

オオムギ黄枯病を起こすPythium spp.について

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	楠,幹生 一谷,多喜郎
発行元	日本植物病理學會
巻/号	60巻3号
巻号補足	
掲載ページ	p. 305-309
発行年月	1994年6月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター

Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



オオムギ黄枯病を起こす *Pythium* spp. について

楠 幹生*・一谷多喜郎**

Mikio KUSUNOKI* and Takio ICHITANI** :
Pythium spp. Causing Browning Root Rot of Barley

Abstract

Pythium spinosum Sawada, *P. sylvaticum* Campbell & Hendrix and *P. ultimum* Trow var. *ultimum* were identified as pathogens of browning root rot of barley in Japan. The first two species are the first record on barley in the world. From the isolation and pathogenicity tests, it can be concluded that *P. spinosum* is the most important pathogen, followed by *P. ultimum* var. *ultimum* and *P. sylvaticum*.

(Received August 9, 1993)

Key words: *Pythium* spp., browning root rot, barley.

緒 言

オオムギの栽培地では、古くから1~3月に葉が黄変し、ほ場全体が黄枯れ症状を呈して問題になっている。この黄化現象は主にオオムギ縮萎縮病、湿害や肥料切れなどの生理現象および線虫によると考えられていた。一方、田杉²¹⁾は *Pythium* 属菌による麦類の黄枯病について報告し、それ以降オオムギの黄化症状株の根より種々の *Pythium* 属菌が分離されたが^{2,13,14,23)}、種の同定には至っていなかった。

ここでは、香川県下で黄化症状を示すオオムギ (サヌキハダカ, *Hordeum vulgare* L. var. *hexastichon*, ダイセンゴールド, *H. vulgare* L. var. *distichon*) 株の根およびその生育土壌から *Pythium* 属菌を分離、同定し、その病原性を調べた。なお、本論文の一部は既に報告した¹⁵⁾。

材料および方法

根部および土壌からの *Pythium* 属菌の分離 1991年2~3月に黄枯症状を呈しているハダカムギ根部から被検試料を得、70%エタノールに30秒間浸漬して表面消毒をし、その後滅菌水で2回洗浄した。これを素寒天培地上に置床し、25°Cの暗黒下で1~2日間静置して培養を行い、本属菌の単菌糸分離を行った。また、土壌からの分離は次のようにして行った。4 mm のふる

いを通した土壌 50 g を滅菌した 500 ml 容振とうフラスコに入れ、0.35%素寒天を加えて 250 ml になるようにし、30 分間振とう (125 rpm) した。この液層から 5 ml を取り、0.35%素寒天 95 ml に加えて 100 倍希釈とした。この土壌希釈液 1 ml を VP₃ 培地¹⁾ 上に滴下し、コーンラージ棒で一様に分散させた後、25°Cの暗黒下で 24 時間前培養した。この培地表面の土壌粒子を水道水により洗い流し、さらに同一条件で後培養を行って 3 日以内に出現する菌そうを素寒天培地に移し、本属菌の単菌糸分離を行った。

***Pythium* 属菌の形態の観察および記載** ハダカムギ根部および土壌より分離した菌株からそれぞれ任意には場当たり 5 菌株を選び、Bacto-CMA 培地上で 25°C, 24 時間培養した。その菌そうの周縁部に滅菌した約 5 mm 角のペントグラス葉片を 2, 3 枚ずつ置き、同一条件下で 12 時間継続培養して、菌を葉片に捕捉させた。この葉片を滅菌水 200 μ l を注入した ELISA 用のマイクロタイタープレート (ELISA プレート : 96 穴, 三光純薬社製) の穴に入れ、プレートシーラーで密閉²²⁾ して 25°C, 暗黒下に置いた。5 日後に鏡検して遊走子, hyphal swellings¹⁹⁾ (菌糸のふくらみ) および蔵卵器の形成を調べた。500 ppm 小麦胚芽油 (日本インベックス社製) 添加トウモロコシ煎汁寒天 (CMA) 培地を用い、一谷らの方法¹⁰⁾ によって菌糸, 蔵卵器, 蔵精器, 卵胞子および菌糸のふくらみの形態を記載し

