

寒天葉片法による柄子殻、柄胞子の 大量形成について

東京都立立川短期大学 学長 ^{まし}岸 ^{くに}國 ^{へい}平

はじめに——背景と研究のきっかけ

被害植物上では柄子殻や子のう殻を作っているのに、常用のジャガイモ寒天培地 (PDA) 上では菌糸ばかり、という菌が意外と多い。そこで、時間と手間がかからず、しかもかなりオープンな環境下でも応用でき、柄子殻や柄胞子、あわよくば子のう殻まで容易に作らせる方法はないかと模索し、たどりついたのが本法である。

私は現在、都立の小規模な短大の学長をしているが、学長室の片隅に顕微鏡やアルコールランプ、若干の試験管などを置き、暇があるとそのコーナーで菌を培養したりして楽しんでいる。昨春 (1994) の植物病理学会大会でこの原稿のような題で講演発表をした。ところが最近、さる研究所の人たちが、エリシターやファイトアレキシン研究のために、何種類もの菌の柄胞子や分生子が多量に必要になり、本法を応用して好結果を得ているとのこと、そして雪の中でも実験が続けられるようにクチナシの大苗を何本も購入して冬に備えているとこのことを聞き、もしかしたら他の人たちのためにもお役に立つかも知れないと考え、筆を執った次第である。

材料と方法

材料といえどごく簡単、新鮮な木の葉があればよい。木の種類は特に問わないと思うが、筆者が身近なものの中から試してみても工合よかったのは、アジサイ、クチナシ、コブシ、サクラなどであり、アカシア、ササ、クズでもよかった。

ツバキ、サザンカ、アオキなど常緑のものは冬でも葉が得られるのでよいかと思っただ、結果は不良で全く形成しなかった。トマトやキュウリなどの葉も軟らかすぎでよくなかった。

次に準備するのは、1.5%~2.0%の素寒天を流し込んだシャーレと、ガスカヒーターで湯をわかしている鍋である。用意した木の葉を、シャーレよりやや小さめの円形に整形し、必要な枚数だけ準備する。筆者は径6cmのプラスチックシャーレが安くて手頃なので常用しているが、これだと少し大きめの葉なら2枚とれるという利点がある。湯が沸騰したところで4、5枚ずつ湯に放り込

み、ピンセットで押し込みながら20~30秒のつもりで加熱し、あとは手早く1枚ずつシャーレの寒天の上に並べる。このときあまり煮すぎないほうがよい。

こうしてでき上がったら、葉の中央に菌糸片を植えて定温器に収める。以上の作業は、無菌室で行うに越したことはないが、普通の実験台の上で行ってもかまわない。PDAのような培地とは違い、空中から雑菌が胞子の形で飛び込んでもほとんど支障を来さない。また菌を植えたシャーレは定温器には数日間、あとは散光の当たる机上のほうが好結果が得られるようである。

得られた結果

精密な実験条件を設定して比較するのが目的ではなく、供試した菌で期待どおり柄子殻が形成され、柄胞子が多量に得られるかどうかを目安にしたので、実験結果は表や図にはしにくいので、考察も交え、以下、文章によって記述することとしたい。

1 *Ascochyta* 属菌

代表菌としてメロンつる枯病菌 (*Mycosphaerella melonis*, 不完全世代は *Ascochyta* (口絵写真参照)、及びエンドウ褐紋病菌 (*Mycosphaerella pinodes*, 不完全世代は *Ascochyta*) を用いた。

両菌ともアジサイ、クチナシ、サクラなどの葉で柄子殻がよく形成され、柄胞子も多量に形成され溢出した。培養末期には子のう殻も形成された。

2 *Phoma* 属菌

Phoma sp. (ハマボウフウより分離、同定中) を用いた。

アジサイ、クチナシ、サクラの葉で柄子殻、柄胞子とも多量に形成され、柄胞子の溢出がみられた。

3 *Phomopsis* 属菌

Phomopsis sp. (サツマイモより分離、未同定)、*Phomopsis* sp. (クチナシより分離、同定中)、*Phomopsis* sp. (シバザクラより分離、未同定)、*Phomopsis* sp. (ウドより分離、未同定) の4菌株を用いた。

以上の4菌株ともアジサイ (口絵写真参照)、クチナシ (口絵写真参照)、コブシなどの葉で柄子殻が多数形成され、柄胞子も多量に形成され溢出した。

4 その他

そのほかにはシラン炭そ病菌 (*Glomerella* sp., 同定中), ユキヤナギ炭そ病菌 (*Glomerella* sp., 同定中) 及びサクラから分離された *Pestalotiopsis* sp. などを供試した。これらは PDA 上でも比較的容易に分生子が形成されたが, 本法によるとアジサイ, クチナシ, サクラなどの葉上で非常に多量の分生子が形成された (*Pestalotiopsis* sp. については口絵写真参照)。

おわりに

通常の培養法では柄子殻, 柄胞子を形成しにくい菌でも, 本法すなわち寒天葉片法を適用することにより, 比較的容易にそれらを形成させ得ることを紹介した。筆者が供試してみた菌はごく限られた属, 種数であり, また葉片として用いた植物の種類も多くなかったが, 今後多くの人によって幅広く応用していただければ望外の幸いである。

新しく登録された農薬 (7.1.1~7.1.31)

