

植物防疫基礎講座：土壌病害の見分け方(3)

紋羽病菌による病害

独立行政法人農業技術研究機構果樹研究所 なかむら ひとし
中 村 仁

はじめに

紋羽病と称される病害には紫紋羽病と白紋羽病があり、罹病植物における外部病徴あるいは発生生態等に類似点も多い。しかし、これらは分類学的に全く異なる糸状菌によって発病するもので、病気の診断および病原菌の同定に際しての留意点も異なってくる。本稿では、最新の情報を交え、病原菌の同定法を中心に紹介する。

I 紫紋羽病

1 病徴

紫紋羽病菌は、宿主植物根上に菌糸束によって伸長した後、感染座を形成して根組織に侵入し、宿主を腐敗させる。さらに生長すると根あるいは根冠部全体をマット状に覆うようになる。このように根が侵される結果、地上部の樹勢が悪くなり、葉の小型化・黄化、早期落葉、果樹類では結実不良を起こす。感染程度が激しい場合には夏期から秋期にかけて罹病植物は衰弱し枯死に至る。

2 病原菌の形態および生態

病原菌は、担子菌類に属する *Helicobasidium mompa* TANAKA で、背着性の子実体上に担子器および担子胞子を形成する（口絵写真参照）。2~4 個の小柄を有する、湾曲した円筒状の担子器上に担子胞子を形成する。担子胞子は無色、卵形~楕円形で基部が突出する（図-1 a）。大きさは 10~17.5（まれに 23 以上） $\mu\text{m} \times 4 \sim 7.5 \mu\text{m}$ である。また、担子胞子由来の菌株は時に分生子（無色、亜球形、大きさ 5.5~12 $\mu\text{m} \times 5 \sim 9.5 \mu\text{m}$ ）を生じる。

本菌は日本各地に分布し、また多くの草本・木本植物に病原性を示す多犯性の菌である（ITO, 1949）。しかし、九州のサツマイモ連作畑から採集した菌はリングゴ木苗に対しほとんど病原性を示さない（UETAKE et al., 2003）。本菌は子実体上で大量の担子胞子を形成するが、単胞子由来の菌株は病原性を示さず、また異なる菌株間で対峙培養しても交配が認められないことなどから、担

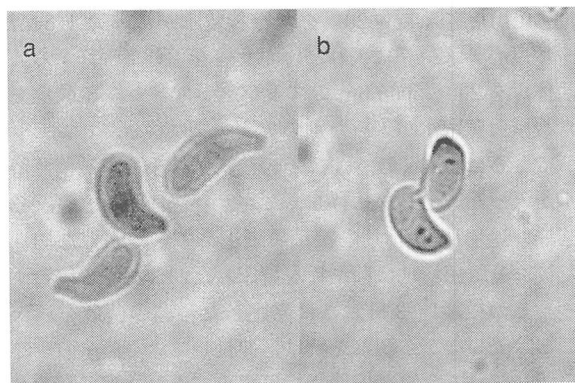


図-1 紫紋羽病菌の担子胞子
a. *Helicobasidium mompa*, b. *H. brebissonii*.

子胞子の伝染源としての機能は小さいと考えられる（池田ら, 2002）。したがって、罹病植物体の根あるいは土壌中を、菌糸体の栄養生長によって進展して、隣接する健全植物体に感染することで圃場内に分布拡大する。

3 分離

紫紋羽病菌の分離に際しては、栄養生長する活力のある菌体部分を供すること、また雑菌の混入を防ぐため供試菌体をできるだけ洗浄することが重要となる。

子実体は、採集しやすく、保存性も良いので分離源として有用である（NAKAMURA et al., 2001）。夏~秋期に形成された子実体では、伸展方向の先端部分の菌糸（白色から淡桃色）を先端部から約 3 mm の長さに切り取ったものを分離作業に用いる菌体として供試する。先端部が採取できなかった場合には、子実体を湿室下に置いて新たに生長してきた菌糸を用いる。菌糸は通常先端部や切断面から生長してくるので、その生長菌糸のみをピンセットで集めて供する。菌糸束からの分離の可否は菌糸束の新古に大きく左右される。新しい菌糸束は赤褐~赤紫色で鮮やかな色合いを呈するが、古い菌糸束は濃赤紫色で黒ずんで見える。実際には土壌中に保持するか、湿室下に置いて菌糸束からの菌糸生長を観察することで判定できる。新しい菌糸束であれば切断面から盛んに菌糸が生長するので、その部分を 3 mm 程度に切り取って分離に用いる。菌糸塊は耐久性に富み、大抵菌糸の生長が認められるので、菌糸塊内部から取り出しだした約 2 mm

