

Cercospora beticola の培地上に於ける孢子形成並孢子の形態に及ぼす2,3の要因に就て

内藤 中人・高原 弘

Some factors affecting the production and morphology of conidia in culture of *Cercospora beticola* Sacc.

By Nakato NAITO and Hiroshi TAKAHARA (Laboratory of Phytopathology)

(Received September 13, 1954)

Cercospora 菌は一般に人工培地では分生孢子の形成が悪く研究上種々支障を来す事は周知の通りである。又菌の形態が寄主、環境により変化し易く分類学上屢々問題となる事も多くの人に指摘されている。筆者等⁽⁸⁾はさきに蒨藜草褐斑病菌を蒨菜褐斑病菌 *Cercospora beticola* Sacc. と同定したが、その研究に当り本菌の主として培地上に於ける孢子形成、孢子の形態等に及ぼす要因に就ても2,3の実験を行った。

1. 供試材料 供試菌は前報⁽⁸⁾に用いたと同一の蒨菜褐斑病菌 (*C. beticola* Sacc.) である。本菌の分離直後は馬鈴薯煎汁寒天でも分生孢子を形成したが、間もなく同培地では新しく移植しても孢子を形成しなくなったので、本実験に於てはこのように馬鈴薯煎汁寒天では既に形成能力を失ったと考えられる培養を用いた。尚使用培地の処方は次の通りである。

蒨菜葉煎汁、シロツメクサ葉煎汁、胡蘿蔔根煎汁 (夫々の植物の生の莖葉或は胡蘿蔔根750g, 蔗糖15g, 水1L), 胡蘿蔔葉煎汁加ペプトン加用合成 (ペプトン5g, NH_4NO_3 0.25g, K_2HPO_4 0.25g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1g, FeCl_3 2%液数滴, 蔗糖12.5g, 胡蘿蔔葉煎汁500cc), 胡蘿蔔葉煎汁粕 (胡蘿蔔の生の莖葉煎汁の残滓), 小麦葉煎汁 (乾燥小麦莖葉200g, 蒸溜水1L), イースト煎汁 (圧搾酵母70g, 蒸溜水1L), 玉蜀黍, ツアベック合成培地は滝元⁽⁹⁾と、其他の培地は前報⁽⁸⁾と同一処方である。

第1表 寒天培地に於ける孢子形成並孢子の形態比較

培地の種類	孢子密度	長さ (μ)			隔膜数 (個)			幅 (μ)		
		測定数	範囲	平均	測定数	範囲	平均	測定数	範囲	平均
胡蘿蔔葉煎汁	卅	180	25~250	120.9	180	2~24	8.5	180	3.8~6.3	5.0
蒨藜草葉煎汁	卅	170	30~301	118.6	170	0~20	8.5	170	1.5~6.3	4.1
蒨菜葉煎汁	卅	100	20~200	92.7	100	0~13	6.3	100	2.5~5.0	3.3
胡蘿蔔葉煎汁加ペプトン加用合成	卅	170	20~330	108.3	170	0~18	7.7	170	2.5~6.3	3.5
葡萄糖加ブイヨン	卅	183	20~200	80.2	180	2~16	6.6	180	2.5~5.0	3.5
玉蜀黍煎汁	卅	100	40~335	121.0	100	0~14	6.0	100	2.5~5.0	3.7
小麦葉煎汁	卅	110	20~231	150.0	110	0~20	9.2	110	1.5~5.0	2.6
胡蘿蔔葉煎汁粕	+	108	10~160	77.9	108	2~15	7.0	108	2.5~5.0	3.3
アスパラギン加用合成	±	40	10~160	59.5	40	2~8	3.8	40	2.5~5.0	3.0
シロツメクサ葉煎汁	±	20	—	62.0	20	—	5.4	19	—	3.3
ツアベック氏	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
胡蘿蔔根煎汁	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
天然の孢子		110	20~220	88.4	110	1~18	6.9	110	2.5~6.3	4.6

次に同様の方法で12日間培養した試験管5本宛に就き胞子の形態と温度との関係を調べたところ(第4表), 胞子の長さ, 隔膜数の温度による差は左程著しくないが, 胞子の長さは25°Cで最大でそれより高い程小さく, 25°C以下では殆んど差がない. 中田等⁽⁷⁾は高温では隔膜20以上に達し低温では2~4ケであると述べ, Coons等⁽¹⁾は17°~18°Cでは小さく且隔膜も少く, 27°~29°Cでは長いとしているが, 筆者等の結果と稍々異っている.

