

琉球大学学術リポジトリ

第2報 本病の発生圃場から分離された Pythiaceae 菌(パインアップル root rot wilt に関する研究)(農学科)

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学農学部 公開日: 2008-02-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 田盛, 正雄, 大嶺, 和子, TaMori, Masao, Omine, Kazuko メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/4188

パイナップル root rot wilt に関する研究

第2報 本病の発生圃場から分離されたPythiaceae 菌

田 盛 正 雄 * ・ 大 嶺 和 子 *

Masao TAMORI and KAZUKO OMINE : Studies on the root rot wilt of the pineapple 2. Pythiaceae isolated from the diseased pineapple in the Okinawa Islands

I はじめに

Phytophthora 属菌は、植物の疫病菌として非常に強い病原性があり、*Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* は多くの植物に寄生することが知られている。*Phytophthora cinnamomi* も多くの植物の根を侵し、萎ちょう症状をひき起こすことが、オーストラリア、ハワイおよびカリフォルニアなどから多く報告されている。

Phytophthora cinnamomi および *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* はパイナップルの根腐れ病やしんぐされ病の病原として世界各地で記録されている。Sideris⁷⁾ は、Pythiaceae によって起こる根腐れ病はパイナップル萎ちょう病の重要な原因の一つであろうと述べており、Lewcock⁵⁾ は、Queensland に発生しているパイナップル萎ちょう病は根を腐敗させる *Phytophthora cinnamomi* などが最も重要な原因であるとし、その症状や防除法について記録している。Oxenham⁶⁾ は *Phytophthora cinnamomi* を病原とする萎ちょう病を root rot wilt と記録し、*Phytophthora cinnamomi* 以外の他の病原性の弱い寄生菌は、不利な土壌条件あるいは他の要素によって弱められた根にわずかの被害を与えるにすぎないと述べている。Collins²⁾ は、*Phytophthora cinnamomi* はパイナップル圃場のいたる所に生存し、パイナップルの根をひどく腐敗させるため、その生育はおくられる。また、果実の形成も一般におくられるか着果しないこともある。Pythium は *Phytophthora* より病原性は劣るが、根腐れの原因となる。また、植物の活力や収量の低下に影響を与えることは無視できないと述べている。

著者らは、沖縄県の大部分のパイナップル圃場の萎ちょう病が、*Phytophthora cinnamomi* を中心とした Pythiaceae 菌によるものではないかと考え、研究をすすめており、本病発生圃場を対象とした調査を行ない、病徴や被害程度を第1報に報告した。今回は、それぞれの圃場から Pythiaceae 菌の分離を試み、その病原性について検討した。

* 琉球大学農学部農学科

II 実験材料および方法

1 菌の分離

菌の分離は根から直接分離を行なう方法を用い、使用した株は第1報の株と同一であり、それぞれの株から根を10本採取した。土を洗い流した後、菌の分離に使用した。また、Pythiaceae 菌の分離割合を比較するために、パイナップル葉を用いての trap 法も平行して行なった。

1) 採取した根を約3mmの小片に刻み、3%次亜塩素酸ナトリウム溶液に30秒、殺菌水に30秒間浸漬し、ろ紙上で自然乾燥させ、あらかじめシャーレーに分注しておいたV-8ジュース寒天培地(V-8ジュース100ml, 炭酸カルシウム2g, 寒天末15g, 蒸留水900ml)上に静置した。培養温度は20℃とした。

2) 採取した根の数本を50ml容ビーカーに入れ、殺菌水を20ml加え、その中に3%次亜塩素酸ナトリウムで表面殺菌、自然乾燥させたパイナップル葉(しん部から13枚まで⁶⁾)を3枚ずつさし込み、菌のtrapを行なった。4~5日後、trapに使用したパイナップル葉の発病組織小片を作り、表面殺菌、自然乾燥させた後、V-8ジュース寒天培地に静置した。培養温度は20℃とした。

