

特集：ピシウム病害

菌寄生菌としての *Pythium*

(独)農業・食品産業技術総合機構本部 竹 中 重 仁

はじめに

Pythium 属菌の中で菌寄生菌 (mycoparasite) として知られているのは、*P. oligandrum* (PO), *P. acanthicum* (PAI), *P. periplocum* (PP), *P. acanthophoron* (PAP), *P. nunn* (PN) および *P. mycoparasiticum* (PM) の6種であり、前4種は突起のある蔵卵器を、後2種は平滑な造卵器を形成する。いずれも非植物病原菌が弱病原菌であり、植物病原糸状菌を含む多くの菌に寄生する能力のある土壤生息菌である。そのため、これら6種の菌寄生菌、なかでもPOは、30年以上も前から欧米において各種作物の土壤病害の生物防除微生物として注目されている。

POは米国の変色したエンドウの細根から、PAIとPPは米国の腐敗したカンキツの果実から、それぞれ最初に分離・同定された。POはその後、世界各地の耕地土壤に高頻度に分布することが明らかとなり (van der PLAATS-NITERINK, 1981)、我が国でも大阪の蔬菜畑土壤 (KINOSHITA et al., 1994) や北海道の畑土壤 (TAKENAKA et al., 2003) から多くのPO菌株が分離されている。PAIも世界各地域の土壤から見つかっており、我が国では北海道の砂地や非耕地土壤から分離されている (UZUHASHI et al., 2010)。一方、PPはアルゼンチン、ブラジル等の限られた地域の土壤から分離され、我が国では岐阜県のゴルフコースから検出されている (AOYAGI et al., 1999)。PAPは主にハワイ、フィリピン、インド等の暖地土壤から分離されているが、我が国では北海道のインゲン畑の土壤から見つかっている (景山・宇井, 1981)。PNは最初、米国コロラドの草地土壤から分離され、我が国でも最近、長野県と福岡県の土壤から見つかっている (KOBAYASHI et al., 2010)。一方、PMは最初、英国土壤から分離され、その後PMが英国土壤に高頻度に生息していることが明らかになっているが、我が国の土壤からは今まで分離された報告はない。これら菌寄生菌のうち、生育速度の遅い菌は従来の土壤希釈平板法では他の

生育速度の速い菌に被覆され分離されにくいいため、効率的な分離法として Sclerotia bait technique が開発されている (RIBEIRO and BUTLER, 1992)。これは、各種寄生菌が *Sclerotinia sclerotiorum* の菌核に寄生できる特性を利用して、供試土壤に菌核を餌としてまき、そこに生息する寄生菌を菌核に捕捉させるという方法である。

これら6種の菌寄生菌のほかに、植物病原菌として知られている *P. aphanidermatum* も菌寄生能力があり、*P. ultimum*, *P. vexans*, *P. dissotocum* 等の病原菌に寄生できることが報告されている (JONES and DEACON, 1995 a)。これら菌寄生菌の中で、特に研究報告例の多いPOを中心に、寄生する植物病原菌の種類や寄生菌と宿主菌の詳細な相互作用についてまとめたのでここに紹介する。

I 菌寄生菌が寄生する植物病原菌の種類

上記6種の菌寄生菌が寄生できる植物病原菌の種類に関しては、各種培地上での寄生菌と供試菌との対峙培養による生育阻止試験や、両菌の接触部位における光学顕微鏡観察やビデオ撮影により決定されてきた。

LAING and DEACON (1991) は、PO, PN または PM と植物病原菌9種を対峙培養させて、両者の相互作用をビデオ撮影している。それによると、*Trichoderma aureoviride*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* 等の感受性を示す宿主菌は、これら3種と接触しないと生育は抑制されないが、接触後は速やかに宿主菌の生育が抑制され、宿主菌の菌糸の溶解や原形質の凝集あるいは空胞化が起こり、寄生菌による宿主菌への侵入が開始される。これら寄生の様式は上記3菌で類似しているが、寄生能力には差があり、PNはPOとPMに比べて寄生能力が低いと報告されている。また、BERRY et al. (1993) は、POと病原性の *Pythium* 4種との相互作用をビデオ撮影により観察し、POは *P. ultimum* と *P. vexans* には容易に寄生し、これら2菌の原形質が容易に凝集して内容物が放出される。しかし、*P. graminicola* はこれら2菌に比べてPOの寄生に対して抵抗的で、上記の細胞反応の頻度が低い。また、*P. aphanidermatum* はPOによる寄生を受けず、逆にPOの菌糸にコイル状に巻き付き、POの寄生菌となる。筆者が北海道の畑土壤から分離したPO菌株MMR2も *P. ultimum* と対峙培養させると容

