

スギ材変色を起すいわゆる「ハチカミ」病について

(II) *Cephalosporium* 菌の生理的性質, 病原性
およびその接種による材質の変化

安盛 博・伊吹浩太・山本昌木 (植物病学研究室)

Hiroshi YASUMORI, Kota IBUKI and Masaki YAMAMOTO

Studies on the so-called "Hachikami" Disease Causing
Brown-stain of *Cryptomeria* Wood.

(II) Pathogenicity of *Cephalosporium* fungus to the suscept, its
physiological characters and the physico-chemical change of diseased wood.

緒 言

筆者らはさきに「ハチカミ」病に侵されたスギ材より *Cephalosporium* 菌を分離し得たことを報じたが¹⁾, この菌の病原性についてはなお明確にし得なかった。そこで今回は健全樹に対する接種試験を行ない, さらに菌の生理的性質および材質の物理・化学的な変化を検討したので報告する。

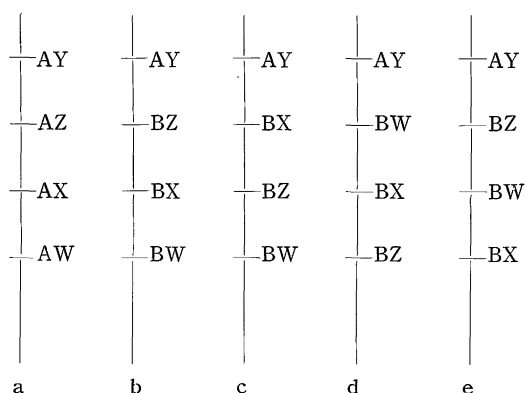
本実験を行なうに当り 供試スギ材につき便宜を与えられた前松江営林署長横山博一氏, ならびに現署長小林光雄氏に深謝の意を表する。また恒に御援助を頂いた本学遠山教授および成田教授に感謝する。

Cephalosporium 菌の接種

1959年6月24日松江営林署朝酌苗圃にある6~8年生の健全スギに対し, *Cephalosporium* 菌の接種試験を行なった。接種源は乾燥した木粉に1%しょ糖液を加え, 適当な湿度とし, 殺菌後, さきに分離した *Cephalosporium* 菌を植えつけ, 28°C で70日間培養したものをを用いた。接種法としては樹幹の地上約20, 70, 100 cmの高さに生長錐で心材に達する孔を穿ち, 上記接種源を詰め込み, コルク栓でふたをした。対照区には菌を培養しない殺菌木粉を用いた。各区6本ずつ用意し, 6カ月間放置した後, 12月25日, 2本ずつ伐採したものにつき変色部の調査を行なった。

1960年には前年と同様にして作った接種源を用い, 第

1図に示すような試験区について接種を行ない, 接種後はラノリンを塗布して外気と遮断し, 後適宜補修した。



A: 対照区, B: 接種区

Z: 心材に達する孔を水平位置で3cm間隔に2本

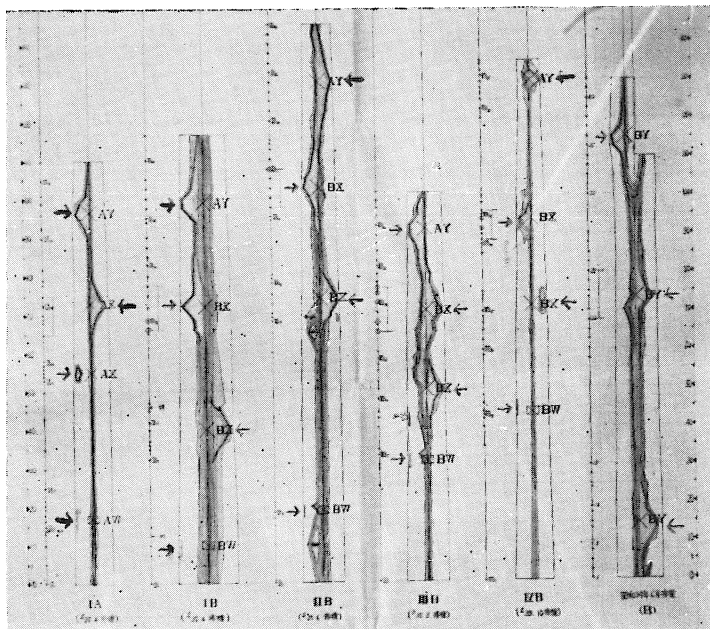
X: 辺材で止めた孔を1本

W: 樹皮のみを剥いだもの

1回の接種はa~eの5本, 4月5日, 6月17日, 8月20日, 10月7日の4回接種した。各接種点の間隔は20~40 cm, それぞれ異なる方向から生長錐で孔を穿つた。