2 パイナップルの根に対する病原性

供試菌株は*Phytophthora cinnamomi*, *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica*, *Pythium* sp.(A), *Pythium* sp.(B), *Fusarium* sp., *Ceratocystis paradoxa*, の6菌株で、供試菌株を分離した圃場は下記に示した。

Phytophthora cinnamomi, *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* はV-8ジュース寒天培地上において10日間25℃で平板培養を行なった。また、*Pythium* sp.(A), *Pythium* sp.(B) はV-8ジュース寒天培地上において7日間25℃で平板培養を行なった。これら4菌株に蒸留水を加えて遊走子のうを形成させた後、蒸留水を入れかえ、5℃で15分間処理し、次いで25℃に30~50分間保ち、遊走子のうの間接発芽によって遊走子を遊出させ、二重ガーゼでろ過し、遊走子浮遊液を作り、これを接種に用いた。*Fusarium* sp., *Ceratocystis paradoxa* の2菌株はV-8ジュース寒天培地に10日間25℃で平板培養を行ない、これに蒸留水を加えて25℃に1時間保ち、次いで二重ガーゼでろ過して分生子浮遊液を作り、これを接種に用いた。供試パイナップルは水中で発根させ、それぞれ上記の菌を接種した。

接種後10日目にそれぞれの接種株の根の褐変度を調べ、発病根率と発病程度を求めた。発病程度は-から++++までの5段階に分け、発病程度率の0%を-, 1~30%を+, 31~60%を++, 61~90%を+++, 91~100%を++++で表した。

本実験に使用した菌株

菌株種名	採集圃場名
<i>Phytophthora cinnamomi</i>	本部町辺名地
<i>Phytophthora nicotianae</i> var. <i>parasitica</i>	石川市山城
<i>Pythium</i> sp. (A)	本部町大嘉陽
<i>Pythium</i> sp. (B)	石川市山城
<i>Fusarium</i> sp.	東村平良
<i>Ceratocystis paradoxa</i>	名護市旭川

各菌株とも、採取した根を直接用いての静置分離によって分離した菌株を使用した。

III 実験結果

今回の調査で, *Phytophthora*, *Pythium*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Ceratocystis*, *Mucor*, *Nigrospora*, *Gliocladium*, *Phoma*, *Pestalotia*, *Rhizoctonia*, *Chaetomium*, その他多くの菌が分離された。その中の, *Phytophthora* および *Pythium* を有力な菌とし, *Fusarium*,

