

ウリ科野菜のホモブシス根腐病

千葉大学園芸学部 宍戸 雅宏

はじめに

本邦におけるホモブシス根腐病は、1980年代前半に橋本ら（1985）によって埼玉県のカボチャ台キュウリでの発生が確認された。その後、小林ら（1992）が神奈川県のメロン、スイカ、カボチャについても報告し、主要なウリ科野菜に萎凋症をもたらす病害として20年以上も前から知られてきた。病原菌については、病徵や菌の形態的特徴から *Phomopsis sclerotiooides* が当初から候補に挙がっていたが、分生子形成が困難であるために正確な同定までには至っていなかった。最近、本病原菌の分生子形成が確認されるとともに分子生物学的解析から、本菌がやはり *P. sclerotiooides* であることが明らかとなった（佐藤ら、2005；SHISHIDO et al., 2006）。

一方、防除方法については、本菌は熱耐性が低いことから太陽熱消毒などが効果をあげてきた（小林ら、1997）。しかし、近年、これらの方法を適用しにくい東北地方の露地キュウリ産地に被害が拡大しつつある。また、年によってばらつきがあるものの、関東以南でも本病の被害は収束しておらず、対策の確立が急がれる（宍戸・竹内、2005）。本稿では、病原菌の同定が一段落した機会に、これまで蓄積された本病に関する知見の大要を概説したい。

I 病 原 菌

1 形態

Phomopsis 属（完全世代：*Diaporthe*）の主要な特性の一つに分生子座の形成があるが、*sclerotiooides* では分生子座は黒褐色の扁平な分生子殻となって表皮下に作られる（van KESTEREN, 1966）。我々の実験では、素寒天培地上に置床した減菌インゲン莢に菌を植え付けてから約3週間で分生子殻が形成された（図-1）。表層の菌糸とインゲン莢の表皮を取り除くと、表面が硬くごつごつした分生子殻が現れ（図-1 A），その内壁には分生子柄とその先端に長い橢円形の分生子が観察された（図-1 B, C）。*P. sclerotiooides* の分生子は二つの油球をもった α 胞子の

Black Root rot of Cucurbits Caused by *Phomopsis sclerotiooides*.
By Masahiro SHISHIDO

（キーワード：ホモブシス根腐病、ウリ科野菜、*Phomopsis sclerotiooides*）

み（図-1 D）で、他の *Phomopsis* 属菌に見られるような針状に細長い β 胞子は見られない。前述のように、この分生子殻と分生子はなかなか形成されず、それが本菌の正式な同定を遅らせてきたわけだが、van KESTEREN (1966) の原記載ではインゲン莢のほかにサクランボ培地も推奨している。しかし、我々の作ったサクランボ培地では菌糸はよく生育するものの、分生子殻の形成は全く見られず、ヨーロッパと日本のサクランボの質に違いがあるのかも知れない。もっとも、本菌に特徴的な擬似菌核は、このサクランボ培地を含めて様々な培地で容易に形成されることから、分離・培養した菌の判定や接種源としては分生子ではなく擬似菌核が有効であろう。

2 分子系統解析

糸状菌の分子系統解析には、種特異性が得やすいリボゾーム DNA の中で比較的変異が見られる ITS 領域を用いることが多い、地上部に病害を起こす *Phomopsis* 属でもこの部位が利用されている（KANEMATSU et al., 2000；ZHANG et al., 1998）。日本各地のメロン、ユウガオ台スイカ、カボチャの根部から分離し、病原性を確認したホモブシス根腐病菌 9 菌株のリボゾーム DNA-ITS 領域の塩基配列はすべて同じで、かつ、ATCC の *P. sclero-*