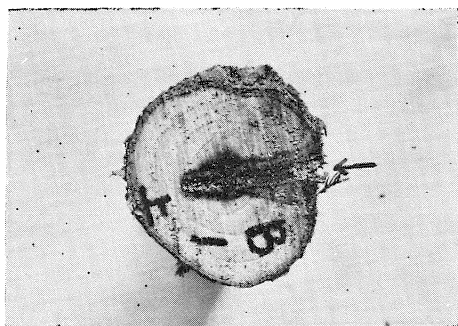
第1図 1960年に行なった接種試験区

11月17日伐採したものについて前年と同様, 変色部の調査を行なった。兩年にわたる試験の結果は第2図および第3図に示す通りであった。

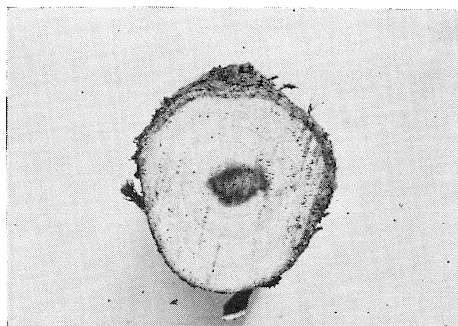


I-IV : 1960年接種 (B) : 1956年接種
(符号は第1図参照, 矢印接種点)

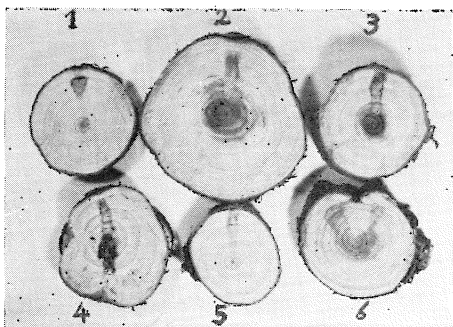
第2図 *Cephalosporium* 菌接種によるスギ材変色部縦断面図



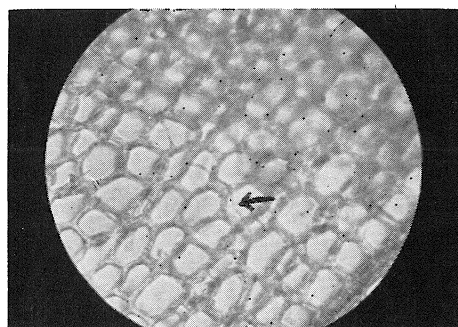
A 1959年試験片 (矢印接種部)



B 1959年接種部より5.5cm下部



C 1960年接種試験片, 刃材で止めた孔を穿った区
1. 4月接種対照区 2. 4月接種区 3. 6月接種区
4. 8月接種区 5. 10月接種区 6. 自然発生変色部



D 組織中の菌糸 (矢印)

第3図 *Cephalosporium* 菌人工接種による変色部および組織中の菌糸

この結果から兩年とも生長錐で孔を穿ち 木粉と共に菌を接種した区で 自然に罹病したスギ材と極めて類似した変色部がみられたが、樹皮のみを剥いで接種した場合には樹皮を剥ぐときに生じた切傷部以外にはほとんど変色部が認められなかった。しかし1960年接種試験対照区にも同様な変色部があらわれた。菌接種区の組織中には菌糸が認められたが、菌の再分離についてはなお不明の点があるので目下検討中である。

Cephalosporium 菌の生理的性質

1) 菌糸の発育と温度 菌糸の発育に及ぼす温度の影響をみるため、馬鈴薯煎汁寒天培地 (pH 5.5) を用い、各種の温度における分離菌の発育菌叢直径を測定した。

第1表に示すように、本菌は比較的高温を好み、36°C においても発育することがわかる。また発育最適温度は28°C 附近と考えられる。

第1表 Cephalosporium 菌菌糸発育に及ぼす温度の影響

温度 (°C)	6 日目菌叢直径 (mm)	12日目菌叢直径 (mm)
14	3.3	7.3
16	5.9	13.8
18	6.0	19.7
20	6.5	19.4
22	8.0	23.1
24	6.4	22.3
26	12.0	28.5
28	12.4	29.3
30	11.0	26.4
32	8.6	20.0
34	6.0	—
36	6.0	—

