panduratae* f. sp. *nile*, ホシアサガオ寄生性系統: *A. ipomoeae-panduratae* f. sp. *trilobae*, マメアサガオ寄生性系統: *A. ipomoeae-panduratae* f. sp. *lacunosae* である (SATO et al., 2009)。

他方、上記と同様の方法で大分産採種用アサガオ上の遊走子のう (*A. ipomoeae-panduratae* f. sp. *nile*) を健全なアサガオ 6 品種、マルバアサガオ (*Ipomoea purpurea* (L.) Roth.), ソライロアサガオ (*Ipomoea tricolor* Cav.), ヨルガオ (*Ipomoea alba* L.), サツマイモ (*Ipomoea*

*batatas* L.) 4 品種、ルコウソウ (*Quamoclit coccinea* (L.) Moench.), コヒルガオ (*Calystegia hederacea* Wall.ex Roxb.) に接種した結果、アサガオ 6 品種およびマルバアサガオの 2 種にのみ病徴が現れ、同様の遊走子のう堆が形成された (表-3)。以上の結果より、栽培アサガオの白さび病菌 *A. ipomoeae-panduratae* f. sp. *nile* は帰化アサガオやサツマイモおよびその他のヒルガオ科植物を宿主としておらず、栽培品種間およびマルバアサガオを互いに伝染源としている可能性が高いことが明らかになった。

表-2 アサガオ類白さび病菌の接種試験結果

| MAFF<br>番号 | 接種源<br>原宿主植物 (品種, 採集地) | 被接種植物                                           |                                                 |                                            |                                             |                                               |                                                                 |                                           |
|------------|------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
|            |                        | 栽培アサ<br>ガオ ( <i>I.</i><br><i>nil</i> , 桔梗<br>咲) | 栽培アサ<br>ガオ ( <i>I.</i><br><i>nil</i> , 大輪<br>系) | ホシアサ<br>ガオ ( <i>I.</i><br><i>triloba</i> ) | マメアサ<br>ガオ ( <i>I.</i><br><i>lacunosa</i> ) | アメリカ<br>アサガオ<br>( <i>I. hede-<br/>racea</i> ) | マルバアメリ<br>カアサガオ<br>( <i>I. h. var.</i><br><i>integriscula</i> ) | サツマイ<br>モ ( <i>I.</i><br><i>batatas</i> ) |
| 240546     | 栽培アサガオ (桔梗咲, 国東市)      | ○                                               | ○                                               |                                            |                                             | nt                                            |                                                                 |                                           |
| 241874     | 栽培アサガオ (大輪系, 国東市)      | ○                                               | ○                                               |                                            |                                             | nt                                            |                                                                 | nt                                        |
| 241089     | 栽培アサガオ (大輪系, 日出町)      | ○                                               | ○                                               |                                            |                                             |                                               |                                                                 |                                           |
| 241092     | ホシアサガオ (平塚市)           |                                                 |                                                 | ○                                          |                                             |                                               |                                                                 | nt                                        |
| 241875     | マメアサガオ (さいたま市)         |                                                 |                                                 |                                            | ○                                           |                                               |                                                                 | nt                                        |
| 241098     | アメリカアサガオ (松戸市)         |                                                 |                                                 |                                            |                                             | ○                                             | ○                                                               |                                           |
| 241827     | アメリカアサガオ (市原市)         |                                                 |                                                 |                                            |                                             | ○                                             | ○                                                               |                                           |
| 241738     | マルバアメリカアサガオ (市原市)      |                                                 |                                                 |                                            |                                             | ○                                             | ○                                                               |                                           |
| 241090     | マルバアメリカアサガオ (小田原市)     |                                                 |                                                 |                                            |                                             | ○                                             | ○                                                               |                                           |

○：遊走子のうの接種により発病, nt：未接種, 空欄：無発病.