Mycoparasitic *Pythium* Species. By Shigehito TAKENAKA

(キーワード: ピシウム菌, 菌寄生, *Pythium oligandrum*, *Pythium acanthicum*, *Pythium periplocum*, *Pythium acanthophoron*, *Pythium nunn*, *Pythium mycoparasiticum*)

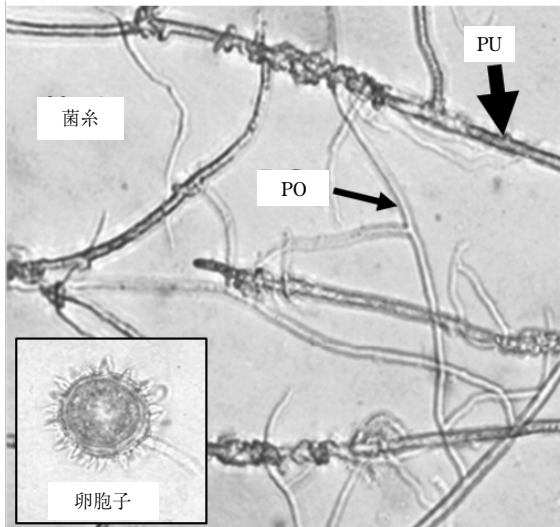


図-1 *P. ultimum* (PU) に寄生する *P. oligandrum* (PO)

易に *P. ultimum* の菌糸に寄生し生育を阻害することを観察している (図-1)。

その他の寄生菌である PAP の *P. ultimum* への寄生に関しては JONES and DEACON (1995 a) が観察しており、PAP も PO と同様な様式で *P. ultimum* の菌糸に寄生し、寄生能力も PO と同程度であると報告している。また、PAI と PP の *P. ultimum* への寄生に関しては MOHAMMED et al. (1999) が観察しており、両菌とも PO と寄生様式は同じであり、PAI の寄生能力は PO と同程度、PP は PO より寄生能力が高いと報告している。

RIBEIRO and BUTLER (1995) は、植物病原菌を含む計 73 種の糸状菌に対する PO, PAI および PP の寄生能力を、コーンミール寒天培地を用いた対峙培養により調査した。その結果、3 菌が寄生できる植物病原菌の種類は多いが、これら 3 菌の寄生能力に対する宿主菌側の反応は種類によって明らかに異なった。例えば、PO, PAI および PP は、*P. ultimum*, *P. paroecandrum*, *P. irregulare*, *P. sylvaticum* 等の同属の *Pythium* 菌や *Ceratobasidium oryzae-sativae*, *Rhizoctonia solani* AG-2-2, AG-4 および AG-5 には、3 菌とも宿主菌の菌糸にコイル状に巻き付き、菌糸内部に容易に侵入して旺盛な生育を示した。しかし、*Phytophthora palmivora*, *Penicillium digitatum*, *Chaetomium globosum*, *Fusarium moniliforme*, *Athelia rolfsii* 等には寄生できなかった。また、3 菌の寄生菌同士はお互いに寄生しあうことはなかった。

上記事例は寄生菌が宿主菌の菌糸に寄生する場合を紹介したが、寄生菌は菌糸以外の宿主菌の器官にも寄生で

きる。例えば、PO, PP, PAP は *F. culmorum* の大型分生胞子に寄生して原形質の凝集と欠失を引き起こす。その寄生能力は、PO と PP が PAP より明らかに高い。また、PO は本菌の耐久器官である厚膜胞子にも寄生できることが報告されている (DAVANLOU et al., 1999)。その他、PO は *S. sclerotiorum*, *S. minor* および *Botrytis cinerea* の菌核にも寄生できる (MADSEN and NEERGAARD, 1999; REY et al., 2005)。

