松葉枯病の病原菌とその生理的性質

山本昌木・安盛 博・岡田 惇（植物病学研究室）

Masaki YAMAMOTO, Hiroshi YASUMORI and Tsutomu OKADA

Studies on the leaf spot disease of pine trees and some physiological (characters of the pathogen.)

緒　　言

著者等は島根県下の森林病害につき調査を進めているが，たまたま1957年松江市朝勾松江営林署の黒松，赤松苗圃に発生した病害について調査の依頼をうけ，本学造林学研究室遠山教授等と共に調査し，被害樹より病原菌の検出，分離，種名の同定，病原菌の生理的並びに病理的性質の調査等を行つたので現在までに得られた結果を報告する。

尚，調査材料を提供された松江営林署増原経営課長，並びに種々助言を賜つた遠山教授に厚く感謝の意を表する。

病徴並に病原菌

a） 病徴　当年生の黒松では葉の中間部が黒灰色となり，周辺の葉は褐色に変じ，これより上部の茎は萎凋していた。更に全個体褐色となり，枯死したものを認めた。この病害は立枯病と異り，地際部並びに根は比較的健全であつた。

2年生のものでは全葉褐色となり，垂れ下つて極めて脱落し易い状態であつた。このような葉の基部は灰色を呈し枯損していた。

b） 病原菌　病斑部を詳細に観察すると表皮下の各所に小黒点が散在し，これを徒手切片とし検鏡すると球形で無毛の柄子殻が認められ，内部には単胞，無色，長楕円形の胞子が充満していた。（第2図参照）。病斑部には *Pestalotia* 菌の胞子も認められた。沢田[3]が記載した赤松の*Macrophoma pini-densiflorae* SAWADA 並に伊藤[1]が記載した *Pestalotia shiraiana* P. HENN とこの2菌とを比較すれば第1表の如くである。

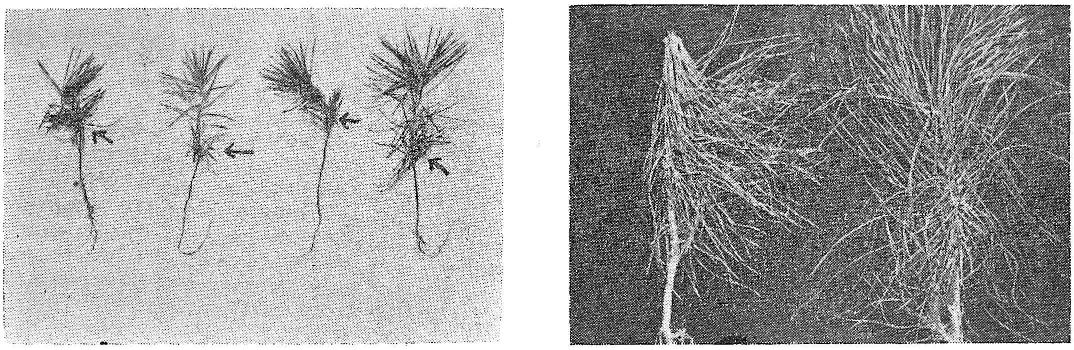
この結果から著者の *Macrophoma* 菌は *M. pini-densiflorae* SAWADA と若干，胞子の大きさが異るが，しばらく沢田菌の学名を襲用したい。又被害部上の *Pestalotia* 菌は *P. shiraiana* P. HENNと同一のものと認められた。被害部から上述の2菌以外に *Phoma* 及び *Rhizoctonia* を分離し得た。*Rhizoctonia* は2年生の黒松に於て立枯症状を呈していた材料から分離されたものである。分離した *Macrophoma* 菌の培養基上での大きさは 18.2～20.5×3.3～4.0μ，平均19.5×3.6μであつた。

病原菌の生理的性質

被害部に検出された諸菌のうち *Macrophoma,Pestalotia* 両菌について生理的な性質を2，3検討した。

A） 柄胞子の発芽

1） 温度の影響　上記2菌を馬鈴薯寒天培養基上で25°C，15～20日間培養したものから胞子懸濁液を作り，これをスライド上に懸滴して湿室中に保ち，各温度に12時間放置した後，発芽率を測定した結果は第2表の通りである。