Diagnoses of Violet Root Rot and White Root Rot Diseases.
By Hitoshi NAKAMURA

（キーワード：紫紋羽病，白紋羽病，*Helicobasidium mompa*，*Rosellinia necatrix*，子実体，診断，同定）

角の菌体片を用いる。

分離用培地としては酸性 V-8 ジュース寒天培地 (藤田, 1992) が有用である。分離手順の一般的な方法として藤田・杉山 (1987) および藤田 (1992) による方法があるが、ここでは筆者が行っている方法 (NAKAMURA et al., 2001; 中村, 2002) を紹介する。菌体片を界面活性剤 (0.01% Tween 20) を含む蒸留水が入った 1.5 ml/微量遠心チューブに入れ、ミキサーを用いて洗浄する。菌体片を 200~500 ppm のストレプトマイシン硫酸塩を含む滅菌蒸留水が入った別のチューブに移し、ピンセットでさらに小さくほぐす。その後、菌体小片を滅菌蒸留水が入ったチューブに移し、ミキサー洗浄を行う (2~3 回繰り返す)。菌体片を滅菌ろ紙上に置いて水分を切った後、分離用培地に菌糸片を置床し、20~25°C で培養する。その後、1~3 日おきに発生した雑菌の菌叢を寒天ごと除去しながら観察を続け、伸長してきた菌糸の一部を切り取って新たな培地に移植する。また、担子胞子からの分離も可能である (福島, 1998; 中村, 2002)。

4 同定

(1) 野外での見分け方

紫紋羽病菌の子実体の生態的な意義は小さいと考えられるが、地表面上で形成されるため見つけやすく、その標徴としての重要性は大きい。子実体は、夏期に形成され始め、罹病植物体の茎・幹を上方へ向かうように、あるいは土壤表面を伸展・発達しながら秋期に成熟してフェルト状となり (色は紫~赤茶色)、その発達段階を終える。そのまま冬を越し (色は褐色となる)、翌年の晩春から初夏にかけて子実層および担子胞子を形成し始める (白~淡桃色となる)。そして数回子実層形成を繰り返した後、盛夏までには担子胞子形成を停止し、子実体は老朽化・死滅する (色は黒紫色となる) (口絵写真参照)。したがって、野外では長期間にわたり子実体を確認することができる。特に果樹類などでは、外部病徴が認められない樹であっても株元に子実体が形成されることがあるので、発病の初期段階での診断も可能である。しかし、正確な同定のためには担子胞子の観察を行うべきである。子実体の形成時期および子実体の形態等についての詳しいことは中村 (2002) を参照されたい。菌糸束は、罹病根上あるいは土壤中に認められ、深さ 2 m の土壤中から採取された例もある (藤田, 1992)。菌糸塊は、俵形状の細胞からなる菌糸が結合した不定形の菌体 (大きさ数 mm~1 cm 以上) で、色は菌糸束に比べると暗色で濃紫色である。罹病根上や土壤中に認められ、菌糸束に付随するように形成されることが多い。子実体が認められない場合は、これらの菌体の有無を確認

する。なお、病原菌として扱う際には、当該植物体の根上における感染座の形成を確認すべきであろう。

(2) 培養下での見分け方

担子胞子分離菌株が時折分生子を形成すること以外は、本菌は培地上での子実体および胞子形成は認められない。したがって、培養菌株を用いて同定を行う場合には、栄養菌糸あるいは菌糸塊の特徴などの培養形態によらざるを得ない。培地上での栄養菌糸は、幅 3~9 μm でかすがい連結は存在せず、培養開始後 1 か月位までは淡褐色であるが後に紫褐色となる。平板培地上での菌叢は幾分不定形状となり、菌叢縁は菌糸の生長がそろわず波状になる。培養後 1 か月を経ると菌叢表面に菌糸塊を形成する場合がある。オートミール寒天 (OA) 培地上での生長速度は 25°C で 29.5~39.5 mm/週である。また、遺伝子塩基配列情報を利用して同定の補助とすることもできる。国内外の紫紋羽病菌のリボソーム DNA の ITS 領域の塩基配列情報は日本 DNA データバンク (DDBJ) に登録されており、それらをもとに *H. mompa* を特異的に PCR 増幅できるプライマーの作製なども試みられている (近藤ら, 2001)。