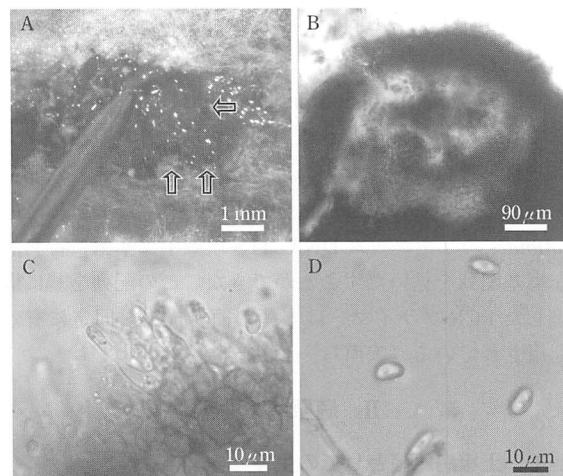


図-1 ホモブシス根腐病菌 (*Phomopsis sclerotiooides*) の分生子殻と分生子

A：インゲン莢表皮下に形成された分生子殻（矢印）、
B：分生子殻の横断面、C：分生子殻の内壁に形成された分生子柄と分生子、D：二つの油球をもった分生子。

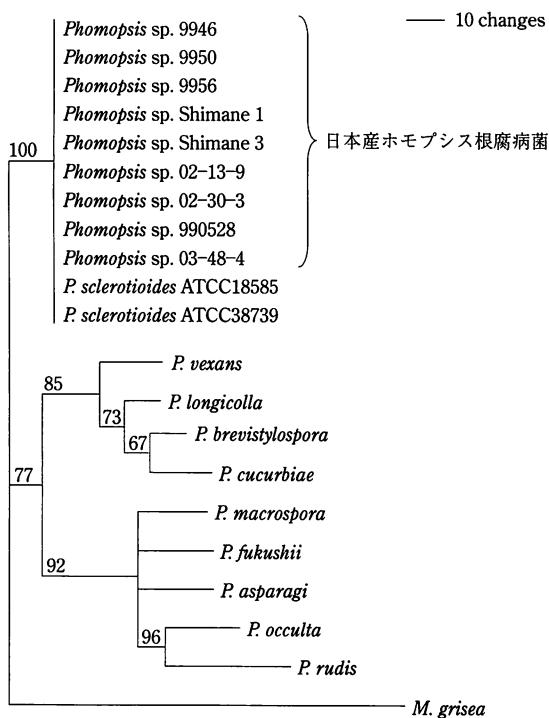


図-2 日本産ホモブシス根腐病菌と *Phomopsis sclerotoides* およびその他のホモブシス属植物病原菌による分子系統樹
リボゾーム DNA-ITS 領域を用いた最節約法により系統樹を作成した。分岐点の数値は 1,000 回によるブーストラップ確率を示す。

troides 菌 2 菌株（キュウリ分離株）由来の塩基配列とも完全に一致した。さらに、この配列を他の *Phomopsis* 属菌と比較すると、明確な单一系統群を示した（図-2）。また、Random amplified polymorphic DNA (RAPD) 分析でもこの結果は支持されたことから、日本産ホモブシス根腐病菌は、やはり *P. sclerotoides* であることに間違いないと思われる (SHISHIDO et al., 2006)。なお、*P. sclerotoides* のリボゾーム DNA-ITS 領域中に本菌に特異的な塩基配列を見いだすことができた。この配列を基に構築した PCR プライマーは本菌の簡易検出・同定に有効利用されている (宍戸ら, 2006)。

II 病原菌の生態

1 土壤病原菌としての生存

前章のように明らかな单一系統群を示すことから、*sclerotoides* は *Phomopsis* 属の中でも比較的ユニークな存在であると考えられる。実際、病原性をもつ他の *Phomopsis* 属菌は、*sclerotoides* 以外はすべて植物地上部に病害を起こすが、なぜ *sclerotoides* だけが地下部を侵