2) スギの心、辺材上における菌糸の発育 スギの心、辺材粉、夫々 10g に対し、蒸留水および1%しょ糖溶液 40cc の割合で加えたものをペトリ皿に入れ、殺菌後、菌を植えつけ、28°C の恒温器中に保った。菌叢の直径を一定期間後に測定した。

第2表に示すように蒸留水、しょ糖液共に心材より辺材において菌糸の発育が良好であることを示している。しかし、しょ糖液を添加しても発育には大きな影響はないものと考えられる。

第2表 スギ心、辺材上での Cephalosporium 菌菌糸発育

添加溶液	培養日数	心材 (mm)	辺材 (mm)
蒸留水	15	26	32
	23	40	46
しょ糖液 (1%)	15	28	35
	23	39	42

3) 菌糸の発育と培地の水素イオン濃度 菌糸発育に及ぼす水素イオン濃度の影響を明らかにするため、各種水素イオン濃度の馬鈴薯煎汁寒天培地上での発育菌叢直径を測定した。(培養温度28°C)

第3表 Cephalosporium 菌菌糸発育に及ぼす水素イオン濃度の影響

pH	6日目菌叢直径(mm)	12日目菌叢直径 (mm)
3.0	6.3	20.1
4.0	12.4	29.9
5.0	10.6	25.1
6.0	9.1	23.0
6.7	8.3	21.8
7.8	7.6	17.8
8.8	6.4	19.1

第3表に示すように、本菌はきわめて広い水素イオン濃度範囲で発育し、最適水素イオン濃度は pH 4.0附近と考えられる。

4) 分生胞子の発芽と温度 本菌の分生胞子発芽率は蒸留水、しょ糖溶液、スギ材の煎汁中で極めて不良であったが、2%アスパラギン溶液中 (pH 5.0) では比較的良好に発芽したので、この溶液中に胞子を懸濁し、懸滴法により各種の温度で24時間保った後、発芽率を測定した。

第4表 Cephalosporium 菌分生胞子の発芽に及ぼす温度の影響

温度 (°C)	測定総胞子数	発芽胞子数	発芽率 (%)
14	1,064	10	0.9
16	1,829	350	19.1
20	3,453	954	27.6
24	4,793	1,777	37.1
26	3,390	1,506	44.4
28	2,491	1,130	45.4
34	1,179	342	29.0
36	2,045	15	0.7

第4表に示すように、分生胞子の発芽は菌糸の発育と同じく、最適温度は28°C 附近であった。

5) 分生胞子の発芽と水素イオン濃度 2%アスパラギン溶液の水素イオン濃度を規正し、胞子懸濁液とし発芽実験を行なった。懸滴は28°C に保ち、24時間後に発芽率を測定した結果は第5表に示した。

第5表 Cephalosporium 菌分生胞子の発芽に及ぼす水素イオン濃度の影響

pH	測定総胞子数	発芽胞子数	発芽率 (%)
3.0	1,978	27	1.4
4.0	2,224	1,606	72.4
5.0	2,125	609	28.7
6.0	700	226	32.3
6.8	2,450	1,048	43.1
7.8	1,089	63	5.7
8.6	2,336	156	6.7

発芽率は酸性、アルカリ性の両端では悪く、その最適水素イオン濃度は pH 4.0 附近であった。

6) BAVENDAMM 氏反応 フェノール性物質を馬鈴薯煎汁寒天培地に添加し、菌を植え付け、28°C で9日間培養し、培地中にあらわれた変色部の直径を測定した結果を第6表に示した。

第6表 *Cephalosporium* 菌の BAVENDAMM 氏呈色反応

添加フェノール物質	濃度(%)	菌叢直径(mm)	呈色部直径(mm)
ピロカテキン	0.03	8.1	31.8
ハイドロキノン	0.01	13.3	0
レゾルシン	0.05	10.5	0
ピロガロール	0.03	14.9	53.6
没食子酸	0.05	16.0	54.2
タンニン酸	0.05	16.9	52.8
対照区(無添加)		11.8	0

第6表の結果より本菌は特定のフェノール性物質を酸化する酵素を持つように考えられた。

変色材の物理・化学的变化

1) 変色材の縦圧縮強度 1957年松江市本庄町で採取した「ハチカミ」罹病スギ材⁹⁾の変色部と変色しない健全部から2×2×4cmの大きさの木片を取出し、この中から均一な材料について縦圧縮強度および気乾比重を測定し、第7表および第8表に示す結果を得た。

