

生田緑地・奥の池における *Phytophthora* 属菌類調査

筒井杏子*・升屋勇人**・岡根泉*

Survey of *Phytophthora* species inhabiting Okunoike in Ikuta Ryokuchi Park

Kyoko Tsutsui*・Hayato Masuya**・Okane Izumi*

はじめに

植物疫病菌 (*Phytophthora* 属; クロミスタ界・卵菌門・卵菌綱・フハイカビ目・フハイカビ科) は樹木に根腐れ、萎凋を引き起こす病原菌として知られている。近年、本属菌は各国の果樹園、苗畑、プランテーション、自然保護区、天然林において被害をもたらしている (Brasier & Jung, 2006; Hansen *et al.*, 2012; de Sampaio *et al.*, 2013)。そのため被害が深刻な国々では、原因菌の特定だけでなく、感染経路を予測し、病原菌の拡大を防ぐための本属菌の分布調査が行われてきた (Giordana *et al.*, 2020)。しかし本邦では、これまで病害発生時以外の疫病菌の生息状況はほとんど調べられておらず、どの種が、どのような場所で生息しているかは、明らかになっていない。本属菌各種の生息状況を明らかにすることは本病原菌による被害の予測や防除にも繋がるため、重要である。そこで 2021 年 4 月より、著者らは関東平野部の池に生息する本属菌の調査を開始した (筒井ら, 2022)。生田緑地での調査はその研究の一環であり、首都圏を代表する都市近郊林内の池として調査地の 1 つに選定した。

本調査地は昭和 16 年に都市計画決定された緑地であり、里山林、湿地、湧水等の貴重な自然資源およびそこに棲息する生き物を人の手によって管理・保存してきた場所である。海外の類似の自然保護区では本属菌が樹木への深刻な被害を引き起こしている一方で、生田緑地では疫病菌による被害の報告はない。本報では、生田緑地・奥の池に生息する *Phytophthora* 属菌について報告する。

材料および方法

調査日：2022 年 6 月 28 日

調査地：調査は生田緑地中央に位置する「奥の池」で行った。周辺樹木が池の縁を被覆する場所を選び、池の周囲 2 か所において採水した (図 1)。

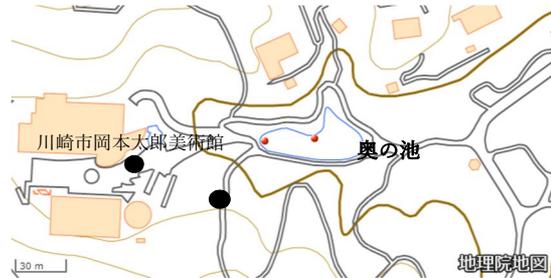


図 1. 生田緑地・奥の池における採集地点
*比較的暗い 2 地点 (赤点) において採水した。

調査方法：各採水地点において池水 2 L を採取し、クーラーボックスに入れて実験室に持ち帰った。ヒラドツツジ *Rhododendron × pulchrum* Sweet の品種オオムラサキ *Rhododendron × pulchrum* Sweet 'Oomurasaki'、シラカシ *Quercus myrsinifolia* Blume、コナラ *Q. serrata* Murray、エノキ *Celtis sinensis* Pers.、カシワ *Q. dentata* Thunb. の葉を採取した水の表面に浮かべ、菌が遊走子によって葉に感染するよう、3~5 日間静置した。葉に形成された壊死斑から 2 mm² の葉片を切り出し、選択培地 [PARPH-V8A : 50%ピマリシン 10 mg、アンピシリンナトリウム 250 mg、リファマイシンナトリウム塩 10 mg、ヒメキサゾール 50 mg、V8 ジュース上清 100 mL、寒天 15 g、蒸留水 900 mL (Jones *et al.*, 2014)] に静置した。2~3 日後、葉片から生育してきた *Phytophthora* 属菌の菌糸を、ニンジンエキス寒天培地 [CA : ニンジン抽出液 100 mL、寒天 15 g、蒸留水 900 mL (Schmitthenner & Bhat, 1994)] に移植し、純粋培養菌株を確立した。得られた菌株は、シトクロム c オキシダーゼサブユニット 1 (*cox1*) の遺伝子の塩基配列を決定し、BLAST 検索を行い、96%以上の相同性が得られ、且つ最上位にヒットした種名をその分離菌の候補種とした。Abad *et al.* (2023b) が提唱した *Phytophthora* 属菌の分類体系に従い、候補種と同クレードに属す複数種のタイプ菌株の配列と共にアライメントを行

