

## 速報

*Raffaelea quercivora* の成長に培地の水分状態が与える影響\*1

高畑義啓\*2

高畑義啓：*Raffaelea quercivora* の成長に培地の水分状態が与える影響 九州森林研究 64：75-76, 2011 現在, 日本各地で問題となっているナラ枯れにおける樹木病原性糸状菌 *Raffaelea quercivora* の成長に培地の水分状態が与える影響を検討するため, ショ糖または塩化カリウムで培地の水ポテンシャルを調節したポテトデキストロース寒天平板培地を作成し, 20℃におけるコロニー直径の拡大を計測した。供試した *R. quercivora* の3菌株いずれについても, 水ポテンシャルが低下するにつれてコロニーの成長がより強く阻害されるようになり, 20 MPa の低下では全く成長しなくなる場合も見られた。また, 水ポテンシャル低下による成長阻害の受けやすさは菌株によって異なっていた。

キーワード：ナラ枯れ, *Raffaelea quercivora*, 水ポテンシャル

## I. はじめに

現在, 本州の各地および九州南部で, ナラ類およびシイ・カシ類の枯死が多発し, 各地で問題となっている(以下, この現象を「ナラ枯れ」と呼ぶ)。九州地域では本州と比較すると被害は大きくないものの, 2010年には九州本島南部や屋久島, 種子島で多くの被害が発生するなど, 時に顕著な被害が発生している。このナラ枯れは, 病原性糸状菌である *Raffaelea quercivora* を養菌性キクイムシであるカシノナガキクイムシ *Platypus quercivorus* が伝播することで起こる, ブナ科樹木萎凋病の流行である。

一般に, 植物病原菌の感染・定着に基質の水分状態が影響する場合があることが知られている。ナラ枯れについても, 含水率の低い餌木ではカシノナガキクイムシの繁殖が抑制され, *R. quercivora* の分離率も低下するという報告がある(小林ほか, 2003)。こうしたことから, 本菌の樹体内での挙動や他の微生物との相互作用を解明する上で, 基質の水分状態が本菌に与える影響を明らかにすることが重要であると考えられる。しかしそのような観点に基づいた本菌の生理学的な研究は行われていない。そこで本研究では, 寒天平板培地上の *R. quercivora* の成長に培地の水分状態がどのような影響を与えるかを検討した。

## II. 材料と方法

ナラ枯れ被害木の材から分離されたブナ科樹木萎凋病菌 *R. quercivora* の3菌株を供試した(表-1)。

培地の水ポテンシャルの調製は Klepzig *et al.* (2004) に従った。ポテトデキストロース寒天 (PDA) 培地 ((株) 栄研) を基本となる培地として, これに塩化カリウム (KCl) またはショ糖 (いずれも (株) 和光純薬「特級」) を添加し, 通常の PDA より水ポテンシャルが 5 MPa, 10 MPa, 20 MPa (理論値) だけ低くなるように調製した(表-2)。これらを 121℃で15分間高圧蒸気

滅菌した後, 外径 90 mm のプラスチックシャーレ内に約 20 ml ずつ分注して平板培地とした。対照として, 何も添加しない PDA 平板培地を作成した。培地が平衡に達するよう, 平板が固化してからクリーンベンチ内で一晩静置したものを実験に用いた。

PDA 平板培地上で3週間前培養した各菌株のコロニーから内径 4 mm のコルクボーラーで接種源を打ち抜き, これを平板培地の中央に接種した。培地の乾燥を防ぐためパラフィルムでシャーレを封じて 20℃暗黒下で静置培養を行い, 接種2日後から9日後までの毎日と14日後にコロニーの直径を計測した。直径は互いに直角で交わる2方向で計測し, その平均をその日のコロニーの直径とした。コロニーの外縁がシャーレ内壁に到達した場合には, その時点でそのコロニーの計測を打ち切った。菌株と培地水ポテンシャルの組み合わせごとの反復数は5である。

## III. 結果と考察

供試した3菌株の全てで, コロニーの直径成長は培地水ポテンシャルが低下するのにもなって減少し, 20 MPa の低下ではほ

表-1. 供試菌株

菌株	採集地	分離源
KRC048	福井県今庄町	ミズナラ辺材変色部
KRC050	滋賀県マキノ町	コナラ辺材変色部
NA9810	山形県朝日村	樹種不明, 辺材変色部

表-2. 培地の組成

培地	PDA g/L	KCl g/L	ショ糖 g/L
基本	39.0	0.0	0.0
KCl 添加 (-5 MPa)	39.0	8.2	0.0
KCl 添加 (-10 MPa)	39.0	16.6	0.0
KCl 添加 (-20 MPa)	39.0	33.5	0.0
ショ糖添加 (-5 MPa)	39.0	0.0	68.1
ショ糖添加 (-10 MPa)	39.0	0.0	134.2
ショ糖添加 (-20 MPa)	39.0	0.0	261.0

\*1 Takahata, Y.: Effects of water status of culture media on the growth of *Raffaelea quercivora*.