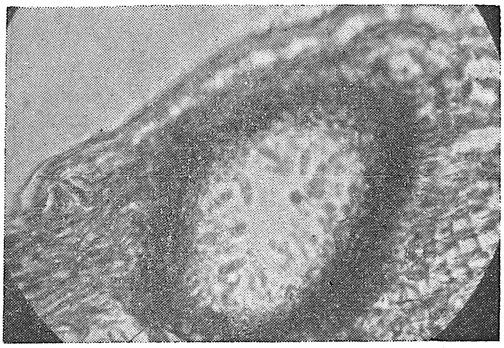
a　　　b

第1図　黒松及び赤松の被害苗　　a：当年生黒松　　b：2年生赤松（矢印はいづれも被害部）

第1表　従来の *Macrophoma* 並びに *Pestalotia* 菌の記載と著者菌との比較

菌名	調査事項	柄子殻	柄胞子	担子梗	
Macrophoma	著者菌（松葉上）	174.9×155.1	13.2～18.7 ×3.3～6.6 平均 17.1 ×4.4	8.8～16.5 ×3.3～4.8 平均 11.4 ×4.2 *	
	M. pini-densiflorae 沢田菌	160	25～28 ×6.5～7.0	9～10 ×5	
Pestalotia	調査事項	胞子全長	黒色三細胞	柄	繊毛
	著者菌（松葉上）	19.8～26.4 平均 22.1	13.2～16.5 ×5.4～6.6 平均 16.2 ×6.3	4.0～6.6平均5.6	13.2～23.1 平均 18.2
	P. shiraiana 伊藤菌	21～28 平均 25.5	13～17 ×5～8 平均 14.1 ×6.3	4～6 平均4.4	10～17 平均 13.4

＊単位 μ



第2図　被害組織中の *Macrophoma* 菌柄子殻及び柄胞子（600×）

Macrophoma 菌柄胞子の発芽は20°C が最適で，更に低温度での測定を行わないと明確にはし難いが，かなり低温で発芽が良好であるように思われた。*Pestalotia* 菌は25°Cが最適の発芽を示したが，実験の範囲内では概して発芽率が低かつた。

2）水素イオン濃度の影響　胞子懸濁液を $\frac{1}{10}$ N-HCl 並びに－NaOH で種々の水素イオン濃度に変え25°Cで同様にして12時間後の発芽率を測定した結果は第3表の如くである。

Macrophoma 菌ではpH4.2に最適があり比較的酸性を好む。*Pestalotia* 菌では概して発芽が悪いが pH4.2並びに6.4でやゝよくなつた。

第2表　柄胞子の発芽に及ぼす温度の影響

温度	*Macrophoma* 総胞子数	*Macrophoma* 発芽胞子数	*Macrophoma* 発芽率（%）	*Pestalotia* 総胞子数	*Pestalotia* 発芽胞子数	*Pestalotia* 発芽率（%）
20°C	918	782	85.2	940	9	1.0
25°C	910	682	74.9	905	78	8.6
30°C	1022	55	5.4	936	0	0
35°C	1180	0	0	918	0	0

N. B. 3回実験結果平均

第3表　病原菌胞子発芽に及ぼす水素イオン濃度の影響

水素イオン濃度	*Macrophoma* 総胞子数	*Macrophoma* 発芽胞子数	*Macrophoma* 発芽率（%）	*Pestalotia* 総胞子数	*Pestalotia* 発芽胞子数	*Pestalotia* 発芽率（%）
3.6	934	650	69.6	330	1	0
4.2	920	920	100.0	969	12	1.2
5.0	963	243	25.3	820	0	0
6.0	937	109	11.6	930	0	0
6.4	923	0	0	935	31	3.3
7.8	921	0	0	925	0	0

N. B. 3回実験結果平均

3）糖並に松葉煎汁の影響　2％葡萄糖を含有した液中，並びに松葉煎汁中での胞子の発芽率を測定した。松葉煎汁液は1ℓの蒸溜水中で新鮮な黒松葉200gを1時間煮沸し，水素イオン濃度をn/10 NaOHで6.0に規正したものを用いた。第4表の如き結果を得た。