* 香川県農業試験場 Kagawa Prefectural Agricultural Experiment Station, Takamatsu, Kagawa 761, Japan

** 大阪府立大学農学部 College of Agriculture, University of Osaka Prefecture, Sakai, Osaka 593, Japan

た。

菌糸生育温度 ハダカムギ根部から分離した *Pythium* 属菌を Bacto-CMA 培地に移植し、各温度における菌糸伸長速度 (mm/24 hr) により、菌糸の生育温度を求めた。

接種試験 3種類の接種試験を実施した。まず、ふすま・もみ殻 (1:4) 培地で 25°C、7日間培養した接種源 20 g を、1990年11月25日にプランター (65×25 cm) の滅菌した表層土 (砂壤土) と混和し、この上に表面消毒したオオムギ (サヌキハダカ) 種子 100粒を播種し、自然条件に置いた。10日おきに黄化程度を、また翌年3月15日に根部の褐変程度を調べ、根部から菌の再分離も行った。

つぎに発芽前接種試験については、各区3鉢 (8号ポリ鉢) を用い、鉢当たり滅菌砂壤土 100 g を入れ、前述のふすま・もみ殻培地で 25°C、7日間培養した接種源 2 g を表層の滅菌土に混和した。その上に発根させた種子 10粒を置床し、少量の滅菌土で被覆した。鉢は 25°C の陽光恒温器 [サンヨー社製] 内で一夜湛水状態にし、その後は適宜灌水して過湿状態に保ち、接種1週間後に発芽数および根部褐変程度を調べた。

さらに発芽後接種試験については、上述のようにして種子を発根させて播種し、25°C の陽光恒温器内で5日間育苗した。その後、苗の地際部にふすま・もみ殻培地で 25°C、7日間培養した接種源 2 g を均一にばらまき、少量の滅菌土で被覆した。鉢は 25°C の陽光恒温器内に置き、上述のようにして根部の褐変程度を調べた。

Table 1. Frequency of isolation of *Pythium* spp. from diseased barley and its rhizosphere soil

Species ^{a)}	Diseased barley	Rhizosphere soil
Pu	25 ^{b)}	14 ^{b)}
Psp	31	10
Psy	2	0
Pu+Psp	4	8
Pu+Psy	13	21
Psp+Psy	12	33
Pu+Psp+Psy	2	8
Not isolated or undetected	11	6

a) Pu: *P. ultimum* var. *ultimum*, Psp: *P. spinosum*, Psy: *P. sylvaticum*.

b) The ratios (%) of fields from which more than one of three pathogenic *Pythium* spp. were isolated to all fields surveyed were calculated.

結 果

Pythium 属菌の分離頻度

44のほ場を供試して *Pythium* 属菌を分離したところ、根部からは88%、土壌からは94%のほ場で *Pythium* 属菌が分離された。分離菌の形態を観察すると、突起のある蔵卵器をもつ種、平滑蔵卵器をもつ種および菌糸のふくらみのみをもつ種に分けられた。いずれの種も遊走子を形成しなかった。突起のある蔵卵器をもつ種および平滑蔵卵器をもつ種は、菌糸のふくらみのみをもつ種とそれぞれ混在して分離されることが多かった (Table 1)。

Pythium 属菌の同定

1. 突起のある蔵卵器をもつ種

突起のある蔵卵器をもつ種 [香川農試菌株: 90-30-4 (=IFO32611)] の同定を行った。本菌の主菌糸幅は平均 3.5 μ m、菌糸のふくらみは球形～亜球形、まれにたる形で平均径は 24 μ m である。遊走子は形成しない。蔵卵器は球形で径 17.5～23.8 μ m (平均 19.3 μ m)、頂生または中間生で突起 (長さ 4～11 μ m) をもつ。蔵精器はこん棒状、通常同菌糸性で1個が側着する。卵胞子は球形で径 16.5～22.0 μ m (平均 17.9 μ m)、充満性で壁が薄い。以上に述べた結果は *P. spinosum* Sawada の原記載²⁰⁾と一致したので、本種を *P. spinosum* Sawada と同定した。