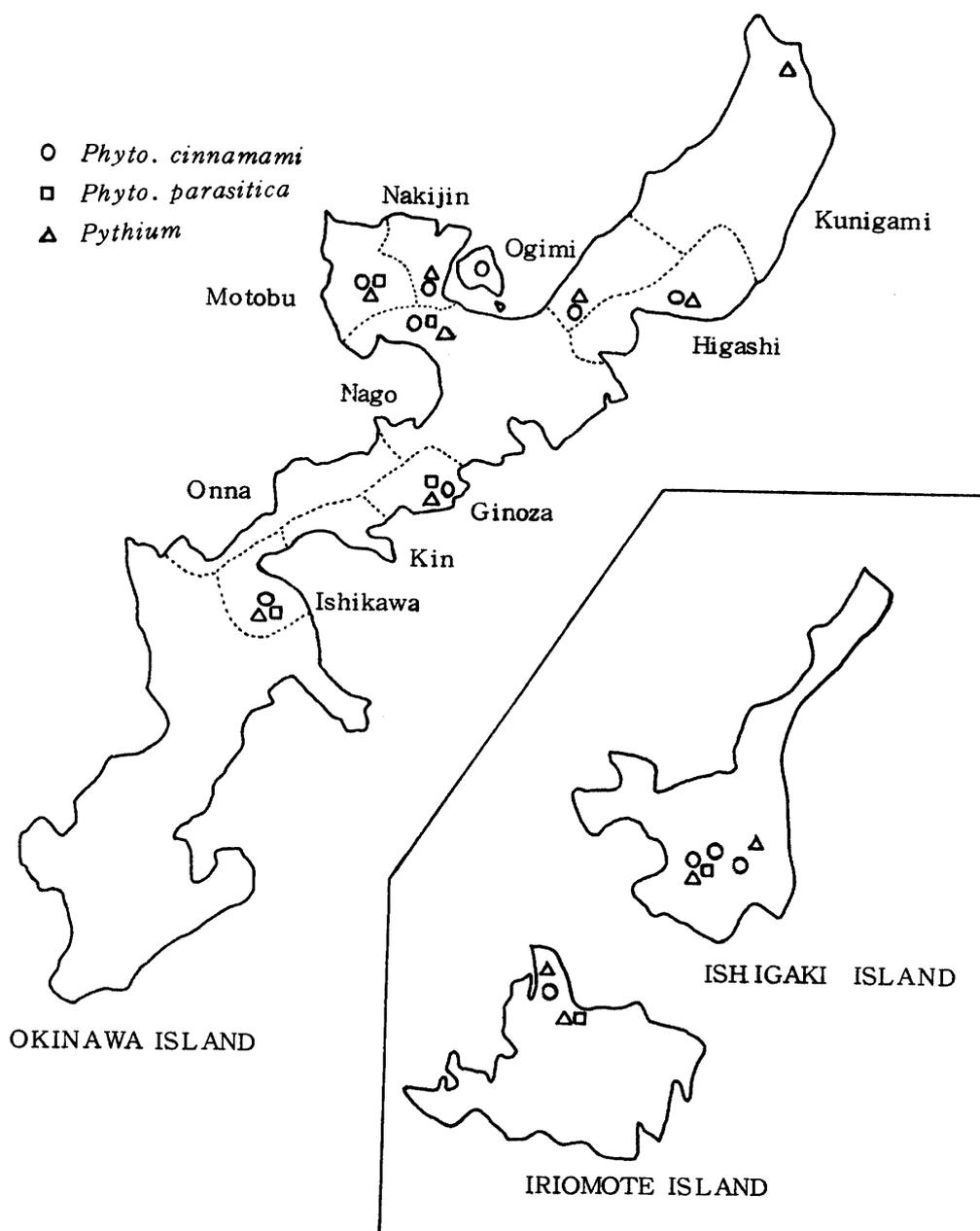


Fig. 1. The isolated places of some species of Pythiaceae in the Okinawa Islands

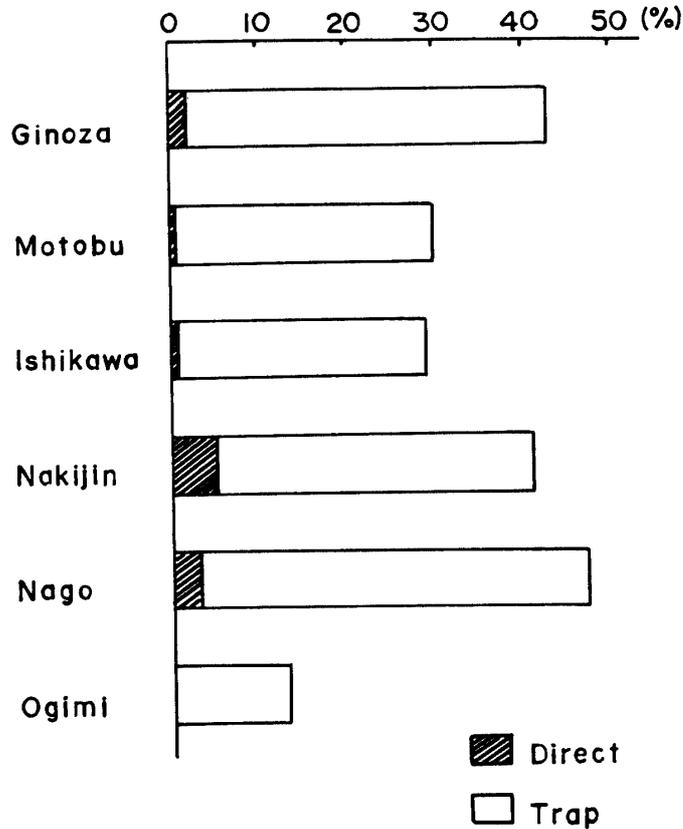


Fig. 2. The isolation rate of *Phytophthora cinnamomi* from the investigated pineapple fields in Okinawa Island