対峙培養による既往の報告をもとに、6 種の菌寄生菌により寄生が確認されている植物病原菌を表-1 にまとめた。ただ、今回まとめたもの以外にもまだいくつか報告がある点、また、同一種でも供試した菌株の違いや供試培地等の試験方法の違いにより一部食い違う結果がある点 (表-1 では括弧書きで表した) をご容赦いただきたい。これら 6 種の中でも特に試験例の多い PO について見てみると、かなり広い分類群の植物病原系状菌に寄生することができ、土壤伝染性病原菌ばかりでなく、空気伝染性・種子伝染性病原菌にも寄生できることがわかる。

II 菌寄生菌と宿主菌との詳細な相互作用

BENHAMOU et al. (1999) は PO による寄生を電子顕微鏡で詳細に観察し、*P. ultimum* は PO との接触後すぐに原形質の凝集、細胞膜の収縮等の構造変化を引き起こし、一方、PO の菌糸は構造変化した宿主菌細胞への侵入を開始し、その後宿主菌細胞を壊死させる。この現象は *F. oxysporum* でも観察されるが、特に *F. oxysporum* の場合は PO の細胞内への進展に伴い原形質が完全に破壊される。PO と *R. solani* AG-4 を対峙培養すると、PO の菌糸が宿主菌の菌糸に絡みつき、その後宿主菌の細胞内に侵入する。宿主細胞の PO 侵入部位では不定形の沈着物質が集積して一種の抵抗反応を示すが、PO はそれを迂回して宿主細胞内に進展して、宿主細胞の原形質を崩壊させる。しかし一方で、宿主細胞内に侵入した PO 細胞自身も構造的にかなりのダメージを受ける。PO と *Phytophthora megasperma* を対峙培養すると、PO は宿主菌糸へ絡みついたり宿主細胞へ侵入したりしない。しかし、宿主菌では PO との接触がなくても、原形質の凝集や空胞化が起こり著しいダメージを受ける。これは殺菌剤によるダメージと似ていることから、PO が抗生物質を出していることが示唆されている。一方、同じ *Phytophthora* 属菌である *P. parasitica* と PO の対峙培養では、PO は宿主菌の細胞に付着し、宿主菌の細胞壁を溶解させ、細胞内に侵入して旺盛に増殖する (PICARD et al., 2000)。その結果、宿主菌の菌糸は細胞壁沈着構造の形成、原形質の凝集等の一連の反応を示して崩壊する。