2. 突起のない蔵卵器をもつ種

平滑蔵卵器をもつ種 [香川農試菌株: 90-5-2 (=IFO32612)] の同定を行った。本菌の主菌糸幅は平均 9 μ m、菌糸のふくらみは球形～亜球形で平均径は 21 μ m である。遊走子は形成しない。蔵卵器は球形で径 18.4～22.1 μ m (平均 20.1 μ m)、まれに1～2本の突起をもち、通常頂生で平滑である。蔵精器はこん棒状、通常同菌糸性で1個が側着または底着する。卵胞子は球形で径 14.0～19.0 μ m (平均 16.7 μ m)、非充満性で壁が厚い。以上の結果は *P. ultimum* Trow var. *ultimum* の原記載⁵⁾と一致したので、本種を *P. ultimum* Trow var. *ultimum* と同定した。

3. hyphal swellings (菌糸のふくらみ) のみをもつ種

菌糸のふくらみをもつ種 [香川農試菌株: 90-3-3 (=IFO32609)] の同定を行った。本種はすでに報告¹⁵⁾したように、蔵卵器を単一菌株の培養では全く形成せず、一対の菌株の対峙培養で形成した (Plate I-1)。主菌糸幅は平均 6 μ m、菌糸のふくらみは球形～亜球形、まれにたる形、平均径は 25.0 μ m で 32 μ m を越えない。遊

Table 2. Root browning and leaf yellowing of barley (cv. Sanuki hadaka) grown in soil artificially infested with *Pythium* spp.^{a)}

<i>Pythium</i> spp.	Root browning	Leaf yellowing	Reisolation
<i>P. spinosum</i>	+++	+++	+
<i>P. ultimum</i> var. <i>ultimum</i>	++	+++	+
<i>P. sylvaticum</i>	+	+	+
Uninoculated	—	—	—

a) A rating of (+++) denotes high degree of leaf yellowing and root browning. A rating of (—) denotes no yellowing and browning. An intermediate degree of pluses denotes an intermediate degree of yellowing and browning. A rating of (+) in reisolation denotes positive result, while a rating of (—) denotes negative.

Table 3. Pathogenicity of *Pythium* spp. on barley (cv. Sanuki hadaka)^{a)}

<i>Pythium</i> spp.	Pre-emergence damping-off test		Post-emergence damping-off test	
	Percentage emergence	Root browning	Percentage emergence	Root browning
<i>P. spinosum</i>	33	+++	100	+++
<i>P. ultimum</i> var. <i>ultimum</i>	48	++	100	++
<i>P. sylvaticum</i>	85	++	100	+
Uninoculated	98	—	100	—

a) Ratings of root browning are in Table 2.

走子を形成しない。蔵卵器は球形で径 19.6~23.5 μ m (平均 21.8 μ m), 頂生で平滑である。蔵精器はこん棒状で異菌糸性, 通常 2~4 個が側着する (Plate I-2)。卵胞子は球形で径 17.0~20.6 μ m (平均 19.3 μ m), 壁は厚く, 非充満性である。以上の結果は Campbell & Hendrix (1967) の原記載⁴⁾と一致したので, 本種を *P. sylvaticum* Campbell & Hendrix と同定した。なお, 香川農試菌株 [90-3-3, 90-17-2 (=IFO32610)] を *P. sylvaticum* (大阪府大菌株: UOP319, 320, 334, 335, 岐阜大菌株: Py10-11, Py32, S66-4-8) と対峙培養 (CMA, 25°C) することにより蔵卵器を形成した。

Pythium 属菌の生育温度

P. spinosum, *P. ultimum* var. *ultimum* および *P. sylvaticum* はすべて 5~35°C の範囲で生育し, 適温は 25~30°C であった。

Pythium 属菌の病原性

1990 年 11 月下旬に 3 種の *Pythium* 属菌をそれぞれ接種した土壌に直ちにオオムギ (サヌキハダカ) を播種したところ, *P. spinosum* および *P. ultimum* var. *ultimum* の場合は翌年 1 月下旬頃から, *P. sylvaticum* では 2 月上旬頃から下葉が黄化し始め, 病徴が再現された。3 種の菌により根部の褐変も認められ, その程度は *P. spinosum* で著しく高く, *P. ultimum* var. *ultimum*, *P. sylvaticum* の順に低かった (Table 2)。前 2 者は変色根部内で容易に卵胞子が観察された (Plate I-3, 4)。また, 3 種の *Pythium* 菌は根部から再

