

ブドウ枝膨病菌の胞子発芽と菌そう生育

田代 暢哉・貞松 光男(佐賀県果樹試験場)

Spore germination and mycelial growth of *Phomopsis* sp., causal organism of grapevine swelling arm. Nobuya TASHIRO and Mitsuo SADAMATSU (Saga Fruit Tree Experiment Station, Ogi-gun, Saga 845)

ブドウ枝膨病は御厨・貞松⁵⁾によって報告された新病害である。本病はその被害の甚大きさから九州地方の巨峰栽培地域では最重要病害となっている。本病の発生実態や病原についてはこれまで御厨・貞松⁶⁾および大和⁸⁾の報告があり、現在、病原菌の同定が行われているところである。しかし、新病害であることから本病の生態に関する知見は少なく、病原菌についてもまだ不明な点が多いのが現状である。

そこで、本病原菌 *Phomopsis* sp. の生理的性質の一部を明らかにする目的で、柄胞子発芽と菌そう生育に関して若干の試験を行ったので報告する。

材料及び方法

Tomono et al.⁷⁾ が考案したタマネギ鱗片上皮を発芽床とする実験系を用いて、ブドウ枝膨病菌の柄胞子の発芽部位、発芽管の伸長およびその後の菌糸の行動を経時的に観察した。供試したタマネギ鱗片は胞子発芽や菌糸侵入に対する阻害物質を除去するため、使用前に80%エチルアルコールに5分間浸漬した。本病原菌の柄胞子は蒸留水中ではほとんど発芽しないため、胞子懸濁液としてブドウ枝煎汁を用いた。同煎汁は蒸留水1ℓにブドウ(品種: 巨峰)の2年枝100gを細断したものを加えて30分間煮沸後、東洋ろ紙No.2でろ過したものである。供試菌株はS-1-1で、本菌を加圧滅菌したブドウ枝上に接種して4週間培養後、形成された柄子殻から溢出した柄胞子を用いた。胞子懸濁液の濃度は α 柄胞子の濃度として 5×10^3 個/mlに調整し、マイクロピペットでタマネギ鱗片上皮上に滴下した。さらに、Van Tieghem cell による方法²⁾を用いて本病原菌の胞子発芽および発芽管の伸長に及ぼす温度の影響について検討した。設定温度範囲は5℃から35℃までの6段階とし、接種24時間後に発芽率および発芽管長を調査した。

2. 菌そう生育に及ぼす温度の影響

菌そう生育に及ぼす温度の影響を液体静置培養で検討した。培養温度は5℃から35℃までの9段階とした。供試菌株としてS-1-1を用い、PDA培地で25℃・7日間

前培養した菌そうの周辺部を径6mmのコルクボーラーで打ち抜いて接種源とした。この接種源をPD液体培地に浮遊させ、白色蛍光灯照明(12時間/日)下で14日間培養後、乾燥菌体重を測定した。

3. 菌そう生育に及ぼす培地の種類および光照射の影響

供試培地は、麦芽エキス、麦芽エキス・ペプトン、麦芽エキス・酵母エキス、麦芽エキス・酵母エキス・ペプトン、酵母エキス・ブドウ糖、ジャガイモ・ブドウ糖、ジャガイモ・ショ糖、ジャガイモ・Marmite、V-8ジュース、コーンミール、ブドウ糖、ブドウ糖・アスパラギン、Czapek Dox およびジャガイモ・ニンジンの計14種類で、常法¹⁾に従ってそれぞれ寒天培地および液体培地を作成した。供試菌株はS-1-1とN-3-2の2菌株で、PDA培地で25℃・7日間前培養した菌そうの周辺部を平板培養では径4mmの、液体静置培養では径6mmのコルクボーラーで打ち抜いて接種源とした。培養温度は25℃とし、白色蛍光灯照射(12時間/日)下で培養した。なお、光照射の菌そう生育に及ぼす影響を明らかにするために、平板培養では暗黒下での培養も行った。平板培養では接種7日後に菌そう直径を測定し、さらに気中菌糸の生育状況および色素の产生状況を観察した。液体静置培養では14日間培養後に乾燥菌体重を測定した。