し、土壤中で生活するようになったのかは興味のあるところである。本菌は *sclerotoides* と名付けられたように擬似菌核を形成することが特徴であり、また、橋本・吉野 (1985) は地表下 20 cm までの比較的浅層部で病原菌密度が高いことを報告している。これらから、地上部に生息していた菌が擬似菌核という土壤中の耐久生存体の形成能力を獲得して、土壤中での生存が可能になったという仮説が考えられる。この仮説が成り立つためには、本菌も含めて *Phomopsis* 属菌は分生子殻や分生子だけでは土壤中での生存・増殖が困難であることを証明する必要がある。実際、本菌は分生子殻の形成が極めてまれで、自然界では確認されていない。一方、最近オレゴン州で見つかったツツジ科の lingonberry (*Vaccinium vistis-idaea*) に枝枯れを起こす *P. columnaris* は、*P. sclerotoides* とリボゾーム DNA-ITS 領域の塩基配列がかなり似通っている (FARR et al., 2002)。*P. columnaris* は依然として地上部に寄生することから、少なくともこれら 2 種の比較は、上記の疑問に対する答えのヒントを与えてくれるかも知れない。

2 菌糸体和合性群 (Mycelial Compatibility Group, MCG)

RAPD 分析では、日本産の *P. sclerotoides* はほぼ同じ多型を示したこと、リボゾーム DNA-ITS 領域の塩基配列による分類を支持していたと言える (SHISHIDO et al., 2006)。しかし、菌糸体和合性群 (Mycelial Compatibility Group, MCG) による個体群識別では、日本産 *P. sclerotoides* にもいくつかの異なるタイプの存在が示唆された (表-1)。MCG 分析において、ITS 領域の塩基配列や RAPD で検出できなかった菌株の差異が現れるることは、菌糸融合がいくつもの遺伝子座の一致を必要とすることから珍しいことではない。しかし、これらのグループ間に分離源宿主や地域による差異は見いだされなかった。土壤病原菌の多くは、紫紋羽病菌や白絹病菌、ならたけ病菌等の例からも言えるように菌糸束や菌核等の栄養繁殖体を通して徐々に拡大していく。*P. sclerotoides* でも個体群に多型が検出されたということは、無性繁殖において突然変異が起きた可能性が高いと考えられる。もちろん、本菌の有性世代が見つかれば、必ずしも突然変異が MCG 多型の要因とは言えないが、いずれにせよ日本産 *P. sclerotoides* の MCG が何に起因し、どのような淘汰圧によって形成されたのかは興味深い点である。

3 宿主範囲と宿主特異性

今のところ、ホモブシス根腐病菌がウリ科以外の植物に病害を起こすことは知られていない。また、ウリ科内

表-1 ウリ科野菜のホモブシス根腐病菌における菌糸体和合性 (Mycelial compatibility)

菌株名	分離源 宿主	分離地	9946	9950	9956	Shimane 1	Shimane 3	02-13-9	02-30-3	990528	03-48-4	18585	38739
9946	スイカ	千葉	+										
9950	スイカ	千葉	-	+									
9956	スイカ	千葉	-	-	+								
Shimane 1	メロン	島根	-	-	-	+							
Shimane 3	メロン	島根	-	-	+	-	+						
02-13-9	メロン	千葉	-	-	-	-	-	+					
02-30-3	カボチャ	千葉	±	-	+	-	±	-	+				
990528	カボチャ	神奈川	-	-	-	-	-	-	-	+			
03-48-4	カボチャ	茨城	-	-	±	-	±	-	+	-	+		
18585	キュウリ	オランダ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
38739	キュウリ	イギリス	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

+ : 和合性, - : 不和合性, ± : 検定結果が不安定。

での宿主特異性の報告もない。橋本ら (1985) のカボチャ台キュウリ分離株は、台木用カボチャやヘチマ、トウガンでの病徵が軽微であったが、好適発病条件下では相当な被害が出ているし、我々の使用しているメロン分離菌株もキュウリやスイカに同程度の被害を起こすことができる。また、前述のように MCG で検出された菌株間の差異は分離源の植物種とは一致していないかった。リボゾーム DNA-ITS 領域の塩基配列は全く同じであること、そして RAPD 分析でも分離源の宿主とは関係が見られないことから、遺伝的にも宿主特異性を示唆する証拠は得られていない。しかし、各菌株による宿主植物別の病徵や侵入の程度までは精査されておらず、本病の宿主特異性を結論付けるためには、今後、綿密な交叉接種実験によって様々なウリ科植物に対する親和性の有無を確認しておく必要があろう。