*筑波大学生命環境系 Institute of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba

**森林研究・整備機構 森林総合研究所

Department of Forest Microbiology, Forestry and Forest Products Research Institute

い、MEGA version 11 (Kumar *et al.*, 2018) を用いて系統樹を作成した。分子系統解析の結果、分離菌の配列が候補種と同枝上に位置した場合はその種として同定し、隣り合う異なる枝上に位置した場合は、候補種の語尾に「-like」を付けて近縁種であることを示した。同定した菌は、ポテトデキストロス培地 (PDA : Difco 製ポテトデキストロスアガー39g、蒸留水 1L) および V8 ジュース培地 (V8A : V8 ジュース上清 100 mL、寒天 15 g、蒸留水 900 mL) 上で 7 日間培養し (20°C、暗黒下)、IDphy: molecular and morphological identification of *Phytophthora* based on the types (Abad *et al.* 2023a) に示された各種基準菌株の形態情報と比較し、相違ないことを確認した。本調査により得られた菌株は岐阜大学流域圏科学研究センターに保存した。

結果および考察

奥の池の 2 地点で採取した水から *Phytophthora amnicola* T.I. Burgess & T. Jung、*P. gonapodyides* (H.E. Petersen) Buisman、*P. honggalleglyana* -like、*P. lacustris* Brasier, Cacciola, Nechw., T. Jung & Bakony、*P. parsiana* -like、*P. virginiana* Xiao Yang & C.X. Hong の 6 種が分離された。以下に採集された各種の特徴的な形態と国内外における分布および被害実態を、U. S. Department Agriculture, National Fungus Collections Nomenclature Database、European Culture Collection's Organization、CBS strains Database、IDphy を参考に記述した。

Phytophthora amnicola T.I. Burgess & T. Jung

Phytophthora amnicola (図 2) はオーストラリア西部において枯死したブラックベリー *Rubus armeniacus* Focke の根から分離されている (Aghighi *et al.*, 2016)。同国では水や湿った土壌からも分離されており、水環境を好む種 (水生種) と考えられている (Burgess *et al.*, 2021)。日本では各地の池の水から分離されているが、周辺植生への被害は現在のところ確認されていない。

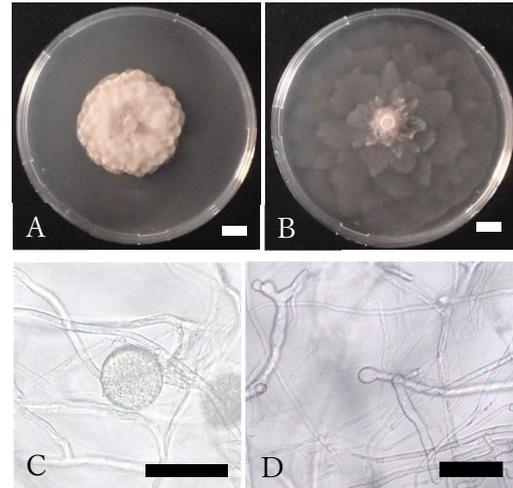


図 2. *Phytophthora amnicola*

*A : PDA 上のコロニー、B : V8A 上のコロニー、C : 厚壁孢子、D : 菌糸の先端や中間部に複数の Hyphal swelling (膨らみ) を有す。スケールバーは 1 cm (A, B)、20 μm (C, D)