結果及び考察

1. 柄胞子の発芽

タマネギ鱗片上皮上における本病原菌柄胞子の発芽は接種10時間後から認められ、16時間後までに大部分の胞子が発芽した。発芽開始までの時間がやや長いようにも思われるが、これは供試した胞子の成熟度や胞子懸濁液の種類によって異なると考えられた。発芽部位は第1表に示したように大部分が近先端部で、次いで先端部で中間部からの発芽は少なかった。本実験系を用いてTomono et al.⁷⁾はタマネギ鱗片上皮上で発芽したカンキツ黒点病菌の菌糸が表皮を貫入するのを観察しているが、本試験では菌糸の侵入はまれに認められた程度で、本実験系を

用いて感染過程を観察するのは困難であった。この原因として菌糸侵入に対する阻害物質の除去が不完全であったことが考えられ、この点についてさらに検討を加える必要があると思われる。

次に柄胞子の発芽率および発芽管の伸長に及ぼす温度

の影響をみたのが第1図である。柄胞子の発芽は15℃から35℃までの温度範囲で認められ、20℃から30℃で良好であった。最適発芽温度は25℃前後にあると思われる。発芽管の伸長も20℃から30℃で良好であったが、最も良好な伸長を示したのは20℃であった。

2. 菌そう生育に及ぼす温度の影響

本病原菌の菌そう生育に及ぼす温度の影響を示したのが第2図である。本病原菌の生育は20℃から32℃の範囲で認められ、とくに25℃から28℃で良好であった。15℃以下および35℃では培地中の菌糸の伸長は認められず胞子の発芽可能な温度域よりも菌体の生育可能な温度域はせまい傾向にあった。しかし、接種した菌そう切片は5℃を除いて10℃、15℃および35℃では黒変しており、なんらかの生育または代謝作用を行っている可能性がある。この点についてはブドウ枝幹中における病原菌の進展可能な温度範囲を明らかにする上からもさらに詳細な検討が必要であろう。

3. 菌そう生育に及ぼす培地の種類および光照射の影響

培地の種類によって本病原菌の菌そう生育は大きく異なった。すなわち、第2表に示したように平板培養ではジャガイモ・ニンジン寒天培地を除く天然培地での生育が良好であったのに対して、合成培地での生育は不良であった。天然培地のなかでジャガイモ・ニンジン寒天培

第1表 ブドウ枝膨病菌 α 柄胞子の発芽部位

発芽部位 ^a	発芽率(%)
先端部	14.1
近先端部	80.5
中間部	5.4

a)