*Ceratocystis*も病原性の有無を調べるために分離、培養を行なった。

Pythiaceae の分離された場所を図1に示した。*Phytophthora cinnamomi*は国頭を除く、大宜味、東、今帰仁、本部、名護、宜野座、石川、石垣、西表と、ほとんどの圃場から分離された。*Phytophthora nicotianae* var. *parasitica*は本部、名護、宜野座、石川、石垣、西表から分離された。*Pythium* sp. (A), *Pythium* sp. (B) はいずれも大部分の圃場から分離された。

Pythiaceae がどのような割合で分離されるかを2種類の方法を用いて検討したところ、パイナップル葉を用いてのtrap法によって多くのPythiaceaeが分離された。*Phytophthora cinnamomi*の分離割合の比較を図2に示した。接種した根を直接用いての静置分離法をdirect、パイナップル葉を用いてのtrap法をtrapとして表わした。directにおける分離割合が全菌数の5%以下であるのに対し、trapでは宜野座、今帰仁、名護が40%以上、本部、石川が約30%の割合で分離され、大宜味においては、directでは分離されなかったにもかかわらず、trapで13%分離された。

接種後10日目のパイナップルの根腐れの発病程度を表1に示した。*Phytophthora cinnamomi*および*Phytophthora nicotianae* var. *parasitica*を接種した根はすべて発病根率が100%であり、発病程度も++++で最も高い病原性を示した。*Pythium* sp. (A)を接種した根は発病根率17~62%で幅広い値を示したが、発病程度はいずれも軽度の+であった。*Pythium* sp. (B)を接種した根は、

Table 1. Severity of root rot of the inoculated pineapple plants

Isolates	Rate of diseased root (%)	Severity
<i>Phytophthora cinnamomi</i>	100	++++
<i>P. cinnamomi</i> + <i>Fus.</i>	100	++++
<i>P. cinnamomi</i> + <i>Cer.</i>	100	++++
<i>P. cinnamomi</i> + <i>Fus.</i> + <i>Cer.</i>	100	++++
<i>Phytophthora parasitica</i>	100	++++
<i>P. parasitica</i> + <i>Fus.</i>	100	++++
<i>P. parasitica</i> + <i>Cer.</i>	100	++++
<i>P. parasitica</i> + <i>Fus.</i> + <i>Cer.</i>	100	++++
<i>Pythium</i> sp. (A)	17	+
<i>Pythium</i> sp. (A) + <i>Fus.</i>	62	+
<i>Pythium</i> sp. (A) + <i>Cer.</i>	53	+
<i>Pythium</i> sp. (A) + <i>Fus.</i> + <i>Cer.</i>	26	+
<i>Pythium</i> sp. (B)	0	-
<i>Pythium</i> sp. (B) + <i>Fus.</i>	5	+
<i>Pythium</i> sp. (B) + <i>Cer.</i>	0	-
<i>Pythium</i> sp. (B) + <i>Fus.</i> + <i>Cer.</i>	21	+
<i>Fusarium</i> sp.	0	-
<i>Ceratocystis paradoxa</i>	0	-
CK	0	-

単一あるいは *Ceratocystis paradoxa* を混入した場合のいずれにおいても発病せず、*Fusarium* sp. を混入するとわずかに発病がみられた。*Fusarium* sp., *Ceratocystis paradoxa*のいずれも単一では発病しなかった。

Phytophthora cinnamomi および *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* を接種した根は接種後3~4日目に先端が水浸状となり、4~7日目には全体的に褐変し、それは徐々にひどくなって腐敗した。*Pythium* sp. (A) および *Pythium* sp. (B) の症状は、接種後3~6日目に水浸状となり、5~7日目に部分的に褐変が認められた。