表-1 菌寄生性の6種の *Pythium* 属菌の寄生が確認されている植物病原菌

菌寄生菌	左記の菌が寄生する植物病原菌名	左記病原菌により引き起こされる代表的な病害	引用文献
	卵菌亜門		
(PO), PP, PAI, PN	<i>Pythium aphanidermatum</i>	ホウレンソウ立枯病, メロン根腐萎凋病	3), 4), 16), 22)
PO	<i>P. graminicola</i>	イネ苗立枯病, トウモロコシ根腐病	4), 14)
PO, PP, PAI	<i>P. irregulare</i>	イネ苗立枯病, ネギ根腐病	23)
PAP	<i>P. myriotylum</i>	トマト根腐病, サトイモ根腐病	17)
PO, PP, PAI	<i>P. parocandrum</i>	トウモロコシビシウム苗立枯病	23)
PO, PP, PAI	<i>P. sylvaticum</i>	オオムギ黄枯病, イネ苗立枯病	23)
PO, PN, PP, PAI, PAP, PM	<i>P. ultimum</i>	トウモロコシビシウム苗立枯病, ラッカセイ立枯病	3), 4), 10), 13)
PO	<i>P. vexans</i>	トマト苗立枯病	4), 14)
PO, PP, PAI	<i>Phytophthora capsici</i>	スイカ褐色腐敗病, キュウリ灰色疫病,	23)
PN	<i>Phytophthora cinnamomi</i>	クリインキ病, トルコギキョウ疫病	8)
PN	<i>Phytophthora citrophthora</i>	トルコギキョウ疫病, カンキツ疫病	8)
PO	<i>Phytophthora megasperma</i>	ユリ類疫病	3)
(PO), PP, PAI, PN	<i>Phytophthora parasitica</i>	トマト褐色腐敗病, メロン疫病, キュウリ疫病	8), 20), 23)
	接合菌亜門		
PO, PP, PAI	<i>Rhizopus oryzae</i>	イネ苗立枯病, サツマイモ腐敗病	23)
PO, PP, PAI	<i>Rhizopus stolonifer</i>	メロン黒かび病, ユリ類腐敗病	23)
	子囊菌亜門		
PO	<i>Mycosphaerella pinodes</i>	インゲン褐紋病, カンキツそばかす病	5)
PO	<i>Sclerotinia minor</i>	レタス小粒菌核病, サツマイモ小粒菌核病	21)
PO, PP, PAI	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	各種作物の菌核病	18)
	担子菌亜門		
PO, PP, PAI	<i>Ceratobasidium oryzae-sativae</i>	イネ褐色菌核病	23)
PO, PP, PAI	<i>Waitea circinata</i>	イネ赤色菌核病	23)
	不完全菌亜門		
PO, PP, PAI, PN, PM	<i>Botrytis cinerea</i>	各種作物の灰色かび病	14), 21), 23)
PAP	<i>Fusarium solani</i>	イネ苗立枯病, サトイモ萎凋病	17)
PO, PAP, PN, PM	<i>Fusarium oxysporum</i>	トマト根腐萎凋病等	3), 9)
PO, PP, PAI, PN, PM	<i>Fusarium culmorum</i>	コムギ赤かび病	6)
PO, PN, PM	<i>Trichoderma aureoviride</i>	ナメコ菌床トリコデルマ病	14)
PO	<i>Verticillium albo-atrum</i>	ジャガイモ半身萎凋病, ダイコンパーティシリュム黒点病	3)
PO	<i>Verticillium dahliae</i>	ダイズ萎凋病, トウガラシ半身萎凋病	1)
PO	<i>Phoma medicaginis</i>	アルファルファ茎枯病	5)
PO, PP, PAI	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-1	イネ紋枯病, ダイズ葉枯病	23)
PO, PP, PAI	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-2-2	イネ褐色紋枯, テンサイ根腐病	23)
PO, PP, PAI	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-3	ジャガイモ黒あざ病, トマト株腐病	23)
PO, PP, PAI	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-4	ニンジン立枯病, トウガン褐色あざ病	3), 23)
PO, PP, PAI	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-5	テンサイ根腐病, ダイズリゾクトニア根腐病	23)

POは *B. cinerea* や *S. minor* の菌核にも寄生するが、これら2種の菌核に対するPOの寄生能力には明らかな差異がある (Rey et al., 2005)。POは *B. cinerea* の菌核の rind (外層), cortex (皮層), medulla (髄) にはそれぞれ容易に侵入し、ほとんどの侵入菌糸は菌核細胞内

でも健全な構造を維持している。一方, *S. minor* の菌核には、最外層の rind には侵入できるが、その下にある rind, cortex および medulla には侵入できず、POの侵入菌糸自身も原形質の崩壊などのダメージを受ける。POは *B. cinerea* の菌核でもメラニン化した rind の細胞

壁には直接侵入することは不可能で、細胞縫合部の裂け目より侵入する。一方、*S. minor*の菌核にはrind細胞壁の裂け目がないことから、このrind細胞の構造の違いが、両菌へのPOの寄生性の差異となって現れていると思われる。

免疫電子顕微鏡観察から、POは*P. ultimum*や*P. parasitica*細胞への侵入の際にはcellulaseを、*F. oxysporum*細胞への侵入の際にはchitinaseをそれぞれ産生していることが示唆されている。実際、POの培養濾液にはcellulase活性があり、その培養濾液を*P. parasitica*に直接処理しても宿主菌の細胞壁は溶解されることから、POの宿主細胞への侵入にはcellulaseが働いていることが示されている(BENHAMOU et al., 1999)。また、POはキチンあるいは乾燥菌体を添加した液体培地で、chitinaseを産生できることが判明している(EI-KATATNY et al., 2006)。

おわりに

6種の菌寄生菌が寄生可能な植物病原菌を表-1に示したが、これはあくまでも対峙培養による検定の結果である。一部、ポット試験による対象病害の抑制の試験も実施されている。それによると、PO、PPおよびPAIのキュウリ苗立枯病(病原菌:*P. ultimum*)に対する防除効果は、POとPPがPAIより高く、その理由としてPAIがPO、PPに比べて生育速度が遅く寄生能力も低いためと報告されている(MOHAMMED et al., 1999)。また、PNによるキュウリ苗立枯病の防除効果はPOに比べて低く、その理由はPNがPOに比べて寄生する速度が遅く、生物防除活性に有機物を必要とするためと考えられている(KOBAYASHI et al., 2010)。しかし、当然のことながら、菌寄生の能力だけで当該菌株の生物防除能力を推定できない。例えば、RIBEIRO and BUTLER (1995)は、POとPPのいくつかの菌株を用いた*P. ultimum*によるテンサイ苗立枯病に対する防除試験から、対峙培養での*P. ultimum*への寄生能力や培地上での生育速度と、防除価は必ずしも一致しないと報告している。また、水耕