表-3 大分産採種用アサガオ白さび病菌の接種試験結果

| 被接種植物 (学名)<br>品種                        | 発病株数<br>/接種株数 |
|-----------------------------------------|---------------|
| アサガオ ( <i>Ipomoea nil</i> )             |               |
| 大分県産 (桔梗咲系)                             | 17/18         |
| 大輪系                                     | 5/ 5          |
| 暁の光                                     | 2/ 2          |
| 桔梗咲                                     | 2/ 2          |
| スカーレット・オハラ                              | 1/ 1          |
| アーリーコール                                 | 1/ 2          |
| マルバアサガオ<br>( <i>I. purpurea</i> )       | 1/ 2          |
| ソライロアサガオ<br>( <i>Ipomoea tricolor</i> ) |               |
| ヘブンリーブルー                                | 0/ 6          |
| ヨルガオ (白花夕顔)<br>( <i>Ipomoea alba</i> )  | 0/ 2          |
| サツマイモ ( <i>I. batatas</i> )             |               |
| ベニアズマ                                   | 0/ 6          |
| 筑波小町                                    | 0/ 3          |
| 関東 14 号                                 | 0/ 3          |
| テラスライム                                  | 0/ 2          |
| コヒルガオ ( <i>Calystegia hederacea</i> )   | 0/ 5          |
| ルコウソウ<br>( <i>Quamoclit pinnata</i> )   | 0/ 2          |

#### IV DNA 塩基配列による系統解析と同定の検証

##### 1 rDNA ITS 領域の塩基配列による菌株間の比較

分子系統解析には以下の 8 菌株を供試した。  
MAFF241089 (日出町, 自家用アサガオ),

MAFF241090 (小田原市, マルバアメリカアサガオ),  
MAFF241092 (平塚市, ホシアサガオ), MAFF241098  
(松戸市, アメリカアサガオ), MAFF241738 (市原市,  
マルバアメリカアサガオ), MAFF241827 (市原市, ア  
メリカアサガオ), MAFF241875 (さいたま市, マメア  
サガオ)。

罹病植物上に生じた遊走子のうをかき取り, 既報の方  
法により DNA の抽出を行った (UZUHASHI et al., 2009)。  
得られた DNA について, ITS4 および ITS5 プライマー  
(WHITE et al., 1990) を用いて PCR 法により 5.8S rDNA  
を含む ITS 領域を増幅し, ダイレクトシーケンス法  
により塩基配列を決定した。それらの配列データを菌株  
間で比較した結果, 以下のことが明らかとなった。

(1) 採集場所を問わずアメリカアサガオ  
(MAFF241098 [松戸市], MAFF241827 [市原市]) お  
よびマルバアメリカアサガオ (MAFF241090 [小田原市],  
MAFF241738 [市原市]) 由来の菌株は, ITS 領域の塩  
基配列が一致した。

(2) MAFF241089 (日出町, 自家用アサガオ) は  
上記 4 菌株の配列と 8 塩基の塩基置換が認められたが,  
高い類似性 (99%) を示した。(1) および (2) を配列タ  
イプ I とした。

(3) MAFF241875 (さいたま市, マメアサガオ),  
MAFF241092 (平塚市, ホシアサガオ) の塩基配列はい  
ずれも上記配列タイプ I とは大きく異なっていた。これ  
らを配列タイプ II とした。また, 両菌株の配列には 41  
塩基の違いが認められ, その類似性は 95% であった。  
前者を配列タイプ II b, 後者を II a とした。

以上の塩基配列およびエンサイ由来の *Albugo ipo-*

*moeae-aquaticae* Sawada (未発表) の塩基配列に基づき分子系統樹を構築した (図-7)。

## 2 形態による同定の検証

供試菌株が少ないためまだ推測の域を出ないが、以上の結果および形態による同定結果から次のような仮説が立てられた。①無性世代の形態により *A. ipomoeae-hardwickii* と仮同定された両アメリカアサガオ由来菌株 (配列タイプ I) と、有性・無性両世代の形態により *A. ipomoeae-panduratae* と同定されたホシアサガオ・マメアサガオ由来菌株 (配列タイプ II a, II b) は分子系統学的にも明らかに異なる分類群である。②同一種に同定されたホシアサガオ由来菌株 (配列タイプ II a) とマメアサガオ由来菌株 (配列タイプ II b) とは、種以下での分類学的差異がある。③無性世代の形態により *A. ipomoeae-panduratae* と同定された栽培アサガオ由来菌株は、ITS 領域の塩基配列では、*A. ipomoeae-panduratae* よりもはるかに両アメリカアサガオ上の白さび病菌に近縁である。④エンサイ由来菌株は上記 2 種とは遺伝的にも異なり、どちらかという、*A. ipomoeae-hardwickii* と仮同定された両アメリカアサガオ・栽培アサガオ由来菌株と近縁である。

この仮説に立って形態データを見返してみると、無性世代のサイズに関して明らかに両アメリカアサガオ由来菌株のほうがホシアサガオ・マメアサガオ由来菌株より大きく、別種であるとの判断が支持される。一方、栽培アサガオ由来菌株の無性世代はホシアサガオ・マメアサガオ由来菌株と両アメリカアサガオ由来菌株との中間的なサイズである。当初小田原市で採集されたマルバアメリカアサガオ上の無性世代の各サイズが栽培アサガオより大きかったため、両者を別種とみなし、前者を *A. ipomoeae-hardwickii*、後者を *A. ipomoeae-panduratae* と