5 その他

最近、上述の *H. mompa* とは別種の紫紋羽病菌 *H. brebissonii* (DESM.) DONK が見出されている (中村ら, 2002)。本種は、主にヨーロッパで発生している菌で、*H. mompa* に類似の子実体を形成し、2~3 個の小柄を有する担子器上に担子胞子を形成する。担子胞子は、無色で卵形~楕円形、大きさは 7.5~14 μm × 3.5~9 μm である。*H. mompa* との区別点として、担子胞子の長径が短く、かつ基部の突出度合が小さいこと (図-1 b)、また培養菌糸の生長速度が遅く *H. mompa* のほぼ半分であることなどが挙げられる。これまで青森県の山林でのみ採集されているが、日本各地に分布している可能性もあり、またニンジンやサツマイモに病原性を示す結果も得られているので (中村ら, 2002; 中村, 未発表)、紫紋羽病菌の同定の際には正確を期すため担子胞子の形態を確認すべきであろう。

II 白 紋 羽 病

1 病徴

白紋羽病菌は、菌糸によって宿主植物の根部表皮に侵入し、その後形成層部に至ると扇状あるいは星状を呈した菌糸束 (扇状菌糸束) を伸展させ、根を腐敗させる。果樹類などの根ではさらに木質部を侵害し腐朽させる。このように根が侵される結果、地上部が衰弱し、葉の小型化・黄化、早期落葉、果樹類では当年枝の生育不良あ

るいは果実の小型化を起こす。外部病徴による紫紋羽病菌との識別は難しい。外部病徴が認められるようになった植物体の根はすでに激しく侵害されているので、早ければ症状を呈した当年中あるいは翌春には枯死に至る場合も多い。

2 病原菌の形態および生態

病原菌は、子のう菌類に属する *Rosellinia necatrix* PRILL. (不完全世代: *Dematophora necatrix* HARTIG) で、子座 (子のう殻を1個含む) および子のう胞子、そして分生子柄束および分生子を形成する。子座は、頂端がやや突出した球形～亜球形で、大きさは径1～2 mm (口絵写真参照)。子のう胞子は黒褐色、やや湾曲した細紡錘形で、大きさは $30\sim 47.5\ \mu\text{m}\times 5\sim 7\ \mu\text{m}$ 。分生子柄束は長さ1.3～3.7 mm および基部の幅 $13\sim 40\ \mu\text{m}$ で、先端部で分生子柄がまばらに広がる (図-2a)。分生子柄は連続的に分岐し、分生子が脱落した跡は窪みとなる。分生子は無色、倒卵形、大きさは $2.7\sim 5.5\ \mu\text{m}\times 1.6\sim 3\ \mu\text{m}$ である。

本菌は日本各地に分布しており、また多くの草本・木本植物に対して病原性を示す極めて多犯性の菌である (渡辺, 1962)。罹病組織が地表面に露出している場合、始めに分生子柄束の形成が認められ、その後子座の形成

に至る。通常分生子柄束および子座の形成には感染後少なくとも2年ほどかかるなど長期間を要し、加えて圃場では罹病植物体が即時除去されることもあり、栽培現場での子座形成はほとんど認められない。したがって、圃場内では、罹病植物体の根あるいは土壤中を菌糸体が栄養生長しながら進展し、隣接する健全植物体に感染して広がる。また、単子のう胞子由来の菌株は病原性を示すことが明らかとなっており、子座が形成された場合では子のう胞子も伝染源となり得ると考えられる (中村ら, 2002)。分生子は培地上で発芽はするが、その後菌叢形成には至らないことなどから、伝染源としての機能はなく、交配に関与している可能性が示唆される。