分離された (Table 2)。

発芽前に接種した場合, 発芽率の低下が顕著でその程度は *P. spinosum* で著しく高く, *P. ultimum* var. *ultimum*, *P. sylvaticum* の順に低かった。発芽した個体は立枯れを起こさなかったが, 3 種とも根部に褐変を生じ, その程度は *P. spinosum* で高かった (Table 3)。3 種の *Pythium* 菌は根部から再分離された。

発芽後に接種した場合にも立枯れはみられなかった。しかし, 3 種とも根部に褐変を生じ, その程度は *P. spinosum* で著しく高く, *P. ultimum* var. *ultimum*, *P. sylvaticum* の順に低かった (Table 3)。3 種の *Pythium* 菌はいずれも根部から再分離された。また, オオムギ (ダイセンゴールド) およびコムギ (*Triticum aestivum* L. ダイチノミノリ) にも, 根部に褐変を生じて寄生性を示した。

考 察

黄化症状を示しているオオムギ (サヌキハダカ, ダイセンゴールド) の根部および土壌から高率に *P. spinosum*, *P. ultimum* var. *ultimum*, *P. sylvaticum* が分離され, 鏡検すると根部組織内に突起をもった蔵卵器と平滑蔵卵器が観察された。また, 3 種の菌を単独でオオムギに接種すると, 黄化症状および根部に褐変が再現されて, その根部組織中に 3 種の菌の卵胞子や菌糸のふくらみが認められ, また, 3 種の菌が再分離された。以上のことから, オオムギの黄化症状に *P.*

spinosum, *P. ultimum* var. *ultimum*, *P. sylvaticum* が関与していると結論された。なお、遠山・草葉 (1967)²³⁾ は、有刺の蔽卵器と無刺の蔽卵器を形成する菌株、および蔽卵器をもたない菌株が分離されることを報告している。これらの *Pythium* 属菌は、それぞれここで同定した *P. spinosum*, *P. ultimum* var. *ultimum*, *P. sylvaticum* に相当すると考えられた。

わが国におけるオオムギ褐色雪腐病菌 (*P. paddicum*, *P. graminicola*, *P. vanterpoolii*, *P. volutum*, *P. iwayamai*, *P. horinouchiense*, *P. okanoganense*)^{8,11)} のうち、前4種は非積雪地帯の湿地や水田、あるいは罹病したコウライシバの直立茎基部から検出されており^{7,12)}, *P. paddicum* については人工接種によりコムギ (農林64号) に病原性が認められている (未発表データ)。しかし、これらの *Pythium* 属菌は、本研究では全く検出されなかった。また、罹病オオムギ株から *P. spinosum* が分離された報告²⁶⁾ があるが、接種試験は行われていない。なお、この報告ではナタネ苗根腐病株などから分離された *P. spinosum* がオオムギを罹病させる²⁶⁾ と述べられている。以上のことから、ここで同定した3種の *Pythium* 属菌は、オオムギの病原菌としてはわが国で初めての記載であり、とくに、*P. spinosum* および *P. sylvaticum* は世界で最初の記載である^{3,6,9,16,17,18,24,25)}。

接種試験による発芽率や根部の褐変程度から *P.*

spinosum の病原力が最も強く、ついで *P. ultimum* var. *ultimum* であり、*P. sylvaticum* は弱かった。遠山・草葉 (1967)²³⁾ は有刺の蔽卵器をもつ菌株の病原力は強いことを報告している。この菌は *P. spinosum* であると考えられ、*P. spinosum* が最も病原力が強いという本試験の結果とも一致した。