4 感染・発病機構

本病の感染・発病機構はまだ不明な点が多い。後述のように土壤消毒が極めて有効な防除法であることから、土壤中に伝染源があることは疑いなく、耐久生存している擬似菌核から菌糸が伸長して根から侵入すると考えられる。しかし、侵入・感染、そして、その後の萎凋に至る経緯はまだ明らかになっていない。本菌の生育適温は 25 ~ 26°C と他の病原糸状菌と同様であるが、低温期の定植で本病の被害が助長されることや冷涼地域に拡大していることから、本菌の感染・発病は生育適温よりも低温側でより促進される可能性がある。

永坂ら (2006) は、本病の感染キュウリ根において褐変程度と導管液量に負の関連性を見いだした。また、スイカでは着果負荷による本病の発生程度に相異が見られ(宍戸・竹内, 2005), さらに、泥炭と鶏糞を併用施用した試験では、土壤水分のばらつき(最高値と最低値の差)

が大きい処理区ほどメロンホモブシス根腐病の発生が多かった(未発表データ)。これらのことから、菌の感染による導管液量の低下と宿主の水分ストレスの悪化が萎凋症状を起こす要因と推察される。

III 防除対策

1 耐病性品種

現在のところ、本病に対する抵抗性遺伝子は報告されておらず、抵抗性品種も登録されていない。しかし、台木用カボチャや台木用ユウガオでは不完全ながら病徵の軽減が見られ、耐病性台木の育成が期待される(橋本・吉野, 1985)。ここでの問題は、穂木の品質に対しての悪影響(例えば、キュウリの場合、最も耐病性の強いカボチャ台木は黒種カボチャであり、ブルームレス台木の耐病性は弱い)が見られることで、経営面から生産者が利用を制限せざるを得ないことであろう。

2 土壤消毒

本病の被害程度は土壤中の病原菌密度に依存するが、その閾値は極めて低いことから(村上ら, 2006), 土壤中の病原菌を確実に死滅させる方法が重要である。土壤くん蒸剤の中では、クロルピクリンが最も本菌の死滅効果が高いようである(宍戸・竹内, 2005)。しかし、土壤くん蒸処理は施用者の健康や周辺環境への懸念、有用菌の死滅など問題点も多い。そこで、本菌が比較的の低温(37.5°C で 2 日間, 35°C で 6 日間)でも死滅することから太陽熱消毒の利用が考えられる。本法の問題は地表下 30 cm に存在する病原菌まで完全に死滅させることが難しいことである。そこで、小林ら(1997)は太陽熱消毒と薬剤(D-D 油剤、メチルイソシアネート)を併用することを提案し、この方法によって深度 30 cm までメロンホモブシス根腐病菌をほぼ完全に消毒できることを

報告している。また、近年考案された土壤還元消毒を用いれば、地温が30°C前半でも効果が期待でき、地温上昇が不十分な場合の太陽熱消毒の代替法として有効である(宍戸・竹内, 2005)。

これら施設栽培で利用可能な方法に対して、露地栽培、特にキュウリの防除対策としては、近年開発された熱水土壤消毒が期待される。また、堀越ら(2006)は遮根シート用いて汚染土壤からキュウリ根域を隔離し、土壤消毒の効果をより確実なものにすることに成功している。

3 生物的防除

生物的防除によるホモプシス根腐病の防除例はあまり多くないが、*Gliocladium roseum* (Moody and GINDRAT, 1977) や *Bacillus subtilis* (KITA et al., 2004), *Pseudomonas* sp. (REZZONICO et al., 2004) で抑制効果が示されている。本菌は成長が比較的緩慢であり、病原力もそれほど強いわけではないことから、今後この分野での研究が期待される。また、菌類ウイルスの多くは二本鎖RNA(dsRNA)をゲノムにもち、その中には宿主の病原力を低下させるものが知られている。この研究は果樹類紋羽病菌で精力的に行われているが、*Phomopsis* 属菌にも白紋羽病菌で見いだされたdsRNAを感染させることが可能であり、それによってナシ胴枯病の病斑は縮小された(佐々木, 2004)。この例はナシ枝に着生する*Phomopsis* 属菌を対象としたが、元来、紋羽病菌は土壤病原菌であり、同じ環境で生活しているホモプシス根腐病菌にも応用できる可能性が十分あると考えられる。

