

植物防疫基礎講座：

べと病菌：分離・培養の基礎

花き研究所 佐 藤 衛

はじめに

いわゆるべと病 (downy mildew) は、すべての種類が人工培地上では生育できない純寄生菌によって引き起こされる病害の総称である。有名なものでは、キュウリなどのウリ科のべと病 (病原菌は *Pseudoperonospora cubensis*)、ブドウべと病 (病原菌は *Plasmopara viticola*)、花き類ではバラべと病 (病原菌は *Peronospora sparsa*)、ヒマワリべと病 (病原菌は *Plasmopara halstedii*) などがある。ウリ科のべと病菌については、各方面で多数の試験が行われており、維持・増殖に関しても参考となるところが多いが、他のべと病となると、培養ができないことなどから、敬遠されているためか、他の病原菌と比較しても研究が極めて少ないのが現状である。これまで、筆者はアブラナ科に寄生するべと病菌 (*Hyaloperonospora parasitica*) やホウレンソウべと病菌 (*Peronospora effusa*) を取り扱ってきたことから、これらべと病菌の分離・培養・保存方法について簡単ではあるがとりまとめ報告する。

I ベと病について

べと病は 20℃ 以下の比較的冷涼で、湿度が高い時期に発生が多くなる。べと病の病徴は、おおむね共通しており、葉では発病初期には輪郭が不明瞭な不定形の淡褐色～黄色の病斑を呈し、次第に葉脈で区切られた多角形の病斑を示すのが特徴である (図-1)。

べと病菌は、無隔菌糸体、吸器、分生子柄、分生子、卵胞子からなり、このうち無隔菌糸体、吸器、卵胞子は宿主の体内に埋没している。分生子柄は気孔から外表に現れ、その先端に分生子を生じてべと病の標徴となる (図-2)。べと病菌は分生子柄の形態および分生子の発芽法に基づいて分類されるが、最近では分類の再編がなされている。主なものではアブラナ科に寄生するべと病菌は *Peronospora parasitica* から *Hyaloperonospora parasitica* に再編されている (CONSTANTINESCU and FATEHI, 2002)。

Downy Mildew : Basics of Isolation and Cultivation. By Mamoru SATOU

(キーワード：べと病，分離，培養，保存)

II 分離方法

べと病菌は、条件さえ整えば簡単に分離・培養が可能である。まず、分離のための事前準備として、健全植物が必要となる。べと病を実験に供する可能性があることがわかった時点から、15～20℃の陽光定温器において 7.5 cm 程度のポリポットで構わないので、宿主植物を 20～30 粒ばらまいておく。子葉を用いるため、不要であってもとにかく毎週播種することが重要である。

用いる品種としては、筆者は、キャベツ、ブロッコリー等 *B. oleracea* に寄生するべと病菌についてはキャベツ‘四季穫’、カブ、ハクサイなど *B. campestris* に寄生するべと病菌についてはカブ‘早生金町’、ダイコン (*R. sativus*) に寄生するべと病菌についてはダイコン‘宮重’を使用した。なるべく安価な品種で問題ないと思われる。

ホウレンソウべと病菌についてはレースの問題があるため、抵抗性遺伝子のない品種を用いる必要がある。‘豊葉’は菌株の増殖をしやすいが試験に供試できる適期が短く腐りやすい、‘おかめ’は試験に供試できる適期は長いが発病が少ない。これらのことから 2 品種を平行して使用することが望ましい。

罹病植物が入手でき次第、1.5% 素寒天を流し込んだプラントボックスなど (図-3) に健全苗を挿し (このとき、生育不良苗を除くことにより種子伝染などによるコンタミを減らすことができる)、べと病の培養準備を行う。

分離源の罹病植物上に分生子が見られる場合には、滅菌水に分生子形成部位を浸すなどして、分生子を懸濁させ、懸濁液をピペットなどで準備済みのプラントボックス中の植物へ滴下し、分離作業はひとまず完了となる。罹病植物上に分生子が見られない場合には、温室に 1 日置くなどした後、同様の操作を行う。どうしても罹病植物上に分生子が見られない場合には、罹病葉だけでも滅菌水に懸濁して滴下を試みる。場合によっては分離に成功することがあるので、あきらめずに行う。