それぞれ同定した (表-1; 図-2, 6; Sato et al., 2009)。その後集まった他の試料の形態を調べた結果、市原市産アメリカアサガオ上の無性世代のように、栽培アサガオ由来菌株と大差ない場合も見いだされた (表-1)。奇しくも両アメリカアサガオと栽培アサガオの白さび病菌では、どちらもまだ有性世代が確認されていない。上記 2 種の決定的な形態的差異とされている造卵器の表面構造 (澤田, 1919; 1927; 伊藤, 1936) が観察されていない以上、両アメリカアサガオ白さび病菌も明確に *A. ipomoeae-hardwickii* と同定はできないが、rDNA ITS 領域の解析結果によれば、栽培アサガオ上の白さび病菌は少なくとも *A. ipomoeae-panduratae* ではないと言えよう。今後、栽培アサガオと両アメリカアサガオ上の白さび病菌の有性世代を探索し、さらに多くの菌株について分子系統解析を行い、それらの分類学的所属を明らかにしたい。

## V 総 合 考 察

上記の分子系統解析の結果は、各菌株の寄生性とはよく一致していた。すなわち、塩基配列タイプ I のうち完全に配列の一致した 4 菌株はすべてアメリカアサガオ (*I. hederacea*) とその変種のみに寄生する系統または種であり、8 塩基の置換が見られた 1 菌株は栽培アサガオ (*I. nil*) にのみ病原性を示した。他方、配列タイプ II a をもつ菌株はホシアサガオ (*I. triloba*) にのみ寄生し、II b タイプの菌株はマメアサガオに特異的寄生性を示した。このように分子系統解析の結果が供試菌株の病原性を反映する場合はほかにも知られており (Dixon et al., 2009)、同様の解析が形態による分類・同定の検証ばかりではなく、白さび病菌でも病原性の予測に利用できる可能性が高い。

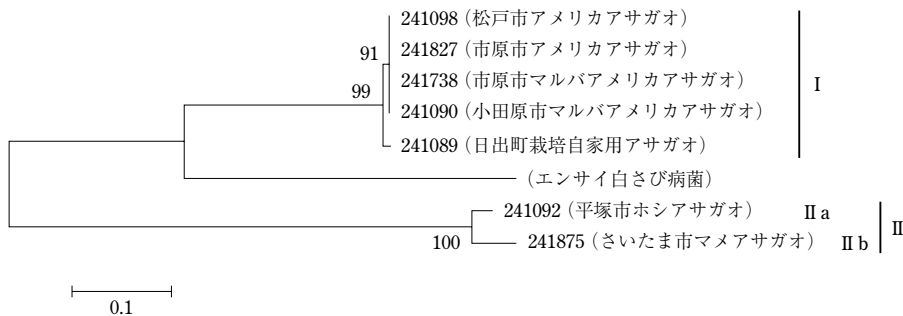


図-7 rDNA ITS 領域の塩基配列に基づく 4 種 1 変種アサガオ (*Ipomoea* 属) 上白さび病菌の近隣結合系統樹  
2～3 桁の数字はブートストラップ値, 6 桁の数字は農業生物資源ジーンバンクの MAFF 登録番号, 括弧内は採集地と宿主, 時計数字は塩基配列タイプ。

今回明らかになったホシアサガオおよびマメアサガオ白さび病菌 *A. ipomoeae-panduratae* は、北米産の *Ipomoea pandurata*, インド産の *Ipomoea pentaphylla*, *I. indica* 上でも同様に、遊走子のうの形成とは別に、茎側面や花基部などに顕著な菌えいを形成し、その内部に卵胞子を形成することが報告されている (Farlow, 1889; Singh and Bedi, 1966)。一般に、生育適期には遊走子のうによる無性的繁殖を繰り返し、不適期を休眠状態で過ごすために菌えいを形成し、その内部に卵胞子を形成するものと推定される。菌えいは土壌中で腐敗し、散逸した卵胞子が翌シーズンの発生源になると思われるが、供試菌の卵胞子の発芽はまだ確認していない。また、*Albugo* 属では、ナズナ白さび病菌 (*Albugo candida* (Pers.) Kuntze) が雌雄異体であることが知られるが (Sansome and Sansome, 1974)、観察した試料では雌雄性については確認できなかった。