第4表 胡蘿蔔葉煎汁寒天培地に於ける胞子の形態と温度との関係

温度 °C	長さ (μ)			隔膜数		
	測定数	範囲	平均	測定数	範囲	平均
35	108	20~260	92.0	100	2~16	7.6
30	159	30~225	110.6	100	2~18	9.4
25	180	25~250	120.9	180	2~24	8.5
20	106	30~220	94.2	92	2~18	8.7
15	58	20~200	90.0	56	2~18	8.0
10	91	20~185	100.0	62	2~18	9.3

4. 菌そうの位置と胞子密度並胞子の形態との関係 Coons等⁽¹⁾によると本菌は菌そう周辺部に胞子が多いという. 筆者等もペトリ皿の胡蘿蔔葉煎汁寒天に25°Cで12日間培養し, 菌そう周辺部中心部及中間部に於ける胞子密度並胞子の形態を調べたところ(第5表), 両者共周辺に近い程大で特に中心部胞子の長さは周辺のもの約 $\frac{1}{2}$ に過ぎない. 培養初期にはこの傾向を認めないが, 漸次著しくなるようである. 胞子の多い菌そうは緑色を帯びるに反し然らざるものは白色であるから肉眼でも胞子の有無は見当がつくが, 菌そう表面の色も培養の進むに従い中央部は白色, 周辺部のみ緑色を帯びる.

第5表 胡蘿蔔葉煎汁寒天に於ける菌叢の位置と胞子形成並胞子の形態との関係

菌叢の位置	胞子密度	胞子の長さ (μ)			胞子の隔膜数		
		測定数	範囲	平均	測定数	範囲	平均
周縁より5mm迄	卅	70	55~320	268.8	84	3~22	10.6
” 5~15mm	卅	84	40~320	166.6	56	2~26	12.5
” 15~25mm	+	46	20~220	92.0	45	2~18	8.1

5. 水素イオン濃度と胞子密度並胞子の形態との関係 NaOH と HCl で各種 pH に規正した胡蘿蔔葉煎汁約25cc宛をペトリ皿に分注移植後, 20°Cで10日間培養し検鏡した. 尚胡蘿蔔葉煎汁の pH は5.3である. その結果によると(第6表) pH3.2以下では発育せず4.2では僅かに発育し胞子も極く少数認められた. 5.3~10.0< では胞子の密度にあまり差がない. 尚胞子の大きさは5.3で最大で他は殆んど差がない.

6. 蔗糖濃度並胡蘿蔔葉煎汁濃度と胞子密度との関係 各種濃度の蔗糖を加えた胡蘿蔔葉煎汁液25cc宛を三角フラスコに分注移植後, 10°~20°Cの室温で20日間保ち胞子の密度を調査した. その結果5%迄は大で, 10%では僅か形成することがあるが15%以上では全く見られない. 柄内等^(10,11)はツアベック氏合成培地に甜菜煎汁を種々の比に混じたところ, 煎汁の量が増すにつれ胞子形成も多くなることを指摘した. 筆者等も胡蘿蔔葉煎汁を夫々 0, 2, 4, 8, 10倍に稀釈した5種の寒天

第6表 水素イオン濃度と孢子形成並孢子の形態との関係

培養前 pH	培養後 pH	孢子密度	孢子の長さ(μ)			孢子の隔膜数		
			測定数	範囲	平均	測定数	範囲	平均
10.0	8.6	+	96	20~200	77.0	96	1~21	6.2
8.8	7.3	+	94	30~150	60.0	94	1~12	5.1
7.5	6.9	+	88	30~180	78.0	88	1~12	6.5
6.5	6.4	+	80	20~250	73.5	81	2~15	5.2
5.3	5.3	+	92	20~300	127.5	92	1~25	5.8
4.2	4.1	±	0	—	—	—	—	—
3.2	3.3	—	0	—	—	—	—	—