第4表　*Macrophoma* 及び *Pestalotia* 菌の柄胞子発芽に及ぼす糖，松葉煎汁の影響

菌名	時間	松葉煎汁			2％葡萄糖			蒸溜水		
		総胞子数	発芽胞子数	発芽率(%)	総胞子数	発芽胞子数	発芽率(%)	総胞子数	発芽胞子数	発芽率(%)
Macrophoma	4	832	411	49.4	910	195	21.4	959	95	10.0
	8	900	168	18.6	923	715	77.7	923	224	24.3
	24	906	906	100.0	612	538	87.9	942	845	89.7
Pestalotia	4	920	379	41.2	913	0	0	931	0	0
	8	927	780	84.1	970	14	1.4	915	0	0
	24	930	906	97.2	922	23	2.5	969	928	95.8

N. B 3回実験結果平均

この結果をみると両菌共，松葉煎汁中で最も発芽が良好であつた。

B）菌糸の発育

1）温度の影響　馬鈴薯煎汁寒天培養基上に2菌を植付後3日，6日目の菌叢直径を測定した結果は第5表に示す通りである。

第5表　*Macrophoma* 及び *Pestalotia*菌菌糸の発育に及ぼす温度の影響

菌名	培養日数	0～5°C	20°C	25°C	30°C	35°C
Macrophoma	3日	0mm	29.6	39.4	27.5	0
	6日	0	72.0	87.4	59.3	0
Pestalotia	3日	0	24.8	29.4	7.5	0
	6日	0	53.3	61.0	11.3	0

N. B. 3回実験結果平均

両菌共20°C～30°Cの間で発育が認められ，25°Cが菌糸発育の最適温度と思われた。

2）水素イオン濃度の影響　馬鈴薯煎汁寒天培養基をn/10NaOH及HCl で種々のpHに調節し，25°Cに於て前項同様，菌叢直径を測定して菌糸の発育を調べ，第6表にその結果を示した。

第6表　*Macrophoma* 及び *Pestalotia* 菌菌糸の発育に及ぼす水素イオン濃度の影響

菌名	培養日数	pH3.0	4.0	5.0	5.8	6.4	7.6
Macrophoma	3日	mm 37.3	39.0	38.4	38.1	37.0	26.6
	6日	83.2	90.0	82.0	80.5	73.9	69.0
Pestalotia	3日	22.0	24.3	25.3	25.1	22.2	21.0
	6日	53.2	50.0	50.8	49.5	42.3	39.5

N. B. 3回実験結果平均

両菌共，酸性を好み *Macrophoma* 菌ではpH4.0が最適であつたが，*Pestalotia* 菌ではpH3～5で大差なく発育した。

3）各種培養基上での発育　培養基の種類と菌糸発育の関係を知るため，斉藤氏醤油寒天培養基，馬鈴薯煎汁寒天培養基，松葉煎汁寒天培養基，Czapek 合成寒天培養基上で菌叢の直径を測定した。これらの培養基はすべてpH6.0に調節して，シャレーに分注し，25°C で培養を行つた。第7表の結果をみると，上記の順で発育が良好であつた。

第7表　各種培養基上での菌叢の発育

菌名	培養日数	斉藤氏醤油寒天培養基	馬鈴薯煎汁寒天培養基	松葉煎汁寒天培養基	Czapek 寒天培養基
Macrophoma	3	mm 54.0	38.1	21.2	17.3
	6	85.8	80.5	47.1	36.5
Pestalotia	3	35.8	25.1	21.8	18.3
	6	77.5	49.5	41.3	30.8

N. B. 3回実験結果平均

病原性

分離した2菌を健全な松苗に接種して病原性を検した。即ち約10cm丈の黒松，赤松苗を鉢に4～10本仕立て，一部に針で傷をつけたものと健全なものの2区に対し湿室に於て2菌の胞子懸濁液を噴霧接種した。対照区は同一条件で蒸溜水を噴霧し，20～30日後，調査を行つた。対照区は何等変化はなかつた。接種区の結果は第8表に示した。又黒松無傷苗に於ける発病初期の状態は第3図の通りであつた。

第8表　*Macrophoma* 並に *Pestalotia* 菌柄胞子の松苗に対する接種試験

供試菌	実験回数	有				傷			
		有傷				無傷			
		黒松		赤松		黒松		赤松	
		供試本数	発病数	供試本数	発病数	供試本数	発病数	供試本数	発病数
Macrophoma	1 2	2 2	2 2	3 3	3 3	2 2	1 0	7 4	0 0
pestalotia	1	2	2	3	3	2	0	4	0
Macrophoma + *Pestalotia*	1	2	2	3	3	4	1	5	0