IV 考 察

沖縄においてこれまでパイナップル萎ちょう病株からいろいろな菌が分離されたが、*Phytophthora cinnamomi* が分離されたという報告はない。今回、ほとんどの圃場から *P. cinnamomi* が多く分離されたのは、分離方法が異なるからと考える。分離に2種類の静置を行なったところ、*P. cinnamomi* については、パイナップル葉を用いての trap 法で比較的容易に分離されており、この方法が本菌の分離に適していると思われる。

いくつかの菌をパイナップルの根に接種したところ、Pythiaceae を接種した株は根腐れを生じ、これらの菌が萎ちょう病を起こすのではないかとと思われる。

わが国における *Phytophthora cinnamomi* に関する報告は、田盛⁸⁾ が石垣島でパイナップルから分離したのが最初であり、その後、小泉ら⁴⁾、萩原ら³⁾ はシャクナゲ類やツバキからの分離を報告している。今回、パイナップル栽培圃場から広範囲にわたって *Phytophthora cinnamomi* が分離されたことは、本菌が沖縄に広く生存していることを示している。*Phytophthora cinnamomi* は樹木や果樹、その他多くの植物に寄生することから、元来、山に広く生存していると考えられる。大部分のパイナップル畑はこれらの山を開墾して作られるため、パイナップルを植える以前から菌は生存していると考えられる。あるいは、萎ちょう病の発生圃場から何らかの方法で菌が運ばれて侵入したことも考えられる。今回の調査において、パイナップル畑周辺のイタジイから *Phytophthora cinnamomi* を分離することができたが、これは、今後の調査研究に示唆を与えることと考える。

摘 要

萎ちょう病の発生圃場から、Pythiaceae 菌の分離を試み、主な菌株をパイナップルの根に接種、根の症状を観察し、病原性について検討した。

Phytophthora cinnamomi は国頭を除く、大宜味、東、今帰仁、本部、名護、宜野座、石川、石垣、西表と、ほとんどの圃場から分離された。*Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* は本部、名護、宜野座、石川、石垣、西表から分離された。*Pythium* sp. (A)、*Pythium* sp. (B) はいずれも大部分の圃場から分離された。菌の分離には、採取した根を直接用いての静置分離法と、パイナップル葉を用いての trap 法を平行して行なった。そして、Pythiaceae の分離割合を比較したところ、パイナップル葉を用いての trap 法で多く分離された。*Phytophthora cinnamomi*、*Phytophthora nicotianae* var. *parasitica*、*Pythium* sp. (A)、*Pythium* sp. (B)、*Fusarium* sp.、*Ceratocystis paradoxa* の6菌株を根に接種した。*Phytophthora cinnamomi* および *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* を接種した根はすべて発病しており、ひどい根腐れを生じた。*Pythium* sp. (A) を接種した根は発病根率 17～62% で幅広い値を示したが、発病程度はいずれも軽かった。*Pythium* sp. (B) を接種した根で発病したものは少なく、それらの発病程度はきわめて軽かった。

引 用 文 献

1. Barnett, H. L. 1958 Illustrated genera of Imperfect fungi, 3rd Ed., pp 218, America, Burgess Publishing Co.
2. Collins, J. L. 1960 The pineapple, p 187～209, New York, Interscience Publishers Inc.

3. 萩原廣, 竹内昭士郎 1978 シャクナゲ類およびツバキの根腐れ症状と *Phytophthora cinnamomi* との関連, 日植病報, **44** (3) : 376
4. 小泉信三, 萩原廣, 竹内昭士郎, 正子朔 1978 *Phytophthora cinnamomi* による西洋シャクナゲの新病害根腐病 (仮称), 日植病報, **44** (1) : 87
5. Lewcock, H. K. 1935 Pineapple wilt disease and its control, Queensland Agr. J., **43** : 9 - 17
6. Oxenham, B. L. 1957 Disease of pineapple, Queensland Agr. J., **83** : 13 - 26
7. Sideris, C. P. and Paxton, G. E. 1931 Pathological, histological, and symptomatological studies on pineapple root rots, Amer. Jour. Botany, **18** (6) : 465 - 498
8. 田盛正雄 1974 沖縄に分布する *Phytophthora* 属菌と植物疫病とくにパインアップルしんぐされ病に関する研究, 琉大農学報, **21** : 1 - 72

Summary

The present paper report the result of isolation test of Pythiaceae from the pineapple fields in the Okinawa Islands.

