

簡易接種法によるクワ芽枯病菌の病原力の判定

斎藤英毅・柳沢勝人・茅野誠司

(信州大学繊維学部附属農場)

圃場より採集したフザリウム菌がクワに対して病原性があるかどうかを判定するためには、クワへの有傷接種試験を行って病斑形成の有無を調べる方法が一般的である。しかし、本病の場合、クワへの接種試験は、松尾による本病の発生機作の研究から、秋季に実施することは可能であるが、それ以外の時期には実施することができない(1,2)。さらに、接種したフザリウム菌の形成する病斑が肉眼で確認可能となるのは翌春の5、6月頃になってからである。このように、有傷接種法は病原菌の識別に有効な手法であるが、病原性の判定までに非常に長い時間を必要とするという欠点がある。筆者らは試験期間が短くてすみ、さらに年間を通して随時実施が可能となる接種試験方法の確立をめざして模索している。今回は発芽前伐採した桑条を用いた場合、正確な病原性の判定が可能かどうかについて検討を行った。

材料および実験方法

供試菌株は、Table 1 に示したように *Fusarium lateritium* f. sp. *mori* 2 菌株、*F. solani* f. sp. *mori* 2 菌株、*F. roseum* 'Graminearum' 2 菌株である。実験方法は有傷接種法、ポリ袋法、プラスチック容器法を用いて行った。

Table 1 Origin of test strains

<i>Fusarium lateritium</i> f. sp. <i>mori</i>	
m12	Mulberry
m14	Mulberry
<i>F. solani</i> f. sp. <i>mori</i>	
s1	Mulberry
s2	Mulberry
<i>F. roseum</i> 'Graminearum'	
G1	Carnation
G2	Carnation

- (1) 有傷接種法：常法によって実施した。
- (2) ポリ袋法：春、発芽前伐採し、冷蔵庫内に保存しておいた桑条を使用時に長さ約15cmに切断した。下部の切り口は濡れた新聞紙で包み、上部の切り口に供試菌の孢子懸濁液を接種し、ポリ袋内に入れた。対象区には殺菌水を滴下した。桑条は菌株当たり3本使用した。接種後、5℃暗所で培養し、1週間に1度接種した切り口に殺菌水を滴下した。
- (3) プラスチック容器法：植物組織培養用プラスチック容器の底部に水を含ませた水苔を入れ、オートクレーブで殺菌した。殺菌後、約10～12cmに切断した発芽前伐採桑条を容器当たり3本ずつさし、以後はポリ袋法と同様に実験・管理した。供試したクワ品種は一ノ瀬である。接種菌の濃度については、ポリ袋法を用いて 10^4 、 10^5 および 10^6 /mlについて検討した。さらに、長期間冷蔵庫内に保存した桑条の使用の可能性についても検討した。

実験結果

実験結果を Fig. 1～Fig. 5 に示した。Fig. 1～Fig. 3 のグラフはそれぞれ有傷接種法、ポリ袋法、プラスチック容器法で各菌株が形成した病斑の大きさを示したものである。圃場における有傷接種法と比較すると、ポリ袋法、プラスチック容器法ともに有傷接種法と同様の傾向が見られた。病斑の色調についてみると、有傷接種法の場合はいずれの菌株の病斑も黒褐色であり差が見られなかった。しかし、ポリ袋法、プラスチック容器法の場合は、*Fusarium lateritium* f. sp. *mori* の病斑は濃褐色であるが、クワには非病原菌である *F. roseum* 'Graminearum' のものは淡褐色と差が見られた。このように、病斑の大きさだけでなく色調にも差が見られたことから、両方法はクワ芽枯病菌の識別法として十分使用できると考えられる。Fig. 4 は、ポリ袋法を用いて接種菌濃度について検討した結果である。このグラフより、接種菌濃度が高い程、病斑が大きくなる傾向が見られた。また、接種菌濃度 10^4 /ml でも病原性の判定は可能であると考えられる。Fig. 5 は長期間冷蔵庫内に保存した桑条も病原性の識別に使用可能かどうか検討した結果を示したものである。使用した桑条は、平成2年4月13日に発芽前伐採し、濡れた新聞紙でくるみ、それをポリ袋に入れ、5℃の冷蔵庫内で10月17日まで6ヶ月間保存したものである。この桑条を用いてポリ袋法で検討した。その結果、桑条の表面にカビが生育し病原性の判定が不可能なものも若干見られたが、ほぼグラフに示したように、新しい桑条を用いた場合と同様の傾向が見られた。

