

## 筑波実験植物園内における内生性 *Phyllosticta* 属菌の生息調査

### — *Phyllosticta capitalensis* の宿主嗜好性を探る —

三井 梢 (筑波大学 生物学類)

指導教員：岡根 泉 (筑波大学 生命環境系)

#### 背景・目的

*Phyllosticta* 属菌は子囊菌門クローボタケ綱ボトリオスフェリア目フィロステクタクタ科に属し、多くは植物病原菌として知られ、葉や果実に斑点や褐斑を生じさせる。その一方で、*P. capitalensis* などのいくつかの種は内生菌として分離される。

武田薬品京都薬用植物園で行われた 42 科 69 属 94 種の植物についての内生性 *Phyllosticta* 属菌の調査では、38 科 54 属 66 種 1 変種から 10 種の *Phyllosticta* 属菌が分離された(Okane et al., 2003)。そのうち 36 科 43 属 53 種の植物から *P. capitalensis* が分離され、特に本種が多様な植物に優占的に内生していることが明らかにされている。しかし、内生性 *Phyllosticta* 属菌の種構成や宿主植物などに関して、異なる場所や地域間での異同や、宿主嗜好性を解明するための研究はほとんど行なわれていない。

そこで本研究では、異なる場所での内生性 *Phyllosticta* 属菌の種構成と宿主植物の異同および共通性を明らかにすると同時に、宿主嗜好性について検討するため、京都で調査された同じ植物を対象として、国立科学博物館筑波実験植物園における内生性 *Phyllosticta* 属菌の種構成とそれらの宿主植物および分離頻度を調査した。

#### 材料と方法

##### 1. *Phyllosticta* 属菌の分離

供試植物は筑波実験植物園に生育する 38 科 62 属 75 種を対象とした。これらの植物は武田薬品京都薬用植物園における供試植物と共通するものである。採集した葉を有効塩素濃度 1%NaClO を用いた表面殺菌法で処理し、約 1×1 cm の葉片(60 片/10 葉植物)に切断し、1/2 濃度麦芽エキス寒天平板培地上に静置し培養した。そして、*Phyllosticta* 属の形態的特徴を持つ菌を分離した。また、同時に分離頻度を求めた。

##### 2. *Phyllosticta* 属菌の同定(分子系統学的解析と形態観察)

分離した *Phyllosticta* 属菌をコロニー形態で類別し、それぞれから代表菌株を選抜し解析に使用した。rDNA の 5.8S を含む ITS 領域の塩基配列を決定し、分子系統学的解析に用いた。形態観察は、それぞれの分離菌株で形成された子嚢、子嚢胞子、分生子を光学顕微鏡下で観察し測定した。

#### 結果 (表参照)

供試した 75 種の植物のうち 26 科 45 属 50 種から *Phyllosticta* 属菌が分離された。種同定の結果、9 種が認識された。*Phyllosticta capitalensis*(図)は 45 種の植物から分離され、他の *Phyllosticta* 属菌はそれぞれ 1 種の植物からのみ分離された。また、*P. capitalensis* は他の *Phyllosticta* 属菌が内生していたオリーブとシャシャンボからも分離され、重複感染していた。

*Phyllosticta capitalensis* の分離頻度は植物種によって異なり、1.7~78.3%とばらつきがあった。ヒイラギとイヌマキから分離された *P. hubeiensis* と *P. podocarpicola* はそれぞれ 86.7%、91.7% と、他の *Phyllosticta* 属菌(分離頻度 3.3~28.3%)よりも高頻度で分離された。

表 筑波実験植物園において確認された *Phyllosticta* 属菌と分離頻度および京都での調査結果との比較

菌名	宿主植物(供試植物中の割合)	分離頻度(%)*	京都調査と共通する植物種数(京都での全宿主植物数)
<i>Phyllosticta capitalensis</i>	ナンテン、ブナ、ヒサカキなど全 45種(60%)	1.7-78.3	30種(40種)
<i>Phyllosticta hubeiensis</i>	ヒイラギ(1.3%)	86.7	未検出
<i>Phyllosticta podocarpicola</i>	イヌマキ(1.3%)	91.7	未検出
<i>Phyllosticta gardenicola</i>	クチナシ(1.3%)	15.0	未検出
<i>Phyllosticta</i> sp.1	オリーブ(1.3%)	5.0	未検出
<i>Phyllosticta</i> sp.2	ツガ(1.3%)	11.7	未検出
<i>Phyllosticta</i> sp.3	ニシキギ(1.3%)	28.3	未検出
<i>Phyllosticta</i> sp.4	シャシャンボ(1.3%)	3.3	未検出
計	50種	1.7-91.7	30種(47種)

\*分離頻度(%)=菌が分離された葉片数/全供試葉片数(60 片)×100

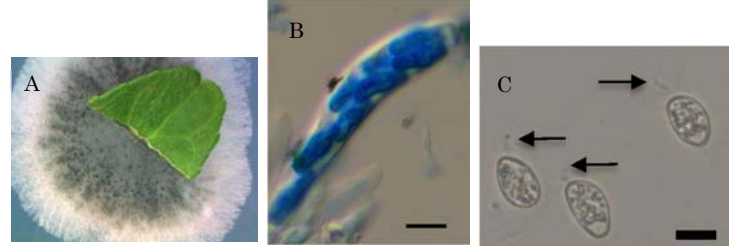


図 筑波実験植物園で優占的に分離された *P. capitalensis* の形態 A: 葉片から伸長したコロニー; B: 子嚢胞子を 8 個含んだ子嚢(ラクトフェノールコットンブルー染色); C: 頂端部に付属糸(矢印)を有する分生子。スケール=10 μm

#### 考察

筑波実験植物園では 9 種の *Phyllosticta* 属菌が分離されたが、京都薬用植物園において同じ対象植物から分離された 8 種と比較したところ、共通種は *P. capitalensis* のみであることが ITS 領域の比較からも明らかとなった。異なる場所で種構成の違いがある一方で、*P. capitalensis* は他の種に比べ、遍在的に分布する種であることが示唆された。また、筑波実験植物園のイヌマキ、ツガ、ニシキギからはそれぞれ *P. podocarpicola*、*Phyllosticta* sp.2、*Phyllosticta* sp.3 のみが分離されたが、京都薬用植物園の同植物からは *P. capitalensis* が分離されている。各種の分布と宿主特異性についてはさらに検討が必要であると思われる。

筑波実験植物園において *P. capitalensis* は 45 種の植物に定着していたが、他の *Phyllosticta* 属菌はいずれも 1 種の植物にのみ内生していた。種構成の違いはあるがこの傾向は京都と類似しており、*P. capitalensis* は同所的に生息する他の *Phyllosticta* 属菌よりも多くの植物に優占的に生息しうることが示唆された。また、両植物園で共通する 30 種の植物から *P. capitalensis* が分離された一方で、ヒノキ科 3 種を含む 16 種の植物からは *P. capitalensis* が分離されなかった。このことから、様々な植物から分離される *P. capitalensis* には宿主嗜好性があることが示唆された。

今後は、さらに本属菌の種構成や分布の違い、宿主嗜好性を明らかにするために異なる場所・地域での調査が必要である。