掲載は, 種類名, 有効成分及び含有量, 商品名 (登録年月日), 登録番号 (製造業者又は輸入業者), 対象作物: 対象病害虫: 使用時期及び回数など。ただし, 除草剤については, 適用雑草: 使用方法を記載。(…日…回は, 収穫何日前何回以内散布の略。) (登録番号 18882~18902 までの 21 件, 有効登録件数は 5757 件)

「殺虫剤」

BT 水和剤

BT 10.0%

チューリサイド水和剤 (7.1.25)

18882 (アグロ・カネシヨウ)

あぶらな科野菜: アオムシ・コナガ: 発生初期ただし収穫7日前まで: 4回以内: 散布, りんご: ヒメシロモンドクガ: 発生初期ただし収穫7日前まで: 4回以内: 散布, 茶: チャノココクモンハマキ・ヨモギエダシヤク: 発生初期ただし摘採7日前まで: 3回以内: 散布, 芝: シバツトガ: 発生初期: 6回以内: 1㎡当り 0.31 散布, ストック: コナガ: 発生初期: 4回以内: 散布, つばき: チャドクガ: 発生初期: 4回以内: 散布, さくら: モンクロシヤチホコ・アメリカシロヒトリ: 6回以内: 散布, プラタナス: アメリカシロヒトリ: 発生初期: 6回以内: 散布

「殺虫殺菌剤」

エトフェンブロックス・トリシクラゾール・ペンシクロン粉剤

エトフェンブロックス 0.50%, トリシクラゾール 1.0%, ペンシクロン 1.5%

ビームトレモンセレン粉剤 DL (7.1.25)

18893 (クミアイ化学)

稲: いもち病・紋枯病・ウンカ類・カメムシ類: 21日3回

テブフェノジド・フルトラニル粉剤

テブフェノジド 0.75%, フルトラニル 1.5%

ロムダンモンカット粉剤 DL (7.1.25)

18894 (日本農薬)

稲: コブノメイガ・ニカメイチュウ・イネツトムシ・フタオビコヤガ・紋枯病: 14日2回

「除草剤」

テニルクロール・ベンスルフロンメチル粒剤

テニルクロール 2.7%, ベンスルフロンメチル 0.75%

クサメツツ 1キロ粒剤 75 (7.1.25)

18883 (北興化学), 18884 (日本農薬), 18885 (トクヤマ)

移植水稲: 水田一年生雑草・マツバイ・ホタルイ・ウリカワ・ミズガヤツリ・ヘラオモダカ・ヒルムシロ・セリ・アオミドロ・藻類による表層はく離: 移植後5~15日(ノビエ2葉期まで): 1回: 湛水散布

テニルクロール・ベンスルフロンメチル粒剤

テニルクロール 2.7%, ベンスルフロンメチル 0.51%

クサメツツ 1キロ粒剤 51 (7.1.25)

18886 (北興化学), 18887 (日本農薬), 18888 (トクヤマ)

移植水稲: 水田一年生雑草・マツバイ・ホタルイ・ウリカワ・ミズガヤツリ・ヘラオモダカ・ヒルムシロ・セリ・アオミドロ・藻類による表層はく離: 移植後5~15日(ノビエ2葉期まで): 1回: 湛水散布

ビフェノックス・プレチラクロール乳剤

ビフェノックス 20.0%, プレチラクロール 8.0%

ブローダックス乳剤 (7.1.25)

18889 (日本チバガイギー), 18890 (ローヌ・プーラン油化)

18891 (日産化学), 18892 (北興化学)

移植水稲: 水田一年生雑草・マツバイ・ホタルイ・ミズガヤツリ: 植代時~移植4日前まで: 1回: 原液湛水散布

シメトリン・ピラゾキシフェン・プレチラクロール粒剤

シメトリン 1.5%, ピラゾキシフェン 24.0%, プレチラクロール 4.5%

ワンオール S1 キロ粒剤 24 (7.1.25)

18895 (石原産業), 18896 (日本チバガイギー)

移植水稲: 水田一年生雑草・マツバイ・ホタルイ・ウリカワ・ヘラオモダカ・ヒルムシロ・アオミドロ・藻類による表層はく離: 移植直後~移植後15日ノビエ2葉期まで: 1回: 湛水散布

シメトリン・ピラゾキシフェン・プレチラクロール粒剤

シメトリン 1.5%, ピラゾキシフェン 18.0%, プレチラクロール 4.5%

ワンオール S1 キロ粒剤 (7.1.25)

18897 (石原産業), 18898 (日本チバガイギー)

移植水稲: 水田一年生雑草・マツバイ・ホタルイ・ウリカワ・ミズガヤツリ・ヘラオモダカ・ヒルムシロ・アオミドロ・藻類による表層はく離: 移植直後~移植後13日ノビエ2葉期まで: 1回: 湛水散布

「農薬肥料」

ウニコナゾール P 複合肥料

ウニコナゾール P 0.040%

ショート 42 (7.1.25)

18899 (住友化学), 18900 (コープケミカル), 18901 (住化グリーンテック)

水稲: 節間短縮による倒伏軽減: 出穂25日前: 1回: 湛水散布

プロジアミン複合肥料

プロジアミン 0.24%

テマナックス (7.1.25)

18902 (日産化学)

日本芝: 一年生雑草 (キク科雑草を除く): 春期雑草発生前(芝生育期): 2回以内: 全面土壌散布