Phytophthora cinnamomi was isolated from almost all fields, i.e. Ogimi, Higashi, Nakijin, Motobu, Nago, Ginoza, Ishikawa, Ishigaki and Iriomote. *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* was isolated from Motobu, Nago, Ginoza, Ishikawa, Ishigaki and Iriomote. Both *Phythium* sp. (A) and *Phythium* sp. (B) were isolated from almost all fields.

The two methods were applied on the isolation: (1) Take pieces from the diseased root directly. (2) Trap with young pineapple leaf and take the pieces as above. These were cultivated in V-8 juice agar medium. As compared with the isolation ratio of the Pythiaceae, this fungi were mostly isolated by means of trap method. For certify pathogenicity, six species of the isolated fungi were inoculated to the pineapple roots. These six species are as follows: *Phytophthora cinnamomi*, *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica*, *Phythium* sp. (A), *Phythium* sp. (B), *Fusarium* sp., *Ceratocystis paradoxa*. As regards *Phytophthora cinnamomi* and *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica*, inoculated roots were all infected and occurred severe root decay. Rate of infected roots of *Phthium* sp. (A) had wide value (17-62%), but severity had all slight. On the *Phthium* sp. (B), infected roots had less and there severity had quite slight.

Explanation of plate 1

1. *Phytophthora cinnamomi* : Hyphal swelling
2. *P. cinnamomi* : Zoosporangium
3. *P. cinnamomi* : Germination of cystospore
4. *P. nicotianae* var. *parasitica* : Zoosporangium
5. *P. nicotianae* var. *parasitica* : Indirect germination of zoosporangium

Explanation of plate 2

6. *P. nicotianae* var. *parasitica* : Swimming of zoospore
7. *P. nicotianae* var. *parasitica* : Germination of cystospore
8. *Pythium* sp. (A)
9. Appearance of inoculated roots. Left, check; center, *P. cinnamomi*; right, *P. nicotianae* var. *parasitica*