\*2 森林総合研究所九州支所 Kyushu Res. Center, For. &amp; Forest Prod. Res. Inst., Kumamoto 860-0862

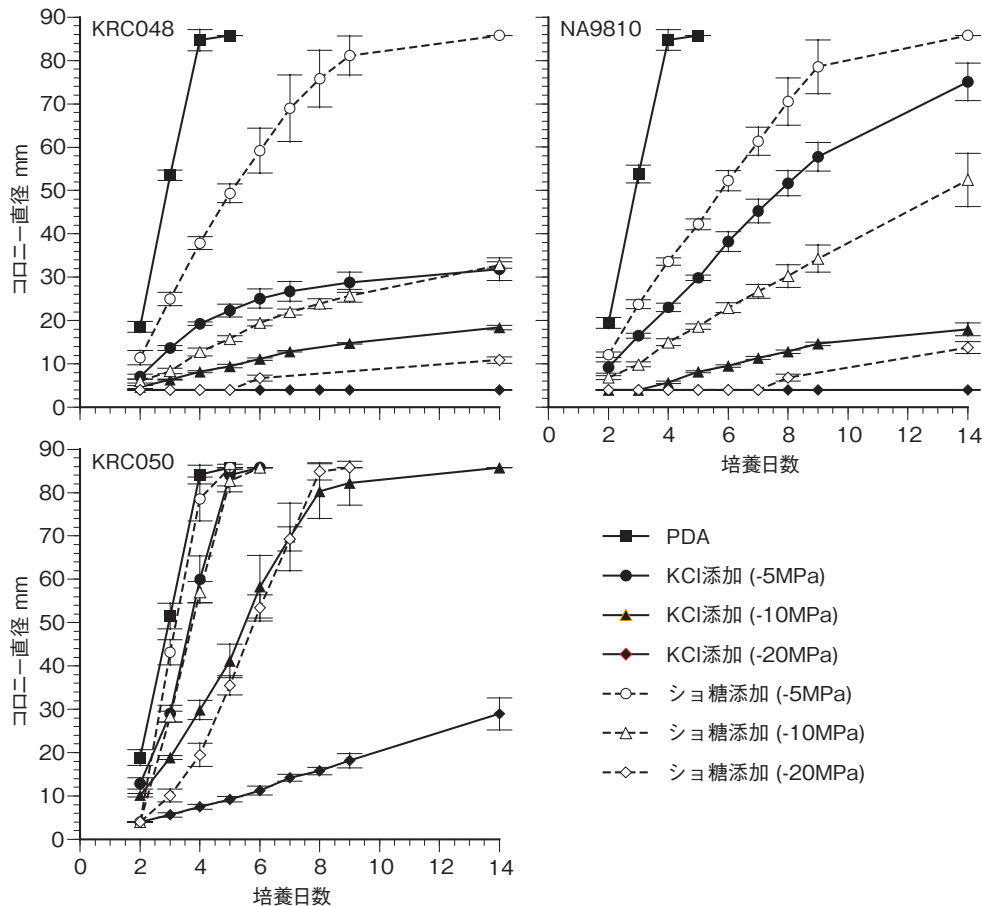


図-1. 水ポテンシャルを低下させた培地上での *R. quercivora* コロニーの直径成長  
 棒は標準偏差を表わす。培養開始後2~9日までの間でプロットの途中で点がない場合、その日はその処理区の全てのシャーレで前日からの成長が確認できなかったことを示す。

とんど成長しなくなる場合も観察された(図-1)。

培地水ポテンシャルの低下にともなって成長が阻害される傾向が全ての菌株で見られたことから、これは本菌に共通した形質であると考えられる。ナラ枯れ被害木の材の水ポテンシャルを実測した例はないが、サザンパインビートル *Dendroctonus frontalis* の加害を受けた樹木の師部の水ポテンシャルは-5.6~-12.5 MPaであったという(Klepzig *et al.*, 2004)。この測定例とナラ枯れとは樹種も昆虫の加害様式も異なるが、仮にナラ枯れの被害木の材の水ポテンシャルもこの程度だとすれば、被害木の材内での本菌の成長は材の水分状態によってかなりの制限を受けているものと考えられる。この推察は、カシノナガキクイムシが穿孔した餌木の含水率が低い場合には *R. quercivora* の分離率が低下するという既往の報告(小林ほか, 2003)とも整合的である。今後、本菌の人工培養下での水分生理と野外での挙動とを関連づけるためには、ナラ枯れ被害木で材の水ポテンシャルを計測することが必要である。

水ポテンシャルの設定が同じであれば、シヨ糖を添加した場合よりKClを添加した場合の方が成長の減少は大きかった。この原因として、菌類がシヨ糖を炭素源として利用可能であること、KClそのものに成長阻害作用があることなどが考えられるが、本研究の結果のみでは原因を明確にすることはできない。

培地水ポテンシャルの低下に対する反応は菌株によって異なっていた(図-1)。KRC050では全体に成長が速く、KCl添加(-20 MPa)以外の培地全てで、培養開始後14日以内にコロニー外縁がシャーレ内壁に到達した。一方、KRC048では、PDAおよびシヨ糖添加(-5 MPa)の培地でコロニー外縁がシャーレ内壁に到達したものの、それら以外の培地上では培養開始後14日を経過してもコロニー直径がシャーレ直径の半分にも達しなかった。NA9810はKRC050とKRC048の中間的な傾向を示した。このような基質の水ポテンシャル低下に対する菌株ごとの反応の違いは、各菌株の自然条件下での挙動や種内競争にも関係している可能性があり、今後さらなる研究を要する。

## 謝 辞

NA9810 菌株は森林総合研究所本所の窪野高德博士に分譲していただいた。ここに記して感謝申し上げます。

## 引用文献

Klepzig, K. D. *et al.* (2004) Mycol. Res. 108 : 183-188.

小林正秀ほか (2003) 日林誌 85 : 100-107.

(2010年10月23日受付; 2011年1月26日受理)