Phytophthora gonapodyides (H.E. Petersen) Buisman

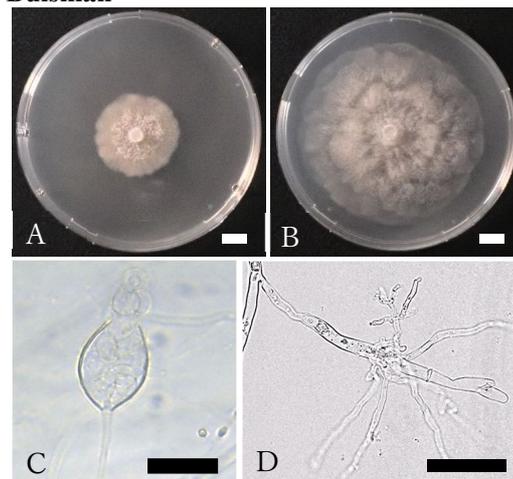


図 3. *Phytophthora gonapodyides*

*A : PDA 上のコロニー、B : V8A 上のコロニー、C : 遊走子嚢、D : 歪な形状を有す菌糸。スケールバーは 1 cm (A, B)、20 μm (C, D)

Phytophthora gonapodyides (図 3) は世界の自然生態系に最も広く分布する種だと言われており (McGowan *et al.*, 2020)、アメリカ合衆国、チリ、ヨーロッパ各国、オーストラリア、ニュージーランドにおいて多種多様な植物の根から分離され、根腐れを起こす病原菌として報告されている。*Phytophthora gonapodyides* は *P. lacustris* と共通祖先をもつとされており、同所的に存在することが

多いとされているが (Nechwatal *et al.*, 2013)、本調査でも同様に 2 種が共に分離された。関東平野部の他の池の水からも本種が分離されているが、周辺植生への被害は現在のところ確認されていない。

Phytophthora honggalleglyana -like

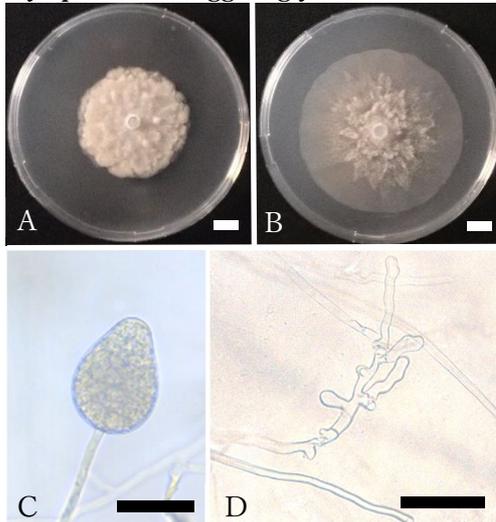


図 4. *Phytophthora honggalleglyana*-like
*A : PDA 上のコロニー、B : V8A 上のコロニー、C : 倒洋ナシ型の遊走子嚢、D : 不規則に Hyphal swellings を有す菌糸。スケールバーは 1 cm (A, B)、20 μ m (C, D)

Phytophthora honggalleglyana (図 4) はツツジ類の芽枯れや葉枯れ、シャクナゲ類の地際部を壊死させる病原菌としてイタリア、スペイン、アメリカ合衆国において報告がある (Hong *et al.*, 2010; Vitale *et al.*, 2014; Pintos *et al.*, 2016; Xiong *et al.*, 2019)。関東平野における池の水の調査では、本種に近縁の種が最も多くの池 (40 池中 30 池) から採取されているが、いずれの調査地においても周辺植生への被害は確認されていない。本種は命名規約上問題があり、2023 年に *P. hydropathica* から *P. honggalleglyana* に改名された。本種は各国の温帯域の灌漑用水からよく分離されているが、交雑しやすく、種の境界が不明瞭であるため、今後分類学的検討が必要とされている (Abad *et al.* 2023b)。