3 分離

白紋羽病菌の分離用培地としては抗生物質添加1.5%素寒天培地で良い。しかし、*Trichoderma* 属菌等に比べると生長は遅いので、分離片を置床後はこまめに観察する必要がある。分離源としては罹病根を用い、根上に認められる菌糸束あるいは形成層部に伸展している扇状菌糸束を直接掻きとって培地に置く。このとき罹病根を湿室下に1週間ほど静置し、新たな菌糸束を生長させた方が扱いやすい。しかし菌糸束を直接用いる方法は経験的には雑菌混入が多いと思われるので、筆者は扇状菌糸束が形成されている形成層部のさらに内部の材部から組織分離するようにしている。そのような材腐朽部には肉眼的には菌糸が認められないが、扇状菌糸束が形成されている場合ではほぼ間違いなく菌糸が侵入していると考えて良い。ナイフ等を用いて露出させた材組織を1 mm角程度にメスで切り出して培地に置く。本菌は分離片から生長する際、真っ直ぐな気中菌糸が上方に伸長し、かつその先端は整った二又分岐様を示すので、実体顕微鏡下で観察するとおおよそ判別できる。子座が得られた場合、子のう胞子からの分離も可能である。子座を木片ごと切り出し、軽く水道水で洗浄した後、多めの滅菌水で湿らせたろ紙を敷いたペトリ皿に入れる。一晚静置すると子座先端部分から粘着性物質と共に子のう胞子が噴出してくるので、それを掻きとって抗生物質を添加した素寒天培地あるいはブドウ糖加用ジャガイモ煎汁 (PDA) 培地に置く。通常2日程度で発芽する。

4 同定

(1) 野外での見分け方

白紋羽病に罹病した植物体を放置し、かつ湿度が保たれた場合などでは、罹病植物の株元の地表近くに、分生子柄束・子座の形成が認められる。通常分生子柄束は5月頃から形成され始め、子座が認められるようになるのは8月以降である。しかし、栽培圃場での子座形成はま

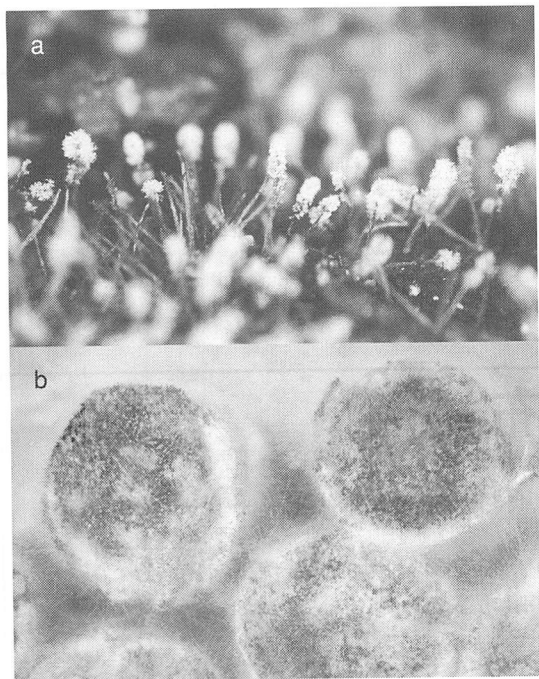


図-2 白紋羽病菌の不完全世代

a. 分生子柄束, b. 無菌培養下で形成された分生子柄束 (黒く見える部分)。

れなので、実際的には罹病根上の白色綿毛状の菌糸束あるいは形成層部に形成される扇状菌糸束の有無によって見分ける。他菌類の菌糸束との違いは、白紋羽病菌の古い菌糸束では表面が濃灰色に着色した菌糸によって覆われることである。また、根部形成層部に白色菌糸束を伸展させる *Armillaria* 属菌とはいわゆるキノコ臭がしないことでも区別できる。しかし、子実体が認められない場合は、試料を実験室に持ち帰って菌糸を検鏡する。本菌菌糸は、その特徴として隔壁近傍に洋ナシ状の膨張部が存在するので、その有無の確認を行う。また、採取した罹病根を樹陰など直射日光の当たらない場所に浅く掘った穴に入れ、その上に保湿のために稲わら等を載せて放置しておく、約 9 割の形成頻度で分生子柄束が、約 5 割の形成頻度で子座が得られる (NAKAMURA et al., 2000; 中村ら, 2002)。秋冬期に処理した場合、翌夏になって子座の形成が認められるなど期間は要するが、子座を得ることで確実な同定が可能である。