培地に25°~32°Cの室温で10日間培養し比較した。その結果菌そう直径の差は余りないが濃度が薄い程菌そう薄く、孢子密度も減少し、8, 10倍区では極く僅か形成することがある。

7. 純粹培養以外の場合に於ける孢子形成 寄主罹病部を切り湿室に保つと屢々新孢子を多数形成することは従来多くの菌で観察されている。筆者等も採取後可成り日数を経た本病胡蘿蔔葉部を切り湿った濾紙を敷いたペトリ皿中で25°Cに保ち、24時間後多数の新孢子を認めた。従って培地の菌そうでも同様の現象が推定されたので、馬鈴薯煎汁寒天に20日間培養したペトリ皿或は試験管培養をそのまま硝子鐘内で飽和湿度に保ったところ多くの場合7~10日で多数形成された。菌糸片特に予め乾燥させたものを載せたスライドグラスを同様処置しても同じ結果をえた。又馬鈴薯煎汁、稀薄醤油寒天上の孢子を形成しない菌糸或は胡蘿蔔葉煎汁其他の培地で一定期間経過し既に孢子の認められぬ菌そうの1片を、鉢植にした菘菜、蒔蘿草、ソバの葉上乃至その土壤表面に置き、鉢を硝子鐘で別々に7~10日間覆うた時も同様で、然もこの場合切片を置く箇所が有傷と無傷で差異なく且孢子の大きさは植物の種類により可成りの差を認めた。然し同様の菌そうを湿室にしたペトリ皿に入れるか、蒔蘿草、菘菜葉を切り同様のペトリ皿内に置きその上に菌糸片をおいたものを25°Cに保つ時は多くの場合殆んど形成を見なかつた。Lewis⁽³⁾もフラスコに入れた土壤上に葉片を入れ殺菌後葉片に菌を移植すると *C. Apii* は孢子を形成するが、葉片のみでは形成しないことを観察している。

8. 考察 胡蘿蔔、蒔蘿草葉煎汁寒天等では本菌孢子が多数形成されることより柄内等^(10,11)が甜菜で指摘している如く之等の葉には孢子形成を促進する物質が存在するものと思われる。然して炭疽病菌等の分生孢子に於ては培地が乾固しない限り比較的長期に亘つて孢子が存在するに係らず本菌の形成期間が概して短いのは、この促進物質が漸次消耗されるに従い孢子形成が減少して行くに反し、一旦形成された孢子は漸次発芽或は分解して行くためであろう。Matsumoto⁽⁴⁾は大豆紫斑病罹病粒に就き温度、湿度が高い程孢子の形成後直ちに発芽する傾向があるが、低温では発芽せずその儘残存すると報告している。筆者等も15°, 10°Cでは発芽が相当悪い事を明らかにしているので、低温に於て形成期間の長い理由として発芽率の低下という事も否定出来ぬと思うが、高温のもの程分解過程にあると推定される孢子が多数観察されたのでこれも1原因と推定している。次に馬鈴薯煎汁寒天では分離直後は孢子を形成するにかかわらず間もなく形成しなくなる理由であるが、Houtson⁽²⁾は *Helminthosporium graminum* に就き分離直後は寄主より摂取した孢子形成物質が菌体中に尚残存するためであろうと言う興味ある見解を披瀝しているので本菌の場合も或いはこのような事も推定される。このように本菌の孢子形成には或種の促進物質の存在が主要因をなすも

のと推定されるが、之等の物質を含まず従って孢子の形成されない馬鈴薯煎汁寒天上の菌そう、或いは胡蘿蔔葉煎汁等に移植後或一定期間を経てこのような物質が消耗しつくされたため孢子形成の見られなくなったと推定される菌そうでも、既述の如くこれを硝子鐘で或期間被覆すると屢々孢子形成が見られる事実は少くとも1種類の促進物質のみでは解釈出来難いようにも思われ、2種類以上の要因が関与しているのであろう。