以上の結果より、オオムギの黄枯病には3種の *Pythium* 属菌が関与し、*P. spinosum* が最も重要な病原菌で、ついで *P. ultimum* var. *ultimum* であり、*P. sylvaticum* はあまり重要でないと結論した。

本稿をまとめるにあたり、*P. sylvaticum* の菌株を分譲していただいた岐阜大学の景山幸二博士ならびに種々の有益なご助言をいただいた滋賀県立短期大学遠山明教授に厚くお礼申し上げる。

摘 要

わが国で初めて、オオムギ黄枯病菌として3種の *Pythium* 属菌 (*P. spinosum*, *P. ultimum* var. *ultimum*, *P. sylvaticum*) を同定した。そのうち *P. spinosum* と *P. sylvaticum* は、オオムギの病原菌としては世界で最初の記載である。分離や接種試験の結果から、*P. spinosum* が最も重要な病原菌で、ついで *P. ultimum* var. *ultimum* であり、*P. sylvaticum* はあまり重要でないと結論した。

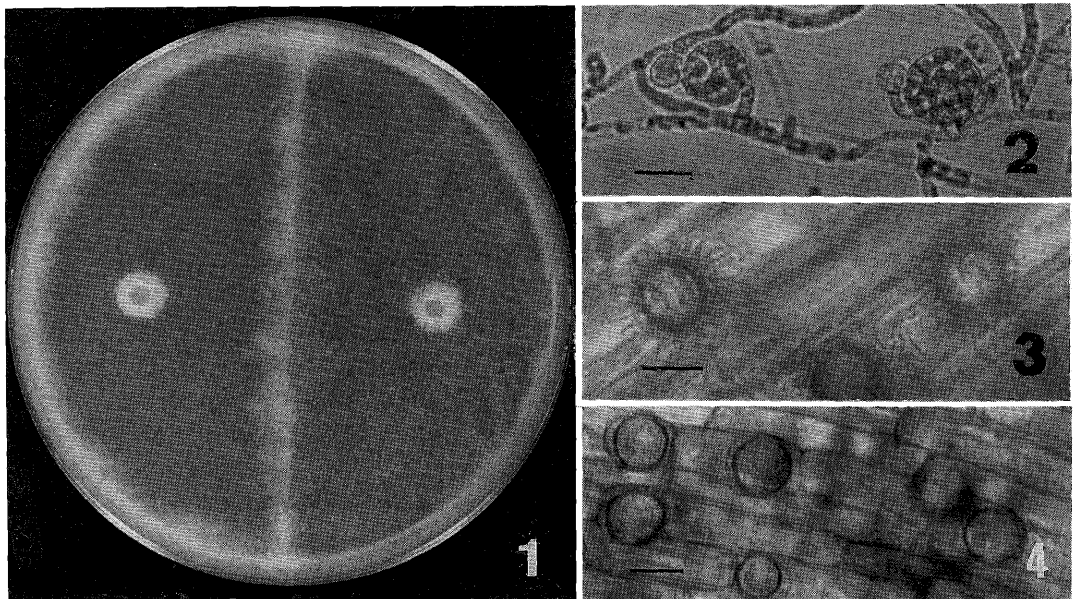
引 用 文 献

1. Ali-Shtayeh, M.S., Ho, C.L. and Dick, M.W. (1986). An improved method and medium for quantitative estimates of populations of *Pythium* species from soil. Trans. Br. mycol. Soc. 86: 39-47.
2. 安正 純・吉野正義 (1964). オオムギ縮萎病に関する生態的研究. 埼玉県立農業試験場報告 25: 1-115.
3. Bruehl, G.W. (1953). *Pythium* root rot of barley and wheat. U. S. Dept. Agr. Tech. Bull. 1084: 1-24.
4. Campbell, W.A. and Hendrix, F.F., Jr. (1976). A new heterothallic *Pythium* from southern United States. Mycologia 59: 274-278.
5. Drechsler, C. (1960). Two root-rot fungi closely related to *Pythium ultimum*. Sydowia 14: 106-115.
6. Farr, D.F., Bills, G.F., Chamuris, G.P. and Rossman, A.Y. (1989). Fungi on Plant and Plant Products in the United States. APS Press, St. Paul. p. 395.
7. Fukui, R., Kitano, S., Takamatsu, S. and Ichitani, T. (1987). Taxonomic consideration on two closely related species. *P. paddicum* and *P. poplypapillatum*. Bull. Univ. Osaka Pref., Ser. B, 39: 21-31.
8. 平根誠一 (1960). 麦類褐色雪腐病の研究, 特に病原菌の分類について. 日菌報 2: 82-87.
9. Horst, R.K. (1990). *Pythium*. In Westcott's Plant Disease Handbook. Van Nostrand Reinhold Co., New York. pp. 409-410.
10. Ichitani, T. and Kang, H.T. (1988). Materials for *Pythium* flora of Japan (I). Plant-pathogenic *Pythium irregulare*. Bull. Univ. Osaka Pref., Ser. B 40: 19-26.