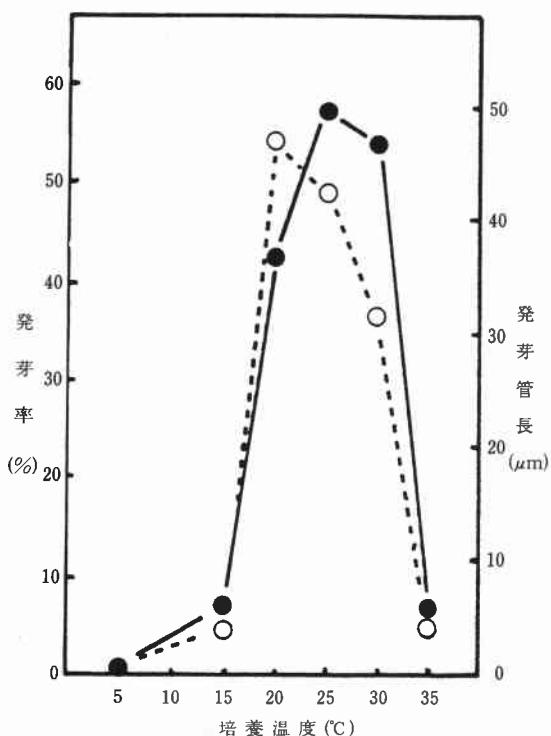
先端部



近先端部

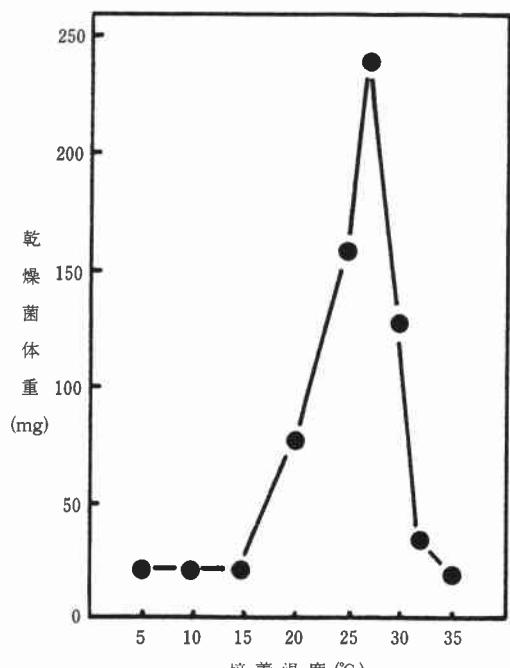


中間部



第1図 ブドウ枝膨病菌 α 柄胞子の発芽に及ぼす温度の影響

●:発芽率 ○:発芽管長



第2図 ブドウ枝膨病菌の菌そう生育に及ぼす温度の影響

地での生育が劣ったのはジャガイモ・ブドウ糖寒天培地やジャガイモ・ショ糖寒天培地にくらべて培地組成中のジャガイモの量が20g/lと少ないとことによるとと思われる。また、液体静置培養における生育は菌株によってふれがあるものの第3表に示すように平板培養の場合とほぼ同様の傾向を示し、とくに、ジャガイモ・Marmite液体培地、コーンミール液体培地、ジャガイモ・ブドウ糖液体培地およびジャガイモ・ショ糖液体培地で安定して良好な生育を示した。

次に、生育が良好であった10種類の平板培地上における本病原菌の菌そう生育および色素産生に及ぼす光照射の影響をみたのが第4表である。供試菌株および培地の種類によって多少異なるものの、光照射によって菌そうの生育が促進され、さらに一部の培地では色素産生の抑制も認められた。すなわち、ジャガイモを主成分とした培地およびV-8ジュース寒天培地では供試した2菌株とともに光照射を行った場合に菌そうの生育が促進され、気中菌糸の形成量が多くなる傾向が認められた。また、S-1-1では麦芽エキスを主成分とした培地や酵母エキス・ブドウ糖寒天培地およびコーンミール寒天培地でも明らかに光照射による菌そうの生育促進効果が認められた。

第2表 ブドウ枝脛病菌の各種寒天培地上における菌そう生育

生育が 良好な 培地	麦芽エキス(M)	ジャガイモ・ブドウ糖(PDA)
	M・ペプトン(P)	ジャガイモ・ショ糖(PSA)
	M・酵母エキス(E)	ジャガイモ・Marmite
	M・E・P	V-8ジュース
	E・ブドウ糖	コーンミール
生育が 不良な 培地	ブドウ糖(D)	ジャガイモ・ニンジン
	D・アスパラギン	
	Czapek・Dox	

第3表 ブドウ枝脛病菌の各種液体培地における生育量^{a)}

供試培地	供試菌株	
	N-3-2	S-1-1
麦芽エキス(M)	156mg	66mg
M・ペプトン(P)	121	68
M・酵母エキス(E)	86	65
M・E・P	91	59
ジャガイモ・ブドウ糖	130	99
ジャガイモ・ショ糖	98	101
ジャガイモ・Marmite	166	92
コーンミール	95	118
酵母エキス・ブドウ糖	98	69
V-8ジュース	46	57
ブドウ糖(D)	12	7
D・アスパラギン	20	10
Czapek・Dox	27	20
ジャガイモ・ニンジン	41	47

a) 表中の数字は乾燥菌体重 (mg)