栽培におけるトマト根圏での病原性*Pythium*菌とPOとの菌量のモニタリング結果から、トマト根圏ではPOは菌寄生能力を主に働かせていないことを示唆する報告もある(Le FLOCH et al., 2007)。

これら菌寄生性を有する菌株を実際の生物防除に利用する場合、菌寄生能力より根圏での定着性、根圏での競合能力、植物体への抵抗性誘導能力のほうが重要と考えられる。しかし、この寄生能力が6種の*Pythium*菌の生活環の中でどの程度働き、どの程度の役割を担っているのかを知ることは、今後これら菌を生物防除微生物として利用する際に重要な情報となるものと考えられる。

引用文献

- 1) AL-RAWAHI, A. K. and J. G. HANCOCK (1998): *Plant Dis.* **82**: 1100 ~ 1106.
- 2) AOYAGI, A. et al. (1999): *ibid.* **83**: 171 ~ 175.
- 3) BENHAMOU, N. et al. (1999): *Phytopathology* **89**: 506 ~ 517.
- 4) BERRY, L. A. et al. (1993): *Biocontrol Sci. Tech.* **3**: 247 ~ 260.
- 5) BRADSHAW-SMITH, et al. (1991): *Mycol. Res.* **95**: 861 ~ 865.
- 6) DAVANLOU, M. et al. (1999): *Plant Pathol.* **48**: 352 ~ 359.
- 7) EI-KATATNY, M. H. et al. (2006): *Arch. Phytopathol. Plant Protect.* **39**: 289 ~ 301.
- 8) FANG, J. G. and P. H. TSAO (1995): *Phytopathology* **85**: 29 ~ 36.
- 9) JONES, E. E. and J. W. DEACON (1995 a): *Biocontrol Sci. Technol.* **5**: 25 ~ 39.
- 10) ————— (1995 b): *Plant Pathol.* **44**: 396 ~ 405.
- 11) 景山幸二・宇井格生 (1981): *日植病報* **47**: 313 ~ 319.
- 12) KINOSHITA, T. et al. (1994): *Mycoscience* **35**: 191 ~ 198.
- 13) KOBAYASHI, S. et al. (2010): *J. Gen. Plant Pathol.* **76**: 278 ~ 283.
- 14) LAING, S. A. K. and J. W. DEACON (1991): *Mycol. Res.* **95**: 469 ~ 479.
- 15) Le FLOCH, G. et al. (2007): *FEMS Microbiol. Ecol.* **61**: 317 ~ 326.
- 16) LIFSHTZ, R. et al. (1984): *Can. J. Microbiol.* **30**: 1482 ~ 1487.
- 17) LODHA, B. C. and J. WESTER (1990): *Mycol. Res.* **94**: 1006 ~ 1008.
- 18) MADSEN, A. M. and E. de NEERGAARD (1999): *Eur. J. Plant Pathol.* **145**: 143 ~ 153.
- 19) MOHAMMED, S. et al. (1999): *Mycopathologia* **145**: 143 ~ 153.
- 20) PICARD, K. et al. (2000): *Appl. Environ. Microbiol.* **66**: 4305 ~ 4314.
- 21) REY, P. et al. (2005): *Mycol. Res.* **109**: 779 ~ 788.
- 22) RIBEIRO, W. R. C. and E. E. BUTLER (1992): *Mycol. Res.* **96**: 857 ~ 862.
- 23) ————— (1995): *ibid.* **99**: 963 ~ 969.
- 24) TAKENAKA S. et al. (2003): *Phytopathology* **93**: 1228 ~ 1232.
- 25) UZUHASHI, S. et al. (2010): *Mycoscience* **51**: 337 ~ 365.
- 26) van der PLAATS-NITERINK, A. J. (1981): *Studies in Mycology* **21**: 1 ~ 244.