11. Ichitani, T., Takamatsu, S. and Stamps, D.J. (1986). Identification and pathogenicity of three species of *Pythium* newly isolated from diseased wheat and barley just after thawing in Japan. Ann. Phytopath. Soc. Japan 52: 209-216.
12. 一谷多喜郎・谷 利一・馬越隆治 (1986). コウライシバに病原性を示す *Pythium* 属菌の同定. 日菌報 27: 41-50.
13. 河野富香・宮本義行・萩原良雄 (1964). 大裸麦黄枯症状の病徴ならび根部寄生菌 *Pythium* について. 中国農業

研究 31 : 29-31.

14. 楠 幹生・秋山修一・都崎芳久 (1990). 香川県仲多度地域における裸麦黄化症状について. 四国植防 25 : 23-31.
15. 楠 幹生・一谷多喜郎・三浦 靖 (1992). オオムギ黄枯病を起こす三種 *Pythium* 属菌の同定. 日植病報 58 : 543.
16. Mathre, D.E. ed. (1987). *Pythium* (browning) root rot. In Compendium of Barley Diseases. APS Press. St. Paul. pp. 12-13.
17. 日本植物病理学会 (1990). 日本有用植物病名目録. 第1巻. 第3版. pp. 20-28, 356.
18. 日本植物病理学会病名調査委員会編 (1990-1992). 日植病報 56 : 162 ; 57 : 139 ; 58 : 169-170.
19. Plaats-Niterink, A.J. var der (1981). Monograph of the genus *Pythium*. Stud. Mycol. 21 : 1-242.
20. 澤田兼吉・陳 基昌 (1926). 金魚草の苗腐病に就て. 台湾博物学会会報 87 : 199-212.
21. 田杉平司 (1934). 麦類の黄枯病に就て. 日植病報 3 : 78-79.
22. 東條元昭・一谷多喜郎 (1990). ELISA 用のマイクロタイタープレートを用いた *Pythium* 属菌の形態観察法改良の試み. 関西病虫研報 32 : 68.
23. 遠山 明・草葉敏彦 (1967). 黄化症状を呈する二条大麦の根から分離された *Pythium* 属菌の病原性について. 中国農業研究 36 : 46-48.
24. U.S.D.A. (1953). Root rots of wheat, oat, rye, barley. In Plant Diseases. The Yearbook of Agriculture. U. S. Dept. of Agriculture, Washington, D.C. pp. 321-328.
25. U.S.D.A. (1960). Index of plant diseases in the United States. In Agriculture Handbook. No. 165. U.S. Dept. of Agriculture, Washington, D.C. pp. 187-188.
26. 山本和太郎・前田巳之助 (1961). 農作物の立枯病又は根腐病を起こす *Pythium spinosum* Sawada の研究. 特に寄生植物の範囲と地理的分布. 兵庫農科大学研究報告 農業生物学編 5 (1) : 13-25.

Plate I



1. Mating reaction between two compatible isolates [left, female strain (UOP319) ; right, male strain (IFO32609)].
 2. Oogonia and antheridia of *P. sylvaticum*.
 - 3, 4. Oospores of *P. spinosum* (Plate I-3) or *P. ultimum* var. *ultimum* (Plate I-4) inside the tissue cells of diseased rootlets.
- Bars : 20 μ m.