

培地上で形成されたベッコウタケ厚壁胞子の耐久性について

Notes on durability of chlamydospores of *Perenniporia fraxinea* produced on artificial media.山林司*¹・阿部恭久*¹Tsukasa YAMABAYASHI*¹ and Yasuhisa ABE*¹

* 1 日本大学生物資源科学部

Coll. Bioresource Sci., Nihon Univ., Fujisawa 252-0880

要旨：広葉樹の根株心材腐朽菌ベッコウタケ (*Perenniporia fraxinea*) の厚壁胞子は、担子胞子とともに他の樹木への感染源として働くと考えられている。本菌の厚壁胞子については未解明な部分が多くあるため、厚壁胞子の耐久性について検討した。麦芽エキス液体培地上で形成された厚壁胞子を風乾し、一定期間（1日、7日、14日、30日、60日）保存したのち、PDA平板培地上で厚壁胞子の発芽率を求めた。その結果、保存1日後の発芽率は25°Cで27.4%、30°Cで26.5%であった。しかし、保存期間が長くなるにつれ発芽率は減少し、保存30日後には25°Cで10.8%、30°Cで11.85%となり、保存60日後には発芽は確認されなかった。これにより、長期保存におけるベッコウタケ厚壁胞子の発芽可能期間は60日未満と考えられた。

キーワード：ベッコウタケ，厚壁胞子，発芽率

I はじめに

ベッコウタケ (*Perenniporia fraxinea*) はサルノコシカケ科キンイロアナタケ属の木材腐朽菌である。国内では、北海道から九州にかけて、海外ではアメリカ東部、カナダ東部、中央～南ヨーロッパ等に幅広く分布している。本菌は、菌糸に厚壁胞子を形成する性質を持っており、菌糸の内容物が細胞の一方に集まり、次第に顆粒状に変化し、比較的厚い膜を作り接続している菌糸から遮断することにより形成される (1)。厚壁胞子形成部分は、菌糸の先端部および中間部に至る。形状は、レモン状、球形、その他不規則な形をしている場合もあり、大きさは8～15 μmである (2)。

本菌は、多種の広葉樹に感染する根株心材腐朽菌であり、時に樹勢を衰退させ枯死をも引き起こす。特にサクラ類やニセアカシアには大きな被害を与えている (3)。また、緑化樹へ大きな被害を与え、樹木の倒伏による被害も懸念されている。樹木への感染は、外傷部に担子胞子や厚壁胞子が付着し発芽することによりおこると考えられている。厚壁胞子は、菌糸、子実体、腐朽材中に形成され、それらが飛散することで樹木に感染すると考えられる。

これまでに、培地上のベッコウタケ厚壁胞子の形成 (4) や、培地の pH の違いによる厚壁胞子の発芽力 (5) 等に関する研究が行われているが、ベッコウタケ厚壁胞子の性質については未解明な部分が多く残されている。そこで本

研究では、厚壁胞子の発芽力、耐久性について検討した。

II 実験方法

1. 温度別の発芽試験 試験に用いたベッコウタケの菌株は、NFM-24, NFM-25, NFM-26, NFM-73 の4菌株である (表-1)。これらの菌株はいずれもベッコウタケ子実体から組織分離した複核菌糸体である。本菌を麦芽エキス液体培地上で3週間培養した。厚壁胞子は培養液中に多く形成されているため、液体培地から液面に成長した菌糸のみを取り除き、厚壁胞子を含む培養液を20ml プラチューブへ移し、ホモジナイザー (VH-10, アズワン社製) を用い1分間菌糸を切断し、滅菌水を加え10倍希釈して厚壁胞子懸濁液を作成した。さらに、厚壁胞子懸濁液から菌糸を取り除くため滅菌したキムワイブを用いて濾過を行った後、厚壁胞子懸濁液をポテトデキストロース平板培地 (PDA 平板培地) 上に滴下、スパチュラで培地全体に拡散させ、5～30°Cの5°C間隔に設定した恒温器内で培養を行った。

厚壁胞子の発芽の観察は培養開始2日目から顕微鏡下 (150倍) で、6日間同時刻 (±1h) に行った。厚壁胞子500個の発芽の有無をカウントし、発芽率 (%) を算出した。厚壁胞子に切り残した菌糸が付いている可能性があるため、厚壁胞子から発芽した菌糸長が20 μmを超えた場合に発芽が起きたと判断した。

2. 耐久性試験 上記の発芽試験と同様の方法で培養液

の濾過を行い、滅菌シャーレへ厚壁孢子懸濁液を滴下し、デシケータに2日間入れ乾燥させた。乾燥後、一定期間(1日, 7日, 14日, 30日, 60日) 25°Cの恒温器内にシャーレを保存した後、シャーレに滅菌水を入れ攪拌し、PDA平板培地上に滴下、スパチュラで培地全体へ拡散させ、25°C, 30°Cに設定した恒温器内で培養を行った。発芽測定は、同様の方法で行った。