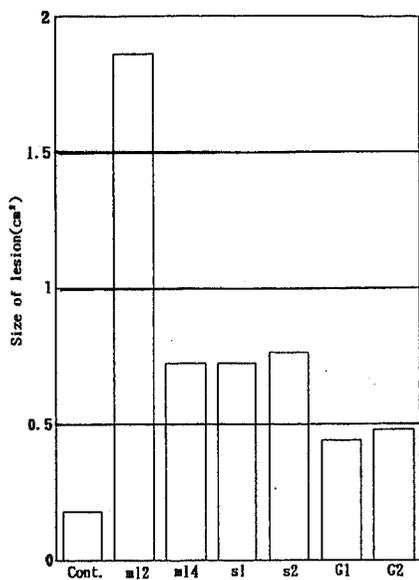


Fig.1 Size of lesion due to Injured inoculation method
 Cont. : Control
 m12, m14: *Fusarium lateritium* f. sp. *mori*
 s1,s2: *F. solani* f. sp. *mori*
 G1,G2: *F. roseum* 'Graminearum'

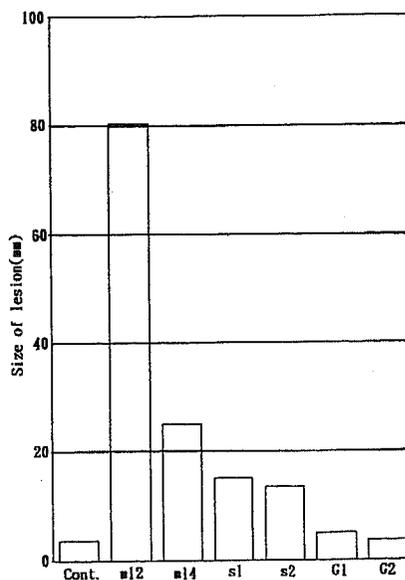


Fig.2 Size of lesion due to Polypropylene bag method
 Cont. : Control
 m12, m14: *Fusarium lateritium* f. sp. *mori*
 s1,s2: *F. solani* f. sp. *mori*
 G1,G2: *F. roseum* 'Graminearum'

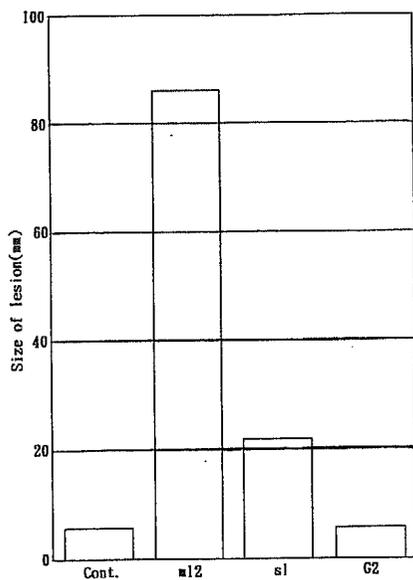


Fig.3 Size of lesion due to Plastic bottle method
 Cont. : Control
 m12: *Fusarium lateritium* f. sp. *mori*
 s1,s2: *F. solani* f. sp. *mori*
 G1,G2: *F. roseum* 'Graminearum'

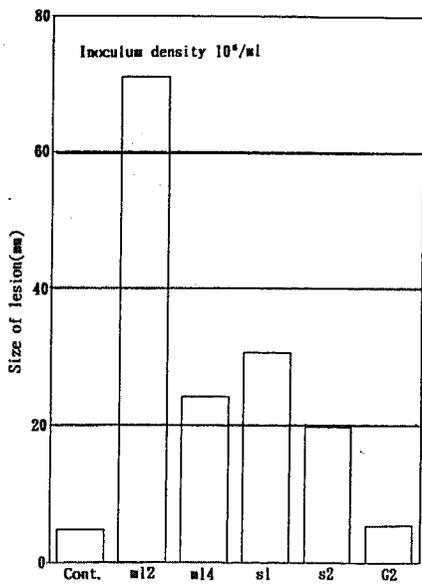
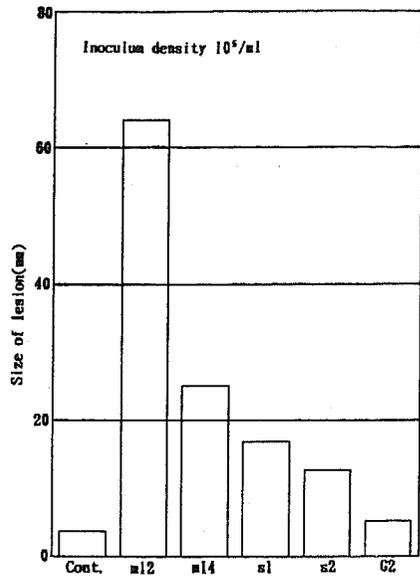
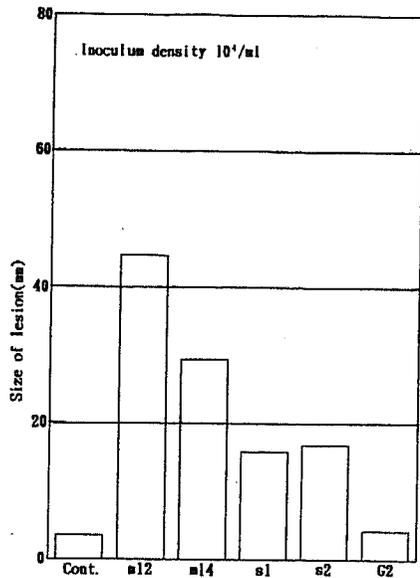