Phytophthora lacustris Brasier, Cacciola, Nechw., T. Jung & Bakonyi

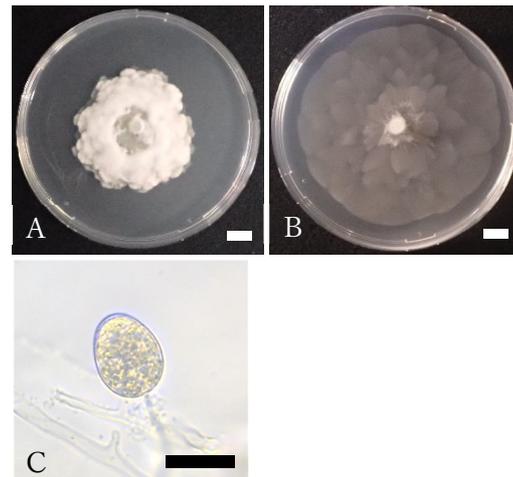


図 5. *Phytophthora lacustris*

*A : PDA 上のコロニー、B : V8A 上のコロニー、C : 卵型の遊走子嚢。スケールバーは 1 cm (A, B)、20 μ m (C)

Phytophthora lacustris (図 5) は各国の水や土壌、各種植物の根や樹皮から分離されており、広い宿主範囲を有す。ヨーロッパ各国、北アメリカ、ニュージーランドでは、ハンノキ類、ヤナギ類、ヨーロッパグリ *Castanea sativa* Mill. の根、ヨーロッパナラ *Quercus robur* L.、ヨシ *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud. の根圏土壌から分離され、根腐れや地際の壊死をもたらす菌として報告されている (Orlikowski *et al.*, 2011; Nechwatal *et al.*, 2013; Sosa *et al.*, 2015; Tkaczyk *et al.*, 2016; Aday *et al.*, 2018)。関東平野における池の水の調査では、生田緑地を含み、本種が 40 池中 11 池で採集されており、分離された全 12 種のうち、3 番目に高頻度に採集された種であった。しかし、いずれの採集地点でも周辺樹木への被害は現在のところ確認されていない。

Phytophthora parsiana -like

Phytophthora parsiana (図 6) はアメリカ合衆国やイランでピスタチオ *Pistacia vera* L. や *Parthenium argentatum* (ゴムの原料となるキク科樹木) の根、枝、根圏土壌から分離された記録があるが (Fichtner *et al.*, 2016; Hu & Rueda., 2022)、病原菌としての報告はない。関東平野部の他の池の水からも分離されているが、周辺植生への被害は現在のところ確認されていない。本種は同種内にいくつもの系統が存在するため、今後、分類学的検討が必要とされている (Abad *et al.* 2023b)。

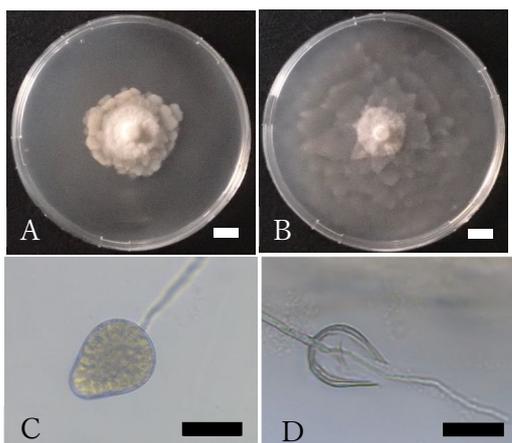


図 6. *Phytophthora parsiana*-like
 *A : PDA 上のコロニー、B : V8A 上のコロニー、C : 倒洋ナシ型の遊走子嚢、D : 内部増殖性の遊走子嚢。スケールバーは 1 cm (A, B)、20 μ m (C, D)