4 耕種的防除

土壤理化性の面で、大島ら(2004)が土壤の硝酸態窒素過剰に伴う低pH化とリン酸過剰がホモプシス根腐病の発生を促進することを指摘し、リン酸資材や家畜ふん堆肥の多量施用を改善する必要があると報告している。また、前述のように、宿主の水分ストレスが少ないほど本病の発生が軽減される傾向が見られることから、土壤pHや養分過剰、不安定な土壤水分による宿主への理化学的なストレスは、本病の被害を助長する可能性が高いと考えられる。したがって、防除に際しては宿主の健全な生育を促す栽培環境の管理も病原菌の制御と同様に重要であろう。

おわりに

本邦において、ウリ科野菜にホモプシス根腐病が見つかって以来20余年が経過したが、ここに来てようやく病原菌名は疑いのないものになった。その間、防除対策として太陽熱消毒および薬剤の併用法が確立されたが、本法の施設栽培外での適用は難しく、露地栽培での対策が急がれる。一方、本菌の有性世代が見つかっていないにもかかわらず、日本産菌株間に菌糸体和合性群が認められたことは興味深い。現在までの限られた知見からは、この菌糸体和合性の差異を説明できる要因はない。今後、本菌におけるβやγ分類(あるいはω分類)の進展が本病による被害地域の拡大阻止に貢献することを期待したい。

最後に、ホモプシス根腐病菌を分離・収集するに当たって、神奈川県病害虫防除所の小林正伸氏、千葉県農業総合研究センターの竹内妙子氏、日本園芸生産研究所の佐藤京子氏、福島県農業試験場の堀越紀夫氏に多大なご協力とご助言をいただいた。ここに記して御礼申し上げる。

引用文献

- 1) FARR, D. F. et al. (2002) : Mycol. Res. 106 : 745 ~ 752.
- 2) 橋本光司ら (1985) : 日植病報 51 : 94 (講要).
- 3) ————・吉野正義 (1985) : 植物防疫 39 : 570 ~ 574.
- 4) 堀越紀夫ら (2006) : 平成18年度日本植物病理学会大会講演要旨予稿集 : 118.
- 5) KANEMATSU, S. et al. (2000) : J. Gen. Plant Pathol. 66 : 191 ~ 201.
- 6) KITA, N. et al. (2004) : JARQ 39 : 109 ~ 114.
- 7) 小林正伸ら (1992) : 日植病報 58 : 555 (講要).
- 8) ————ら (1997) : 関東病虫研報 44 : 79 ~ 81.
- 9) MOODY, A. R. and D. GINDRAT (1977) : Phytopathology 67 : 1159 ~ 1162.
- 10) 村上洋之ら (2006) : 平成18年度日本植物病理学会大会講演要旨予稿集 : 53.
- 11) 永坂 厚ら (2006) : 同上 : 54.
- 12) 大島宏行ら (2004) : 日本土壤肥料学会2004年次大会講演要旨集 : 53.
- 13) REZZONICO, F. et al. (2004) : Appl. Environ. Microbiol. 70 : 5119 ~ 5131.
- 14) 佐々木厚子 (2004) : 植物防疫 58 : 54 ~ 58.
- 15) 佐藤 剛ら (2005) : 北日本病虫研報 56 : 211.
- 16) 宮戸雅宏・竹内妙子 (2005) : 植物防疫 59 : 65 ~ 68.
- 17) ————ら (2006) : 平成18年度日本植物病理学会大会講演要旨予稿集 : 101.
- 18) SHISHIDO, M. et al. (2006) : J. Gen. Plant Pathol. 72 : 220 ~ 227.
- 19) van KESTEREN, H. A. (1966) : Neth. J. Plant Pathol. 73 : 112 ~ 116.
- 20) ZHANG, A. W. et al. (1998) : Phytopathology 88 : 1306 ~ 1314.