摘 要

1. 蒸菜褐斑病菌 (*Cercospora beticola* Sacc.) の人工培地に於ける孢子形成は胡蘿蔔並菠菜葉煎汁寒天が最良で、孢子の大きさは培地の種類により可成り異なる。
2. 孢子の形成期間は培養温度が高い程短く、25°Cでは培地の種類により移植後21~42日の範囲にある。
3. 孢子の形成並孢子の長さは25°Cに於て最大で、孢子の隔膜数は温度により大差を認められない。
4. 菌そうの周辺部程孢子の密度、孢子の長さ共に大きく、特に中心部の孢子は周辺部の1/3位の長さに過ぎぬ。
5. pH 5.3~10.0の範囲で孢子が形成されるが、孢子密度に pH が影響することは殆んどない。孢子の長さは pH 5.3 に於て最大で他は殆んど差異がない。

引用文献

1. Coons, G. H. & Larmer, F. G. : Papers Mitch Acad. Sci, 11:75~104 (1929) [Nagel⁽⁶⁾による]
2. Houtson, B. R. & Ostwald, J. W. : Phytopath. 36 : 1049~1055 (1946)
3. Lewis, R. W. : Ibid. 20:329~337 (1940)
4. Matsumoto, T. : Ann. Phytopath. Soc. Japan 2:65~69 (1928)
5. Nagel, C. M. : Phytopath. 24:1101~1110 (1934)
6. ——— & Dietze, S. M. : Ibid. 22, 20 (1932)
7. 中田・中島・滝元: 朝鮮総督府勸業模範場研究報告 6 : 1~33 (1926)
8. 内藤中人・高原弘: 香川農大術報告 6 (2):173~183 (1954)
9. 滝元清透: 微生物学及植物病理学実験法 (1952)
10. 柄内吉彦・竹内昭士郎: 日. 植. 病. 報 17 (3, 4):186 (1953)
11. ——— : 北日本病害虫研究年報 4 :108 (1953)
12. Vestal, E. F. : Iowa Agr. Exp. Sta. Res. Bull. 168 (1933)

R é s u m é

1. In the present paper the writers describe the results of the experiments on the external factors affecting the production and the form of conidia in culture of *Cercospora beticola* Sacc.
2. The writers cultured the fungus on 15 kinds of media and found that the most abundant conidia were obtained when carrot-leaf or spinach-leaf decoction agar was used. On carrot-leaf decoction agar a temperature of 25°C was optimum for sporulation. Conidia were produced over the entire colony, but in greater numbers along the margins. We have also observed that the causal fungus produces many conidia at initial pH value of 5.3 to 10.0, while the amount of spores was almost not affected in the same range of pH.
3. The conidia appeared on some cultures within 3 days after inoculation and continued to be produced for about 25-42 days. When cultures were made under low temperature such as

15°C or 10°C, sporulation continued at a comparatively high rate for a comparatively long period.

4. The mean value of conidial length was greatly affected by the kind of media. At temperature 25°C, it was largest when cultured on wheat straw decoction agar. On carrot-leaf decoction agar the temperature also influenced the size of spores, being largest at temp. 25°C; however in temp. below the optimum, the effect upon the conidial length was almost not seen. The effect of pH upon the size was studied on carrot-leaf decoction at 20°C. Spores were largest in length at the initial pH value of 5.3. The size of spores also varied with the portion of mycelial mat. The spores produced at the borders of the colonies were largest in mean value. The mean length of spores at the central part of the colonies was only about 1/3 of that produced along the margins.

論文要旨

香川県立農科大学学術報告 第...号 香川大学学術情報リポジトリ

本論文は、香川大学学術情報リポジトリに掲載されている論文の要旨をまとめたものである。内容は、香川大学学術情報リポジトリに掲載されている論文の要旨をまとめたものである。