Fig. 4 Investigation of inoculum density by Polypropylene bag method
 Cont. : Control
 m12, m14: *Fusarium lateritium* f. sp. *mori*
 s1, s2: *F. solani* f. sp. *mori*
 G1, G2: *F. roseum* 'Graminearum'

考 察

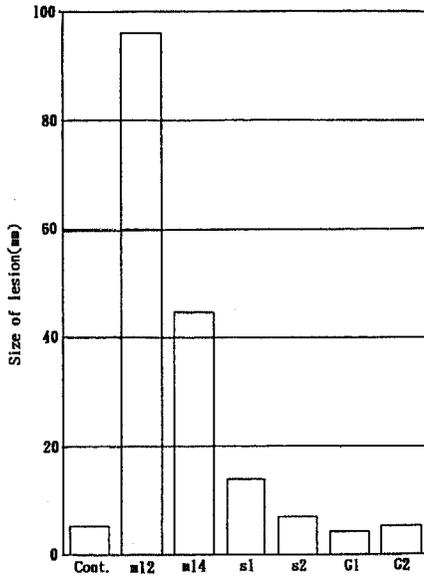


Fig. 5 Possibility to the use of a long time stored mulberry shoot
 Cont.: Control
 m12, m14: *Fusarium lateritium* f. sp. mori
 s1, s2: *F. solani* f. sp. mori
 G1, G2: *F. roseum* 'Graminearum'

クワ芽枯病菌の桑条への侵入が可能となる時期は、クワの生長が停止する8月下旬以降である(1,2)。これ以前には抵抗組織の形成、ファイトアレキシンの生産などにより、病原菌は桑条に侵入することが出来ない(3,4,5)。8月下旬以降、傷口から侵入した病原菌は翌春まで生育を続け、温度が上昇する5、6月頃になると肉眼でも確認出来る病斑を形成する。このように、本病の場合は病原菌が侵入してから病斑形成までに8~9ヶ月という長い時間を必要とする。このため、採集した菌株の病原性を接種試験により判定しようとしても非常に長い時間を必要とする。有傷接種法は菌株の病原性を判定するためには非常に有効な手段であるが、上記のような欠点をもっている。そこで、試験期間を短縮出来、しかも年間を通じて病原性の判定が出来る方法について検討した。桑条

を発芽前伐採し、冷蔵庫内に保存しておき、この桑条を病原性の判定に用いることが出来れば現在の接種法に比べ試験実施可能期間は増加すると考えられる。ポリ袋法とプラスチック容器法を考案して検討した結果、両方法とも病斑の大きさについては有傷接種法と同じ傾向が認められたため、病原性の判定に使用できると判断された。有傷接種法の場合、クワ芽枯病菌と非病原菌と比較すると、病斑の大きさには差が見られるが、病斑の色にはあまり差が見られない。しかし、ポリ袋法とプラスチック容器法の場合にはクワ芽枯病菌は濃褐色、非病原菌は淡褐色と明らかな差が見られ、病斑の色も両者を識別する目安となると考えられる。ポリ袋法とプラスチック容器法を比較すると、前者は培養時場所を取らないという利点はあるが、接種までの準備、菌株を接種してからの操作に時間がかかる欠点がある。菌株が多い場合には後者の方が便利であると思われる。試験期間についてみると、ポリ袋法では2~4ヶ月、プラスチック容器法では1~2ヶ月で結果が得られ、従来の有傷接種法の8~9ヶ月に比べ、病原性を判定するまでの期間を大幅に短縮することが可能となった。また、従来の有傷接種法は、松尾による発生機作の研究により、

接種試験が実施出来るのは、クワの生育が止まる秋季のみであった(1,2)。まだ改良の余地はあるが、冷蔵庫内に5～6ヶ月保存しておいた伐採桑条をもちいても病原性の識別が可能であることが判明したことにより、ほぼ年間を通じて接種法によるクワ芽枯病菌の識別の可能性が出て来た。

引用文献

- 1) MATUO, T. (1952): Pathological studies of the 'bud blight' of mulberry trees. I On the occurrence and development of the disease. J. Fac. Text. Seric. Shinshu univ. 2, Ser. A, 1-43
- 2) 松尾卓見(1971): 桑芽枯病の病斑。蚕糸科学と技術, 10, 9, 24-28
- 3) 白田 昭(1978): クワ枝皮組織におけるファイトアレキシンの生成。日植病報, 44, 485-492
- 4) 白田 昭・高橋幸吉(1979): クワ科木本植物の枝木部における抗菌物質の生成と蓄積。日植病報, 45, 156-161
- 5) SHIRATA, A., K. TAKAHASHI & K. TOMIYAMA (1978): Antifungal substance in infected shoots of arboreal plant. Ann. Phytopath. Soc. Japan 44, 340-343