第4表 ブドウ枝脛病菌の菌そう生育に及ぼす培地の種類および光照射の影響

供試菌株	供試培地	菌そう直径 (mm)		気中菌糸		色素	
		L	D ^{a)}	L	D	L	D
N-3-2	麦芽エキス(M)	37	35	+	±	—	—
	M・ペプトン(P)	25	22	+	±	—	—
	M・酵母エキス(E)	34	37	++	++	—	—
	M・E・P	37	33	++	++	—	—
	E・ブドウ糖	36	37	++	++	—	—
	コーンミール	29	35	++	++	—	—
	PDA	33	15	++	++	—	褐
	PSA	34	25	++	++	—	黄 褐
	ジャガイモ・Marmite	40	21	++	++	—	褐
S-1-1	V-8ジュース	60	48	+++	++	—	—
	麦芽エキス(M)	53	21	±	±	—	—
	M・ペプトン(P)	32	21	++	±	—	—
	M・酵母エキス(E)	60	32	++	++	—	—
	M・E・P	53	33	++	++	—	黄
	E・ブドウ糖	50	46	++	++	—	—
	コーンミール	44	29	+++	+	—	—
	PDA	61	19	+++	++	—	褐
	PSA	52	34	+++	++	—	黄 褐
	ジャガイモ・Marmite	43	24	++	++	—	褐
	V-8ジュース	54	42	+++	++	—	—

a) L : 12時間/日 蛍光灯照射下で培養, D : 暗黒下で培養

しかし、N-3-2の場合、これらの培地では光照射による菌そうの生育促進効果は認められなかった。色素の產生は蛍光灯照射下で培養した場合にはすべての培地で認められたが、暗黒下で培養した場合には一部の培地で認められた。すなわち、供試した2菌株ともにジャガイモ・ブドウ糖寒天培地、ジャガイモ・ショ糖寒天培地およびジャガイモ・Marmite寒天培地で褐色または黄褐色の色素を產生し、さらにS-1-1では麦芽エキス・酵母エキス・ペプトン寒天培地においても黄色の色素を產生した。

これまで光照射の胞子形成に対する影響については種々の報告^{3,4)}があるが、菌そう生育に対する作用についての報告は少ない¹⁾ようである。本病原菌の場合、光照射の有無が菌そう生育の促進および色素产生に大きな影響を及ぼすことから、培養時にはこの点に留意することが必要である。しかし、菌株や培地の種類によっては光照射の効果が顕著でない場合もあり、光源の波長や照射時

間の問題も含めてさらに多くの菌株および培地について検討が必要であると思われる。なお、柄子殻の形成は光照射の有無にかかわらず認められなかった。培地上での安定した胞子形成方法も今後の課題である。

引　用　文　献

- 1) 青木清雄・椿 啓介・三浦宏一郎編 (1983) 菌類研究法. 共立出版、東京. pp. 50, 393 - 408.
- 2) 明日山秀文・向秀夫・鈴木直治編 (1962) 植物病理実験法. 日本植物防疫協会、東京. pp 336 - 337.
- 3) 本田雄一 (1979) 植物防疫 **33**: 430 - 438.
- 4) 丸茂晋吾 (1979) 植物防疫 **33**: 421 - 429.
- 5) 御厨秀樹・貞松光男 (1987) 日植病報 **53**: 378 (講要).
- 6) 御厨秀樹・貞松光男 (1988) 佐賀県試研報 **10**: 71 - 76.
- 7) TOMONO, K., ARIMOTO, Y. and MISATO, T. (1979) Ann. Phytopath. Soc. Japan **45**: 444 - 452.
- 8) 大和浩国 (1981) 日植病報 **48**: 118 (講要).

(1988年6月17日 受領)