Phytophthora virginiana
 Xiao Yang & C.X. Hong

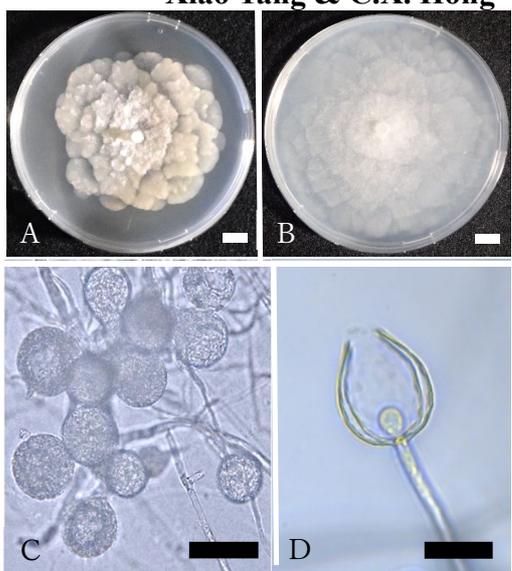


図 7. *Phytophthora virginiana*
 *A : PDA 上のコロニー、B : V8A 上のコロニー、C : クラスター状の Hyphal swellings、D : 内部増殖性の遊走子嚢。スケールバーは 1 cm (A, B)、20 μ m (C, D)

Phytophthora virginiana (図 7) はアメリカ合衆国の灌漑用水から分離されているが、植物病原菌としての報告はない (Yang & Hong, 2014)。関東平野部の他の池の水からも分離されているが、周辺植生への被害は現在のところ確認されていない。

まとめ

生田緑地・奥の池で採集された 6 種の *Phytophthora* 属菌はいずれも日本新産種であった。分離された菌のうち、*P. amnicola*、*P. gonapodyides*、*P. lacustris* は、Abad *et al.* (2023b) が提唱した分類体系によれば、クレード 6b に所属する。クレード 6 に属す菌は腐生能力が高いと言われており (Hansen *et al.*, 2012)、水中に供給または堆積するわずかな栄養源にいち早く到達し、コロニー形成するため、高い遊走子形成能力を獲得したグループだと予測されている (Jung *et al.*, 2011)。*Phytophthora honggalleglyana*-like、*P. parsiana*、*P. virginiana* はクレード 9a に所属する。これらの菌も温帯域の灌漑用水から採集される水生種として知られており、クレード 6b に所属する種と容易に交雑するという報告もある (Abad *et al.*, 2023b)。今回、生田緑地・奥の池で分離されたこれらの菌は、他の関東平野部の池から分離された種とも類似しており (筒井ほか, 未発表)、本邦の池でも、海外の水域や灌漑用水に生息している種と類似の菌が生息していることが明らかになった。

本属菌による植物への被害は 1980 年頃から急増し、被害地では病原菌の拡大をふせぐための分布調査が数多く行われてきた (Jung *et al.*, 2018)。その結果、本属菌の種数は近年指数関数的に増加し、種内でいくつかの系統に分かれるものも複数見つかったため、これらは今後分類学的検討が必要とされている。本報に示した *P. honggalleglyana* および *P. parsiana* はいずれもその対象となる種であり、今後分類学的所属が変わる可能性がある (Abad *et al.*, 2023b)。

奥の池から採集された 6 種のうち、*P. gonapodyides*、*P. honggalleglyana*、*P. lacustris* は各国で植物病原菌として報告されている。奥の池はイロハモミジ *Acer palmatum* Thunb. var. *palmatum* とメタセコイア *Metasequoia glyptostroboides* Hu & W.C.Cheng を主体とする林分に囲まれ、周囲の林床にはアカシウマ *Astilbe thunbergii* (Siebold & Zucc.) Miq. var. *thunbergii*、キチジョウソウ *Reineckea carnea* (Andrews) Kunth、ゴウソ *Carex maximowiczii* Miq. var. *maximowiczii*、セキショウ *Acorus gramineus* Sol. ex Aiton、チゴザサ *Isachne globosa* (Thunb.) Kuntze、ナルコユ

リ *Polygonatum falcatum* A.Gray、ハラン *Aspidistra elatior* Blume、ホウチャクソウ *Disporum sessile* D.Don ex Schult. & Schult. f.、各種シダ類、スミレ類、ラン類が生育するが、今回分離された菌は、これら周辺植生に病気を起こすことなく、池に生息していることが明らかになった。

今後、植物病原菌として知られる各種 *Phytophthora* 属菌が、病原菌として活動していない時に、どのような基質、宿主上でどのような形態で生息しているのか、基礎的な情報を蓄積し、それらを被害が深刻な地域での感染経路予測や病害防除に役立てていく必要がある。