統計処理により有意差を認める区もあったが、いずれも平均値の差は極めて小さく、標準偏差を考慮に入れば健全部と変色部の間に大きな差はないものと思われた。

第7表 自然発生「ハチカミ」病被害木の樹高別による健全部、変色部の縦圧縮強度比較

樹高	測定部位	測定値(kg)平均(最大最小)	標準偏差	分散計算値(F)	同理論値 F _{n1} ⁿ² = 危険率5% " 1%	判定	計算値 t	理論値 t	判定
I 50~ 110cm	健全部	238.2 (283.0 210.4)	± 24.0	1.289	F ₁₂ ¹⁵ = 2.60 3.98	無意	1.457	t ₂₇ = 2.052 2.779	無意
	変色部	252.1 (319.6 214.9)	± 27.3						
II 120~ 230cm	健全部	247.7 (276.4 215.4)	± 17.3	1.518	F ₁₅ ¹⁰ = 2.55 3.80	無意	2.958	t ₂₅ = 2.060 2.787	有意
	変色部	264.2 (292.3 231.5)	± 21.4						
III 260~ 365cm	健全部	264.5 (290.5 243.6)	± 10.2	8.623	F ₁₄ ⁹ = 2.65 4.03	有意	—	—	—
	変色部	285.7 (321.6 239.1)	± 29.9						
IV 50~ 365cm	健全部	250.6 (290.5 210.4)	± 19.9	2.090	F ₄₃ ³⁶ = 1.68 2.08	有意	—	—	—
	変色部	264.8 (321.6 214.9)	± 28.8						

第8表 自然発生「ハチカミ」病被害木の樹高別による健全部、変色部の気乾比重

樹高	測定部位	気乾比重平均(最大最小)	標準偏差	分散計算値(F)	同理論値 F _{n1} ⁿ² = 危険率5% " 1%	判定	計算値 t	理論値 t	判定
I 50~ 110cm	健全部	0.440 (0.482 0.398)	± 0.027	1.054	F ₁₂ ¹⁵ = 2.60 3.98	無意	1.15	t ₂₇ = 2.052 2.779	無意
	変色部	0.428 (0.483 0.385)	± 0.028						
II 120~ 230cm	健全部	0.419 (0.466 0.386)	± 0.023	2.321	F ₁₅ ¹⁰ = 2.55 3.80	無意	2.45	t ₂₅ = 2.060 2.787	有意
	変色部	0.446 (0.511 0.404)	± 0.035						
III 260~ 365cm	健全部	0.421 (0.449 0.390)	± 0.021	3.08	F ₁₄ ⁹ = 2.65 4.03	有意	—	—	—
	変色部	0.437 (0.507 0.389)	± 0.037						
IV 50~ 365cm	健全部	0.426 (0.482 0.386)	± 0.026	1.604	F ₄₃ ³⁶ = 1.68 2.08	無意	1.49	t ₂₉ = 2.000 2.660	無意
	変色部	0.436 (0.511 0.385)	± 0.032						

有意差の認められる区ではいずれも変色部が健全部に比べ大きな平均値を示した。

2) 変色材の顕微化学的観察

1959, '60年の接種材について、細胞膜中のセルロー

ズ、リグニン、フェノール性物質の増減を調査した。変色部および健全部について第9表に示すような指葉による発色程度の濃淡により顕微化学的に観察した。

第9表 *Cephalosporium* 菌接種による変色部のセルローズ、リグニン、フェノール性物質の顕微化学的観察

呈色物質	発色指葉	試験区	灰褐色部 (接種点より 0.8~1.0cm)	黒褐色部 (接種点より 2.5~4.0cm)	淡褐色部 (接種点より 4.7~10.5cm)
セルローズ	Zn-HCl-J ⁴⁾	菌接種区 { 健全部 変色部	⊕ +	+	+
		対照区 { 健全部 変色部	+	+。 +	+。 +
	J-JK ₂ -H ₂ SO ₄ ⁴⁾	菌接種区 { 健全部 変色部	⊕ +	? +	++ +
		対照区 { 健全部 変色部	+。 +	+ +	+ +
	Cl-NaNO ₂ ⁴⁾	菌接種区 { 健全部 変色部	⊕ +	+ +。。	+。 +。。
		対照区 { 健全部 変色部	+	+	+
リグニン	Mäule 反応 ⁴⁾	菌接種区 { 健全部 変色部	⊕ +。	+ +	++ +
		対照区 { 健全部 変色部	+ +	+ +	+ +
	Phloroglucinol ⁴⁾ 反応	菌接種区 { 健全部 変色部	⊕ +。	+ +。	++ ++
		対照区 { 健全部 変色部	+ +	+ +	+ +
フェノール性物質	銀 反 応 ³⁾	菌接種区 { 健全部 変色部	⊕ +。	+ ++	+ ++
		対照区 { 健全部 変色部	+ +	+ ++	+ ++

