

ブドウ褐斑病菌 (*Pseudocercospora vitis*) の分生孢子形成条件

田代暢哉・孫 益林<sup>1)</sup>・井手洋一・衛藤友紀 (佐賀県果樹試験場<sup>1)</sup> 中国江蘇省豊県套楼園芸場)

Nobuya TASHIRO, Yilin SUN, Yoichi IDE and Tomoki ETOH : Effect of Medium, Temperature and Light on Conidia Formation of Grapevine Leaf Blight Fungus, *Pseudocercospora vitis*

ブドウ褐斑病菌 (*Pseudocercospora vitis*) は菌そうの生育が極めて遅く、分生孢子 (以下、孢子と略) の形成も不良で、本病の生理・生態的研究に支障をきたしている。そこで、周藤<sup>1)</sup> がマツ類葉枯病菌 (*Cercospora pinidensiflorae*) で試みた方法に準じて菌そうを摩砕し PDA 平板培地に塗抹したところ、菌そう片およびその周囲に孢子形成が認められたので、本法を用いて孢子形成条件について検討した。

1. 培地の種類と光条件

PDA 平板培地で 21 日間前培養した本病原菌の菌そうを磨砕して第 1 表に示す各種培地の全面に塗抹した。暗黒下および蛍光灯照射下で 20℃・7 日間培養後、1 ペトリ皿当たり 5 カ所を径 6mm のコルクボーラで打ち抜き、得られた菌そうディスクを殺菌水に移し、超音波処理を 10 分間行い孢子を懸濁させた。血球計算板を用いて孢子数を計数し、培地の単位面積当たりの形成孢子数を算出した。

その結果、暗黒下では PIA 培地 (ジャガイモ・イノシトール寒天培地:イノシトールの濃度は 2%) で 16.3 × 10<sup>4</sup> 個 / cm<sup>2</sup> と最も多く形成され、次いで PSA、PDA 培地の順であった。蛍光灯照射下では V-8 ジュース寒天培地で 16.2 × 10<sup>4</sup> 個 / cm<sup>2</sup> と最も多く形成された (第 1 表)。

第 1 表 培地の種類と光条件が孢子形成に及ぼす影響

供試培地 <sup>a)</sup>	孢子形成量	
	暗黒下	蛍光灯照射下
V-8ジュース	2.2 <sup>b)</sup>	16.2
ジャガイモ煎汁	1.8	0.2
PDA (グルコース)	6.6	1.3
PSA (スクロース)	7.5	0.5
巨峰葉煎汁	0.1	1.3
ニンジン煎汁	0.1	0.2
ニンジン葉煎汁	0.6	1.3
PIA (イノシトール)	16.3	0.2
PMA (マンニトール)	1.5	0.2
WA (寒天)	0.1	0.2

注) a) 寒天含有量は巨峰葉煎汁培地が 4%, 他はすべて 2%  
b) ×10<sup>4</sup> 個/cm<sup>2</sup>

第 2 表 炭素源の種類が孢子形成に及ぼす影響

供試炭素源	孢子形成量
イノシトール	13.7 <sup>a)</sup>
スクロース	10.4
マンノース	5.6
マルトース	5.2
グルコース	2.2
スターチ	0.5
トレハロース	0.4
マンニトール	0.2
サリン	0.2
アラビノース	0.1
エリトリット	0
ズルチトール	0
ソルビトール	0
チロシン	0
ラクトース	0
アドニトール	0

注) a) ×10<sup>4</sup> 個/cm<sup>2</sup>

このように本病原菌の孢子形成には光は不要で、暗黒下においても多量に形成されることが明らかとなった。この場合、ジャガイモ煎汁を基本にした培地で形成が良好なことから、さらにジャガイモ煎汁に添加する炭素源の種類について検討した。供試した炭素源は 16 種類で、濃度は 2%, 培養温度は 20℃ とした。

その結果、イノシトールの添加で 13.7 × 10<sup>4</sup> 個 / cm<sup>2</sup> と最も孢子形成は良好となり、次いでスクロース、マンノース、マルトース、グルコースの順であった (第 2 表)。

2. 温度条件

PIA 平板培地を供試し、暗黒下の各温度条件下で培養して 7 日および 10 日後に孢子形成量を調査した。

その結果、孢子の形成は 7 日後には 15 ~ 30℃, 10 日後には 5 ~ 30℃ の範囲で認められた。なお、培養 7 日後では 30℃ での形成が優っていたが、10 日後には 25℃ で 21 × 10<sup>4</sup> 個 / cm<sup>2</sup> と最も多く、20, 22 および 30℃ では 13 × 10<sup>4</sup> 個 / cm<sup>2</sup> 程度であった (第 3 表)。

第 3 表 培養温度が孢子形成に及ぼす影響

培養温度 (℃)	孢子形成量	
	7日後	10日後
5	0	0.003
10	0	0.006
15	0.3 <sup>a)</sup>	0.4
18	0.8	2.5
20	3.2	13.0
22	3.0	12.7
25	5.5	21.0
30	7.2	13.0

注) a) ×10<sup>4</sup> 個/cm<sup>2</sup>

3. pH 条件

PIA 培地を供試し、HCl と NaOH を用いて pH を調整し、オートクレーブ処理後の pH を測定して培地の pH とした。培養方法および調査方法は前述の通りである。

その結果、培養日数の経過とともに孢子形成に好適な pH は強酸性側から弱酸性側へと変化していた。すなわち、培養 5 日後では pH3.9 での形成が多かったが、7 日後には pH5.6 で良好となり、10 日後には pH6.0 で 37.1 × 10<sup>4</sup> 個 / cm<sup>2</sup> と最も多量に形成された (第 4 表)。

第 4 表 培地 pH が孢子形成に及ぼす影響

培地 pH	孢子形成量		
	5日後	7日後	10日後
3.9	5.4 <sup>a)</sup>	6.5	10.6
4.7	3.7	8.7	25.0
5.6	2.0	12.5	26.0
6.0	1.8	5.4	37.1
6.4	0.3	0.3	12.1
7.0	1.3	2.0	11.0
7.6	0.5	1.3	6.7
8.0	0	0	0

注) a) ×10<sup>4</sup> 個/cm<sup>2</sup>

4. まとめ

以上のように、pH6.0 に調整した PIA 平板培地に本病原菌の摩砕した菌そう片を塗抹し、暗黒条件下・25℃ で 10 日間培養すれば多量の分生孢子が形成されることが明らかになった。本法を用いると接種葉に多数の病斑形成が可能な孢子濃度である 1 ~ 2 × 10<sup>4</sup> 個 / ml の懸濁液を一枚のペトリ皿 (径 90mm) 当たり 1,000ml 作成することができ、接種試験や薬剤のスクリーニング等に十分役立つものと思われる。

引用文献

1) 周藤靖雄: 高根林試研報 32: 13-26, 1982.