引用文献

- Abad, Z. G., Burgess, T. I., Redford, A. J., Bienapfl, J. C. 2023a. online. IDphy: molecular and morphological identification of *Phytophthora* based on the types. <https://idtools.org/phytophthora/> (accessed on 2024-October-10).
- Abad, Z.G., Burgess, T.I., Bourret, T., Bensch, K., Cacciola, S.O., Scanu, B., Mathew, R., Kasiborski, B., Srivastava, S., Kageyama, K. and Bienapf, J.C. 2023b. *Phytophthora*: taxonomic and phylogenetic revision of the genus. *Studies in Mycology*. 106,259-348.
- Aday, A.G., Lehtijärvi, A., Şaşmaz, Y., Nowakowska, J. A., Oszako, T., Doğmuş Lehtijärvi, H. T., Woodward, S. 2018. *Phytophthora* species detected in the rhizosphere of *Alnus glutinosa* stands in the floodplain forests of Western Turkey. *Forest Pathology*, 48 (6), e12470.
- Aghighi, S., Burgess, T. I., Scott, J. K., Calver, M., Hardy, G. S. J. 2016. Isolation and pathogenicity of *Phytophthora* species from declining *Rubus anglocandicans*. *Plant Pathology*, 65 (3), 451-461.
- Brasier, C. & Jung, T. 2006. Recent developments in *Phytophthora* diseases of trees and natural ecosystems in Europe. Brasier, C. M., Jung, T. (eds): Progress in Research on *Phytophthora* Diseases in Forest Trees. Farnham, *Forest Research*, 5-16.
- Burgess, T.I., Edwards, J., Drenth, A., Massenbauer, T., Cunnington, J., Mostowfizadeh-Ghalamfarsa, R., Dinh, Q., Liew, E.C.Y., White, D., Scott, P., Barber, P.A. 2021. Current status of *Phytophthora* in Australia. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 47 (1), 151-177.
- de Sampaio e Paiva Camilo-Alves, C., da Clara M. I. E., de Almeida Ribeiro, N. M. C. 2013. Decline of Mediterranean oak trees and its association with *Phytophthora cinnamomi*: a review. *European Journal of Forest Research*, 132, 411-432.
- European Culture Collection's Organization., online. CBS strains Database. <https://wi.knaw.nl/Collection> (accessed on 2024-October-10).
- Fichtner, E. J., Kallsen, C. E., Blomquist, C. L. 2016. First report of crown rot caused by *Phytophthora parsiana* on pistachio in the Southern San Joaquin Valley, California. *Plant Disease*, 100 (8), 1795.
- Giordana, G., Kitzberger, T., La Manna, L. 2020. Anthropogenic factors control the distribution of a southern conifer *Phytophthora* disease in a peri-urban area of northern Patagonia, Argentina. *Forests*, 11 (11), 1183.
- Hansen, E. M., Reeser, P. W., Sutton, W. 2012. *Phytophthora* beyond agriculture. *Annual review of phytopathology*, 50, 359-378.
- Hong, C. X., Gallegly, M. E., Richardson, P. A., Kong, P., Moorman, G. W., Lea-Cox, J. D., Ross, D. S. 2010. *Phytophthora hydropathica*, a new pathogen identified from irrigation water, *Rhododendron catawbiense* and *Kalmia latifolia*. *Plant Pathology*, 59 (5), 913-921.
- Hu, J., & Rueda, A. 2022. First report of *Phytophthora parsiana* causing crown and root rot on guayule in the United States. *Plant Disease*, 106 (5), 1535.
- Jones, L. A., Worobo, R. W., Smart, C. D. 2014. Plant-pathogenic oomycetes, *Escherichia coli* strains, and *Salmonella* spp. frequently found in surface water used for irrigation of fruit and vegetable crops in New York State. *Applied and Environmental Microbiology*, 80 (16), 4814-4820.
- Jung, T., Pérez-Sierra, A., Durán, A., Jung, M. H., Balci, Y., Scanu, B. 2018. Canker and decline diseases caused by soil-and airborne *Phytophthora* species in forests and woodlands. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 40 (1), 182-220.
- Jung, T., Stukely, M., Hardy, G. S. J., White, D., Paap, T., Dunstan, W., Burgess, T. 2011. Multiple new *Phytophthora* species from ITS Clade 6 associated with natural ecosystems in Australia: evolutionary and ecological implications. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 26 (1), 13-39.

- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., Tamura, K. 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular biology and evolution*, 35 (6), 1547.
- McGowan, J., O'Hanlon, R., Owens, R. A., Fitzpatrick, D. A. 2020. Comparative genomic and proteomic analyses of three widespread *Phytophthora* species: *Phytophthora chlamydospora*, *Phytophthora gonapodyides* and *Phytophthora pseudosyringae*. *Microorganisms*, 8 (5), 653.
- Nechwatal, J., Bakonyi, J., Cacciola, S., Cooke, D., Jung, T., Nagy, Z., Vannini, A., Vettraino, A., Brasier, C. 2013. The morphology, behaviour and molecular phylogeny of *Phytophthora* taxon Salixsoil and its redesignation as *Phytophthora lacustris* sp. nov. *Plant pathology*, 62 (2), 355-369.
- Orlikowski, L. B., Ptaszek, M., Rodziewicz, A., Nechwatal, J., Thinggaard, K., Jung, T. 2011. *Phytophthora* root and collar rot of mature *Fraxinus excelsior* in forest stands in Poland and Denmark. *Forest Pathology*, 41 (6), 510-519.
- Pintos, C., Rial, C., Aguin, O., Ferreira, V., Mansilla, J. P. 2016. First report of *Phytophthora hydropathica* in river water associated with riparian alder in Spain. *New Disease Reports Volume*, 33 (1), 25.
- Rizzo, D., Garbelotto, M., Davidson, J., Slaughter, G., Koike, S. 2002. *Phytophthora ramorum* as the cause of extensive mortality of *Quercus* spp. and *Lithocarpus densiflorus* in California. *Plant disease*, 86 (3), 205-214.
- Schmitthenner, A. F. & Bhat, R. G. 1994. Useful methods for studying *Phytophthora* in the laboratory. *OARDC Special Circular* (143), 10 pp., Ohio Agricultural Research and Development Center, Wooster, Ohio.
- Sosa, M. C., Lutz, M. C., Vélez, M. L., Greslebin, A. 2015. Pre-harvest rot of pear fruit Golden Russet Bosc caused by *Phytophthora lacustris* and *Phytophthora drechsleri* in Argentina. *Australasian Plant Disease Notes*, 10, 1-3.
- Tkaczyk, M., Nowakowska, J. A., Oszako, T. 2016. *Phytophthora* species isolated from ash stands in Białowieża Forest nature reserve. *Forest Pathology*, 46 (6), 660-662.
- 筒井杏子・升屋勇人・山岡裕一・岡根泉, 2022. つくば市とその周辺地域のため池における *Phytophthora* 属菌の探索. In 日本菌学会大会講演要旨集 日本菌学会第66回大会 (p. 57). 日本菌学会.
- U. S. Department Agriculture., online. National Fungus Collections Nomenclature Database <https://fungi.ars.usda.gov/> (accessed on 2024-October-10).
- Vitale, S., Luongo, L., Galli, M., Belisario, A. 2014. First report of *Phytophthora hydropathica* causing wilting and shoot dieback on *viburnum* in Italy. *Plant Disease*, 98(11), 1582-1582.
- Xiong, Q., Qian, Y., Zhang, C., Shi, N., Zheng, X. 2019. First report of *Phytophthora hydropathica* causing wilting and shoot blight on *Bixa orellana* in China. *Plant Disease*, 103 (1), 163.
- Yang, X. & Hong, C. 2014. *Phytophthora virginiana* sp. nov., a high-temperature tolerant species from irrigation water in Virginia. *Mycotaxon*, 126 (1), 167-176.