III 培養・増殖方法

分離作業後は培養となる。べと病菌により最適な温度は異なるが、15～20℃の陽光定温器で植物体の維持に



図-1 べと病の病徴
左：ブロッコリーべと病，右：ホウレンソウべと病。

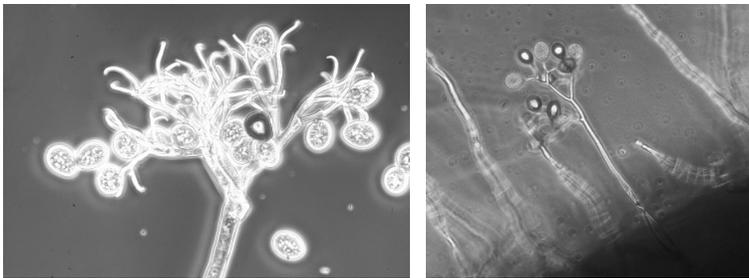


図-2 べと病菌の分生子および分生子柄
左：ブロッコリーべと病菌，右：ホウレンソウべと病菌。

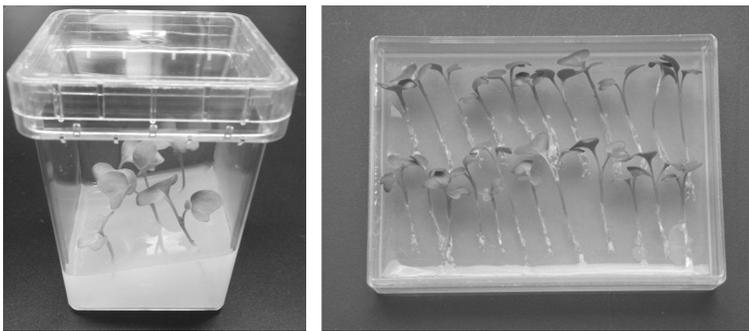


図-3 素寒天に挿したキャベツの幼苗
左：プラントボックス，右：平板タイプのプラスチックボックス。

必要な光さえ当てれば、簡単に大量の分生子を形成させることが可能である (図-4)。

筆者の経験では、アブラナ科に寄生するべと病菌では、接種から分生子の形成まで、20℃で約7日サイクル、ホウレンソウべと病菌では15℃で約10日サイクルである。各自、試験に供するタイミングを見計らって、温度設定を試みていただきたい。接種試験にもっていくため

には、このように日程の組める維持・増殖方法が好ましいが、分生子を形成し、最適な時期を過ぎてしまうと宿主植物が腐敗し始めるため、定期的な菌および宿主植物の移植が必要となる。1か月程度培養したまま維持するためには、冷蔵ショーケースなど（適度に光が入り、適度な低温）で培養を行うこともできる。

また、プラントボックスなどの開閉をクリーンベンチ

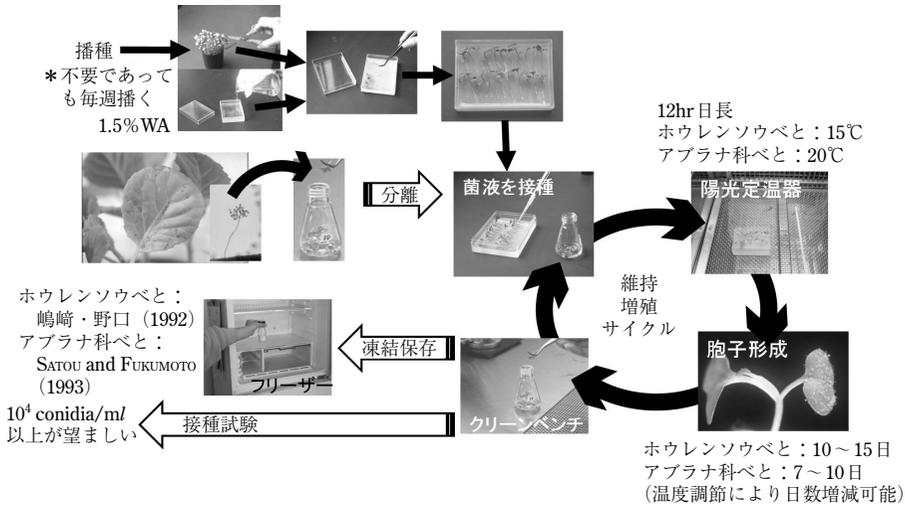


図-5 分離・培養・保存方法の概略



図-4 キャベツべと病菌の分生子および分生子柄が子葉の表面に形成される

内で行うことにより、複数の菌系の維持のほか、健全苗の育成も同一陽光定温器内においてできることから、省スペースでの分離・培養・増殖が可能となる。

IV 保存方法

実験に使用することはなくなったが、菌株は残したいという場合には、長期凍結保存方法が有効である。

アブラナ科に寄生するべと病菌の保存については、SATOU and FUKUMOTO (1993) が5% (10%) ジメチルスルホキシド+10%スキムミルクの分散媒に分生子を懸濁し、-20℃で24時間予備凍結後、-80℃で凍結することにより12か月以上保存できることを報告している。この方法は、保存後には解凍した分生子懸濁液を直接プラントボックスなどの植物へ滴下できる簡単な方法である。

また、ハウレンソウべと病菌については、嶋崎・野口 (1992) が感染葉を寒天粉末などに埋め込むことにより-20℃で15か月以上凍結保存できることを報告している。この方法は、保存後には寒天粉末を払い除け、II章「分離方法」に示したように再懸濁後に接種となる。

さらには、嶋崎 (1994) は、様々なべと病菌の保存について総説的な報告をしているので、参考にされたい。

おわりに

べと病菌の分離・培養について様々述べてきたが、文章のみではイメージがわからないことが多いため、図-5に分離・培養・保存方法の概略図を掲載したので、参考にされたい。本手法が、今後、べと病菌をターゲットに研究を行おうと考えている方々の参考になれば幸いである。

引用文献

- 1) CONSTANTINESCU, O. and J. FATEHI (2002): Nova Hedwigia 74: 291 ~ 338.
- 2) SATOU, M. and F. FUKUMOTO (1993): Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 59: 492 ~ 499.
- 3) 嶋崎 豊・野口 篤 (1992): 日植病報 58: 589.
- 4) ——— (1994): 植物防疫 48: 307 ~ 309.