上記のとおり栽培アサガオおよび両アメリカアサガオでは有性世代が確認されていないため、このような生活環は予断できない。ただ、それらの宿主上では、がくの内側など種子に隣接する組織に遊走子のうの堆がしばしば観察されることから (口絵②)、種子伝染の可能性も否定できない。これら白さび病の第一次伝染源の解明には宿主の生活環とともに野外における同菌の越冬と初発生を詳細に調査する必要がある。

## おわりに

一般に白さび病菌のような絶対寄生菌は宿主特異性が高く、それ故特に発生現場では「宿主名+白さび病菌」などと呼ばれている場合が多い。また、宿主が異なれば寄生している菌も別種と見られがちであり、これまで *Albugo* 属には 80 以上の学名が提案されてきたが、同属菌の分類学的再検討はほとんど進んでいない。これらを整理するためには、少なくとも同一科内の植物に寄生する種を集めて交互接種を行うとともに、分子系統解析に基づき、形態や寄生性による分類を検証する必要がある。最近では、鍵和田ら (2009) がアブラナ科白さび病菌 3 種の分子系統解析を行い、別種とされているダイコン寄生系統とワサビ寄生系統の ITS 領域が 99% 以上の

類似性を示したことを報告している。現在のところ、DNA 塩基配列の公的データベースに登録されている同属菌種は限られており、今後 *Albugo* 属菌の分類学的再検討を進めるために、様々な白さび病菌を集め、分類に有効な DNA 領域の塩基配列データを蓄積することが必須である。なお、本研究で供試した菌株は、すべて農業生物資源ジーンバンクに登録・保存してあるが、超低温保存後の生残確認の済んだ菌株から順次一般公開したい。

本研究を行うに当たり多大なご協力ご支援を賜った大分県農林水産研究センターの岡本 潤氏、元国東農業改良普及センター松成 茂氏、千葉県農林総合研究センターの植松清次氏、元九州沖縄農業研究センターの西 和文氏、筑波大学菅平高原実験センターの出川洋介氏、元日本植物防疫協会研究所の高橋幸吉氏、香川県農業試験場の生咲 巖氏、和歌山県農林水産総合技術センターの大谷洋子氏、元農業環境技術研究所の江塚昭典氏、さいたま市在住の薄葉 重氏および神奈川県立生命の星・地球博物館ボランティアの木村洋子氏に厚くお礼申し上げる。

## 引用文献

- 1) Ciferri, D. R. (1928): Nuovo Giornale Botanico Italiano 35: 112 ~ 134.
- 2) Farlow, W. G. (1889): Botanical Gazette 14: 187 ~ 190.
- 3) 出川洋介ら (2008): 神奈川自然誌資料 29: 45 ~ 49.
- 4) Dixon, L. J. et al. (2009): Phytopathology 99: 1015 ~ 1027.
- 5) Ho, B. W. C. and H. H. Edie (1969): Plant. Dis. Repr. 53: 959 ~ 962.
- 6) 伊藤誠哉 (1936): 白锈病菌科, 大日本菌類誌第 1 巻 藻菌類, p.134 ~ 147.
- 7) 鍵和田聡ら (2009): 日植病報 75: 46. (講要)
- 8) Mukerji, K. G. and C. Critchett (1975): *Albugo ipomoeae-panduratae*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria No.459, Kew, Surrey.
- 9) Sansome, E. and F. W. Sansome (1974): Trans. Br. Mycol. Soc. 62: 323 ~ 332.
- 10) 佐藤昭二ら編 (1983): 植物病理学実験法, 講談社, 東京, p.30 ~ 34.
- 11) 佐藤豊三ら (2000): 日植病報 66: 271 ~ 272. (講要)
- 12) Sato, T. et al. (2009): J. Gen. Plant Pathol. 75: 46 ~ 51.
- 13) 澤田兼吉 (1919): 台湾総督府農事試験特別報 19: 56.
- 14) ——— (1922): 台湾総督府中央研報 2: 27 ~ 31.
- 15) ——— (1927): 同上 27: 7 ~ 9.
- 16) Singh, H. and K. K. Bedi (1966): Can. J. Bot. 44: 535 ~ 540.
- 17) Uzuhashi, S. et al. (2009): Mycoscience 50: 281 ~ 290.
- 18) White, T. J. et al. (1990): Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Gelfand M, Sninsky D, White T (eds.) PCR protocols: a guide to methods and applications. Academic Press, San Diego, p.315 ~ 322.