第3図　*Macrophoma* 菌接種により発病した黒松（矢印発病部）

この結果は供試本数が少ないので明確な結論は得難いが苗木に傷がある場合は *Macrophoma* 菌は発病して全葉が茶褐色となり垂下し，無傷の場合は全身枯れ上り，又葉の基部にのみ病斑の現れたものも2,3認められたが，健全なものが多かつた。而して罹病菌からは菌を再分離し得た。*Pestalotia* 菌では傷の周辺が変色する程度であり，無傷の場合は全く病原性は認められなかつた。2菌の病原性については更に検討を要するものと思われる。

考　　察

松の葉枯病については，*Cercospora pini-densiflorae* HORI et NAMBU に起因するものが原[2]により，又 *Macrophoma pini-densiflorae* SAWADA によるものが沢田により記載されている。著者等の調査では赤松及び黒松に *Macrophoma* 菌を認め，更に *Pestalotia, Phoma* 菌も共存することが明となつたが，*Cercospora* 菌は検出，分離することは出来なかつた。原[2]の記載によると *Cercospora* 菌による葉枯病の病徴は，最初葉の中央より先端の方に黄褐色の斑点を生じ，次第に尖端より枯れ始め，針葉は全部枯死するが根部は健全であるとされており，本病害とは著しく異つている。

Pestalotia, Phoma 両菌が病害発生にどの程度関与するかは尚明瞭にし難いが，接種実験の結果，*Pestalotia* 菌は傷痍部からのみ侵入し，病原性は微弱であると考えられる。従つて杉赤枯病に於ける *Cercospora* 菌の如く[1]，本病害発生には *Macrophoma* 菌が主なる病原菌と考えて差支えないであろう。

上述の諸点から，本病害は沢田の松葉枯病と同一のものと考えられた。

本病は更に島根県横田地方にも見出され，かなりの被害を及ぼしている。この罹病菌からは同一菌を検出しているので松苗圃に於ては恐るべき病害であると考えられ，防除法等，今後検討すべき問題が多々あるように思われる。

摘　　要

1. 松江営林署，松苗圃に発生した病害につき調査した。被害樹からは *Macrophoma, pestalotia, Phoma* 菌を検出，分離培養した。

2. *Macrophoma, Pestalotia* 菌の柄胞子は pH 4.2, 20°C 附近で12時間以後最もよく発芽し，松葉煎汁中では蒸溜水中よりもよい発芽率を示した。菌糸の発育は25°C pH4.0 で最もよく，斉藤氏醤油寒天培養基でよく発育した。*Pestalotia* 菌は25°C，pH4.2並に6.4，松葉煎汁中で最もよく発芽し，菌糸は 25°C，pH3.0～5.8 でよく発育し，斉藤氏醤油寒天培養基を好んだ。

3. *Pestalotia* 菌は有傷の松苗に対して わずかに病原性を示したが，健全な苗に対しては全く病原性はなかつた。*Macrophoma* 菌は有傷の苗には勿論，無傷の苗に対しても若干病原性を示した。

引　用　文　献

1. 伊藤一雄・渋川浩三・小村高夫：林試研報　52：79～113，1952.
2. 原　摂祐：樹病学各論　288，1925
3. 沢田兼吉：林試研報　46：111～150，1950

Summary

This paper deals whith the results of investigations on the pathogen of leaf spot of pine seedling and its physiological and pathological studies.

Macrophoma pini-densiflorae SAWADA, *Pestalotia shiraiana* P. HENN. and *phoma* sp. were isolated from the diseased pine leaves.

The optimum temperature and hydrogen-ion concentration for a germination of pycnospore seemed to lie at aproximately 20°C and pH 4.2 in *Macropohoma*, and 25°C, pH 6.4 in *Petalotia*, respectively. The germination of pycnospores of *Macrophoma* and *Pestalotia* in the pine leaf decoction was promoted than in distilled water. The optimum conditions of mycelial growth of *Macrophoma* were at 25°C, pH 4.0 and of *Pestalotia* at 25°C, pH 3.0—5.8. Favorite growth of both fungi was observed in Saito's soy souce agar medium.

The pathogenicity of *Macrophoma* was recognized on the pine seedlings but no pathogenicity of *Pestalotia* was observed on them except of artificially wounded ones.