PLATE 1

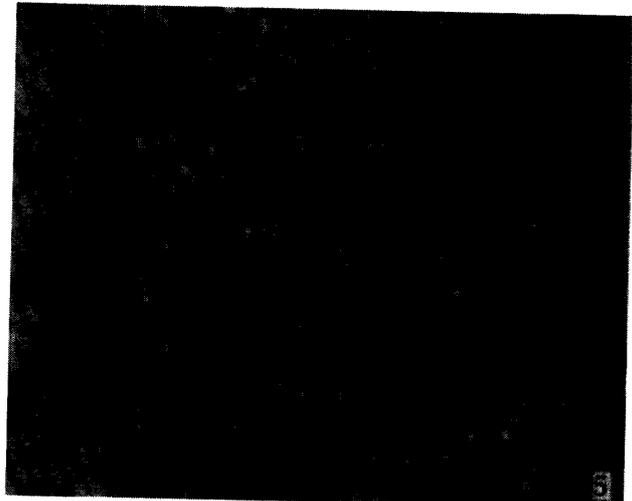
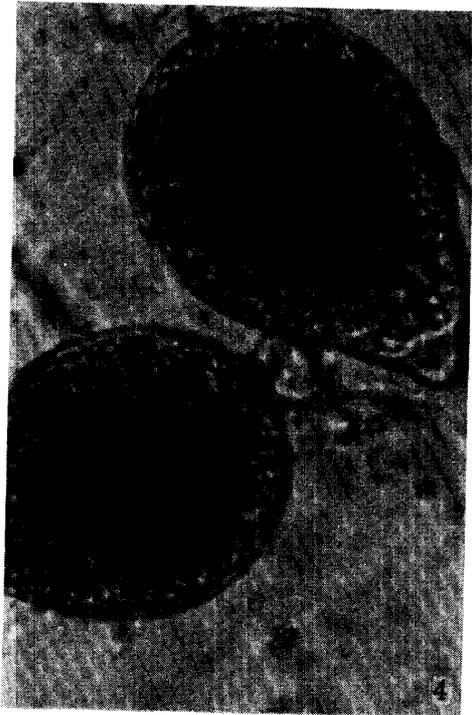
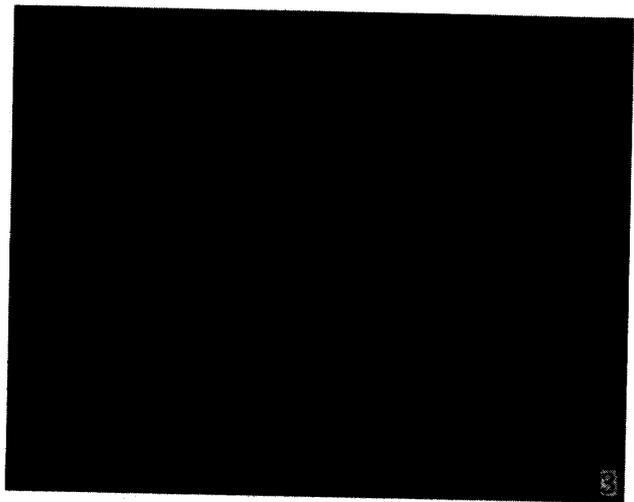
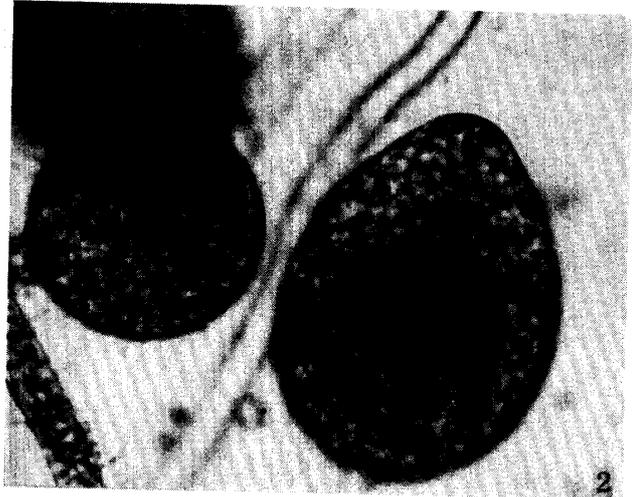
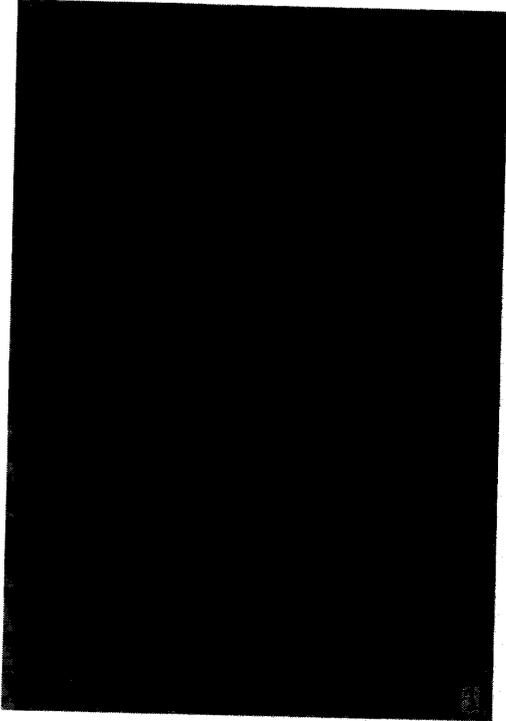


PLATE 2