⊕ この部分の発色程度を比較の基準とした。
+。。+。+ +° ++の順で濃色となる。

セルローズは変色部でわずかに少ないように思われたがリグニンと同様、大差があるとは思われなかった。これに比べ、フェノール性物質は変色部で健全部に比べ比較的多いように思われた。

考 察

1959年, '60年の両年にわたる接種試験の結果から、*Cephalosporium* 菌を健全材に接種すると自然に罹病した「ハチカミ」病と類似した変色部があらわれた。しかし、1960年に対照区においても同様な変色があらわれたので、この菌が変色部の発現に関与するか否かは菌の再分離試験を繰返し行なわれなければ明確にし得ないであろうが、CHIARAPPA¹⁾はブドウで同様な変色を起す病原菌として *Cephalosporium* を見出して居り、筆者らの観察結果と類似している。また DENYER²⁾によって、ツガの一種 (*Tsuga heterophylla*) にもこの属の菌によ

る病害が報告されている。

1960年の接種試験によって、樹皮のみを剥いで接種しても変色は起らず材部に達する傷より起ることが明となった。これは「ハチカミ」病が昆虫の食害部に認められることと符号するように思われる。

Cephalosporium 菌はかなり高温を好み、広い水素イオン濃度範囲で発芽、発育するが28°C, pH 4附近が最適のように思われる。

自然に罹病したスギ材変色部でも健全部に比べ、セルローズ、リグニンの含量に大差がないことは圧縮強度、気乾比重等の物理的性質に大きな変化がないこととよく一致するものと考えられる。圧縮強度は変色部でわずかに大きい傾向さえみられるのは変色部で秋材が異常発育しているためであろう。*Cephalosporium* 菌がフェノール酸化酵素を持っていること、および変色部組織でフェ

ノール性物質の呈色反応が強くあらわれることとは変色を起す原因となんらかの関係があるように思われる。

以上の結果から「ハチカミ」症状を呈する材では材質に大きな変化はなく、材の不規則な発育と変色が重要な問題であり、この点については今後の研究が望まれる。

摘 要

1) 1959, '60年に「ハチカミ」病被害部より分離された *Cephalosporium* 菌を健全樹に接種した結果、自然にみられる被害部と類似した変色部が認められたが、対照区においても同様な変色があらわれた。

2) 変色は材に達する外傷の周辺に起り、樹皮のみを剥いだところには認められなかった。

3) *Cephalosporium* 菌分生胞子の発芽、菌糸の発育は 28°C, pH 4 付近で最も旺盛であり、14°C, 36°C, pH 3.0, 8.6 でなお発芽、発育した。またフェノール酸化酵素を持つと思われた。

4) 変色部および健全部の細胞膜中、セルロース、リグニン含量には大差なく、フェノール性物質は変色部で健全部より多かった。

5) 変色部の縦圧縮強度は健全部に比べ大差なかった。

引用文献

- 1 CHIARAPPA, L. : *Phytopath.* 49 (8), 510-519, 1959.
- 2 DENYER, W. B. G. : *Canad. J. Bot.* 31 (4), 361-366, 1953.
- 3 市川収 : *細胞化学* P. 349, 1953.
- 4 RAWLINS, T. E. and TAKAHASHI, W. : *Technique of Plant Histo-chemistry and Virology* pp 29-32, 39-40, 1952.
- 5 安盛博・山本昌木 : 島根農大研究報告 7A, 74-78, 1959.

Summary

Previously, the writers isolated *Cephalosporium* sp. from cryptomeria affected by the so-called "Hachikami" disease. During 1959-1960, this fungus was inoculated to sound trunks of cryptomeria by boring or by stripping the bark. On sixth month after inoculation, similar staining just as naturally occurred browning was recognized around inoculated and non-inoculated parts.

This fungus grows and germinates at rather high temperature (Opt. temp. 28°C) and in wide range of hydrogen-ion concentration (Opt. pH 4.0).

From the histo-chemical observation, cellulose and lignin contents in the browned tissue seem to be same as sound tissue. These results may correspond with the non-significant difference of the compressive strength between the browning and sound wood. The phenol substances increase at browning portion of wood affected by the disease, and present fungus has enzyme which oxidize some phenol compounds. These facts, may be concerned with the occurrence of browning on affected wood.