III 結果と考察

1. 温度別の発芽試験 ベッコウタケ厚壁孢子の培養日数と発芽率の関係を図-1に示した。30°C, 25°C, 20°Cでは、それぞれ3日目, 4日目, 5日目以降は、発芽後の菌糸成長が早く測定が行えなくなった。2日目には全ての培養温度で厚壁孢子の発芽が確認され、発芽率の最高値は培養温度30°Cの48.9%、最低値は5°Cの2.95%であった。また、20~30°C培養では菌糸成長により、2, 3日目以降の厚壁孢子の発芽測定は行えなかったが、より高い数値になると考えられる。30°C, 25°C培養の発芽率は高い値を示したことから、厚壁孢子の発芽適温は25~30°C付近にあると考えられ、これは本菌の菌糸成長適温25~30°Cと同様であった。5~30°Cの温度で発芽が確認されたことから、本菌の厚壁孢子が夏期以外も樹木に感染する可能性が示唆された。

2. 耐久性試験 ベッコウタケの厚壁孢子の保存期間と発芽率の関係を、表-2(培養温度30°C)と表-3(培養温度25°C)に示した。保存1日後の発芽率は30°Cで26.5%、25°Cで27.4%であり、保存0日の発芽率から1/2程度に発芽率が低下した。保存期間が経過するにつれて厚壁孢子の発芽率は低下し、保存30日後の発芽率は30°C培養で11.25%、25°C培養で10.8%となり、保存60日後では発芽が観察されなかった。本菌は保存1日後から発芽率の低下がみられ、保存60日後で厚壁孢子の発芽が確認されなかったことから、ベッコウタケ厚壁孢子の耐久性は低く、発芽力の維持期間は2ヶ月未満と考えられた。

引用文献

- (1) 伊藤一雄 (1940) 潤葉樹根株部腐朽の原因をなすベッコウタケに就て. 日本林学会誌 22 : 14-28
- (2) 伊藤一雄 (1941) 潤葉樹根株部腐朽の原因をなすベッコウタケの研究. 林業試験場研究報告 37 : 1-36
- (3) 逸見武雄・赤井重恭 (1939) ベッコウタケの樹病学的研究. 日本植物病理学会報 9 : 199-210
- (4) 妻田かよ子・渡辺直明 (2003) ベッコウタケの厚膜孢子生産. 樹木医学研究 7 : 47

(5) 渡辺直明・妻田かよ子 (2004) ベッコウタケ厚膜孢子と菌糸体の耐久性. 樹木医学研究 8 : 41

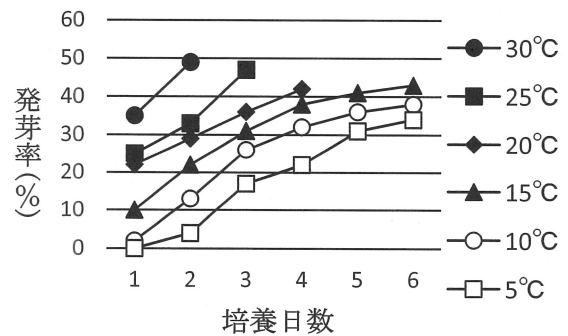


図-1. 培養温度別のベッコウタケ厚壁孢子発芽率

表-1. 発芽試験に使用したベッコウタケの菌株

菌株番号	採取日	採取地
NFM-24	2009/10/16	茨城県つくば市天久保筑波大学構内
NFM-25	2009/10/29	茨城県つくば市天久保筑波大学構内
NFM-26	2009/11/1	茨城県つくば市天久保筑波大学構内
NFM-73	2011/9/6	神奈川県藤沢市亀井野日本大学藤沢演習林内

表-2. ベッコウタケ厚壁孢子の保存期間と発芽率(%)

保存期間	培養日数 (30°C培養)					
	1	2	3	4	5	6
0日	35.00	48.90				
1日	17.10	26.50				
7日	9.45	20.60				
14日	5.00	12.95	19.65			
30日	3.90	6.50	9.10	11.25		
60日	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

※空欄は菌糸成長により測定不可

表-3. ベッコウタケ厚壁孢子の保存期間と発芽率(%)

保存期間	培養日数 (25°C培養)					
	1	2	3	4	5	6
0日	24.90	32.90	47.15			
1日	17.85	24.70	27.40			
7日	8.30	18.20	24.90			
14日	5.40	13.70	19.00			
30日	3.15	4.40	6.80	9.35	10.80	
60日	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

※空欄は菌糸成長により測定不可