(2) 培養下での見分け方

白紋羽病菌は、通常培養下では子実体形成が認められない。したがって、上述のように菌糸の膨張部を検鏡により観察する。この特徴は古い菌糸で顕著であり、また培地によって形成程度が異なるが、PDA 培地などでは培養 1 週間程度で確認できる。分生子柄束については無菌培養下での形成が可能となっている (NAKAMURA et al., 2002)。OA 培地上の菌叢に滅菌ナシ・クワ枝片をのせた後さらに 5 日間ほど培養したプレートを BLB ランプ連続照射下に置く。その後約 1 か月で分生子柄束および分生子の形成が認められる (図-2 b)。人工的に形成させた分生子柄束は野外で形成されたものに比べ長さが短くなる傾向があるが、その形状によって本菌 (不完全世代 *D. necatrix*) と同定できる。また、ビニール袋に入れた滅菌クワ枝 (長さ 15~20 cm, 直径 1~1.5 cm) に菌株を接種して 2 か月程度経過後に、上述のように野

外に放置しておく、分生子柄束が形成され、また形成頻度は低いが子座の形成も認められる (中村, 未発表)。さらに、遺伝子塩基配列情報を利用して同定の補助とすることも可能である。白紋羽病菌のリボソーム DNA の ITS 領域の塩基配列情報は DDBJ に登録されており、それらを基に *R. necatrix* を特異的に PCR 増幅できるプライマーも報告されている (兼松ら, 1998; SCHENA et al., 2002)。

お わ り に

従来日本で発生する紫紋羽病菌および白紋羽病菌においては、菌糸束等の栄養菌糸の形態のみによって便宜的に同定がなされることが多かった。それをふまえ、本稿では、これまで記述されることの少なかった両紋羽病菌の子実体の形態および人工形成に関する知見を盛り込んで両紋羽病菌の見分け方について解説した。今後、遺伝子情報を利用した分子生物学的手法を併用しながら子実体・胞子等の形態的特徴に基づいた正確な同定を行うことで、両紋羽病菌の日本における分布、あるいは発生生態等の解明につながることを期待したい。

引 用 文 献

- 1) 福島千男 (1998): 青森りんご試報 30: 1~112.
- 2) 藤田孝二・杉山 悟 (1987): 日植病報 53: 383.
- 3) ——— (1992): 青森畑園研報 7: 1~34.
- 4) 池田健一ら (2002): 日本菌学会第 46 回大会講演要旨集, p. 85.
- 5) Ito, K. (1949): Bull. Gov. Forest Exp. Stn. 43: 1~126.
- 6) 近藤賢一ら (2001): 日植病報 67: 171.
- 7) NAKAMURA, H. et al. (2001): J. Gen. Plant Pathol. 67: 37~40.
- 8) 中村 仁 (2002): 日菌会報 43: 27~35.
- 9) ———ら (2002): 日植病報 68: 192.
- 10) UETAKE, Y. et al. (2003): J. Gen. Plant Pathol. 69 (印刷中).
- 11) 兼松聡子ら (1998): 日植病報 64: 342.
- 12) NAKAMURA, H. et al. (2000): Mycoscience 41: 503~507.
- 13) ——— et al. (2002): ibid. 43: 251~254.
- 14) 中村 仁ら (2002): 日植病報 68: 68.
- 15) SCHENA, L. et al. (2002): Eur. J. Plant Pathol. 108: 355~366.
- 16) 渡辺文吉郎 (1962): 農林省指定試験 (病虫害) 第 3 号: 1~110.

発行図書

農薬散布技術

同書編集委員会 編 A5判 本文 310 頁

定価 3,150 円税込み (本体 3,000 円) 送料 310 円

農薬の散布技術に関する基礎的、共通的、作物別、施設内、航空機を利用した場合等での実際的な処理方法を解説したガイドブックです。最新技術については項目別に解説を付記し、巻末には名簿・索引も収録されており、農業大学校・農業高校の参考書としても利用できます。

お申し込みは直接当協会へ、前金 (現金書留・郵便振替) で申し込むか、お近くの書店でお取り寄せ下さい。

社団法人 日本植物防疫協会 出版情報グループ 〒170-8484 東京都豊島区駒込 1-43-11

郵便振替口座 00110-7-177867 TEL (03) 3944-1561 (代) FAX (03) 3944-2103 メール: order@jppa.or.jp